

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TRİFLURALİN UYGULANMIŞ ERKEK
SIÇANLARDA RESVERATROLÜN
ÜROGENİTAL SİSTEM ÜZERİNE TERAPÖTİK
ETKİLERİNİN HİSTOLOJİK VE
BİYOKİMYASAL OLARAK ARAŞTIRILMASI**

Ziya DENEK

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İZMİR-2010

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**TRİFLURALİN UYGULANMIŞ ERKEK
SIÇANLARDA RESVERATROLÜN
ÜROGENİTAL SİSTEM ÜZERİNE TERAPÖTİK
ETKİLERİNİN HİSTOLOJİK VE
BİYOKİMYASAL OLARAK ARAŞTIRILMASI**

**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Ziya DENEK

DANIŞMAN ÖĞRETİM ÜYESİ: DOÇ. DR. GÜVEN ERBİL

**(Bu proje DEÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Şube Müdürlüğü tarafından
2009.KB.SAG.042 sayı ile desteklenmiştir.)**

DEÜ.HSI.MSc-2007970180

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek lisans programı öğrencisi Ziya DENEK'in TRİFLURALİN UYGULANMIŞ ERKEK SIÇANLARDA RESVERATROLÜN ÜROGENİTAL SİSTEM ÜZERİNE TERAPÖTİK ETKİLERİNİN HİSTOLOJİK VE BİYOKİMYASAL OLARAK ARAŞTIRILMASI Konulu yüksek lisans tezi 20.10.2010 tarihinde tarafımızdan değerlendirilerek başarılı/başarısız bulunmuştur.

Doç. Dr. Güven ERBİL

BAŞKAN

Doç.Dr. H. Alper BAĞRIYANIK

ÜYE

Prof.Dr. Sülen SARIOĞLU

ÜYE

Doç.Dr. Ülker SÖNMEZ

ÜYE

Doç.Dr. Şule KALKAN

ÜYE

İçindekiler

İçindekiler.....	I
ŞEKİL LİSTESİ:	IV
KISALTMALAR	VII
TEŞEKKÜR	VIII
1. ÖZET	1
2.GİRİŞ VE AMAÇ	5
3. GENEL BİLGİLER.....	7
3.1.2. Üreter Anatomisi	10
3.1.3. Mesane Anatomisi.....	10
3.1.4. Testis Anatomisi.....	12
3.2. Ürogenital Sistemi Fizyolojisi	13
3.2.1. Böbrek Fizyolojisi	13
3.2.2. Üreter Fizyolojisi.....	19
3.2.3. Mesane Fizyolojisi	20
3.2.4. Testisin Fizyolojisi	21
3.3. Ürogenital Sistem Histolojisi.....	24
3.3.1 Böbrek Histolojisi	24
3.3.2. Üreter Histolojisi	33
3.3.3. Mesane Histolojisi.....	34
3.3.4. Testis Histolojisi.....	37
3.5. Herbisitler	49
3.5.1.Trifluralin (TRF)	51
3.6.Antioksidanlar.....	54
3.6.1. Resveratrol	54
4. GEREÇ VE YÖNTEM.....	61
4.1.Hayvan Ağırlıkları Değerlendirmesi.....	62
4.2. Işık Mikroskopik İncelemeler	62
4.2.1.Hematoksilen-Eozin Boyaması	63
4.2.2 Masson-Trikrom Boyaması.....	63

4.2.3 Peryodik Asit Schiff Boyaması (PAS) :	65
4.3. Histolojik skora.....	66
4.3.1. Nekroz ve Fırça Kenar kaybının Değerlendirilmesi.	66
4.3.2. Johnson Testiküler Biyopsi Skoru.....	66
4.4. İmmünohistokimyasal İncelemeler:	67
4.4.1 Terminal Deoxynucleotidyl Transferase-Mediated Deoxyuridine Triphosphate DNA Nick-End Labelling (TUNEL) Boyaması.....	67
4.5. Biyokimyasal Analizler	69
4.5.1.Homojenat Hazırlanması.....	69
4.5.2 Malondialdehit (MDA) değerlerinin saptanması	69
4.5.3 Glutathione Peroxidase (GPx) aktivitesinin ölçümü.....	70
4.5.4. Süperoxide Dismutase (SOD) Aktivitesinin ölçümü	70
4.5.5 Biyokimyasal kan ve idrar analizler.....	70
4.6.İstatistiksel değerlendirme	71
5. BULGULAR	72
5.1.Hayvan Ağırlıklarının Değerlendirilmesi	72
5.2. Işık Mikroskopik Bulgular.....	73
5.2.1. Böbrek Dokusunun Histomorfometrik açıdan değerlendirilmesi	73
5.2.2. Üreter'in Histolojik Değerlendirmesi.....	80
5.2.3. Mesane'nın Histolojik Değerlendirmesi	86
5.2.4. Testis'in Histolojik Değerlendirmesi	91
5.3.Histolojik Skora.....	98
5.3.1. Fırça kenar kaybı ve nekroz	98
5.3.2. Jonhson Testiküler biopsi skorası:	99
5.4. İmmünohistokimyasal bulgular:	100
5.4.1.TUNEL Değerlendirilmesi.....	100
5.5. Biyokimyasal Sonuçlar	106
5.5.1. BUN Analiz sonuçları	106
5.5.2. Kreatinin Analiz sonuçları	107
5.5.3. Ürik Asit Analiz Sonuçları.....	108
5.5.4. Antioksidan Enzim Değerlendirmeleri.....	110
6.TARTIŞMA.....	118

7. SONUÇ VE ÖNERİLER	123
8. KAYNAKLAR.....	124

SEKİL LİSTESİ:

Şekil 1: Böbreğin kanlanması.....	9
Şekil 2: Plazma klirens hesaplaması.....	15
Şekil 3: Böbrek tübüllerinde sekresyon ve rearsorpsiyon.	18
Şekil 4: Testisin hormonal kontrolü	22
Şekil 5: Bowman kapsülü.	26
Şekil 6: Nefronun histolojik yapısı.....	29
Şekil 7: Slit membranın moleküler yapısı	30
Şekil 8: Jukstaglomeruler aparatın çalışma mekanizması.	31
Şekil 9: Jukstaglomeruler aparat hücreleri.	32
Şekil 10: Üreterin histolojik tabakaları.....	34
Şekil 11: Mesanenin histolojik tabakaları	37
Şekil 12: Testis ve boşaltma kanallarının şematik gösterimi	39
Şekil 13: Sertoli hücresi ve spermatogenik seri hücreleriyle ilişkisi.....	42
Şekil 14: Spermin yapısı.....	45
Şekil 15: Resveratrolün kimyasal yapısı	55
Şekil 16: Resveratrolün biyosentezi	56
Şekil 17: Resveratrolün kandan dokulara taşınımı ve hücre içine geçişi.	57
Şekil 18: Doku takip protokolü.	62
Şekil 19: Hematoksilen-Eozin boyama protokolü.....	63
Şekil 20: Masson-Trikrom boyama protokolü.....	64
Şekil 21: Peryodik Asit Schiff (PAS) boyama protokolü.....	65
Şekil 22: Böbrek dokusuna ait horizontal kesitlerde belirlenen standart seçilmiş 5 alan	66
Şekil 23: Histolojik skorlama.	66
Şekil 24: Jonhson testiküler biopsi skorlaması.....	67
Şekil 25: TUNEL boyama protokolü.....	69
Şekil 26: Grupların deney başlangıcı ve deney sonundaki ağırlıkları.	72
Şekil 27: Kontrol grubu böbrek dokusu H&E.....	73
Şekil 28: Kontrol grubu böbrek dokusu. PAS.	74
Şekil 29: Kontrol grubu böbrek dokusu. Masson-Trikrom.	74
Şekil 30: Sham grubu böbrek dokusu. H&E.	75
Şekil 31: Sham grubu böbrek dokusu. PAS.	75
Şekil 32: Sham grubu böbrek dokusu Masson Trikrom.....	75
Şekil 33: TRF Yüksek Doz grubu böbrek dokusu H&E.	76
Şekil 34: TRF Yüksek Doz grubu böbrek dokusu PAS.	76
Şekil 35: TRF Yüksek Doz grubu böbrek dokusu PAS.	77
Şekil 36: TRF Yüksek Doz grubu böbrek dokusu Masson Trikrom.....	77
Şekil 37: TRF Düşük Doz grubu böbrek dokusu H&E.....	78
Şekil 38: TRF Düşük Doz böbrek dokusu PAS.	78
Şekil 39: TRF Düşük Doz grubu böbrek dokusunda peritübüler alan Masson Trikrom.....	78

Şekil 40: RVT tedavi grubu böbrek dokusu. H&E.....	79
Şekil 41: RVT tedavi grubu böbrek dokusu. PAS.....	79
Şekil 42: RVT tedavi grubu böbrek dokusu. Masson trikrom.....	80
Şekil 43: Kontrol grubu üreter dokusu genel görünüm, H&E.....	80
Şekil 44: Kontrol grubu üreter dokusu genel görünüm, PAS.....	81
Şekil 45: Kontrol grubu üreter dokusu, Masson Trikrom.	81
Şekil 46: Sham grubu üreter dokusu genel görünümü, H&E.....	81
Şekil 47: Sham grubu üreter dokusu genel görünüm, PAS.	82
Şekil 48: Sham grubu üreter dokusu genel görünüm, Masson Trikrom.....	82
Şekil 49: TRF YD grubu üreter dokusu, normal morfolojiye sahip, H&E.	82
Şekil 50: TRF YD grubu üreter dokusu, normal morfolojiye sahip, PAS.	83
Şekil 51: TRF YD grubu üreter dokusu normal görünüm, Masson Trikrom.....	83
Şekil 52: TRF DD grubu üreter dokusu normal morfolojiye sahip, H&E.	83
Şekil 53: TRF DD grubu üreter dokusu normal görünüm, PAS.	84
Şekil 54: TRF DD grubu üreter dokusu normal görünüm, Masson Trikrom.....	84
Şekil 55: RVT tedavi grubu üreter dokusu. H&E.	85
Şekil 56: RVT tedavi grubu üreter dokusu. PAS.	85
Şekil 57: RVT tedavi grubu üreter dokusu. Masson trikrom.	85
Şekil 58: Kontrol grubu mesane dokusu, H&E.	86
Şekil 59: Kontrol grubu mesane dokusu, PAS.	86
Şekil 60: Kontrol grubu mesane dokusu Masson Trikrom.....	87
Şekil 61: Sham grubu mesane dokusu, H&E.	87
Şekil 62: Sham grubu mesane dokusu, PAS.	87
Şekil 63: Sham grubu mesane dokusu, Masson Trikrom.	88
Şekil 64: TRF YD grubu mesane dokusu, H&E.	88
Şekil 65: TRF YD grubu mesane dokusu, PAS.	88
Şekil 66: TRF YD grubu mesane dokusu, Masson Trikrom.	89
Şekil 67: TRF DD grubu mesane dokusu, H&E.	89
Şekil 68: TRF DD grubu mesane dokusu, PAS.	89
Şekil 69: TRF DD grubu mesane dokusu, Masson Trikrom.	90
Şekil 70: RVT tedavi grubu mesane dokusu. H&E.....	90
Şekil 71: RVT tedavi grubu mesane dokusu. PAS.....	90
Şekil 72: RVT tedavi grubu mesane dokusu. Masson trikrom.....	91
Şekil 73: Kontrol grubuna ait testis dokusu. H&E.	92
Şekil 74: Kontrol grubuna ait testis dokusu. PAS.	92
Şekil 75: Testis dokusuna ait kesit. Masson Trikrom.....	92
Şekil 76: Sham grubuna ait testis dokusu. H&E.	93
Şekil 77: Sham grubuna ait testis dokusu. PAS.	93
Şekil 78: Sham grubuna ait testis dokusu. Masson trikrom.	93
Şekil 79: TRF YD grubu testis dokusu. H&E.	94
Şekil 80: TRF YD grubu testis dokusu. PAS.	94
Şekil 81: TRF YD grubu testis dokusu. Masson Trikrom.....	95

Şekil 82: TRF DD grubu testis dokusu. H&E.	95
Şekil 83: TRF DD grubu testis dokusu. PAS.	96
Şekil 84: TRF DD grubu testis dokusu. Masson Trikrom.	96
Şekil 85: RVT tedavi grubu testis dokusu. H&E.	97
Şekil 86: RVT tedavi grubu testis dokusu. PAS.	97
Şekil 87: RVT tedavi grubu testis dokusu. Masson Trikrom.	97
Şekil 88: Böbrek dokusunda nekroz ve fırça kenar kaybının Değerlendirmesi.	99
Şekil 89: Jonhson testiküler biopsi skorlaması.	100
Şekil 90: Gruplar Arasındaki TUNEL değerleri.	101
Şekil 91: Kontrol grubu böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	101
Şekil 92: Sham grubu böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	101
Şekil 93: TRF YD grubu böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	102
Şekil 94: TRF YD grubu böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	102
Şekil 95: TRF DD grubu böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	102
Şekil 96: TRF DD grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	103
Şekil 97: RVT tedavi grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler.	103
Şekil 98: Testis dokusuna ait TUNEL pozitif hücre değerlendirme tablosu.	104
Şekil 99: Kontrol grubu testis dokusu. TUNEL.	104
Şekil 100: Sham grubu testis dokusu. TUNEL.	104
Şekil 101: TRF YD grubu testis dokusu. TUNEL.	105
Şekil 102: TRF DD grubu testis dokusu. TUNEL.	105
Şekil 103: RVT tedavi grubu testis dokusu. TUNEL.	105
Şekil 104: Kan-BUN değerlerinin istatistiksel grafiği.	106
Şekil 105: İdrar-BUN değerlerinin istatistiksel grafiği.	107
Şekil 106: Kan-Kreatinin değerlerinin istatistiksel grafiği.	107
Şekil 107: İdrar-Kreatinin değerleri.	108
Şekil 108: Kan ürik asit düzeyleri.	109
Şekil 109: İdrar-Ürik Asit düzeylerini gösteren grafik.	109
Şekil 110: Böbrek Gpx değerleri.	110
Şekil 111: Testis dokusuna ait GPx değerleri.	111
Şekil 112: Üreter dokusuna ait GPx değerleri.	111
Şekil 113: Mesane dokusuna ait GPx sonuçları.	112
Şekil 114: Böbrek SOD değerleri.	112
Şekil 115: Testis SOD değerleri.	113
Şekil 116: Üreter SOD değerleri.	114
Şekil 117: Mesane SOD değerleri.	114
Şekil 118: Böbrek-MDA Değerleri.	115
Şekil 119: Testis MDA düzeylerine ait tablo.	116
Şekil 120: Üreter-MDA Değerleri.	116
Şekil 121: Mesane-MDA Değerleri.	117

KISALTMALAR

- a : arteriol
- ACE : anjiyotensin konverting enzim
- ADH : antidiüretik hormon
- Aff : afferent
- ANF : atrial natriüretik faktör
- ATN : akut tübüler nekroz
- EM : elektron mikroskobu
- Eff : efferent
- EPA : çevre koruma örgütü (ABD)
- GBM : glomerül bazal membran
- GFR : glomerül filtrasyon hızı
- IM : ışık mikroskobu
- JG : jukstaglomerul
- L : lumbar
- m : muskularis
- n : nervus
- RVT : resveratrol
- T : torakal
- TRF : trifluralin

TEŞEKKÜR

Histoloji ve Embriyoloji eğitimim uzun ve çok emek isteyen bir o kadar da keyif ve heyecan verici bir dönem oldu. Eğitimim boyunca bana desteklerini esirgemeyen değerli aileme sonsuz minnettarım. Ders ve tez dönemimde benden yardımlarını esirgemeyen güler yüzlü ve kıymetli hocalarım Doç. Dr. Alper BAĞRIYANIK, Doç. Dr. Güven ERBİL, Doç. Dr. Kazım TUĞYAN, Doç. Dr. Bekir ERGÜR, Doç. Dr. Ülker SÖNMEZ, Doç. Dr. Işıl TEKMEK, Doç. Dr. Çetin PEKÇETİN, Uz. Dr. Seda ÖZBAL, Arş. Gör. Serap CİLAKER MICİLİ, Yard. Doç. Dr. Alireza HEMMATİ, Doç. Dr. Müge KIRAY, Uz. Dr. Başak BAYKARA' ya çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans öğrenimim boyunca bana sabırla bilgilerini aktaran, özverisi ve ilgisiyle benim hep yanımda olan değerli danışmanım sayın Doç. Dr. Güven ERBİL' e sonsuz şükranlarımı sunarım.

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında örgenime başladığım ilk günden itibaren bilimsel ve manevi desteğini hep arkamda hissettiğim beni akademik olarak her konuda destekleyen değerli hocam Prof. Dr. Candan ÖZOĞUL' a çok teşekkür ederim.

Ders ve Tez dönemimde yardımlarını, bilgilerini ve özverilerini esirgemeyen değerli dostlarım Yard. Doç. Dr. Alireza HEMMATİ, Ezgi DURSUN, Hande TOPEL' e ve yüksek lisans arkadaşlarıma çok teşekkür ederim

1. ÖZET

TRİFLURALİN UYGULANMIŞ ERKEK SIÇANLARDA RESVERATROLÜN ÜROGENİTAL SİSTEM ÜZERİNE TERAPÖTİK ETKİLERİNİN HİSTOLOJİK VE BİYOKİMYASAL OLARAK ARAŞTIRILMASI

Ziya DENEK

**Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji
Anabilimdalı.**

AMAÇ

Bu çalışmamızda dinitroalaninli bir herbisit olan Trifluralin (TRF)' in erkek sıçanların ürogenital sistemi üzerine olası olumsuz etkisine karşın resveratrol gibi güçlü bir antioksidan ile terapötik etkilerinin histolojik, histokimyasal, immünohistokimyasal ve biyokimyasal olarak incelemeyi amaçladık.

YÖNTEM

Deneyssel modelimizde Wistar suşu erkek sıçanlar 5 gruba (n=7) ayrıldı. I. grup, kontrol grubu; II. grup, sham grubu; III. grup, TRF Yüksek Doz (YD) grubu: 2 gr./kg./gün; IV. grup, TRF Düşük Doz (DD) grubu: 0,8 gr./kg./gün; V. grup, Resveratrol (RVT) tedavi grubu: 10 mg./kg./gün resveratrol + 2 gr./kg./gün TRF 21 gün süre ile mide gavajı yöntemiyle verildi. Işık mikroskopik incelemeler için kesitler Hematoksilen&Eozin (H&E), Masson Trikrom, Periyodik Asit Schiff (PAS) ile boyandı. İmmünohistokimyasal olarak apoptoz belirlenmesi için ise terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick-end labeling (TUNEL) boyaması yapıldı. Biyokimyasal incelemeler için alınan dokularda superoxide dismutase (SOD), glutathion peroxidase (GPx) ve melondialdehit (MDA) düzeyleri incelendi. Kan ve idrar örneklerinde üre, kreatinin ve üre azotu (BUN) değerleri incelendi.

BULGULAR

Trifluralin verilen gruplarda Hematoksilen-Eozin boyamalarda böbrek dokusunda, proksimal tübüllerde dejenerasyon, hücre döküntüleri, vasküler ve tübüler dilatasyon, vakuolizasyon tiroidizasyon ve nükleer atipi gözlemlendi. Testis dokusu tübüllerinde ise dilatasyon, yaygın nekroz, spermatogenik seriye ait hücre diziliminde düzensizlik, tübülerde debritler; seminifer tübül lümeninde spermium hücrelerinin azalması ve bazılarında

görülmemesi gibi bulgular gözlemlendi. Üreter ve mesane dokularında herhangi bir histolojik ve morfolojik değişikliğe rastlanmadı. Peryodik Asit Schiff boyamada ve histomorfometrik incelemelerde böbrek dokusunda hücresel hasarlanma bulguları ve nekroza giden değişiklikler gözlemlendi. Testis dokusunda seminifer tübül bazal membranında ve intertityumda artış gözlemlendi. Masson Trikrom boyamalarında böbrek dokusunda peritübüler alanlarda nadir kollajen artışı gözlenirken üreter ve mesane dokularında normal histolojik bulgular hakimdi. TUNEL boyamasında böbrek ve testis dokusunda TRF Yüksek Doz ve TRF Düşük Doz gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı oranda TUNEL pozitif hücre artışı gözlenirken resveratrol tedavi grubunda kontrole yakın değerler gözlemlendi.

Böbrek ve testis dokusunda kontrol grubu ile TRF YD ve TRF DD kıyaslandığında MDA düzeylerinde anlamlı artış, SOD ve GPx düzeylerinde ise anlamlı bir azalma gözlemlendi. Resveratrol Tedavi grubunda ise Doz gruplarına kıyasla MDA düzeylerinde anlamlı azalış ve SOD ve GPx düzeylerinde anlamlı artış saptandı. Üreter ve mesane dokularında ise bu parametrelerde anlamlı değişim gözlenmedi.

Böbrek fonksiyon testi olarak kabul edilen Kan BUN ve Kreatinin seviyelerinde TRF YD ve TRF DD gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı artış tespit edildi. Resveratrol tedavi grubunda TRF deney gruplarına göre anlamlı azalma saptanırken kontrol grubuna göre anlamlı bir değişiklik bulunmadı. Ürik asit düzeylerinde ise kontrol grubuna kıyasla sadece TRF YD grubunda artış gözlemlendi. İdrar BUN ve Ürik asit düzeylerinde ise TRF YD ve TRF DD gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı düşüş gözlenirken, Kreatinin seviyelerinde sadece TRF YD grubunda anlamlı düşüş gözlemlendi.

SONUÇ

Elde ettiğimiz verilere dayanarak TRF'nin böbrek ve testis dokusunda oksidatif stresi arttırdığı, doku hasarı oluşturduğu ve biyokimyasal değişikliklere neden olduğu fakat üreter ve mesane dokularında uygulanan dozlarda hasar oluşturmadığı buna karşılık oluşan histolojik hasarı ve biyokimyasal değişiklikleri Resveratrolün anlamlı miktarda azalttığını gözlemledik.

Anahtar kelimeler: Trifluralin, resveratrol, testis, böbrek, üreter, mesane, apoptoz.

SUMMARY

HISTOLOGICAL AND BIOCHEMICAL RESEARCHES ON THERAPEUTIC EFFECTS OF RESVERATROL IN UROGENITAL SYSTEM OF TRIFLURALINE APPLIED MALE RATS

Ziya DENEK

Dokuz Eylül University Medical Sciences Institute Histology and Embryology Department.

PURPOSE

In this study, we aimed to study the therapeutic effects of resveratrol, a strong antioxidant, against possible negative effects of trifluraline (TRF), a herbicide with dinitroaniline, in urogenital system of male rats histologically, histochemically, immunohistochemically and biochemically.

METHOD

35 Wistar albino rats were divided into 5 groups (n=7). Group I. Control; Group II. Sham; Group III. High Dose Trifluraline (HD): 2 g/kg/day; Group IV. Low Dose Trifluraline (LD): 0,8 g/kg/day; Group V. Resveratrol Therapy: 10 mg/kg/day resveratrol + 2g/kg/day TRF were applied for 21 days by intragastric sonda.

Kidney, testis, ureter and urinary bladder tissue slides were stained with hematoxyline&eosine (H&E), Masson Trichrome and Periodic Acid Schiff (PAS) for light microscopy. Immunohistochemical TUNEL stain (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick-end labeling) was performed to determine apoptosis. Superoxide dismutase (SOD), Glutathion peroxidase (GPx) and Malondialdehyde (MDA) levels were evaluated biochemically. Urea, creatinine and urea nitrogen levels (BUN) were evaluated in blood and urine samples.

FINDINGS

In TRF treated groups, degeneration, vascular and tubular dilatation, cell debris, vacuolization, troidisation and nuclear atypia were observed at hematoxyline-eosine stained

kidney slides. Dilatation and wide necrosis in seminiferous tubules; irregular sequencing of spermatogenic cell series, debris in tubules, reduction of spermium in lumen or lack of spermium were observed. No histological and morphological changes were seen in ureter and bladder tissues. Cellular damage and necrotic change were observed on Periodic Acid Schiff stained kidney tissue slides. Basal membrane of seminiferous tubules and interstitial tissue was thickened. Rarely increased collagen fibers were observed in peritubular areas in Masson Trichrome stained kidney slides. No histological changes were seen in Masson Trichrome stained ureter and bladder tissue slides. In TUNEL labeling assay, number of TUNEL positive cells were significantly increased in TRF High dose and TRF Low dose groups in comparison with control group. In resveratrol group TUNEL positive cells were found significantly decreased.

According to MDA, SOD and GPx levels evaluations; MDA level was found higher, SOD and GPx levels were found lower in TRF High dose group and TRF low dose group than control group. MDA level was significantly lower; SOD and GPx levels were significantly higher in Resveratrol group than High dose and Low dose groups. There was no significant change in MDA, SOD and GPx levels in ureter and bladder tissues.

According to blood BUN and creatinine evaluations; BUN and creatinine levels were found increased in TRF HD and TRF LD in comparison with control. In Resveratrol therapy group, BUN and creatinine were found significantly lower than TRF groups but there was no significant difference in comparison with control. Uric acid levels show significant difference only in TRF HD group in comparison with control. Urine BUN and uric acid levels were found significantly higher in TRF HD and TRF LD groups than control, creatinine levels were significantly low only in TRF HD group.

CONCLUSION

According to our results; we consider that TRF increases oxidative stress, causes histological tissue damages and biochemical changes in kidney and testicles but applied TRF doses did not cause any damage in ureter and bladder. In conclusion we assume that Resveratrol can minimize the histological damage and biochemical differences significantly.

Key words: Trifluraline, resveratrol, testicle, kidney, ureter, urinary bladder, apoptosis.

2.GİRİŞ VE AMAC

Pestisitler, tarımsal ürünleri, hastalıklara, zararlı ve yabancı otlara karşı korumak için kullanılan her türlü bileşikler karışımıdır. Yoğun ve bilinçsizce kullanılan pestisit sonucu, tarımsal ürünlerde, kullanılan bileşiğin kendisi veya parçalanma ürünleri metabolitleri kalabilmektedir. Bunun yanı sıra toksik ve karsinojenik etkileri bilinmektedir (1).

Türkiye’de 2002 yılı sonu itibariyle 2109’a yakın ruhsatlı ilaç olup bunlar içinde yer alan etken madde 358 çeşittir (2). Pestisitlerin birçok yararları bulunmaktadır. Pestisit kullanılmaksızın üretim yapılması halinde % 65 kayıp olabilmektedir. Yararlarının yanı sıra; pestisitlerin ve parçalanma ürünlerinin toksik maddeler içermesi bir dezavantajdır. Bu ürünlerin bazıları hücre bölünmesini engelleyerek, yabancı otları öldürürler. Herbisitler, insanda cilt irritasyonu, kusma, diare, böbrek yetmezliği neden olmaktadır (2).

Trifluralin bir dinitroanalın herbisit grubudur. Trifluralin önceden hazırlanmış toprağa 5-7 cm derinliğe karıştırılarak uygulanmasına rağmen 40 m. derinliğe kadar etki edebilmekte bu nedenle yer altı sularına karışma riskini arttırmaktadır. EPA’ya (Environmental Protection Agency) göre; Trifluralin kontamine havayı soluma ile deri yoluyla ve trifluraline maruz bırakılmış besinlerin tüketilmesiyle vücuda alınabilmektedir (3). Toprakta yarılanma süresi 2-4 aydır (4). İnce bağırsak ya da sindirim sistemindeki mekanizması azotlu iyonlarla ve aminlerle bağlantılıdır. Absorbe edilen trifluralin güçlü bir şekilde metabolize edilir. Öncelikle azot yüklü olanlar reaksiyona girer ve son olarak tamamen idrarla atılır. Köpek ve sıçanlarda yapılan çalışmalar, TRF’ nin %20’ sinin üre içinde atıldığını göstermektedir, Bu oranın %90’ı da ilk üç günde idrar ile atılmaktadır (5). Trifluralin uygulanmış sıçanlarda testosteron, lüteinleştirici hormon ve folikül stimüle hormon seviyelerinde anlamlı azalma saptanmıştır. Trifluralin spermatogenezisi olumsuz yönde etkilemiş ve spermatogenik seriye ait hücrelerde, leydig hücrelerin ve sertoli hücrelerinde anlamlı azalma tespit edilmiştir (6).

Tarım ve Köy İşleri Bakanlığının yayınlamış olduğu 2007 istatistiksel bilgilere göre TRF Türkiye’ de 2007 yılı içerisinde 724.420 litre tüketilmiştir. 2007 yılında Türkiye’de özellikle ege ve Akdeniz bölgesinde en çok tüketilen herbisittir (7).

Bu denli çok tüketilen toksik pestisitlerin kullanımı, özellikle bilinçsiz kullanımı hem tarımla uğraşan çiftçilerimizi hem de bu besinleri tüketen halkı tehdit etmektedir. Biz bu

Çalışma ile deneysel modelimizde TRF'nin testis, böbrek, üreter ve mesane üzerine vermiş olduğu toksik etkileri yapılan diğer çalışmalar doğrultusunda inceleyeceğiz. Sıanda TRF'nin testis, böbrek, üreter ve mesane üzerine vermiş olduğu etkiler ışık mikroskopik (IM) ve biyokimyasal düzeyde incelemeye ve tedavi yöntemleri konusunda araştırmaya literatür taramamızda rastlanmamıştır. Yapacağımız çalışmanın literatüre ve tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine katkısı olacağı inancındayız.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Ürogenital Sistem Anatomisi

Fizyolojik bakımdan değişik fonksiyon gören iki ayrı sistem, çok defa "Urogenital Sistem" başlığı altında beraberce ele alınır ve incelenir. Vücut sıvılarının kimyasal bakımdan değişmez tutulması hayatın devamı için gereklidir. Bunun için de canlının metabolizma artıklarının organizmada toplanmaması ve vücuttan uzaklaştırılması zorunludur. Gereksiz ve zararlı maddelerin organizmadan atılması işinin bir kısmını üriner sistem organları yürütür. Bu organlar; idrarın yapıldığı böbrekler, idrarı ileten üreter ve depolayan mesane'dir (8). Bu organların tümü "Organa urinaria" adı verilen bölümü oluştururlar. Üreme ile ilgili organların oluşturdukları diğer bölüm ise "Organa genitalia" adını alır. Erkeklerde dış genital organlar bölümünde, idrar ve üreme yolları birleşirler. Ancak kadınlarda böyle bir birleşme yoktur (9).

3.1.1. Böbrek Anatomisi

Böbrekler bir çift organ olup karın boşluğunun üst ve arka tarafında, retroperitonel aralıkla, columna vertebralisin iki yanında, T12-L3 seviyesinde yer alır. Böbrekler şekil olarak bir fasulyeye benzerler. Facies anterior ve facies posterior olmak üzere iki yüzü, margo medialis ve margo lateralis olmak üzere iki kenarı, extremitas superior ve extremitas inferior olmak üzere iki ucu vardır (10).

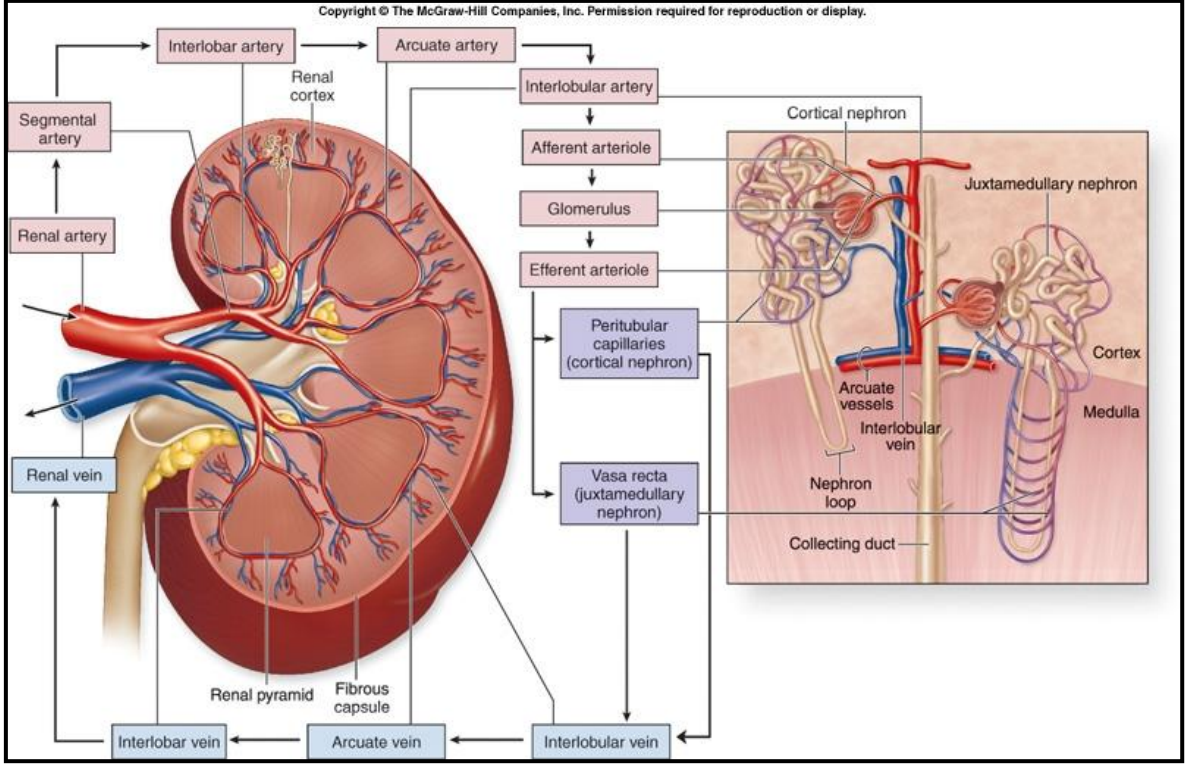
Böbrekler kan damarlarının dağılımına göre beş segmente ayrılır. Segmentum superius üst uçta, segmentum inferius alt uçta, segmentum anterius–superius ve segmentum anferius–inferius ön yüzün orta kısmında, segmentum posterius arka yüzün orta kısmında bulunur (8).

Böbrekler, vücutta aynı boyuttaki herhangi bir organdan çok daha fazla kan alır. Bunun nedeni böbreklerin kanı zararlı artık maddelerden temizleyen temel organ olmasıdır. Kalp atımının %20-25'ini kullanan böbrekler, her dakikada 1,2 lt. günde yaklaşık 1700 lt. kanı alır. Kan, günde 340 kez böbreklerden geçerek zararlı artık maddelerden arındırılır. Bu işlem esnasında 1700 lt. kanın 1/10'u yaklaşık 170 lt. glomerül filtrat, glomerül filtratın da yaklaşık %1'i kadarı 1,7-2 lt. idrar oluşur (11).

Arterio (a.) renalis'ler L1-L2 omurları sayesinde aorta Abdominalis'ten doğarlar. Böbreğin hem fonksiyonel hem de besleyici damarlarıdır. Hacmine göre kalın damarlardır.

Böylece kısa zamanda böbreklerden fazla miktarda kanın geçmesi sağlanır. Hilum renale'ye gelince a. renalis 5 segmental dala ayrılır. A. segmentalis denilen bu dalların dördü pelvis renalis'in önünden, segmentum posterius'a ait segmental dal ise pelvis renalis'in arkasından geçer. Sinus renalis'de tekrar dallarına ayrılır. A.interlobaris denilen bu dallar, kaliks minor'ların çevresinde columna renalis'e girerler. Columna renalis'te kortikomedullar birleşim yerine kadar ilerler ve yan tarafa kıvrılarak a.arcuata'yı yaparlar. Böbrek damarları birbiriyle anastomoz yapmazlar. A.arcuata'lardan dik olarak kortikal bölge içine ayrılan dallara a.interlobularis denir. Buradan çıkan dalcıklar arterio glomerularis afferens adını alır. Bunlar bowman kapsülünün damar kutbundan girerek rete capillare glomerulare denilen kapiller yumağını oluştururlar. Bu kapiller yumak tekrar birleşerek a.glomerularis efferens'i oluşturur. A.glomerularis efferens kortikal bölgedeki idrar kanalcıkları arasında peritübüler kapiller pleksusu yapar. Bu pleksus ile bowman kapsülünden süzülen suyun büyük kısmı ve diğer bir takım maddeler tekrar emilerek kan dolaşımına geri döner (8; 10; 11).

Bu kapiller pleksustan itibaren venöz dönüş başlar. İlk önce vena (v.) interlobularis'ler oluşur; sonra sırasıyla v.arcuata, v.interlobaris, v.segmentalis ve sonuçta v.renalis olarak v.cava inferior'a açılırlar. Böbreğin medullar bölgesini besleyen damarlar a.recta adıyla, kısmen a.glomerularis afferens'ten kısmen de a.arcuata'dan doğarlar. Medullar bölgeyi besleyen bu damarlar venula recta denilen venler aracılığı ile dönerek v.arcuata'ya açılırlar. A.interlobularis'lerin uç kısmından ayrılan ince dallar, a.capsularis adı ile böbrek dokusundan çıkarak capsula fibrosa ve capsula adiposa'yı beslerler. Venöz dönüş, v.capsularis, v.interlobularis ve v.arcuata ile devam eder. Böbrekte arteriovenöz anastomozlar vardır. Bu tür anastomozlar kaliks renalis'ler civarında, arteriol ve v.interlobularis'ler arasında, kortikal cevherin ince damarları arasında yer alır. Bu anastomozlar sayesinde herhangi bir nedenle glomerülüs'ten geçemeyen kanın bir kısmı veya tamamı süzülmeksizin doğrudan venöz sisteme geçebilir. A.renalis ve a.renalis'in böbrek içindeki dallarının daralması yüksek basıncı ile ilgili olduğundan çok önemlidir (8; 11) (Şekil 1).



Şekil 1: Böbreğin kanlanması (12)

Lenf damarları venleri takip ederek nodi lenfatik lumbaris'e (aortici laterales) açılırlar (8). Kortekste zengin bir lenf damar ağı olduğu halde medullada ve papillada yoktur. İki tane lenf pleksusu vardır; biri subkapsüler olup korteksin dış taraflarının drenajını yapar. Diğer pleksus ise korteksin daha derin kısımlarını drene eder ve böbrek iç damarlarını takip ederek hilusta böbrekten çıkar (13).

Böbreklerin sempatik sinirleri T10–12 ve L1 segmentlerden gelirler. Sempatikler n.splanchnicus minor ve n.splanchnicus minimus içinde seyrederek. Celiac ve aortico-renal ganglionlarda sinaps yaparlar. Damarların etrafında oluşan plexus renalis vasıtasıyla böbreğe dağılırlar. Parasempatikler vaguslardan ve n.erigentes'lerden olmak üzere iki kaynaktan gelirler. Sempatikler damarların düz kaslarına, pelvis ve kalikslerin düz kaslarına, tubulus renalislere ve jukstaglomerül (JG)'ler aparatlarına giderler. Sempatiklerin vazokonstriktör etkisi ve damardan geçen kan miktarının azalması sonucu kandan süzülen idrar miktarı azaltılmış olur. Parasempatikler ise pelvislerden dağılırlar ve vazodilatör etkisi olduğu düşünülmektedir. Duyu lifleri hem sempatikler hem de parasempatik sinirler ile taşınırlar (8; 11).

3.1.2. Üreter Anatomisi

Pelvis renalis, sinus renalis'ten çıktıktan sonra daralır ve aşağıya doğru üreter olarak devam eder. Üreter, yaklaşık 25–30 cm uzunluğunda, lümeni 1–10 mm arasında değişen düz kaslarla çevrelenmiş bir kanaldır. M.psoas'ların üzerine yaslanarak L2-L5 omurlarının transvers çıkıntıları boyunca vertikal şekilde uzanan üreter iliak damarları çaprazlayıp pelvis boşluğuna girer (11). Pelvis yan duvarı üzerinde spina ischiadica seviyesine kadar ilerler. Bu seviyede birden öne ve mediale dönerek mesanenin fundusuna oblik olarak açılır. Üreter, mesane duvarı içinde de 1,9 cm seyrederek. Üreter; pars abdominalis ve pars pelvica olmak üzere iki bölümden oluşur (8).

Üreteri besleyen damarlar başlıca a.renalis, a.testicularis (veya a.ovarica) ve aorta abdominalis'ten ayrılırlar. Ayrıca a.iliaca communis, a.iliaca interna, a.vesicalis superior, a.vesicalis inferior (erkeklerde) ve a.uterina (kadında)'dan da dallar alır. Venleri, üreter etrafında bir ağ oluşturur ve arterleri takip ederler (8).

Üreterin üst kısmının lenf damarları, böbreğin lenf damarları ile birleşerek nodi lenfatik lumbales'e, orta kısmının lenf damarları nodi lenfatik iliaci communes'e, alt kısmının lenf damarları ise nodi lenfatik iliaci externi ve nodi lenfatik iliaci interni'ye drene olurlar (8).

Üreterin sinirsel inervasyonu; plexus renalis, plexus testicularis (veya plexus ovaricus) ve pelvis içinde plexus hypogastricus'tan sempatik ve parasempatik sinir lifleri iledir ve medulla spinalis'in T11-L1 segmentlerine girer (10). Böbrek, pelvis renalis ve üreterin ağrı lifleri sempatik sinirler ile seyrederek. Renal kapsülde, toplayıcı sistemde ya da üreterde oluşan distansiyon ilk olarak nosisseptörleri(sadece genişlemeyle uyarılan sinir uçları) uyarır. Üst üriner sistemde direkt irritasyon bazı nosisseptörleri stimüle edebilir. Böbrek ve üreterdeki spinal segmentlerin sağladığı sempatik dağılım T8-L2 aracılığı ile direkt organ ağrısı veya yansıyan ağrı oluşturur. Ağrı subkostal, iliohipogastrik, ilioinguinal ve genitofemoral sinirlerinin dağılım alanlarında oluşur (8; 11).

3.1.3. Mesane Anatomisi

Mesane üreterler yoluyla gelen idrarın belli bir süre bekletildiği, gerektiğinde üretraya iletildiği, 300–500 ml hacimli içi boşluklu muskuler bir organdır (10).

Mesane'nin yeri, şekli, pozisyonu ve komşu organlarla ilişkisi, içindeki idrar miktarına ve yaşa bağlı olarak değişiklik gösterir. Erişkinde, boş kese pelvis minor içinde, pelvis

döşemesinin üzerinde ve symphysis pubica'nın arkasında yer alır. Os pubis'ten spatium retropubicum ile ayrılmıştır. Mesane doldukça pelvis major'a doğru yükselir, tam dolu kese umbilicus seviyesine kadar yükselebilir. 6 yaş civarında pelvis major içine girer. Ancak puberte sonunda pelvis minor'a iner. Üçgen piramit şeklindeki kesenin önde ve biraz yukarıda bir tepesi (apex vesica), arka-altta bir tabanı (fundus vesica veya facies posterior), bir üst yüzü (facies superior), iki taraflı alt-yan yüzleri (faciei inferolaterales) vardır. Ayrıca bir de mesane boynu (cervix vesica) tarif edilir (8).

Mesane'nin 4 bölümü vardır:

1. **Apex vesica:** Mesanenin sivri üst bölümü olup doluluk oranına göre Symphysis pubica'nın hemen yukarısında karın ön duvarıyla komşuluk yapar. Apexden göbeğe kadar uzanan bağa ligamentum umbilicale medianum denir.
2. **Fundus vesica:** Mesanenin, arka-aşağıda kalan bölümü olup sağ-sol üreter buraya açılır. İç yüzünde trigonum vesica bulunur.
3. **Corpus vesica:** Apeks ve fundus arasında kalan mesanenin en büyük bölümüdür.
4. **Cerviks vesica:** Mesane'nin en alt dar bölümü olup üretrayla uzanır (11).

Mesanenin ana arterleri; a.iliaca interna'nın dalları olan a.vesicalis superior ve a.vesicalis inferior'lardır. Ayrıca a.obturatoria ve a.glutea inferior'dan da ince dallar alır. Kadınlarda, bunlara ilaveten a.vaginalis ve a.uterina da mesanenin kanlanmasına ince dallar ile katılır. Venleri, mesane'nin çevresinde özellikle kese boynunda gelişmiş bir venöz ağ (plexus venosus vesicalis) oluşturur. Erkeklerde plexus v. prostaticum, kadında plexus v.vaginalis ile bağlantılı olan bu plexus, v.dorsalis penis'i (b.dorsalis clitoris) de alır. Sonuçta mesanenin arterleri ile yandaş olarak v.vesicalis superior ve v.vesicalis inferior ile v.iliaca interna'ya drene olurlar(8; 13).

Mesanenin üst kısmının lenf damarları nodi lenfatik iliacy externi'ye, alt kısmının lenf damarları ise nodi lenfatik iliacy interni'ye açılırlar. Cervix vesica çevresindeki bir kısım lenf damarları da nodi lenfatik sacrales ve nodi lenfatik iliacy communes'e drene olurlar (8).

Parasempatik lifleri, n.splanchnici pelvini aracılığı ile sakral parasempatik servikal (S)2–4 merkezlerden gelir. Parasempatik lifler m.detrusor vesica'yı uyarır. M.sphincter vesica'yı ise inhibe ederler. Böylece idrar üretra'ya geçer. Bu nedenle miksiyon merkezi

medulla spinalis'in S2–4 segmentlerinde bulunur. Sempatik lifler medulla spinalis'in T11–12 ve L1–2 segmentlerinden gelirler. Bu lifler m.detrusor vesica'yı inhibe eder. M.sphincter vesica'yı uyarır (8; 13).

3.1.4. Testis Anatomisi

Testis, spermatozoonlar ile androjenleri üreten, oval şekilli, bir çift, erkek temel üreme organıdır. Testisler sperma kordonu ile asılı halde vücut boşluğunun dışında bulunurlar, skrotum denilen kılıf içerisine yerleşmişlerdir ve birbirlerinden septum skroti ile ayrılırlar (13).

Testis içerisinde yerleşik olarak bulunan tubuli rekti ve rete testis ile testis dışında yerleşik olarak bulunan duktus epididimis, duktus deferens, duktus ejakülatöryus kanalları genital kanal sistemini oluşturur. Bu kanal sistemi ve bununla ilişkili olan vesikula seminalis, prostat bezi, bulboüretal bezler ve cinsel birleşme organı olan penis erkek üreme sistemini oluşturur (8).

Testisler 3 cm kalınlığında, 10-14 gr ağırlığında, 2-3 cm genişliğinde ve yaklaşık 4 cm uzunluğundadır. Bir testisin iki yüzü (facies lateralis ve medialis), iki ucu (extremitas superior ve inferior) ve iki kenarı (margo anterior ve posterior) bulunur (8).

Testisin en dışında bulunan skrotum deri fibröz kılıf ve kas liflerinden oluşur. Skrotum içten dışa doğru; peritoneum'un lamina periatealisi (periorchium), fascia spermatika interna, m. Cremaster, m. Obliquus, fascia spermatika externa, m. Obliquus, tunika dartos ve en dışta cutis (deri) den oluşur. Ayrıca skrotum içerisinde testis, epididimis, duktus deferens' in bir kısmı ve bu organlara gelen kan damarları ile sinirler bulunur (11).

Testisi skrotuma bağlayan sperma kordonu ise dıştan içe doğru; fascia spermatika externa, m. cremasterica fascia cremasterica, en içte ise fascia spermatika internadan oluşur.

2. lumbal vertebra seviyesinde aorta abdominalisten ayrılan, karın arka duvarından aşağı doğru uzanan ve daha sonra kanalis inguinalisten geçerek testis ve epididimisin kanlanması ve beslenmesini sağlayan arter; aortanın bir dalı olan a. testikularis dir (14). a. Testikularis pek çok dala ayrılarak kapsülü geçmeden önce intratestiküler damar ağını oluşturur.

Testis ve epididimis venleri plexus pampiniformis'i oluşturarak testis içindeki kapiller yatakların toplanmasına aracılık ederler ve funiculus spermaticus'u bir ağ şeklinde sararlar. Daha sonra birbirleri ile birleşerek v. testicularisi oluştururlar. Bu bölgenin sağ tarafında bulunan vena cava inferior, sol tarafta bulunan v. renalis sinistraya açılır (15). Testisin venöz kanı sağda v.cava inferiora, solda v.renalis'e dökülür. Testis venleri, testiküler arter ve duktus deferens spermatik kordonu oluştururlar.

Kan testis venlerinde arterlerden daha düşük ısıda bulunur. Düşük ısıdaki kan arteriyel kanın ıslısında azaltarak, testisin vücudun diğer kısımlarından daha düşük ısıya (35°C) sahip olmasını sağlar. Bu da spermiumların normal gelişimi için gerekli bir durumdur (13).

Testiste lenfatik drenaj, Yüzeysel Lenfatik Drenaj ve Derin Lenfatik Drenaj olmak üzere iki şekilde gerçekleşir. Yüzeysel Lenfatik Drenaj tunica vaginalisin üzerinde bulunur. Derin Lenfatik Drenaj ise epididymis ve testis'in içinde bulunur. Bu yapılar 1. lumbal vertebra seviyesinde aortanın her iki yanında bulunan lenf nodüllerine (nodi lymphatica lumbales=paraaortik lenf nodülleri) açılırlar, 4-8 damar şeklinde funiculus spermaticus ile birlikte karın boşluğuna girerler ve v. testicularisi izleyerek devam ederler(8; 15) .

Testis intermezenterik otonom sinir sistemi ve renal pleksus tarafından innerve edilmektedir. Yalnızca otonom innervasyona sahiptir, somatik innervasyonu yoktur. Sinirler testise arterleri takip ederek ulaşırlar. Leydig hücrelerini besleyen kapillerleri adrenerjik sinir lifleri innerve ederler (14).

3.2. Ürogenital Sistemi Fizyolojisi

Ürogenital sistem homeostaza katılan en önemli organ sistemlerinden biridir. Vücut sıvılarının hacim ve içeriğinin, kan basıncının, pH'nın, H₂O ve elektrolit dengesinin düzenlenmesi, hücrelerde metabolizma sonucu oluşan ve kana verilen artık ürünlerden kanın arındırılması üriner sistemin fonksiyonlarıdır. Üriner sistemi iki böbrek, iki üreter, idrar kesesi ve üretradan oluşmaktadır (16).

3.2.1. Böbrek Fizyolojisi

Böbrekler, kanın süzme işini yaparak idrarı oluştururlar. Oluşan idrar, üreterler aracılığı ile idrar kesesinde toplanır ve üretra ile dışarı atılır. İdrar ile atılan en önemli metabolizma artıkları üre ve ürik asit gibi nitrojen içeren artıklardır. Böbrekler aynı zamanda Ca metabolizmasının kontrolü ile ilgili bir vitamin D türevi olan 1,25-hidroksikolekalsiferol'ü

aktive eder (17). Böbreklerin sürekli çalışmasıyla nitrojen artıkları, plazmadan toksik düzeylere erişmeden atılmaktadır. Proteinlerin yıkımı ile oluşan ürün amonyaktır (NH_3). NH_3 , hücreler için çok toksik bir maddedir. Bu nedenle karaciğerde üre haline dönüştürülür ve böbrek tarafından atılır (18). Böbrekte idrarı oluşturan en küçük ünite nefrondur. Her böbrekte yaklaşık bir milyonun üzerinde nefron bulunur. Nefron, çift yapraklı bowman kapsülü içine yerleşmiş glomerül yumağı ve tübülüslerden oluşur. Glomerül yumağı, kanı filtre eder. Tübüller, idrar oluşturan bölümdür. Kan glomerüllerin kapiller bölgesine aff. arter ile gelir; gelen kan burada süzöldükten sonra eff. arter ile gider (19; 18).

İdrar, nefronda üç aşamada oluşur:

- a) Filtrasyon,
- b) Geri emilme (reabsorbsiyon),
- c) Salgılama.

a) Filtrasyon: İdrar oluşumunun ilk basamağıdır. Afferent arter ile glomerüle ulaşan kan proteinleri ve diğer metabolitler, bowman kapsülü içine süzölür ve süzölen içerik plazmanın yapısına eş değerdir. Glomerül filtrasyon hızı (GFR), birim zamanda süzölen plazma miktarı olarak tanımlanır. Normal değeri 125 ml/dk'dır. Dakikada 125 ml olan filtrasyon miktarı günde 180 lt'ye eştir. Kan plazma hacminin 3 lt olduğu düşünölecek olursa kan plazması günde tam 60 kez filtre edilmektedir. Buna rağmen çıkarılan idrar miktarı ortalama 1–1,5 lt kadardır. Buradan süzölen miktarın %99 kadarının tübülüslerden geri emilerek tekrar kana verilir (20).

GFR çeşitli faktörlere bağılı olarak değışebilir:

- Glomerül içindeki kanın hidrostatik basıncının azalması filtrasyonu azaltır, yükselmesi ise artırır.
- Aff. arter daralmasında böbreğe gelen kan miktarı azalırken, eff. arter daralması basıncı yükseltir.
- Glomerül kapillerindeki geçirgenlik artışları GFR'yi artırır.
- Bowman kapsülü içindeki sıvının basıncının artması filtrasyonu azaltır. Örn; böbrek taşları basıncı artırarak GFR'yi azaltır (20).

b) Geri emilim (Reabsorbsiyon); Filtrat içindeki su ve suda erimiş maddeler basit difüzyon ve aktif taşınma gibi bilinen taşınma yöntemleri ile önce tübülüs hücrelerine sonra da kana geri emilirler. Geri emilim %90 proksimal tübül bölgesinde yapılmaktadır. Bu bölgede geri emilen maddeler de yarattıkları ozmotik güç ile bir miktar H₂O'nun geri emilimini sağlarlar. Tübülüslerde geri emilemeyen madde miktarının artması H₂O'nun geri emilimini azaltarak diürece neden olur. Diüretik ilaçlar; bazı maddelerin geri emilimini engeller, mannitol ise tübülüslerden reabsorbe olamadığı için diürece neden olmaktadır. Bazı hormonlar geri emilim üzerine etki gösterirler. Aldosteron; distal tübül bölgesine etki ederek Na iyonunun geri emilimini artırırken, K iyonunun da idrar ile atılmasını hızlandırır. ADH; toplayıcı kanallardan H₂O'nun geri emilimi artırır, konsantre idrar çıkarılmasını sağlar ve temelde toplayıcı kanalların H₂O'ya olan geçirgenliğini kontrol eder. ADH yokluğunda ise atılan H₂O miktarı artar ve idrar dilue olur. Tübülüslerden aktif taşınma ile geri emilen maddeler için bir eşik değeri söz konusudur (19; 20).

c) Salgılama: idrar oluşması sırasında bazı maddeler doğrudan tübülüs epitel hücreleri tarafından tübülüs içine salgılanmaktadır. Penisilin bu tip maddelere iyi bir örnektir. Bazı maddeler ise hem glomerül filtrasyon hem de sekresyon ile idrara çıkmaktadır. Bu tip bir maddeye en iyi örnek ise kreatininidir (19).

Böbreklerde idrar oluşturulması sırasında kan plazması belli maddelerden arındırılmaktadır. Böbreklerin 1 dakika içerisinde herhangi bir maddeyi kaç ml plazmadan arındırdığını belirlemek için **klirens değeri** kullanılır (Şekil 2).

$$\text{Plazma Klirensi (pk)} = \frac{\text{Maddenin idrardaki konsantrasyonu (mg/ml)} \times \text{idrar hacmi (ml/dk)}}{\text{Maddenin plaza konsantrasyonu (mg/ml)}}$$

Şekil 2: Plazma klirens hesaplaması (20).

Böbrekler organizmanın asit baz dengesinin düzenlenmesinde önemli role sahip organlardır. Vücutta pH azaldığında yani asidoz olduğunda (vücut sıvılarında H⁺ konsantrasyonu arttığında) böbrekler idrarla H⁺ iyonu atılımını ve bikarbonat (HCO₃) emilimini arttırırlar. Yükselmelerinde ise (alkaloz) idrar ile bikarbonat atılımını hızlandırırlar. Vücut sıvılarının pH'ı çok dar sınırlar içinde değişmez tutulmaya çalışılırken idrarın pH'ı 4,5–8,0 arasında değişebilmektedir.

Böbreklerde bulunan **renin-angiotensin sistemi**, kan hacminin, kan basıncının ve glomerül kapillerdeki basıncın dolayısıyla GFR'nin düzenlenmesi yönünde çalışan bir sistemdir. JG apparatus her nefronun glomerül yumağına yakın bir bölümüne yerleşmiştir. JG hücreleri “renin” adı verilen proteolitik bir enzim salgılar (21; 18).

Bölgedeki tübülüs hücrelerine makula densa denmekte olup, distal tübül içinden geçen sıvının Na ve Cl iyon konsantrasyonlarına duyarlıdır. Renin-Anjiotensin sistemi ve etkileri arter kan basıncının düşmesi veya böbrek arterinin daralması sonucu GFR azalması distal tübüle geçen sıvıda Na ve Cl azalmasına neden olur. Bu durum macula densa hücrelerini uyarır ve renin salgılamasını başlatır. Renin hücrede bulunan ve polipeptid olan angiotensinojene etki ederek angiotensin I'in oluşmasını sağlar. Bu da böbrek ve akciğerde bulunan anjiyotensin konverting enzim (ACE) ile angiotensin II'ye çevrilir. Angiotensin II kuvvetli bir damar daraltıcıdır. Eff. arteri kasarak glomerül basıncını artırır. Bunun yanı sıra angiotensin II kan basıncını yükseltir. Beraberinde adrenal korteksten aldosteron salgısını uyararak tuz ve H₂O tutulumunu artırır. Hipotalamusa etki ederek ADH salgısını ve susama hissini uyarır. Bütün bunların sonucunda kan basıncı yükseltilip hücre dışı sıvı hacmi artırılmış olur (18; 19).

