

**CYPERMETHRİN VERİLMİŞ RATLARIN TESTİS'LERİNDE
CURCUMİN'İN KORUYUCU ETKİSİNİN
İMMUNOHİSTOKİMYASAL VE STEREOLOJİK METOTLARLA
ARAŞTIRILMASI**

Mehmet Aydın AKALAN

**VETERİNER ANATOMİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Aysun ÇEVİK DEMİRKAN
Tez No: 2019-002**

2019 - AFYONKARAHİSAR

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**CYPERMETHRİN VERİLMİŞ RATLARIN TESTİS'LERİNDE
CURCUMİN'İN KORUYUCU ETKİSİNİN
İMMUNOHİSTOKİMYASAL VE STEREOLOJİK
METOTLARLA ARAŞTIRILMASI**

Mehmet Aydın AKALAN

**VETERİNER ANATOMİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Aysun ÇEVİK DEMİRKAN**

**İKİNCİ DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Fatih BOZKURT**

**Bu Tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Komisyonu tarafından 14.SAĞ.BİL.08 proje numarası ile desteklenmiştir.**

Tez No: 2019-002

2019- AFYONKARAHİSAR

KABUL VE ONAY

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Anatomi Anabilim Dalı Doktora Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından
Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 08.02.2019

Prof. Dr. R. Merih HAZIROĞLU
M. Hakeroplu
Jüri Başkanı

M. Taz
Raportör

Prof. Dr. İsmail TÜRKÜSOY

Üye Ö.
Prof. Dr. Özcan ÖZGEZ

Prof. Dr. Ayşın ÇELİK DEMİRCAN
Üye
Ayşın

Üye K.
Prof. Dr. Kerem ALTUNBAŞ

Veteriner Anatomi Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Mehmet Aydın AKALAN'ın "Cypermethrin Verilmiş Ratların Testis'lerinde Curcumin'in Koruyucu Etkisinin İmmunohistokimyasal ve Stereolojik Metotlarla Araştırılması" başlıklı tezi günü saat 'da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Zülfikar Kadir SARITAŞ
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasında hayvan sağlığı ve zirai alanlarda sıklıkla kullanım alanı bulan cypermethrin'in rat testisleri üzerine yaptığı olumsuz etkileri yanında, zerdeçal bitkisinden elde edilen bir antioksidan olan curcumin'in bu olumsuz etkileri önleyip önlemeyeceği değerlendirilmiştir.

Öncelikle tez konusunu seçerken isteklerimi göz önünde bulunduran ve bana tezimin her aşamasında desteğini esirgemeyen danışmanım Prof. Dr. Aysun ÇEVİK DEMİRKAN'a, immunohistokimyasal çalışmalarda yardım ve bilgilerini sunan ikinci danışmanım Dr. Öğr. Üyesi M. Fatih BOZKURT'a, tez çalışmamın her aşamasında ve stereolojik çalışmalarda yardımına sürekli başvurduğum Doç. Dr. Murat Sırrı AKOSMAN'a, desteklerini hep yanımda hissettiğim AKÜ Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı hocalarım Prof. Dr. İsmail TÜRKMENOĞLU ve Prof. Dr. Vural ÖZDEMİR'e, tez çalışmam boyunca sürekli yanımda olan eşime, beni bu günlere getiren anne ve babama teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Mehmet Aydın AKALAN

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
Önsöz	iii
İçindekiler	iv
Simgeler ve Kısaltmalar	vi
Tablolar	vii
Şekiller	viii
1. GİRİŞ	1
1.1. Testisin Fonksiyonel Anatomisi	1
1.1.1. Descensus Testis.....	2
1.1.2. Tunica Testis.....	2
1.1.3. Parenchyma Testis.....	3
1.1.3.1. Tubuli Seminiferi.....	3
1.1.3.1.1 Kan Testis Bariyeri.....	4
1.1.3.2. İnterstisyel Doku.....	5
1.1.4. Androjen Reseptör (AR).....	6
1.2. Cypermethrin	7
1.3. Curcumin	9
1.4. Stereoloji	11
1.4.1. Genel Bilgiler.....	11
1.4.2. Tarafsız Sayım Çerçevesi.....	12
1.4.3. Cavalieri Metodu.....	13
1.5. İmmunohistokimya	15
2. GEREÇ VE YÖNTEM	17
2.1. Araştırmanın Yapıldığı Yer.....	17
2.2. Deney Hayvanları.....	17
2.3. Deney Grupları.....	18
2.4. Deney Aşaması.....	18
2.4.1. Gastrik Gavaj Uygulaması.....	18
2.4.2. Ratların Diseksiyonu.....	18
2.4.3. Doku Takibi.....	20
2.4.4. Kesit Alma.....	21
2.5. Stereolojik Ölçümler.....	21
2.6. Hücre Sayımı ve Tubuli Seminiferi Ölçümleri.....	22
2.7. İmmunohistokimya.....	25
2.8. İstatistiksel Analiz.....	26
3. BULGULAR	26
3.1. Vücut ve Testis Ağırlıkları.....	26
3.2. Histolojik Bulgular.....	27
3.3. Stereolojik Bulgular.....	33
3.4. Hücre Sayımı ve Tubuli Seminiferi Ölçümlerine Ait Bulgular.....	34
3.5. İmmunohistokimyasal Bulgular.....	37

4. TARTIŞMA.....	42
5. SONUÇ.....	52
ÖZET	53
SUMMARY.....	55
KAYNAKLAR.....	57

SİMGELER ve KISALTMALAR

- AR** : Androjen Reseptör
ASE : Androjen Sorumlu Elementler
% : Yüzde
°C : Santigrat derece
CA : Canlı Ağırlık
CBS : Citrate Buffer Solution
Dk : Dakika
DDT : Dikloro Difenil Trikloroetan
DHT : Dihidro Testosteron
DHEA: Dihidro Epiandrosteron
G : Gram
HCHO: Formaldehit
IM : İntramuskuler
İHK : İmmunohistokimya
ml : Mililitre
Kg : Kilogram
Mg : Miligram
Mm : Milimetre
Mm³ : Milimetreküp
PAP : Peroksidaz Anti Peroksidaz
TBS : Triple Buffer Solution
LHS : Leydig Hücre Sayısı
TSEY : Tubuli Seminiferi Epitel Yüksekliği
µm : Mikrometre
Σ : Toplam

TABLolar

	Sayfa
Tablo 1. Gruplara göre 0. gün ve 30. gün canlı ağırlıkları (g)	26
Tablo 2. Gruplara göre ortalama testis ağırlıkları (g)	27
Tablo 3. Gruplara göre sağ testis hacim ortalamaları	33
Tablo 4. Gruplara göre Leydig hücre sayısı ortalamaları	34
Tablo 5. Gruplara göre tubuli seminiferi çap ortalamaları	35
Tablo 6. Gruplara göre tubuli seminiferi epitel yüksekliği ortalamaları	36
Tablo 7. Gruplara göre testiste androjen reseptör dağılımı	41

ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 1. Tarafsız sayım çerçevesi: Düz-kırmızı çizgiler yasak kenarları, kesik-yeşil çizgiler ise serbest kenarları gösterir.	13
Şekil 2. Yüzey alanı hesaplamada kullanılan Noktalı Alan Ölçüm Cetveli..	15
Şekil 3. Vücudun dışına alınmış testisler	19
Şekil 4. İki mm'lik eşit aralıklarla dilimlenmiş testis örneği.	19
Şekil 5. Sol testislerde yapılan küçültme işlemi ve doku takibi için alınan parça (a).	20
Şekil 6. Parafin bloklara gömülmüş, kesit alma işlemine hazır doku örnekleri	21
Şekil 7. İki mm'lik testis dilimleri üzerine rastgele bırakılan noktalı alan cetveli (d= 2.5 mm).	22
Şekil 8. Hematoksilen-Eozin boyama	23
Şekil 9. Sayım ve ölçümlerde kullanılan motorize tabla ve dijital kamera ilave edilmiş mikroskop (Olympus BH2- Japon) ile bilgisayar sistemi.	23
Şekil 10. 125 µm x 105 µm'lik tarafsız sayım çerçevesi ile leydig hücre sayımı (ok: leydig hücreleri).	24
Şekil 11. Tubuli seminiferi çapı (a) ve tubul epitel yüksekliklerinin (b) ölçümü.	24
Şekil 12. Kontrol grubuna ait testis dokusu. Ok: tubuli seminiferi, okbaşı: interstisyel doku. (Hematoksilen-Eosin, X10).	28
Şekil 13. Cypermethrin grubuna ait testis dokusu ve konjesyone kan damarı (ok) (Hematoksilen-Eosin, X10).	29
Şekil 14. Cypermethrin grubuna ait testis dokusu ve nekroze tubul (ok) (Hematoksilen-Eosin, X10).	29
Şekil 15. Cypermethrin grubuna ait testis dokusu ve konjesyone kan damarı (ok) (Hematoksilen-Eosin, X10).	30

Şekil 16. Curcumin grubuna ait testis dokusu (Hematoksilen-Eosin, X10)...	30
Şekil 17. 15 gün cypermethrin ardından 15 gün curcumin verilen gruba ait testis dokusu (Hematoksilen-Eosin, X10).	31
Şekil 18. 15 gün curcumin ardından 15 gün cypermethrin verilen gruba ait testis dokusu ve konjesyone kan damarı (ok) (Hematoksilen-Eosin, X10)...	32
Şekil 19. Curcumin + cypermethrin grubuna ait testis dokusu (Hematoksilen-Eosin, X10).	32
Şekil 20. Kontrol grubu testis dokusu. L: leydig hücresi, m: peritubuler myoid hücresi, s: sertoli hücresi. (İmmunohistokimya, X40)	38
Şekil 21. Cypermethrin grubu testis dokusu L: leydig hücresi, m: peritubuler myoid hücresi, s: sertoli hücresi. (İmmunohistokimya, X40).....	38
Şekil 22. Curcumin grubu testis dokusu L: leydig hücresi, m: peritubuler myoid hücresi, s: sertoli hücresi. (İmmunohistokimya, X40).	39
Şekil 23. 15 gün cypermethrin ardından 15 gün curcumin verilen gruba ait testis dokusu L: leydig hücresi, m: peritubuler myoid hücresi, s: sertoli hücresi. (İmmunohistokimya, X40).	40
Şekil 24. 15 gün curcumin ardından 15 gün cypermethrin verilen gruba ait testis dokusu L: leydig hücresi, m: peritubuler myoid hücresi, s: sertoli hücresi. (İmmunohistokimya, X40).	40
Şekil 25. Curcumin + cypermethrin grubuna ait testis dokusu L: leydig hücresi, m: peritubuler myoid hücresi, s: sertoli hücresi. (İmmunohistokimya, X40).	41

1. GİRİŞ

1.1. Testis'in Fonksiyonel Anatomisi

Testis'ler erkek üreme bezleri olup, hem *ekzokrin* hem de *endokrin* fonksiyonları olan bir organdır. *Ekzokrin* fonksiyonu erkek üreme hücresi *spermatozoon* üretimi, *endokrin* fonksiyonu *leydig* hücreleri aracılığı ile *testosteron* hormonu salgılanmasıdır (Kelch ve ark., 1973; Jewett ve ark., 1983).

Anatomik olarak *testis*'in iki yüzü ve iki kenarı vardır. Dışarıya dönük yüzüne *facies lateralis*, içeriye dönük yüzüne ise *facies medialis* denir. Serbest ve dışbükey olan kenara *margo liber*, *epididymis*'in *caput*'unun yapıştığı kenara ise *margo epididymalis* adı verilir. Bunun yanında *cauda epididymis* ile temas halinde olan *extremitas caudata* ve *caput epididymis* ile temas halinde olan *extremitas capitata* adında iki ucu bulunmaktadır (Dursun, 2005; König ve Liebich, 2018). *Testis* ağırlığı ile vücut ağırlığı arasında bir oran vardır. Bu oran insanda 1/1500 iken, tavşanda 1/1700, sıçanda ise 1/100 oranındadır. Yine ağırlığı gelişim dönemlerine ve hayvan ırk, tür, mevsimsel gelişim vb faktörlere bağlı olarak değişmekle birlikte sıçanlarda 3-5 g, tavşanlarda 8-10 g arasında değişmektedir (Kalkan, 2001; Ogbuewu ve ark., 2009).

