

T.C.  
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

# **NİKOTİN İLE OKSİDATİF STRESE MARUZ BIRAKILAN FARELERDE CURCUMİNİN TESTİS ÜZERİNE ETKİLERİ**

Gülfıdan COŞKUN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Hülya ÖZGÜR

ADANA-2011

T.C.  
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

# **NİKOTİN İLE OKSİDATİF STRESE MARUZ BIRAKILAN FARELERDE CURCUMİNİN TESTİS ÜZERİNE ETKİLERİ**

Gülfıdan COŞKUN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Hülya ÖZGÜR

Bu tez, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından  
Desteklenmiőtir.

Tez No: TF2009YL20

ADANA-2011

## TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanması ve tamamlanması sırasında her konuda desteklerini ve güler yüzlerini esirgemeyen, tez danışmanım, hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Hülya Özgür'e, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Sait Polat'a ve çalışma olanağımın sağlanmasında katkılarından dolayı tüm Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve Diş Hekimliği Fakültesi öğretim üyelerinden sayın Doç. Dr. Mehmet Kürkçü'ye çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamın her aşamasında teknik destek sağlayan Günseli Tuygun, Nevriz Dural ve Adile Sarıcalar'a ayrıca tez yazım sürecinde desteklerinden dolayı Tiinçe Aksak, Hande Tokgönül ve Anabilim Dalı Sekreterimiz Gülsüm Küçük'e çok teşekkür ederim.

Bu süreçte büyük özveriyle beni destekleyen sevgili eşim Kemal Coşkun ve bugün bu noktada olmamın en büyük nedeni olan annem Seda Zülfikaroğlu'na sonsuz teşekkür ederim.

**Yük. Lis. Öğr. Gülfidan Coşkun**

# İÇİNDEKİLER

|                                             |      |
|---------------------------------------------|------|
| KABUL VE ONAY                               |      |
| TEŞEKKÜR                                    | iii  |
| İÇİNDEKİLER                                 | iv   |
| TABLO VE ŞEKİLLER DİZİNİ                    | vi   |
| KISALTMALAR                                 | viii |
| ÖZET                                        | ix   |
| ABSTRACT                                    | xi   |
| 1. GİRİŞ                                    | 1    |
| 2. GENEL BİLGİ                              | 3    |
| 2.1. Testis Histolojisi                     | 3    |
| 2.2. Seminiferöz Tübül                      | 4    |
| 2.3. Sertoli Hücreleri                      | 5    |
| 2.4. Spermatojenik Hücreler                 | 6    |
| 2.4.1. Spermatogonyumlar                    | 7    |
| 2.4.2. Spermatositler                       | 8    |
| 2.4.3. Spermatidler                         | 9    |
| 2.4.4. Spermatozoon                         | 10   |
| 2.5. İnterstisyum ve Leydig Hücreleri       | 11   |
| 2.6. Kan Testis Bariyeri                    | 12   |
| 2.7. Nikotin                                | 12   |
| 2.7.1. Nikotinin Kimyasal Özellikleri       | 13   |
| 2.7.2. Nikotin Absorbsiyonu                 | 13   |
| 2.7.3. Nikotin Metabolizasyonu              | 13   |
| 2.7.4. Nikotin Toksisitesi                  | 14   |
| 2.8. Curcumin                               | 16   |
| 2.8.1. Curcumin'in Farmakolojik Özellikleri | 16   |
| 2.8.2. Curcumin'in Klinik Özellikleri       | 17   |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM                          | 19   |
| 3.1. Biyokimyasal Analiz                    | 20   |

|                                            |    |
|--------------------------------------------|----|
| 3.2. Işık Mikroskopik Takip Yöntemleri     | 20 |
| 3.3. Elektron Mikroskopik Takip Yöntemleri | 21 |
| 4. BULGULAR                                | 24 |
| 4.1. Biyokimyasal Analiz                   | 25 |
| 4.2. Işık Mikroskopik Bulgular             | 26 |
| 4.3. Elektron Mikroskopik Bulgular         | 34 |
| 5. TARTIŞMA                                | 50 |
| 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER                    | 55 |
| 7. KAYNAKLAR                               | 57 |
| 8. ÖZGEÇMİŞ                                | 68 |

## ŞEKİL VE TABLO DİZİNİ

**Şema 1.** Erkek infertilitesine neden olan oksidatif stres faktörleri

**Şema 2.** Curcuminin keto ve enol formunun kimyasal formülü.

**Şema 3.** Curcuminin klinik etkileri.

**Tablo 1.** Elektron mikroskopik doku takip yöntemleri.

**Tablo 2.** Farelerin bulundukları grup ve sakrifiye zamanlarına göre tanımlayıcı testosteron değerleri.

**Tablo 3.** Farelerin bulundukları grup ve sakrifiye zamanlarına göre tanımlayıcı testosteron grafiği.

**Şekil 1.** Kontrol grubuna ait ışık mikroskopik görüntü.

**Şekil 2.** 2. gruba ait ışık mikroskopik görüntü.

**Şekil 3.** 2. gruba ait ışık mikroskopik görüntü.

**Şekil 4.** 2. grup. 28 gün takip ışık mikroskopik görüntüsü.

**Şekil 5.** 3. gruba ait ışık mikroskopik görüntü.

**Şekil 6.** 3. gruba ait ışık mikroskopik görüntü.

**Şekil 7.** 3. grup. 28 gün takip ışık mikroskopik görüntüsü.

**Şekil 8.** 4. gruba ait ışık mikroskopik görüntü.

**Şekil 9.** 4. grup. 28 gün takip ışık mikroskopik görüntüsü.

**Şekil 10.** 5. gruba ait ışık mikroskopik görüntü.

**Şekil 11.** 5. grup. 28 gün takip ışık mikroskopik görüntüsü.

**Şekil 12.** Kontrol grubuna ait elektron mikroskopik görüntü.

**Şekil 13.** Kontrol grubuna ait elektron mikroskopik görüntü.

**Şekil 14.** Kontrol grubuna ait elektron mikroskopik görüntü.

**Şekil 15.** 2. gruba ait elektron mikroskopik görüntü.

- Şekil 16.** 2. gruba ait elektron mikroskopik görüntü.
- Şekil 17.** 2. gruba ait elektron mikroskopik görüntü.
- Şekil 18.** 2. grup. 28 gün takip elektron mikroskopik görüntüsü.
- Şekil 19.** 2. grup. 28 gün takip elektron mikroskopik görüntüsü.
- Şekil 20.** 3. gruba ait elektron mikroskopik görüntü.
- Şekil 20a.** 3. gruba ait elektron mikroskopik görüntü.
- Şekil 21.** 3. gruba ait elektron mikroskopik görüntü.
- Şekil 22.** 3. gruba ait elektron mikroskopik görüntü.
- Şekil 23.** 3. gruba ait elektron mikroskopik görüntü.
- Şekil 24.** 3. gruba ait elektron mikroskopik görüntü.
- Şekil 25.** 3. grup. 28 gün takip elektron mikroskopik görüntüsü.
- Şekil 26.** 3. grup. 28 gün takip elektron mikroskopik görüntüsü.
- Şekil 27.** 3. grup. 28 gün takip elektron mikroskopik görüntüsü.
- Şekil 28.** 3. grup. 28 gün takip elektron mikroskopik görüntüsü.
- Şekil 29.** 4. gruba ait elektron mikroskopik görüntü.
- Şekil 30.** 4. gruba ait elektron mikroskopik görüntü.
- Şekil 31.** 4. gruba ait elektron mikroskopik görüntü.
- Şekil 32.** 4. grup. 28 gün takip elektron mikroskopik görüntüsü.
- Şekil 33.** 4. grup. 28 gün takip elektron mikroskopik görüntüsü.
- Şekil 34.** 4. grup. 28 gün takip elektron mikroskopik görüntüsü.
- Şekil 35.** 5. gruba ait elektron mikroskopik görüntü.
- Şekil 36.** 5. gruba ait elektron mikroskopik görüntü.
- Şekil 37.** 5. grup. 28 gün takip elektron mikroskopik görüntüsü.
- Şekil 38.** 5. grup. 28 gün takip elektron mikroskopik görüntüsü.
- Şekil 39.** 5. grup. 28 gün takip elektron mikroskopik görüntüsü.

## KISALTMALAR

**ABP** Androjen Bağlayıcı Protein

**ACh** Asetilkolin

**Anti-Müllerian** Müllerian İnhibe Edici

**CAT** Katalaz

**FSH** Folikül Stimulan Hormon

**GER** Granüler Endoplazmik Retikulum

**GSH-Px** Glutasyon Peroksidaz

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** Hidrojen Peroksit

**IL-1** İnterlökin 1

**nAChRS** Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri

**NFκB** Nükleer Faktör KappaB

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>** Süperoksit Anyonu

**OH<sup>-</sup>** Hidroksil İyonu

**ROS** Serbest Oksijen Radikalleri

**SER** Agranüler Endoplazmik Retikulum

**SOD** Süperoksid Dismutaz

**TNF** Tümör Nekrozu Faktörü

**G-CSF** Granulosit Koloni Stimulan Faktör

## ÖZET

### **Nikotin ile oksidatif strese maruz bırakılan farelerde curcumin'in testis üzerine etkileri**

Sigaranın major toksik bileşenlerinden biri olan nikotin erkek üreme sistemi üzerine toksik etkisi bilinmektedir. Asya ve Afrika ülkelerinde boya, baharat ve tıbbi bitki olarak kullanılan curcuminin, antiinflamatuvar, antiseptik, antioksidan, antikarsinojenik ve hipokolesterolemik etkileri rapor edilmiştir. Bu çalışmada, nikotin alımının testiste oluşturduğu oksidatif strese karşı, curcuminin etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızda Swiss albino tip 60 erkek fare her bir grupta 12 hayvan olmak üzere 5 gruba ayrıldı. 1. grup kontrol grubu olarak değerlendirildi. 2. ve 3. grupta yer alan 12'şer fareye sırasıyla 14 ve 28 gün boyunca günde tek doz intraperitoneal olarak nikotin (0,4mg/kg/gün) uygulandı. 4. ve 5. gruptaki 12'şer fareye ise sırasıyla 14 ve 28 gün boyunca nikotin (0,4mg/kg/gün) ve gavajla mısır yağında çözündürülen curcumin (200mg/kg/gün) verildi. Her bir grupta yer alan 12 fareden 6 tanesi uygulama süreleri sonunda sakrifiye edilirken, kalan 6 tanesi 28 gün hiçbir işlem yapılmadan normal şartlarda yaşatıldıktan sonra sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen farelerden alınan kan örneklerinin testosteron seviyeleri ölçüldü, testis doku örnekleri, ışık ve elektron mikroskopik düzeyde incelendi.

Işık mikroskopik düzeyde; 2. ve 3. grup farelerin testislerinde seminiferöz epitelde dökülme ve lümende immatür hücre birikimi ile interstisyel alanda ödem izlendi. Nikotin ve curcumin uygulanan 4. ve 5. grup farelerde kontrol grubuna benzer nitelikte düzenli görünüme sahip seminiferöz tübüller ve interstisyum gözlendi. Elektron mikroskopik incelemede; 2. ve 3. grupta membrana propria total kalınlığında artış, elektron dens Sertoli hücre sitoplazmasında vakuolizasyon, lipid damlacıkları, dejeneratif mitokondriyonlar ve litik spermatojenik hücrelere rastlanıldı. Sertoli hücreleri ve spermatojenik hücreler

arasında geniş boşluklar dikkat çekti. Elektron dens Leydig hücrelerinde dejeneratif mitokondriyonlar, boyutu ve sayısı artmış lipid damlacıkları gözlemlendi. 28 gün hiçbir işlem yapılmadan takibe alınan bu gruplardaki farelerde dejenerasyonun devam ettiği fark edildi. 2. ve 3. grup farelerin testosteron seviyeleri de kontrol grubundan belirgin şekilde düşük ölçüldü. Nikotin ve curcumin uygulanan 4. ve 5. deney gruplarına ait örneklerde membrana propria, seminiferöz tübül epitel ve interstisyum yapısında anlamlı bir düzelme gözlemlendi. 4. ve 5. grup farelerden uygulama sonrası hiçbir işlem yapılmadan bekletilenlerde ise nikotin uygulanan farelere benzer özellikler izlendi. 4. ve 5. grup testosteron seviyelerinde ise artış gerçekleşti.

Nikotinin özellikle membrana propria, Sertoli hücreleri ve spermatogonik hücrelerde dejeneratif değişikliklere neden olduğu belirlendi. Kronik nikotin alımına karşı curcuminin tedavi süreci boyunca, testiste anlamlı bir koruyucu etkisinin bulunduğu sonucuna varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Testis, Curcumin, Nikotin, Elektron Mikroskop, Testosteron

## **ABSTRACT**

### **Effects of curcumine to the nicotine induced oxidative stress in mice testis**

It is known that nicotine, which is one of the major hazardous components of cigarette, have toxic effects on male reproductive system. Curcumine which is commonly used as a dye, a spice and a medicine in Asia and Africa, is reported to have anti-inflammatory, antiseptic, antioxidant and hypocholesterolemic properties. The aim of this study was to determine the effect of curcumine against oxidative stress on testis caused by nicotine intake.

In this study adult Swiss Albino type 60 male mice were divided into five groups each containing 12 mice. The first group was used as control. The second and third groups were injected with nicotine at a dose of 0,4mg/kg/day respectively for 14 and 28 days. The fourth and fifth groups were injected with nicotine 0,4mg/kg/day and orally treated with curcumine (200mg/kg) solved in corn oil respectively for 14 and 28 days. 6 mice of each groups were sacrificed at the end of the application periods. Others were sacrificed after keeping alive for 28 days in each groups. Testosteron levels were measured from the blood samples and testis tissues were processed and inspected by light and electron microscopy.

Light microscopic examination showed exfoliation of germinal epithelial cells and cumulation of immature cells in the lumen of tubules of the second and third groups. Additionally edema at the interstitial area were also seen. Besides that tubules which have the similar composition of normal control tubules were viewed at the fourth and fifth groups. Furthermore, vacuolisation, giant lipid droplets, degeneration of mitochondria, nuclear indentation, increase in electron density of cytoplasm in Sertoli cells were observed at the electron microscopy of the second and third groups. Moreover, thickening of the membrana propria and lytic spermatogenic cells between seminiferous tubule

epitel cells were also seen. Additionally, Leydig cells were showed increasing size and number of the mitochondria in second and third groups. While median levels of testosterone has significantly lowered in second and third groups in comparison with controls, Fourth and fifth groups showed significant improvement in membrana propria, seminiferous tubules and interstitium. Furthermore decreasing in vacuolization and electron density of cytoplasm in Sertoli cells, absence of the giant intercellular space were also seen in fourth and fifth groups. Mice which were sacrificed after keeping alive for 28 days in fourth and fifth groups were showed similar degeneration like nicotine groups. Decrease of the blood testosterone level were measured in fourth and fifth groups.

Degenerative changes were observed in membrana propria and testicular cells in nicotin induced group. On the other hand, the treatment of curcumine on the testicular cells has significant protective effect during chronic nicotine intake.

**Key words:** Testis, Curcumine, Nicotine, Electron microscope, Testosterone

## 1. GİRİŞ

Dünya çapında yaklaşık 1,3 milyar insan sigara kullanmaktadır. Bu sayı gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde hızla artmakta ve 2025 yılında 1,6 milyara ulaşacağı tahmin edilmektedir. Sigara tüketimi, her yıl tüm dünyada 4,8 milyon insanın ölümüne neden olmaktadır<sup>1,2</sup>.

Sigara tüketimi, kronik akciğer hastalıklarında ölüm oranını 10 kat, koroner kalp hastalıklarının gelişimini ise 2-4 kat artırmakla birlikte kalp krizi riskini de 2 katına çıkarmaktadır<sup>1,2,3</sup>. Astımı tetikleyen etmenler arasında da sayılan sigara<sup>4</sup>, ağız, oral kavite, farinks, larinks, özefagus, pankreas, akciğer, serviks, mesane, böbrek ve testiste kanser riskini artırmaktadır<sup>1,2,5,6,7,8</sup>. Maternal sigara kullanımı kilo azlığı, erken doğum, düşük, perinatal-neonatal ölüm, nöral tüp defekt riskini artırmasının yanında kardiovasküler sistem ve iskelet sistemine ait organ ve dokuların gelişimini de etkilemektedir<sup>9,10,11,12,13,14,15</sup>. Etkileri embriyo ve fetusun maruz kaldığı doz, süre ve gelişim seviyesine göre değişmektedir<sup>16</sup>.

Sigara dumanı toksik ve karsinojenik etkisi bulunan 4000'den fazla kimyasaldan oluşan kompleks bir karışımdır<sup>17,18</sup>. Sigaranın major toksik bileşeni; tütün bitkisinin yapraklarından izole edilen kuvvetli bir alkaloid olan nikotindir<sup>19,20</sup>. Kan-beyin bariyeri dahil olmak üzere biyolojik membranları da geçebilen nikotinin, apoptosisi ve malformasyonları indüklediği gösterilmiştir<sup>21</sup>. Nikotinin doku ve organlara patojenik toksik etkisinin yanı sıra ovulasyon, estradiol üretimi ve fertilizasyon inhibisyonu gibi gonadal fonksiyonlar üzerine de etkisi bulunmaktadır<sup>9,22,23</sup>. Ayrıca antioksidan sistemi bozan serbest radikallerin (ROS) üretimini de artırmaktadır<sup>24,25,26</sup>. Dolayısıyla ROS üretimi ve ROS'un antioksidan sistemce ortadan kaldırılması arasındaki dengesizlik dokularda oksidatif strese neden olmaktadır<sup>24,25,27,28</sup>.

Bugüne kadar akciğer, karaciğer, kalp ve böbrek gibi organlar üzerine oksidatif strese neden olan etkenler çalışılmış, ROS seviyesinde ve lipid peroksidasyonunda artış rapor edilmiştir<sup>24,29</sup>. Nikotinin de bu oksidatif stres etkenlerinden biri olarak testiküler yapı ve fonksiyonları bozduğu, serum testosteron ve östrodiol seviyesini düşürdüğü<sup>30,31,32,33,34</sup>, sperm sayısı,

hareketliliği ve morfolojisi üzerine zararlı etkileri olduğu rapor edilmiştir<sup>30,31,32,35,36,37,38</sup>. Testis gibi yüksek metabolik aktiviteye ve hücre replikasyonuna sahip organlarda da oksidatif hasara karşı antioksidan kapasite son derece önemlidir<sup>39</sup>.

Modern hayatın stresi, egzersiz eksikliği, tütün ve alkole maruz kalma, kalorili ve kızarmış yiyecekler ile kronik hastalıklar arasında ilişkiyi destekleyen çok sayıda kanıt ortaya konmuştur<sup>40</sup>. Modern tıbbı destekleyici olarak kronik hastalıkların tedavisinde antioksidan özelliğe sahip bitkilerden yararlanılmaktadır<sup>41,42</sup>. Bunlardan biri olan zerdeçal (*Curcuma longa*) binlerce yıldır Asya ve Afrika ülkelerinde boya, tatlandırıcı ve ilaç olarak kullanılan çok yıllık bir bitkidir<sup>41,42</sup>. Bu bitkinin kökünden elde edilen curcumin geleneksel tıpta antiinflamatuvar, antiseptik, antioksidan, antikanser, antikarsinojenik ve hipokolesterolemik olarak kullanılmaktadır<sup>40,41,42,43,44,45,46</sup>. Güçlü bir antioksidan olarak ROS'u nötralize edip antioksidan enzimlerin devamlılığını sağladığı böylece doku ve organları oksidatif hasardan koruduğu bilinmektedir<sup>41,42,43,44,45,47</sup>. Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklara karşı koruyucu etkisinin bulunduğu da rapor edilmiştir<sup>48,49</sup>.

Erkek üreme sistemi üzerine yapılan çalışmalarda curcumin'in testis yapı ve fonksiyonları, sperm sayısı, hareketliliği ve morfolojisi üzerine onarıcı etkisi olduğu rapor edilmiştir<sup>50,51,52,53,54,55</sup>. Ancak literatürde nikotin'in testiste oluşturduğu oksidatif strese karşı curcumin'in etkileri ile ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Sonuç olarak bu çalışmada, nikotin ile oksidatif hasara maruz bırakılan farelerin testislerinde curcuminin antioksidan özelliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

Erkek üreme sistemi, puberteyle birlikte spermatozoa üretimini, beslenmesini, depolanmasını ve erkek seks hormonu testosteronun sentezini sağlayan bir çift testis, genital duktuslar, penis ve yardımcı bezlerden oluşur<sup>56,57</sup>.

### 2.1. TESTİS HİSTOLOJİSİ

Testisler normal spermatogenez için gerekli olan 34°C-35°C sağlamak amacıyla karın boşluğu dışında skrotum içerisinde vücut ısısından 2°C-3°C düşük ısıda yer almaktadırlar. Erişkin insan testisi 4-5 cm uzunlukta, 2,5-3,5 cm genişlikte, anteroposterior 3 cm çapta, 20-30 gr ağırlığında oval şekilli bir çift organdır. Olgun testis, posterior yüzünde yer alan epididimisle birlikte skrotal kese içerisinde vaza deferens, spermatik arter, venöz ve lenfatik pleksuslar içeren spermatik kordon ile asılı durumdadır. Testis seks hücresi üretim ve salgılamasından dolayı ekzokrin iken özelleşmiş hücreleri tarafından sentezlenen iç salgısından dolayı endokrin özellikte karışık bir bezdir.

Testisler dıştan 3 tabakadan meydana gelen bir testiküler kapsülle çevrilidir<sup>56,57,58</sup>.

**1. TUNİKA VAGİNALİS:** Testisin en dış tabakasında mezotelyal hücrelerden oluşan seröz bir kesedir. Visseral tabakası peritondan köken alıp testisin ön ve yan yüzlerini çevrelerken, pariyetal tabakası skrotum üzerine uzanmaktadır. Bu iki tabaka arasında testisin serbestçe hareketine izin veren seröz bir boşluk bulunmaktadır.

**2. TUNİKA ALBUGİNEA:** Bazal lamina ile tunika vajinalisten ayrılarak, düz kas hücreleri içeren dens fibroelastik bağ dokusu yapısındaki testisin en belirgin tabakasını oluşturmaktadır. Testisin posterioründe düz kas hücrelerinin yoğunlaşmasıyla meydana gelen kalınlaşma mediastinum testis adını alıp organ içerisine sokulmaktadır.

**3. TUNİKA VASKÜLOZA:** Testiküler kapsülün en iç tabakası olan Tunika vasküloza areolar bağ dokusu içerisine gömülü kan damarları ağından oluşmaktadır.

Testiküler kapsülde meydana gelen kasılmalar testisin hacim değişimlerini düzenlemekte ve duktus sistemine etki ederek spermatozoonların dışarı doğru hareketine yardımcı olmaktadır. Mediastinum testisten kapsüle doğru uzanan fibröz bağ dokusu yapısındaki septumlar testisi, 250-300 adet lobuli testis adı verilen piramidal şekilli lobüllere ayırır ve her bir lobülde 1-4 adet gevşek bağ dokusu yapısındaki stroma içerisine gömülü kıvrıntılı seminiferöz tübül bulunmaktadır. Stroma içerisinde seminiferöz tübüller arasında yer alan interstisyum; kan damarları, lenfatik damarlar, makrofajlar ve androjen salgılayan Leydig hücrelerini içermektedir<sup>56,57,58,59</sup>.

## **2.2. SEMİNİFERÖZ TÜBÜL**

Her biri 150-200 µm çapta, 20-80 cm uzunlukta anastomoz gösteren kıvrıntılar veya serbest kör uçlar şeklinde başlayan seminiferöz tübüller, her lobülün apeksinde kıvrıntılı özelliğini kaybederek mediastinumda birbirine yaklaşıp ve düz tübül halinde kısa boşaltma kanalı olan tübüli rektiye yaparlar.

Seminiferöz tübül; Sertoli hücreleri ve spermatogonyumlar (spermatogonyumlar, spermatositler, spermatidler) içeren çok katlı kompleks bir epitel ile döşelidir<sup>56,57,58,59</sup>.

İnce bir bazal lamina üzerine oturan seminiferöz tübül epiteli dıştan peritübüler doku ya da membrana propria ile sarılıdır. Membrana propria 4 tabakadan oluşmuştur:

**1-İç hücresel olmayan tabaka:** Kollajen lifler, glikoproteinler ve hyaluronik asiti içeren bir tabakadır. İki tabaka halinde organize olur:

- a-** Glikoprotein yapısında PAS (+) bazal lamina
- b-** Bol miktarda kollajen liflerle karakterize açık saha

**2-İç hücresel tabaka:** Her iki yüzünde küçük invaginasyonlar içeren ince, uzun şekilli myoid hücrelerin oluşturduğu bir tabakadır. Çekirdek ince ve

uzundur. Sitoplazmaları bol miktarda granüler endoplazmik retikülüm, lipid damlacıkları, mikropinositotik veziküller ve miyoflamanlar içerir.

**3-Dış hücresel olmayan tabaka:** Glikoprotein yapısında PAS(+), kalınlığı iç hücresel olmayan tabakanın bir laminası kadar olan en dıştaki bazal laminadır.

**4-Dış hücresel tabaka:** Fibroblastlardan meydana gelmiştir.

Myoid hücre organizasyonu türlere göre değişiklik gösterir. Kemiricilerde tek tabakalı, insanlar ve bazı alçak türlerde 3-5 tabakalıdır. Myoid hücrelerin ritmik kasılmaları seminiferöz tübül çapını değiştirir, spermilerin tübül içerisinde rete testise ilerlemesini sağlar<sup>56,57,58,59</sup>. Membrana propria kalınlığı yaşlılık ve özellikle Klinefelter sendromu gibi kromozom anomalileri ile ilişkili olarak artar.

## 2.3. SERTOLİ HÜCRELERİ

Bazal laminadan seminiferöz tübül lümenine uzanıp geliştirmekte olan spermatojenik hücrelere kriptalar sağladığı için düzensiz apikal ve lateral hücre membranlarına sahip, prizmatik şekilli destek hücreleridir. Oval veya üçgen şekilli büyük bir çekirdek derin invaginasyonlarla karakterizedir ve 1-2 adet belirgin geniş çekirdekçik içerir. Elektron mikroskopik olarak sitoplazma yaygın agranüler endoplazmik retikülüm (SER) sisternaları, az sayıda gelişmiş granüler endoplazmik retikülüm (GER), dağınık serbest ribozomlar, lizozomlar, glikojen granülleri, mikrotübüller, filamanlar, yaygın Golgi kompleksi, lipid damlacıkları ve tübüler tipte şekil değiştirebilen mitokondriyonlar içerir. Ayrıca bazalinde SER ile yakın ilişkide fincan şekilli mitokondriyon ve SER'in genişlemiş bir keseciği ile ağzlaşan protrüzyon mitokondriyon olmak üzere 2 özel tip mitokondriyon da tanımlanmıştır. İnsanlarda nadirde olsa Sertoli hücre çekirdeği yakınında protein yapıda, fonksiyonu henüz bilinmeyen kristalloid cisimcikler olan Charcot-Böttcher kristalleri de görülebilmektedir.