Tübüler Fonksiyonlar

Proksimal tübüllerde ultrafiltratın (H₂O, Na, Cl, K, glukoz dahil) %65'i geri emilir, emilim izozmotiktir.

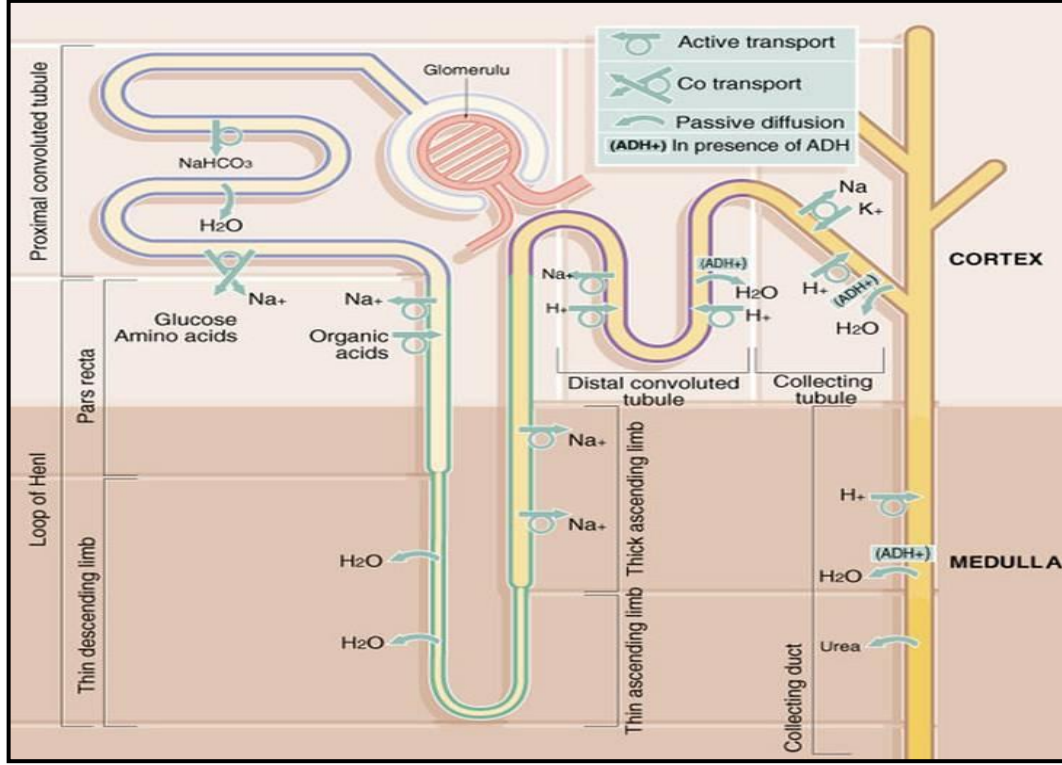
- Glukoz, aminoasit ve diğer organik maddeler (tama yakın) Na⁺⁺un aktif transportuna eşlik ederek taşınırlar (kotransport).
- Na⁺ tübüler hücrelerin bazolateral tarafından interselüler aralığa Na-K-ATPaz pompası ile aktif olarak geçirilir. Ca ve PO₄'da en çok proksimal tübülde geriye emilir.
- Bikarbonat geri emilirken H⁺ sekrete edilir ve proksimal tübülün sonunda bikarbonattan fakir Cl'u yüksek bir sıvı elde edilir. Bikarbonatın %90'ı buradan geri emilir.
- Proksimal tübülde glutaminden NH₃ sentezlenir ve bu H⁺ ile birleşerek amonyum iyonu (NH₄) olarak sekrete edilir. NH₄ en çok burada oluşur.
- Penisilin, simetidin, salisilatlar, fosemid, kinidin gibi ilaçlar ve ürik asit, oksalat, safra tuzları, kreatininin proksimal tübülün ikinci kısmında sekrete edilirler.

Bu bölümde paratiroid hormon; sıvı ve Na^{++} absorpsiyonunu, katekolaminler; sıvı absorpsiyonunu uyarır. Anjiotensin II Na^{++} reabsorpsiyonunu artırırken, Atrial Natriüretik Faktör (ANF) anjiotensinin bu etkisini bloke eder (18; 22).

Henle Kulbu; lümendeki sıvının konsantrasyonunu ve dilüsyonunu ayarlar. Girişte izotonik olan filtrat henle kulbunu terkederken hipotonik olur. Öncelikle henlenin inen kısmında H_2O interstisial aralığa emilir ve henlenin tepesine kadar lümen içindeki filtrat gittikçe hipertonik olur henlenin çıkan ince kolunda ise NaCl interstisial aralığa emilirken üre lümenine salgılanır. Bu bölüm H_2O 'ya geçirgen olmadığından lümendeki sıvı gittikçe dilüe olur. Aynı NaCl Emilimi henlenin kortikal çıkan kalın ayağında da Na/K/2Cl pompası ile devam eder. Henlenin çıkan kalın kısmı da ADH varlığında bile H_2O 'ya geçirgen değildir. Sonuç olarak lümendeki sıvı distal tübüle ulaştığında hipoosmolar (yaklaşık 150 mosm/l)'dir. Üre miktarı başlangıca göre artmıştır ve henle kulbundaki işlemler sonucu ayrıca interstisyumun osmolaritesi artmış olur. Mg'da en çok henle kulbunda geri emilir (19; 23).

Distal Tübülde;

- Aldosteronun etkisi ve bazolateral membrandaki Na-K-ATPaz ile NaCl Emilimi, K sekresyonu gerçekleştirilir.
- Bu segmentte ayrıca bikarbonat geri Emilimi ve H^+ sekresyonu gerçekleşir (asidifikasyon).
- Distal tübülün ilk kısımları H_2O 'ya geçirgen değildir ve ADH'ya cevap vermez.
- Mg ve Ca geri Emilimi burada da olur.
- Kortikal toplayıcı kanalda ADH'a duyarlı H_2O Emilimi gerçekleşir. ADH yokluğunda bu kısım da H_2O 'ya geçirgen değildir. Aldosteron etkisi burada da devam eder (Şekil 3).



Şekil 3: Böbrek tübüllerinde sekresyon ve reabsorpsiyon (24).

Medüller toplayıcı kanal: Na⁺ geri Emilimi aldosteron ve mevcut Na⁺ konsantrasyonu ile ayarlanır. ADH varlığında H₂O Emilimi ve üre Emilimi gerçekleşir. Tüm toplayıcı kanal boyunca aldosteron etkisi ile Na geri Emilimi ve K sekresyonu gerçekleşir. Aldosteronun en fazla etki ettiği hücre, kortikal toplayıcı kanallardaki esas hücrelerdir. K sekresyonu ve reabsorpsiyonu böbreğin değişik bölümlerinde olur ama son ayarlama toplayıcı kanallarda yapılır. Na toplayıcı kanallarda selektif kanallarda Emilirken, bunun dışındaki bölgelerde diğer sıvılara bağlı olarak Emilir (19; 23).

Böbreklerden reabsorpsiyon oranı; H₂O %98–99, Na > %99, Cl %99, HCO₃ ~ %100, K %80–95, Üre %40–50'dir. PO₃⁻³'ün %70'i proksimal tübülden, geri kalanı distal tübülden ve toplayıcı kanallardan Emilir. Ca'un % 55'i proksimal tübülden; geri kalanı henle kulbu, distal tübül ve terminal N'dan Emilir. Proksimal tübülden Na ve sıvı reabsorpsiyonunu azaltan (tuzlu sıvı infüzyonu, asetozolamid, hiperkalsemi gibi) durumlar, Ca reabsorpsiyonunu da azaltır. Mg en çok henle kulbunda geri Emilir (%50–60). Volum artışı, tuzlu sıvı infüzyonları, mineralokortikoidler, Mg absorpsiyonunu azaltır (23; 25).

Böbreğin diğer fonksiyonları: Eritropoetin; korteks ve dış medulladaki peritübüller kapiller endotelden ve interstisial hücrelerden hipoksi, anemi ve iskemi gibi uyarılarla sentezlenir ve kemik iliğinde eritroid serinin farklılaşmasını uyarır (23).

Böbrek düşük moleküler ağırlıklı proteinlerin (<50.000mol) katabolizmasında rol alır (örn: insülin, glukagon). IGF-1 böbrekte sentezlenir. PGE2, PGI2 gibi vazodilatörler ve tromboksanlar gibi vazokonstriktör maddeler böbrekte lokal olarak sentezlenebilir. PG'ler; natriüretik, vazodilatör ve ADH'ya antagonistik özellik gösterirler. Böbrekte PTH 1-alfa hidroksilazı uyararak aktif vit-D sentezini sağlar(1-25 dihidroksi vit-D3) (24).

Sıvı ve elektrolit dengesi: Organizma H₂O ve elektrolitlerini dar bir aralıkta sabit tutmaya çalışır ve bunun için çeşitli kompanzatuvar sistemleri devreye sokar. Sıvı kaybında ilk kompanzasyon mekanizmaları; 1.Taşikardi, 2.Periferik arter vazokonstriksiyonu, 3. Venöz konstriksiyonudur. Bu cevaplar dakikalar içinde olur. Böbrek cevabı ise 12-24 saat içinde gelişir (25).

3.2.2. Üreter Fizyolojisi

Üreterlerin görevi; idrarın böbreklerden mesaneye taşınmasıdır. Normal şartlarda, üreteral peristaltizm üriner toplayıcı sistemin proksimal tübül kısmında bulunan pacemaker noktalarından çıkan elektriksel aktivite sonucu oluşur. Oluşan elektrik sinyali distale doğru iletilirken peristaltizmin mekanik hareketine neden olur. Üreter kasılarak idrarın distale doğru iletilmesini sağlar (22; 23). İdrar ile dolmaya başlayan renal pelvis içinde basıncın artmasıyla idrar, içi boş ve lümeni kapalı durumda bulunan üreterin üst bölümüne atılır. Bu andan itibaren üreter içi basınç artmaya başlar. Üreteropelvik bileşke kapalı olduğundan üreter içi basınç böbreğe yansımaz. Üreterin en üst bölümünden başlayan kontraksiyon dalgası önüne kattığı idrarı bir alt üreter segmentine iletir. İdrarın etkili bir biçimde ilerletilebilmesi için kontraksiyon dalgasının tüm üreter etrafını sarması gereklidir. İstirahat halindeki üreter içi basınç 0-5 cm-H₂O kadardır. Kontraksiyon esnasında bu basınç 20-80 cm-H₂O arasında değişir. Kontraksiyon sayısı dakikada 2-8 kadardır (26).

Üreterin belirli bir zamandaki taşıyabileceği en yüksek idrar miktarı bellidir. Normal akım hızlarında üreterde taşınan idrar miktarı üreterin maksimum taşıma miktarından çok daha azdır. Standart perfüzyon çalışmalarında olduğu gibi akım hızının aşırı arttığı durumlarda üreter duvarı çökmez ve bolus tarzı ileti yerine devamlı bir idrar akımı sağlanır.

Artan idrar akımıyla birlikte üreterin ilk cevabı peristaltik hareketini arttırmasıdır. Maksimal sıklığa ulaşıldığında idrar taşınmasındaki artış idrar yükünün hacminin arttırılması ile sağlanır (23; 27).

3.2.3. Mesane Fizyolojisi

Normal miksiyon, duyuşal sinir mesanenin dolduğunu iletteğinde, fiziksel ve sosyal olarak uygun bir zamanda istemli olarak gerçekteşir. İdrar depolama evresi ve boşaltma evresi olmak üzere iki evrede incelenebilir. Depolama evresi boyunca giderek artan sempatik uyarı ve baskılanan parasempatik uyarı ile mesanenin iç basıncı düşük tutulur. Üretral sfinkter EMG aktivitesi giderek artar. Normal bir mesanede iç basınç 0–6 cm-H₂O olup 15 cm-H₂O'yu aşmamalıdır (28; 29). Mesane duvarının kompliyansı 10 cm-H₂O'ya dek yeterli olur. Sıkışma hissi ile birlikte (300 ml) detrüörü gevşeten, sfinkteri kasan refleks yollar aktive olur. Normal mesane kapasitesi 400–750 ml arasında değişkenlik gösterebilir. İlk doluluk hissi 100–200 ml, doluluk hissi 300–400 ml, acilen boşaltma gereksinimi ise 400–500 ml'de hissedilir (29).

Depolama evresinde düşük mesane iç basınçlarında hipogastrik-pudental (sempatik) sinirler, yüksek mesane iç basınçlarında (>15 cm-H₂O) pelvik-pudental sinirler aracılığı ile detrüörün refleks inhibisyonu sağlanır (30). Sakral segment arka boynuzuna gelen aktivite ara nöronlar tarafından baskılanabilir. Kapı-kontrol teorisi olarak açıklanan kalın somatik duyuşal lifler ile ince mesane afferentleri arasındaki inhibitör etkileşim de buna katkıda bulunur. Boşaltma evresinde mesanedan gelen uyarılar ve dorsolateral pons ve mamiller cisimlerde giderek artan aktivite idrar yapma eşiğini düşürür (28). Üretral sfinkterde EMG aktivitesi kesilir ve sfinkter basıncı düşer. Sfinkter mekanizmasının sakral idrar merkezine yaptığı refleks inhibisyonu ortadan kalkar, sempatik aktivite inhibe olur, parasempatik yollar aktive olur ve sonuçta detrüör kasılır. Normal detrüör basınçları kadında 30 cm-H₂O'nun altında, erkekte 30–50 cm-H₂O arasındadır (29).

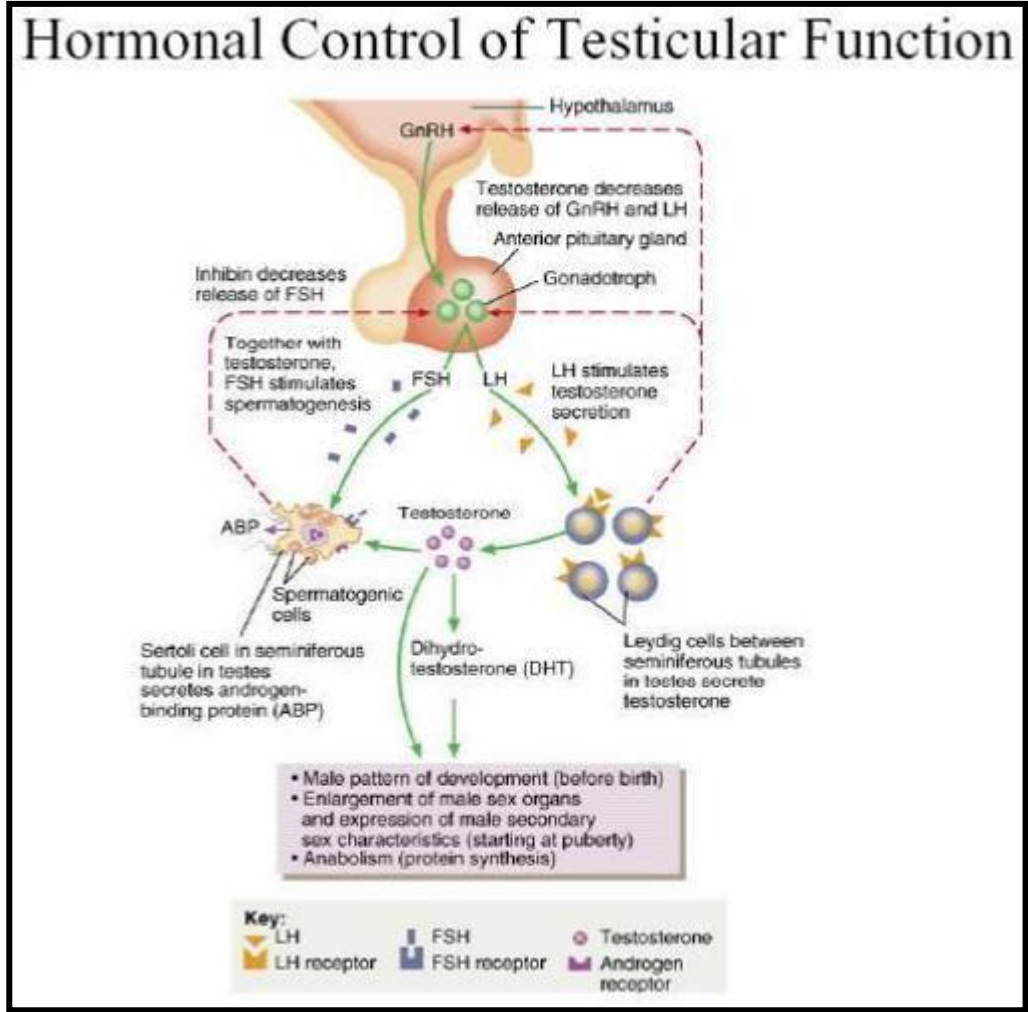
İdrar yapma sırasında karın içi basınçta artış olmamalıdır. Normal maksimum akım hızı 15–20 ml/sn olup hiçbir yaş grubunda 10ml/sn altında olmamalıdır. Normalde idrar yapma sonrası rezidüel idrar (PVR) kalmamalıdır. PVR kateter ya da ultrason yardımı ile ölçülebilir. Sağlıklı erişkinde idrar yapma sonrası rezidüel idrar kalmaz. Ancak hiçbir yakınması olmayan yaşlılarda 100–150 ml kadar rezidüel idrar olabilir (30).

3.2.4. Testisin Fizyolojisi

Testisler iki temel işleve sahiptir. Bunlar erkek germ hücresi olan spermiumların üretilmesi ve seks hormonu testosteronun sentezlenmesi, depolanması ve salgılanmasıdır. Testis'in bu işlevi puberte döneminde başlar ve hipotalamo-hipofizer sistemin kontrolü altındadır. Hipotalamustan salgılanan gonodotropin serbestleştirici hormon (GnRH) hipofiz bezinin ön lobundan luteinize edici (LH) hormonun salgılanmasını uyarır. LH ise Leydig hücrelerinde bulunan reseptörlere bağlanarak bu hücrelerde kolesterolden başlıca testosteron olmak üzere östrojen dahil diğer hormonların sentezlenmesini sağlar. Diğer bir hipofiz ön lobu hormonu olan follikül uyarıcı hormon (FSH) ise yine hipotalamustan GnRH hormonu aracılığı ile salgılanır ve Sertoli hücrelerinde androjen bağlayıcı protein'in (ABP) sentezini ve salınımını uyarır. ABP testosteronu bağlayarak onun seminifer tübüllerde yüksek yoğunlukta kalmasını sağlar. Bu şekilde bölgesel olarak ortamda yüksek yoğunlukta bulunan testosteron FSH'nin etkisiyle spermatogenezin normal olarak gerçekleşmesine olanak tanır. Testisler günde holokrin tip salgılama ile yaklaşık 200.000.000 spermiumun oluşumunu sağlar (25).

Hormonal Kontrol

Beyinden salgılanan nöropeptitler ve nörotransmitterler (dopamin, norepinefrin, asetil kolin, serotonin) hipotalamusta gonadotropin salgılayıcı hormonun (GnRH) salgılanmasını uyarır. GnRH hipofizden glikoprotein yapısında folikül stimüle edici hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH) salgılanmasını sağlar. LH spermatogenezisi dolaylı olarak uyarırken, endojen testosteron üretimini de aktive eder. FSH'nin hedefi ise spesifik reseptörleri olan Sertoli hücreleridir. Bu nedenle testosteron ve FSH, seminifer tübül epiteline etki eder. Androjen bağlayan protein (ABP) bir Sertoli hücresi ürünüdür. Testosteron LH'nin birincil inhibitörüdür ve potent etkili dihidrotestosterona ya da potent etkili östradiole (E2) dönüşebilir. Testosteron hipotalamik, östrojen ise hipofizer yolla inhibitör etki yapar. FSH'nin inhibisyonu sertoli hücrelerinden salgılanan inhibin adlı nonsteroid bir maddeyle olmaktadır (19; 25).



Şekil 4: Testisin hormonal kontrolü (31).

Inhibin

Sertoli hücrelerinde üretilen ve hipofiz bezinden FSH salınımını inhibe eden protein yapıdaki bir hormon olan inhibinin sürekli salgılanması durumuna FSH üretimi baskılanırken spermium sayısı azaldığında FSH miktarı artar (13).

Spermatogenez

Spermatogenez, 46 kromozomlu spermatogonyanın 23 kromozomlu spermatozoalara dönüşüm sürecidir. Testis kitlesinin %85-90'ını oluşturan seminifer tübüllerde Sertoli hücreleri ve değişik evrelerde germ hücreleri bulunur. Sertoli hücreleri sabit sayıda, çoğalmayan hücrelerdir. Seminifer tübül bazal membranında birbirlerine sıkı şekilde bağlanarak kan-testis bariyerini oluştururlar. Bu bariyer, germ hücrelerinin immün sistemle karşılaşmasını ve infertilite oluşmasını engeller. Sertoli hücreleri bir taraftan gelişen germ

hücrelerini beslerken, bozulanları ve diğer yabancı artıkları fagosite eder. Ayrıca ABP, FSH reseptörleri ve inhibin üretimiyle androjen ve östrojen yıkılımını sağlar. Spermatogonya ve genç spermatositler seminifer tubulusların bazal tabakasında bulunurken, olgun spermatositler ve spermatidler adlüminal tabakada yer alırlar. Bazal tabakadan adlüminal tabakaya geçişte kan-testis bariyeri bozulmaz. Germinal hücreler bazal membrandan lümene doğru farklılaşma sırasına göre dizilirler. Primitif spermatogonyadan ya yeni spermatogonya ya da spermatosite dönüşecek hücreler oluşur. Primer spermatositten sekonder spermatosit oluşurken kromozom sayısı yarıya, yani 23'e iner. Bunlar spermiogeneze uğrayarak spermatid ve olgun spermatozoa şeklini alır. Tüm bu aşamalar için gerekli süre 64-74 gündür. Spermatogenezin başlaması için FSH, sürdürülmesi için ise testosteron gereklidir. Testiküler spermler hareketsizdir; ovumu fertilize edemez. Spermatozoa bu yeteneği ancak epididimden geçerken kazanır. Spermlerin epididimden geçiş süresi yaklaşık iki gündür. Rete testis sıvısıyla duktus deferense gelen spermler, bu hücrelerin su reabsorbe etmesiyle oluşan basınç farkı, epitel hücrelerinin siliyer hareketleri ve en önemlisi de miyoid hücrelerin kasılması ile taşınır. Sperm, epididim içinde ilerledikçe motilite kazanır ve ovumu dölleyebilme özelliği kazanır. Epididim fonksiyonu, androjene özellikle dihidrotestosterona bağlıdır. Epididim kanalındaki epitel hücrelerinden salgılanan maddelerin tümü sperm olgunlaşmasında etkilidir. Duktus deferens spontan motiliteye sahip bir organdır. Düzensiz küçük kasılmalarla sürekli sperm taşır. Cinsel uyarılarla bu taşıma hızlanır. Ejakülat ortalama 3-3,5 ml'dir, seminal plazma ve spermatozoadan oluşur. Total volümün %1'inden azı spermatozoadır. Ortalama 3,5 ml ejakülatın 1,5-2 ml'si veziküloseminalisten, 0,5 ml'si prostattan, 0,1-0,2 ml'si Cowper ve Littre bezlerinden gelir. Ejakülatın ilk bölümü duktus deferensin ampullasındaki spermleri ve prostat salgısını içermediğinden spermden zengindir. Daha sonraki kısımlar çoğunlukla veziküloseminalis salgısından oluşur. Normalde ejakülatın her mililitresinde 60-120 milyon spermatozoa bulunur. Ovumu aşılabilmesi için bu sayının en az 20 milyon olması ve ayrıca spermlerin en az yarıdan fazlasının hareketli, yine %60'nın morfolojik açıdan normal olması gerekir. Spermatozoa, 50-60 mikron uzunluğunda küçük, hareketli ve atipik bir hücredir. Kadın üreme organlarında yaşama süresi ortalama 48-72 saattir. Cinsel uyarının çok yüksek olduğu, ejakülasyona yakın zamanda duktus deferensin ampullasındaki spermler, prostat ve vezikülo seminalis salgıları arka üretrada toplanır. Mesane boynu ve iç sfinkter kapanır, çizgili dış sfinkter açılır. Perineal ve bulbokavernöz kasların kasılması ile ejakülat ritmik hareketler şeklinde dışarı atılır (25; 32).

3.3. Ürogenital Sistem Histolojisi

3.3.1 Böbrek Histolojisi

Böbrekler; karın boşluğunun arka kısmında, üst lomber vertebraların her iki yanında yerleşik, retroperitoneal bir çift organdır. Böbrek, sağlam fibroz bir kapsülle örtülmüştür. Kapsülde az sayıda elastik fibril bulunur. Kapsülün böbrek üzerinden kolayca soyulması septum bulunmadığını gösterir. Böbreğin medial yüzünde hilus denen derin bir çöküntü vardır. Hilustan a.renalis girer, v.renalis ve üreter çıkar (33). Her böbreğin üstünde, böbrek yağ dokusu içerisine gömülmüş adrenal bezler bulunur (30).

Böbrek boyunca alınan sagittal bir kesitte dışta daha koyu renkli bir korteks, içte ise koniksel şekilli böbrek piramitlerini içeren medulla gözlenir. Medulladaki 8–18 kadar soluk çizgili görünümlü koni ya da piramidal yapılara renal piramit denir. Renal piramidlerin bazal yüzeyleri kortekse bakar, apikal yüzeyleri ise kaliks minorların lümenine sokularak papilla renalis oluşturur. Papilla renalislerin tepesinde, idrar tübülüslerinin kaliks minore açıldığı 10–25 kadar sayıda foramina papillaria bulunur. Papillanın delikli tepe kısmına area kribroza denir. Piramidlerin bazal yüzünden kortekse doğru uzanan radier çizgilenmeler vardır. Bu çizgilenmelere ferrein piramitleri denir (34).

Korteks bölgesi kortikal labirent ve medullar ışınlara ayrılır. Medulla, 10–18 renal piramitten oluşur. Her bir piramidin ucu, area kribrozada 15–20 adet papiller kanal (bertini) tarafından delinir. Her renal piramit böbreğin bir lobunu oluşturmaktadır. Komşu renal piramidler arasındaki medulla bölgesi böbrek sütunları (bertini) ile doludur. Her meduller ışın renal medullanın kortekse doğru uzantısıdır. Böbrek lobülünün merkezini oluşturur (35).

Her böbrek gevşek bağ dokusu, kan damarları, lenfatikler ve sinirleri içeren bir stroma ile çevrelenmiş, 1,3 milyon kadar üniter tübüle sahiptir. Her idrar taşıyıcı tübül, iki kısımdan oluşur (30).

1-Nefron

2-Toplayıcı Kanallar

1-Nefron iki bileşenden oluşur;

- Glomerül,

- Böbrek tübülü (5–7 mm uzunluğunda).

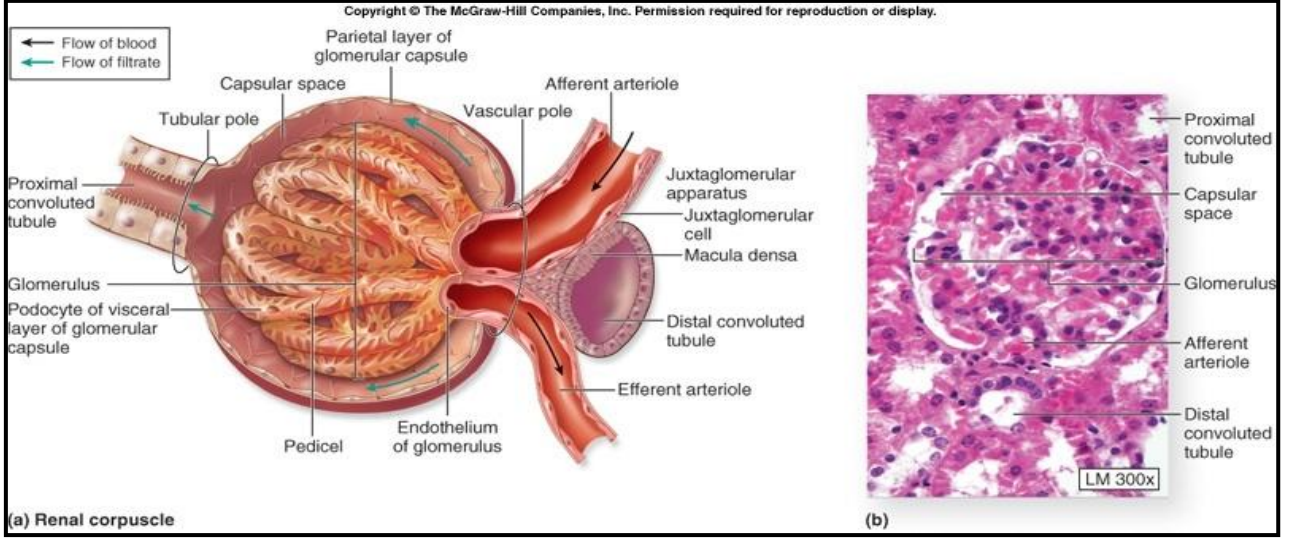
Glomerülde (Böbrek cisimciği, malpighi korpüskülü) dolaşan kandan filtrasyonla oluşan sıvıya glomerüler filtrat denir. Glomerüler filtrat bowman kapsülünün 2 yaprağı arasında birikir. Bu sıvının bileşimi nefronun değişik bölümlerinden geçerken bazı maddelerin salgılanması, içindeki su ve bazı maddelerin reabsorbe olması ile değişir. En son ürün, idrar kollektör kanallarla pelvis renalise yollanır. Nefronun başlangıç kısmı olan malpighi korpüskülü kortekste bulunur (33).

Bowman kapsülü iki tabakalı epitel bir kapsülle sarılmıştır. Kapsülün iç tabakası (**visseral tabaka**) glomerülün kapillerini içeri alır. Dış tabakada renal cisimciğin en dıştaki visseral tabakadan süzülen sıvının toplandığı idrar boşluğu bulunmaktadır. Her böbrek cisimciğinde aff. arterlerin girdiği ve eff. arterlerin çıktığı bir damar kutbu ve proksimal tübüllerin başladığı bir idrar kutbu vardır. Afferent arter renal cisimciğe girdikten sonra genellikle her biri kapillerlere bölünerek glomerülü oluşturan 2 ile 5 primer dala ayrılır (29; 30).

Pariyetal tabaka ince bir retiküler lif tabakası ve bazal lamina ile desteklenen tek katlı yassı epitelden oluşur. İdrar kutbunda epitel proksimal tübül için tipik olan tek katlı prizmatik ya da tek katlı kübik epitele değişir. Embriyonik gelişim sırasında pariyetal tabakanın epiteli nispeten değişmeksizin kalırken içteki visseral tabaka büyük ölçüde değişir (29; 33).

Visseral tabakadaki hücrelerin gövdelerinden birkaç birincil uzantı şekillenir ve bu hücreler ayaklı hücreler (**podositler**) adını alır. Her bir primer uzantı ayakçık denen glomerülün papillerlerini saran çok sayıda ikincil uzantı (**pedisel**) oluşturur. İkincil uzantılar, 25nm'lik sabit bir mesafede, bazal lamina ile doğrudan temas halindedir. Ancak podositlerin hücre gövdeleri ve hücre uzantıları bazal laminaya temas etmez (33).

Aynı podositten veya komşu podositlerden hücrelerin uzantıları şeklinde çıkan pediseller, bazal laminayı kaplamak için birbirlerinin içine geçerler ve süzme yarıkları (slit membran) olan boşluklar ile ayrılırlar. Süzme yarıkları membranöz materyal olan filtrasyon yarığı diyaframı ile birbirlerine bağlanırlar. Pediseller, bazal laminaya $\alpha_3\beta_1$ integrin ile tutunurlar. Süzme yarığı diyaframı aktin filamentlerine CD2AP proteini ile tutunan nefrin proteininden oluşur. Nefrinin endotel pencerelerinden ve bazal laminadan moleküllerin geçişini geciktirdiği düşünülmektedir (36) (Şekil 4).



Şekil 5: Bowman kapsülü (37).

Podositlerin sekonder uzantıları birbirleri ile aralarında 25nm'lik aralık olacak şekilde kenetlenir, bu aralıklar süzülme ya da filtrasyon yarıklarını oluşturur. Komşu uzantıları bağlayan 6nm kalınlığında bir perde bulunur. Podositlerin sitoplazmasında bunların kasılabilmesini sağlayan aktin mikrofilyament demetleri vardır. Glomerül kapillerindeki endotel hücreleriyle bunların dış yüzeyini örten podositler arasında kalın (yaklaşık 0,1 mikrometre) bir bazal membran bulunur. Bu tabakanın kapiller ile idrar boşluğunu bir birinden ayıran bir süzülme engeli oluşturduğu düşünülmektedir. Bu bazal membran kapillerin ve podositin oluşturduğu bazal laminaların kaynaşmasından meydana gelmiştir (36).

Böbrek tübüllü üç bölümden oluşur:

- Proksimal tübül,
- Henle kulbu,
- Toplayıcı tübüle boşalan distal tübül.

Böbrek cisimciklerinin dağılımına bağlı olarak nefronlar, kortikal veya jukstamedullar olarak isimlendirilirler. Kortikal nefronların tübülleri, medullaya girmeyen kısa bir henle kulbuna sahiptir. Jukstamedullar nefronların tübülleri medullar derinliklerine uzanan uzun bir henle kulbuna sahiptir (35).

Proksimal tübüller, renal cisimciğin idrar kutbunda bulunur. Bowman kapsülünün pariyetal yaprağının tek katlı yassı epiteli proksimal tübüllerde prizmatik epitel şeklinde

devam eder. Bu kısım distal tübüllerden daha uzundur ve bu yüzden kortikal labirent içindeki renal cisimciklerin yanında daha sık görülürler. Proksimal tübüller tek katlı kübik ya da prizmatik epitelle örtülüdür. Bu epiteldeki hücreler, içerdikleri çok sayıda uzamış mitokondri nedeniyle asidofilik sitoplazmaya sahiptirler. Hücre apeksinde fırçamsı kenarı oluşturan yaklaşık 1nm uzunluğunda çok sayıda mikrovillus bulunur (33; 38).

Bu hücrelerin apikal sitoplazmalarında mikrovillusların tabanları arasında çok sayıda kanalikül bulunur. Bu kanaliküller proksimal tübül hücrelerinin makromolekülleri emme kapasitesinde etkin rol oynarlar. Apikal membranların içine doğru yaptığı girintiler pinositotik vezikülleri oluşturur. Bu veziküller içinde glomerül süzgecinden geçen moleküller bulunur. Makro moleküllerin parçalandığı yer olan lizozomlarla pinositotik veziküller kaynaşır ve oluşan monomerler dolaşıma geri döner. Bu hücrelerin bazal bölümlerinde yoğun membran katlanmaları ve komşu hücreler arasında lateral kenetlenmeler bulunmaktadır. Na iyonlarının aktif olarak hücre dışına atılmasından sorumlu olan Mg^{+2} 'a bağımlı Na^+ /K^+ -ATPaz (sodyum pompası) bu bazolateral membranlarda bulunur. Mitokondriler hücrenin tabanında yoğunlaşmıştır ve hücrenin uzun eksenine paralel dizilim gösterirler. Mitokondrilerin bu şekilde yerleşimi ve hücrenin tabanında membran yüzey alanını artıran bu düzenleme aktif iyon taşınmasında rol üstlenen hücrelere özgüdür. Lateral membran kenetlenmesinin çok sıkı olması yüzünden ışık mikroskopunda incelenen proksimal tübül hücreleri arasındaki hücre sınırları belirgin olarak seçilemez (36).

Henle kulbu, süzölmüş suyun %15 kadarının ve sodyumklorür (NaCl) potasyum(K^+), Ca^{+2} , HCO^{-3} 'ın %25 kadarını geri emer. Henle kulbu, inen kol ve çıkan koldan oluşur. Her kol, bir ince bir de kalın parça içerir. Kalın inen parça proksimal tübülün devamıdır. Kalın çıkan parça, distal tübül ile devam eder. İnce parçaların uzunluğu kortikal ve jukstamedullar nefronlarda farklıdır. Çıkan kol H_2O 'ya geçirgen olmadığından, süzölen H_2O 'nun geri emilimi, çoğunlukla inen kolda, tübüller ve intertisyal sıvı arasındaki ozmotik gradientla gerçekleştirilir (33).

Distal tübül'deki Na^+/K^+ , ATPaz pompası, katıların geri emiliminde anahtar elemandır. Bu pompanın furosemide gibi diüretiklerle inhibisyonu, NaCl'ün geri emilimini engeller ve medulladaki intertisyal sıvının ozmolaritesini azaltarak NaCl ile H_2O 'nun idrarla atılımını artırır (33).

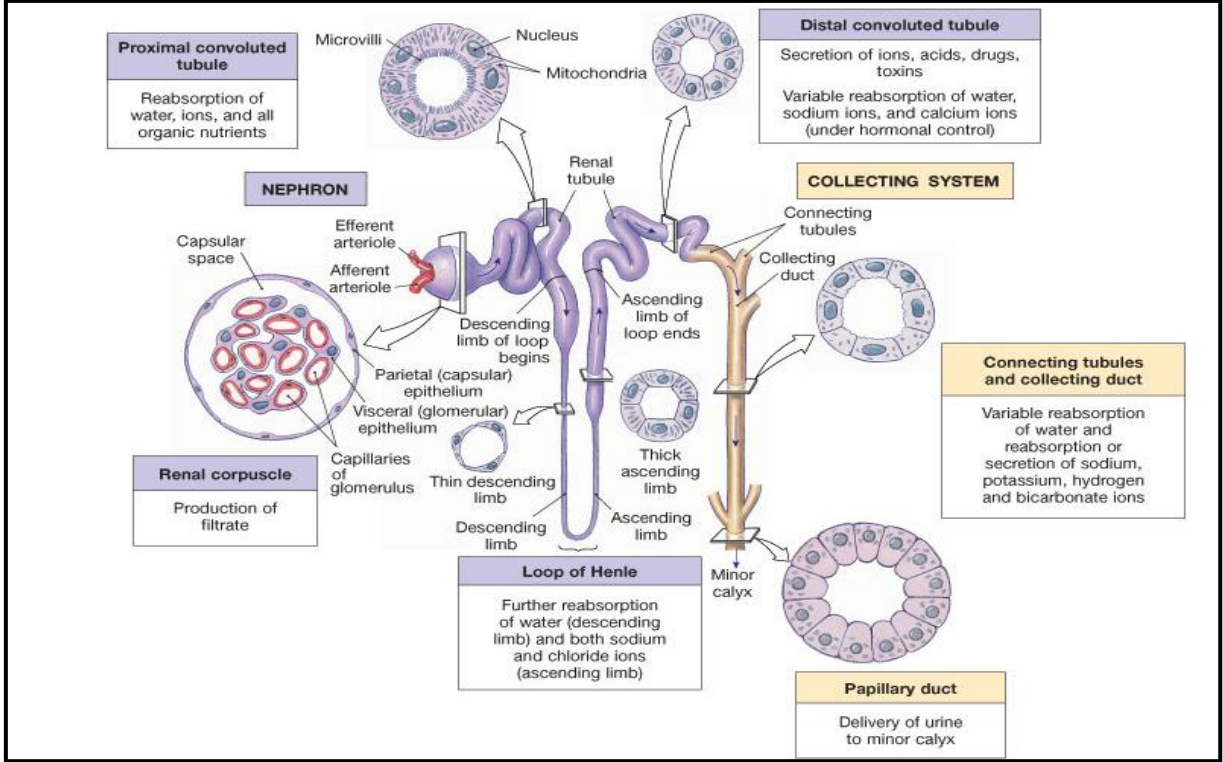
Kolların kalın parçaları, proksimal tübüllerin epitel örtüsü ile değişen alçak kübik epitelle döşelidir. İnce parçalar, basit yassı epitelle döşelidir (25). Distal tübülün düz parçası, H₂O'ya geçirgen olmayıp Cl'ü dışarı, renal intertisyuma aktif olarak pompalayan bir Cl pompasına sahiptir. Elektriksel nötrlüğü sürdürmek amacıyla Na'u pasif olarak takip eder. Ancak ultrafiltrata H₂O giremez veya çıkamaz. Bunların sonucu ultrafiltrat ozmotik basıncını kaybeder ve makula densa bölgesine ulaştığında hipoozmotik hale gelir (30; 36).

Distal tübül hücreleri aldosteron reseptörüne sahiptir. Bu hücreler ultrafiltrattan Na iyonlarını geri emerken; ultrafiltrata Na, K ve NH₄ iyonlarını salgılar ve daha sonra onu toplayıcı kanala iletir. Distal tübüllerin bu fonksiyonları vücut sıvılarının uygun asit baz dengesinin sağlanması için yaşamsal bir önem taşımaktadır (39).

Toplayıcı tübül; kortikal bölüm ile dış medullar ve iç medullar toplayıcı tübüler olmak üzere üç bölüme sahiptir. Henle kulbunun kalın inen ve kalın çıkan kolları sırasıyla, proksimal tübül ve distal tübüleri henle kulbunun ince koluna bağlar.

2-Kollektör tübüller (toplayıcı kanallar): Ferrein piramitleri içinde yerleşik, ark biçimli kollektör kanallar boşaltıcı duktus sisteminin başlangıcını oluşturur. Bunları düz seyirli kollektör tübüller izler. Böylece ark biçimli kollektör tübüller, distal tübüleri düz seyirli kollektör kanallara bağlar. Bir düz kollektör tübülle 7–10 kadar ark biçimli kanal açılır.

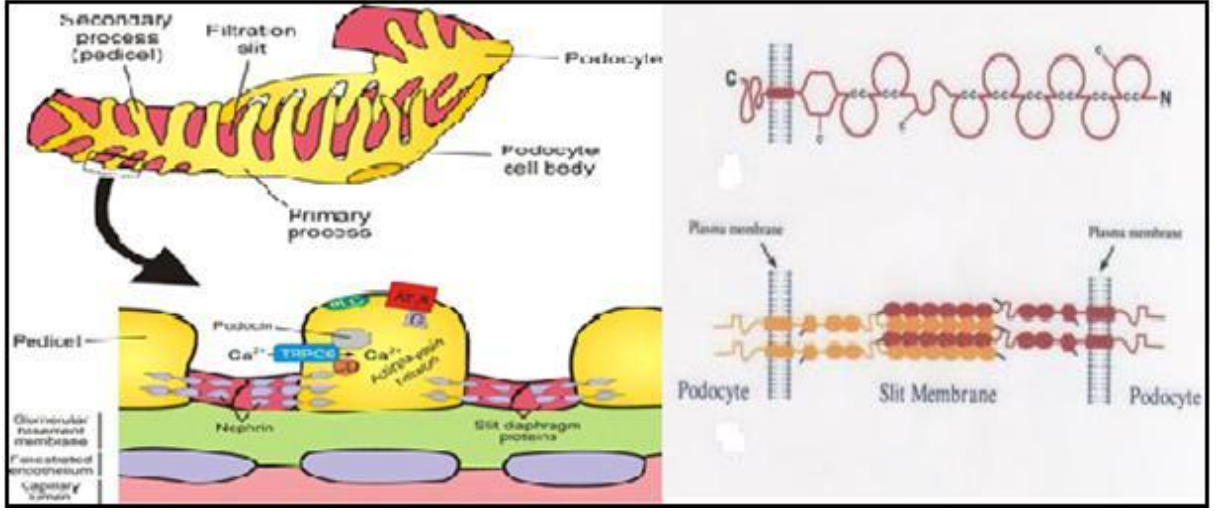
Kollektör tübüller, ferrein piramitlerinden medulla derinliklerine doğru iner. En iç medullar bölgede diğer düz kollektör tübüllerle dik açı yaparak birleşirler. Duktus papillaris'ler oluşur. Duktus papillareler area kribrozadan kalikses minörlere açılırlar. Duktusun silindirik epiteli papilla yüzeyinde devam eder. Kollektör tübüllerin en küçük çaptakileri kübik epitelle, büyük çaptakiler silindirik epitelle döşelidir. Kollektör tübüller idrarı nefronlardan kaliks minöre yollarken, antidiüretik hormon (ADH) kontrolüyle bir miktar H₂O reabsorbe olur (33; 26) (Şekil5).



Şekil 6: Nefronun histolojik yapısı (40).

EM’unda bakıldığında glomerüller filtrasyon membranı şu yapılardan oluşur:

- İnce bir endotel tabakası: Endotel hücrelerinin döşediği 70–100 nm genişlikte pencereler içeren tabakadır.
- Glomerül Bazal Membranı (GBM): Bu membran ortada kalın elektron-yoğun bir tabaka; lamina densa ve dışta her iki yanda daha ince, elektron-geçirgen bir tabaka; lamina rara interna ve lamina rara eksternadan oluşmuştur. GBM kollagen (çoğu tip IV), laminin, polianyonik proteoglikanlar (çoğu heparan sulfat), fibronektin, entaktin ve diğer bazı glikoproteinleri içerir (26).
- Visseral epitel hücreleri (podositler): Bazal membranın lamina rara eksternasına yapışan ve gömülen parmaklı uzantıları olan kompleks yapıda hücrelerdir. Komşu ayaklı çıkıntılar (pediseller) 20–30 nm genişliğinde filtrasyon yarıklarıyla ayrılmıştır. Bu yarıklar ince bir diyafram ile örtülüdür (26) (Şekil 6).



Şekil 7: Slit membranın moleküler yapısı (41).

- Glomerül yumağı, kapiller arasında uzanan mezengial hücrelerle desteklenmiştir. Bunlar mezenşimal kökenli, kontraktil, fagositik hücrelerdir. Proliferasyon kapasiteleri vardır, matriksi oluşturabilirler ve bazı aktif biyolojik mediatörler salgırlar (35).

Mezengial hücrelerin anjiotensin II reseptörleri vardır. Bu reseptör eşliğinde, glomerül akımı azalır. Mezengial hücrelerin kalbin atrium hücreleri tarafından üretilen natriüretik faktör için de reseptörleri vardır. Bu etken damar genişleticidir ve mezengial hücreleri gevşeterek muhtemelen kan akımını ve süzülme için bulunan etkin yüzey alanını artırır. Mezengial hücreler ayrıca glomerüle yapısal destek verirler, hücre dışı matriksi sentezler, endositoz gerçekleştirir. GBM tarafından yakalanmış olan normal ve patolojik (immünokompleks) molekülleri uzaklaştırır, sitokinler ve prostoglandinler gibi kimyasalları üretir. Damar kutbunda yer alan ancak glomerülün dışında, JG aygıtının bir kısmını oluşturan glomerül dışı mezengial hücreler de vardır (ekstramezengial hücreler) (36).

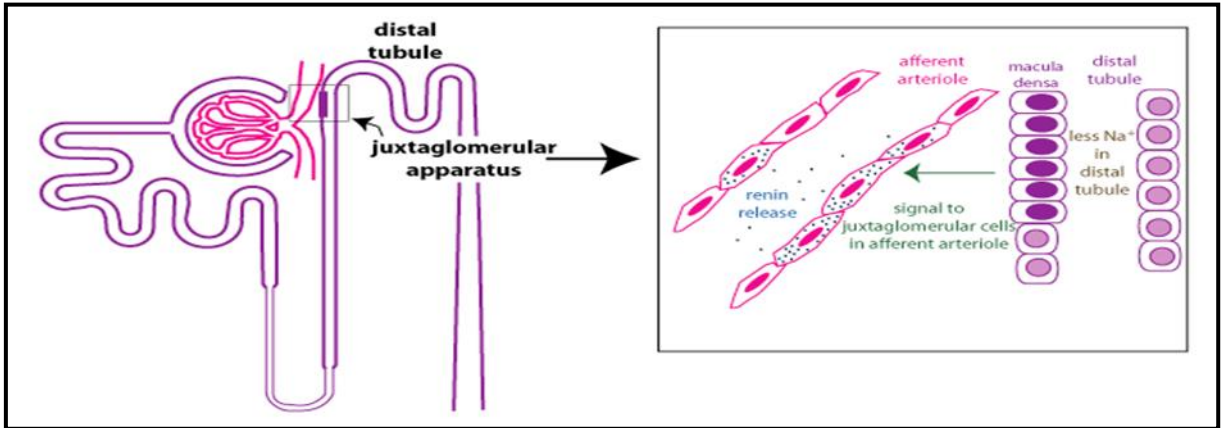
Jukstaglomerüller aparat, aşağıdaki yapılardan oluşan küçük endokrin bir yapıdır:

- Distal tübülün başlangıç kısmının ayrı bir bölgesi olan **makula densa**.
- **Ekstraglomerüler ve intraglomerüller mezengial hücreler**
- Aff. glomerüler arteriolün daha az oranda eff. glomerüler arteriol için renin üreten hücreleri (**Jukstaglomerüller hücreler**).

Makula densa, NaCl derişimindeki değişikliklere duyarlıdır ve JG hücrelerden renin salınımını etkiler. Renin, NaCl derişimi veya kan basıncı düştüğünde salgılanır. Ekstraglomerüler mezengial hücreler, bir birlerine ve JG hücrelere gap junctionlarla bağlanırlar. Makula densa eff. arteriol ve ekstraglomerüler mezengial hücreler ile daima temasta olduğu halde, JG hücreler ile küçük bir alanda devamlı olamayan temas halindedir. Mezengial hücreler arasında, ince fakat kesintisiz bir bazal membran bulunur (30).

Ekstraglomerüler ve intraglomerüller mezengial hücreler; damar kutbunda efferent, afferent arterioller ve distal tübül arasında bulunan soluk sitoplazmalı, granulsüz hücrelerdir. Değişik isimler verilmiştir (ekstraglomerüler mezengial hücrelere lacis hücreleri gibi). Glomerül içindeki mezengial hücreler miyoepitelial hücrelere çok benzerler. Eritropoetin hormonunu salgırlar (33).

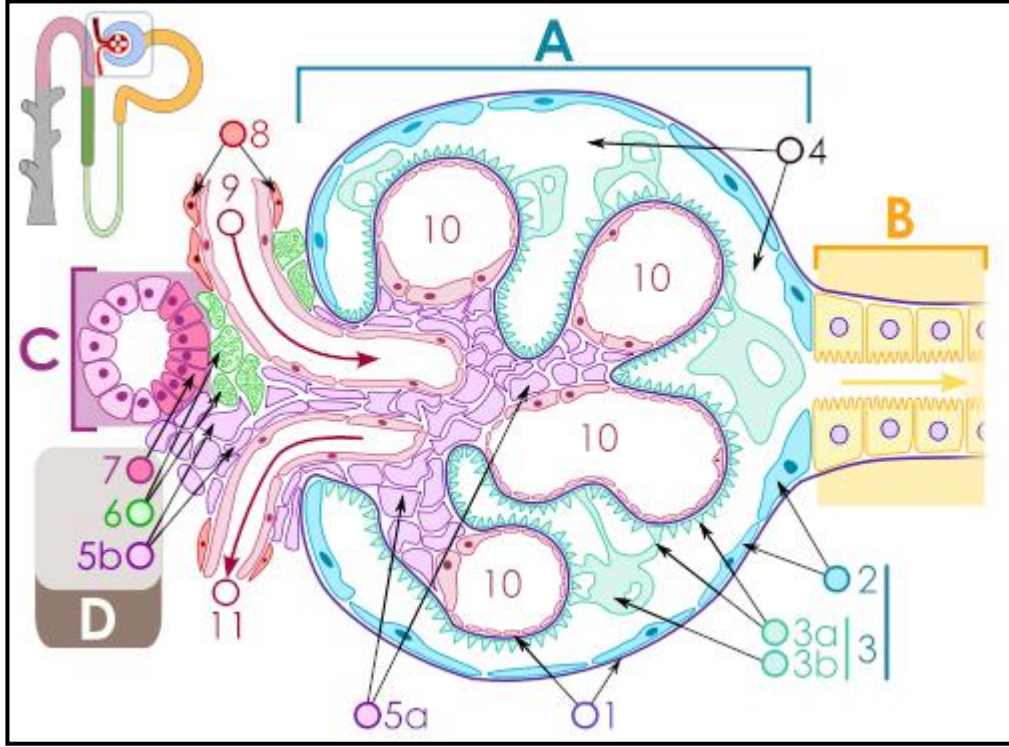
JG hücreler, depoladıkları proteolitik enzim olan renini kan dolaşımına salgılamaları için uyarı verirler (Şekil 7). Renin, dolaşan dekaeptid olan anjiotensinojenden 2 amino asiti ayırır ve anjiotensin I'e dönüştürür. Anjiotensin I (özellikle akciğerlerdeki), kapillerlerin luminal yüzeyinde yerleşmiş olan dönüştürücü enzim ile bulunur ve anjiotensin II'yi oluşturur. Ayrıca bu güçlü vazokonstriktör böbrek üstü bezin korteksinden mineralokortikoid olan aldosteron salgılanmasını uyarır (39).



Şekil 8: Jukstaglomeruler aparatın çalışma mekanizması (42).

Aldosteron distal tübül hücrelerindeki reseptörlere bağlanarak bu hücreleri ultrafiltrattan Na'yı (ve Cl) geri emmeleri için uyarır. Na hücre dışı kompartmana katılması, sıvının tutulması ve bunu takiben kan basıncının yükselmesine sebep olur (39).

Efferent arteriöl duvarlarındaki hücrelerin glomerüle yakın olan bölümünde granüllü epiteloïd hücreler olarak seçilir. Renin içermeyen, ancak makula densa ile yakın temasta oluşu bu iki yapının fonksiyonel ilişkisini gösterir. Bu nedenle aff. arteriölde JG'er aparatusunun bir parçası olarak kabul edilir (30) (Şekil 8).



A – Renal corpuscle	4. Bowman's space (urinary space)
B – Proximal tubule	5a. Mesangium – Intraglomerular cell
C – Distal convoluted tubule	5b. Mesangium – Extraglomerular cell
D – Juxtaglomerular apparatus	6. Granular cells (Juxtaglomerular cells)
1. Basement membrane (Basal lamina)	7. Macula densa
2. Bowman's capsule – parietal layer	8. Myocytes (smooth muscle)
3. Bowman's capsule – visceral layer	9. Afferent arteriole
3a. Pedicels (podocytes)	10. Glomerulus Capillaries
3b. Podocyte	11. Efferent arteriole

Şekil 9: Jukstaglomeruler aparat hücreleri (43).

Jukstaglomeruler aparat, renal kan akışı ve glomeruler süzmenin oto regülasyonu ile ilgili tubuloglomeruler geri besleme mekanizmasının bileşenlerinden biridir. Diğer bileşeni ise, JG'er hücreleri uyaran sempatik (adrenerjik) sinir lifleridir. Renin salınımı, adrenerjik sinir liflerinden salınan norepinefrin ve dopaminle artırılır. Norepinefrin, aff. glomeruler arteriöldeki α_1 adrenerjik reseptörlere vazokontraksiyon oluşturmak için bağlanır. Parasempatik inervasyon hiç yoktur (33).

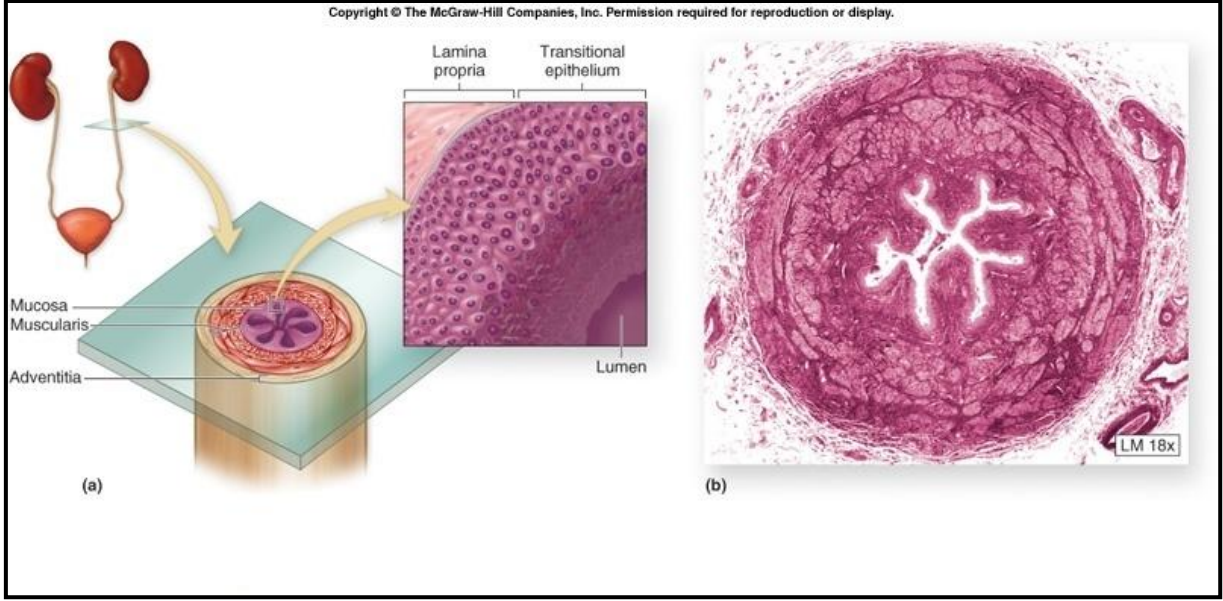
Her böbrek abdominal aortanın direk dalı olan renal arter tarafından kanlanır (39). İki böbreğin toplam ağırlığı vücut ağırlığının %0,5'i olmasına rağmen kardiyak output'un %25'i böbreklerden geçer (35). Renal arter böbreğin hilumuna girdiğinde tekrar birkaç büyük dala ayrılır. Her dal daha sonra iki ya da daha fazla interlobar arteri oluşturmak üzere bölünür (39). İnterlobar arterler, komşu piramitler arasında kortekse doğru ilerlerler, kortikomeduller sınırda arkuat arterlere dönüşürler. Piramitin tabanını takip eden arkuat arterler kapsüle yaklaşınca interlobuler arterlere, glomerüle yakın bölgelerde ise daha küçük olan aff. arterioller gelişir. Bu arterioller, Bowman kapsülü tarafından sarılır ve glomerül olarak bilinen kapiller ağı oluşturur (35). Aff. arterioller glomerül yumağına girdiklerinde 20-40 kapiller damara ayrılır ve bunlar yumağın birkaç segmentini oluştururlar. Glomerül kapillerindeki kanın hidrostatik basıncı diğer kapillerdekinin yaklaşık üç katıdır. Kapillerden geçen kan eff. arterioller ile glomerüllerden ayrılır (33).