Testis'i besleyen atardamar olan *a.testicularis*, *aorta abdominalis*'den ayrılır. *A. testicularis*, *canalis inguinalis*'e girerek *funiculus spermaticus*'un içerisinde kıvrımlı bir yapı göstererek seyrine devam eder. *A. testicularis*, *ductus deferens*'e *rami ductus deferentis*, *epididymis*'e ise *rami epididymales*'i verdikten sonra *tunica albuginea*'yı geçerek *tunica vasculosa*'da dağılır. *Testis*'in toplardamarı olan *vena testicularis* ise *testis* ve *epididymis*'den gelen *vena*'ların bir araya gelmesinden oluşan *plexus pampiniformis* denen venöz ağdan çıkan toplardamarların birleşmesi sonucu oluşur. *Funiculus spermaticus* içerisindeki seyri sırasında *a.testicularis* ile arteriovenöz anastamoz şekillendirdikten sonra ise sağ ve sol *vena testicularis v. cavae caudalis*'e açılır (Dursun, 2005; König ve Liebich, 2018).

Testis'ten çıkan lenf damarları *lnn. lumbales aortici* ve *lnn. iliaci mediales*'e dökülür. Lenf içeriği *testis* tarafından üretilen hormonları da içermektedir. *Testis*'in sinirleri otonom sinir sisteminden gelir. Sempatik lifler *plexus mesentericus caudalis* ve *plexus pelvinus*'dan, parasempatik lifler ise *n. vagus* ve *plexus pelvinus*'tan gelir (König ve Liebich, 2018).

1.1.1. Descensus Testis

Testis'ler *endokrin* faaliyetlerini vücut sıcaklığında yürütülebilse de *ekzokrin* faaliyetler yani *spermatozoon* üretimi için vücut sıcaklığından birkaç derece daha düşük sıcaklıkta bir ortama ihtiyaç duyar. İşte bu nedenle *testis*'ler *epididymis* ile birlikte *scrotum* denilen özelleşmiş bir kese içinde yerleşmiş ve *funiculus spermaticus* ile asılı durmaktadır. Gelişiminin başlangıç döneminde *abdomen*'de, böbreklerin hemen gerisinde bulunan *testis*'ler daha sonra aşağıya doğru *scrotum*'a inerler. Bu olaya *descensus testis* denir (Wheater ve ark., 1987; Tsunenari ve Kast, 1992; Çöven, 1994).

Descensus testis, *gubernaculum testis* adında fibröz bir kordon yardımı ile meydana gelmektedir. *Gubernaculum testis* fötüsta *testis*'in alt ucuna bağlanır, *canalis inguinalis*'ten geçerek *scrotum*'a yapışır ve bu şekilde *testis*'in inişini yönlendirir. Fötüs geliştikçe ve büyüdükçe *gubernaculum testis* aynı oranda büyüyemeyeceği gibi, *testosteron* etkisiyle *gubernaculum testis* de kısalarak *testis*'in *scrotum*'a inmesini sağlar (Wensing, 1986; George ve Peterson, 1988). *Descensus testis* sıçanlarda *postnatal* 30-40. günlerde şekillenirken, tavşanlarda *postnatal* 6. haftayı bulabilmektedir (Wheater ve ark., 1987; Tsunenari ve Kast, 1992; Çöven, 1994). Bazı kemirgenlerde *testis*'lerin üreme dönemlerinde *scrotum*'a inip daha sonra tekrar karın boşluğuna döndükleri; sıçanlarda, farelerde ve yaban tavşanlarında *testis*'in inaktif olduğu dönemlerde karın boşluğuna çekilebileceğinden bahsedilmiştir (Simeunovic ve ark., 2000).

1.1.2. Tunica Testis

Tunica testis, *testis*'in etrafını saran katmanlardır. En dışta bulunan *scrotum* ince bir deri katmanı olan, ter ve yağ bezleri içeren *cutis scroti* ve onun altında düz kaslardan oluşan *tunica dartos*'u içerir. *Scrotum*, *testis* ve *epididymis*'i içinde barındırır. Bulunduğu yer hayvan türlerine göre değişir. Diğer memelilerde *testis*'ler tek bir *scrotum* kesesi içerisine yerleşerek *septum scroti* ile birbirinden ayrılırken, tavşanda *penis*'in her iki yanında, sıçanda ise daha *caudal*'de iki ayrı kese şeklinde bulunur (Bahadır ve Yıldız, 2008; König ve Liebich, 2018). *Tunica dartos* düz kaslardan oluşan bir tabakadır. Bu tabaka *testis*'lerin termoregülasyonunda görevlidir ve bu sayede *spermatogenesis*'in yürütülmesine yardımcı olur (Maloney ve ark., 2005; König ve Liebich, 2018).

Tunica dartos'un altındaki tabakalardan *fascia spermatica externa*'yı karın duvarını oluşturan kaslardan *m.obliquus externus abdominis*'in *aponeuroz*'u, *fascia cremasterica*'yı *m. obliquus internus abdominis*'in *aponeuroz*'u, *m.cremaster*'i yine *m. obliquus internus abdominis*'tan gelen kas lifleri, *fascia spermatica interna*'yı ise karın duvarındaki *fascia transversalis* oluşturmaktadır (Bahadır ve Yıldız, 2008; König ve Liebich, 2018).

Tunica vaginalis, *abdominal* boşluktan gelen *periton*'un devamı niteliğindedir. Seröz yapıdaki bu tabaka biri *fascia spermatica interna*'ya sıkıca yapışan *parietal* yaprak (*lamina parietalis*) ve diğeri de *tunica albuginea*'ya yapışan *visceral* yaprak (*lamina visceralis*) olmak üzere iki yaprağa sahiptir (Bahadır ve Yıldız, 2008; Dyce ve ark., 2017).

Tunica albuginea; *testis*'in yüzeyini sıkıca örten fibröz bir kapsüldür. *Tunica albuginea*'dan *testis*'in içine doğru, parenşimi piramit şeklinde lopçuklara ayıran bağ dokudan ara bölmeler uzanır. Bunlara *septula testis* denir. *Septula testis*'in uzantıları merkezde birleşerek daha gevşek bir bağdoku tabakasından oluşan *mediastinum testis*'i meydana getirir (Martínez-Berganza ve ark., 1998; König ve Liebich, 2018).

1.1.3. Parenchyma Testis

Parenchyma testis, *tunica albuginea* ile sarılmış ve *tunica albuginea*'nın parenşim içine doğru yaptığı *septula testis* 'ler sayesinde lopçuklara ayrılmıştır. *Lobuli testis* adı verilen lopçuklar *tubuli seminiferi* denilen kanallar ile bunların arasını dolduran gevşek bağdokudan (*interstitium*) meydana gelmiştir. Bu bağ doku; bol miktarda kan ve lenf damarları ile sinirler ve *interstitiel* hücreleri (*leydig* hücreleri) içerirler. *Tubuli seminiferi*'yi döşeyen *spermatogenetik* hücreler proliferasyona uğrar ve lümene yakın olanları *spermatozoon*'lara dönüşürken, *interstitial* hücreler de *testis* androjenlerini salgırlar (Morton ve ark., 1986; Junqueira ve Carneiro, 2003; König ve Liebich, 2018).

1.1.3.1. Tubuli Seminiferi

Septula testis tarafından oluşturulan her lopçuk içerisinde 2-5 adet arasında kör uçla başlayan kanalcıklar bulunur. *Tunica albuginea*'dan başlayarak *testis*'in derinlerine

ilerleyen bu kıvrımlı kanallara *tubuli seminiferi contorti* denir. Her bir *testis*'te 250-1000 adet olan bu tubuller karmaşık yapıda çok katlı epitel hücre ile döşelidir (Junqueira ve Carneiro, 2003; König ve Liebich, 2018).

Tubuli seminiferi contorti lümenleri *testis*'in derinlerine indikçe hem daralır, hem de kıvrımlı hallerini kaybederek daha kısa *tubuli seminiferi recti* olarak devam eder. *Tubuli seminiferi recti* ise doğrudan *mediastinum testis*'e girer ve burada birbirleri ile anastomozlaşarak *rete testis*'i oluşturur. *Rete testis* ise *ductuli efferentes testis* ile *epididymis*'e bağlanır. (Junqueira ve Carneiro, 2003)

Tubuli seminiferi iç kısmı *germinal epitel* ile kaplıdır ve burada iki tip hücre bulunmaktadır. Bunlar *sertoli hücreleri* ve *spermatogonyum*'lardır. Dış kısmında ise *tunica propria* denen kalın fibröz bazal membran ve kemirgenlerde tek kattan oluşan kasılabilir *peritubuler myoid* hücre tabakası bulunmaktadır. *Myoid* hücrelerin fonksiyonu ise hareketsiz olan *spermatozoon*'ları *rete testis*'e doğru iletme (Perey ve ark., 1961; Junqueira ve Carneiro, 2003).

Sertoli ya da destek hücreleri, sahip oldukları lateral ve apikal uzantıları sayesinde *spermatogenik* hücreleri sararlar ve bu nedenle ışık mikroskobu görüntülerinde bu iki hücre sınırları tam olarak ayırlamaz. *Sertoli* hücreleri; gelişmekte olan *spermatogonium*'ların desteklenmesi, korunması, beslenmesinin düzenlenmesi, dejenere eşey hücrelerinin ya da gelişmekte olan hücrelerin artıklarının fagosite edilmesi, olgun *spermatozoon*'ların aktin aracılı kasılmalar sayesinde *tubuli seminiferi* lümenine salınımı, *spermatozoon*'ların taşınması için sekresyon salınımı ve kan-testis bariyerini oluşturmak gibi fonksiyonlara sahiptir. Tüm bunların yanında *sertoli* hücrelerinin bir miktar *östrojen* salgıladığı da bildirilmiştir. (Yaman, 1993; Bremner ve ark., 1994; Junqueira ve Carneiro, 2003).

1.1.3.1.1. Kan-Testis Bariyeri

Kan-*testis* bariyeri, yan yana bulunan *sertoli* hücrelerinin, hücrenin alt-yan yüzlerinde engelleyici sıkı ilişkiler ile birbirlerine bağlanması sonucu oluşmaktadır. Bu bağlanma sırasında *tubuli seminiferi* içinde iki bölge oluşur. Bu bölgeler, *bazal kompartıman* ve *adlüminal kompartıman*'dır. *Bazal kompartıman*'da germ hücrelerinin en erken evresinde olanları yer alırken, *adlüminal kompartıman*'da ise gelişen germ hücreleri bulunmaktadır. Bunlar fiziksel ve fizyolojik olarak diğer

bölgelerden soyutlanmıştır (Dym ve Fawcett, 1970; Yaman, 1993; Junqueira ve Carneiro, 2003).

Testis kılcalları büyük moleküllerin damar dışına çıkmasına izin verecek yapıdadır. Büyük moleküllerin *adlüminal kompartıman*'a girmesi *spermatogenetik* hücrelere zarar verebilir. Bunun yanında *spermatozoon*'ların da *testis* doku aralığına geçmesi sonucu da şiddetli *immun* reaksiyonlar meydana gelebilir. İşte bu geçişleri denetleme görevi kan-*testis* bariyeri sayesinde yürütülmektedir (Yaman, 1993; Levy ve ark., 1999; Junqueira ve Carneiro, 2003). Öte yandan günümüzde kan-*testis* bariyerinin sadece *sertoli hücrelerinin* birbirine bağlanmaları ile oluşmadığı ve bu bariyerin oldukça kompleks yapıda bir *immun* bariyer olduğu bildirilmiştir. Bununla birlikte kan-*testis* bariyerinin sadece *adlüminal kompartımanda* var olmadığından, tüm testis dokusunun *immun*-seçici bir doku olduğundan da bahsedilmiştir (Mital ve ark., 2011).