Sertoli hücresi-Sertoli hücresi arasındaki okludens tipi sıkı bağlantılar, spermatositleri ve spermatidleri otoimmün reaksiyonlardan koruyan kan-testis bariyerinin esas yapısını oluşturur<sup>60</sup>.

Sertoli hücrelerinin fonksiyonları<sup>56,57,58,59</sup>:

- 1- Gelişmekte olan spermatojenik hücreleri desteklemek, korumak ve beslemek.
- 2- Spermiyogenezis sürecinde oluşan rezidual (artık) cisimcikleri fagosite etmek.
- 3- Spermiyasyon sırasında aktin aracılı kasılmalarla olgun spermatidlerin seminiferöz tübül lümenine salımını kolaylaştırmak.
- 4- Seminiferöz tübül lümenine protein ve iyonlardan zengin sıvı salgılamak.
- 5- Follikül stimüle edici hormon (FSH) uyarısıyla, androjen bağlayıcı protein (ABP) sentezini ve sekresyonunu düzenlemek.
- 6- Hipotalamus ve anterior hipofizden salınan gonadotropin salgılatıcı faktör ve FSH üzerine negatif geri etki yapan inhibin ve FSH üzerine pozitif geri etki yapan aktivin adı verilen peptidleri salgılamak.
- 7- Embriyonik gelişim sırasında erkek fetusta Müller (Parametonefrik) kanalların gerilemesini sağlayan Anti-Müllerian (Müllerian inhibe edici) hormon üretmek.

#### **2.4. SPERMATOJENİK HÜCRELER**

Seminiferöz tübülün çok katlı epitelini oluşturan 4-8 hücre sırası şeklindeki germ ya da spermatojenik hücreler, spermatogenezis sürecini geçirerek tübül bazalinden lümenine doğru ilerlerler. Tübül bazalinden lümene kadar hücre tipleri:

1. Spermatogonyumlar
  - a – Tip A koyu spermatogonyumlar
  - b – Tip A açık spermatogonyumlar
  - c – Tip B spermatogonyumlar
2. Spermatositler
  - a - Primer spermatosit
  - b – Sekonder spermatosit
3. Spermatidler

- a** – Golgi Evresi
- b** – Şapka Evresi
- c** – Akrozomal Evresi
- d** – Maturasyon Evresi

#### **4. Spermatozoon**

Spermatogonyumlardan olgun spermilerin oluşumuna kadar, 64-72 gün süren olaylar dizisine spermatogenezis denir. Spermatogenezis sürecinde iki kez hücre bölünmesi, diploid kromozomların haploid sayıya indirgenmesi ve hücre differensiyasyonu gerçekleşir<sup>56,57,58,59,61</sup>.

#### **2.4.1. SPERMATOGONYUMLAR**

Yetişkin yaşamı boyunca testiste germ hücre popülasyonunun yenilenmesi ve varlığı için çoğalmak durumunda olan spermatogonyumlar, bazal lamina üzerinde yerleşik durumdadırlar. Yaklaşık olarak 12µm çapta, soluk boyanan kromatin içeren çekirdeğe sahip küçük hücrelerdir. Sertoli hücreleri arasındaki okludens tipi bağlantıların altında yerleştikleri için kan-testis bariyeri dışında yer alırlar. Pubertede başlayan spermatogenezis ile spermatogonyumlardan ayrılan hücre toplulukları yoğun bazofilik ve ince granüler kromatinli oval çekirdeğe sahip, seminiferöz epitelin kök (stem) hücreleri olan Tip A koyu spermatogonyumları oluşturur. Tip A koyu spermatogonyumların bir kısmı kök hücre olarak kalırken bir kısmı da soluk boyanan ince granüler kromatinli çekirdeğe sahip Tip A açık spermatogonyumlara farklanır. Tip A açık spermatogonyumlar da bir dizi mitotik bölünme geçirerek merkezi yerleşimli çekirdekçiğe sahip sferikal çekirdekli Tip B spermatogonyumları oluştururlar<sup>56,57,58,59</sup>.

#### 2.4.2. SPERMATOSİTLER

Tip B spermatogonyumların mitoz bölünmeleri sonucu; çekirdeklerinde sinaptonemal kompleksinin varlığıyla karakterize seminiferöz tübülün en büyük germ hücreleri olan sferikal veya ovoid şekilli, primer spermatositler ( $44+XY$ ,  $4N$ ) meydana gelir<sup>62</sup>. Primer spermatositler mayoz adı verilen özelleşmiş hücre bölünmesi geçirirler. Her bir primer spermatosit yaklaşık 22 gün süren profaz evresinin leptoten, zigoten, pakiten, diploten ve diakinez fazlarına girerler. Leptoten iplik benzeri kromozomların oluşumuyla başlar. Zigoten fazında homolog kromozomlar eşleşmesi, sinaps oluşumu ve kromatin kalınlaşması gerçekleşir. Pakiten fazında kromozomlarda sinaps oluşumu tamamlanmıştır<sup>75</sup>. Rekombinasyonun gerçekleştiği ve hücrelerin hızlı bir şekilde büyüme gösterdiği faz olan pakiten, memelilerde yaklaşık bir haftada tamamlanır. Diploten, kiazmata bölgelerinin görülebildiği, sinaptik kompleksin ayrılmaya başlayarak sadece rekombinasyonun olduğu bölgelerde temasın devam ettiği fazdır. Profaz I'in son fazı olan diakinez kromatinlerin ileri derecede kondanse olduğu ve kromozom ayrılmasına hazırlık olarak kiazmatanın serbest hale geldiği fazdır.

Erkeklerde homolog kromozomların mayotik eşleşmesi dişilerden farklılık gösterir. Erkek diploid germ hücreleri, 22 çift homolog otozom ve X-Y seks kromozomlarını taşır. Profaz I sırasında, seks kromozomları genellikle eşleşmemiş olarak kalır. Rekombinasyon sadece pseudootozomal bölgelerde kalır. X-Y seks kromozomları pakiten ve metafaz arasında transkripsiyonel olarak inaktiftir. X-Y seks kromozomlarının heterokromatin yapısındaki değişikliklerle mayotik bölünmenin ilerlemesi için gerekli olan XY bodi meydana gelir<sup>63</sup>.

Sonuçta primer spermatositler, sinaps, rekombinasyon kromozom ayrılması ve crossing over'ın gerçekleşmesiyle metafaza girerler. Metafaz aşamasında homolog kromozomlar, iğ iplikçiklerine tutunur ve metafazı takip eden anafaz aşamasında ise kromozomlar karşı kutuplara ilerler. Telofaz sırasında, her biri birbirine hücreler arası köprülerle bağlı olan iki kromatid içeren haploid kromozomlu iki kardeş hücre meydana gelir.

1. Mayoz bölünmenin tamamlanmasıyla iki adet sekonder spermatosit ( $22+X$ ,  $22+Y$ ,  $2N$ ) oluşmuştur. Birbirine hala sitoplazmik köprülerle bağlı olan primer spermatositlerden lümene daha yakın olan sekonder spermatositler, kısa bir interfazın ardından hızla adeta mitozu taklit eden, ikinci mayoz bölünmeye geçmeleri nedeniyle testis kesitlerinde görülmeleri oldukça zordur<sup>56,57,58,59</sup>.

### **2.4.3. SPERMATİDLER**

Haploid kromozomlu sekonder spermatositlerin, 2. mayozun sonunda oluşturduğu en son ürün, spermatid olarak adlandırılan 4 adet haploid gamettir. Spermatidler yoğunlaşmış kromatin bölgeleri taşıyan çekirdeklere sahip, 7-8  $\mu\text{m}$  küçük hücrelerdir. Spermatidler, seminiferöz tübülün lümene yakın bölgesinde Sertoli hücre çöküntülerine yerleşmişlerdir.

Spermatidler spermiyogenezis adı verilen farklılaşma sürecini geçirerek spermatozoonlar halini alırlar. Spermiyogenezis 4 evrede gerçekleşir<sup>56,57,58,59</sup>.

- 1) Golgi Evresi
- 2) Şapka Evresi
- 3) Akrozom Evresi
- 4) Maturasyon Evresi

#### **1) GOLGİ EVRESİ:**

Spermatidin sitoplazması; çekirdek yakınında belirgin bir Golgi kompleksi, mitokondriyonlar, bir çift sentriol, serbest ribozomlar ve SER tübülleri içerir. Endoplazmik retikülümde üretilen hidrolitik enzimler Golgi kompleksine iletilip, çeşitli değişiklikler geçirerek Golginin kompleksinin trans yüzünden “proakrozomal granül” adı verilen PAS(+) granüller halinde salınırlar. Bu granüllerin birleşmesiyle oluşan akrozomal veziküller, çekirdek zarına tutunarak spermin ön kutbunu belirlerler. Bu evrede sentrioller çekirdek bölgesinden uzaklaşıp bir tanesi flagellumun aksonemini (9 çift periferde, 2 tane merkezde mikrotubulus yapısı içeren, kuyruk iskeleti) oluşturmak üzere akrozomal bölgenin karşı kutbuna yerleşir.

## **2) ŞAPKA EVRESİ:**

Akrozomal vezikül genişleyerek büyür, çekirdekle temas ettiği yerden başlayarak, çekirdeğin ön kısmını yarıya kadar bir başlık gibi sarıp, son büyüklüğüne ulaştığında hidrolitik enzimleri içeren “akrozom” adını alır.

## **3) AKROZOM EVRESİ:**

Koyu renkli, küçük, armut şekilli çekirdeğin, distalindeki sentriolden çıkan mikrotübüller, flagellumu oluşturacak olan aksonemi meydana getirirler. Özel bir tip lizozom olarak kabul edilen akrozom hyaluronidaz, akrozin, nöraminidaz, asit fosfataz ve tripsin benzeri proteazlar gibi hidrolitik enzimleri içerir. Fertilizasyon sırasında hyaluronidaz kumulus ooforus tabakasının, akrozin ve tripsin benzeri proteazlar ise zona pellusidanın erimesini sağlar. Sentiollerden bir tanesi flagellumu oluştururken, mitokondriyonların flagellum proksimal parçasını çevrelemesiyle spermatozoon hareketliliğini sağlayan sperm orta parçası gelişir.

## **4) MATURASYON (OLGUNLAŞMA) EVRESİ:**

Spermatidlerin arasındaki sitoplazmik köprüler ortadan kalkar. Oluşan “artık cisimcik” Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir ve spermatozoonlar tübül lümenine salınırlar.

### **2.4.4. SPERMATOZOON**

Sertoli hücrelerinden ayrılıp seminiferöz tübül lümenine geçen spermatozoon morfolojik olarak olgun germ hücresi olmasına rağmen fonksiyonel olarak henüz olgun değildir. Hareket yeteneklerini yardımcı bezlerin salgıları ile duktus epididimis’te ve dölleme yeteneklerini dişi genital kanallarında kapasitasyon geçirerek olgun sperm halini kazanırlar.

Tamamiyle olgunlaşan sperm 3 parçadan oluşur; baş, boyun, kuyruk. Baş ve kuyruk bölgesini bir plasma membranı sarar. Baş bölgesi anterior yarısına

kadar akrozomla sarılı olup yoğun kromatin içeren yassı şekilli bir çekirdek içerir. Baş bölgesini kuyruk bölgesine bağlayan bir çift sentriolün bulunduğu boyun bölgesinden başlayan aksonem, kuyruk boyunca uzanırken özellikle boyun bölgesinde çok sayıda mitokondriyon ile çevrilidir. Boyun bölgesinin son kısmında spermin hareketinde rol alan “annulus” adı verilen bir kalınlaşma yer alır. Yapısal olarak silyuma benzeyen spermin en uzun parçası olan kuyruk, 3 parçadan oluşmuştur: orta parça, esas parça, son parça. Sarmal dizilmiş mitokondriyonların oluşturduğu bir tabaka olan orta parça, 9+2 mikrotübüler aksonem ve dış yoğun lifler adı verilen sperm boynundan başlayıp kuyruk boyunca uzanan dokuz adet uzunlamasına seyreden filamandan oluşur. Kuyruğun en uzun parçası olan esas parça, yedi dış yoğun lifle sarılı merkezi aksonem ve bir fibröz kılıftan oluşur. Dış yoğun lifler ve fibröz kılıf spermin öne hareketi sırasında mikrotübüler kayma ve kıvrılma için sağlam bir iskelet oluşturan keratin proteinlerini içerir. Kuyruğun en kısa parçası olan son parça ise dış yoğun lifler ve fibröz kılıfın sonlanması nedeniyle sadece aksonem içerir<sup>56,57,58,59</sup>.

## **2.5. İNTERSTİSYUM VE LEYDIG HÜCRELERİ**

Seminiferöz tübülleri arasında yer alan interstisyum fibroblastlar, makrofajlar, mast hücreleri, undifferensiye mezenşimal hücreler, bağ dokusu elemanları, sinir lifleri, kan damarları, lenfatik damarlar ve interstisyel (Leydig) hücreleri içerir. Işık mikroskopik olarak, sık gruplar halinde interstisyumda yerleşen Leydig hücreleri yuvarlak veya poligonal şekilleri, eozinofilik sitoplazmalarıyla karakterizedir. Elektron mikroskopik olarak dağınık, kaba kromatinli oval şekilli çekirdek, belirgin 1-2 çekirdekçiğe sahiptir. Steroid sentez eden hücresel özelliklere sahip Leydig hücrelerinde sitoplazma; yaygın SER, küçük lipid damlacıkları, tübüler kristalli mitokondriyonlar, lipofuksin granülleri ile Reinke kristali ve prekürsörlerini içerir. Leydig hücrelerinin mitokondriyon ve endoplazmik retikülümündeki enzimlerce sekonder seks karakterlerinin gelişiminden sorumlu testosteron üretilir<sup>56,57,58,59</sup>.

## 2.6. KAN-TESTİS BARIYERİ

Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar, seminiferöz tübüller ile interstisyel kan damarları arasında geçirgen bir bariyer olan kan-testis bariyerini oluşturur. Seminiferöz tübüllerin sıvı kompozisyonunun kan plazmasından ve testiküler lenfden farklı olmasını ve germ hücrelerinin kandan gelen zararlı ajanlardan korunmasını sağlar. Seksüel olgunlaşmanın immunolojik gelişimden sonra meydana gelmesi nedeniyle spermatogonyumların ürettiği sperme özgü proteinler, gelişen spermleri yabancı olarak algılar. Germ hücrelerinin ölümüne sebep olacak immün yanıt oluşabilir. Ancak kan-testis bariyeri gelişen spermler ile immün yanıt arasında oluşabilecek herhangi bir etkileşimi ortadan kaldırmak için, seminiferöz tübüllere immünoglobulinlerin geçişini önler. Serumlarında yüksek düzeyde sperm antikoru bulunan kişilerde bu nedenle, fertilité bozukluğu görülmemektedir<sup>56,57,58,59,64</sup>.

## 2.7. NİKOTİN

Sigara kullanımı gelişmekte olan ölkelerde özellikle gençler ve yetişkinler arasında önlenebilir ölüm nedenlerinden biri olup halk sağlığını tehdit etmektedir. Sigara dumanı toksik ve karsinojenik etkisi bulunan 4000'den fazla kimyasaldan oluşan kompleks bir karışımdır<sup>17,18,65</sup>. Sigaranın major toksik bileşeni; piridin ve pirolidin halkasından oluşan ve *Nicotiana tabacum* bitkisinin yapraklarından izole edilen kuvvetli bir alkaloid olan nikotindir<sup>19,20,65</sup>. Bu bitki ilk kez Amerika kıtasında yetiştirilmekle birlikte, 16. yüzyılda Avrupa kıtasına ve daha sonra dünya üzerindeki diğer coğrafyalara yayılmıştır<sup>2</sup>.

### 2.7.1. Nikotinin Kimyasal Özellikleri

Nikotinin kimyasal adı; (S)-3-(1-Methyl-2-pyrroli-dinyl)pyridine'dir. Sıvı, renksiz, uçucu, suda çözünebilir (pKa=11) toksik bir bileşiktir. Hava ve ışığa maruz kaldığında renk değıştirir sarı ve koyu kahve rene dönüşür, viskozitesi artar. Nikotin, en yüksek oranda tütün bitkisinin yapraklarında bulunmaktadır.

Tütün türüne göre değişmekle birlikte, tütün yapraklarındaki nikotin oranı % 0,6-9 arasındadır. Normal bir sigara 20 mg. nikotin bulundurmasına karşın yanarak içildiğinden 0,5-1,5 mg. nikotin alınır<sup>2,19,66</sup>.

### **2.7.2. Nikotin Absorbsiyonu**

Nikotinin hücrel membrandan absorpsiyonu PH bağımlı bir olaydır. PH asidik ise nikotin iyonize olur ve hücrel membrandan kolay geçemez. Fizyolojik PH'da (PH=7,4) ise iyonize olamaz ve membrandan kolay geçer, %5'den azı plasma proteinlerine bağlanır. %60-80'i solunum ile absorbe olur. En hızlı absorpsiyonu alveoller ile geniş yüzeye sahip olan akciğerlerde gerçekleşir. Çok az bir kısmı gastrik sıvının asiditesi nedeniyle mide de absorbe olurken, daha alkali PH ve geniş yüzeye sahip olan ince barsakta da absorpsiyonu gerçekleşir<sup>2,17,19,66</sup>. Özellikle nikotin içeren pestisitlerden deri yoluyla da nikotin absorpsiyonu gerçekleşir. Otopsi örneklerinde en yüksek afinitenin karaciğer, böbrek, dalak ve akciğer'de en az afinitenin yağ dokuda olduğu görülmüştür<sup>2,17,19</sup>. Plasental membranları da geçerek fôtusa ulaşabilmektedir<sup>16,66</sup>. Nikotinin atılımı ise feçes, safra, salya, gastrik sıvı, ter ve süt yoluyla gerçekleşmektedir<sup>47,48</sup>. İnsan kanında yarı ömrünü 2-3 saat içinde tamamlayarak yok olur<sup>66</sup>. Nikotin atılımı idrar PH'ına bağımlı bir olaydır. İdrar PH'ı alkali ise değişmemiş nikotin miktarı artar ve nikotin reabsorpsiyonu gerçekleşir, daha az nikotin atılır<sup>69</sup>.

### **2.7.3. Nikotin Metabolizasyonu**

Nikotinin %70-80'i C-oksidasyonu ile kotinine metabolize olur. Metabolizasyonu; sitokrom P450 bağımlı monooksijenazlar (CYP) ile gerçekleşen nikotinin, hidroksilasyonu ve sitozolik bir enzim yardımıyla nikotinin yerini tutabilecek bir aldehit olan kotininin üretimiyle gerçekleşir. Nikotinin C-oksidasyonunda görev alarak kotinine dönüşmesine neden olan bu enzim P450 2A6 (CYP2A6)'dır<sup>19,70</sup>. Nikotinin metabolize olduğu diğer bir yol ise nornikotinin, dimetil kotinin, trans-3-hidroksi-kotinin,  $\delta$ -(3-piridil)- $\gamma$ -metil aminobutirik asit, nikotinin N-oksidasyonu ve N-metilasyonu içerir<sup>17,19</sup>.

#### 2.7.4. Nikotin Toksisitesi

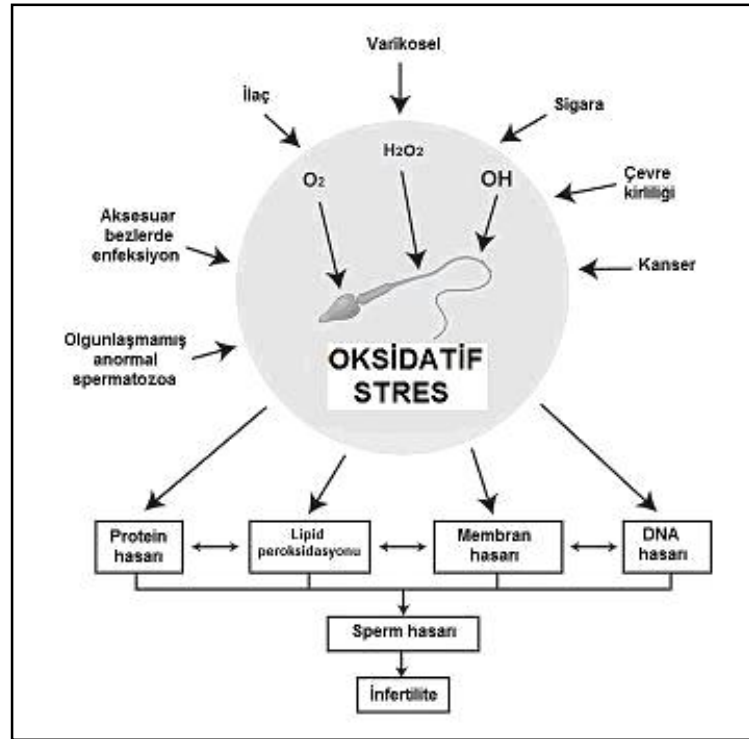
Nikotin LD50 dozu sıçanlarda 50mg/kg, farelerde 3mg/kg, insanlarda 0,5-1 mg/kg'dır<sup>71,72</sup>.

Saf formu yüksek derecede toksik olup insektisid olarak da kullanılan<sup>74</sup> nikotin, asetilkolin, norepinefrin, dopamin ve serotonin gibi nörotransmitterlerin salınımını da artırmaktadır. Dopamin ve norepinefrin salınımı, zevk almayı sağlar ve iştahı azaltırken asetilkolin, performans ve bellek gücünde artışa yol açmaktadır<sup>2,74,75</sup>.

Nikotin; insan ve hayvanda en belirgin etkisini, nabız sayısı, kan basıncı, plazma serbest yağ asiti ve akciğer hastalıklarında artışla göstermektedir<sup>3,24,29</sup>. Ayrıca lipoprotein metabolizmasını etkileyerek ateroskleroze neden olduğu da belirlenmiştir<sup>76</sup>. Oksidan etkisinin tersine Alzheimer ve Parkinson hastalığının tedavisinde deneysel olarak kullanıldığı ve fayda sağladığı da rapor edilmiştir<sup>77,78</sup>.

Asetilkolin (ACh), nikotin bağlandığı reseptörün doğal agonistidir. Nikotin etkisini vucutta bir nörotransmitter olan asetilkolini taklit ederek gerçekleştirir. Nikotin bağlanmasıyla 290 kDa ağırlığında 5 protein alt ünitelerden oluşan heteropentamerik bir glikoprotein olan nikotinik asetilkolin reseptörleri (nAChRS) aktive olur. nAChRS aktivasyonu ile integral katyon kanalları açılır, intrasellüler kalsiyum ( $Ca^{+2}$ ) iyon geçişi artar<sup>2,74,75</sup>.  $Ca^{+2}$  artışı, intrasellüler sinyal oluşumunu ve organel fonksiyonlarını engellemektedir. Ayrıca mitokondrial solunum zincirini kırarak, antioksidan sistemi bozan ROS üretimini de artırmaktadır<sup>17,19,25,26,28,79,80</sup>. ROS bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, düşük moleküler ağırlıklı, çok etkin moleküllerdir. Süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidroksil iyonu ( $OH^-$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) önemli ROS ürünleri arasındadır<sup>27,79,80</sup>. Başlıca makrofajlar ve nötrofiller tarafından üretilirler. Spermatozoonların mitokondriyon, çekirdek ve akrozomal içeriğinde ürettiği az miktardaki ROS ise kapasitasyon, hiperaktivasyon ve sperm-oosit füzyonunda önemli rol oynar<sup>19,39,70,79,81,82,83</sup>. Üretilen ROS ürünlerinden süperoksit; süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile hızlıca hidrojen peroksit, hidrojen peroksit de katalaz (CAT) enzimi ile  $H_2O$  ve  $O_2$ 'e veya

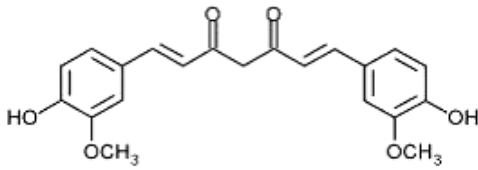
glutasyon peroksidaz (GSH-Px) - glutasyon redüktaz sistemi ile  $H_2O$ 'ya dönüştürülerek zararsız hale getirilir<sup>26,27,84</sup>. Antioksidan enzimlerce nötralize edilmezlerse, hücre membran proteinlerini yıkarlar, membran lipid ve proteinlerini yok ederler, hücre membranını sertleştirip hücre fonksiyonunu engellerler. Çekirdek membranını geçip genetik materyalini etkileyerek, vucuda ciddi hasarlar verirler<sup>66,80,85</sup>. Herhangi bir dokuda ROS üretimi ve antioksidan sistemce ROS'un ortadan kaldırılması arasındaki dengesizlik sonucu oksidatif stres meydana gelir<sup>24,25,27,28,79</sup> (Şema 1).



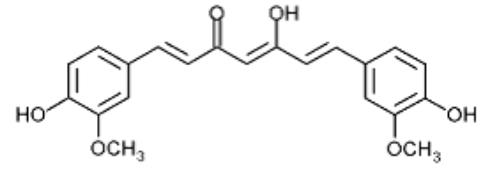
**Şema 1.** Erkek infertilitesine neden olan oksidatif stres faktörleri ve etki basamakları gösterilmiştir<sup>39</sup>.

## 2.8. CURCUMİN (TURMERIC)

Zencefil ailesinden Zingaberaceae üyesi *Curcuma longa* olarak bilinen zerdeçal, binlerce yıldır Asya ve Afrika ülkelerinde özellikle Hindistan'da boya, tatlandırıcı ve tıbbi bitki olarak kullanılmaktadır. Turuncu renkte, dikdörtgen şekilli, yumru kökleri olan 5-8 cm uzunluğunda ve 2-3 cm çapında çok yıllık bir bitkidir<sup>41,42</sup>. Hindistanda safra sorunları, anoreksi, diyabet, romatizma, öksürük, sinüzit, nezle tedavisinde yararlanılmaktadır<sup>42,43,44,45</sup>. Curcumin [1,7-bis(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-1,6-heptadiene-3,5-dione], *Curcuma longa* bitki kökünden elde edilen polifenollardan Curcuminoid ailesinin turuncu-sarı renkte ana bileşenidir<sup>41,42,43,44,45</sup>. Kimyasal yapısı Roughley ve Whiting tarafında 1973'te tanımlanmıştır<sup>42</sup>. Keto ve enol formu bulunmaktadır. Keto formu asidiktir. PH 3-7 aralığında curcumin güçlü bir H atom donörüdür ve serbest radikalleri daha az reaktif türlere dönüştürürler. Buna karşın pH 8'in üzerinde enol form hakimdir, rengi sarıdan kırmızıya doğru döner. Curcumin bazik pH'a karşı dayanıksızdır ve 30 dakika içerisinde *trans*-6-(4'-hidroksi-3'metoksifenil)-2-4-diokso-5-hekzanal, ferulik asit, feruloilmetan ve vanilline indirgenir. Moleküler ağırlığı 368,37 g/mol ve erime noktasıda 176-177°C'dir. Etanol, alkaliler, asetik asit ve kloroformda çözülebilirken, suda çözülebilir değildir<sup>42</sup>.



CURCUMİN KETO FORM



CURCUMİN ENOL FORM

**Şema 2.** Curcuminin keto ve enol formunun kimyasal formülü gösterilmiştir<sup>42</sup>.

### 2.8.1. Curcumin'in Farmakolojik Özellikleri

Yaygın tropik dozu günlük 3 kere 400-600 mg kurutulmuş toz veya 60 gr taze zerdeçal köküdür<sup>40,86</sup>.

