

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**FINDIK YAĞI VE KANOLA YAĞI İLE BESLENEN ERKEK
RATLARDA SERUM HORMON VE TESTİS
HİSTOPATOLOJİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Bülent KATI
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Fatih OĞUZ**

MALATYA-2012

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ**

**FINDIK YAĞI VE KANOLA YAĞI İLE BESLENEN ERKEK
RATLARDA SERUM HORMON VE TESTİS
HİSTOPATOLOJİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

**Dr. Bülent KATI
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Fatih OĞUZ**

Bu tez, İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2011/152 proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER.....	i
TABLO VE ŞEKİLLERİN DİZİNİ.....	ii
KISALTMALAR.....	iv
I – GİRİŞ.....	1
II- GENEL BİLGİLE.....	3
1. Fındık.....	3
1.1. Fındık üretimi.....	3
1.2. Fındık bitkisinin kimyasal ve biyolojik yapısı.....	4
1.3. Türkiye’de Fındık ve Fındık Yağı.....	6
1.4. Fındık yağı üretimi.....	7
2. Kanola.....	9
2.1. Kanolanın tanımı.....	9
2.2. Türkiye’de Kanola.....	10
2.3. Kanolanın kullanıldığı alanlar.....	10
2.4. Kanolanın insan sağlığı bakımından önemi.....	11
3. Testis.....	12
3.1- Testisin anatomisi.....	12
3.2- Testis histolojisi.....	14
4. Üreme Fizyolojisi.....	21
4.1.Spermatogenezisin oluşması.....	21
4.2. Spermatozoanın olgunlaşması, emisyon ve ejakülasyon.....	22
4.3. Semen İçeriği.....	23
4.4. Semen incelemeleri.....	23
4.5. Spermatogenezisin hormonal düzenlenmesi.....	26
III- GEREÇ VE YÖNTEM.....	29
1. Hayvanların seçimi ve hazırlığı.....	29
2. Deney hazırlığı ve kullanılan gereçler.....	29
IV- BULGULAR.....	34
V- TARTIŞMA.....	43
VI- SONUÇ VE ÖNERİLER.....	49
VII- ÖZET.....	51
VIII- SUMMARY.....	53
IX- KAYNAKLAR.....	55

TABLO VE ŞEKİLLERİN DİZİNİ

Tablo-1: 100 gr Fındığın genel kimyasal bileşimi.....	5
Tablo-2: 100 gr Fındığın içindeki vitaminler.....	5
Tablo-3: 100 gr Fındığın içindeki mineraller.....	6
Tablo-4: Gerekli semen dilüsyonunun nasıl yapılacağı, sayma kamarası ve değerlendirilecek alanlar.....	24
Tablo-5: İmmunohistokimyasal değerlendirmede boyama şiddet Puanlaması.....	32
Tablo-6: 16 haftalık beslenme sonrası sıçanlardaki ağırlık artışı.....	34
Tablo-7: Serum FSH ortalamalarının grupsal dağılımı.....	35
Tablo-8: Serum Hormon LH ve Testosteron değerleri ortalaması.....	37
Tablo-9: Her grubun Jhonsen testis biopsi skoru ortalamaları.....	38
Tablo-10: Her rat için, IHK yöntemle belirlenen testosteron antikoru boyama şiddet skorları.....	40
Şekil-1: Testis ve epididimis	12
Şekil-2: Testis ve epididimin beslenmesini sağlayan damarların şematik Resmi.....	13
Şekil-3: Erkek sıçan üreme organları.....	14
Şekil-4: İnsan testisinin ve dış genital kanallarının genel görünümü.....	15
Şekil-5: Seminiferöz tubül epitelini oluşturan hücrelerin şematik görünümü.....	18
Şekil-6: Spermatogenezin basamakları.....	19
Şekil -7: Geliştirilmiş Neubauer hemositometresi.....	26
Grafik-1: Erkeklerde serum Testosteron seviyesinin profili.....	27
Grafik-2: Her üç grubun 16 haftalık ortalama ağırlık artış grafiği.....	35
Grafik-3: Her üç grubun ortalama FSH değerleri.....	36
Grafik -4: Her üç grubun ortalama LH değerleri.....	36
Grafik-5: Her üç grubun ortalama Testosteron değerleri.....	37
Resim-1: Fındık ağacı.....	4
Resim-2: Kabuğundan çıkarılmış fındık.....	4
Resim-3: Kanola bitkisi.....	9
Resim-4: Erkek sıçan skrotal kesesi.....	14
Resim-5: Seminiferöz tubüllerin histolojik görünümü.....	16

Resim-6: Erişkin sıçan testisi (Iron Hemotoksilen).....	17
Resim-7: İnsan testisi (Hematoksilen – Eozin).....	17
Resim-8: Sertoli ve Leydig hücrelerinin görünümü.....	21
Resim-9: Kontrol grubu sıçanlardaki testis histopatolojisi.....	39
Resim-10: Fındık grubu sıçanlardaki testis histopatolojisi.....	39
Resim-11: Kanola grubu sıçanlardaki testis histopatolojisi.....	40
Resim-12: Kontrol grubu sıçanlardaki IHK boyanması.....	41
Resim-13: Fındık grubu sıçanlardaki IHK boyanması.....	41
Resim-14: Kanola grubu sıçanlardaki IHK boyanması.....	42

KISALTMALAR

hCG	: Human Koryonik Gonadotropinin
FSH	: Folikül Stimulan Hormon
LH	: Lüteinizan Hormon
GnRH	: Gonodotropin Serbestleştirici Hormon
LDL	: Düşük Danisiteli Lipoprotein (Low density lipoprotein)
VLDL	: Çok Düşük Danisiteli Lipoprotein (Very low density lipoprotein)
ABP	: Androjen Bağlayıcı Protein
DHT	: Dihidrotestosteron
FAO	: Birleşmiş Milletler Gıda ve Tarım Teşkilatı
NaOH	: Sodyum Hidroksit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ELISA	: <u>Enzyme-linked immunosorbent assay</u> .
IHK	: Immunohistokimya

I - GİRİŞ

İnsan beslenmesinde önemli bir yere sahip olan yağlar, insanların yaşamsal faaliyetlerini sürdürmesi için gerekli olan ana besin maddelerinden biridir.

Yetişkin bir insanın günlük faaliyetlerini sürdürebilmesi için yaklaşık 2000-3000 kaloriye gereksinimi vardır. Bu kalorinin 650-900 kadarının yağlardan karşılaması gerekmektedir. Bir insan günlük yaklaşık 93 gr. yağa gereksinim duymaktadır. Bu yağın 1/3'ü sıvı olarak yemeklerle, 1/3'u katı yağ olarak kahvaltılarda ve geri kalan 1/3'ü ise peynir, süt, fındık v.b. besinlerden karşılanmalıdır.

Doğrudan alınması gereken toplam yağ miktarı 63 gramdır. Bu ise kişi başına yılda 23 kg yağ tüketilmesini gerektirmektedir. Avrupa normlarına göre yılda yaklaşık 24 kg yağ tüketildiği takdirde sağlıklı bir beslenmeden söz edilebilmektedir (1) .

Kanola yağı; kolza bitkisinin tohumlarından elde edilen kolza yağının, bir Kanada kuruluşunca arıtım işleminden geçirilmiş biçimine denmektedir.

Kolza yağı, Cruciferae familyasından, Brassica napus ile campestris tohumlarından elde edilen bir yağdır. Kolza bitkisi toprak ile iklim koşulları bakımından fazla seçici olmadığı için tarımı bütün dünyada yapılabilmektedir (2).

Genel olarak kolza yağı, % 20-55 gibi yüksek orandaki erüsik asit içeriği ile bilinen bitkisel kaynaklı bir yağ çeşididir. Ancak tohum ıslah çalışmaları ile erüsik asit içeriği % 0.1 değerine kadar düşürülebilmektedir. Bu tohumlardan elde edilen yağlar kanola yağı (canola oil) olarak bilinmektedir. Kanola tohumu sifıra yakın erüsik asit içeriği ve yüzde 41 yağ içeriği ile ayçiçeğine yakın bir tohumdur (3).

Kanola yağı doymuş yağ asidi ve doymamış yağ asidi bakımından oldukça dengeli bir görüntüye sahiptir. Doymuş yağ asidi oranı oldukça düşük olan kanola yağı, tekli doymamış (oleik asit) ve çoklu doymamış (linoleik asit ve linolenik asit) yağ asitlerini de dengeli oranda bulundurur (2, 3).

Fındık yağı, monoansatüre yağ asitlerinden zengin ve antioksidan özelliğe sahip bir yağdır. Kolesterol ve yağ birikimi ile oksidatif stresi azaltması nedeniyle, son yıllarda kolesterol ve trigliserid yüksekliği olan hastalarda önerilen bir sıvı yağ olma özelliğindedir (9,10).

Ayrıca, çift bağılı doymamış yağ asidinin az olması vücutta özellikle kalp dokularındaki hücrelerin korunmasını sağlamaktadır. Fındık ve fındık yağının kemiklerin ve dişlerin yapımı için gerekli olan kalsiyum, kan yapımında görev alan demir, büyüme ve cinsiyet hormonlarının gelişmesinde rol oynayan çinko için en iyi kaynaklarında birisidir.

Fındık yağında %12 oranında linoleik asit vardır. Bir yağ asidi olan linoleik asit vücut tarafından yapılamamakta, vücudumuz bu maddeyi dışarıdan yani gıdalarla almaktadır. Organizmanın büyümesi ve sağlıklı gelişmesi için son derece gerekli olan bu asit fındık yağında bol miktarda bulunmaktadır.

Yüksek oranda antioksidan, vitamin ve yağ alt türlerini kapsayan bu yağların üreme sağlığına faydalı olabileceği veya genetiği değiştirilerek kolza bitkisinden oluşturulmuş kanola yağının vücut üzerinde özellikle üreme sistemine olabilecek potansiyel tehlikeleri ve ya faydaları günümüzde tam olarak açığa kavuşturulamamıştır. Bu çalışma ile bazı bilgilere ışık tutmak amacındayız.

II - GENEL BİLGİLER

1-Fındık:

1.1. Fındık üretimi

M.Ö. üçüncü bin yılda Çin'de var olduğu bilinen fındığın, daha sonra Anadolu'ya ulaştığı ve kültür fındıklarının anavatanının Karadeniz kıyıları olduğu kabul edilmektedir.

Fındığın, Türkiye'deki asıl yetişme alanı Karadeniz kıyılarıdır. Ekonomik bir değer ifade etmeden, ülkemizin değişik bölgelerinde de fındık üretimi yapılmaktadır.

Fındık dünya üzerinde 36-41 enlemlerinde yetişebilen ve kendine özgü iklime ihtiyaç duyan bir bitkidir. Kıyılardan en çok 30 km içeride ve yüksekliği 750-1800 metreyi geçmeyen yerlerde yetiştirilir. Dünyada en önemli fındık dikim bölgeleri; Türkiye, İtalya ve Amerika'dadır (14) .

Fındık ham yağı, fındık meyvesinden fiziksel işlemler ve ekstraksiyonla (özütleme) elde edilen, kimyasal işleminden geçmemiş bitkisel bir yağdır.

Enerji değeri 639 kcal/100 g olan fındığın protein içeriği % 8.2 olarak bulunmuştur. Bu değer bitkisel kaynaklı proteinler için önemli sayılmaktadır. Fındık çeşitlerinde ortalama yağ oranı % 62,7 olarak saptanmıştır. Bu yağın, yağ asitleri bileşiminin %82'sini oleik asit oluşturmaktadır.

Diğer bitkisel yağlara oranla oleik esaslı, yani tek çifte bağ yapısında olması sebebiyle vücutta parçalanması ve sindirimi kolay, erime noktası düşük ve diğer sıvı yağlara oranla acılaşıma ve oksitlenme süresi daha uzundur. Bu sebeple fındık ham yağından elde edilen yemeklik yağlar kolesterol seviyesini düşürücü ve beslenme için elverişlidir. Kalp ve damar sağlığı için de yararlı olduğu bilimsel olarak kanıtlanmıştır (14) .



Resim 1: Fındık ağacı



Resim 2: Kabuğundan çıkarılmış fındık

1.2. Fındık bitkisinin kimyasal ve biyolojik yapısı

Fındık vücutta karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında düzenleyici görevleri olan bir kısım B grubu vitaminler yönünden zengin bir kaynaktır. (B1, B2 ve özellikle B6) Kan yapımı ve ruhsal sağlık açısından gerekli olan B2 ve B6 vitaminleri fındık ve fındık yağında önemli düzeylerde bulunduğundan bu besinin her gün düzenli olarak tüketilmesi gelişim açısından da oldukça sağlıklıdır.

Fındık ve fındık yağı E vitaminin bilinen en iyi kaynağıdır. Bu vitaminin kalp ve diğer kasların sağlığı ve üreme sisteminin normal çalışması için gereklidir.

Ülkemizde yaygın olan anemiye karşı koruyucu etki oluşmasını veya oluşuktan sonra onları etkisiz hale getirerek kanser hastalığına karşı korur. Bunu da eritrositlerin parçalanmasını önleyerek sağlar (14) .

Nem	4,6 gr
Yağ	62,7 gr
Karbonhidrat	11,6 gr
Protein	16,2 gr
Selüloz	2,7 gr
Kül	2,2 gr

Tablo 1: 100 gr Fındığın genel kimyasal bileşimi

Ayrıca, çift bağlı doymamış yağ asidinin az olması vücutta özellikle kalp dokularındaki hücrelerin korunmasını sağlamaktadır. Fındık ve fındık yağının kemiklerin ve dişlerin yapımı için gerekli olan kalsiyum, kan yapımında görev alan demir, büyüme ve cinsiyet hormonlarının gelişmesinde rol oynayan çinko için en iyi kaynaklarında birisidir. Ayrıca sinirlerin uyarımı ve kas dokusunun çalışması için gerekli olan potasyumda zenginidir (14) .

B1 Vitamini	0,33 mg
B6 Vitamini	0,24 mg
B2 Vitamini	0,12 mg
E Vitamini	31,4 mg
Niasin	1,75 mg

Tablo 2: 100 gr Fındığın içindeki vitaminler

Fındık yağında %12 oranında linoleik asit vardır. Bir yağ asidi olan linoleik asit vücut tarafından yapılamamakta, vücudumuz bu maddeyi dışarıdan yani gıdalarla almaktadır.

Dolayısıyla fındık yağı oleik asit ve linoleik asit gibi 2 önemli yağ asidini bileşimde bulunduran ender besinlerden birisidir.

Demir	5,8 mg
Potasyum	5,3 mg
Bakır	1,3 mg
Kalsiyum	160 mg
Sodyum	2,1 mg
Manganez	5,1 mg
Çinko	2,2 mg

Tablo 3: 100 gr Fındığın içindeki mineraller

Fındık yağı kurumayan yağlar sınıfındadır. Bunlara ek olarak yüksek sıcaklıkta yanmasından dolayı (195°C) kızartma amaçlı da kullanılabilir.

1.3. Türkiye’de Fındık ve Fındık Yağı

Fındık dikimine ve yetiştirilmesine en uygun koşullara sahip ülkelerin başında Türkiye gelmektedir. Ürünün tamamına yakın bölümü en uygun toprak ve iklim koşullarına sahip Karadeniz Bölgemizden elde edilir.

Bugün ülkemizde başta Doğu kesimleri olmak üzere tüm Karadeniz yöresinde birçok aile geçimini Fındık tarımından sağlamaktadır. Fındık tarımında yıllık ürün değişim göstermektedir. Bunda fizyolojik, biyolojik ve coğrafi faktörler etkili olmaktadır. Alan artışları nedeniyle dünyada fındık üretimi 500 ila 600 bin ton arasında değişmektedir. Türkiye’nin bu alandaki payı % 65-75 arası değişmektedir (14) .

Fındık ülkemizde çeşitli alanlarda yetişmekle beraber genel olarak Kuzey Anadolu sıra dağlarının Karadeniz’e bakan yamaçlarında yetişmektedir. Fındık kalitesi Giresun ve Levant olarak ikiye ayrılır:

Giresun kalite fındık, tadı ve içerdiği yağ oranı bakımından yeryüzünün en üstün özellikli fındıktır. Giresun ile Trabzon'un Beşikdüzü, Vakfıkebir, Çarşıbaşı ve Akçaabat ilçelerinde yetişir.

Levant kalite fındık, daha az yağ içerir. Trabzon ve bir bölümü ile Ordu, Samsun, Bolu, Sakarya, Zonguldak ve Bartın illerinde yetişir.

Ülkemizde gıda sanayinin gelişimiyle de fındığın kullanım alanları da olarak genişlemiştir. Fındık; çikolata, bisküvi, şekerleme, tatlı pasta, dondurma imalatında kullanılmaktadır. Yüksek yağ içeriği dolayısıyla yağ üretiminde de kullanılmaya başlanmıştır (14) .

1.4. Fındık Yağı Üretimi

Fındık ham yağı, fındık meyvesinden fiziksel işlemler ve ekstraksiyonla elde edilen, kimyasal işlem görmemiş, oleik esaslı bitkisel bir yağdır. Diğer bitkisel yağlara oranla oleik esaslı, yani tek çifte bağ yapısında olması sebebi ile vücutta parçalanması ve sindirimi kolay, erime noktası düşük ve bilinen bütün sıvı yağlara göre oksitlenme ve acılaşma süreleri de daha uzundur.

Bu özellikleri itibariyle fındık ham yağından elde edilen yemeklik yağ beslenme için çok elverişli ve kolesterol seviyesini düşürücü özelliktedir. Ayrıca ve damar sağlığı için yararlı olduğu bilimsel olarak tespit edilmiştir (14) .

Kullanıldığı yerler :

Rafine fındık yağı halen yemeklik olarak ve pasta-bisküvi sanayiinde, fındık ham yağı da boya, kozmetik, sabun sanayii gibi diğer endüstriyel dallarda oldukça fazla kullanım alanına sahiptir (14) .

Fındık Yağı üretimini 5 üniteye inceleleyebiliriz:

a. Ham Yağ Ünitesi: Silo & Operasyon Ünitesi, Pres ünitesi, Ekstraksiyon ünitesinden oluşur.

b. Rafineri Ünitesi: Nötralizasyon, Ağartma, Vinterizasyon, Deodorizasyon işlemlerinden oluşur.

Nötralizasyon: Hammaddelerin olgunlaşma evrelerinde, depolama, ham yağın üretiminde çeşitli etkenlere bağlı olarak serbest yağ asitlerinin yükselmesinden dolayı ham yağların yemeklik yağ olarak tüketilebilmesi için bünyesinde bulunan bu serbest yağ asitlerinin uzaklaştırılması işlemidir. Böylece serbest yağ asitlerinin alkalilerle (NaOH) reaksiyona girmesi sağlanarak sabun oluşturulup ve oluşan sabunun (soap stock) seperatörler yardımıyla yağdan ayrılması sağlanır.

