

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ - EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ERİŞKİN ERKEK SIÇANLARDA BİSFENOL A
İLE OLUŞTURULMUŞ TESTİKÜLER HASAR
ÜZERİNE D VİTAMİNİNİN ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Füsun ERHAN

2015

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık B

ü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Enver OZAN

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Leyla CANPOLAT KOYUTÜRK

Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İ. Enver OZAN

Prof. Dr. Leyla CANPOLAT KOYUTÜRK

Yrd. Doç. Dr. Aymelek ÇETİN

TEŞEKKÜR

Bu çalışmayı değerli katkılarıyla yönlendiren ve yardımlarını esirgemeyen hocam, sayın Prof. Dr. Leyla CANPOLAT KOYUTÜRK' e,

Anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Enver OZAN'a,

Eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım diğer öğretim üyesi hocalarım sayın Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU' na, Yrd. Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU' na, Doç. Dr. Özlem DABAK' ile Arş. Gör. Nalan KAYA'ya ,

Arkadaşlarım Osman Fatih YILMAZ' a, Şakile HARMAN ORUÇ' a, Songül AY' a ve sevgili arkadaşım M. Alperen ÜSTÜNERE' e

Tezime sağladığı finansmandan dolayı Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Birimi (FÜBAP)' ne,

teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLO LİSTESİ	vi
ŞEKİL LİSTESİ	vii
KISALTMALAR LİSTESİ	x
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. Testis Histolojisi	7
3.1.1. Seminifer Tübüller	7
3.1.2. Sertoli Hücreleri	8
3.1.3. İnterstisyel Doku (Leydig Hücreleri)	11
3.1.4. Spermatogenez	12
3.1.5. Spermiyogenez	14
3.2. Testis Embriyolojisi	15
3.3. Testis Anatomisi	18
3.4. Bisfenol A	20
3.4.1. Bisfenol A' nın Yapısı, Üretimi ve Kullanım Alanları	20
3.4.2. Bisfenol A Maruziyetinin Kaynakları ve Yolları	21
3.4.3. Bisfenol A' nın Canlılar Üzerine Etkileri	23
3.5. D Vitamini	24
4. GEREÇ VE YÖNTEM	29
4.1. Deney Hayvanları	29
4.2. Kimyasal Maddeler	30
4.3. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneysel Uygulamalar	30
4.3.1. TUNEL Metodu	32
4.4. İstatistiki Analiz	34

5. BULGULAR	35
5.1. Histolojik Bulgular	35
5.2. TUNEL Bulgular	36
5.3. İstatistik Analiz Sonuçları	37
6. TARTIŞMA	52
7. KAYNAKLAR	57
8. ÖZGEÇMİŞ	63

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Deney Hayvanlarına Verilen Rat Yeminin İçeriği	30
Tablo 2.	Histolojik Takip Serileri	32
Tablo 3.	TUNEL Boyama Basamakları	33
Tablo 4.	TUNEL boyama yaygınlığının derecesi	34

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Seminifer tübülün mikroskopik yapısı	8
Şekil 2.	Kan-testis bariyeri	10
Şekil 3.	Spermatogenezin aşamaları	13
Şekil 4.	İnsan testisinin kesitinden şematik görünüm	19
Şekil 5.	Bisfenol A' nın kimyasal yapısı	20
Şekil 6.	Kolekalsiferol (D ₃ Vitamini) kimyasal yapısı	25
Şekil 7.	D Vitamini Metabolizması	26
Şekil 8.	Kontrol grubuna ait normal yapıdaki sıçan testis dokusu.	38
Şekil 9.	Kontrol grubuna ait normal yapıdaki sıçan testis dokusu.	38
Şekil 10.	Grup II. Bisfenol A uygulamasına bağlı olarak testis dokusunda kapsülde gözlenen ayrılmalar	39
Şekil 11.	Grup II. Bisfenol A uygulanmış testis dokusunda seminifer tübül bazal laminasında (büyük ok) düzensiz görünüm.	39
Şekil 12.	Grup II. Bisfenol A uygulamasına bağlı olarak testis dokusunun seminifer tübüleri arasındaki bağ dokuda artmış hücre infiltrasyonu alanı	40
Şekil 13.	Grup II. Bisfenol A uygulanmış testis dokusunda seminifer tübüleri arasında ki mononükleer hücre artışı.	40
Şekil 14.	Grup II. Bisfenol A uygulanmış testis dokusunda seminifer tübül epitel hücreleri arasında vakuoller ve ödem, mononükleer hücre infiltrasyonu	41
Şekil 15.	Bisfenol A uygulanmış testis dokusunda ödem (Ö) ve seminifer tübül epitelinde hücre sayısında azalma	41
Şekil 16.	Grup II. Bisfenol A uygulanmış testis dokusunda seminifer tübül epitelinde oluşan boşluklu, düzensiz görünüm	42
Şekil 17.	Grup II. Bisfenol A uygulamasına bağlı olarak testis dokusunda normale yakın tübüllerin yanında küçülmüş atrofik tübül yapısı	42
Şekil 18.	Grup II. Bisfenol A uygulamasına bağlı olarak testis dokusunda seminifer tübül epitelinde ki atrofi (ok). PAS X10.	43

Şekil 18.	Grup II. Bisfenol A uygulamasına bağlı olarak testis dokusunda seminifer tübül epitelinde ki atrofi	43
Şekil 19.	Grup II. Bisfenol A uygulanmış testis dokusunda düzensiz görünümlü seminifer tübüller.	43
Şekil 20.	Grup II. Bisfenol A uygulanmış testis dokusunda interstisyel alanda ödem (Ö) ve kan damarlarında artış.	44
Şekil 21.	Grup II. Bisfenol A uygulamasına bağlı olarak testis dokusunda interstisyel alanda damar atışı Masson'un üçlü boyası.	44
Şekil 22.	Grup II. Bisfenol A uygulanan testis dokusunda spermatogenetik seriye ait lümene dökülmekte olan hücreler, mitotik figürler gösteren spermatositler.	45
Şekil 23.	Grup II. Bisfenol A uygulanmış testis dokusunda lümene dökülmüş olan spermatogenetik seri hücreleri.	45
Şekil 24.	Grup III. Bisfenol A uygulamasından sonra D vitamini uygulanan grupta seminifer tübül ve germinal epitelyum yapısı normale yakın görünümdeki testis dokusu. Masson' un üçlü boyası	46
Şekil 25.	Grup III. Bisfenol A uygulamasından sonra D vitamini uygulanan grupta testis dokusu.	46
Şekil 26.	Grup IV. D vitamini uygulanan grupta normal görünümlü testis dokusu	47
Şekil 27.	Grup IV. D vitamini uygulanan grupta testis dokusunda normal görünümlü seminifer tübül yapısı.	47
Şekil 28.	Grup IV. D vitamini uygulanan grupta testis dokusunda normale yakın görünümdeki seminifer tübüller	48
Şekil 29.	Grup V. Zeytinyağı verilmiş olan grupta testis dokusunda ki seminifer tübül (ok) ve seminifer epitelyum (S) normal görünümündedir.	48
Şekil 30.	Grup V. Zeytinyağı verilmiş olan grupta testis dokusu normal görünümlüdür.	49
Şekil 31.	Kontrol grubu testis dokusu TUNEL negatif seminifer tübüller.	49

Şekil 32.	Grup II. Bisfenol A uygulaması. Çok sayıdaki negatif hücrelerin yanı sıra seminifer tübül epitelinde nadir gözlenen TUNEL pozitif hücre.	50
Şekil 33.	Grup III. Bisfenol A uygulamasından sonra D vitamini uygulanan grupta seminifer tübül epitelinde TUNEL boyanma negatiftir.	50
Şekil 34.	Grup IV. D vitamini uygulanan grupta testis dokusunda TUNEL boyanma negatif.	51
Şekil 35.	Grup V. Zeytinyağı verilmiş olan grupta TUNEL negatiftir.	51

KISALTMALAR LİSTESİ

BFA	: Bisphenol A.
LH	: Luteinleştirici hormon.
ABP	: Androjen bağlayıcı protein.
FSH	: Folikül uyarıcı hormon.
TBF	: Testis belirleyici faktör.
hCG	: İnsan koryonik gonodotropin.
AMH	: Antimüllerian hormon.
MIS	: Müllerian inhibitör.
TDI	: Tolere edilebilir günlük alım miktarı.

1. ÖZET

Günlük hayatımızda geniş bir kullanım alanına sahip olan plastik malzemelerin yapısında yer alan Bisfenol A (BFA), evsel ürünlerde, yiyecek ve içecek kaplarının iç kaplamasında, tıbbi ve diş tedavi malzemelerinde kullanılmaktadır. BFA; besin zinciriyle, içme suları, inhalasyon yoluyla insan vücuduna alınabilen alkilfenollere ait toksik bir bileşiktir. D vitamini, epidermisde fotokimyasal olarak üretilen, sperm kalitesi ve reproduktif fertilité üzerinde olumlu etkilere sahip bir steroid hormondur. Çalışmamızda, BPA ile oluşturulmuş testiküler hasarın düzeltilmesinde D vitamininin etkilerinin histolojik olarak incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada toplam 30 adet Wistar Albino cinsi 8 haftalık erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar her grupta 6 tane olmak üzere 5 gruba ayrıldı. Grup I' deki sıçanlar kontrol grubu olarak belirlendi. Grup II' deki sıçanlara 4 hafta boyunca 25mg/kg/gün Bisfenol A 0.5ml zeytinyağı içinde çözülerek oral gavaj yoluyla verildi. Grup III' deki sıçanlara 4 hafta boyunca 25mg/kg/gün Bisfenol A 0.5ml/gün zeytinyağı içinde çözülerek oral gavaj yoluyla verildikten sonra 2 hafta boyunca Vitamin D3 50IU/gün oral gavaj yoluyla verildi. Grup IV' deki sıçanlara 2 hafta boyunca Vitamin D3 50IU/gün oral damla verildi. Grup V' deki sıçanlara 4 hafta boyunca 0.5ml/gün zeytinyağı oral gavajla verildi. Uygulamalar bittikten sonra ışık mikroskopuyla testis dokularındaki değişiklikler histokimyasal ve immunohistokimyasal olarak incelendi. Elde edilen bulgular Olympus BH 2 fotomikroskopla görüntüldü.

BFA uygulanan grupta (Grup II) ışık mikroskobu ile yapılan incelememizde, BFA' nın testis dokusunda önemli dejenerasyonlara, atrofiye, ödem oluşumuna, bazal membranda bozulmalara ve az sayıda apoptotik hücre oluşumuna yol açtığı tespit edildi. Grup III' de BFA' nın oluşan toksik etkilerini tedavi edebilmek amacı ile kullanılan D vitamini ise testis dokusunda genel anlamda kontrol grubuna benzer histolojik yapı gözlemlendi. Sadece D vitamini uygulanan grup IV' deki testis dokularında ve sadece zeytinağı uygulanan grup V' deki testis dokularında kontrol grubuna benzer histolojik yapı görüldü.

Sonuç olarak, BFA' nın oluşturduğu testiküler hasara karşı D vitamininin iyileştirici etkilerinin olduğu ve yeni tedavi yaklaşımlarının denenmesinde olumlu sonuçlar sağlayabileceği kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bisfenol A (BFA), D vitamini, testis, histoloji

2. ABSTRACT

The Effects of The Vitamin D on Testikular Damage Formed with a Bisphenol A in Mature Male Rats

Bisphenol A (BFA), available in plastic materials widely used in our daily lives, is used in household products, inner lining of food and drink containers and medical and dental treatment materials. BFA is a toxic compound from alkylphenols which can be taken into human body through the food chain, drinking water and inhalation. Vitamin D is a steroid hormone which is generated photochemically in the epidermis and which has positive effects on sperm quality and reproductive fertility. Our study aims to review histologically the effects of Vitamin D on treatment of testicular damage caused by BFA.

30 Wistar Albino species 8 week old male rats were used in the study. The rates were divided into 5 groups of 6. The rats in Group I were identified as the control group. The rats in Group II were administered 25mg/kg/day Bisphenol A solved in 0.5ml olive oil through oral gavage for 4 weeks. The rats in Group III were administered 25mg/kg/day Bisphenol A solved in 0.5ml olive oil through oral gavage for 4 weeks and then 50IU/day Vitamin D3 through oral gavage for 2 weeks. The rats in Group IV were administered 50IU/day Vitamin D3 oral drops for 2 weeks. The rats in Group V were administered 0.5ml/day olive oil through oral gavage for 4 weeks. After completion of implementation, alterations in testicle tissues were examined histochemically and immunohistochemically with the light microscope. The findings were displayed with Olympus BH 2 photomicroscope.

Our review of the group treated with BFA (Group II) with the light microscope concluded that BFA caused significant degenerations, atrophy, edema, impairment in basal lamina and generation of a limited number of apoptotic cells in the testicle tissue. Vitamin D, used to treat toxic effects of BFA in Group III, exhibited a similar histological structure in general in the testicle tissue to the control group. Similar histological structures were observed in the testicle tissues in group IV only treated with Vitamin D and in the testicle tissues in group V only treated with olive oil.

It has been concluded that Vitamin D has curative effects on testicular damage caused by BFA and can provide positive results in trial of new treatment approaches.

Key Words: Bisphenol A (BPA), vitamin D, testis, histology

3. GİRİŞ

Hayatımızda geniş bir kullanım alanına sahip olan plastik malzemelerin yapısında yer alan Bisfenol A (BFA); özellikle evsel ürünlerde (plastik mutfak gereçleri, besin saklama kapları, bebek biberonları, damacnalar...), ambalaj endüstrisinde, diş protez, dolgu ve kaplaması gibi çeşitli diş tedavi malzemelerinde, deterjanlarda, kozmetik ürünlerde, boya, peptisid, herbisid maddeler gibi pek çok üründe kullanılan toksik bir bileşiktir (1). Bisfenol A dünyada en yüksek üretim kapasitesi olan kimyasal maddeler arasında yer almaktadır (2). Üretilen BFA epoksi reçine ve polikarbonat plastik üretiminde kullanılır ve bu miktarın %70' i polikarbonat plastikler, %25' i epoksi reçineler için sarf edilir (3). Gıdaları saklamak için kullanılan poşetlerin, su ve meşrubat şişelerinin, kola ve bira kutularının iç yüzeyinin kaplandığı plastik filmlerin, bebek biberonlarının ve kompakt disklerin yapımında polikarbonat plastikler ve epoksi reçineler kullanılmaktadır. Bisfenol A' nın yaygın bir kullanım alanına sahip olması canlıların Bisfenol A ile temas etme risklerini arttırmaktadır (4). Bisfenol A besin zinciriyle, içme sularıyla, inhalasyon yoluyla (solunum yoluyla) insan vücuduna alınmaktadır. BFA maruziyetiyle birlikte kandaki düzeyinin yükselmesi yağda çözünür özelliği nedeniyle dokularda birikmeye sebep olmakta ve bunun sonucu olarak oksidatif hasara yol açtığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Besin kapları ve çeşitli plastiklerden yiyecek ve içeceklere salınımından dolayı potansiyel toksisitesi araştırmalara konu olmuştur ve insan organizmasına toksik ve ksenoöstrojenik etkiler gösterdiği bulunmuştur.

Literatürde yer alan çalışmalarda rat ve farelerde BFA' nın oral alımının üreme üzerine olumsuz etkileri olduğu ve hematopoetik sistemde malignite riskini

arttırdığı gösterilmiştir (5). BFA üzerine yoğunlaşan çalışmalar, çeşitli dokularda enzim aktivitesini ve metabolizmayı etkilediğini, hedef dokularda hormon reseptörlerinin sayısında ve hormon reseptör geni aktivitesinde değişikliklere yol açarak endokrin sistemi bozduğunu ortaya koymaktadır. BFA ile yapılan çalışmalar; 2,4-500 µg/kg aralığında bulunan maternal dozların fare ve sıçanlarda postnatal büyümeyi arttırdığına ve östrojenik kimyasal maddelerin, postnatal gelişim sırasında adipositlerin farklılaşmasını beklenmedik şekilde etkileyebileceğini işaret etmektedir (6). Deneysel hayvan araştırmalarında BFA' nın, testiküler fonksiyonları direkt inhibe ettiği ve plazma LH (luteinleştirici hormon) seviyelerini arttırdığı bulunmuştur. Bu artmış LH düzeyi, testesteron tarafından negatif feed-back regülasyonunun indirgenmesine yol açar ve testis BFA' ya daha duyarlı hale gelir (7).

Fotokimyasal olarak epidermiste üretilen D vitamininin steroid benzeri bir hormon olduğu, kalsiyum-fosfor dengesinin ayarlanmasında ve kemik mineralizasyonunda etkin role sahip olduğu bilinmektedir (8). Son yapılan araştırmalar, D vitamininin üreme fizyolojisinde de önemli role sahip olduğunu düşündürmektedir. D vitamini, fertilite ve sperm kalitesi üzerinde olumlu etkilere sahiptir. D Vitamininin fertilite ve üreme kapasitesindeki rolünü araştıran çalışmalarda, D vitamini seviyesinin normal değerinden daha düşük olduğu farelerde çiftleşme sıklığının düştüğü, fertilite oranlarının azaldığı, litre bezlerinin atrofiye uğradığı ve neonatal büyümenin yavaşladığı gözlemlenmiştir. Bütün bu kanıtlar dikkate alındığında, infertilite nedenlerinin incelenmesinde D vitamininin de göz önünde tutulması büyük önem taşımaktadır (9).

3.1. Testis Histolojisi

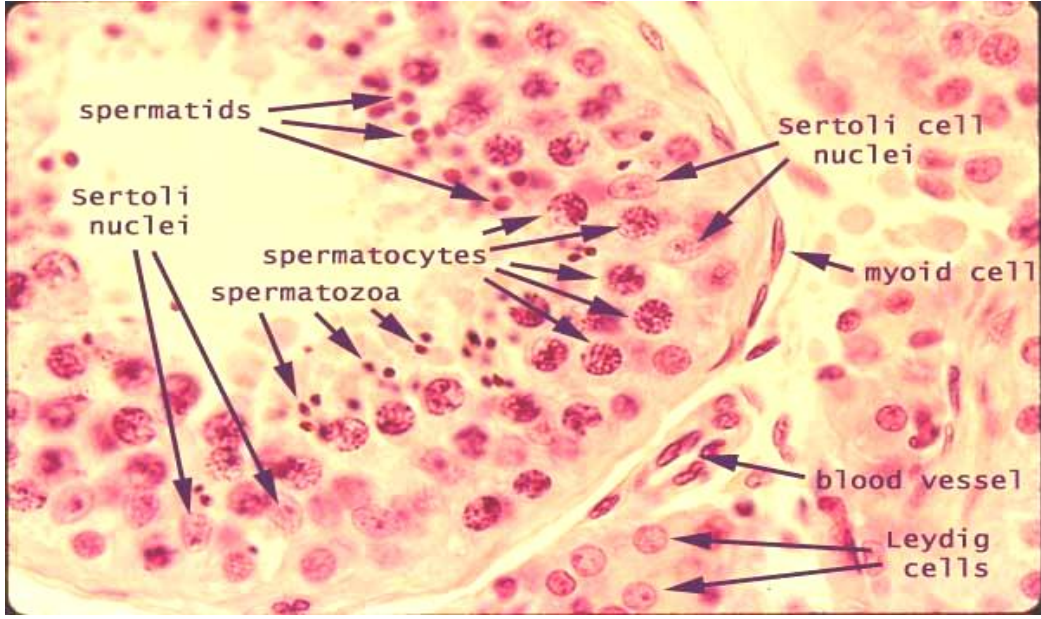
Testisler, yoğun bağ dokusundan meydana gelen tunika albuginea adı verilen yoğun bir kapsül ile çevrilmiştir. Bu kapsül testisin arka tarafında kalınlaşıp mediastinum testis olarak adlandırılan yapıyı meydana getirmektedir. Mediastinumdan testise uzanan fibröz uzantılar (septum) bezi testis lobcukları denilen yaklaşık 250 adet birbirleriyle bağlantılı piramidal bölmeye ayırır. Her bir lobül gevşek bağ doku ile kuşatılmış 1-4 adet seminifer tübül içermektedir (10).

