

**SIÇANLARDA ARSENİĞİN SEBEP OLDUĞU TESTİKÜLER  
HASARA KARŞI KUERSETİNİN KORUYUCU ETKİLERİ**

**Bilal Burak BALTACI  
1128202151**

**ANATOMİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Doç. Dr. Ramazan UYGUR**

**TEZ NO: 2015/08  
2015 – TEKİRDAĞ**

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**  
**NAMIK KEMAL ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SIÇANLARDA ARSENİĞİN SEBEP OLDUĞU**  
**TESTİKÜLER HASARA KARŞI KUERSETİNİN**  
**KORUYUCU ETKİLERİ**

**Bilal Burak BALTACI**  
**1128202151**

**ANATOMİ ANABİLİM DALI**  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. Ramazan UYGUR**

**Bu Tez Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi**  
**tarafından NKUBAP.00.20.YL.14.01 proje numarası ile desteklenmiştir.**

**Tez No: 2015/08**  
**2015 – TEKİRDAĞ**

KABUL ve ONAY

Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Anatomi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı

çerçevesinde Doç. Dr. Ramazan UYGUR danışmanlığında yürütülmüş  
bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından  
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi

06/01/2015



Prof. Dr. Oğuz Aslan ÖZEN

Namık Kemal Üniversitesi


Jüri Başkanı



Doç. Dr. Ramazan UYGUR

Namık Kemal Üniversitesi

Üye



Doç. Dr. Murat AYDIN

Namık Kemal Üniversitesi

Üye

Anatomi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Bilal Burak BALTACI'nın "Sıçanlarda Arseniğin Sebep Olduğu Testiküler Hasara Karşı Kuersetinin Koruyucu Etkileri" başlıklı tezi 06.01.2015 günü saat 10:00'da Namık Kemal Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Bozkurt GÜLEK

Enstitü Müdürü

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, büyük bir sabırla yetişmemi sağlayan, desteğiyle her zaman beni cesaretlendiren ve bu tez çalışmasının ortaya çıkmasında büyük emeği olan çok değerli Danışman Hocam Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Ramazan UYGUR'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek Lisans eğitimim boyunca mesleki bilgi ve beceri edinmemde ilgi ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen çok değerli hocam Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Oğuz Aslan ÖZEN'e sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Her türlü desteğiyle bu çalışmanın ortaya çıkmasında büyük katkıları olan çok değerli hocalarım Prof. Dr. Ahmet GÜREL, Doç. Dr. Cevat AKTAŞ, Doç. Dr. Murat AYDIN ve Yrd. Doç. Dr. Veli ÇAĞLAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez Namık Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (NKUBAP.00.20.YL.14.01).

## ÖZET

**Bilal Burak Baltacı, Sıçanlarda Arseniğin Sebep Olduğu Testiküler Hasara Karşı Kuersetinin Koruyucu Etkileri, Namık Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Anatomi Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi, Tekirdağ, 2015.**

Arsenik hava, su ve toprakta bulunan toksik bir metaldir. Dünya genelinde milyonlarca insanı etkileyen arsenik özellikle erkek üreme sistemi üzerine sitotoksik etki göstermektedir. Çalışmamızda arsenik maruziyetiyle testislerde oluşan değişiklikler üzerine kuersetinin etkisi araştırıldı.

Çalışmamızda 27 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan üç gruba ayrıldı. Kontrol grubu (10 ml/kg/gün serum fizyolojik, intragastrik), Arsenik grubu (10 mg/kg/gün sodyum arsenit, intragastrik), Arsenik + Kuersetin grubu (10 mg/kg/gün sodyum arsenit, intragastrik ve 50 mg/kg/gün kuersetin, intragastrik) olarak oluşturuldu. 15 gün boyunca devam eden deneyin sonunda sıçanlar tartılarak sakrifiye edildi. Testis dokuları alınarak tartıldı. Histopatolojik inceleme için testis kesitleri hematoksilin-eozin (H-E) ile boyandı. Apoptozisin belirlenmesi için TUNEL (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Mediated dUTP Nick End Labeling) yöntemi kullanıldı. Hücre proliferasyonunun değerlendirilmesi için PCNA (proliferating cell nuclear antigen) yöntemi kullanıldı. Biyokimyasal olarak süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enzim aktiviteleri, malondialdehit (MDA) düzeyleri spektrofotometrik olarak belirlendi. Ayrıca serum total testosteron seviyeleri tespit edildi. Testislerdeki arsenik miktarının analizi İndüktif Eşleşmiş Plazma / Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES) ile yapıldı. Verilerin istatistiksel analizi ve gruplar arası karşılaştırmalar yapıldı.

Arsenik maruziyeti sonucunda, sıçanların vücut ağırlık kazanımı ve testis ağırlıkları açısından kontrol grubu ile arsenik grubu arasında bir farkın olmadığı, arsenik grubu sıçan testislerinde histopatolojik olarak seminifer tübül yapısında bozulma ve tübül çaplarında azalma, spermatogenik seriye ait hücre sayısında azalma, seminifer tübüllerin duvarında TUNEL pozitif apoptotik hücre sayısında artış, PCNA pozitif hücre sayısında azalma gözlemlendi. Kuersetin uygulamasının vücut ağırlığı, vücut ağırlık kazancı ve testis ağırlığı açısından anlamlı bir değişikliğe

neden olmadığı görüldü. Kuersetin tedavisi sonucunda testisteki yapısal bozulmaların hafiflediği, TUNEL pozitif hücre sayısının azaldığı, PCNA pozitif hücre sayısının arttığı tespit edildi. Biyokimyasal olarak arsenik maruziyetinin testis dokusunda SOD, CAT ve GSH-Px enzim aktivitelerinde azalmaya, MDA düzeyinde ise artmaya neden olduğu saptandı. Arsenik grubunda serum total testosteron düzeyinde anlamlı bir değişim olmadığı bulundu. Kuersetin uygulamasıyla SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerinde artış, MDA düzeyinde ise azalma tespit edildi. Kuersetinin serum total testosteron düzeyinde anlamlı bir fark oluşturmadığı bulundu. Arsenik miktarlarının arsenik grubunda kontrol grubuna göre arttığı, kuersetin grubu ile arsenik grubu arasında arsenik miktarları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı görüldü.

Sonuç olarak arseniğin sıçan testislerinde neden olduğu histopatolojik değişiklikler, apoptozis, oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunu kuersetinin antiapoptotik ve antioksidan etkileri ile azaltarak koruyucu etki gösterdiği bulundu.

**Anahtar kelimeler:** Arsenik, kuersetin, testis, apoptozis, oksidatif stres

## ABSTRACT

**Bilal Burak Baltaci, Protective Effects of Quercetin Against Arsenic Induced Testicular Damage in Rats. Namik Kemal University Institute of Health Sciences, Department of Anatomy, Master's Thesis, Tekirdag-2015.**

Arsenic is a toxic metal found in water, air and soil. Arsenic affects millions of people worldwide, especially cytotoxic effects on the male reproductive system. In this study, protective effects of quercetin against arsenic-induced testicular damage in rats.

In this study, 27 Sprague-Dawley male rats were divided into three groups. Control group (10 ml/kg/day SF, intragastric), Arsenic group (10 mg/kg/day sodium arsenite, intragastric), arsenic + quercetin group (10 mg/kg/day sodium arsenite, intragastric + 50 mg/kg/day quercetin, intragastric). For 15 days at the end of the ongoing experiments, rats were sacrificed. Testis tissues were taken and stained with hematoxylin and eosin (H-E) for histopathological analysis. Apoptotic cells were studied by using TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl Transferase Biotin-dUTP Nick End Labeling) assay. Cell proliferation was studied by PCNA (proliferating cell nuclear antigen) method. For biochemical analysis, the activities of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione peroxidase (GSH-Px) as well as malondialdehyde (MDA) levels were measured spectrophotometrically. In addition, total serum testosterone levels were determined. The amount of arsenic in the testes was analyzed by Inductively Coupled Plasma / Optical Emission Spectrometry (ICP-OES). Statistical analyses of the numeric data were performed and the comparisons among groups were calculated.

As a result of exposure to arsenic in rats, there were no statistically significant difference body weights, body weight gain and testes weights between arsenic group and control group. It was observed that decreased the number of germ cells and PCNA - positive cells, reduced degeneration of seminiferous tubulus, as well as increased the number of Tunel - positive apoptotic cells in the walls of the seminiferous tubules in the arsenic group by histopathological methods. After quercetin treatment, there were no significant difference body weights, body weight

gain and testes weights. We showed that structural deterioration in testes was ameliorated, decreased the number of Tunel-positive apoptotic cells, increased the number of PCNA-positive cells. Arsenic exposure in testes tissues caused decrease SOD, CAT and GSH-Px activities an increase in the levels of MDA was detected by biochemical analysis. Total serum testosterone levels showed no change in the arsenic group. SOD, CAT and GSH-Px activities increased and a decrease in levels of MDA were determined after quercetin administration. Total serum testosterone levels found no significant difference in arsenic + quercetin group. Arsenic group had higher amount of arsenic compared with control group. There was no statistically significant difference amount of arsenic between arsenic group and arsenic + quercetin group.

In conclusion, these data showed that quercetin has protective effects against arsenic-induced testicular damage by decreasing morphological damage, apoptosis, lipid peroxidation, and oxidative stress.

**Keywords:** Arsenic, quercetin, testis, apoptosis, oxidative stress



## İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	viii
İÇİNDEKİLER	x
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
TABLolar DİZİNİ	xv
GRAFİKLER DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
1.1. Testis	1
1.1.1. Testis Anatomisi	1
1.1.2. Testis Histolojisi	7
1.1.3. Testis Fizyolojisi	9
1.2. Arsenik	10
1.3. Kuersetin	12
2. GENEL BİLGİLER	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	16
3.1. Deney Hayvanlarının Bakımı	16
3.2. Grupların Oluşturulması ve Uygulamalar	16
3.3. Histolojik Uygulamalar	17
3.3.1. Seminifer Tübül Çapları	19
3.3.2. Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru	19
3.3.3. TUNEL Yöntemi	20
3.3.4. İmmünohistokimyasal inceleme (PCNA)	21
3.4. Biyokimyasal Ölçümler	22
3.4.1. Dokuların Saklanması	22
3.4.2. Dokuların Homojenizasyonu ve Deney İçin Hazırlanması	22
3.4.3. Dokularda Biyokimyasal Analizler	23
3.4.3.1. Ekstraksiyonlu ve Ekstraksiyonsuz Numunelerde Protein Tayini	23

3.4.3.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi	23
3.4.3.3. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Belirlenmesi	24
3.4.3.4. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesinin Belirlenmesi	24
3.4.3.5. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Belirlenmesi	25
3.5. Total Testosteron Tayini	25
3.6. Arsenik Miktarı Tayini	25
3.7. İstatistiksel Analiz	25
4. BULGULAR	27
4.1. Morfometrik Bulgular	27
4.1.1. Vücut Ağırlıkları ve Ağırlık Kazançları	27
4.1.2. Testis Ağırlıkları	27
4.2. Histopatolojik Bulgular	28
4.2.1. Işık Mikroskobik Bulgular	28
4.2.2. Seminifer Tübül Çapları ve Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru	30
4.2.3. TUNEL Boyama Bulguları	31
4.2.4. İmmunohistokimya Bulgular (PCNA)	34
4.3. Biyokimyasal Bulgular	36
4.3.1. SOD Aktiviteleri	36
4.3.2. CAT Aktiviteleri	37
4.3.3. GSH-Px Aktiviteleri	37
4.3.4. MDA Düzeyleri	37
4.4. Total Testosteron Değerleri	38
4.5. Arsenik Miktarları	39
5. TARTIŞMA	40
6. KAYNAKLAR	46
EKLER	
EK 1- Etik Kurul Onayı	

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

C	Carbon
CAT	Katalaz
cm	Santimetre
°C	Santigrad derece
DNA	Deoksiribonükleik asit
FSH	Folikül stimülan hormon
g	Gram
GH	Growth hormon
GSH	Redükte glutatyon
GSH-Px	Glutatyon peroksidaz
GSSG	Okside glutatyon
HCl	Hidroklorik asit
HcG	Human chorionic gonadotropinin
H-E	Hematoksilen eozin
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Hidrojen peroksit
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
JTBS	Johnsen testiküler biyopsi skoru
kg	Kilogram
LH	Luteinize edici hormon
m	Metre
M	Molar
MDA	Malondialdehit
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
µm	Mikrometre
µmol	Mikromol
NaCl	Sodyum klorür

NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (indirgenmiş)
NBT	Nitroblue tetrazolium
nm	Nanometre
nmol	Nanomol
NO	Nitrik oksit
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Süperoksit anyonu
OH	Hidroksil radikali
PBS	Phosphate–Buffer Saline
PCNA	Proliferating cell nuclear antigen
pH	Potansiyel hidrojen
RCF	Relatif santrifüj kuvveti
rpm	Dakikadaki devir sayısı
SS	Standart sapma
SF	Serum fizyolojik
SOD	Süperoksit dismutaz
STH	Somatotropin
TBA	Tiyobarbitürik asit
TdT	Terminal deoksinükleotidil transferaz
TUNEL	Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Mediated dUTP Nick End
ICP-OES	İndüktif Eşleşmiş Plazma / Optik Emisyon Spektrometresi

## ŞEKİLLER

	Sayfa
1.1. Scrotum ve testis	5
1.2. Testis ve epididymis	5
1.3. Testis ve epididymis, sagittal kesit	6
1.4. Testis, epididymis ve ductus defferens	6
1.5. Testis, epididymis ve scrotum transvers kesit	7
1.6. Seminifer tübül ve çevresindeki dokunun bir bölümü	9
1.7. Kuersetinin açık formülü	14
4.1. Kontrol grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü	29
4.2. Arsenik grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü	29
4.3. Arsenik + kuersetin grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü	30
4.4. Kontrol grubuna ait testis dokusunda TUNEL boyaması	32
4.5. Arsenik grubuna ait testis dokusunda TUNEL boyaması	32
4.6. Arsenik + kuersetin grubuna ait testis dokusunda TUNEL boyaması	33
4.7. Kontrol grubuna ait testis dokusunda PCNA immün boyaması	34
4.9. Arsenik grubuna ait testis dokusunda PCNA immün boyaması	35
4.10. Arsenik + kuersetin grubuna ait testis dokusunda PCNA immün boyaması	35

## TABLOLAR

	Sayfa
3.1. Histolojik takip basamakları	18
3.2. Hematoksilen - Eozin boyama protokolü	19
3.3. Johnsen testiküler biyopsi skoru	20
4.1. Grupların başlangıç ve bitiş vücut ağırlıkları ile ağırlık kazançları	27
4.2. Grupların sağ ve sol testis ağırlıkları ve total testis ağırlıkları	28
4.3. Grupların seminifer tübül çapları ve Johnsen testiküler biyopsi skorları	31
4.4. Grupların biyokimyasal parametreleri (SOD, CAT, GSH-Px ve MDA).	38
4.5. Grupların total testosteron değerleri	38
4.6. Grupların arsenik miktarları	39

## GRAFİKLER

	Sayfa
4.1. Grupların apoptotik indeksi	33
4.2. Grupların PCNA indeksi	36

## 1. GİRİŞ

### 1.1. Testis

#### 1.1.1. Testis Anatomisi

Testis ovalimsi bir organ olup sağı sollu bir çifttir ve scrotum içinde funiculus spermaticus'a asılı halde bulunurlar. Genellikle sol testis sağı göre daha aşağıdadır. İri bir badem büyüklüğünde olan testisler yaklaşık olarak 4-5 cm uzunluğunda, 2,5 cm genişliğinde, 3 cm kalınlığında ve 20-25 gr ağırlığındadır. Testisler sperm (spermatozoa) ve hormon (özelikle testosteron) üretirler (Arıncı ve Elhan 2006, Şahinoğlu 2007).

Testisler fetal dönemde üstte posterior abdominal duvarda gelişmeye başlar ve doğumdan önce normalde aşağı inerek anterior abdominal duvardaki canalis inguinalis'ten geçer ve scrotum'a iner. Testisler iniş sırasında esas boşalma kanalları ductus defferens (vas defferens) gibi kendi damarlarını, lenfatiklerini ve sinirlerini taşır. Testislerin lenf damarları bundan dolayı inguinal veya pelvik lenf nodlarına değil para-aortik lenf nodlarına gider (Yıldırım 2011).

Testis'in facies medialis ve facies lateralis olmak üzere iki yüzü; margo anterior ve margo posterior olmak üzere iki kenarı; extremitas superior ve extremitas inferior olmak üzere de iki ucu vardır (Arıncı ve Elhan 2006). Testislerin scrotum içerisindeki yönü düz olmayıp, üst ucu öne ve dışa, alt ucu ise arkaya ve içe doğrudur. Konveks ön kenarı biraz da dışa-aşağı doğru, daha düzce olan arka kenarı da, biraz yukarı-içe doğru bakar. Buna göre uzun eksenini yukarıdan-aşağıya, dıştan-içe ve önden-arkaya doğru meyilli olarak bulunur (Arıncı ve Elhan 2006, Sarsılmaz 2014).

Testis'in ön kenarı, her iki yüzü ve uçları düz ve konveks olup, visseral periton ile kaplıdır. Arka kenarının sadece lateral kısmı periton ile örtülüdür. Peritonsuz olan medial bölümüne epididymis tutunur ve buradan testisin damarları, sinirleri ve kanalları geçer (Arıncı ve Elhan 2006). Testis'in yan ve ön yüzleri asıl olarak cavitas abdominis ile bağlantılı kapalı bir periton kesesi (tunica vaginalis) ile



örtülüdür. Normalde testis indikten sonra bağlantı kapanır ve fibröz bir kalıntı kalır (Yıldırım 2011).

Testis tunica vaginalis, tunica albuginea ve tunica vasculosa olmak üzere üç tabaka ile sarılmıştır.

Tunica vaginalis testis, fascia spermatica interna'nın iç, testis'in de dış yüzünü saran seröz zardır. Embriyolojik dönemde karın boşluğunu döşeyen parietal periton scrotum'a doğru bir cep şeklinde çıkıntı gösterir. Saccus vaginalis denilen bu çıkıntı, scrotum'un tabakalarından en içte bulunan fascia spermatica interna'ya gevşek olarak yapışır. Daha sonra periton kesesinin dışında scrotum'a inen testis, saccus vaginalis'e arka tarafından gömülerek peritonla kaplanır. Böylece saccus vaginalis'in, bir testis'i örten lamina visceralis (epiorchium) kısmı, bir de fascia spermatica interna'ya yapışan lamina parietalis (periorchium) kısmı oluşur. Erişkinlerde bu iki yaprağa tunica vaginalis testis denilir. Saccus vaginalis'in testis'in üst ucundan anulus inguinalis profundus'a kadar olan bölümü, kapanarak bir kordon şeklini alır ve karın boşluğu ile olan bağlantısı kesilir. İki yaprak arasında kalan kılcal aralığa ise cavum serosum scroti denilir ve içinden eklem sıvısına benzer, bir miktar kaygan sıvı bulunur (Arıncı ve Elhan 2006).

Tunica vaginalis testis'in lamina visceralis'i, kaygan şeffaf seröz bir membran olup testis'e, epididymis'e ve ductus deferens'in alt kısmına sıkıca yapışıkır. Testis ve epididymis'in arka kenarlarından, lamina parietalis olarak fascia spermatica interna'nın iç yüzüne geçer. Epididymis'in baş kısmını testis'in üst ucuna bağlayan tunica vaginalis bölümüne lig. epididymis superius, kuyruk kısmını testis'in alt ucuna bağlayan tunica vaginalis bölümüne ise lig. epididymis inferius denilir (Arıncı ve Elhan 2006).