Sıçanlarda oral yolla alınan curcumin'in yaklaşık %75 oranında feçesle atıldığı ve sadece ürinde izine rastlanıldığı rapor edilmiştir<sup>42,44</sup>. İntraperitonel uygulamada ise aynı oranda feçesle atılmasına rağmen %11 oranında safrada bulunması, barsaklarda curcumin absorpsiyonunun daha düşük seviyede olduğunu göstermektedir.

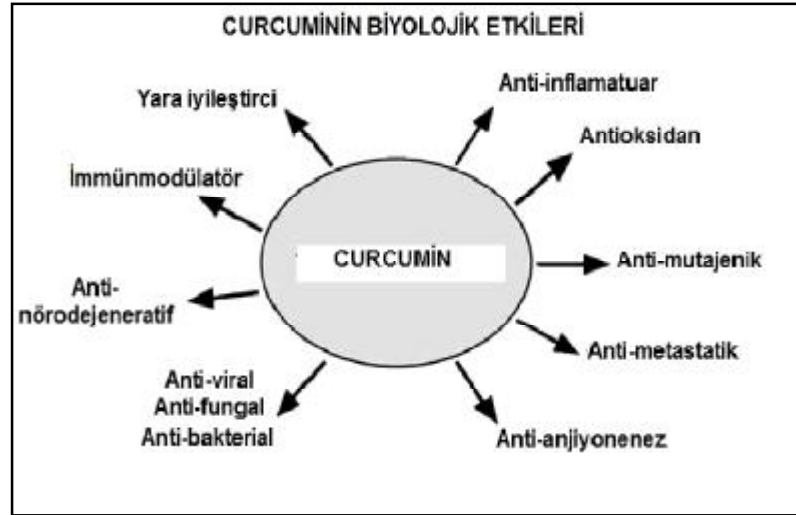
### **2.8.2. Curcumin'in Klinik Özellikleri**

Curcumin yemeklerde baharat olarak kullanılmasının yanı sıra geleneksel tıpta antiinflamatuvar, antiseptik, analjezik, antispazmolitik, antioksidan, antikanser, antibakteriyel, antiprotozoal antikarsinogenik, hipokolesterolemik ve yara iyileştirici olarak kullanılmaktadır<sup>41,42,43,44,45</sup>.

Güçlü bir antioksidan olarak prooksidant ve karsinogenlerden ROS (süperoksit, peroksit, hidroksil radikalleri)'u nötralize ederek oksidatif zararlarından koruma potansiyeline sahiptir<sup>40,41,42,44</sup>. SOD, CAT, GSH-Px gibi antioksidan enzimlerin devamlılığını sağladığı rapor edilmiştir<sup>42,45,47,53</sup>. Ayrıca Vitamin C ve Vitamin E ile kıyaslanabilir bir antioksidan olan curcumin'in kalpte miyokardial iskemiye azalttığı<sup>40,44</sup>, karaciğer<sup>87</sup>, pankreas<sup>88</sup> ve sinir sistemini<sup>48</sup> kronik alkol alımının sebep olduğu toksisiteden koruduğu görülmüştür.

Oral curcumin alımı intestinal epitel hücrelerince absorbe edilerek sindirim ve fermentasyon sırasında barsak mikrobiyal florasının dengelenmesini sağlamaktadır<sup>40</sup>. Ayrıca nükleer faktör kappaB (NFκB) aktivasyonunu inhibe edip, antiinflamatuvar etki oluşturur ve tümör nekroz faktörü-α (TNFα), interlökin 1 (IL-1), granulosit koloni stimulan faktör (G-CSF) miktarını artırır. Yapılan çalışmalarda gastrik mukozal hücrelerde enfeksiyon ve inflamasyonu, karaciğerde yağlanma ve nekrozisi engellediği<sup>87</sup>, pankreatik doku yaralanmalarında asinar hücre vakuolizasyonunu ve nötrofil infiltrasyonunu azalttığı<sup>88</sup> belirlenmiştir. Ayrıca diyetle alınan curcuminin, yağ ve şeker sindirim enzimlerini üretimini artırarak, kolesterol oluşumunu da durdurduğu rapor edilmiştir<sup>89</sup>. Curcumin; karaciğer, akciğer ve böbrekte nikotin uygulaması ile artan serbest radikalleri nötralize ederek oksijeni baskılar ve indüklenen sitokrom P450'yi inhibe eder. Böylelikle membran lipid peroksidasyonunu önleyerek, membran bütünlüğünü korur<sup>40,42,44,47</sup>. Curcuminin platelet

agregasyonunu engelleyerek aterosklerozisi önleyici özelliği de bulunmaktadır<sup>42,90</sup>.



**Şema 3.** Curcuminin klinik etkileri gösterilmiştir<sup>44</sup>.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda 60 adet ortalama 30-40 gr ağırlığında ergin Swiss albino tip erkek fareler kullanıldı. Deney hayvanları Çukurova Üniversitesi Tıbbi Bilimler Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi (TIPDAM) koşullarında; sıcaklığı ortalama 22°C olan odada, paslanmaz tel kapaklı plastik kafesler içerisinde 12 saat ışık 12 saat karanlıkta yaşatıldı. Hayvanlara adlibitum olarak hazır pelet yem ve çeşme suyu verildi.

Her grupta 12 hayvan olmak üzere 60 erkek fare 5 gruba ayrıldı.

**1. grup** kontrol grubu olarak değerlendirildi.

**2. grup** 14 gün boyunca 12 fareye günde tek doz intraperitoneal olarak 0,4mg/kg/gün nikotin (Sigma) enjeksiyonu yapıldı. Deney süresi sonunda 6 tanesine servikal dislokasyon tekniği ile sakrifiye edildi. Hormonal tetkik için intrakardiyak kanlarının alınmasının ardından skrotal bölgesi batikonla silinerek bistüri ile deri insizyonu yapıp testisleri açığa çıkarıldı. Bilateral testis doku örnekleri ışık mikroskopik inceleme için Bouin solusyonuna ve elektron mikroskopik inceleme için %5'lik glutaraldehit solusyonları içerisine alındı. Kalan 6 fare, 28 gün boyunca herhangi bir işlem uygulanmadan yaşatıldı ve 28 gün sonunda servikal dislokasyonun ardından kan ve bilateral testis örnekleri ışık ve elektron mikroskopik inceleme için takibe alındı.

**3. grup** 28 gün boyunca günde tek doz 0,4mg/kg/gün nikotin uygulanan 12 fareden 6 tanesine süre sonunda servikal dislokasyonun ardından, kan ve testis doku örnekleri ışık ve elektron mikroskopik incelemeler için tespit solusyonlarına alındı. 28 gün boyunca herhangi bir işlem uygulanmadan yaşatılan, kalan farelere ait kan ve testis doku örnekleri de ışık ve elektron mikroskopik incelemeler için tespit solusyonlarına alındı.

**4. grup** 14 gün boyunca 12 fareye intraperitoneal olarak tek doz 0,4mg/kg/gün nikotin ve gavajla mısır yağında çözündürülen 200mg/kg/gün Curcumin verildi. Bu farelerden 6 tanesine süre sonunda servikal dislokasyonla sakrifiye edildi. Hormonal tetkik için intrakardiyak kanlarının alınmasının ardından skrotal

bölgesi batikonla silinerek bistüri ile deri insizyonu yapıp testisleri açığa çıkarıldı. Alınan bilateral testis doku örnekleri ışık mikroskopik inceleme için Bouin solusyonuna ve elektron mikroskopik inceleme için %5'lik gluteraldehit solusyonları içerisine alındı. Kalan 6 fare 28 gün boyunca herhangi bir işlem uygulanmadan yaşatıldı ve 28 gün sonunda servikal dislokasyonun ardından kan ve bilateral testis örnekleri alındı. Bilateral testis doku örnekleri ışık mikroskopik inceleme için Bouin solusyonuna ve elektron mikroskopik inceleme için %5'lik gluteraldehit solusyonları içerisine alındı.

**5. grup** 28 gün boyunca 0,4mg/kg/gün Nikotin ve 200mg/kg/gün Curcumin uygulanan 12 fareden 6 tanesine deney sonunda servikal dislokasyonun ardından kan ve testis örnekleri ışık ve elektron mikroskopik incelemeler için tespit solusyonlarına alındı. 28 gün boyunca herhangi bir işlem uygulanmadan yaşatılan, kalan farelere ait kan ve testis doku örnekleri de takibe alındı.

Deney sürecimiz sırasında 28 gün nikotin uygulanan grupta ex olan 4 fare yerine temin edilenlerle gruptaki 12 hayvan sayısı korunmuştur

### **3.1. BİYOKİMYASAL ANALİZ**

Dokular, ışık ve elektron mikroskopik incelemeler için tespite alınırken, kalpten alınan kanlar 3600 devirde 5 dakika santrifüj edilerek serum ve plazma kısmı ayrıldı. Serum kısmı epandorf tüplerde -20°C'de bekletildi. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Balcalı Hastanesi Merkez Laboratuvarında E 170 İmmunoassay (Roche, Almanya) yöntemi ile serum testosteron seviyesi ölçüldü.

### **3.2. IŞIK MİKROSKOPİ TAKİP YÖNTEMLERİ**

Bouin solusyonunda 4 saat boyunca tespit edilen testis doku örnekleri sırasıyla 2 saat %50'lik alkolde, tekrar 2 saat %50'lik alkolde ve 2 saat %70'lik alkolde bekletildi. Daha sonra dokular, takibe kadar %70'lik alkole alındı. Leica TP 1020 ototeknikon cihazı ile rutin doku takipleri yapıldı. Bloklama işlemini

takiben mikrotom ile 5 µm kalınlığında alınan parafin kesitler, Hematoksilen-Eozin boyası ile boyandı ve Olympus BX50 (Tokyo, Japonya) ışık mikroskopunda incelendi ve resimleri çekildi. Çekilen resimlerde randomize şekilde seçilen tübüllerin ortalama epitel kalınlıkları image J programıyla ölçüldü.

### 3.3. ELEKTRON MİKROSKOPİ YÖNTEMLERİ

Elektron mikroskopik değerlendirme için alınan testis doku örnekleri Millionig fosfat tamponu ile hazırlanmış, %5'lik glutaraldehit solusyonu içerisine konuldu. Ph'sı 7,4 olan %5'lik glutaraldehit solusyonunda 1 saat kadar bekletilen doku parçaları daha sonra içerisinde bir miktar %5'lik glutaraldehit bulunan dibi dışı mumu ile kaplanmış, petri kutularına alındı ve jilet yardımıyla yaklaşık 1 mm<sup>3</sup> büyüklükte parçalara ayrıldı. Doku parçaları daha sonra tekrar 3 saat süreyle %5'lik glutaraldehit solusyonuna alındı. Bu solusyonda toplam 4 saat tespit edildi. Tespit işleminden sonra dokular Millioning fosfat tamponunda<sup>91</sup> 10 dakika bekletildi. 10 dakika sonunda dokular tekrar Millioning fosfat tamponuna alınıp 1 gece bekletildi. Ertesi gün dokular Millioning fosfat tamponu ile hazırlanmış %1'lik osmium tetraoksit solusyonu ile ikinci kez tespit edildi. İkinci tespitten sonra dokular tekrar Millioning fosfat tamponu ile iki defa 10'ar dakika süreyle yıkandı ve derecesi giderek artan alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi (Tablo 1).

**Tablo 1. Elektron mikroskopik doku takip yöntemleri**

| <b>SOLUSYON</b> | <b>SÜRE (DAKİKA)</b> | <b>SICAKLIK (°C)</b> |
|-----------------|----------------------|----------------------|
| %50 Etil alkol  | 15                   | +4                   |
| %70 Etil alkol  | 15                   | +4                   |
| %86 Etil alkol  | 15                   | +4                   |

|                 |    |              |
|-----------------|----|--------------|
| %96 Etil alkol  | 15 | +4           |
| %100 Etil alkol | 10 | +4           |
| %100 Etil alkol | 10 | +4           |
| %100 Etil alkol | 10 | Oda ısısında |
| Propilen oksit  | 15 | Oda ısısında |
| Propilen oksit  | 15 | Oda ısısında |

Son %100'lük etil alkol safhasına kadar olan işlemler +4 °C'de buzdolabında yapıldı. Sonraki işlemler ise oda ısısında yapıldı. Dehidratasyondan sonra doku parçaları oda ısısında propilen oksitde 2 kez 15 dakika bekletildi. Daha sonra propilen oksit ve gömme materyali rezinden oluşan karışıma alındı.

1 hacim propilen oksit + 1 hacim gömme materyali rezin ile 30 dakika

1 hacim propilen oksit + 1 hacim gömme materyali rezin ile 30 dakika immerse edildi.

Bu işlemlerden sonra doku parçaları, içerisinde yeni hazırlanmış gömme materyali (rezin) bulunan tüplere alındı ve bir gece süreyle rotatorda (döndürücü) karıştırıldı.

Gömme materyali:

|                                 |        |        |
|---------------------------------|--------|--------|
| Araldit                         | CY 212 | 20 ml  |
| Sertleştirici                   | HY 964 | 20 ml  |
| Hızlandırıcı                    | DY 064 | 0,6 ml |
| Plastikleştirici-dibütil ftalat |        | 1 ml   |

Ertesi gün doku parçaları taze hazırlanmış gömme materyali kullanılarak 00 polietilen kapsüllere gömüldü ve 60 °C etüvde 48 saat süreyle polimerize edildi. Daha sonra bloklar etüvden çıkarılarak soğumaya bırakıldı. Bloklardan

Reichert Ultracut S ultramikrotomuyla 500 Å kalınlığında kesitler alındı. Kesitler 200-300 gözenekli bakır gridlere toplandı ve %70'lik etil alkolde doymuş uranil asetat ve Reynolds'un kurşun sitrat solusyonları ile boyandı. Boyanan kesitler JEOL-JEM, 1400 Transmisyon Elektron Mikroskobu ile incelendi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. BİYOKİMYASAL BULGULAR

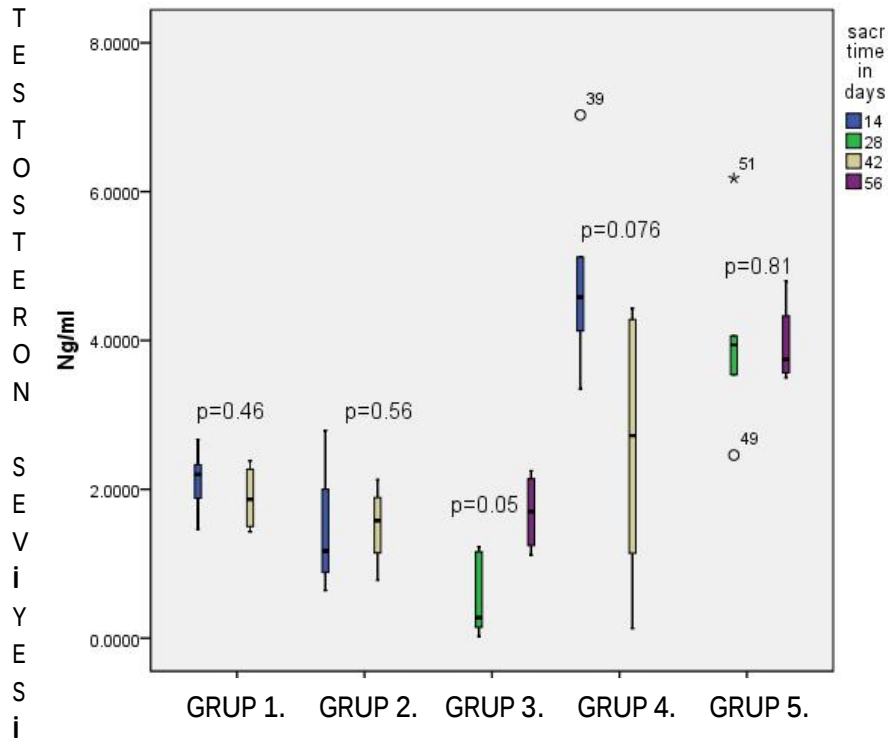
Kontrol ve deney gruplarına ait farelerin serum testosteron seviyelerinin istatistiksel analizinde SPSS version 18 kullanıldı. Mann Whitney test istatistiği ile grupların sakrifiye zamanlarının testosteron seviyesine etkisi araştırıldı. Two way ANOVA ile aynı anda hem grup hem de sakrifiye zamanının testosteron seviyesi üzerindeki etkileri incelendi. Analiz sonucunda grup farklılıklarının testosteron üzerinde önemli etkisinin olduğu ( $p<0,0001$ ), fakat zamanın önemli bir etkisinin olmadığı sonucuna varıldı ( $p: 0,33$ ).

2. ve 3. deney gruplarının serum tesosteron seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla düşük olduğu gözlemlendi. Bu grupların deney sonunda normal şartlarda yaşatılan farelerinden elde edilen testosteron değerlerinin ise kontrol grubundan daha düşük olduğu, ancak kendi deney gruplarından ise anlamlı bir farklılıklarının bulunmadığı tespit edildi. 4. ve 5. deney gruplarından elde edilen testosteron verilerinin ise kontrol grubundan yüksek olduğu görüldü. Hiçbir uygulama yapılmadan 28 gün daha yaşatılan 4. grup farelerin serum testosteron seviyeleri kendi deney grubundan belirgin bir farklılık gösterirken 5. grup farelerin takip değerinde ise anlamlı bir farklılık ölçülmemiştir.

**Tablo 2. Farelerin bulundukları grup ve sakrifiye zamanlarına göre tanımlayıcı testosteron değerleri**

|                  | 1.grup  | 2.grup  | 3.grup  | 4.grup  | 5.grup  |
|------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
| Sakrifiye zamanı | 14. gün | 14. gün | 28. gün | 14.gün  | 28. gün |
| Median           | 2,20    | 1,170   | 0,275   | 4,58    | 3,94    |
| Min.             | 1,46    | 0,64    | 0,025   | 3,35    | 2,46    |
| Max.             | 2,67    | 2,79    | 1,23    | 7,03    | 6,18    |
| Sak. zamanı      | 42. gün | 42. gün | 56. gün | 42. gün | 56. gün |
| Median           | 1,86    | 1,58    | 1,70    | 2,72    | 3,74    |
| Min.             | 1,43    | 0,78    | 1,117   | 0,13    | 3,50    |
| Max.             | 2,38    | 2,13    | 2,25    | 4,43    | 4,80    |

**Grafik 1. Farelerin bulundukları grup ve sakrifiye zamanlarına göre tanımlayıcı testosteron grafiği.**



## **4.2. IŞIK MİKROSKOBİK BULGULAR**

### **1. Grup: Kontrol Grubu**

Kontrol ve deney gruplarından elde edilen testis doku örneklerinin Hemotoksilen-Eozin ile boyanmış kesitleri ışık mikroskopuyla incelendi.

Normal laboratuvar şartlarında yaşatılan bu grup farelerden elde edilen doku örneklerinde testis dıştan fibroelastik bağ dokusu yapısındaki tunika albuginea ile sarılıydı. Testis parankiması çok sayıda seminiferöz tübüller ve interstisyumdan oluşmaktaydı (Şekil 1). Membrana propria ile desteklenmiş seminiferöz tübüller spermatojenik hücreler ve Sertoli hücreleri ile döşeliydi. Spermatogonyumlar bazal lamina üzerine oturmaktaydı. Primer spermatositler oval bir çekirdeğe ve geniş sitoplazmaya sahip olmalarıyla ayırt edildiler. Koyu boyanan küçük bir çekirdeğe sahip spermatidler, lümene yakın yerleşim göstermekteydi. Uzun iğ şekilli çekirdekleri ile karakterize spermatozoonlar seminiferöz tübül lümeninde yer almaktaydı. Üçgen ya da oval şekilli çekirdeğe sahip Sertoli hücreleri bazaldan lümene kadar uzanmaktaydı. Kesitlerden randomize seçilen tübüllerin epitel kalınlıkları değerlendirildi ve ortalama 66,4 µm olduğu belirlendi. Gevşek bağ dokusu yapısında olan interstisyum, kan ve lenf damarlarından zengindi. Düzensiz poligonal şekilli, eozinofilik sitoplazmaya sahip interstisiyel hücreler (Leydig hücreleri), büyük eksantrik ve kromatinden fakir çekirdek içermekteydi (Şekil 1).

### **2. Grup: Deney Grubu**

14 gün intraperitoneal nikotin uygulanan 2. grup testis doku örneklerinde tunika albuginea'nın kalınlaştığı, interstisiyel alanda eozinofilik sitoplazmalı, büyük eksantrik ve kromatinden fakir çekirdeğe sahip Leydig hücreleri gözlemlendi. Çoğu seminiferöz tübül lümeninde spermatogenezisin etkilendiğini gösteren immatur spermatojenik hücre birikimi izlendi. Tübül epitel kalınlığı ortalama 42,3 µm olarak ölçüldü ve kontrol grubuyla karşılaştırıldığında belirgin bir azalma dikkati çekti (Şekil 2). Ayrıca bu gruba ait örneklerde bazı

seminiferöz tübüllerde aşırı lipid birikimini yansıtan vakuolizasyon da gözlenmekteydi ( ekil 3).

14 günlük nikotin uygulamasından sonra 28 gün boyunca normal şartlarda ya atılan farelerden elde edilen testis doku örnekleri incelendi. Ortalama 55,3  m olarak ölçülen seminiferöz tübül epitel kalınlığının deney grubuna göre arttığı belirlendi. Bununla beraber tunika albuginea, seminiferöz tübüller ve interstisyumda belirgin bir değişiklik izlenmedi ( ekil 4).

### **3. Grup: Deney Grubu**

28 gün intraperitoneal nikotin uygulanan bu gruptaki farelerin doku örnekleri ışık mikroskopunda incelendi. Elde edilen bulgular ışığında tunika albuginea'nın kalınla tı ı, interstisyumun ödemli olduğu ve seminiferöz tübül epitelinin d k ld    dikkati çekti. Ayrıca çoğu t b lde spermatojenik arrest gözlendi ( ekil5). Seminiferöz tübüllerin lümeninde immatur germ hücre dökülmeleri yaygın olarak g r lmekteydi. Etkilenen tübüllerde epitel kalınlığı ortalama 32,1  m olup 2. gruba göre daha da azalmıştı ( ekil 6).

Normal şartlarda 28 gün daha ya atılan farelerden elde edilen testis doku örnekleri incelendi. Ortalama tübül epitel kalınlığı (52,0  m) ve morfolojik değişiklikler 2. grubun takibinde elde edilen bulgulara benzemekteydi ( ekil 7).

### **4. Grup: Deney Grubu**

4. gruptaki farelerin testis doku kesitlerinde normal görünüme sahip seminiferöz tübüller gözlendi. Tübüllerin lümeninde immatur hücrelere rastlanılmaması dikkat çekiciydi. Ayrıca 67,5  m olarak ölçülen seminiferöz epitel kalınlığının kontrole e  değer olduğu izlendi ( ekil 8).

Bu grubun 28 gün bekletilen farelerin testis doku kesitlerinde seminiferöz tübüllerin görünümü ve ortalama epitel kalınlığı (61  m) kontrole benzer nitelikteydi ( ekil 9).

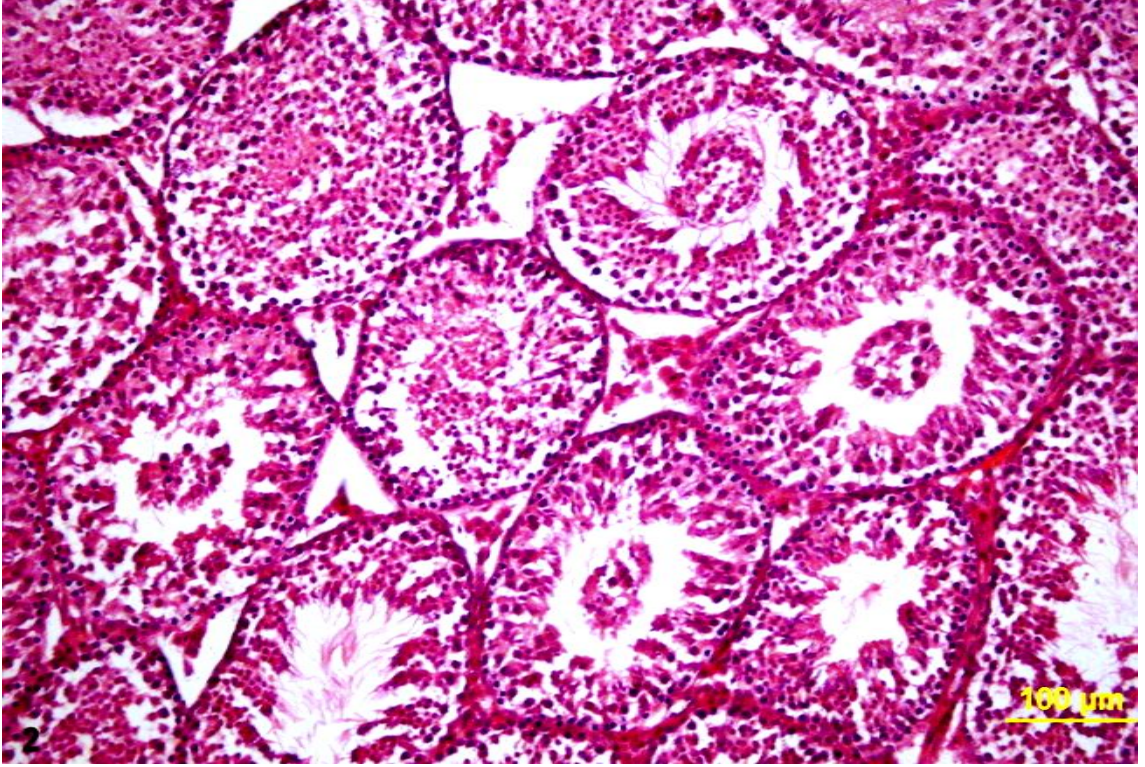
### 5.Grup: Deney Grubu

28 gün intraperitoneal nikotin enjeksiyonunun ardından gavajla curcumin uygulanan 5. grubun testis doku kesitleri incelendi. İnterstisyum ve seminiferöz tübüllerin görünümü kontrol grubuna benzemektedir. Seminiferöz tübüllerde spermatojenik hücreler ve Sertoli hücreleri morfolojik olarak normaldi (Şekil 10). Ortalama 63,5 µm olarak ölçülen tübül epitel kalınlığı kontrol grubu gibiydi.