1.1.3.2. *İnterstisyel Doku*

Gevşek bağ doku karakterinde olan *interstisyel* doku, *seminifer tubul*'ler arasında bulunan bölgedir. *İnterstisyel* doku bol miktarda sinir lifleri, kan ve lenfatik damarlar, *leydig* hücreleri ve serbest hücreler (*fibroblastlar, makrofajlar, lenfositler, mast hücreleri*) içerir. Androjen üretimi açısından önemli olan bu dokuda özellikle *rodent*'lerde *lenfoid sinuzoid*'lerin ağları oldukça yoğundur (Junqueira ve Carneiro, 2003; Kuş, 2006).

Leydig hücreleri, yuvarlak ya da poligonal şekilli, büyük ve yuvarlak çekirdekleri hücre merkezi dışına yerleşmiş olan hücrelerdir. *İnterstisyel* dokuda tek tek ya da kümeler halinde bulunan bu hücreler, genelde *kapillar* damarlara yakın lokalize olmuşlardır (Junqueira ve Carneiro, 2003; Akosman, 2009; König ve Liebich, 2018). *Leydig hücreleri* *endokrin* fonksiyona sahip olup, hipofiz ön lobundan salgılanan *LH* (Erkeklerde: *Interstitial Cell Stimulating Hormone = ICSH*) tarafından uyarılarak *androjen (testosteron)* üretimini sağlar. Bu sayede tüm cinsel bezlerin gelişmesinden, sekonder seks karakterlerinin gelişiminden ve *spermatogenesis*'ten sorumludur. Üreme ile ilgili bu fonksiyonlarının yanında, büyüme hormonu ve tiroid bezi hormonları ile birlikte anabolik etki göstererek gelişme döneminde kemik ve kas gelişiminde de rol oynar. (Papadopoulos ve ark., 1990; Yaman, 1993; König ve Liebich, 2018).

1.1.4. Androjen Reseptör (AR)

Androjen'ler, *testosteron*, *androstenedion*, *dihidrotestosteron* (DHT), *dehidroepiandrosteron* (DHEA) gibi erkek cinsiyet hormonlarıdır. *Androjen*'ler böbrek üstü bezleri, *testis* ve az miktarda *ovarium*'larda sentezlenir. *Testosteron* erkekler için *major androjen*'dir ve büyük çoğunluğu *testis*'lerdeki *leydig* hücrelerinden salgılanır (Kimura ve ark., 1993; Glen ve Braunstein, 2001). *Androjen*'ler birçok fizyolojik sorumluluğu üstlenmenin yanında erkeklerde seksüel gelişimde, *spermatogenesis*'in sürdürülmesinde ve erkek *gonadotropin* regülasyonunda da önemli sorumluluklara sahip 19 karbonlu *steroid*'lerdir (Kimura ve ark., 1993; Carreau ve ark., 2007). *Androjen*'ler bu etkilerini, ASE (*androjen sorumlu elementler*) boyunca bağlanan hedef genler olarak da tanımlanan *androjen reseptör* (AR) vasıtasıyla gerçekleştirirler. ASE; *androjen reseptör*'ün bağlandığı DNA kısmı olup, *androjen*'lere özel protein sentezledikleri için bu ismi almışlardır. AR'nin mutasyonları ise erkekte infertiliteye ya da *total/parsiyal androjen duyarsızlığına* yol açabilmektedir (Brockschmidt ve ark., 2007; Gast ve ark., 1998).

AR; *glikokortikoid*, *mineralokortikoid*, *tiroid hormonu*, *retinol*, *östrojen* ve *progesteron* gibi *steroid* hormon reseptör ailesine aittir ve mekanizmaları tipiktir (Mangelsdorf ve ark., 1995). AR, *androjen*'lerin hücre stoplazmasına bağlanması ve ardından *nükleus*'a translokasyonu ve gen transkripsiyonunun aktivasyonunu sağlar (Al-Zahrani ve ark., 2018). Yani *androjen* hücre içine girince AR'ye bağlanarak, DNA'ya bağlanma yeteneği kazanır ve bu sayede *androjen*'e bağlı gen transkripsiyonunu stimüle eder. (Suarez-Quian ve ark., 1999).

AR, *testis*'lerde *sertoli* hücrelerinde, *leydig* hücrelerinde, *peritubular myoid* hücrelerinde ve *perisitlerde* bulunmaktadır (Bremner ve ark., 1994; Zhang ve ark., 2006; Liu ve ark., 2010; Hu ve ark., 2011; Genovese ve ark., 2018). Bunların dışında AR'lerin *rete testis* epitelinde ve *interstisyel fibroblast* 'larda da bulunduğu da bildirilmiştir (Goyal ve ark., 1997a; Goyal ve ark., 1997b). Bazı araştırmacılar (Sanborn ve ark., 1975; Wright ve Frankel, 1980; Kimura ve ark., 1993; Vornberger ve ark., 1994; Zhou ve ark., 1996) AR'lerin *germ* hücrelerinde de bulunduğunu, bazıları ise (Grootegoed ve ark., 1977; Sar ve ark., 1990; Takeda ve ark., 1990; Brenner ve ark., 1994; Van Rooijen ve ark., 1995; Suarez-Quain ve ark., 1999) *germ* hücrelerinde bulunmadığını bildirmişlerdir.

Androjen'ler *gonad*'ların ve sekonder seks karakterlerinin gelişiminden sorumludurlar ve özellikle de *testosteron*, *spermatogenesis* için gereklidir (Wright ve Frankel, 1980; Regadera ve ark., 2001; Al-Zahrani ve ark., 2018). *Androjenlerin* germ hücre gelişimini ve mayoz bölünmeyi desteklediği de bildirilmiştir. Zira *androjen* yokluğunda *spermatogenesis* tamamlanmayacaktır (Buzek ve Sanborn, 1988). Normal *spermatogenesis* için *androjenler* gerekli olmakla birlikte, *spermatogenesis*'te aksaklık olan çoğu erkek bireylerde normal serum *androjen* seviyeleri saptanmıştır. Bu da AR'leri idiopatik infertilite vakalarındaki bozuk (*impaired*) *spermatogenesis*'in olası nedeni yapmaktadır (Tut ve ark., 1997). Yine bazı çalışmalar da göstermiştir ki AR yoksunluğu, *azospermi* ve infertilite ile sonuçlanan yetersiz germ hücre gelişimine ve düşük *testosteron* seviyelerine yol açmaktadır (Chang ve ark., 2004).

Çeşitli kimyasal etkenlerin *testis*'te AR'ye karşı etkileri üzerine birçok araştırma mevcuttur. Bonefeld-Jørgensen ve ark. (2001) yaptıkları çalışmada PCB'nin (*Polychlorinated biphenyls*) *androjen* ve *östrojen* reseptörleri üzerine etkilerini araştırarak, infertiliteye etkilerini saptamışlardır. Adamsson ve ark. (2009)'nın yaptıkları bir diğer çalışmada ise *dioksin* türevi ve çok zehirli bir toksin olan *2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin* (TCDD)'in fötal ratlarda testis üzerine etkilerini incelerken, *fötal leydig* hücreleri, plazma *testosteron* ve LH (Lüteinleştirici hormon) seviyelerinin yanında AR ekspresyon seviyelerini de incelemişlerdi. Hu ve ark. (2011)'nin erişkin ratlar üzerinde yaptıkları çalışmada, *cypermethrin*'in erkek üreme sistemi üzerindeki etkilerini tespit etmek için *testis*'te *immunohistokimyasal* olarak AR *ekspresyonu*'nu incelemişlerdir. Pan ve ark. (2012)'nin yaptığı bir diğer çalışmada yine *cypermethrin*'in AR aktivitesini inhibe ederek infertiliteye neden olduğu saptanmıştır.

1.2. Cypermethrin

Pestisit, *pest* (haşere) adı verilen zararlıları ortadan kaldırmaya veya bunların sayılarını azaltmaya yönelik kullanılan kimyasalların genel adıdır (Maroni ve ark., 2000). Haşereler çevrede yaygın olarak bulunur. Çoğunlukla tarımsal bitkilerin *pestisit*'lerle ilaçlanması sonucu bitkisel gıdalara bulaşabilirken, hayvanlarda *pest*'lerle mücadele için kullanıldığında hayvansal ürünlere de bulaşabilmektedir (de Faubert Maunder ve ark., 1964; Ciscato ve ark., 2002; Kouba, 2003). Tarımsal

mücadele amaçlı kullanılan *pestisit* 'ler, hedefleri olan tarım zararlılarını yok ederek ürün kalitesini ve verimliliğini artırırsalar da hedef dışı organizmalara da bulaşarak çeşitli hasarlara yol açmaktadırlar. Bu hasarların en başında da sinir sistemi, bağışıklık sistemi, endokrin sistem, boşaltım sistemi, dolaşım sistemi gibi önemli sistemlerdeki hasarlar sayılabilir (Jaensson ve ark., 2007; Yu-Tao ve ark., 2008). *Pestisit* kalıntıları en çok gıdalarda bulunur. Bitkiler doğrudan *pestisit* 'lere maruz kalabileceği gibi, toprakta biriken *pestisit* 'leri de bünyesine alabilirler. Ayrıca haşerelerle mücadele amacıyla kapalı ve açık alanlarda da *pestisit* 'ler yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Dolayısıyla bu hayvanların et ve sütleri de *pestisit* barındırabilir (Ciscato ve ark., 2002; Çalışkan ve ark., 2003; Yücel, 2007).

Bir *pestisit* sınıfı olan *Sentetik Piretroit* 'ler; çabuk etki göstermeleri, güneş ışığına dayanıklılığı ve memelilerde daha düşük toksisite gösterdikleri düşünüldüğünden diğer *pestisit* 'lere (*organik fosforlu insektisitler*, *organik klorlu insektisitler* ve *aril karbamatlar*) göre daha çok tercih edilirler (İleri, 1988; Hemming ve ark., 1993; Gabbianelli ve ark., 2002). *Piretroit* 'ler hücreye sodyum girişini artırır ve böylece membran repolarizasyonunu sağlayarak sinir iletiminde blokaja neden olurlar (Nasuti ve ark., 2007).

Tip-II piretroit grubuna dahil olan *cypermethrin* ($C_{22}H_{19}C_{12}NO_3$) etkili bir *sentetik piretroit* 'tir. Sarımsı kahverengi renge sahip, sıvı halde olan bu *piretroit* temas ve mide zehiri olarak etkilidir (Bradberry ve ark., 2005; Yavuz Erdoğan, 2010). *Cypermethrin* tarım ürünlerinde *pest* 'lere karşı kullanıldığı gibi hayvanlarda *ektoparazit* 'lerin kontrolü için de yaygın olarak kullanılan bir *pestisit* 'tir (Dobsikova ve ark., 2006). *Cypermethrin*, α -aminobütirik asit reseptörünü inhibe ederek konvülziyonlara neden olur. Bunun yanında *nörotransmitter* 'lerin yıkımında görevli enzim olan *monoaminoksidaz* 'ı ve sinir hücreleri tarafından kalsiyum alınımını inhibe ederek hücre membranlarındaki sodyum kanallarının açık kalmasını sağlar. Tüm bunların sonucunda da *nöron* 'larda sürekli *impuls* 'lara ve hedef hücrenin ölümüne yol açar (Farag ve ark., 2007). *Cypermethrin* oldukça etkili bir *pestisit* olmasına rağmen, memelilerde karaciğer metabolizmasının daha hızlı olması ve idrarla aktif olmayan metabolitlerinin atılması nedeniyle *organik fosforlu insektisitler*, *organik klorlu insektisitler* ve *aril karbamatlar* gibi diğer *pestisit* 'lere göre daha az toksiktir. Ayrıca doğada kolayca parçalanabilmesi de yaygın olarak kullanılmasına neden olmuştur (Shakoori ve ark., 1988; Lukowicz-Ratajczak ve Krechniak, 1991; Erdoğan, 2010).