3.1.1. Seminifer Tübüller

Her testis 250-1000 adet seminifer tübül içerir. Seminifer tübül, 150-250 µm çapında olup 30-70 cm uzunluğa sahiptir. Seminifer tübüller karmaşık yapılı çok katlı epitelyum ile döşelidir. Spermatozoidler seminifer tübüllerde üretilir ve erişkindeki yapım hızı günde yaklaşık 2×10^8 'dir.

Seminifer tübüller, belirgin bazal lamina, karmaşık bir germinal (seminifer epitelyum) epitelyum ve fibröz bağ dokusu kılıfından oluşur. Tunika propria adı verilen fibröz bağ dokusu kılıfı birkaç fibroblast katmanından meydana gelmektedir (10). Üzerinde germ hücrelerinin bulunduğu bazal membranın dışında kalın bir kollojen lif tabakası yer almaktadır. Bunun dışına ise hem kasılma hem de sekresyon yapma özelliklerine sahip miyoid hücreler, en dışa da adventisiyal fibroblastlar yerleşmiştir (11). Bunlara ek olarak seminifer tübüllerin arasında interstisyel hücreler (leydig hücreleri) vardır. Steroid salgılayan leydig hücreleri erkek cinsiyet hormonu olan testosteronu üretirler (12). Seminifer tübüllerin duvarında sertoli (destek) hücreleri ve germ (spermatogenik) hücreleri yer alır. Spermatogenik hücreler;

spermatogonyumlar, primer spermatositler, sekonder spermatositler ve spermatozoalardan oluşmaktadır (11). 4-8 tabaka şeklinde düzenlenmiş germ hücrelerinin işlevleri spermatozoonları üretmektir. Spermatozoon üretimine spermatogenez adı verilmektedir (10).

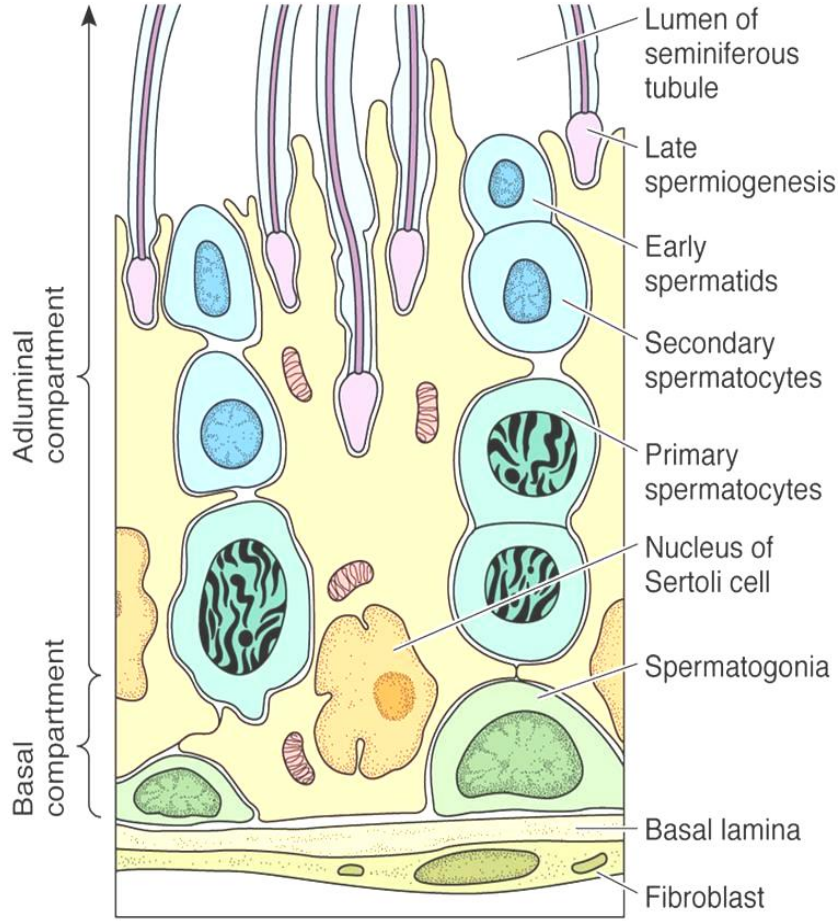


Şekil 1. Seminifer tübülün mikroskopik yapısı (13).

3.1.2. Sertoli Hücreleri

Sertoli hücreleri; seminifer tübül lümenine kadar uzanan, bazal laminaya oturmuş büyük hücrelerdir. Sertoli hücresinin düzensiz şekilli çekirdeği ve belirgin bir çekirdekçiği vardır (11). Retiküler görünümde sitoplazması içerisinde küçük fibriller, yağ damlacıkları, küçük uzamış mitokondriyonlar yer alır (14). Sertoli hücreleri öncül üreme hücrelerini destekler ve yakındaki kılcal damarlardan besinlerin aktarılmasına yardım ederler. Gelişmekte olan spermatogoniaların beslenmesi sertoli hücrelerine bağlıdır (15). Bitişik sertoli hücreleri yanlara doğru yaptıkları sitoplazmik uzantılarıyla birbirlerine bağlanırlar. Spermatogenetik seriye

ait germ hücrelerinin civar ortamla irtibatının kesilmesini sağlamak için sitoplazmik uzantıların arasında germ hücrelerinin etrafını kuşatırlar. Böylece germ hücrelerinin beslenme ve hormonal etkileşim gibi işlevleri sertoli hücreleri vasıtasıyla gerçekleşmiş olur. Sertoli hücrelerinin birbirlerine bağlanarak meydana getirdikleri bariyere “ **kan-testis bariyeri** ” adı verilir ve böylece kan-testis bariyeri seminifer tübüllerin germ hücreleri ile döşenmiş olan duvarını bazal kompartman ve luminal kompartman olmak üzere ikiye bölmüş olur. Bazal kompartmanda (alt kısım) spermatogoniumlar ve genç spermatositler, luminal kompartmanda (üst kısım) olgun spermatositler, spermatidler ve spermatozoon yer alır. Spermatositler mayoz ile bölünürken, mayozun ileri safhalarında luminal kompartman içine geçerler (11).



Şekil 2. Kan-testis bariyeri (16).

Kan-testis bariyeri pubertede spermatogenezin başladığı dönemde oluşur. Germ hücreleri mayoz bölünme geçirirken dışarıdan gelen etkilere karşı oldukça hassas olduklarından dolayı, kan-testis bariyeri bunlara çok daha düzenli ve spesifik bir ortam sağlar. Ayrıca vücudun immun sistemi, mayozdan sonra haploid sayıya sahip olan bu germ hücrelerini tanımadığı için yıkılmalarına engel olmaktadır (11).

Sertoli hücrelerinin birkaç işlevi vardır:

- Gelişmekte olan spermatozoonları desteklemek, korumak ve beslenmesini sağlamak (10),
- Gelişen spermatidlerin fazla stoplazmalarını (artık cisimler) ve bozulan germ hücrelerini fagosit etmek,
- Androjen bağlayıcı protein (ABP) üretimi ve salınışını sağlamak; ABP salgılanması, hipofiz bezinden salgılanan folikül-uyarıcı hormonun (FSH) kontrolündedir ve ABP testosterona bağlanarak, seminifer tübül lümeni içerisinde spermatogenez için gerekli olan testosteron yoğunluğunu artırır,
- Hipofiz bezinden FSH salınışını baskılayan, inhibin hormonunun salgılanması.
- Erkekte müler kanallarının gelişimini baskılayan ve dişi üreme organlarının gelişimini inhibe eden Anti-Müllerian hormon yada Müllerian-inhibe edici hormonun üretimi ve salınımını sağlamak (12).

3.1.3. İnterstitiyel Doku (Leydig Hücreleri)

Androjen üretimi bakımından interstitiyel doku oldukça önemlidir. Testisin seminifer tübülleri arasındaki alanlar; sinirler, pencere kapillerler, bağ dokusu ve lenf damarları ile kaplıdır. Bağ dokusunda değişik tipte hücreler bulunur. Bu hücreler fibroblastlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlardır. Ergenlikte (puberte) ek bir hücre tipi daha işlevsel olarak belirgin hale gelir. Bu yuvarlak yada çokgen şekilli olan, nükleusu merkezde ve küçük lipid damlacıklarından zengin eozinofilik sitoplazması bulunan bir hücredir. Bu hücreler,

testisin interstisyel yada Leydig hücreleridir ve steroid salgılayan hücre özelliklerini gösterir (10).

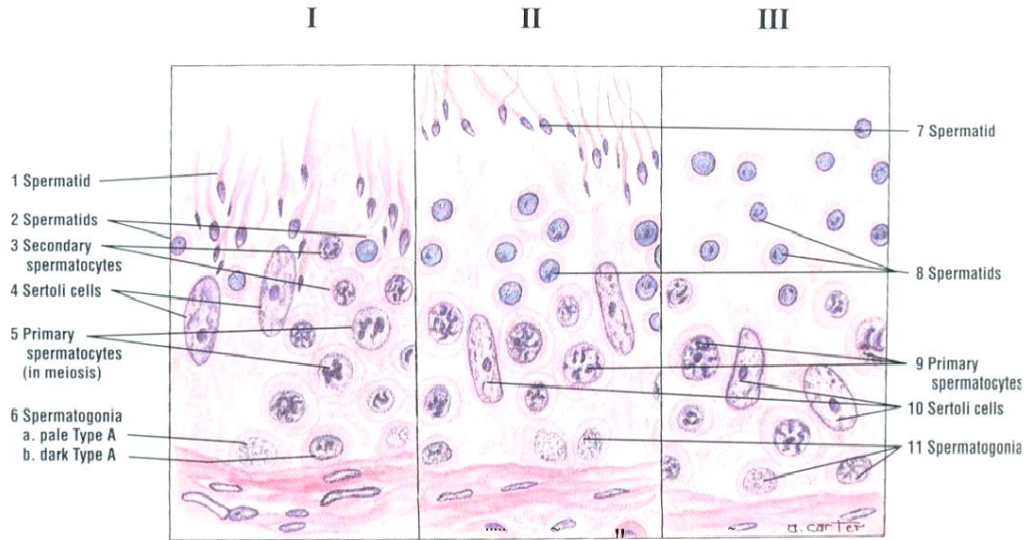
Leydig hücreleri, sekonder seks karakterlerinin gelişmesinden sorumlu erkeklik hormonu olan testosteronu üretirler. Bu üretimi Leydig hücreleri, mitokondriyumlarında ve düz endoplazma retikulumlarında bulunan enzimler tarafından gerçekleştirirler. Spermatogenez, embriyonal ve fetal yaşam sırasındaki cinsiyet farklılaşması ve gonadotropin salgısının kontrolü açısından testosteron önemlidir (10).

3.1.4. Spermatogenez

Spermatozoon üretim süreci olan spermatogenez ilkel bir üreme hücresi olan spermatogonyum ile başlamaktadır. Spermatogonyumların çapı yaklaşık 12 μm ' dir ve bazal laminanın üstünde yer alan küçük bir hücredir. Cinsel olgunluk döneminde spermatogonyum hücreleri çoğalmaya mitoz bölünme ile başlar ve yeni hücreler meydana gelir. Yeni oluşan bu hücreler iki yoldan birini izleyebilmektedirler: A tipi spermatogonyumlar olarak adlandırılan kök hücreler olarak bölünmeyi devam ettirebilirler veya devam etmekte olan mitoz döngüleri boyunca farklılaşıp B tipi spermatogonyumları oluşturabilirler. B tipi spermatogonyumlar ise primer spermatositlere farklılaşan öncül (progenitor) hücrelerdir. Primer spermatositlerde 46 kromozom (44+XY) bulunmaktadır. Primer spermatositler oluşuktan sonra birinci mayoz bölünmenin profaz evresine girerler. Profaz aşaması yaklaşık 22 gün devam ettiğinden dolayı kesitlerde görülen spermatositlerin çoğu bu aşamada izlenecektir. Spermatogenez serinin en büyük hücreleri primer spermatositlerdir ve

çekirdeklerinde, sarmallanma sürecinin değişik aşamalarında kromozomların bulunması ile bilinirler (10).

Birinci mayoz bölünmeden sonra 23 kromozomdan oluşan sekonder spermatositler olarak adlandırılan daha küçük hücreler oluşur. Spermatositler, interfazda çok kısa süre kalan ve çabucak ikinci mayoz bölünmeye giren kısa ömürlü hücreler oldukları için testis kesitlerinde gözlenmeleri zordur. Sekonder spermatositlerin bölünmesi spermatidlerin yani 23 kromozom içeren iki hücrenin oluşması ile son bulur. Spermatositlerde birinci ve ikinci mayoz bölünmeler arasında S fazı (DNA Sentezi) görülmediği için ikinci bölünmeden sonra her hücredeki DNA miktarı yarı yarıya iner ve haploid (N) hücreler meydana gelir. Böylece, mayoz bölünme sürecinin sonunda haploid sayıda kromozom içeren hücreler meydana gelir. Bu hücreler döllenme ile normal diploid sayıya dönmektedir (10).



Şekil 3. Spermatogenezin aşamaları (12).

3.1.5. Spermiyogenez

Spermiyogenez, spermatozoon üretiminin son aşaması ve spermatidlerin, erkek DNA'sını ovuma aktarmak için son derece özelleşmiş hücreler olan spermatozoona dönüşme sürecidir. Spermatidler, küçük boyutları, yoğunlaşmış kromatin bölgeleri içeren nükleusları ile ayırt edilebilirler. Seminifer tübüllerde lümen yakınında yerleşmişlerdir. Spermatogenez sonucunda seminifer tübüllümenine bırakılan olgun spermatozoon oluşur (10). Spermiyogenez 4 evrede gerçekleşir:

A. Golgi Fazı: Spermatid sitoplazmasında; nukleusa yakın mitokondriyonlar, serbest ribozomlar, bir çift sentriol, belirgin bir golgi kompleksi ve düz endoplazmik retikulum tübülleri bulunur. Spermatide ait endoplazmik retikulumda üretilen hidrolitik enzimler golgi kompleksine iletilir ve burada çeşitli değişiklikler geçirir. Değişime uğramış hidrolitik enzimler golgi kompleksinin trans yüzünden “proakrozomal granül” adı verilen PAS(+) granüller şeklinde salınırlar. Bu granüllerin birleşmesiyle çekirdek zarına yapışık şekilde olan ve aynı spermin ön kutbunu belirleyen akrozomal veziküller oluşur. Bu aşamada sentrioller, çekirdek bölgesinden uzaklaşırlar. Bir tanesi flagellumun aksonemini (9 çift periferde, 2 tane merkezde mikrotubulus yapısı bulunan kuyruk iskeleti) meydana getirmek üzere akrozomal bölgenin karşı kutbunda konumlanır (17).

B. Şapka Evresi: Genişleyerek büyüyen akrozomal vezikül, çekirdekle temas ettiği noktadan başlayarak çekirdeğin ön kısmını yarıya kadar kuşatır. Akrozomal vezikül son büyüklüğüne ulaştığı zaman “akrozom” adını alır ve yapısında hidrolitik enzimler bulunur (17).

C. Akrozom Evresi: Özel bir tip lizozom olarak kabul edilen akrozom içerisinde nöraminidaz, asit fosfataz, tripsin, hyalüronidaz ve akrozin benzeri proteazlar gibi hidrolitik enzimler bulunur (17). Bu enzimlerin, oositleri çevreleyen korona radiata hücrelerinin birbirinden ayrılmasına neden olarak zona pellusidayı sindirdiği bilinmektedir. Döllenmenin ilk basamaklarından birisi, akrozom reaksiyonu olarak adlandırılan bu işlemdir. Küçük, koyu renkli ve armut şeklinde olan çekirdeğin distalinde bulunan sentriolden çıkan mikrotübüller, flagellumu oluşturacak olan aksonemi oluştururlar. Mitokondriyonların, flagellum proksimal parçasını kuşatması ile sperm orta parçası gelişir ki bu parça spermatozoon hareketliliğini sağlar (17).

C. Olgunlaşma Evresi: Spermatidlerin arasındaki protoplazmik köprülerin ortadan kalkması ile “artık cisimcik” adı verilen fazla sitoplazmik kısımları sertoli hücreleri fagosite ederler. Seminifer tübül lümenine atılan ancak hareket ve döllenme yetenekleri olmayan olgun spermatozoonlar gelişir (17).

3.2. Testis Embriyolojisi

Embriyonun cinsiyeti fertilizasyon sırasında belirleniyorsa da, gonadların erkek veya dişi morfolojik karakteristikleri, embriyonik dönemin 7. haftasından sonra da belirlenebilir. Gonadlar başlangıçta, genital veya gonadal şişkinlikler denilen kölomik epitelin proliferasyonu ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşmuş uzunlamasına şişlikler şeklinde görülür. Germ hücreleri gelişimin 6. haftasına kadar genital kıvrımlar içinde belirmez.

İnsan embriyosunda, primordiyal germ hücreleri gelişimin erken devrelerinde, yolk kesesi duvarında allantois' e yakın bir yerde endoderm hücreleri arasında belirir. Amibik hareketlerle son barsağın mezenterinin dorsali boyunca ilerler; 5. haftanın başında primitif gonadlara ulaşır ve 6. haftada da genital kıvrımları işgal eder. Kıvrımlara gelemediği takdirde, gonadlar gelişemez. Gonadların over veya testise farklanmasında, primordiyal germ hücrelerinin belirleyici etkisi vardır (18).

Primordiyal germ hücreleri oldukça geniş, sferikal seks hücreleri, 4. hafta başında umbilikal kese (vitellus veya yol kesesi) duvarında, allantoisin başlangıcına yakın, endodermal hücrelerin arasında ortaya çıkarlar. Embriyonun katlanmaları esnasında, vitellus kesesinin dorsal parçası embriyo içerisine dahil olur. 6. hafta sırasında primordiyal germ hücreleri altındaki mezenşim içerisine geçip gonadal kordonlara dahil olurlar. Primordiyal germ hücrelerinin göçü, *stella*, *fragilis* genleri ve BMP-4 tarafından düzenlenmektedir.