Genellikle eff. arterioller kortikal tübüllerin çevresini saran proksimal tübül ve distal tübülleri besleyecek ve düşük moleküler ağırlıklı maddelerle iyonları dolaşım sistemine taşıyacak zengin bir damar ağı (peritübüler kapiller ağı) oluşturur. Derindeki nefronların (juktameduller glomerüller) eff. arterioller ise yüzeysel ve derin medullayı besleyen ince uzun kapiller damarlar olan vaza rektaları oluşturur. Bunlar derin medullada birkaç kıvrım oluşturduktan sonra tekrar kortikomeduller sınıra doğru geri kıvrılarak yukarı çıkar ve venöz vaza rektaları oluşturur (35). İnen damar sürekli tip kapiller özelliği taşıırken, çıkan damarların endoteli pencerelidir. Arterlerin çoğu endarter olduğuna göre damarların birinin tıkanması ile o arterin beslediği alanda akımını etkileyen glomerüler hastalıklar tübülü de etkileyecektir. Çünkü tüm kapiller yatak glomerüllerden çıkan eff. arterioller tarafından oluşturulmaktadır. Ayrıca renal medulla kan akımı özellikleri nedeniyle iskemiye çok hassastır, çünkü medulla göreceli olarak avaskülerdir, medulladaki kapiller düşük hematokrit değerlerine sahiptir ve medullar kan akımındaki küçük bir bozulma medullar nekroz ile sonuçlanabilir (30; 33).

3.3.2. Üreter Histolojisi

Üreterler üç tabakadan meydana gelmiştir. Sırasıyla içten dışa doğru Tunika mukoza, Tunika muskularis, Tunika adventisya'dır. Mukozası değişici (transizyonel) epitel ve bağ dokusundan oluşan lamina propriadan meydana gelmektedir. Mukoza heliks şeklinde düzenlenmiştir. Üreterler mesane duvarına idrarın geri akımını önleyen bir kapak oluşturacak

biçimde oblik olarak girerler. Üreterin intravezikal kısmında yalnız longitudinal kas lifleri bulunur. Üreterler dıştan adventisya membranı ile sarılmışlardır (30) (Şekil 9).



Şekil 10: Üreterin histolojik tabakaları (44).

3.3.3. Mesane Histolojisi

Mesane, her iki üretere benzer bir yapıya sahiptir. En iç tabaka transizyonel epitelden oluşur (29). Bu türden epitel böbrek kalikslerinden üretraya kadar üriner sistem boşaltma yollarını bütünüyle döşediğinden son zamanlarda “ürotelyum, ürotel” olarak adlandırılmaya başlanmıştır (30). Bunun dışında sırası ile; lamina propria, tunika muskularis ve tunika adventisya tabakaları vardır (29).

Transizyonel epitel, döşediği organın kısa sürede önemli iç basınç ve hacim değişmelerine, hücrelerinin biçimini, düzenini ve kat sayısını değiştirerek kendisini uydurur (30). Mesane gevşek iken epiteli 5–6 sıra hücreden oluşur, yüzeydeki hücreler yuvarlaktır ve lümene doğru çıkıntı yapar. Epitel gerildiğinde (mesane idrar ile dolu olduğu zaman) epitelin kalınlığı 3–4 hücre sırasından oluşur ve yüzeyindeki hücreler uzun ekseninde bazal membrana paralel olarak yassılaşırlar (34; 38). Transizyonel epitel bazal tabakadan yüzeye doğru belirgin progresif bir maturasyon gösterir (33).

Epitelde 3 tip hücre tanımlanmıştır:

1. Yüzeyel hücreler,
2. Ara hücreler,
3. Bazal hücreler (38).

Yüzeyel hücreler, üriner luminal boşluk ile ilişkidir. Büyük, oval hücrelerdir ve daha küçük ara hücrelerin üzerinde şemsiye gibi uzanırlar. Binukleuslu olabilirler ve bol eozinofilik sitoplazmalıdır. Gergin mesanede yassılaşımlardır ve rahatlıkla görünürler. Bu hücrelerin varlığı ürotelyumun normal olduğunun bir işareti olarak kabul edilir (38).

Şemsiye hücrelerinin yüzeyi üroplakinler denen ve bir protein ailesinin oluşturduğu üç tabakalı rijid bir membrandan oluşur. Bu membran “Asimetrik ünit membran” olarak bilinir (33). Membran tarak görünümü veren sık invajinasyonlar gösterir. Gerilme süresince bu invajinasyonlar yüzey membranına dahil olurlar böylece yüzey alanı artar ve transizyonel epitelin yapısal bütünlüğü sürdürülmüş olur (38).

Ara hücreler, boş mesanede 5 hücre kalınlığında olabilir ve bazal membranın üstünde uzun eksene dik olarak uzanmaktadır. Nukleusları ince granüler kromatinlidir. Geniş sitoplazmalıdır, vakuolizasyon olabilir. Sitoplazmik membran belirgindir (30).

Hücrelerin bazılarında longitudinal nükleer oluklar vardır. Bu hücreler şemsiye hücrelerini oluşturmak üzere matürleşirler (26). Gerilmiş durumdaki mesane’da bu tabaka sadece tek hücre kalınlığında ve yassılaşımlıdır ya da gözle görülemez (36).

Hem yüzeyel hem de ara hücrelerin üst yüzeyleri yuvarlak, alt yüzleri çöktür. Bu çöktük yüzleri ile altlarındaki hücrelerin yuvarlak yüzleri üzerine oturarak bunlar arasında uzantılar gönderirler. Bu uzantılar aracılığı ile birbirlerine sıkıca bağlanmışlardır ayrıca hücreler arasındaki sınırlar düzgün değildir, sık girinti ve çıkıntılarla birbiri içine geçmiş durumdadır. Bu şekilde ileri derecede interdigitasyon gösteren intersellüler sınırlarda yer yer hücrelerin birbirine daha sıkı bağlanmasını sağlayan desmosomlar farklılaşmıştır. Yüzeyel epitel hücrelerinde desmosomlar daha sık bulunur. Transizyonel epitelin bu şekilde belirtilen yapısı hücrelerin birbiri ile bağlantılarını kaybetmeksizin, yırtılıp kopmaksızın gereği kadar şekil ve yerlerini değiştirebilmelerini sağlayacak niteliktedir. Nitekim organ dolu olduğunda

yani duvar gerildiği zaman epitel incelir. Derin hücreler şekil değiştirmekten çok yerlerini değiştirirler. Bunlar orta hücre tabakasının özel düzeni sayesinde epitelin bütünlüğünü bozmaksızın birbiri üzerinden kayabilirler. Bütün diğer çok katlı epitellerde olduğu gibi transizyonel epitelin yüzeyel hücreleri mekanik ve kimyasal faktörlerin etkisiyle harap olarak idrar yolları lümeni içine düşer ve idrar incelemesinde görülürler. Bu yüzeyel hücre kaybı bazal doğurucu tabaka hücrelerinin çoğalmasıyla karşılanır (26; 30; 33; 38).

Bazal tabaka, kübik hücrelerden oluşmaktadır ve sadece boş mesane’da seçilir, lamina densa, lamina lusida ve bağlayıcı fibrillerden oluşan bazal membran üzerinde ince bir tabaka halinde uzanırlar. Normal transizyonel epitel hücrelerinin hepsi glikojen içerir sadece yüzeyel hücreler musikarminofiliktir (38).

Bazal membran mukozayı lamina propriyadan ayırır. Bazal membran penetrasyonu immünohistokimyasal olarak laminin ve tip IV kollojen ile boyama yapılarak gösterilebilir (26).

Lamina propria, mukozal bazal membran ve tunika muskularis arasında bulunur. Zengin vasküler ağ, lenfatik kanallar ve duyu sinir uçları ile az sayıda elastik lifler içeren yoğun bağ dokusundan meydana gelmiştir. Daha derinlerde bağ doku gevşektir (35). Lamina propria papillalar oluşturmaz ve içinde yaygın lenfoid doku ve bazen küçük lenf follikülleri bulunabilir. Mesanede yer yer kısa epitel çöküntüleri görünebilirse de gerçek bez denilebilecek epitel kriptaları ancak trigonun lamina propriasında ve üretrada bulunur (29). Gerilme derecesi ile kalınlığı değişir ve genellikle mesane boynu ve trigon bölgesinde daha incedir (36).

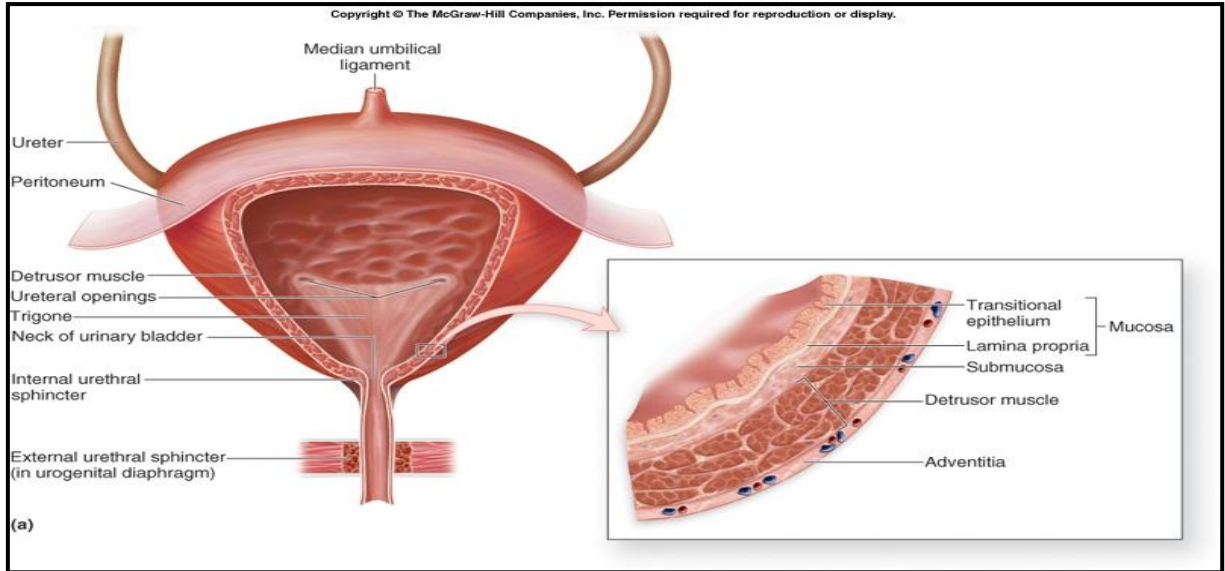
Lamina proprianin orta alanında orta çaplı arter ve venler uzanır. Ufak düz kas demetleri lamina propriada özellikle de damarların çevresinde yaygın olarak bulunur. Bu düz kas demetlerinin muskularis propria ile bağlantısı yoktur ve izole demetler olarak görülürler. Rezeksiyon ve biyopsi materyallerinde muskularis propria ile yüzeyel kas liflerini ayırt etmek tümörün evre ve tedavisinde çok önemlidir (29).

Muskularis propria, üç düz kas tabakasından oluşur. En iç ve en dışta longitudinal tabakalar ortada sirküler tabaka bulunur. Gerçekte bu tabakalar sadece mesane boynunda devamlı olarak ayırt edilebilir. Diğer bölgelerde longitudinal ve sirküler tabakalar serbestçe birbirine karışırlar ve uzanımları belirlenemez. Boş mesane’da kas lifleri nisbeten kalın

demetler halinde dizilmişlerdir ve her biri diğerinden kan damarı, lenfatik ve sinir içeren orta derecede ve yoğun bağ dokusu ile ayrılmıştır (35).

Çok sık olmayarak sinir ve damar yapıları ile birlikte paraganglion adaları, muskularis propriya da görülebilir. Bu hücreler göze çarpan kordon ya da ada tarzında düzenlenmişlerdir. Berrak ya da granüler sitoplazmalı, yuvarlak veziküler nukleusludurlar. İmmünohistokimyasal boyama ile sitokeratin negatif (-), ancak kromogranin pozitif (+) dirler (33; 36).

Adventisya, birçok büyük damar ve sinir dallarının yayıldığı bağ dokusu olup kesin bir sinir yapmaksızın çevre bağ dokusu ile devam ederek mesaneyi çevresine bağlar (30). İstisnai olarak mesanenin üst yüzeyi parietal periton ile temas halindedir ve bundan dolayı bir serozaya sahiptir (35) (Şekil 11).



Şekil 11: Mesanenin histolojik tabakaları (45).

3.3.4. Testis Histolojisi

Testis, endokrin ve ekzokrin özellikte salgı yapan, bileşik tübüler bir çift bezdir. Testisin endokrin ürünü Leydig hücreleri tarafından sentezlenen testosteron, ekzokrin ürünü ise seminifer tübüllerde oluşturulan spermiumlardır (30).

Her bir testis skrotumun altında, 3 tabakalı bir kapsül ile sarılıdır. Bu yapıya testiküler kapsül denir ve tunika vaginalis, tunika albuginea ve tunika vasküloza tabakalarından oluşur (38).

Testis en dışta mezotelyal hücrelerden oluşan, 2 yapraklı, periton kökenli seröz bir kese olan tunica vaginalis tabakası ile örtülüdür. Tunica vaginalisin visseral yaprağı testisin  n ve yan yüzlerini  vreler, pariyetal yaprağı ise skrotum üzerinde uzanmaktadır. Bu tabakanın altında tunica vaginalisin visseral yaprağı olan ve tunica vaginalisten bazal lamina ile ayrılan, tunica albuginea tabakası bulunmaktadır. En içte bulunan tunica vask loza tabakası ise gevşek bağ dokusundan oluşur ve kan damarlarını içermektedir (29).

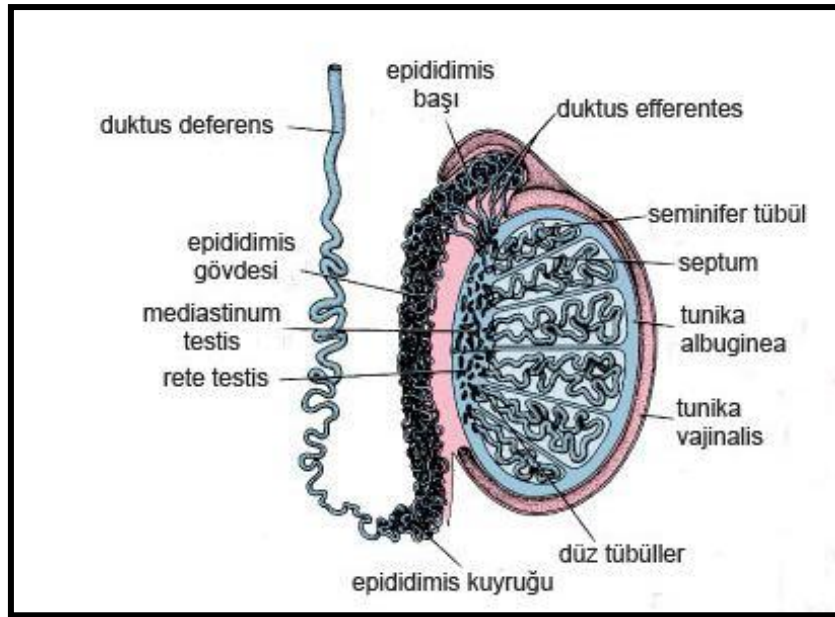
Tunica albuginea histolojik kesitlerde en belirgin gözlenen, sıkı, düzensiz bağ dokusundan oluşan yoğun bir tabakadır. Bu tabaka testisin posterior yüzeyi boyunca üçgen şeklinde bir kalınlaşma meydana getirir ve mediastinum testis yapısını oluşturarak organın parankiması içerisine sokulur. Mediastinum testis yapısına, tıpkı hilum yapısına olduğu gibi, genital boşaltma kanalları, kan ve lenf damarları ve sinirler bağlanır. Buradan ışınsal olarak çıkan sıkı bağ dokusu yapısındaki, ince fibröz bölmeler (septula testis) testisi insanda yaklaşık olarak 250 lobüle ayırır. Piramit şeklindeki lobüllerin tavanları mediastium testise, tabanları ise testisin dış y z n ne bakar. Lobüllerin birbirleriyle ilişkide olmalarını sağlayan bölmelerin tam olmamasıdır. Her bir lobül, 1-4 arasında değişen sayıda seminifer tübül içerir. Seminifer tübüllerin arası tunica vask lozanın testis içine uzanarak oluşturduğu interstisyel doku ile doldurulmuştur. Burada kan ve lenf damarları, makrofajlar, fibroblastlar ve androjen salgılayan Leydig hücre grupları yer almaktadır (33; 26).

Testis tübülleri mediastinum bölgesi yakınında sonlanır. Sonlanan tübüllerin lümenleri daralır, düzleşir ve tubuli rekti (tubulus seminiferi rekti) denilen bir testis içi boşaltım yolunu oluşturur. Bu yapı seminifer tübülleri dar kanallardan oluşan bir ağ yapısında olan rete testise bağlar. Rete testis mediastinum testis bölgesinde anastomozlaşmışdır. Tubuli rektinin rete testis ile ilişkili bölümü ve rete testis genelde tek bir silia içeren ve kısa mikrovilluslu kübik epitelle döşelidir, tubuli rektinin seminifer tübül ile ilişkili olan bölümünde ise sadece sertoli hücreleri yer alır (36).

Rete testisten çıkan yaklaşık 10-12 adet kanal tunica albuginayı geçerek testis dışına çıkar. Spermilerin epididimise taşınmasına aracılık eden, silli ve silsiz kübik hücrelerden oluşan epitele sahip bu kanallara duktuli efferentes denir. Epitel hücreleri bir bazal laminanın üzerine oturur. Bazal laminanın altında da ince bir düz kas tabakası ve gevşek bağ dokusu yer alır (30).

Kıvrımlı yapıya sahip olan duktuli efferentes kanalları birleşerek spermiyumların toplandığı ve depolandığı, en uzun, oldukça kıvrıntılı, katlantılı ve tek bir kanal olan duktus epididimisi oluştururlar. Duktus epididimisin epitel; epitel hücrelerinin bir bazal lamina üzerine oturduğu, kısa bazal hücreler ile uzun stereosilyalı prizmatik hücrelerin yer aldığı stereosilyalı yalancı çok katlı epitelidir. Bazal laminanın altında ince bir lamina propria bulunur. Lamina propriasında altında ince düz kas katmanı yer alır (29).

Duktus epididimisin kuyruk kısmından sonra kanal duvarı birden bire kalınlaşır ve düz bir kanala dönüşür. Bu kanala duktus deferens denir ve kanal duvarında kalın bir düz kas tabakasını içerir. Duktus deferensin salgılama işlevine de sahip epitel, stereosilyalı yalancı çok katlı prizmatik epitelidir. Epitel distalde ise değişici epitelidir. Duktus deferensin prostat bezine girmeden önceki kısmının genişlemesiyle ampulla bölgesi oluşur. Vezikula seminalis kanalları duktus deferense ampulla bölgesinden sonra katılırlar. Sonra duktus deferens prostat bezine girer ve duktus ejakulatoryus kanalını oluşturur. Sonrasında ise üretraya açılır (26; 35).



Şekil 12: Testis ve boşaltma kanallarının şematik gösterimi (46).

Tubuli Seminiferi Kontarti (Seminifer tübül) yapısı

Seminifer tübüller yoğun kapiller ağ ile çevrili, ikili-üçlü anastomozlar yapan, oldukça kıvrımlı yapıdadırlar. Çapları yaklaşık 150-250 mikrometre (μm), uzunlukları 30-70 (cm) dir ve testisin % 92'sini oluştururlar. Lobülün tepesine doğru kıvrımlarını kaybederek düz tüp bir

halini alan (tubuli rekti) ve rete testis ile devam eden túbüller her iki testiste yaklaşık olarak 1000 adettir, uzunlukları ise yaklaşık 0.5 km dir (30; 33).

Seminifer túbüllerin duvarında en içte kalın bir seminifer epitel tabakası bulunur. Seminifer epitel, özelleşmiş çok katlı epiteldir, sertoli hücrelerini ve farklı olgunlaşma aşamalarındaki bazal lamina ve túbül lümeni arasını dolduran 4 - 8 katlı spermatogenik hücreleri içerir. Túbül duvarının orta kısmında bir bazal lamina, en dışında ise lamina propria denilen ortalama kalınlığı 8 -10 µm olan, fibroblastlarca zengin, çok katlı, silindir biçimli, tip I kollajen lif bantlarından oluşan bağ doku tabakası bulunmaktadır. Bu bölgeye peritúbüler doku yada membrana propria da denilmektedir. Membrana propria ince bir bazal lamina üzerine oturan seminifer epiteli dıştan saran özelleşmiş fibröz bir dokudur ve 4 alt tabakadan oluşur. Dıştan içe doğru;

- 1) Dış Hücresel Tabaka: Fibroblastlardan oluşur.
- 2) Dış Hücresel Olmayan Tabaka: İnce bir bazal laminadır ve glikoprotein yapısındadır.
- 3) İç Hücresel Tabaka: İnce, uzun hücresel şekle ve sitoplazmalarında lipid damlacıklarına, mikropinositotik veziküllere ve miyoflamanlara sahip, bol miktarda da granüler endoplazmik retikulum ve her iki yüzlerinde küçük invaginasyonlar içeren miyoid hücrelerden oluşmuştur. Kasılabilme özelliğine sahip olan myoid hücreler, seminifer túbülün çapını değiştirerek spermatozoonların túbül içerisindeki hareketini sağlarlar. Myoid hücre tabakası insanlarda ve bazı türlerde 3-5 tabakalı iken, kemiricilerde tek tabakalıdır.
- 4) İç Hücresel Olmayan Tabaka: Bol miktarda glikoprotein, hyaluronik asit ve kollajen lif içeren tabakadır

Túbüller arası gevşek bağ dokusunda ise kan damarları ve sinirler, ince kollajen ve retiküler lifler, fibroblastlar, intertisyel hücreler olarak da adlandırılan Leydig hücre kümeleri, bulunur (36; 26; 30).

Sertoli hücreleri

Sertoli hücreleri, bir bazal membran üzerine oturan ve buradan seminifer túbül epiteline kadar uzanan, uzun piramidal şekilli, çevresi 7- 9 nm'lik fibröz elemanlar ile kuşatılmış, bazale yerleşmiş oluklu bir iki çentikli oval heterokromatid çekirdek ile merkezi yerleşimli bir

büyük çekirdekçiğe ve apikal-yan yüz farklanmalarına sahip, yan yüz zarlarının oluşturduğu karmaşık içe katlanmalar sonucunda da hücre sınırlarının ışık mikroskobu ile ayırt edilemediği hücrelerdir. Sertoli hücrelerinin seminifer tübül lümene bakan apikal yüz membranları da katlanmalar ve kriptalar meydana getirerek yeni oluşan spermiyumların lümene bırakılma zamanına kadar spermatidlere yerleşebilecekleri bir alan sağlamış olurlar (29; 26).

Puberteden sonra seminifer tübül epitelinin yaklaşık %10'unu sertoli hücreleri oluşturur. Buradan da anlaşılacağı gibi sertoli hücreleri spermatozoonların desteklenmesinde ve olgunlaşmasında büyük rol oynarlar (33).

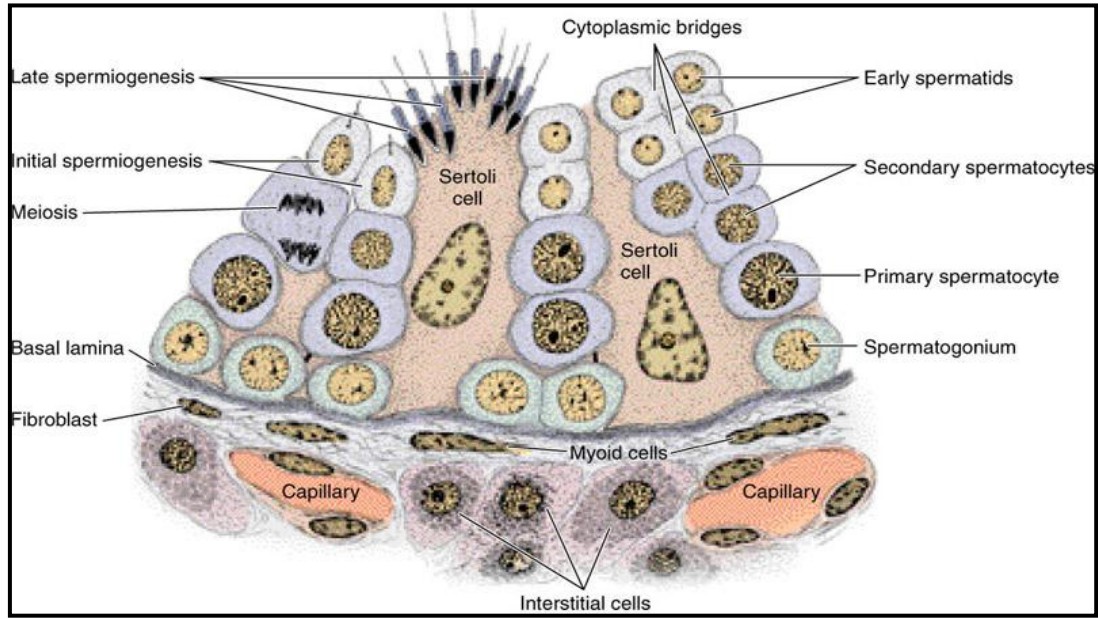
Sertoli hücrelerinin sitoplazması çok iyi gelişmiş aktin filamanları ağı ile mikrotübüllerle ara filamanlardan oluşan gelişmekte olan cins hücrelerine destek görevi gören gelişkin bir hücre iskeletinin yanı sıra, iyi gelişmiş bir golgi kompleksi, bol miktarda yassı mitokondri, granülsüz (düz) endoplazmik retikulum, endolizozomların oluşturduğu lipofuskin bulunduran çok sayıdaki veziküller, lipid damlacıkları, vimentin, düşük molekül ağırlıklı sitokeratin 18 ve 19 içerirken, az miktarda granüllü endoplazmik retikulum içerir. Sitoplâzmadaki ayrıca içeriği ve işlevi henüz tanımlanmamış Charcot-Bottcher kristaloidleri denilen inklüzyon cisimcikleri ve çekirdekçik ile birlikte çekirdek zarı altında kümelenmiş iki belirgin kromatin yoğunlaşması olan özel bir görünüme sahip üçlü görünüş bulunmaktadır (29; 36).

Sertoli hücreleri, taban ve yan yüzlerindeki sıkı bağlantı kompleksleriyle (zonula okludens) birbirlerine tutunurlar. Burada diğer sıkı bağlantılardan farklı olarak bazal membrana en yakın konumlu (seminifer epitelin 1/3 bazalinde) olarak bulunur ve seminifer tübül epitelini bazal ve adluminal kompartman olarak 2 kompartmana ayırır. Bazal kompartman daha dardır, sıkı bağlantının bazalinde yer alır adluminal kompartmanı çevreler ve spermatogonyumlar ile primer spermatositleri içerir. Adluminal kompartman ise daha geniştir, lümene yakındır ve sekonder spermatositler ile spermatidleri içerir. Spermatogonyumlar farklılaşırken sperme özgü proteinler ortaya çıkar ve spermatogenezis immunolojik yeteneğin gelişmesinden uzun bir süre sonra olaylandığı için farklılaşmakta olan germ hücreleri yabancı olarak algılanabilir ve onları yok edecek olan bir immün yanıtın oluşmasına neden olabilir. İşte spermatogenezis için mikro bir çevre sağlayan bu kompartmanların oluşturduğu kan-testis bariyeri, en yukarıdaki sekonder spermatositler ve

spermatidleri en alttaki spermatogonyumlar ve primer spermatozoidlerden ayırır ve sekonder spermatozoidler ile spermatidleri dolaşım sistemindeki antijenlerden, otoimmün bağışıklık reaksiyonlarından ve kanda bulunan maddelerden korur (33; 30; 38).

Sertoli hücreleri ayrıca gap junction denilen bağlantılarla hücrelerin iyonik ve kimyasal alışverişini sağlayarak seminifer epitel siklusunun koordinasyonunda önemli rol oynar (38).

Sertoli hücrelerinin puberteden sonra postmitotik özellik kazanması nedeniyle erişkin testisinde sertoli hücrelerinde mitotik hücre bölünmesine rastlanmaz (29; 35).



Şekil 13: Sertoli hücresi ve spermatogenik seri hücreleriyle ilişkisi (35).

Sertoli hücrelerinin fonksiyonları şunlardır:

- 1) Protein ve iyonlarca zengin bir sıvının seminifer tübül lümenine salınması,
- 2) Birbirlerine sitoplazmik köprülerle bağlanan spermatogenik hücrelerin fiziksel olarak desteklenmesi, kan-testis bariyeri nedeniyle kan desteğinden izole edilen sekonder spermatozoidler, spermatidler ve spermiumlara besin maddesi ve metabolitlerin sağlanması ve yine kan-testis bariyeri sayesinde gelişmekte olan spermatogenik hücrelerin immünolojik reaksiyonlardan korunması (33),

- 3)Seminifer tübül içerisinde spermatogenezin gerekleŖebilmesi için gerekli olan testosteronun yoėunlaŖmasını sağlayan androjen bağlayıcı protein (ABP)'nin Folikül stimüle edici hormonun (FSH) ve testosteron kontrolü altında sentezlenmesi,
- 4)Spermiyogenez sırasında rezidüel cisimcikler olarak atılan fazla spermatid sitoplazmasının fagosite edilerek sertoli hücre lizozomları tarafından yıkılması,
- 5)Olgun spermatidlerin spermiasyon sürecinde seminifer tübül lümenine salınımını kolaylaŖtırmak amacıyla aktin aracılı kasılmaların yapılması,
- 6)Hipofiz bezinin anterior kısmından salgılanan FSH'ın sentez ve salınmasını önleyen inhibin ve uyaran aktivin adı verilen peptid yapıdaki hormonların salgılanması,
- 7)Embriyonik geliŖim sırasında erkek fetusta Mller (Paramezonefrik) kanalların gerilemesini ve Mezonefroz kanallarının oluŖmasını sağlayan glikoprotein yapıdaki Anti-Müllerian Hormon (AMH)'nun üretilmesidir (26; 39; 30).

Spermatogenik hücreler ve spermatogenezis

Spermatogenik hücreler seminifer tübül epitelinin büyük çoğunluğunu oluŖturan eŖitli olgunlaŖma aŖamalarında bulunan ve düzenli olarak bölünerek olgun spermlere farkan, bazal lamina ve tübül lümeni arasını dolduracak Ŗekilde 4-8 tabakalı hücrelerdir. Lmenden bazale doğru farklılaŖmanın ve olgunlaŖmanın deėiŖik evrelerindeki hücre tipleri sırası ile; spermiumlar, spermatidler, sekonder spermatositler, primer spermatositler ve spermatogonyumlardır (30).

Spermatogonyumlar

Spermatogonyumlar, sertoli hücreleri arasındaki okludens tipi bağlantıların altında kaldığı için bazal kompartmanda yer alırlar bazal lamina ile iliŖkidedirler ve kan-testis bariyerinin dıŖında kalırlar. 3 farklı tipi bulunur (26).

Tip A spermatogonyumlar; oval çekirdekli, yoğun bazofilik ve ince granüler kromatinli seminifer epitelin kök hücreleridir. Puberteden itibaren mitoz geçirirler ve soluk boyanan, oval çekirdekli, ince granüler kromatinli tip A açık spermatogonyumlar ile tip A koyu spermatogonyumları meydana getirirler. Tip A açık spermatogonyumlar mitoz geçirerek çekirdekçik çevresinde ve çekirdek kılıfı boyunca yoėunlaŖma gösteren çekirdek kromatinine ve merkezi yerleŖimli çekirdekçiğe sahip sferikal çekirdek içeren tip B spermatogonyumları oluŖtururlar (29).

Spermatositler

Tip B spermatogonyumlar mitoz geçirerek primer spermatositleri oluşturur. Primer spermatositler, DNA (deoksiribonükleik asit) sentezini tamamladıktan sonra mayoz bölünmenin profaz safhasının bütün fazlarını geçirirler. Profaz evresi yaklaşık 22 gün sürer ve çekirdeklerindeki sinaptonemal kompleksin varlığı ile karakterize edilen, spermatogenik serinin en büyük ve histolojik kesitlerde en çok karşılaşılan hücreler de primer spermatositlerdir. Profaz evresinden sonra kardeş kromatidler sırasıyla metafaz, anafaz ve telofaz evrelerini geçirerek $2n$ DNA ve 23 kromozom ($22+X$ veya $22+Y$) içeren sekonder spermatositleri meydana getirirler. Sekonder spermatositler Kısa süren bir interfaz evresi geçirdikleri ve hızla ikinci mayoz bölünmeye girdikleri için histolojik kesitlerde çok zor görülürler (33; 26).

Spermatidler

Sekonder spermatositler ikinci mayoz bölünmeyi tamamlayarak seminifer tübül lümeni yakınlarında sertoli hücrelerinin derin sitoplazmik çöküntülerine yerleşmiş, 7-8 μm çapa, yoğunlaşmış kromatin bölgeleri taşıyan merkezi yerleşimli çekirdeğe, iyi gelişmiş bir Golgi kompleksine, çok sayıda mitokondri ve bir çift sentriyole sahip olan spermatidleri oluştururlar. Spermatidler sertoli hücrelerinin apikal sitoplazma katlantılarında spermiyogenez denilen ve sırasıyla golgi fazı, akrozomal faz ve maturasyon fazı olmak üzere 3 aşamadan oluşan bir farklılaşma süreci geçirerek olgun spermiumu oluştururlar. Olgun spermium da spermiyasyon denilen olayla seminifer tübül lümenine salınır. Sonuç olarak ise bir spermatogonyumdan 4 olgun spermium oluşur (26; 33).

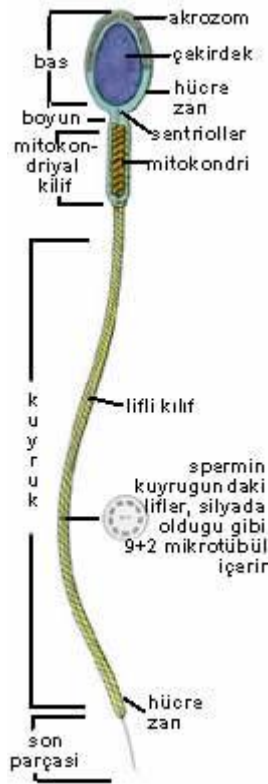
Spermiyumlar

İnsanlarda bir spermatogonyumdan olgun bir spermiyum spermatogenezis olayı ile yaklaşık olarak 64 günde meydana gelir ve olgun bir spermiyum baş, boyun ve kuyruk bölgelerinden oluşur (38).

Baş bölgesinde yassı biçimli, yoğun kromatin içeren bir çekirdek ve çekirdeğin anterior yarısını örten, özel bir tip lizozom olarak kabul edilen akrozom bulunur. Akrozom hyaluronidaz, nöraminidaz, asit fosfataz ve en önemlisi akrozin denilen tripsin benzeri proteazlar gibi hidrolitik enzimleri içerir (29).

Boyun bölgesi baş ile kuyruk arasındaki bağlantıyı sağlayan dar bir parçadır ve sperm kuyruğunun merkezi parçası olan aksonemi oluşturan proksimal sentriol ile distal sentriol olmak üzere bir çift sentriol bulundurur (33).

Kuyruk bölgesi ise orta parça, esas parça ve son parça olmak üzere üç kısımdan oluşur. Kuyruğun orta parçasında sarmal olarak dizilmiş mitokondriler, 9+2 mikrotübüler yapıdaki aksonem ve sperm boynundaki bağlantı parçasından kuyruk boyunca uzanan dokuz adet dış yoğun fibrillerden oluşmuştur. Esas parça kuyruğun en uzun parçasıdır ve sperm in öne hareketi sırasında mikrotübüler kayma ve kıvrılma için sağlam bir iskelet oluşturan yedi adet dış yoğun fibrille sarılı merkezi aksonem ve bir fibröz kılıftan oluşur. Kuyruğun en kısa parçası olan son parçada ise yalnızca aksonem bulunur, dış yoğun fibriller ve fibröz kılıf bulunmaz (35; 26).



Şekil 14: Sperm in yapısı (47).

Erkeklerde puberteyle başlayan ve yaşlılığa kadar süren bu süreçte bir testiste bir günde ortalama 50 -150 milyon spermium üretilirken bir spermatogonyumdan olgun bir spermiumün üretilmesi 70 ± 4 günlük bir zaman gerektirir (35).

İnsanlarda spermatogenezisin her seminifer tübülde eş zamanlı olarak gerçekleşmemesi ve bazı lümende serbest spermiyumlara rastlanırken bazılarında yalnızca spermatidlerin gözlenmesi seminifer tübüllerde düzensiz bir görünüme yol açar. Sıçanlarda ise her seminifer tübülde spermatogenezis eş zamanlı olarak gerçekleşir. Ayrıca spermatogenezis evrelerinin sayısı hayvan türlerine göre farklılıklar gösterir. İnsanlarda 6, farede 12, sıçanda 14 adet spermatogenezis evresi görülür (35; 33).

Spermatogenezis bir spermatogonyumdan olgun spermiyum oluşurken meydana gelen çoğalma, büyüme, olgunlaşma ve başkalaşım evrelerini içeren bir süreçtir ve üç fazda gerçekleşir (38).

- ***Spermatogonal evre (Spermatositogenez):***

Spermatogonyumların bölünerek spermatositleri oluşturdukları bu evre Spermatositogenez (Yun. Sperma; tohum + kytos; hücre + genesis; üretim) olarak adlandırılır (30).

- ***Spermatosit evresi (mayoz bölünme):***

Spermatositlerin ard arda iki mayoz bölünme geçirerek spermatidleri oluşturdukları ve kromozom sayıları ile DNA miktarını her hücrede eşit olarak yarıya düşürdükleri bu evre Mayoz Bölünme olarak adlandırılır (30).

- ***Spermatid evresi (Spermiyogenezis)***

Spermatidlerin bir dizi hücre farklılaşması süreci geçirerek spermiyumları oluşturdukları bu evre Spermiyogenezis olarak adlandırılır (26).

Spermatogenezis

Spermatogenez, bazal lamina üzerine yerleşmiş, yaklaşık olarak 12 µm çapta, çekirdeği soluk boyanan kromatin içeren, diploid, ilkel bir germ hücresi olan spermatogonyum ile başlar. Spermatogonyumlar testosteron hormonunun etkisiyle pubertede mitoz bölünmeler geçirerek diğer spermatogonyumları ve primer spermatositleri oluştururlar. Spermatogonyumların küçük, 12 µm çapında, yuvarlak şekilli, bol heterokromatin içeren oval çekirdeğe sahip Tip A Koyu Spermatogonyumlar, Tip A Açık Spermatogonyumlar ve Tip B Spermatogonyumlar olmak üzere 3 tipi vardır. Tip A Koyu Spermatogonyumlar yedek

hücrelerdir ve mitozla bölünerek diğer Tip A Koyu Spermatogonyumları ve Tip A Açık Spermatogonyumları oluştururlar. Tip A Açık Spermatogonyumlar da mitozla bölünerek Tip B Spermatogonyumları, onlarda primer spermatozoidlere farklılaşarak birinci mayoz bölünmenin profazına girerler ve yaklaşık 22 gün süren bu aşamadan sonra hızla birinci mayoz bölünmelerini tamamlayarak yalnızca 23 kromozom içeren, daha küçük yapıdaki ve eksik DNA miktarına sahip daha az sayıdaki sekonder spermatozoidleri oluştururlar. Histolojik kesitlerde interfazda kısa süre kalan ve hızlı bir şekilde ikinci mayotik bölünmeye giren, ortalama 8 saatlik bir yaşam süresine sahip sekonder spermatozoidlerin gözlenmesi zordur. Sekonder spermatozoidlerin de kromozom sayısının türler için sabit bir miktarda kalmasını sağlayan mayoz bölünmeyi tamamlamasıyla 23 kromozoma sahip, yuvarlak şekilli, yaklaşık 8 µm çapında, fertilizasyonla normal diploid yapıya dönen haploid yapıdaki spermatidler oluşur (30; 36).

Bir adet Tip A Açık Spermatogonyumdan gelişen ve bol miktarda granüllü endoplazmik retikulum, mitokondri, iyi gelişmiş golgi kompleksi içeren tüm spermatidler birbirlerine sitoplazmik köprücüklerle bağlıdır ve bunlar hidrolitik enzim depolayarak, organellerinin miktarını azaltarak, sitoplazmalarının bir kısmı dökerek, filagellum ve ilgili iskelet yapısını şekillendirerek spermiumlara dönüşürler. Bu süreç Spermiyogenezis olarak adlandırılır ve üç fazdan oluşur (35; 36).

1) Golgi Fazı: Spermatid sitoplazmasında, düz endoplazmik retikulum, çekirdeğin yakınında belirgin bir Golgi kompleksi, mitokondriler, bir çift sentriyol ve serbest ribozomlar bulunur. PAS pozitif boyanan, küçük yapıdaki proakrozomal granüller golgi kompleksinde biriktikten sonra birleşerek tek bir akrozomal granülü membranla sınırlanmış bir akrozomal vezikülün içinde oluştururlar. Sentriyoller de akrozomun olduğu bölgenin karşı kutbuna göç ederek hücre yüzeyine yakın bir konuma gelirler ve flagellar aksonemi oluşturmaya başlarlar. Sonrasında nükleusa doğru geri dönerken hareket etmelerinin sonucunda aksonem komponentlerini çevrelerine sararlar (30; 36).

2) Akrozomal Faz: Yoğunlaşan çekirdeğin ön yarısını akrozomal vezikül ile granüller kaplar ve bu aşamadan sonra da korona radiata hücrelerini tubal mukozal enzimler ile birlikte birbirinden ayıran hyaluronidaz, zona pellusidayı eriten esteraz, nöraminidaz, asit fosfataz ve etkisi tripsine benzeyen proteaz gibi bazı hidrolitik enzimler içeren, lizozomun özelleşmiş bir tipi gibi iş gören akrozom adını alırlar. Akrozomal faz evresinde hücrenin akrozom içeren ön

kutbunun seminifer túbül tabanına doğru yönelmesine ek olarak nükleus uzar daha yoğun bir hal alır, sentriyollerden bir tanesi gelişerek flagellumu oluşturur, mitokondriler spermiyumların hareketlerinin kaynağını aldığı yer olan orta parça adı verilen kalınlaşmış bölgeyi flagellumun proksimal parçası etrafında toplanarak oluştururlar. Flagellumun hareketi ise dynein denilen ATPaz aktivitesine sahip bir proteinin, ATP'nin ve mikrotübüllerin etkileşmesi sonucu oluşur (33).

3) Matürasyon Fazı: Oluşan spermiyumlar seminifer túbül lümenine doğru salınırlar ve geriye kalan artık sitoplazma Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir. Spermatogonyumların bölünmesiyle ve sonraki aşamalarda oluşan hücrelerin tamamen ayrılmayıp birbirlerine sitoplazmik köprülerle bağlı kalmaları, yaklaşık 70 gün süren, tek bir spermatogonyumdan oluşan primer ve sekonder spermatositlerle spermatidler arasındaki iletişimin devamlılığını sağlar. Sertoli hücrelerinin apikal sitoplazma katlantılarında spermiyogenezis aşamasını geçiren spermatid olgun spermiyuma dönüşür ve spermiyasyon olayıyla seminifer túbül lümenine salınır (26; 33).

İnterstisyel Bağ Dokusu

Seminifer túbül epitelini çevreleyen ve túbüllerin arasındaki boşlukları dolduran, lamina propriya da denilen gevşek bağ doku yapısındaki interstisyel bağ dokusunda Leydig hücreleri, fibroblastlar, mast hücreleri, sitoplazmasında aktin filamentlerini içeren, düz kas hücrelerine benzetilen ve hareketsiz spermleri rete testise ilerleten ritmik kasılma hareketlerinden sorumlu olan myoid hücreler (peritübüler kontraktıl hücreleri), kollajen lifler, Leydig hücrelerine dönüşebilen farklılaşmamış mezenkimal kökenli hücreler, bağ doku elemanları, sinirler, kan proteinleri gibi makromoleküllerin serbestçe geçmesine olanak sağlayan pencereci tipteki testiküler kapillerler, kan damarları ve lenfatik damarlar bulunmaktadır (33).

Leydig Hücreleri

Leydig hücreleri seminifer túbüllerin arasındaki gevşek bağ dokusunda çoğunlukla pencereci tip kapiller ve küçük lenf damarlarına yakın konumda tek tek ya da küçük gruplar halinde yerleşen, yaklaşık olarak 15 µm çapında poligonal şekilli, eozinofilik, çok sayıda mikrovillus tek nükleus ve periferde yer alan 1-2 nükleolus içeren büyük hücrelerdir (36).

Leydig hücre sitoplazmasında insanlara özgü Reinke kristalleri olarak adlandırılan kristalize proteinler, steroid hormon üreten hücrelerin tipik özelliği olan túbüler kristal

mitokondriler, sıkı paketlenmiş bol granülsüz endoplazmik retikulum (AGER), çekirdeğin hemen yanında büyük ve iyi gelişmiş bir golgi kompleksi ve çok sayıda yuvarlak lipid damlacıkları bulunur. Daha az sayıda ribozom, granüllü endoplazmik retikulum (GER), lizozom, peroksizom ve bol lipid damlacıkları bulunurken salgı vezikülleri bulunmaz.

Leydig hücre sayısı ve aktivitesi hormonal uyarılara bağlıdır ve türlere göre değişkenlik gösterir. Gebelik sırasında üretilen plasental gonadotropik hormon maternal kandan fetusa geçerek leydig hücrelerini uyarır. Bu hücrelerde mitokondri ve AGER' lerinde bulunan enzimlerce erkek genital organlarının farklanması ve sekonder seks karakterlerinin gelişiminden sorumlu hormon olan testosteronu sentezlerler (26; 30).

Kan-testis bariyeri

Kan-testis bariyeri, seminifer tübüller ile interstisyel kan damarları arasında yer alan ve seminifer tübüllere immünoglobülinlerin geçmesini önleyerek germ hücrelerinin kandan gelen zararlı ajanlara karşı korunmasını sağlayan, sertoli hücrelerinin kurduğu sıkı bağlantılar ile oluşan bariyerdir (30).

Seksüel olgunlaşmanın immunolojik yeteneğin gelişmesinden sonra meydana gelmesi sebebiyle spermatogenez sırasında ortaya çıkan birtakım proteinler farklılaşmakta olan sperm hücrelerinin yabancı olarak algılanmasına ve yokedilmesine sebep olabilecek bir immün yanıtı tetikledikleri için, kan-testis bariyeri gelişen spermler ve immün sistem arasında oluşabilecek hertürlü etkileşimi ortadan kaldırır (33).

3.5.Herbisitler

Kültürü yapılan bitkilerin kullandığı ışığa, besin maddelerine ve suya ortak olan; üretim ve kalitenin düşmesine sebep olan bitkilerin (yabancı otların) öldürülmesi veya gelişiminin baskılanması için kullanılan kimyasal maddelere herbisit denir (48).

Dünyada tarımsal mücadelede kullanılmak üzere üretilen ilaç miktarı hızla artmakta üretimi ve gün geçtikçe yeni ilaçlar geliştirilmektedir. Böylelikle kullanılan ilaç çeşitleri de artmaktadır (48).

Herbisitlerin içinde etkinlik gösteren kimyasal maddeler “aktif madde” olarak nitelendirilmekte ve ticari preparatlarda “dolgu maddesi” ile karışık halde bulunmaktadır. İçerdikleri aktif maddelerin formülasyonuna bakılarak herbisitlerin etkinliği hakkında fikir edinmek mümkündür. Bu maddeler formülde kısaltılmış olarak ifade edilmektedir. Ör: 2,4-

Dichlorophenoxy acetic acid; 2,4-D olarak yazılmaktadır. Ayrıca ticari olarak satılan bu kimyasallar yine aynı şekilde isimlendirilmektedir (49).

Günümüzde kullanılan herbisitlerin tamamı organik maddelerden oluşmuştur. Yani C, H, O' den meydana gelmişlerdir. Buradaki karbonların sıralanışı ya halka (aromatik) ya da zincir (alifatik) şeklindedir. Bazen "C" atomlarına "N" de bağlanabilir (50).

Herbisitleri değişik özelliklerine göre sınıflandırılırlar.

Bitki bünyesinde etkililik mekanizmasına göre: Fotosentezi önleyenler (Üre bileşikleri, triazin v.b), Solunumu önleyenler (Dinitrophenol, anilin v.b), Mitoz bölünmeyi engelleyenler (Anilinler, charbamatlar v.b).

Bitki bünyesinde taşınma özelliğine göre: Kontakt herbisitler (Temas ettiği kısımda etkili olup, başka bölgelere taşınmayanlar.), Sistemik herbisitler (Temas ettiği yerden bitki dokusuna girip diğer organlara taşınarak oralarda etkinlik gösterenler),

Bitki dokusu içine giriş yerlerine göre: Toprak herbisitleri (Toprak altı organlardan giriş yapanlar), Yaprak herbisitleri (Toprak üstü organlardan giriş yapanlar).

Kullanış amaçlarına göre: Total herbisitler (Toprak üstü tüm bitkileri öldürmek için kullanılırlar.), Seçici "selektif" herbisitler (Bitkilerin bir kısmına zarar vermeden diğerlerini öldürmek için kullanılanlar).

Uygulanma zamanlarına göre: Ekim öncesi kullanılan herbisitler, Çıkış Sonrası kullanılan herbisitler, Ekim sonrası - çıkış öncesi kullanılan herbisitler, Herbisitler daha birçok şekillerde sınıflandırılmalarına rağmen kimyasal yapılarına göre sınıflandırma en çok kabul gören sınıflandırma şeklidir.

Kimyasal yapılarına göre: Phenoxy grubu (2,4-D,MCPA-T v.b), Aliphatic grubu (TCA, Dalapon, Glyphosphate v.b), Dinitroanilin grubu (Trifluralin, Orzyalin v.b), Nitril grubu (Bromoxynil, Ioxynil v.b), Amidler grubu (Propanil, Naptalam v.b), Doymuş benzoik asitler grubu (Chloramben,2.3.6-TBA Dicamba v.b), Charbamatlar grubu (Propham, Chloropham v.b), Uracil grubu (Bromacil v.b), Diazin grubu (Maleic, Hydrazide v.b), Triazin grubu (Simazine, Atrazine v.b), Bipyridilium grubu (Diquat, paraquat v.b), Üre bileşikleri

(Buturon, Fenuron v.b), diğ er organik herbisit bileşikleri (Amitrol, DCPA v.b), İnorganik herbisit bileşikleri (Sodyum Chlorat, Boratlar, Arsenikler v.b) (49; 48; 50).

3.5.1. Trifluralin (TRF)

TRF dinitroanilin grubuna ait bir herbisittir.

Trifluralin herbisitinin genel özellikleri:

Genel Adı: Trifluralin

Kimyasal Adı (Iupac): A,A,A-Trifloro-2,6-Dinitro-N,N-Dipropyl-P-Toluidine

Moleküler formül: C₁₃H₁₆F₃N₃O₄

Moleküler Ağırlığı: 335,32

Erime noktası: 46–47 °C

Kaynama noktası: 139–140 °C

Teknik Maddenin Fiziksel Hali: Sarı-turuncu kristal

Zehirlilik Sınıfı (Who): 3

Cas Number: 1582–09–8

Etki Şekli: Çimlenen fidenin hipokotil bölgesinden giriş yaparak etki eden seçici toprak herbisitidir. Yarı Ömrü: Toprakta yarı ömrü 45–60 gün veya yaklaşık 6–8 haftadır.

Çözünürlüğü: Aseton, xylene ve aromatic naphthas gibi organik çözücülerde çözünür. Yaygın Olarak Uygulandığı Bitkiler: Ayçiçeği, fasulye, havuç, mısır, patates, soğan, pamuk tohumu, lahana, marul, şeftali, erik, kiraz, kaysı, armut, elma, ayva, biber, domates, salatalık ve kabaktır.

Trifluralin herbisiti yabancı ot öldürücüdür. EPA'nın verilerine göre TRF'nin 0,5 ppm'in üstünde toksik etkisi görülmektedir. Zehirlenme durumunda herbisitinin herhangi bir antidotu bulunmamaktadır (51; 52; 53).

TRF'in toksikolojik etkisi: Akut Toksikite: TRF'in saf halinin uygulandığı deney hayvanlarında deri, göz ve solunum için toksisite görülmemiştir. Sıçan LD50>10000 mg/kg

(oral yolla), insan LD50=0.024 mg/kg/gün, kuş LD50>5000 mg/kg, balık LD50>0.02 mg/lt (96 saat), arı LD50>100 µg/arı (kontak), fare LD50>5000 mg/kg ve tavuk LD50>2000 mg/kg'dır. Sıçanlarda madde gözlerine bulaştığı halde çok az bir hassasiyet görülmüş ve herbisit 7 günde temizlenmiştir. Bazı çiftçilerde deride alerjik reaksiyonlar görülmüştür (dil, boğaz şişmesi ve solunum güçlüğü gibi) (54).

Kronik Toksikite: Uzun süreli temas veya kullanımda alerjik dermatit görülmektedir. Köpeklerde uzun süreçte yapılan çalışmalarda eritrositlerin miktarında azalma ve methemoglobin miktarında artış görülmüştür. TRF oral yoldan alınınca hayvanlarda böbrek ve karaciğere etki etmektedir (55).

Reprodüktif, Teratojenik ve Mutajenik Etkisi: TRF ile yapılan çalışmalarda bu etkilere rastlanılmamıştır.

Karsinojenik Etkisi: Sıçanlarda yapılan çalışmalarda böbrek, mesane ve tiroidlerde malign tümörler görülmüştür.

Organ Toksikitesi: TRF; karaciğer, böbrek ve tiroid bezlerini etkilemektedir.

Ekolojik Etki: Arılar için toksik değildir. Sucul organizmalarda yüksek oranda toksisite göstermektedir. (Alabalık LD50: 0,5–0,6 ppm.)

Çevre Etkisi: Toprakta yarı ömrü 45–60 gündür (6–8 hafta). Toprakta kalıcılığı 6–8 ay devam eder. Altı aydan bir yıla kadar %80–90 aktivitesi devam etmektedir. Sudaki çözünürlüğü: 0,0024 gr/100/ml'dir. Sularda kalıcılığı 6 hafta ile 6 ay arasında değişmektedir. EPA verilerine göre 1 ppm'in üstündeki konsantrasyonlar toksiktir (51).

TRF ilk olarak Avustralya'da tahıl markette 1960'larda üretilmiştir. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı'nın yayınlamış olduğu 2007 istatistiklerine göre TRF Türkiye'de 2007 yılı içerisinde 724.420 litre tüketilmiştir. 2007 yılında Türkiye'de özellikle Ege ve Akdeniz bölgesinde en çok tüketilen herbisittir.

EPA'ya göre TRF; solunum, deri teması ve TRF'e maruz bırakılmış besinlerin tüketilmesi ile vücuda alınabilmektedir (2).

İnsandaki zehirlenme belirtileri: Yüksek ateş, baş dönmesi, baş ağrısı, bulantı, solunum güçlüğü ve taşikardiye neden olmaktadır. İnce bağırsak ya da sindirim sistemindeki

mekanizması azotlu (NO₂) iyonlarla ve aminlerle bağlantılıdır. Absorbe edilen TRF güçlü bir şekilde metabolize edilir. Öncelikli olarak azot yüklü olanlar reaksiyona girer ve tamamen idrarla atılır. Köpek ve sıçanlarda yapılan çalışmalar, TRF'nin %20'sinin üre içinde atıldığını göstermektedir. Bu oranın %90'ı da ilk üç günde idrar ile atılmaktadır. Uygulanan oral dozun %75–80 kadarı köpek ve sıçanlarda feçeste görülür. Değişime uğramayan TRF ise %8 oranındadır. Yaşam boyu 0,0075 mg/gün TRF'e maruz kalınması durumunda kanserojen etki gösterdiği çalışmalarla bildirilmiştir (1; 2).

Pamuk bitkisinin lateral kök meristemindeki TRF uygulanmış hücrelerde yapılan ultrastrüktürel çalışmalarda mitotik kesintilerin, mikrotübüllerin eksikliğine ve yokluğuna bağlı olduğu görülmüştür. Bozulma; söz konusu köklerde mikrotübüllerin varlığı ve yokluğuna bağlı olarak farklılık göstermektedir. Mikrotübüllerin olmadığı durumda hücre normal profaz kromozom siklusuna başlamış ve kromozomlar metafaz plağına dizilim göstermemiş, hücre içinde birleşik düzende durmuşlardır. Bazı hücre bölünmelerinde karışık düzenli mikrotübüller görülmüştür. Nuklear zar reformasyonu gösteren hücreler poliploid, polimorfonuklear, binuklear ya da multinukleardir. Mitozun tüm evrelerinin görülmesi mikrotübül organizasyonunun düzgün olmasına bağlıdır. Görülen mitotik bozukluk çeşitliliği, mikrotübül görülmeyen eşik konsantrasyonun TRF'in sulu doyunluğa ulaştığı değere çok yakın olmasıyla açıklanabilmektedir (55).