Cypermethrin'in toksisitesine yönelik çalışmalar ve raporlar gün geçtikçe artmaktadır (Crofton ve Reiter, 1984; Shakoori ve ark., 1988; Soderlund ve ark. 2002; Wolansky ve Harrill, 2008). *Cypermethrin*'in memelilerde karaciğer, mide, barsak, beyin, dalak, pankreas, böbrek ve testis gibi bir çok organda histopatolojik değişikliklere yol açtıkları bildirilmektedir (Elbetieha ve ark., 2001; Maund ve ark; 2012; Aroonvilairat ve ark., 2018; Bhardwaj ve ark., 2018). Yapılan birçok çalışma *cypermethrin*'in memelilerde özellikle merkezi sinir sistemini hedef alarak salivasyon artışı, koordinasyon bozuklukları, kas tremorları ve tonik-klonik konvülziyonlar gibi toksik etkilere neden olduğunu göstermiştir. Ayrıca uzun vadede karaciğer ve böbrek ağırlıklarını artırdığı, yüksek dozda kullanımının karaciğer, akciğer, timus, böbrek üstü bezleri ve deride patolojik bozukluklara yol açtığı da bildirilmiştir. *Cypermethrin*'in üreme sistemine olan etkileri üzerine de birçok araştırma yapılmış olup, hem dişi hem erkeklerde birçok *reproduktif* bozukluklara yol açtıkları, infertilite ve yavru ölümlerinde artışlara neden oldukları tespit edilmiştir (Elbetieha ve ark., 2001; Liu ve ark., 2010; Hu ve ark., 2011; Li ve ark., 2013). Erkeklerde *testis* lezyonları, sperm sayısında azalmalar, motilite değişimleri ve morfolojik değişikliklere yol açarak *reproduktif* hasarlara neden olur. Bu etkisini AR *antagonisti* gibi davranarak gerçekleştirir. *Spermatogenesis*'in başlangıcında *androjenler* ve AR önemli bir role sahiptirler (Liu ve ark., 2010; Hu ve ark., 2011; Pan ve ark., 2012; Li ve ark., 2013). Ayrıca *cypermethrin*'in *apoptosis*'le ilişkili genlerin ekspresyonunu değiştirerek oksidatif stres ve DNA hasarlarına neden olduğu da bildirilmiştir (Bhardwaj ve ark., 2018).

Tüm bu etkilerinin yanında *piretroitlerin 17 β -estradiol*'ü taklit ederek *östrojen* reseptörlerine bağlanma potansiyeline sahip olduğu ve *östrojenik* etki gösterdikleri de bildirilmiştir (Kakko ve ark., 2004; Kim ve ark., 2004; McCarthy ve ark., 2006). Ancak yapılan çalışmalar *permethrin*, *cypermethrin*, *fenvalerate* ve *phenotrin* gibi *piretroitlerin* östrojenik aktivite göstermediğini ya da çok düşük *östrojenik* aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir (Sumida ve ark., 2001; Kim ve ark., 2004; Lemaire ve ark., 2005; McCarty ve ark., 2006).

1.3. *Curcumin*

Canlılar, ilaç, endüstriyel kimyasal ve pestisit gibi birçok yabancı maddelere sıkça maruz kalırlar. Bu kimyasallar serbest radikaller ve diğer aktif oksijen formlarının

oluşumuyla oksidatif strese neden olmaktadır. Oksidatif stres hücrede mitokondriyal disfonksiyona ve *apoptosis*'e (hücre ölümü) yol açarak kanser, mutasyon, kalp ve dolaşım bozuklukları, fertilité sorunları, akciğer fonksiyonlarında bozukluklara ve bağışıklık sisteminde olumsuz etkilere yol açmaktadır (Sharma ve Singh, 2010; Aktas ve ark., 2012). Antioksidanlar ise düşük konsantrasyonlarda okside edilebilir bir substrata kıyasla, bu substratın oksidasyonunu önemli ölçüde geciktiren veya engelleyen herhangi bir madde olarak tanımlanabilir. Buna göre antioksidanlar serbest radikalleri içeren kimyasal reaksiyonların bir sonucu olarak ortaya çıkan hücrel hasarları önlemektedir (Young ve Woodside; 2001).

Curcumin, özellikle Çin ve Hindistan'da yetiştirilen, yaygın olarak gıda renklendiricisi ve baharat olarak kullanılan, zerdeçal (*Curcuma longa*) bitkisinden elde edilen polifenolik bir bileşiktir (Scartezzini ve Speroni, 2000; Şahintürk ve ark., 2007; Yuluğ ve ark., 2013). Oral yolla alındığında bağırsaklarda hidrojenizasyon yolu ile *tetrahydrocurcumin*'e dönüşerek emilir ve kana dağılır. Atılımı ise safra yoluyla olur (Pan ve ark., 1999; Anand ve ark., 2007). *Curcumin* aktive olmuş *makrofaj*'lardan salınan *nitrik oksit*, *hidrojen peroksit*, süperoksit radikallerini süpüren etkili bir antioksidandır. (Kuttan ve ark., 1985; Joe ve Lokesh, 1994; Piper ve ark., 1998; Scartezzini ve Speroni, 2000; Lee ve ark., 2005). *Curcumin*, büyümesi inhibe edilmiş hücreleri restore ederek *apoptosis*'i engeller. Ayrıca antioksidan özelliği fenolik yapısından ileri gelmektedir (Sharma, 1976). Bu özellikleri sayesinde *curcumin antihepatotoksik, antihiperlipidemik, antiinflamatuvar, antitümoral, antimikrobiyal ve antiinfertilité* etkilerine sahiptir (Ramsewak ve ark., 2000; Baum ve Ng, 2004; Chen ve ark., 2006; Perez-Arriaga ve ark., 2006).

Curcumin'in koruyucu etkilerini araştırmaya yönelik birçok çalışma vardır. Karaciğerde *karbon tetraklorid* (hepatotoksin) (Lee ve ark., 2016), böbrek ve kalpte *adriamisin* (kemoterapötik) (Venkatesan ve ark., 2000), iris dokusunda *streptozotosin* (antineoplastik) (Patumraj ve ark., 2006), akciğerde *benzopiren* (çevresel karsinojen) (Zhu ve ark., 2014) ve kanda *nitrojen dioksit*'e (toksik bir gaz) (Unnikrishnan ve Rao, 1995) karşı koruyucu etkilerine yönelik çalışmalar bunlardan birkaçıdır. Yine *curcumin*'in kan, beyin, böbrek, karaciğer, testis vb doku ve organlar üzerinde *endosulfan, malathion, fosfamidon, paration, DDT (dikloro difenil trikloroetan), lindane* gibi çeşitli pestisitlere karşı koruyucu etkileri de bildirilmiştir (Verma ve ark., 1998; Ahmed ve ark., 2010; Sharma ve Singh, 2010; Ahmed ve ark., 2011; Alp ve ark., 2012; Canales-Aguirre ve ark., 2012; Messarah ve ark., 2013).

Yukarıda belirtilen pestisitler dışında *curcumin*'in *cypermethrin*'e karşı çeşitli organlarda koruyucu etkisini inceleyen araştırmalar mevcut olmasına rağmen erkek üreme sistemi üzerine yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır (Sankar ve ark., 2010; Sankar ve ark., 2012). Bu konuda tek araştırma olan Sharma ve ark. (2018)'nin çalışmasında *cypermethrin* ve *deltamethrin*'in birlikte verildiği ratlarda *curcumin* ve *quercetin*'in koruyucu etkisi erkek üreme sistemi üzerinde araştırılmış, bu amaçla sperm parametreleri, *testosterone*, FSH ve LH hormon seviyeleri ve *steroidojenik enzim* seviyeleri üzerine incelemelerde bulunulmuştur.

1.4. Stereoloji

1.4.1. Genel Bilgiler

Stereoloji terimi, Yunancada üç boyutlu cisim, üç boyutluluk anlamına gelen “*stereos*” kelimesinden türemiştir (Mouton, 2002). *Stereoloji*, üç boyutlu örneklerin, iki boyutlu kesitlerinden elde edilen veriler kullanılarak, gerçekte üç boyutlu özelliklerine ait yorumlar yapmaya yarayan bilim dalı olarak tanımlanmaktadır (Mayhew ve Gundersen, 1996). Yine *stereoloji*, bir nesnenin geometrik ve istatistiksel yapısı hakkında nicel bilgileri elde etmek için nesnenin kesitlerini kullanan bir yöntem olarak da tanımlanabilir (Cruz-Orive, 1993). *Stereoloji*, model temelli *stereoloji* ve tasarım temelli *stereoloji* olarak da incelenir. Model Temelli *Stereoloji*, üzerinde çalışılan nesne veya taneciklerin geometrik yapıları ile ilgili bazı ön kabuller (örneğin, x organındaki tüm hücreler küreseldir; çapları ve hacimleri arasında şöyle bir ilişki vardır; vs gibi) yapılarak, nesnelerin kurmaca matematiksel modelleri üzerinden ölçüm yapılması esasına dayanan *stereoloji* dalıdır. Tasarım Temelli *Stereoloji*, sayısal özellikleri hesaplanmak istenen yapılar hakkında herhangi bir ön kabul yapılmadan, çalışma tasarımına bağlı olarak verilerin elde edildiği *stereoloji* alanıdır (Kaplan, 2006).

Stereoloji ile ilgilenenlerin bu alanda sıklıkla başvurdukları kavramlar; tarafsızlık ve etkinliktir. “Tarafsızlık”; gerçek değerden sistematik bir sapma göstermemek, “etkinlik” ise makul bir sürede düşük değişkenlik göstermek demektir (Gundersen ve ark., 1988a). Tarafılığın prensipte iki ana kaynağı vardır; bunlar örnekleme ve sistemik tarafılıktır. Sistemik tarafılığa neden olan birçok etken vardır. Bunlar; ölçüm aletlerinin yanlış ayarlanması, mikrotomun yapısındaki hatalar,

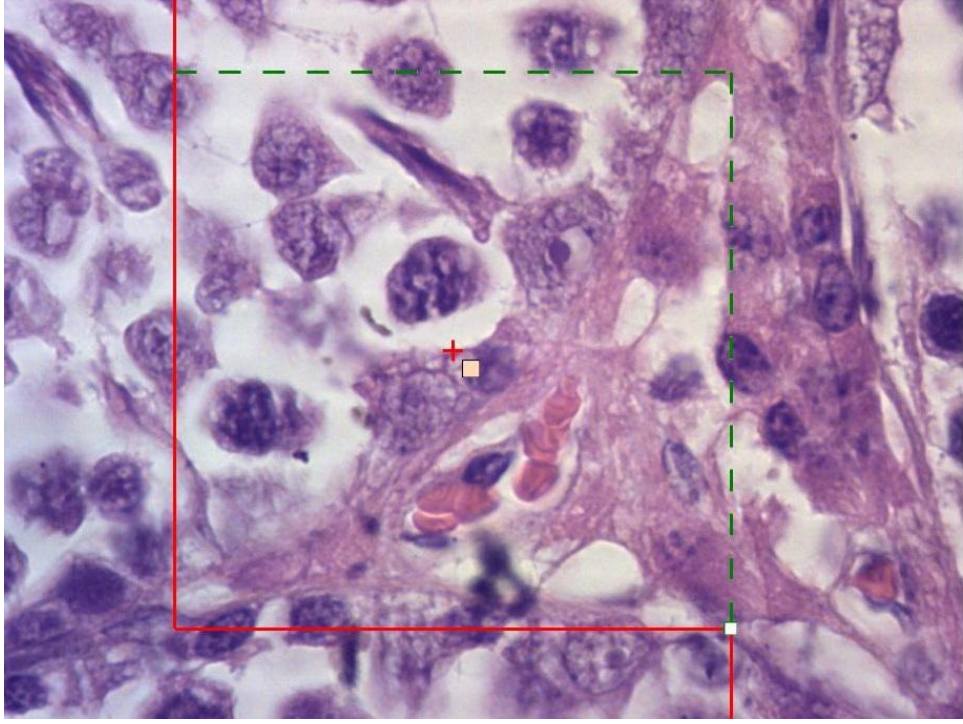
mikroskopun optik sistemindeki hatalar, değişken kesit kalınlıkları vs. sayılabilir ve sayısı artırılabilir. Ancak bu etkenlerden önemlisi kullanılan ölçü aletlerinin iyi kalibre edilmemesidir. Bu durumda doğru ölçüm aletleri ile aynı ölçümler tekrarlanmadıkça sonuçlardaki taraflılığın fark edilmesi mümkün olmaz (Howard ve Reed, 1998; Kaplan, 2006). Örnekleme taraflılığı ise; örnekleminin incelenen nesnenin hep aynı noktasından yapılarak ölçüm ve inceleme yapılması sonucu ortaya çıkar ve incelenen nesnenin her parçasına örneklemede eşit şans verilerek örnekleme yapılması taraflılığı önler (Howard ve ark., 2003; Kaplan, 2006).