Ağartma: Ham yağların kendilerine özgü en yaygın renk veren maddeleri alfa ve beta karoten, ksantofil ve klorofildir. Uygun şartlarda depolanmayan düşük kaliteli hammaddelerden elde edilen yağlar, doğal renk maddeleri yanında oksidadif tepkimeler sonucu oluşan ve yağa koyu renk veren bileşenleri de içermektedir. Bu renklerin açılması için kullanılan en yaygın yöntem adsorbantlarla tutulup, daha sonra adsorbantların filtrasyon ile yağdan uzaklaştırılmasıdır. Kullanılan bu adsorbantlar yüksek aktivasyonlu ağartma topraklarıdır. Bu işlem yüksek sıcaklıkta vakum altında gerçekteştirilir.

Vinterizasyon: Yağın soğukta kristalleştirilerek yağa bulanıklık veren yüksek erime noktalı doymuş gliseridler, vakslar (uzun zincirli yağ alkolleri), stearinlerin uzaklaştırılması amacı ile uygulanmaktadır. Yağın cinsine bağlı olarak düşük sıcaklıkta (5°C), yavaş bir karıştırma eşliğinde bekletilerek, oluşturulan kristaller filtreler yardımıyla yağdan uzaklaştırılır. Vinterizasyon işleminde büyük kristallerin oluşmasını sağlamak için filtre toprağı kullanılmaktadır.

Deodorizasyon: Deodorizasyon işlemi kimyasal rafinasyonun son aşaması olup yağa istenmeyen tat ve koku veren maddelerin yüksek sıcaklıkta yağdan ayrıştırılması için uygulanır. Bunların yanında sabunlaşan maddeler, sabunlaşmayan maddeler, oksidatif tepkimeler sonucu oluşan ürünler (aldehitler, ketonlar, peroksitler) de yağdan uzaklaştırılır.

c. Dolum Ünitesi

d. Temizlik Ünitesi

e. Laboratuvar

2- Kanola:

2.1. Kanolanın Tanımı

Kanola; şalgama benzeyen tek yıllık bir serin sezon bitkisidir. *B. oleracea* (lahana grubu sebzeler) ve *B. rapa* Linnaeus (hardal ve şalgam grubu)'un melezlenmesinden elde edilmiştir.

Orijini Kuzey Avrupa'dır. Dünya yağlı tohum üretiminde soya ve palmyeden sonra üçüncü sırada yer almaktadır. Genç yaprakları toplanıp yeşil sebze olarak tüketilir.

Genç yapraklar %83.3 su, %2.9 protein, %1.7 doymamış yağ, %11.2 karbonhidrat ve %1.8 lif içermektedir. Kanola sebze olarak faydalı olmasına rağmen esas olarak tohumundaki %40' lara varan yağ içeriği için ve hayvan beslenmesinde yüksek proteinli yeşil yem elde etmek için yetiştirilmektedir. Geleneksel kullanım açısından kanola yağı, deterjanlarda yağlayıcı madde, emülsiyon maddesi, polyamid lifi, reçine ve bitkisel kökenli balmumu olarak bir pazar potansiyeline sahiptir (11) .



Resim 3: Kanola bitkisi

2.2. Türkiye’de Kanola

Kanola ülkemizde son yıllarda gerekli desteğin verilmiş olmasına rağmen son derece ihmal edilmiş bir bitkidir. Bugün tahıl üretimi yapılan her yerde yetiştirilebileceği göz önüne alındığında yağ açığımızı kapatmada önemli alternatif yağ bitkilerinden birisidir.

Bilindiği gibi birçok yağ bitkisi başta ayçiçeği olmak üzere yazlık olarak ekilmesine karşın, kanolanın kışlık ve yazlık çeşitlerinin olmasıyla yazlık ve kışlık olarak ekilebilmesi, kışlık ekildiğinde haziran ayında yağ ve yem fabrikalarının hammadde sıkıntısı çektiği, hammadde fiyatlarının arz noksanlığından spekülatif olarak çok yükseldiği bir devrede hammadde sağlayarak atıl kapasitede çalışan yağ ve yem fabrikalarının tam kapasite ile çalışmalarına olanak sağlamakta, hasat devrinin diğer yağ bitkilerine göre 1-2 ay erken gelmesi, atıl kapasitedeki yağ ve yem fabrikalarına hammadde sağlayarak çalışma kapasitelerinin yükselmesine olanak vermektedir (12).

2.3. Kanolanın kullanıldığı alanlar

a- Gıda Sanayi

Ülkemiz, bitkisel yağ üretimi bakımından hali hazırda kendisine yeterli durumda değildir. Son yıllarda en fazla döviz ödemesi petrol ürünlerinden sonra gittikçe artan yağ açığımızın kapatılması için gerçekleştirilen yağ ithalatına ödenmektedir. Yağ bitkilerine gereken önem verilmezse ileride yağ açığı gittikçe artacaktır.

b- Yem Sanayi

Yem Sanayine protein kaynağı açığının yaşandığı dönemde kaynak çeşitliliği ve besleyici değeri yüksek daha ucuz küspe sağlaması bakımından öneme sahip olan Kanola, zengin protein içeriği (yaklaşık % 39-40) nedeniyle hayvan besleme alanında önemli bir yere sahiptir. Kanola, yeşil yem olarak da kullanılabilir.

c- Arıcılık

İlkbaharda ilk çiçek açan kültür bitkisi Kanola'dır. Bu özelliği bakımından arıcılıkta büyük önem taşımaktadır. Çiçeklerin kıt olduğu Şubat ve Mart aylarında arılar için değerli bir arı merası oluşturan kanola, arıcılık için iyi bir nektar ve polen kaynağıdır.

d- Münavebe / Rotasyon

Kanola kazık kökleri ile toprak altının havalanmasını sağladığından hububat ve ayçiçeği iyi bir münavebe oluşturur. Boş kalan araziye değerlendirir ve kış erozyonuna engel olur.

Toprakları organik maddece zenginleştirir. Yazlık – kışlık çeşitleri olan Kanolanın yetiştirme devresi diğer yağ bitkilerine göre daha kısadır. Kanola, yazlık ve kışlık formlarının bulunmasından dolayı münavebe içerisinde diğer bitkilere göre daha fazla yer alabilir. Kışlık kanola buğdaydan daha erkenci olması sebebiyle vejetasyon döneminin kısıtlı olduğu geçit bölgelerde II. Ürün tarımına olanak sağlar.

e- Biyodizel

Biyodizel, Kanola, ayçiçek, soya, aspir gibi yağlı tohum bitkilerinden elde edilen yağların veya hayvansal yağların bir katalizatör eşliğinde kısa zincirli bir alkol ile (metanol ve ya etanol) reaksiyonu sonucu açığa çıkan ve yakıt olarak kullanılan bir üründür.

2.4. Kanolanın İnsan Sağlığı Bakımından Önemi

Bitkisel yağlar; insan vücudunda sentezlenemeyen ve sadece yağlardan alınabilen oleik, linoleik, linolenik yağ asitlerini içermelerinin yanında; önemli enerji kaynağı olmaları, yağda eriyen mutlak gerekli A, D, E, ve K vitaminlerinin kullanılmalarını sağlamaları yönünden de büyük önem taşımaktadırlar.

Kanola yağı, Brasica rapa ve Brassica napus aşılanmasından oluşan Kanada'da yetiştirilen Kanola bitkisinin tohumlarından elde edilen bitkisel bir yağdır. İnsanların besinlerle "linoleik asit" alması gerekir.

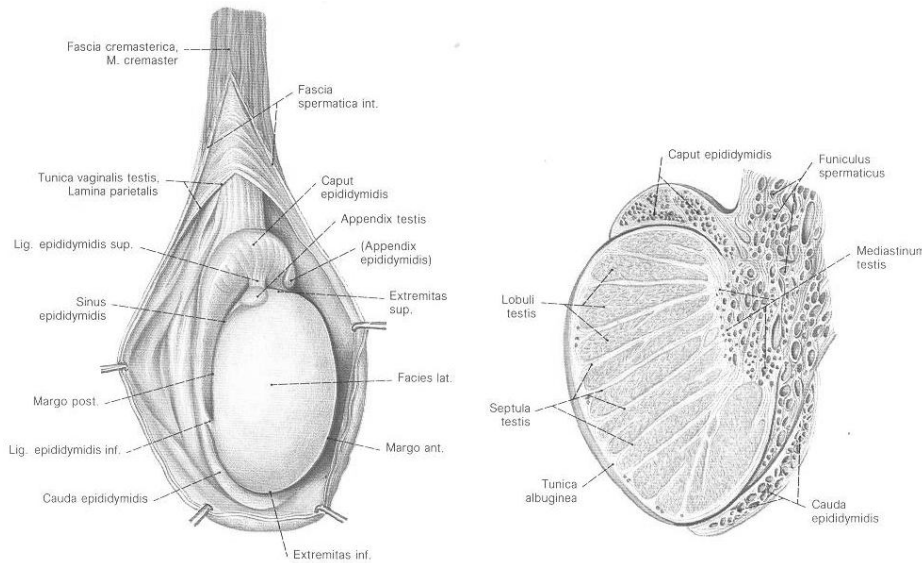
Lifli sebzelerde (fındıkta, tohumlarda, anne sütünde, balık) ve tohumlardan yapılan yağlarda kanola yağı bulunur. Kanola bitkisinde bu yağ asitleri diğer yağlara oranla daha fazladır. Linoleik asit; merkezi sinir sistemi, göz ve trombositler için gereklidir. Kolesterol seviyesini ve trigliserid seviyesini düşürür. Kan hücrelerinin akışkanlığını artırır. Bağışıklık sistemini güçlendirir. Damar tıkanıklıklarının oluşmasını engeller.(13)

3- Testis

Erkek üreme sistemi, skrotum denilen deri bir torba içindeki bir çift testis, testis içi ve dışındaki boşaltma yolları, penis ve yardımcı bezlerden oluşur. Testis üreme hücresi olan spermatozoonun üretildiği organdır. Testisin boşaltma yolları duktuli efferentes, duktus epididimis, duktus deferens, duktus ejakulatoryusla devam ederek prostatik üretraya açılır.

Epididimden gelen spermatozoonlar veziküla seminalis, prostat ve bulboüretral bezlerden gelen salgılarla beraber ejakulat sıvısını oluşturarak penisten dışarı atılır. Bunun yanı sıra testisin endokrin fonksiyonu da mevcuttur(15). Kan testosteron düzeyinin % 95-97'si testiste üretilir.

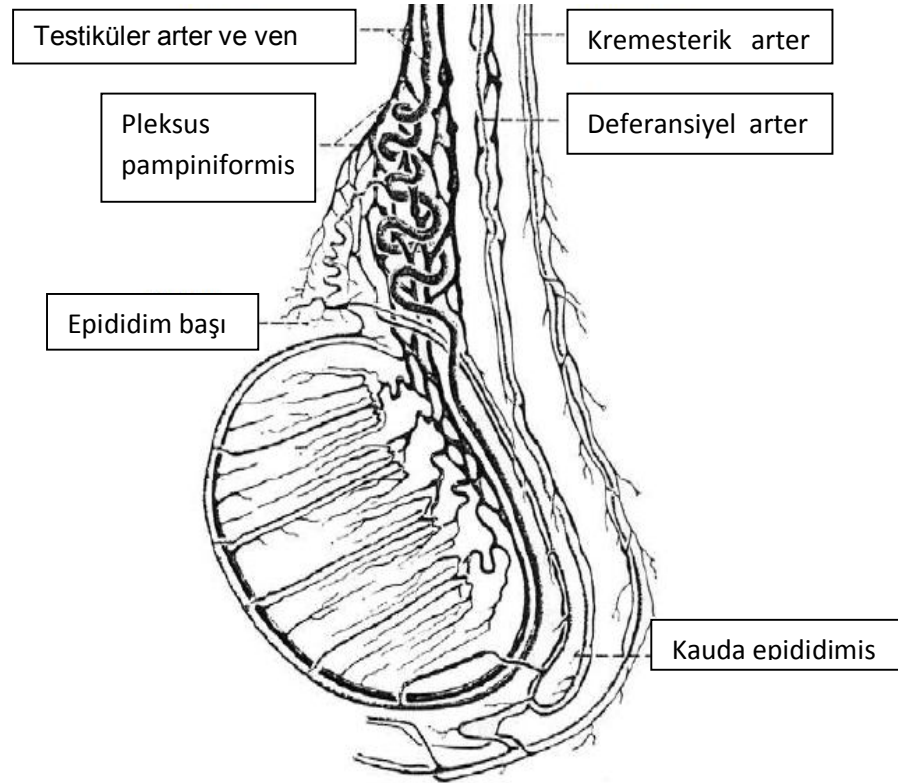
3.1. Testisin Anatomisi



Sekil 1: Testis ve epididimis (28).

Testis 4-5 cm uzunluğunda, 3 cm genişliğinde yaklaşık 30 ml hacimli organdır. Epididim, testisin posterolateral yüzeyinde bulunan ve yaklaşık 5-6 metre uzunluğundaki tek bir tubuli kontortiden oluşan bir dokudur.

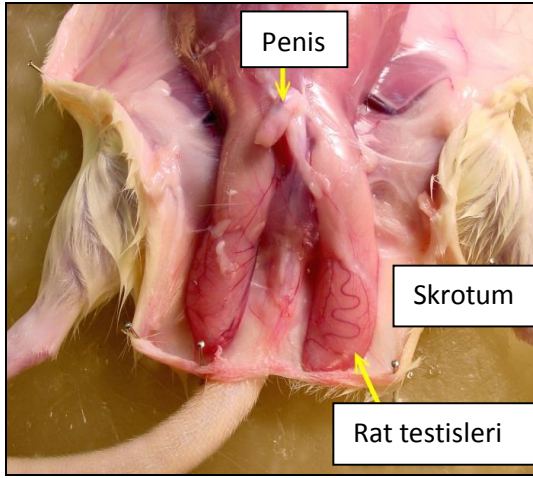
Epididimal içeriği üretraya taşıyan vas deferens, 30-35 cm uzunluğunda, müsküler bir kanaldır. Testiküler arterler, aortadan çıkar ve iç inguinal halkaya ulaşmak için retroperitoneal bölgede seyrederek. Testise girdiğinde internal arter, inferior testiküler arter ve epididimis başına giden kapital arter olmak üzere dallara ayrılır. Testiküler venler, testiküler arterin çevresinde pampiniform pleksusu oluşturur (16) (Şekil 2).



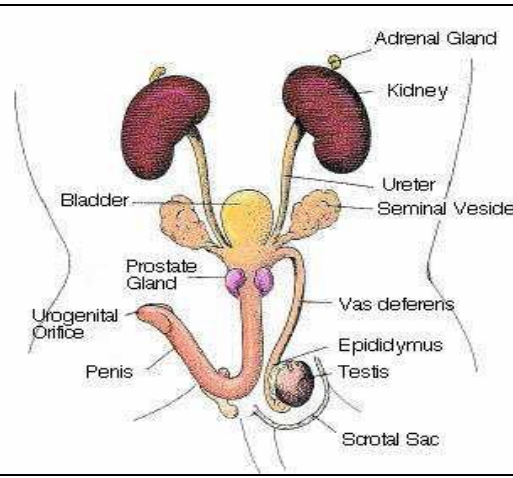
Şekil 2: Testis ve epididimin beslenmesini sağlayan damarların şematik resmi (49).

Testis ve epididim innervasyonu iki yolla olur. Bir kısım sinirler renal ve aortik pleksuslardan çıkar ve gonadal damarlarla birlikte seyreder. Diğer gonadal afferent ve efferent sinirler ise vas deferens ile birlikte pelvik pleksustan çıkar. Genitofemoral sinirin genital dalları paryetal ve visseral tunika vajinalis ve skrotum duyarlılığını sağlar(16).

Sıçan ürogenital anatomisi insan ile benzer yapı ve organlardan oluşmaktadır. Sıçan sisteminin en önemli organı skrotal kese içine yerleşmiş testislerdir (Resim-4). Sıçan epididimi testisin ön yüzeyinde yumak şeklinde bulunan tüplü bir organdır. Epididimden itibaren devam eden tüp vas deferens adını alır ve üretraya açılır. Sıçan idrar torbasının her iki yanında bulunan kahverengi yumru şeklindeki bezler ise veziküla seminalis adını alır. İdrar torbasının altında üretrayı kısmen saran prostat ve veziküla seminalis semen olarak adlandırılan sıvının yapımında rol oynar (Sekil -2).



Resim 4: Erkek sıçan skrotal kesesi



Sekil 3: Erkek sıçan üreme organları (18).

3.2. Testis Histolojisi

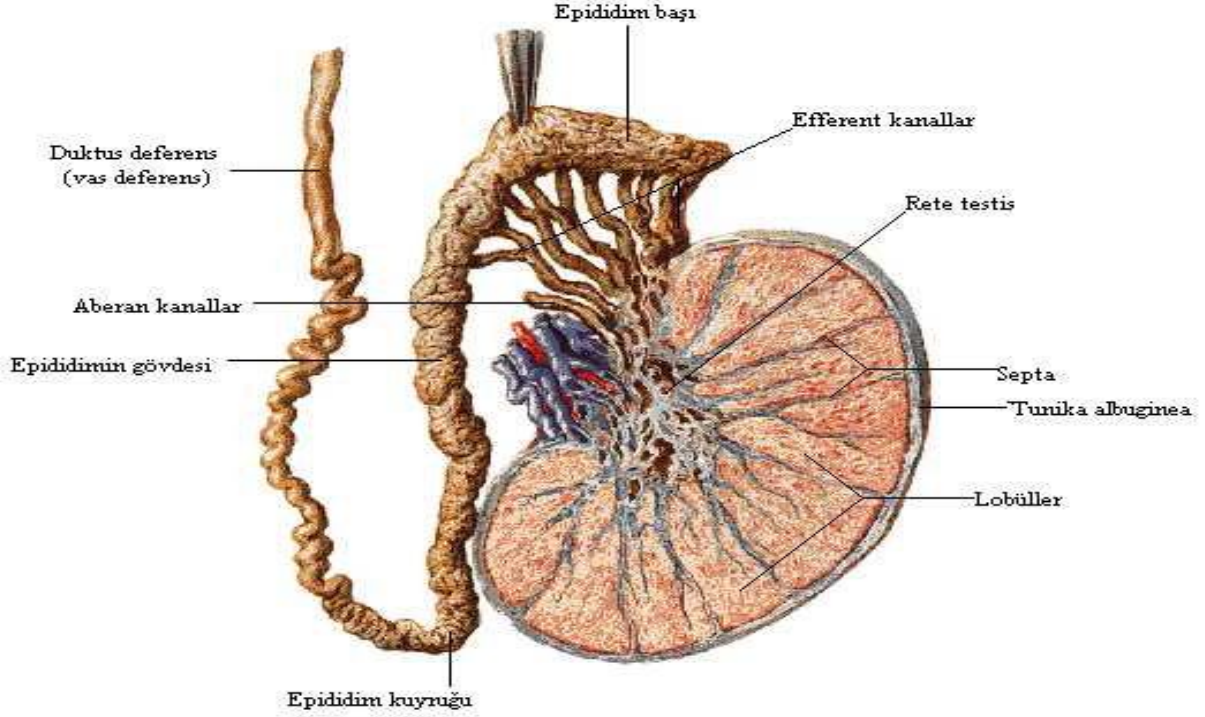
Skrotum içinde sağlı sollu yer alan iki adet testis, erkek üreme hücresi spermatozoonun üretildiği ve cinsiyet hormonu testosteronun üretilip salgılandığı hem ekzokrin hem endokrin işlevi olan yapılardır (18, 19).