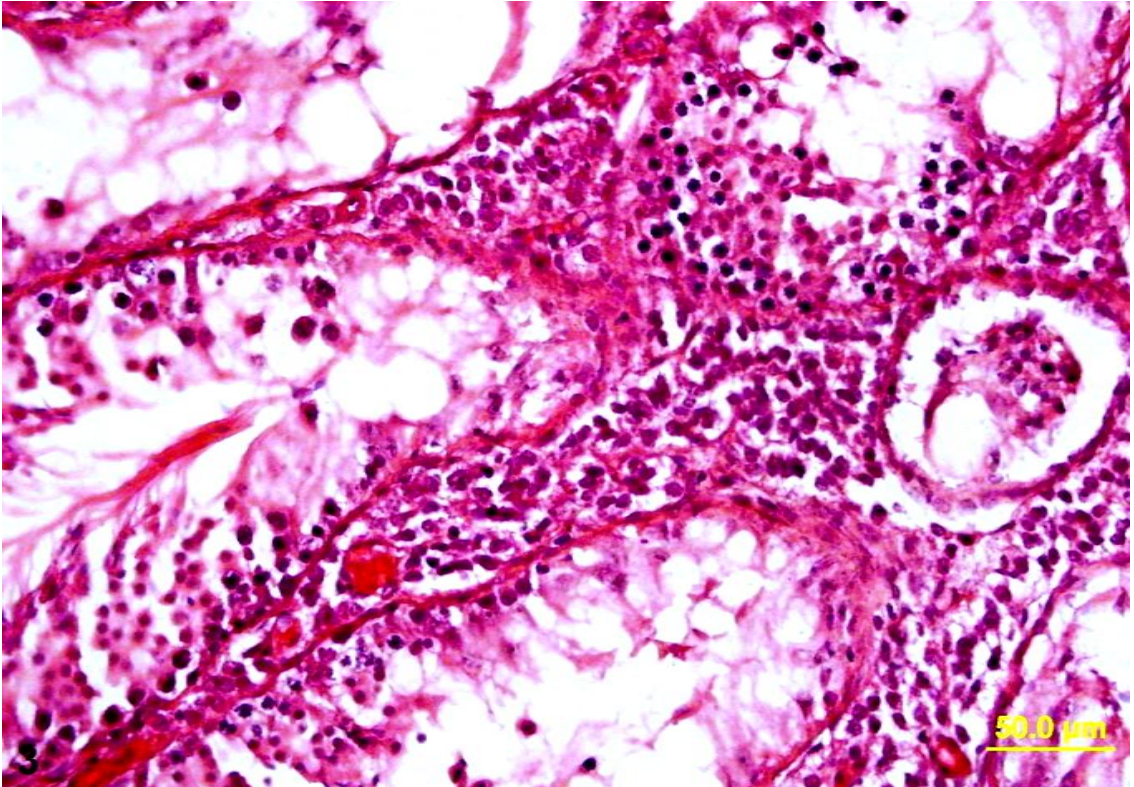
28 günlük takipten sonra elde edilen testis doku kesitleri de 4. grubun takibine benzer görünümdeydi. Seminiferöz tübül epitel kalınlığı ise 62,8 µm olarak ölçüldü (Şekil 11).



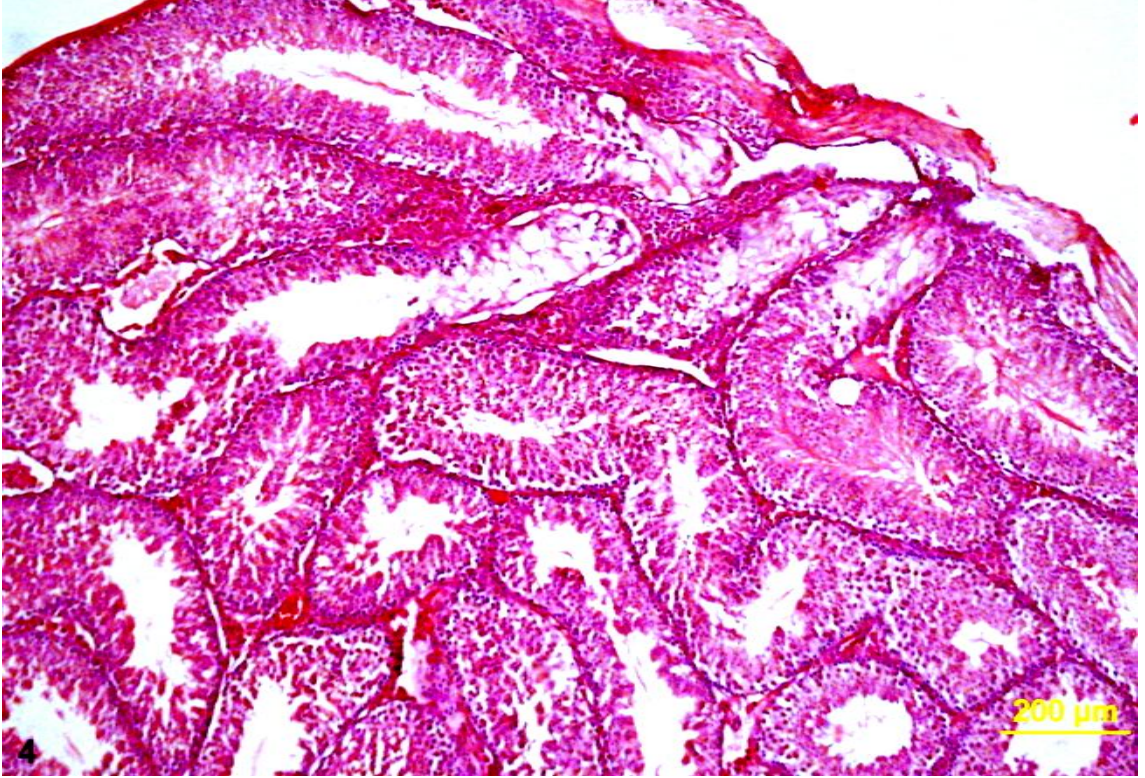
**Şekil 1.** Kontrol Grubu. Normal görünümlü seminiferöz tübüller ve interstisyum izlenmektedir. H.E.



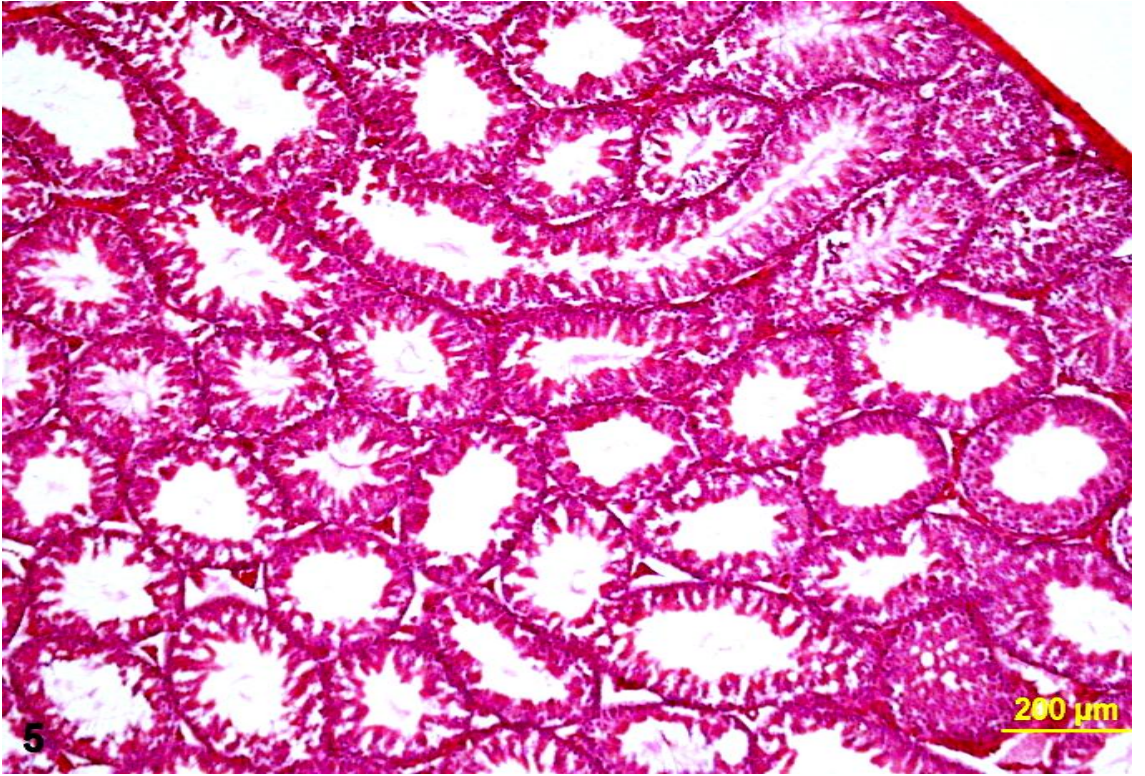
**Şekil 2.** 2. Grup. Seminiferöz tübül epitelinde belirgin şekilde dökülme dikkati çekmektedir. H.E.



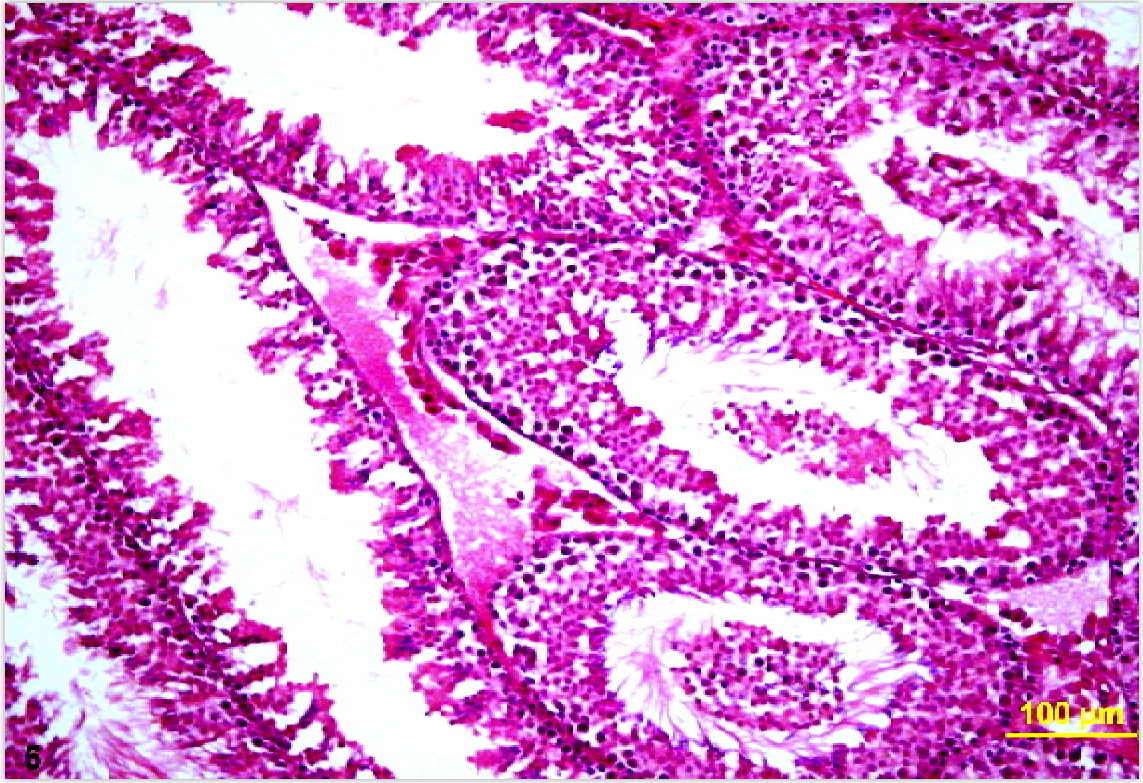
**Şekil 3.** 2. Grup. Bazı seminiferöz tübüllerde hyalinizasyon ve vakuolizasyon görülmektedir. H.E.



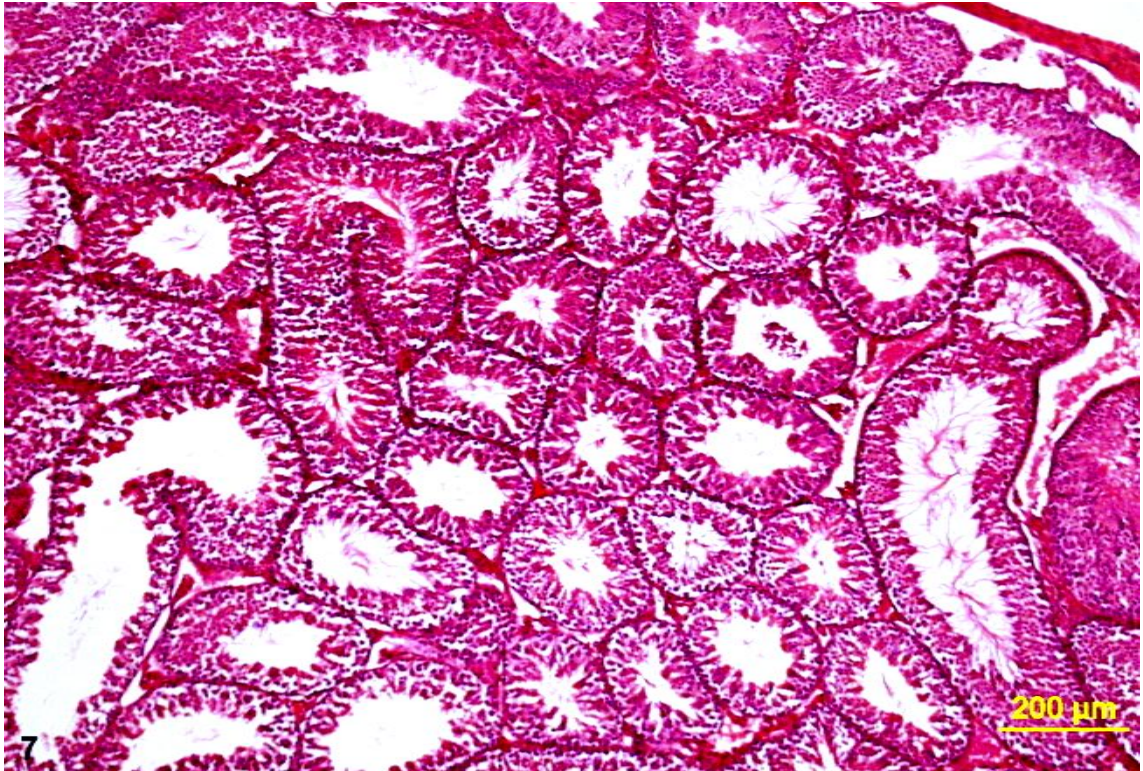
**Şekil 4.** 2. Grup. 28 Gün Takip. Seminiferöz epitelde dökülme ve bazı tübüllerde hyalinizasyon ve vakuolizasyon izlenmektedir. H.E.



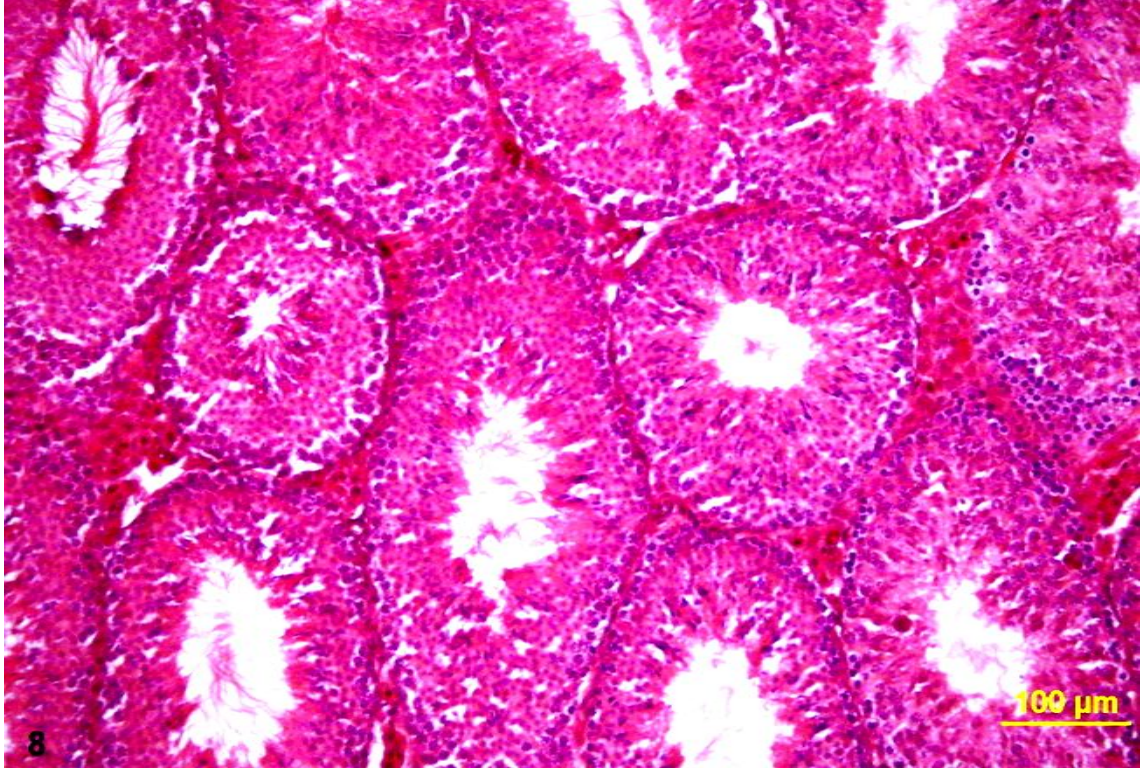
**Şekil 5.** 3. Grup. Seminiferöz tübülde dökülme ve spermatojenik arrest izlenmektedir. H.E.



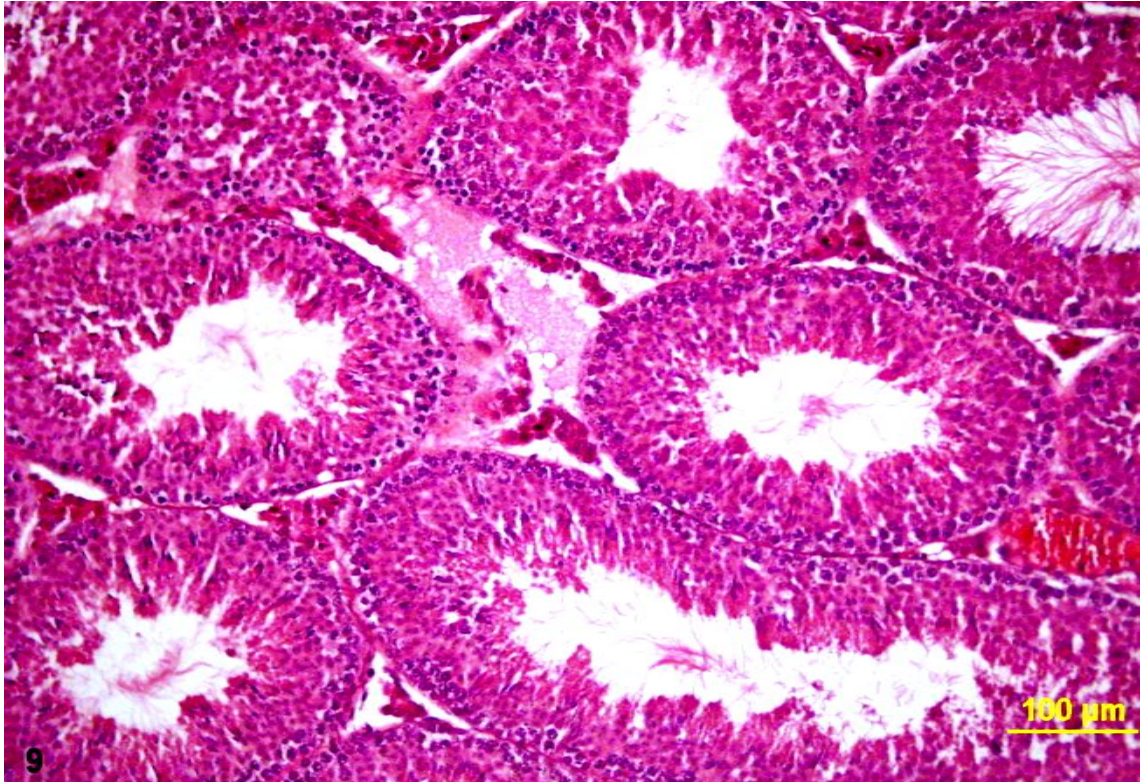
**Şekil 6.** 3. Grup. Seminiferöz tübül epitelinde dökülme, lümende immatur hücre birikimi ve interstisyumda ödem dikkat çekmektedir. H.E.



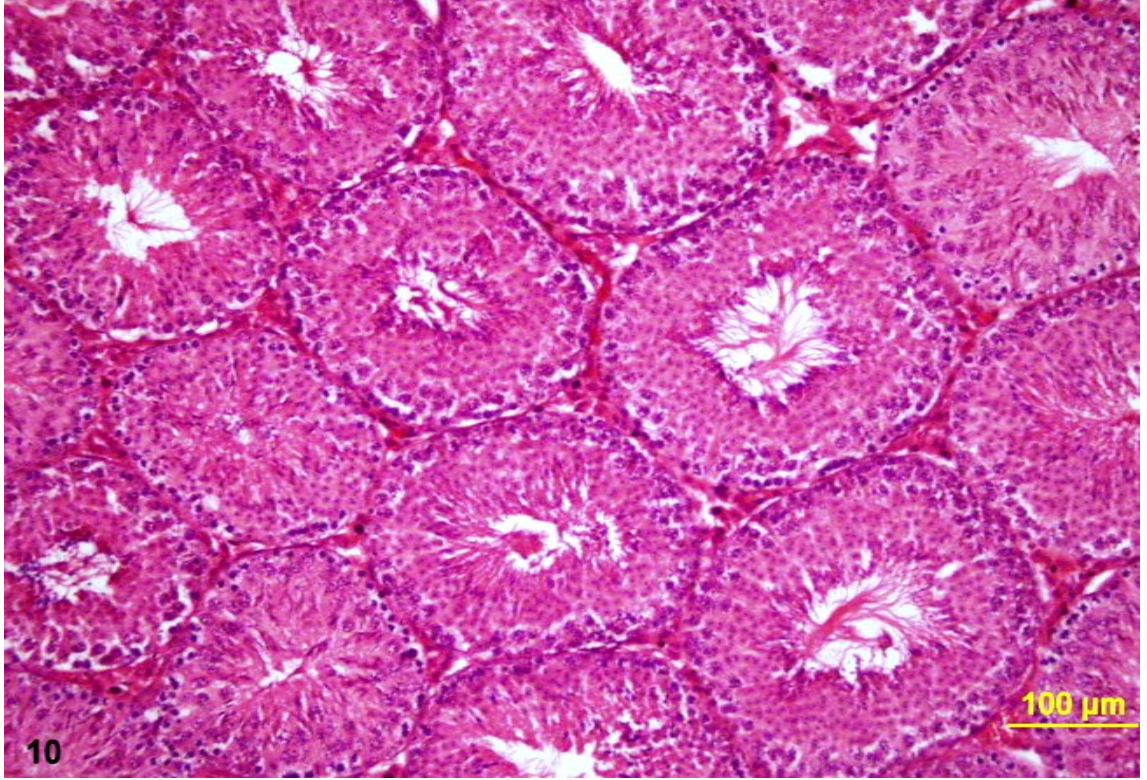
**Şekil 7.** 3. Grup. 28 Gün Takip. Düzensiz epitele sahip seminiferöz tübüllerde spermatojenik arrest gözlenmektedir. H.E.



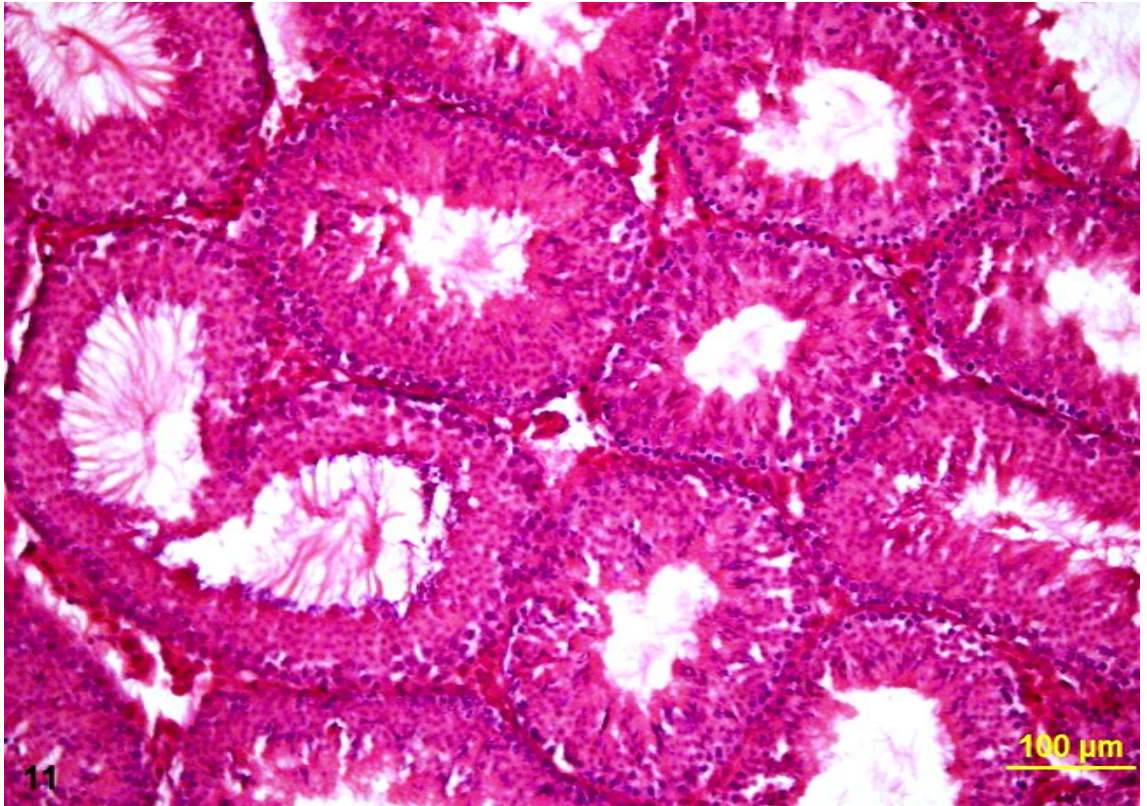
**Şekil 8.** 4. Grup. Normal görünümlü seminiferöz tübül ve interstisyum. H.E.



**Şekil 9.** 4. Grup. 28 Gün Takip. Normal görünüme sahip seminiferöz tübüller. İnterstisyumda ödem dikkat çekmektedir. H.E.



**Şekil 10.** 5.Grup. Normal görünümlü seminiferöz tübül epiteli ve interstisyum. H.E.



**Şekil 11.** 5. Grup. 28 Gün Takip. Çoğu normal görünüme sahip seminiferöz tübüller ve interstisyum. H.E.

### 4.3. ELEKTRON MİKROSKOBİK BULGULAR

#### 1. Grup: Kontrol Grubu

Kontrol grubuna ait fare testis doku örnekleri elektron mikroskop ile incelendi. Bazal lamina, myoid hücreler ve epiteloid hücre tabakasından oluşan membrana propria düzenli bir yapı sergilemekteydi. Normal elektron densliğe sahip, birbirine sıkıca tutunan ve tek tabaka halinde düzenlenme gösteren myoid hücrelerde çekirdek yassı şekilli olup periferik kromatin yığınları içermekteydi. Sitoplazmalarında birkaç mitokondriyon ve periferik mikropinositotik veziküller yer almaktaydı (Şekil 12-13).