Kromozomal ve genetik cinsiyet, X kromozomuna sahip ovumun X veya Y kromozomu taşıyan sperm ile fertilizasyonuna bağlıdır. 7. Haftadan önce gonadların görünümü her iki cinsten de birbirine benzer, dolayısıyla “farklanmamış gonadlar” olarak adlandırılırlar. Erkek fenotipinin gelişimi için bir Y kromozomu gereklidir. Testis belirleyici faktör (TBF) için gerekli olan SRY geninin, Y kromozomunun kısa kolunda cinsiyet belirleyici bölgesine yerleştiği bulunmuştur. Testiküler farklılaşmayı sağlayan testis belirleyici faktör (TBF), Y kromozomu tarafından düzenlenir. Bu faktörün etkisi ile primer seks kordonları seminifer tübüllere farklılaşırlar. Farklanmamış gonad dışta yer alan bir medulladan meydana gelmektedir. Eğer embriyo XX seks kromozomuna sahip ise, farklanmamış gonadın

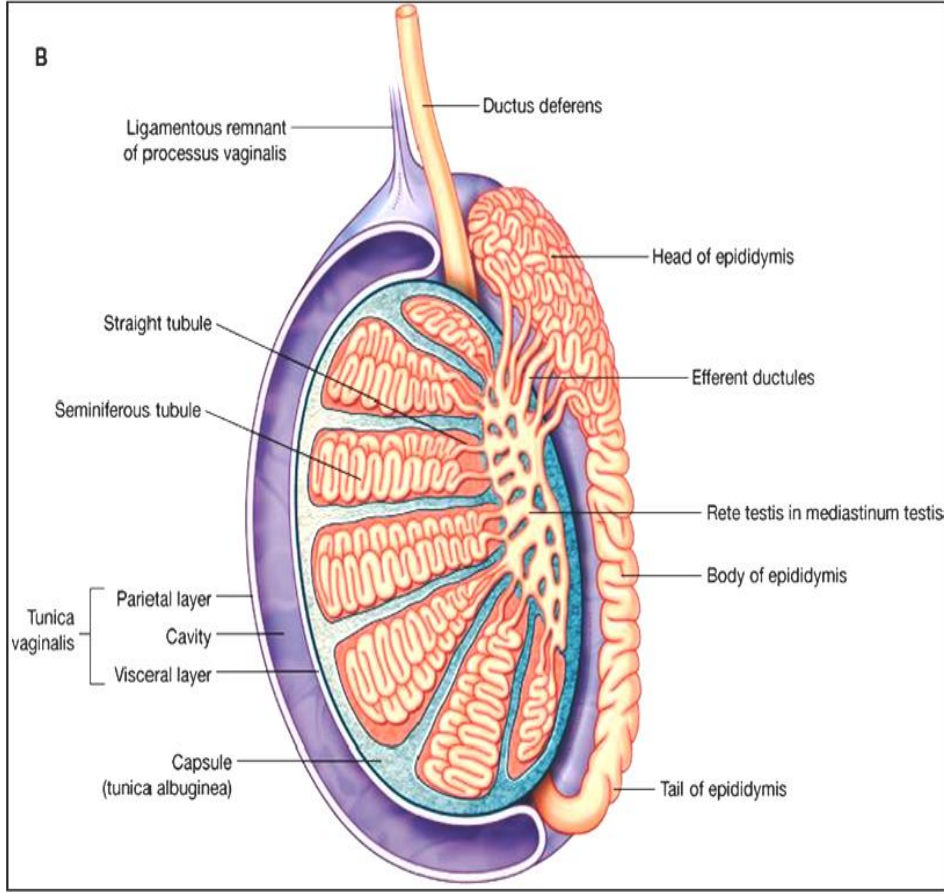
korteksi overe diferensiye olur ve medullası geriler. Embriyo XY seks kromozomunu içermekte ise, medulla testise farklanır ve korteks bir takım kalıntıları dışında gerileyerek dejenere olur. TBF, gonadal kordonları uyararak, onların farklanmamış gonadın medulla derinlerine doğru uzamasına sebep olur ve kordonlar burada dallanıp birbirleri ile anostomoz yaparlar. Böylece rete testis oluşmuş olur. Gonadal kordonların –seminiferöz kordonlar- yüzey epiteli ile olan bağlantıları tunika albuginea geliştikten sonra kaybolur. Kalın bir fibröz kapsül olan tunika albuginea'nın gelişimi testiküler gelişim için oldukça karakteristiktir. Genişleyen testis aşamalı bir şekilde dejenere olan mezonefroza ayrılır ve kendi mezenteri olan mezorşiyum ile asılı hale geçer. Seminifer kordonlar, seminifer tübüllere, tubuli rekti ve rete testis'e farklanırlar (19).

Seminifer tübüller, interstisyel hücreleri (Leydig hücreleri) oluşturan mezenşimden ayrılırlar. 8. haftadan itibaren Leydig hücreleri, androjenik hormonları –testosteron ve androstenedione- salgılamaya başlarlar. Bu hormonlar mezonefrik kanalların ve dış genitalerin maskulin olarak farklanması için uyarıcıdır. Testosteron üretimini insan koryonik gonodotropin (hCG) hormonu stimüle eder, hormonun miktarı 8-12 haftalık periyotta en yüksek değerine ulaşır. Fötal testisler, testosterondan başka glikoprotein yapıda bir hormon olan antimüllerian hormon (AMH) veya müllerian inhibitör madde (MIS) adı verilen bir hormonu da salgılamaktadır. Antimüllerian hormon, sertoli hücreleri tarafından salgılanır, hormonun salgılanması puberteye kadar devam eder, sonra ise hormon seviyesi düşer. AMH, paramezonefrik duktusların gelişimini baskılar. 8. haftada, fetal testisler tarafından üretilen testosteronun etkisi ile her bir mezonefrik kanalın

proksimal kısımları kıvrıntılı hal alır ve epididimis oluşur. Mezonefroz dejenere olduğunda, mezonefrik kanallardan bazıları kalıcıdır ve efferent duktulileri (duktuli efferentes) oluştururlar. Bu duktuliler, duktus epididimis' e açılırlar. Epididimis distalinde, mezonefrik kanal, kalın bir düz kas tabakası kazanır ve duktus deferens oluşur (19). Yaklaşık 26. haftada testisler karın arka duvarından skrotuma inerler. Bu değişme, pelvis genişlemesi ve embriyo bedeninin uzaması ile birlikte meydana gelir. Testisler, abdominal kavite ve skrotum arasında dar bir geçit olan inguinal kanaldan geçerek skrotuma inerler (19-20).

3.3. Testis Anatomisi

Funiculus spermaticus' a asılı durumda bulunan testisler, sağlı sollu bir çift olup, scrotum' un içinde yer almaktadırlar. İri bir badem büyüklüğünde olan testislerin uzunluğu 4-5 cm, genişliği 2,5 cm, kalınlığı 3 cm ve ağırlığı 10-14 gramdır. Testis, lamina visceralis (epiorchium), tunica albuginea ve tunica vasculosa olmak üzere üç tabakadan oluşur. Tunica vaginalis testis, fascia spermatica internanın iç, testisin de dış yüzünü saran seröz zardır (peritoneum). Testisi örten kısmına lamina visceralis (epiorchium) , fascia spermatica internaya yapışan kısmına ise lamina parietalis (periorchium) adı verilir (22).



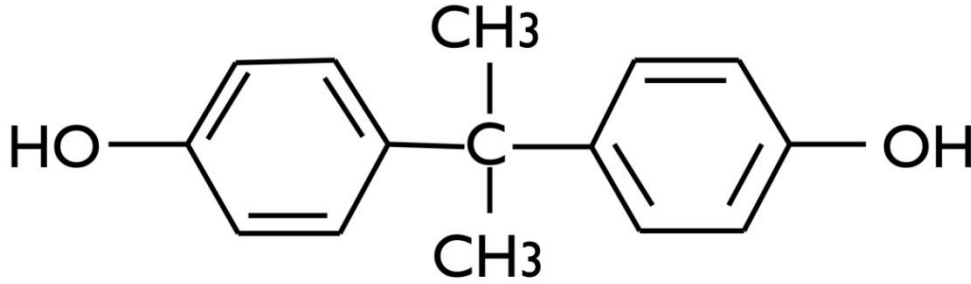
Şekil 4. İnsan testisinin kesitinden şematik görünüm (16).

Tunica albuginea; testisi saran mavimsi-beyaz renkli, sıkı yapılı fibröz bir tabakadır. Bu tabakayı oluşturan beyaz fibröz demetler, farklı yönlerde uzanarak birbirini içine girerler. Tunica albuginea' yı, arka kenarı hariç olmak üzere, dıştan tunica vaginalis testisin lamina visceralisi (epiorchium) örter. Tunica albuginea, arka kenarda testisin içine doğru kalın ve vertikal yarım bir bölme şeklinde uzantı gönderir. Bu bölme mediastinum testis denir (21).

3.4. Bisfenol A

3.4.1. Bisfenol A' nın Yapısı, Üretimi ve Kullanım Alanları

Bisfenol A (BFA) olarak yaygın şekilde bilinen 2,2-bis (4- hidroksifenil) propan, plastiklerin yapımında kullanılan temel kimyasallardan biridir (22). Bir tür organik bileşik olan Bisfenol A iki fenol ve polikarbonat moleküllerinin birleşmesi ile elde edilir (23).



Şekil 5. Bisfenol A' nın kimyasal yapısı (24).

Dünya çapında en önemli toksik çevre kirleticileri arasında yer almaktadır (25). Plastiklerin üretiminde ortak madde olarak kullanılmakta ve yaygın şekilde üretilmektedir (26).

Bisfenol A (BFA) ilk olarak 1891' de Dianin tarafından sentezlenmiştir ve 1936' da östrojenik aktiviteye sahip olduğu keşfedilmiştir (27). 1950' lerde BFA, polikarbonat plastik üretmek için ve hafif, şeffaf, boyanabilir, darbeye dayanıklı, zamanla bozulmayan, kolay şekil alan mucizevi derecede ucuz ürünler üretmek için polimerleştirilmiştir. Sentetik bir östrojen olduğu fark edilmiş olmasına rağmen hızlı bir şekilde dünya çapında en çok kullanılan ve üretilen kimyasallardan birisi olmuştur (28). 2002 yılında toplamda 2,8 milyon metrik ton BFA üretilmiştir ve tahminen 2011' de 5,5 milyon metrik ton BFA üretilmiştir (29). BFA' nın yıllık

Üretim kapasitesi Őuanda 2 trilyonu aÇmaktadır ve bu yüksek üretim seviyesi; gıda kaplarının, su Şişelerinin, tıbbi cihazların ve hem esnek hem dayanıklı diğer nesnelerin üretiminde plastiklerin yaygın olarak kullanılmasından dolayı BFA retimi desteklenmekte ve sürdürülmektedir (30, 31). Gelecekte ki BFA talebinin yıllık %6 ile %10 arasında artacağı tahmin edilmektedir (32).

BFA üretiminin %70' i çeşitli basit ürünlerde (optik, iletiŐim araçları, otomotiv, elektrik ve elektronik, ev eŐyaları ve cihazlar, inŐaat, medikal, ambalaj vb.) kullanılan polikarbonat plastiklerin üretiminde kullanılmaktadır. BFA' nın yaklaşık %20' si metal içecek kutularının ve gıda ambalajlarının çoğunlukla i yüzeyini kaplamak için kullanılan epoksi reçinelerin tamamlayıcı parçası olarak kullanılır. Son olarak BFA; yazarkasa termal kağıtlarında, polivinil klorür ve bazı plastikleŐtiricilerde polimerizasyon inhibitörü ya da antioksidan olarak kullanılmaktadır (28).

3.4.2. Bisfenol A Maruziyetinin Kaynakları ve Yolları

Yıllık BFA retim hacminin 100 tondan fazlası atmosfere salınır (31). Salınan bu hacim çevresel olarak her yerde BFA bulunmasına neden olur. BFA kalıntıları; havada, içme sularında, gllerde, denizlerde, arıtma çamurunda (lağım pisliği), toprakta, ev tozunda, gıda maddelerinde, kağıt parada, iletiŐim araçları ve diğer nesnelerde bulunur. BFA maruziyeti, çevresel (kontamine hava ve sudan), yerel (ev ürünleri, kozmetikler...), tıbbi (kontamine ekipman ve cihazlardan) ve mesleki kaynak (inhalasyon, deri teması, endüstriyel kullanım ya da üretim süreci boyunca

yutma) yollarıyla meydana gelmesine rağmen temel olarak kontamine yiyecekler ve içme suları yolu ile vücuda girer (33, 34, 35).

BFA' nın metal konserve kutuların plastik kaplamasından gıdaya nüfuz ettiği bilindiğinden dolayı BFA' ya maruz kalınmasının olası riskleri son birkaç yıldır büyük bir sorun olmuştur (22). Bisfenol A, yiyecek ve içecek kutularından süzülerek gıdaların içerisine geçebilmekte ve böylece insanlar az miktarda BFA' ya maruz kalabilmektedir (28). Poşet torba içerisine gıdayı ambalajlamak için kullanılan belirli gıda hazırlama uygulamaları gıda içerisine torbadan BFA sızmasını artırmaktadır ve böylece BFA' nın oral yolla alınıp miktarı artabilmektedir. Mikrodalga fırın kaplarının imalatında kullanıldığı bilinen BFA gıdaya geçebilmektedir (36, 37). BFA' nın oral yolla alınımı, ağızda var olan diş kompozitleri ile (26, 38) ya da epoksi reçine bazlı gıda kutuları, su şişeleri veya plastik biberonlar kullanılarak da artabilir (31, 34). Ayrıca termal kağıt kaplamalarından deri yoluyla, tıbbi cihazlarla ve daha birçok ürünlerle, ev tozlarının inhalasyonu yoluyla önemli ölçüde BFA' ya maruz kalınmaktadır (28, 39).

BFA için tolere edilebilir günlük alım miktarı (TDI), 25 mg/kg/gün ve 50 mg/kg/gün olarak Avrupa Gıda Güvenliği ve Sağlığı (Kanada) tarafından önerilmiştir (40). EFSA (Avrupa Gıda Güvenliği Kurumu) tarafından, BFA' nın günlük 4µ/kg' dan 50µg/kg' a kadar sağlık için günlük tolere edilebilir değer olarak kabul edilmiştir ve BFA' nın çevreden vücuda alınan miktarının ise belirlenen TDI değerinden 4-5 kat daha düşük olduğu tahmin edilmektedir (41). Bisfenol A için, maximum kabul edilebilir ya da referans doz ABD Çevre Koruma Ajansı tarafından 50mg/kg vücut ağırlığı/gün olarak belirlenmiştir (42).

3.4.3. Bisfenol A' nın Canlılar Üzerine Etkileri

Bisfenol A; diyabet, obezite, kardiyovasküler, kronik solunum ve böbrek rahatsızlıkları, göğüs kanseri, davranış bozuklukları, diş gelişimi defektleri ve her iki cinsde de üreme bozuklukları gibi birçok hastalıkla ilgilidir (43, 44).

Çevre sağlığı alanında; endüstriyel kimyasallara bağılı olarak zaman içerisinde popülasyonun üreme başarısında azalma gözlemlenmiştir. Bu nedenle üreme, endokrin bozucu kimyasallar alanının merkezinde yer alır. (45). Endokrin sistem, insan ve hayvan vücudunda yaşamsal fonksiyonları kontrol eden temel regülatör mekanizmayı oluşturmaktadır. Hormonlar; özelleşmiş bezlerden oldukça düşük dozlarda üretildikten ve salgılandıktan sonra, serbest halde ya da taşıyıcı proteinlere bağlanarak kan dolaşımı yoluyla hedef organ veya organlara ulaşan ve hücre yüzeyinde veya içinde bulunan reseptörlere bağlanarak etki gösteren endokrin sistemin haberci molekülleridir. Oluşan hormon-reseptör kompleksi farklı hücre ve organ fonksiyonlarını aktive ederek üreme, kanda glikoz ve iyonların normal fizyolojik sınırlarda tutulması, kan basıncı, genel metabolizma ile diğer kas ve sinir sistemi fonksiyonları gibi regülatör, gelişimsel ve homeostatik mekanizmaları etkilemektedir. Endokrin sistem, vücudun hormonal durumda ki internal veya eksternal değişimlere rahatlıkla cevap verebilmesine olanak sağlayan birçok geri bildirim mekanizması içermektedir. Yapılan çalışmalarda gözlenen ve bildirilen endokrin bozucu etkilerin çoğu eşeysel farklılaşma, ikincil eşey özellikleri ve eşey organlarının fonksiyonunu kontrol eden gonadların işlevleri ile ilişkilidir (46).

Endokrin bozucu kimyasal çalışmalarından biri Bisfenol A' dır (27). BFA, başlıca canlıda (in vivo) enzim aktivitesini değiştirerek, DNA metilasyonunu

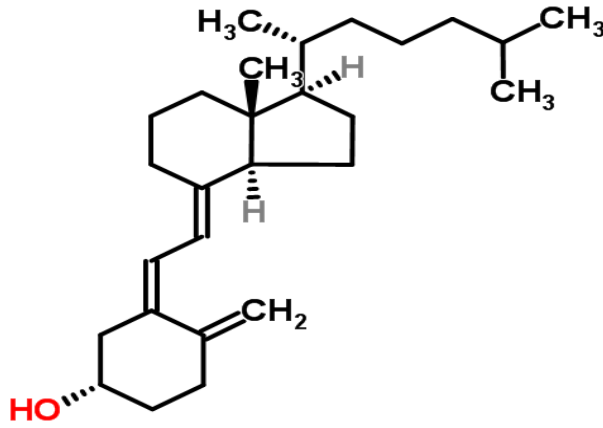
değiştirerek ve östrojen hormonunun etkisini taklit ederek hareket eder ve sonuç olarak erkeklerde kısırlığa ya da spermatogenez kusurlarına ve metabolik bozukluklara neden olur. BFA' nın erkek üreme fonksiyonu üzerindeki zararlı etkisi embriyonik, pubertal ya da erişkin yaşam sırasında oluşabilir (7, 47, 48,).

Erkek Japon balığında gözlemlenmiş BFA; antiandrojenik ve östrojenik etkileri tanımlanmış sperm parametrelerinde gösterildiği gibi spermatogenezde ki azalma ile ilişkilendirilir (toplam sperm sayısında, hacminde, yoğunluğunda, hareketliliğinde azalma) (49, 50). BFA' ya maruz kalan kahverengi alabalıkta düşük sperm kalitesi gözlemlenmiştir (51). Benzer şekilde 21 gün boyunca BFA' ya maruz kalan erişkin erkek lepidostlarda toplam sperm sayısında düşüş gösterilmiştir. BFA' nın balık spermatogenez üzerindeki olumsuz etkileri kemirgenlerde de postnatal ve pubertal dönemi takiben erişkinlikte de bu gibi etkilerin meydana geldiği kanıtlanmıştır (52). BFA, farelerin testis seminifer tübüllerinde morfolojik olarak çok çekirdekli büyük hücrelerin şekillenmesine neden olur (53). Benzer şekilde 2 hafta BFA verilmesinin ardından sperm anomalilerinin arttığı gözlemlenmiştir (54). BFA'nın deney hayvanlarında gösterilen antispermatogenetik etkisi BFA' ya maruz kalan erkek (insan) grupları arasında yürütülen birkaç epidemiyolojik çalışmalar ile doğrulanmıştır (55).

3.5. D Vitamini

Fotokimyasal olarak epidermiste üretilen D vitamininin steroid benzeri bir hormon olduğu, kalsiyum-fosfor dengesinin ayarlanmasında ve kemik mineralizasyonunda etkin role sahip olduğu bilinmektedir (8). D vitamini terimi iki

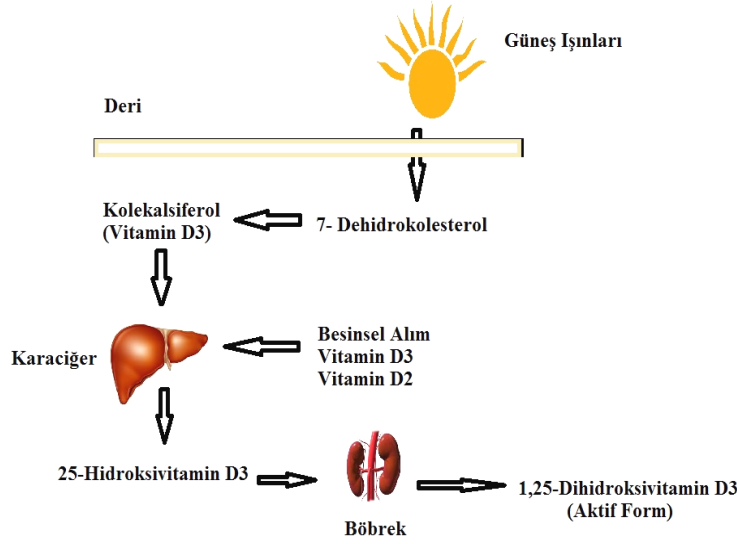
bileşeni içerir: D₂ vitamini ve ondan kimyasal yapı bakımından daha farklı olan D₃ vitaminidir. D₂ vitamini yani Ergokalsiferol mayalar tarafından üretilir ve çoğunlukla besinlere katılır. D₃ vitamini (kolekalsiferol) ise güneşe maruz kalma ile deride üretilir ve hayvansal kaynaklı besinleri içeren gıdalar yoluyla diyetlerde tüketilir. D vitamininin her iki formu da besin değeri güçlendirilmiş gıdalar ve gıda takviyelerinde bulunur. D₃ vitamininin D₂ vitamininden daha kararlı yapıya sahip ve daha güçlü olabileceği sebebi ile tercih edilen güçlendirici olması gerektiğine dair kanıtlar bulunmaktadır (56).



Şekil 6. Kolekalsiferol (D₃ Vitamini) kimyasal yapısı (57).

D vitamininin inaktif formu olan kolekalsiferol, ultraviyole ışınlarının deride 7- dehidrokolesterole dönüştürülmesi ile sentezlenir. Kolekalsiferolün aktif formu olan 25- dihidroksivitamin D' ye dönüşmesi için iki hidroksilasyon olayı geçirmek zorundadır. İlk olarak karaciğerde ki CYP2R1 enzimi ile 25- hidroksilasyon dönüşümünü takiben böbrekteki CYP27B1 enzimi ile de 1 α - hidroksilasyon dönüşümü geçirir (58). Daha sonra bu iki form bağlanarak 1 α ,25-dihidroksivitamin

D oluşur ve bu form hedef hücre içindeki D vitamini reseptörleri ile aktifleşir (59, 60).