Lamina parietalis, peritoneum'un fascia spermatica interna'yı döşeyen kısmıdır. Funiculus spermaticus'un ön ve iç kısmında yukarıya doğru biraz uzar. Bu nedenle lamina visceralis'den daha geniştir. Lamina parietalis'in iç yüzü düzdür ve mezotel ile kaplıdır (Arıncı ve Elhan 2006).

Saccus vaginalis'in oblitere olan üst bölümü, genellikle gevşek bağ dokusu içerisinde bir kordon şeklinde görülür. Bazen de, yavaş yavaş kaybolur. Bazen oblitere olmaz ve bunun sonucunda, karın boşluğu ile cavum scroti birbiriyle bağlantılı olur. Bu gibi durumlarda bir nevi indirekt fitik oluşmuş sayılır (Arıncı ve Elhan 2006).

Tunica albuginea, testisleri örten kalın, fibröz bir tabakadır. Elastikiyeti ve genişleme özelliği olmayan bu tabaka, arka kenardan testis içine sokulur ve vertikal bir bölme oluşturur. Bu bölmeyle mediastinum testis adı verilir. Mediastinum testis, testis'in extremitas superior'undan extremitas inferior yakınına kadar uzanır. Mediastinum testis'in ön ve yan kısmından çıkan uzantılara septula testis adı verilir. Bu uzantılar, testis parankiminden geçerek tunica albuginea'nın iç yüzüne ulaşır ve böylece testis'i koni biçiminde lobullara böler (lobuli testis). Testis parankimini lobuli testis içinde bulunan ve kıvrımlı şekli nedeniyle dolayı tubuli seminiferi contorti adı verilen kanalcıklar oluşturur. Her bir testis kanalcığı, mediastinum testis yakınında tubuli seminiferi recti adı verilen düz bir kanalcığa uzanır. Bütün lobulus'lardan gelen bu kanalcıklar mediastinum'a sokulur ve burada rete testis denilen ağı oluşturur. Lobuli testislerde yapılan spermium'lar rete testis'ten ductuli efferentes testis adı verilen kanalcıklar aracılığı ile epididymis'e gelir (Sancak ve Cumhuriyet 2004).

Tunica vasculosa tunica albuginea'nın iç yüzünde bulunan damar ağı tabakasıdır. Damarlar arasında kalan aralıkları da gevşek bağ dokusu doldurur. Tunica vasculosa tunica albuginea'nın iç yüzünü ve tüm bölmelerin yüzlerini döşer. Böylece, testis'in içindeki tüm lobuli testis'i de sarmış olur (Arıncı ve Elhan 2006).

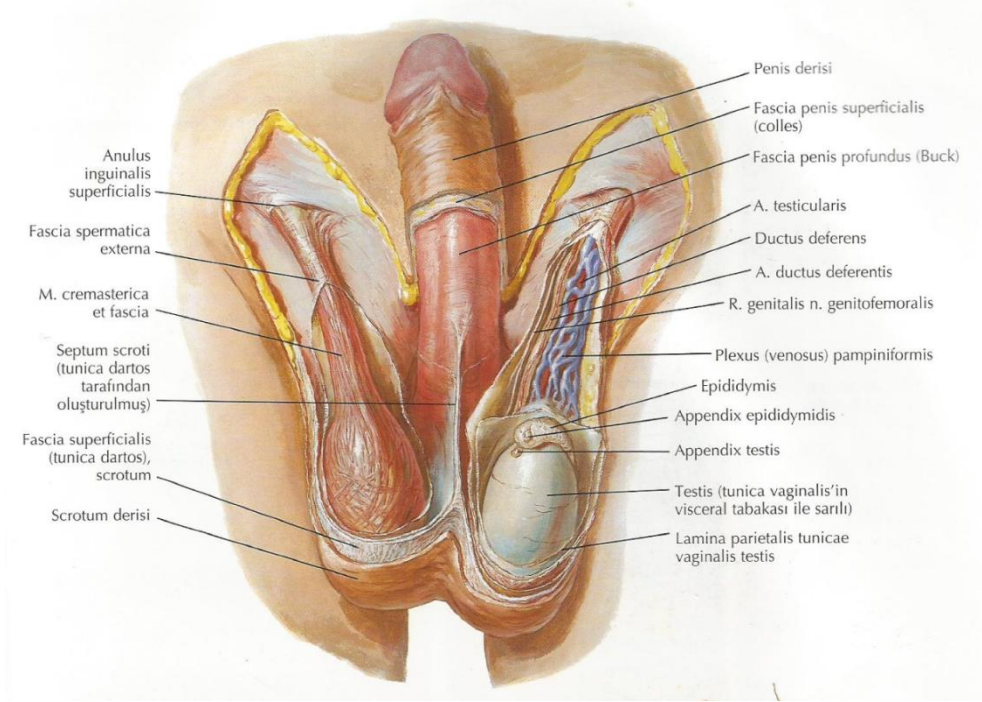
Tunica albuginea ve septula testisler arasındaki boşluklarda uzun tüplerin oluşturduğu bez kümeleri bulunur. Sayıları 200-300 arasında değişen ve lobuli testis denilen bu bez kümelerinin büyüklükleri buldukları yere göre farklıdır. Testis'in ortasında bulunanlar daha büyük ve uzundur. Piramit şeklinde olan lobuli testislerin taban kısımları periferde, tepe kısımları ise mediastinum testis'e yönelmiştir. Her bir lobcuk, 1 ila 3 veya daha fazla küçük tüpler şeklindeki bezden oluşur. Kıvrıntılı seyri nedeniyle dolayı bu tüplere tubuli seminiferi contorti denilir. Bu tüpler kör bir uçla başlar ve tüpler arasında bağ dokusu bulunur. Bu tüplerin yaklaşık olarak sayıları 400-600, uzunlukları 70 ila 80 cm, çapları da 0,1 ila 0,3 mm kadardır. Lobcukların mediastinum testis'e bakan tepe kısımlarında bu boruların seyri gittikçe düzleşir ve birbiriyle birleşerek sayıları 20 ila 30'a iner. Tubuli seminiferi recti denilen bu tüplerin, çapları da genişleyerek 0,5 mm olur. Tubuli seminiferi recti'ler mediastinum testis'in fibröz dokusu içine girerek arkaya yukarı doğru uzanır. Bu kanallar seyri sırasında birbiriyle anastomoz yaparak rete testis denilen ağı oluştururlar. Rete testis, mediastinum testis'in üst bölümünde sayıları 12 ila 15

arasında değişen kanallar şekline dönüşür. Ductuli efferentes testis denilen bu kanallar, testis'in arka kenarının üst kısmında, tunica albuginea'yı delerek dışarı çıkarlar. Dışarı çıkan kanallar önce düz olarak uzanır, daha sonra kalınlaşarak kıvrıntılı bir seyirle lobcukları oluştururlar. Lobuli coni epididymis denilen bu lobcukların yükseklikleri yaklaşık 1 cm'dir. Bunların tepe kısımları testis'e, taban kısmı ise epididymis'e bakar. Her bir lobcuk açıldığı zaman boyu 15-20 cm'yi bulan bir kanaldan oluştuğu görülür. Ductuli efferentes testisler caput epididymis'de ductus epididymis denilen kanala açılır. İşte caput epididymis'i, sayıları 12 ila 15 arasında değişen lobuli coni epididymis ve bunların açıldığı ductus epididymis'in başlangıç kısmı oluşturur. Açıldığı zaman yaklaşık 6 m uzunluğunda olan ductus epididymis, testis'in arka kenarında kümeler oluşturarak corpus epididymis ve cauda epididymis'i oluşturur. Epididymis'in kıvrımlarını gevşek bağ dokusu birbirine bağlar. Epididymis'de, spermiumlar depo edilir ve olgunlaşmasının son safhasını tamamlar (Arıncı ve Elhan 2006).

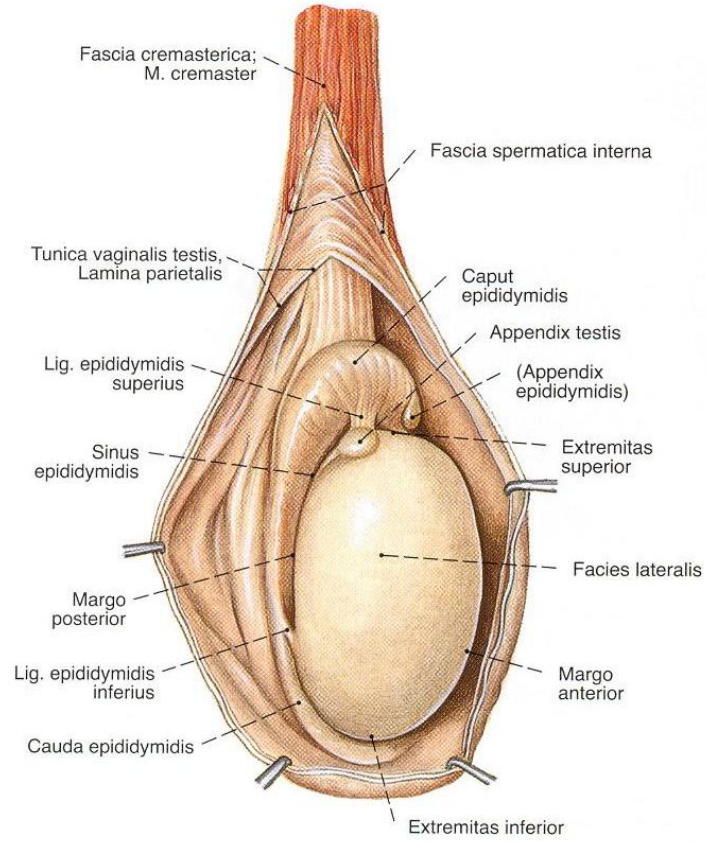
Uzun ve ince a. testicularis aorta abdominalis'in anterolateral yüzünden a. renalis'in hemen altından çıkar. Eğik bir seyirde retroperitonal bölgeye geçerek ureter ve a. iliaca externa'nın alt bölümünü çaprazlayarak anulus inguinalis profundus'a ulaşır. A. testicularis anulus inguinalis profundus'dan kanala girip burada ilerler. Sonra anulus inguinalis superficialis'ler aracılığıyla kanaldan çıkıp testisleri beslemek için funiculus spermaticus'a girer. A. testicularis veya dallarından biri a. ductus deferentis ile anatomoz yapar (Şahinoğlu 2007).

Vv. testiculares, testis ile epididymis'ten çıkar ve venöz bir ağ olan plexus pampiniformis'i oluşturmak için birleşirler. 8 ila 12 venden meydana gelen plexus pampiniformis funiculus spermaticus içinde ductus deferens'in önünde a. testicularis'i sarar. Plexus pampiniformis testis'in termoregülatör sisteminin bir bölümü olarak bezi sabit ısıda tutar. Sol v. testicularis plexus pampiniformis'ten çıkar ve sol v. renalis'e dökülür; sağ v. testicularis'in benzer orijini vardır, ancak v. cava inferior'a açılır (Şahinoğlu, 2007).

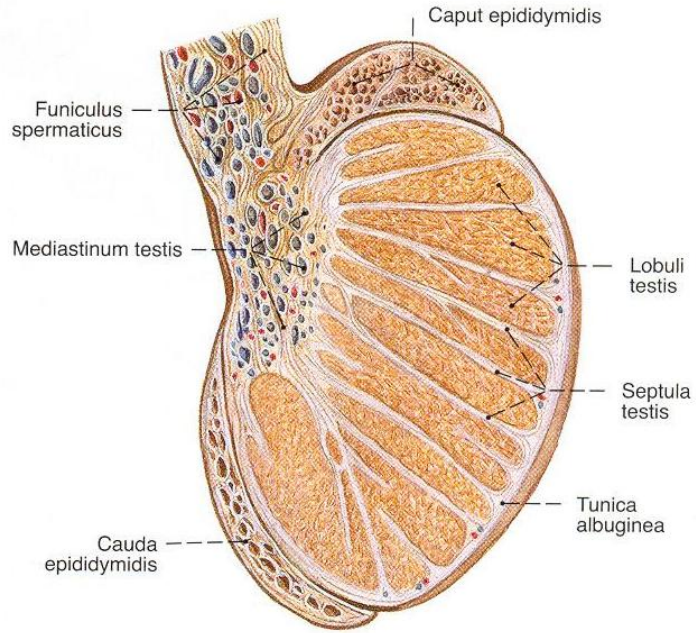
Testis'in lenfatik drenajı, nodi lymphatici lumbales ve nodi lymphatici preaortici'ye olur. Testis otonom sinirlerle inerve edilir. Sinirleri; T10-11 medulla spinalis segmentlerinden kaynaklanan simpatik lifler, damarlarının çevresindeki pleksuslar aracılığı ile gelir. Parasempatik lifler 2-4 sakral spinal segmentten çıkar ve plexus pelvicus'a gelir (Arıncı ve Elhan 2006, Sancak ve Cumhuriyet 2004).



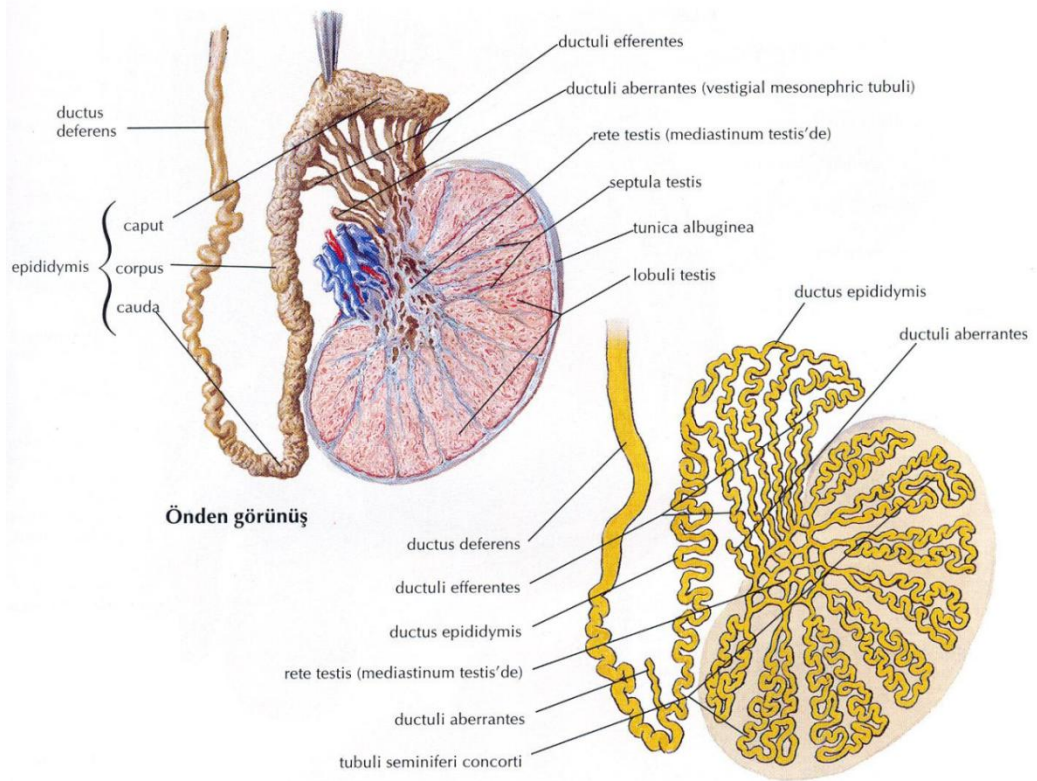
Şekil 1.1. Scrotum ve testis. Netter (2008) İnsan Anatomisi Atlası'ndan alınmıştır.



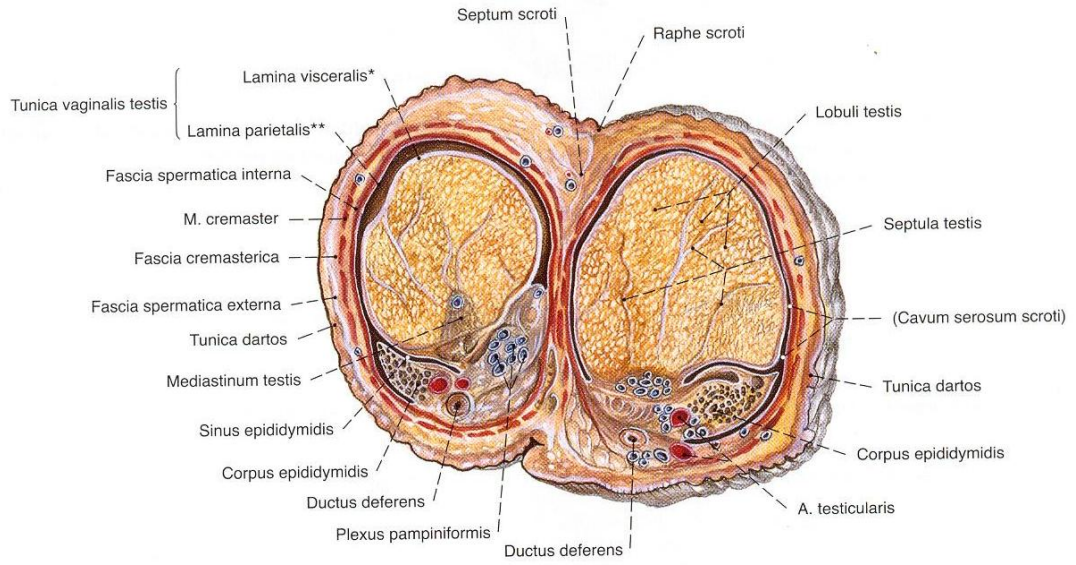
Şekil 1.2. Testis ve epididymis. Sobotta (2008) İnsan Anatomi Atlası'ndan alınmıştır.



**Şekil 1.3.** Testis ve epididymis, sagittal kesit. Sobotta (2008) İnsan Anatomi Atlası'ndan alınmıştır.



**Şekil 1.4.** Testis, epididymis ve ductus deferens. Netter (2008) İnsan Anatomi Atlası'ndan alınmıştır.



**Şekil 1.5.** Testis, epididymis ve scrotum transvers kesit. Sobotta (2008) İnsan Anatomi Atlası'ndan alınmıştır.

### 1.1.2. Testis Histolojisi

Testisler, karın boşluğunun arka duvarında retroperitoneal olarak gelişirler. Fetüsün gelişmesi sırasında göç ederler ve scrotum içinde spermatik kordonların uçlarında asılı olarak bulunurlar. Scrotuma doğru gerçekleştirdikleri bu göç nedeniyle her testis tunica vaginalis adı verilen ve peritondan gelişmiş olan seröz bir kese taşır. Tunica vaginalis dışta paryetal, içte ise visseral bir tabakadan oluşur ve testisin ön ve yan kısımlarında tunica albuginea'yı örter. Scrotum, testislerin karın içinden daha düşük bir ısıda tutulmalarında önemli bir rol oynar (Aytekin 2006).