Hayvanlar diyetlerinde temel aminoasitlere ihtiyaç duydukları halde sentezleyemezken, bitkiler kendi aminoasitlerini sentezleyebilirler. Aminoasit biyosentez mekanizması memelilerde eşdeğer bir mekanizma olmadığı için herbisitlerin primer hedefidir. Üç ana hedef vardır; glyphosate için enolpyruvylshikimate 3-fosfat sentezi, 31 sülfonilürez, 6 imidazolinones ve 13 diğer tip kimyasal için asetohidroksi asit sentataz sentezi ve glufosinat içeren iki fosfinik asit için glutamin sentezidir. Mikrotübül sistemi ve hücre bölünmesi 3 herbisit hedefine sahiptir. TRF dahil birçok değişik kimyasal içeriğinin büyük bir kısmı mikrotübül oluşturma işlemini değiştirir. 3 karbamat, dihidropteroate sentezini ve mitoz/mikrotübül organizasyonunu inhibe eder. Yağ asidi sentezi ise diğer bir tercih edilen hedeftir ki 58 herbisit bu mekanizmayı hedef alır. Bazıları asetil-CoA karboksilaz'ı inhibe ederken, bazıları ise çeşitli alanlarda çok uzun yağ asidi zincirlerini değiştirir. Diklobenil'in de dahil olduğu 4 herbisit hücre duvarı biyosentezini inhibe eder (2; 54; 55).

3.6. Antioksidanlar

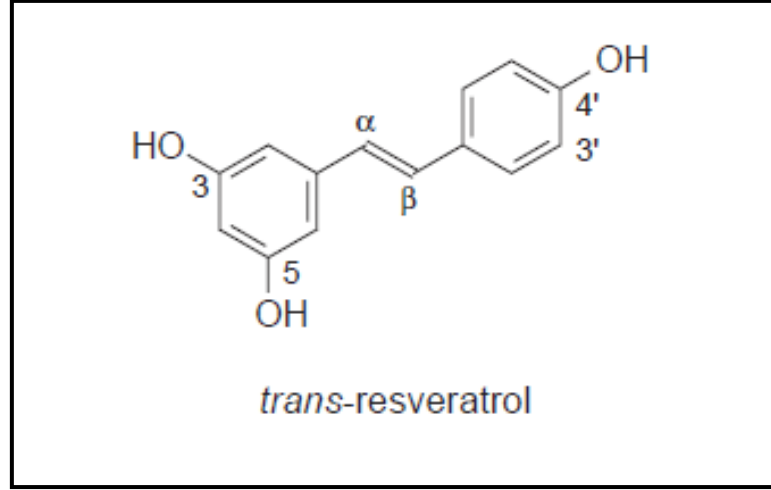
Serbest oksijen radikallerinin etkilerini ortadan kaldırmak için antioksidanlar adı verilen çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir. Antioksidanlar lipid peroksidasyonunu engellemeleri yanında protein, nükleik asitler ve karbonhidratların korunmasını sağlarlar (56). Serbest radikaller ve reaksiyon ürünleri biyomoleküller, fagositler ve myofibroblastların aktivitelerini artırır. Lipid peroksidasyonu ve lipid peroksidasyon ürünleri ile oluşturulan fibrozun, bazı hayvan modellerinde antioksidanların kullanımı ile azaldığı gösterilmiştir (57). Satelit hücrelerin aktivasyonlarının antioksidan etkisiyle bloke edildiği gösterilmiştir. Hücre kültürü ortamında, sıçan stellat ve kuppfer hücreleri fonksiyonlarına antioksidanların etkileri araştırılmış ve bu iki hücrenin düzenleyici fonksiyonları aynı zamanda karaciğer hasarından da sorumlu tutulmaktadır (58).

3.6.1. Resveratrol

Bitkilerin stres koşulları altında korunma ve dayanma mekanizmalarının ürünü olarak biyotik veya abiyotik bir stres faktörü ile karşılaşıldığında çok az miktarda sentezlenen, düşük molekül ağırlıklı, antimikrobiyal, organik, sekonder (ikincil) metabolitlere fitoaleksinler adı verilir (59).

Resveratrol (RVT); ultraviyole ışığa, fungal enfeksiyona (*Botrytis cinerea*) ya da travmatik zedelenmeye maruz kalındığında bitkiler tarafından karşı cevap olarak sentezlenen, 3,5,4' trihidroksistilben olarak da adlandırılan, stilben fitoaleksinlerin en aktif bileşiği ve $C_{14}H_{12}O_3$ molekül formülüne 228,25 dalton molekül ağırlığına sahip, polifenolik, non-flavonoid yapıda bir fitoaleksindir (60; 59).

3-O- β -D-glikozit piceid olarak da bilinen RVT, bitkilerde bulunan diğer polifenoller gibi genellikle glikozit yapısında olup, doğal analogları ve konjüгатlarının yanında cis piceid - trans piceid olarak adlandırılan iki izomere de sahiptir (61). Bitkilerde daha çok trans izomerine rastlanması nedeniyle yapılan bilimsel araştırmalar genellikle trans izomeri üzerinde yoğunlaşmıştır (60; 59).

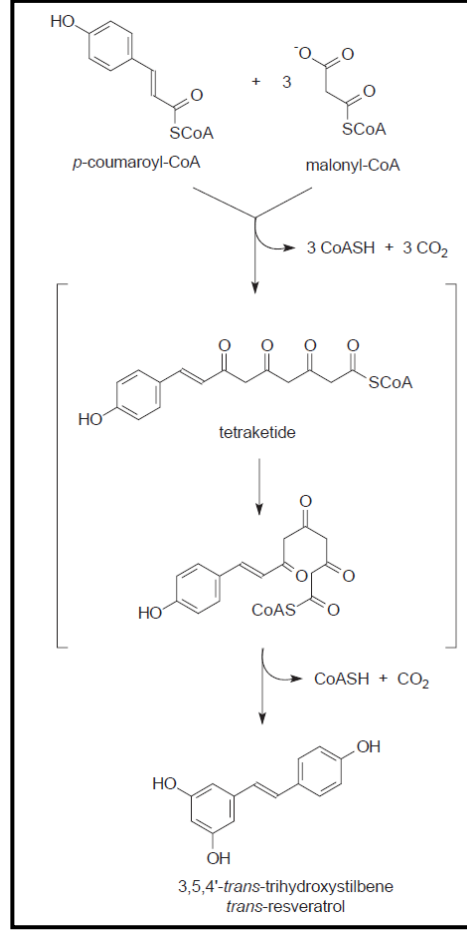


Şekil 15: Resveratrolün kimyasal yapısı (61).

Resveratrol, kırmızı duttan sarıçama kadar pekçok bitkide bulunur. Bu bitkilerden bazıları; *Morus rubra* (kırmızı dut), *Vitis vinifera* (asma), Ökalyptus, *Rheum raphanicum* (Isgın), *Pinus sylvestris* (sarıçam), *Bauhinia* türleri, *Veratrum grandiflorum* (çöpleme), *Polygonum cuspidatum* (sivri uçlu çobandeğneği), *Arachis hypogea* (yer fıstığı), *Ladin* türleri, *Pistacia vera* (Antep fıstığı), *Artocarpus* (ekmek ağacı) türleri, *Vaccinium* türleri, *Veratrum* türleri, *Gnetum montanum*, *Cassia* türleri'dir. Birçok bitkide bulunması nedeniyle çok geniş bir yelpazeye sahip olan resveratrol en çok üzüm kabuğunda (50-100 µg/g) ve yer fıstığında (0.02-1.79 µg/g) bulunur. Kırmızı şarabın içerdiği RES miktarı yaklaşık 1-10 mg/lt iken, beyaz şarap genel olarak kırmızı şarapta bulunan RVT'nin % 1-5'i kadar içerir (62; 63).

Resveratrolün Biyosentezi

Resveratrol sentezi enfeksiyon, travma, stres ya da UV ışığı maruziyetinde stilben sentaz enziminin katalize ettiği bir dizi reaksiyon ile gerçekleştirildiğinden sentez yapısal değil indüklenebilirdir. Resveratrolün biyosentezi p-kumarol- coA'nın, p-kumarol kalıntısı ile malonil-coA'dan 3 adet C-2 alt ünitesinin dekarboksilasyonu ile kondensasyon sonucu oluşur (şekil 6). Daha ileri reaksiyonları resveratrolün bifenolik halkasının 3.pozisyonunda glikozil ya da sülfat kalıntıları ile konjuge olmasıdır (61).



Şekil 16: Resveratrolün biyosentezi (61).

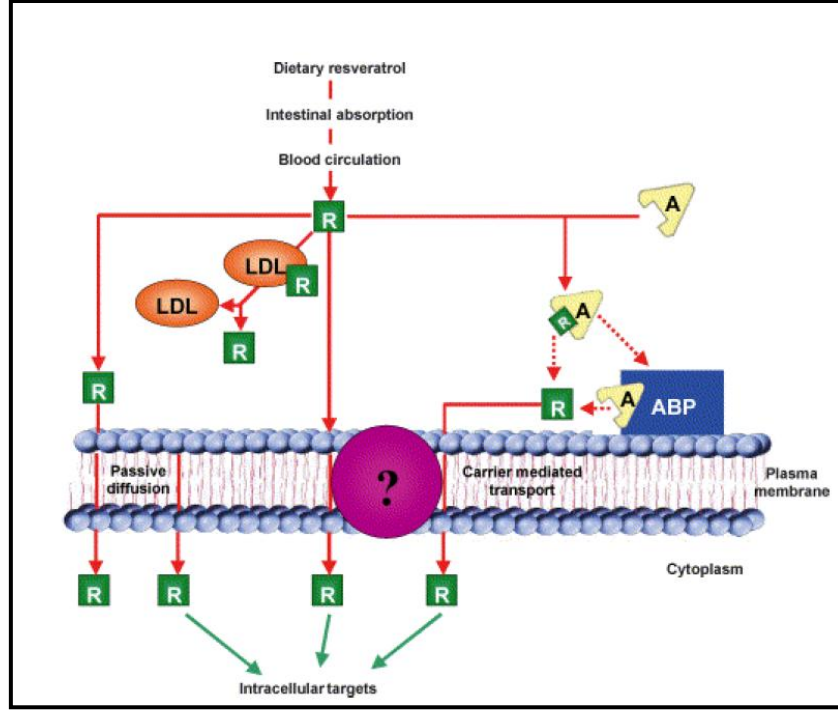
Resveratrolün Emilimi

Resveratrol oral yolla alındığında büyük bir kısmı jejunumda, az bir kısmı ise ileumda olmak üzere; en az %70'i geri emilir ve bir saat gibi kısa bir sürede kan dolaşımına geçer. Karaciğer, böbrek, kalp ve beyin başta olmak üzere çeşitli organlara dağılır ve biyotransformasyonu esas olarak karaciğer mikrozomlarında az miktarda da barsaklarda gerçekleşir (61).

Resveratrolün Dokulara Taşınması

Resveratrol hücre içine esas olarak taşıyıcı aracılı geçiş ve pasif difüzyon ile alınırken, RVT'nin kana geçişini, vücuda dağılımını ve ekresyonunu kolaylaştıran özelliği hidrofilik konjuge hale gelmesidir. Kana geçen resveratrol esas olarak albumine bağlanarak taşınırken lipoproteinlere bağlanarak taşındığı da bildirilmiştir . Albumine bağlanan RVT kompleks

oluşturur, albumin membran reseptörlerince tutulur, daha sonrada bu reseptörler tarafından serbest resveratrol hücre membranına doğru saliverilir (64).



Şekil 17: Resveratrolün kandan dokulara taşınımı ve hücre içine geçişi (64).

Resveratrolün Hücre İçi Reseptörlere Bağlanması

Fitoöstrojenlerden olan resveratrol ve genistein'in östrojen reseptörlerine bağlanabilme yetenekleri insan östrojenleri ile bazı yapısal benzerlikler göstermelerinden ileri gelmektedir. (64). Resveratrol, estradiol ile kombine olarak östrojenle ilgili genlerin ifadenmesini indüklemek üzere "süperagonist" olarak fonksiyon göstererek meme kanseri hücrelerinde östrojen reseptör agonisti olarak rol oynamaktadır (65).

Resveratrolün Atılımı

Plazmada serbest trans-resveratrolün çok az miktarda bulunmasının nedeni yarı ömrünün kısa olması, emiliminin hızlı olması, dokulara kolay taşınması ve plazmadaki konsantrasyonuna bağlı olarak büyük oranda idrar yolu ile atılmasıdır (64). Atılan ve üretilen miktarlar arasında herhangi bir ilişki bulunmamakla beraber idrarda büyük çoğunlukta

konjuge formu çok düşük miktarda glikolize olmayan formu, böbrekte ise doğal formu bulunur (61).

Resveratrolün Biyolojik Aktiviteleri

Resveratrolün birçok farklı dokuda ortaya çıkan çeşitli etkileri 4 ana başlık altında toplanacak olursa:

-Trombosit agregasyonu inhibisyonu

-Antiinflamatuvar aktivite

-Vazodilatör etki

-Antioksidan aktivite

Trombosit Agregasyonu İnhibisyonu

Hasarlanan endotelin normal iyileşme sürecinde trombositler yaralanan damarda hasarlı alanın subendotelial tabakalarına yapıştıktan sonra yaralanma yüzeyine yayılarak agregasyon ve trombus oluşumu için yeni trombositlerin toplanmasına katkıda bulunurlar. Trombositler kanama-pıhtılaşma fonksiyonunun temel hücresi oldukları için fonksiyonlarının fazlalığı tromboza, yetersizliği ise kanamaya yol açtığı gibi ateroskleroz ve tromboz patogeneğinde trombosit aktivasyon ve agregasyonunun artışı önemli risk faktörleridir (66). Trombositlerde agregasyonu tetikleyen ajanlar hücre içi kalsiyumu arttırıp inhibe ediciler azalttığı için resveratrolün trans formu hücre içi kalsiyum miktarını düşürerek agregasyonu engeller fakat cis formu daha fazla antiagregandır (67).

Antiinflamatuvar Aktivite

Resveratrol; sitokinler, kompleman sistemi, NO, proteazlar, bradikininler, adhezyon molekülleri ve prostaglandinler gibi inflamasyondan sorumlu tutulan maddelerin oluşumunu engelleyerek antiinflamatuvar aktivite gösterir (63). Trans-resveratrol CD4 ve CD8 T lenfositlerde sitokin üretimini düşürüp doğal öldürücü hücrelerin sitotoksitesini azalttığı için antioksidan ve antiinflamatuvar etkisini immün sistem hücrelerinde inflamatuvar sitokinleri düzenleyerek ortaya koyar (67). Ayrıca resveratrol; lenfosit kaynaklı interlökinlerin, tümör

nekroz faktör alfanın (TNF- α) üretimini ve hücre sel toksisiteyi azaltır, lenfosit proliferasyonunu baskılar (68).

Resveratrolün Vazodilatör Etkisi

Damar düz kaslarında kasılma-gevşeme yanıtlarını etkileyen damar endotel hücrelerinden salınan nitrik oksit antagonizması yolu ile resveratrolün vazodilatör etkisi ortaya çıktığı gibi bunun yanında damar tonusunu düzenleme, endotel fonksiyonunun devamını sağlama gibi etkileri de bulunmaktadır (69).

Resveratrolün Antioksidan Aktivitesi

Biyolojik sistemlerde bulunan antioksidanların hücre içi konsantrasyonlarının sürdürülmesini sağlayan resveratrol (3,5,4' trihidroksistilben); antosiyaninler, fenolik asitler, flavanoidler, lignanslar ve stilbenleri kapsayan bir antioksidan ailesi olan polifenollerin bir üyesi olan stilbenlerin bir alt grubu olup üzüm, şarap, yer fıstığı ve yaban mersininde bulunan polifenolik bir bileşiktir (63). Üç farklı antioksidan mekanizması ile resveratrolün doğal antioksidan rolü açıklanır;

- Mitokondride oluşan süperoksit ve hidroksil radikallerini yakalamak,
- Fenton reaksiyonu ürünleri tarafından indüklenen lipid peroksidasyonunu inhibe etmek,
- Koenzim Q ile yarışmak ve ROS oluşum yerinde oksidatif zincir kompleksini azaltmaktır (63)

Dokuda lipid peroksidasyonunu artıran ve peroksi radikaller oluşturan, koroner oklüzyonla iskemi ve iskemi-reperfüzyon hasarının oluşturulduğu bir çalışmada resveratrol, koroner perfüzatta lipid peroksidasyonu göstergesi kabul edilen MDA düzeylerini anlamlı olarak azaltmıştır (70). Resveratrolün antioksidan ve radikal süpürücü özelliği ile bakır şelasyon kapasitesinin yüksekliği arasında bir ilişki vardır (71). Resveratrol, DNA hasarı yapan potent hidroksil radikal süpürücü etkisi ile DNA kırılmalarını azalttığı gibi düşük dansiteli lipoproteinlerin peroksidasyonunu da belirgin olarak azaltır (72).

Östrojen erkek üreme sisteminde testisin parakrin fonksiyonu dahilinde, nöroendokrin feedback ile kontrol edilerek testis ve androjenlerden lokal aromatzasyonla üretilir (73).

Trans-resveratrol, dietilstilbesterol ve östradiole yapısal olarak benzediği gibi; östrojen yanıt sistemini düzenleyerek resveratrolün fitoöstrojen olarak sınıflandırılmasını sağlar (74). Edinilen bu bilgilere dayanılarak gerçekleştirilmiş bir çalışmada yapısal olarak östrojenlere benzeyen trans-resveratrolün yetişkin sıçanlarda testis ve spermatogenez ve üzerine tedavi edici etkisi araştırılmış ve herhangi bir yan etkiye rastlanılmadan sıçanlarda oral resveratrol tedavisi ile spermatozoa üretiminde artış görülmüştür (75).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Biriminden (DETFAB) temin edilen Wistar suşu toplam 35 erkek sıçan (200-250g) 26/2010 protokol no'lu etik kurul onayı alınarak kullanıldı. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda, Wistar suşunun bulunması ve literatür ile uyumlu olması nedeniyle bu tür ve cins seçilmiştir. Tüm denekler çalışma sonlanıncaya kadar Deney Hayvanları Laboratuvarlarında 12/12 saat karanlık/aydınlık periyodunda, 20–22 °C oda sıcaklığında barındırıldı. Denekler dinlendirilmiş musluk suyu ve standart pellet yem ile beslendi.

Beş çalışma grubu oluşturuldu. Deney grupları aşağıdaki şekilde düzenlendi:

I. grup, kontrol grubu: TRF, RVT ve mısır yağı verilmemiş normal ad libidum beslenen grup (n=7).

II. grup, sham grubu: TRF ve resveratrol eklenmemiş mısır yağı ve etanol 21 gün süre ile intragastirik gavaj yöntemiyle verildi (n=7).

III. grup, TRF Yüksek Doz grubu: 2 g/kg/gün TRF verilen deney grubu: 2 g/kg /gün TRF mısır yağı içinde çözdürülerek (LD50 =10 g/kg/) 21 gün süre ile intragastirik gavaj yöntemiyle verildi (n=7).

IV. grup, TRF Düşük Doz grubu: 0.8 g/kg/gün TRF verilen deney grubu: 0.8 g/kg /gün TRF mısır yağı içinde çözdürülerek (LD50 =10 g/kg/) 21 gün süre ile intragastirik gavaj yöntemiyle verildi (n=7).

V. grup, RVT tedavi grubu: 10 mg/kg./gün resveratrol (%96'lık alkolde çözdürülerek) + 2 gr./kg./gün TRF (mısır yağı içinde çözdürülerek) 21 gün süre ile intragastirik gavaj yöntemiyle verildi (n=7).

Trifluralin, 99% lik saflıkta safa tarım (Konya, Türkiye)'dan elde edildi. TRF uygulaması 21 gün süre ile mısır yağı içinde çözdürülerek mide gavajı yöntemiyle verildi. 10 mg trans-Resveratrol (70675 Cayman Chemical Company, Michigan, USA.) %96'lık alkolde çözdürüldü ve 1 ml distile suya tamamlanarak hazırlandı ve mide gavajı yöntemi ile verildi. Çalışmanın başında ve sonunda olmak üzere iki defa kuyruktan enjeksiyonla kan örnekleri alınarak biyokimyasal analiz yapıldı. Bu süre içinde herhangi bir nedenle deneye devam

edemeyen ya da deney bitmeden yaşamı sonlanan denekler, grup sayıları korunarak deney ve istatistik kapsamından çıkarıldı. Deney sonunda eter anestezisi uygulanarak hayvanlar sakrifiye edildi. İntrakardiyak yolla kan örnekleri alındıktan sonra böbrek, üreter ve mesane dokuları çıkarıldı. Dokuların bir kısmı biyokimyasal analizler için ayrıldı. Histolojik incelemeler için alınan dokular %10'luk tamponlanmış formaldehit içinde fikse edildi.

TRF'nin toksik etkisine karşı araştırmacı ve personel maske ve eldiven kullanıldı. Toksik maddelerin hazırlanması inhalasyonla zehirlenme riskine karşı çeker ocakta yapıldı. Sakrafikasyondan sonra hayvanlar ve ortaya çıkan atıklar, tıbbi atık torbalarına alınarak deney hayvanları multidisiplin laboratuvarı tarafından hastanenin imha bölümüne gönderilerek kurallara uygun koşullarda yok edildi.

4.1. Hayvan Ağırlıkları Değerlendirmesi

Deney başlangıcında ve deney sonunda (sacrifikasyon öncesi) hayvanların ağırlıkları ölçüldü. Sonuçlar SPSS 15,0 Programında Wilcoxon Signed Ranks Testi kullanılarak değerlendirildi. Deneklerin ağırlıklarının başlangıç ve deney sonundaki verilerinin grup içinde karşılaştırılmasında $p \leq 0,05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.2. Işık Mikroskopik İncelemeler

Sol böbrek, sol üreter, mesane ve testisin bir kısmı ışık mikroskopik inceleme için %10'luk formaldehit solüsyonunda 24–48 saat fikse edildi. Daha sonra fiksatiflerin uzaklaştırılmaları amacıyla 1 gece akarsu altında yıkandı. Dehidratasyon amacıyla sırasıyla %70, %80 ve %96'lık etil alkol serilerinde 20'şer dakika; ardından 4 farklı aseton serisinde 20'şer dakika tutuldu. Şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dakika iki farklı ksilene tabi tutuldu. 1'er saatlik 2 kez parafin ile immersiyonu sağlandıktan sonra dokular parafin bloklar içerisine gömüldü (şekil18). Rotary mikrotom (RM 2255, Leica) aracılığı ile 5µ'luk parafin kesitler alındı.

İşlem	Madde	Süre
Fiksasyon	%10'luk Formaldehit	24–48 Saat
Fiksatiften Uzaklaştırma	Akarsu	1 Gece
Dehidratasyon	%70–80–96'lık alkol	20'şer Dakika
Post Fiksasyon	Aseton 1–2–3–4	20'şer Dakika
Şeffaflandırma	Xylol 1–2	30'ar Dakika
	Parafin 1–2	60'ar Dakika
Bloklama	Parafin	

Şekil 18: Doku takip protokolü.

4.2.1.Hematoksilen-Eozin Boyaması

Alınan kesitler deparafinizasyon işlemi için 30 dakika 60°C'lik etüvde bırakıldı. Ardından ilki 20 dakika (etüvde) diğer ikisi 10'ar dakikalık üç farklı ksilene tabi tutuldu. Daha sonra rehidratasyon işlemi için 5 değişim absolü alkol-%70'e azalan alkol serilerinden geçirildi, kesitler distile su ile çalkalandıktan sonra 10 dakika Hematoksilen (01562E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) ile boyandı. Boyamanın ardından, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması için 10 dakika akarsuda yıkanan kesitler, 2 dakika Eozin (01602E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) boyası ile boyandı. Boyamadan sonra sırasıyla %70, %80, %96 ve 2 seri Absolü alkolden geçirilen kesitler şeffaflaştırma amacıyla 20'şer dakika üç değişim ksilende tutulduktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı (şekil 19).

İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	60°C Etüvde	30 Dakika
Deparafinizasyon	Ksilen 1 (Etüvde)	20 Dakika
Deparafinizasyon	Ksilen 2 (Oda Isısında)	10 Dakika
Deparafinizasyon	Ksilen 3 (Oda Isısında)	10 Dakika
Rehidratasyon	%100'lük alkol	Çalkalama
Rehidratasyon	%100'lük alkol	Çalkalama
Rehidratasyon	%96'lık alkol	Çalkalama
Rehidratasyon	%80'lik alkol	Çalkalama
Rehidratasyon	%70'lik alkol	Çalkalama
Yıkama	Distile Su	Çalkalama
Boyama	Hematoksilen	10 Dakika
Yıkama	Akarsu	10 Dakika
Boyama	Eosin	2 Dakika
Yıkama	% 70-80-96-100-100'lük Alkol	Çalkalama
Şeffaflaştırma	Ksilen 1	20 Dakika
Şeffaflaştırma	Ksilen 2	20 Dakika
Şeffaflaştırma	Ksilen 3	20 Dakika
Kapama	Entellan	

Şekil 19: Hematoksilen-Eozin boyama protokolü.

4.2.2 Masson-Trikrom Boyaması

Alınan parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüvde bırakıldı. Ardından ilki 30 dakika (etüvde) diğer ikisi 20'şer dakikalık üç farklı ksilende tutuldu. Daha

sonra rehidratasyon işlemleri için 2 değişim absölu alkol ve %96'dan %70'e azalan alkol serilerinden geçirdi. Ve akarsuda 5 dakika bekletildikten sonra Masson Trikrom boyama seti (2049 GBL, İstanbul, Türkiye) içerisinde dokular üzerine 8 damla Weigert hematoksilen boyası ile 8 damla ferrik klorür çözeltisi damlatıldı ve 20 dakika bekletildi. 1 dk distile su ile yıkandıktan sonra 8 damla asit-alkol çözeltisi ile 1 dakika bekletilen kesitler distile suyla iyice yıkandı. Ardından 8 damla Ponceau asit fuksin azofloksin çözeltisi dokunun üzerini tamamen kaplayacak şekilde uygulandı. 5 dakika sonra uzaklaştırıldı ve 1 ml stok asit çözeltisi ve 29 ml distile su ile hazırlanan asitli su ile kısaca yıkandı. 8 damla fosfomolibdik asit turuncu G boyası ile 20 dakika muamele edildikten sonra asitli su ile yıkandı ve 8 damla açık yeşil boya ile 5 dakika boyandı. Boyamanın ardından akarsu altında yıkanan kesitler artan alkol serilerinden geçirildi. Ksilen ile şeffaflaştırma yapıldıktan sonra entellan ile kapatıldı (şekil 20).

İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	60°C Etüvde	1 Gece
Deparafinizasyon	Ksilen 1 (Etüvde)	30 Dakika
Deparafinizasyon	Ksilen 2 (Oda Isısında)	20 Dakika
Deparafinizasyon	Ksilen 3 (Oda Isısında)	20 Dakika
Rehidratasyon	%100'lük alkol	Çalkalama
Rehidratasyon	%100'lük alkol	Çalkalama
Rehidratasyon	%96'lık alkol	Çalkalama
Rehidratasyon	%80'lik alkol	Çalkalama
Rehidratasyon	%70'lik alkol	Çalkalama
Yıkama	Distile Su	Çalkalama
Boyama	No:1 + No:2 Solusyonu	10 Dakika
Yıkama	Distile Su	Çalkalama
Boyama	No: 3	4 Dakika
Boyama	No: 4	5 Dakika
Yıkama	Distile Su	Çalkalama
Boyama	No: 5	10 Dakika
Boyama	No: 6	5 Dakika
Yıkama	Distile Su	Çalkalama
Dehidratasyon	% 70–80–96–100-100'lük Alkol	Çalkalama
Şeffaflaştırma	Ksilen 1	20 Dakika
Şeffaflaştırma	Ksilen 2	20 Dakika
Şeffaflaştırma	Ksilen 3	20 Dakika
Kapama	Entellan	

Şekil 20: Masson-Trikrom boyama protokolü.

4.2.3 Peryodik Asit Schiff Boyaması (PAS) :

Alınan parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüvde bırakıldı. Ardından ilki 1 saat (etüvde) diğer ikisi 30'ar dakikalık üç farklı ksilene tabi tutuldu. Daha sonra rehidratasyon işlemi için 2 değişim absolü alkol ve %96'dan %70'e azalan alkol serilerinden geçirildi, kesitler distile su ile çalkalandıktan sonra 3-5 dakika peryodik asit ile boyandı. Boyamanın ardından, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması için 1-2 dakika akarsuda yıkanan kesitler, 20-23 dakika schiff boyası ile boyandı. Boyamadan sonra 5 dk akarsuda tutuldu. Daha sonra dehidratasyon işlemi için sırasıyla %70, %80, %96 ve 2 seri Absolü alkol serilerinden geçirilen kesitler şeffaflaştırma amacıyla 20'şer dakika üç değişim ksilende tutulduktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı. (şekil 21)

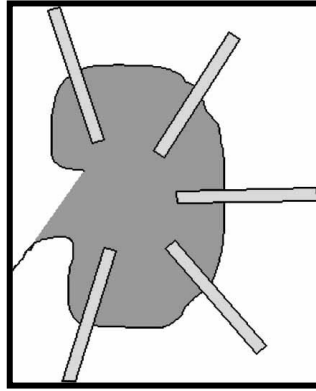
İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	60°C Etüvde	1 Gece
Deparafinizasyon	Ksilen 1 (Etüvde)	1 Saat
Deparafinizasyon	Ksilen 2-3 (Oda Isısında)	30 Dakika
Rehidratasyon	%100-100-96-80-70'lik Alkol	Çalkalama
Yıkama	Distile Su	10 Dakika
Boyama	Peryodik Asit	3-5 Dakika
Yıkama	Akarsu	1 Dakika
Boyama	Schiff	20-23 Dakika
Yıkama	Akarsu	1-2 Dakika
Boyama	Hematoksilen	1-2 Dakika
Yıkama	Akarsu	5 Dakika
Dehidratasyon	% 60-70-80-96-100'lük Alkol	Çalkalama
Şeffaflaştırma	Ksilen 1-2-3	20'şer Dakika
Kapama	Entellan	

Şekil 21: Peryodik Asit Schiff (PAS) boyama protokolü.Şekil 21: Periyodik Asit Schiff (PAS) Boyama Protokolü:

4.3. Histolojik skorlama

4.3.1. Nekroz ve Fırça Kenar kaybının Değerlendirilmesi.

Böbrek dokusu PAS boyama kesitlerinde seçilen alanlarda tüm glomerüller, tübüller, intertisyum ve vasküler lezyonları ışık mikroskopik olarak değerlendirildi. Proksimal tübüllerin geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz hasarını sınıflandırmak için ise PAS ile boyalı kesitleri incelendi. Şekilde gösterildiği gibi çizilmiş farklı bölgelerdeki beş standart alan X20'lik büyütme ile incelendi (Şekil 22) (76) .



Şekil 22: Böbrek dokusuna ait horizontal kesitlerde belirlenen standart seçilmiş 5 alan (76).

Her standart alan için üçer görüntü olacak şekilde toplam 15 görüntü alındı. Toplam $1,67 \times 10^6 \mu\text{m}^2$ test alanı değerlendirildi. Derecelendirmede kullanılan skorlama (Şekil 23).

SKOR	BULGU
0	DEĞİŞİKLİK YOK
1	HAFİF FIRÇA KENAR KAYBI, NEKROZ BELİRTİSİ YOK.
2	ORTA ŞİDDETTE FIRÇAKENAR KAYBI, NEKROZ BELİRTİSİ YOK.
3	ŞİDDETLİ FIRÇA KENAR KAYBI VE NEKROZLU TÜBÜLLER

Şekil 23: Histolojik skorlama.

Nekrozun belirlenmesinde; karyoreksis, karyolizis, piknosis ve/veya tübülareksis bulguları göz önünde bulunduruldu. Skorlanan tüm proksimal tübüller kaydedilip istatistiksel olarak One Way ANOVA, LSD testiyle değerlendirildi (76).

4.3.2. Johnson Testiküler Biyopsi Skoru

Deney gruplarındaki her bir hayvan için ayrı ayrı 20 adet tübül değerlendirilerek her bir tübüle Johnson Testiküler Biyopsi Skorlaması yapıldı. Gruplar arası istatistiksel

karşılaştırmalar için One Way ANOVA testi kullanıldı. İstatistiksel olarak $p>0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

Skor	Histolojik bulgular
10	Birçok spermatozoa bulunan tam bir spermatogenezis
9	Birçok spermatozoa var, germinal epitel bozuk ve lümen Oblitere
8	Yalnız birkaç spermatozoa var (<5-10)
7	Spermatozoa yok, birçok spermatid var
6	Spermatozoa yok, yalnızca birkaç spermatid var (<5-10)
5	Spermatozoa/spermatid yok, çok sayıda spermatosit var
4	Yalnızca birkaç spermatosit var (<5), spermatid / spermatozoa yok
3	Germ hücresi olarak yalnız spermatogonia mevcut
2	Tübüller içerisinde germ hücresi yok, Sertoli hücreleri mevcut
1	Tübüller içerisinde hücre yok

Şekil 24: Jonhson testiküler biopsi skorlaması.(77)

4.4. İmmünohistokimyasal İncelemeler:

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için DNA fragmantasyonu immünojenik yöntemlerle gösterildi. 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 veya hemotoksilen ile ters boyama yapılarak işlem sonlandırılır.

4.4.1 Terminal Deoxynucleotidyl Transferase-Mediated Deoxyuridine Triphosphate DNA Nick-End Labelling (TUNEL) Boyaması:

Bu teknik için DeadEnd Colorimetric TUNEL system kiti (G7130, Promega, USA) kullanıldı. Kesitler boyama için bir gece 60 C°'lik etüvde tutulduktan sonra, 30'ar dakika iki değişim ksilen ile şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Ardından azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak distile suda 5 dakika bekletildi. Kesitler 15 dakika %4'lük paraformaldehit ile 10 dakika muamele edildikten sonra, 10 dakika 20- μ g/ml proteinase K ile

inkübe edildi ve ardından tekrar 3 kez 5'er dakika tampon solüsyonu ile yıkandı. İkinci kez %4'lük paraformaldehit 5 dakika uygulanıp yıkandıktan sonra, tampon solüsyonu ile 5 dakika yıkanan kesitler TdT-enzimi solüsyonu ile 37°C de 1 saat inkübe edildi. 10 dakika %22 NaCl ve % 11 Sodyum sitrat içeren solüsyon (SSC) uygulanan kesitlere tampon solüsyonu ile yıkama yapıldıktan sonra endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dakika %3'lük H₂O₂ (TA-015-HP, Lab vision, Fremont, CA) uygulandı. Ardından tampon solüsyonu ile oda sıcaklığında 10 dakika yıkanan kesitler anti-streptavidin-peroksidaz enzimi ile 30 dakika inkübe edildi. Tampon solüsyonu ile yıkanan kesitler TUNEL reaksiyonunun görünürlüğünü saptamak amacıyla diaminobenzidine (DAB) ile boyandı. Distile su ile yıkandıktan sonra Mayer's hematoksilen ile art alan boyaması sağlanan kesitler %80 ve %95'lik alkollerde dehidratasyon işlemine tabi tutuldu ve 30 dk ksilen ile şeffaflaştırma işleminden sonra entellan ile kapatıldı (Şekil25).

İşlem	Madde	Süre
Deparafinizasyon	60°C Etüvde	1 Gece
Deparafinizasyon	Ksilen 1-2-3	30'ar Dakika
Rehidratasyon	% 100-96-80-70'lik Alkol	2'şer Dakika
Yıkama	Distile Su	10 Dakika
Dokuların Etrafını Çizme	Dakopen	
Yıkama	PBS	3x5 Dakika
	Proteinaz K Solüsyonu	37 ⁰ C 15 Dakika
Yıkama	PBS	3x5 Dakika
	H ₂ O ₂	10 Dakika
Yıkama	PBS	3x5 Dakika
Bloklama	Blocking Solüsyonu	1 Saat
Primer Antikor	Enzim Solüsyonu	37°C 1 Saat
	SSC Solüsyonu	10 Dakika
Yıkama	PBS	3x5 Dakika
	% 3'lük Hidrojen Peroksit	5 Dakika
Yıkama	PBS	3x5 Dakika
	Streptavidin HRP	30 Dakika
Yıkama	PBS	3x5 Dakika
Boyama	DAB Boyası	10 Dakika
Yıkama	Distile Su	10 Dakika
Zıt Boyama	Mayer Hematoksilen	4 Dakika
Dehidratasyon	% 80-96-100'lük Alkol Serileri	2'şer Dakika

Şeffaflaştırma	Ksilen 1–2–3	30’ar Dakika
Kapama	Entellan	

Şekil 25: TUNEL boyama protokolü.

4.5. Biyokimyasal Analizler:

Sağ böbreğin, sağ üreter ve mesanenin bir kısmı alınarak biyokimyasal analizler için kullanıldı. Doku örnekleri 2 ml soğuk distile su içinde ultrasonik homojenizatörde 1 dk süreyle homojenize edildi. Homojenizasyon işlemleri sırasında örnekler buz üstünde tutuldu. Homojenat +4°C’de ve 10 000 g devirde 15 dk santrifüj edildi ve süpernatandan enzim ve protein ölçümü yapıldı. Örnekler ölçüm yapılana kadar - 70°C’de saklandı.

Oksidatif stres göstergesi olan lipid peroksidasyon düzeyi (MDA) saptandı. Spektrofotometrik yöntemle antioksidan savunma sisteminin göstergeleri olan SOD ve GPx enzim aktiviteleri ölçüldü.

4.5.1.Homojenat Hazırlanması

Böbrek, üreter ve mesane dokularının bir kısmı alınarak biyokimyasal analizler için kullanıldı. Doku örnekleri 2 ml soğuk distile su içinde ultrasonik homojenizatörde 1 dk süreyle homojenize edildi. Homojenizasyon işlemleri sırasında örnekler buz üstünde tutuldu. Homojenat +4°C’de ve 10 000 g devirde 15 dk santrifüj edildi ve süpernatantan enzim ve protein ölçümü yapıldı. Örnekler ölçüm yapılana kadar - 70°C’de saklandı.

4.5.2 Malondialdehit (MDA) değerlerinin saptanması:

MDA değerlerinin saptanması:

- Daha önceden –80 °C’deki doku homojenatları 10 dakika oda ısısında çözüldü.
- 200 µl’lik örnekler tüplere konuldu.
- Her tüpe 10’ar µl probukol eklendi. (Bioxytech, Oxis Research, MDA 586®)
- Her tüpe 640 µl R1 solüsyonundan eklendi.
- Dikkatlice vortekslendi.
- Her tüpe 150 µl R2 solüsyonundan eklendi.
- Dikkatlice vortekslendi.

➤45°C de 60 dakika inkübe edildi.

➤Temiz bir süpernatant için örnekler santrifüj edildi (ör. 10,000 X g 10 dakika),

➤Temiz süpernatant kısmı ölçüm kuvetine konularak spektrofotometre ile 586 nm absorbansla ölçüldü (HACH-LANGE DR 5000®).

MDA değerleri MDA ticari kiti ile (Oxis international, inc) spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Doku homojenatları kit prosedürüne göre hazırlandıktan sonra, 486 nm'de absorbansları ölçüldü.

4.5.3 Glutathione Peroxidase (GPx) aktivitesinin ölçümü:

GPx değerleri, GPx ticari kiti ile (Ransel, Randox international, inc), spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Doku Homojenatları kit prosedürüne göre hazırlandıktan sonra Arcitect 16000(Abbott, USA) cihazıyla spektrofotometrik olarak ölçüldü.

4.5.4. Süperoksid Dismutase (SOD) Aktivitesinin ölçümü.

SOD değerleri, SOD ticari kiti ile (Ransod, Randox international, inc), spektrofotometrik yöntemle ölçüldü. Doku Homojenatları kit prosedürüne göre hazırlandıktan sonra Arcitect 16000(Abbott, USA) cihazıyla spektrofotometrik olarak ölçüldü

4.5.5 Biyokimyasal kan ve idrar analizler:

Böbrek fonksiyonlarının saptanması için deney başlangıcında ve sonunda kan ve 24 saatlik idrar örnekleri toplandı, idrar miktarları kaydedildi. 1cc. idrar ve kandan elde edilen serum örnekleri Arcitect 16000 cihazıyla spektrofotometrik olarak ölçüldü. Spektrofotometrik olarak ölçümü yapılan parametreler üre (Protein metabolizmasının yıkım ürünü olan toksik etkili amonyakın detoksifikasyonu amacı ile oluşan üre suda çözünebilir ve böbrek yolu ile idrarla atılır), üre azotu (BUN) (BUN düzeyleri böbrek işlevlerini değerlendirmek için en sık kullanılan testtir). Bu test böbrek hastalığı ya da kuşkusu olan, hücre dışı sıvı fazlalığı ya da azlığı olan, asitbaz metabolizması bozukluğu kuşkusu olan, diüretik kullanan, nefrotoksik olabilecek ilaç kullananlarda yapılan bir testtir) Potasyum (K) ve Kreatininin (iskelet kaslarındaki kreatinin'in su kaybetmesi ile oluşur. Serum kreatininin düzeyi vücut kas kitlesinden ve kas yıkımından etkilenmekle birlikte, diyetle alınan protein içeriğinden çok az

etkilenir. Bu nedenle, böbrek fonksiyonlarını değerlendirmede, serum üre ya da BUN düzeyine göre daha duyarlıdır.

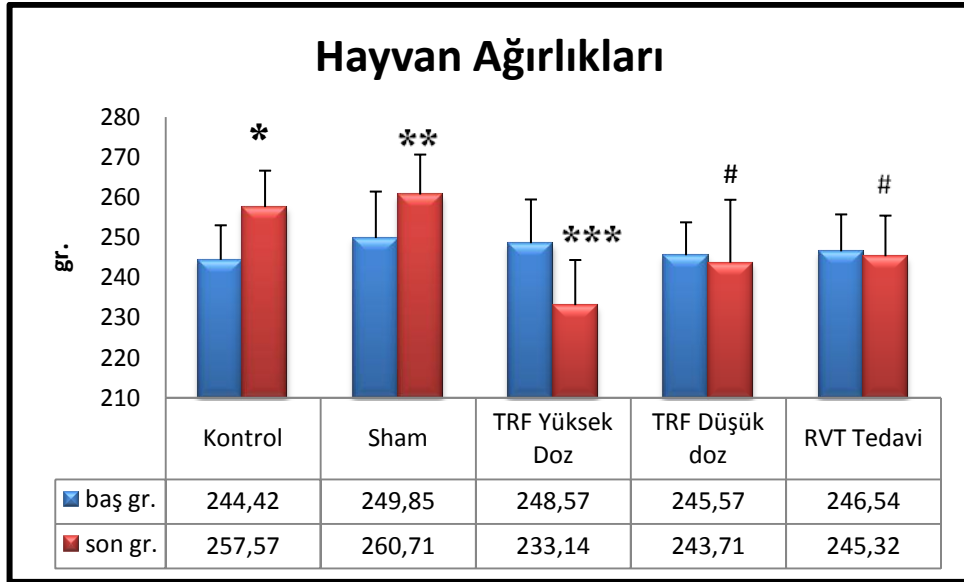
4.6.İstatistiksel değerlendirme

Deneyden elde edilen değerler Windows için SPSS 15,0 istatistik programı kullanılarak analiz edildi. Veriler ortalama \pm standart hata olarak gösterildi. Gruplar arasındaki farklar one-way ANOVA posthoc LSD testi ile değerlendirildi. $P < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

5.1. Hayvan Ağırlıklarının Değerlendirilmesi

Başlangıç ağırlık ortalamaları; Kontrol grubunda $244,42 \pm 8,61$ gr., Sham grubunda $249,85 \pm 11,58$ gr., TRF YD grubunda $248,57 \pm 10,89$ gr., TRF DD grubunda $245,57 \pm 8,2$ gr. ve RVT Tedavi grubunda $246,54 \pm 9,2$ gr. olarak bulundu. Son ağırlıkları ise; Kontrol grubunda $257,57 \pm 9,07$ gr., Sham grubunda $260,71 \pm 9,94$ gr., TRF YD grubunda $233,14 \pm 11,24$ gr., TRF DD grubunda $243,71 \pm 15,68$ gr. ve RVT Tedavi grubunda $245,32 \pm 10,12$ gr. olarak saptandı. İstatistiksel olarak karşılaştırıldığında, Kontrol grubunda başlangıç ve son ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü ($p=0,01$). Sham grubunda da yine başlangıç ve son ağırlıkları istatistiksel olarak anlamlı artış gözlemlendi ($p=0,001$). TRF YD grubunun başlangıç ve son ağırlıkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalma bulundu ($p=0,01$). TRF DD grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p=0,4$). RVT Tedavi grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p=0,3$). Bu değerler göz önünde bulundurulduğunda deney gruplarının TRF'den etkilenerek ağırlık kaybederken tedavi grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını göstermektedir. Sonuçlar SPSS 15,0 Programında Wilcoxon Signed Ranks Testi kullanılarak değerlendirildi (Şekil 26).



Şekil 26: Grupların deney başlangıcı ve deney sonundaki ağırlıkları.

*: Kontrol grb. hayvanların başlangıç ağırlığına göre anlamlı artış gösteren grup.($p=0,01$)

** : Sham grb. hayvanların başlangıç ağırlığına göre anlamlı artış gösteren grup.($p=0,001$)

***: TRF Yüksek Doz grb. hayvanların başlangıç ağırlığına göre anlamlı artış gösteren grup.($p=0,01$)

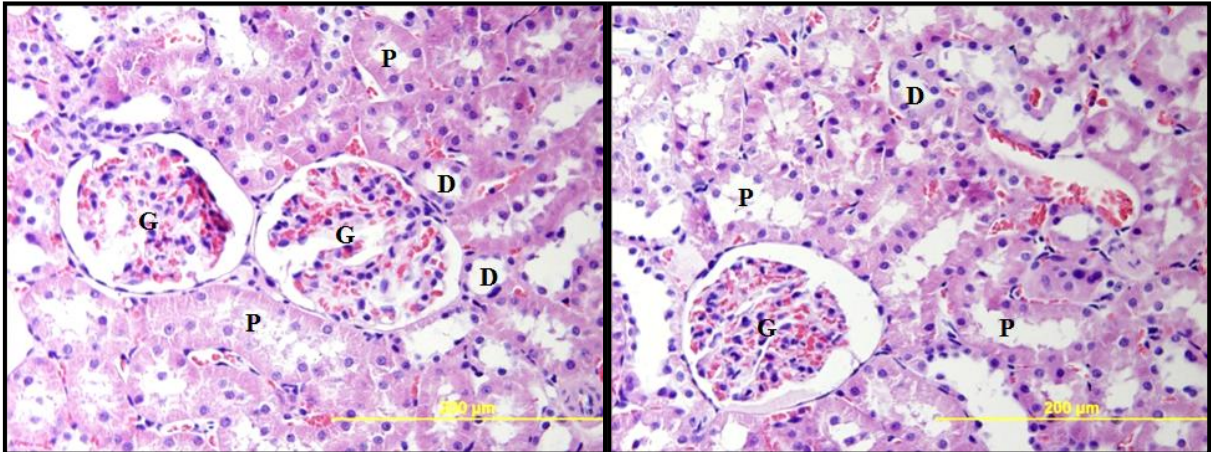
#: TRF Düşük Doz ve RVT Tedavi grubu hayvanların başlangıç ağırlıklarına göre istatistiksel olarak fark bulunmayan gruplar ($p=0,3$ ve $p=0,4$).

5.2. Işık Mikroskopik Bulgular

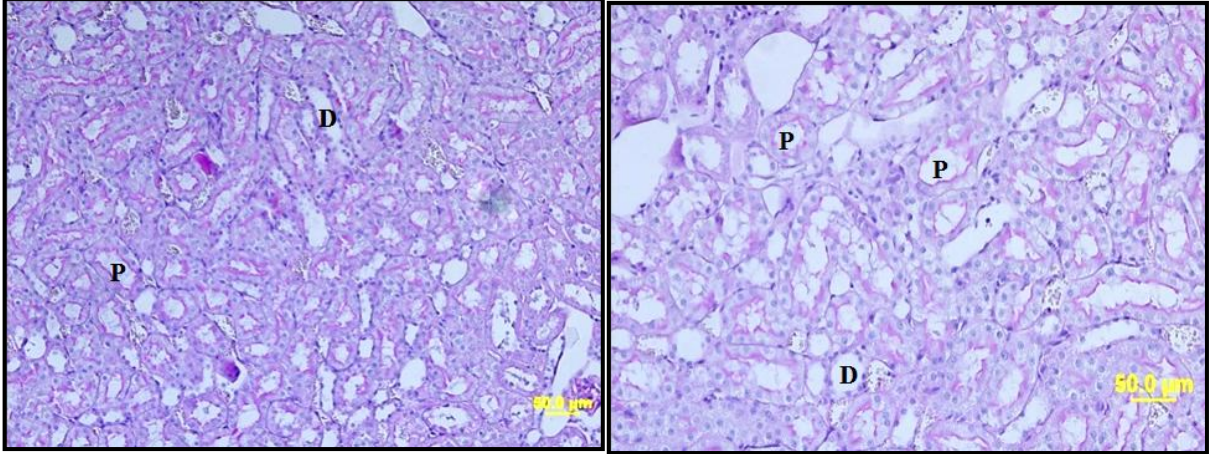
5.2.1. Böbrek Dokusunun Histomorfometrik açıdan değerlendirilmesi

Böbrek dokusunun histolojik açıdan değerlendirilmesi için H&E, PAS ve Masson Trikrom boyamaları yapılarak değerlendirildi.

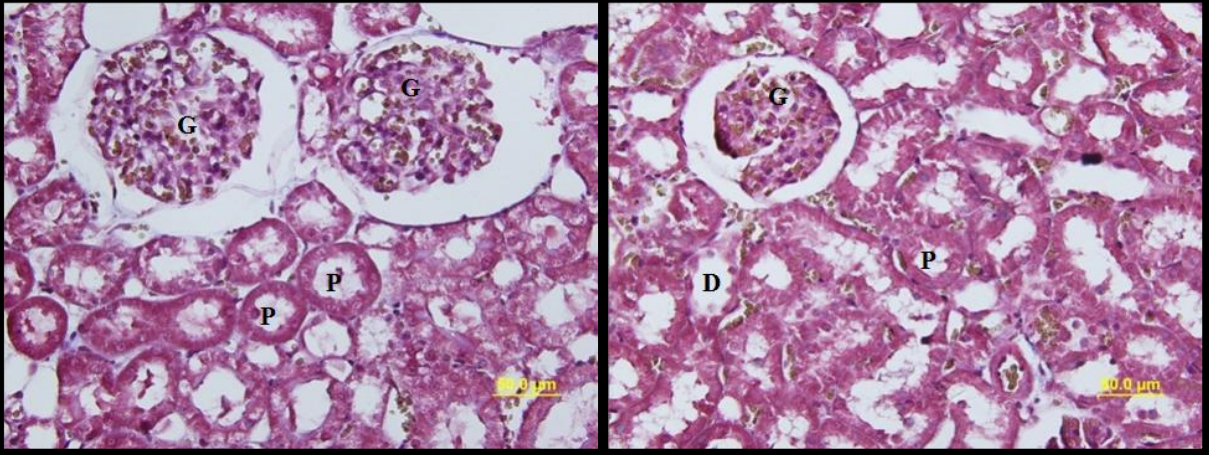
Çalışmamızda **kontrol** grubuna ait böbrek kesitleri incelendiğinde, korteks ve medulla ayrımının rahat yapılabildiği korteksin dışında fibröz kapsülün korunduğu görüldü. Kortekste malpighi korpüskülleri normal yapıda idi. Bowman kapsülünün visseral ve pariyetal yapraklarında normal histolojik yapı izlendi. Proksimal tübüllerde üstü kesik piramit şeklinde asidofilik boyanan hücreler, henle kulbunda ise yassı epitel hücreleri ve belirgin lümen gözlemlendi. Kolektör tübüller alçak kübik boylu epiteli ve geniş lümenleri ile karakteristik özelliklerini korumaktaydı. Kontrol grubuna ait kesitlerde olağan mikroyapı izlendi (Şekil 27–29).



Şekil 27: Kontrol grubu böbrek dokusunda normal morfolojiye sahip glomerüller (G), proksimal tübüller (P), distal tübüller (D). H&E.

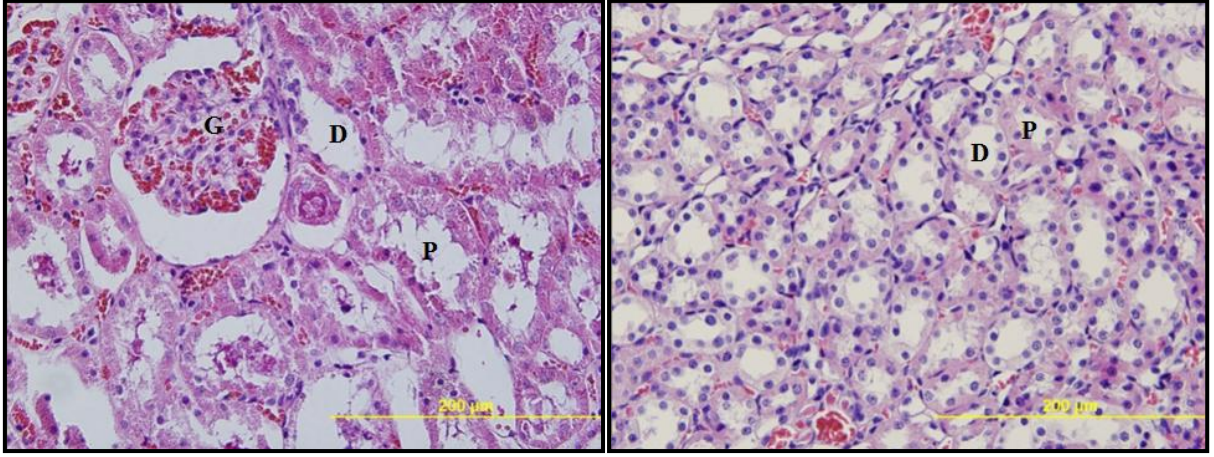


Şekil 28: Kontrol grubu böbrek dokusunda, normal morfolojiye sahip proksimal tübüller (P), distal tübüller (D). PAS.

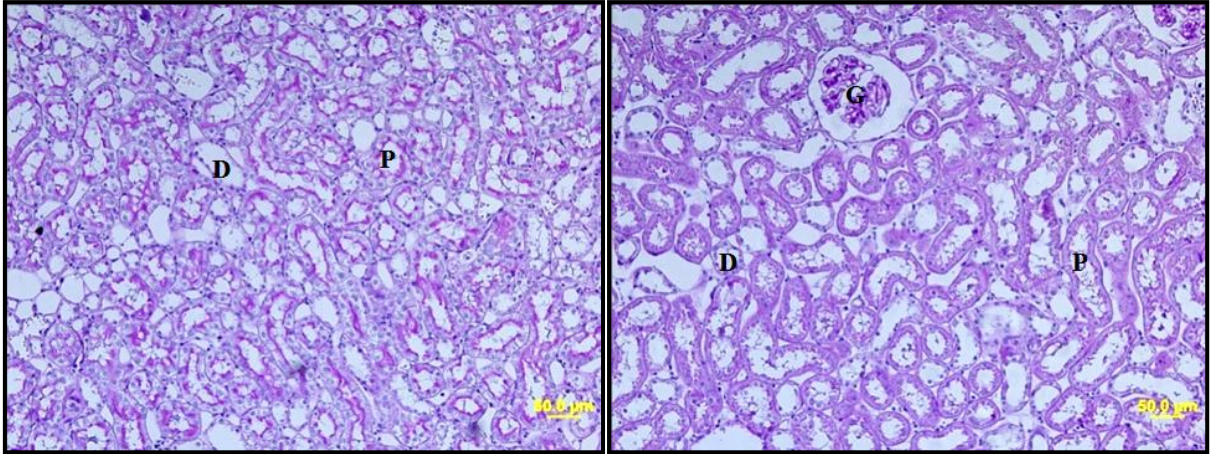


Şekil 29: Kontrol grubu böbrek dokusunda normal morfolojiye sahip glomerüller (G), proksimal tübüller (P), distal tübüller (D). Masson-Trikrom.

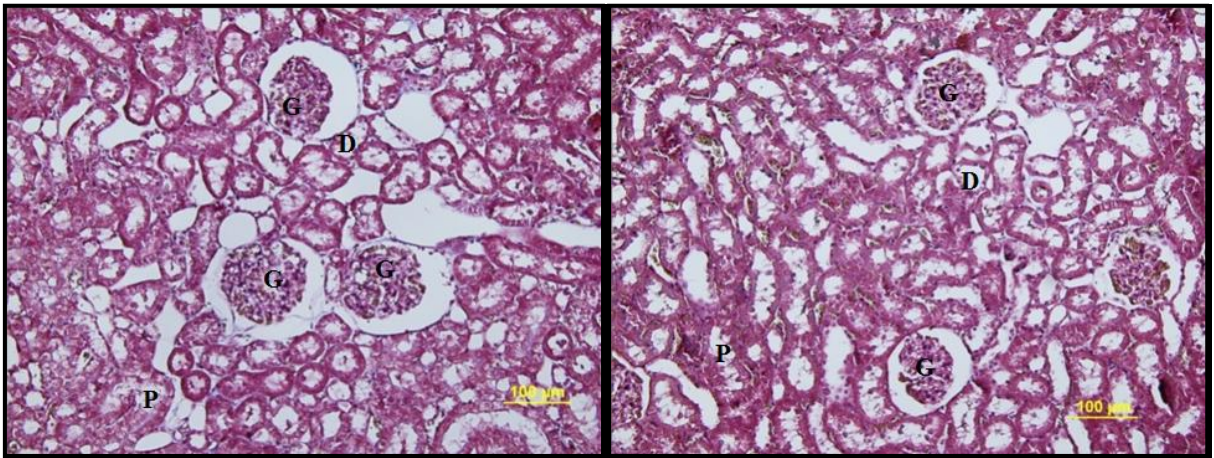
Sham grubuna ait kesitlerde morfolojik bozukluklara rastlanmadı. Bulgular kontrol grubu ile benzer yapısal özellikleri göstermekteydi (Şekil 30–32).