Şekil 7. D Vitamini Metabolizması

Vitamin D' nin genel olarak vücutta rol oynadığı mekanizmalar şunlardır;

- İmmun fonksiyonların ve kas gücünün güçlenmesine destek olur,
- Antiinflamatuvar özellik gösterir,
- İnce bağırsaktan kalsiyum emilimini indükler,
- Kemik oluşumu, mineralizasyonu, büyüme ve onarımı için gerekli olan kalsiyum ve fosfatın kan düzeylerinin yeterli olmasını sağlar (61).

D vitamini seviyesinin normal değerinden az olması basit bir biyokimyasal bozukluk değildir. D vitamini eksikliği; kemik yapım-yıkım hızında artma, osteoporoz ve osteomalazi, kalça ya da diğer kemiklerde ki kırık olasılığında artma gibi fizyolojik, klinik ve patolojik bulgulara neden olmaktadır (62, 63). Ciddi vitamin D eksikliği erişkin iskeletinde demineralizasyona neden olup rikets ve osteomalaziye yol açmaktadır (64). Dent ve Haris' in yapmış olduğu çalışmada, insanlarda kalıtsal

raşitizmin fertilitede azalmaya neden olabileceği gösterilmiştir (65). D vitamini fazlalığının klinik semptomları ise; anoreksia gibi psikolojik bozukluklar, kilo kaybı, yorgunluk, disorientation olarak adlandırılan yönelim bozukluğu, kusma ve kabızlık şeklindedir (66). D vitamini (25-OHD₃) serum seviyeleri: <25 nmol/l D vitamini yetersizliği, ≥50 nmol/l yeterli D vitamini değeri ve ≥75 nmol/l yüksek D vitamini değeri olarak tanımlanmıştır (67).

D vitamini bazı biyolojik fonksiyonlarını vitamin D reseptörü (VDR) aracılığı ile gerçekleştirmektedir (9). D vitamini metabolizmasının anahtar enzimi olan D vitamini reseptörü (VDR), insan doku ve hücrelerinde yaygın şekilde bulunmaktadır (68). VDR' nin kalsiyum regüle edici dokularda, bağırsaklarda, iskelet sisteminde, paratroid bezlerinde ve ovaryum, uterus, plasenta, testis ve hipofiz gibi üreme organlarında bulunduğu bildirilmiştir (9). Bu bağlamda Blomberg Jensen ve arkadaşları çalışmalarında, D vitamini reseptörlerini ve D vitamini metabolik enzimlerini erkek üreme sisteminde ki testis dokusunun Leydig hücrelerinde önemli derecede gözlemlemişlerdir. Bu bilgiler D vitamininin erkek üreme sisteminde hormon üretimini artırıp artırmayacağı sorusunu akla getirmektedir (69).

D vitamininin hedef aldığı doku veya organlar için ön koşul VDR' nin hedef doku veya organda bulunmasıdır. Fakat hedef hücrelerin cevapları yalnızca dolaşımda ki 1 α ,25-dihidroksivitamin D seviyesine bağlı değildir. Aynı zamanda hücresel CYP2R1 ve CYP27B1 enzimlerine de bağlıdır (69, 70, 71). D vitamininin hızlı cevabında Protein kinazlar ve PKA, PKC, MAPK, Cl⁻ ve Ca⁺² kanalları gibi iyonik kanalların da rol aldığı bilinmektedir(9).

D vitamini çok yönlü bir sinyal molekülüdür ve kemik, kalsiyum ve fosfat homeostazisi üzerindeki klasik etkilerine ek olarak erkek üreme sistemini de etkilemektedir (68, 69). İnsan ve hayvan çalışmalarından biriken kanıtlar, D vitamininin her iki cinsiyette de üreme sisteminin birçok fonksiyonunu etkilediği desteklenmektedir (72). Metabolik D vitamini enzimleri ve D vitamini reseptörü erkek üreme sistemini döşeyen epitel hücrelerinde, spermatozoada, leydig hücrelerinde, germ hücrelerinde ve sertoli hücrelerinde bulunur (69, 70, 71). Testosteron, leydig hücreleri tarafından üretilir ve birincil ve ikincil erkek üreme özelliklerinden sorumludur. Testosteron konsantrasyonu; testiste serumdakinden 100 kat daha yüksektir ve testosteron sentezi, hipofiz bezinden luteinleştirici hormon (LH) salgılanmaya başlayıncaya kadar fetal yaşamın başlarında plasenta insan koryonik gonadotropin tarafından kontrol edilir (73). LH, leydig hücrelerinin hücre içi kalsiyum iyonlarını (Ca^{+2}) ve siklik AMP üretimini arttırarak steroidojenezi uyarır (73, 74) ve $1\alpha,25$ -dihidroksivitamin D_3 bu kalsiyuma bağımlı LH cevabını değiştirerek etkisini gösterebilir. $1\alpha,25$ -hidroksivitamin D_3 , insan spermatozoasında hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu VDR aracılığıyla artışı tetikler (75).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Başkanlığının 08.01.2014 tarihli onayı ile ve Fırat Üniversitesi Araştırma Projeleri Biriminin (FUBAP) desteği ile yapıldı. Çalışmamız Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM) birimi, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji laboratuvarları ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Merkez Laboratuvarlarında yapıldı.

4.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada materyal olarak kullanılan Wistar-Albino cinsi sıçanlar Fırat Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezinden (FÜDAM) temin edildi. Araştırma FÜDAM' da gerçekleştirildi. Deney için 250-300 gr ağırlığında 8 haftalık 30 adet Wistar-Albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Ratlar 21 ± 2 °C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık (07:00-19:00) ve 12 saat karanlık (19:00-07:00) ortamda tutularak özel kafeslerde beslenerek yaşamlarını sürdürdü. Yemler; çelik kaplarda, su; cam biberon şişelerde (çeşme suyu) verildi. Hayvanların yemleri Yem Sanayi T.A.Ş. Elazığ Yem Fabrikasında hazırlandı.

Tablo 1. Deney Hayvanlarına Verilen Rat Yeminin İçeriği

Buğday (%)	15
Mısır (%)	10
Arpa (%)	27
Kepek (%)	8
Soya (%)	29,4
Balık Unu (%)	8
Tuz (%)	0,6
Kavimix VM 23-Z (%)*	0,2
Methionin (%)	0,2
DCP (%)**	1,6

*1 gramında : 4800 IU A, 960 IU D₃, 12 mg E, 0,8 mg K₃, 0,8 mg B₁, 2,4 mg B₂, 1,2 mg B₆, 0,006 mg B₁₂ vitaminleri, 16 mg Nicotin amid, 3,2 mg Cal. D. Panth., 0,32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0,8 mg I, 0,2 mg Co, 0,06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca bulunur.

** % 18 fosfor, % 25 kalsiyum, % 0,2 flor'dan oluşur.

4.2. Kimyasal Maddeler

Çalışmada, %97 saflık derecesinde kullanılan Bisfenol A (CAS Number: 80-05-7) Alfa Aesar Kimya' dan (Almanya) temin edilmiştir. D vitamini, oral damla olarak (Devit-3, 50.000 IU) eczaneden temin edilmiştir.

4.3. Deney Gruplarının Oluşturulması ve Deneysel Uygulamalar

Çalışmada 30 adet 8 haftalık 250-300 gr ağırlığında Wistar Albino erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar ilk tartımları yapıldıktan sonra her grupta 6 adet olacak şekilde 5 gruba ayrıldı:

Grup I: Herhangi bir işlem uygulanmayan 6 adet ratın olduğu kontrol grubu.

Grup II: 4 hafta boyunca 25mg/kg/gün Bisfenol A' nın 0.5ml zeytinyağı içinde çözölerek oral gavaj yoluyla verildiği deney grubu.

Grup III: 4 hafta boyunca 25mg/kg/gün Bisfenol A' nın 0.5ml/gün zeytinyağı içinde çözülerek oral gavaj yoluyla verildikten sonra 2 hafta boyunca damla olarak verilen Vitamin D3 50IU/gün grubu.

Grup IV: 2 hafta boyunca damla olarak verilen Vitamin D3 50IU/gün grubu.

Grup V: 4 hafta boyunca 0.5ml/gün zeytinyağı oral gavajla verilen grup.

Deney süresi sonunda tüm gruplardaki ratlar intraperitoneal olarak uygulanan ketamin (75 mg/kg) + xylazine (10 mg/kg) anestezisi altında dekapite edildi. Ratlardan biyokimyasal analiz için kan örneği alındı ve daha sonra hızlıca testisleri çıkarılıp Boin Solüsyonunda 6-7 saat süreyle tespit edildi. Tespit aşamasından sonra dokular %50'lik, %60'lık ve %70'lik alkollerde 12' şer saat yıkandı. Yıkanan dokular dereceli alkol serilerinden (%80, %90, %96, %100) geçirildi. Ksilolde parlatılıp 56°C etüvde parafin infiltrasyonu yapıldı. Ardından parafin bloklara (Sigma paraplast embedding media, Stenheim, Germany) gömülme işlemi yapıldı. Bu parafin bloklardan kalınlığı 5-6 µm olan kesitler alındı. Kesitlerin bir kısmı Hematoksilen&Eozin, Periodic Acid Schiff (PAS) ve Masson Tricrom teknikleri ile boyandı. Diğer kısım kesitler immünohistokimya için hazırlandı. Hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda (Olympus BH-2) incelenip fotoğraflandı.

Tablo 2. Histolojik Takip Serileri

Sıra	İşlem	Süresi
1	% 70 Alkol	2 saat
2	% 80 Alkol	1.5 saat
3	% 96 Alkol I	30 dakika
4	% 96 Alkol II	30 dakika
5	% 100 Alkol I	30 dakika
6	% 100 Alkol II	30 dakika
7	Alkol + Ksilol	15 dakika
8	Ksilol I	10 dakika
9	Ksilol II	20 dakika
10	Yumuşak parafin + Ksilol	45 dakika
11	Yumuşak parafin	1 Saat
12	Yumuşak parafin – Sert parafin	1.5 saat
13	Sert Parafin	3 saat
14	Gömme	

4.3.1. TUNEL Metodu

Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, cat no: S7101, USA) kullanılarak apoptozise giden hücreler gözlemlendi. Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 3. TUNEL Boyama Basamakları

	İşlem	Süre
1	60°C etüv	Bir gece
2	Xylol	3x15dakika
3	% 100, % 96, % 80, % 70 etil alkol	3'er dakika
4	PBS (Phosphate Buffered Saline)	5 dakika
5	Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizilir.	
6	1: 500 dilüsyondaki Proteinaz K solüsyonu	7 dakika
7	PBS	3x5 dakika
8	Endojen peroksit blokajı	5 dakika
9	PBS	3x5 dakika
10	Equilibration tampon solüsyonu	6 dakika
11	Çalışma solüsyonu (% 77 µl Reaction Buffer + % 33 TdT Enzyme) 37 °C' de	60 dakika
12	Stop/Wash Buffer (1 ml) +Distile su (34 ml) Oda sıcaklığında	10 dakika
13	Anti-Digoxigenin-Peroxidase	30 dakika
14	PBS	3x5 dakika
15	DAB Dilution Buffer + DAB Substrate	5-10 dakika
16	PBS	3x5 dakika
17	Distile su	5 dakika
18	Harris hematoksilen	1-5 dakika
19	Distile su	5 dakika
20	% 80, % 96 ve % 100 etil alkol	1'er dakika
21	Ksilol	2x5 dakika
22	Kapatma medyumunu kullanılarak lamel ile kapatma.	

Hazırlanan preparatlar Novel N-800M mikroskobunda incelenerek değerlendirildi. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoksilen ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde

boyanmanın yaygınlığı esas alındı. TUNEL boyamanın yaygınlığı 0' dan +4' e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı (Tablo 4).

Tablo 4. TUNEL boyama yaygınlığının derecesi

Derece	Anlamı
0	Yok
+1	Çok Az
+2	Az
+3	Orta
+4	Şiddetli

4.4. İstatistiki Analiz

Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak belirlendi. İstatistiksel analiz için SPSS 22.0 paket programı kullanıldı. Gruplar arası değerlendirme Ki-Kare testi ile yapıldı.

5. BULGULAR

5.1. Histolojik Bulgular

Kontrol grubuna ait testis dokusu kesitlerinde tunika albuginea, seminifer tübül, seminifer tübüllerin germinal epiteli ve intertisyel alanda bulunan leydig hücreleri (Şekil 8) normal yapıda gözlemlendi. Seminifer tübül bazal membran kontürlerinin PAS boyamasıyla normal yapıda olduğu izlendi (Şekil 9).

Bisfenol A uygulanmış testis dokusu kesitlerinde seminifer tübüller arasındaki bağ dokuda artmış hücre infiltrasyonu alanı görüldü (Şekil 12, 13, 14). Bazı kesitlerde seminifer tübül epitel hücreleri arasında vakuoller (Şekil 12) ve ödem (Şekil 14, 15, 20), mononükleer hücre infiltrasyonu gözlemlendi (Şekil 12, 13, 14). Bazı kesitlerin seminifer tübüllerinde atrofi gözlenirken (Şekil 17, 18) bazı kesitlerde normale yakın tübüllerin yanında küçülmüş atrofik tübül izlendi (Şekil 19). Testis dokusunda seminifer tübül epitelinde oluşan boşluklu ve düzensiz görünüm izlendi (Şekil 16). Bazı kesitlerde interstisyel alanda vasküler konjesyon gözlemlendi (Şekil 20, 21). Bazı testis dokusu kesitlerinde spermatogenetik seriye ait hücrelerin lümene doğru dökülmeye başladığı (Şekil 22) bazılarında ise hücrelerin lümene döküldüğü görüldü (Şekil 23). Testis dokusunun seminifer tübülleri arasında ödem (Şekil 14, 15, 20) ve tübül epitelinde hücre sayısında azalma görüldü (Şekil 15). Testis dokusunu saran kapsülde ayrılmalar belirgindi (Şekil 10). Seminifer tübülün bazal membranında düzensiz görünüm gösteren testis dokusu izlendi (Şekil 11).

Bisfenol A uygulaması bittikten sonra D vitamininin uygulandığı grupta bisfenol grubuna göre kesitlerin daha iyi görüldüğü belirlendi. Seminifer tübüller,

tunika albuginea ve spermatogenetik seriye ait hücreler normale yakın görünümde izlendi (Şekil 24, 25) Bu gruba ait kesitler kontrol grubuna benzer yapı gösteriyordu.

D vitamini verilen grupta testis dokusu normal yapıya benziyordu. Seminifer tübüllerde ki spermatogenetik seriye ait hücrelerde herhangi bir değişiklik gözlenmedi (Şekil 26, 27, 28).

Zeytinyağı uygulanmış olan grubu kontrole benzer olarak seminifer tubuller, germinal epitelyum ve leydig hücreleri ve bazal membran normal yapıda gözlemlendi (Şekil 29, 30).

5.2. TUNEL Bulgular

Kontrol grubuna ait testis dokusundan alınan kesitlere uygulanan TUNEL immun boyamasında pozitiflik gözlenmedi (Şekil 31).

Bisfenol A verilen Grup II' de ki testis dokusunda seminifer tübül epitelinin çoğunluğu TUNEL negatifken, nadir sayıda TUNEL pozitiflik gösteren hücreler mevcuttu ve boyanmanın şiddeti +1 olarak değerlendirildi (Şekil 32).

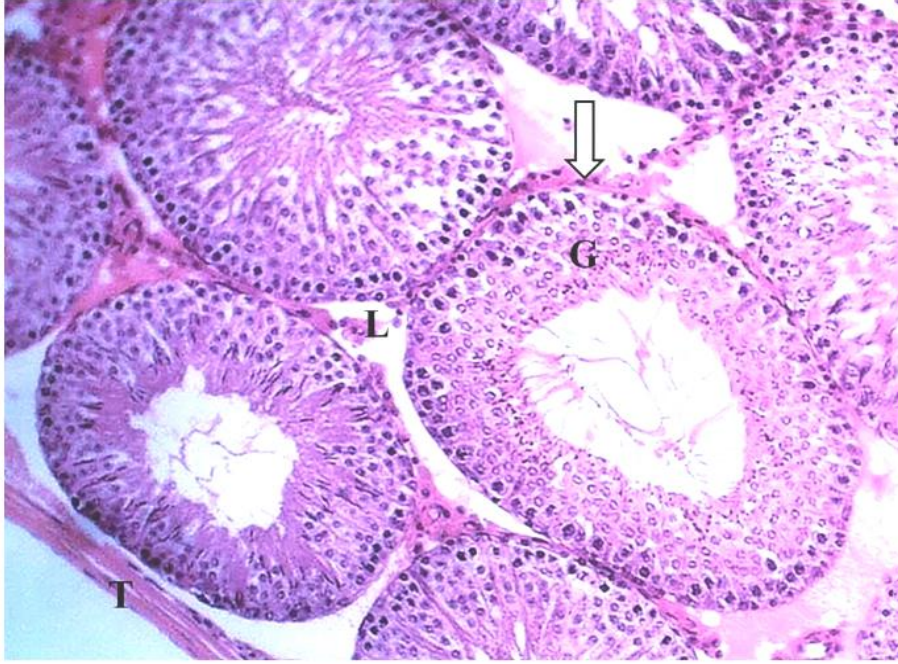
Bisfenol A uygulamasından sonra D vitamininin verildiği Grup III' de testis dokusundan alınan kesitlerde TUNEL immun boyamasında pozitiflik görülmedi (Şekil 33).

D Vitamini verilen Grup IV' den alınan kesitlere uygulanan TUNEL immun boyama negatifti (Şekil 34).

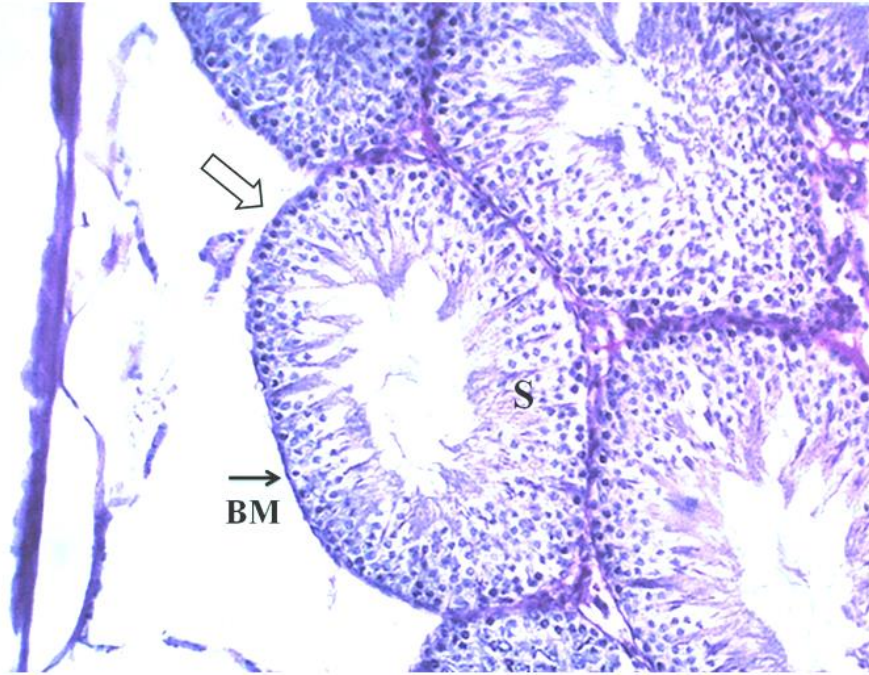
Zeytinyağı uygulaması yapılan Grup V' de ki testis doku kesitlerinin TUNEL immun boyamasında pozitiflik görülmedi (Şekil 35).