Etkinlik ise, yapılacak biyolojik araştırmada kaynakların (materyal, malzeme, zaman) optimum düzeyde kullanılması ile gerçek değere en yakın değeri bulmayı, yani daha kısa zamanda daha az hatalı iş yapmayı ifade eder (Gundersen ve Jensen, 1987; Mouton, 2002).

Stereolojik metodların en önemli stratejik temelini Sistematik Rastgele Örnekleme (SRÖ) oluşturur. Mikroskobik analizlerde üzerinde çalışılacak biyolojik dokunun örneklenmesi sistematik taraflılıktan uzak değildir. Örnekleme yapılacak nesnenin her bir parçası eşit oranda örneklenme şansına sahip değildir (Cruz-Orive, 1999). Sistematik rastgele örnekleme, rastgele yapılan örnekleme göre istatistiki anlamda gerçeğe daha yakın sonuçlar elde edilmesini sağlar (Gundersen ve ark., 1999). Burada “sistematik” sözcüğü, ilgili yapıdan alınan kesitlerin veya kesit üzerindeki inceleme alanlarının önceden belirlenmiş aralıklarla, yani sistematik aralıklarla örneklenmesini “rastgele” sözcüğü ise bu sistematik örnekleminin örnekleme aralığı içerisinde rastgele bir sayı ile başlamasını ifade eder (Gundersen ve ark., 1988b).

1.4.2. Tarafsız Sayım Çerçevesi

Stereoloji'de, tanecik sayımı yapmak için tanecik izdüşümlerinden yararlanılan durumlarda, kesitlerde ortaya çıkan tanecik izdüşümlerinin belli bir alanla sınırlandırılarak sayılmaları gerekmektedir. Bu durumda, izdüşümlerin hangi kurallara göre sınırlandırılması gerektiği konusu ortaya çıkar (Şekil 1) (Kaplan, 2006).



Şekil 1. Tarafsız sayım çerçevesi: Düz-kırmızı çizgiler yasak kenarları, kesik-yeşil çizgiler ise serbest kenarları gösterir.

Çeşitli sayım çerçevelerinin kullanılması ile yapılan yanlışlıklar saptandıktan sonra iki boyutlu düzlemde gerçek sayımın nasıl bulunacağını, 1977 yılında Gundersen “tarafsız sayım çerçevesi” olarak adlandırılan bir sayım çerçevesi modeli geliştirerek tarif etmiştir (Gundersen, 1977).

Tarafsız sayım çerçevesinde sayım yapılırken uyulacak bazı kurallar vardır. Bunlar; izdüşümlerinin tamamının sayım çerçevesi içerisinde kalan ve çerçevenin kenar veya köşesiyle kesişmeyen taneciklerin sayılması, çerçevenin yasak çizgisi ile kesişen izdüşümlerin sayılmaması, çerçevenin serbest çizgisi ile kesişen izdüşümlerin sayılması kurallarıdır (Ünal ve ark., 2002).

1.4.3. Cavalieri Metodu

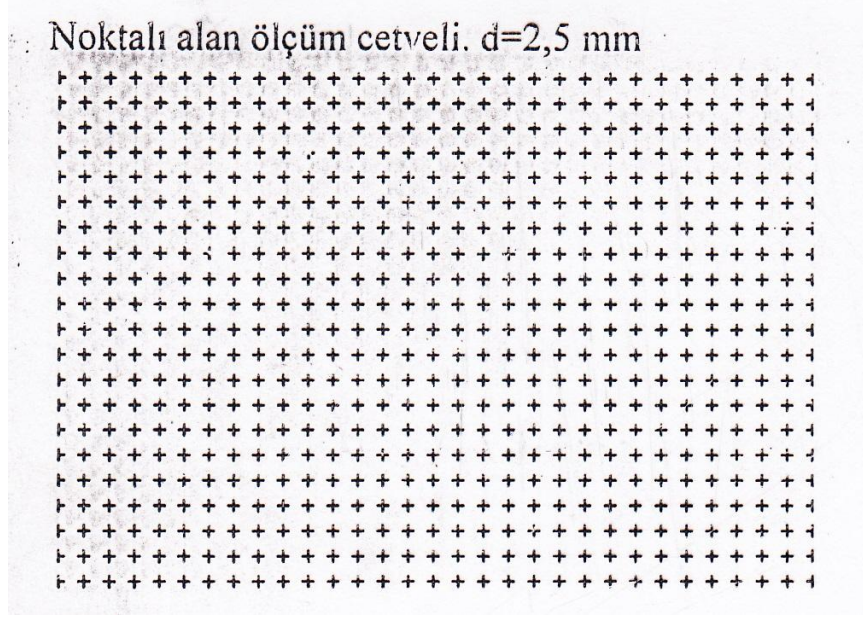
Bu metod, organ ya da yapıların hacim değerlerinin hesaplanması amacıyla 300 yıl kadar önce İtalyan matematikçi *Bonaventura Cavalieri* tarafından geliştirilmiştir. *Cavalieri* herhangi bir objenin hacminin, nesneden paralel, belirli aralıklarla kesilmiş iki boyutlu kesitler sayesinde hesaplanabileceğini göstermiştir (Akbas ve ark., 2004).

Bu metot, hacmi hesaplanmak istenen yapıdan paralel dilimler alarak, her bir dilim için yüzey alanları ile kalınlıklarının çarpımı sonucu elde edilen hacim değerlerinin toplanmasını içerir (Sahin ve ark., 2003). *Cavalieri* prensibini uygulamak için, hacmi hesaplanmak istenen yapı eşit aralıklar ile ve birbirine paralel olarak dilimlere ayrılır. Daha sonra ise her bir dilimin aynı yöne bakan kesit yüzeylerinin alanları hesaplanır ve tüm dilimlerden elde edilen yüzey alanları toplanarak, ortalama dilim kalınlığı ile çarpılır. Sonuçta elimizdeki yapının toplam hacmini tarafsız bir şekilde aşağıdaki formül ile hesaplamış oluruz (Canan ve ark., 2002);

$$V_{ref} = \sum P_i \times P(a) \times t$$

- V_{ref} : ilgilendiğimiz yapının toplam ya da referans hacmi
 $\sum P_i$: İlgilendiğimiz yapının izdüşümünün sınırları içine düşen nokta sayısı toplamı
 $P(a)$: Birim cetvel alanı (noktalı alan cetvelinde 4 nokta arasındaki alan)
 t : ortalama kesit kalınlığı

Mikroskobik kesitler ve makroskobik dilimler üzerine uygulayabileceğimiz *Cavalieri* prensibi için ilk adım yüzey alanını hesaplamaktır. Bunun için bilgisayar destekli görüntü analiz cihazları kullanılarak *planimetrik* olarak izdüşüm alanları doğrudan ölçülebileceği gibi, yüksek doğrulukta ölçüm yapmak için mutlaka bilgisayara ihtiyaç yoktur (Canan ve ark., 2002). Bu amaçla noktalı alan ölçüm cetveli kullanmak *stereoloji*'de sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Ayrıca noktalı alan ölçüm cetveli kullanılarak yapılan ölçümler diğer *planimetrik* ölçümlerden daha kısa sürede ve daha güvenilir sonuçlar verdiği gibi maliyeti de oldukça düşüktür (Duman, 2010).



Şekil 2. Yüzeý alanı hesaplamada kullanılan Noktalı Alan Ölçüm Cetveli

Noktalı alan ölçüm cetveli, birbirinden eşit aralıklarla ayrılmış noktalardan oluşur. Bu noktalar bir yüzey üzerine belirli aralıklarda dizilirler. Bu cetvelde her bir “artı” (+) işaretinin orta noktası cetvel üzerindeki bir noktanın varlığını temsil eder. Bu noktaların her biri aslında dört nokta arasında kalan alanı, yani “bir birim cetvel alanı”nı $[P(a)]$ temsil etmektedir. Birim cetvel alanı $[P(a)]$ bilinen bir noktalı alan ölçüm cetveli, alanı hesaplanmak istenen bir yapının kesiti üzerine rastgele bırakılarak, kesitteki izdüşümü üzerine isabet eden noktaların sayısı, dolayısıyla bu izdüşümün kesitte temsil ettiği alan hakkında bilgi sahibi olunacaktır. İlgilendiğimiz yapının izdüşümünün sınırları içine düşen nokta sayısının toplamı ($\sum P_i$) birim cetvel alanı $[P(a)]$ ile çarpılırsa, kesitteki izdüşümün toplam alanı (A_i) tarafsız olarak bulunmuş olur (Kalkan, 2009).

1.5. İmmunohistokimya

İmmunohistokimya (İHK), spesifik antikorlar vasıtasıyla doku bileşenlerini (antijenleri) tespit etmemize yarayan bir çok yöntemi içeren geniş kapsamlı bir terimdir. Bu yönüyle İHK, spesifik antijen-antikor reaksiyonu vasıtasıyla doku içerisinde belirli moleküllerin dağılımı ve miktarını saptamada öneme sahip yardımcı yöntemlerdir (Brandtzaeg, 1998; Haines ve West, 2005; Schacht ve Kern, 2015).

İHK yöntemleri çeşitli araştırmalarda veya patolojik laboratuvarlarda *neoplazi*’lerin tanısı ve alt tiplendirmeleri, *malign neoplazi*’lerin primer bölge

karakterizasyonu, hastalıkların *prognozu* ile ilgili faktörler ve *terapötik* bulgularının araştırılması, belirli hücre çoğalmalarının iyi ya da kötü huylu olup olmadığının ayrımı gibi birçok durumda kullanılabilirdiği gibi hücre içi proteinlerin varlığının tayini amacıyla da kullanılabilir (Leong ve Wright, 1987; Taylor ve Cote, 1994; Bodey, 2002; Werner ve ark., 2000; Jaffer ve Bleiweiss, 2004).

İHK yöntemi şu aşamaları içermektedir;

- **Kesitlerin hazırlanması;** *deparafinizasyon* ve dokudaki suyun uzaklaştırılması (Kim ve ark., 2016).
- **Endojen Peroksidaz Bloklanması;** Doku *peroksidaz*'ını inhibe etmek için genellikle %3 H₂O₂ (*Hidrojen Peroksit*) kullanılır (Radulescu ve Boenisch, 2007).
- **Antijen Retrieval;** fiksasyon sırasında, doku proteinleri, nükleik asitler ve polisakkaritler ile kullanılan fiksatif arasında oluşan çapraz bağlar İHK reaksiyonları sırasında doku kesitlerinin antikor geçirgenliğini sınırlar. Buna antijen maskelenmesi denir ve bu sorunun önüne geçmek için *antijen retrieval* yöntemi uygulanır (Fox ve ark., 1985; Shi ve ark., 1991; Evers ve ark., 1998)
- **Primer Antikor Bağlanması;** Antikorların dokulardaki hedef proteinlere bağlanmasıdır (Kim ve ark., 2003).
- **Sekonder Antikor Bağlanması;** İmmunboyamayı geliştirir ve yanlış pozitif ya da negatif boyanmayı düşürür (Taylor ve ark., 2006).
- **Kromojen substrat;** *antikor-antijen* kompleksinin mikroskopta görünebilir hale gelmesi için işaretlenmesi işlemidir (Bancroft ve Gamble, 2008).
- **Counterstaining;** İHK boyamanın daha belirgin olması için yapılan ikinci bir boyamadır. Bu amaçla en çok *hematoksilen*, *eosin*, *metilen mavisi*, *metilen yeşili* ve *toluidin mavisi* boyaları kullanılır (Stefanovic ve ark., 2013).
- **Değerlendirme;** İHK boyama sonunda incelenen dokuda yarı-kantitatif skorlama yapılır. İHK boyama yoğunluğu negatif (-), pozitif (+), yoğun pozitif (++) ve çok yoğun pozitif (+++) olarak değerlendirilir (Walker, 2006).