Testis, kalın tunika albugineya ve skrotumun iç yüzeyini de örten ince tunika vaginalis ile kaplıdır (21).

Tunika albugineya düzensiz, yoğun, sıkı bağdokudan oluşan bir kapsüldür. Yoğun olarak kollajen ve az sayıda elastik iplikleri içerir. Tunika vaginalis'in pariyetal yaprağı skrotuma yapışıktır, visseral yaprağı ise testis ve epididimisi kapatarak tunika albugineya ile temas halindedir (22).

Tunika vaginalisin iki yaprağı arasındaki boşluk karın boşluğuyla ilişkidir. Gelişmenin başlangıç evresinde karın boşluğunda bulunan testislerin torbalara inmesi bu yolla gerçekleşir (23). Tunika albuginaya'dan organ içine uzanan

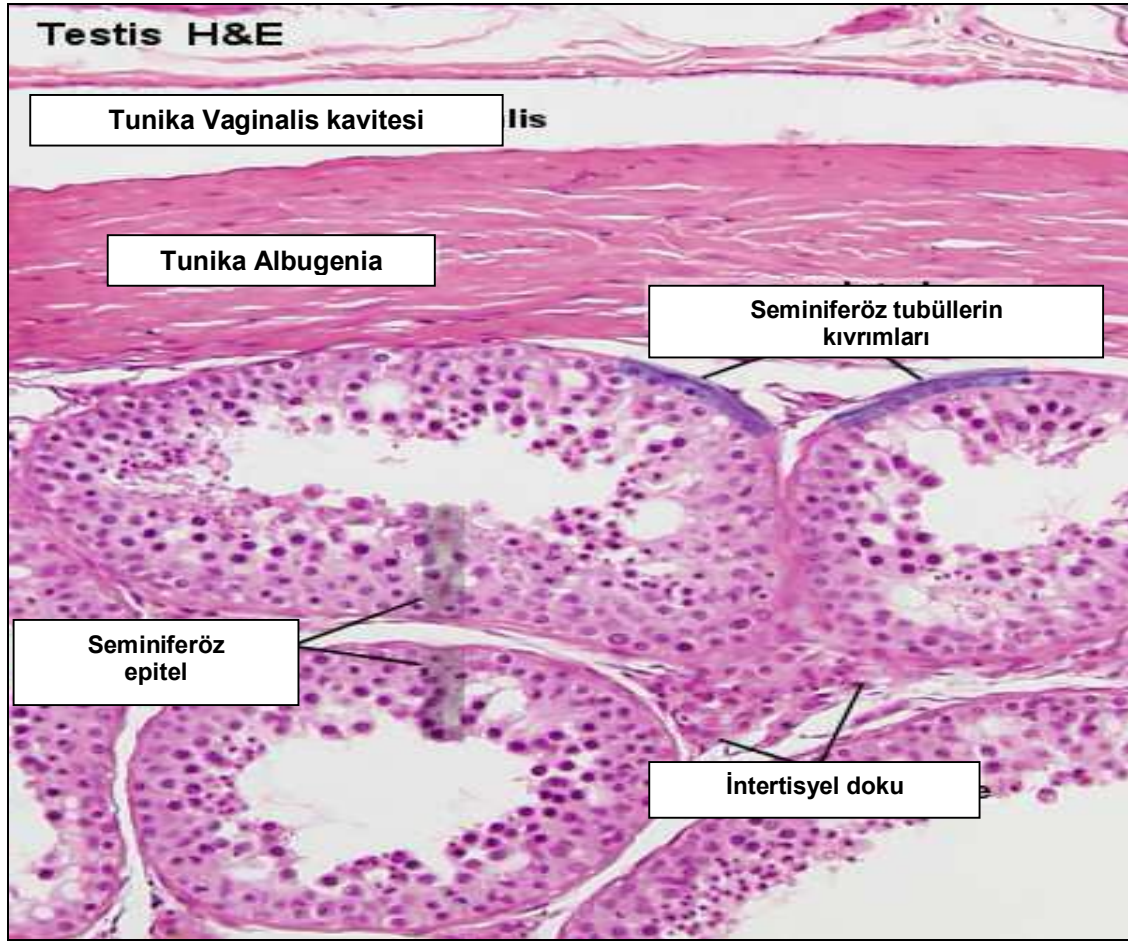
bağdoku bölmeleri (septula testis), testis parankimini her biri 1-4 kıvrımlı tubul içeren piramit şeklinde lopçuklara ayırır (21, 22) (şekil1).



Şekil 4: İnsan testisinin ve dış genital kanallarının genel görünümü (17) .

Testiküler lobüller içinde gevşek bağ dokusu ile sarılı 1-4 adet seminifer tubül yer alır. Seminifer tubüller fibröz bağ dokusu kılıfı, belirgin bazal lamina ve germinal veya seminifer epitelden oluşur. Seminifer tubülü, fibroblastlardan oluşan fibröz yapıdaki tunika propria sarar. Bazal laminanın en içindeki tabaka kontraksiyon yapabilen 3-5 sıralı yassılaştırmış miyoid hücreler içerir (21, 22, 24, 26) (şekil 3).

Seminifer tubülü döşeyen epitel, sertoli ve spermatogenetik hücrelerini içeren iki tip hücreden meydana gelmektedir (26, 27) .

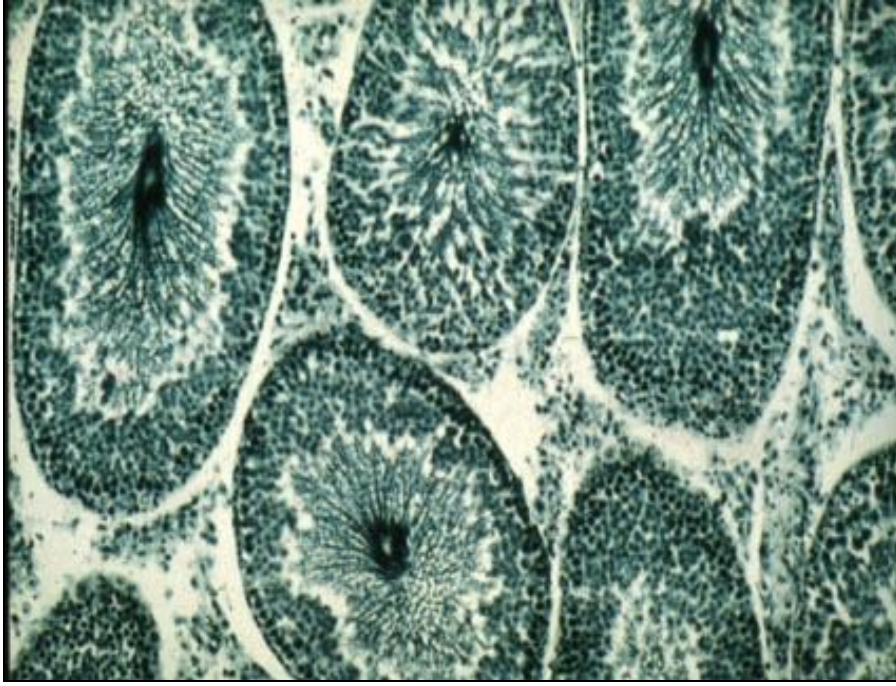


Resim 5: Seminiferöz tubüllerin histolojik görünümü (40x) (25).

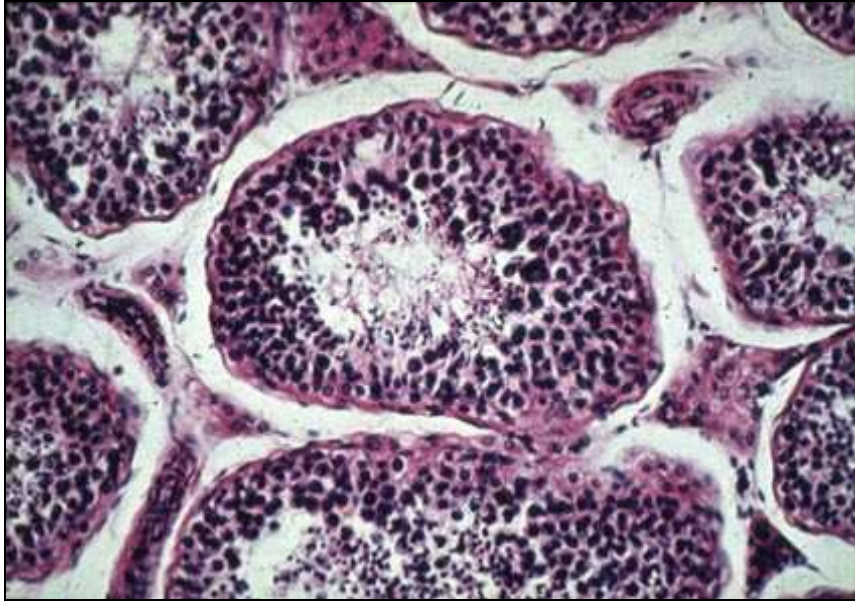
3.2.a. Tubulus Seminiferus Kontortus:

Her biri yaklaşık 150-250 μm çapında, 30-70 cm uzunluğunda, ikili-üçlü anastomozlar yapan, kıvrımlı tubuler yapılardır. İnsanda her bir testise toplam uzunlukları yaklaşık 250 m kadardır. Bu tubuler yapılar testisin % 92'sini oluşturur.

Lamina propria ile çevrili her tübül duvarı seminifer epitelyumu ile döşelidir. Seminifer epitelyumu oluşturan başlıca iki tip hücre vardır; Bunlar Sertoli hücreleri ve farklı gelişim aşamalarındaki spermatojenik seri hücreleridir (29). İnsan ve sıçan germinal hücreleri tubulus seminiferous içinde katmanlar halinde bulunur ve birbirine benzerlik gösterir. İnsan ve sıçan testisinin seminifer tubulleri Şekil -5 ve 6'da gösterilmiştir (30).



Resim 6: Erişkin sıçan testisi (Iron Hemotoksilen – 20x)

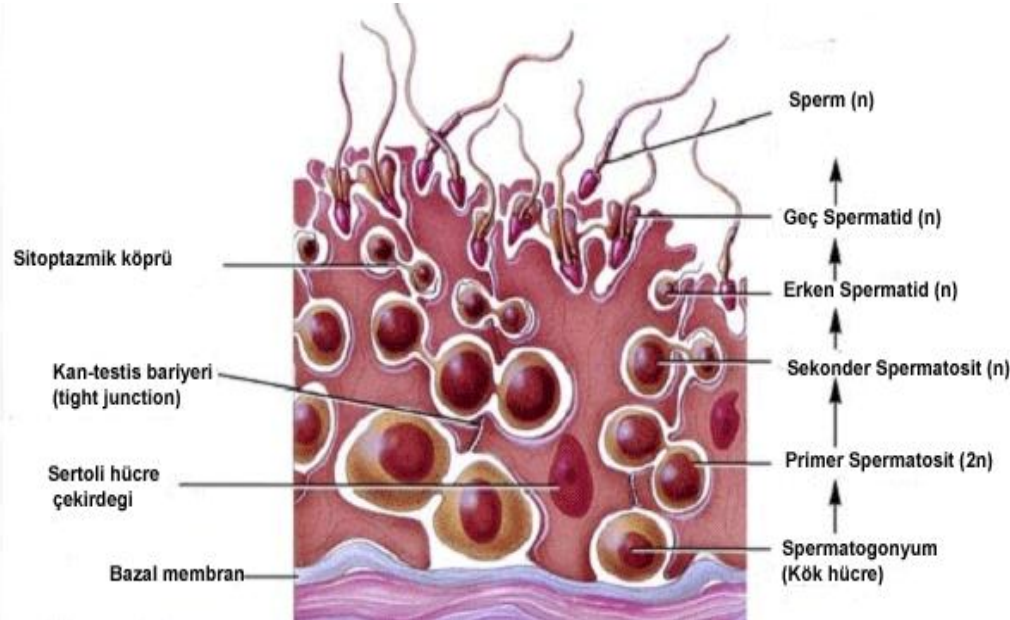


Resim 7: İnsan testisi (Hematoksilen – Eozin 20x)

3.2.b. Spermatojenik Hücreler ve Spermatogenez:

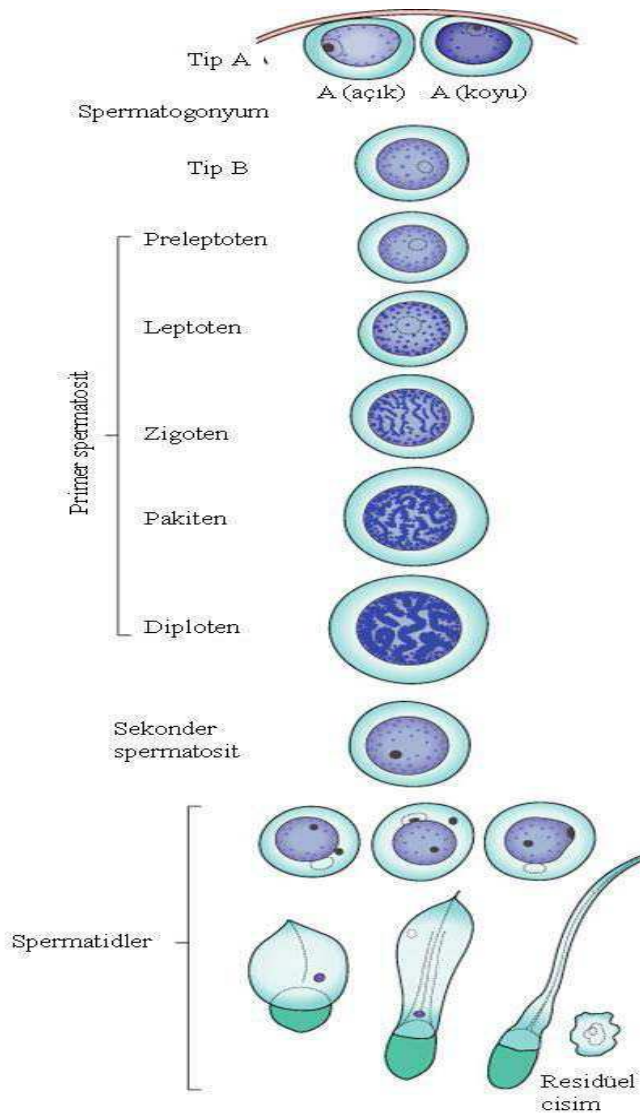
Diploid kromatin içeriğine sahip spermatogonyumların ileri derecede özelleşmiş haploid kromatinli spermatozoonlara dönüştüğü süreç spermatogenez olarak adlandırılır. Spermatojenik hücreler seminifer tübüllerde bazal lamina ile lümen arasında yerlesik 4-8 tabaka halinde düzenlenmiş hücre serileri olup (Şekil-7) üç ana gelişim aşaması gösterirler;

- 1- Spermatogoniyal faz; spermatogenez,
- 2- Mayotik faz; mayozis,
- 3- Spermatid faz; spermiyositogenez (31).



Şekil 5: Seminiferöz tübül epitelinin hücrelerinin şematik görünümü (32).

Puberteyle birlikte olgun spermatozoon üretimine başlanır ve bir testiste günlük yaklaşık 50-150 milyon spermatozoon üretilir (31). Olgun spermatozoon üretimi insanda 70 ± 4 günlük bir zamanda tamamlanır. Sıçanlardaki süreçte benzer şekilde gelişir, ancak yaklaşık 50 ± 4 gün sürer. Seminifer epitelyum siklusu; epitelyumda belli bir hücre evresinin ardışık iki görünümü arasında oluşan maturasyon değişiklikleri dizisini ifade eder. Bu evreler; sıçanda 14, fare ve maymunda 12, insanda 6 basamaklıdır (31). Prespermatogenik germ hücrelerinin spermatogonyumlara farklılaşması bazal lamina ile temaslarına bağlıdır (33).



Şekil 6: Spermatogenezin basamakları (50).

Primer spermatosit serinin en büyük hücresi olup belirgin bir çekirdeğe sahiptir (31). Primer spermatositten birinci mayotik bölünmeyle oluşan sekonder spermatosit birkaç saatlik bir ömre sahip olduğu için kesitlerde nadiren görülür. Akrozomun oluşumu, flagellumun gelişimi, çekirdek şekil ve büyüklüğündeki değişiklikler, kromatinin yoğunlaşması ve artık stoplazmanın atılmasıyla karakterize olaylar sonucu olgun spermatozoon oluşur. Morfolojik olgunlaşmalarını tamamlayan germ hücreleri seminifer tübül epitelyumundan lümene serbestleştirilir. Bu sürece spermiyasyon denir (Şekil-8).