5.3. İstatistik Analiz Sonuçları

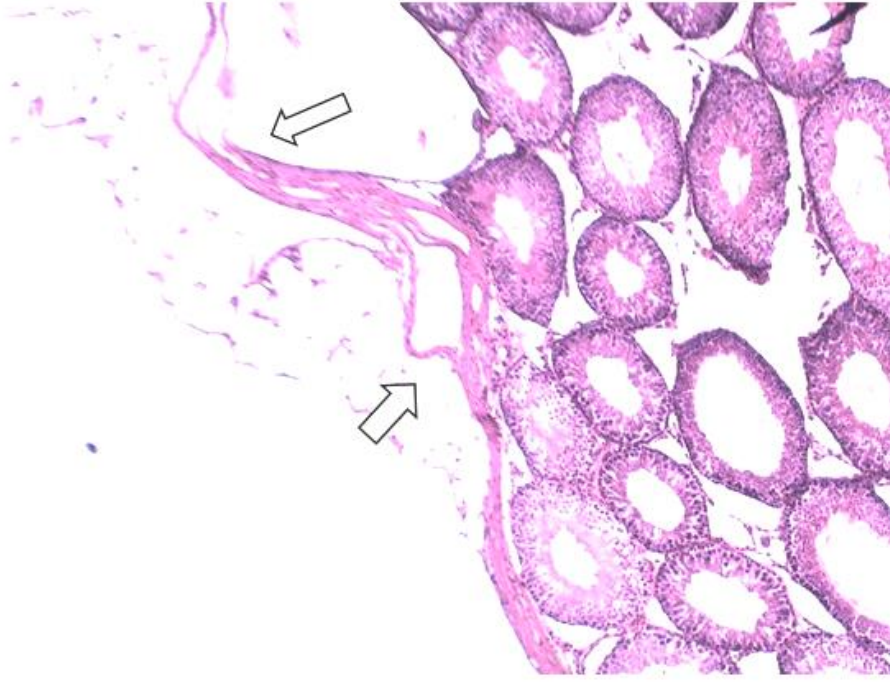
SPSS 22.0 Paket programı ile elde edilen verilere uyguladığımız Ki-kare testinde $p>0.05$ olarak çıktığı için gruplar arasındaki fark istatistiksel açıdan anlamsız olarak değerlendirildi.



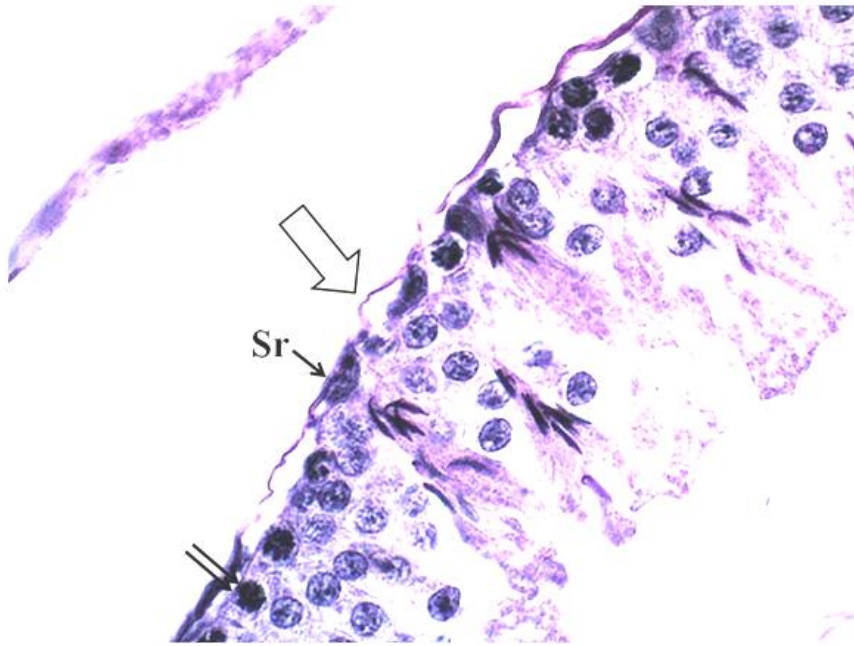
Şekil 8. Kontrol grubuna ait normal yapıdaki sıçan testis dokusu. Seminifer tübül (ok), G: Germinatif epitel, T: Tunika Albuginea, L: Leydig hücreleri. H.E X10



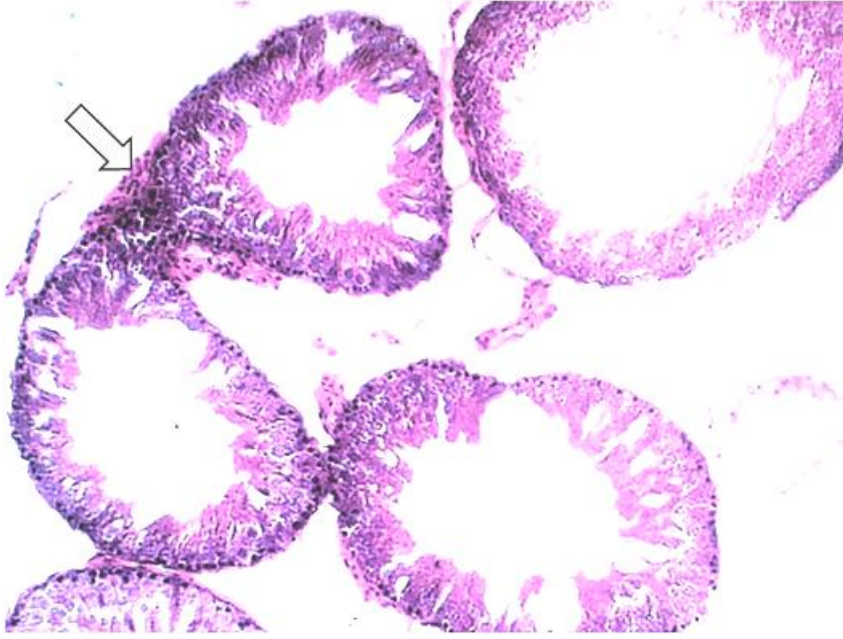
Şekil 9. Kontrol grubuna ait normal yapıdaki sıçan testis dokusu. Ok: Seminifer tübül, S: Seminifer epitelyum, BM: Bazal Membran K: Kapsül. PAS X10



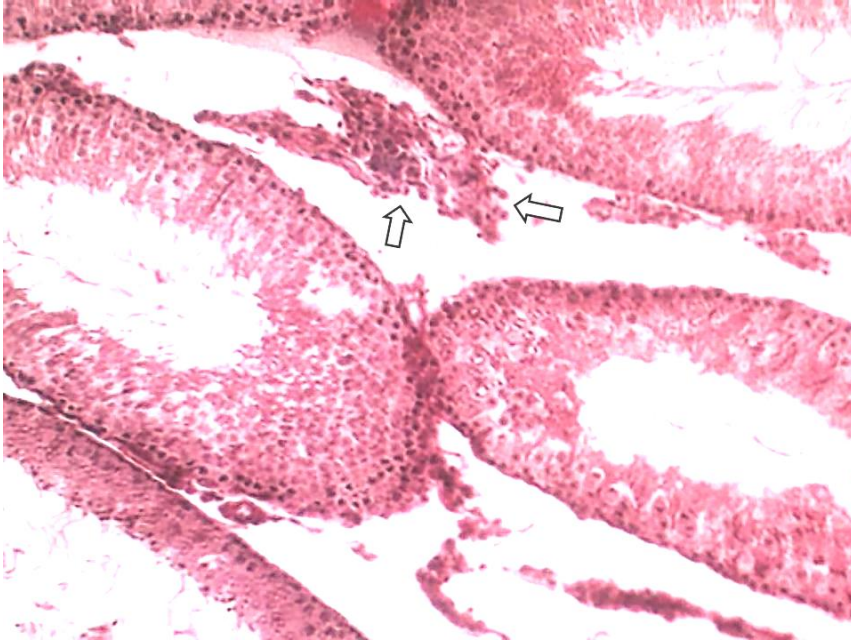
Şekil 10. Grup II. Bisfenol A uygulamasına bağlı olarak testis dokusunda kapsülde gözlenen ayrılmalar (ok). H.E X4



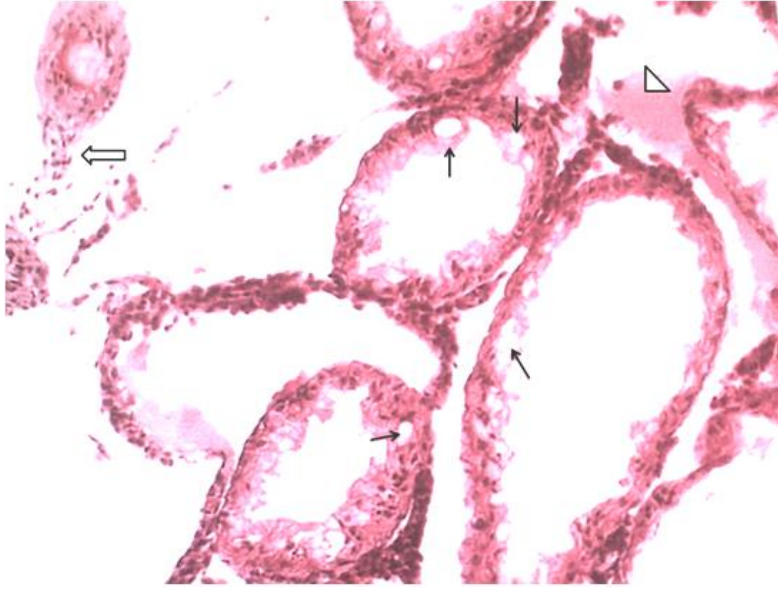
Şekil 11. Grup II. Bisfenol A uygulanmış testis dokusunda seminifer tübül bazal laminasında (büyük ok) düzensiz görünüm. Sr: Sertoli Hücresi, Çift ok: spermatogonia. PAS X40



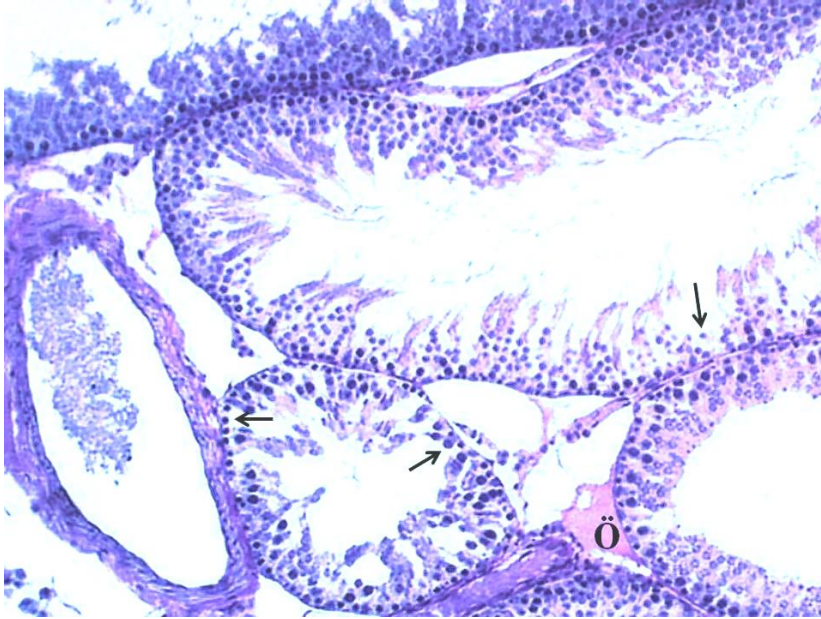
Şekil 12. Grup II. Bisfenol A uygulamasına bağlı olarak testis dokusunun seminifer tübülleri arasındaki bağ dokuda artmış hücre infiltrasyonu alanı (ok). H.E X10



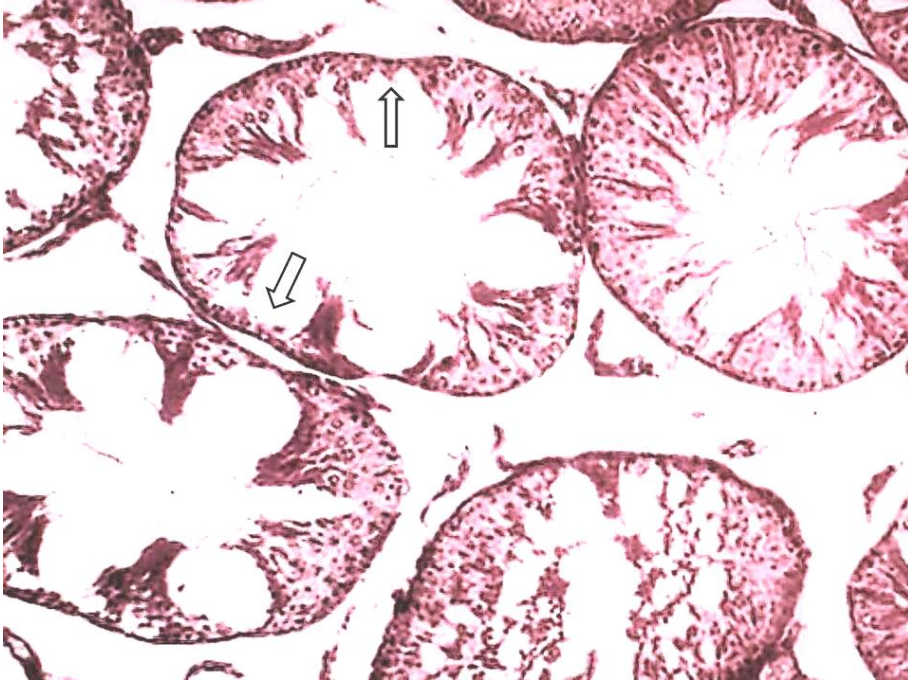
Şekil 13. Grup II. Bisfenol A uygulanmış testis dokusunda seminifer tübüller arasında ki mononükleer hücre artışı (ok). Masson'un üçlü boyası X10



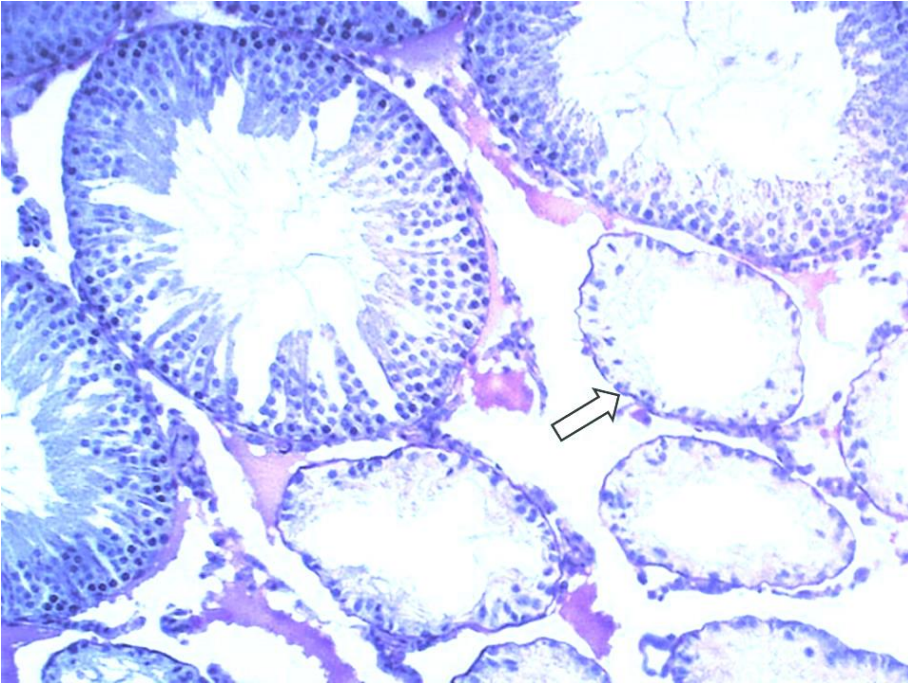
Şekil 14. Grup II. Bisfenol A uygulanmış testis dokusunda seminifer tübül epitel hücreleri arasında vakuoller (ok) ve ödem (ok ucu), mononükleer hücre infiltrasyonu (büyük ok). Masson' un üçlü boyası X10.



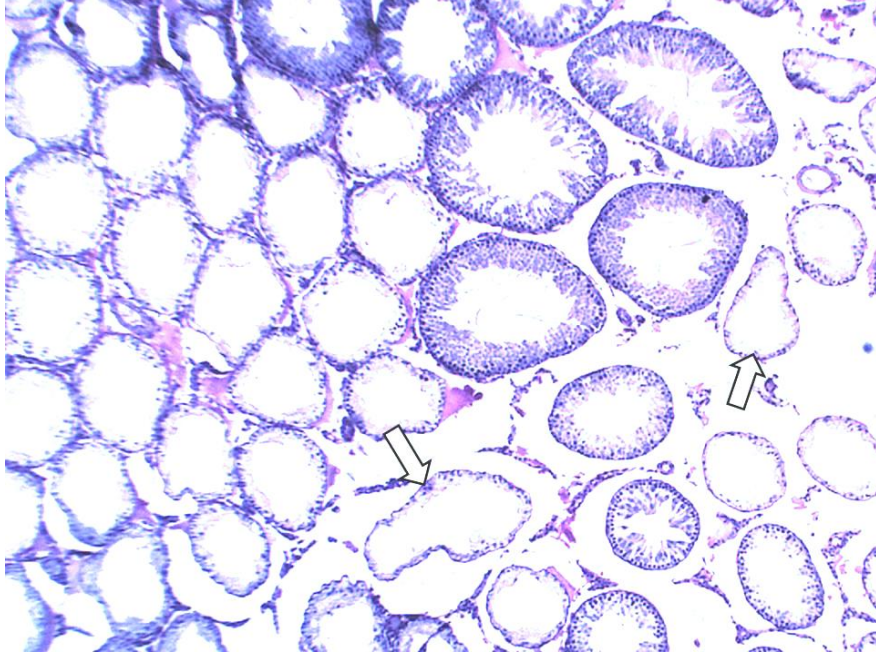
Şekil 15. Bisfenol A uygulanmış testis dokusunda ödem (Ö) ve seminifer tübül epitelinde hücre sayısında azalma (ok). PAS X10



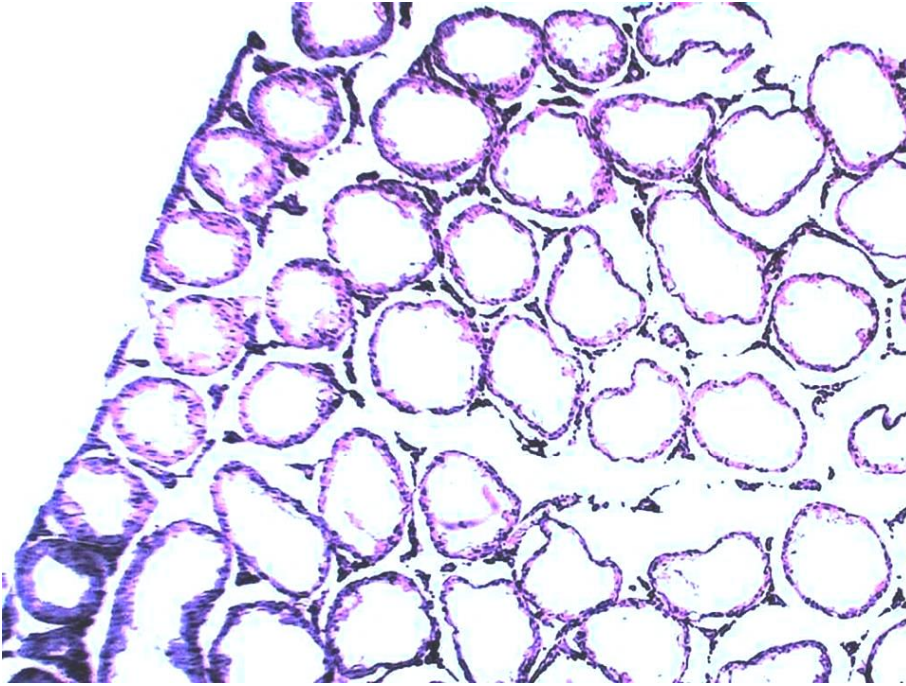
Şekil 16. Grup II. Bisfenol A uygulanmış testis dokusunda seminifer tübül epitelinde oluşan boşluklu, düzensiz görünüm (ok). Masson'un üçlü boyası X10