Normal elektron densliğe sahip Sertoli hücreleri bazal lamina üzerine oturmaktaydı. Derin invaginasyonlu çekirdek belirgin 1-2 çekirdekçiğe sahipti. Sitoplazma yaygın SER, tübüler ve fincan şekilli mitokondriyonlar, GER, birkaç lipid damlacığı, elektron dens yapılar ve glikojen granülleri içermekteydi. Sertoli hücresi-Sertoli hücresi arasındaki sıkı bağlantılar belirgin olarak gözlemlendi (Şekil 12).

Bazal lamina üzerine oturan spermatogonyumlarda çekirdek oval şekilli idi. Organel yönünden fakir olan sitoplazma birkaç mitokondriyon ve endoplazmik retikülüm sisternaları içermekteydi (Şekil 13). Seminiferöz tübül epitel hücreleri arasında, birbirilerine sitoplazmik köprülerle bağlı spermatositler gözlemlendi. Bu hücrelerin sitoplazmalarında gruplar oluşturmuş kristal tip mitokondriyonlar, birkaç mikrotübül, endoplazmik retikülüm yer almaktaydı. Normal morfolojik özelliği sahip spermatidler tübül lümenine yakın yerleşim göstermekteydi. (Şekil 12-13).

İnterstisyumda fibroblastlar, makrofajlar, mast hücreleri, kan ve lenf damarlarının yanı sıra steroid hormon sentezinden sorumlu Leydig hücreleri yer almaktaydı. Normal elektron denslikteki Leydig hücrelerinde düzensiz şekilli çekirdek belirgin 1-2 çekirdekçiği içermekteydi. Sitoplazmalarında yaygın SER, tübüler mitokondriyonlar, gelişmiş birkaç Golgi kompleksi, lipid damlacıkları ve lizozomal yapılar görülmekteydi (Şekil 14).

## 2.Grup: Deney Grubu

14 gün süre ile günde tek doz nikotin uygulanan farelerin testis doku örneklerinin incelenmesinde membrana propria total kalınlığında hafif artış izlendi. Bazal laminada yer yer kıvrıntılı bir görünüm, kollajen lif miktarında artış ve myoid hücrelerde düzensizlikler dikkat çekti. Presudopod benzeri sitoplazmik uzantılar gösteren myoid hücrelerde çekirdek kromatini yoğunlaşmıştı. Sitoplazmaları birkaç mitokondriyon, periferal yerleşimli pek çok mikropinositotik vezikül ve birkaç lipid damlacığı içermekteydi (Şekil 15-16).

Bazı tübüllerde Sertoli hücrelerinin elektron densliğinde artış gözlemlendi (Şekil 17). İndentasyonlu çekirdeğe sahip Sertoli hücrelerinde sitoplazma bir çok tübüler mitokondriyon, elektron dens yapılar, birkaç iri lipid damlacığı, GER ve yaygın SER sisternaları içermekteydi (Şekil 15-16). SER vakuolizasyonuna bağlı olarak köpüğümsü bir görünüm izlendi. Komşu Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar bütünlüğünü korumaktaydı. (Şekil 16)

Bazal lamina üzerine oturan normal elektron denslikteki spermatogonyumlarda çekirdek yuvarlak ve kaba kromatine sahipti. Sitoplazma mitokondriyon, birkaç mikrotübül ve endoplazmik retikülüm içermekteydi (Şekil 15). Çekirdeklerinde sinaptonomal komplekslerin varlığıyla karakterize spermatositler büzüşmüştü ve komşu hücrelerle aralarında düzensiz boşluklar oluşmuştu. Sitoplazmalarında kristal tip mitokondriyonlar gruplar oluşturmuştu ve bazıları dejeneratif değişiklikler sergilemekteydi. Farklı gelişim evlerindeki spermatidler sitoplazmik köprülerle birbirlerine bağlıydı. Yuvarlak şekilli çekirdeğe sahip erken spermatidlerde çekirdek kılıfında çözünmeler gözlemlendi. Sitoplazmaları gelişmiş Golgi kompleksi, dağınık halde kristal tip mitokondriyonlar ve mikrotübüller içermekteydi. Seminiferöz tübül lümeninde immatur germ hücreleri ile artış gösteren fagositik artıklar dikkati çekti (Şekil 17).

İnterstisyumda yer alan Leydig hücreleri elektron dens hale gelmişti. Çekirdekleri düzensiz sınırlı olup periferal kromatin yamalarına sahipti. Sitoplazmada dejeneratif ve şişkinleşmiş tübüler tip mitokondriyonlar, SER, mikrotübüller ve lizozomal yapılar izlendi. Ayrıca farklı büyüklüklere sahip lipid damlacıklarındaki artış dikkati çekmekteydi (Şekil 15).

Bu grubun 28 günlük bekleme süresi sonunda elde edilen testis doku örneklerinde membrana propria, Sertoli hücreleri, spermatojenik hücreler ve interstisyumda belirgin değişiklikler izlenmedi (Şekil 18). Bazı tübüllerde artmış lipid damlacıkları ve fagositik cisimciklere sahip Sertoli hücreleri gözlemlendi (Şekil 19).

### **3.Grup: Deney Grubu**

28 gün nikotin uygulanan 3. grup farelerin testis örnekleri elektron mikroskopta incelendi. Membrana propriada yer yer bilaminar hale gelen bazal lamina düzensiz olup tübül epiteline doğru küçük invaginasyonlar içermekteydi (Şekil 20-21). Myoid hücreler elektron dens hale gelmişti. İç hücresel olmayan tabakada kollajen lif miktarı artış göstermekteydi (Şekil 21). Bazal lamina üzerine oturan Sertoli hücreleri normal elektron densliğe sahipti. Oval ya da üçgen şeklini alan düzensiz sınırlı çekirdek belirgin çekirdekçik içermekteydi. SER sisternalarının vakuolizasyonuna bağlı olarak köpüğümsü görünümdeki sitoplazmada dejenerasyon gösteren mitokondriyonlar, iri lipid damlacıkları gözlemlendi (Şekil 20-20a). Sertoli hücresi-Sertoli hücresi ve Sertoli hücresi-spermatojenik hücre arasındaki bağlantılar belirgin olarak izlendi (Şekil 20-21).

Spermatogonyumlar büzülmüş ve çevrelerinde düzensiz boşluklar oluşturmuştu. Sinaptonemal kompleksleriyle karakterize bazı spermatositlerin çekirdekleri anormal kromatin yoğunlaşması göstermekteydi (Şekil 20-21). Sitoplazmaları dejeneratif ve gruplar oluşturmuş mitokondriyonlar içermekteydi. Bazı tübüllerde büzülmeye bağlı olarak komşu hücrelerle aralarında düzensiz boşluklar oluşmuştu. Tübül epitel hücreleri arasında litik spermatojenik hücrelere sıklıkla rastlandı (Şekil 21). Sertoli hücresi sitoplazmasına gömülmüş halde olgun ve anormal akrozomal veziküle sahip spermatidler izlenmekteydi (Şekil 22). Özellikle seminiferöz tübül lümeninde immatur ve bölünme halindeki spermatojenik hücreler dikkati çekmekteydi (Şekil 23).

İnterstisyumda yer alan Leydig hücreleri elektron dens hale gelmişti çekirdek düzensiz şekilli, sitoplazma lizozomal yapılar, vakuolizasyon gösteren SER ve dejeneratif tübüler mitokondriyonların yanı sıra artmış lipid damlacıkları içermekteydi (Şekil 24).

28 gün nikotin uygulanıp normal şartlarda 28 gün daha yaşatılan farelerin testis örneklerinde membrana propriada myoid hücrelerde vakuolizasyon ve kollajen lif miktarında artış izlendi (Şekil 25). Sertoli hücreleri deney grubuna benzer görünümdeydi. Çekirdek belirgin çekirdekçik içermektedir (Şekil 26). Bazı tübüllerde SER vakuolizasyonuna bağlı olarak köpüğümsü görünüme sahip Sertoli hücre sitoplazmasında fincan şekilli ve tübüler mitokondriyonlar elektron dens hale gelmişti. Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar belirgin olarak izlendi. Oval çekirdeğe sahip büzüşmüş spermatogonyumlar çevrelerinde düzensiz boşluklar oluşturmıştı (Şekil 25). Bu grupta çift çekirdekli spermatidlerde artış dikkati çekmekteydi (Şekil 27). İntertisyumda kapiller endotelinde büzüşme ve Leydig hücrelerinde dejeneratif değişiklikler izlendi. Bazı şişkin hale gelmiş tübüler mitokondriyonlarda yapı bütünlüğünün bozulması, SER vakuolizasyonu ve zebraı görünüm almış lipid damlacıkları gözlemlendi (Şekil 28).

#### **4.Grup: Deney Grubu**

14 gün günde tek doz nikotin ve curcumin uygulanan 4. grup farelerin testis doku örnekleri incelendi. Membrana propria, Sertoli hücreleri ve spermatojenik hücrelerin görünümü kontrol grubuna benzemektedir (Şekil 29). Normal görünümlü Sertoli hücrelerinde tipik indentasyonlu çekirdek belirgin 1-2 çekirdekçik içermektedir. Sitoplazma tübüler tip mitokondriyonlar, SER ve GER sisternaları, birkaç elektron dens yapı, glikojen partikülleri, küçük lipid damlacıklar sergilemektedir. Sertoli hücresi-Sertoli hücresi bağlantı kompleksleri normal görülmektedir. Etkilenen bazı tübüllerde ise Sertoli hücre sitoplazması SER vakuolizasyonuna bağlı olarak köpüğümsü görünümdeydi (Şekil 29).

Birbirlerine sitoplazmik köprülerle bağlı spermatojenik hücelere seminiferöz tübül epitelinde sıklıkla karşılaşıldı. Spermiyogenezis sürecindeki spermatidler kontrol grubuna benzer görünümdeydi. Akrozomal vezikül yuvarlak şekilli çekirdeğin bir kutbuna yerleşmişti. Sitoplazmaları dağınık kristal tip mitokondriyonlar, gelişmiş Golgi kompleksi içermektedir (Şekil 30).

Leydig hücrelerinde düzensiz şekilli çekirdek, kaba kromatin yığınlarına sahipti. Sitoplazma tübüler tip mitokondriyonlar SER, GER ve birkaç lizozom içermektedir. Bu hücrelerde lipid damlacıklarındaki azalma dikkat çekiciydi. İnterstisyel bağ dokusu ve kapillerlerin görünümü normaldi (Şekil 31).

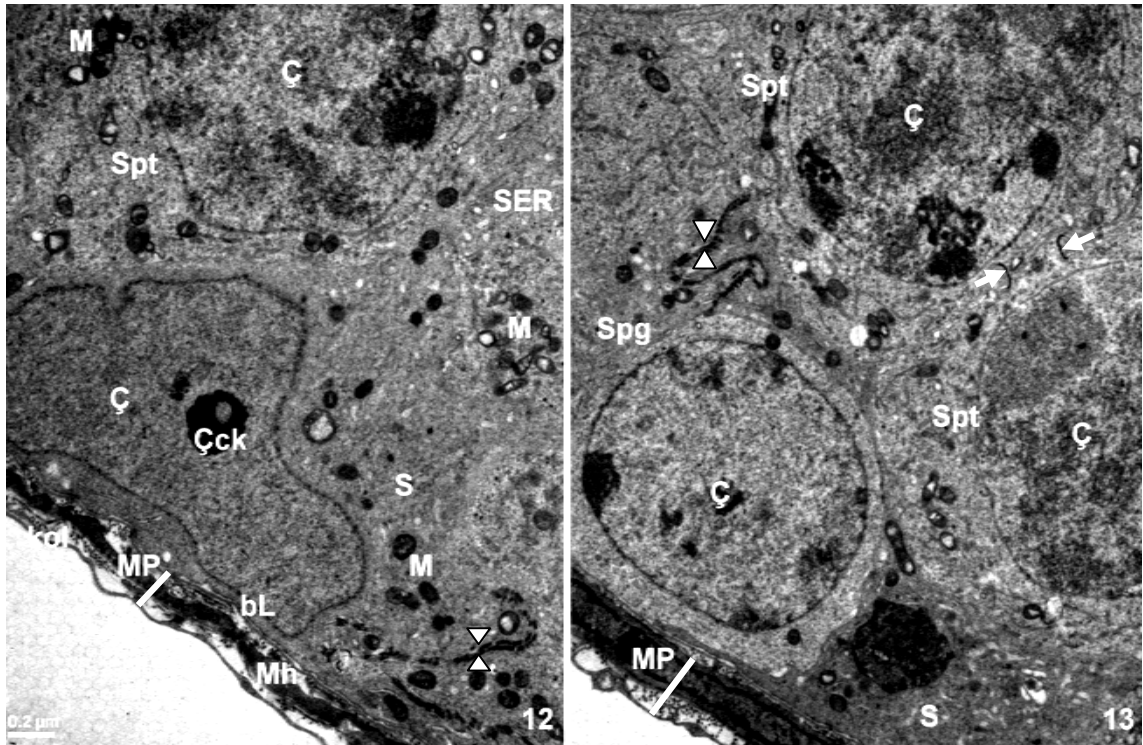
14 gün nikotin ve curcumin verilip 28 gün normal şartlarda yaşatılan farelerden elde edilen testis örneklerinde membrana propria normal bir görünüm sergilemekteydi (Şekil 32). Sertoli hücrelerinin elektron yoğunluğunda hafif artış dikkati çekti (Şekil 33). Bu hücrelerde belirgin 1-2 çekirdekçiğe sahip çekirdek oval şekilli izlendi. Sitoplazmada gruplaşmış mitokondriyonlar, SER ve elektron yoğun yapılar görülmektedir. Sertoli hücresi-Sertoli hücresi ve Sertoli hücresi-spermatojenik hücreler arasındaki bağlantılar tüm tübüllerde belirgin olarak gözlemlendi (Şekil 32-33). Spermatogonyum, spermatositler ve spermatidler normal görünümdeydi. Sitoplazmik köprülerle bağlı spermatidler yuvarlak çekirdekleri, gelişmiş Golgi kompleksleri ve dağınık tübüler tip mitokondriyonlarıyla epitel hücreleri arasında izlendi (Şekil 32-33). Kapillerlere yakın yerleşim gösteren Leydig hücreleri, 2. gruba benzer lipid artışı dışında normal morfolojiye sahipti (Şekil 34).

### **5.grup: Deney Grubu**

28 gün nikotin ve curcumin uygulanan farelerin testis örneklerinde membrana propria, Sertoli hücreleri ve spermatojenik hücreler kontrol grubuna benzer görünümdeydi. Membrana propria bazal lamina düzenli, yassı çekirdekleri ile karakterize myoid hücreler normal elektron yoğunlukta idi. Bazal lamina üzerine oturan Sertoli hücreleri normal görünüme sahipti. İndentasyonlu çekirdek 1-2 çekirdekçik içermektedir. Sitoplazma tübüler ve fincan şekilli mitokondriyonlar, yaygın SER sisternaları, GER içermektedir (Şekil 35). Sertoli hücresi-Sertoli hücresi arasındaki sıkı bağlantılar intaktı. Spermatogonyumlar ve spermatositler normal elektron yoğunlukta idi (Şekil 35). Akrozomal evrede birbirine sitoplazmik köprülerle bağlı spermatidlerin sitoplazmasında kristal tip mitokondriyonlar, gelişmiş Golgi kompleksi ve kuyruk formasyonuna katkıda bulunan sentriol izlendi (Şekil 36).

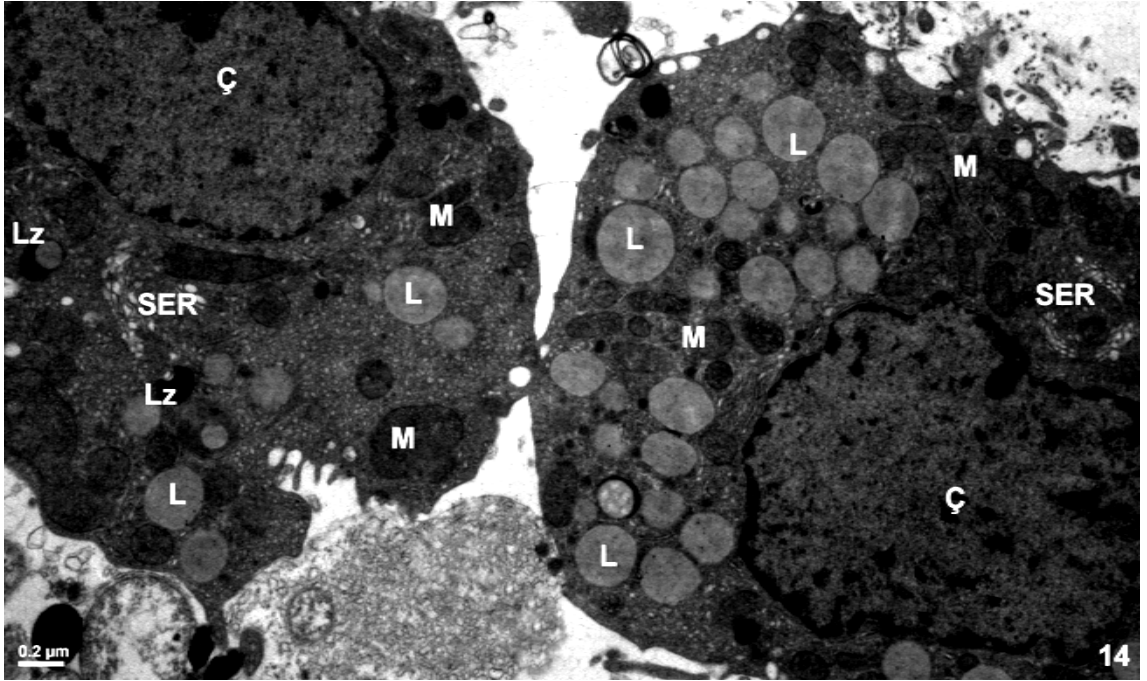
İnteristisyumda Leydig hücreleri hafif eletron dens hale gelmişti. Sitoplazma çoğu şişkinleşmiş tübüler mitokondriyonlar, SER, GER, lizozomal yapılar ve zebraı görünümüne sahip lipid damlacıkları içermekteydi (Şekil 35).

Deney süresi sonunda 28 gün daha normal laboratuvar koşullarında yaşatılan farelerden elde edilen testis doku örneklerinin incelenmesinde membrana propriada belirgin bir değişiklik izlenmedi. Sertoli hücrelerinde sitoplazmik vakuolizasyon, farklı büyüklüklerde lipid damlacıkları ve Sertoli hücresi-Sertoli hücresi arasındaki sıkı bağlantılar gözlemlendi (Şekil 37). Spermatojenik hücreler normal görünümdeydi (Şekil 37-38). Ancak bazı tübüllerde spermatojenik hücreler arasında boşluklar dikkat çekmekteydi (Şekil 38). Leydig hücreleri kontrol grubuna benzemekteydi (Şekil 39).

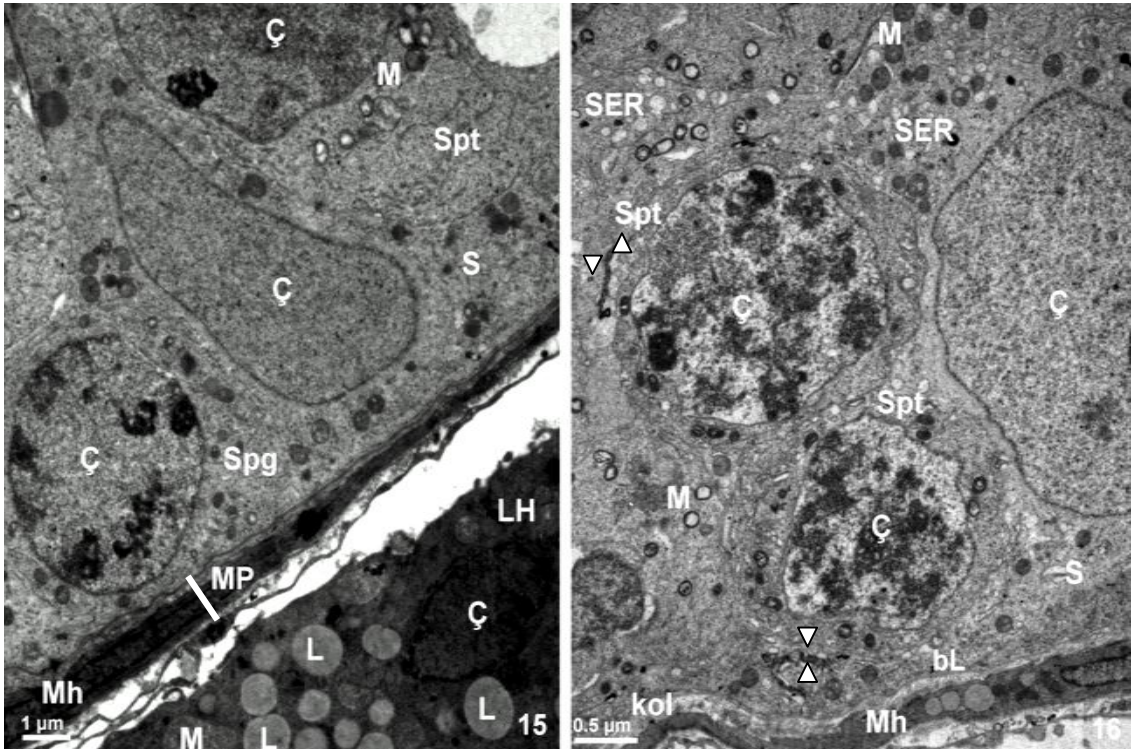


**Şekil 12. Kontrol Grubu.** Normal görünümlü membrana propria (MP). Bazal lamina (bl), myoid hücre (Mh), kollajen lifler (kol). Sertoli hücresi (S), spermatosit (Spt), çekirdek (Ç), çekirdekçik (Çck), agranüler endoplazmik retikülüm (SER), mitokondriyon (M), sıkı bağlantılar (ok başı).

**Şekil 13. Kontrol Grubu.** Normal görünümlü spermatogonyum (Spg), spermatositler (Spt). Membrana propria (MP), Sertoli hücresi (S), sıkı bağlantı (ok başı), sitoplazmik köprü (ok).

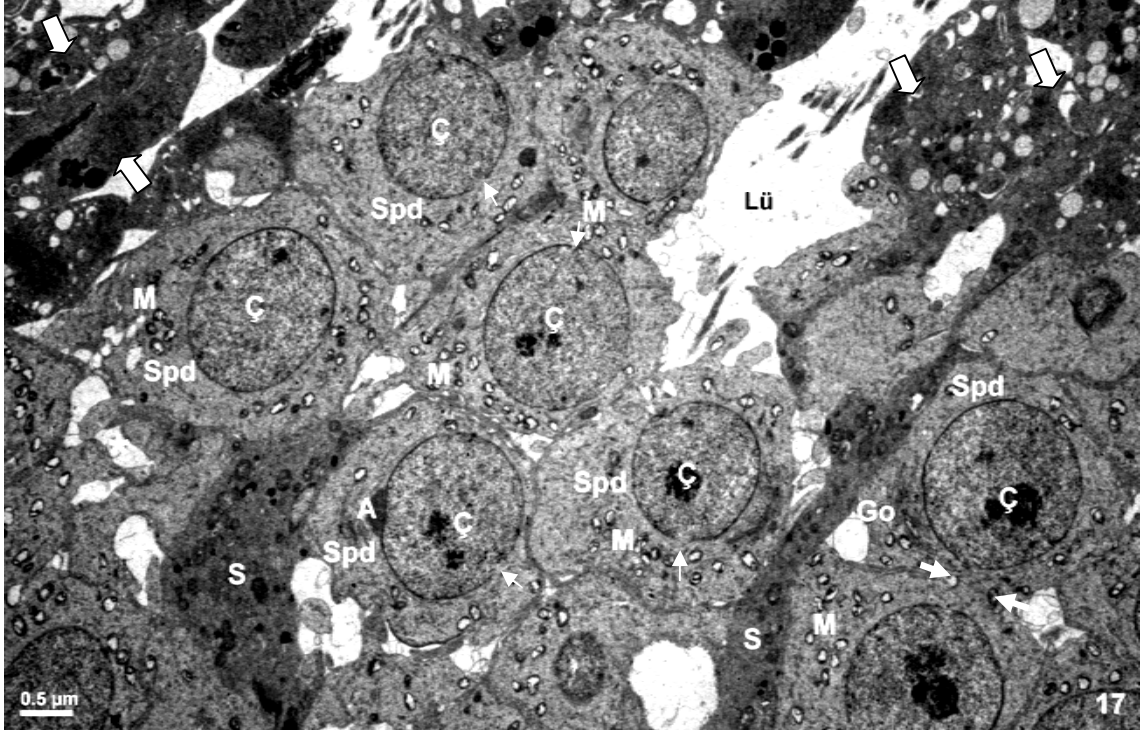


**Şekil 14. Kontrol Grubu.** Normal görünümlü Leydig hücreleri (LH). Çekirdek (Ç), lipid damlacıkları (L), mitokondriyon (M), agranüler endoplazmik retikülüm (SER), lizozom (Lz).

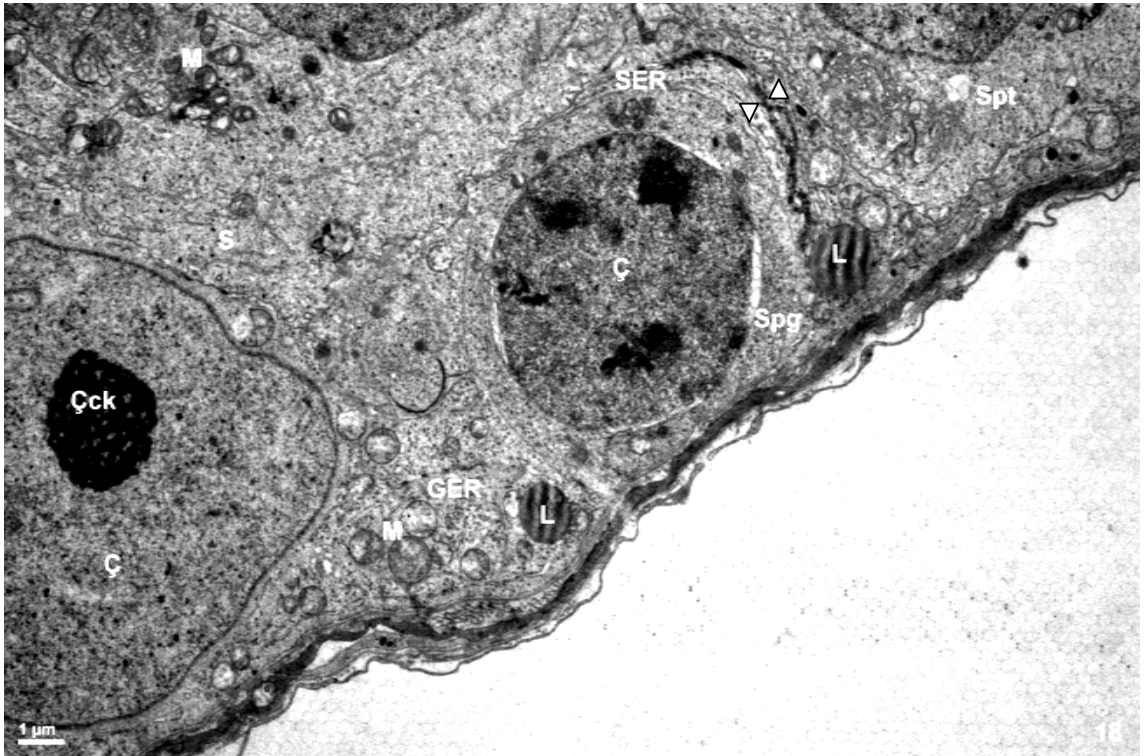


**Şekil 15. 2. Grup.** Total kalınlığı artmış membrana propria (MP). Sertoli hücresi (S), spermatogonyum (Spg), spermatosit (Spt), Leydig hücresi (LH), myoid hücre (Mh), çekirdek (Ç), mitokondriyon (M), lipid damlacığı (L).