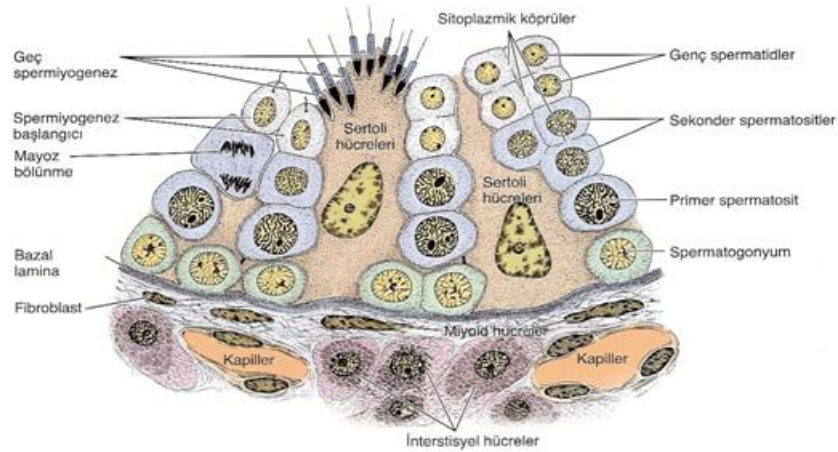
Spermatozoonlar seminifer tübüllerde üretilir. Her testiste yaklaşık 250-1000 seminifer tübül bulunur. Her seminifer tübül karmaşık yapıda çok katlı bir epitel ile döşeli olup, yaklaşık 150-250 µm çapında ve 30-70 cm uzunluğundadır. Bir testisteki tübüllerin toplam uzunluğu yaklaşık 250 metredir. Tübüller kıvrımlıdır ve başlangıçta kör uçludur. Sonlanırken lümen daralır ve düz tübüller ya da tubuli recti olarak anılan kısa segmentler halinde devam eder. Bu düz tübüller, seminifer tübüllerin rete testis denilen, epitel ile döşeli kanalların oluşturduğu bir labirente

bağlanmasını sağlar. Anastomoz yapan rete testis kanalları, yaklaşık 10-20 ductuli efferentes ile epididymis'in baş kısmına bağlanmıştır. Tubuli seminiferi contorti'nin duvar yapısı (seminifer epitel), sustentakular (Sertoli) ve spermatogenik seri hücreleri olmak üzere iki tip hücre içeren germinal doku ile döşenmiştir. Spermatogenik seri hücreleri bazal lamina ile tübül lümeni arasında 4-8 sıralı tabaka halinde dizilidirler. Bu hücre grubu bölünmeler sonunda farklılaşan ve en sonunda olgun spermi oluşturacak olan spermatidleri içerir. Hücre bölünmesiyle oluşan hücre farklılaşma sürecine spermatogenez denir (Gövsa Gökmen 2003, Aytekin 2006).

Seminifer tübüller fibröz bir bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal lamina ve karmaşık bir germinal ya da seminifer epitelden oluşur. Seminifer tübülü saran fibröz tunica propria birkaç fibroblast katmanından oluşmuştur. Bazal laminaya yapışık olan en içteki katman, düz kas özellikleri de gösteren yassılaştırmış miyoid hücreler içerir (Aytekin 2006).

Spermatogenez, spermatozoon üretim sürecidir. Süreç ilkel primitif bir germ hücresi olan spermatogonyum ile başlar. Spermatogonyum, yaklaşık 12 µm çapında, bazal laminanın hemen üstünde yer alan görece küçük bir hücredir. Cinsel olgunluk çağında spermatogonyum hücreleri mitoz bölünmeyle çoğalmaya başlar ve yeni hücreler oluşur. Yeni oluşan hücreler iki yoldan birini izleyebilir: A tipi spermatogonyumlar olarak da adlandırılan kök hücreler olarak bölünmeyi sürdürebilir ya da süregiden mitotik sikluslar boyunca farklılaşarak B tipi spermatogonyumları oluştururlar. B tipi spermatogonyumlar primer spermatositlere farklılaşan öncül (progenitor) hücrelerdir. Primer spermatositler 46 kromozom (44+XY) ve 4N DNA içerir. Oluşmalarından hemen sonra bu hücreler birinci mayoz bölünmenin profazına girerler. Bu bölünmenin profaz aşaması yaklaşık 22 gün sürdüğünden, kesitlerde görülen spermatositlerin çoğu bu aşamada olacaktır. Primer spermatositler spermatogenik serinin en büyük hücreleridir ve nükleuslarında kangal oluşturma sürecinin değişik safhalarında kromozomların bulunması ile tanınırlar. Birinci mayoz bölünmeden sonra sekonder spermatositler olarak adlandırılan ve yalnızca 23 kromozom (22+X veya 22+Y) içeren daha küçük hücreler oluşur. Kromozomlardaki bu sayıca azalmaya her hücredeki DNA miktarının eksilmesi eşlik eder. Testis kesitlerinde sekonder spermatositlerin gözlenmesi zordur, çünkü bunlar interfazda çok kısa süre kalan ve çabucak ikinci mayoz bölünmeye giren kısa ömürlü hücrelerdir. Sekonder spermatositlerin bölünmesi 23 kromozom içeren iki hücrenin,

spermatidlerin oluşmasıyla sonuçlanır. Spermatozoidlerde birinci ve ikinci mayoz bölünmeler arasında S fazı (DNA sentezi) görülmediği için, ikinci bölünmeden sonra her hücredeki DNA miktarı yarıya iner ve haploid hücreler meydana gelir. Böylece, mayoz bölünme sürecinin sonunda haploid sayıda kromozom içeren hücreler oluşur. Döllenmeyle bunlar normal diploid sayıya dönerler (Aytekin 2006).



**Şekil 1.6.** Seminifer tübül ve çevresindeki dokunun bir bölümü. Seminifer epitel iki tip hücreden oluşmuştur: Spermatogenez serisine ait hücreler ve destek ya da Sertoli hücreleri Junqueira ve Carneiro (2009)'dan alınmıştır.

### 1.1.3. Testis Fizyolojisi

Testisler sperm (spermatozoa) ve hormon (özellikle testosteron) üretirler (Arıncı ve Elhan 2006).

Testosteron, testislerde interstisyumda yerleşim gösteren Leydig hücrelerinden salgılanır. Sperm yapımında testisin germinal hücrelerinin bölünme ve gelişmeleri için gereklidir. Luteinizan hormon (LH), ön hipofiz bezinden salgılanarak, Leydig hücrelerini uyararak, testosteron salgılanmasını sağlar (Guyton 1996). Testosteron, spermatogenezi, erkek libidosunu ve erkek aksesuar bezlerinin (glandula prostatica ve vesicula seminalis) fonksiyonlarını sürdürür (Kierszenbaum 2006). Leydig hücreleri testosteron, dihidrotestosteron ve östradiol üretirken LH, growth hormon (büyüme hormonu, GH), somatotropin (STH), folikül uyarıcı



hormon (FSH), östrojen, prolaktin, human chorionic gonadotropinin (HcG)'nin etkileri ile uyarılabilirler (Noyan 1993, Guyton 1996).

## 1.2. Arsenik

Arsenik “As” simgesi ile gösterilir ve periyodik cetvelin 33. sırasında yer almaktadır. Arsenik azot ailesi içerisinde bulunan metalloid özellik gösteren bir elementtir. Dünya üzerinde yaygın olan arsenik; çevrede bitki ve hayvanlarda, toprakta ve atmosferde doğal olarak bulunmaktadır (Pradosh ve Saha 2002). Genellikle bir metal ve toksikoloji bağlamında bir ağır metal olarak adlandırılır (Mandal ve Suzuki 2002). Arsenik insan sağlığı üzerinde bir çok zararlı etkinin meydana gelmesine sebep olan çevresel bir toksik ajandır. İnsanlar arsenik ve onun bileşiklerine mesleki ve çevresel süreçlerde maruz kalırlar (Ramanathan ve diğ. 2003). Arsenik suda doğal olarak bulunmasının yanı sıra, su ortamlarına sanayi atıklarından ve pestisitlerden karışmaktadır (Friberg ve diğ. 1979, Berman 1980). Metilenmiş arsenik bileşiklerinin genotoksik olduğu gösterilmiştir (Rizki ve diğ. 2006). Normalden fazla arsenik içeren suların tüketilmesinin yanı sıra fazla arsenikli sularla sulanmış tarım ürünlerinin tüketimiyle, besin zincirinde birikerek insana kadar ulaşmaktadır ( Anderson ve Markham 2006, Calvo ve diğ. 2006 ).

Arsenik temelde gıda katkı maddelerinde, pestisit ve herbisit üretiminde, cam, fişek ve bazı lazer ekipmanlarının üretimi gibi alanlarda kullanılmaktadır. Arsenik bileşiklerinin % 80'den fazlası metal alaşımlarında katkı maddesi olarak ve cam, yarı iletkenler ve boya maddeleri gibi ürünlerin üretiminde kullanılır. Arsenik aynı zamanda böcek ilaçları, ot ilaçları, mantar ilaçları gibi tarımsal uygulamalarda, fare zehiri, bazı kanser ilaçları, boya, duvar kağıdı, seramik gibi çeşitli ürünlerin imalatında ve koyun yünü ile ahşap koruyucu madde olarak kullanılır (Tchounwou ve diğ. 2002).

Ayrıca As-72, As-74 ve As-76 gibi radyoaktif izotopları tıpta tanı yöntemlerinde kullanılır. Arsenik bileşikleri özellikle cilde, göze, solunum yollarına irritan etki gösterdiğinden savaş gazı olarak da kullanılmıştır (Pott ve diğ. 2001). Periferik damar hastalığı, deri ve mesane kanseri, hiperpigmentasyon (siyah ayak hastalığı), kangren gibi bozukluklara sebep olduğu bilinmektedir (Miller ve diğ. 2002).

Daha önce yapılmış olan çalışmalar, cilt, akciğer ve mesane kanserleri yanı sıra, kalp-damar hastalıkları, hepatotoksisite, diyabet, kronik öksürük gibi hastalıkların gelişiminin kronik arsenik maruziyeti ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Brown ve Chen 1995, Rodriguez ve diğ. 1999, Anawar ve diğ. 2002, Smedley ve Kinniburgh 2002).

İnsanlar arseniğe oral yolla, yani kontamine olmuş zirai ürünlerden besin zincirine giren gıda ve suların doğrudan tüketilmesiyle (Tamaki ve Frankenberger 1992) ve solunum yoluyla maruz kalabildikleri gibi, kontamine sularla sulanmış topraklar ile deri teması yoluyla da maruz kalılabilmektedir (Wang ve diğ. 2009).

Arsenik mesleki süreçlerde kullanılmaktadır. Arseniğin büyük çoğunluğu ahşap sanayisinde ahşap koruyucu olarak kullanılmaktadır. Ayrıca arsenik, özellikle bakır madenlerinde bakırın izabe noktasından daha düşük bir sıcaklıkta kaynamasını sağlaması nedeniyle yaygın bir biçimde kullanılmaktadır (Oakberg ve diğ. 2000). Cam şişelerin ve diğer cam eşyaların üretiminde arsenik trioksit ve arsenik asit renksizleştirici ve arıtıcı olarak kullanılmaktadır. Çoğunlukla otomobillerin kurşun-asit pillerinde, ayrıca yarı iletkenler ve ışık yayan diyotlarda da kullanılmaktadır. (Carapella ve diğ. 2002).

Arsenik, vücuttaki fonksiyonel gruplar açısından geniş bir yelpazeyi hedefler, ve etkisini dokuya, doza, maruz kalma süresine ve metabolizmasına bağlı olarak biyolojik etkileri sebebiyle farklı mekanizmalar şeklinde gösterir. Arseniğin yüksek reaktifli formları DNA onarım enzimleri (Walter ve diğ. 2007), antioksidan enzimleri gibi birçok enzimlerin (süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT)) sülfidril gruplarına bağlanarak bu enzimlerin inhibisyonu gerçekleştirirler (Lin ve diğ. 2001, WHO 2003, Ganyc ve diğ. 2007).

Düşük dozda bile arsenik oksidatif DNA hasarına (Kubota ve diğ. 2006 ve Schwerdtle ve diğ. 2003) ve lipid peroksidasyonu ile sonuçlanan reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşmasına sebep olur (Pi ve diğ. 2002, Garcia- Chavez ve diğ. 2006). Bununla birlikte, giderek artan sayıdaki deneysel çalışmalar, arseniğin endokrin bozukluklarına, hücre döngüsü kinetiğinin değişimine, epigenetik etkilere ve transkripsiyon değişimine neden olduğunu gösterilmiştir (NRC 2001, Kitchin ve Wallace 2005, Davey ve diğ. 2007, Reichard ve diğ. 2007, Coppin ve diğ. 2008).

Dünya Sağlık Örgütü içme sularında tolare edilebilir arsenik düzeyini 10 µg/L olarak belirlemiştir. Dünyada yaklaşık 41 milyon insanın bu seviyenin

üstündeki arsenikle kontamine olmuş yeraltı sularından arseniğe maruz kaldığı rapor edilmiştir (Nordstrom 2002, WHO 2003).

Arseniğin erkek üreme sistemi üzerine etkileri incelendiğinde testiküler enzim fonksiyonlarını inhibe ettiği ve erkek üreme organlarının ağırlığında azalmaya neden olduğu, erkek üreme fonksiyonlarını bozduğu, oksidatif stres, lipid peroksidasyonu ve apoptozise neden olduğu bulunmuştur (Sarkar ve diğ. 2001, Sarkar ve diğ. 2003 Chang ve diğ. 2007, Uygur ve diğ. 2013).

### 1.3. Kuersetin

Kuersetin (quercetin) (3,5,7,3',4'-pentahidroksi flavon) polifenol yapıda bir madde, güçlü bir antioksidan ve birçok bitki ve bitkisel besin kaynaklarında yaygın olarak bulunmakta olan bir bioflavonoiddir (Erden İnal ve Kahraman 2000, ve İkizler ve diğ. 2007).

Kuersetin sentetik olarak elde edildiği gibi bitkilerde de doğal olarak bulunur ve insan gıdasında önemli bir yeri vardır. Gıdalarda yer alan günlük flavonol ve flavon tüketiminin yarından fazlası kuersetindir. Diğer flavonoidler gibi serbest radikal önleyici etkisinden dolayı, araştırma konusu olarak önemli bir yere sahiptir (Reichart 1998).

Flavonoidler, yüksek antioksidan aktiviteye sahip, yapısında fenil halkalarına bağlı bulunan hidroksil gruplarına göre adlandırılan ve sınıflandırılan büyük moleküllerdir (Larson 1988).

Flavonoidler, bitkisel kaynaklı besinlerde çok yaygın olarak bulunan yararlı biyokimyasal ve antioksidan etkileri olan bileşiklerdir. 15 C atomlu 2 fenilbenzopiron (difenil propan) yapısında bulunmaktadırlar (Peterson ve Dwyer 1998).

Flavonoidler moleküler yapılarına göre başlıca antosiyoninler, flavanlar, flavanonlar, flavonlar, flavonoller ve isoflavonoidler şeklinde sınıflandırılmıştır. Yaklaşık olarak 4000'den fazla flavonoid türü belirlenmiştir (Nijveldt ve diğ. 2001). Sık tüketilen yiyeceklerin çoğunda; elma, soğan, çay, kiraz ve çilek gibi yumuşak kabuklu meyveler, lahana, brokoli gibi yeşil yapraklı sebzelerde, domates, yeşil çay, yeşil bezelyede, çoğu tohumda, yemişlerde, çiçekler, kabuklar ve yapraklarda, hatta

medikal bitkiler; Ginkgo biloba, hypericum perforatum (St. John's Wort), Sambucus canadensis (Elder)'de bulunmaktadır (Nijveldt ve diğ. 2001).

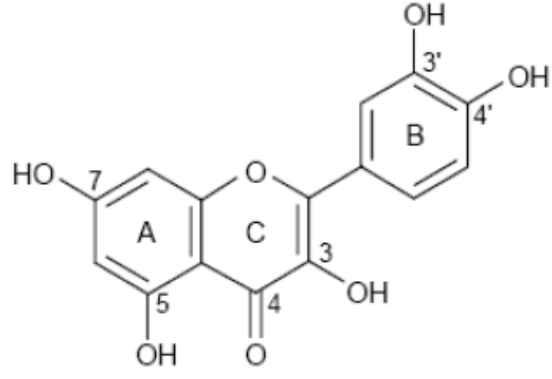
Bu bileşiklerin antioksidan özellik göstermelerinin nedeni, serbest radikalleri toplayıcı özellik göstermeleridir. Bileşikler bu etkiyi gösterirken, serbest radikallere hidrojen vererek radikaller ve diradikaller oluşur. Bu radikaller vücudumuzda bulunan eser metallere şelat halka oluşturarak hidrojenlerin kolay ayrılmasını sağlarlar. Ayrılan hidrojenler, serbest radikallere bağlanarak onları yok edici özellik gösterirler (Jovanovic ve diğ. 1994).

Geleneksel tıpta, son yirmi yılda flavonoidlere karşı ilgi artmış, gerçekleştirilen geniş çaplı araştırmalar sonucu, flavonoidlerin çok yönlü biyokimyasal ve farmakolojik aktivitelere sahip oldukları belirlenmiştir. Bu tür bileşiklerin antioksidatif (Larson 1988, Moroney ve diğ. 1988), antiinflamatuvar (Pratt ve Hudson 1990), antimikrobiyal (Kato ve diğ. 1983) etkilere sahip oldukları açıklanmıştır.

Kuersetin insan diyetinde major bioflavonoiddir. Günlük diyetle alınan miktarın 25-1000 mg olduğu tahmin edilmektedir (Inal ve Kahraman 2000). Total alımın % 61'ini çayın oluşturduğu saptanmıştır (Çimen 1999). Özellikle soğanda 200-600 mg/kg gibi yüksek değerlerde olduğu gösterilmiştir.

Kuersetin insan sağlığı için son derece önemli bir yere sahiptir, öyle ki kuersetin kalp krizini engelleyici, antikanser aktiviteye sahip, antiülser etkileri olan bir moleküldür (Brett ve Ghica 2003). Kuersetin hücrelerde serbest oksijen radikallerinin oluşumunu önler ve lipid peroksidasyonuna karşı koruma sağlar. Bunun yanında apoptozu indükler, ayrıca antibakteriyal, antiviral, antioksidan, antiinflamatuvar, antikarsinogenik etkileri vardır (Crespy ve diğ. 1999, Pawlikowska-Pawlega ve diğ. 2003, Coşkun ve diğ. 2005).

Yapılan çalışmalarda kuersetinin testiküler apoptozisi ve oksidatif stresi önleyerek antiapoptotik ve antioksidan özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir (Uygur 2010, Uygur ve diğ. 2014).



**Şekil 1.7.** Kuersetinin açık formülü Han ve diğ. (2001)'den alınmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

Daha önce yapılan çalışmalar göstermektedir ki; arsenik kanserojen olmasının yanı sıra, kronik zehirlenmelerde cinsel güçte azalma da meydana getirir (Dökmeci 2001). İnsanlarda mesleki olarak arseniğe maruz kalmanın, sperm anomalileri ve prostat kanserlerine, serum testosteron düzeyinde azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (Mathur ve diğ. 2010). Arsenik düşük semen hacmi için bir risk faktörüdür. Kan As değerleri 5,8 µg L-1 den yüksekse, sperm motilitesinde azalma ortaya çıkar (Pizent ve diğ. 2012). Farelerde arseniğin testislerde biriktiği, sperm sayısında, motilitesinde ve canlılık oranında önemli düşmeler olduğu belirlenmiştir (Wirth ve Mijal 2010).

Daha önce yapılan bir çalışmada arseniğin testislerde seminifer tübül yapılarında düzensizliğe, spermatogenetik seriye ait hücre sayısında azalmaya ve seminifer tübüllerin bazılarının duvarında vakuolizasyona neden olduğu gözlenmiştir. Ayrıca arsenik uygulamasının seminifer tübüllerin duvarında TUNEL pozitif apoptotik hücre sayısını arttırdığı gösterilmiştir. Bununla birlikte arsenik maruziyetinin testis dokusunda SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerinde azalmaya, MDA düzeyinde ise artmaya neden olduğu saptanmıştır (Uygur ve diğ. 2013).