Çalışmanın amacı *curcumin*'in *testis* dokusunda *cypermethrin*'e karşı onarıcı ve koruyucu etkilerinin araştırılmasıdır. Bu kapsamda *histolojik* incelemenin yanında *testis* hacmi, hücre sayıları, *tubuli seminiferi* ölçümleri, AR yoğunlukları gibi parametreleri de saptamak amacıyla *stereolojik* ve *immunohistokimyasal* yöntemlerden faydalanılmıştır.

2. GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Araştırmanın Yapıldığı Yer

Bu çalışma Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde ve Afyon Kocatepe Üniversitesi Veteriner Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Anatomik oluşumların isimlerinin yazılmasında *Nomina Anatomica Veterinaria (International Committee on Veterinary Gross Anatomical Nomenclature, 2017)* esas alındı.

2.2. Deney Hayvanları

Çalışmada denek kullanabilmek için Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 30.01.2014 tarihli ve 49533702/12 sayılı kararla izin alındı. Çalışmada Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi tarafından temin edilen 2 aylık, 48 adet erkek *Sprague Dawley* cinsi rat kullanıldı. Ratlar deney süresince 16 x 30 x 40 cm ebatında kafeslerde tutuldu. Kafeslerde altlık materyali olarak iri talaş kullanıldı. Ratların yaşadığı ortamın aydınlatması 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlandı. Ayrıca ortam sıcaklığı 21 ± 2 °C ve nem oranı %50 olacak şekilde düzenlendi. Ratların suya erişmeleri için kafeslerin üzerinde devamlı dolu olarak bulunan cam suluklar kullanıldı. Ratların beslenmesi için Türk Standartları Enstitüsü (TSE) standartlarına uygun pelet yem kullanıldı. Ratların yem ve suya sınırsız ulaşmaları sağlanarak (ad libitum), eksilen yem ve sular sürekli eklendi. Kafesler çalışma süresi boyunca iki günde bir kez düzenli olarak temizlendi.

2.3. Deney grupları

Ratlar 6 gruba ayrıldı ve her grupta 8 hayvan olacak şekilde sınıflandırıldı.

A Grubu; Kontrol Grubu: 30 gün boyunca mısırözü yağı uygulanan grup.

B Grubu; 30 gün boyunca 30 mg/kg *cypermethrin* uygulanan grup.

C Grubu; 30 gün boyunca 100 mg/kg *curcumin* uygulanan grup.

D Grubu; ilk 15 gün 30 mg/kg *cypermethrin*, sonraki 15 gün ise 100 mg/kg *curcumin* uygulanan grup.

E Grubu; ilk 15 gün 100 mg/kg *curcumin*, sonraki 15 gün ise 30 mg/kg *cypermethrin* uygulanan grup.

F Grubu; 30 gün boyunca 100 mg/kg *curcumin*'le birlikte 30 mg/kg *cypermethrin* uygulanan grup*.

* *Curcumin*, *cypermethrin* verilmesinden 1 saat önce hayvanlara verildi.

2.4. Deney Aşaması

2.4.1. Gastrik Gavaj Uygulaması

Ratların ağırlıkları her hafta tartılarak, verilecek kimyasallar ortalama ağırlıklarına göre doze edildi. *Cypermethrin* (% 95, *Alfa Aesar*) ve *Curcumin* (% 95, *Alfa Aesar*) mısırözü yağı içerisinde çözüldü. Böylece her gruptaki hayvanlara vücut ağırlıklarına göre farklı kimyasal dozları hacmen 1 ml olacak şekilde ayarlandı ve gastrik gavaj yoluyla verildi. Gavaj uygulaması 30 gün boyunca her gün aynı saatte (13:00 - 15:00) ve beyaz önlük giymiş aynı kişi tarafından yapıldı.

2.4.2. Ratların Diseksiyonu

30 günlük uygulamaların ardından hayvanların vücut ağırlıkları tartıldı ve kayıt altına alındı. 50 mg/kg *Ketamin HCl* ve 10 mg/kg *Ksilazin HCl intramuskuler* (IM) yolla uygulanarak hayvanlar anesteziye alındı. Anesteziye alınan ratların göğüs kafesleri açılarak kalbe ulaşıldı. Kalbin sağ *atrium*'una bir kesit atıldıktan sonra sol *ventrikül*'e *insülin* iğnesi yardımı ile ılık serum fizyolojik (%0.9 NaCl) verilmeye başlandı ve kanın dışarı akması sağlandı. Kalpten çıkan kan berraklaştıktan sonra *fiksatif* olarak %10 nötral *tamponlu formaldehit* solüsyonu verilerek (ortalama 60 –

80 ml) *perfüzyon* tamamlandı. *Perfüzyon*'un ardından *testis*'ler vücuttan çıkartıldı (Şekil 3).



Şekil 3. Vücutun dışına alınmış testisler

Testis'lerden sağdaki *stereolojik* inceleme için, soldaki ise *immunohistokimyasal* inceleme ve hücre sayımı için alınarak ağırlıkları ve boyutları kayıt edildi. Bu aşamadan sonra *testis*'ler *insilün* iğnesi vasıtasıyla 4-5 yerinden delinerek %10'luk *nötral tamponlu formaldehit* solüsyonuna konuldu ve iki günde bir *formaldehit* solüsyonları yenilendi.

Stereolojik inceleme amaçlı alınan sağ *testis* ikinci günün sonunda 2 mm'lik eşit dilimlere ayrılarak doku takip kasetleri içerisinde tekrar %10'luk *nötral tamponlu formaldehit* solüsyonuna alındı (Şekil 4).



Şekil 4. İki mm'lik eşit aralıklarla dilimlenmiş testis örneği.

Sol *testis*'lerde ise küçültme işlemi yapıldı (Şekil 5). Küçültme işleminde her bir *testis* önce *sagittal* olarak iki eşit parçaya bölündü. Daha sonra sol yarım enine ikiye bölünerek üst kısım (*caput*'a yakın kısım) elde edildi. Bu kısım yine enine bölündü ve alttaki parça doku takip kasetlerine alınarak %10'luk *nötral tamponlu formaldehit* solüsyonu içerisine bırakıldı.



Şekil 5. Sol testislerde yapılan küçültme işlemi ve doku takibi için alınan parça (a).

2.4.3. Doku Takibi

Doku takip kasetlerine alınan sol *testis* 'lere aşağıdaki *histolojik* doku takip prosedürü uygulandı.

% 70'lik alkol	2 saat
% 96'lık alkol	1 saat
% 96'lık alkol	1,5 saat
% 99'luk alkol	1 saat
% 99'luk alkol	1 saat
% 99'luk alkol	1,5 saat
Xylene	1 saat
Xylene	1 saat
Xylene	1,5 saat
Parafin	2 saat
Parafin + Xylene	2 saat

2.4.4. Kesit Alma

Doku takip prosedürü ardından *testis* kısımları metal doku baz kalıplarına alınarak üzerlerine eritilmiş boncuk parafin dökülerek parafin bloklara gömülme işlemi tamamlandı (Şekil 6).

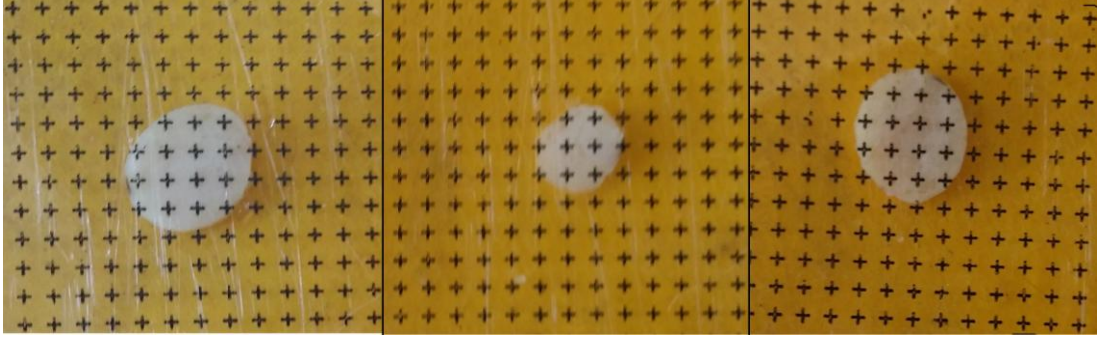


Şekil 6. Parafin bloklara gömülmüş, kesit alma işlemine hazır doku örnekleri.

Parafin bloklara gömülen sol *testis*'lerden *immunohistokimyasal* inceleme ile hücre sayımı ve tubul ölçümleri için ayrı ayrı olmak üzere *mikrotom* aracılığıyla 4 µm kalınlığında kesitler alınarak pozitif şarjlı lamlara aktarıldı.

2.5. Stereolojik Ölçümler

Paralel olarak 2 mm kalınlığında dilimlere ayırdığımız ve *formaldehit* solüsyonunda tespit ettiğimiz sağ *testis*'ler, aynı yöne bakan kesit yüzeyleri üste gelecek şekilde düz bir zemine alındı. Daha sonra *testis* dilimlerinin üzerine iki nokta arası uzaklığı 2.5 mm olan noktalı alan cetveli rastgele olarak bırakıldı (Şekil 7). Noktalı alan cetveli üzerinde *testis* dokusu izdüşümüne denk gelen nokta sayısı sayılarak not edildi ve *Cavalieri* Prensibi'ne göre hacim hesaplandı (Kalkan, 2009).



Şekil 7. İki mm'lik testis dilimleri üzerine rastgele bırakılan noktali alan cetveli (d= 2.5 mm).

2.6. Hücre Sayımı ve *Tubuli Seminiferi* Ölçümleri

Pozitif şarjlı lamlara aldığımız kesitlerde parafini gidermek için lamlar 55°C'lik etüvde 2 saat bırakıldı. Bu işlemlerin ardından kesitler *Hematoksilen-Eosin* yöntemi ile aşağıdaki prosedüre göre boyandı (Şekil 8).

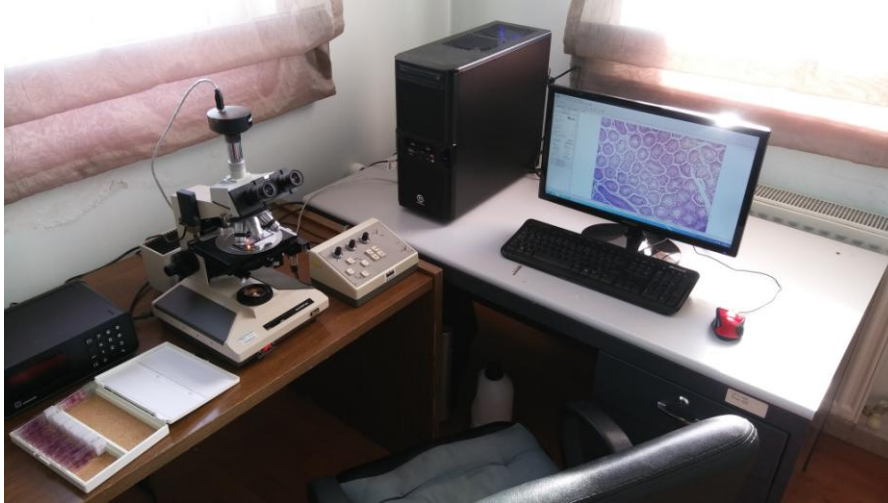
- Xylene 1-2-3 (5'er dk)
- % 100 Etanol (5 dk)
- % 80 Etanol (5 dk)
- % 70 Etanol (5 dk)
- % 50 Etanol (5 dk)
- Distile Su (5 dk)
- Hematoksilen (5 dk)
- Asit – Alkol (daldırılıp çıkarıldı)
- Çeşme suyu (5 dk)
- Eosin (2 dk)
- % 80 Etanol (10 sn)
- % 96 Etanol 1-2 (daldırılıp çıkarıldı)
- % 100 Etanol (1 dk)
- Xylene 1-2-3 (5'er dk)

Boyama işlemi ardından kesitlerin bulunduğu lamlar lameller ile kapatıldı.