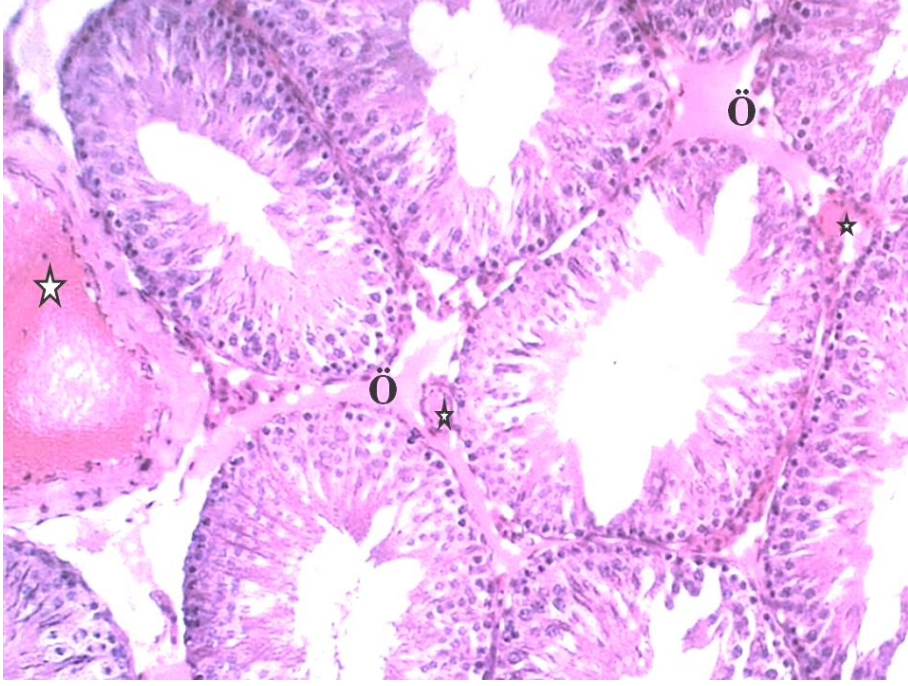
Şekil 17. Grup II. Bisfenol A uygulamasına bağlı olarak testis dokusunda normale yakın tübüllerin yanında küçülmüş atrofik tübül yapısı (ok). PAS X10



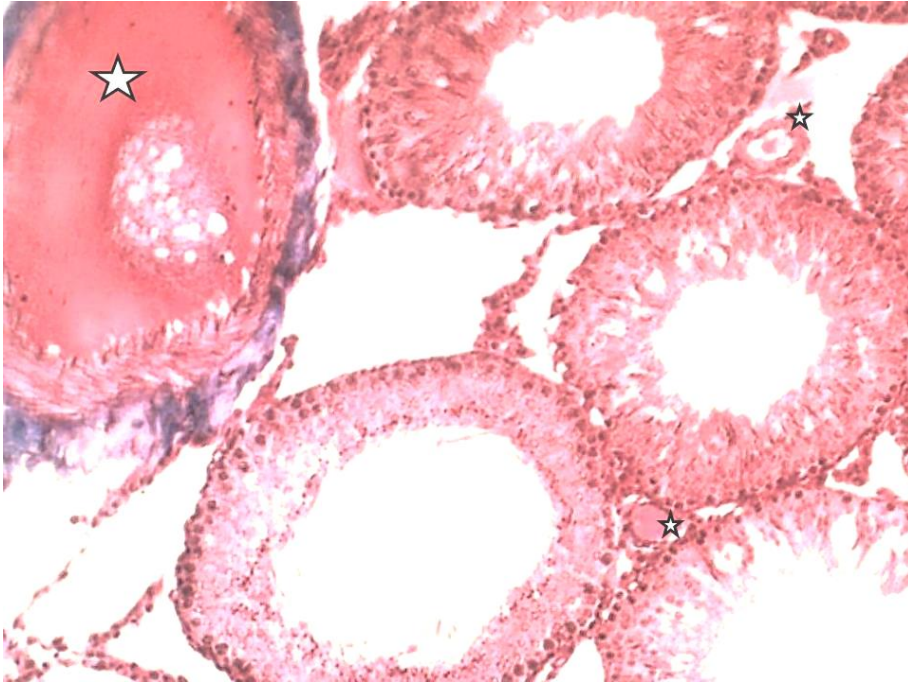
Şekil 18. Grup II. Bisfenol A uygulamasına bağlı olarak testis dokusunda seminifer tübül epitelinde ki atrofi (ok). PAS X10.



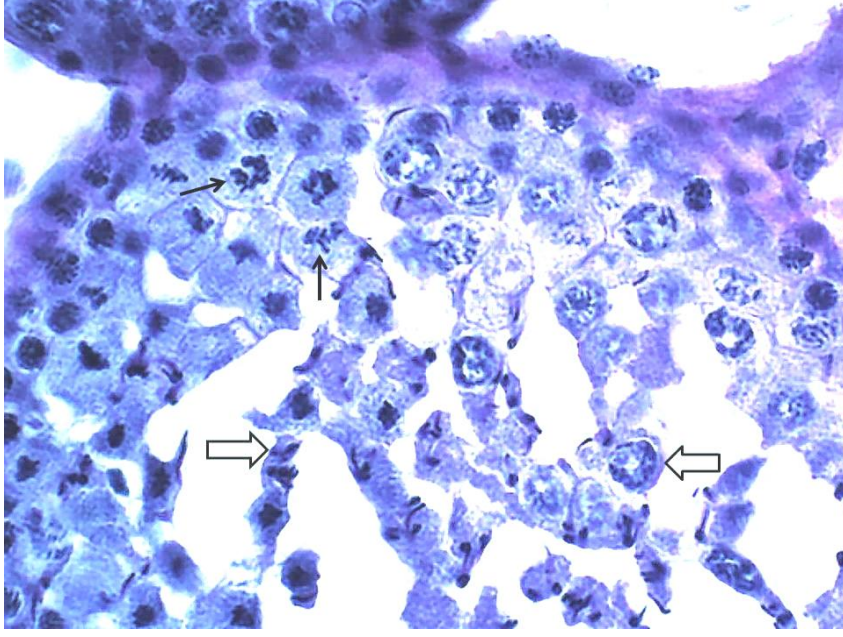
Şekil 19. Grup II. Bisfenol A uygulanmış testis dokusunda düzensiz görümlü seminifer tübüller. PAS X4



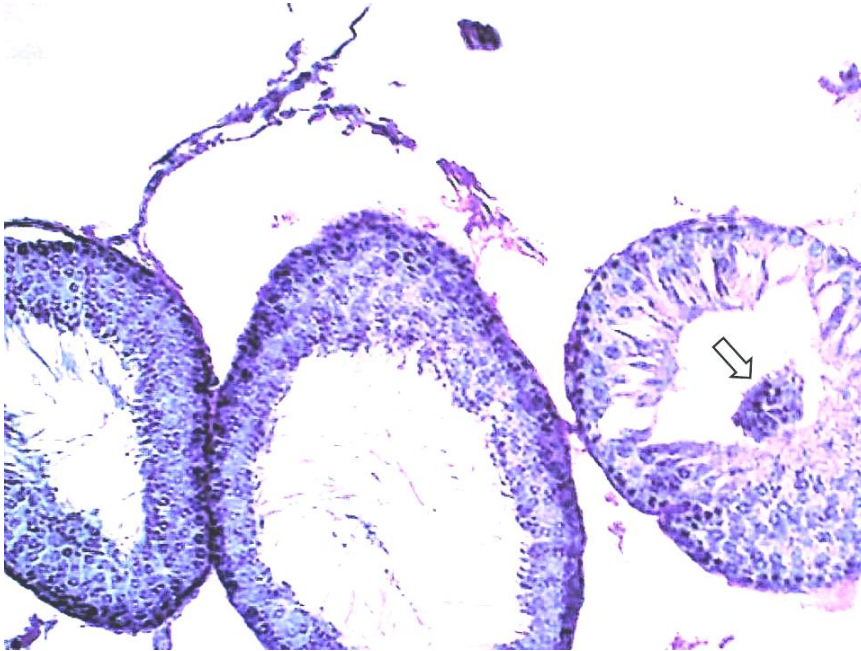
Şekil 20. Grup II. Bisfenol A uygulanmış testis dokusunda interstisyel alanda ödem (Ö) ve vasküler konjesyon (☆) . H.E X10



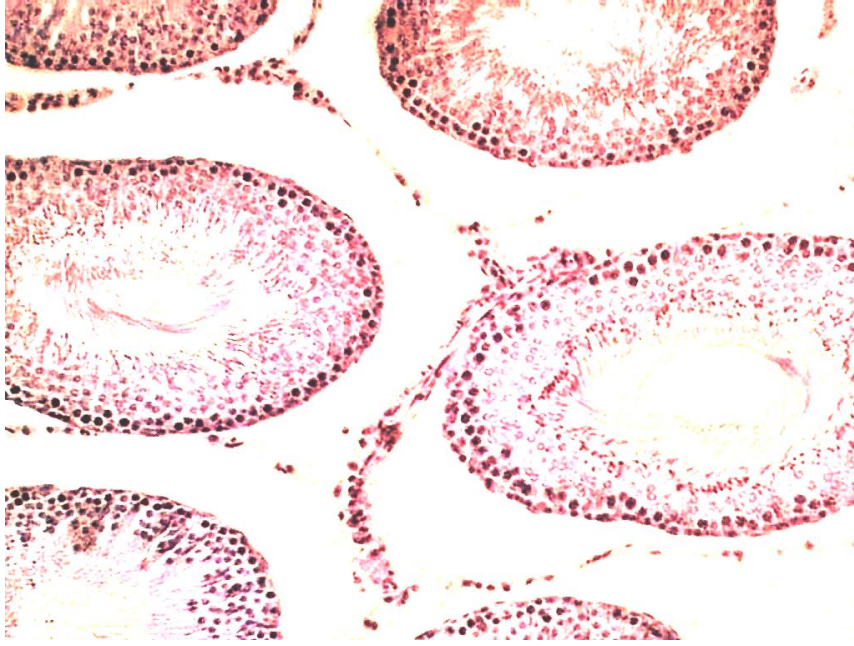
Şekil 21. Grup II. Bisfenol A uygulamasına bağlı olarak testis dokusunda interstisyel alanda vasküler konjesyon (☆). Masson'un üçlü boyası X10.



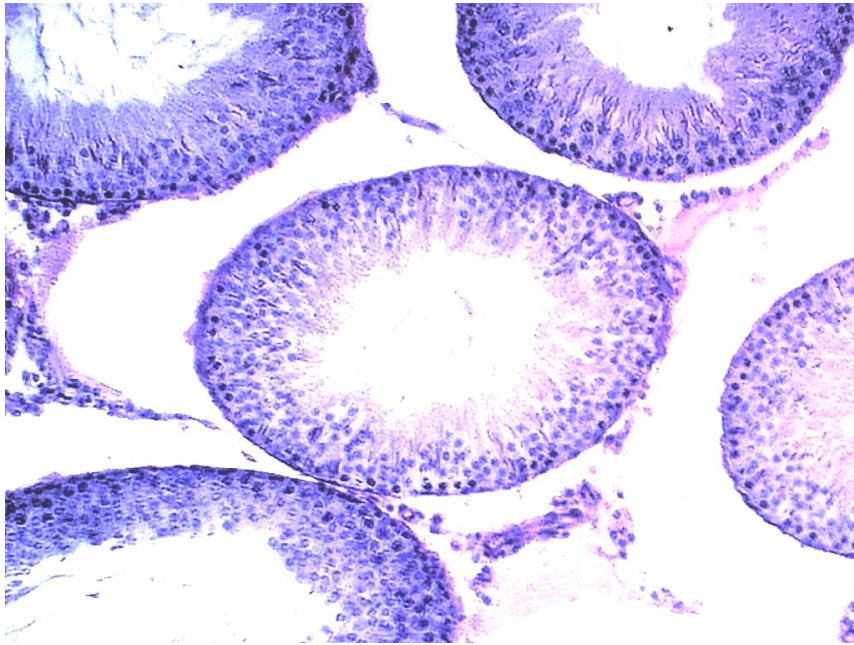
Şekil 22. Grup II. Bisfenol A uygulanan testis dokusunda spermatogenetik seriye ait lümene dökülmekte olan hücreler (büyük ok), mitotik figürler gösteren spermatositler (ok). PAS X40.



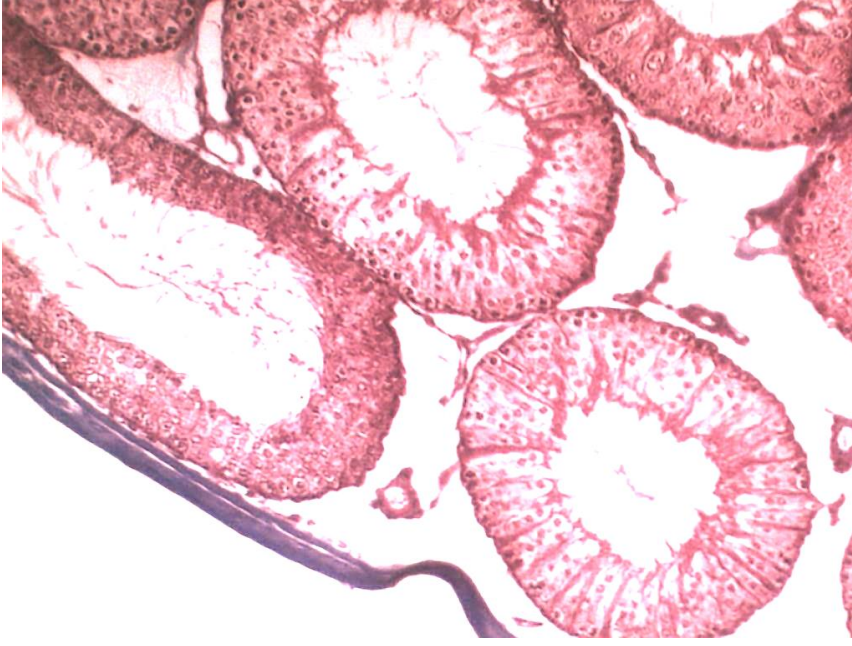
Şekil 23. Grup II. Bisfenol A uygulanmış testis dokusunda lümene dökülmüş olan spermatogenetik seri hücreleri (ok). PAS X10



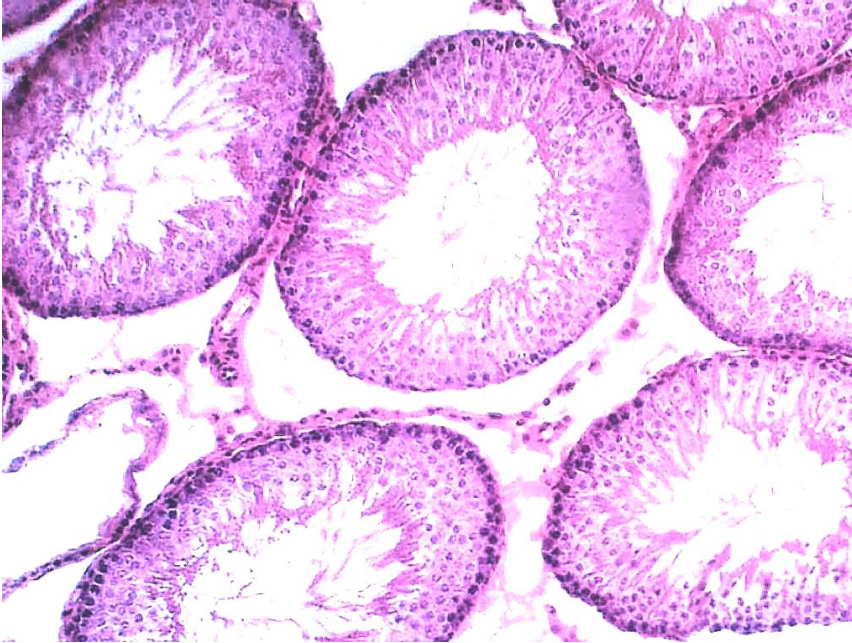
Şekil 24. Grup III. Bisfenol A uygulamasından sonra D vitamini uygulanan grupta seminifer tübül ve germinal epitelyum yapısı normale yakın görünümdeki testis dokusu. Masson' un üçlü boyası X10.



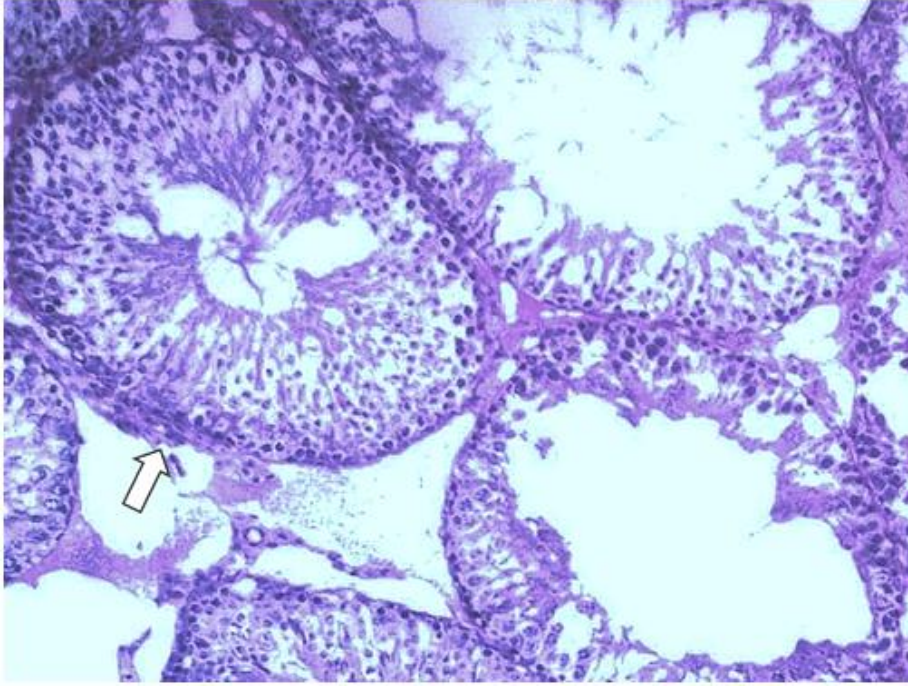
Şekil 25. Grup III. Bisfenol A uygulamasından sonra D vitamini uygulanan grupta testis dokusu. PAS X10



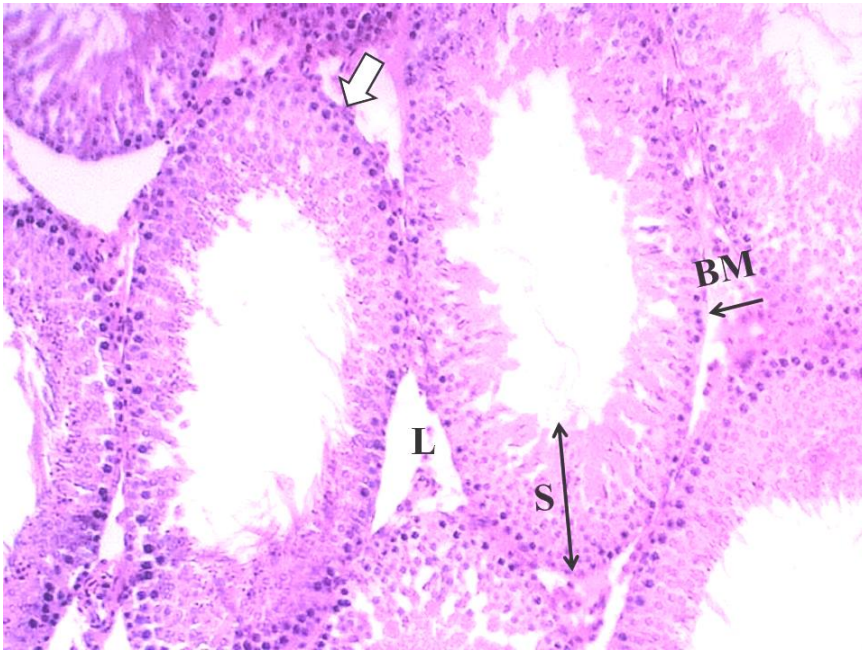
Şekil 26. Grup IV. D vitamini uygulanan grupta normal görünümlü testis dokusu
Masson'un üçlü boyası X10