Şekil 30: Sham grubu böbrek dokusunda, normal morfolojiye sahip glomerüller (G), proksimal tübüller (P), distal tübüller (D). H&E.

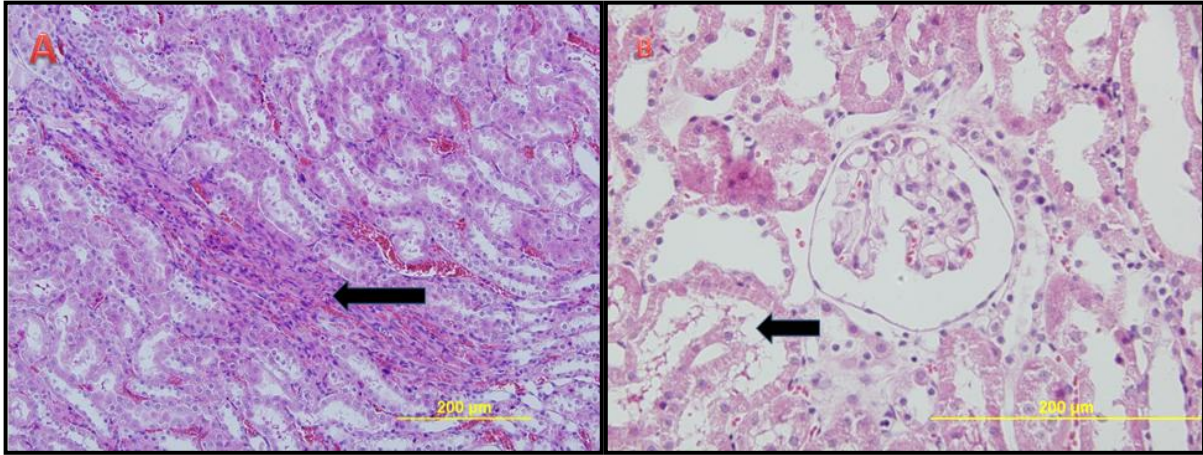


Şekil 31: Sham grubu böbrek dokusunda normal morfolojiye sahip glomerüller (G), proksimal tübüller (P), distal tübüller (D), PAS.

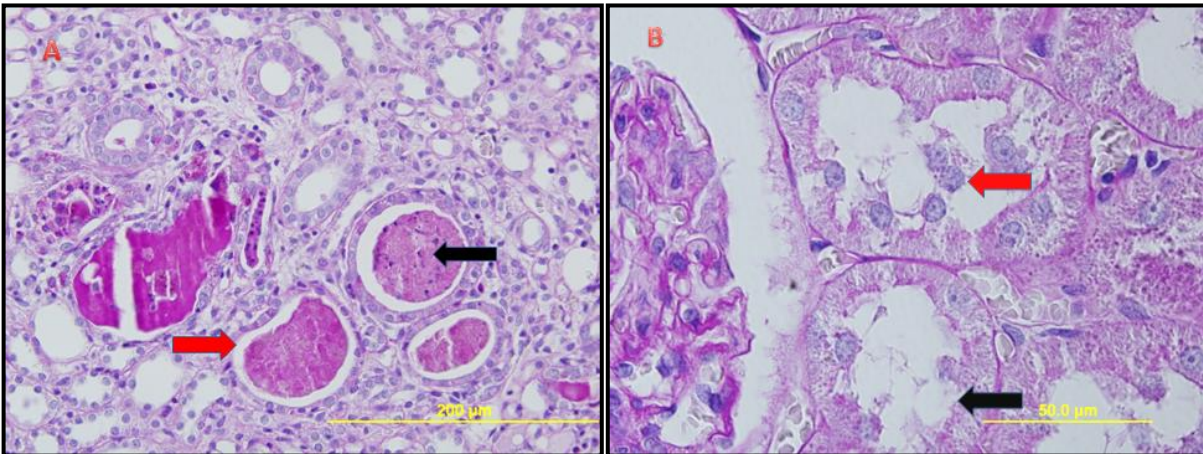


Şekil 32: Sham grubu böbrek dokusunda normal morfolojiye sahip glomerüller (G), proksimal tübüller (P), distal tübüller (D), Masson Trikrom.

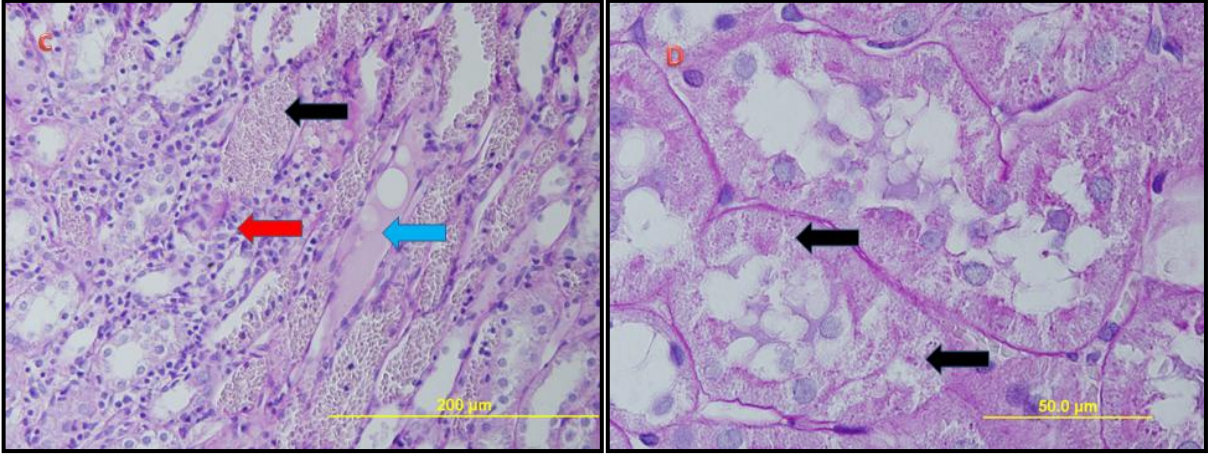
TRF Yüksek Doz grubunda peritübüler alanda vasküler dilatasyon ve mononükleer hücre infiltrasyonu, proksimal tübül hücrelerinde ise reaktif nükleer atipi gözlemlendi. Korteksteki tübüler hücrelerde az sayıda eozinofilik yapı ve vakuolizasyona rastlandı. Bununla birlikte korteks ve medulladaki tübüllerde kast yapıları ve debritletler görüldü. Ayrıca medullar tübüllerde ve damarlarda dilatasyon izlendi. PAS boyamasında ise proksimal tübül hücrelerinde fırça kenar kayıpları, inklüzyonlar ve nekroza giden değışiklikler gözlemlendi. Masson Trikrom boyamada peritübüler alanda nadir kollajen artışı gözlemlendi (şekil 33–36).







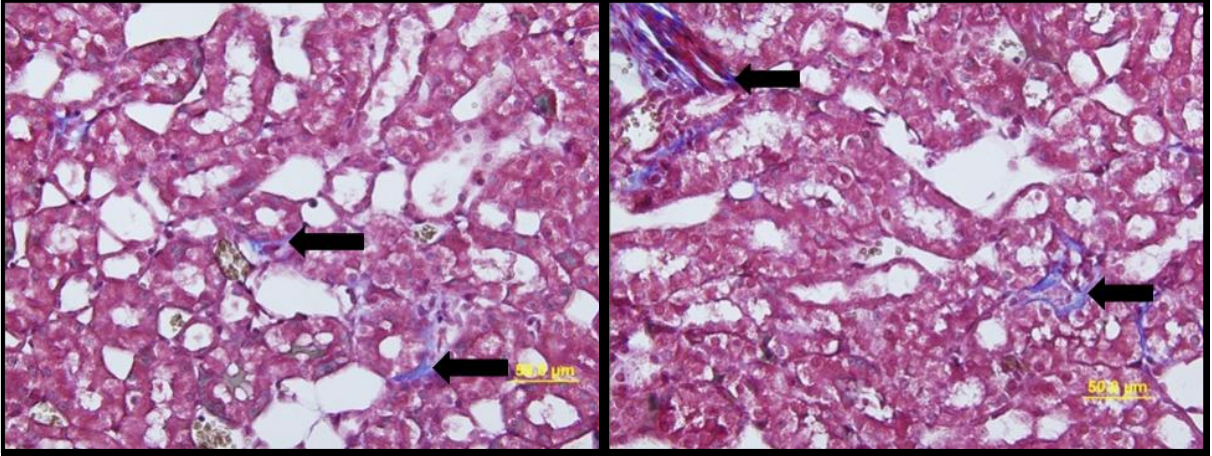
Şekil 33: TRF Yüksek Doz grubu böbrek dokusunda A, mononükleer hücre infiltrasyonu (→). B, YD grubu böbrek dokusunda proksimal tübül hücrelerinde dejenerasyon (→), H&E.




Şekil 34: TRF Yüksek Doz grubu böbrek dokusunda A, tübüller debritlet (→), kollektör tübüllerde dilatasyon (→). B, proksimal tübülde fırça kenar kaybı (→) ve proksimal tübül lümeninde hücre debritlet (→), PAS.

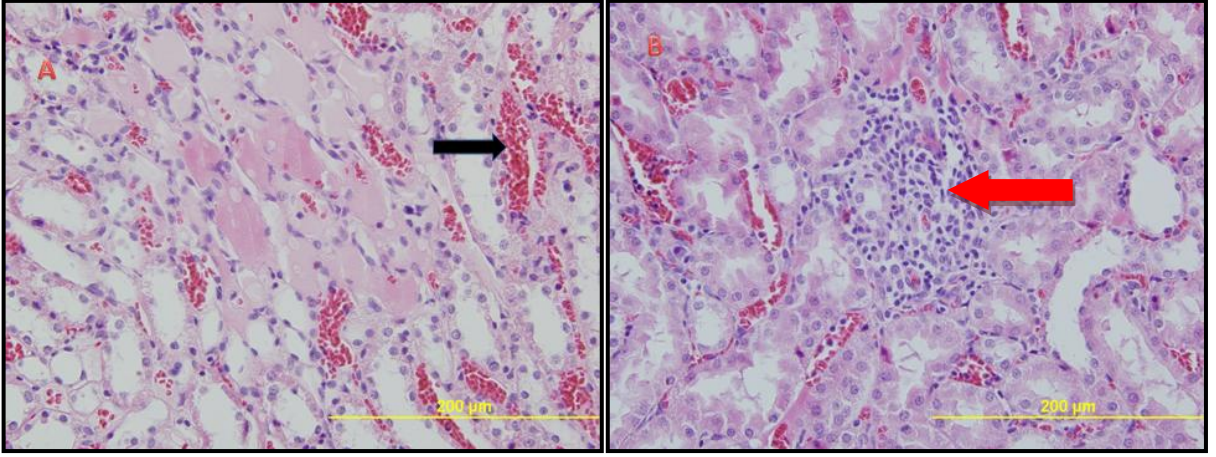




Şekil 35:TRF Yüksek Doz grubu böbrek dokusunda C, vasküler dilatasyon (), proteinoz birikimi (), mononükleer hücre infiltrasyonu (). D, proksimal tübülde nekroz (), PAS.

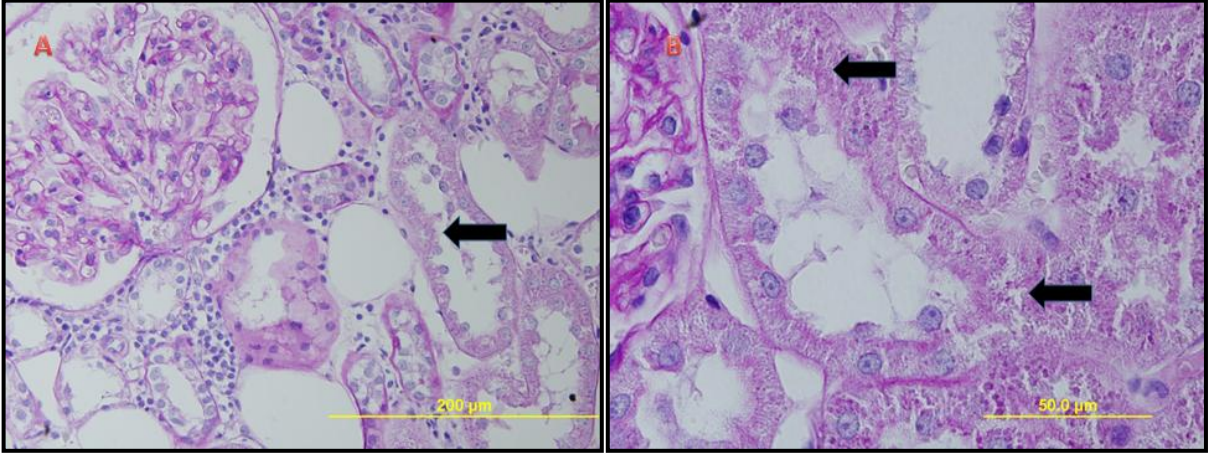


Şekil 36:TRF Yüksek Doz grubu böbrek dokusunda peritübüler alanda artmış kollajen miktarı (), Masson Trikrom.

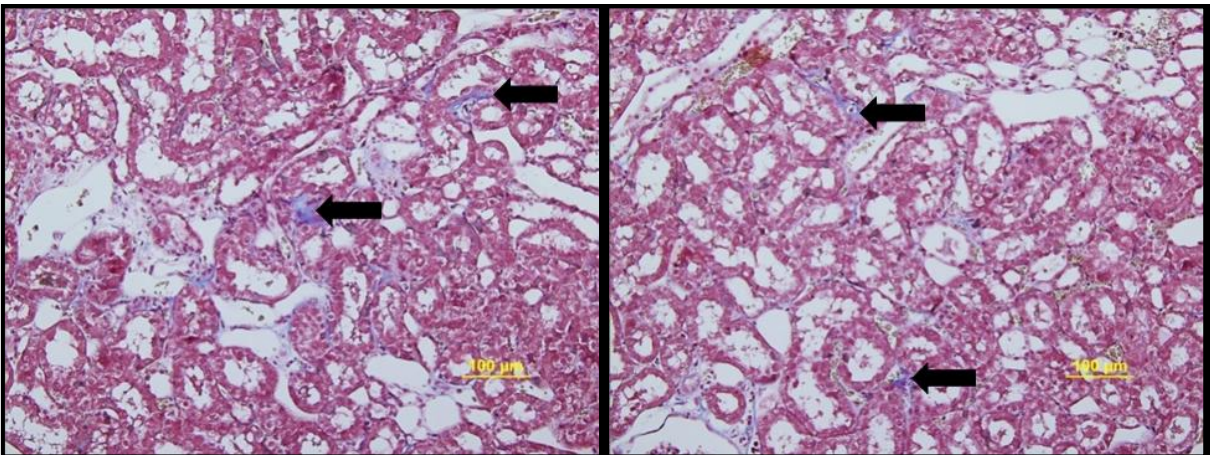
TRF Düşük Doz grubunda ise hem TRF Yüksek Doz hem de kontrol ve sham gruplarıyla kıyaslandığında TRF Yüksek Doz grubuna oranla daha az yoğunlukta benzer bulgular gözlenmiştir (şekil 37–39).




Şekil 37: TRF Düşük Doz grubu böbrek dokusunda A, vasküler dilatasyon, (). B, mononükleer hücre infiltrasyonu (), H&E.

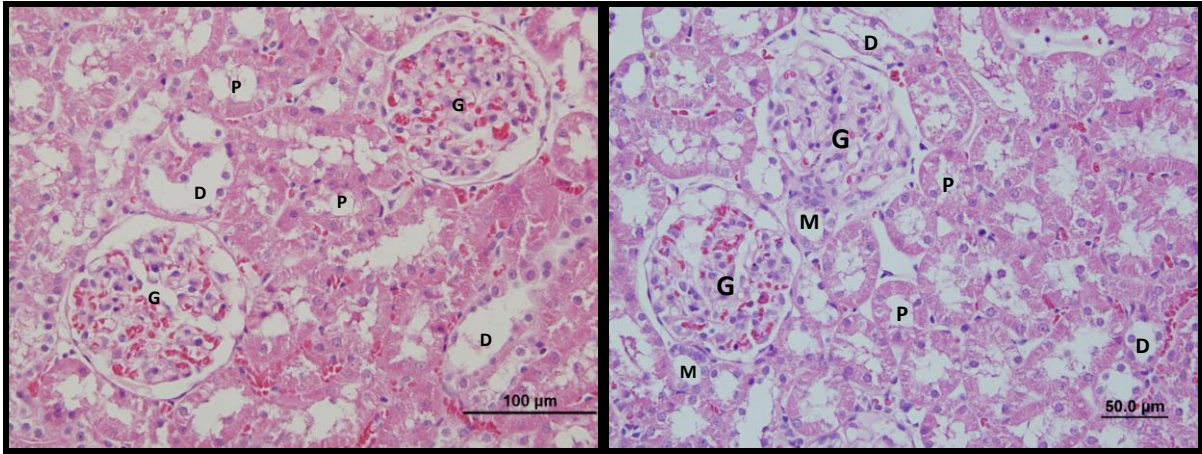


Şekil 38: TRF Düşük Doz böbrek dokusunda A, proksimal tübülde fırça kenar kaybı (), PAS. B, proksimal tübülde nekroz (), PAS.

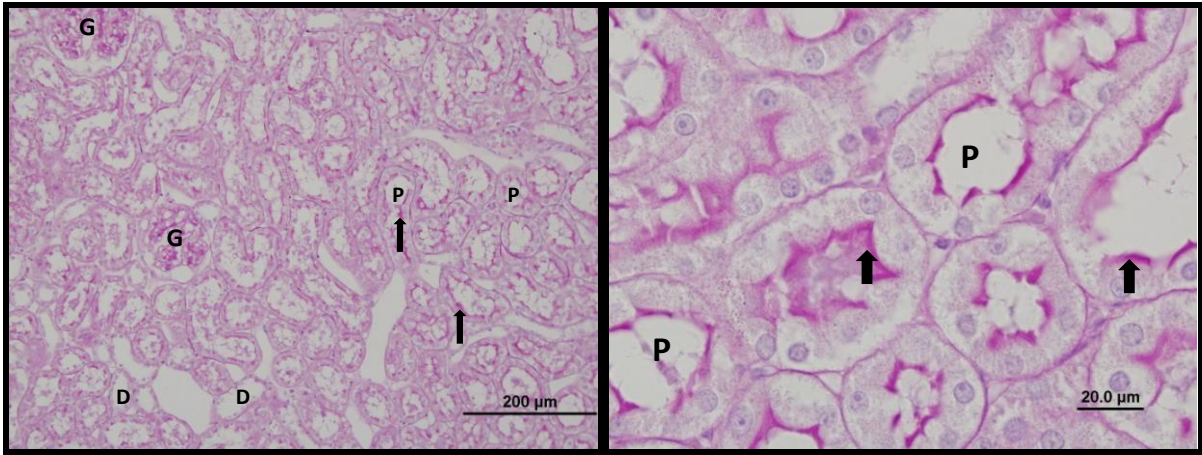


Şekil 39: TRF Düşük Doz grubu böbrek dokusunda peritübüler alanda artmış kollajen miktarı (), Masson Trikrom.

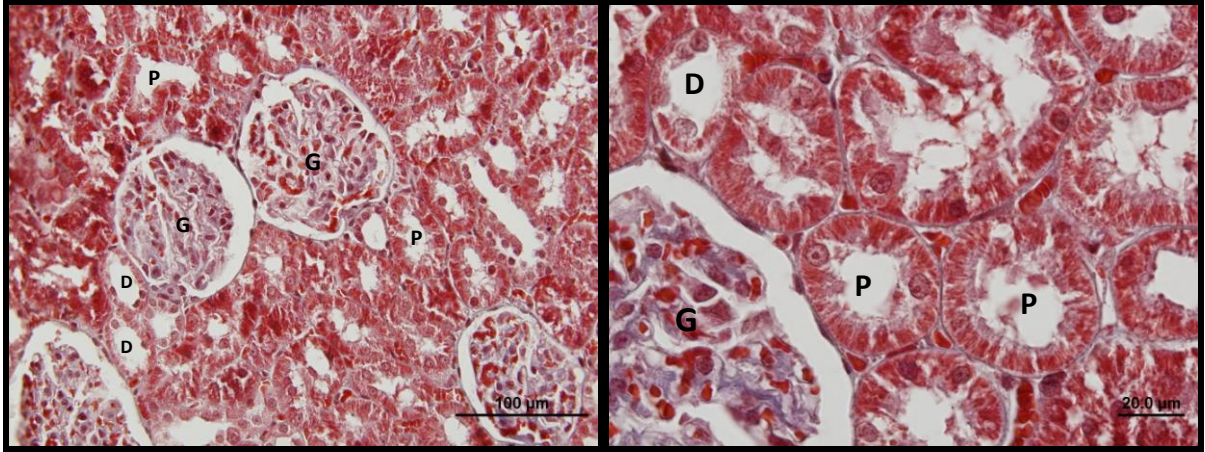
RVT Tedavi Grubu hem TRF Yüksek Doz hemde TRF Düşük Doz grubuna göre toksik nedenle oluşan bulgularının iyileşme göstermiştir. Tübüllerde fırça kenarların yüksek oranda korunduğu, glomerüllerin normol morfolojide olduğu gözlemlendi. Mononükleer infiltrasyon gözlemlenmemiş, nadir kast yapıları ve debritle görünmektedir. Vasküler dilatasyon bulgularına rastlanmadı (Şekil: 40-42).



Şekil 40: RVT tedavi grubu böbrek dokusu. P: proksimal tübül, D: distal tübül, G: glomerul, M: makula densa. H&E.



Şekil 41: RVT tedavi grubu böbrek dokusu. P: proksimal tübül, D: distal tübül, G: glomerul, Siyah ok: fırçası kenar. PAS.

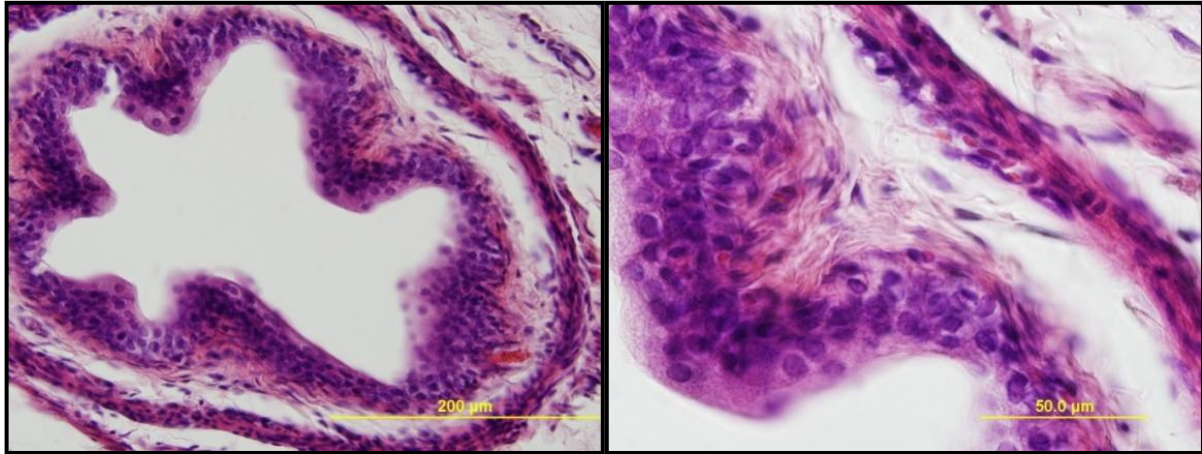


Şekil 42: RVT tedavi grubu böbrek dokusu. P: proksimal tübül, D: distal tübül, G: glomerul, Masson trikrom.

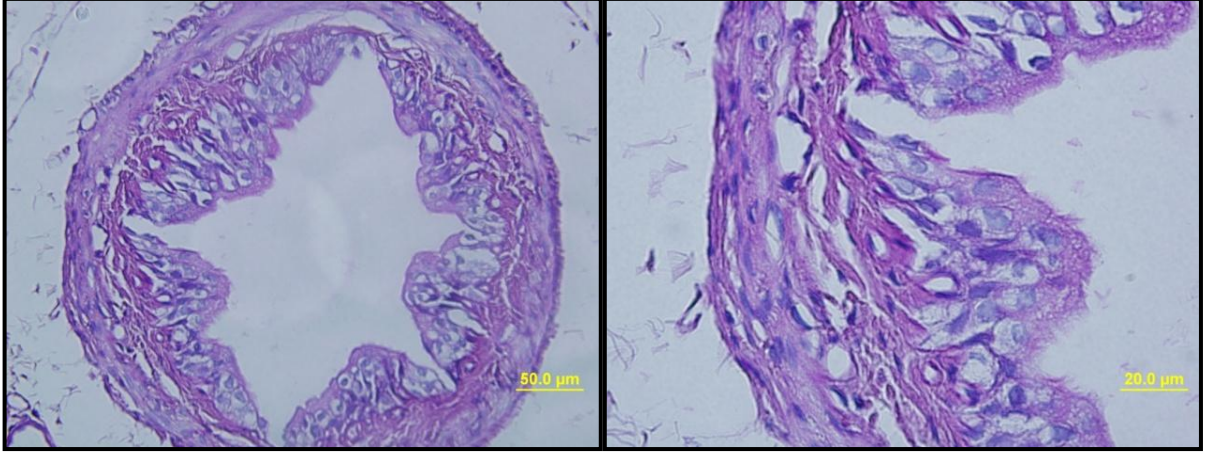
5.2.2. Üreter'in Histolojik Değerlendirmesi

Üreter dokusu Hematoksilen-Eozin, Periyodik Asit Schiff ve Masson trikrom boyamaları yapılarak histolojik olarak değerlendirildi.

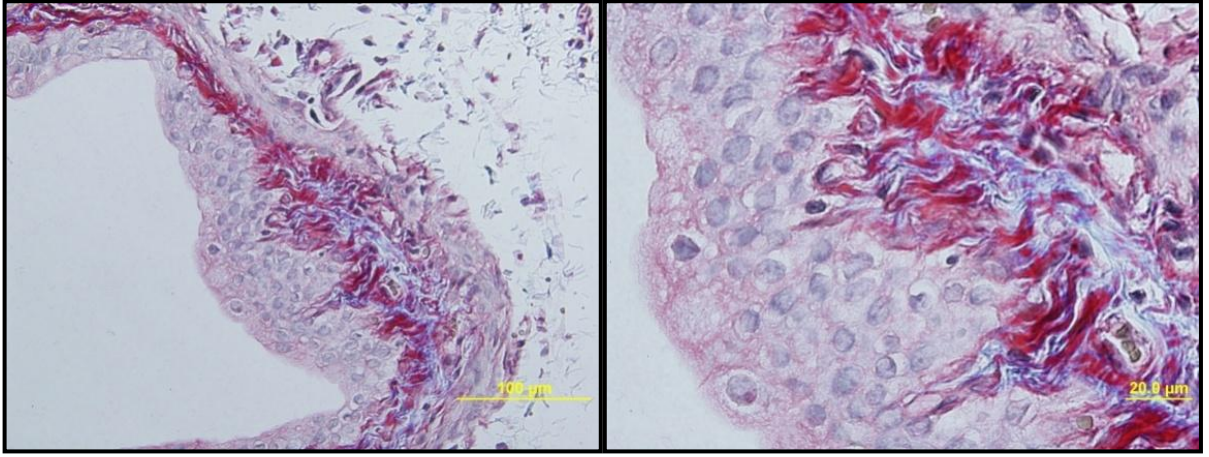
Çalışmamızda **kontrol** grubuna ait üreter kesitleri incelendiğinde, tunika mukoza, tunika media ve tunika adventisya ayrımının rahat yapılabildiği görüldü. Tunika mukozada lamina epitelyalis transizyonel epitel ile döşenmişti. Tunika media ise içte longitudinal dışta sirküler şekilde izlendi. Lümen mukozal kıvrımlar nedeniyle yıldız biçiminde gözlendi. Histolojik boyamalarda herhangi bir morfolojik değişiklik saptanmadı (şekil 43-45).



Şekil 43: Kontrol grubu üreter dokusu genel görünüm, H&E.

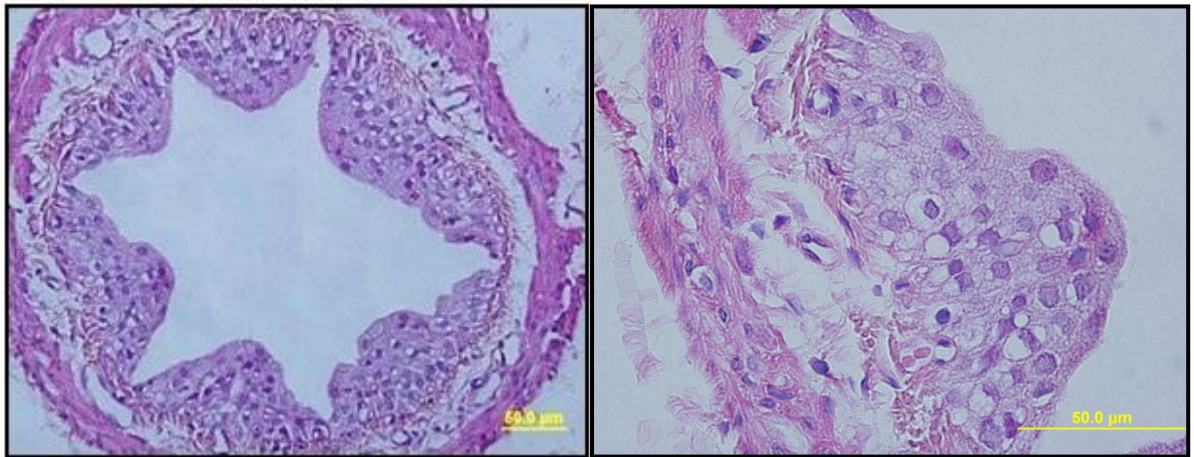


Şekil 44: Kontrol grubu üreter dokusu genel görünüm, PAS.

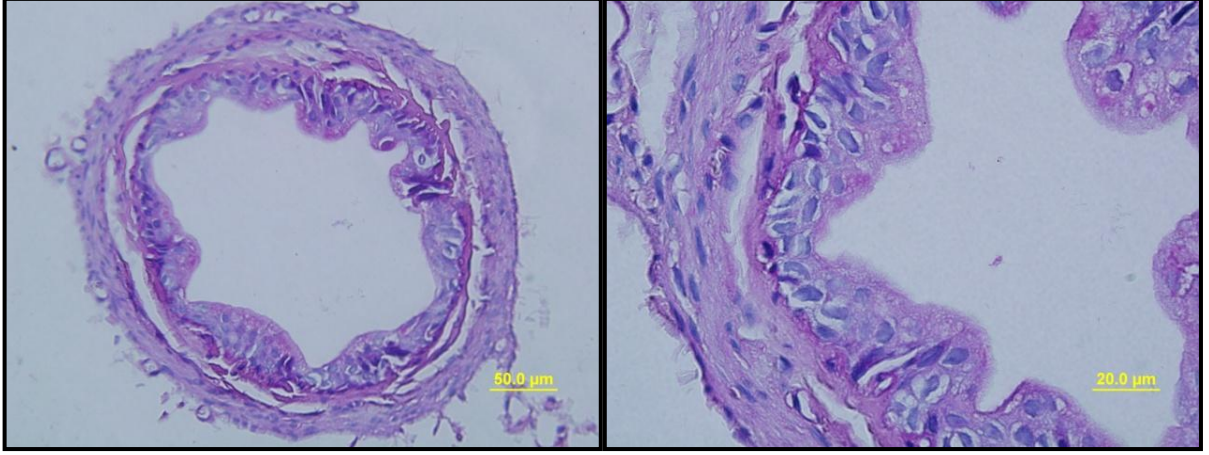


Şekil 45: Kontrol grubu üreter dokusu, Masson Trikrom.

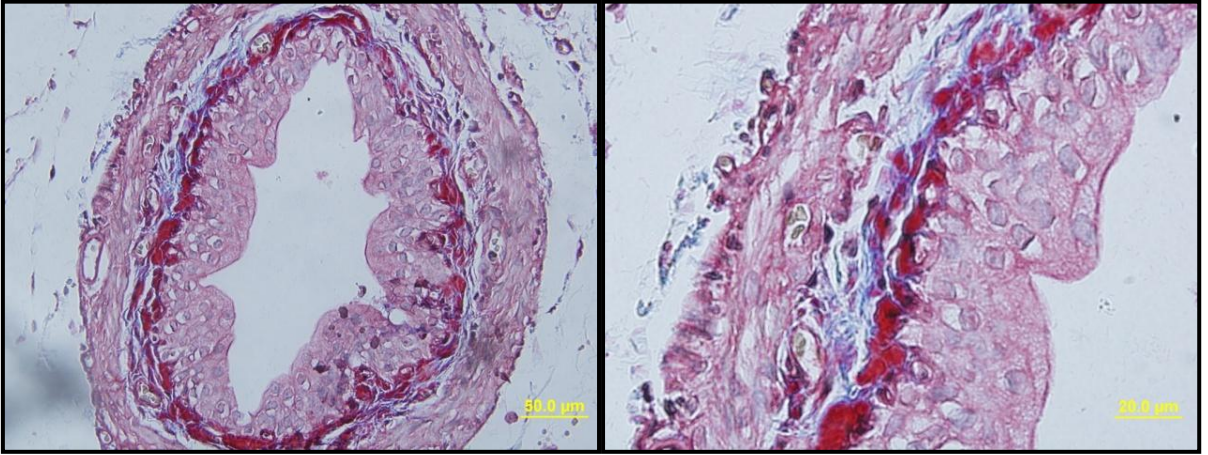
Sham grubuna ait üreter kesitlerinde epitel kontrol grubundaki gibi transizyonel epitelden ve lamina propriası gevşek bağ dokusundan meydana gelmekteydi. Tunika mediası içte longitudinal dışta sirküler olarak gözlemlendi (şekil 46–48).



Şekil 46: Sham grubu üreter dokusu genel görünümü, H&E.

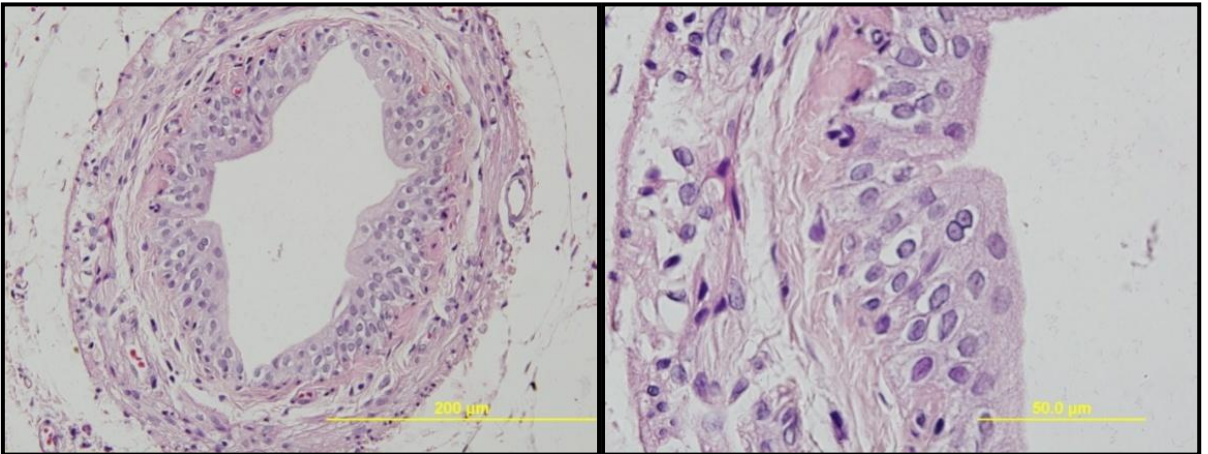


Şekil 47: Sham grubu üreter dokusu genel görünüm, PAS.

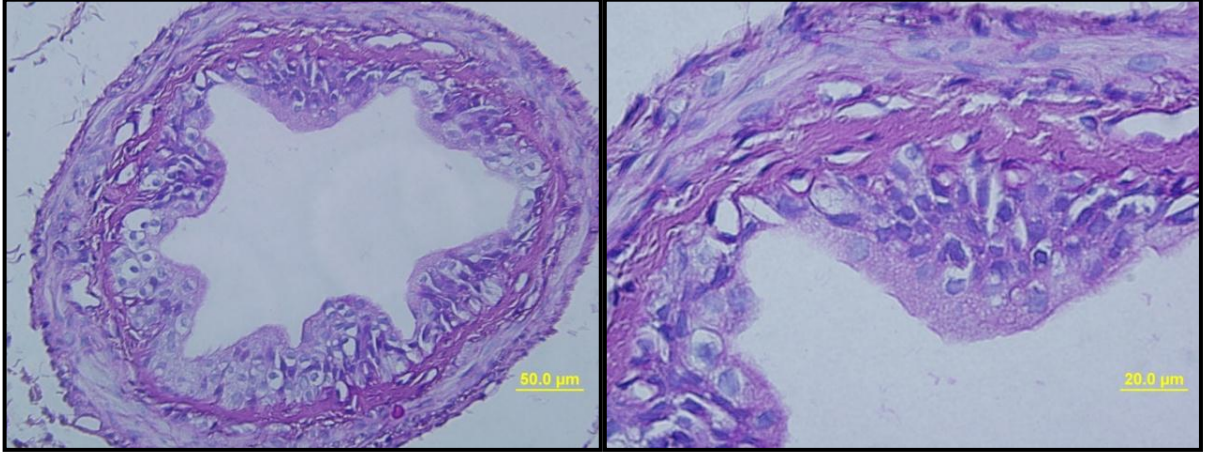


Şekil 48: Sham grubu üreter dokusu genel görünüm, Masson Trikrom.

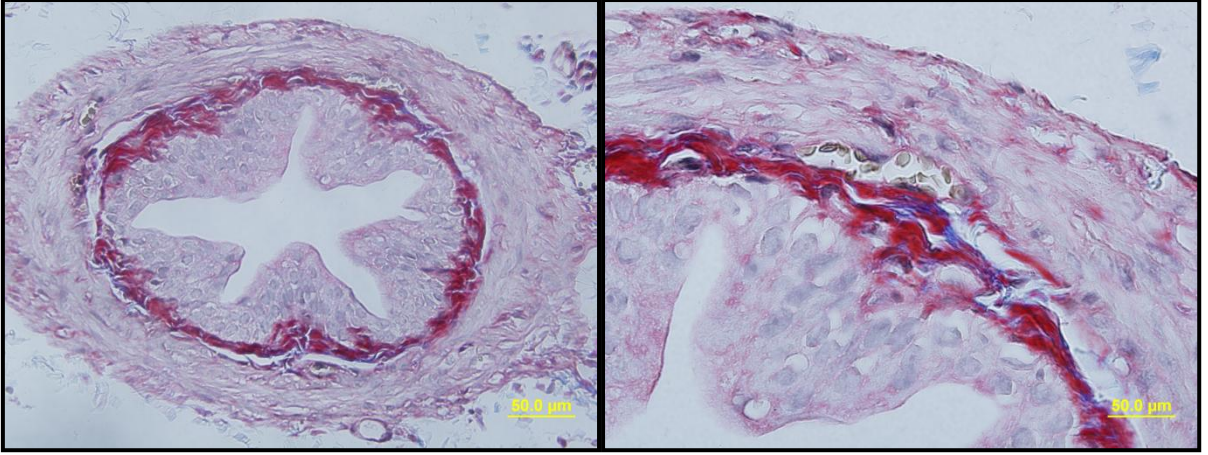
Trifluralin Yüksek Doz grubuna ait üreterin histolojik kesitler incelendiğinde H&E, PAS ve Masson Trikrom boyamaları kontrol grubuyla paralellik gösterdi ve morfolojik bir bozukluk saptanmadı (şekil 49-51).



Şekil 49: TRF YD grubu üreter dokusu, normal morfolojiye sahip, H&E.

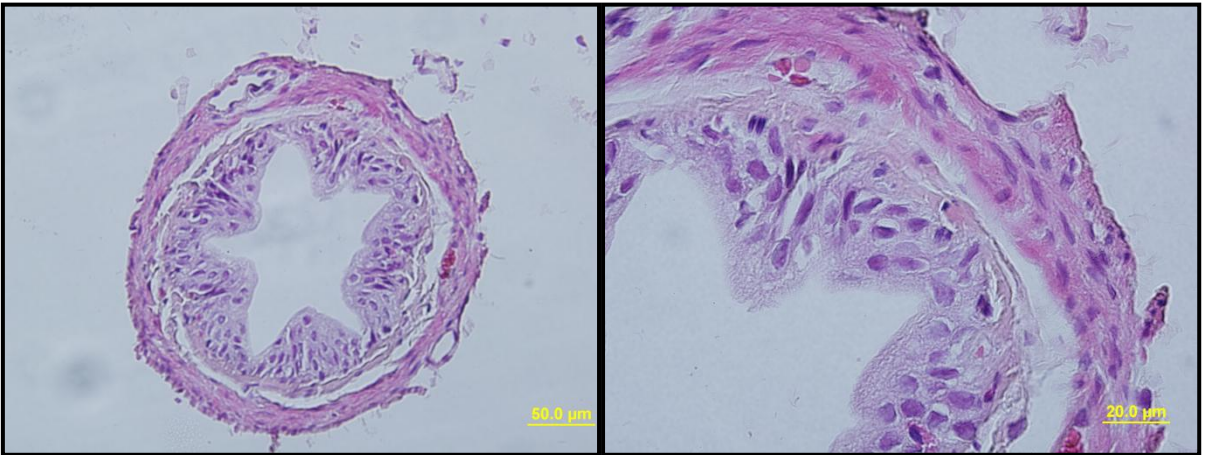


Şekil 50: TRF YD grubu üreter dokusu, normal morfolojiye sahip, PAS.

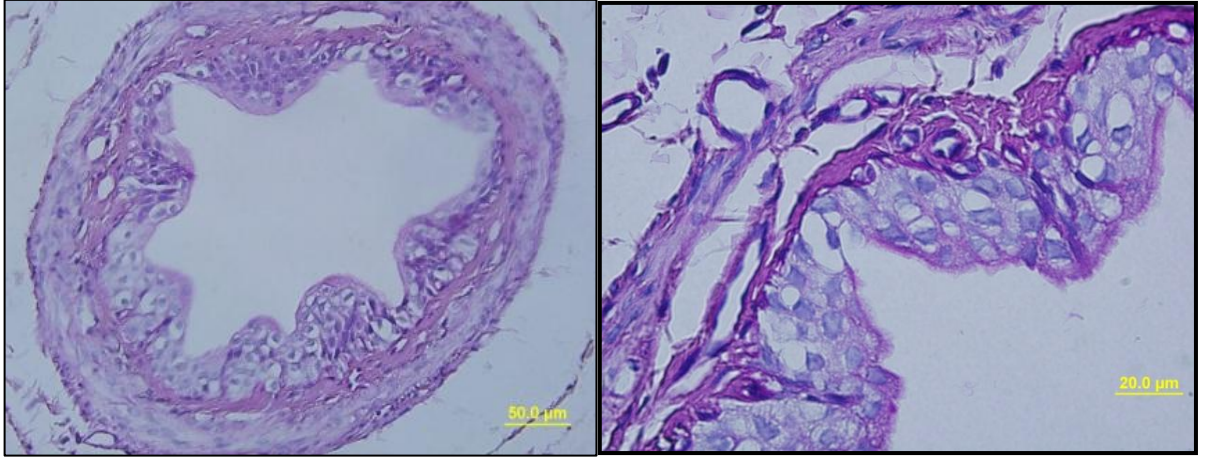


Şekil 51: TRF YD grubu üreter dokusu normal görünüm, Masson Trikrom.

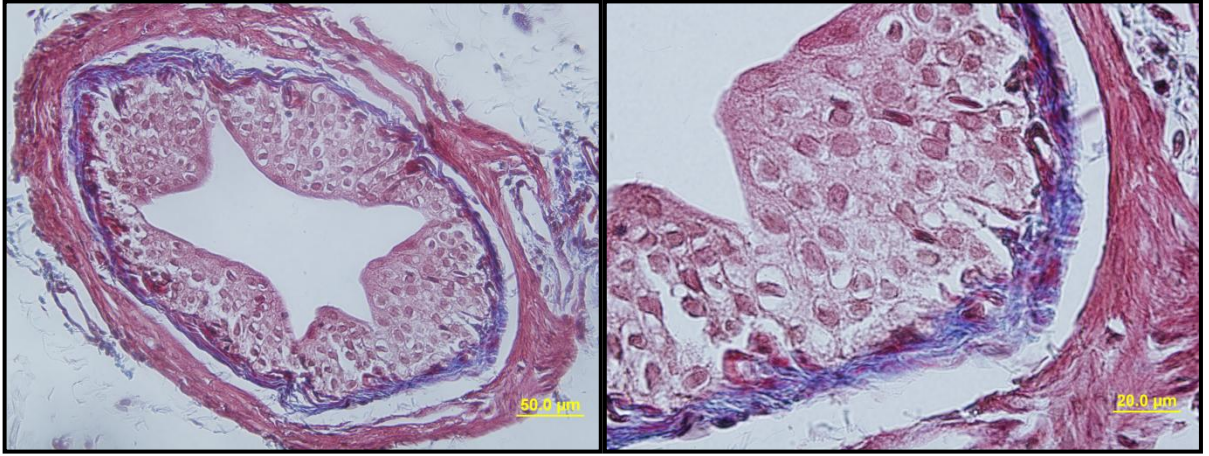
Trifluralin Düşük Doz üreter dokusunda TRF YD'da olduğu gibi H&E, PAS ve Masson Trikrom boyamaları kontrolle benzer bulgular gösterdi (şekil 52-54).



Şekil 52: TRF DD grubu üreter dokusu normal morfolojiye sahip, H&E.

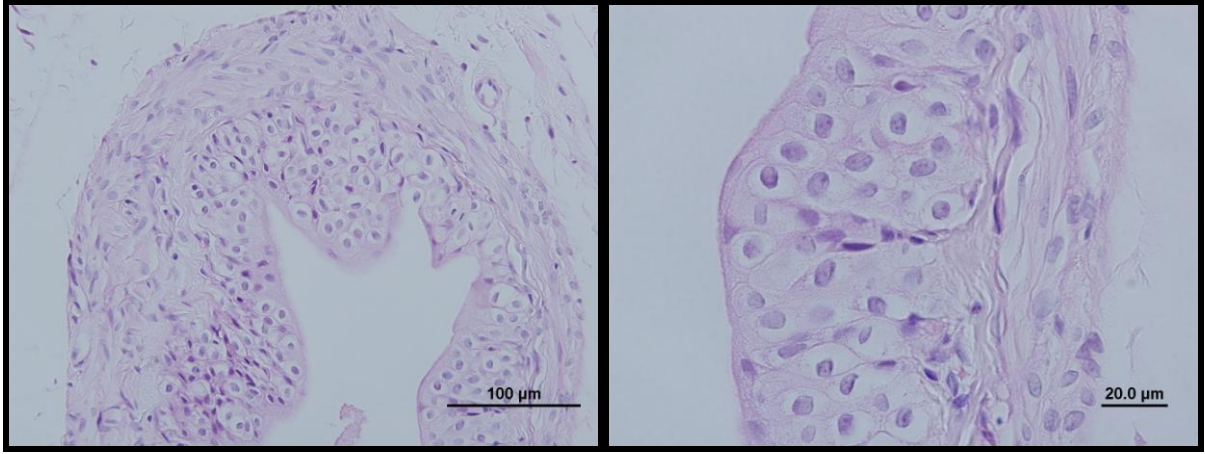


Şekil 53: TRF DD grubu üreter dokusu normal görünüm, PAS.

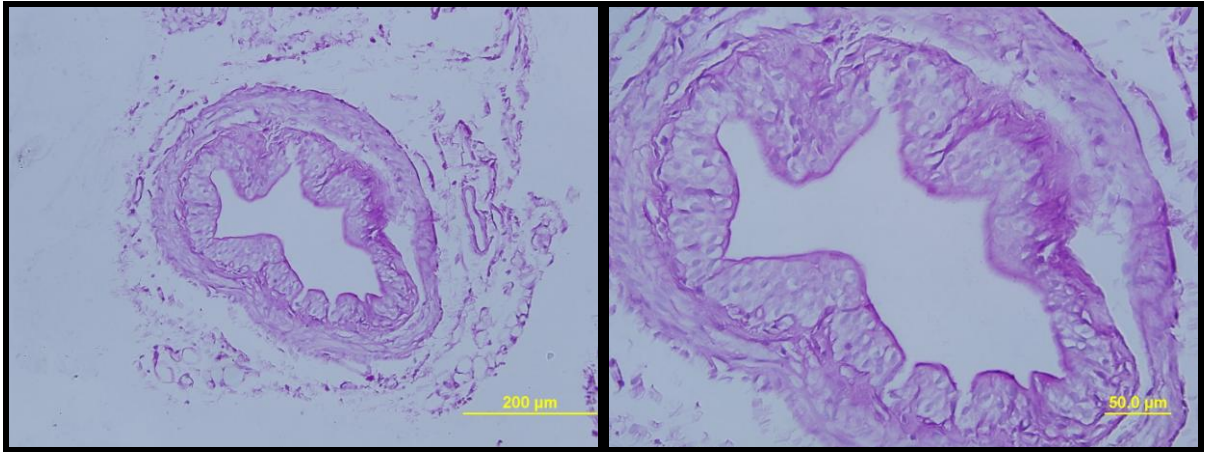


Şekil 54: TRF DD grubu üreter dokusu normal görünüm, Masson Trikrom.

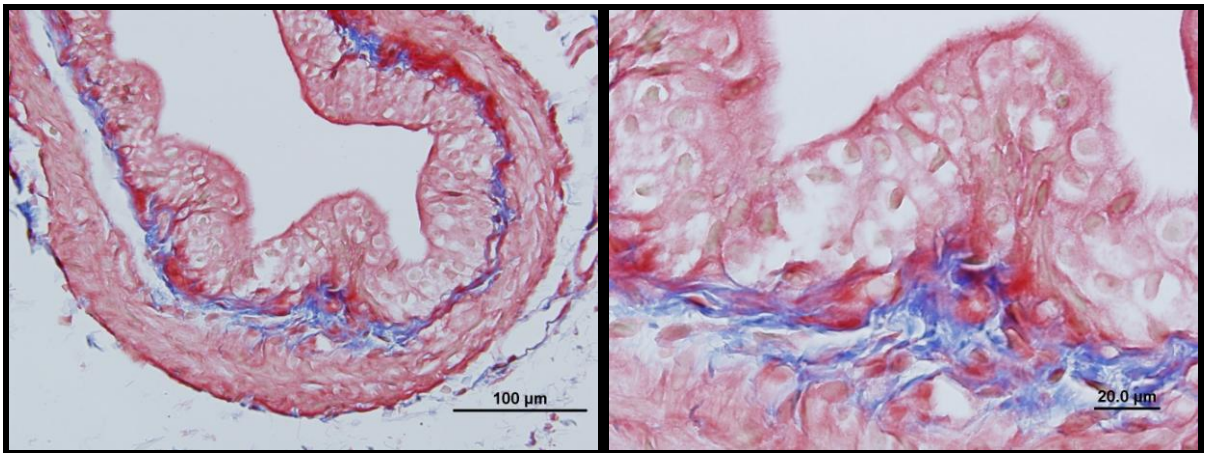
Resveratrol tedavi grubuna ait üreterin histolojik kesitler incelendiğinde H&E, PAS ve Masson Trikrom boyamaları kontrol grubuyla paralellik gösterdi ve morfolojik bir bozukluk saptanmadı (Şekil: 55-57).



Şekil 55: RVT tedavi grubu üreter dokusu. H&E.



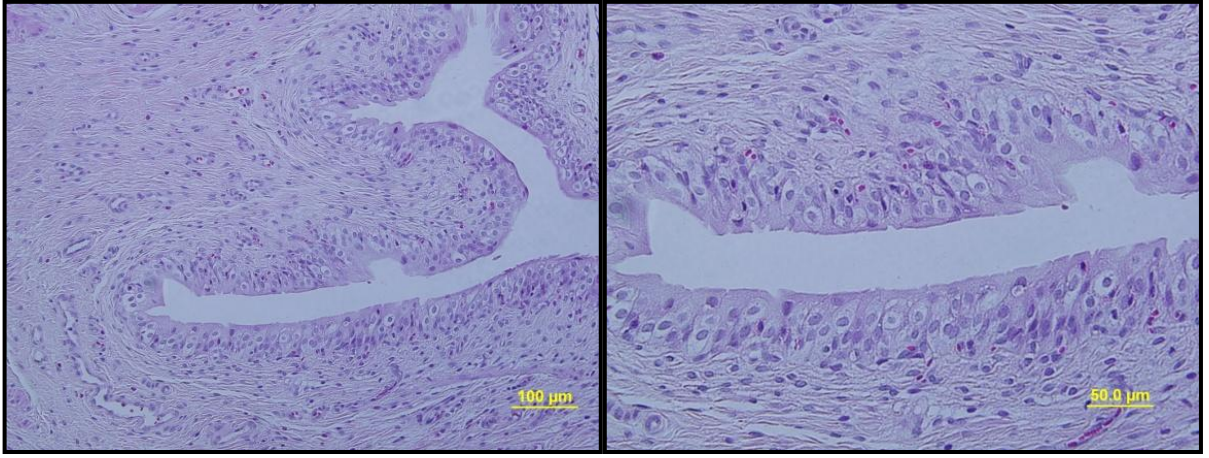
Şekil 56: RVT tedavi grubu üreter dokusu. PAS.



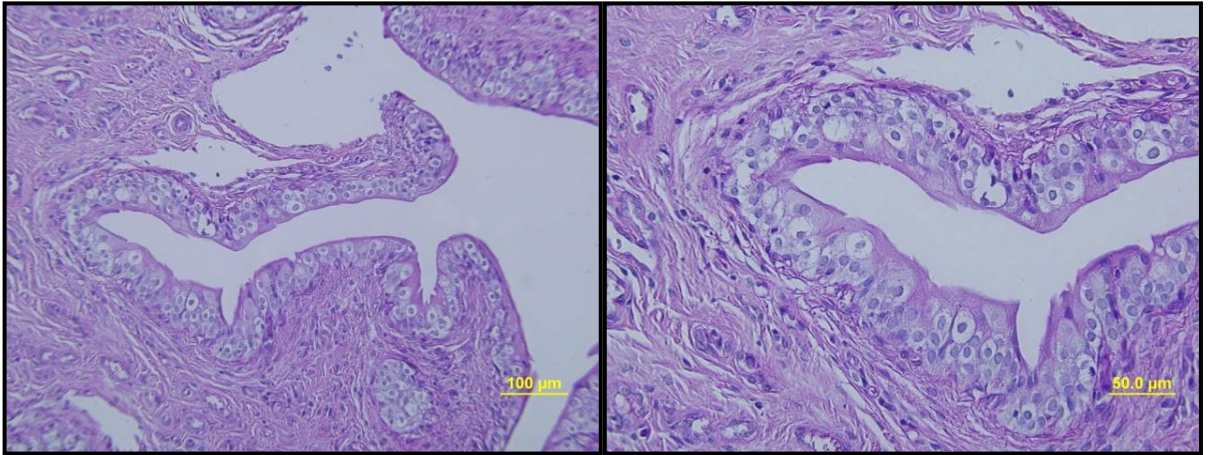
Şekil 57: RVT tedavi grubu üreter dokusu. Masson trikrom.

5.2.3. Mesane'nin Histolojik Değerlendirmesi

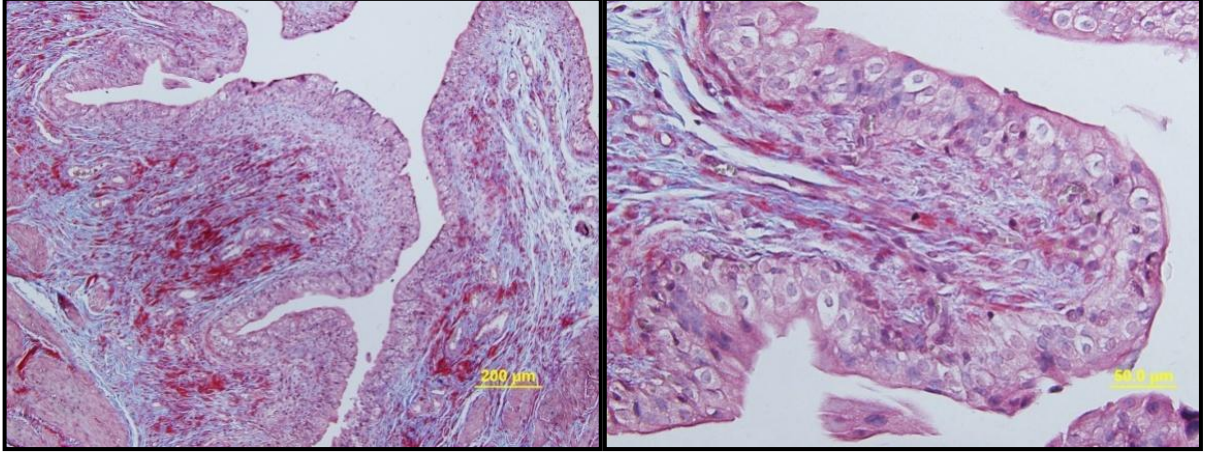
Mesane **kontrol** grubuna ait histolojik kesitleri incelendiğinde tunika mukozada lamina epitelyalinin transisyonel epitelden meydana geldiği ve lamina proprianın gevsek bağ dokusundan oluştuğu görüldü. PAS boyamasında bazal laminanın korunduğu gözlemlendi. Lamina epitelyalinin lumene bakan son epitelyum tabakasında şemsiye hücrelerinin salgıladığı glikokaliks tabakası net seçilebilmekteydi. Masson Trikrom boyamasında ise lamina propriada normal histolojisi ile uyumlu miktarda kollojen mevcut idi. Diğer grupların tüm boyamaları kontrol grubuyla paralellik gösterdi (Şekil 58–60).