Kuersetin meyvelerde ve sebzelerde bulunan tipik bir flavonol tip flavonoiddir. Flavonoidler üzerinde yapılan aktivite çalışmalarında hemen her tür antioksidan aktiviteye sahip bulunurken hiçbir türün aktivitesi kuersetin kadar büyük bulunmamıştır (Brett ve Ghica 2003). Yapılan çalışmalarda kuersetinin testiküler apoptozisi ve oksidatif stresi önleyerek antiapoptotik ve antioksidan özelliğe sahip olduğu gösterilmiştir (Uygur ve diğ. 2014).

Kuersetinin antioksidan ve antiapoptotik özellikleri birçok çalışmada gösterilmesine rağmen, literatürde arsenik maruziyeti sonucu testis dokusunda oluşabilecek hasarlar üzerinde nasıl bir etki gösterdiğine dair bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu amaçla çalışmamızda sıçanlarda deneysel olarak arseniğe bağlı testiküler toksisite oluşturulması ve kuersetin verilerek arseniğin olumsuz etkilerinin önlenmesi planlandı.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırmamız Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır ve çalışma süresince etik kurallara uygun olarak çalışılmıştır (Sayı: B.30.2.ÇAÜ.0.05.06-050.04-14 Tarih: 14.02.2014).

#### 3.1. Deney Hayvanlarının Bakımı

Çalışmamız Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarından temin edilen ağırlıkları 300-350 g arasında değişen 3 aylık 27 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan üzerinde gerçekleştirildi. Deney süresi boyunca tüm deneklerimiz  $21\pm 2$  °C oda ısısında, %  $60\pm 10$  nem ortamında, 12 saat ışık (07:00-19:00) ve 12 saat karanlıkta (19:00-7:00) tutuldu. Sıçanlar özel olarak yaptırılan kafeslerde barındırıldı. Deney süresince sıçanların beslenmesi için hazır pellet yem ve çeşme suyu kullanıldı. Sıçanların yem ve su tüketiminde sınırlama yapılmadı. Her gün sıçanların kafes temizliği yapılarak yemleri ve içme suları değiştirildi.

#### 3.2. Grupların Oluşturulması ve Uygulamalar

Sıçanlar çalışmaya başlamadan 5 gün önce laboratuvara alınarak ortama uyum sağlaması için bekletildi. Grupların kendi içerisinde homojen olmasına ve gruplardaki sıçan ağırlık toplamalarının yaklaşık aynı değerde olmasına dikkat edilerek sıçanlar gruplandırıldı. Çalışmamızda her biri 9 sıçandan oluşan 3 grup oluşturuldu. Deneyde kullanılan tüm sıçanların vücut ağırlıkları deneyin başında ve sonunda tartıldı.

**Kontrol Grubu (n = 9):** Kontrol grubu sıçanlara 10 ml/kg serum fizyolojik (SF, % 0,9'luk NaCl) intragastrik gavaj yoluyla 15 gün boyunca her gün verildi.

**Arsenik Grubu (n = 9):** Bu gruptaki sıçanlara 10 mg/kg sodyum arsenit (Sodium (meta) arsenite, Sigma-Aldrich Sodium (meta) arsenite  $\geq 90\%$  Steinheim, Germany) distile su ile çözülerek intragastrik gavaj yoluyla 15 gün boyunca her gün verildi.

**Arsenik + Kuersetin Grubu (n = 9):** Bu gruba distile su ile çözülerek hazırlanmış 10 mg/kg sodyum arsenit ve 50 mg/kg kuersetin (Quercetin, Sigma-Aldrich Quercetin $\geq$ 95% (HPLC), solid Steinheim, Germany) DMSO (Merck Dimethyl sulfoxide, Darmstadt-Germany) ile çözülerek intragastrik gavaj yoluyla 15 gün boyunca her gün uygulandı.

15 günlük deney süresi sonunda tüm sıçanlar vücut ağırlığı tartıldıktan sonra derin ketamin (90 mg/kg) + ksilazin (10 mg/kg) anestezisi altında sol ventrikülden kanı alınarak sakrifiye edildi. Hayvanlara ait testisler çıkartılarak çevre dokulardan temizlendi ve ağırlıkları tartıldı. Her sıçana ait sol testis biyokimyasal, sağ testis ise histopatolojik incelemelerde kullanılmak üzere uygun ortamlara alındı.

### **3.3. Histolojik Uygulamalar**

Işık mikroskopik incelemeler için alınan testis dokusu örnekleri Bouin fiksatifinde tespit edilerek trimleme işlemi yapıldı. Elde edilen doku trimleri 1 gün % 60'lık alkolde yıkandıktan sonra rutin histolojik takip serilerinden geçirilerek parafine gömüldü (Tablo 3.1).



**Tablo 3.1.** Histolojik takip basamakları

Sıra No	Kullanılan Madde	Süre
1	% 60 Alkol	1 gün
2	% 60 Alkol	30 dk
3	% 70 Alkol	30 dk
4	% 80 Alkol	30 dk
5	% 96 Alkol	60 dk
6	% 100 Alkol	60 dk
7	% 100 Alkol	30 dk
8	Alkol + Ksilen	30 dk
9	Ksilen	60 dk
10	Ksilen	60 dk
11	Ksilen + Yumuşak Parafin	30 dk
12	Yumuşak Parafin	60 dk
13	Yumuşak Parafin	60 dk
14	Sert Parafin	3 saat

Histopatolojik inceleme için mikrotomda 5µm kalınlığında kesitler alınarak, hematoxilen-eozin (H-E) ile boyandı (Tablo 3.2). Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Nikon Optiphot 2, Nikon, Tokyo, Japan) incelenerek 40X büyütmede fotoğrafları çekildi. Testisteki histolojik yapı değişiklikleri incelendi.

**Tablo 3.2.** Hematoksilen - Eozin boyama protokolü

Sıra No	Kullanılan Madde	Süre
1	Ksilen (I)	10 dk
2	Ksilen (II)	10 dk
3	Ksilen (III)	10 dk
4	% 100 (Absolü) Alkol	2 dk
5	% 96 Alkol	2 dk
6	% 80 Alkol	2 dk
7	% 70 Alkol	2 dk
8	Çeşme Suyu	2 dk
9	Hematoksilen	5 dk
10	Çeşme Suyu	4 dk
11	Eozin	30 s
12	% 80 Alkol	2 kez daldır çıkar
13	% 96 Alkol	2 kez daldır çıkar
14	% 100 (Absolü) Alkol	5 dk
15	Ksilen (I)	10 dk
16	Ksilen (II)	10 dk
17	Ksilen (III)	10 dk
18	Entellan ile kapat	

### 3.3.1. Seminifer Tübül Çapları

Seminifer tübüllerdeki etkilenmeyi saptamak için araştırma mikroskobunda ve mikroskoba uyarlanan oküler mikrometre yardımıyla bütün gruplara ait 100'er

seminifer túbülün çapları ölçüldü. Her túbülün çapı dörder defa ölçülüp, ortalaması alındı.

### 3.3.2. Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru

Johnsen testiküler biyopsi skoru (JTBS) Tablo 3.3'teki ölçütlere göre derecelendirildi (Johnsen 1970). Her grup için ayrı ayrı 100 adet seminer túbül değerlendirilerek ortalama Johnsen testiküler biyopsi skoru hesaplandı.

**Tablo 3.3.** Johnsen testiküler biyopsi skoru (JTBS).

Skor	Histolojik Bulgular
1	Tübüllerde hiçbir hücre yoktur
2	Sadece Sertoli hücreleri vardır
3	Sadece spermatogonyumlar vardır
4	Az sayıda (5/túbül) spermatosit vardır
5	Fazla sayıda spermatosit mevcuttur
6	Az sayıda (5/túbül) spermatid mevcuttur
7	Farklanma işareti olmaksızın fazla sayıda spermatid vardır
8	Olgun spermatozoa olmaksızın geç spermatidler mevcuttur
9	Az sayıda (5/túbül) spermatozoa vardır
10	Fazla sayıda spermatozoanın görüldüğü tam spermatogenez mevcuttur

### 3.3.3. TUNEL (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Mediated dUTP Nick End Labeling) Yöntemi

Apoptozis rutin histolojik teknikler ile gösterilebilir. H-E boyama yöntemi son zamanlarda apoptozisi tespit etmede daha hassas yöntemlerle birleştirilmiştir. Bu yöntemlerin başında TUNEL yöntemi gelmektedir. Apoptozisin belirlenmesi amacı ile TUNEL tekniğinden yararlanıldı. Apoptotik germ hücrelerinin belirlenmesi için

apoptozis kiti (TUNEL Universal Apoptosis Detection Kit-Biotin-labeled POD, Cat. No. L00290, GenScript USA Inc., Piscataway Township, New Jersey, USA) kullanıldı.

TUNEL tekniğinde apoptotik hücreler şu şekilde belirlenir; apoptotik sinyaller DNA üzerinde kırıklar oluşturmaktadır. Açığa çıkan DNA parçacıklarının serbest 3'-OH uçlarına terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) aracılığı ile biotin ile işaretlenmiş ve işaretlenmemiş deoksinükleotidler eklenir. Daha sonra biotin ile işaretlenmiş nükleotidler, streptavidin-horseradish peroksidaz konjugatı ile tespit edilir. Diaminobenzidine işaretlenmiş örnek ile tepkimeye girerek DNA kırığı bölgesinde çözünemeyen bir substrat oluşturur. Metil yeşili ile ters boyama yapılarak işlem sonlandırılır. Böylelikle dokulardaki apoptotik hücreler mikroskopik olarak görüntülenebilir.

Bu işlemlerden geçirilerek boyanan testis dokusu kesitleri araştırma mikroskobu (Nikon Optiphot 2, Nikon, Tokyo, Japan) ile değerlendirildi. Gruplardaki apoptotik germ hücreleri ve normal yapıdaki germ hücreleri sayıldı, apoptotik hücrelerin gruplara göre yüzdesi apoptotik indeks olarak hesaplandı ve istatistiksel olarak değerlendirildi.

### **3.3.4. İmmünohistokimyasal inceleme (PCNA)**

İmmünohistokimyasal incelemeler Hsu ve diğ. (1981) tarafından açıklanan metoda göre yapıldı. İmmünohistokimyasal inceleme için testis dokusundan 5 µm kalınlığında kesitler alındı ve deparafinizasyon işlemini takiben kesitler suya indirildi. Suya indirilen kesitler antijen retrieval içinde mikrodalga fırında 20 dk kaynatıldı. Oda ısısında 20 dk soğumaya bırakıldıktan sonra kesitler Fosfat Buffer Solüsyonu (PBS; pH 7.6) ile yıkandı. Bu aşamadan sonra hidrojen peroksidaz aktivitesinin giderilmesi için metanolde hazırlanan % 3'lük hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ile 20 dk muamele edildi. Distile su içinde çalkalanarak kesitler PBS ile yıkandı. Özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloklamak üzere kesitlere % 1 preimmün rabbit serum (Ultra V Block, LabVision, TA-015-UB) uygulandı. Daha sonra kesitler nemli chamber içinde 1/100 oranında sulandırılmış primer antikor (Mouse monoclonal anti-PCNA antibody, MS-106-B, Thermo LabVision, USA) ile 1 saat süre ile inkübe edildi. Kesitler 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 20 dk sekonder

antikor solüsyonunda (Biotinylated Goat Anti-Mouse, LabVision, TM-015-BN) tutuldu. 3 kez PBS'de yıkanan kesitlere 20 dk streptavidin peroksidaz solüsyonu (Streptavidin Peroxidase, LabVision, TS-015-HR) uygulandı. Kesitlere 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 10 dk 3-amino 9 etil karbazol kromojen solüsyonu (LabVision, TA-002-HAC) uygulaması yapıldı. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 5 dk Mayer hematoksilen uygulanarak zıt boyama yapıldı. Akar suda 5 dk yıkanan kesitler kapatma solüsyonu (Mounting Medium, LabVision, TA-060-UG) konarak lamel ile kapatıldı ve ışık mikroskopunda (Nikon Optiphot 2, Nikon, Tokyo, Japan) değerlendirmeye alındı.

Gruplardaki PCNA-pozitif germ hücreleri sayılarak, PCNA-pozitif hücrelerin gruplara göre yüzdesi istatistiksel olarak değerlendirildi.

### 3.4. Biyokimyasal Ölçümler

#### 3.4.1. Dokuların Saklanması

Testis dokuları hemen soğuk distile su ile yıkandı ve alüminyum folyoya sarılıp -25°C'de biyokimyasal testlerin yapılacağı zamana kadar saklandı.

#### 3.4.2. Dokuların Homojenizasyonu ve Deney İçin Hazırlanması

**Homojenizasyonda Kullanılan Reaktifler:** PH 7,5, 0,2 mM Tris-HCl tamponu; 0,2 mM olarak hazırlanan Tris solüsyonu ve hidroklorik asit (HCl) solüsyonu 50/39,9 (v/v) oranında karıştırılarak hazırlandı (Akkuş 1997). Bu tampon tüm çalışmalarda kullanıldı.

Yaş ağırlıkları 1 gr olarak ayarlanan dokuların soğukluğu muhafaza edilerek temiz cerrahi makasla küçük parçalara ayrıldı. Cam tüpe aktarılan doku üzerine 2 ml Tris-HCl tomponu eklendi. Buz doldurulmuş kabın içine yerleştirilen cam tüpteki doku 16.000 devir/dk hızda homojenize edildi. Son hacim doku ağırlığının 10 katı olacak şekilde tampon ilave edildi. Tekrar homojenize edilerek süre 3 dakikaya tamamlandı. Homojenatın ısı artırılmadan ependorf tüplerine aktarıldı ve tüplerin üzeri numaralandırıldı. Yaş doku ağırlığı ve ilave edilen tampon miktarı kaydedildi.

Elde edilen homojenatlardan MDA düzeyi ve Lowry metodu ile homojenat protein tayini yapıldı.

Homojenatlar 3220 rpm/30 dakika +4 °C soğutmalı santrifüjde santrifüj edilerek süpernatın elde edildi. Ayrılan süpernatınlarından CAT, GSH-Px ve protein tayinleri yapıldı. Süpernatın 1/1 (v/v) oranında kloroform/etanol (3/5, v/v) ile (Sun 1988) vortekslenip cam tüpte 3220 rpm/40 dakika +4 °C’de santrifüj edildi. Üstte oluşan etanol fazından protein ve SOD enzim aktivitesi tayini yapıldı.

### **3.4.3. Dokularda Biyokimyasal Analizler**

Biyokimyasal analizlerden enzim aktiviteleri ve MDA düzeyleri spektrofotometre (Shimadzu UVmini-1240 UV-VIS Spectrophotometers, Japan) ile ölçülerek belirlendi.

#### **3.4.3.1. Ekstraksiyonlu ve Ekstraksiyonsuz Numunelerde Protein Tayini**

Alkali çözeltilerde bakır-protein kompleksi oluşarak fosfomolibdat-fosfotungstat reaktifini (Folin-Ciocalteu-Phenol reaktifi) redükler ve koyu mavi bir renk oluşur (Lowery 1951). Burada rengin koyuluğu ortamdaki protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.

**Kullanılan reaktifler:** CuSO<sub>4</sub>, Na<sub>3</sub>Sitrat, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, NaOH, Phenol-Folin-Ciocalteu reaktifi.

#### **3.4.3.2. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Belirlenmesi**

SOD aktivitesi Sun ve diğ. (1988)’nın metoduna ve Durak ve diğ. (1993)’nin tarif etmiş olduğu modifikasyona göre belirlendi. Bu metodun prensibi nitroblue tetrazolium’un (NBT) süperoksit üreticisi olan ksantin-ksantin oksidaz sistemi tarafından indirgenmesi esasına dayanmaktadır. Ortamda oluşan süperoksit radikalleri NBT’yi indirgeyerek renkli bileşik oluşturur. Bu renkli kompleks 560 nm’de maksimum absorban verir. Bir SOD ünitesi; NBT redüksiyonunu % 50 oranında inhibe eden enzim aktivitesidir. Sonuçlar U/mg protein olarak ifade edildi.

**Kullanılan Reaktifler:** SOD reaktifi [0,3 mmol/l ksantin, 0,6 mmol/l EDTA (2 Na tuzu), 150 µmol/l NBT, 400 mmol/l Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 1 g/l bovine serum albumin (BSA)], 167 U/l XO, 0,8 mmol/l CuCl<sub>2</sub>.

### 3.4.3.3. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Belirlenmesi

CAT aktivitesi Aebi (1974)'nin metoduna göre çalışıldı. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 240 nm'de maksimum absorbanans verir. Deney ortamına ilave edilen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CAT tarafından su ve oksijene parçalanmakta, bu ise kendini ultraviyole spektrumunda absorbanans azalması şeklinde göstermektedir. Absorbanstaki bu azalma CAT enziminin aktivitesi ile doğru orantılıdır. Reaksiyon şu şekildedir:



**Kullanılan reaktifler:** Fosfat tamponu (pH 7,50 mM), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi: Absorbansı 0.500 nm'ye tampon ile ayarlanmış olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'li fosfat tamponu; yaklaşık 300 mL pH 7,50 mM olan fosfat tamponu renkli kaba aktarılır. Spektrofotometre fosfat tamponuna göre sıfırlanıp renkli kaptaki tampona 10-20 µl hacimlerde H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ilave edilir. Optik Dansite (OD) 0.500 nm oluncaya kadar devam edilir ve aralarda karıştırılır.

### 3.4.3.4. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesinin Belirlenmesi

GSH-Px aktivitesi Paglia ve Valentina (1967)'nin metodu ile ölçüldü. GSH-Px enzimi, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> varlığında GSH'ın okside glutasyon (GSSG)'a yükseltgenmesini katalizler. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin bulunduğu ortamda GSH-Px'in oluşturduğu GSSG, glutasyon redüktaz ve NADPH yardımı ile GSH'a indirgenir. GSH-Px aktivitesi, NADPH'ın NADP<sup>+</sup>'ya yükseltgenmesi sırasındaki absorbanans azalmasının 340 nm'de okunmasıyla hesaplandı. Sonuçlar U/g protein şeklinde belirtildi.

**Kullanılan Reaktifler:** 150 mM redükte GSH, 8 mM NADPH, 1 M NaN<sub>3</sub>, enzim [1,5 ml 3,2 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> +50 µl GSH redüktaz], 2 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, fosfat tamponu (pH=7,50 mM).

### 3.4.3.5. Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Belirlenmesi

Testis MDA düzeyleri Draper ve Hadley (1990)'in metoduna göre belirlendi. Bu metotta lipid peroksidasyon ürünü olan MDA, +90 °C'de tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girerek 532 nm'de maksimum absorbands veren pembe renkli kompleks oluşur. Spektrofotometrede ölçüm yapıldıktan sonra MDA-TBA kompleksi absorbands katsayısı ( $1,56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1} \text{ M}^{-1}$ ) kullanılarak MDA konsantrasyonu hesaplandı. Sonuçlar nmol/g protein olarak ifade edildi.

**Kullanılan reaktifler:** 29 mmol/l TBA çözeltisi (pH 2,8), 6 M HCl ve n-Butanol kullanıldı.

### 3.5. Total Testosteron Tayini

Kuru, jelli vakumlu tüpe alınan sıçanların kanları, 2750xg ref'de 10 dk santrifüj edilerek serum elde edildi. Serum total testosteron seviyesinin belirlenmesi için total testosteron kiti kullanıldı (CUSABIO BIOTECH CO.,LTD., Rat testostosterone (T) ELISA Kit, Catalog No.CSB-E05100r, P.R.C.). Sonuçlar ng/ml olarak ifade edildi.