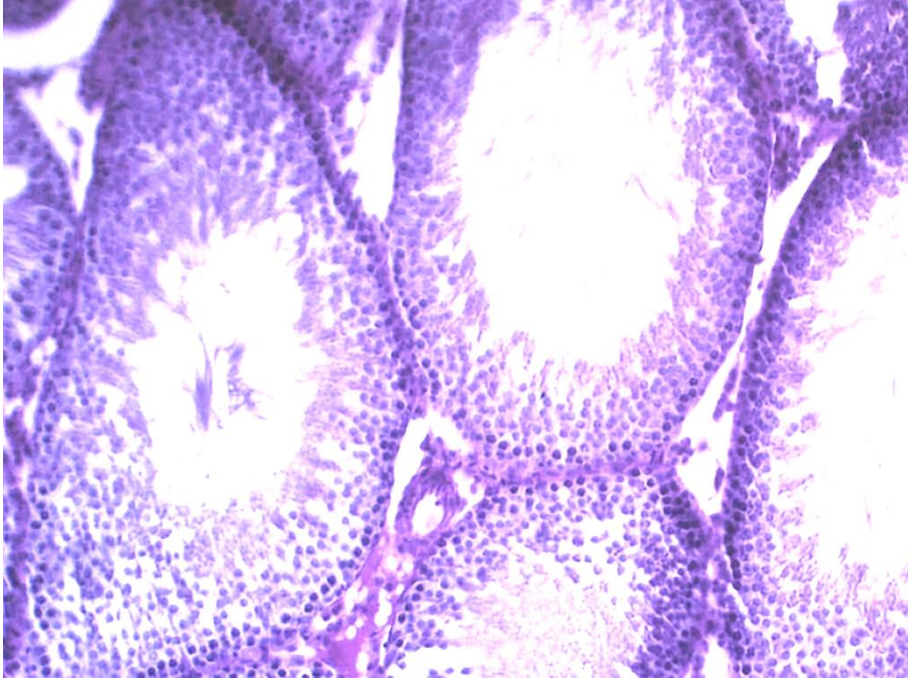
Şekil 27. Grup IV. D vitamini uygulanan grupta testis dokusunda normal görünümlü
seminifer tübül yapısı. H.E X10



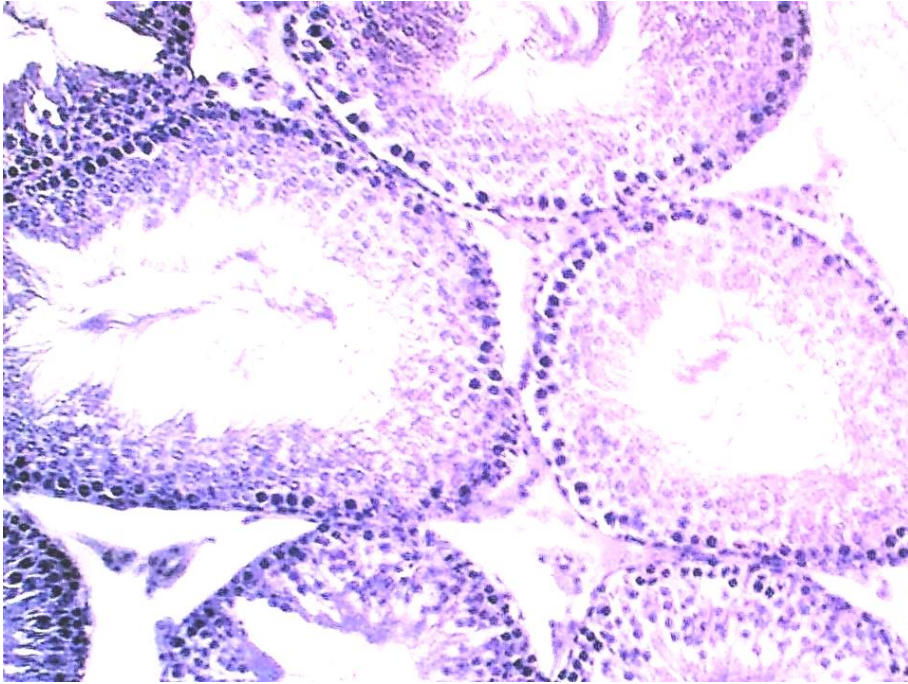
Şekil 28. Grup IV. D vitamini uygulanan grupta testis dokusunda normale yakın görünümdeki seminifer tübüller (ok). PAS X10



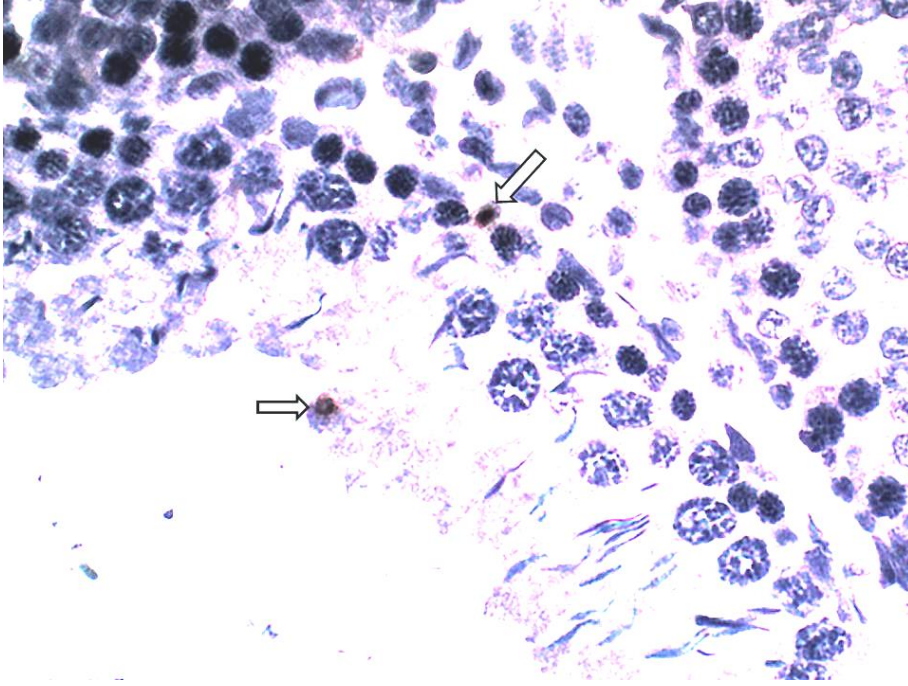
Şekil 29. Grup V. Zeytinyağı verilmiş olan grupta testis dokusunda ki seminifer tübül (ok) ve seminifer epitelyum (S) normal görünümündedir. L: Leydig hücreleri, BM: Bazal membran. H.E X10



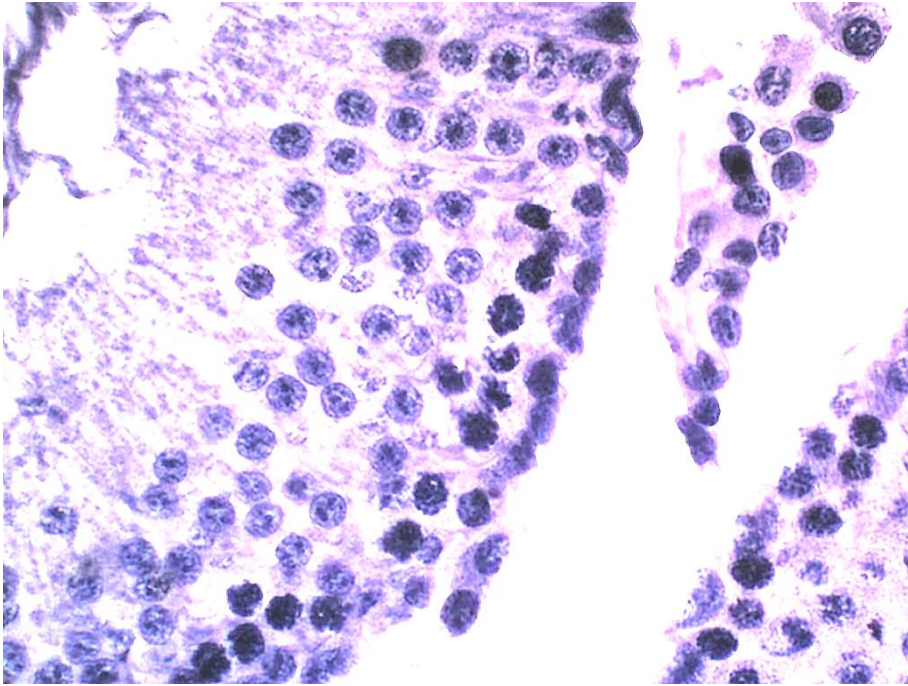
Şekil 30. Grup V. Zeytinyağı verilmiş olan grupta testis dokusunda normal görünüm.
PAS X10



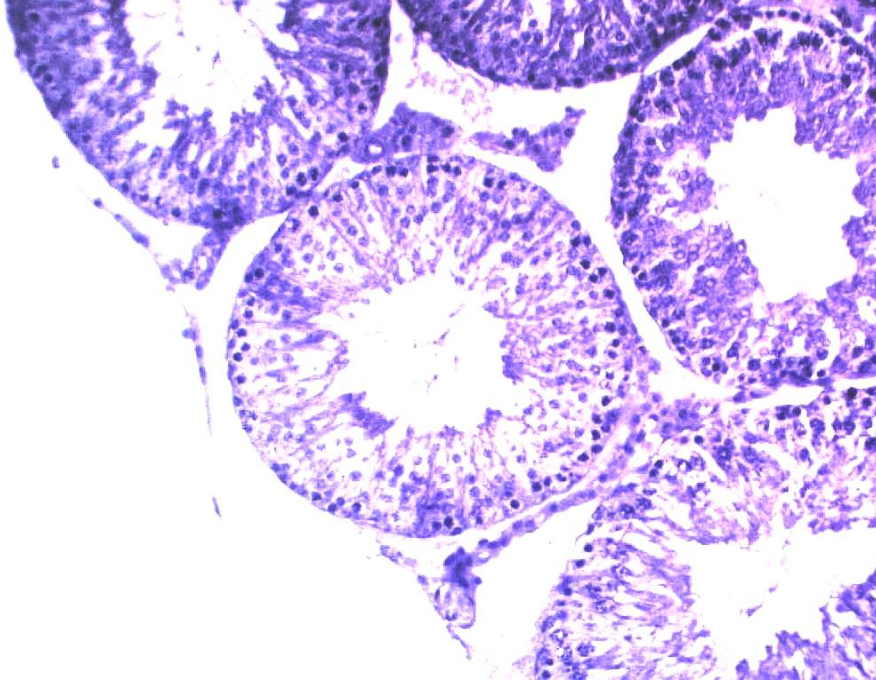
Şekil 31. Kontrol grubu testis dokusu TUNEL negatif seminifer tübüller. X10



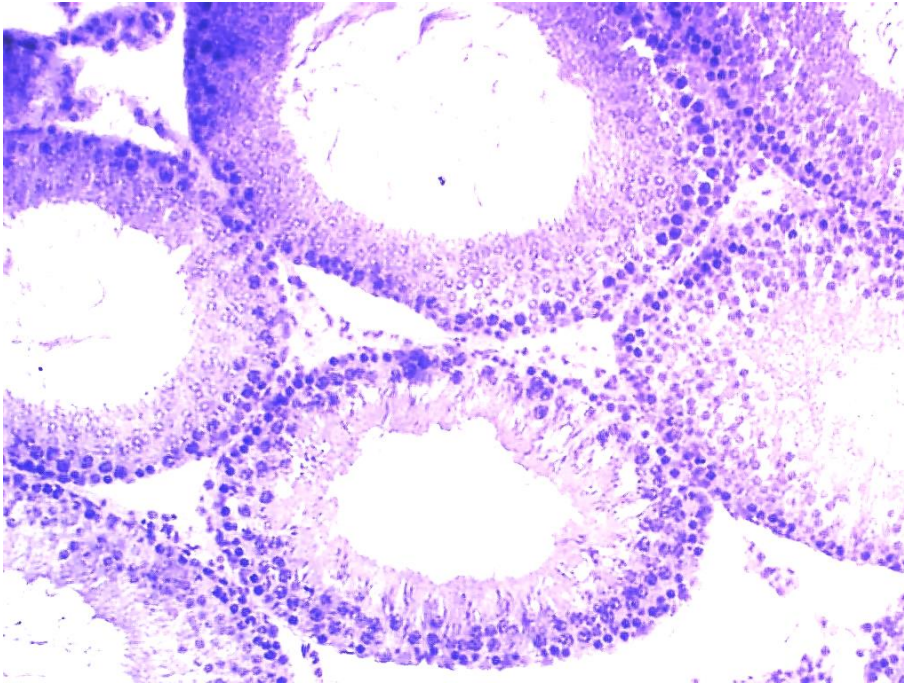
Şekil 32. Grup II. Bisfenol A uygulaması. Çok sayıdaki negatif hücrelerin yanı sıra seminifer tübül epitelinde nadir gözlenen TUNEL pozitif hücre (ok). X40



Şekil 33. Grup III. Bisfenol A uygulamasından sonra D vitamini uygulanan grupta seminifer tübül epitelinde TUNEL boyanma negatiftir. X40.



Şekil 34. Grup IV. D vitamini uygulanan grupta testis dokusunda TUNEL boyanma negatif. X10



Şekil 35. Grup V. Zeytinyağı verilmiş olan grupta TUNEL negatif boyanma. X10

6. TARTIŞMA

Bisfenol A' nın gelişim ve üreme üzerine olan toksik etkileri yıllardır bilim insanlarının araştırma konuları arasında yer almıştır ve farklı canlılarda BFA' nın olası etkileri üzerinde çalışmalar yapılmıştır (76). Bu çalışmada ise; çevresel östrojenlerden BFA' nın erişkin erkek sıçanlarda oluşturabileceği testiküler hasarı ve bu hasar üzerine D vitamininin olası etkilerini incelenmeyi amaçladık.

Li ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmaya göre; mesleki olarak BFA' ya maruz kalanların erkek cinsel fonksiyonlarının etkili olduğu tüm alanlarda cinsel bozukluğa uğrama ihtimalleri, BFA' ya maruz kalmayan çalışanlara göre 4-7 kat daha yüksek çıkmıştır (7).

Takahashi ve Oishi tarafından yapılan başka bir çalışmada, erişkin farelerin 4 hafta boyunca 20 mg/kg BFA ile karşılaşması sonucunda günlük sperm üretiminde, total sperm sayılarında ve serum testosteron düzeyinde azalma bildirilmiştir (77). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada ise serum testosteron seviyesinde azalma olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşmadı.

Erkek sıçanlarda düşük doz BPA ile karşılaşmanın testiküler ve epididimal ağırlıkta azalma ile karakterize, sperm üretimi ve fertilitede azalma gözlemlendiği saptanmıştır (78).

Hatef ve arkadaşları BFA' nın erkek japon balıklarının üreme psikolojisi üzerine etkilerini araştırmışlardır. Sonuçta BFA' nın sperm motilitesi ve hızı üzerine ters etkiler oluşturduğunu belirlemişlerdir (79).

Kogo ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, erişkin ratlara 14 gün boyunca 1 mg/kg BFA uygulanmasından sonra yapılan incelemelerde testosteronun

plazmada ki konsantrasyonunun azaldığı gözlemlenmiştir. Bu azalmanın sebebinin ise Leydig ve Sertoli hücrelerinin hasar görme ihtimaline bağlanmışlardır (80). Bizim histolojik incelemelerimiz sonucunda ise; interstisyel alanda ki hücrelerde mononükleer hücre infiltrasyonunun interstisyel alanda Leydig hücrelerini hasara uğrattığı testosteron düzeyinde azalmaya neden olabileceğini bize düşündürmüştür.

2001 yılında Paul tarafından yapılan bir çalışmada BFA uygulaması yapılmış gruplar arasında farklı derecelerde seminifer tübül dejenerasyonuna ve lümen içerisine dökülmüş hücrelere rastlanmıştır (81). Çalışmamızda ise bu çalışmadaki bulgularla örtüşecek sonuçlar gözlemledik. Seminifer tübüllerde vakuollü atrofik tübüllere ve interstisyel alanda ödeme rastladık.

Ma ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, erişkin erkek hamsterlara 1 hafta boyunca 1.0 mg/kg BFA verilmiş grubun germ hücrelerinde azalma ve seminifer tübüllerde bozulmalara rastlanmıştır. Ayrıca spermatositlerde ve spermatidlerde ki apoptotik hücre sayısında önemli bir artış kaydedilmiştir (82). Bizim çalışmamızda, BFA'nın doz ve süresi daha fazla olmasına rağmen apoptotik hücre sayısı yok denecek kadar azdı.

2012 yılında yapılan başka bir çalışmada, erişkin Wistar albino cinsinde ki ratlara 8 hafta boyunca 50 mg/kg BFA uygulanmasının sonucunda testis dokusunda; birçok düzensiz seminifer tübüle ve apoptotik hücrelere rastlanmışlardır. Hücreler arası alanda ve epitelyum tabakasında hücre sayısında azalmanın olduğu görülmüştür (83). Bizim yapmış olduğumuz çalışmada ise; 4 hafta boyunca 25 mg/kg BFA uygulanmasının sonucunda testis dokusunun seminifer tübüllerinde; boşluklu- düzensiz görünüm, epitelde ki hücre sayısında azalmalar ve atrofik tübül yapısı

gözlemledik. Bizim BFA verdiğimiz doz ve süre daha azdı ve rastladığımız apoptotik hücre sayısı da yok denecek sayıdaydı.

Ghazzawy ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, intertisyel alandaki bazı kan damarlarında konjesyon ve seminifer tübüllerde vakuoller rapor edilmiştir (84). Biz çalışmamızda da, intertisyel alanda vasküler konjesyon ve seminifer tübüllerde vakuoller gözlemledik.

Yapılan sayısız çalışmalarda; üreme organlarının fonksiyonları üzerinde farmakolojik ajanların, vitaminlerin, endokrin bozucuların, hormonların ve beslenmenin etkisinden bahsedilmiştir ve erişkin testisinin bu gibi etkilere karşı oldukça hassas olduğu belirtilmiştir (85). İnsan fertilitesinde D vitamininin önemli rolü olduğuna dair birkaç kanıt vardır (86) fakat D vitamininin erkek üreme fonksiyonları için gerekli olduğu hala net bir şekilde kanıtlanmamıştır. İnsan ve hayvan çalışmalarından elde edilen kanıtlar daima D vitamini ve üreme sistemi arasındaki ilişkiyi düşündürmüştür (87). Yapılan bazı çalışmalarda, D vitamini eksikliğinin üremede azalmaya sebep olabileceği desteklenmiştir (68, 69).

Blomberg Jensen ve arkadaşlarının 300 erkekle yapmış olduğu bir çalışmada, yeterli D vitamini seviyesine sahip olan bireylerin spermatozoalarının D vitamini eksikliği olan bireylere göre daha normal morfolojik yapıya sahip olduğu bildirilmiştir. Ayrıca in vitro şartlarda D vitamini reseptörü aracılığı ile spermatozoanın hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artırıldığında sperm hareketliliğinde artış gözlemlenmiş ve akrozom reaksiyonunun tetiklendiği görülmüştür (88). Ancak yapılan farklı bir çalışmada, 307 genç sağlıklı erkekte D vitamini seviyesi yükseldikçe normal sperm morfolojisi yüzdesinde ve toplam sperm

sayısında düşüş eğiliminin olduğu bulunmuştur (89). Daha önce yapılan başka bir çalışmada ise D vitamini tedavisinin testosteron seviyesini artırabileceği ihtimali olduğu söylenmiştir (90).

Kidroni ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, D vitamini öncüllerinin enjeksiyonundan sonra diğer organlara göre rat testisi ve epididimisinde yüksek konsantrasyonda bulunan 25-dihidroksivitamin D₃ ve 1 α ,25-dihidroksivitamin D₃' ün olağan D vitamini yanıtını değiştirebileceği gösterilmiştir (90).

2014 yılında yapılan bir araştırmada ise; D vitamini reseptörü seviyesinin sperm kalitesi için pozitif bir işaret olduğu belirtilmiş ve 1 α ,25-dihidroksivitamin D₃' ün insan spermatozoasında hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun VDR aracılığı ile artışını tetiklediğini ve aktif spermatozoada akrozom hareketinin başlamasına ya da hareketliliğin artmasına neden olabileceği rapor edilmiştir (91).