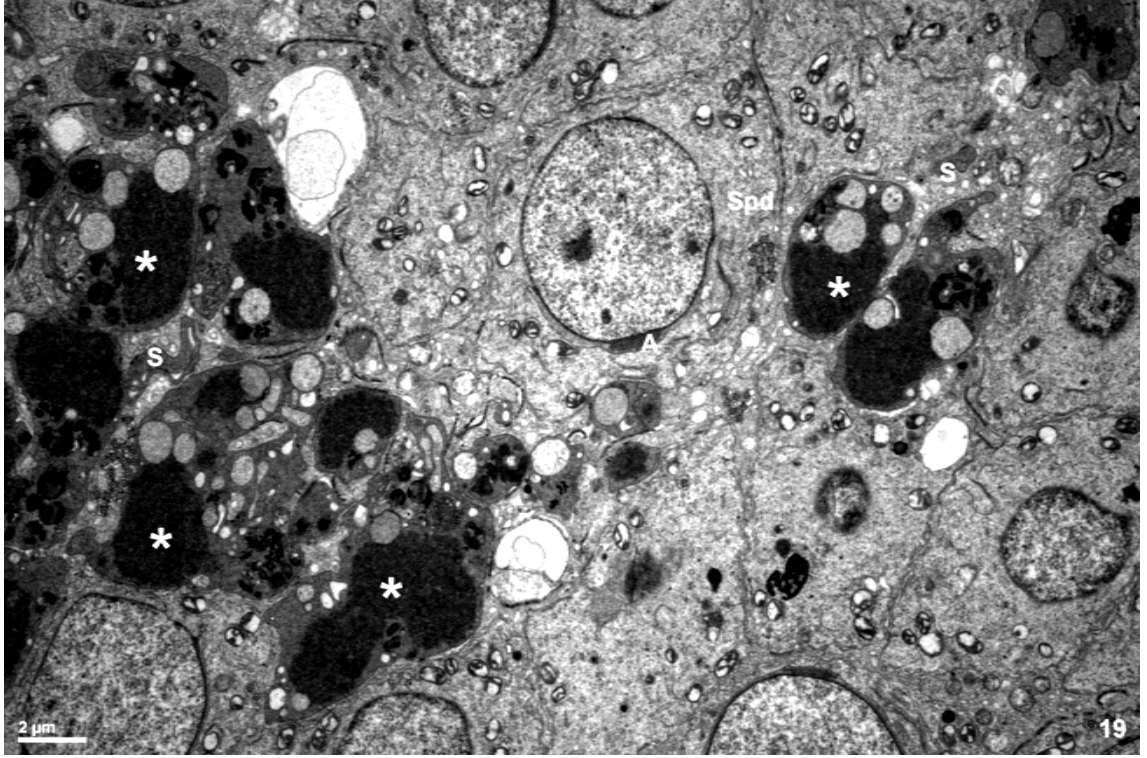
**Şekil 16. 2. Grup.** Sertoli hücrelerinde (S) agranüler endoplazmik retikülüm (SER) vakuolizasyonu. Spermatosit (Spt), sıkı bağlantı (okbaşı). Çekirdek (Ç), mitokondriyon (M), bazal lamina (bL), kollajen lif (kol), myoid hücre (Mh).



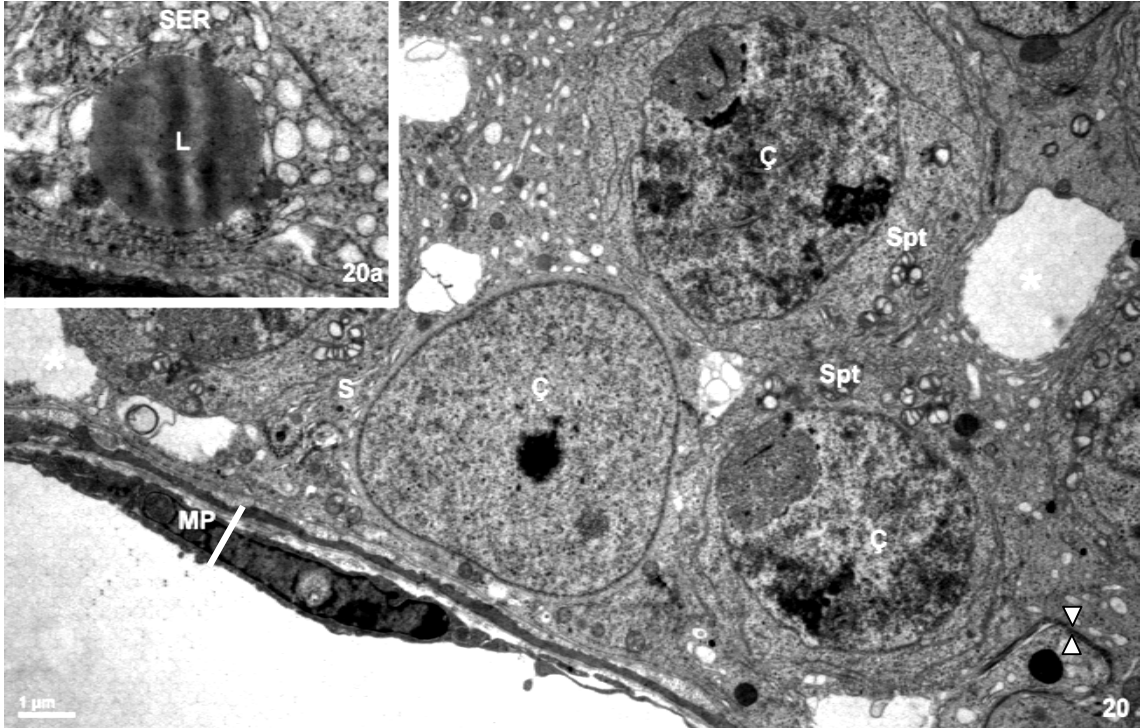
**Şekil 17. 2. Grup.** Elektron dens Sertoli hücresi (S), artış gösteren fagositik artıklar (kalın ok), spermatidlerin (Spd) çekirdek kılıfında çözünmeler (ince ok). Çekirdek (Ç), mitokondriyon (M).



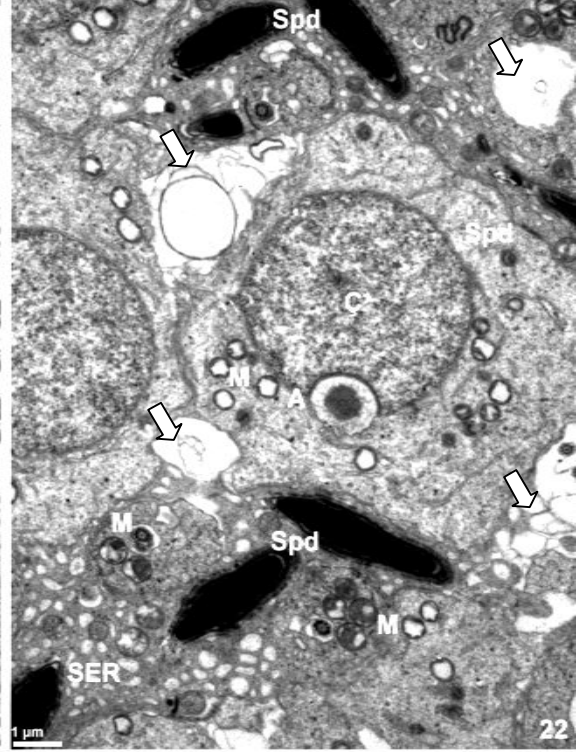
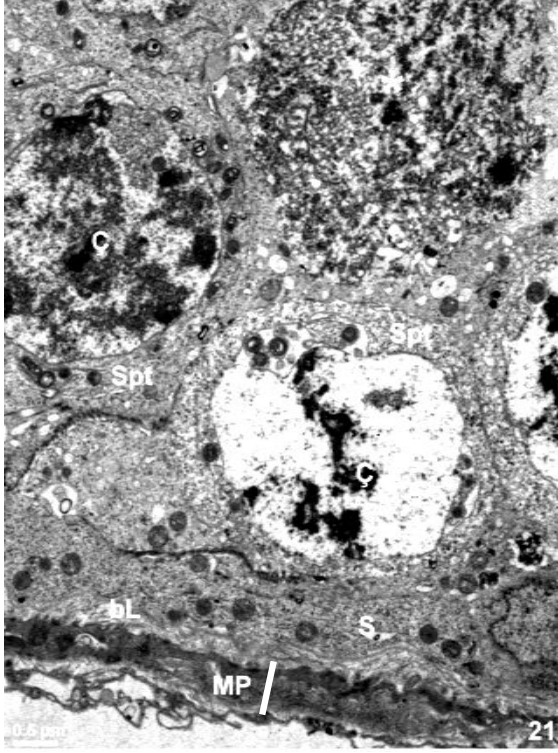
**Şekil 18. 2. Grup. 28 Gün Takip.** Sertoli hücresinde (S) dejenerasyon gösteren mitokondriyonlar (M), artmış lipid damlacıkları (L). Spermatogonyum (Spg), spermatosit (Spt), çekirdek (Ç), çekirdekçik (Çck), sıkı bağlantı (ok başı).



**Şekil 19. 2. Grup. 28 Gün Takip.** Fagositik cisimciklere (\*) sahip Sertoli hücresi (S). Spermatid (Spd), çekirdek (Ç), akrozom (A).

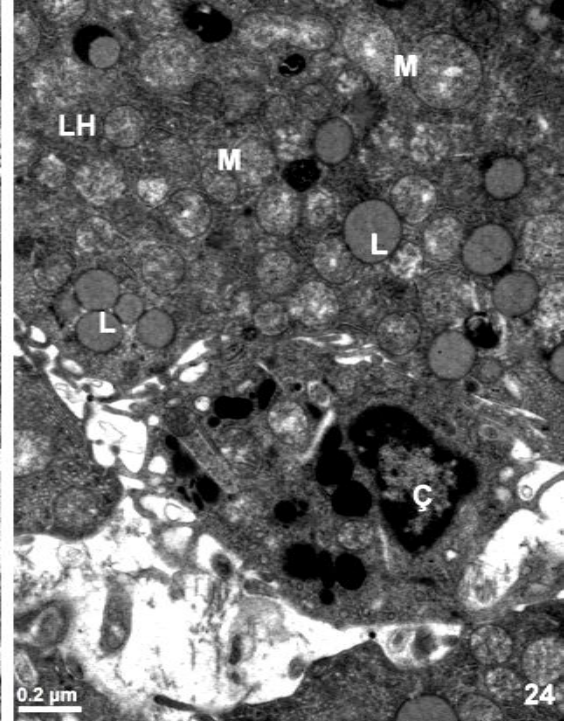
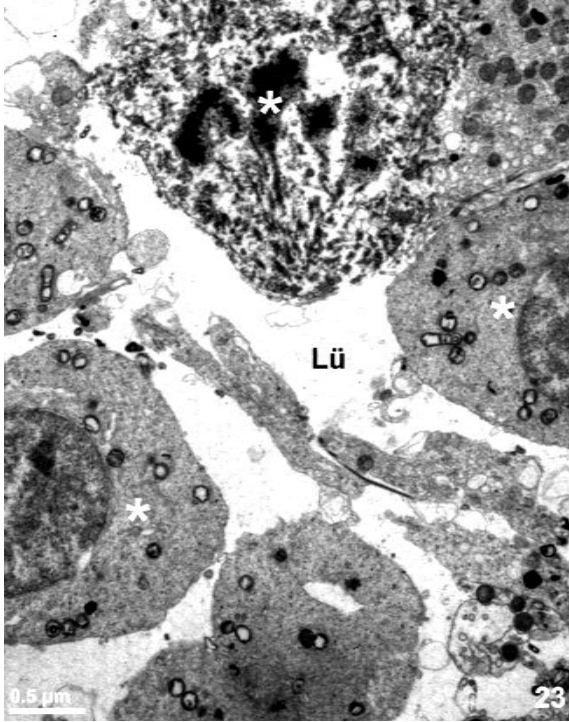


**Şekil 20. 3. grup.** Köpüğümsü görünümlü Sertoli hücresi sitoplazması (S), hücreler arası boşluklar (\*), Membrana propria (MP), spermatosit (Spt), çekirdek (Ç), sıkı bağlantılar (ok başı).  
**Şekil 20a. 3. Grup.** Agranüler endoplazmik retikülüm (SER), lipid damlacığı (L). Barr: 1 µm .



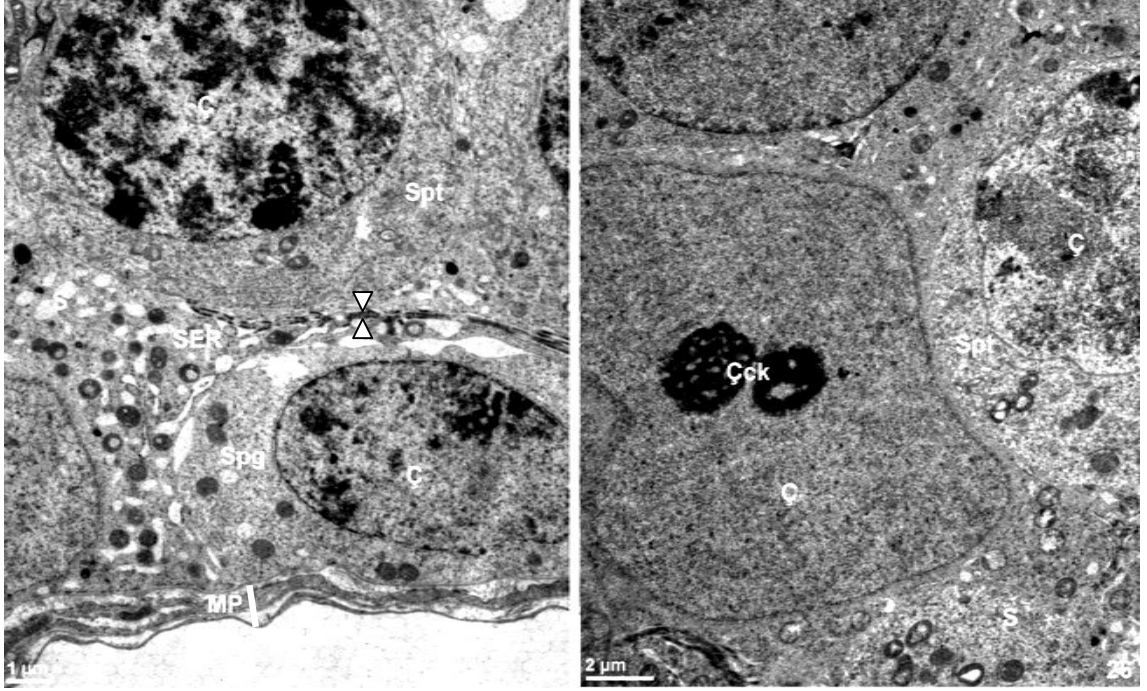
**Şekil 21. 3. Grup.** Litik spermatojenik hücre (\*), bazal lamina (bL) invaginasyonu. Membrana propria (MP), Sertoli hücresi (S), spermatosit (Spt), çekirdek (Ç).

**Şekil 22. 3. Grup.** Anormal akrozomal veziküle sahip spermatid (Spd), hücreler arası boşluklar (kalın ok). Çekirdek (Ç), agranüler endoplazmik retikülüm (SER), mitokondriyonlar (M).



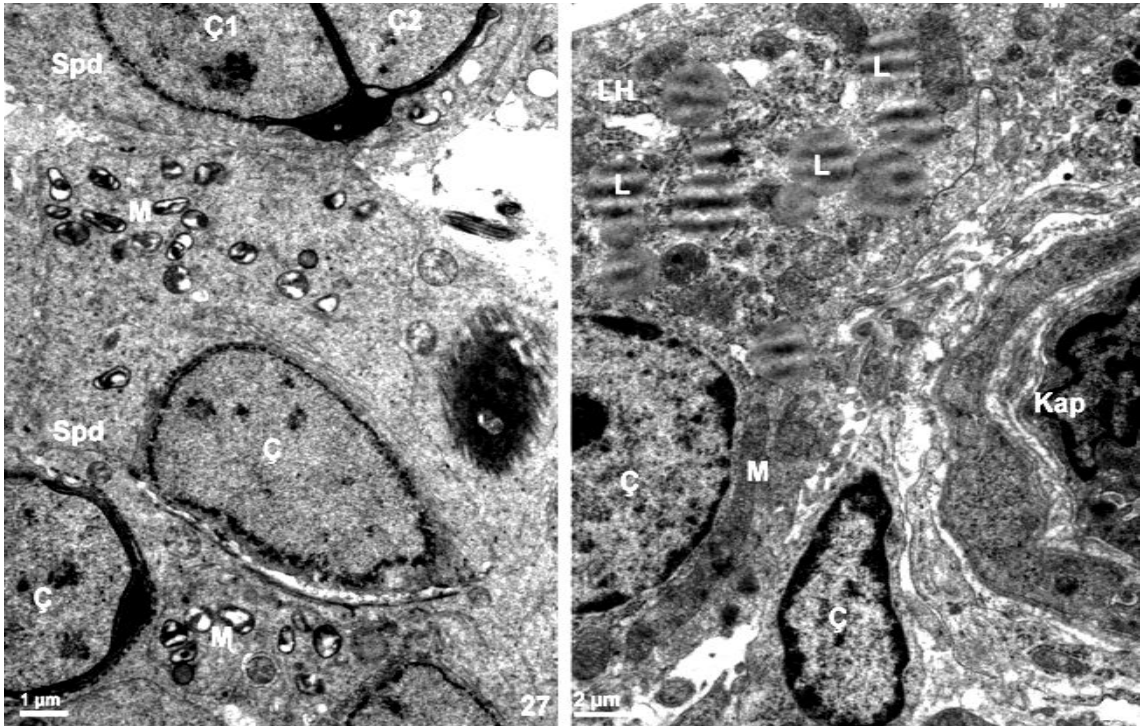
**Şekil 23. 3. Grup.** Seminiferöz tübül lümeninde (Lü) immatür hücreler (\*).

**Şekil 24. 3. Grup.** Leydig hücresi (LH), şişkin mitokondriyonlar (M), lipid damlacıkları (L). Çekirdek (Ç).



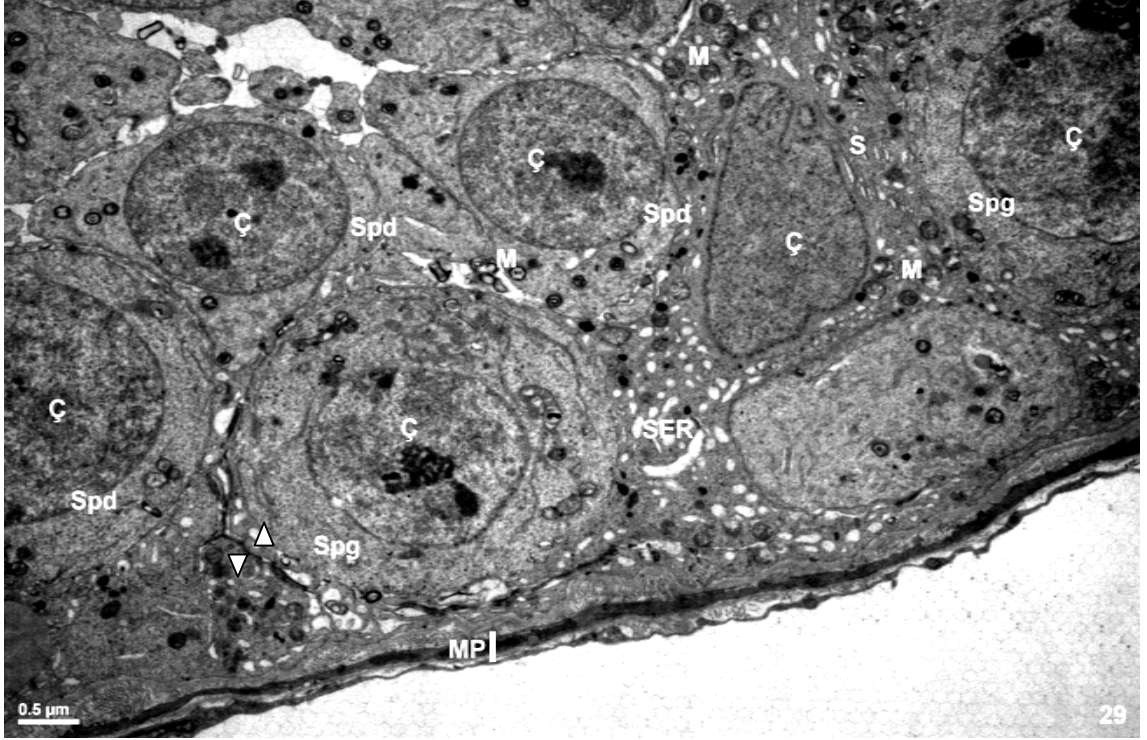
**Şekil 25. 3. Grup. 28 Gün Takip.** Sertoli hücresinde (S) agranüler endoplazmik retikülüm (SER) vakuolizasyonu, büzülmüş spermatogonyum (Spg). Membrana propria (MP), spermatosit (Spt), çekirdek (Ç), sıkı bağlantılar (ok başı).

**Şekil 26. 3. Grup. 28 Gün Takip.** İndentasyonlu çekirdeğe (Ç) sahip Sertoli hücresi (S). Membrana propria (MP), spermatosit (Spt), çekirdekçik (Çck).

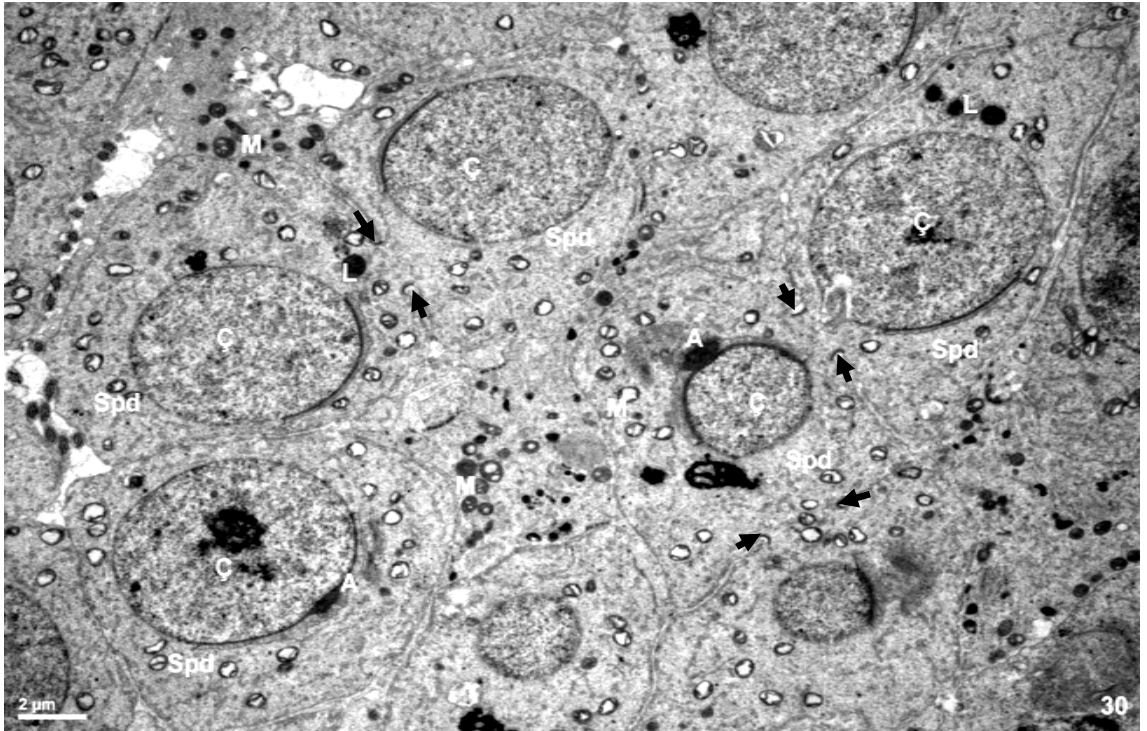


**Şekil 27. 3. Grup. 28 Gün Takip.** Çift çekirdekli (Ç) spermatid (Spd). Mitokondriyonlar (M).

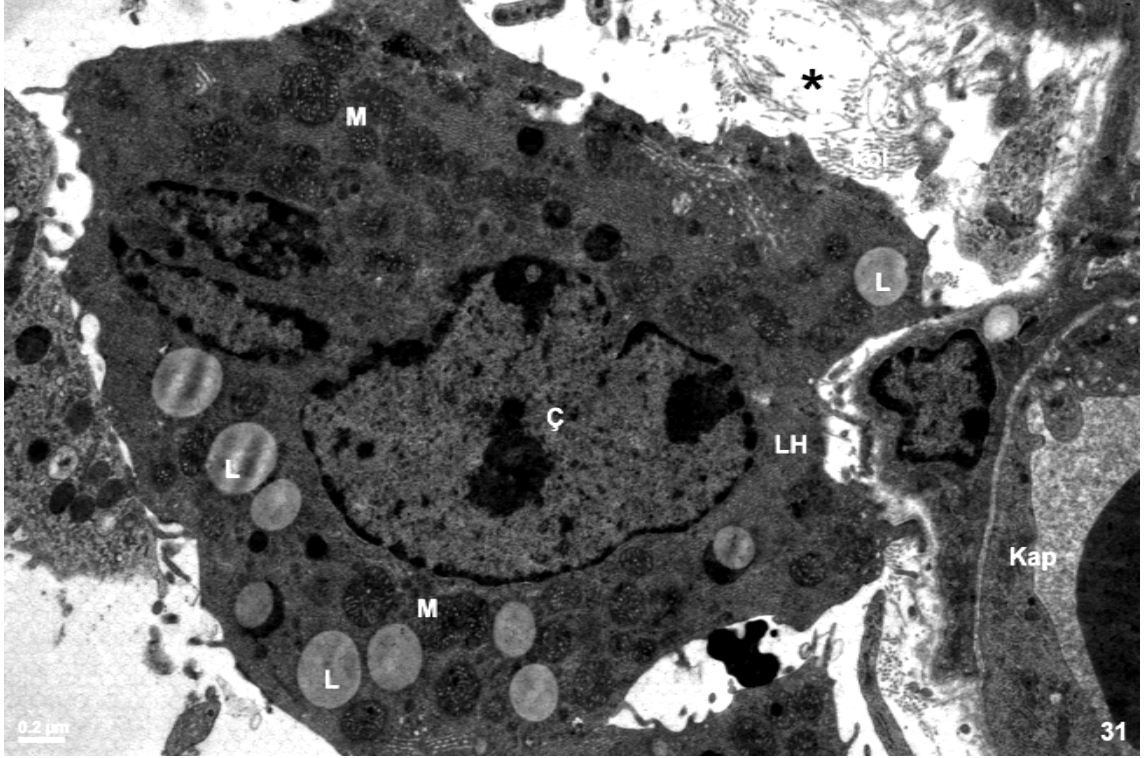
**Şekil 28. 3. Grup. 28 Gün Takip.** Şişkinleşmiş tübüler mitokondriyonlar (M), zebraıı görünüm almış lipid damlacıkları (L). Leydig hücresi (LH), kapiller (Kap).