Şekil 8. Hematoksilen-Eozin boyama

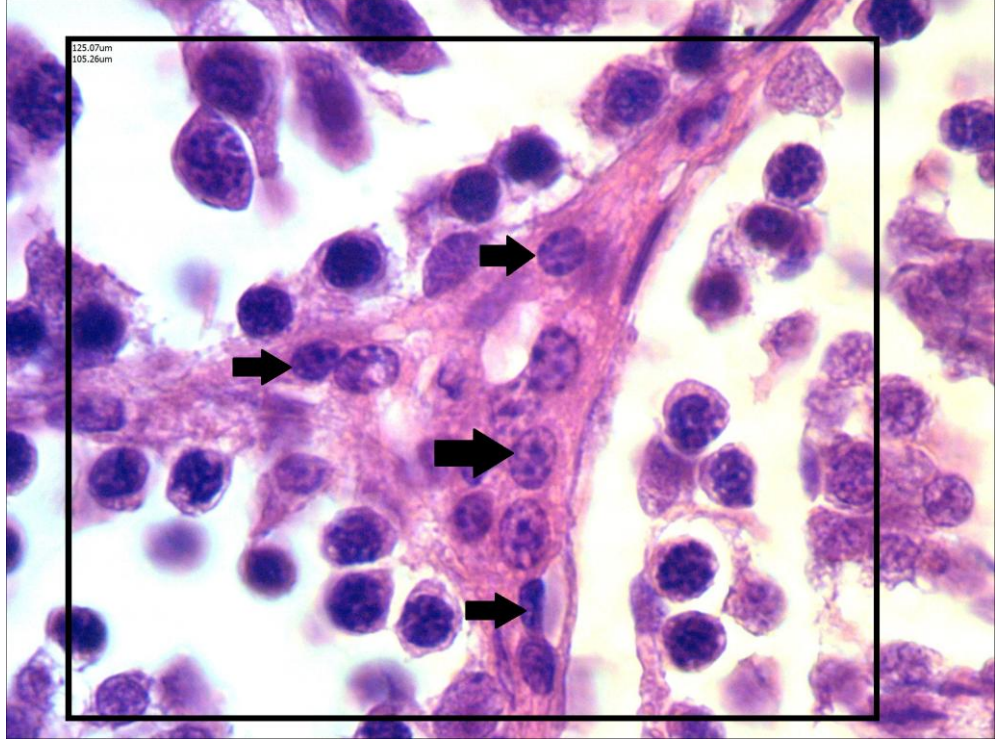
Hücre sayımı ve uzunluk hesaplamalarında Olympus BH-2 marka ışık mikroskobu, motorize tabla (LANG GMBH & Co KG), mikroskoba bağlı CCD kamera (Mshot MDX4), bunlara bağlı olan bir masaüstü bilgisayarı ve bu bilgisayar üzerinde kurulu bir bilgisayar yazılımı (Mshot Image Analysis System 13.0) kullanılmıştır (Şekil 9).



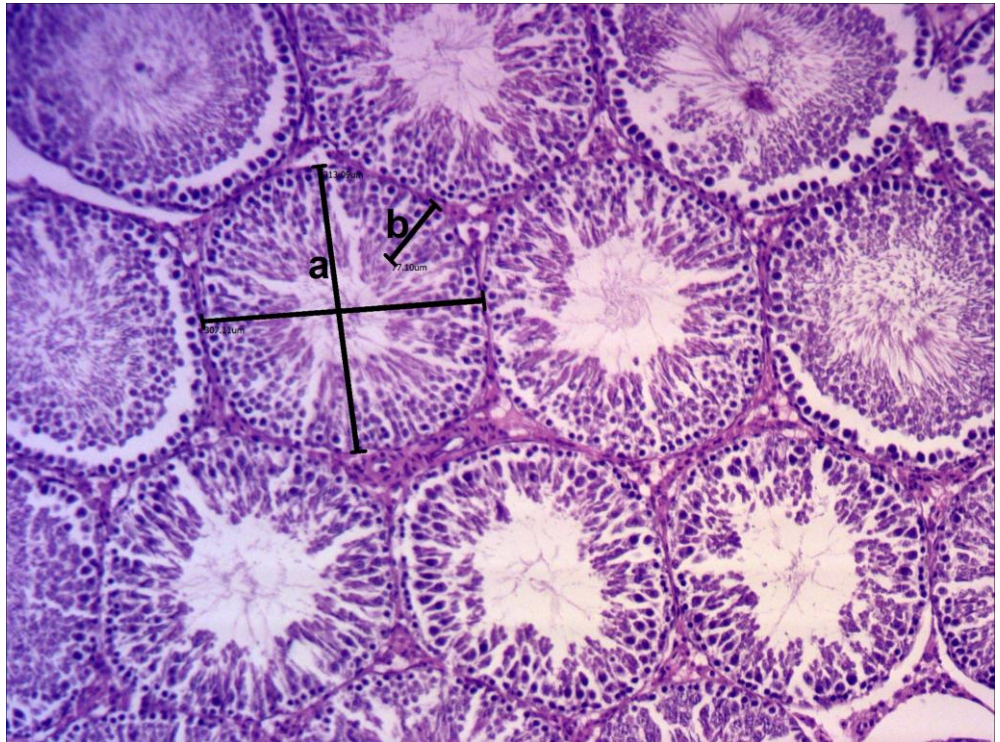
Şekil 9. Sayım ve ölçümlerde kullanılan motorize tabla ve dijital kamera ilave edilmiş mikroskop (Olympus BH2- Japon) ile bilgisayar sistemi.

Boyama işlemi ardından doku kesitlerinde hücre sayımı amacıyla bilgisayar monitöründeki görüntü üzerine $125 \mu\text{m} \times 105 \mu\text{m}$ kenar uzunluklarına sahip tarafsız sayım cetveli atıldı ve her bir *testis*'te rastgele seçilen 40 alanda *leydig* hücre sayımı

yapıldı (Şekil 10). *Tubuli seminiferi* çapı ve *epitel* yükseklikleri ölçümü için ise yine her bir *testis* için rastgele seçilen 40 alanda sadece tam olarak yuvarlak şekle sahip *tubul* kesitlerinde ölçümler yapılarak kayıt altına alındı (Şekil 11).



Şekil 10. 125 µm x 105 µm'lik tarafsız sayım çerçevesi ile leydig hücre sayımı (ok: leydig hücreleri).



Şekil 11. Tubuli seminiferi çapı (a) ve tubul epitel yüksekliklerinin (b) ölçümü.

2.7. İmmunohistokimya

Doku kesitlerinde parafini gidermek için pozitif şarjlı lamlara aldığımız kesitler 55°C'lik etüve 2 saat süreyle bırakıldı. Ardından iki ayrı *xylol*'den (5 dk ve 10 dk) ve % 100 (2 x 3 dk), % 96 (2 x 3 dk), % 70 (3 dk)'lik alkol serilerinden geçirildikten sonra distile sudan (3 dk) geçirildi. Yukarıdaki işlemlerden geçirilen kesitlerimizde *Endojen Peroksidaz Bloklaması* aşamasına geçilerek doku kesitleri 10 dk %3'lük *hidrojen peroksit*'te (20 ml H₂O₂ + 180 ml distile su) bekletilip, 3 dakika distile suda yıkandı. *Antijen* maskelenmesi problemini gidermek amacıyla "*antijen retrieval*" yöntemi uygulandı. Bu aşamada içerisinde 0.01 M CBS (pH 6.0 *citrate buffer solution*) bulunan koplın jara aktarılan kesitler mikrodalga fırında 800 W'da 15 dakika ısıtıldı. Mikrodalga fırından çıkarılan kesitler 15 dakika boyunca soğumaya bırakıldıktan sonra 3 dakika distile suda yıkandı.

İmmunohistokimyasal boyama *avidin-biotin-peroxidase complex* (ABC) tekniği kullanılarak gerçekleştirildi. *Antijen retrieval* sonrası elde ettiğimiz kesitlerin etrafı *hidrofobik* kalemle çizildi. Etrafı çizilen kesitler birkaç kez distile suda yıkandıktan sonra spesifik olmayan *antikor* bağlanmalarını önlemek amacıyla kitimizde (Ultravision Polyvalent HRP Kit – TP-060-HL ThermoScientific) bulunan *serum blocking* solüsyonunda 15 dakika bekletildi. 15 dakika sonunda lamların üzerindeki solüsyonlar dökülerek 1/100 oranında sulandırılan *primer antikor* (Rabbit Anti-Rat/Human Androgen Receptor Polyclonal Antiserum – ThermoScientific RB-9030-P) ile +4°C sıcaklıkta 18 saat boyunca inkübe edildi. İnkübasyon sonunda 2 defa 3'er dakika TBS (*Triple Buffer Solution*) ile yıkanan kesitlerin üzeri *sekunder antikor* ile kaplanarak oda sıcaklığında inkübe edildi ve 2 defa 3'er dakika TBS ile yıkandı. Kesitlerin üzeri *peroksidaz* ile kaplanarak 1 saat bekletildi ve bu süre sonunda 2 defa 3'er dakika TBS ile yıkandı. Bu işlemin sonunda kesitlerimiz kitimizdeki A, B ve C solüsyonlarından hazırladığımız *kromojen substratı*'na daldırıp, 30 saniye beklettikten sonra distile suya alındı. Daha sonra *Gill's* (III) *Hematoksilen* ile 1 dakika boyunca boyanan kesitler, 10 dakika akan çeşme suyunda bekletildikten sonra lamelle kapatıldı.

İmmunohistokimyasal olarak boyanan preparatların çekirdeklerinde boyanma görülenler AR pozitif olarak değerlendirildi. Boyanma yoğunluğu negatif (-), pozitif (+), yoğun pozitif (++) , çok yoğun pozitif (+++) ve değişken (+/-, +/-, +++/-) olarak derecelendirildi.

2.8. İstatistiksel Analiz

Araştırmadan elde edilen verilere göre gruplara ait istatistiksel hesaplamalar ve grupların ortalama değerleri arasındaki farklılıkların önemliliği için tek yönlü varyans analizi (ANOVA), gruplar arası farkın önemlilik kontrolü için “*Duncan*” testi uygulandı. İstatistik analizler SPSS 10.00 (Inc., Chicago, IL, USA) programı ile yapıldı. $p < 0,05$ değeri anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

3.1. Vücut ve Testis Ağırlıkları

Araştırmada hayvanların deney öncesi (0. gün) ve deney sonrası (30. gün) ölçülen canlı ağırlık ortalamaları ve istatistiksel değerlendirme sonucu elde edilen P değeri Tablo 1’de sunulmuştur.

Tablo 1. Gruplara göre 0. gün ve 30. gün canlı ağırlıkları (g)

Gruplar	CA 0. Gün (g) MEANS ±SE	CA 30. Gün (g) MEANS ±SE
Kontrol	252 ± 8,71	379 ± 14,86
Cyp	252 ± 4,51	381 ± 9,32
Cur	253 ± 8,36	388 ± 8,63
15 Cyp-15 Cur	252 ± 10,43	391 ± 16,81
15 Cur-15 Cyp	259 ± 9,74	364 ± 11,94
Cur+Cyp	254 ± 13,41	349 ± 20,09
P Değeri	0,994	0,290

CA : Canlı Ağırlık
 Cyp : 30 gün boyunca sadece *cypermethrin* verilen grup
 Cur : 30 gün boyunca sadece *curcumin* verilen grup
 15 Cyp-15 Cur : ilk 15 gün *cypermethrin*, sonraki 15 gün *curcumin* verilen grup
 15 Cur-15 Cyp : ilk 15 gün *curcumin*, sonraki 15 gün *cypermethrin* verilen grup
 Cyp+Cur : 30 gün boyunca *curcumin* ve *cypermethrin*’in birlikte verildiği grup
 P<0,05 : kontrol grubuna nazaran anlamlı olarak farklıdır

Tablo 1'e göre deney sonrası kontrol grubu ile deney grupları arasında vücut ağırlıkları bakımından istatistiksel bir fark saptanmadı ($P>0.05$). Bu bulgular çalışmada *cypermethrin*'in canlı ağırlık üzerine etkisi olmadığını gösterdi.