Yapmış olduğumuz çalışmamızda, 4 hafta boyunca BFA verdikten sonra 2 hafta boyunca tedavi amaçlı olarak verdiğimiz D vitamininin olası etkilerini inceleyebilmek için BFA verdiğimiz (Grup II) grubun testis dokusunda oluşan hasarı ve tedavi grubumuzu (Grup III) histolojik olarak ışık mikroskobu altında karşılaştırdık. Yaptığımız incelemeler sonucunda Bisfenol verilen (Grup II) grupta ki hayvanlara ait testis dokusunun seminifer tübüllerinde atrofiye, mononükleer hücre artışına ve ödem oluşumuna rastladık. Fakat D vitamini verilen (Grup III) gruba ait testis dokusunun seminifer tübülleri kontrol grubuna benzer yapı gösteriyordu. BFA uygulanan grubun (Grup II) testis dokusunun tunica albuginea tabakasında ve tübüllerin bazal laminasında ayrılmalar varken tedavi grubumuzda (Grup III) bu tabakalarda herhangi olumsuz bir değişiklik gözlemedik. BFA grubunun (Grup

II) TUNEL boyamasında azda olsa apoptotik hücre görülürken tedavi grubunda apoptotik hücreye rastlanmadı. Literatürde, erkek üreme sisteminde oluşan testiküler hasarın tedavisinde D vitamininin olası etkilerini histolojik olarak araştıran çalışmalara rastlamadığımız için bulgularımızı başka verilerle karşılaştıramadık fakat yaptığımız çalışmanın sonucunda D vitamininin testis dokusunda oluşan hasara karşı olumlu yanıt verdiğini gözlemledik.

Sadece D vitamini verdiğimiz gruptaki (Grup IV) hayvanların testis dokusu, morfolojik olarak kontrol grubu ile benzerlik göstermektedir.

Sadece zeytinyağı verdiğimiz grubun (Grup V) testis dokularında anomaliye rastlamadık ve kontrol grubuna benzer yapıda olduğunu gördük.

Bütün bu histolojik veriler göz önüne alındığında, BFA' nın belirgin histopatolojik değişikliklere yol açtığını gözlemledik ve bu değişikliklere bağlı olarak BFA maruziyetinin infertiliteye neden olabileceği düşüncesindeyiz. BFA' dan sonra tedavi amacı ile kullanılan D vitamininin ise bozulan testis morfolojisini kontrol grubuna yakın düzeylere getirebildiğini gördük. Bu sebeple D vitamininin erkek üreme sisteminde bulunan testiküler hasarın tedavisinde kullanılabilme ihtimalinin dikkate alınması gerektiğini düşünmekteyiz. Buna rağmen bu değişikliklerin mekanizmasının iyi anlaşılabilmesi için ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir. Sonuç olarak, bu tez çalışmamızda elde edilen bulguların üreme tıbbı, infertilite ve yardımcı üreme teknikleri alanlarında testiküler hasar konularında yapılacak olan histolojik, histopatolojik ve endokrinolojik çalışmalara referans veriler olarak kullanılabilir olması ve aynı zamanda bilimsel birikime katkı oluşturması açısından önem arz etmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Halden RU. Plastics and health risks. *Annu Rev Public Health* 2010; 31: 179-194.
2. Mihaich EM, Friederich U, Caspers N, Hall AT, Klecka GM, Dimond SS, et al. Acute and choronic toxicity testing of Bisphenol A with aquatic invertebrates and plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2009; 72: 1392-1399.
3. Er B, Sarımehtetoğlu B. Gıdalarda bisfenol A varlığının değerlendirilmesi. *Vet Hekim Der Derg* 2011; 82: 69-74.
4. Sheehan DM. Activity of environmentally relevant low doses of endocrine disruptors and the bisphenol A controversy: Initial results confirmed. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 2000; 224: 57-60.
5. Markey CM, Michaelson CL, Sonnenschein, C, Soto AM. Alkylphenols and bisphenol A as environmental estrogens. *The Handbook of Environmental Chemistry Vol. 3, Part L Endocrine Disruptors, Part i* (ed. by M.Metzler) Springer- Verlag Berlin Heidelberg 2001: 3; 129-153.
6. Richter CA, Birnbaum LS, Farabollini F, Newbold RR, Rubin BS, Talsness CE, Vandenbergh J.G, Walser-Kuntz DR, Vom Saal FS. In vivo effects of bisphenol A in laboratory rodent studies. *Reprod Toxicol* 2007; 24: 199-224.
7. Li D, Zhou Z, Qing D, He Y, Wu T, Miao M, et al. Occupational exposure to bisphenol-A (BPA) and the risk of self-reported male sexual dysfunction. *Human Reproduction* 2010; 25: 519-527.
8. Yılmaz M, Yılmaz N. D Vitamininin beyindeki rolü ve ilişkili nörolojik hastalıklar. *Journal of Clinical and Experimental Investigations. JCEI /* 2013; 4: 411-415.
9. Özbey İ, Ziypak T, Adanur Ş. Vitamin D ve üreme sistemi. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2012; 8: 134-7.
10. Junquera LC, Carneiro J. Temel Histoloji. Aytekin Y, Solakoğlu S. (Çeviri Editörleri), İstanbul : Nobel Tıp Kitapevleri, 2009.
11. <http://www.kaanaydos.com.tr/seminifer-tubuller-sertoli-hucreleri-testislerin-gelismesi-ve-spermatogenez.html>
12. Eroschenko P.V. Di Fiore's Atlas of Histology with Functional Correlations. 8th ED., 1996.
13. <http://www.siumed.edu/~dking2/erg/RE028b.htm>
14. <http://www.dicle.edu.tr/Contents/01baef8f-7b2e-4395-afc0-3132c45538c9.pdf>
15. http://www.histology.leeds.ac.uk/male/sertoli_cells.php
16. http://www.slideshare.net/subhajithajra/histology-of-male-reproductive-system-fa2214-2f32-4c22-872d-e9ce6e6d18bb&v=qf1&b=&from_search=5
17. <http://dergipark.ulakbim.gov.tr/arsiv/article/viewFile/5000072640/5000066887>
18. Sadler TW. Langman' s Medikal Embriyoloji, Başaklar C. (Çeviri Editörü). 9. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, 2005.

19. Moore KL, Persaud TVN. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. Dalçık H., Yıldırım M. (Çeviri Editörleri). 8. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2009.
20. Ross MH, Pawlina W. Histology A Text And Atlas. 5th Ed., Baltimore, Philadelphia: Lippincott, 2006.
21. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. Ankara: Güneş Kitabevi, 1997.
22. Shi Y, Lafontaine C, Berube M. Determination of Bisphenol A in Infant Formula by Automated Sample Preparation and Liquid Chromatography-Mass Spectrometry. Thermo Fisher Scientific, Franklin, MA, USA, 2009.
23. <http://tr.wikipedia.org/wiki/Bisfenol%2520A?oldid=14093123>
24. <http://www.northcarolinahealthnews.org/2012/04/02/local-scientists-in-the-middle-of-the-bpa-debate/>
25. Huang YQ, Wong CKC, Zheng JS, et al. Bisphenol A (BPA) in China: a review of sources, environmental levels, and potential human health impacts. Environ Int. 2012; 42: 91-99.
26. Olea N, Pulgar R, Pérez P, et al. Estrogenicity of resin-based composites and sealants used in dentistry. Environ Health Perspect. 1996; 104:298–305.
27. Eladak S, Grisin T, Moison D, et al. A new chapter in the bisphenol A story: bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound. Elsevier Inc. 2015; 103(1): 11-21.
28. Zalko D, Jacques C, Duplan H, et al. Viable skin efficiently absorbs and metabolizes bisphenol A. Chemosphere 2011; 82: 424-30.
29. Bailin PD, Byrne M, Lewis S, Liroff R. Public awareness drives market for safer alternatives: bisphenol A market analysis report. IEHN 2008: 1-37.
30. Vandenberg LN, Maffini MV, Sonnenschein C, et al. Bisphenol-A and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine disruption. Endocr Rev 2009; 30(1):75–95.
31. Cao XL, Perez-Locas C, Dufresne G, et al. Concentrations of bisphenol A in the composite food samples from the 2008 Canadian total diet study in Quebec City and dietary intake estimates. Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess 2011; 28(6):791–798.
32. Burridge E. Bisphenol A: product profile. Eur Chem News. 2003; 78(2048):17. <http://www.icis.com/Articles/2003/04/24/193606/product-profile-bisphenol-a.html>
33. Demierre AL, Peter R, Oberli A, Bourqui-Pittet M. Dermal penetration of bisphenol A in human skin contributes marginally to total exposure. Toxicol Lett 2012; 213(3):305–308.
34. Cho S, Choi YS, Luu HM, Guo J. Determination of total leachable bisphenol A from polysulfone membranes based on multiple consecutive extractions. Talanta 2012; 101:537–540.
35. Toppari J, Larsen JC, Christiansen P, et al. Male reproductive health and environmental xenoestrogens. Environ Health Perspect 1996; 104:741–803.
36. EFSA (European Food Safety Authority). Opinion of the scientific panel on food additives, flavourings, processing aids and materials in contact with food on a request from the commission related to 2,2-bis(4-hydroxyphenyl) propane (Bisphenol A). EFSA J 2007; 428: 1–75. <http://www.efsa.europa.eu/fr/scdocs/scdoc/428.htm>

37. Geens T, Aerts D, Berthot C, et al. A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food Chem Toxicol* 2012; 50(10): 3725–3740.
38. Doerge DR, Twaddle NC, Vanlandingham M, Fisher JW. Pharmacokinetics of bisphenol A in serum and adipose tissue following intravenous administration to adult female CD-1 mice. *Toxicol Lett* 2012; 211(2):114–119.
39. Schierow L, Lister S.A. Bisphenol A (BPA) in plastics and possible human health effects. CRS Report for Congress 2010.
40. Manfo F.P.T, Jubendradass R, Nantia E.A, et al. Adverse effects of Bisphenol A on male reproductive function. *Reviews of Environmental Contamination of Toxicology*. 2014; 228: 57-82.
41. <http://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/bisphenol.htm>
42. Leranth C, Hajszan T, Szigeti-Buck K, Bober J, Maclusky NJ. Bisphenol A prevents the synaptogenic response to estradiol in hippocampus and prefrontal cortex of ovariectomized nonhuman primates. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2008; 105(37): 14187–14191.
43. Vandenberg LN, Colborn T, Hayes TB, et al. Hormones and endocrine-disrupting chemicals: low-dose effects and nonmonotonic dose responses. *Endocr Rev* 2012; 33:378-455.
44. Rezg R, El-Fazaa A, Gharbi N, Mornagui B. Bisphenol A and human chronic diseases: current evidences, possible mechanisms and future perspectives. *Environ Int* 2014; 64: 83-90.
45. Carson R, Darling L. *Silent Spring*. Cambridge, Massachusetts: Riverside Press; 1962.
46. Lintelmann J, Katayama A, Kurihara N, Share L, Wenzel A. Endocrine disruptors in the environment (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem.*, 2003; 75(5): 631-681.
47. He Y, Miao M, Herrinton LJ, Wu C, Yuan W, Zhou Z, Li DK. Bisphenol A levels in blood and urine in a Chinese population and the personal factors affecting the levels. *Environ Res* 2009; 109:629–633.
48. Sun Y, Irie M, Kishikawa N, Wada M, Kuroda N, Nakashima K. Determination of bisphenol A in human breast milk by HPLC with column-switching and fluorescence detection. *Biomed Chromatogr* 2004; 18(8):501–507.
49. Hatef A, Alavi SM, Abdulfatah A, Fontaine P, Rodina M, Linhart O. Adverse effects of bisphenol A on reproductive physiology in male goldfish at environmentally relevant concentrations. *Ecotoxicol Environ Saf* 2010; 76: 56–62.
50. Hatef A, Zare A, Alavi SM, Habibi HR, Linhart O. Modulations in androgen and estrogen mediating genes and testicular response in male goldfish exposed to bisphenol A. *Environ Toxicol Chem* 2010; 31: 2069–2077.
51. Lahnsteiner F, Berger B, Kletzl M, Weismann T. Effect of bisphenol A on maturation and quality of semen and eggs in the brown trout, *Salmo trutta f. fario*. *Aquat Toxicol* 2005; 75(3): 213–224.
52. Haubruge E, Petit F, Gage MJ. Reduced sperm counts in guppies (*Poecilia reticulata*) following exposure to low levels of tributyltin and bisphenol A. *Proc Biol Sci* 2000; 267: 2333–2337.

53. Takao T, Nanamiya W, Nagano I, Asaba K, Kawabata K, Hashimoto K. Exposure with the environmental estrogen bisphenol A disrupts the male reproductive tract in young mice. *Life Sci* 1999; 65: 2351–2357.
54. Dobrzyńska MM, Radzikowska J. Genotoxicity and reproductive toxicity of bisphenol A and X-ray/bisphenol A combination in male mice. *Drug Chem Toxicol* 2013; 36(1):19–26.
55. Li DK, Zhou Z, Miao M, et al. Relationship between urine bisphenol-A level and declining male sexual function. *J Androl* 2010; 31: 500–506.
56. Houghton LA, Vieth R. The case against ergocalciferol (vitamin D₂) as a vitamin supplement. *American Journal of Clinical Nutrition* 2006; 84: 694-697.
57. <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4444353.html>
58. Prosser DE, Jones G. Enzymes involved in the activation and inactivation of vitamin D. *Trends Biochem. Sci.* 2004; 29: 664–673.
59. Haussler M.R, Jurutka P.W, Mizwicki M, Norman, A.W. Vitamin D receptor (VDR)-mediated actions of 1 α , 25(OH)₂ vitamin D₃: genomic and non-genomic mechanisms. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2011; 25: 543–559.
60. Verstuyf A, Carmeliet G, Bouillon R, Mathieu C. Vitamin D: a pleiotropic hormone. *Kidney Int.* 2010; 78: 140–145.
61. <http://kanser.gov.tr/Dosya/Bilgi-Dokumanlari/raporlar/VitaminDRapor.docx.pdf>
62. Boucher BJ. Inadequate vitamin D status: does it contribute to the disorders comprising syndrome 'X'? *Br J Nutr.* 1998; 79: 315-327.
63. Wilkinson RJ, Llewelyn M, Toossi Z, et al. Influence of vitamin D deficiency and vitamin D receptor polymorphisms on tuberculosis among Gujarati Asians in west London: a case control study. *Lancet* 2000; 355: 618-621.
64. Pehlivan İ, Hatun Ş, Aydoğan M, Babaoğlu K, Türker G, Gökalg AS. Maternal serum vitamin D levels in the third trimester of pregnancy. *Turk J Med Sci* 2002; 322: 237-241.
65. Dent CE, Harris H. Hereditary forms of rickets and osteomalacia. *Journal of Bone & Joint Surgery, British.* 1956; 38: 204-226.
66. Blank S, Scanlon KS, Sinks TH, Lett S, Falk H. An outbreak of hypervitaminosis D associated with the overfortification of milk from a home-delivery dairy. *Am J Public Health* 1995; 85: 656-659.
67. Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporosis International* 2005; 16: 713-716.
68. Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, et al. Vitamin D and human health: lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocr. Rev.* 2008; 29: 726 – 776.
69. Blomberg Jensen M, Nielsen JE, Jorgensen A, et al. Vitamin D receptor and vitamin D metabolizing enzymes are expressed in the human male reproductive tract. *Hum Reprod* 2010; 25: 1303 –1311.
70. Merke J, Kreusser W, Bier B, Ritz E. Demonstration and characterisation of a testicular receptor for 1,25-dihydroxycholecalciferol in the rat. *Eur. J. Biochem.* 1983;130: 303–308.

71. Aquila S. Human sperm anatomy: ultrastructural localization of 1α , 25-dihydroxyvitamin D receptor and its possible role in the human male gamete. *J. Anat.* 2008; 213: 555–564.
72. Vanni VS, Vigano P, Somigliana E. Vitamin D and assisted reproduction Technologies: current concept. *Reproductive Biology and Endocrinology* 2014; 12: 47.
73. Huhtaniemi I, Toppari J. Endocrine paracrine and autocrine regulation of testicular steroidogenesis. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1995; 377: 33–54.
74. Costa RR, Reis RI, Aguiar JF, Varanda WA. Luteinizing hormone (LH) acts through PKA and PKC to modulate T-type calcium currents and intracellular calcium transients in mice Leydig cells. *Cell Calcium* 2011; 49: 191–199.
75. Blomberg JM. Characterization of the testicular, epididymal and endocrine phenotypes in the Leuven Vdr-deficient mouse model: targeting estrogen signalling. *Mol. Cell Endocrinol.* 2013; 377: 93–102.
76. Jeffrey A. Dodge, AL. Glasebrook, David EM, et al. Environmental Estrogens: Effects on Cholesterol Lowering and Bone in the Ovariectomized Rat. *Steroid Biochem. Molec. Biol.*, 1996; 59(2): 155-161.
77. Takahashi O, Oishi S. Testicular toxicity of dietarily or parenterally administered bisphenol A in rats and mice. *Food and Chemical Toxicology* 2003; 41: 1035-1044.
78. Shelby MD. Monograph on the Potential Human Reproductive and Developmental Effects of Bisphenol A. NTP CERHR MON 2008; 22: 1-64.
79. Hatef A, Alavi S.M, Abdulfatah A, et al. Adverse effects of bisphenol A on reproductive physiology in male goldfish at environmentally relevant concentrations. *Ecotoxicol Environ Safety*, 2012; 76(2): 56-62.
80. Tohei A, Suda S, Taya K, Hashimoto T, Kogo H. Bisphenol A inhibits testicular functions and increases luteinizing hormone secretion in adult rats. *Experimental Biology and Medicine* 2001; 226: 216-221.
81. Paul M. Bisphenol A: low dose effects–high dose effects. *Reprod Toxicol* 2001; 15:587–599.
82. Ma A, Yang X, Wang Z, et al. Adult exposure diethylstilbestrol induces spermatogenic cell apoptosis in vivo through oxidative stress in male hamster. *Reproductive Toxicology* 2008; 25: 367-373.
83. Mohamed DA, Arafa MH. Testicular toxic changes induced by bisphenol A in adult albino rats: a histological, biochemical, and immunohistochemical study. *The Egyptian Journal of Histology* 2013; 36: 233-245.
84. El Ghazzawy IE, Meleis AE, Farghaly EF, Soaiman A. Histological study of the possible protective effect of pomegranate juice on bisphenol-A induced changes of the caput epididymal epithelium and sperms of adult albino rats. *Alex J Med* 2011; 47: 125–137.
85. Mortimer D. What should it take to describe a substance or product as ‘sperm-safe’. *Hum. Reprod. Update* 2013; 19: 1–45.
86. Lerchbaum E, Obermayer-Pietsch B. Vitamin D and fertility- a systematic review. *Eur J Endocrinol* 2012; 166: 765-78.
87. Sood S, Reghunandanan V, Marya RK, Singh PI. Effect of vitamin D repletion on testicular function in vitamin D-deficient rats. *Annals of Nutrition and Metabolism.* 1995; 39: 95-98.

88. Blomberg Jensen M, Bjerrum PJ, Jessen TE, et al. Vitamin D is positively associated with sperm motility and increases intracellular calcium in human spermatozoa. *Hum Reprod* 2011; 26: 1307-17.
89. Ramlau-Hansen CH, Moeller UK, Bonde JP. Are serum levels of vitamin D associated with semen quality? Results from a cross-sectional study in young healthy men. *Fertil Steril* 2011; 95: 1000-4.
90. Pilz S, Frisch S, Koertke J. Effect of Vitamin D Supplementation on Testosterone Levels in Men. *Horm Metab Res* 2011; 43: 223-5.
91. Blomberg Jensen M. Vitamin D and male reproduction. *Nat Rev Endocrinol* 2014; 13: 175-86.

8. ÖZGEÇMİŞ

09.09.1987 tarihinde Elazığ’ da doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Elazığ’da tamamladım. Daha sonra Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazanarak yüksek öğretime başladım. 2011 yılında mezun oldum. 2012 yılında Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Programı Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimime başladım. Cumhuriyet Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.