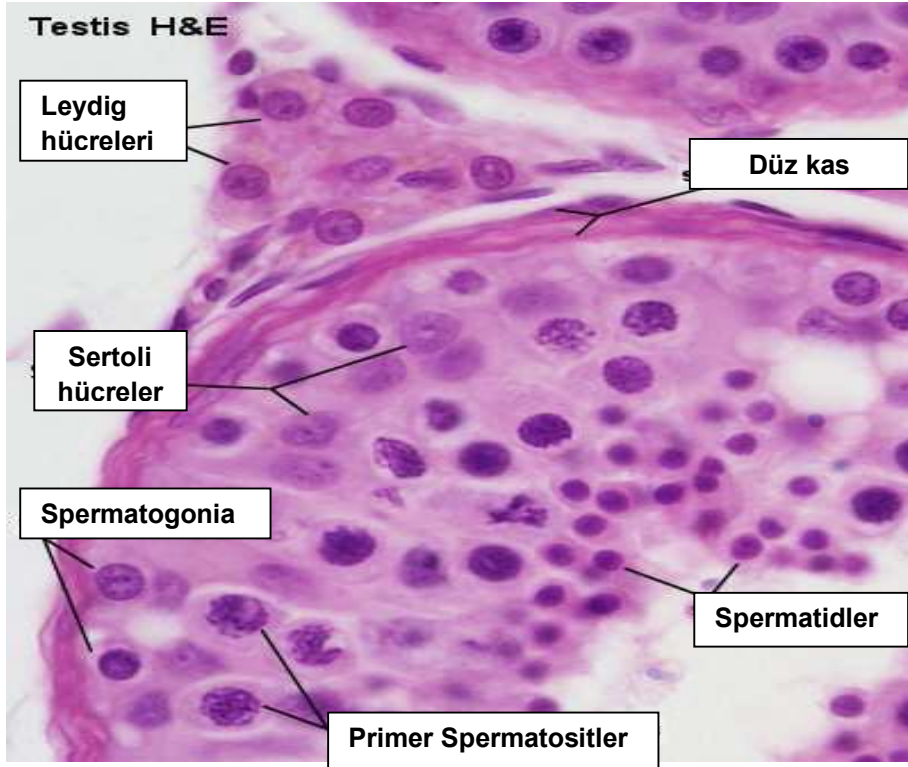
3.2.c. Sertoli Hücreleri:

Sertoli hücreleri bazal membran üzerine oturmuş seminifer epitelyum boyunca düzenli aralıklarla yerleşim gösteren, apikal ve yan yüzleri farklı kolumnar hücrelerdir (Şekil-8) . Tubulus yapısındaki hücrelerin yaklaşık % 10-15'ini oluşturur (29). Sertoli hücre sayısı ile günlük spermatozoa üretimi arasında doğru orantı vardır (34). Sertoli hücrelerinin toplam hacmi pubertal dönemde 2/3 oranında azalır (33).

3.2.d. İnterstisyel Doku

Testisin seminifer tübülleri arasında kalan alan, gevşek bağ dokusu, kan, lenfatik damarlar ve sinirleri içerir. Erişkin erkeklerde testis interstisyel dokusunun %35'i bağ dokusu ve %12'si de Leydig hücrelerinden oluşur. Bağ dokusu içinde fibroblastlar, mast hücreleri, makrofajlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri ve lenfositler bulunur.

Puberteyle beraber Leydig hücreleri (interstisyel hücreler) interstisyel dokunun en önemli bileşeni haline gelir (31).



Resim 8: Sertoli ve Leydig hücrelerinin görünümü [100x] (32).

3.2.e. Leydig Hücreleri:

İnsan ve sıçan testis dokularında testosteron sekresyonundan sorumlu hücrelerdir. İntrauterin dönemde plasental kökenli gonadotropinlerin kan yoluyla fetal testise ulaşp Leydig hücrelerini uyarmasıyla testosteron sentezi başlar. Testosteron artışı embriyonik genital organların erkeğe farklılaşmasını sağlar (35).

4. Üreme Fizyolojisi

Spermatogenez seminifer tübüllerde oluşur. İnterstisyel dokudaki Leydig hücreleri ve androjenleri salgılar. Leydig hücrelerinden salgılanan androjenler bu fonksiyonun gerçekleşmesi için gereklidir. Testosteron sentezi yalnızca spermatozoa üretimi için değil, aynı zamanda sekonder seks karakterlerinin gelişimi ve normal cinsel işlev için de gereklidir. Leydig hücre fonksiyonunun düzenlenmesi ve spermatogenez sürecinin gerçekleşmesi için ön hipofizden salgılanan lüteinizan hormon (LH) ve folikül uyarıcı hormon (FSH) kontrolü gereklidir. Ön hipofizin bu aktivitesi de hipotalamustan salgılanan gonodotropin serbestleştirici hormon (GnRH) ile düzenlenir. Hipotalamus kortikal ve subkortikal birçok merkezin etkisi altındadır. Bu hipotalamus-hipofiz-gonad eksenini feedback mekanizması ile kontrol edilir (36).

4.1. Spermatogenezisin oluşması:

Leydig hücreleri günde ortalama 7 mg testosteron üretebilir. Leydig hücrelerinden salınan testosteron, kan, lenfatik veya peritübüler dokuya geçerek buradan seminifer tübüllere ulaşır. Testis içindeki serbest testosteron düzeyinin kandaki düzeyden 200 kat fazla olması sonucu seminiferöz epitelyumda spermatojenik hücrelerin çoğalması, farklılaşması ve salınımı gerçekleşir.

Adenohipofizden LH salınımı serum testosteron düzeyi tarafından negatif feedback mekanizması ile kontrol edilir. Serum testosteron düzeyi düşüklüğünde, hipotalamustan LH spesifik GnRH ve adenohipofizden LH

salgılanır. Sertoli hücreleri tarafından erkek üreme fonksiyonlarını düzenleyici üç madde salgılanır.

- 1- Andojen bağlayıcı protein (ABP): FSH etkisiyle salgılanan ve germ hücre büyümesi için gerekli olan bir proteindir.
- 2- İnhibin: Spesifik olarak hipofizden FSH salınımını inhibe eden bir proteindir.
- 3- LH releasing faktöre benzeyen bir madde (31) .

4.2. Spermatozoanın olgunlaşması, emisyon ve ejakülasyon

Spermatozoa üretim yeri testis olmakla birlikte spermatozoanın olgunlaşması, depolanması ve taşınmasında asıl görev epididim tarafından gerçekleştirilir.

Spermatozoanın epididimden geçiş zamanı yaklaşık 3.2 gün olup yaşla ve cinsel aktiviteyle değişiklik gösterir. Spermatozoa testiste iken hareket kabiliyeti ve ovumu dölleme yeteneği yoktur. Epididim başı ve gövdesindeki olgunlaşma evresi sırasında spermatozoa hareket ve penetrasyon yeteneği kazanır. İlk hareketler yüksek frekans, düşük salınımla karakterizedir. Fertilizasyon yeteneği kuyrukta tamamlanır. Epididim aynı zamanda spermatozoa için depo görevi görür ve bu deponun % 50 den fazlası kuyruktadır.

Kuyrukta depolanan bu spermatozoalar vas deferense girer. Spermatozoa erkek üreme sistemi dışına emisyon ve ejakülasyonla atılır. Seminal vezikül ve prostattan gelen salgılarla birlikte spermatozoanın posterior üretrada depolanmasına emisyon denir. Bundan sonra eksternal sfinkter gevşer, mesane boynu kasları kasılır ve perineal ve bulboüretral kasların ritmik kontraksiyonlarıyla semen üretraya atılır. Somatik kontrol altında gerçekleşen sürece ejakülasyon adı verilir.

4.3. Semen İçeriği:

Semenin % 5 kadarını spermatozoalar oluşturur. Bunun dışında seminal vezikül, prostat ve üretral bezlerin semen içeriğine katkısı söz konusudur.

Seminal vezikül katkısı içinde fruktoz, prostaglandinler, fosforilkolin ve koagüle edici maddeler bulunur. Prostat bezi salgısı ile seminal sıvıya çinko, fosfolipidler, spermin ve fosfataz katılır.

Ejakülatın birinci bölümü spermatozoa açısından zengin, destek sıvıları açısından düşük içerikli yapıdadır. Semen ilk kısmı spermatozoa ve prostat salgılarının çoğunu, ikinci kısmı ise esas olarak seminal vezikül salgıları ve spermatozoa içerir.

Normalde fertilizasyon fallop tüpleri içinde oluşur. Menstrüel siklusun ortasında servikal mukus daha bol, ince ve kıvamsız yapıdadır. Bu değişiklikler spermatozoanın asidik vajinal ortamdan hızla uzaklaşarak uterus içine girmesini sağlar. Döllenmenin olması için spermatozoanın kadın üreme sistemi içinde bazı fizyolojik değişikliklere (kapasitasyon) uğraması gerekir. Ovum spermatozoon ile etkileşime girerek yeni flagellar hareketlerin (hiperaktif motilite) oluşumunu, litik enzimlerin salınımını ve akrozom reaksiyonunu tetikler. Bu değişiklikler sonucunda spermatozoa farklı tabakaları penetre ederek oosite ulaşabilir ve ooplazm ile bütünleşebilir (37).

4.4. Semen incelemeleri

Semen incelemelerinin standardizasyonuna duyulan ihtiyaç nedeniyle Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) ilk kez 1980'den başlayarak 1987, 1992 ve 2002'de "İnsan semeni ve insan semeni servikal mukus etkileşimlerinin incelenmesi için laboratuvar kitabını yayınlamıştır. Ancak androloji biliminin hızlı gelişimi ve semen analizlerinde standardizasyona verilen önem arttıkça 2010'da yeni bir değerlendirme yapılarak beşinci baskı çıkartılmıştır (65).

Yapılan değişiklikler ışığında, DSÖ'nün yeni kriterlerine göre standart semen analizinin özetine kısaca değinilmiştir.(54)

Tablo 4. Gerekli semen dilüsyonunun nasıl yapılacağı, sayma kamarası ve değerlendirilecek alanlar (65).

Sperm (Her 400 büyütmede)	Sperm (Her 200 büyütmede)	Gerekli dilüsyon	Semen	Fiksatif	Kamara	Sayılacak alanlar
>101	>404	1:20 (1+19)	50	950	Geliştirilmiş Neubauer	5,4,6
16-100	64-400	1:5 (1+4)	50	200	Geliştirilmiş Neubauer	5,4,6
2-15	8-60	1:2 (1+1)	50	50	Geliştirilmiş Neubauer	5,4,6
<2	<8	1:2 (1+1)	50	50	Geliştirilmiş Neubauer ve büyük volüm	9 karenin tamamı

Semen analizinin sonuçlarını etkileyebilecek bazı faktörler şu şekilde özetlenebilir:

- Ejakulatın toplanması: ejakulatın tamamının örnekleme kabına alınması önemlidir (55).
- Aksesuar bezlerin aktivitesi: aksesuar bezlerin salgıları semeni dilue ettiklerinden sperm konsantrasyonunu etkileyebilmektedir (56).
- Cinsel perhiz süresi: sperm hücreleri epididimde birikirler, üretra içine taşarlar ve idrarla atılırlar (57,58). Epididimal fonksiyonlar bozulmadığı sürece sperm canlılığı ve kromatini cinsel perhiz süresinden etkilenmez (58-60).
- Önceki ejakülasyonda epididimler tam olarak boşalmadıysa bu semen analizi sonuçlarını etkileyebilir ancak bunun ne kadar etkili olduğunu tespit etmek zordur (57,61).
- Testis boyutları spermatogenetik aktiviteyi yansıtır ve morfolojiyi de etkiler (62). Aslında bu değişkenler ve büyük çoğunluğu da değiştirilemez olan faktörlerin varlığı semen kompozisyonundaki birey içi farklılıkların da açıklamasıdır (63, 64). Bu nedenle sadece bir semen analizi kişinin semen kalitesini değerlendirmek için yeterli değildir. Temel verileri elde edebilmek için iki veya üç örneğin incelenmesi yararlı olacaktır. Semen analizi kişilerin klinik

durumları ile ilgili temel bilgileri edinmemizi sağlar. Semen analizi şu aşamalardan oluşur:

İlk 5 dakika:

- Alınan örneğin likefiye olması için inkübatöre (37°C) ya da tezgaha yerleştirilmesi.

30-60 dakika arasında:

- Semen görünümü ve likefaksiyonun değerlendirilmesi
- Semen hacminin ölçülmesi
- Semen pH'ının ölçümü
- Mikroskopik inceleme, sperm sayısı ve motilitesini değerlendirebilmek için dilüsyon ve ıslak preparatın hazırlanması
- Sperm canlılığının değerlendirilmesi (motil spermelerin oranı düşük ise)
- Sperm morfolojisinin değerlendirilmesi için semen yaymasının hazırlanması
- Sperm konsantrasyonunu değerlendirmek için semenin dilüsyonu
- Sperm sayısının değerlendirilmesi
- Yuvarlak hücreler varsa peroksidaz pozitif hücrelerin değerlendirilmesi
- Semen santrifüje edilmesi (biyokimyasal belirteçler çalışılacaksa)

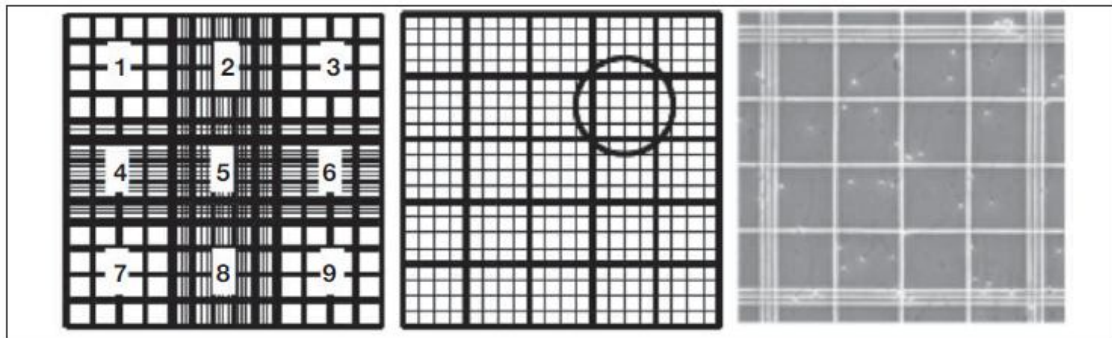
Üç saat içinde:

- Gerekiyorsa örneklerin mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmesi

Dört saatten sonra:

- Morfolojik değerlendirilme için preparat hazırlanması

Aynı gün içinde daha sonraki dönemde (örnek dondurulmuşsa sonraki gün):



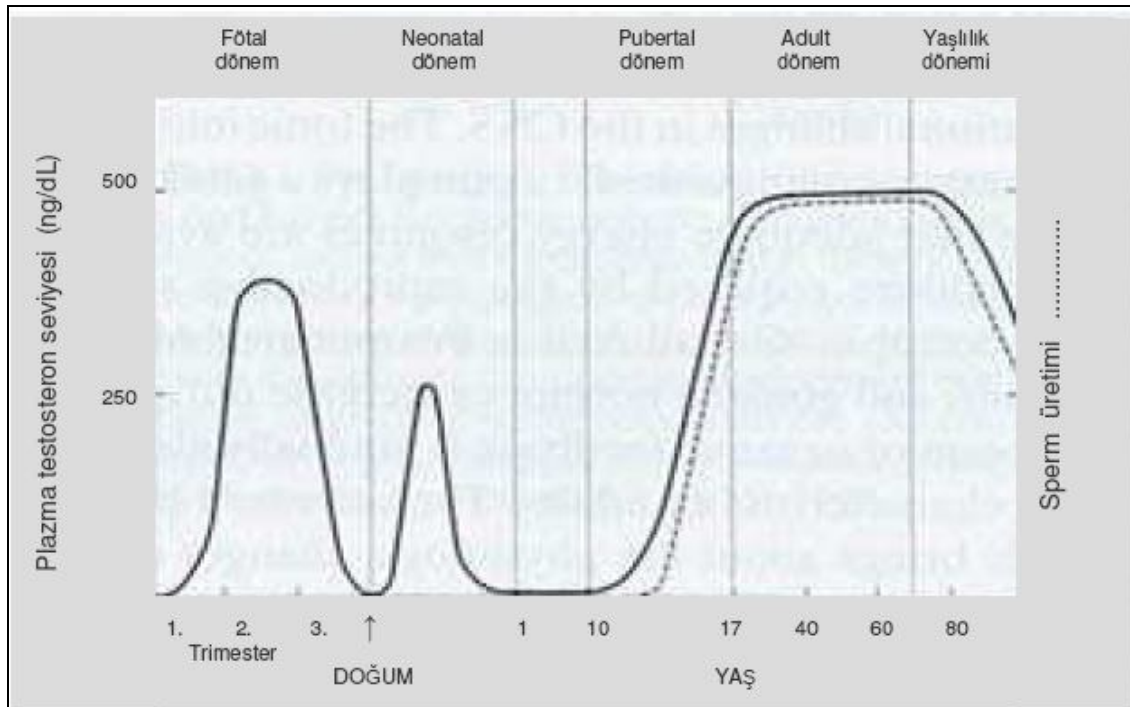
Şekil 7. Geliştirilmiş Neubauer hemositometresi. (65)

4.5. Spermatogenezisin Hormonal Düzenlenmesi:

4.5.1 Testosteron

Gestasyonun erken dönemlerinde, interstisyel hücrelerden, steroid salgılayan Leydig hücreleri gelişmektedir (38). Leydig hücrelerinin gelişimi, gestasyonun 8. haftasında testosteron salınımıyla beraber daha belirginleştiği saptanmıştır. 12-13. haftalarda ise Leydig hücre proliferasyonunun en yüksek düzeye çıktığı gösterilmiştir (39).

Gestasyonun 6. haftasında gonadlardan salınan testosteron ölçülebilir düzeydeyken 12-14. haftalarda yükselerek yetişkinlerdeki düzeyine ulaştığı; 24. haftadan doğuma kadar olan dönemde ise dişi fötuslardaki seviyeye düştüğü saptanmıştır (40). Serum testosteron seviyesinin, doğumdan sonra hızla yükseldiği; 5-10. günler arasında geçici bir düşüşün ardından artmaya başlayarak 2. ayda artış yaptığı gösterilmiştir. 6. aydan itibaren ise tekrar azalmaya başladığı ve pubertenin başlangıcına kadar düşük seviyelerde kaldığı, bu dönemden sonra ise artmaya başladığı gösterilmiştir (40), (Grafik 4).



Grafik 1: Erkeklerde serum Testosteron seviyesinin profili (50).

Erken f3tal yaşamda Leydig h3cre fonksiyonunun, human koryonik gonadotropinin (hCG) etkisi altında olduğuna inanılmışsa da g3ncel çalışmalarda testosteron salgılanmasının kontrol3n3n gonadotropinler tarafından yapıldığı kabul edilmiştir (41). F3tal serumda, hCG konsantrasyonu 8-12. haftalarda arttığı ve 11-14. haftalarda pik yaptığı g3sterilmiştir (42). F3tal hCG'nin pik yapması ile beraber testosteron artışının da olması, seks3el farklılaşma d3neminde hCG'nin Leydig h3crelerinin gelişiminden sorumlu olduğu hipotezini desteklemiştir. Yapılan alışmalarda Leydig h3crelerinde hCG resept3rlerinin olduğu g3sterilmiştir (43).

Testosteron, testisin Leydig h3crelerinde 3retildikten sonra seminifer tub3llere geçmekte; burada Sertoli h3crelerine girerek, normal sperm 3retimi için gerekli olan androjen bağlayan protein (ABP) sayesinde konsantre edilmektedir.