Şekil 58: Kontrol grubu mesane dokusu, H&E.

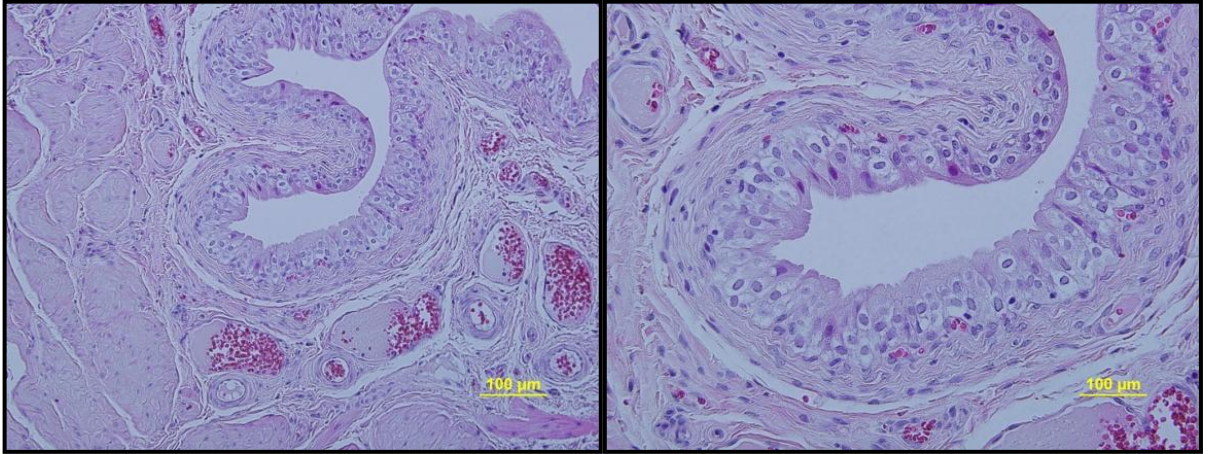


Şekil 59: Kontrol grubu mesane dokusu, PAS.

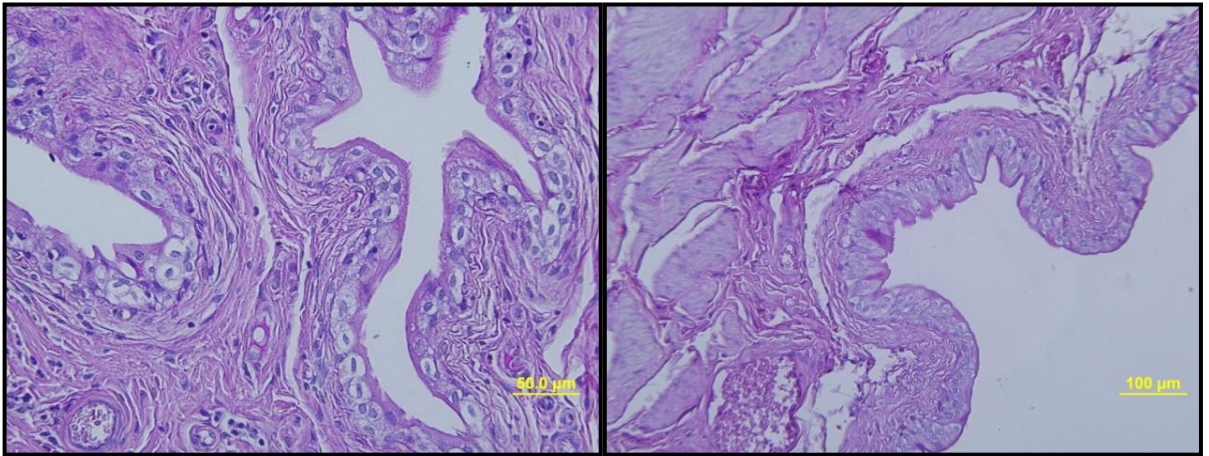


Şekil 60: Kontrol grubu mesane dokusu, Masson Trikrom.

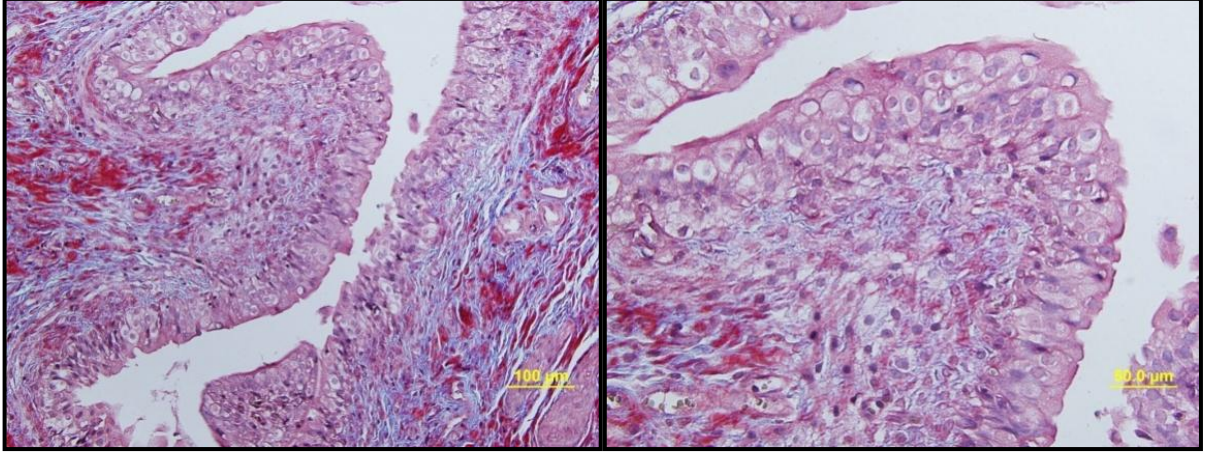
Sham grubu mesane dokusunda epitel kontrol grubundaki gibi transizyonel epitelden ve lamina propriası gevşek bağ dokusundan meydana gelmekteydi. Tunika mediası içte longitudinal ortada sirküler ve dışta oblik olarak gözlemlendi (Şekil 61–63).



Şekil 61: Sham grubu mesane dokusu, H&E.

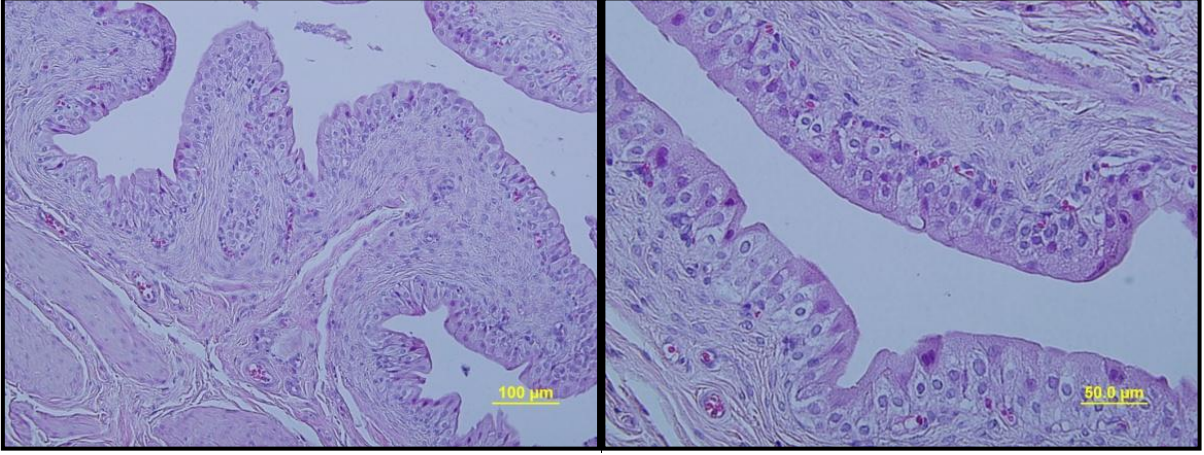


Şekil 62: Sham grubu mesane dokusu, PAS.

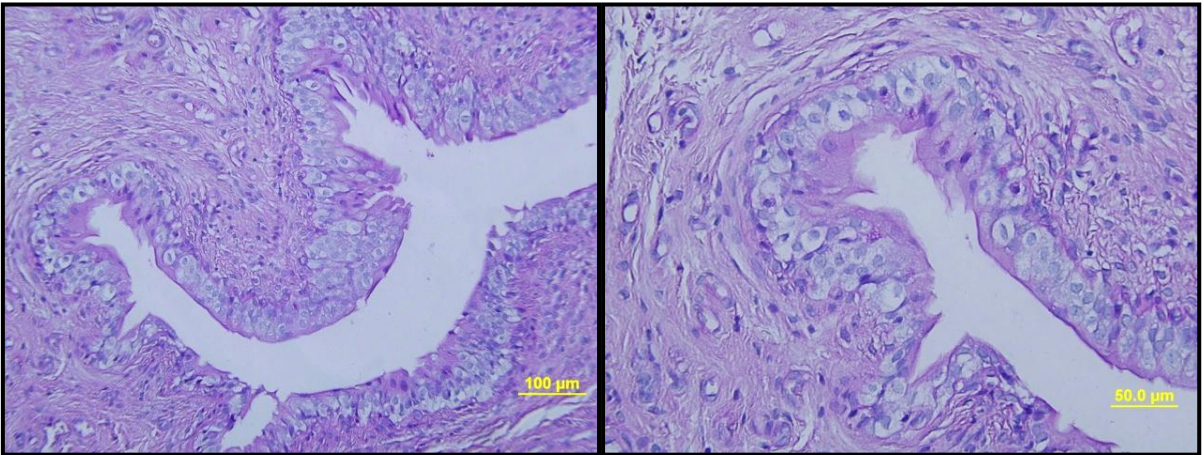


Şekil 63: Sham grubu mesane dokusu, Masson Trikrom.

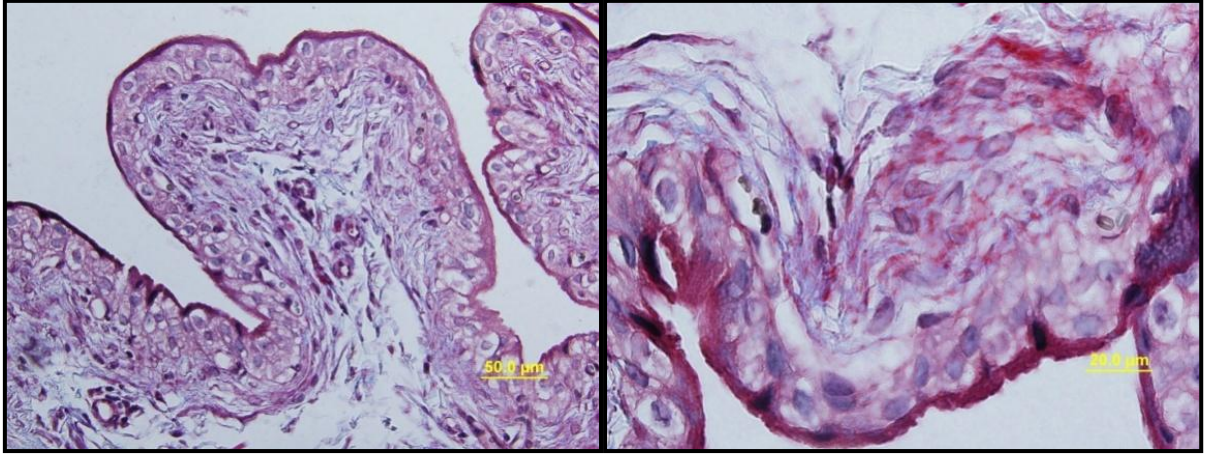
Trifluralin Yüksek doz grubu mesane dokusu kontrolle benzer bulgular taşımaktaydı (Şekil 64–66).



Şekil 64: TRF YD grubu mesane dokusu, H&E.

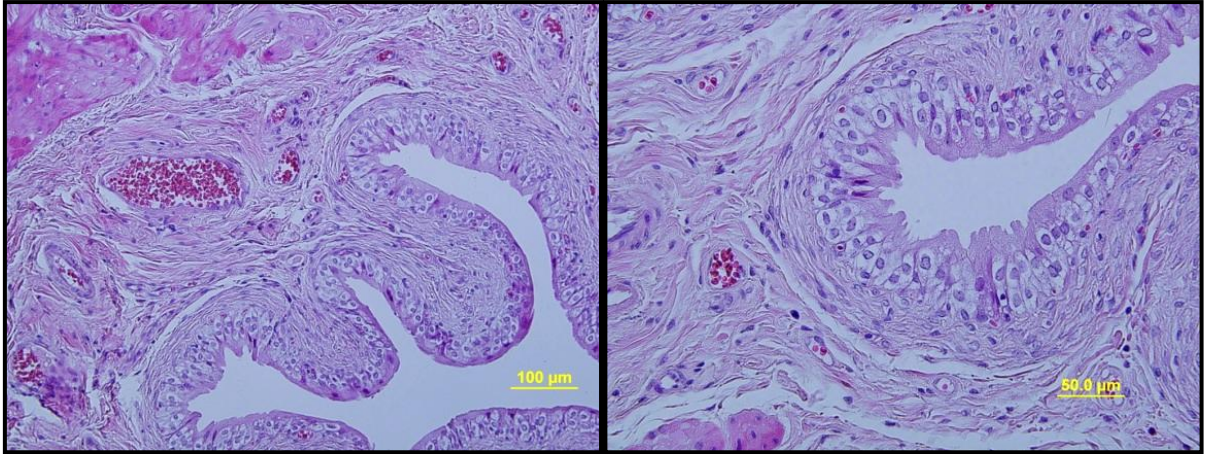


Şekil 65: TRF YD grubu mesane dokusu, PAS.

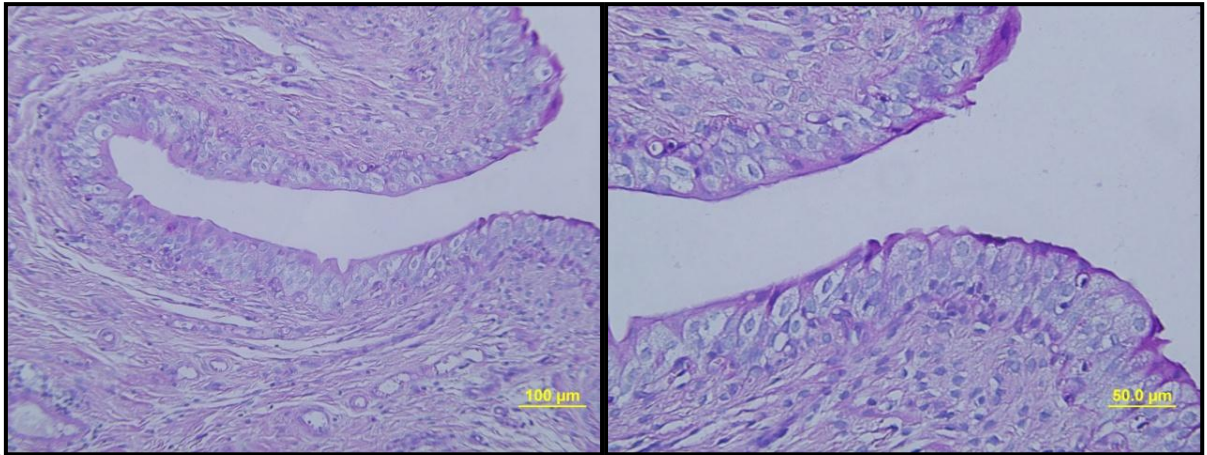


Şekil 66: TRF YD grubu mesane dokusu, Masson Trikrom.

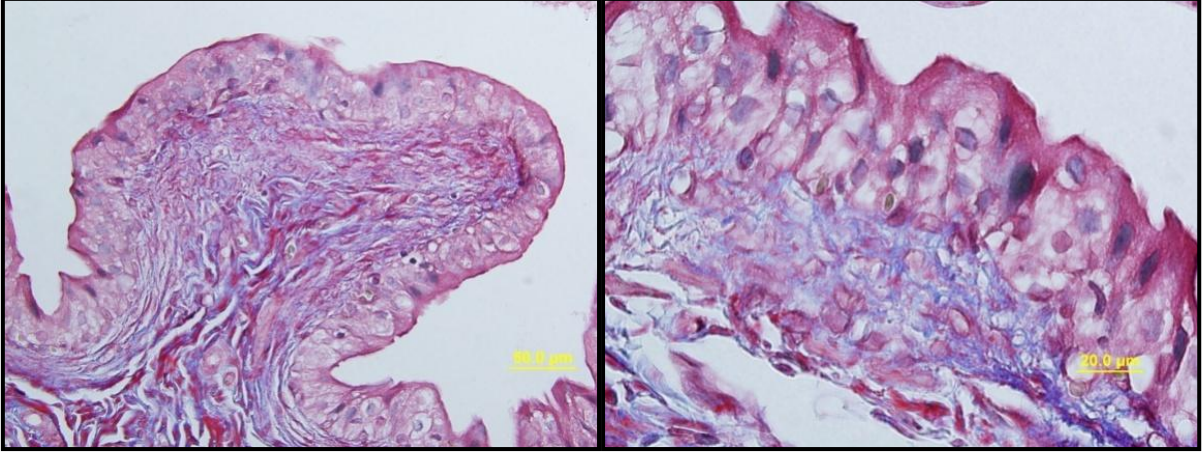
Trifluralin Düşük Doz grubu TRF YD, Sham ve Kontrole benzer morfoloji gösterdi (Şekil 67-69).



Şekil 67: TRF DD grubu mesane dokusu, H&E.

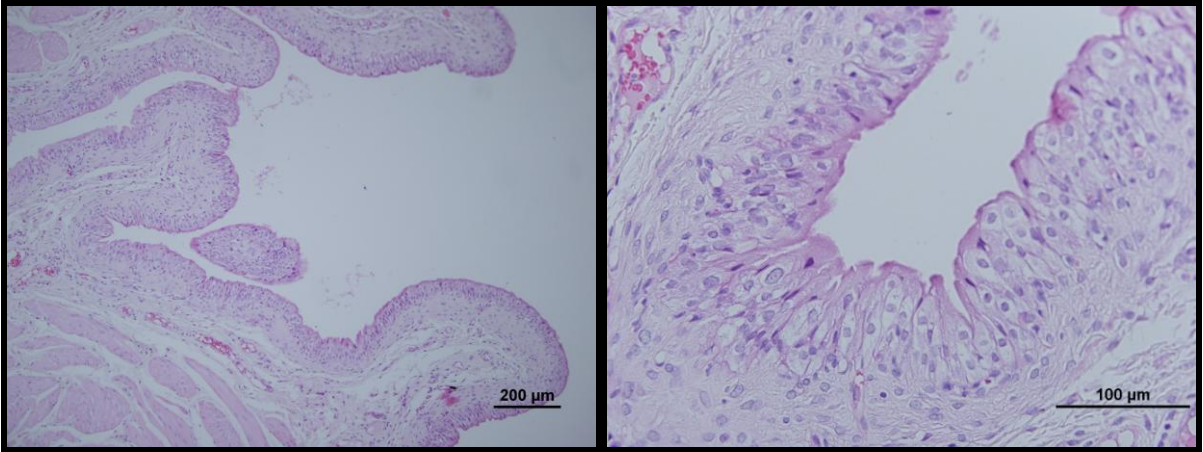


Şekil 68: TRF DD grubu mesane dokusu, PAS.

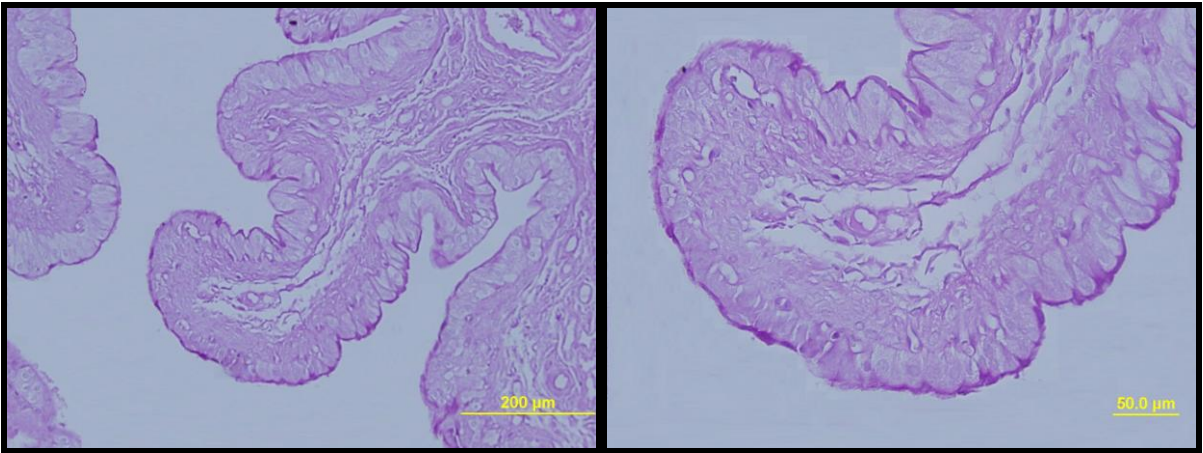


Şekil 69: TRF DD grubu mesane dokusu, Masson Trikrom.

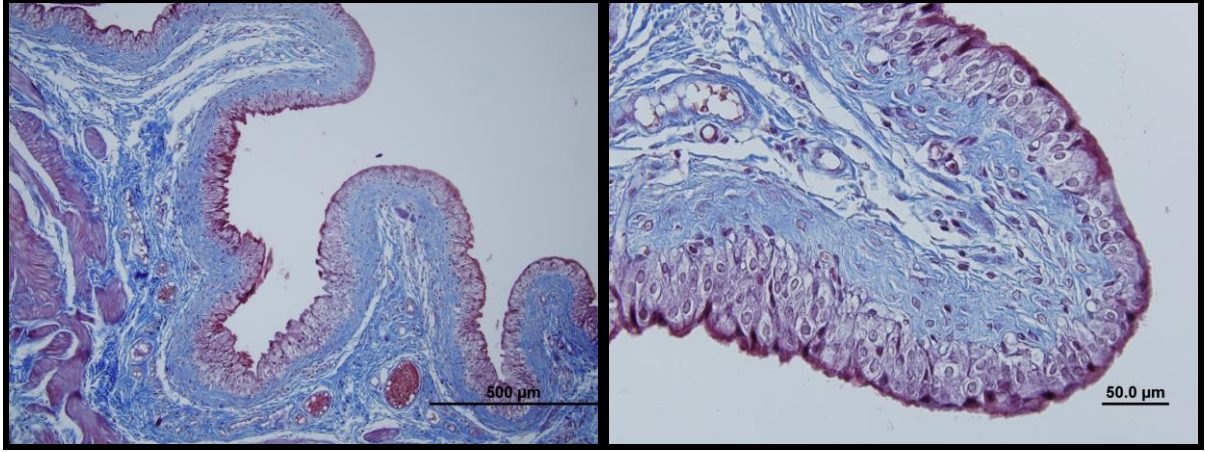
Resveratrol tedavi grubu TRF YD, TRF DD, Sham ve Kontrolle benzer morfoloji gösterdi (Şekil: 70-72).



Şekil 70: RVT tedavi grubu mesane dokusu, H&E.



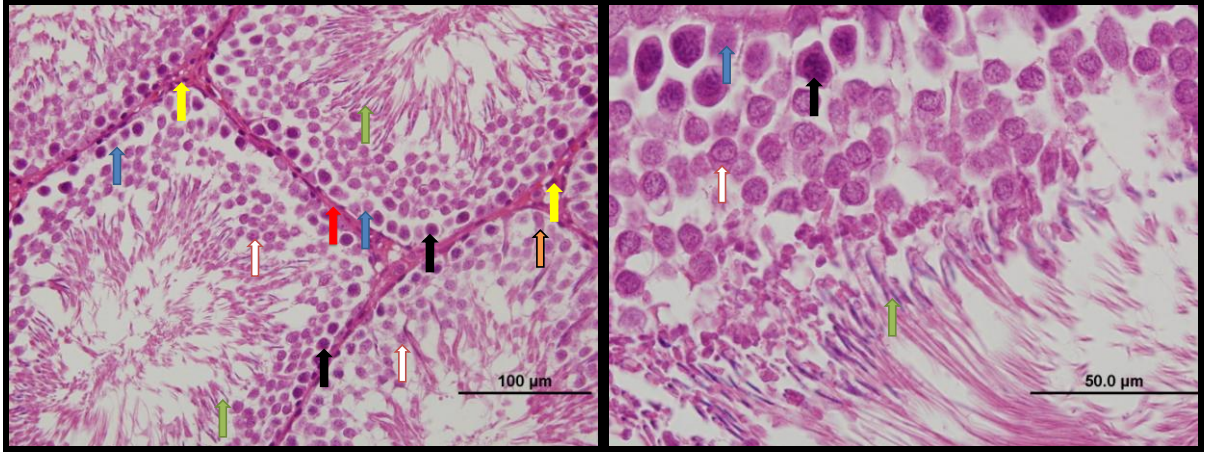
Şekil 71: RVT tedavi grubu mesane dokusu, PAS.



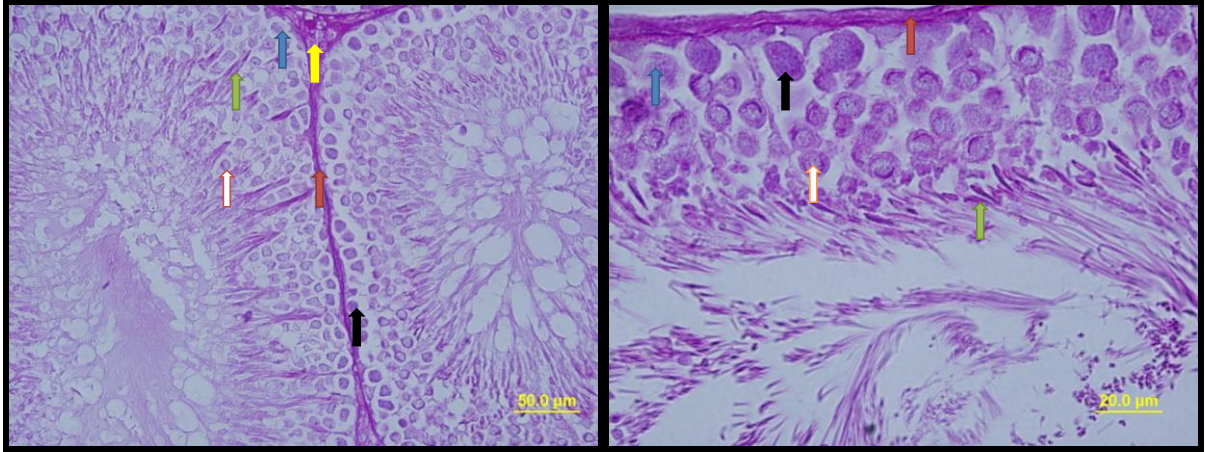
Şekil 72: RVT tedavi grubu mesane dokusu, Masson trikrom.

5.2.4. Testis'in Histolojik Değerlendirmesi

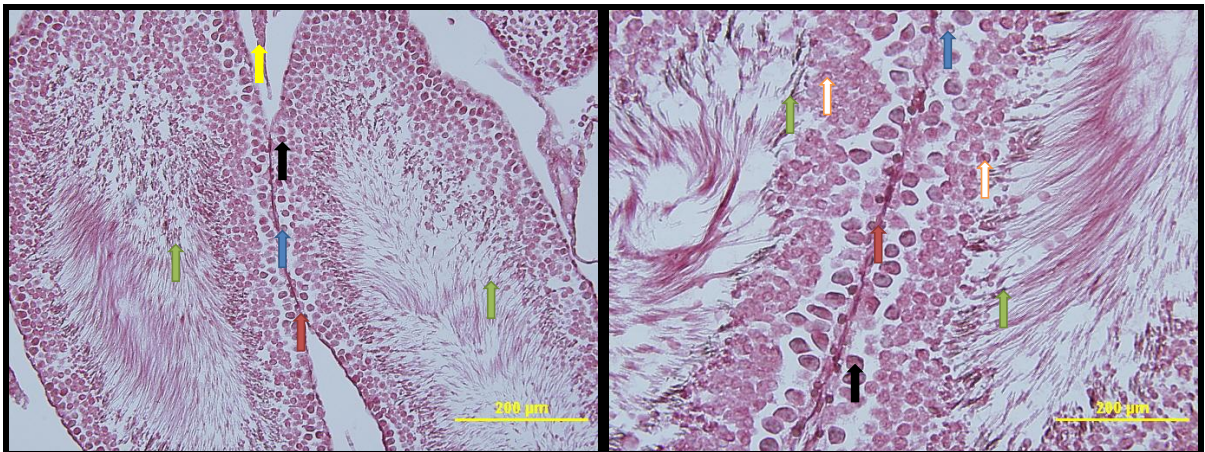
Testis'e ait histolojik kesitleri incelendiğinde Kontrol grubunda; testis dokusu en dışta Tunika albuginea altında tunika vaginalisle sarılıydı. Seminifer tübüller, intersisyel alanda Leydig hücreleri ve intertisyel bağ dokusundan oluşmaktaydı. İntertisyel bağ dokusunda kan ve lenf damarları bulunuyordu. Kapillerler etrafında toplanmış Leydig hücreleri düzensiz poligonal biçimli, eozinofilik sitoplazmalı, büyük eksantrik yerleşim gösteren çekirdeğe sahipti. Leydig hücreleri arasında yassı çekirdekli bağ dokusu hücreleri de izlenmekteydi. Seminifer tübüller geniş intertisyel doku içinde heterojen bir yapı göstermekteydi. Tübülleri çevreleyen miyoid hücreler yassı ve uzun çekirdekleri ile ayırt ediliyordu. Seminifer tübüllerin duvarında bazal membran üzerine oturmuş spermatogonyumlar, spermatositler ve spermatidler izlendi. Bunların arasında yer yer Sertoli hücreleri bulunmaktaydı. Tübüllerin merkezinde gelişmiş ve gelişmekte olan spermatidler mevcuttu. Bazı tübüllerde ise spermatogonyumlar, spermatositler, spermatidler ve Sertoli hücreleri izlenirken gelişmekte olan spermiyuma rastlanmadı. İntertisyel dokuda makrofaj veya mast hücresi saptanmadı. Tunika mukozada lamina epitelyalisin transizyonel epitelden meydana geldiği ve lamina proprianın gevsek bağ dokusundan oluştuğu görüldü. PAS boyamasında bazal laminanın korunduğu gözlemlendi.



Şekil 73: Kontrol grubuna ait testis dokusu. Kırmızı ok: bazal membran, mavi ok: spermatogonia A, siyah ok: spermatogonia B, sarı ok: leydig hücresi, beyaz ok: spermatosit, yeşil ok: spermium, H&E.

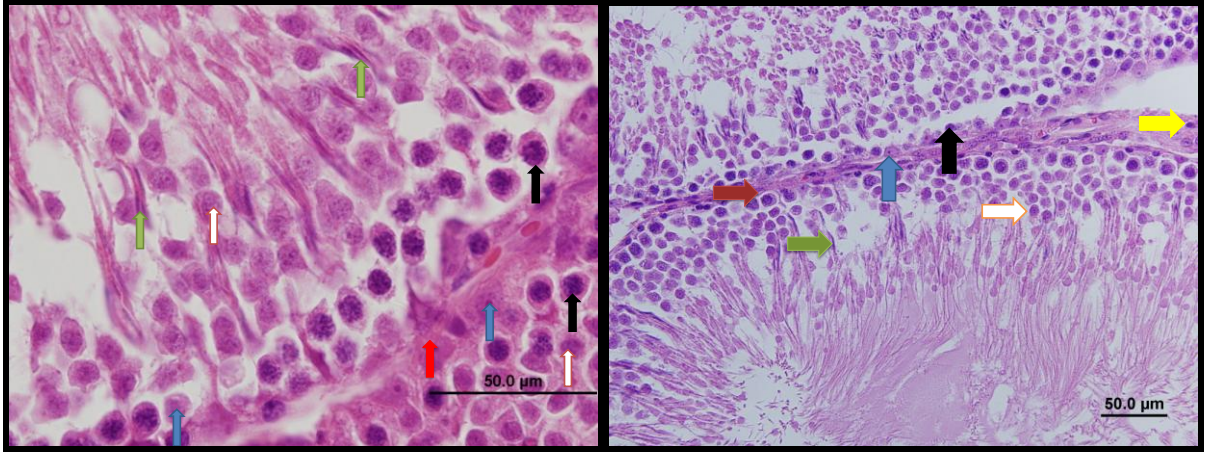


Şekil 74: Kontrol grubuna ait testis dokusu. Kırmızı ok: bazal membran, mavi ok: spermatogonia A, siyah ok: spermatogonia B, sarı ok: leydig hücresi, beyaz ok: spermatosit, yeşil ok: spermium, PAS.

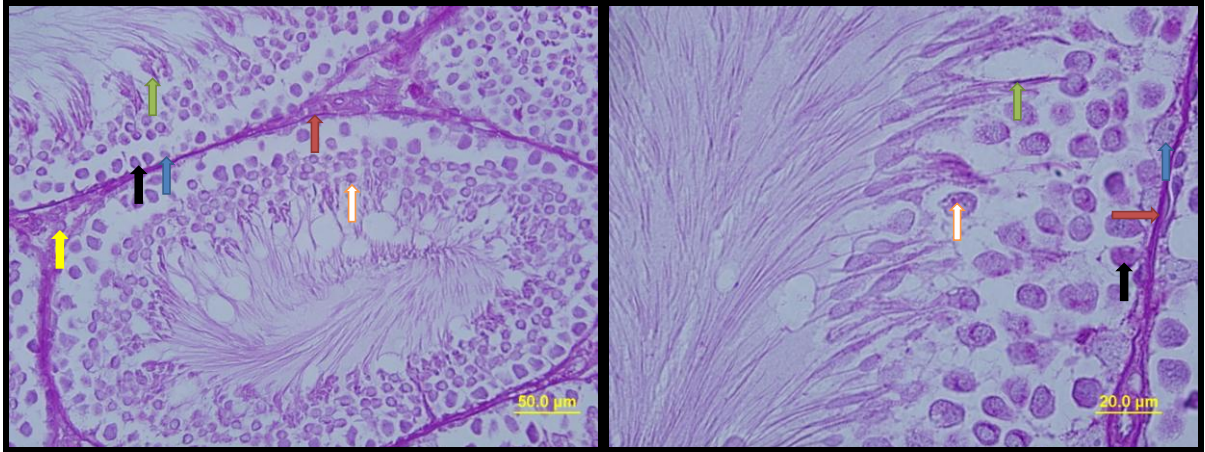


Şekil 75: Testis dokusuna ait kesit. . Mavi ok: spermatogonia A, siyah ok: spermatogonia B, kırmızı ok: bazal membran, sarı ok: leydig hücresi, yeşil ok: spermium, siyah üçgen: tunika albuginea, Masson Trikrom.

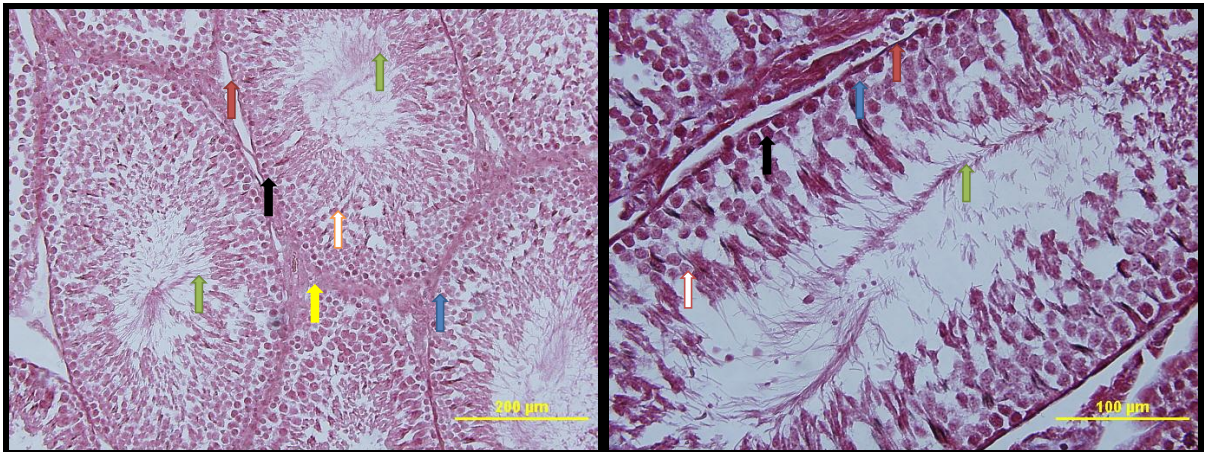
Şam grubu incelendiğinde kontrolle benzer bulgular gözlemlendi.



Şekil 76: Sham grubuna ait testis dokusu. mavi ok: spermatogonia A, siyah ok: spermatogonia B, kırmızı ok: bazal membran, beyaz ok: spermatosit, yeşil ok: spermium, H&E.



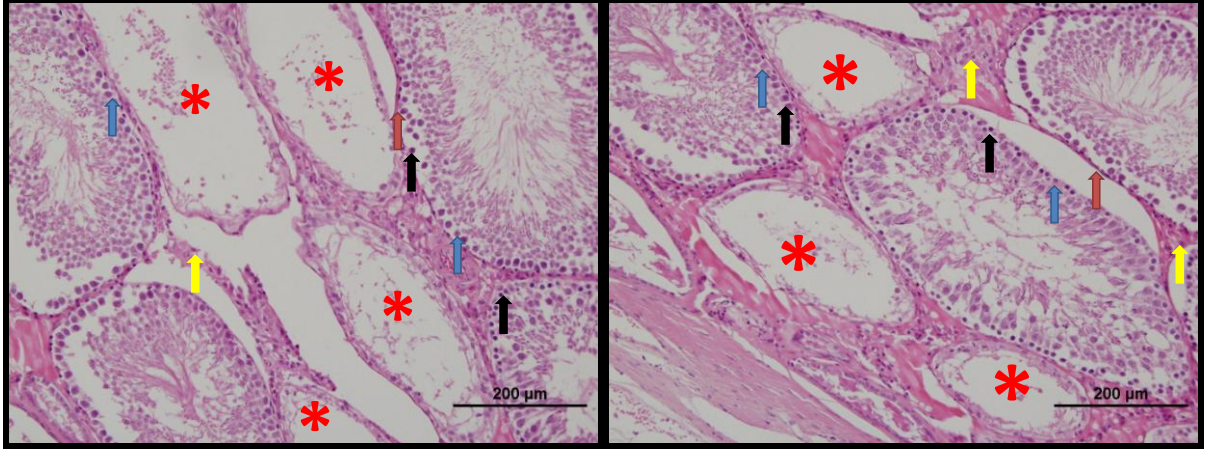
Şekil 77: Sham grubuna ait testis dokusu. mavi ok: spermatogonia A, siyah ok: spermatogonia B, kırmızı ok: bazal membran, beyaz ok: spermatosit, yeşil ok: spermium, PAS.



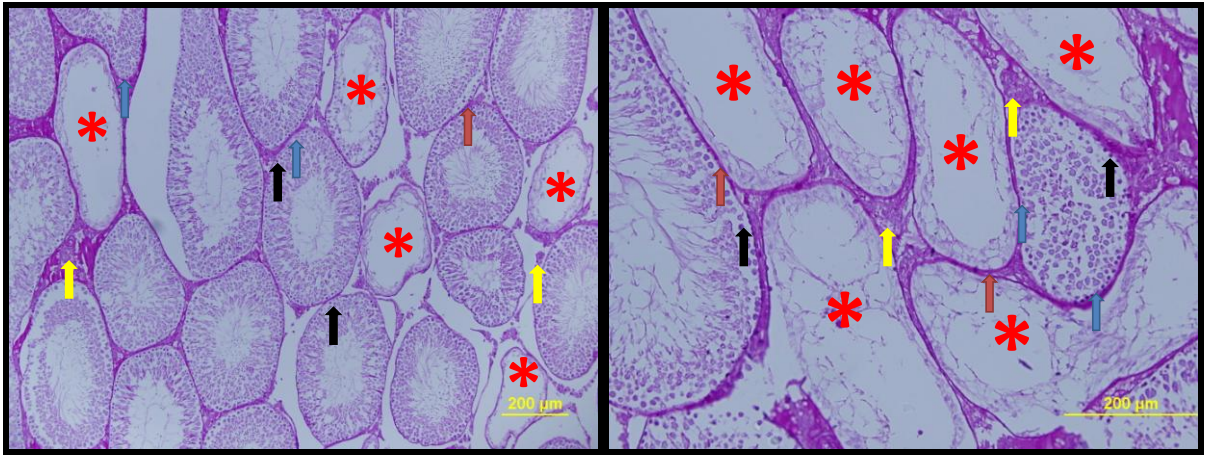
Şekil 78: Sham grubuna ait testis dokusu. mavi ok: spermatogonia A, siyah ok: spermatogonia B, kırmızı ok: bazal membran, beyaz ok: spermatosit, yeşil ok: spermium, Masson trikrom.

Trifluralin Yüksek Doz grubu incelendiğinde seminifer tübüllerde yoğun dejenerasyonlar gözlemlendi. Seminifer tübüllerde yaygın nekroz, tübül lümeninde düzensizlik,

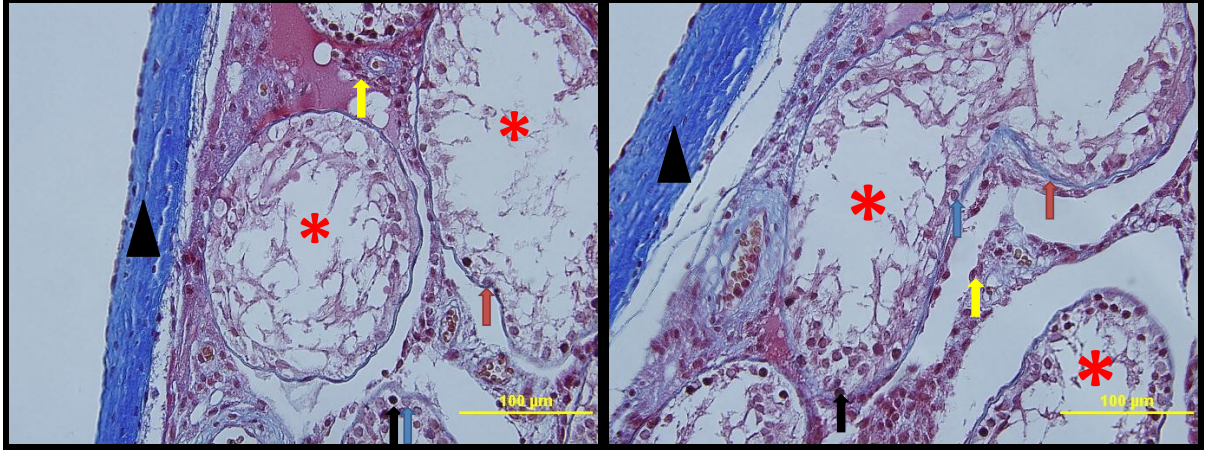
lümende spermium hücrelerinin olmaması, seminifer tübül duvarındaki epitelde bozulma, spermatogenik seriye ait hücre diziliminde düzensizlikler, tübülün karakteristik yuvarlak yapısında bozulmalar ve yeryer intertisyal bağ dokusu artışı saptandı.



Şekil 79: TRF YD grubu testis dokusu. Kırmızı Yıldız(*): yaygın nekrotik seminifer tübül, mavi ok: spermatogonia A, siyah ok: spermatogonia B, kırmızı ok: bazal membran, sarı ok: leydig hücresi, yeşil ok: spermium, H&E.

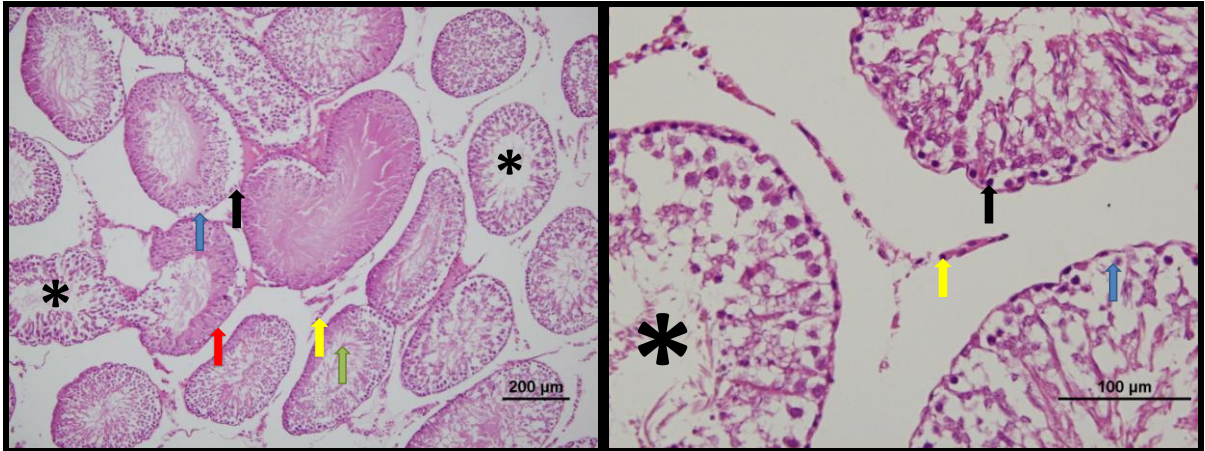


Şekil 80: TRF YD grubu testis dokusu. Kırmızı Yıldız(*): yaygın nekrotik seminifer tübül, mavi ok: spermatogonia A, siyah ok: spermatogonia B, kırmızı ok: bazal membran, sarı ok: leydig hücresi, PAS.

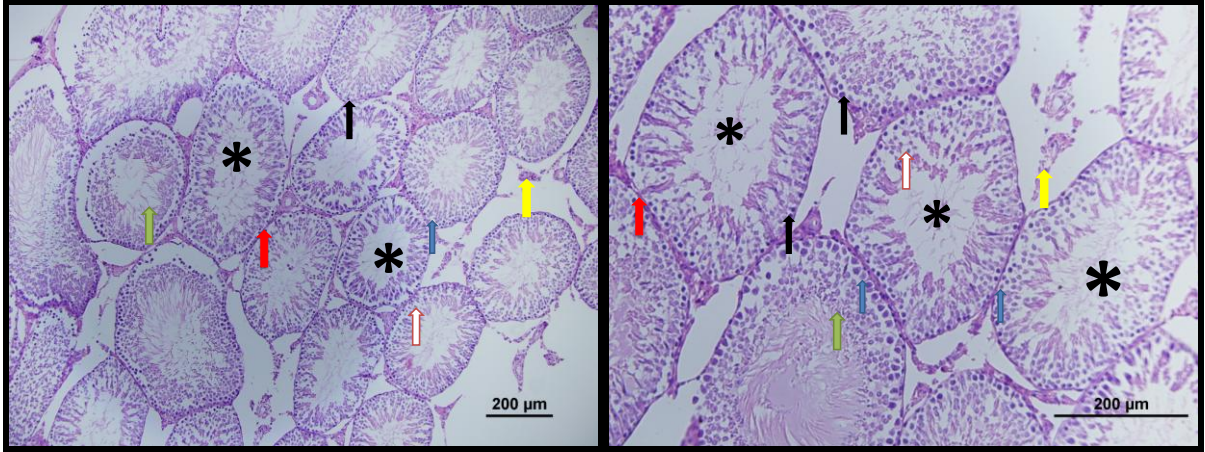


Şekil 81: TRF YD grubu testis dokusu. Kırmızı Yıldız(*): yaygın nekrotik seminifer tübül, mavi ok: spermatogonium A, siyah ok: spermatogonium B, kırmızı ok: bazal membran, sarı ok: leydig hücresi, siyah üçgen: tunika albuginea, Masson Trikrom.

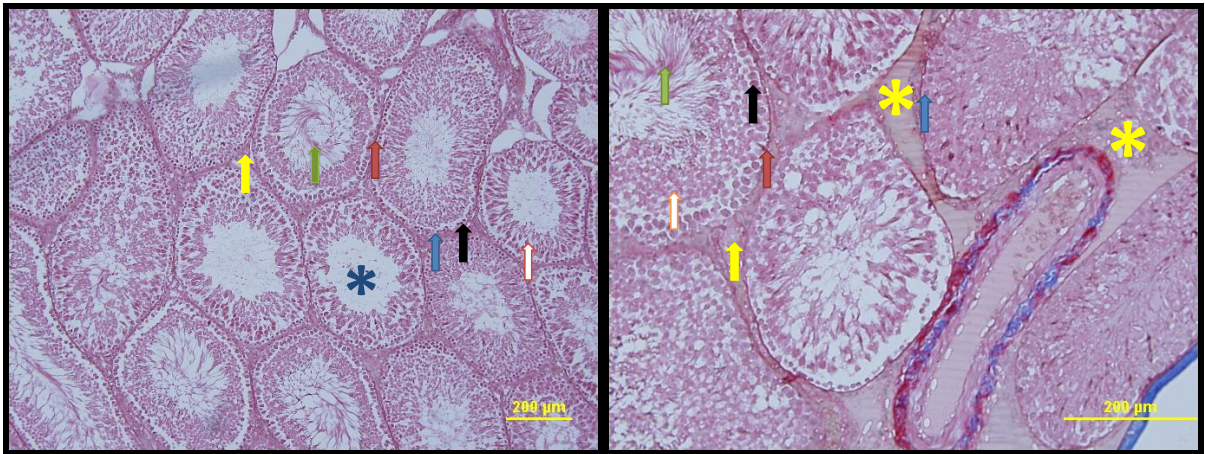
Trifluralin Düşük Doz grubu incelendiğinde, tübüllerde yaygın nekroza rastlanmadı fakat seminifer tübüllerde dejenerasyon saptandı. Spermatogenik seriye ait hücre sayısında azalma ve sıralanışta bozukluklar saptandı. Bazı seminifer tübül lümenlerinde spermium hücreleri görülmemekteydi.



Şekil 82: TRF DD grubu testis dokusu. Siyah Yıldız(*): bozuk morfolojiye sahip seminifer tübül, spermatogenik seriye ait hücrelerin dizilimi bozulmuş, lümeninde spermium hücrelerinde azalma. mavi ok: spermatogonia A, siyah ok: spermatogonia B, kırmızı ok: bazal membran, sarı ok: leydig hücresi, yeşil ok: spermium, H&E.

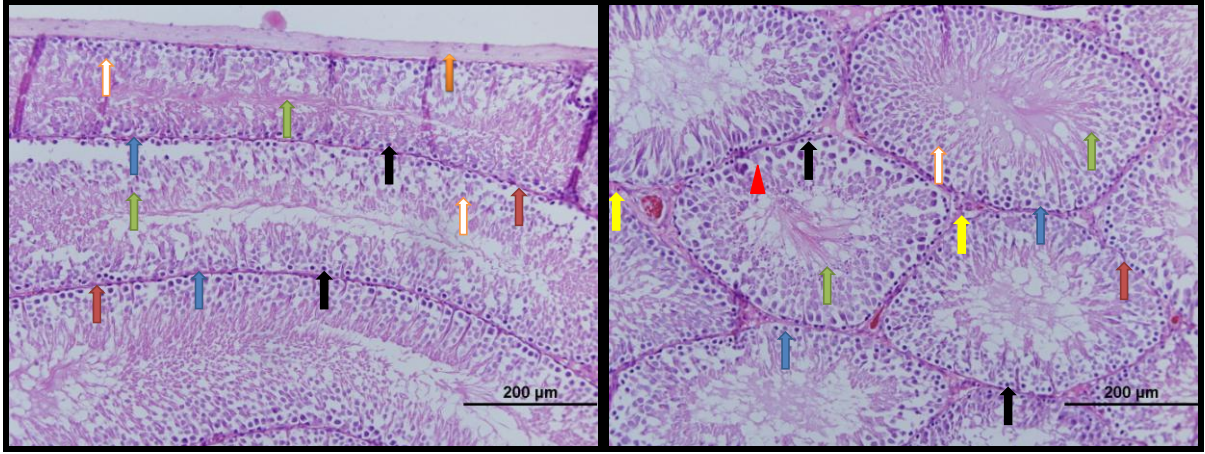


Şekil 83: TRF DD grubu testis dokusu. Siyah Yıldız(*): bozuk morfolojiye sahip seminifer tübül, spermatogenik seriye ait hücrelerin dizilimi bozulmuş, lümeninde spermium hücrelerinde azalma. mavi ok: spermatogonia A, siyah ok: spermatogonia B, kırmızı ok: bazal membran, beyaz ok: spermatozoid, yeşil ok: spermium, PAS.

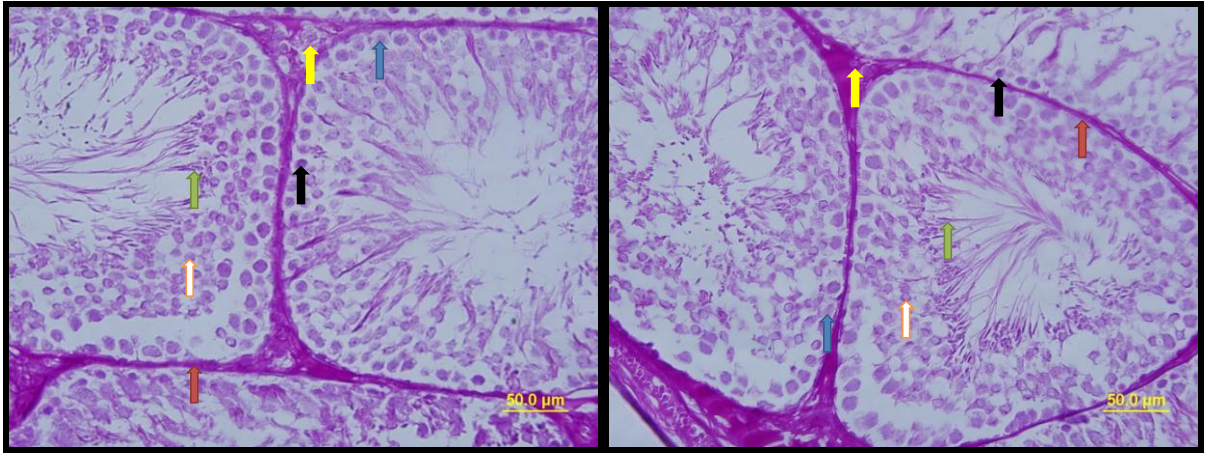


Şekil 83: TRF DD grubu testis dokusu. Mavi Yıldız(*): lümeninde spermium hücresi bulunmayan epitel dizilimi bozulmuş seminifer tübül, sarı yıldız(*): bağ doku artışı, mavi ok: spermatogonium A, siyah ok: spermatogonium B, kırmızı ok: bazal membran, sarı ok: Leydig hücresi, yeşil ok: spermium, beyaz ok spermatozoid, Masson Trikrom.

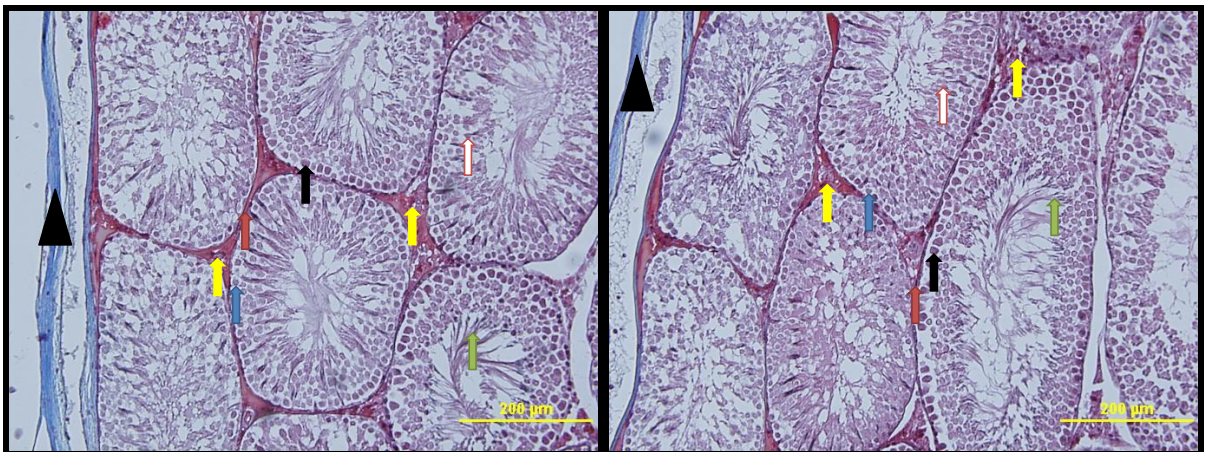
Resveratrol Tedavi grubunda TRF YD ve TRF DD gruplarında gözlenen çoğu patolojik bulgularda azalma saptandı. Seminifer tübüllerde yaygın nekroz, dejenerasyon ve spermatogenik seriye ait hücre diziliminde bozukluk ve sayısında azalma gibi herhangi bir anormallik gözlenmedi. Nadir olarak seminifer tübül lümenindeki spermium sayısında azalma saptandı.