### 3.6. Arsenik Miktarı Tayini

Testis dokularından 0,5'er g alınarak her biri mikrodalga çözünürleştirme tüplerine yerleştirildi. Daha sonra mikrodalga fırında (Novawave) çözünürleştirme işlemi USEPA 3052 metodu temel alınarak yapıldı. Bu işlemden sonra fırından çıkarılan tüpler oda sıcaklığında soğutuldu ve tüplerdeki çözelti 25 ml'lik polipropilen balon jöjelere aktarıldı. Balon jöjelerdeki çözelti miktarı saf su ile 25 ml'ye tamamlandı. Örneklerin metal analizi Spektro marka Spektro Blue model ICP-OES cihazında yapıldı. Sonuçlar ppm olarak ifade edildi.

### 3.7. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde "SPSS 16.0 for Windows" istatistik paket programı kullanıldı. Grupların dağılımı (homojenitesi) Shapiro Wilk



testi, ikili karşılaştırmalar ise Student-t testi (homojen grup ve parametrik değerlerde) ve Mann Whitney U Testi (heterojen grup ve non-parametrik değerlerde) ile yapıldı. Elde edilen “p” değerinin  $<0,05$  olması istatistiksel olarak anlamlılık ifadesi olarak kabul edildi. Elde edilen sayısal değerler ortalama  $\pm$  standart sapma (SS) olarak tabloya geçirildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Morfometrik Bulgular

#### 4.1.1. Vücut Ağırlıkları ve Ağırlık Kazançları

Grupların başlangıç ve bitiş vücut ağırlıkları ile ağırlık kazançları Tablo 4.1’de, gösterilmiştir.

Gruplar vücut ağırlık kazançları bakımından karşılaştırıldığında arsenik grubu ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı bulundu ( $p>0,05$ ). Yine kuersetin grubunun ağırlık kazancı değerinin arsenik + kuersetin grubunun ağırlık kazancı değerinden daha fazla olduğu ancak aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi ( $p>0,05$ ) (Tablo 4.1)

**Tablo 4.1.** Grupların başlangıç ve bitiş vücut ağırlıkları ile ağırlık kazançları.

Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

Grup	n	Başlangıç Ağırlığı (g)	Bitiş Ağırlığı (g)	Ağırlık Kazancı (g)
Kontrol	9	329,666 $\pm$ 37,080	378,888 $\pm$ 49,039	49,222 $\pm$ 20,662
Arsenik	9	327,333 $\pm$ 26,976 <sup>a</sup>	376,888 $\pm$ 24,654 <sup>a</sup>	49,555 $\pm$ 15,946 <sup>a</sup>
Arsenik + Kuersetin	9	325,667 $\pm$ 20,530 <sup>b</sup>	383,889 $\pm$ 23,289 <sup>b</sup>	58,222 $\pm$ 28,367 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>  $p>0,05$  kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

<sup>b</sup>  $p>0,05$  arsenik grubu ile karşılaştırıldığında.

#### 4.1.2. Testis Ağırlıkları

Grupların testis ağırlıkları Tablo 4.2’te, gösterilmiştir. Arsenik grubunun testis ağırlıkları ile kontrol grubu testis ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı belirlendi. Yine aynı şekilde arsenik grubu testis ağırlıklarının

arsenik + kuersetin grubu testis ağırlıkları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı saptandı ( $p>0,05$ ) (Tablo 4.2).

**Tablo 4.2.** Grupların sağ ve sol testis ağırlıkları ve total testis ağırlıkları. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

Grup	n	Sağ Testis Ağırlığı (g)	Sol Testis Ağırlığı (g)	Total Testis Ağırlığı (g)
Kontrol	9	1,408 $\pm$ 0,282	1,388 $\pm$ 0,289	2,797 $\pm$ 0,555
Arsenik	9	1,475 $\pm$ 0,254 <sup>a</sup>	1,389 $\pm$ 0,269 <sup>a</sup>	2,864 $\pm$ 0,585 <sup>a</sup>
Arsenik + Kuersetin	9	1,414 $\pm$ 0,338 <sup>b</sup>	1,414 $\pm$ 0,341 <sup>b</sup>	2,828 $\pm$ 0,654 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>  $p>0,05$  kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

<sup>b</sup>  $p>0,05$  arsenik grubu ile karşılaştırıldığında.

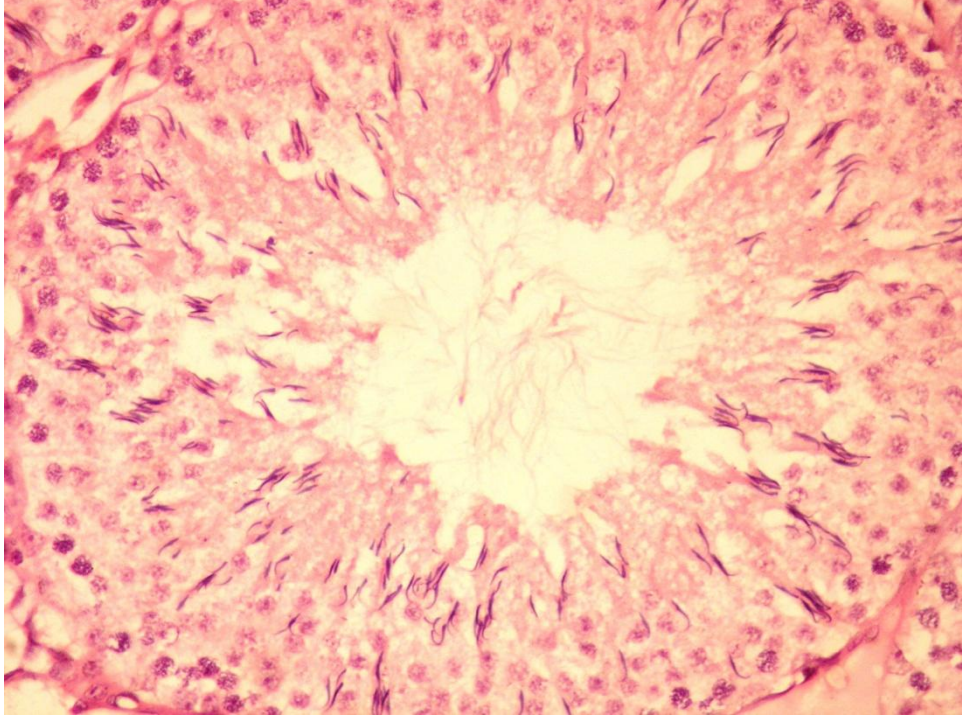
## 4.2. Histopatolojik Bulgular

### 4.2.1 Işık Mikroskopik Bulgular

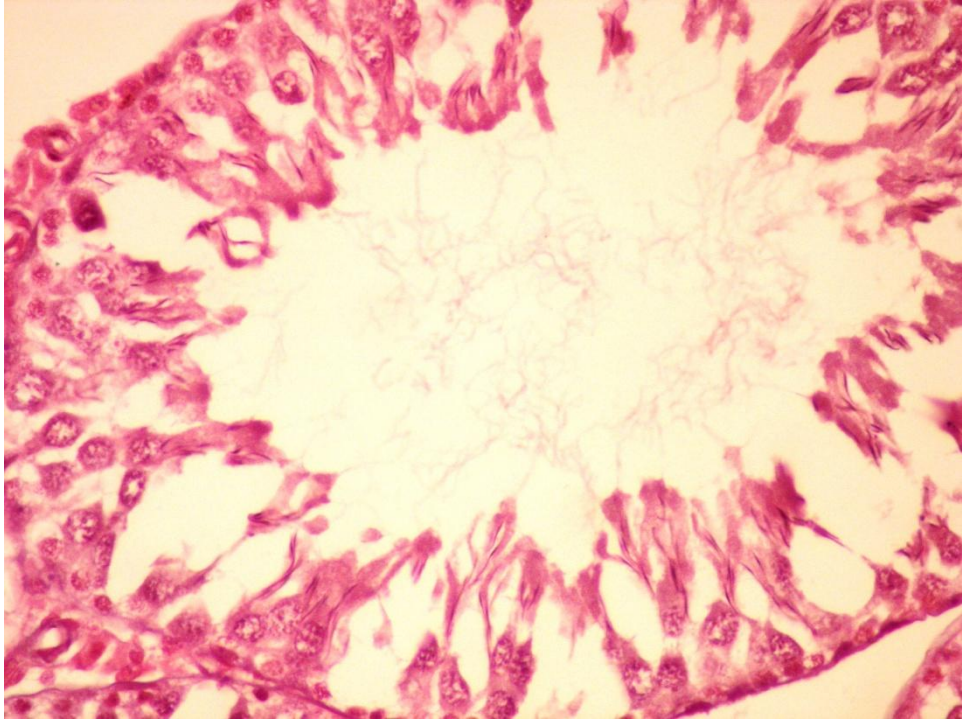
Çalışmamızda kontrol grubundaki sıçanların hematoksilen-eosin (HE) ile boyanan testis kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde seminifer tübüllerin ve interstisyel kısmın normal yapıda olduğu gözlemlendi (Şekil 4.1).

Arsenik grubuna ait testis dokularında yapılan incelemelerde, arsenik uygulaması sonucunda, testisteki seminifer tübül yapılarında düzensizlik, spermatogenik seriye ait hücre sayısında azalma ve seminifer tübüllerin bazılarının duvarında vakuolizasyon gözlemlendi. (Şekil 4.2).

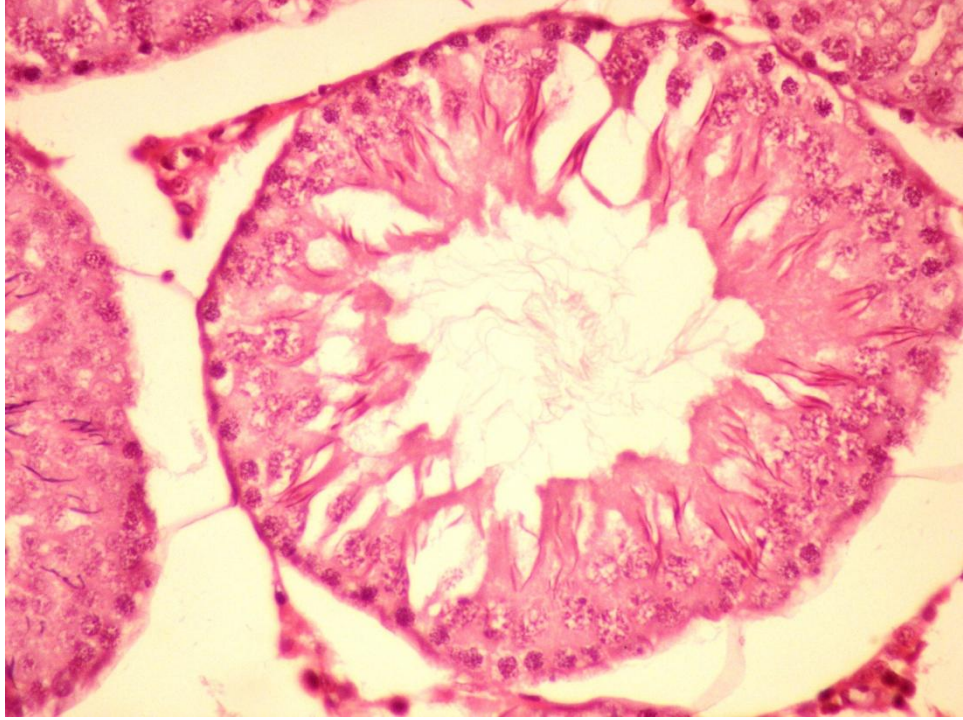
Arsenik + kuersetin grubundaki sıçanların HE boyalı testis kesitleri ışık mikroskopunda incelendiğinde; kuersetin tedavisi sonucunda testis dokusundaki dejeneratif değişikliklerin gerilediği gözlemlendi (Şekil 4.3).



**Şekil 4.1.** Kontrol grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. H+E,  
X400.



**Şekil 4.2.** Arsenik grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. H+E,  
X400.



**Şekil 4.3.** Arsenik + kuersetin grubuna ait testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. H+E, X400.

#### **4.2.2. Seminifer Tübül Çapları ve Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru**

Kontrol, arsenik ve arsenik + kuersetin gruplarına ait deneklerin seminifer tübül çapları ve Johnsen testiküler biyopsi skorları ile istatistiksel karşılaştırmaları Tablo 4.3’de gösterilmiştir.

Arsenik grubu seminifer tübül çapları ve Johnsen testiküler biyopsi skorlarının kontrol grubu değerleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı bulundu ( $p < 0,001$ ) (Tablo 4.3). Arsenik + kuersetin grubu seminifer tübül çapları ve Johnsen testiküler biyopsi skorlarının arsenik grubunun değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde fazla olduğu tespit edildi ( $p < 0,01$ ) (Tablo 4.3).

**Tablo 4.3.** Grupların seminifer tübül çapları ve Johnsen testiküler biyopsi skorları. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir. n=9 her grup için.

	<b>Kontrol</b>	<b>Arsenik</b>	<b>Arsenik + Kuersetin</b>
Seminifer Tübül Çapı ( $\mu\text{m}$ )	267 $\pm$ 5,95	204,78 $\pm$ 4,8 <sup>a</sup>	229,02 $\pm$ 5,33 <sup>b</sup>
Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru	9,25 $\pm$ 0,17	4,6 $\pm$ 0,15 <sup>a</sup>	6,74 $\pm$ 0,16 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> p<0,001 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

<sup>b</sup> p<0,01 arsenik grubu ile karşılaştırıldığında.

#### 4.2.3. TUNEL Boyama Bulguları

Çalışmamızda kontrol, arsenik ve arsenik + kuersetin gruplarının testis dokularında apoptozisi belirlemek için TUNEL metodu kullanıldı.

Kontrol grubuna ait testis kesitlerinde yapılan TUNEL boyaması sonrasında seminifer tübül hücrelerinde TUNEL pozitif apoptotik hücre sayısının oldukça az olduğu görüldü (Şekil 4.4).

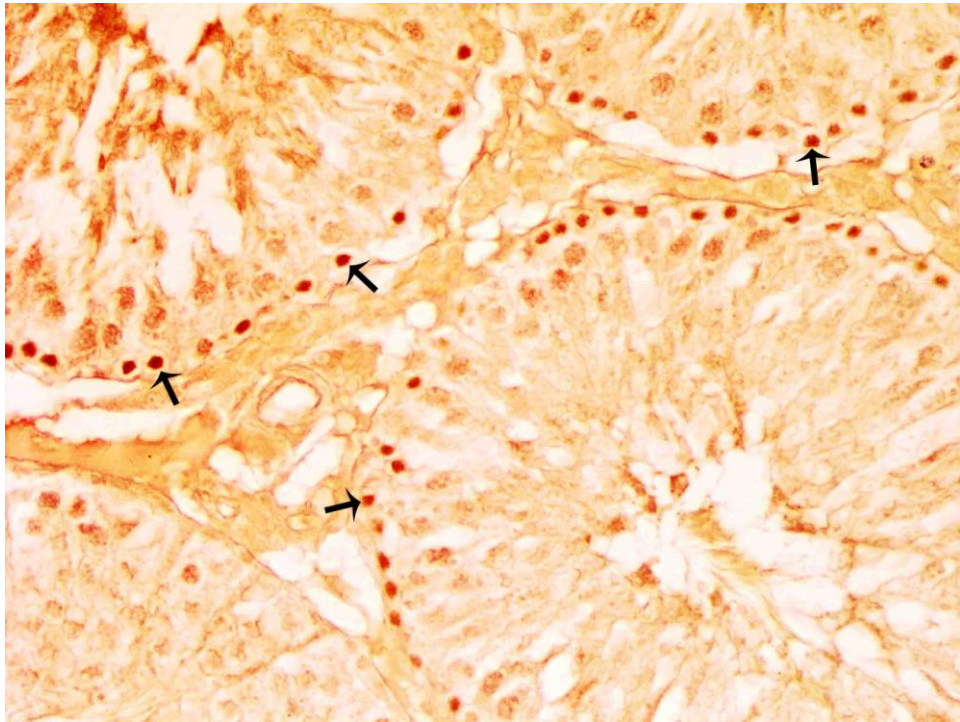
Arsenik grubuna ait testis dokularında yapılan incelemelerde, seminifer tübül hücrelerinde TUNEL pozitif apoptotik hücre sayısının oldukça fazla olduğu saptandı (Şekil 4.5).

Arsenik + kuersetin grubuna ait testis dokularında yapılan incelemelerde, seminifer tübül hücrelerindeki TUNEL pozitif apoptotik hücre sayısının arsenik grubuna göre belirgin bir şekilde azaldığı tespit edildi (Şekil 4.6).

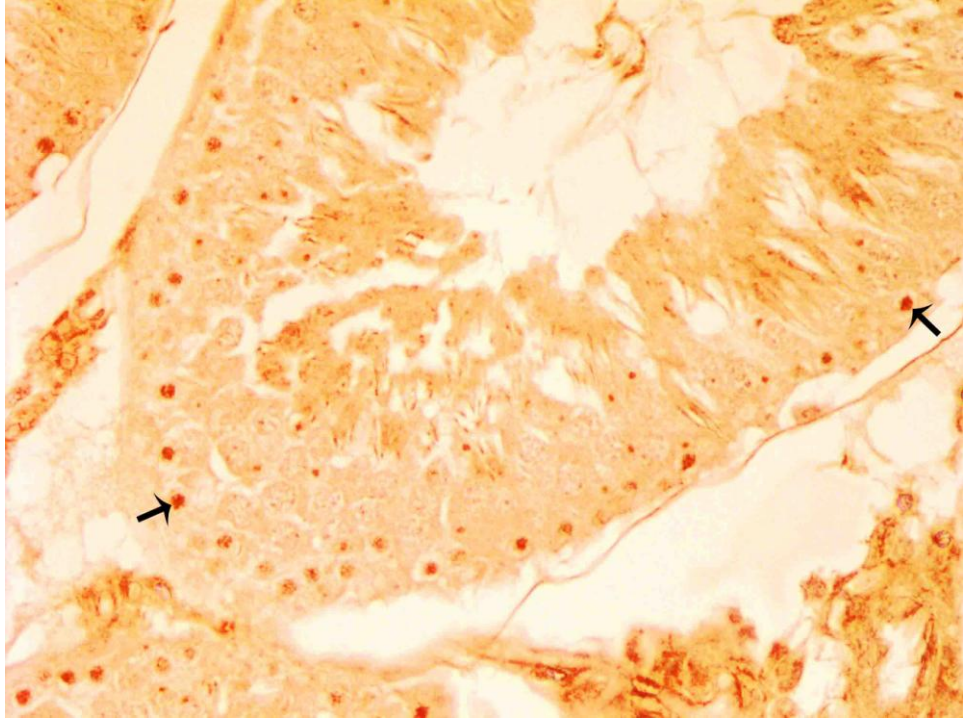
Ayrıca TUNEL pozitif işaretlenen hücreler sayılarak gruplara ait apoptotik indeks değerleri hesaplandı. Çalışmamızın sonucunda arsenik grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında apoptotik indeks değerinin arttığı, arsenik+kuersetin grubunda ise apoptotik indeks değerinin arsenik grubu değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı saptandı (Grafik 4.1).