Testosteron, 5 alfa-red3ktaz'dan zengin dokularda, daha potent bir androjen olan dihidrotestosterona (DHT) d3n3řt3r3lmektedir. T ve DHT'nin, erkek genital yapısının ve ergenlik çağında sekonder seks karakterlerinin gelişmesinde anahtar rol oynadığı g3sterilmiştir (38, 44).

4.5.2 Gonadotropinler (LH-FSH)

Erkek f3tusta gestasyonun 10. haftasında tespit edilen hipofizer LH seviyesinin, 12. haftadan itibaren artmaya başladığı g3sterilmiştir. F3tal hipofiz tarafından 3retilen FSH'nın 12. haftaya kadar d3ř3k seviyelerde bulunduğu tespit edilmiştir. Bu haftadan sonra dişi f3tuslarda artmaya başladığı; erkek f3tuslarda ise 2. trimesterde 3nemsiz sayılabilecek miktarda y3kseldiği g3sterilmiştir (42).

Doğumdan sonraki 3-4. aylarda ise FSH ve LH d3zeylerinin arttışı; 4. yaşa kadar azalan bir seyir izledikten sonra 5. yaştan itibaren artış seyrine girerek pubertede en y3ksek d3zeyeye çıktığı tespit edilmiştir (45), (Grafik 5, Grafik 6). Gonadotropinlerin sekresyonu, hipotalamik n3ronlardan pulsatil olarak salınan Gonadotropin Salgılatıcı Hormonunun (GnRH) kontrol3 altında olduğu g3sterilmiştir (40).

LH'nın, primer olarak Leydig hücrelerinden testosteron salınımından sorumlu olduğu, sistemin kontrolünün negatif feedback ile düzenlendiği bulunmuştur. FSH'nın ise Sertoli hücrelerinin regülasyon ve maturasyonunu sağlayarak, testosteron ile beraber spermatogenezisin uyarılmasından sorumlu olduğu gösterilmiştir (42, 45, 46, 48). Sertoli hücrelerinden salgılanan inhibin B'nin, FSH salınımını negatif feedback ile düzenlediği tespit edilmiştir (48).

III – GEREÇ YÖNTEM

3.1. Hayvanların Seçimi ve Hazırlığı:

Çalışmada 30 adet Sprague-Dawley tipi erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden temin edildi. Sıçanlar 2 aylık olup ağırlıkları ortalama $236,71 \pm 19,18$ gr olarak ölçüldü. Çalışma Ağustos 2011 - Aralık 2011 tarihleri arasında İnönü Üniversitesi Deneysel Araştırma Laboratuvarında Ulusal Sağlık Enstitüsü'nün belirlediği hayvan deneyi kuralları çerçevesinde yürütüldü. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Etik Kurul onayı alınarak yapıldı.

Hayvanlar 40x60 cm'lik standart kafeslerde 5'erli gruplar halinde barındırıldı. Hayvanlar kafeslerine yerleştirildikten sonra 7 gün süreyle yeni ortamlarına uyum süreci beklendi. Beslenmelerinde özel olarak hazırlanmış ve 10'arlı 3 gruba ayrıldıktan sonra yaklaşık %12 civarında kullanılan fındık yağı, kanola yağı ve de normal yemden olacak şekilde kuru pellet yem ve günlük taze musluk suyu kullanıldı. Oda ışığı 12 saat aydınlık 12 saat karanlık, sıcaklık $22^{\circ}\text{C} \pm 2$ ve nem oranı $\%50 \pm 10$ olacak şekilde ayarlandı.

3.2. Deney Hazırlığı ve kullanılan gereçler:

3.2.1. Hayvan grupları:

Hayvanlar, uyum süreci tamamlanmasını takiben randomize olarak 10'arlı 3 gruba ayrıldı. Her grup 5'erli 2 kafeste barındırıldı. Birinci gruba hiçbir

ek işlem yapılmadı (Grup 1), ikinci grup yemine toplamda %12 olacak şekilde Fındık yağı ilave edilerek beslendi (Grup 2), üçüncü grup yemine toplamda %12 olacak şekilde Kanola yağı ilave edilerek beslendi (Grup 3).

3.2.2. Ratların seçilmesi:

Testis fonksiyonları dış etkilere kolaylıkla etkilenebilir. Bu etkilere biri de ışık periyodudur. Uzun fotoperiyodlar testis fonksiyonlarını artırırken, kısa fotoperiyodlar bu organ fonksiyonlarını azaltmaktadır (50). Araştırmamızda farklı ışık miktarından kaynaklanan gruplar arası herhangi morfolojik değişikliğin olmaması için sıçanların hepsi 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık fotoperiyodlarına tabi tutulmuştur.

Sıçan testislerinde sperm üretimi 75. güne kadar ve testis ağırlığı ise 100. güne kadar giderek artış gösterir. Sıçanların epididimis kuyruğunda ilk spermatozoa bulunduğu zaman, yani sıçanlar 50 günlük olduklarında, erişkin olarak kabul edilirler (53). Araştırmamızda kullandığımız tüm sıçanlar, sperm üretiminin en fazla olduğu 6 aylık erişkin sıçanların oluşması için yaklaşık 4 ay beslendi. Bu şekilde testis yapısı, sperm üretimi ve epididimal sperm sayısında yaşa bağlı farklılıkların ortadan kaldırılması amaçlandı.

3.2.3 Yemlerin hazırlanması:

Hayvanlara verilecek yemler daha önce yapılan çalışmalarda da olduğu gibi (4, 7) günlük yağ ihtiyacı yüzdesi göz önünde bulundurularak, ağırlıkları belirlenen pellet yemlere yaklaşık %12 oranında olacak şekilde sıvı yağlarla karıştırıldı. Belirli bir süre tamamen emilmesi sağlandı ve kontrol edilerek hayvanlara günlük yaklaşık 18-24 gr/rat olacak şekilde kafes yem haznesine konuldu. Yemlerin taze olarak verilebilmesi için haftalık yetecek şekilde az miktarlarda hazırlandı. İçecek suları ise taze musluk suyundan karşılandı.

Hayvanlar, ilk ölçüm başlangıçta olmak üzere haftada bir tartılarak ağırlıkları kaydedildi. 16. haftanın ilk günü hayvanlara i.p. uygun doz ketamine uygulanarak anestezisi yapıldı. Son ağırlıkları ölçüldü. Genital kabarıklık

hizasında orta hat kesisi yapılarak testisleri her gruptan olacak şekilde beş sağ, beş sol testis randomize olarak çıkarıldı. Epididimleri ayrılarak testislerin yaş ağırlıkları kaydedildi.

Ratların toraks boşluğu açılarak kalp apexinden direkt 21 G yeşil iğne uçlu enjektör ile yaklaşık 5-6 cc kan alınarak biyokimya tüplerine konuldu.

3.2.4 Biyokimyasal analiz yöntemi

Biyokimyasal analiz için alınan kanlar biyokimya tüpüne konularak 3500 rpm ' de 15 dk santrifüj edildi ve oluşan serum her gruptan çalışmaya yetecek şekilde ayrı tüplere alınarak numaralandırıldı. Serumlar Biyokimya laboratuvarında daha önce temin edilen, ratlara spesifik eliza kitleri; FSH (Cusabio Biotech Co.,Ltd), LH (Cusabio Biotech Co.,Ltd) ve Testosteron (DRG International, Inc USA.) kullanılarak, “Basic Radim Immunoassay Operator (BRIO); Radim spa, Pomezia, Italy” marka cihaz ile yöntemine uygun olarak değerlendirildi.

3.2.5 Histopatolojik ve immunohistokimyasal inceleme yöntemi

Histopatolojik değerlendirme için testisler, sıçanlardan cerrahi disseksiyonla ayrıldıktan sonra %10'luk formaldehitte 48 saat fiske edildi. Testis dokusu 2 mm aralıklarla mikrotom bıçağı ile doğrandı ve içlerinden bir dilim alınarak rutin doku takip işlemi yapıldı. Doku örnekleri parafin bloklar yapılarak her birinden 5 mikron kesitler alındı. Kesitlerdeki deparafinizasyon işleminden sonra rutin Hematoksilen – Eozin boyası ile boyandı.

Histopatolojik değerlendirme yapılırken önce küçük büyütme ile testisin mimari yapısı incelendi. Testis kesitlerinin incelenmesinde seminifer tübüllerin büyüklüğü ve sayısı, tubul bazal membran kalınlığı, seminifer tubüllerde germ hücrelerinin nispi sayıları ve tipleri, interstisyumda fibrozis derecesi ile Leydig hücrelerinin varlığı ve durumu genel olarak değerlendirildi. İncelemenin standardizasyonu için kantitatif skorlama yöntemlerinin en sık kullanılanlarından Johnsen (67) tarafından ortaya konulan ve incelenen her bir seminifer tubul için 1'den 10'a kadar skorlamanın yapıldığı yöntem kullanılmıştır.

Bu yöntemde skrolama şu kriterlere göre yapılmaktadır:

- 10 :** Çok sıralı, bol spermatozoa ve merkezde açık lümen içeren tubuller
- 9 :** Germinal epitelde çok sıralı, ancak dizorganize görünüm, lümende obliterasyona neden olan hücre dökülmesi
- 8:** Germinal epitel çok sıralı, ancak lümende 10'dan az sayıda spermatozoa var
- 7:** Spermatozoa yok, ancak çok sayıda spermatid mevcut
- 6:** Spermatozoa yok, sadece 10'dan az spermatid mevcut
- 5:** Spermatozoa veya spermatid yok, ancak spermatositler mevcut
- 4:** Spermatozoa veya spermatid yok, 5'den az spermatosit mevcut
- 3:** Sadece spermatogoniumlar mevcut
- 2:** Germ hücreleri yok, sadece Sertoli hücreleri mevcut
- 1:** Seminifer tubullerde hücre yok

İmmunohistokimyasal boyama için ise, 4 mikron kesitler alınarak polilizinli lamalar üzerine yerleştirildi. İmmunohistokimyasal boyamalar Lecia Bond Max (Leica Microsystems Inc. U.S.A) marka otomatik immunohistokimyasal boyama aleti ile otomatik boyandı.

Primer antikor olarak Testosteron primer antikoru (GeneTex, USA) kullanıldı.

İmmunohistokimyasal değerlendirme için semi-kantitatif bir yöntem olarak testosteron antikoru boyama şiddeti değerlendirildi (Tablo 5). En şiddetli antikor boyaması 3 puan olarak değerlendirildi.

Tablo 5: İmmunohistokimyasal değerlendirmede boyama şiddet puanlaması

Boyama yok	0
Hafif boyama	1
Orta şiddetli boyama	2
Şiddetli boyama	3

3.2.6 İstatistik analiz yöntemi

İstatistiksel hesaplamalar SPSS 15.0 for Windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois) yazılımı kullanılarak yapıldı. Kolmogorov – Smirnov testi ile parametrelerin normal dağılıma uyup uymadığı incelendi. LH, Testosteron, Jhonsen skorları, Ratların başlangıç ve deney sonu ağırlıkları ve deney sonrası testis ağırlıklarının normal dağılıma uygun olduğu ($p > 0,05$), FSH hormonunun ise normal dağılıma uygun olmadığı görüldü. ($p < 0,05$), Normal dağılıma uyan gruptaki istatistik analizlerde Kruskal-Wallis testi, One Way Anova testi ,Post Hoc tuckey testi yapıldı. Tüm değerlendirilmelerde $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. Değerler ortalama $\pm$ standart sapma (ortalama $\pm$ SS) olarak verildi.

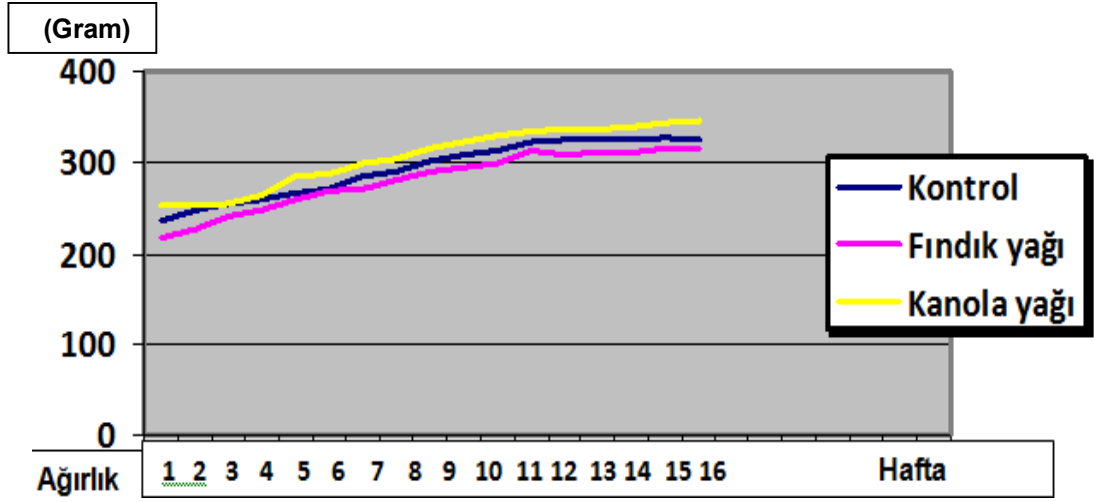
IV- BULGULAR

Deney sonuna kadar bütün sıçanlar yaşatıldı. Sıçanların başlangıçtaki ağırlıkları ortalaması, 16 haftalık beslenme sonrası ortalama ağırlıkları ve 16 haftalık beslenme sonrası her sıçandaki ağırlık Tablo-5'de ve Grafik-5'de gösterilmiştir. Hayvanların başlangıç ağırlıkları açısından gruplar arasında fark yoktu ($p>0,05$). Takip eden ölçümlerde ve deney sonunda ağırlıkları açısından anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

Tablo 6: 16 haftalık beslenme sonrası sıçanlardaki ağırlık artışı

GRUP	Kontrol Grubu AO $\pm$ SS	Fındık Grubu AO $\pm$ SS	Kanola grubu AO $\pm$ SS	P
İLK AĞIRLIK ORTALAMASI (gr)	247,2 $\pm$ 23,10	228,10 $\pm$ 34,00	252.50 $\pm$ 50,46	0,327
SON AĞIRLIK ORTALAMASI (gr)	325,60 $\pm$ 32,47	316,00 $\pm$ 27,39	345,50 $\pm$ 43,19	0,177

Çıkarılan testislerin yaş ağırlıklarının ortalaması; Kontrol grubunda $1,37 \pm 0,80$ gr, Fındık yağı ile beslenen grupta $1,34 \pm 0,13$ gr, Kanola yağı ile beslenen grupta $1,48 \pm 0,21$ gr olarak belirlendi ($p:0,103$). Testislerin yaş ağırlığı açısından gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$).

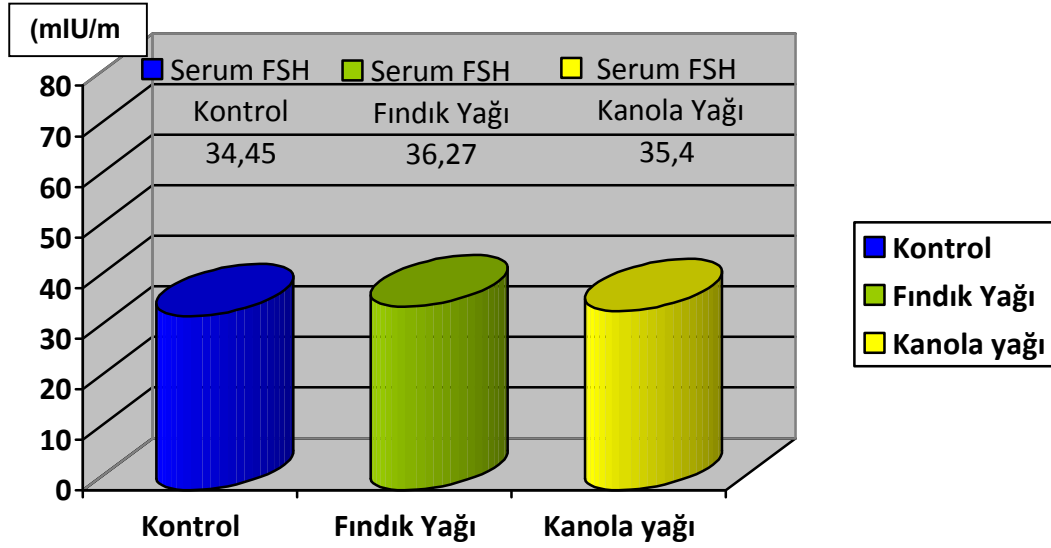


Grafik 2: Her üç grubun 16 haftalık ortalama ağırlık artış grafiği

Her üç grup serum ortalama FSH düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). (Grafik 6, Tablo 6)

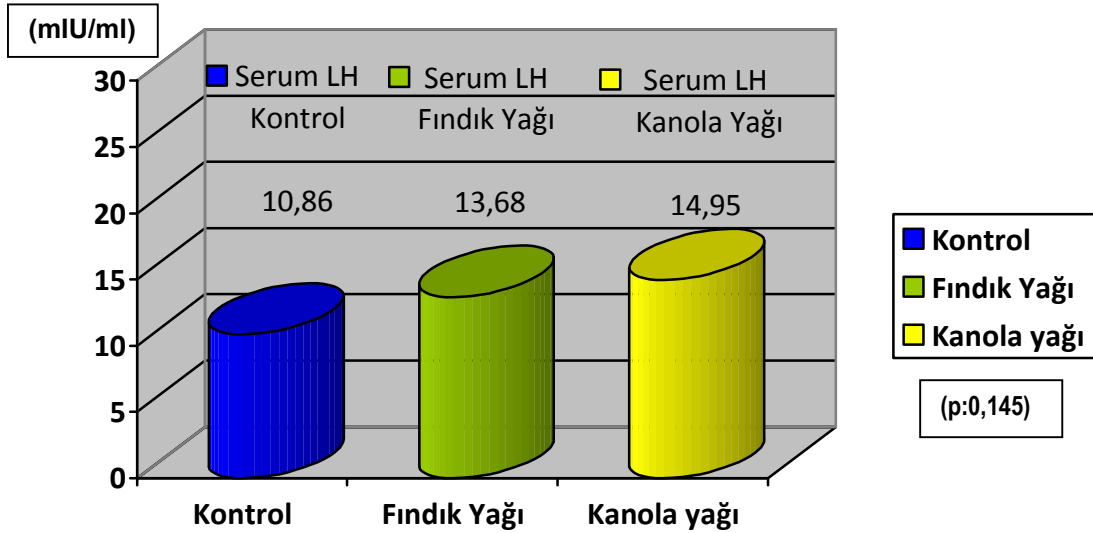
Tablo 7: Serum FSH ortalamalarının grupsal dağılımı ($p:0,676$)