Şekil 84: RVT tedavi grubu testis dokusu. Kırmızı ok: bazal membran, mavi ok: spermatogonia A, siyah ok: spermatogonia B, sarı ok: leydig hücresi, beyaz ok: spermatoisit, yeşil ok: spermium, kırmızı üçgen: sertoli hücresi, H&E.



Şekil 85: RVT tedavi grubu testis dokusu. Kırmızı ok: bazal membran, mavi ok: spermatogonia A, siyah ok: spermatogonia B, sarı ok: leydig hücresi, beyaz ok: spermatoisit, yeşil ok: spermium, PAS.



Şekil 86: RVT tedavi grubu testis dokusu. Mavi ok: spermatogonium A, siyah ok: spermatogonium B, kırmızı ok: bazal membran, sarı ok: leydig hücresi, yeşil ok: spermium, siyah üçgen: tunika albuginea, Masson Trikrom.

5.3.Histolojik Skorlama

5.3.1. Fırça kenar kaybı ve nekroz:

Gruplar arasında fırça kenar kaybı ve nekrozu belirlemek için morfometrik ölçümler yapıldı. Bunun için Sarıoğlu ve ark.'nın yapmış olduğu yöntem kullanılarak değerlendirildi.

Gruplar arasında fırça kenar kaybı ve nekrozu düzeyleri ortalamaları;

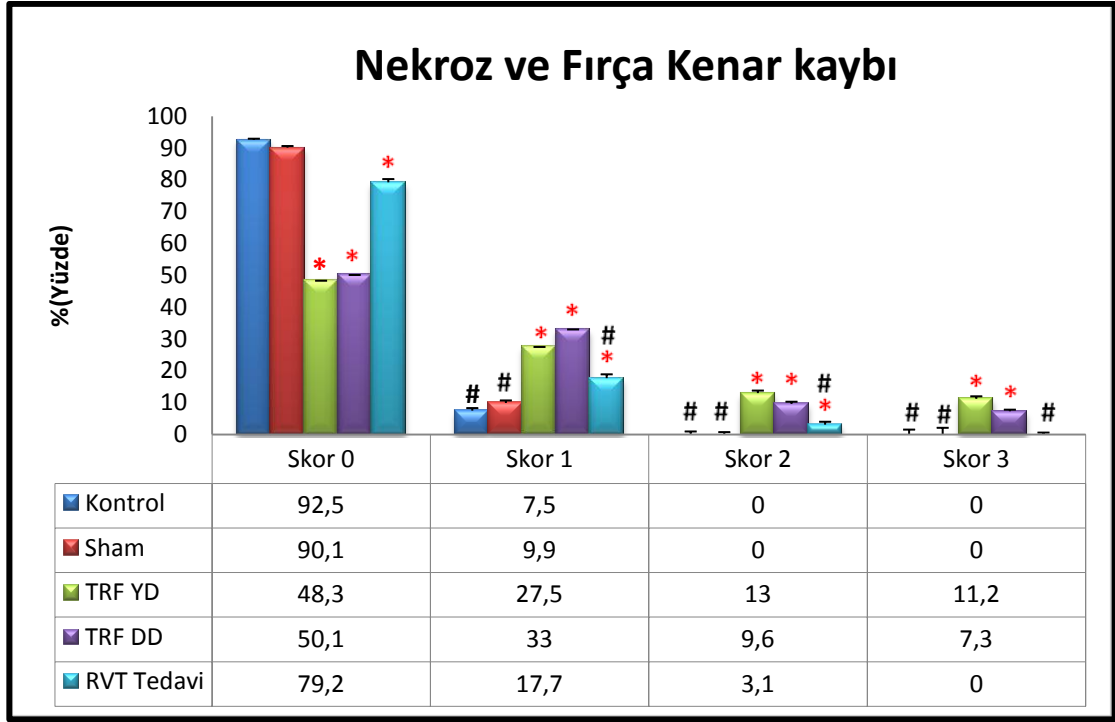
Skor=0 Kontrol grubunda $92,5\pm 0,4$, Sham grubunda $90,1\pm 0,8$, TRF YD grubunda $48,3\pm 0,95$ TRF DD grubunda $50,1\pm 1,54$ ve RVT tedavi grubunda $79,2\pm 1,02$ olarak saptandı. Kontrol ve sham grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmazken ($p=0,9$); kontrol grubu ile TRF YD grubu, TRF DD grubu ve RVT tedavi grupları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş tespit edildi ($p=0,0006$, $p=0,0002$ ve $p=0,0002$). TRF YD grubu ve TRF DD grubu ile RVT Tedavi grubu karşılaştırıldığında ise anlamlı bir artış gözlemlendi ($p=0,0002$, $p=0,0001$).

Skor=1 ise Kontrol grubunda $7,5\pm 0,5$, Sham grubunda $9,9\pm 0,8$, TRF YD grubunda $27,5\pm 0,75$ TRF DD grubunda $33\pm 2,1$ ve RVT tedavi grubunda $17,7\pm 1,2$ olarak saptandı. Bu sınıflamada kontrol grubu ile sham karşılaştırıldığında istatistiksel bir anlamlı fark bulunmazken ($p=0,8$), kontrol grubu ile TRF YD grubu, TRF DD grubu ve RVT tedavi grubu karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı olarak artış tespit edildi ($p=0,0006$, $p=0,0007$, $p=0,0004$). TRF YD ve TRF DD grupları ile RVT tedavi grubu karşılaştırıldığında ise anlamlı azalış gözlemlendi ($p=0,0001$, $p=0,0001$).

Skor=2 ise Kontrol grubunda $0,0\pm 0,0$ Sham grubunda $0,0\pm 0,0$ TRF YD grubunda $13\pm 0,8$, TRF DD grubunda $9,6\pm 0,8$ ve RVT tedavi grubu $3,1\pm 0,9$ olarak saptandı. Bu sınıflamada kontrol grubu ile sham grubu karşılaştırıldığında istatistiksel bir anlamlı fark bulunmazken ($p=1$), kontrol grubu ile TRF YD, TRF DD ve RVT tedavi grupları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı olarak artış tespit edildi ($p=0,0001$, $p=0,0006$, $p=0,0001$). TRF YD ve TRF DD grupları ile RVT tedavi grubu karşılaştırıldığında ise anlamlı azalış gözlemlendi ($p=0,0003$, $p=0,0009$).

Skor=3 ise Kontrol grubunda $0,0\pm 0,0$, Sham grubunda $0,0\pm 0,0$, YD grubunda $11,2\pm 0,7$ ve DD grubunda $7,3\pm 0,5$ olarak saptandı. Bu sınıflamada kontrol grubu ile sham ve RVT tedavi grupları karşılaştırıldığında istatistiksel bir anlamlı fark bulunmazken ($p=1$, $p=1$), kontrol grubu ile TRF YD ve TRF DD grupları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı olarak artış tespit edildi ($p=0,0001$, $p=0,0002$). TRF YD ve TRF DD grupları ile RVT tedavi grubu karşılaştırıldığında ise anlamlı azalış gözlemlendi ($p=0,0001$, $p=0,0002$). (One Way ANOVA, LSD), (şekil 88).

Sonuçlardan elde edilen veriler kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı sonuçlar gözlemlendi.



Şekil 87: Böbrek dokusunda nekroz ve fırça kenar kaybının Değerlendirmesi.

#: YD ve DD gruplarına göre anlamlı azalma gösteren kontrol, sham ve RVT tedavi grupları

*: kontrol ve sham grubuna göre anlamlı artma gösteren YD, DD ve RVT tedavi grupları.

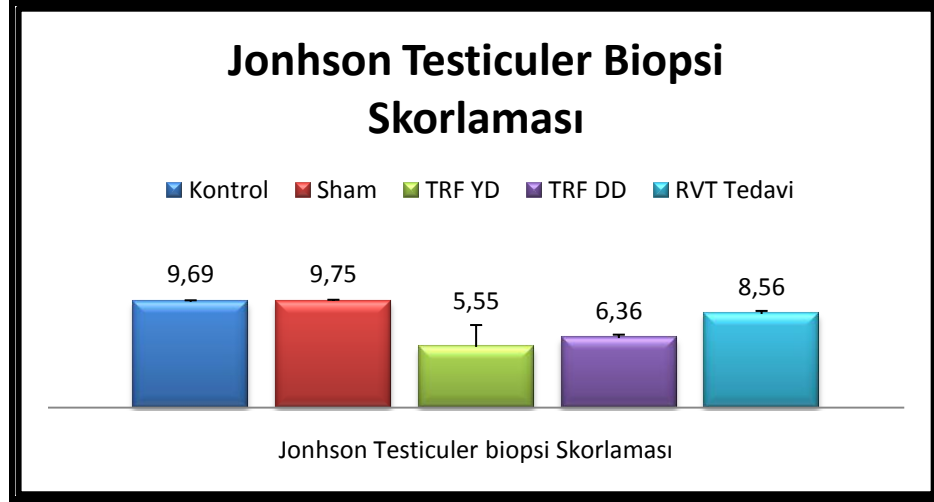
RVT tedavi grubu kontrol ve sham gruplarına göre skor 0,1,2 değerlendirmesinde anlamlı oranda artış saptanmasına rağmen TRF YD ve TRF DD gruplarına göre anlamlı oranda azalma saptanmıştır. Bu veriler tedavi grubunda RVT nin terapötik etkisini açıklamaktadır.

5.3.2. Jonhson Testiküler biopsi skorlaması:

Testis dokusunda gruplar arasındaki tübül hasarını belirlemek için morfometrik ölçümler yapıldı. Bunun için jonhson testiküler biyopsi skorlaması yöntemi kullanıldı. Gruplar arasında jonhson testikuler biopsi skorlama düzeyleri ortalamaları;

Kontrol grubu $9,69 \pm 0,12$, sham grubu $9,75 \pm 0,11$, TRF YD grubu $5,55 \pm 0,24$, TRF DD grubu $6,36 \pm 0,31$, RVT tedavi grubu $8,56 \pm 0,28$ olarak bulundu. Kontrol grubu ile sham grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,856$). Kontrol grubu ile TRF YD, TRF DD ve RVT tedavi grupları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı azalış tespit edildi ($p=0,0001$, $p=0,0008$, $p=0,001$). TRF YD ve TRF DD grupları ile RVT

tedavi grubu karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı ($p=0,0001$, $p=0,0002$). Değerlendirme kriteri olarak one-way ANOVA LSD testi kullanıldı. Değerler şekil 89'da gösterilmektedir.



Şekil 88: jonhson testiküler biopsi skorlaması.

5.4. İmmünohistokimyasal bulgular:

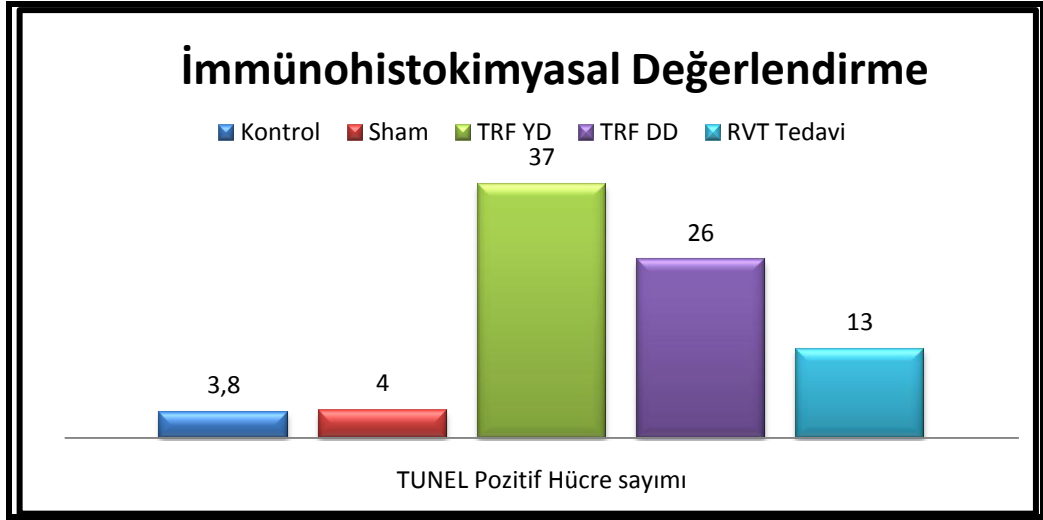
Apoptozun değerlendirilmesi:

Elde edilen kesitlerde apoptotik hücreleri göstermek için TUNEL boyaması yapıldı. Her gruptaki deneklerin böbrek doku kesitlerinde X20 objektif büyütmesi ile 10 ayrı alandaki 100 epitel hücresinden TUNEL pozitif boyanan hücreler sayıldı. Elde edilen görüntüler fotoğraflanarak çalışmamıza eklendi.

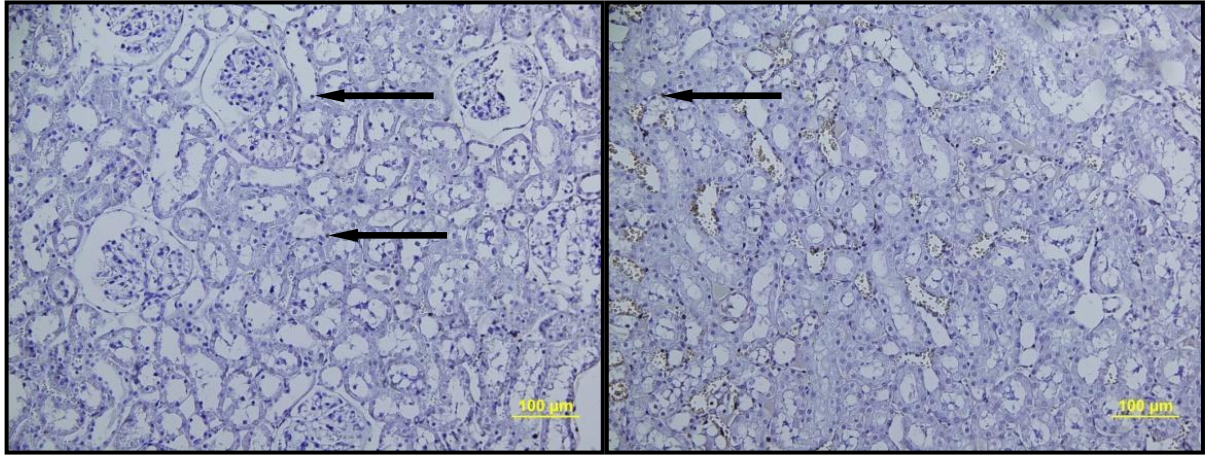
5.4.1. TUNEL Değerlendirilmesi:

Böbrek dokusuna ait histolojik kesitlerde ortalama TUNEL pozitif boyanan hücre sayıları, Kontrol grubu $3,8 \pm 0,34$ ($5000 \mu\text{m}^2$ alanda); Sham grubunda $4,0 \pm 0,61$ ($5000 \mu\text{m}^2$ alanda); TRF YD grubunda $37,0 \pm 0,81$ ($5000 \mu\text{m}^2$ alanda); TRF DD grubunda $26,0 \pm 0,82$ ($5000 \mu\text{m}^2$ alanda); RVT tedavi grubunda $13,0 \pm 0,87$ ($5000 \mu\text{m}^2$ alanda) olarak bulundu.

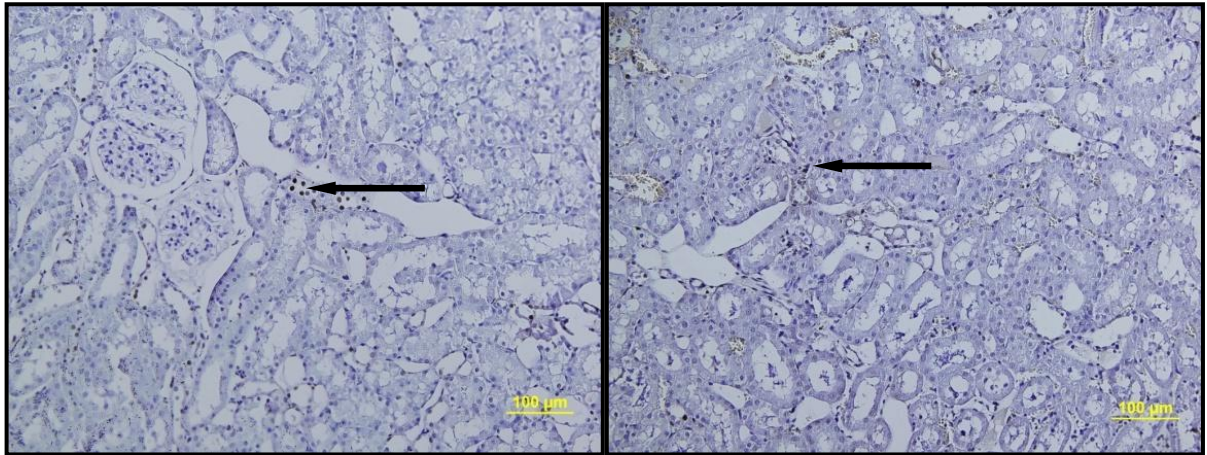
İstatistiksel olarak karşılaştırıldığında, sırasıyla gruplar arasında kontrol-sham grupları arasında ($p=0,9$). Kontrol grubu ile TRF YD, TRF DD ve RVT tedavi grupları arasında anlamlı olarak artış saptandı ($p= 0,0005$, $p=0,0006$, $p=0,0005$). TRF YD ve TRF DD grupları ile RVT tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı azalış saptandı ($p=0,0006$, $p=0,0001$). TRF YD ile TRF DD grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında yine anlamlı bir azalış bulundu ($p=0,0007$). (One Way ANOVA, LSD) (şekil 90).



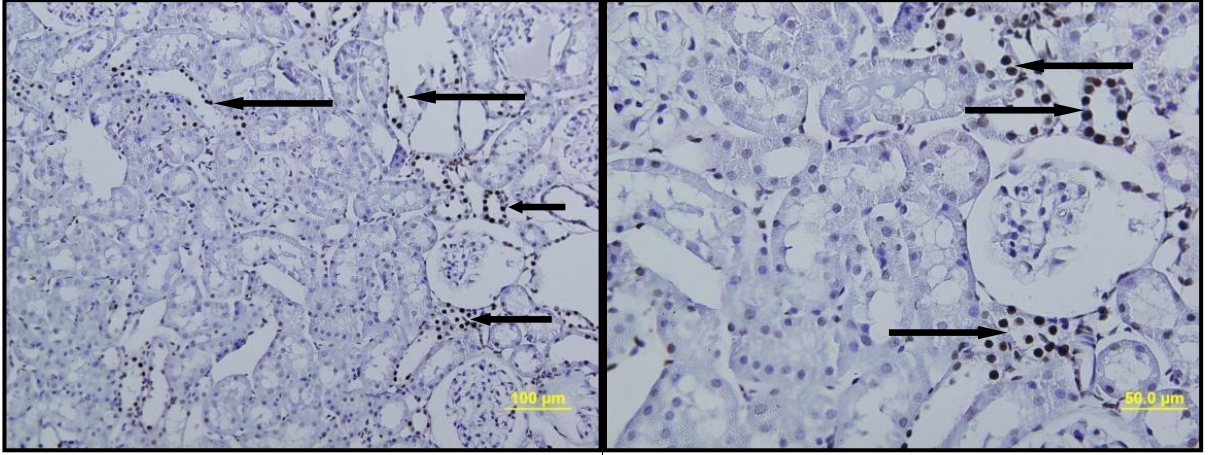
Şekil 89: Gruplar Arasındaki TUNEL değerleri.



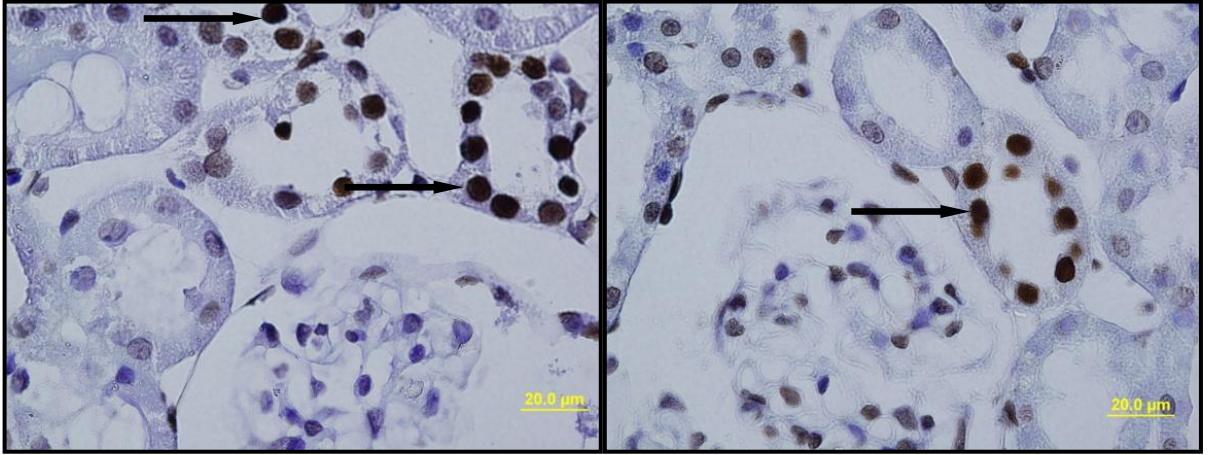
Şekil 90: Kontrol grubu böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→), TUNEL.



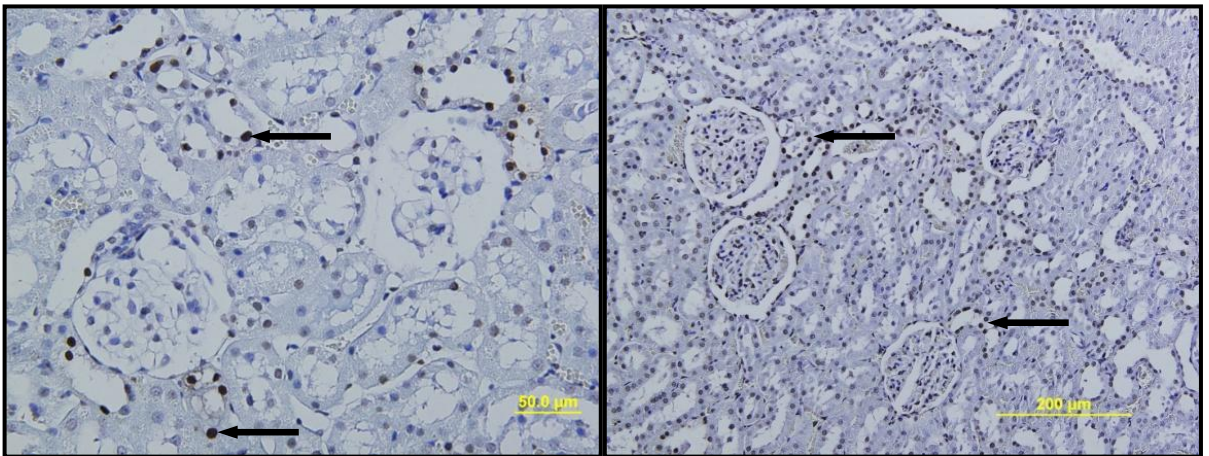
Şekil 91: Sham grubu böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (→), TUNEL.



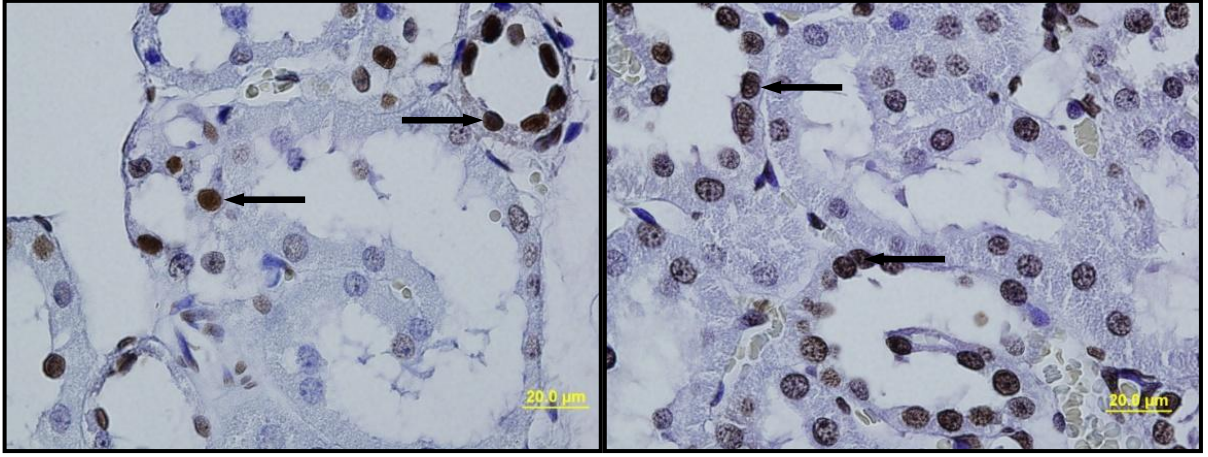
Şekil 92: TRF YD grubu böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (➡), TUNEL



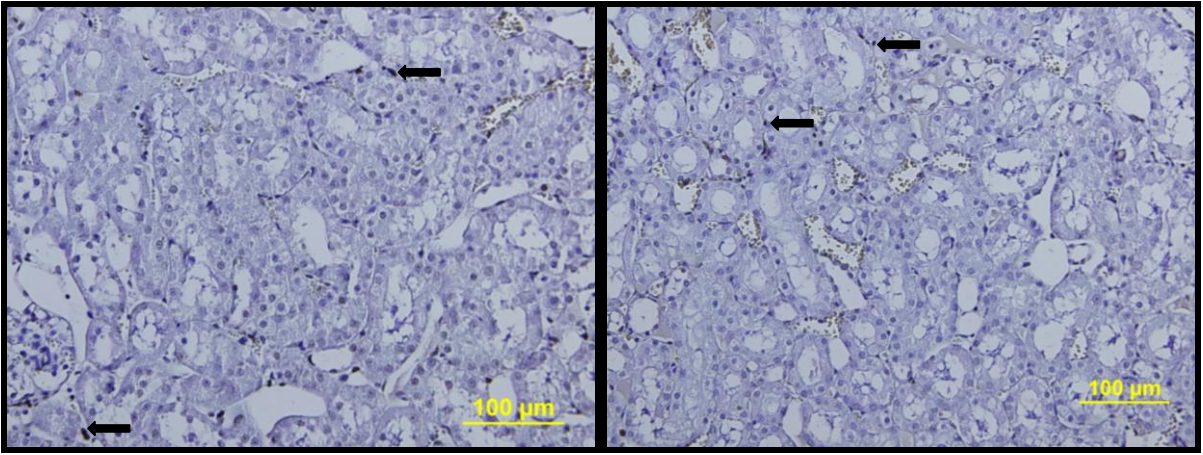
Şekil 93: TRF YD grubu böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (➡), TUNEL.



Şekil 94: TRF DD grubu böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (➡), TUNEL.



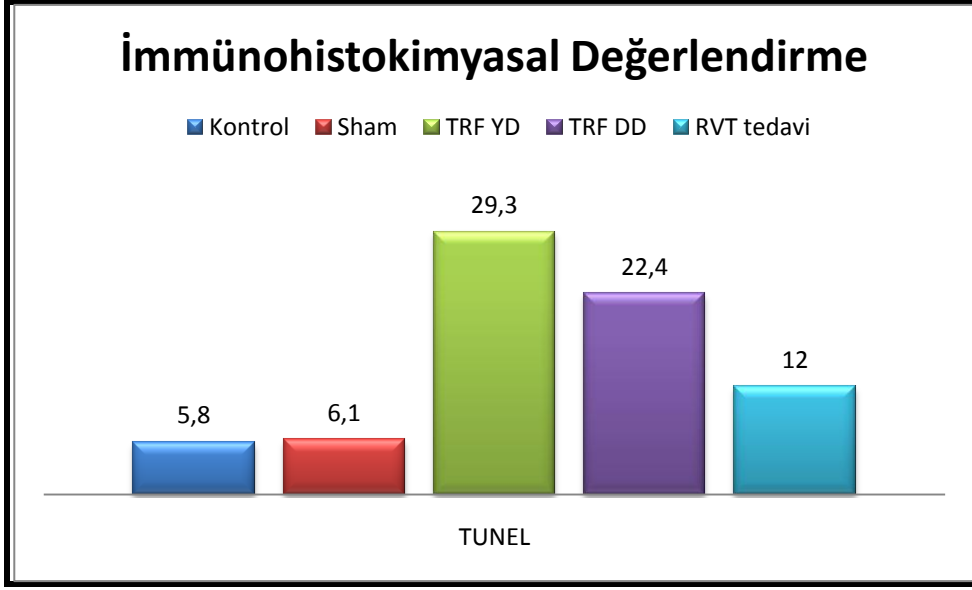
Şekil 95: TRF DD grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (————→), TUNEL.



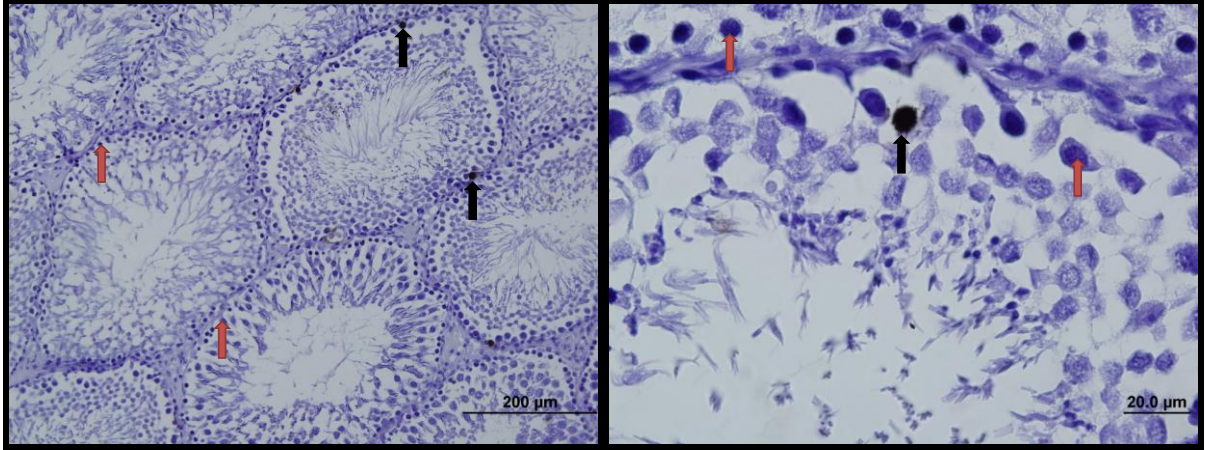
Şekil 96: RVT tedavi grubuna ait böbrek dokusunda TUNEL pozitif hücreler (————→). TUNEL.

Testis dokusuna ait histolojik kesitlerde ortalama TUNEL pozitif boyanan hücre sayıları, Kontrol grubu $5,8 \pm 0,4$ ($5000 \mu\text{m}^2$ alanda); Sham grubunda $6,1 \pm 0,1$ ($5000 \mu\text{m}^2$ alanda); TRF YD grubunda $29,3 \pm 0,3$ ($5000 \mu\text{m}^2$ alanda); TRF DD grubunda $22,4 \pm 0,6$ ($5000 \mu\text{m}^2$ alanda); RVT tedavi grubunda $12,0 \pm 0,5$ ($5000 \mu\text{m}^2$ alanda) olarak bulundu.

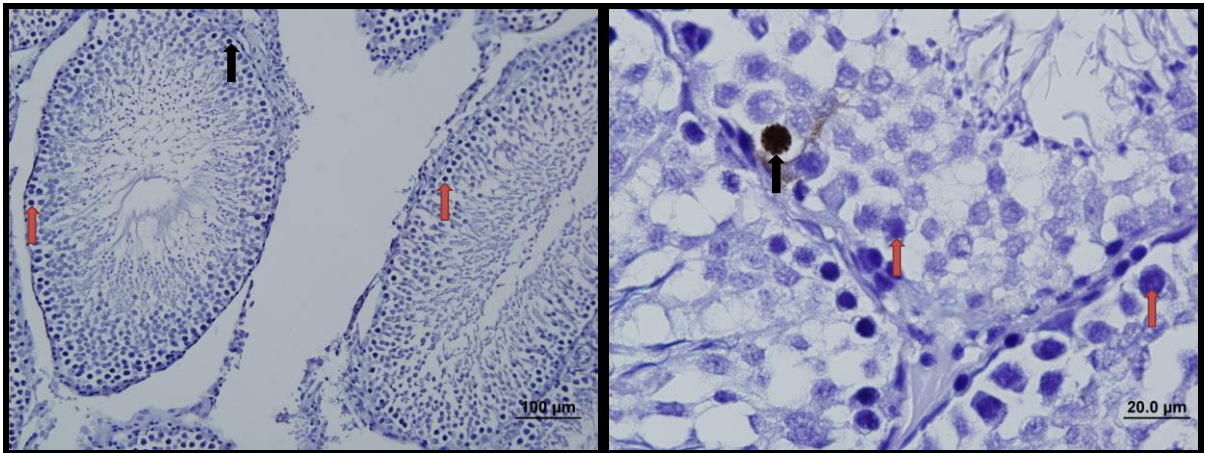
İstatistiksel olarak karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile TRF YD, TRF DD ve RVT tedavi grupları arasında anlamlı olarak artış saptandı ($p= 0,0002$, $p=0,003$, $p=0,001$). TRF YD ve TRF DD grupları ile RVT tedavi grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı azalış saptandı ($p=0,0002$, $p=0,0004$). TRF YD ile TRF DD grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında yine anlamlı bir azalış bulundu ($p=0,002$). (One Way ANOVA, LSD) (şekil 99).



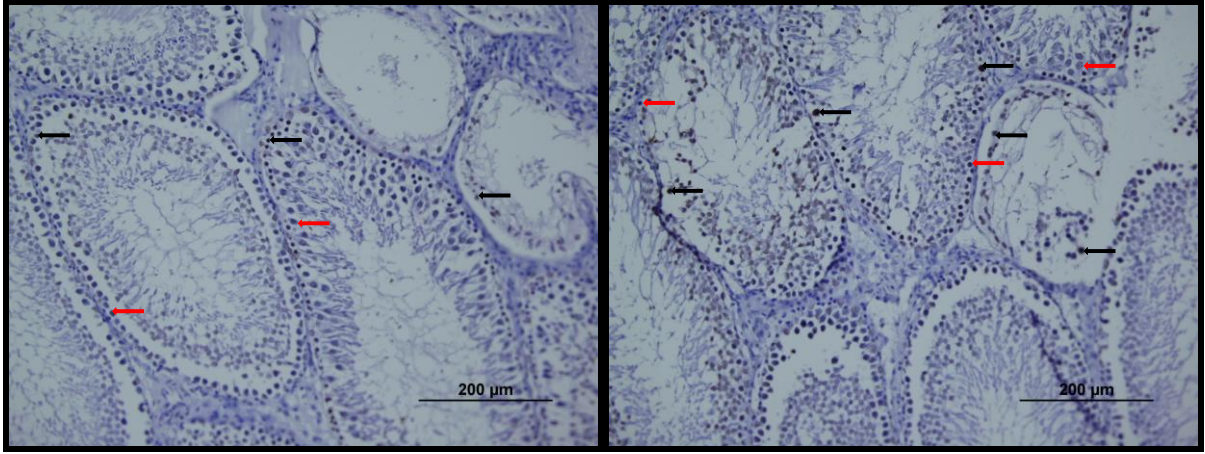
Şekil 97: Testis dokusuna ait TUNEL pozitif hücre değerlendirme tablosu.



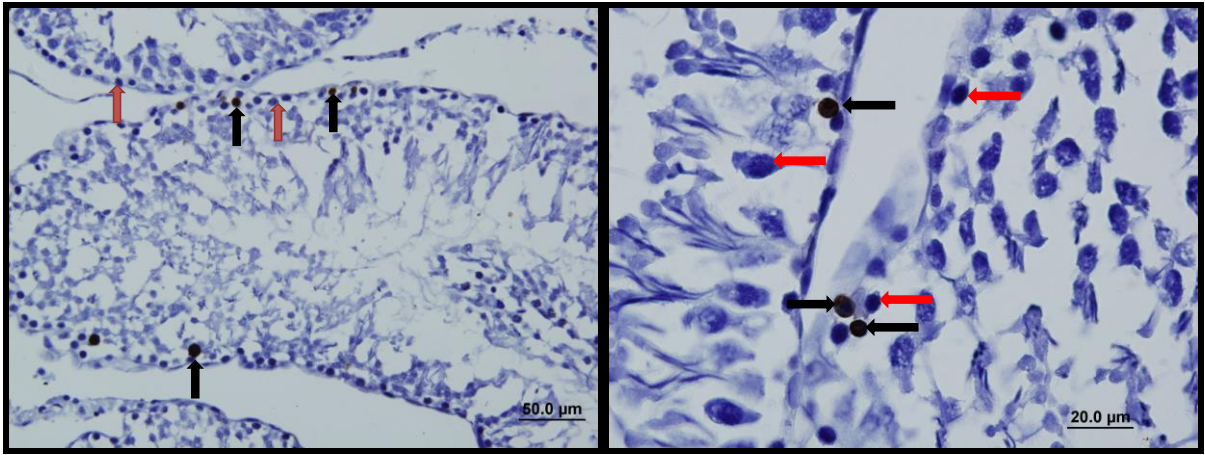
Şekil 98: Kontrol grubu testis dokusu. Siyah ok: TUNEL pozitif hücreler, kırmızı ok: TUNEL negatif hücreler, TUNEL.



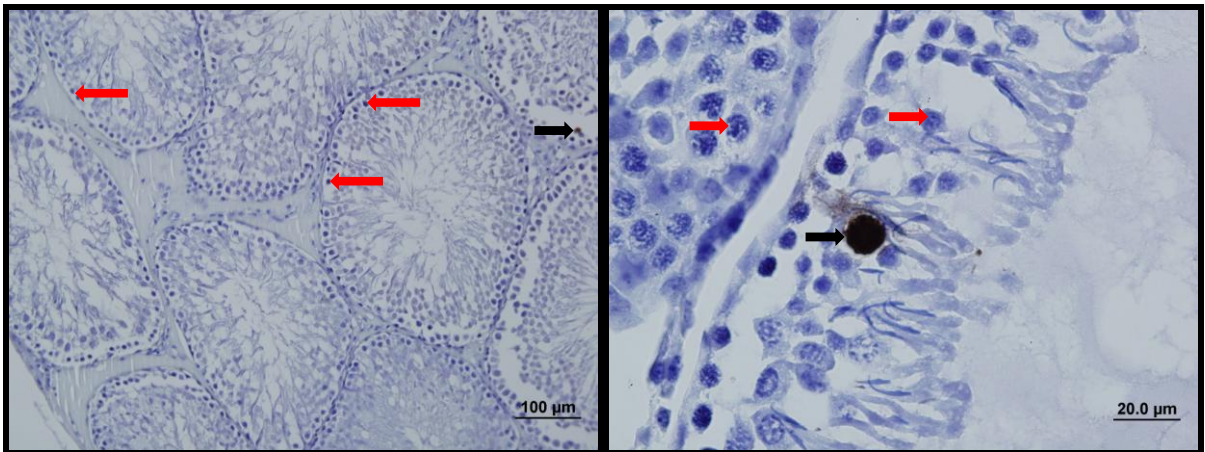
Şekil 99: Sham grubu testis dokusu. Siyah ok: TUNEL pozitif hücreler, kırmızı ok: TUNEL negatif hücreler, TUNEL.



Şekil 100: TRF YD grubu testis dokusu. Siyah ok: TUNEL pozitif hücreler, kırmızı ok: TUNEL negatif hücreler, TUNEL.



Şekil 101: TRF DD grubu testis dokusu. Siyah ok: TUNEL pozitif hücreler, kırmızı ok: TUNEL negatif hücreler, TUNEL.



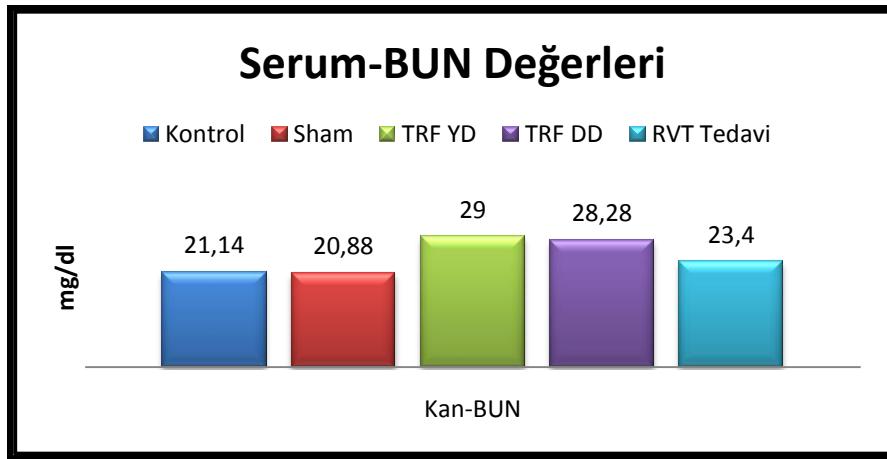
Şekil 102: RVT tedavi grubu testis dokusu. Siyah ok: TUNEL pozitif hücreler, kırmızı ok: TUNEL negatif hücreler, TUNEL.

5.5. Biyokimyasal Sonuçlar.

5.5.1. BUN Analiz sonuçları

5.5.1.1. Serum BUN Düzeyleri

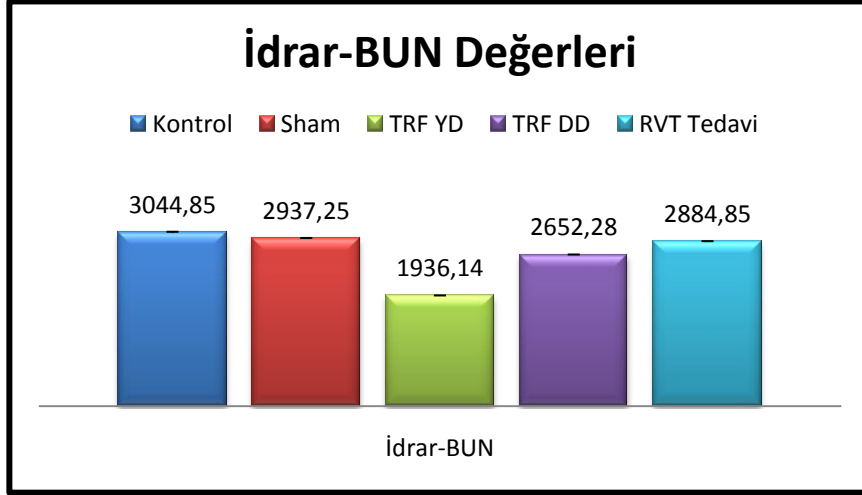
Kan örneklerinden elde edilen BUN düzeyleri ortalamaları; Kontrol grubunda 21,14±1,53 mg/dl, Sham grubunda 20,89±0,63 mg/dl, TRF YD grubunda 29,03±0,75 mg/dl TRF DD grubunda 27,28±1,89 mg/dl ve RVT tedavi grubunda 23,4±0,55 olarak saptandı (şekil 104). Kontrol grubuyla, Sham ve RVT tedavi grupları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık gözlenmedi ($p=0,878$, $p=0,184$). Kontrol ile TRF YD ve TRF DD gruplarını karşılaştırdığımızda BUN değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,0004$, $p=0,0001$). (One Way ANOVA, LSD).



Şekil 103: Kan-BUN değerlerinin istatistiksel grafiği.

5.5.1.2. İdrar BUN Düzeyleri

İdrar örneklerinden elde edilen BUN düzeyleri ortalamaları; Kontrol grubunda 3044±0,06 mg/dl. Sham grubunda 2937±1,16 mg/dl. TRF YD grubunda 1936±1,47 mg/dl ve TRF DD grubunda 2652±0,04 mg/dl, RVT tedavi grubunda 2884±2,4 mg/dl olarak saptandı (Şekil 105). Kontrol grubuyla, Sham ve RVT tedavi grupları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık gözlenmedi ($p=0,241$, $p=0,086$). Kontrol grubuyla TRF YD ve TRF DD gruplarını karşılaştırdığımızda BUN değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0,0002$, $p=0,0001$). RVT tedavi grubuyla TRF YD grupları arasında BUN düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artış saptandı ($p=0,0001$). (One Way ANOVA, LSD).

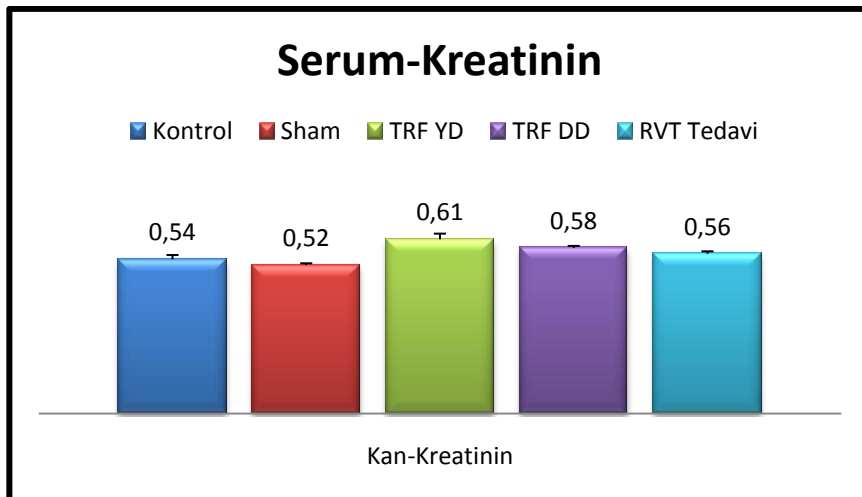


Şekil 104: İdrar-BUN değerlerinin istatistiksel grafiği.

5.5.2. Kreatinin Analiz sonuçları

5.5.2.1. Serum Kreatinin Düzeyleri

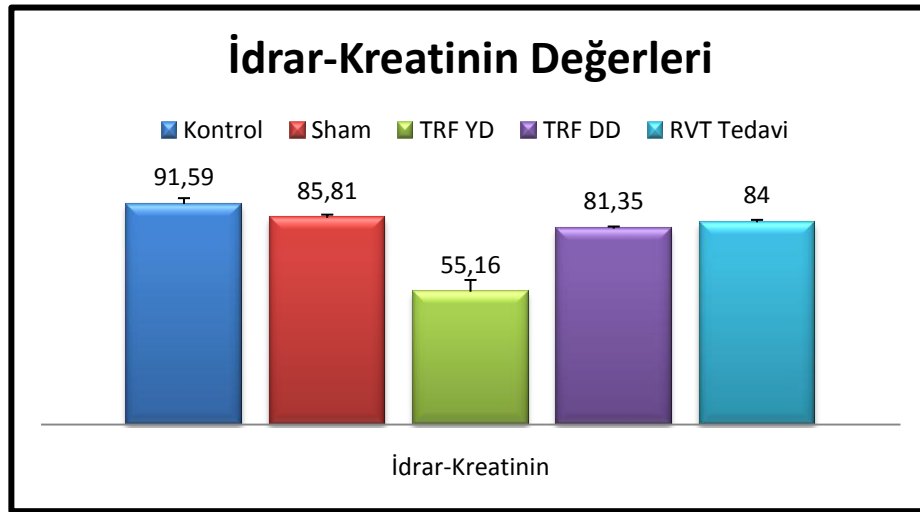
Kan örneklerinden elde edilen kreatinin düzeyleri ortalamaları; Kontrol grubunda $0,54 \pm 0,003$ mg/dl, Sham grubunda $0,52 \pm 0,006$ mg/dl, TRF YD grubunda $0,61 \pm 0,005$ mg/dl, TRF DD grubunda $0,58 \pm 0,007$ mg/dl ve RVT tedavi grubu $0,56 \pm 0,008$ mg/dl olarak saptandı (Şekil 106). Kontrol grubuyla, Sham, TRF DD ve RVT tedavi grupları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık gözlenmedi ($p=0,9$, $p=0,026$, $p=0,221$). Kontrol ve TRF YD gruplarını karşılaştırdığımızda YD grubunun kreatinin değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,001$). (One Way ANOVA, LSD).



Şekil 105: Kan-Kreatinin değerlerinin istatistiksel grafiği.

5.5.2.2. İdrar Kreatinin Düzeyleri

İdrar örneklerinden elde edilen kreatinin düzeyleri ortalamaları; Kontrol grubunda $91\pm 2,4$ mg/dl, Sham grubunda $85\pm 2,2$ mg/dl, TRF YD grubunda $55\pm 3,8$ mg/dl, TRF DD grubunda $81\pm 0,07$ mg/dl ve RVT tedavi grubunda $84\pm 1,0$ olarak saptandı (şekil 107). Kontrol grubuyla, Sham grubu karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık gözlenmedi ($p=0,06$). Kontrol grubuyla TRF YD, TRF DD ve RVT tedavi gruplarını karşılaştırdığımızda kreatinin değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0,0001$, $p=0,009$, $p=0,046$). RVT tedavi grubu ve TRF YD grupları arasında kreatinin düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p= 0,0008$). (One Way ANOVA, LSD).

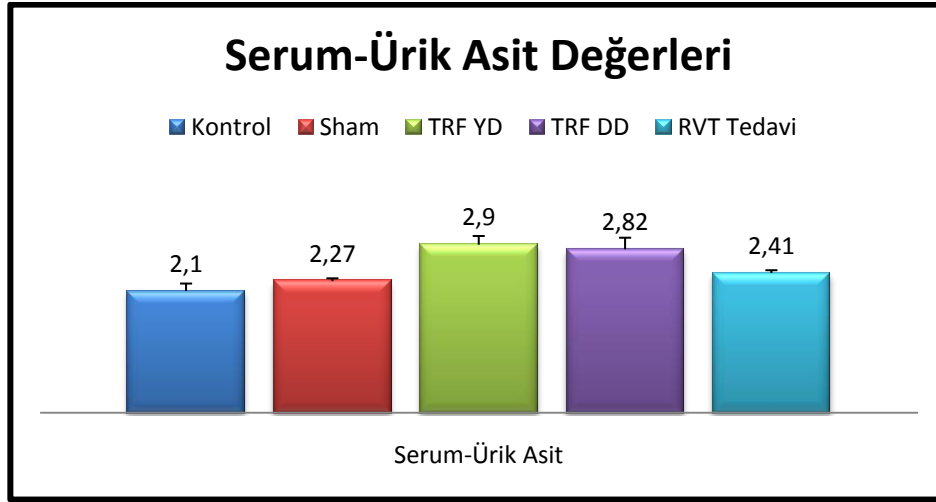


Şekil 106: İdrar-Kreatinin değerleri.

5.5.3. Ürik Asit Analiz Sonuları

5.5.3.1. Serum Ürik Asit Düzeyleri

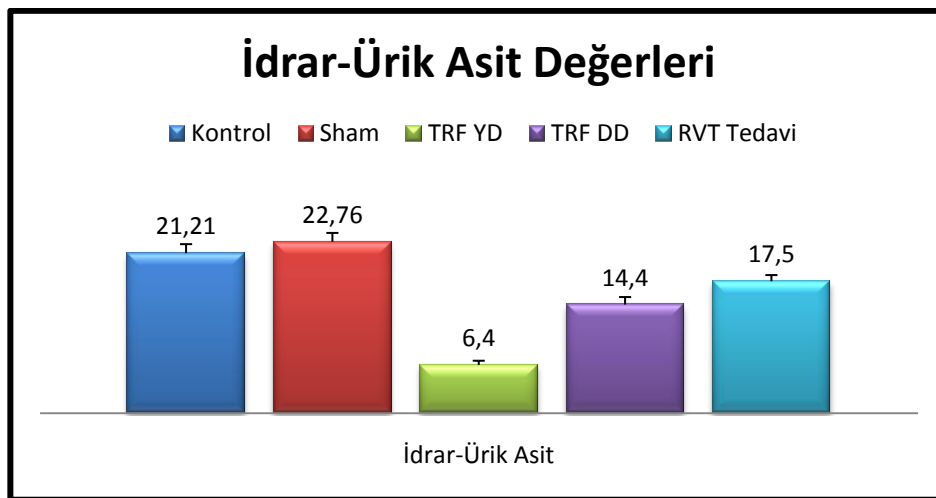
Kan örneklerinden elde edilen ürik asit düzeyleri ortalamaları; Kontrol grubunda $2,1\pm 0,15$ mg/dl, Sham grubunda $2,2\pm 0,10$ mg/dl, TRF YD grubunda $2,9\pm 0,14$ mg/dl, TRF DD grubunda $2,8\pm 0,16$ mg/dl ve RVT tedavi grubunda $2,4\pm 0,05$ mg/dl olarak saptandı (Şekil 108). Kontrol grubuyla, Sham ve RVT tedavi grupları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık gözlenmedi ($p=0,3$, $p=0,1$). Kontrol grubu ile TRF YD ve TRF DD gruplarını karşılaştırdığımızda ürik asit değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,0001$, $p=0,001$). RVT tedavi grubu ile TRF YD ve TRF DD grupları arasında ürik asit düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede artış görülmedi ($p= 0,1$, $p=0,3$) (One Way ANOVA, LSD).



Şekil 107: Kan ürik asit düzeyleri.

5.5.3.2. İdrar Ürik Asit Düzeyleri

İdrar örneklerinden elde edilen ürik asit düzeyleri ortalamaları; Kontrol grubunda $21,21 \pm 1,2$ mg/dl, Sham grubunda $22,7 \pm 1,2$ mg/dl, TRF YD grubunda $6,4 \pm 0,5$ mg/dl, TRF DD grubunda $14,4 \pm 0,9$ mg/dl ve RVT tedavi grubunda $17,5 \pm 0,8$ olarak saptandı (Şekil 109). Kontrol grubuyla, Sham grubu karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık gözlenmedi ($p=1,4$). Kontrol grubu ile TRF YD, TRF DD ve RVT tedavi gruplarını karşılaştırdığımızda ürik asit değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0,0006$, $p=0,0002$, $p=0,011$). RVT tedavi grubu ile TRF YD ve TRF DD grupları arasında ürik asit düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0,0004$, $p=0,03$) (One Way ANOVA, LSD).

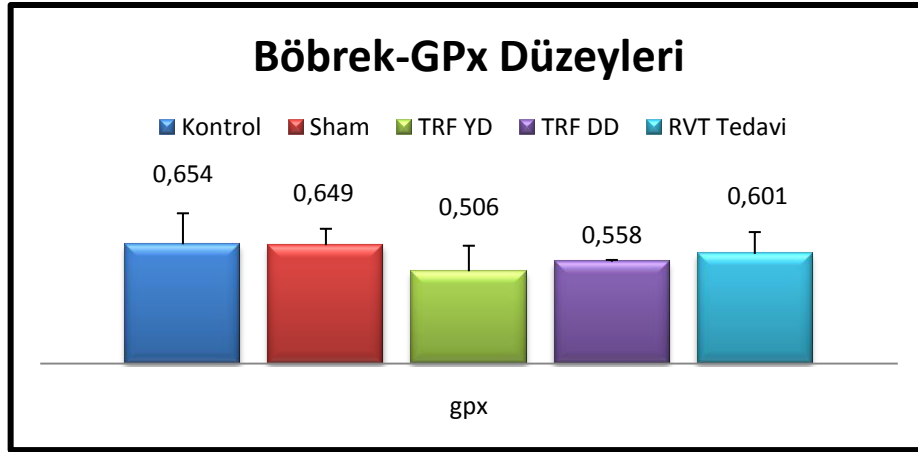


Şekil 108: İdrar-Ürik Asit düzeylerini gösteren grafik.