**Şekil 4.4.** Kontrol grubuna ait testis dokusunda TUNEL boyaması. TUNEL boyası, X400.

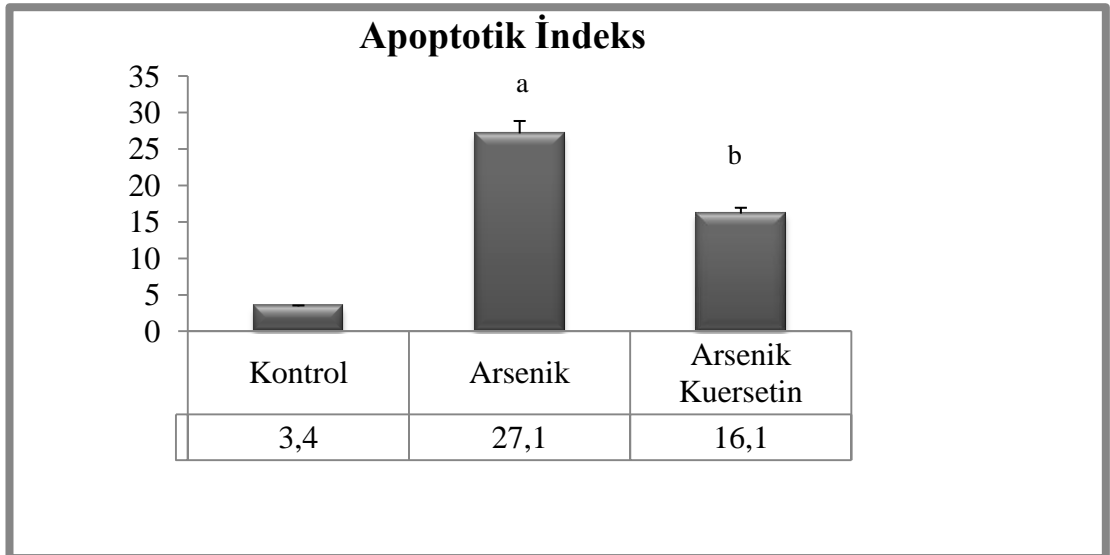


**Şekil 4.5.** Arsenik grubuna ait testis dokusunda TUNEL boyaması. Ok: TUNEL pozitif hücreler. TUNEL boyası, X400.



**Şekil 4.6.** Arsenik + kuersetin grubuna ait testis dokusunda TUNEL boyaması. Ok: TUNEL pozitif hücreler. TUNEL boyası, X400.

**Grafik 4.1.** Grupların apoptotik indeks değerleri.



<sup>a</sup>  $p < 0,001$  kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

<sup>b</sup>  $p < 0,01$  arsenik grubu ile karşılaştırıldığında.



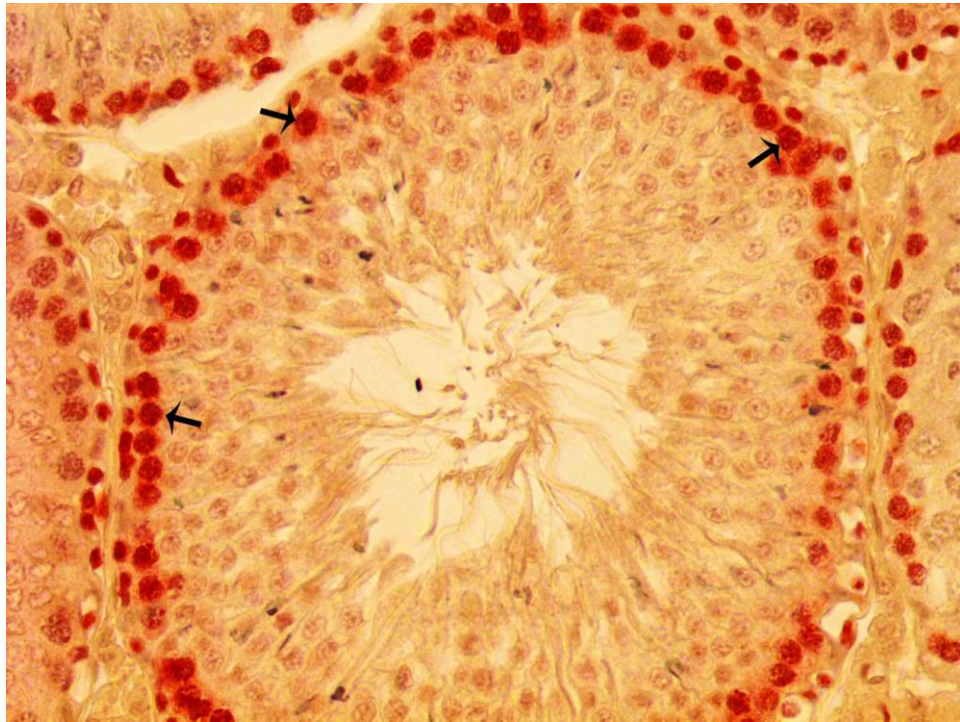
#### 4.2.4. İmmunohistokimya Bulgular (PCNA)

Çalışmamızda kontrol, arsenik ve arsenik + kuersetin gruplarının testis dokularında hücre proliferasyonunu değerlendirmek için immunohistokimyasal PCNA metodu kullanıldı. Kontrol grubuna ait testis dokularında yapılan incelemelerde, seminifer tübül hücrelerinde çok sayıda PCNA pozitif hücre görüldü (Şekil 4.7).

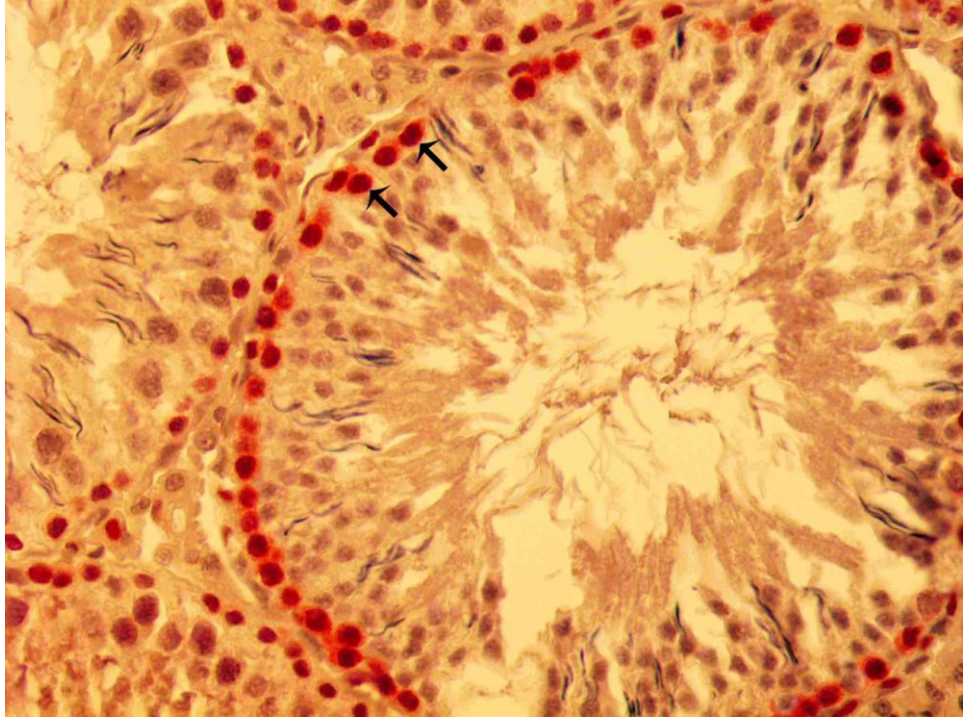
Arsenik grubuna ait testis dokularında yapılan incelemelerde, seminifer tübül hücrelerindeki PCNA pozitif hücre sayısının oldukça azaldığı saptandı (Şekil 4.8).

Arsenik + kuersetin grubuna ait testis dokularında yapılan incelemelerde, seminifer tübül hücrelerindeki PCNA pozitif hücre sayısının arsenik grubuna göre arttığı tespit edildi (Şekil 4.9).

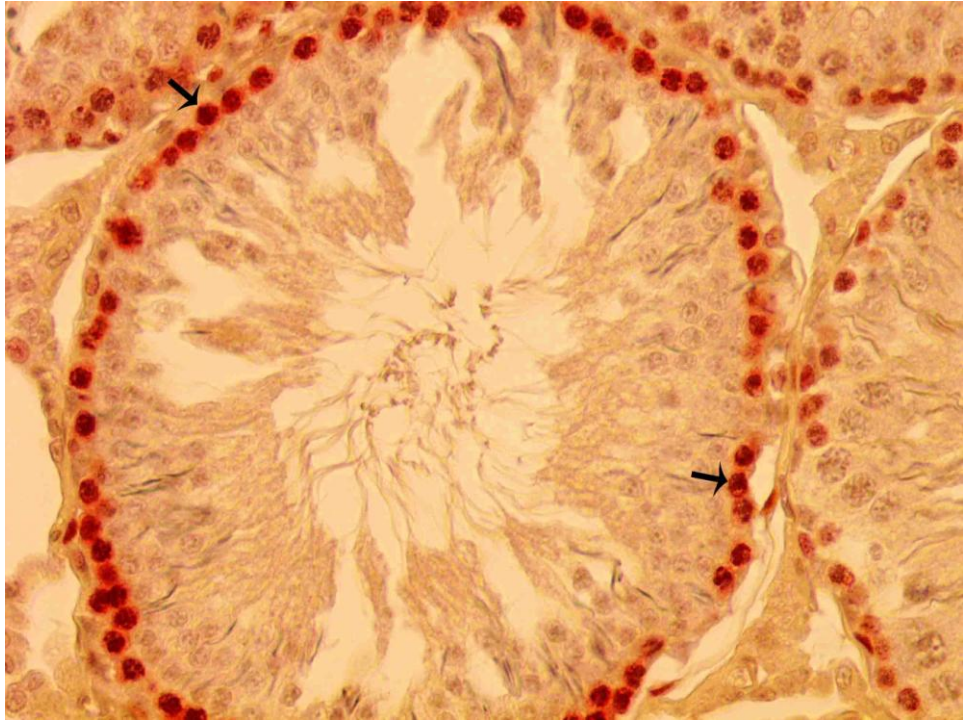
Ayrıca PCNA pozitif işaretlenen hücreler sayılarak gruplara ait PCNA indeks değerleri hesaplandı. Çalışmamızda arsenik grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında PCNA indeks değerinin azaldığı, arsenik + kuersetin grubunda ise PCNA indeks değerinin arsenik grubu değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi (Grafik 4.2).



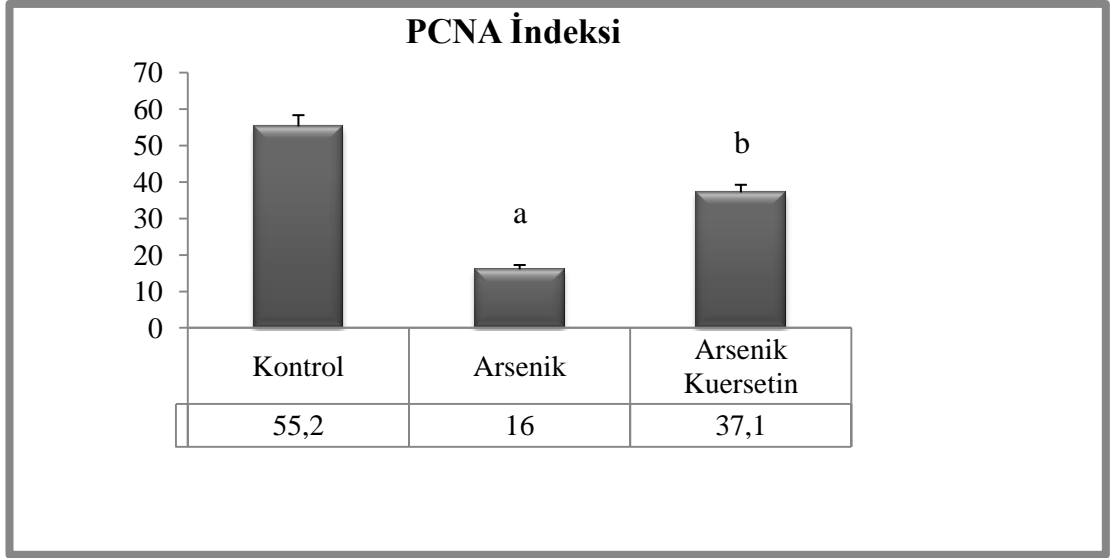
**Şekil 4.7.** Kontrol grubuna ait testis dokusunda PCNA immün boyaması. Ok: PCNA pozitif hücreler. İmmünoperoksidaz, hematoksilin zıt boyaması, X400



**Şekil 4.8.** Arsenik grubuna ait testis dokusunda PCNA immün boyaması. Ok: PCNA pozitif hücreler. İmmünoperoksidaz, hematoksilin zıt boyaması, X400.



**Şekil 4.9.** Arsenik + Kuersetin grubuna ait testis dokusunda PCNA immün boyaması. Ok: PCNA pozitif hücreler. İmmünoperoksidaz, hematoksilin zıt boyaması, X400.

**Grafik 4.2.** Grupların PCNA indeksi.

<sup>a</sup>  $p < 0,001$  kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

<sup>b</sup>  $p < 0,01$  arsenik grubu ile karşılaştırıldığında.

### 4.3. Biyokimyasal Bulgular

Sıçanlar üzerinde gerçekleştirmiş olduğumuz bu çalışmada, antioksidan savunma sisteminin enzimlerinden olan SOD, CAT ve GSH-Px aktivite düzeyleri spektrofotometrik olarak belirlendi. Bunun yanı sıra, lipid peroksidasyonu sonucu oluşan ve oksidatif hasarın ortaya konulmasında önemli bir parametre olarak kullanılan MDA düzeyleri de yine aynı yöntemle ölçüldü.

#### 4.3.1. SOD Aktiviteleri

Arsenik maruziyeti sonucu sıçanlarda, testis dokusuna ait SOD aktiviteleri kontrol grubuna ait değerler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olduğu tespit edildi ( $p < 0,001$ ). Arsenik + kuersetin grubu SOD aktivitesinin arsenik verilen grubun SOD aktivitelerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlendi ( $p < 0,001$ ) (Tablo 4.4).

### 4.3.2. CAT Aktiviteleri

Arsenik maruziyeti sonucu sıçanlarda, testis dokusuna ait CAT aktivitelerinin kontrol grubu CAT aktiviteleri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı bulundu ( $p<0,001$ ). Arsenik + kuersetin grubunun CAT aktivitelerinin arsenik verilen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi ( $p<0,001$ ) (Tablo 4.4).

### 4.3.3. GSH-Px Aktiviteleri

Arsenik verilen grubun GSH-Px aktivitelerinin kontrol grubuna ait değerler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olduğu tespit edildi ( $p<0,001$ ). Arsenik + kuersetin gruplarının GSH-Px aktivitelerinin arsenik verilen grubun GSH-Px aktivitelerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı bulundu ( $p<0,01$ ) (Tablo 4.4).

### 4.3.4. MDA Düzeyleri

Arsenik maruziyeti sonucu sıçanlarda, testis dokusuna ait MDA düzeylerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı görüldü ( $p<0,001$ ). Arsenik + kuersetin grubu MDA düzeylerinin arsenik grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı bulundu ( $p<0,01$ ) (Tablo 4.4).

**Tablo 4.4.** Grupların biyokimyasal parametreleri (SOD, CAT, GSH-Px ve MDA).Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde verilmiştir.

	<b>Kontrol</b>	<b>Arsenik</b>	<b>Arsenik + Kuersetin</b>
<b>SOD (U/mg protein)</b>	1,086 $\pm$ 0,167	0,539 $\pm$ 0,079 <sup>a</sup>	0,802 $\pm$ 0,102 <sup>b</sup>
<b>CAT (k/g protein)</b>	17,476 $\pm$ 2,209	9,338 $\pm$ 1,696 <sup>a</sup>	14,459 $\pm$ 2,036 <sup>b</sup>
<b>GSH-Px (u/g protein)</b>	43,695 $\pm$ 5,868	30,962 $\pm$ 4,955 <sup>a</sup>	38,231 $\pm$ 4,777 <sup>c</sup>
<b>MDA (nmol/g protein)</b>	1,750 $\pm$ 0,483	2,737 $\pm$ 0,549 <sup>a</sup>	2,041 $\pm$ 0,457 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> p<0,001 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.<sup>b</sup> p<0,001 arsenik grubu ile karşılaştırıldığında.<sup>c</sup> p<0,01 arsenik grubu ile karşılaştırıldığında.**4.4. Total Testosteron Değerleri**

Arsenik verilen grubun testosteron değerlerinin kontrol grubu testosteron değerleri ile karşılaştırıldığında azaldığı fakat azalmanın istatikselsel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi (p>0,05). Arsenik + kuersetin grubunun testosteron değerlerinin ise arsenik grubu testosteron değerlerine göre arttığı ancak artışın istatikselsel olarak anlamlı olmadığı görüldü (p>0,05) (Tablo 4.5).

**Tablo 4.5.** Grupların testosteron değerleri. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

<b>Gruplar</b>	<b>Testosteron (ng/ml)</b>
Kontrol	12,927 $\pm$ 8,911
Arsenik	8,752 $\pm$ 2,004 <sup>a</sup>
Arsenik + Kuersetin	9,908 $\pm$ 3,278 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> p>0,05 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.<sup>b</sup> p>0,05 arsenik grubu ile karşılaştırıldığında.

#### 4.5. Arsenik Miktarı

Arsenik verilen grubun arsenik miktarlarının kontrol grubu değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde artmış olduğu tespit edildi ( $p < 0,001$ ). Arsenik verilen grubun değerlerinin arsenik + kuersetin grubu değerleri ile karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı (Tablo 4.6) bulundu.

**Tablo 4.6.** Grupların arsenik miktarları. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde verilmiştir.

<b>Gruplar</b>	<b>Arsenik (ppm)</b>
Kontrol	0,526 $\pm$ 0,372
Arsenik	25,380 $\pm$ 4,959 <sup>a</sup>
Arsenik + Kuersetin	24,668 $\pm$ 2,168 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>  $p < 0,001$  kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

<sup>b</sup>  $p > 0,05$  arsenik grubu ile karşılaştırıldığında.

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda sıçanlarda arsenik maruziyetinin testisteki toksik etkisi araştırılarak, kuersetinin testiste arseniğin neden olduğu değişiklikler üzerine etkisi incelendi.

Arsenik insanlar için çevresel toksik ve karsinojen bir maddedir. Dünya çapında yüz milyondan fazla insan, yüksek arseniğe maruz kalma riski altındadır (WHO 2003). Daha önce yapılmış olan çalışmalar arseniğin erkek üreme fonksiyonlarında testis ağırlığı ve yapısını, seminifer tübül çapını, testosteron düzeylerini, oksidan-antioksidan dengesini ve sperm kalitesini etkileyerek hücrel toksisiteye neden olduğunu göstermiştir (Jana ve diğ. 2006, Sanghamitra diğ. 2008, Fouad ve diğ. 2011, Reddy ve diğ. 2011, Ferreira ve diğ. 2012). Bu çalışma ile arseniğin testis üzerinde histopatolojik hasara, oksidatif strese, lipid peroksidasyonuna ve apoptozise yol açarak toksik etkiye sebep olduğu doğrulanmıştır. Ayrıca arseniğin testiste neden olduğu bu toksik etkilerin kuersetin uygulaması ile önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir.