HORMON	FSH (Minimum-Median-Maximum)	Ortalama değerler
KONROL	12,97 - 26,38 - 77,24	34,453
FINDIK YAĞI	21,74 - 30,90 - 78,44	36,276
KANOLA YAĞI	19,06 - 31,91 - 69,33	35,409



Grafik 3: Her üç grubun ortalama FSH değerleri (mIU/ml)

Her üç grup serum ortalama LH düzeyleri karşılaştırıldığında Kanola yağı ve Fındık yağı ile beslenmiş grup sıçanlarda istatistiksel açıdan anlamlı olmayan şekilde yüksek bulundu ($p>0,05$). (Grafik 7, Tablo 6)

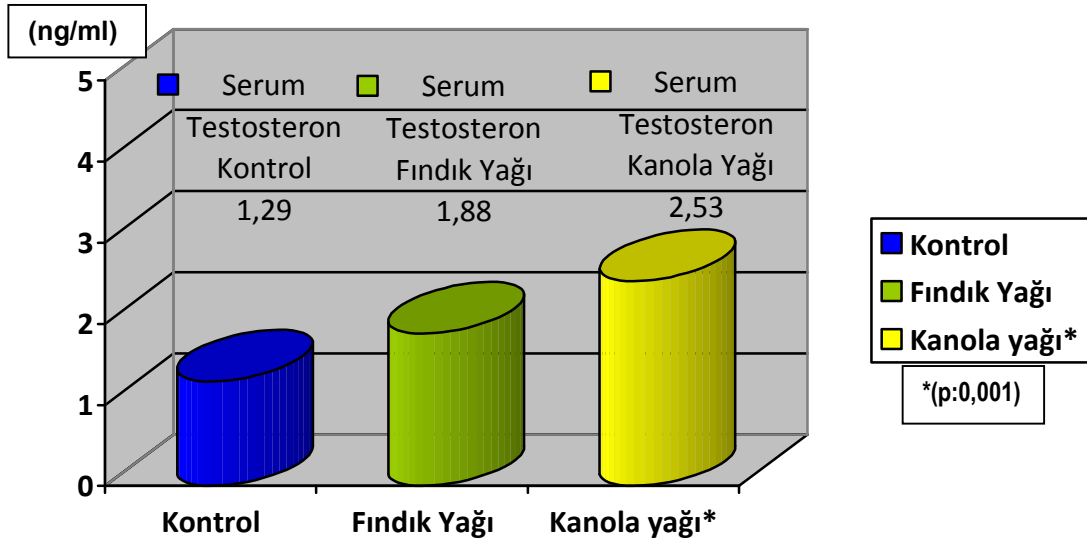


Grafik 4: Her üç grubun ortalama LH değerleri (mIU/ml)

Tablo 8: Serum Hormon LH ve Testosteron değerleri ortalaması * (p:0,001)

GRUP	LH (mIU/ml)	TESTOSTERON (ng/ml)
	AO $\pm$ SS	AO $\pm$ SS
KONROL	10,86 $\pm$ 5,47	1,29 $\pm$ 0,45
FINDIK YAğI	13,68 $\pm$ 3,99	1,88 $\pm$ 0,68
KANOLA YAğI	14,95 $\pm$ 4,55	2,53 $\pm$ 0,74*

Her üç grup serum Testosteron düzeyleri karşılaştırıldığında Kanola yağı ile beslenmiş grupta istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha yüksek bulundu. (p<0.05), (Grafik 8, Tablo 6), Fındık yağındaki hafif yükseklik anlamlı bulunmadı. (p>0.05)



Grafik 5: Her üç grubun ortalama Testosteron değerleri (ng/ml)

Testis dokusunun histolojik incelemesinde;

Histopatolojik inceleme için çıkarılan testisler %10 luk formaldehit içinde muhafaza edilerek incelemeye uygun yöntemle tüm alanı alacak şekilde kesildi.

Tunica albuginea ile sarılmış sıçan testis parankiması, seminifer tubuller ve intersisyel alanda Leydig hücreleri ve intersisyel bağ dokusu incelendi.

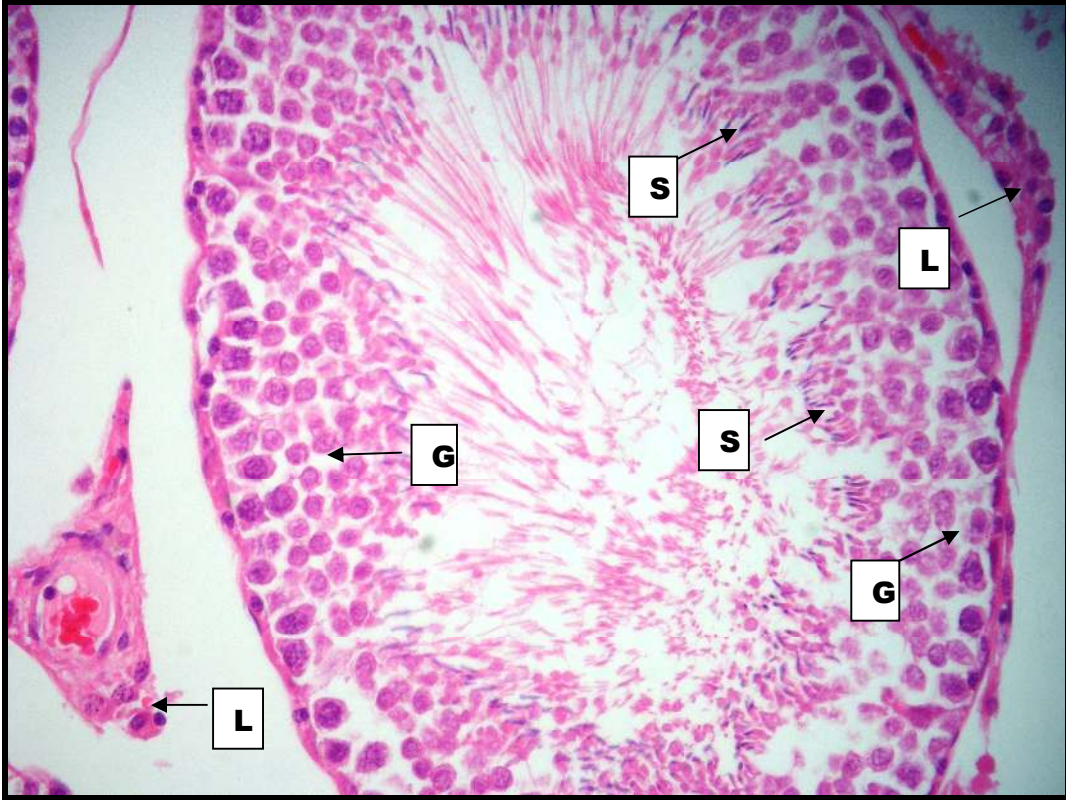
Her rat testisi için histopatolojik incelemede enine kesilmiş 10 seminifer tubul rastgele olmak üzere Johnsen kriterlerine göre 1'den 10'a kadar skorlandı.

Bu seminifer tubul özellikleri Johnsen skorum sistemine göre değerlendirildikten sonra her rat için ortalama değer hesaplanıp daha sonra toplam grup skoru ve onun ortalamasına ulaşıldı. (Tablo 7)

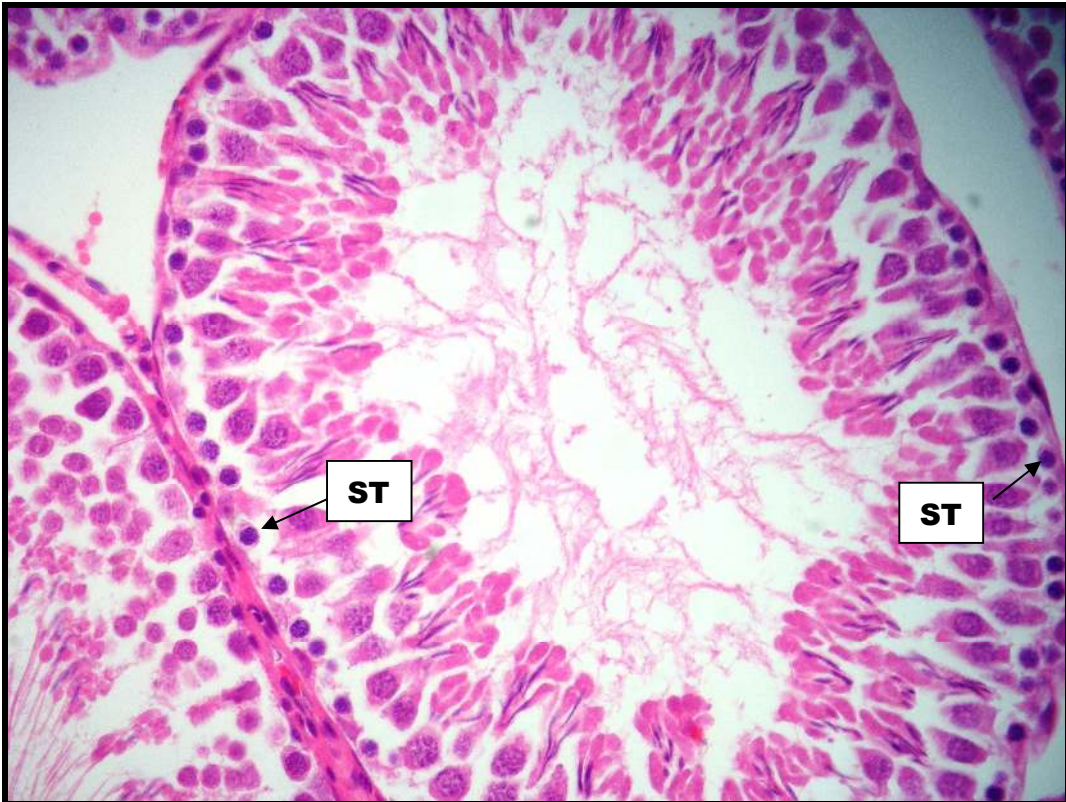
Tablo 9: Her grubun Johnsen testis biopsi skoru ortalamaları (p:0,362)

GRUPLAR	Johnsen skoru ortalaması (AO $\pm$ SS)
Kontrol Grubu	9,37 $\pm$ 0,27
Fındık Grubu	9,21 $\pm$ 0,31
Kanola grubu	9,26 $\pm$ 0,20
Toplam	9,28 $\pm$ 0,25

Toplam Johnsen skoru ortalamaları arasında 3 grupta anlamlı olarak bir fark saptanmadı (p>0.05).



Resim 9: Kontrol grubu sıçanlardaki seminifer tübül içerisinde bol miktarda germ hücresi (G), lümenal yüzeyde çok sayıda spermatozoa (S) ve intertisyel alanda leydig hücreleri (L) (40x)



Resim 10: Fındık grubu sıçanlarda; zeminde sertoli hücreleri (ST) ile komşuluk gösteren germ hücreleri ve lümeninde çok sayıda spermatozoa gözlenmektedir. (40x)



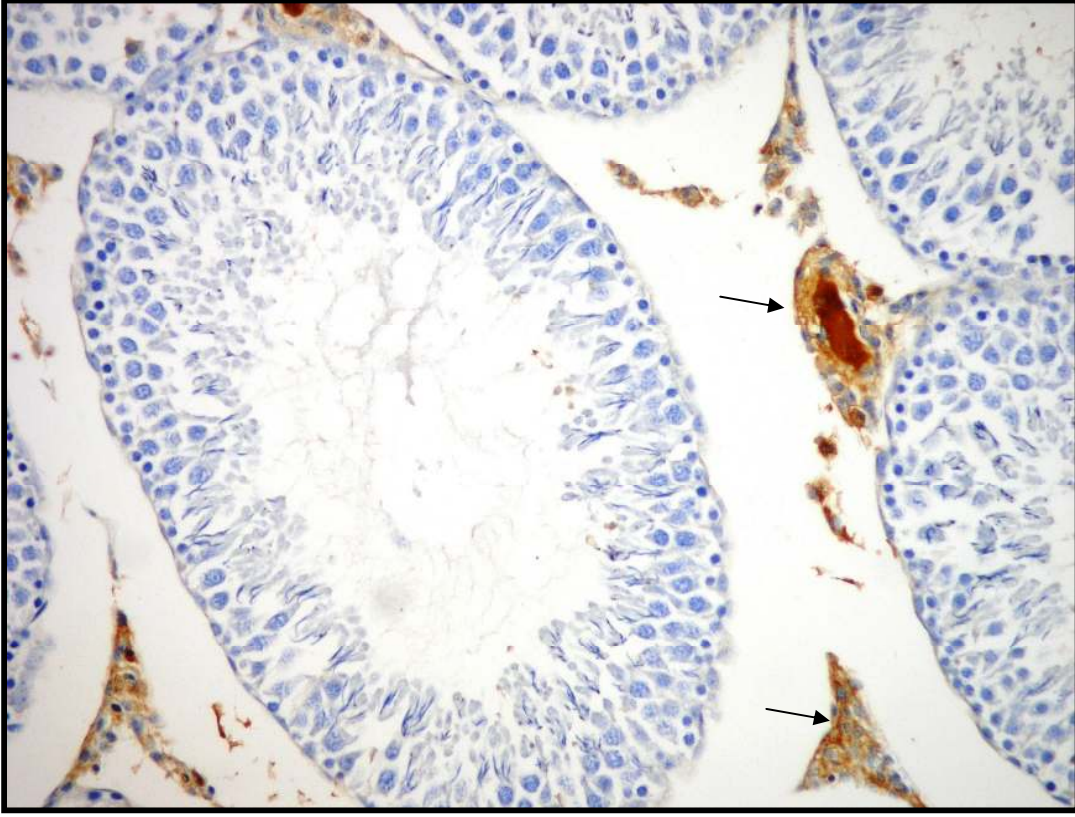
Resim 11: Kanola grubu sıçanlarda; seminifer tübül içerisinde normal spermatogenez ve bol miktarda spermatozoa görünmektedir. (40x)

Doku primer testosteron antikoru değerlendirilmesi için immunohistokimyasal olarak hazırlanan dokular, otomatik cihazla boyandıktan sonra semi-kantitatif olarak boyama şiddetine göre skorlanarak değerlendirildi. (Tablo - 7)

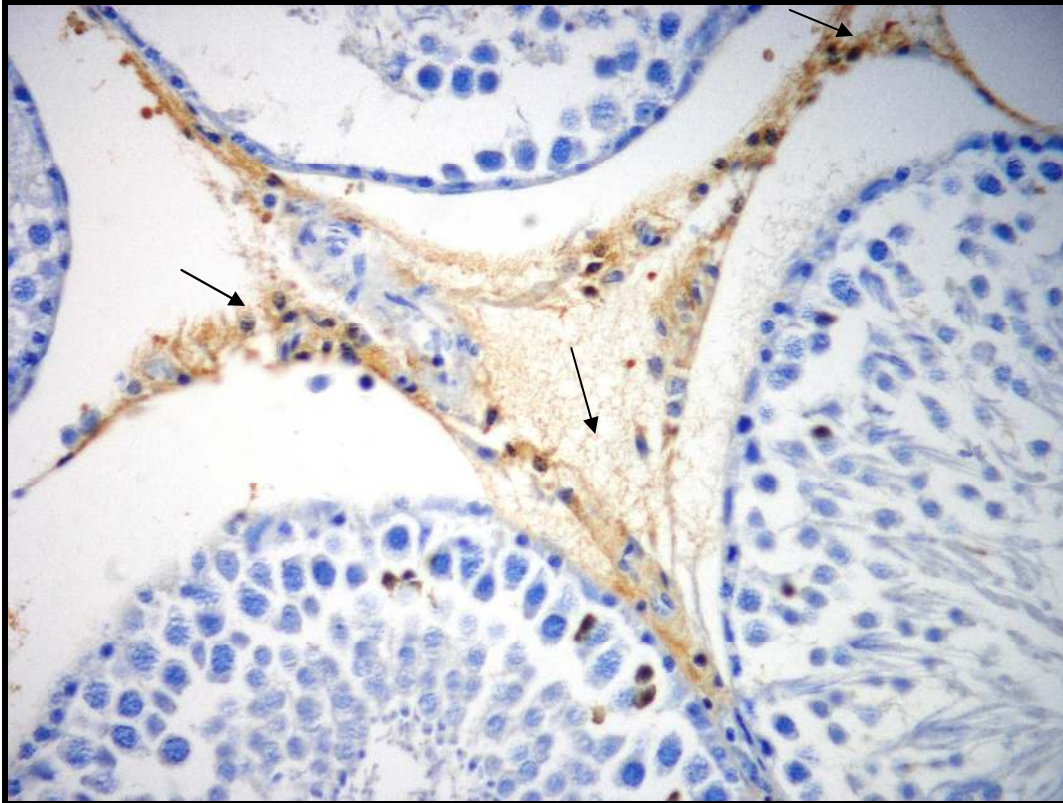
Tablo 10: Her rat için, IHK yöntemiyle belirlenen testosteron antikoru boyama şiddet skorları

RATLAR											ORTALAMA	İHK BOYAMA SKORU	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		0	YOK
KONTROL GRUBU	3	3	2	2	2	1	3	3	3	3	2,5	1	HAFİF
FINDIK GRUBU	3	1	3	3	3	2	2	2	3	3	2,5	2	ORTA
KANOLA GRUBU	2	3	3	3	2	2	3	3	2	3	2,6	3	ŞİDDETLİ

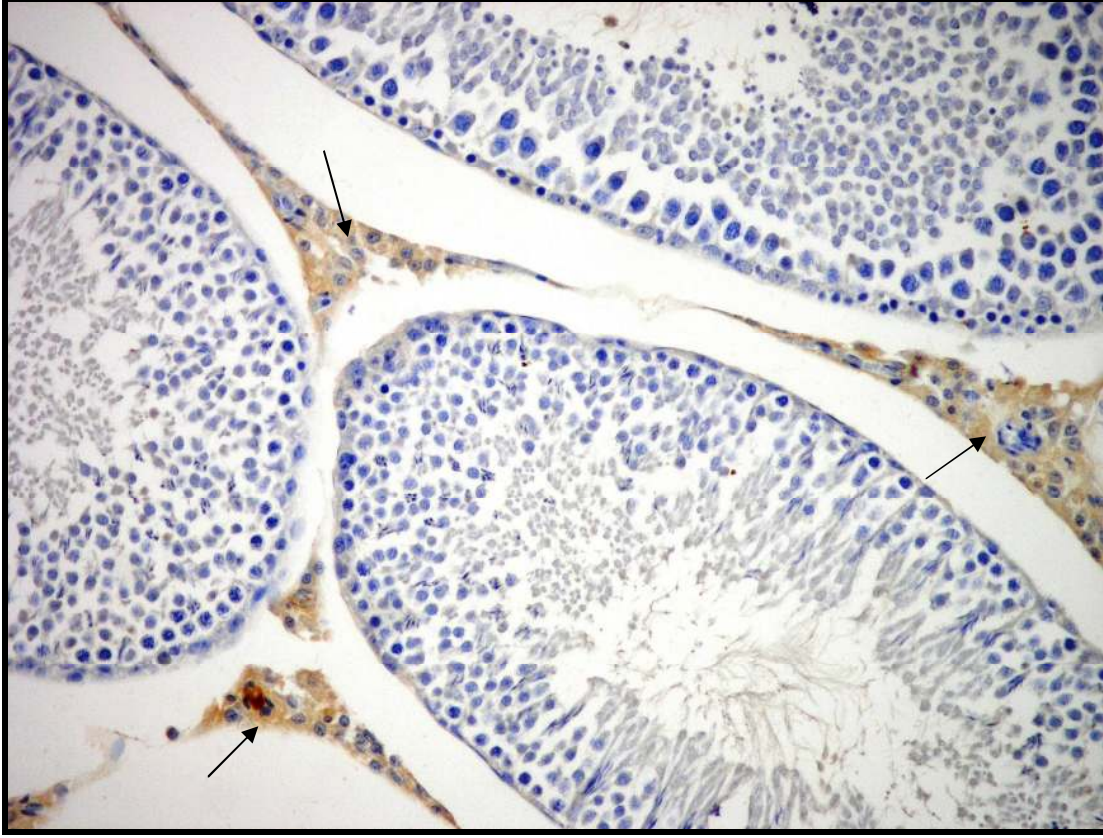
Toplam doku testosteron antikoru immunohistokimyasal boyama şiddeti skorları ortalamaları arasında 3 grupta anlamlı olarak bir fark saptanmadı.