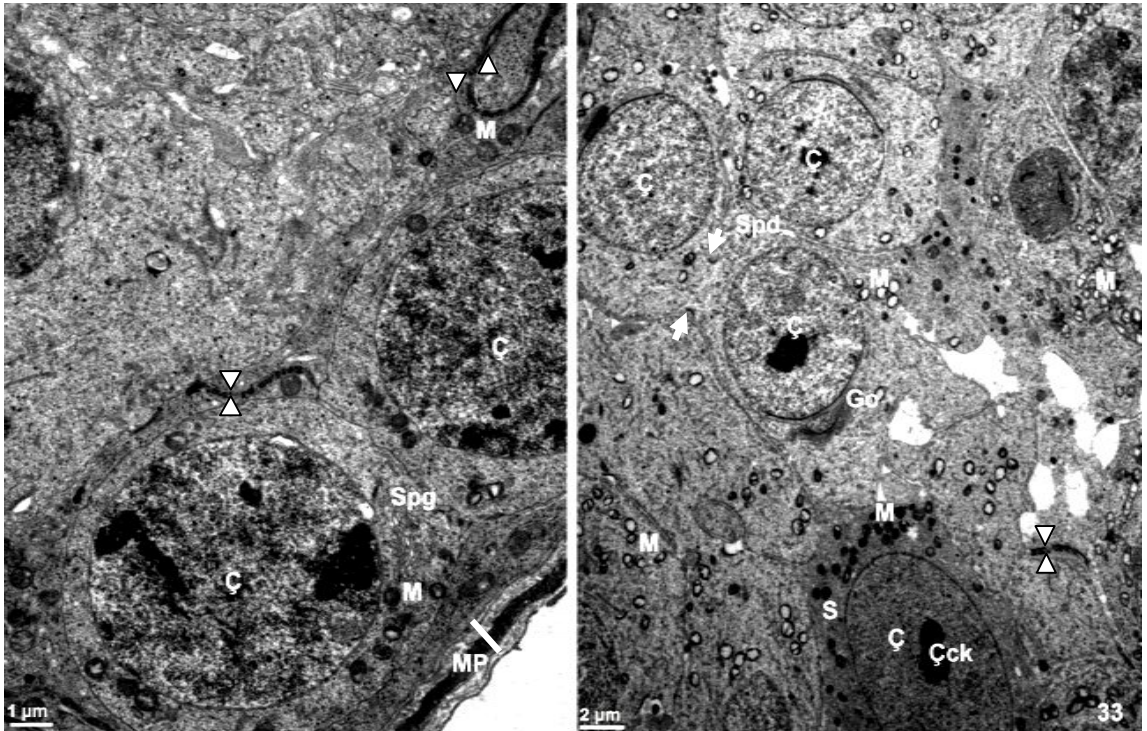
**Şekil 29. 4. Grup.** Normal görünüme sahip membrana propria (MP), Sertoli hücresi (S), spermatogonyumlar (Spg) ve spermatidler (Spd). Çekirdek (Ç), agranüler endoplazmik retikülüm (SER), sıkı bağlantılar (ok başı).



**Şekil 30. 4. Grup.** Spermatidler (Spd) arasındaki sitoplazmik köprüler (ince ok). Çekirdek (Ç), akrozom (A), mitokondriyonlar (M), lipid damlacıkları (L).

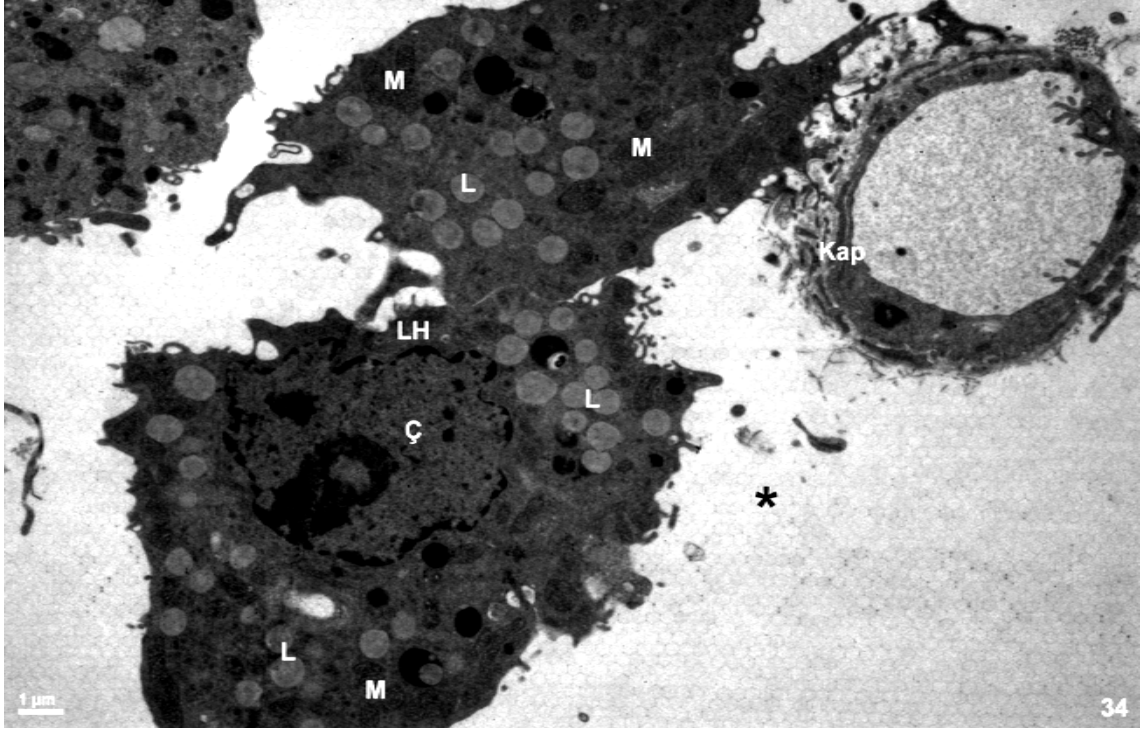


**Şekil 31. 4. Grup.** İnterstisyumda (\*) normal görünümlü Leydig hücresi (LH), sayıları azalmış lipid damlacıkları (L). Mitokondriyonlar (M), kapiller (Kap), kollajen lifler (kol).



**Şekil 32. 4. Grup. 28 Gün Takip.** Normal görünümlü membrana propria (MP), spermatogonyum (Spg) ve sıkı bağlantılar (ok başı). Çekirdek (Ç), mitokondriyonlar (M).

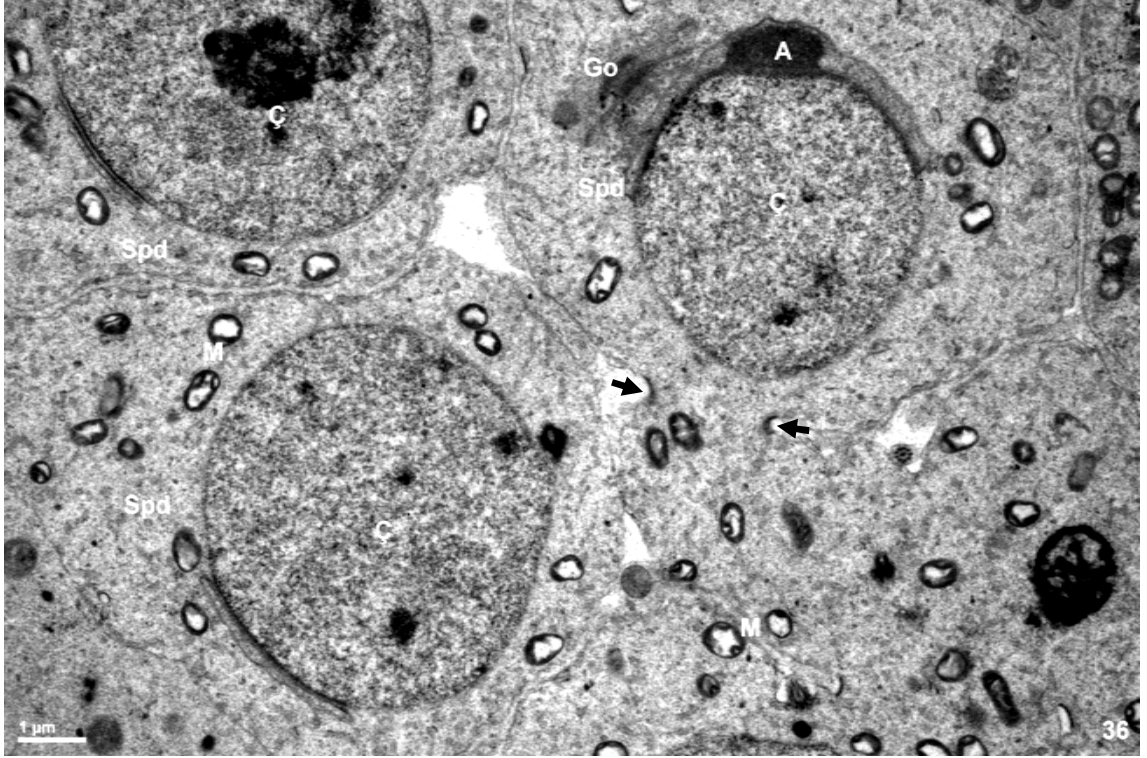
**Şekil 33. 4. Grup. 28 Gün Takip.** Hafif elektron dens Sertoli hücresi (S), gruplaşmış mitokondriyonlar (M). Spermatid (Spd), çekirdek (Ç), Golgi kompleksi (Go), sıkı bağlantı (ok başı), sitoplazmik köprü (ince ok).



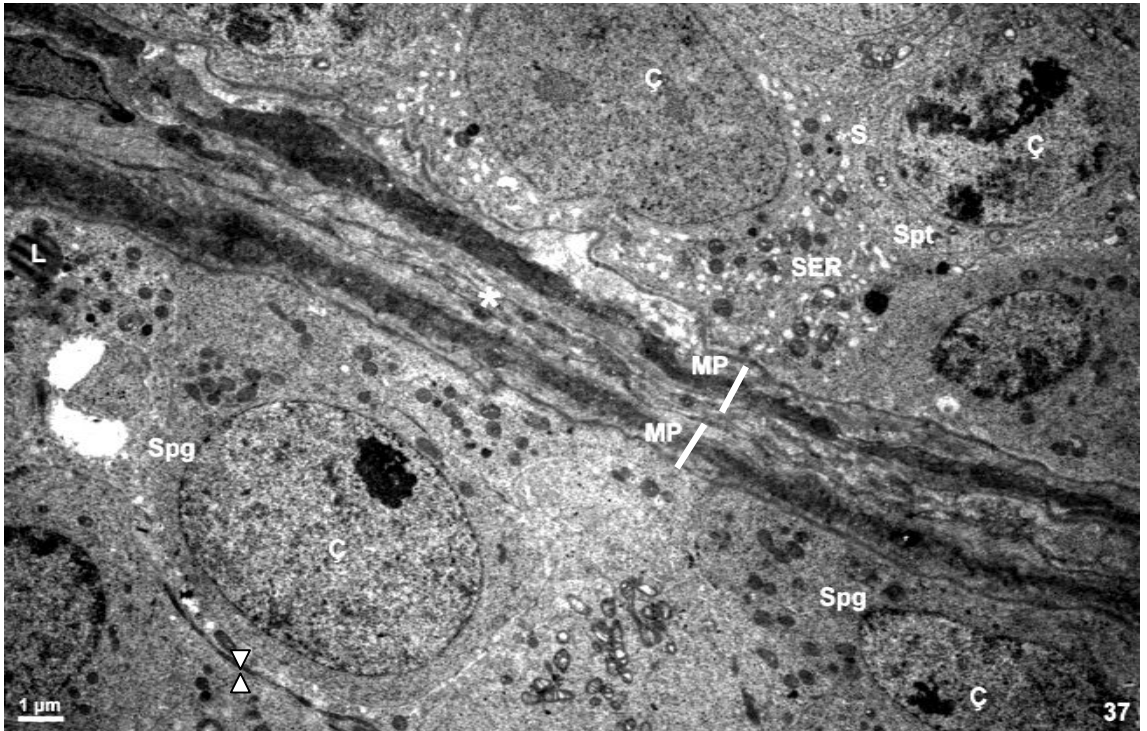
**Şekil 34. 4. Grup. 28 Gün Takip.** Lipid damlacıkları (L) artmış Leydig hücresi (LH). Çekirdek (Ç), mitokondriyonlar (M), kapiller (Kap).



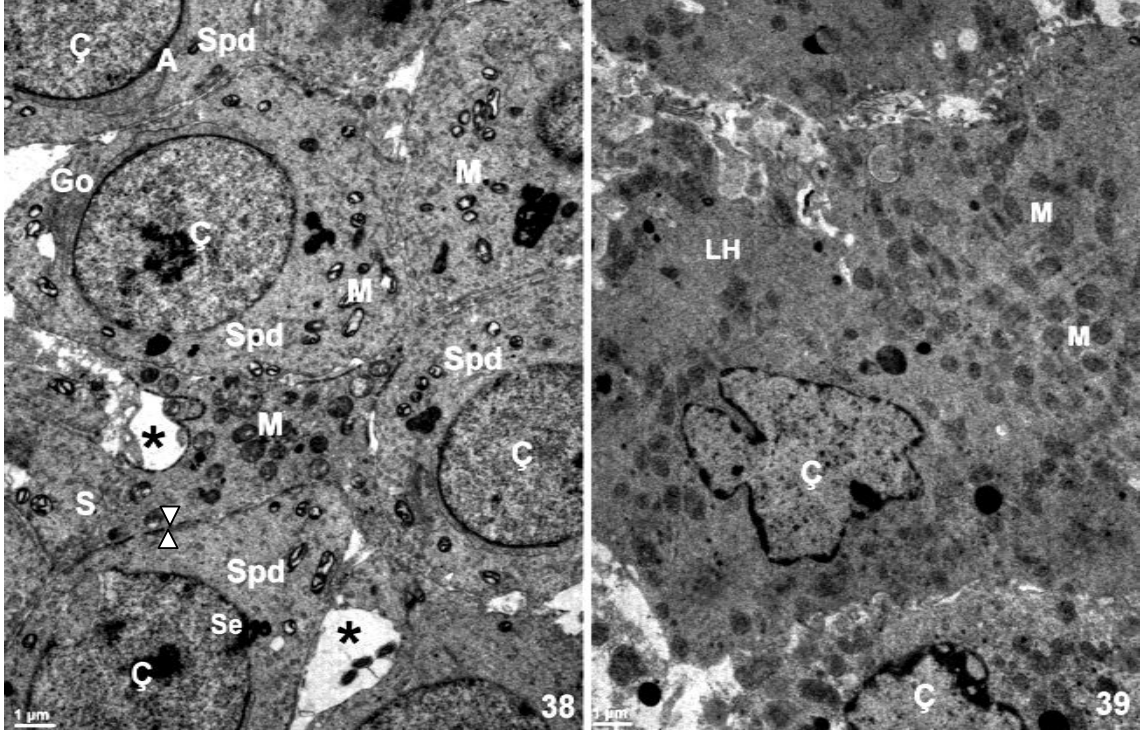
**Şekil 35. 5. Grup.** Normal görünümlü membrana propria (MP), şişkinleşmiş tübüler mitokondriyonlar (M) ve zebraı görünümüne sahip lipid damlacıkları (L) içeren Leydig hücresi (LH). Sertoli hücresi (S), spermatogonyum (Spg), spermatosit (Spt), çekirdek (Ç).



**Şekil 36. 5. Grup.** Birbirine sitoplazmik köprülerle (siyah ok) bağlı normal görünümlü spermatidler (Spd). Çekirdek (Ç), Golgi kompleksi (Go), akrozom (A).



**Şekil 37. 5. Grup. 28 Gün Takip.** Sertoli hücrelerinde (S) agranüler endoplazmik retikülüm (SER) vakuolizasyonu. İnterstisyum (\*), membrana propria (MP), spermatogonyum (Spg), spermatosit (Spt), çekirdek (Ç), sıkı bağlantılar (ok başı), lipid damlacığı (L).



**Şekil 38. 5. Grup. 28 Gün Takip.** Normal görünümlü spermatidler (Spd), hücreler arası boşluklar (\*). Çekirdek (Ç), sentriol (Se), Golgi kompleksi (Go), akrozom (A).

**Şekil 39. 5. Grup. 28 Gün Takip.** Normal görünümlü Leydig hücresi (LH). Çekirdek (Ç), mitokondriyon (M).

## 5. TARTIŞMA

Noksik ajanların tüm organ ve dokularda ROS üretimini artırdığı ve antioksidan sistem enzimlerini azaltarak oksidatif strese neden olduğu bilinmektedir<sup>26,27,37,83,92</sup>. Testis gibi yüksek metabolik aktiviteye ve hücre replikasyonuna sahip organlarda ROS üretimi ve antioksidan sistemce ortadan kaldırılması arasındaki denge son derece önemlidir<sup>39,79</sup>. Noksik ajanlarla ilgili bugüne kadar yapılan çalışmalarda indüklenen oksidatif stresin erkek infertilitesi üzerine etkisi kesinlik kazanmasına rağmen, etki mekanizması henüz tam olarak aydınlığa kavuşmamıştır<sup>79,93,94</sup>. Özellikle gelişmekte olan ülkelerde kullanımı hızla artan sigaranın, erkek cinsel sağlığı ve üreme sistemi üzerine zararlı etkilerinin oksidatif stresten kaynaklandığı bilinmektedir<sup>30,35,36,37,71,81,95</sup>. Oksidatif stres, serbest radikallerin dokularda fiziksel hasara yol açtığı bir süreçtir. Sigaraya bağlı olarak testiste oluşan oksidatif hasarın, antioksidanlarla giderildiğini gösteren birçok çalışma mevcuttur<sup>79,80</sup>. Yüzyıllardır Asya ve Afrika ülkelerinde boya, baharat ve tıbbi bitki olarak kullanılan curcumin güçlü bir antioksidan olup erkek infertilitesi üzerine etkisiyle ilgili çalışmalara son yıllarda ilgi artmıştır<sup>50,51,52,54,96</sup>.

Karaciğer, akciğer ve böbrekte nikotinle indüklenen toksisiteye karşı curcuminin antioksidan aktivitesi araştırılmış<sup>97, 98</sup>, bu çalışmalarda sigaranın ana metaboliti olan nikotin ile indüklenen sitokrom P450'nin, ROS üretimini artırdığı ve bu durumun, oksidatif hasara neden olduğu rapor edilmiştir. ROS üretimindeki artışın lipid peroksidasyonunu gerçekleştirdiği (TBARS yükselir) ve lipid peroksidasyonundaki artışın ise ana lipofilik antioksidanlardan vitamin E ve vitamin C seviyesinde azalmaya sebep olduğu ileri sürülmüştür. Uygulanan curcuminin ise serbest radikalleri yıkarak veya nötralize ederek kademeli olarak ROS'u parçaladığı ve oksidatif enzimleri (sitokrom P450) inhibe ettiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca metal  $Fe^{+2}$  şelatörlüğü yaparak membran lipid peroksidasyonunu önleyip, membran bütünlüğünü de koruduğu rapor edilmiştir<sup>97,98</sup>.

Literatürde nikotinin testiste sebep olduğu oksidatif hasara karşı curcumin'in etkileriyle ilgili herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle çalışmamızda 4000'den fazla kimyasaldan oluşan sigaranın major noksik bileşeni olan nikotinin testiste oluşturduğu oksidatif strese karşı antioksidan özellikteki curcuminin etkisi ışık ve elektron mikroskopik düzeyde incelenmiş ve farelerin serum testosteron analizleri değerlendirilmiştir.

Nikotin toksisitesinin sebep olduğu vasküler yetersizliğin (hipoksi) seminiferöz tübüllerde ve membrana propriada değişikliklere sebep olduğu bilinmektedir<sup>30</sup>. Nikotin uyguladığımız 2. ve 3. grup farelerin elektron mikroskopik bulgularında membrana propria kalınlığında hafif artış (Şekil 15-16-21), kıvrıntılı bazal lamina (Şekil 21) ve myoid hücrelerde vakuolizasyonlar (Şekil 16-19-21) gözlenmekteydi. Nitekim Güven ve arkadaşlarının sıçanlarda kronik nikotin uygulamasının testis ince yapısına etkisiyle ilgili çalışmaları da bulgularımızı desteklemektedir<sup>99</sup>. Madde iletimi ve toksik madde geçişi için fizyolojik bir bariyer olan membrana propriada bu kalınlaşmanın, seminiferöz tübül lümenine toksik madde geçişini engellemek amacıyla gerçekleştiğini düşündürmektedir. Ancak toksik madde geçişini engelleyen bu kalınlaşma aynı zamanda spermatojenik hücrelere ihtiyaç duydukları madde geçişinde engelleyebilmektedir. Bu şekilde gelişen oksidatif stresin 2. ve 3. grup farelerin seminiferöz tübül epitelinde düzensizliklere, spermatojenik arreste ve lümende immatür hücre birikimine neden olduğuna ilişkin bulgularımız (Şekil 2-6-17-23) literatür ile de desteklenmektedir<sup>23,33,34,71,95,100,101</sup>. Bununla beraber kollajen liflerde artış ve myoid hücrelerin kontraktilesinde değişiklik nedeniyle de seminiferöz tübül epitelinden lümene immatur hücre salınımının gerçekleştiğine dair savlarda bazı çalışmalarda rapor edilmiştir<sup>30</sup>. Seminiferöz tübül epitelinde dökülmenin seminiferöz tübül çapında, epitel kalınlığında, testis ve aksesuar bezlerin ağırlığında azalmaya neden olduğu öne sürülmüştür<sup>23,33,34,71,95,99,100,101</sup>. Çalışmamızın 2. ve 3. grup farelerinin elektron mikroskopik bulgularında elektron dens Sertoli hücrelerinde SER vakuolizasyonu, artmış lipid damlacıkları ve fagositik kalıntılar izlendi (Şekil16-17-18-19-20-22-25). Residüel cisimciklerin atılımında aksamanın, Sertoli hücre fonksiyonlarındaki bozukluktan kaynaklandığını ve tübül epitelinin gelişimini etkilediğini düşündürmektedir. Bazı

çalışmalarda Sertoli hücresi-Sertoli hücresi ve Sertoli hücresi-spermatojenik hücreler arasındaki sıkı bağlantıların bozulduğu<sup>30,99</sup> gösterilmesine rağmen çalışmamızın 2. ve 3. grup testislerinde genel olarak bağlantıların bütünlüğünü koruduğunu gözlenmekteydi (Şekil 15--18-19-21-25). Kan-testis bariyerini geçerek seminiferöz epitele ulaşan nikotinin, direkt olarak sitotoksik etkisini spermatojenik hücrelerde gösterdiği bilinmektedir<sup>30,102</sup>. Hızlı hücre bölünmeleri nedeniyle spermatojenik hücreler noksik ajanlara, Sertoli ve Leydig hücrelerinden daha duyarlıdır<sup>99</sup>. Ȑalıřmamızda 2. ve 3. gruba ait testislerde birçok tübölde spermatojenik hücrelerde büzüşme (Şekil 17-22) ve spermatositlerde lizis (Şekil 21) görölmesine rağmen sitoplazmik köprülerin bütünlüğünü koruduğunu görölmekteydi (Şekil 17-18-20-21-22-27). Tüböl epitel hücreleri arasında anormal akrozomal yapı sergileyen ve çift çekirdekli spermatidlerin (Şekil 22-27) gözlenmesi, ayrıca dejenere mitokondriyonların varlığı (Şekil16-17-18-20-22-27) nikotinin toksik etkisi nedeniyle gelişebileceğini düşündürmektedir. Nitekim Aydos ve arkadaşlarının sıçanlarda nikotin toksisitesinin testise etkileriyle ilgili çalışmaları bulgularımızı destekler niteliktedir<sup>30</sup>. Hücresel organellerden özellikle mitokondriyon; iyon transportu, solunum ve oksidatif fosforilasyonda dengesizliğe sebep olan ROS'a karşı hassasiyet gösterir. Mitokondriyonlarda genişleme, oksidatif strese neden olan ROS'un hücre içi oranını azaltmak amacıyla hücrenin yaptığı bir adaptasyon olduğu düşünölebilir. Steroidogenezisinin merkezi organeli olan mitokondriyonların<sup>50</sup> Leydig hücrelerinde şişkin hale gelmesi (Şekil 15-24-28), ROS seviyesinde ki artışla ilişkilendirilebilir. Ayrıca 2. ve 3. grubumuzdaki serum testosteron değerlerindeki azalma (Tablo 2) muhtemelen LH yetersizliğine bağlı olabilir. Gerçekten de nöral stimölasyonları baskılayıcı bir etken olan nikotin testiste spermatogenezis ve steroidogenezisin başlaması ve tamamlanmasından sorumlu gonadotropik hormonları etkiler<sup>31,71,101</sup>, prostaglandin inhibisyonu serum testosteron seviyesini azaltır<sup>34,100</sup>.Diğer yandan testosteron seviyesindeki değişiklikler ve lenfatik infiltrasyon Leydig hücrelerinde morfolojik değişimlere ve interstisyel alanda ödeme neden olabilir (Şekil 2-3-4-6-7),

Nikotinin testis üzerine etkileriyle ilgili yapılan enzimatik çalışmalarda testiküler asit fosfataz aktivitesinde azalma, alkalın fosfataz aktivitesinde artış ile birlikte testis ve epididimis de DNA, RNA, protein miktarında azalma öne sürülmüştür<sup>71,103</sup>. Karaciğer ve testiste kronik nikotin alınımı nedeniyle ROS üretiminde artış ve antioksidan enzimlerde azalmaya sebep olduğu, bunun sonucunda kolesterol, fosfolipid, trigliserid, trigliseritten zengin fosfolipid sentezi ve lipid peroksidasyonunda artışın gözlemlendiği rapor edilmiştir<sup>23,71,93,103</sup>.