Yapmış olduğumuz çalışmada deney sonunda elde ettiğimiz verilere göre arsenik grubu ve kontrol grubu hayvan ağırlıkları, ağırlık kazançları ve testis ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı ortaya koyuldu. Sıçan ağırlıkları, ağırlık kazançları ve testis ağırlıkları ile ilgili elde ettiğimiz bu sonuçlar daha önce yapılmış çalışmalarla uyum göstermektedir (Reddy ve diğ. 2011, Ferreira ve diğ. 2012). Çalışmamızda hayvan ağırlıkları, ağırlık kazançları ve testis ağırlıkları kuersetin uygulaması sonucunda arsenik grubu ile istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemiştir.

Arsenik, testis dokusunda ışık mikroskopik ve elektron mikroskopik düzeyde belirlenen spermatid kaybı ve testiküler hasar bulguları oluşturmaktadır (Sanghamitra ve diğ. 2008). Sanghamitra ve diğ. (2008) farelerde yaptıkları bir çalışmada, oral yolla arsenik verilen farelerin testis dokusunda seminifer tübül çapında azalma ve testiküler atrofiyi göstermiştir. Benzer şekilde Manna ve diğ. (2008) arsenik ile yaptıkları bir çalışmada, testiste seminifer tübüllerde dejenerasyon, nekroz ve spermatositlerde defoliasyonu göstermiştir. Das Neves ve diğ. (2004) farelerde yaptıkları bir çalışmada, arseniğin testis seminifer tübüllerinde atrofiye yol açtığını göstermiştir. Çalışmamızda testis dokusunun histopatolojik incelemesinde

arseniğin seminifer tübül yapılarında düzensizlik, spermatogenik seriye ait hücre sayısında azalma ve seminifer tübüllerin bazılarının duvarında vakuolizasyona, morfolojik ölçümlerde ise seminifer tübül çaplarının azalmasına neden olduğu gözlemlendi. Elde ettiğimiz histopatolojik ve morfolojik bulgular literatürle paralellik göstermektedir. Benzer bulgular daha önceki çalışmalarda da gözlemlenmiştir (Sanghamitra ve diğ. 2008, Das ve diğ. 2009, Fouad ve diğ. 2011, Ferreira ve diğ. 2012, Momeni ve diğ. 2012, Uygur ve diğ. 2013). Bizim çalışmamızda olduğu gibi arsenik toksisitesine karşı testis dokusunda kuersetinin etkilerini ışık mikroskopik olarak gösteren bir çalışma literatürde bulunmamaktadır. Çalışmamızda kuersetin ile tedavi edilen grup arsenik grubu ile karşılaştırıldığında, arseniğin neden olduğu histopatolojik hasarları ve morfolojik ölçümlerdeki azalmaları kuersetinin azalttığı bulundu. Daha önce yapılan çalışmada Taepongsorat ve diğ. (2008) kuersetinin verilme süresine ve dozuna bağlı olarak seminifer tübül alanını arttırdığını bildirmiştir. Başka bir çalışmada Uygur ve diğ. (2014) etanolün neden olduğu testiküler hasarı kuersetinin azalttığını bildirmişlerdir. Bu bilgilere göre kuersetin çeşitli toksik etkenlerin testiste neden olduğu histopatolojik hasarları ve morfolojik değişiklikleri azaltan güçlü bir maddedir. Bizim çalışmamızda da kuersetinin bu etkisi gösterilmiştir.

JTBS testisteki histopatolojik hasarı değerlendirmede kullanıldı. JTBS ile germinal epiteldeki progresif dejenerasyonun değerlendirilmesi mümkündür. Çalışmamızda JTBS değerleri arsenik grubunda düşük olarak tespit edildi. Bu da arseniğin testiste belirgin bir dejenerasyona neden olduğunu göstermektedir. Seminifer tübüllerdeki atrofi, dejenerasyon ve spermatogenik hücrelerdeki azalma spermatogenesis eksikliğinin işaretidir. Bulgularımızla uyumlu olarak Uygur ve diğ. (2013) arseniğin testis JTBS skorlarında azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda JTBS skorlarında kuersetin uygulaması ile artma gözlemlendi. Bu veriler ışığında kuersetinin seminifer tübüllerdeki dejenerasyonu ve spermatogenik seri hücrelerindeki azalmayı önemli ölçüde önlediği görülmektedir. Kuersetinin bu etkisi literatürde bildirilmiştir. Kanter ve diğ. (2012)'in yapmış oldukları çalışmada streptozotosinle diyabet oluşturulmuş sıçanların testislerindeki hasarda kuersetinin JTBS skorlarını arttırdığını göstermiştir.

Serbest radikal üretimi patofizyolojinin bir parçasıdır ve pek çok metalin toksisitesi serbest radikal üretimi ile ilgilidir (Miller ve diğ. 2002). Serbest radikaller



direkt ya da indirekt yollarla hücre ölümüne yol açabilmektedir. Spermatogenik hücreler de dahil olmak üzere pek çok hücre tipinde apoptozis oksidatif stres ile bağlantılıdır. Apoptozis, birçok fizyolojik ve patolojik olaylarda meydana gelen programlanmış hücre ölümüdür. Apoptotik sürecin başlamasında hücre içi ve hücre dışı kökenli ölüm sinyalleri etkili olur. Bu uyarılara maruz kalan hücrede, ilgili genetik mekanizma harekete geçer ve apoptozis başlar (Kuş ve diğ. 2008). Bu çalışmada, testis dokusunda apoptozu göstermek amacıyla TUNEL boyama yapıldı. Arseniğe maruz kalma sonucunda testis dokusunda apoptozun ve buna bağlı olarak da apoptotik indeksin arttığı gözlemlendi. Yapılan in vivo ve in vitro çalışmalar, arsenik toksisitesinin DNA kırıklarına yol açtığı ve apoptotik hücre ölümünü arttırdığını göstermektedir (Das ve diğ. 2004, Das ve diğ. 2009). Bulgularımızla uyumlu olarak Uygur ve diğ. (2013) arseniğin testiste apoptozisi ve apoptotik indeksi arttırdığını bildirmişlerdir. Literatürde testiküler apoptozis üzerinde kuersetinin antiapoptotik etki gösterdiği bildirilmiştir (Uygur ve diğ. 2014). Çalışmamızda kuersetin TUNEL pozitif hücre sayısını arsenik grubuna göre anlamlı olarak azaltarak apoptotik indekste de azalmaya sebep olduğu gösterilmiş ve kuersetinin testis dokusunda apoptozisi önemli ölçüde azalttığı sonucuna varılmıştır.

Hücre proliferasyon işaretleyicisi olarak kullanılan PCNA'nın olmadığı ya da çok az olduğu durumlarda hücrenin apoptozise gittiği bildirilmiştir (Kelman 1997, Güneş 1999, Çoğulu ve diğ. 2007). Testisteki seminifer tübüllerin tüm safhalarında erken dönem primer spermatozoid ve spermatogonyumlarda PCNA ekspresyonu mevcuttur (Kang ve diğ. 1997). Çalışmamızda kontrol grubuna ait sıçanların erken dönem spermatozoid ve spermatogonyumlarında yoğun bir şekilde PCNA pozitif hücreler saptandı. Arsenik uygulamasının ise PCNA pozitif hücre sayısını önemli ölçüde azalttığı ve bu azalışın literatür ile uyumlu olduğu gözlemlendi (Uygur ve diğ. 2013). Testiküler germ hücrelerinde PCNA ekspresyonunun azalması spermatogenesis ve proliferatif aktivitenin azalmasının göstergesidir. Bulgularımıza göre arsenik hücre proliferasyonunu ve spermatogenez sürecini olumsuz olarak etkilemektedir. Kuersetin uygulaması ile birlikte PCNA ekspresyonunda artış görüldü. Bu da kuersetinin arseniğin olumsuz etkilerini azaltarak spermatogenezini olumlu yönde etkilediğini göstermektedir. Kanter ve diğ. (2012) streptozotosinle diyabet oluşturulmuş sıçanların testislerinde kuersetin tedavisinin PCNA

ekspresyonunu arttırdığını bildirmiştir. PCNA indeksi değerlendirildiğinde arseniğin PCNA indeksini düşürdüğü kuersetinin ise arttırdığı tespit edildi.

Vücutta meydana gelen fizyolojik işlevler sırasında ya da patolojik bir süreç içerisinde ortaya çıkan serbest radikaller ile antioksidan sistem arasındaki dengenin serbest radikaller tarafına kayması sonucu oksidatif hasar ortaya çıkar ve çeşitli mekanizmalar ile biyomoleküllere hasar verir. Organizma oksidatif hasara karşı kendini enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistem ve moleküllerle korur (Kuş ve diğ. 2008). Dokularda meydana gelen ROS enzimatik (methemoglobin reduktaz, glutasyon reduktaz, glutasyon S-transferaz, SOD, CAT ve GSH-Px gibi) ve nonenzimatik (Vitamin A, C ve E, glutasyon, NADH, NADPH gibi) antioksidan sistemleri ve karotenoidler tarafından temizlenir (Genc ve diğ. 1998, El-Sokkary ve diğ. 1999, Husain ve diğ. 2001). Çalışmamızda arseniğin testislerde neden olduğu oksidatif hasarın bir göstergesi olan SOD, CAT ve GSH-Px aktivitelerindeki azalma kuersetin verilmesiyle önemli ölçüde önlenmektedir. Arseniğin testis antioksidan enzim aktivitelerini azalttığı literatürde bildirilmiştir (Manna 2008, Das ve diğ. 2009, Fouad ve diğ. 2011, Reddy 2011, Uygur ve diğ. 2013 ). Kuersetinin antioksidan etkisini Zhang (2005) horoz spermatogonial hücre kültürü çalışmasında, Uygur ve diğ. (2014) ise testis dokusunda oksidatif stresin artmasına bağlı olarak görülen GSH-Px ve SOD aktivitelerindeki azalmayı ve MDA düzeylerindeki artışı önlemesiyle de ortaya koymuşlardır. Bulgularımız literatürde yer alan bilgilerle uyum göstermekte ve kuersetinin antioksidan özellikleriyle arseniğin zararlı etkilerini önemli ölçüde önlediğini göstermektedir.

Arseniğin serbest radikaller aracılığıyla oluşturduğu testiküler toksisitenin bir diğer mekanizmasının da lipid peroksidasyonu olduğu düşünülmektedir. Testiküler membranlar oksidatif bozulmaya dayanıksız polienoik yağ asidi bakımından zengindir. Lipid peroksidasyonu, membranların işlevini yitirmesine, hücre nekrozu yoluyla hücre ölümüne ve sonuçta testiküler disfonksiyona yol açar (Manna ve diğ. 2008, Das ve diğ. 2009, Fouad ve diğ. 2011, Reddy ve diğ. 2011). Lipid peroksidasyonu ile oluşan ürünlerin TBA ile reaksiyona girmesi sonucu MDA ortaya çıkmaktadır. MDA miktarı serbest radikal hasarı hakkında bilgi vermektedir (Varan ve diğ. 1999). Çalışmamızda, arseniğin testiste doku MDA düzeylerini arttırdığı saptandı. Yapılan çalışmalar arsenik maruziyeti ile lipid peroksidasyonu arasında ilişki bulunduğunu ve MDA düzeylerini arttırdığını göstermektedir. (Chang ve diğ.

2007, Garcia-Chavez ve diğ. 2007, Das ve diğ. 2009, Uygur ve diğ. 2013). Bulgularımız arseniğe bağlı testiküler toksisitenin patogeneğinde lipid peroksidasyon ürünlerindeki artışın da etkili olduğu görüşünü desteklemiştir ve çalışmamızın sonuçları literatürü desteklemektedir. Flavonoidlerin lipid peroksidasyonu üzerindeki etkileri birçok araştırmacı tarafından çalışılmış ve MDA düzeylerini anlamlı olarak düşürdükleri gösterilmiştir (Devi 1999, Kahraman ve diğ. 2003, Middleton ve diğ. 2000, Nijveldt ve diğ. 2001, Uygur ve diğ. 2014). Hollman ve diğ. (1995) % 0,2 kuersetin içeren dietle beslenen sıçanlarda kontrol grubuna göre antioksidan kapasitenin belirgin şekilde yüksek olduğunu ve lipid peroksidasyonunun inhibe olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda arseniğin testislerde neden olduğu MDA düzeylerindeki artışın kuersetin verilmesiyle azaltıldığı ve böylelikle lipid peroksidasyonunun azaldığı gözlemlendi. Bu sonuç kuersetinin antioksidan etkinliğini lipid peroksidasyonunu engelleyerek yaptığını düşündürmektedir.

Arseniğin sıçanlarda testosteron biyosentezinde azalma yaptığı ve kan testosteron düzeyini belirgin bir şekilde düşürdüğü daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Fouad ve ark., 2011). Bununla birlikte çalışmamızda arseniğin serum testosteron düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalmaya neden olduğu saptandı. Çalışmamızda kuersetin verilen grupta arsenik grubu ile karşılaştırıldığında anlamsızda olsa bir artış görülmüştür. Uygur (2010) yapmış olduğu çalışmada sıçanlarda etanol maruziyeti sonucu testosteron seviyesinin kuersetin tedavisi ile artmış olduğunu tespit etmiştir.

Kan arsenik değerlerinin yüksek olması sperm motilitesinde azalmaya neden olur (Pizent ve Zivkovic 2012). Çalışmamızda arseniğin testis dokusunda biriktiği belirlendi. Bu birikim testiküler hasara neden olarak morfolojik değişikliklere, apoptozise ve oksidatif strese yol açmaktadır. Bununla birlikte yaptığımız çalışmada kuersetinin testis dokusundaki arsenik birikimini engelleyemediği fakat arseniğin oluşturduğu zararlı etkileri azalttığı ortaya konuldu.

Sonuç olarak bu çalışmada, arsenik toksisitesinin testiste neden olduğu hasara karşı kuersetinin koruyucu etkisi ilk kez incelenmiştir. Kuersetin antiapoptotik ve antioksidatif etkileri ile arseniğin testis dokusunda neden olduğu morfometrik ve histopatolojik hasarları, apoptozisi, hücre proliferasyonundaki olumsuz etkiyi, oksidatif stresi, lipid peroksidasyonunu ve birikimden kaynaklı doku hasarını azaltarak testiste koruyucu etki göstermektedir. Çalışmamız arseniğin testiste

oluşturduğu zararlı etkilerin önlenmesi, koruyucu ya da destek tedavilerinin geliştirilmesi açısından antioksidanların etkilerinin araştırıldığı çalışmalara ve literatüre önemli katkılar sağlamaktadır.

## 6. KAYNAKLAR

- AEBI, H. 1974. Catalase. In: Methods of Enzymatic Analysis. Ed.: Bergmeyer, H.U. Academic Press, New York.
- ANAWAR, H.M., AKAI, J., MOSTOFA, K.M.G., SAFIULLAH, S., TAREQ, S.M. 2002. Arsenic poisoning in groundwater: Health risk and geochemical sources in Bangladesh. *Environment International*. 27(7):597-604.
- ANDERSON, O.M., MARKHAM, K.R. 2006. Flavonoids, Chemistry, Biochemistry and Applications. CRC Press Taylor and Francis Group, Boca Raton, 219-470.
- AKKUŞ, İ. 1997. Klinik Biyokimya Laboratuvarı El Kitabı. Öz Eğitim Bas. Yay. Dağ., Konya.
- ARINCI, K., ELHAN, A. . 2006. Anatomi. 1. Cilt. 4. Baskı. Güneş Kitabevi, Ankara.
- AYTEKİN, Y., SOLAKOĞLU, S. 2006. Temel Histoloji. Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul.
- BEDİA, S., CUMHUR, M. 2014. Fonksiyonel Anatomi. 3. Baskı. ODTU Yayıncılık, Ankara.
- BERMAN, E. 1980. Toxic Metals and Their Analysis. London; Philadelphia: Heyden.
- BRETT, A.M.O., GHICA, M.E. 2003. Electrochemical Oxidation of Quercetin, *Electroanalysis*. 15:1745-1750.
- BROWN, K.G., CHEN, C.J. 1995. Significance of exposure assessment to analysis of cancer risk from inorganic arsenic in drinking water in Taiwan. *Risk Analysis*. 15(4):475-484.
- CALVO, C., BOLADO, S., ALVAREZ-BENEDI, J., ANDRADE, M. A. 2006. Arsenic uptake and accumulation in curly endives (*Cichorium endivia* L.) irrigated with contaminated water. *J Environ Sci Health B*. 41(4):459-470.
- CARAPPELLA, S.C., CONSULTANT, J.R. 2002. Arsenic and arsenic alloys. Kirk-Othmer encyclopedia of chemical technology. DOI: 10.1002/0471238961.0118190503 011801.a01.pub2
- CHANG, S.I., JIN, B., YOUN, P., PARK, C., PARK, J.D., RYU, D.Y. 2007. Arsenic induced toxicity and the protective role of ascorbic acid in mouse testis. *Toxicol Appl Pharmacol*. 218(2):196-203.
- COPPIN, J.F., QU, W., WAALKES, M.P. 2008. Interplay between cellular methyl metabolism and adaptive efflux during oncogenic transformation from chronic arsenic exposure in human cells. *J Biol Chem*. 283:19342–19350.
- COSKUN, O., KANTER, M., KORKMAZ, A., OTER, S. 2005. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and  $\beta$ -cell damage in rat Pancreas, *Pharmacological Research*. 51:117-123.
- CRESPY, V., MORAND, C., MANACH, C., BESSON, C., DEMIGNE, C., REMESY, C. 1999. Part of quercetin absorbed in the small intestine is conjugated and further secreted in the intestinal lumen. *Am J Physiol*. 277:120-126.
- ÇİMEN, M. B. Y. 1999. Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*. 19(5):296-304.
- ÇOĞULU, Ö., ALPMAN, A., DURMAZ, B., ÖZKINAY, F. 2007. Mitoz ve mayozun moleküler temelleri. *Turkiye Klinikleri J Med Sci*. 27:725-737.
- DAS, A.K., BAG, S., SAHU R., DUA, T.K., SINHA, M.K., GANGOPADHYAY, M., ZAMAN, K., DEWANJEE, S. 2010. Protective effect of *Corchorus olitorius* leaves on sodium arsenite-induced toxicity in experimental rats. *Food Chem Toxicol*. 48(1):326-335.
- DAS, J., GHOSH, J., MANNA, P., SINHA, M., SIL, P.C. 2009. Taurine protects rat testes against  $\text{NaAsO}_2$  induced oxidative stress and apoptosis via mitochondrial dependent and independent pathways. *Toxicol Lett*. 187(3):201-210.