Resim 12: Kontrol grubu sıçanlardaki intertisyel leydig hücrelerinde diffüz IHK boyama şiddeti 20x (Skor:3)



Resim 13: Fındık grubu sıçanlardaki intertisyel leydig hücrelerinde diffüz IHK boyama şiddeti 40x (Skor:2)



Resim 14: Kanola grubu sıçanlardaki intertisiyel leydig hücrelerinde diffüz IHK boyama şiddeti 20x (Skor:1)

V - TARTIŞMA

İnsan beslenmesinde önemli bir yere sahip olan yağlar, insanların yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmesi için gerekli olan ana besin maddelerinden biridir.

Yetişkin bir insanın günlük faaliyetlerini sürdürebilmesi için yaklaşık 2000-3000 kaloriye gereksinimi vardır. Bunun 650-900 kadarının yağlardan karşılaması gerekmektedir ki bu da yaklaşık 93 gr. yağa tekabül etmektedir. Bu miktar yağın 1/3'ü sıvı olarak yemeklerle, 1/3'u katı yağ olarak kahvaltılarda ve geri kalan 1/3'ü ise peynir, süt, fındık v.b. besinlerden karşılanmalıdır.

Fındık ve Kanola yağı ülkemizde son zamanlarda günlük beslenmemizde artış gösteren bir hızda kullanılmaya başlanmış olmakla beraber hala vücut üzerine yaptığı olumlu veya olumsuz katkıları tam anlamıyla ortaya çıkarılamamıştır.

Okuyama ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada stroke eğilimli hipertansif ratlarda steroid hormonlar, kanola ve soya fasulyesi yağlarını 3 aylık olacak şekilde kullanarak kıyaslamışlardır. Sonuç olarak kanola grubunda serum ve testiste ölçülen testosteron değerleri soya fasulyesi grubuna kıyasla anlamlı olarak düşük bulunurken, dokudaki kortikosteron ve estradiol seviyelerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu değişikliğin hipertansif ratlarda görülen bir fizyopatolojiye bağlı olabileceği yorumlanmıştır (4).

Rzehak ve arkadaşlarının beslenmesine canola yağı eklenen ve eklenmeyen infantlarda 4.haftadan 7. aya kadar gözlem yapılmış olup kilo ve boy açısından anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (5).

Peter L.Mclennan ve arkadaşlarının (6) yaptığı çalışmada; ratlarda diyetle alınan modifiye kanola yağının miyokardiyal yağ asiti ve kardiyak aritmi inhibisyonuna etkisi araştırılmıştır. Sonuç olarak, düzenli kanola yağı ile beslenenlerde, başta geçici iskemik atak gibi olaylarla hayatı tehdit edebilecek kardiyak aritmi olasılığını düşürdüğünü ancak yüksek linoleik asit seviyesinin alfa-linolenik asitin etkinliğini düşürdüğünü göstermişlerdir.

Y.Naito ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise %10'luk kanola ve soya fasulyesi yağı ile 13 hafta beslenen Wistar Kyoto ratlarda karşılaştırma yapılmışlar ve sonuç olarak ilk 5 hafta kanola grubunda soya fasülyesi grubuna göre kan basınçları anlamlı yüksek bulunmuştur. 13 hafta sonra plazma sodyum ve serum lipidleri kanola grubunda yüksek bulunurken potasyum seviyesi soya grubuna nazaran düşük bulunmuştur. Ayrıca kanola grubunda nötrofil sayısı yüksek, trombosit sayısı ise düşük bulunmuştur (7).

Fındık ve fındık yağı ilgili literatürde biodizel teknolojisi ve fındık özelliklerini belirten çalışmalar dışında yeterli sayıda çalışma olmamakla beraber ülkemizde yapılan bir çalışmada ceviz ve fındığın antilipidemik, antiaterojenik ve antioksidan özellikleri fındık veya ceviz içeren aterojen diyetle 8 hafta süre ile beslenen sıçanlarda araştırılmıştır. Fındık içeren aterojen diyetle beslenen grupta, total ve (LDL+VLDL) kolesterol düzeylerinde istatistik olarak anlamlı olmayan bir azalma eğilimi görülmüştür (8).

Bahsedilen yağ asitlerinin vücudumuza faydaları değişiktir. Kanola yağı, kandaki kolesterol dengesini sağlayarak trigliserid seviyesini düşürmekte ve kalp damar hastalıkları riskini azaltmaktadır.

Kanola Yağı E vitamini açısından zengin olup, hücreleri koruyucu ve yenileyici etkisiyle, antioksidan özelliği sayesinde başta kanser olmak üzere bir çok hastalığa karşı önemli bir destek olduğu düşünülmektedir (2,3)

Kanola yağının etkileri de geçmişten günümüze birçok çalışmada (4, 5, 6, 7, 8) kullanılmış olup bunlardan üreme sistemiyle ilgili olarak; Okuyama ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada testosteron hormonu değerlendirilmesi yapılmıştır (4).

Kanola yağı ve Fındık yağı ile beslenen sıçanlarda üreme fizyopatolojisini ortaya çıkarabilmek amacıyla serumdaki FSH, LH ve Testosteron hormonlarını ve testis dokularındaki histopatolojik değişiklikleri testosteron antikoru kullanarak testis dokusundaki testosteron miktarını incelemeyi amaçladık. Literatürde “Canola oil ve Hazelnut oil” ile ilgili yapılan taramada üreme sistemini ilgilendiren Kanola yağını da içeren, Okuyama ve ark. yaptığı (4) çalışma dışında yaptığımız taramalarda FSH, LH ve Testosteron hormonu incelenip testis histopatolojisi araştırılan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Fındık yağı ve Kanola yağı ile beslenen sıçanlardaki üreme sisteminde anahtar rol oynayan serum FSH ve LH ve Testosteron hormonlarının ELISA yöntemi ile her gruptaki düzeyleri belirlendi. Çünkü FSH ,LH hormonal değerleri, testosteron ile birlikte değerlendirildiğinde üreme fizyopatolojisindeki aksaklıkların testis veya hipotalamohipofizer aksın durumunu belirleyebilmek açısından önemli bilgiler vermektedir. Yaptığımız çalışmada Kanola yağı ve Fındık yağı ile beslenen sıçanlar da Kontrol grubuna kıyasla serum testosteron düzeyleri özellikle Kanola grubunda anlamlı olarak artmış olduğu ($p < 0,05$) görüldü. Fındık grubunda da Kontrol grubuna kıyasla yüksek değerler saptanmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmedi ($p > 0,05$). Vücut ağırlıkları ve testis ağırlıkları karşılaştırıldığında ise her üç grupta da anlamlı bir fark ($p > 0,05$) bulunamamıştır.

FSH hipotalamus etkisiyle ön hipofizden salgılanır ve sertoli hücrelerini uyarır. Böylece spermatidlerden sperm oluşumunu hızlandırır. Erkeklerde FSH yeterli testiküler fonksiyonun gelişimin de ve sürdürülmesinde etkilidir (68,69). Fetal ve neonatal gelişim evrelerinde FSH Sertoli hücrelerinin proliferasyonunu aktive eder ve gelişen süreçte puberte fazında spermatogonyanın mitotik aktivitesini indükler ve mayotik bölünmeyle gerçekleşen hücresel farklılaşmayı

yuvarlak spermatid evresine kadar destekler (70). Gerçekte literatürde, bazı çalışmalar FSH tedavisinin spermatogonial popülasyonu, sperm konsantrasyonunu ve normal plazma gonadotropin konsantrasyonu bulunan oligospermik hastalarda gebelik oranını arttırabildiğini göstermektedir (71,72, 73). Yaptığımız çalışmada; FSH değerleri arasında her üç grupta da anlamlı bir fark ($p > 0,05$) bulunamamıştır.

LH hipotalamus etkisiyle (GnRH), ön hipofizden salgılanır ve interstisyel leydig hücrelerinden testosteron salgılanmasını uyarır. (74,75) Yaptığımız çalışmada; LH değerleri arasında Fındık yağı ve Kanola yağı ile beslenen gruplar da da Kontrol grubuna kıyasla yüksek değerlerde olmasına rağmen bu istatistiksel olarak anlamlı değildi ($p > 0,05$). Bu sonuçlar bu tür yağların, hipotalamus etkisiyle GnRH uyarımını arttırmaya bağlı olabileceği gibi direkt olarak ön hipofizi etkileyerek oluşan hafif LH uyarımını gerçekleştirmiş olabilir. Aynı şekilde Testosteron miktarının da özellikle Kanola grubunda anlamlı olacak şekilde , LH ile doğru olarak kullanılan yağlarla beslenen sıçanlarda artmış olması, bu etkinin hipotalamohipofizer aks yolu ile oluştuğunu düşündürmektedir. Bizim çalışmamızda da testosteron miktarı Kanola yağı ile beslenen sıçanlarda kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$). Fındık yağı ile beslenen gruptaki yükseklik anlamlı olarak görülmemiştir ($p > 0,05$).

Testosteronun, erektil disfonksiyon ve libido üzerine daha önce yapılan çalışmalarda etkileri gösterilmiş olup (77, 78, 79, 80) Bu durumun cinsel fonksiyonların sağlıklı bir şekilde idame edilebilmesine ve libido dengesine katısı olabileceği düşünülmektedir. Bu yağların FSH değerleri üzerine kontrol grubuna göre anlamlı bir etki oluşturmaması bu hormonların hipotalamus'a kıyasla ön hipofizden etkisi olma ihtimalini arttırmış olup, FSH ile LH aynı alfa subünitlere sahip olmasına rağmen (76), biyolojik özgünlüklerini belirten beta subünitleri nedeniyle farklı olduklarından bu yapıya spesifik olarak etkilemiş olabileceği düşünülebilir.

Bu çalışmada histolojik parametrelerden Johnsen skoru kullanıldı. Çünkü; Johnsen skoru seminifer tübüllerde gerçekleşen spermatogenezin yeterliliğini ve olgun spermatozoa sayısını verir (67). Daha önceden fındık yağı

ve kanola yağının testis histopatolojisine yaptığı etkiler belirtilmemiş olup bizim çalışmamızda bu yağların dokuda yapabileceği herhangi bir etkiyi hem histopatolojik inceleme hem de testosteron primer antikoru kullanarak doku düzeyindeki testosteron etkisini görmeyi hedefledik.

Her üç grubun testis dokusu histopatolojik olarak incelendiğinde aralarında Johnsen skoru değerlendirmesi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. ($p > 0,05$). Böylece günlük yaşantımızda kullandığımız bu yağların herhangi bir patolojik zararı gözlenmemiş olup, yine immunohistokimyasal yöntemle bakılan dokudaki testosteron boyama şiddetine göre semi-kantitatif değerlendirmede her üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. ($p > 0,05$).

Dokudaki bu eşit dağılıma karşın Fındık ve Kanola yağı ile beslenmiş sıçanlarda serum LH ve testosteron miktarlarının yüksek olması, bu durumun doku üzerine aynı şekilde etki etmediğini düşündürebilir.

Bu sebeple bu konunun iyi incelenebilmesi; sperm sayısı, motilitesi ve fonksiyonlarına asıl etkisinin araştırılabilmesi için ek araştırmalara gerek vardır.

Sonuç olarak; Kanola yağı ve Fındık Yağı ile beslenen sıçanlarda istatistiksel olarak kontrol grubuna göre Kanola yağında testosteron hormon düzeyinin anlamlı olarak daha fazla olduğu ve her iki yağda anlamlı görülemese de yüksek serum LH hormon yüksekliği saptadık. Aynı şekilde her üç grupta yaptığımız histopatolojik inceleme ile Johnsen skorlarında ve doku primer testosteron antikoru tayininde herhangi bir anlamlı fark bulamadık. Dokudaki bu durumun tam etkisinin belirlenebilmesi ve spermiyogenez üzerine etkisinin anlaşılabilmesi için ek çalışmalara gerek duyulacağını düşünüyoruz.

Çalışmamızda Fındık ve Kanola yağı ile beslenen ratların testislerinde histopatolojik olarak bir zarar görülmemektedir. LH ve Testosteron hormonlarının kontrol grubuna kıyasla yüksek çıkması, üreme sistemi üzerine olumlu etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Testosteron yüksekliğinin erkek bireylerde yarattığı libido gücü ve sekonder seks karakterlerine etkisi düşünüldüğünde alternatif olarak doğal yoldan testosteron eksikliğine bağlı ek sorunları olan hastalara kullanılması önerilebilir.

İnfertilite nedeniyle başvuran hastalara, sperm fonksiyonları ve sayısı açısından destek amaçlı kullanılan bir antioksidan olan E vitamini (81) özellikle Fındık yağında bol miktarda olduğundan bu tür hastalara günlük diyetlerinde kullanılması önerilebilir. Ayrıca potansiyel etkisi düşünüldüğünde; Prostat Ca tanısı konulmuş bireylerde testosteronun yüksek olması hastalığın seyrini kötüleştirebileceğinden bu tür hastalarda da bu tür yağların kullanımının dikkatli olması gerektiğini düşünüyoruz.

VI - SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- 1- Kanola yağı ve Fındık yağı ile beslenen sıçanlarda sonuç itibariyle kontrol grubuna göre herhangi bir ağırlık farkı istatistiksel olarak gözlenmemiştir. Bu da bu yağların deneklerde yaşam koşullarını ve vital bulgularını önemli olarak etkilemediğini göstermektedir.
- 2- Bu gruplar arasında deney sonunda ölçülen testis ağırlıkları arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir.
- 3- Kanola yağı ve Fındık yağı ile beslenenlerde Serum Testosteron miktarının özellikle Kanola grubunda anlamlı olarak yüksek çıkması bu tür hormonların mekanizmasına etki ettiğini göstermektedir. Bunun olası nedeninin hipotalamo-hipofizer aks üzerinden olduğunu düşündürmektedir.
- 4- Aynı şekilde bu yağların, serum FSH değerine anlamlı bir etki yapmadığı görülmüştür. FSH hormonunun etkilenmemesi bu LH spesifik etkinin, salgılandığı ön hipofiz üzerinden olabileceğini düşündürmektedir.
- 5- Histopatolojik değerlendirilmede kullanılan standardizasyon kriteri olarak Johnsen skorlamasına göre; Kontrol grubuna kıyasla Fındık ve Kanola yağı ile beslenen deneklerde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmaması, bu yağların testis dokusuna herhangi bir patolojik etkisinin olmadığını gösterir.

- 6- İmmunohistokimyasal olarak testis dokusunda bakılan testosteron primer antikoru değeri semi-kantitatif olarak yoğunluklarına göre skorlanmış olup her üç grupta da anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu durumda bu yağların kontrol grubuna kıyasla serum LH ve Testosteron hormonunun yüksek olması, testis dokusunda da aynı etkiyi net olarak göstermediğinin belirtisidir.
- 7- Çalışmamızda, 16 hafta süreyle Fındık ve Kanola yağı ile beslenen erkek sıçanlardaki Serum FSH, LH, Testosteron ve testis histopatolojisini ayrıca testis dokusunda testosteron miktarını değerlendirdik. Bu yağlarla beslenen sıçanların serumundaki testosteron ve LH yüksekliğinin aynı şekilde testiste belirli bir testosteron artışına neden olmaması bu çalışmanın daha uzun süreli yapılması gerekliliği göstermiş olabilir. Ayrıca üreme sistemine tam etkisinin değerlendirilebilmesi için; sperm sayı, motilite ve morfolojisinin değerlendiren çalışmalara ihtiyaç olduğu, böylece bu yağların üriner sistem ve fertilité üzerine net etkilerinin daha iyi anlaşılabilceğini göstermiştir.

VII - ÖZET

FINDIK YAĞI VE KANOLA YAĞI İLE BESLENEN ERKEK RATLARDA SERUM HORMON VE TESTİS HİSTOPATOLOJİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Çalışmanın amacı Fındık yağı ve Kanola yağının erkek üreme sistemi üzerinde; serum hormonları ve testis üzerindeki histopatolojik etkilerini incelemek.

Bunun için 30 tane Sprague-Dawley tipi erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar 3 gruba ayrılarak 16 haftalık süren bir deney yapıldı. 1. grup kontrol grubu olarak belirlenirken 2. grup Fındık yağı ile beslenen, 3. Grup ise Kanola yağı ile beslenen grup olarak oluşturuldu. Deney sonunda hayvanların tümü sakrifiye edilerek testisleri alındı. Serumda FSH, LH, Testosteron hormonu, testis dokusu ise histopatolojik olarak incelenip immünohistokimyasal olarak primer testosteron antikoru bakıldı.

Gruplar arasında hayvanların davranış şekillerinde ve tartı takibinde anlamlı bir fark görülmedi. Fındık yağı ve Kanola yağı ile beslenen erkek ratlarda Kanola grubunda daha fazla olmak üzere serum LH ve Testosteron hormonu yüksekliği belirlenirken testis dokusunda ışık mikroskopisi ile yapılan histolojik incelemede kriter olarak seminifer tübüllerdeki spermatogenezi gösteren Johnsen skoru baz alındı ve histopatolojik olarak bir fark saptanmadı. İmmünohistokimyasal olarak da testis dokularında anlamlı bir testosteron farkı saptanmadı.