Literatürde son yıllarda büyük ilgi çeken curcuminin ise, antioksidan enzim sistemlerinin devamlılığını sağlayıp oksidatif stresi ve lipid peroksidasyonunu azaltarak çeşitli toksik ajanlara karşı spermatogenezis ve steroidogenezisi koruduğunu gösteren çalışmalar rapor edilmiştir<sup>50,51,52,53,54,96</sup>. Çalışmamızda nikotin ve curcumin uygulanan 4. ve 5. grup fare testislerinin elektron mikroskopik incelemesinde membrana propria (Şekil 29-32-37) ve seminiferöz tübül epiteli hücrelerinin (Şekil 8-9-10-11) nikotin alan gruplarla karşılaştırıldığında kontrol grubuna benzediği dikkati çekmekteydi. Sertoli hücrelerinde sıkı bağlantılar bütünlüğünü korumaktaydı (Şekil 29-32-33-37). Ayrıca sitoplazmik köprüler ile birbirlerine bağlı spermatojenik hücreler normal bir görünüm sergilemekteydi (Şekil 19-33-36-38). Nikotin uygulanan grupların Leydig hücrelerinde dejenerasyon gösteren mitokondriyonların ve sayıları artan lipid damlacıklarının (Şekil 15-24-28) curcumin verilen gruplarda azaldığı gözlenmekteydi (Şekil 31-35). Nikotin ve curcumin uygulanıp 28 gün normal şartlarda yaşatılan farelerin Leydig hücrelerinde ise deney gruplarına benzer hücresel değişiklikler görülmekteydi (Şekil 34-39). 4. ve 5. takip gruplarındaki fare testislerinde antioksidan etkinin hafiflemesi, curcuminin uygulanma süresi boyunca etkin olduğunu düşündürmektedir. Giannessi ve arkadaşlarının alkolle indüklenen testiküler oksidatif stresle ilgili çalışmalarında da Leydig hücrelerinde megamitokondriyon formasyon oluşumunun Curcumin alımı ile azaldığı<sup>50</sup> azalan testosteron seviyesinin<sup>50,51,52,54</sup> ise arttığı rapor edilmiştir. Nitekim çalışmamızda elde ettiğimiz biyokimyasal bulgular ışığında curcumin alan grupların serum testosteron seviyelerinin nikotin alan gruplardan yüksek olduğu gösterilmektedir (Tablo 2).

Çalışmalarda bitkiler ve ilaçlar arasındaki etkileşim sonucu her 2 komponentin farmakolojik ve toksikolojik etkisinin arttığı veya azaldığı sonucuna varılmıştır<sup>40</sup>. Bu çalışmada nikotin gibi toksik bir ajanın curcumin uygulama sürecinde toksikolojik etkisinin azaldığı gösterilmiştir.

Testisler diğer dokular gibi aşırı ROS üretiminden kaynaklanan oksidatif stresin etkilerini antioksidan savunma mekanizmaları ile gidermeye çalışır. Antioksidan enzimler serbest radikallere etki ederek onları değiştirir, aktivitesini azaltır veya yok ederler. Curcumin aktive olmuş makrofajlardan salınan nitrik oksit, hidrojen peroksit, süperoksit radikallerini yok eden etkili bir antioksidandır. Antioksidan özelliği fenolik yapısından ileri gelmektedir. Süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi diğer antioksidan enzimlerin aktivitelerini de artırarak, testisi nikotinin sebep olduğu ROS artışına bağlı olarak oluşan oksidatif stresten korumaktadır<sup>50,51,52,53,54,55,96</sup>.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Kontrol grubu, deney grupları ve deney gruplarında takibe alınan farelerin serum testosteron seviyeleri ölçülmüş ve testis biyopsi örnekleri ışık ve elektron mikroskopik olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen bulgular ışında aşağıdaki sonuçlara varılmıştır:

1. 14 ve 28 gün süresince nikotin uygulanan farelerin serum testosteron değerleri kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde düşüktür. Uygulama sonrasında beklemeye alınan takip gruplarının testosteron seviyelerinde ise hafif artış gerçekleşmiştir.
2. 14 ve 28 gün süresince nikotin ve curcumin uygulanan farelerin serum testosteron seviyeleri kontrol grubundan belirgin şekilde yüksektir. Bekletilen farelerde ise hafif bir azalma tespit edilmiştir.
3. Nikotin enjeksiyonunu takip eden 14. ve 28. günlerde membrana propria, seminiferöz tübül ve interstisyumda ışık ve elektron mikroskopik düzeyde dejeneratif değişiklikler belirlenmiştir. Ancak doz ve uygulama süresi nedeniyle şiddetli nekrotik değişiklikler oluşmamıştır.
4. 14 ve 28 gün süren nikotin enjeksiyonunun ardından takibe alınan farelerin membrana propria, seminiferöz tübülleri ve interstisyumunda belirgin bir düzelmenin gerçekleşmemesi, deneysel grupta meydana gelen dejeneratif değişikliklerin kısa vadede geri dönüşebilir nitelikte olmadığını göstermiştir.
5. Deneysel uygulamada nikotin dozunun ve uygulama süresinin artırılması durumunda daha şiddetli, kalıcı, nekrotik değişikliklerin oluşabileceği düşünülmektedir.
6. 14. ve 28 gün süresince nikotin ve curcumin uygulanan grup farelerin testis doku örneklerinin ışık ve elektron mikroskopik incelenmesinde membrana propria, seminiferöz tübüller ve interstisyumda kontrol grubuna benzer nitelikte belirgin bir düzelme izlenmiştir.

7. 14 ve 28 gün süren nikotin ve curcumin uygulaması sonrasında takibe alınan farelerin membrana propria, seminiferöz tübüller ve interstisyumunda, nikotin uygulanan grupların sergilediği dejeneratif değişiklikler yeniden gözlenmiştir.
8. Testiste oksidatif hasara karşı antioksidan uygulanmasının olumlu etkileri olduğu kanaatine varılmıştır.
9. Curcuminin diğer tüm antioksidanlar gibi yarı ömrünün kısa olması nedeniyle sadece deneysel uygulama süresince etkin olduğu anlaşılmıştır.
- 10.Çeşitli sebeplerle nikotin ve-veya diğer noksit ajanlara maruz kalan kişilerin, etkin sonuç alabilmek için curcumin gibi antioksidanları sadece maruz kalma süresince değil, sonrasında da almaları önerilmektedir.
- 11.Antioksidan kullanımının antioksidan savunma mekanizmalarının bilinmesi ve onarıcı etkisinin anlaşılabilmesi, kliniğe yardımcı yeni antioksidan tedavi seçeneklerinin geliştirilmesi bakımından önemli olduğu ileri sürülebilir.

## 7. KAYNAKLAR

1. **Ezzati M, Lopez AD.** Estimates of global mortality attributable to smoking in 2000. *Lancet* **2003** Sep 13;362:847-52.
2. Harm reduction in nicotine addiction, Helping people who can't quit. *A report by the Tobacco Advisory Group of the Royal College of Physicians.* London: RCP, **2007**.
3. **Benowitz NL, Hansson A, Jacob P 3rd.** Cardiovascular effects of nasal and transdermal nicotine and cigarette smoking. *Hypertension.* 2002 Jun;39(6):1107-12.
4. **Rebanal RD, Leman R.** Collaboration between Oregon's chronic disease programs and Medicaid to decrease smoking among Medicaid-insured Oregonians with asthma. *Prev Chronic Dis.* **2005** Nov;2 Spec no:A12.
5. **Davis R, Rizwani W, Banerjee S, Kovacs M, Haura E, Coppola D, Chellappan S.** Nicotine promotes tumor growth and metastasis in mouse models of lung cancer. *PLoS One.* **2009** Oct 20;4(10):e7524.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Smoking & Tobacco use: Health effects. Available at: [http://www.cdc.gov/tobacco/basic\\_information/health\\_effects/index.htm](http://www.cdc.gov/tobacco/basic_information/health_effects/index.htm), accessed on May 30, 2010.
7. **Doll R.** Cancers weakly related to smoking. *British Medical Journal* **1996**;32 (No. 1):35-49.
8. **Wynder EL, Stellman SD.** Impact of long-term filter cigarette usage on lung and larynx cancer risk: a case-control study. *J Natl Cancer Inst.* **1979**;62:471-7.
9. **Stillman RJ, Rosenberg MJ, Sachs BP.** Smoking and reproduction. *Fertil Steril.* **1986** Oct;46(4):545-66.
10. **Dalgiç A, Armağan E, Helvacioğlu F, Okay O, Dağlioğlu E, Take G, Unlü A, Belen D.** High dose cotinine may induce neural tube defects in a chick embryo model. *Turk Neurosurg.* **2009** Jul;19(3):224-9.

11. **Alexander PG, Tuan RS.** Carbon monoxide-induced axial skeletal dysmorphogenesis in the chick embryo. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* **2003** Apr;67(4):219-30.
12. **Christianson RE.** The relationship between maternal smoking and the incidence of congenital anomalies. *Am J Epidemiol.* **1980** Nov;112(5):684-95.
13. **Suarez L, Felkner M, Brender JD, Canfield M, Hendricks K.** Maternal exposures to cigarette smoke, alcohol, and street drugs and neural tube defect occurrence in offspring. *Matern Child Health J.* **2008** May;12(3):394-401.
14. **Zhao Z, Reece EA.** Nicotine-induced embryonic malformations mediated by apoptosis from increasing intracellular calcium and oxidative stress. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol.* **2005** Oct;74(5):383-91.
15. **Kallen K.** Multiple malformations and maternal smoking. *Paediatr Perinat Epidemiol* **2000** Jul;14(3):227-33.
16. **Walsh RA.** Effects of maternal smoking on adverse pregnancy outcomes: examination of the criteria of causation. *Hum Biol.* **1994** Dec;66(6):1059–1092.
17. **Yildiz D.** Nicotine, its metabolism and an overview of its biological effects. *Toxicon.* **2004** May;43(6):619-32.
18. **Pryor WA, Stone K.** Oxidants in cigarette smoke. *Ann N Y Acad Sci.* **1993** May 28;686:12-27.
19. **Hukkanen J, Jacob P 3rd, Benowitz NL.** Metabolism and disposition kinetics of nicotine. *Pharmacol Rev.* **2005** Mar;57(1):79-115.
20. **Trushin, N. & Hecht, S. S.** Stereoselective metabolism of nicotine and tobacco-specific N-nitrosamines to 4- hydroxy-4-(3-pyridyl)butanoic acid in rats. *Chem. Res. Toxicol.*, 12:164-71, 1999.
21. **Balfour D, Benowitz N, Fagerstrom K, Kunze M, Keil U.** Diagnosis and treatment of nicotine dependence with emphasis on nicotine replacement therapy. A status report. *Eur Heart J.* **2000** Mar;21(6):438-45.

22. **Blackburn CW, Peterson CA, Hales HA, Carrell DT, Jones KP, Urry RL, Peterson CM.** Nicotine, but not cotinine, has a direct toxic effect on ovarian function in the immature gonadotropin-stimulated rat. *Reprod Toxicol.* **1994** Jul-Aug;8(4):325-31.
23. **Kavitharaj NK, Vijayammal PL.** Nicotine administration induced changes in the gonadal functions in male rats. *Pharmacology.* **1999** Jan;58(1):2-7.
24. **Park EM, Park YM, Gwak YS.** Oxidative damage in tissues of rats exposed to cigarette smoke. *Free Radic Biol Med.* **1998** Jul 1;25(1):79-86.
25. **Kelly FJ.** Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects. *Occup Environ Med.* **2003** Aug;60(8):612-6.
26. **Husain K, Scott BR, Reddy SK, Somani SM.** Chronic ethanol and nicotine interaction on rat tissue antioxidant defense system. *Alcohol.* **2001** Oct;25(2):89-97.
27. **Turner TT, Lysiak JJ.** Oxidative stress: a common factor in testicular dysfunction. *J Androl.* **2008** Sep-Oct;29(5):488-98.
28. **Ermak G, Davies KJ.** Calcium and oxidative stress: from cell signaling to cell death. *Mol Immunol.* **2002** Feb;38(10):713-21.
29. **Valenca SS, Gouveia L, Pimenta WA, Porto LC.** Effects of Oral Nicotine on Rat Liver Stereology. *Int. J. Morphol.* **2008** 26(4):1013-1022.
30. **Aydos K, Güven MC, Can B, Ergün A.** Nicotine toxicity to the ultrastructure of the testis in rats. *BJU Int.* **2001** Oct;88(6):622-6.
31. **Reddy S, Londonkar R, Ravindra, Reddy S, Patil SB.** Testicular changes due to graded doses of nicotine in albino mice. *Indian J Physiol Pharmacol.* **1998** Apr;42(2):276-80.

32. Yamamoto Y, Isoyama E, Sofikitis N, Miyagawa I. Effects of smoking on testicular function and fertilizing potential in rats. *Urol Res.* **1998**;26(1):45-8.
33. Rajpurkar A, Li H, Dhabuwala CB. Morphometric analysis of rat testis following chronic exposure to cigarette smoke. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* **2000**;19(4):363-8.
34. Ahmadnia H, Ghanbari M, Moradi MR, Khaje-Dalouee M. Effect of cigarette smoke on spermatogenesis in rats. *Urol J.* **2007** Summer;4(3):159-63.
35. Sofikitis N, Miyagawa I, Dimitriadis D, Zavos P, Sikka S, Hellstrom W. Effects of Smoking on Testicular Function, Semen Quality and Sperm Fertilizing Capacity. *The Journal of Urology*, **1995** Sept;1030-1034.
36. Agarwal A, Ikemoto I, Loughlin KR. Relationship of sperm parameters with levels of reactive oxygen species in semen specimens. *J Urol.* **1994** Jul;152(1):107-10.
37. Griveau JF, Le Lannou D. Reactive oxygen species and human spermatozoa: physiology and pathology. *Int J Androl.* **1997** Apr;20(2):61-9.
38. Gaur DS, Talekar M, Pathak VP. Effect of cigarette smoking on semen quality of infertile men. *Singapore Med J.* **2007** Feb;48(2):119-23.
39. Cocuzza M, Sikka SC, Athayde KS, Agarwal A. Clinical relevance of oxidative stress and sperm chromatin damage in male infertility: an evidence based analysis. *Int Braz J Urol.* **2007** Sep-Oct;33(5):603-21.
40. Bengmark S, Mesa MD, Gil A. Plant-derived health: the effects of turmeric and curcuminoids. *Nutr Hosp.* **2009** May-Jun;24(3):273-81.
41. Chaturvedi TP. Uses of turmeric in dentistry: an update. *Indian J Dent Res.* **2009** Jan-Mar;20(1):107-9.
42. Araújo CC, Leon LL. Biological activities of *Curcuma longa* L. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* **2001** Jul;96(5):723-8.

43. **Duvoix A, Blasius R, Delhalle S, Schnekenburger M, Morceau F, Henry E, Dicato M, Diederich M.** Chemopreventive and therapeutic effects of curcumin. *Cancer Lett.* **2005** Jun 8;223(2):181-90. Epub 2004 Nov 11.
44. **Maheshwari RK, Singh AK, Gaddipati J, Srimal RC.** Multiple biological activities of curcumin: a short review. *Life Sci.* **2006** Mar 27;78(18):2081-7.
45. **Sharma RA, Gescher AJ, Steward WP.** Curcumin: the story so far. *Eur J Cancer.* **2005** Sep;41(13):1955-68.
46. **Aggarwal BB, Harikumar KB.** Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *Int J Biochem Cell Biol.* **2009** Jan;41(1):40-59.
47. **Kalpana C, Menon VP.** Modulatory effects of curcumin on lipid peroxidation and antioxidant status during nicotine-induced toxicity. *Pol J Pharmacol.* **2004** Sep-Oct;56(5):581-6.
48. **Rajakrishnan V, Viswanathan P, Rajasekharan KN, Menon VP.** Neuroprotective role of curcumin from curcuma longa on ethanol-induced brain damage. *Phytother Res.* **1999** Nov;13(7):571-4.
49. **Lim GP, Chu T, Yang F, Beech W, Frautschy SA, Cole GM.** The curry spice curcumin reduces oxidative damage and amyloid pathology in an Alzheimer transgenic mouse. *J Neurosci.* **2001** Nov 1;21(21):8370-7.
50. **Giannessi F, Giambelluca MA, Grasso L, Scavuzzo MC, Ruffoli R.** Curcumin protects Leydig cells of mice from damage induced by chronic alcohol administration. *Med Sci Monit.* **2008** Nov;14(11):BR237-42.

51. **Sharma P, Singh R.** Protective role of curcumin on lindane induced reproductive toxicity in male Wistar rats. *Bull Environ Contam Toxicol.* **2010** Apr;84(4):378-84.
52. **Farombi EO, Abarikwu SO, Adedara IA, Oyeyemi MO.** Curcumin and kolaviron ameliorate di-n-butylphthalate-induced testicular damage in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* **2007** Jan;100(1):43-8.
53. **El-Demerdash FM, Yousef MI, Radwan FM.** Ameliorating effect of curcumin on sodium arsenite-induced oxidative damage and lipid peroxidation in different rat organs. *Food Chem Toxicol.* **2009** Jan;47(1):249-54. Epub 2008 Nov 18.
54. **Ilbey YO, Ozbek E, Cekmen M, Simsek A, Otunctemur A, Somay A.** Protective effect of curcumin in cisplatin-induced oxidative injury in rat testis: mitogen-activated protein kinase and nuclear factor-kappa B signaling pathways. *Hum Reprod.* **2009** Jul;24(7):1717-25.
55. **Sahoo DK, Roy A, Chainy GB.** Protective effects of vitamin E and curcumin on L-thyroxine-induced rat testicular oxidative stress. *Chem Biol Interact.* **2008** Nov 25;176(2-3):121-8.
56. **Ross MH, Pawlina W.** Histology A text and atlas. 5th Ed, Baltimore, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, **2006**:728-748.
57. **Junquera LC, Carneiro J, Kelley RO.** Erkek Üreme Sistemi. Aytekin Y, Solakoğlu S. Temel Histoloji. 1. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri, 2005: 431-448.
58. **Gartner LP, Hiatt JL.** Color Textbook of Histology: Pennsylvania, W.B. Saunders Company, **1997**:406-412.
59. **Kaya M, Polat S, Mete UÖ, Tap Ö.** Özel Histoloji Ders Notları. Adana, ÇÜ Tıp Fak Yay, **2006**.
60. **Russel LD, Griswold Md.** The Sertoli Cell. USA, Cache River Pres, **1993**.

61. **Leeson CR, Leeson TS.** Histology, 4.baskı, Philadelphia, London, Toronto, W.B. Saunders Company, **1981**.
62. **Heyting C.** Synaptonemal complexes: structure and function. *Curr Opin Cell Biol.* **1996** Jun;8(3):389-96.
63. **Handel MA.** The XY body: a specialized meiotic chromatin domain. *Exp Cell Res.* **2004** May 15;296(1):57-63.
64. **Vitale R, Fawcett DW, Dym M.** The normal development of the blood-testis barrier and the effects of clomiphene and estrogen treatment. *Anat Rec.* **1973** Jul;176(3):331-44.
65. **Shihadeh A, Saleh R.** Polycyclic aromatic hydrocarbons, carbon monoxide, "tar", and nicotine in the mainstream smoke aerosol of the narghile water pipe. *Food Chem Toxicol.* **2005** May;43(5):655-61.
66. **Karaconji IB.** Facts about nicotine toxicity. *Arh Hig Rada Toksikol.* **2005** Dec;56(4):363-71.
67. **Balabanova S, Bühler G, Schneider E, Boschek HJ, Schneitler H.** Nicotine excretion by the apocrine and eccrine sweat in smokers and passive smokers. *Hautarzt.* **1992** Feb;43(2):73-6.
68. **Seaton MJ, Kyerematen GA, Vesell ES.** Rates of excretion of cotinine, nicotine glucuronide, and 3-hydroxycotinine glucuronide in rat bile. *Drug Metab Dispos.* **1993** Sep-Oct;21(5):927-32.
69. **Benowitz NL, Jacob P 3rd.** Nicotine renal excretion rate influences nicotine intake during cigarette smoking. *J. Pharmacol Exp Ther.* **1985** Jul;234(1):153-5.
70. **Nakajima M, Yamamoto T, Nunoya K, Yokoi T, Nagashima K, Inoue K, Funae Y, Shimada N, Kamataki T, Kuroiwa Y.** Role of human cytochrome P4502A6 in C-oxidation of nicotine. *Drug Metab Dispos.* **1996** Nov;24(11):1212-7.

71. **Jana K, Samanta PK, De DK.** Nicotine diminishes testicular gametogenesis, steroidogenesis, and steroidogenic acute regulatory protein expression in adult albino rats: possible influence on pituitary gonadotropins and alteration of testicular antioxidant status. *Toxicol Sci.* **2010** Aug;116(2):647-59.
72. **Okamoto M, Kita T, Okuda H, Tanaka T, Nakashima T.** Effects of aging on acute toxicity of nicotine in rats. *Pharmacol Toxicol.* **1994** Jul;75(1):1-6.
73. **George J, Bais HP, Ravishankar GA.** Biotechnological production of plant-based insecticides. *Crit Rev Biotechnol.* **2000**;20(1):49-77.
74. **Rolinski Z, Herbut M.** The significance of central nicotine receptors in the aggression of isolated mice. *Pol J Pharmacol Pharm.* **1985** Jul-Aug;37(4):479-86.
75. **Leonard S, Bertrand D.** Neuronal nicotinic receptors: from structure to function. *Nicotine Tob Res.* **2001** Aug;3(3):203-23.
76. **Latha MS, Vijayammal PL, Kurup PA.** Effect of nicotine administration on lipid metabolism in rats. *Indian J Med Res.* **1993** Feb;98:44-9.
77. **Linert W, Bridge MH, Huber M, Bjugstad KB, Grossman S, Arendash GW.** In vitro and in vivo studies investigating possible antioxidant actions of nicotine: relevance to Parkinson's and Alzheimer's diseases. *Biochim Biophys Acta.* **1999** Jul 7;1454(2):143-52.
78. **Baron JA.** Beneficial effects of nicotine and cigarette smoking: the real, the possible and the spurious. *Br Med Bull.* **1996** Jan;52(1):58-73.
79. **Aitken RJ, Roman SD.** Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Oxid Med Cell Longev.* **2008** Oct-Dec;1(1):15-24.
80. **Ray G, Husain SA.** Oxidants, antioxidants and carcinogenesis. *Indian J Exp Biol.* **2002** Nov;40(11):1213-32.

81. **de Lamirande E, Gagnon C.** Reactive oxygen species and human spermatozoa. II. Depletion of adenosine triphosphate plays an important role in the inhibition of sperm motility. *J Androl.* **1992** Sep-Oct;13(5):379-86.
  
82. **de Lamirande E, Gagnon C.** Reactive oxygen species and human spermatozoa. I. Effects on the motility of intact spermatozoa and on sperm axonemes. *J Androl.* **1992** Sep-Oct;13(5):368-78.
  
83. **Aitken RJ, Clarkson JS.** Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. *J Reprod Fertil.* **1987** Nov;81(2):459-69.
  
84. **Peltola V, Huhtaniemi I, Ahotupa M.** Antioxidant enzyme activity in the maturing rat testis. *J Androl.* **1992** Sep-Oct;13(5):450-5.
  
85. **Papa S, Skulachev VP.** Reactive oxygen species, mitochondria, apoptosis and aging. *Mol Cell Biochem.* **1997** Sep;174(1-2):305-19.
  
86. **Chainani-Wu N.** Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: a component of tumeric (*Curcuma longa*). *J Altern Complement Med.* **2003** Feb;9(1):161-8.
  
87. **Nanji AA, Jokelainen K, Tipoe GL, Rahemtulla A, Thomas P, Dannenberg AJ.** Curcumin prevents alcohol-induced liver disease in rats by inhibiting the expression of NF-kappa B-dependent genes. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* **2003** Feb;284(2):G321-7.
  
88. **Gukovsky I, Reyes CN, Vaquero EC, Gukovskaya AS, Pandol SJ.** Curcumin ameliorates ethanol and nonethanol experimental pancreatitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* **2003** Jan;284(1):G85-95.
  
89. **Kositchaiwat C, Kositchaiwat S, Havanondha J.** *Curcuma longa* Linn. in the treatment of gastric ulcer comparison to liquid antacid: a controlled clinical trial. *J Med Assoc Thai.* **1993** Nov;76(11):601-5.

90. **Srivastava R, Puri V, Srimal RC, Dhawan BN.** Effect of curcumin on platelet aggregation and vascular prostacyclin synthesis. *Arzneimittelforschung*. **1986** Apr;36(4):715-7.
91. **Milloning G.** Advantages of a phosphate buffer for OsO<sub>4</sub> solutions in fixation. *J App Phy*. **1961**; 32-1637.
92. **Lewis SE, Boyle PM, McKinney KA, Young IS, Thompson W.** Total antioxidant capacity of seminal plasma is different in fertile and infertile men. *Fertil Steril*. **1995** Oct;64(4):868-70.
93. **Al-Bader A, Omu AE, Dashti H.** Chronic cadmium toxicity to sperm of heavy cigarette smokers: immunomodulation by zinc. *Arch Androl*. **1999** Sep-Oct;43(2):135-40.
94. **Vachhrajani KD, Chowdhury AR, Dutta KK.** Testicular toxicity of methylmercury: analysis of cellular distribution pattern at different stages of the seminiferous epithelium. *Reprod Toxicol*. **1992**;6(4):355-61.
95. **Mahanem MN, Nor-Asmaniza AB, Phang HT, Muhammad HR.** Effects of nicotine and co-administration of nicotine and vitamin E on testis and sperm quality of adult rats. *Malays. Appl. Biol*. **2006**;35(2): 47-52.
96. **Verma RJ, Mathuria N.** Effect of curcumin on aflatoxin-induced biochemical changes in testis of mice. *Fertil Steril*. **2009** Feb;91(2):597-601.
97. **Menon VP, Kalpana C.** Modulatory effects of curcumin on lipid peroxidation and antioxidant status during nicotine-induced toxicity. *Pol J Pharmacol*. **2004** Sep-Oct;56(5):581-6.
98. **Kalpana C, Sudheer AR, Rajasekharan KN, Menon VP.** Comparative effects of curcumin and its synthetic analogue on tissue lipid peroxidation and antioxidant status during nicotine-induced toxicity. *Singapore Med J*. **2007** Feb;48(2):124-30.
99. **Güven MC, Can B, Ergün A, Saran Y, Aydos K.** Ultrastructural effects of cigarette smoke on rat testis. *Eur Urol*. **1999** Dec;36(6):645-9.

- 100. Erpek S, Balkaya M, Ünsal H, Ünsal C.** Effects of Alcohol and Passive Cigarette Smoking on the Swiss Albino Mice Testes. *İnönü Üni Tıp Fak Derg.* **2004** 11(1) 1-6.
- 101. Gawish AM, Issa AM, Aziza M A, Ramadan S.** Morphometrical, Histopathological, and Cytogenetical ameliorating Effects of Green tea Extract on Nicotine Toxicity of the Testis of Rats. *Journal of American Sci.* **2010**;6(11):401-411.
- 102. Sepaniak S, Forges T, Gerard H, Foliguet B, Bene MC, Barbarino, P.** The influence of cigarette smoking on human sperm quality and DNA fragmentation. *Toxicology.* **2006** 223, 54-60.
- 103. Londonkar RL, Sonar A, Patil S, Patil SB.** Nicotine delays puberty in male rat. *Pharm Biol.* **2000**;38(4):291-7.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

Gülfidan Coşkun 1985 tarihinde Kahramanmaraş'ın Andırın ilçesinde doğdu. İlk öğretim ve lise eğitimini Adana'da tamamladı. 2008 yılında Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji bölümünden mezun oldu. Aynı yıl Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı. Gülfidan Coşkun halen aynı Anabilim Dalında eğitim-öğretimini sürdürmektedir.