- DAS NEVES R.N, CARVALHO, F., CARVALHO, M., FERNANDES, E., SOARES, E., DE BASTOS, M.L., DE PEREIRA, M.L. 2004. Protective activity of hesperidin and lipoic acid against sodium arsenite acute toxicity in mice. *Toxicol Pathol.* 32(5):527-535.
- DAVEY, J.C., BODWELL, J.E., GOSSE, J.A., HAMILTON, J.W. 2007. Arsenic as an endocrine disruptor: effects of arsenic on estrogen receptor-mediated gene expression in vivo and in cell culture. *Toxicol Sci.* 98:75-86.
- DEVI, P.S., SHYAMALA, D.C.S. 1999. Protective effect of quercetin in cisplatin induced cell injury in the rat kidney. *Indian J Pharmacol.* 31(6):422-426.
- DOKMECI. 2001. Toksikoloji, Zehirlenmelerde Tanı ve Tedavi. 3. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- DRAPER, H.H., HADLEY, M. 1990. Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol.* 186:421-431.
- DURAK, I., YURTARSLANI, Z., CANBOLAT, O., AKYOL, O. 1993. A methodological approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. *Clin Chim Acta.* 214(1):103-104.
- EL-SOKKARY, G.H., REITHER, R.J., TAN, D.X., KIM, S.J., CABRERA, J. 1999. Inhibitory effect of melatonin on products of lipid peroxidation resulting from chronic ethanol administration. *Alcohol Alcohol.* 34:842-850.
- ERDEN INAL, M., KAHRAMAN, A. 2000. The protective effect of flavonol quercetin against ultraviolet a induced oxidative stress in rats. *Toxicology.* 154(1-3):21-29.
- ERGÜZEL, E.T. 2006. Quercetin (3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon)'in bakır (II) ve çinko (II) komplekslerin kararlılık sabitlerinin tayini. Yüksek lisans tezi, Marmara Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- FERREIRA, M., MATOS, RC., OLIVEIRA, H., NUNES, B., PEREIRA, M.D.L. 2012. Impairment of mice spermatogenesis by sodium arsenite. *Hum Exp Toxicol.* 31:290-302.
- FRIBERG, L., NORDBERG, G., VOUK, V.B. 1979. Handbook on the toxicology of metals. Amsterdam ; New York New York: Elsevier/North-Holland Biomedical Press; sole distributors for the U.S.A. and Canada.
- FOUAD, A.A., AL-SULTAN, A.I., YACOUBI, M.T. 2011. Coenzyme Q10 counteracts testicular injury induced by sodium arsenite in rats. *Eur J Pharmacol.* 655:91-98.
- GANYC, D., TALBOT, S., KONATE, F., JACKSON, S., SCHANEN, B., CULLEN, W., SELF, W.T. 2007. Impact of trivalent arsenicals on selenoprotein synthesis. *Environ Health Perspect.* 115(3):346-353.
- GARCIA-CHAVEZ, E., SEGURA, B., MERCHANT, H., JIMENEZ, I., DEL RAZO, L.M. 2007. Functional and morphological effects of repeated sodium arsenite exposure on rat peripheral sensory nerves. *J Neurol Sci.* 258(1-2):104-110.
- GENC, S., GURDOL, F., ONER-IYIDOGAN, Y., ONARAN, I. 1998. The effect of melatonin administration on ethanol-induced lipid peroxidation in rats. *Pharmacol Res.* 37:37-40.
- GÖVSA GÖKMEN, F. 2003. Sistematik Anatomi. 1. Baskı. İzmir Güven Kitabevi, İzmir.
- GUNES H. 1999. Sitokinlerin hücre döngüsü üzerinde etkileri. *Tr J of Biology.* 23:283-292.
- GUYTON, A.C., HALL, J.E. 1996. Textbook Of Medical Physiology. Çeviri: Cavusoglu, H., Caglayan Yegen, B. 2007. Tıbbi Fizyoloji. 11. Basım. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul.
- HAN, D., TACHIBANA, H., YAMADA, K. 2001. Inhibition of environmental estrogen-induced poliferation of human breast carcinoma MCF-7 cells by flavonoids. *In Vitro Cell Develop Biol. Animal.* 37(5):275-282.
- HOLLMAN, P.C., DE VRIES, J.H., VAN LEEUWEN, S.D., MENGELERS, M.J., KATAN, M.B. 1995. Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *Am J Clin Nutr.* 62(6):1276-1282.

- HSU, S.M., RAINE, L., FANGER, H. 1981. Use of avidin–biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem.* 29:577–580.
- HUSAIN, K., SCOTT, B.R., REDDY, S.K., SOMANI, S.M. 2001. Chronic ethanol and nicotine interaction on rat tissue antioxidant defense system. *Alcohol.* 25:89–97.
- IKIZLER, M., ERKASAP, N., DERNEK, S., KURAL, T., KAYGISIZ, Z. 2007. Dietary polyphenol quercetin protects rat hearts during reperfusion: enhanced antioxidant capacity with chronic treatment. *Anadolu Kardiyol Derg.* 7(4): 404-410.
- INAL, M.E., KAHRAMAN, A. 2000 The protective effect of flavonol quercetin against ultraviolet a induced oxidative stress in rats. *Toxicology*, 154: 21-29
- JANA, K., JANA, S., SAMANTA, P.K. 2006. Effects of chronic exposure to sodium arsenite on hypothalamo-pituitary-testicular activities in adult rats: possible an estrogenic mode of action. *Reprod Biol Endocrinol.* 16:4-9.
- JOHNSEN, S.G. 1970. Testicular biopsy score count – a method for registration of spermatogenesis in human testes. Normal values and results of 335 hypogonadal males. *Hormones.* 1:2–25.
- JOVANOVIC, S.V., STEENKEN, S., TOSIC, M., MARJANOVIC, B., SIMIC, M.G. 1994. Flavonoids as antioxidants. *Journal American Chemical Society.* 116:4846-4851.
- JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO, J. 2009. (Çeviri: Solakoğlu S, Aytekin Y). Temel Histoloji, Text Atlas. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- KAHRAMAN, A., ERKASAP, N., KOKEN, T., SERTESER, M., AKTEPE, F., ERKASAP, S. 2003. The antioxidative and antihistaminic properties of quercetin in ethanol-induced gastric lesions. *Toxicology.* 183(1-3):133-142.
- KANG, M.J., KIM, M.K., TERHUNE, A., PARK, J.K., KIM, Y.H., KOH, G.Y. 1997 Cytoplasmic localization of cyclin D3 in seminiferous tubules during testicular development. *Exp Cell Res.* 234:27-36.
- KANTER, M., AKTAS, C., ERBOGA, M. 2012. Protective effects of quercetin against apoptosis and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rattestis. *Food Chem Toxicol.* 50(3-4):719-725.
- KATO, R., YAMATO, S., SUGIMURA, T. 1983. Carciogenesis, 1983, 4, 1301. Kierszenbaum, A. L. 2006. (Çeviri: Demir R). Histoloji ve Hücre Biyolojisi. Palme Yayıncılık, Ankara.
- KELMAN, Z. 1997. PCNA: structure, functions and interactions. *Oncogene.* 14(6):629-640.
- KITCHIN, K.T., WALLACE, K. 2005. Arsenite binding to synthetic peptides based on the Zn finger region and the estrogen binding region of the human estrogen receptor-alpha. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 206(1):66–72.
- KUBOTA, R., KUNITO, T., AGUSA, T., FUJIHARA, J., MONIRITH, I., IWATA, H., SUBRAMANIAN, A., TANA, T.S., TANABE, S. 2006. Urinary 8- hydroxy-2-deoxyguanosine in inhabitants chronically exposed to arsenic in groundwater in Cambodia. *J Environ Monit.* 8(2):293-299.
- KUŞ, İ., ZARARSIZ, İ., AKPOLAT, N., ÖGETÜRK, M., KUŞ, M.A., ÖZEN, O.A., SARSILMAZ, M. 2008. Deneysel formaldehit zehirlenmesinde omega-3 yağ asitlerinin testislerdeki antiapoptotik etkileri: immunohistokimyasal bir çalışma. *Fırat Tıp Dergisi.* 13:162-166.
- LARSON, R.A. 1988. The antioxidants of higher plants. *Photochemistry.* 27:969-978.
- LIN, S., DEL-RAZO, L.M., STYBLO, M., WANG, C., CULLEN, W.R., THOMAS, D.J. 2001. Arsenicals inhibit thioredoxin reductase in cultured rat hepatocytes. *Chem Res Toxicol.* 14(3): 305–321.
- LOWRY, O.H., ROSEBROUGH, N.J., FARR, A.L., RANDALL, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 193(1):265-275.
- MANDAL, B.K., SUZUKI, K.T. 2002. Arsenic round the world: a review. *Talanta.* 58(1):201-235.

- MANNA P.S., SINHA, M., SIL, P.C. 2008. Protection of arsenic induced testicular oxidative stress by arjunolic acid. *Redox Rep.* 13(2):67-77.
- MATHUR, N., PANDEY, G., JAIN GC. 2010. Male reproductive toxicity of some selected metals. A review. *J Biol Sci.* 10:396-404.
- MIDDLETON, E., J.R., KANDASWAMI, C., THEOHARIDES, T.C. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev.* 52(4):673-751.
- MILLER, W.H., JR., SCHIPPER, H. M., LEE, J.S., SINGER, J., WAXMAN, S. 2002. Mechanisms of action of arsenic trioxide. *Cancer Res.* 62(14):3893-3903.
- MOMENI, H.R., ORYAN, S., ESKANDARI, N. 2012. Effect of vitamin E on sperm number and testis histopathology of sodium arsenite-treated rats. *Reprod Biol.* 12(2):171-181.
- MORONEY, M.A., ALCARAZ, M.J., FORDER, R.A., CAREY, F., HOULT, J.R., 1988. Selectivity of neutrophil 5-lipoxygenase and cyclooxygenase inhibition by an antiinflammatory flavonoidglycoside and related aglycone flavonoids. *J Pharm Pharmacol.* 40(11):787-792.
- NETTER, F.H. 2008 Çeviri: Cumhur, M. İnsan Anatomi Atlası. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul.
- NIJVELDT, R.J., VAN NOOD, E., VAN HOORN, D.E., BOELEN, P.G., VAN NORREN, K., VAN LEEUWEN, P.A. 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am J Clin Nutr.* 74(4):418-425.
- NRC (NATIONAL RESEARCH COUNCIL). 2001. Arsenic in drinking water: Update. National, Academy. Press, Washington, D.C.
- NORDSTROM, D.K. 2002. Public health. Worldwide occurrences of arsenic in ground water. *Science.* 296(5576):2143-2145.
- NOYAN, A. 1993. Fizyoloji. 8. Baskı. Meteksan Anonim Şirketi, Ankara.
- OAKBERG, K., LEVY, T., SMITH, P. 2000. A Method for Skeletal Arsenic Analysis, Applied to the Chalcolithic Copper Smelting Site of Shiqmim, Israel. *Journal of Archaeological Science.* 27:895-901.
- PAGLIA, D.E., VALENTINE, W.N. 1967. Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 70(1):158-169.
- PAWLIKOWSKA-PAWLEGA, B., GRUSZECKI, W.I., MISIAK, L.E., GAWRON, A. 2003. The study of the quercetin action on human erythrocyte membranes. *Biochemical Pharmacology.* 66(4):605-612.
- PETERSON, J., DWYER, J. 1998. flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. *Nutr Res.* 18:1995-2018.
- PI, J., YAMAUCHI, H., KUMAGAI, Y., SUN, G., YOSHIDA, T., AIKAWA, H., HOPENHAYN-RICH C., SHIMOJO, N. 2002. Evidence for induction of oxidative stress caused by chronic exposure of chinese residents to arsenic contained in drinking water. *Environ Health Perspect.* 110:331-336.
- PIZENT, A., TARIBA, B., ZIVKOVIC, T. 2012. Reproductive toxicity of metals in men. *Arh Hig Rada Toksikol.* 63(Supplement 1):35-46.
- PRADOSH, R., SAHA, A. 2002. Metabolism and toxicity of arsenic: A human carcinogen. *Current Science.* 82(1):38-45.
- PRATT, D.E., HUDSON, B.J.F. 1990. Food Antioxidants, Elsevier, London, 171-191.
- POTT, W.A., BENGAMIN, S.A., YANG, R.S.H. 2001. Pharmacokinetics, metabolism and carcinogenicity of arsenic. *Rev Environ Contam Toxicol.* 169:165-214.
- RAMANATHAN, K., SHILA, S., KUMARAN, S., PANNEERSELVAM, C. 2003. Protective role of ascorbic acid and alpha-tocopherol on arsenic-induced microsomal dysfunctions. *Hum Exp Toxicol.* 22(3):129-136.



- REDDY, P.S., RANI, G.P., SAINATH, S.B., MEENA, R., SUPRIYA, C. 2011. Protective effects of N-acetylcysteine against arsenic-induced oxidative stress and reprotoxicity in male mice. *J Trace Elem Med Biol.* 25:247-253.
- REICHARD, J.F., SCHNEKENBURGER, M., PUGA, A. 2007. Long-term low-dose arsenic exposure induces loss of DNA methylation. *Biochem Biophys Res Commun.* 352:188–192.
- RIZKI, M., KOSSATZ, E., VELAZQUEZ, A., CREUS, A., FARİNA, M., FORTANER, S., MARCOS, R. 2006. Metabolism of arsenic in *Drosophila melanogaster* and the genotoxicity of dimethylarsinic acid in the *Drosophila* wing spot test. *Environ Mol Mutagen.* 47(3):162-168.
- RODRIGUEZ, R.R., BASTA, N.T., CASTEEL, S.S.W., PACE, L.W. 1999. An in vitro gastrointestinal method to estimate bioavailable arsenic in contaminated soils and solid media. *Environ. Sci. Technol.* 33(4):642-649.
- SANGHAMITRA, S., HAZRA, J., UPADHYAY, S.N., SINGH, R.K. 2008. Arsenic induced toxicity on testicular tissue of mice. *Indian J Physiol Pharmacol.* 52(1):84-90.
- SARKAR, M., BISWAS, N.M., GHOSH, D. 2001. Effect of sodium arsenite on testicular and 3<sub>β</sub> and 17<sub>β</sub> hydroxysteroid dehydrogenase activation in albino rats: dose and duration dependent response. *Med Sci Res.* 19:789-793.
- SARKAR, M., CHAUDHURI, G.R., CHATTOPADHYAY, A., BISWAS, N.M. 2003. Effect of sodium arsenite on spermatogenesis, plasma gonadotrophins and testosterone in rats. *Asian J Androl.* 5:27-31.
- SARSILMAZ M. 2014. İnsan Anatomisi. 1. Baskı. Akademi Basım ve Yayıncılık, İstanbul.
- SCHWERDTLE, T., WALTER, I., MACKIW, I., HARTWIG, A. 2003. Induction of oxidative dna damage by arsenite and its trivalent and pentavalent methylated metabolites in cultured human cells and isolated DNA. *Carcinogenesis.* 24(5):967–974.
- SMEDLEY, P.L., KINNIBURGH, D.G. 2002 . A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry.* 17:517-568.
- SOBOTTA, PUTZ, R., PABST, R. 2001. Sobotta Çeviri: Arıncı, K. 2008. İnsan Anatomisi Atlası. Beta Basım Yayın Dağıtım. İstanbul.
- SUN, Y., OBERLEY, L.W., LI, Y. 1988. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem,* 34(3):497-500.
- ŞAHİNOĞLU, K. 2007. Kliniğe Yönelik Anatomisi. Nobel Tıp Kitabevleri. İstanbul.
- TAMAKI, S., FRANKENBERGER, W.T.Jr. 1992. Environmental biochemistry of arsenic. *Rev Environ Contam Toxicol.* 124:79-110.
- TAEPOGSORAT, L., TANGPRAPRUTGUL, P., KITANA, N., MALAIVIJITNOND, S. 2008. Stimulating effects of quercetin on sperm quality and reproductive organs in adult male rats. *Asian J Androl.* 10(2):249-258.
- TCHOUNWOU, P.B., WILSON, B.A., ABDELGHANI, A.A., ISHAQUE, A.B., PATLOLLA, A.K., 2002. Differential cytotoxicity and gene expression in human liver carcinoma (HepG2) cells exposed to arsenic trioxide and monosodium acid methanearsonate (MSMA). *International Journal of Molecular Science.* 3:(11):1117-1132.
- UYGUR, R. 2010. Ratlarda etanol maruziyetiyle testislerde oluşan değişiklikler üzerine kuersetin vebalık omega-3 yağ asitlerinin etkisi. Doktora tezi, Afyon Kocatepe Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- UYGUR, R., AKTAS, C., CAGLAR, V., UYGUR, E., ERDOGAN, H., OZEN, O.A. 2013. Protective effects of melatonin against arsenic-induced apoptosis and oxidative stress in rat testes. *Toxicol Ind Health.* doi: 10.1177/0748233713512891
- UYGUR, R., YAGMURCA, M., ALKOC, O.A., GENÇ, A., SONGUR, A., UCOK, K., OZEN, O.A. 2014. Effects of quercetin and fish n-3 fatty acids on testicular injury induced by ethanol in rats. *Andrologia.* 46(4):356-369.

- VARAN, B., TOKEL, K., YILMAZ, G. 1999. Malnutrition and growth failure in cyanotic and acyanotic congenital heart disease with and without pulmonary hypertension. *Arch Dis Child.* 81:49-52.
- WALTER, I., SCHWERDTLE, T., THUY, C., PARSONS, J.L., DIANOV, G.L., HARTWIG, A. 2007. Impact of arsenite and its methylated metabolites on parp-1 activity, parp-1 gene expression and poly (adribosylation) in cultured human cells. *DNA repair (Amst.)* 6:61–70.
- WANG, J.P., MADDALENA, R., ZHENG, B., ZAI, C., LIU, F., NG, J.C. 2009. Arsenicosis status and urinary malondialdehyde (MDA) in people exposed to arsenic-contaminated coal in China. *Environ Int.* 35(4):502-506.
- WHO. 2003. Arsenic, drinking-water and health risk substitution in arsenic mitigation (WORLD HEALTH ORG.). a discussion paper Author:Guy Howard.
- WIRTH, J.J., MIJAL, R.S. 2010. Adverse effects of low level heavy metal exposure on male reproductive function. *Syst Biol Reprod Med.* 56(2):147-167.
- YILDIRIM, M. 2011. Gray's Anatomi. Güneş Kitabevi. Ankara.
- ZHANG, Y.M. 2005. Protective effect of quercetin on aroclor 1254-induced oxidative damage in cultured chicken spermatogonial cells. *Toxicol Sci.* 88(2):545-550.



T.C.  
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ  
HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURULU

Sayı : B.30.2.ÇAÜ.0.05.06- 050.04 -14  
Konu : Hayvan Deneyleri Etik Kurul Kararı

14/02/2014

HAYVAN DENEYLERİ ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ :14.02.2014  
TOPLANTI SAYISI :2014/ 02  
DOSYA KAYIT NUMARASI :2014/ 15  
KARAR NUMARASI :2014/ 02-08  
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR :Arş. Gör. Dr. Bilal Burak BALTACI, Yrd. Doç. Dr. Veli ÇAĞLAR,  
:Doç. Dr. Cevat AKTAŞ, Yrd. Doç. Dr. Murat AYDIN,  
:Prof. Dr. Oğuz Aslan ÖZEN  
HAYVAN TÜRÜ VE SAYISI :Sprague-Dawley (erkek) 27 adet

Yrd. Doç. Dr. Ramazan UYGUR, tarafından Etik Kurulumuza sunulan "Sıçanlarda Arseniğin Sebep Olduğu Testiküler Hasara Karşı Kuersetinin Koruyucu Etkileri" başlıklı proje Hayvan Deneylerine ilişkin mevzuatın emirleri doğrultusunda incelenerek, ilgili mevzuat hükümleri çerçevesinde Hayvan Deneyleri Etiği açısından uygun olduğuna; oybirliği ile karar verilmistir.

Prof. Dr. Bülent GÜNDÜZ  
Başkan

Prof. Dr. Akın PALA  
Üye

Doç. Dr. Mustafa SAÇAR  
Üye

Doç. Dr. Mustafa DENİZ  
Üye

Doç. Dr. Sebahattin ERGUN  
Üye

Doç. Dr. Emine COŞAR  
Üye  
(Mazeretli)

Yrd. Doç. Dr. Ahmet UZATICI  
Üye  
(Mazeretli)

Yrd. Doç. Dr. Neslihan DEMİR  
Üye

Ecz. Zerrin GÜMÜŞ  
Sivil Üye

Erdoğan GÜRSEL  
Sivil Üye