5.5.4. Antioksidan Enzim Değerlendirmeleri

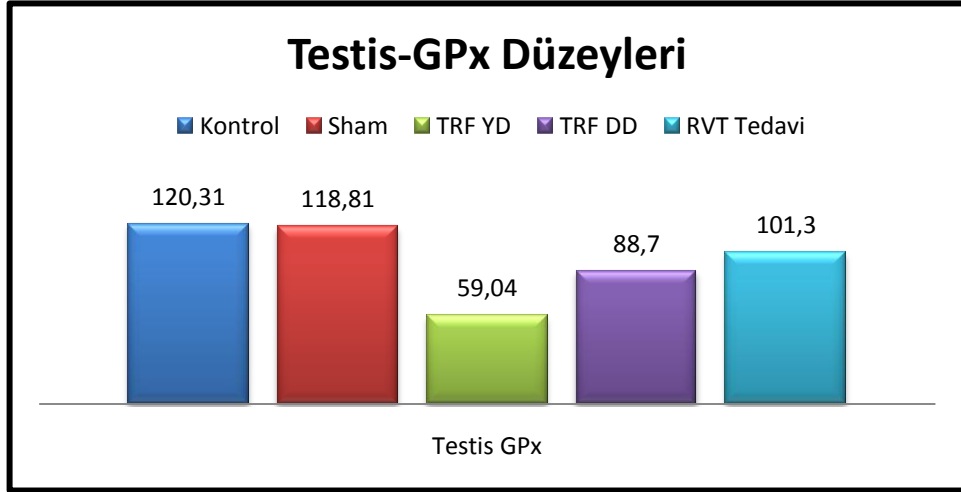
5.5.4.1. GPx Analiz sonuçları

GPx-Böbrek düzeyleri ortalamaları; Kontrol grubunda $0,654 \pm 0,17$ U/mg protein, Sham grubunda $0,649 \pm 0,09$ U/mg protein, TRF YD grubunda $0,506 \pm 0,14$ U/mg protein, TRF DD grubunda $0,558 \pm 0,01$ U/mg protein ve RVT tedavi grubunda $0,601 \pm 0,12$ U/mg protein olarak saptandı. (Şekil 110) Kontrol grubuyla, Sham grubu karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık gözlenmedi ($p=0,7$). Kontrol grubuyla TRF YD, TRF DD ve RVT tedavi gruplarını karşılaştırdığımızda GPx-Böbrek değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p=0,0002$, $p=0,0001$, $p=0,004$). RVT tedavi grubuyla TRF YD ve TRF DD grupları arasında Gpx düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0,0001$, $p=0,003$). (One Way ANOVA, LSD)



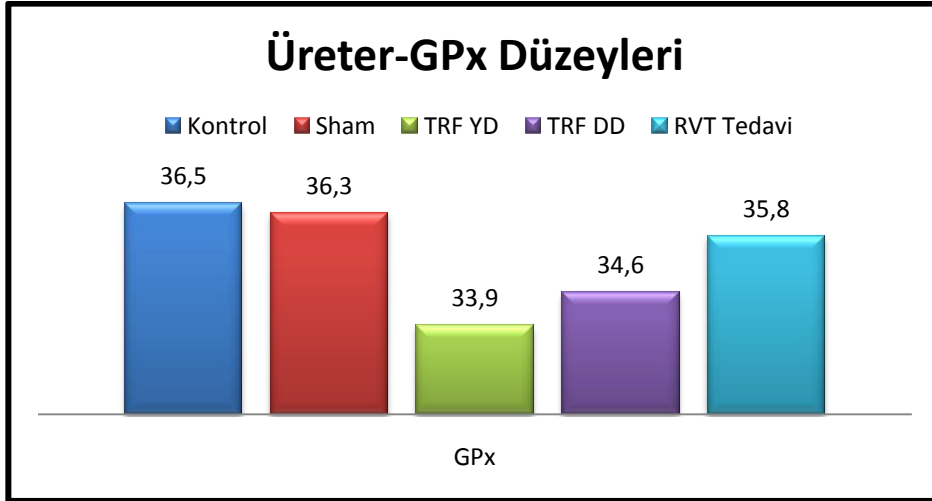
Şekil 109: Böbrek Gpx değerleri.

GPx-Testis düzeyleri ortalamaları; Kontrol grubunda $120,31 \pm 0,3$ U/mg protein, Sham grubunda $118,81 \pm 0,6$ U/mg protein, TRF YD grubunda $59,04 \pm 0,9$ U/mg protein, TRF DD grubunda $88,7 \pm 0,8$ U/mg protein ve RVT tedavi grubunda $101,3 \pm 1,6$ olarak saptandı. (Şekil 111) Kontrol grubuyla, Sham grubu karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık gözlenmedi ($p=0,9$). Kontrol grubuyla TRF YD, TRF DD ve RVT tedavi gruplarını karşılaştırdığımızda GPx-Testis değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edildi ($p=0,0002$, $p=0,009$, $p=0,005$). RVT tedavi grubuyla TRF YD ve TRF DD grupları arasında GPx-Testis düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı azalma saptandı ($p=0,006$, $p=0,001$). (One Way ANOVA, LSD).



Şekil 110: Testis dokusuna ait GPx değerleri.

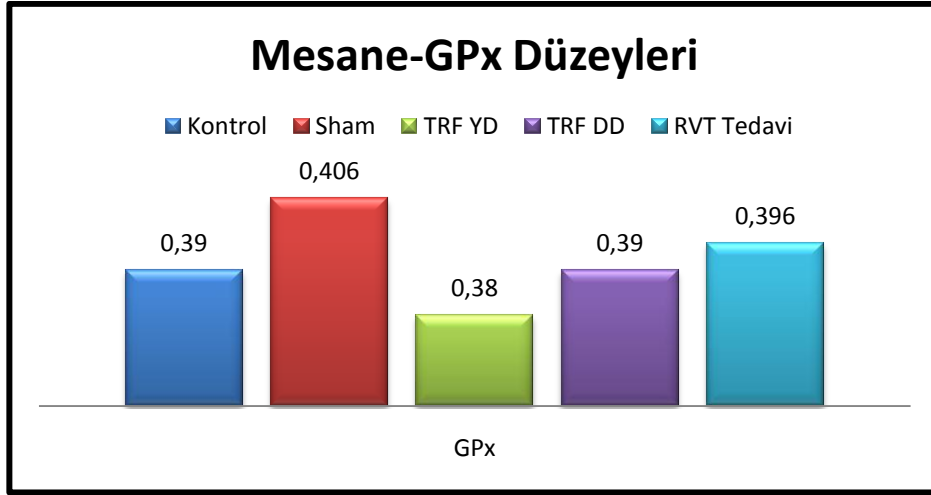
GPx-Üreter düzeyleri ortalamaları; Kontrol grubunda $36,5 \pm 2,5$ U/mg protein, Sham grubunda $36,3 \pm 1,5$ U/mg protein, TRF YD grubunda $33,9 \pm 1,1$ U/mg protein, TRF DD grubunda $34,6 \pm 1,0$ U/mg protein ve RVT tedavi grubunda $35,8 \pm 1,2$ U/mg protein olarak saptandı (Şekil 112). Kontrol grubuyla, Sham, TRF YD, TRF DD ve RVT tedavi grupları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir fark gözlenmedi ($p=0,6$, $p=0,9$, $p=1$). (One Way ANOVA, LSD).



Şekil 111: Üreter dokusuna ait GPx değerleri.

GPx-Mesane düzeyleri ortalamaları; Kontrol grubunda $0,39 \pm 0,032$ U/mg protein, Sham grubunda $0,403 \pm 0,056$ U/mg protein, TRF YD grubunda $0,38 \pm 0,017$ U/mg proteini TRF DD grubunda $0,39 \pm 0,022$ U/mg protein ve RVT tedavi grubunda $0,396 \pm 0,025$ U/mg protein olarak saptandı. (Şekil 113) Kontrol grubuyla, Sham, TRF YD, TRF DD, RVT tedavi grupları

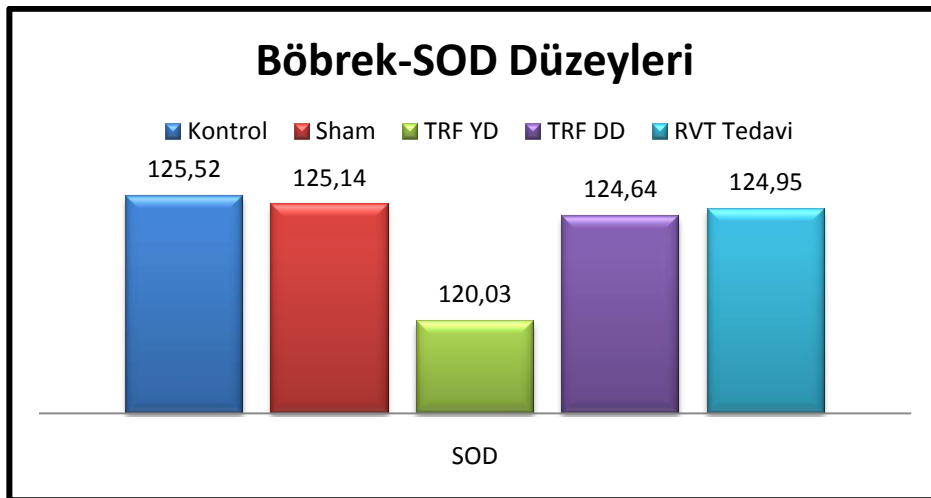
karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık gözlenmedi ($p=0,9$, $p=2$, $p=1$). (One Way ANOVA, LSD).



Şekil 112: Mesane dokusuna ait GPx sonuçları.

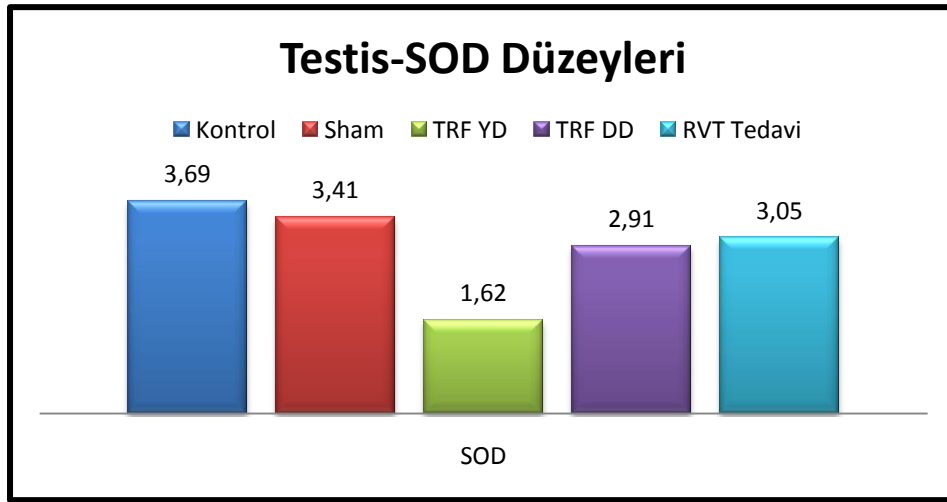
5.5.4.2. SOD Analiz sonuçları

SOD-Böbrek düzeyleri ortalamaları; Kontrol grubunda $125,52 \pm 1,3$ U/mg protein, Sham grubunda $125,14 \pm 1,2$ U/mg protein, TRF YD grubunda $120,03 \pm 1,02$ U/mg protein, TRF DD grubunda $124,64 \pm 0,9$ U/mg protein ve RVT tedavi grubunda $124,64 \pm 0,9$ U/mg protein olarak saptandı (Şekil 114). Kontrol grubuyla, Sham TRF DD ve RVT tedavi grupları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık gözlenmedi ($p=0,6$, $p=0,8$, $p=0,8$). Kontrol ve TRF YD gruplarını karşılaştırdığımızda TRF YD grubunun SOD-Böbrek değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu. ($p=0,002$). (One Way ANOVA, LSD).



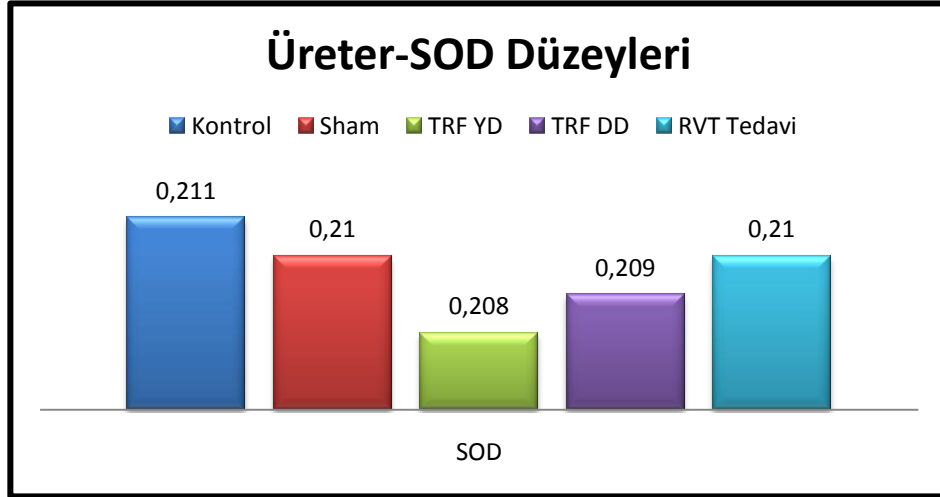
Şekil 113: Böbrek SOD değerleri.

SOD-Testis düzeyleri ortalamaları; Kontrol grubunda $3,69 \pm 1,3$ U/mg protein, Sham grubunda $3,41 \pm 1,2$ U/mg protein, TRF YD grubunda $1,62 \pm 1,3$ U/mg protein, TRF DD grubunda $2,91 \pm 0,7$ U/mg protein ve RVT tedavi grubunda $3,05 \pm 1,8$ U/mg protein olarak saptandı (Şekil 115). Kontrol grubuyla, Sham grubu karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık gözlenmedi ($p=0,6$). Kontrol grubuyla TRF YD, TRF DD ve RVT tedavi gruplarını karşılaştırdığımızda SOD-Testis değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edildi ($p=0,0002$, $p=0,0001$, $p=0,06$). (One Way ANOVA, LSD).



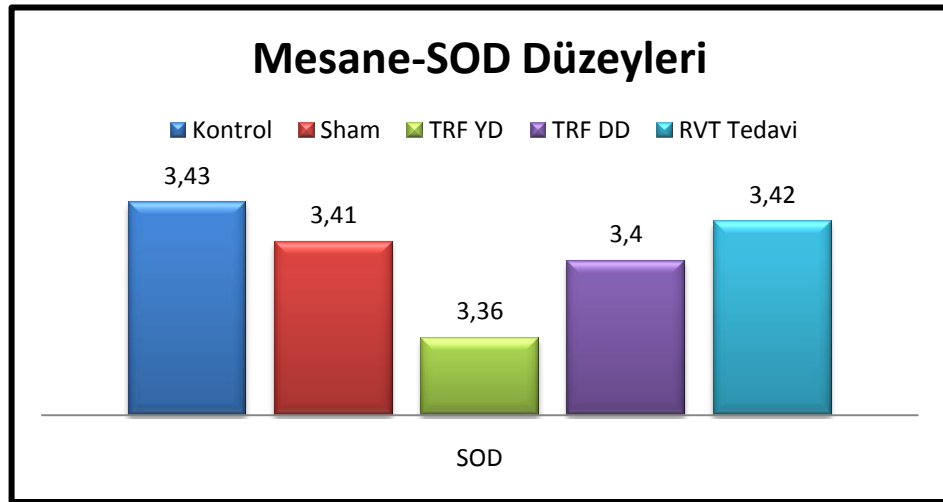
Şekil 114: Testis SOD değerleri.

SOD-Üreter düzeyleri ortalamaları; Kontrol grubunda $0,211 \pm 0,002$ U/mg protein, Sham grubunda $0,210 \pm 0,02$ U/mg protein, TRF YD grubunda $0,208 \pm 0,002$ U/mg protein, TRF DD grubunda $0,209 \pm 0,001$ U/mg protein ve RVT tedavi grubunda $0,21 \pm 0,001$ U/mg protein olarak saptandı. (Şekil 116) Kontrol grubuyla, Sham, TRF YD, TRF DD ve RVT tedavi grupları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık gözlenmedi ($p=0,9$, $p=0,8$, $p=0,9$, $p=0,9$). (One Way ANOVA, LSD).



Şekil 115: Üreter SOD değerleri.

SOD-Mesane düzeyleri ortalamaları; Kontrol grubunda $3,43 \pm 0,0034$ U/mg protein, Sham grubunda $3,41 \pm 0,0038$ U/mg protein, TRF YD grubunda $3,36 \pm 0,0021$ U/mg proteini TRF DD grubunda $3,4 \pm 0,0029$ U/mg protein ve RVT tedavi grubunda $3,42 \pm 0,003$ U/mg protein olarak saptandı. (Şekil 117) Kontrol grubuyla, Sham, TRF YD, TRF DD ve RVT tedavi grupları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık gözlenmedi ($p=1$, $p=0,8$, $p=0,7$, $p=1$). (One Way ANOVA, LSD).

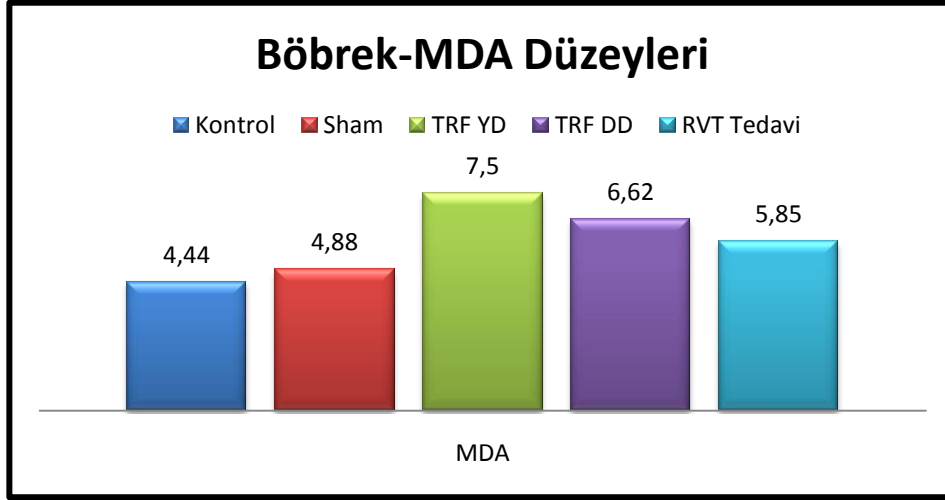


Şekil 116: Mesane SOD değerleri.

5.5.4.3. MDA Analiz Sonuçları

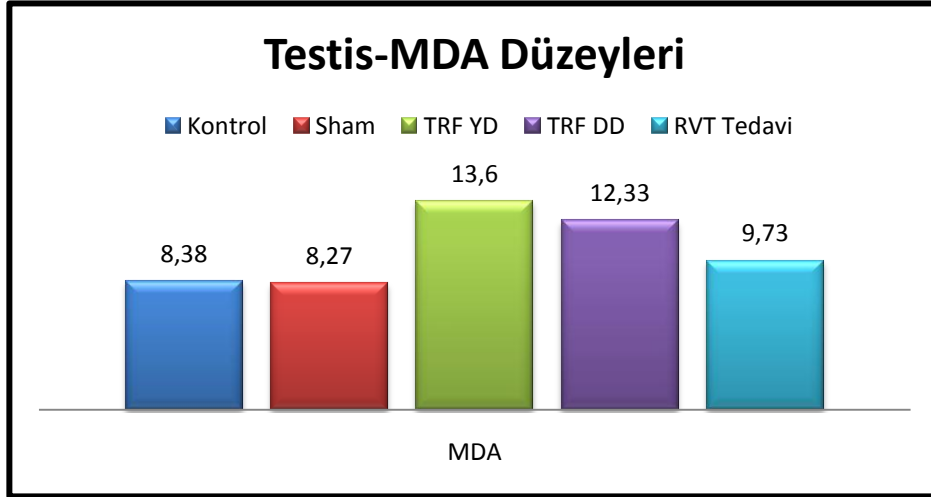
Böbrek-MDA düzeyleri ortalamaları; Kontrol grubunda $4,44 \pm 0,14$ $\mu\text{Mol/dl}$, Sham grubunda $4,88 \pm 0,16$ $\mu\text{Mol/dl}$, TRF YD grubunda $7,5 \pm 0,12$ $\mu\text{Mol/dl}$, TRF DD grubunda $6,62 \pm 0,28$ $\mu\text{Mol/dl}$ ve RVT tedavi grubunda $5,85 \pm 0,19$ $\mu\text{Mol/dl}$ olarak saptandı (Şekil 118).

Kontrol grubuyla, Sham grubu karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık gözlenmezken ($p=1,0$). Kontrol grubuyla TRF YD, TRF DD ve RVT tedavi gruplarını karşılaştırdığımızda böbrek-MDA değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi ($p=0,0001$, $p=0,0001$, $p=0,08$). RVT tedavi grubu ile TRF YD ve TRF DD grupları arasında MDA düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı dercede yüksek MDA değeri barındırdığı gözlemlendi. ($p= 0,0002$, $p=0,0001$). (One Way ANOVA, LSD).



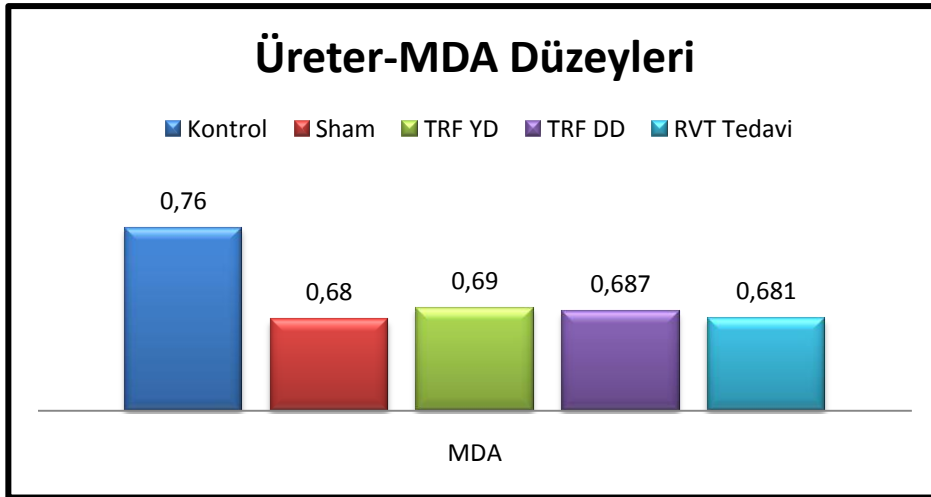
Şekil 117: Böbrek-MDA Değerleri.

Testis-MDA düzeyleri ortalamaları; Kontrol grubunda $8,38\pm 0,07$ $\mu\text{Mol/dl}$, Sham grubunda $8,27\pm 0,02$ $\mu\text{Mol/dl}$, TRF YD grubunda $13,6\pm 0,25$ $\mu\text{Mol/dl}$, TRF DD grubunda $12,33\pm 0,31$ $\mu\text{Mol/dl}$ ve RVT tedavi grubunda $9,73\pm 0,58$ $\mu\text{Mol/dl}$ olarak saptandı (Şekil 119). Kontrol grubuyla, Sham grubu karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık gözlenmezken ($p=0,8$) Kontrol grubuyla TRF YD, TRF DD ve RVT tedavi gruplarını karşılaştırdığımızda Testis-MDA değerleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi ($p=0,0004$, $p=0,0001$, $p=0,06$). RVT tedavi grubu ile TRF YD ve TRF DD grupları arasında MDA düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı dercede yüksek MDA değeri barındırdığı gözlemlendi. ($p= 0,0002$, $p=0,0002$). (One Way ANOVA, LSD).



Şekil 118: Testis MDA düzeylerine ait tablo.

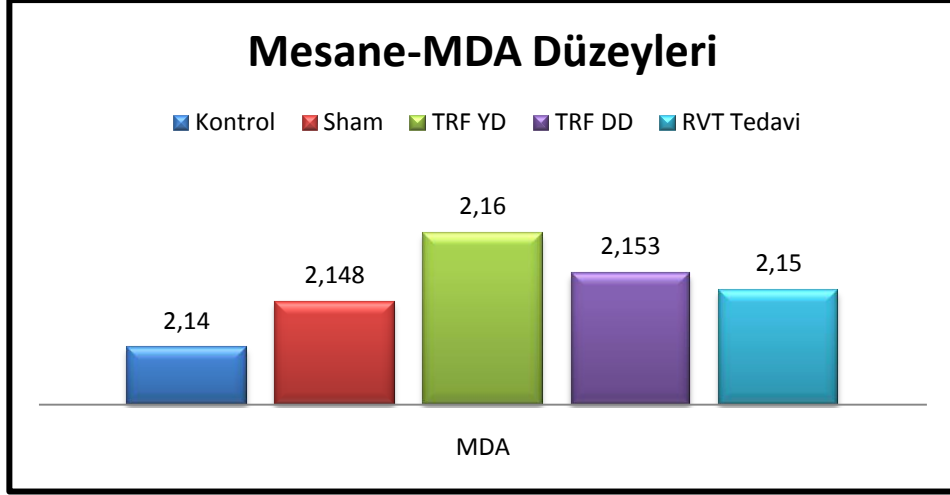
Üreter-MDA düzeyleri ortalamaları; Kontrol grubunda $0,76 \pm 0,0081$ $\mu\text{Mol/dl}$, Sham grubunda $0,68 \pm 0,0081$ $\mu\text{Mol/dl}$, TRF YD grubunda $0,69 \pm 0,0081$ $\mu\text{Mol/dl}$, TRF DD grubunda $0,687 \pm 0,0068$ $\mu\text{Mol/dl}$ ve RVT tedavi ve grubunda $0,681 \pm 0,0052$ $\mu\text{Mol/dl}$ olarak saptandı (Şekil 120). Kontrol grubuyla, Sham, TRF YD, TRF DD ve RVT tedavi grupları karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık gözlenmedi ($p=0,3$, $p=0,1$, $p=0,2$, $p=0,1$). One Way ANOVA, LSD.



Şekil 119: Üreter-MDA Değerleri.

Mesane-MDA düzeyleri ortalamaları; Kontrol grubunda $2,14 \pm 0,4$ $\mu\text{Mol/dl}$, Sham grubunda $2,148 \pm 0,6$ $\mu\text{Mol/dl}$, TRF YD grubunda $2,16 \pm 0,2$ $\mu\text{Mol/dl}$, TRF DD grubunda $2,153 \pm 0,8$ $\mu\text{Mol/dl}$ ve RVT tedavi grubunda $2,15 \pm 0,5$ $\mu\text{Mol/dl}$ olarak saptandı (Şekil 121). Kontrol grubuyla, Sham, TRF YD, TRF DD ve RVT tedavi grupları karşılaştırıldığında,

istatistiksel olarak herhangi bir anlamlılık gözlenmedi ($p=0,2$, $p=0,1$, $p=0,2$, $p=0,2$). One Way ANOVA, LSD.



Şekil 120: Mesane-MDA Değerleri.

6.TARTIŞMA

Çoğalan dünya nüfusuyla orantılı olarak, besinlere duyulan gereksinim artmakta ve bununla ters orantılı olarak tarım alanları azalmaktadır. Bu endüstride çalışanlar, talebi karşılamak ve verimi artırmak için yeterince araştırma ve deney yapmadan kimyasal kullanımına yönelmişlerdir. Herbisitlerin üretim ve kullanımın her aşamasında bilinçsiz, kontrolsüz ve gereksiz kullanımı insan sağlığına ve ekolojik dengeye ciddi zararlar vermektedir. Herbisitler, hedef organizmaları yok ettiği gibi hedef dışı canlılara da zarar verebilmektedir. Bu maddeler hedef dışı organizmalara çeşitli yollardan etki etmekte ve organizmada sinir, endokrin, immün, karaciğer, üreme, kas, kalp, kan, boşaltım gibi sistemleri etkileyebilmektedir (78; 7).

Tarımın M.Ö. 8000 yılında başladığı kabul edilmektedir. İlk pestisit uygulamasının ise Sümerler tarafından M.Ö. 2500 yılında böcekleri ve özellikle keneleri kontrol altına almak için sülfür bileşiklerinin kullanılmaya başlanması ile kayıt altına alındığı bilinmektedir (48).

Yapılan çalışmalarla pestisitlerin toksik içerikleri nedeniyle özellikle mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (55).

Brovwer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada pestisitlerin kullanıldığı tarım alanlarında çalışan insanlar üzerindeki toksik etkileri araştırılmış, renal ve hepatik toksisiteyi arttırdığı saptanmıştır (79). Pestisitlere maruz kalan deney hayvanlarında vücut ağırlığında azalma gözlenmiştir. Shakil A. Saghir ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada 14 gün boyunca TRF'ye maruz kalan ratların vücut ağırlıkları ile kontrol grubuna ait ratların vücut ağırlıklarını karşılaştırılmış ve deney grubunun vücut ağırlıklarında kontrol grubuna göre %14 azalma görülmüştür (80). Yapmış olduğumuz çalışmada TRF'ye maruz kalmış olan TRF YD ve TRF DD gruplarının vücut ağırlıkları, kontrol, sham ve RVT tedavi gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalma göstermişlerdir.

Vesna Poleksic ve arkadaşları, TRF' nin sazan balıkları üzerindeki akut ve subakut toksisitesini laboratuvar ortamında incelemişlerdir. Akut TRF uygulaması 96 saat boyunca 0,045mg/L TRF olarak, subakut çalışmada ise 14 gün boyunca üç farklı dozda (0,005–0,01–0,02 mg/L) TRF uygulanarak yapılmıştır. Biyokimyasal parametrelerle solungaç, karaciğer ve böbrek yapılarını incelemişlerdir. Bu çalışmanın sonuçlarında, kan serumunda enzim

aktivitelerinin arttığını gözlemişlerdir. Histolojik olarak 0,005 mg/L uygulanan hayvanlarda solungaçlar normal yapı gösterirken; 0,01 ve 0,02 mg/L doza maruz kalan hayvanlarda epitelyal hiperplazi, subepitelyal boşlukta ödem ve solunum epitelinde kıvrılma olduğunu rapor etmişlerdir. Serum analizinde ALP düzeylerinin yükseldiğini ve tübüler hücrelerin dejenere olduğunu gözlemişlerdir (81). Bizde yapmış olduğumuz çalışmada Vesna ile paralel olarak TRF'ye maruz kalan grupların kan serumunda enzim aktivitelerinin arttığını ve histolojik olarak da tübüler hücrelerin dejenere olduğunu gözlemledik.

Ravenzwaay B. ve arkadaşları, 4-chloro-2-methylphenoxyacetik asit herbisitinin sıçanlar üzerine toksik etkisini araştırmışlar ve vücut ağırlıklarının düştüğünü, serum kreatinin seviyesinin düştüğünü ve tübüler hücrelerde orta şiddette dejenerasyon olduğunu tespit etmişlerdir (82). Bizde çalışmamızda Revenzwaay ile paralel olarak vücut ağırlığının düştüğünü, biyokimyasal olarak serum kreatinin seviyesinin düştüğünü ve histolojik olarak da tübüler hücrelerde doza bağlı olarak şiddetli ve orta derecelerde dejenerasyon olduğunu saptadık.

Uyanıkgil Y. ve arkadaşları; yapmış oldukları çalışmada sıçanlara 28 gün boyunca 2,4-dichlorophenoxyacetic asit herbisitinin böbrek korteksine etkilerini histopatolojik olarak incelemişler ve herbisite maruz kalan sıçanların vücut ağırlıklarında düşüş, böbrek tübüllerinde nekroz, tübüler dejenerasyon, proksimal tübüllerde vakuolizasyon gözlemlemişlerdir. Ayrıca yapmış oldukları çalışmada immünohistokimyasal olarak da fibronektin miktarında azalma tespit etmişlerdir (83). Bizde çalışmamızda Uyanıkgil ile paralel olarak; TRF YD ve TRF DD gruplarında vücut ağırlığının düştüğünü ve histolojik olarak da tübüllerde hücresel hasarlanma bulguları ve nekroza giden değişiklikler, dejenerasyon ve vakuolizasyon tespit ettik.

Ozaki K. ve arkadaşları, sıçan, fare ve hamsterlarla yapmış oldukları çalışmada 2,4-dichlorophenoxyacetic asit herbisitinin böbrek üzerine etkilerini araştırmışlardır. Renal tübüllerde hiperplazi ve yüksek nükleer yoğunluğa sahip bazofilik hücreler tespit etmişlerdir (84). Bizde çalışmamızda Ozaki ile paralel olarak herbisitlerin böbrek dokusu üzerine olumsuz etkilerini tespit ettik.

Shariati M. ve arkadaşları; sıçanlarda Trifluralin herbisitinin LH, FSH ve testosteron hormonlarına etkisini ve testisteki histolojik değişiklikleri incelemişler. Sonuç olarak

Trifluralin'e maruz kalan sıçanlarda serum LH, FSH ve testesteron seviyelerinde ve testisteki germinal ve somatik hücre sayılarında önemli ölçüde azalma tespit etmişlerdir (6). Biz de yapmış olduğumuz çalışmada testis dokusunda; TRF YD grubunda seminifer tübüllerde yaygın nekroz, spermatogenik seriye ait hücrelerde azalma ve diziliminde bozukluk, tübül lümeninde spermium azlığı ve yokluğu, intertisyumda bağ doku artışı saptandı. TRF DD grubunun testis incelenmesinde seminifer tübüllerde yaygın nekroz dışındaki bulgular TRF YD grubuyla benzer idi. Böbrek dokusunda; TRF YD ve TRF DD gruplarında peritübüler alanda hemoraji ve mononükleer hücre infiltrasyonu; proksimal tübül hücrelerinde ise reaktif nükleer atipi gözledik. Korteksteki tübüler hücrelerde az sayıda eozinofilik yapı ve vakuolizasyona rastladık. Bununla birlikte korteks ve medulladaki tübüllerde kast yapıları ve debritleler görüldü. Ayrıca medullar tübüllerde ve damarlarda dilatasyon gözlemledik. Proksimal tübül hücrelerinde fırça kenar kayıpları, inklüzyonlar, nekroz ve peritübüler alanda nadir kollajen artışı gözledik.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda pestisitlerin oluşturdukları toksik etkilerin; üretilen serbest radikaller tarafından meydana gelen oksidatif strese, memeli ve diğer organizmaların çeşitli dokularında artan lipid peroksidasyonuna bağlı olduğuna dikkat çekilmektedir. Serbest radikaller yüksek reaktivitelerinden dolayı membran çoklu doymamış yağ asitleri ile etkileşerek peroksidasyonu başlatmaktadır (85).

Samai M. ve arkadaşları, hücre kültüründe yapmış oldukları çalışmada paraquat herbisitinin reaktif oksijen türlerini arttırdığı ve bunun etkisi olarak da renal hücrelerde şiddetli hasar oluşturduğunu tespit etmişlerdir (86). Bizde çalışmamızda Samai ile paralel olarak TRF YD ve TRF DD gruplarında renal hücrelerde şiddetli ve orta derecede hasar tespit ettik.

Sunny O. Abarikwu ve arkadaşları, 30 adet Wistar suşu sıçana 7–16 gün boyunca atrazine herbisitinin, testis dokusundaki oksidatif stres ve sperm kalitesine etkisini araştırmışlar ve testis dokusunda MDA düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı artma, SOD ve GPx seviyelerinde anlamlı bir azalma gözlemişlerdir. Bu çalışma sonunda elde ettikleri verilere göre; Atrazin herbisitinin oksidatif stresi arttırarak testis dokusunda hasara yol açtığını belirtmişlerdir (87). Bizde çalışmamızda Sunny ile paralel olarak herbisit TRF YD

ve TRF DD gruplarında böbrek ve testis dokusunda MDA düzeylerinde artış ve GPX ile SOD değerlerinde düşüşe neden olduğunu gözlemledik.

Raymond Burk ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada paraquat ve diquat herbisiti uygulanan sıçanlarda karaciğer ve böbrekte nekroz gözlemişler, biyokimyasal olarak GPx seviyesinin düştüğünü tespit etmişlerdir (88). Bizde çalışmamızda yapmış olduğumuz lipid peroksidasyonu değerlendirilmesinde TRF YD ve TRF DD verilen gruplarda MDA düzeylerinde kontrol, sham ve RVT tedavi gruplarına göre anlamlı bir artış olduğunu gördük. Bu çalışmada TRF YD ve TRF DD uygulanmış böbrek dokusundaki SOD değerlerinde bir değişme gözlemlenmezken; GPx değerlerinde azalma gözlemlendi.

Sinha S. ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, dinitroanniline türevi olan Fluchoraline herbisitinin sitotoksik etkilerini memeli hücrelerinde, kültür ortamında incelemişlerdir. Bu amaçla fare uterusundan izole ettikleri embriyonik fibroblast hücreleri üzerine 8 ve 12 saat boyunca Fluchloralin uygulanmıştır. Metafaz evresindeki hücrelerde ve kromozomal hasara uğramış hücrelerin sayısında anlamlı artış gözlemişlerdir. Uygulanma süresi 72 saate çıkarıldığında hücrelerin canlılık oranı % 50 azalmıştır. Sonuç olarak araştırmacılar Fluchoralin'in apoptozu tetiklediği ve bunu da DNA sentezine etki ederek gerçekleştirdiğini belirtmişlerdir. Agoroze jel elektroforez yöntemini kullanarak fluchoraline maruz kalan hücrelerin apoptoza gittiğini gözlemlemişlerdir (89).

Anne R. Greenlee ve arkadaşlarının yapmış olduğu başka bir çalışmada ise 21–26 günlük dişi fareler, follikül stimüle hormonunun i.p. enjeksiyonu ile süperovule edilmiş ve 47 saat aynı tür erkek farelerle birlikte barındırılmıştır. HCG enjeksiyonundan 18 saat sonra embriyolar fare oviduktundan toplanmış ve uygun besi ortamı içerisine alınmıştır. Bu embriyoları 96 saat boyunca dinitroanniline grubuna ait Pendimethalin herbisitine maruz bırakmışlar ve deney sonunda elde ettikleri blastositlere TUNEL yöntemi uygulayarak apoptotik hücreleri saymışlardır. Sonuçta kontrol grubuyla karşılaştırıldığında Pendimethaline maruz kalan hücrelerdeki apoptotik hücre sayısı anlamlı düzeyde artış göstermiştir (90). Bizde çalışmamızda TUNEL değerlendirmelerinde; Sinha ve Anne ye paralel olarak TRF YD ve TRF DD gruplarında TUNEL pozitif boyanan hücrelerin anlamlı derecede arttığını gözlemledik.

Yapılan in vivo ve in vitro çalışmalar resveratrolün lipid peroksidasyonunu önlediğini göstermektedir. Kasdallah Grissa ve arkadaşları yaptıkları çalışmada resveratrolün lipid peroksidasyonun önlediğini, MDA değerlerini düşürdüğünü göstermiştir (91). Şener ve arkadaşları iskemik böbrek modelinde resveratrolün lipid peroksidasyonunu düşürdüğünü göstermiştir (92). Uğuralp ve arkadaşları testiküler iskemi modelinde resveratrol ile tedavi edilen grupların MDA seviyelerinin düştüğünü göstermiştir (93). Çalışmamızda RVT uygulaması, testis ve böbrek dokusunda trifluralinin neden olduğu MDA artışını önlemiştir. Bizim çalışmamızda olduğu gibi testis dokusunda trifluralinin sebep olduğu lipid peroksidasyonuna resveratrolün etkisini gösteren bir çalışma literatürde bulunmamaktadır.

Antioksidan ajanlar, serbest radikal oluşumunu azaltarak antiapoptotik etki gösterebilmektedir. Son dönemlerde, antioksidan özelliğe sahip doğal maddelerin ve besinlerin, serbest radikallerin neden olduğu hücre hasarı üzerine olan etkileri birçok araştırmacı tarafından çalışılmaktadır. Bu doğal bileşiklerden biri de resveratroldür. En çok bilinen antioksidanlardan E vitamini ve C vitamininden güçlü olan RVT, hidroksil ve süperoksit radikallerini süpürür, hidroksil radikallerinin neden olduğu lipid peroksidasyonunu inhibe eder, protein oksidasyonunu engeller (94). Serum antioksidan kapasitesini artırır. Resveratrolün ayrıca; antikanser, östrojenik, damar gevşetici, antiinflamatuvar etkisi olduğu tespit edilmiştir (61). Çeşitli deneysel modellerde resveratrolün antiapoptotik etkisi gösterilmiştir (95; 96). Bizde çalışmamızda TUNEL pozitif boyanan hücrelerin RVT tedavi grubunda TRF YD ve TRF DD gruplarına oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığını saptadık.

Sang Won Hong ve ark, yapmış oldukları çalışmada dimetilnitrozaminle oluşturulmuş karaciger hasarına karşı resveratrolün koruyucu etkisini göstermişlerdir (97). Yapılan biyokimyasal incelemeler sonucunda, dimetilnitrozamin ile yükselmiş olan MDA düzeylerinin resveratrol tedavisinin ardından düştüğünü göstermiştir. Ayrıca dimetilnitrozamin uygulamasının ardından düşen SOD ve Gpx düzeylerinin resveratrol ile tedavinin ardından yükselerek kontrol grubuna yakın değerlere geldiğini göstermişlerdir. Bizim çalışmamızın bulguları hong ve arkadaşları ile paralellik göstermiştir.

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Planlanan bu çalışmada TRF uygulamasının böbrek ve testis dokusuna ağır toksik etkileri olduğu ve oksidatif stresi arttırarak, histolojik hasar oluşturduğu ve biyokimyasal parametrelerde değişikliklere neden olduğu, üreter ve mesane dokularında ise beklenen hasarın oluşmadığı gözlemlendi.

Trifluralinin, yarılanma süresi ve kalıntı miktarının etkileri göz önünde bulundurulduğunda daha kontrollü ve bilinçli kullanılması gerekmektedir. Ekolojik denge ve insan sağlığı için gerekli denetim ve yaptırımların uygulanması da büyük önem taşımaktadır.

İlgili literatür incelendiğinde trifluralin'in ürogenital sistem üzerine olan histolojik etkileri ilk olarak bizim çalışmamızda ışık mikroskopik olarak Hematoksilen-Eozin, Masson Trikrom ve Peryodik Asit Schiff boyamaları yapılarak gözlemlendi. İmmünohistokimyasal olarak TUNEL boyaması yapıldı. Biyokimyasal olarak Melondialdehit, Superoksit Dismutaz ve Glutasyon Peroksidaz düzeyinde değerlendirildi. Ve ilk olarak deneysel modelimizde trifluralinin ürogenital sistem üzerine oluşturduğu olumsuz etkileri gösterildi.

Bir antioksidan olan resveratrolün Trifluralin kaynaklı oluşan hasarı azalttığı yine ilk olarak bizim çalışmamızda gösterildi.

Çalışmamızın gelecekte herbisit etkileri ve beklenen hasarların önlenmesi konusunda yapıcı etkileri olacağı kanısındayız.

8. KAYNAKLAR

1. Nehez M, Paldy A, Selypes A, Berencesi G. Experiments on mutagenic effect of two pesticides, DNOC and trifluraline. *Mutat. Res* 1980;74: 202-210.
2. Ebert, K, Leist, H ve Ehling, G. Toxicology and hazard potential of trifluralin. *Fd Chem Toxic* 1992;30: 1031-1044.
3. http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/trifluralin.pdf. 12/072010
4. McEwan, F ve Stephenson, G. The use and significance of pesticides in the environment. 1. Edition. New York : Wiley, 1979. 191-195.
5. Jacobson, AR ve Gerig, JY. Metabolism of pofluralin in rats.. *Chem Res Toxicol*, 1988;1: 304-311.
6. Shariati M, Noorafshan A, Muktari M, Askari HR. The effects of trifluralin on LH, FSH and Testosterone Hormone Levels and Testis Histological Changes in Adult Rats.. *IJFS* 2008: 23-28.
7. TİSİT (Tarım İlaçları Sanayici, İthalatçı, Temsilciler Derneği). Bitki Koruma Ürünleri. Ankara : T.C. Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Koruma ve Kontrol Genel Müdürlüğü, 2002. 38.
8. Gökmen, G ve İçten, N. Sistematik Anatomi. 1. Baskı. İzmir : İzmir Güven Kitabevi, 2003. 531-546.
9. Anadolu Üniversitesi Açık Öğretim Fakültesi. Ürogenital Sistem. Anatomi. Eskişehir : Anadolu Üniversitesi Açık Öğretim Fakültesi,, 2006: 1-13.
10. Odar, VI. Anatomi Ders Kitabı. 11. Baskı. İstanbul : İstanbul Tıp Fakültesi Mecmuası, 1979: 229-264.
11. Yıldırım, M. İnsan Anatomisi. 6. Baskı. İstanbul : Nobel Tıp Kitabevi, 2003. s. 210-214.
12. http://academic.kellogg.edu/herbrandsonc/bio201_mckinley/f27-4_blood_supply_to_t_c.jpg. 12 10 2009.
13. Dere, F. Anatomi Ders Kitabı. Adana : Okullar Pazarı Kitabevi, 1989. s. 655-668. Cilt 2. Cilt.
14. RS., Snell. Uygulamalı Anatomi. Ankara : Türkiye Klinikleri Yayın evi, 1993. s. 135-142.
15. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. Ankara : İzmir Güven Kitap evi, 2000. s. 329-337.
16. Akgün, N. Boşaltım, Dolaşım, Sindirim Fizyolojisi I. 9. Baskı. İzmir : Barış Kitabevi, 1979. s. 34-127.

17. Sivrioğlu, K. Bladder anatomy and physiology of micturition. Turk J Phys Med Rehab 2005: A16-A18.
18. http://www.mhprofessional.com/Medical/harrisons/pdf/ch279_Tabulointerstitial_Diseases_of_the_Kidney.pdf. 23.04.2010
19. Anafarta, K ve Bedük, Y. Temel Üroloji-Ürogenital Sistemin Fizyolojisi. 1. Baskı. İstanbul : Güneş Tıp Kitabevleri, 1998: 36-69.
20. <http://www.aof.anadolu.edu.tr/kitap/EHSM/1211/unite08.pdf>. 25.05.2010
21. Walsh R, Vaughan W. Campbell's-Walsh Urology. New York : Campbell, 2007: 110-525.
22. Lang, RJ ve Zhang, Y. The effect of K channel blockers on the spontaneous electrical and contractile activity in the proximal renal pelvis of the guinea pig. J Urol 1996: 332-336.
23. Constantinou, CE. Renal pelvic pacemaker control of ureteral peristaltic rate. Am J Physiol 1974: 1413-1419.
24. Cabelin, MA, Te, AE ve Kaplan, SA. Urogenital physiology. [yazan] EG Gonzalez, et al. Downey&Darling's Physiological Basis of Rehabilitation Medicine. 3. Edition. Woburn : Butterworth-Heinemann, 2001: 191-208.
25. Guyton AC, Hall JE. Tıbbi Fizyoloji. Ankara : Nobel Kitap evi, 2005: 200-456.
26. Gartner, LP ve Hiatt, JL. Color Atlas of Histology. 2. Edition. China : WB Saunders Company, 2001: 435-458.
27. Craggs, MD ve Vaizey, CJ. Neurophysiology of the bladder and bowel. Woburn, MA : Butterworth-Heinemann, 1999: 19-32.
28. Linsenmeyer, TA. Neurogenic bladder following spinal cord injury. Philadelphia : Lippincott Williams&Wilkins, 2002: 181-206.
29. Eroschenko, VP. Di Fiore's Atlas of Histology With Functional Correlations. 9. Edition. Ankara : Palme Yayıncılık, 2001: 251-265.
30. Paker, Ş. Histoloji. Bursa : Uludağ Üniversitesi Basımevi, 1990: 448-467.
31. <http://kcampbell.bio.umb.edu/lectureI.htm> 05.01.2010
32. <http://www.saglik.gov.tr/extras/aileplanreh/bolum7.pdf>. 05 04 2010.
33. Kierszenbaum, AL. . Histoloji ve Hücre Biyolojisi. 1. Basım. Ankara : Palme Yayıncılık, 2006: 365-390.
34. Şen, S. Patoloji Notları. İzmir : Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, 2006: 1-64.
35. Jungueira, LC ve Carneiro, J. Basic Histology. New York 2003: 359-375.

36. Ross HM, Pawlina W. Histology A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2001: 647-789.
37. http://academic.kellogg.edu/herbrandsonc/bio201_mckinley/f27-6a-b_renal_corpuscl_c.jpg. 12.12.2009.
38. A., Erkoçak. Genel Histoloji. izmir : 1984: 138-160.
39. Young B, Heath JW. Wheather's Functional Histology A Text and Colour Atlas. New York : Williams & Wilkins, 2000: 286-432.
40. http://www.iupucanatomy.com/chapter_26.html. 05.10.2009
41. <http://flipper.diff.org/app/items/info/1992>. 12.09.2009.
42. <http://courses.washington.edu/conj/bess/water/water.htm>. 23.12.2009.
43. http://en.wikipedia.org/wiki/File:Renal_corpuscle.svg. 06.10.2009.
44. http://academic.kellogg.edu/herbrandsonc/bio201_mckinley/f27-8_ureters_c.jpg. 29.09.2009.
45. http://academic.kellogg.edu/herbrandsonc/bio201_mckinley/f27-9a_urinary_bladder_c.jpg. 29.09.2009.
46. <http://anatomytopics.wordpress.com/> 29.09.2009.
47. http://www.harunyahya.org/bilim/hy_insanin_yar_mucizesi/insaninyaratilisi3.html. 12.09.2010.
48. Toros S, Maden S, Sözeri S,. Tarımsal Savaşım Yöntem ve İlaçları. Ankara : Ankara Üniv. Basım evi, 2001: 36-157.
49. A., Güncan. yabancı ot ve mücadelesi ders notları. van : 100. Yıl Üniv. zıraat Fak. yayınları., 1985: 1-25.
50. E., Ahrens. Toprak Biyolojisi Ders notları. izmir : Ege üniversitesi yayınları, 1977: 1-38.
51. <http://pmep.cce.cornell.edu/profiles/extoxnet/pyrethrins-ziram/trifluralin-ext.html>. 05.04.2010.
52. Köksaoy H, Uraz G. Türkiye III. Bitki Koruma Kongresi. 2009: 302.
53. http://www.zmo.org.tr/resimler/ekler/67c2ae04b169f07_ek.pdf. 16.05.2010.
54. Hess D, Bayer D. The effect of trifluraline on the ultrastructure of dividing cell of the root meristem of cotton. J. Cell Sci 1974: 429-441.

55. Casida JE. The primer mechanisms of pesticide action.. *Pesticide Toxicology* 2009: 609-619.
56. Krahenbuhl S, Talos C, Lauterburg BH, Reichen J. Reduced antioxidative capacity in liver mitochondria from bile duct ligated rats. *Hepatology* 1995;22: 607-12.
57. Tahan V, Ozaras R, Canbakan B, Uzun H, ve ark. Melatonin reduces dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in rats. *J Pineal Res* 2004;37: 78-84.
58. Kawada N, Seki S, Inoue M, Kuroki T. Effect of antioxidants, resveratrol, quercetin, and N-acetylcysteine, on the functions of cultured rat hepatic stellate cells and Kupffer cells. *Hepatology* 1998;27: 1265-1274.
59. Langcake P, Pryce RJ. The production of resveratrol and the viniferins by grapevines in response to ultraviolet irradiation. *Phytochemistry* 1976;16: 1193–1196.
60. Gerogiannaki-Christopoulou M, Athanasopoulos P, Kyriakidis N. Trans-Resveratrol in wines from the major Greek red and white grape varieties. *Food Control* 2006;17(9): 700-706.
61. Signorelli P, Ghidoni R. Resveratrol as an anticancer nutrient. Molecular basis, open questions and promises. *J Nutr Biochem* 2005: 449-466.
62. Fremont L. Biological effects of resveratrol. *Life Sci* 2000: 663-673.
63. Soleas GJ, Diamandis EP, Goldberg DM. Resveratrol: A molecule whose time has come And gone. *Clin Biochem* 1997: 91-113.
64. Bowers JL, Tyulmenkov VV, Jernigan SC, Klinge CM. Resveratrol acts as a mixed agonist/antagonist for estrogen receptors alpha and beta. *Endocrinology* 2000: 3657-3667.
65. Das DK, Maulik N. Resveratrol in cardioprotection: A therapeutic promise of alternative medicine. *Mol Interv* 2006;6: 36-47.
66. Jäger U, Nguyen-Duong H. Relaxant effect of trans-resveratrol on isolated porcine coronary arteries. *Arzneimittelforschung* 1999;49(3): 207-211.
67. Falchetti R, Fuggetta MP, Lanzilli G. Effects of resveratrol on human immune cell function. *Life Sci* 2001;70: 81–96.
68. Gao X, Xu YX, Janakiraman N. Immunomodulatory activity of resveratrol: Suppression of lymphocyte proliferation, development of cellmediated cytotoxicity and cytokine production. *Biochem Pharmacol* 2001;2: 1299–1308.
69. Fitzpatrick DF, Hirschfield SL, Ricci T. Endothelium, dependent vasorelaxation caused by various plant extracts. *J Cardiovasc Pharmacol* 1995;26: 90-95.

70. Li-Man H, Ming-Jai S, Wing-Keung C, Chin-Wei C et al. The protective effect of resveratrols on ischaemia-reperfusion injuries of rat hearts is correlated with antioxidant efficacy. *Br J Pharmacol* 2002;135: 1627-1633.
71. Fulgenzi A, Bertelli AA, Magni E, Ferrero E et al. In vivo inhibition of TNF alpha-induced vascular permeability by resveratrol. *Transplant Proc* 2001;33: 2341-2343.
72. Nigdikar SV, Williams NR, Griffin BA, Howard AN. Consumption of red wine polyphenols reduces the susceptibility of low- density lipoproteins to oxidation in vivo. *Am J Clin Nutr* 1998;68(2): 258-265.
73. Hess RA, Bunick D, Lee KH, Bahr J et al. A role for estrogens in the male reproductive system. *Nature* 1997;390: 509–511.
74. Gehm BD, McAndrews JM, Chien PY, Jameson JL. Resveratrol, a polyphenolic compound found in grapes and wine, is an agonist for the estrogen receptor. *Proc Natl Acad Sci* 1997;94: 14138–14143.
75. Juan ME, Gonzalez-Pons E, Munuera T, Ballester J et al. Trans-resveratrol, a natural antioxidant from grapes, increases sperm output in healthy rats. *Nutrient Metab* 2005;135(4): 757-760.
76. Yencerioglu Y, Yilmaz O, Sarioglu S, Ormen M ve ark. effects of n-acetylcysteine on radiocontrast nephropathy in rats. *Journal of urology and Nephrology* 2006:. 63-69.
77. <http://www.androloji.org.tr/images/File/28.Say%C4%B1%20pdf/I1.pdf>. 09.09.2009.
78. Ahrens E. Toprak Mikrobiyolojisi Ders Notları. İzmir , Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi, 1977: 24.
79. Brovwer, E.J., Evelo, C.T., Verplanke, A.J., van Welie, R.T. Biological effect monitoring of occupational exposure to 1,3 dichloropropene : effects on liver and renal function and on glutathione conjugation. *Br. J. ind. Med* 1991: 167-172.
80. Saghir SA, Charles GD, Bartels MJ, ve ark. Mechanism of trifluralin induced thyroid tumors in rats. *Toxicology Letters* 2008: 38-45.
81. Polesic V, Karan V. Effects of trifluralin on carp: Biochemical and Histological Evaluation. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 1999: 213-221.
82. Ravenzwaay VB, Mellert W, Deckardt K, ve ark. The comparative toxicology of 4-chloro-2methylphenoxyacetic acid and its plant metabolite 4-chloro-2-carboxyphenoxyacetic acid in rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 2005: 47-54.
83. Uyanikoğlu Y, Ateş U, Baka M, Biçer S, ve ark. Immunohistochemical and histopathological evaluation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-induced changes in rat kidney cortex. *Bull Environ Contam Toxicol* 2009: 749-755.

84. Ozaki K, Mahler FJ, Haseman KJ, Moomaw RC. Unique Renal Tubule Changes Induced in Rats and Mice by the Peroxisome Proliferators 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) and WY-14643 . *Toxicol Pathol* 2001: 440-450.
85. Tapanainen JS, Tilly JL, Vihko KK, Hsueh AJ. Hormonal control of apoptotic cell death in the testis: gonadotropins and androgens as testicular cell survival factors., *Molecular Endocrinology* 1993: 643-650.
86. Samai M, Sharpe MA, Gard PR, Chatterjee PK. Comparison of the effects of the superoxide dismutase mimetics EUK-134 and tempol on paraquat-induced nephrotoxicity. *Free Radic Biol Med.* 2007: 528-534.
87. Abarikwu SO, Adesiyun AC, Oyeloja TO, Oyeyemi MO, Farombi EO. Changes in sperm characteristics and induction of oxidative stress in the testis and epididymis of experimental rats by a herbicide, atrazine. *Arch Environ Contam Toxicol* 2010: 874-882.
88. Burk FR, Lawrence AR, Lane MJ. Liver Necrosis and Lipid Peroxidation in the Rat as the Result of Paraquat and Diquat Administration. *J Clin Invest.* 1980: 1024-1031.
89. Sinha S, Panneerselvam N, Shanmugam G. Fluchloralin Is Cytotoxic and Genotoxic and Induces Apoptosis in Mammalian Cells. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 1998: 257-262.
90. Greenlee AR, Ellis TM, Berg RL. Low -Dose Agrochemicals and Lawn-Care Pesticides Induce Developmental Toxicity in Murine Preimplantation Embryos. *Environmental Health Perspectives* 2004: 703-709.
91. Kasdallah Grissa A, Mornagui B, Aouani E, Hammami M ve ark. Protective effects of resveratrol on ethanol induced lipid peroxidation in rats. *Alcohol Alcohol* 2006;41(3): 236-239.
92. Sener G, Tuğtepe H, Yüksel H, Cetinel S ve ark. Resveratrol improves ischemia/reperfusion induced oxidative renal injury in rats. *Arch Med Res* 2006 ;37(7): 822-829.
93. Uguralp S, Mızrak B, Bay Karabulut A. Resveratrol reduces ischemia reperfusion injury after experimental testicular torsion. *Eur J Pediatr Surg* 2005;15(2): 114-119.
94. Fremont L. Biological effects of resveratrol. *Life Sci* 2000;66(8): 663-673.
95. Jiang Y, Peng T, Luo Y, Lı M ve ark. Resveratrol reestablishes spermatogenesis after testicular injury in rats caused by 2,5-hexanedione. *Chin Med J* 2008;121(13): 1204-1209.
96. Uguralp S, Usta U, Mızrak B. Resveratrol may reduce apoptosis of rat testicular germ cells after experimental testicular torsion. *Eur J Pediatr Surg* 2005;15(5): 333-336.

97. Hong SW, Jung KH, Zheng HM, Lee HS, ve ark. The Protective Effect of Resveratrol on Dimethylnitrosamine-Induced Liver Fibrosis in Rats. Arch Pharm Res 2010;33: 601-609.