Sonuç olarak; Kanola ve Fındık yağı ile beslenen erkek sıçanlarda bu yağların serum LH ve testosteronu arttırdığı ancak testis dokusunda herhangi bir fark yaratmadığı ortaya ıkmiş olup fertilit  üzerine net etkisinin araştırılabilmesi için ek olarak sperm fonksiyonlarını değerlendiren çalışmalara ihtiyaç olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar kelimeler: Kanola, Fındık, Testis, Testosteron antikoru, Reprodüktif sistem

VIII - SUMMARY

THE EVALUATION OF SERUM HORMONE LEVELS AND TESTIS HISTOPATHOLOGY IN MALE RATS FED WITH CANOLA OIL AND HAZELNUT OIL

The aim of this study is to investigate the effects of canola oil and hazelnut oil in male reproductive system and to evaluate effects of serum hormone levels and testis histopathology

Thirty male Sprague-Dawley rats were used in this study. Adult male rats were divided into three groups and the experiment has been performed during 16 weeks. Animals in Group I were spared control. rats in Group II were fed with Hazelnut oil and rats in Group III were fed with canola oil. At the end of the feeding period the rats were sacrificed. Testes of all rats were excised with standard method for histopathologic evaluation and blood samples were taken for serum hormone (FSH, LH, Testosterone) levels determination.

There were no significant differences were noticed about behaviour and weight of rats among groups during the experiment. Rats in group III (Canola Oil Group) ; LH and especially testosterone levels were higher than rats in Group I (Control Group). Similarly, rats in group II (Hazelnut oil group). These parameters were a little bit higher than rats in Group I, but it was not significant. Assessment for testis histopathology and immunohistochemical (IHC) testosterone antibody tissue levels used. The criteria of histological evaluation with light microscope was accepted as Johnsen score which shows

spermatogenesis in seminiferous tubules. Johnsen scores and IHC testis tissue testosterone antibody levels were no statistically difference among all groups.

These results suggest that; in male rats which fed canola oil and hazelnut oil effectted serum hormone levels. Especially, canola oil more effects than hazelnut oil on serume LH and Testosterone levels. On the contrary no difference has been seen at histopathological and immunohistochemical assessment. We believe that; further experiments has been warranted for the investigation on sperm motility and activity to learn these oils effects on the testis tissue more accurately.

Key words: Canola, Hazelnut, Testis, Testosterone antibody, Reproductive system

IX – KAYNAKLAR

- 1- Kolsarıcı,Ö.,Gür,A.,Başalma,D.,Kaya,D.İşler,N.,Yağlı Tohumlu Bitkiler Üretimi” Türkiye Ziraat Mühendisliği VI.Teknik Kongresi, 3-7 Ocak 2005 Ankara.
- 2- Öztürk,Ö. ve ark, Yağ Açığının Kapatılmasında Alternatif Bir Yağ Bitkisi Kanola” Türkiye 1.Yağlı Tohumlar,Bitkisel Yağlar ve Teknolojileri Sempozyumu Bildirimleri. 22-23 Mayıs 2003 İstanbul
- 3- Dupont J, White PJ, Johnston KM, Heggveit HA, McDonald BE, Grundy SM, Bonanome A, Food safety and health effects of canola oil, J. Am. Coll. Nutr. 1989 Oct;8(5):360-75.
- 4- Harumi Okuyama,Naoki Ohara, Kenjiro Tatematsu at al. Testosterone-lowering activity of canola and hydrogenated soybean oil in the stroke-prone spontaneously hypertensive rat. The journal of toxicological Sciences, 2010;Vol.35,No:5,743-747.
- 5- Peter Rzehak, Sibylle Koletzko, Berthold Koletzko at al, Growth of infants fed formula rich in canola oil (low erucic acid rapeseed oil), Clinical Nutrition , , 2010;1-7
- 6- Peter L. McLennan, Julie A. Dallimore, Dietary canola oil modifies myocardial fatty acids and inhibits cardiac arrhythmias in rats. The journal of Nutrition, 1995;22-3166,95
- 7- Y. Naito, K.Kasama, H.Yoshida, N.Ohara, Thirteen-week dietary intake of rapeseed oil or soybean oil as the only dietary fat in Wistar Kyoto rats change in blood pressure, Food and Chemical Toxicology 2000; 38,811-816
- 8- Ecz.Tamer DÖNMEZ yüksek lisans tezi, Fındık ve cevizin sıçanlarda serum lipidleri,aterosklerotik lezyonlar ve prooksidan-antioksidan denge üzerine etkisi,Danışman;Prof.Dr.Murat UYSAN,İstanbul Tıp Fak. Biyokimya A.D. 2006

- 9-** Alasalvar C, Shahidi F, Ohshima T ve ark. Turkish Tombul hazelnut (Corylus avellana L.). 2. lipid characteristics and oxidative stability. J Agric Food Chem 2003;51:3797-805.
- 10-** Hatipoglu A, Kanbagli O, Balkan J ve ark. Hazelnut oil administration reduces aortic cholesterol accumulation and lipid peroxides in the plasma, liver, and aorta of rabbits fed a high-cholesterol diet. Biosci Biotechnol Biochem 2004;68:2050-7.
- 11-** Bitkisel Üretim ÖİK Sanayi Bitkileri Alt Komisyon Raporu, Ocak 2000
- 12-** Kolsarıcı, Ö., Gürbüz, B., Arıoğlu, H., Çalışkan, C., Algan, N. (1990) "Türkiye'de Yağ Bitkileri Üretimi ve Sorunları" Türkiye Ziraat Mühendisliği, III. Teknik Kongresi, 8-12 Ocak 1990 Ankara.
- 13-** İstanbul Ticaret Odası Dış Ticaret Şubesi Araştırma Servisi 24 Şubat 2004 Kanola Sektör Araştırması
- 14-** Fındık Tarım Satış Kooperatifleri Birliği FİSKOBİRLİK - <http://www.fiskobirlik.org.tr>
- 15-** Atabekli- Erdemli E. Erkek Üreme Sistemi. Özel Histoloji İnce Yapı ve Gelişme. 2002;232-233
- 16-** Campbell Üroloji. Sekizinci Baskı, Güneş Kitabevi, Saunders 2005;76-78
- 17-** Netter FH; Atlas of Human Anatomy, 3. Baskı, 2005
- 18-** http://www.biologycorner.com/bio3/rat_urogenital.html
- 19-** Erbenli T. Temel histoloji. 2. Baskı 2. Cilt.: Güneş Kitabevi Ltd. ti; Ankara 1990.
- 20-** Fawcett DW. Histology. Twelfth Edition: Chapman & Hall; 1994.
- 21-** Krinke GJ. The Laboratory Rat, 1st Ed., Academic Press, Switzerland, 2000. pp:311-312.
- 22-** Dellmann HD, Brown EM. Textbook of Veterinary Histology, 3rd Ed., Lea & Febiger, Philadelphia, 1987; 286-312.
- 23-** Tanyolaç A. Özel Histoloji, 3. baskı, Yorum basın yayın, Ankara 1999;132-143.

- 24-**Ulbright TM, Amin MB, Young RH. Tumors of the Testis, Adnexa, Spermatic Cord and Scrotum. Atlas of Tumor Pathology Third Series Fascicle AFIP, Washington DC 1999.
- 25-**Yrd. Doç. Dr. Berrin AVCI. Genital Kanallar, Aksesuar Bezler, Penis. <http://w20.uludag.edu.tr/~sahinas/duktus.ppt>
- 26-** Gürsoy E, Koptagel E. Embriyoloji Atlası. Esnaf Ofset Matbaacılık. 1997; 12- 30, 140-164.
- 27-**Fawcett DW. Bloom and fawcett: concise histology.U.S.A: Chapman And Hall;1997.
- 28-**Urban & Schwarzenberg. Sobotta İnsan Anatomisi Atlası., Münih 19. Baskı Türkçe çevirisi, Beta Yayınevi, İstanbul 2. cilt: 224 – 231. 1998
- 29-**Erkoçak A. Özel Histoloji. Ankara, Ankara Üniversitesi basımevi. 3. baskı.1980
- 30-**<http://www.keele.ac.uk/depts/ms/resources/anatomy/histologyimages/t232.htm>
- 31-**Ross MS, Romrell LJ. Histology Text and Atlas. William &Wilkins. 2nd ed. 1989;603-646
- 32-**Yrd Doç Dr. Berrin AVCI. Genital Kanallar, Aksesuar Bezler, Penis.<http://w20.uludag.edu.tr/~sahinas/duktus.ppt>
- 33-**Ichkowski KA, Sun EL, Gondod B. Morphometric study of the prepubertal rabbit testis: Germ cell number and seminiferous tubule dimensions. The American Journal of Anatomy. 1991;190:266-272
- 34-**Berndtson WE, Thamson TL. Changing relationships between testis size, Sertoli cell number and spermatogenesis in sprague-dawley rats. Journal of Andrology.1990;11(5):429-435
- 35-**Roggensack AM, Zhang Y, Davidge ST. Evidence for peroxynitrite formation in the vasculature of women with preeclampsia. Hypertension 1999;33:304-308
- 36-**Smith Genel Üroloji, Simon & Schuster Comp., Nobel Tıp Kitabevleri, 14.baskı. 739. 1995
- 37-**Smith Genel Üroloji, Simon & Schuster Comp., Nobel Tıp Kitabevleri, 14.baskı. 742-745. 1995

- 38-**Hughes IA. Minireview: sex differentiation. *Endocrinology* 2001;142:3281–3287
- 39-**Tapanainen J, Kellokumpu-Lehtinen P, Pelliniemi L, Huhtaniemi I. Age-related changes in endogenous steroids of human fetal testis during early and midpregnancy. *J Clin Endocrinol Metab.* 1981;52(1):98-102.
- 40-**Muller J, Shakkeeb NE. The prenatal and postnatal development of the testis. *Baillire's Clinical Endocrinology and Metabolism* 1992;6(2):251-271.
- 41-**Word RA, George FW, Wilsom JD, Carr BR. Testosterone synthesis and adenylate cyclase activity in early human fetal testis appear to be independent of human chorionic gonadotropin control. *J Clin Endocrinol Metab.* 1989 ;69:204-208.
- 42-**Clements JA, Reyes FI, Winter JSD, Faiman C. Studies on human sexual development. III. Fetal pituitary and serum, and amniotic fluid concentrations of LH, CG, and FSH. *J Clin Endocrinol Metab.* 1976;42:9-19.
- 43-**Frawein J, Engel W. Constitutivity of the HCG-reseptot protein in the testis rat and man. *Nature* 1974;249:23-29.
- 44-**Gronowski AM, Landau-Levine M. Reproductive endocrine function. In Burtis CA, Ashwood ER, eds. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry.* 3rd ed. Philadelphia, Pa: WB Saunders;1999:1601-1641.
- 45-**Chada M, Prusa R, Bronsky J, Kotaska K, Sidlova K, Pechova M, Lisa L. Inhibin B, Follicle Stimulating Hormone, Luteinizing Hormone and Testosterone during Childhood and Puberty in Males: Changes in Serum Concentrations in Relation to Age and Stage of Puberty. *Physiol. Res.*2003;52:45-51.
- 46-**Young J, Chanson P, Salenave S, Noel M, Brailly S, O'Flaherty M, Schaison G, Rey R. Testicular Anti-Mullerian Hormone Secretion Is Stimulated by Recombinant Human FSH in Patients with Congenital Hypogonadotropic Hypogonadism. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:724-728.

- 47-**Lukas-Croisier C, Lasala C, Nicaud J, Bedecarras P, Kumar TR, Dutertre M, Matzuk MM, Picard JY, Josso N, Rey R. Follicle-stimulating Hormone Increases Testicular Anti-Müllerian hormone (AMH) Production through Sertoli cell proliferation and a Nonclassical cyclic Adenosine 5'-Monophosphate-Mediated Activation of the AMH gene. *Molecular Endocrinology* 2003;17:550-61.
- 48-**Crafton PM, Evans EAM, Grome NP, Taylor MRH, Holland CV, Kelnar CJH. Inhibin B in boys from birth to adulthood: relationship with age, pubertal stage, FSH and testosterone. *Clinical Endocrinology* 2002;56:215-221.
- 49-**Ferner H., Staubesand J. Urogenital System In: Sobotta, Urban & Schwarzenberg. München-Wien-Baltimore 1985, pp: 190.
- 50-**Rosai J. Editor Testis. In Acerman's Surgical Pathology, Vol.1, 9th Edition St. Louis, Mosby Company, 2004;1412-1456.
- 51-**Male hormones.ppt
<http://www.uta.edu/biology/wilk/classnotes/endocrinology/Male%20hormones.pdf>
- 52-**Kus I, Songur A, Ozogul C, Kavakli A, Zararsiz I, Sarsilmaz M Effects of photoperiod on the ultrastructure of Leydig cells in rat. *Arch Androl.* 2004 May-Jun;50(3):193-200.
- 53-**Robb GW, Amann RP, Killian GJ. Daily sperm production and epididymal sperm reserves of pubertal and adult rats. *J Reprod Fertil.* 1978 Sep;54(1):103-7.
- 54-**World Health organization: Laboratory manual for the examination and processing of human semen, 5th ed. Geneva:WHO Press, 2010.
- 55-**Bjorndahl L, Kvist U. Sequence of ejaculation affects the spermatozoon as a carrier and its message. *Reprod Biomed Online* 2003;7:440-8.
- 56-**Eliasson R. Basic semen analysis. In: Matson P, ed. Current topics in andrology. Perth, Ladybrook Publishing 2003.; 35-89.
- 57-**Cooper TG, Keck C, Oberdieck U, Nieschlag E. Effects of multiple ejaculations after extended periods of sexual abstinence on total, motile and normal sperm numbers, as well as accessory gland

- secretions, from healthy normal and oligozoospermic men. *Hum Reprod* 1993;8:1251-8.
- 58-**De Jonge C, LaFromboise M, Bosmans E, Ombelet W, Cox A, Nijs M. Influence of the abstinence period on human sperm quality. *Fertil Steril* 2004;82:57-65.
- 59-**Tyler JP, Crockett NG, Driscoll GL. Studies of human seminal parameters with frequent ejaculation II. Spermatozoal vitality and storage. *Clin Reprod Fertil* 1982;1:287-93.
- 60-**Correa-Perez JR, Fernandez-Pelegrina R, Aslanis P, Zavos PM. Clinical management of men producing ejaculates characterized by high levels of dead sperm and altered seminal plasma factors consistent with epididymal necropermia. *Fertil Steril* 2004;81:1148-50.
- 61-**Tyler JP, Crockett NG, Driscoll GL. Studies of human seminal parameters with frequent ejaculation. I. Clinical characteristics. *Clin Reprod Fertil* 1982;1:273-85.
- 62-**Holstein AF, Schulze W, Davidoff M. Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. *Reprod Biol Endocrinol* 2003;1:107.
- 63-**Baker HW, Kovacs GT. Spontaneous improvement in semen quality: regression towards the mean. *Int J Androl* 1985;8:421-6.
- 64-**Alvarez C, Castilla JA, Martinez L, Ramirez JP, Vergara F, Gaforio JJ. Biological variation of seminal parameters in healthy subjects. *Hum Reprod* 2003;18:2082-8.
- 65-**Ahmet Gökçe, Dünya Sağlık Örgütü Kriterlerine Göre Standart Semen Analizi, *Türk Urol. Sem.* 2011; 2: 1-7
- 66-**I. Sadi Cetingul, Mehmet Yardimci, E. Hesna Sahin , Ismail Bayram , Ismail Kucukkurt ,A. Burhaneddin Akkaya, The effects of hazelnut oil usage on live weight, carcass, rumen, some blood parameters and femur head ash in Akkaraman lambs, *Meat Science* 83 ,2009; 647–650
- 67-**Johnsen SG. Testicular biopsy score count-method for registration of spermatogenesis in human testes: Normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones* 1970;1:2-25.

- 68-**Matsumoto AM,Karpas AE, Paulsen CA, Bremner WJ. Reinitiation of sperm production in gonadotropin-suppressed normal men by administration of follicle stimulating hormone. J Clin Invest. 1983; 72:1005-1015.
- 69-**Matsumoto AM, Paulsen CA, Bremner WJ. Stimulation of sperm production by human luteinizing hormone in gonadotropin-suppressed normal men. J Clin Endocrinol Metab 1984; 59:882-887.
- 70-**Van Alphen MMA, Van de Kant HJG, De Rooij DG. Follicle-stimulating hormone stimulates spermatogenesis in the adult monkey. Endocrinology 1988; 123:1449-1455.
- 71-**Acosta AA, Khalifa E, Oehninger S. Pure human follicle stimulating hormone has a role in the treatment of severe male infertility by assisted reproduction: Norfolk's total experience. Hum Reprod 1992;7:1067-1072.
- 72-**Bartoov B, Eltes F, Lunenfeld E, *et al.* Sperm quality of subfertile males before and after treatment with human follicle-stimulating hormone. Fertil Steril 1994; 61:727-734.
- 73-**Strehler E, Sterzik K, DeSanto M, *et al.* The effect of follicle-stimulating hormone therapy on sperm quality: an ultrastructural mathematical evaluation. J Androl 1997; 18:439-447.
- 74-**Guyton AC, Hall JE. Tıbbi Fizyoloji. 9. Edisyon.İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 1996; 1013.1015
- 75-**Abraham KL. Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş. İstanbul: Palme Yayıncılık, 2006; 533.564
- 76-**Shoham Z. The Clinical therapeutic window for luteinizing hormone in controlled ovarian stimulation. Fertil Steril 2002, 77;6:1170-7.
- 77-**Steidle C, Schwartz S, Jacoby K, Sebree T, Smith T, Bachand R 2003 AA2500 testosterone gel normalizes androgen levels in aging males with improvements in body composition and sexual function. J Clin Endocrinol Metab 88:2673–2681

- 78-** Boloñ a ER, Uruga MV, Haddad RM, Tracz MJ, Sideras K, Kennedy CC, Caples SM, Erwin PJ, Montori VM 007 Testosterone use in men with sexual dysfunction: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. Mayo Clin. Proc. 82:20–28
- 79-** Bancroft J, Wu FC 1983 Changes in erectile responsiveness during androgen replacement therapy. Arch. Sex Behav. 12:59–66
- 80-** Jain P, Rademaker AW, McVary KT 2000 Testosterone supplementation for erectile dysfunction: results of a meta-analysis. J. Urol. 164:371–375
- 81-** Bhardwaj A, Verma A, Majumdar S, Khanduja KL. Status of vitamin E and reduced glutathione in semen of oligozoospermic and azoospermic patients. Asian J Androl. 2000 Sep;2(3):225-8.