Hayvanların sağ ve sol *testis* ağırlık ortalamaları ve istatistiksel değerlendirme sonucu elde edilen P değeri Tablo 2'de sunulmuştur.

Tablo 2. Gruplara göre ortalama *testis* ağırlıkları (g)

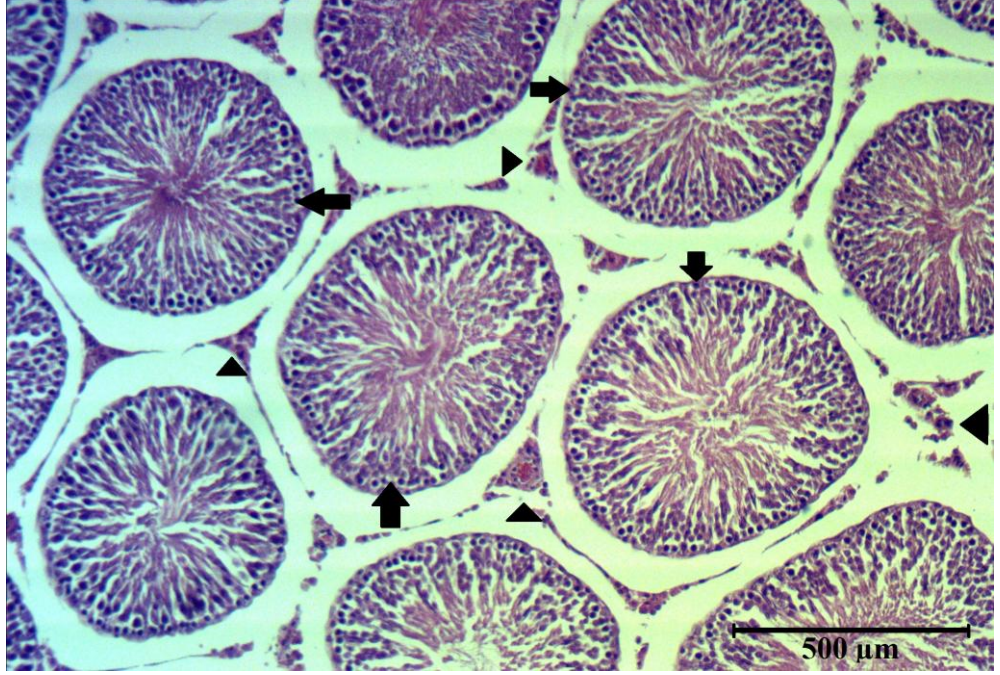
Gruplar	Sağ Testis (g) MEANS \pm SE	Sol Testis (g) MEANS \pm SE
Kontrol	3,96 \pm 0,19	3,85 \pm 0,25
Cyp	4,14 \pm 0,22	4,07 \pm 0,14
Cur	3,80 \pm 0,29	3,80 \pm 0,15
15 Cyp-15 Cur	4,02 \pm 0,42	4,01 \pm 0,27
15 Cur-15 Cyp	4,02 \pm 0,43	3,98 \pm 0,77
Cur+Cyp	3,38 \pm 0,16	3,29 \pm 0,17
P değeri	0,381	0,337

Cyp : 30 gün boyunca sadece *cypermethrin* verilen grup
Cur : 30 gün boyunca sadece *curcumin* verilen grup
15 Cyp-15 Cur : ilk 15 gün *cypermethrin*, sonraki 15 gün *curcumin* verilen grup
15 Cur-15 Cyp : ilk 15 gün *curcumin*, sonraki 15 gün *cypermethrin* verilen grup
Cyp+Cur : 30 gün boyunca *curcumin* ve *cypermethrin*'in birlikte verildiği grup
 $P<0,05$: kontrol grubuna nazaran anlamlı olarak farklıdır

Hayvanların sağ ve sol *testis* ağırlıkları bakımından kontrol grubu ile deney grupları arasında istatistiksel bir fark olmadığı saptandı ($P>0.05$).

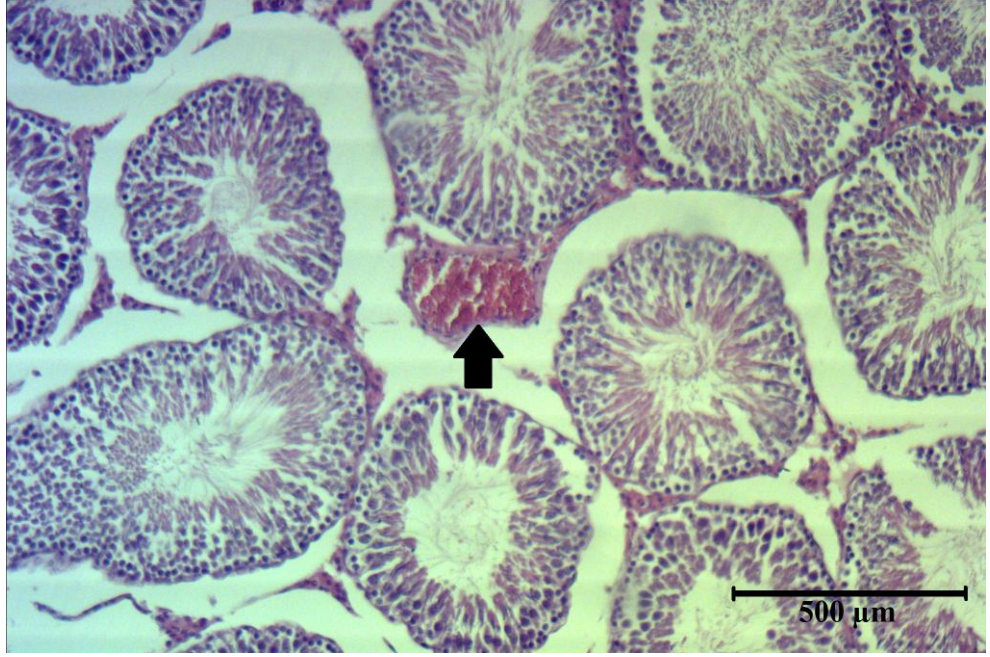
3.2. Histolojik Bulgular

Işık mikroskobu ile yapılan incelemelerde kontrol grubuna ait *testis* dokularında *tubuli seminiferi epitel* ve duvar yapılarının düzenli olduğu görüldü. *İnterstisyel* doku ve burada bulunan kan damarlarının da düzenli ve normal görünümde olduğu belirlendi (Şekil 12).

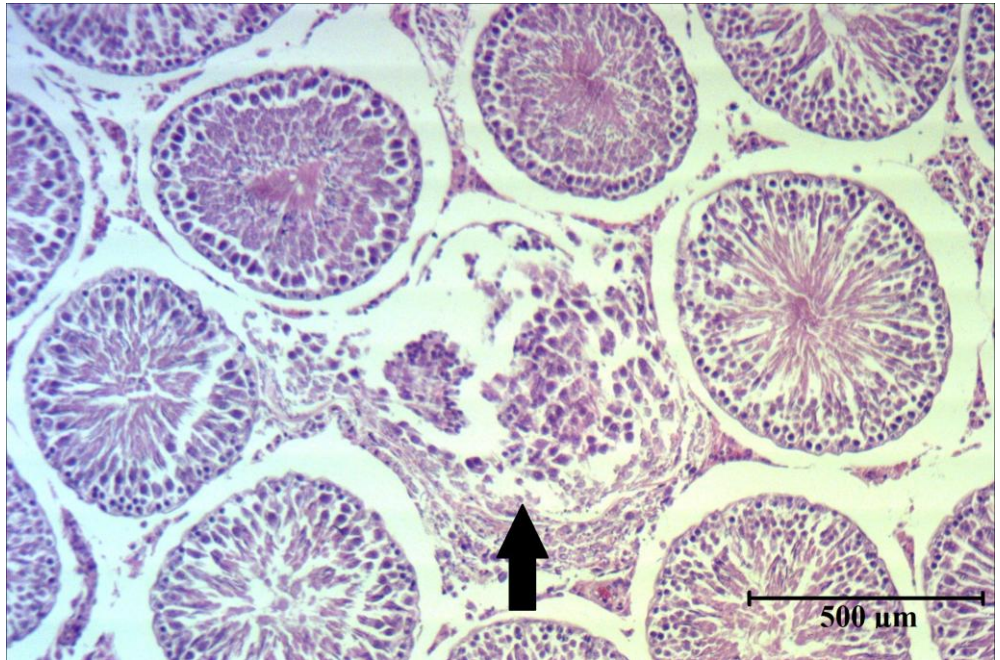


Şekil 12. Kontrol grubuna ait testis dokusu. Ok: tubuli seminiferi, okbaşı: interstisyel doku. (Hematoksilen-Eosin, X10).

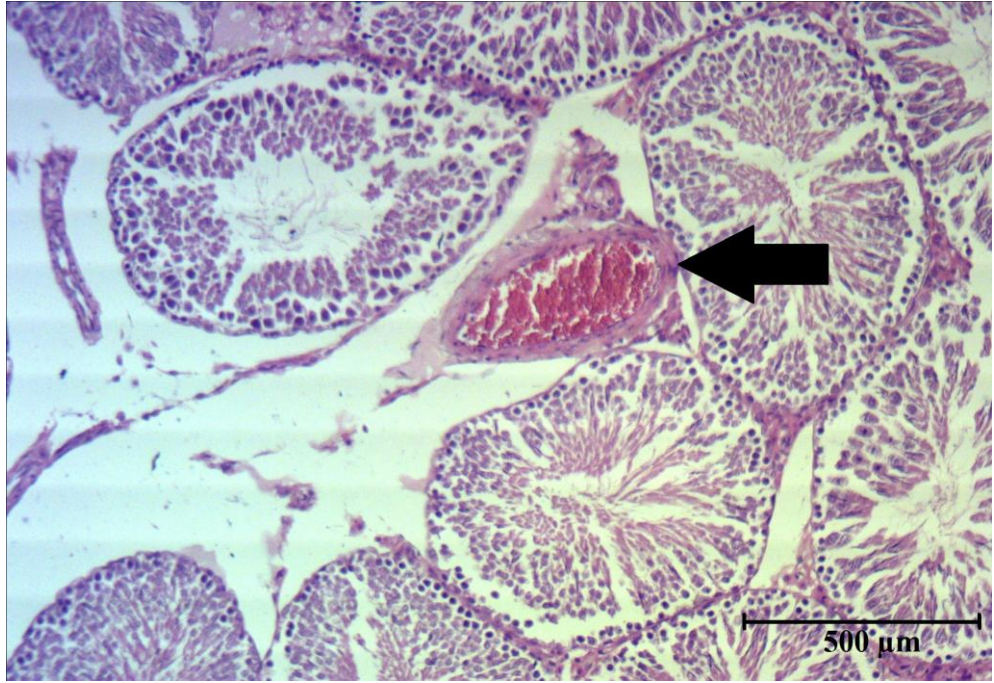
Otuz gün boyunca sadece *cypermethrin* verdiğimiz gruba baktığımızda ise özellikle *tubuli seminiferi epitel* ve duvar yapılarında yer yer bozulmalar, düzensizlikler görüldü (Şekil 13). Bununla birlikte tubullerde dejenerasyon ve nekrozlar da saptandı (Şekil 14). *Tubuli seminiferi epitel* yüksekliklerinin bu grupta gözle görülür şekilde düştüğü tespit edildi. *İnterstisyel* dokuya baktığımızda ise bu dokuda artış ve kırmızı kan hücreleri ile dolu *konjesyone* kan damarları sıklıkla görüldü (Şekil 15). Bu bulgular *cypermethrin*'in *testis* dokusu üzerine olumsuz etkilerinin olduğunu göstermektedir.



Şekil 13. Cypermethrin grubuna ait testis dokusu ve konjesyone kan damarı (ok) (Hematoksilen-Eosin, X10).

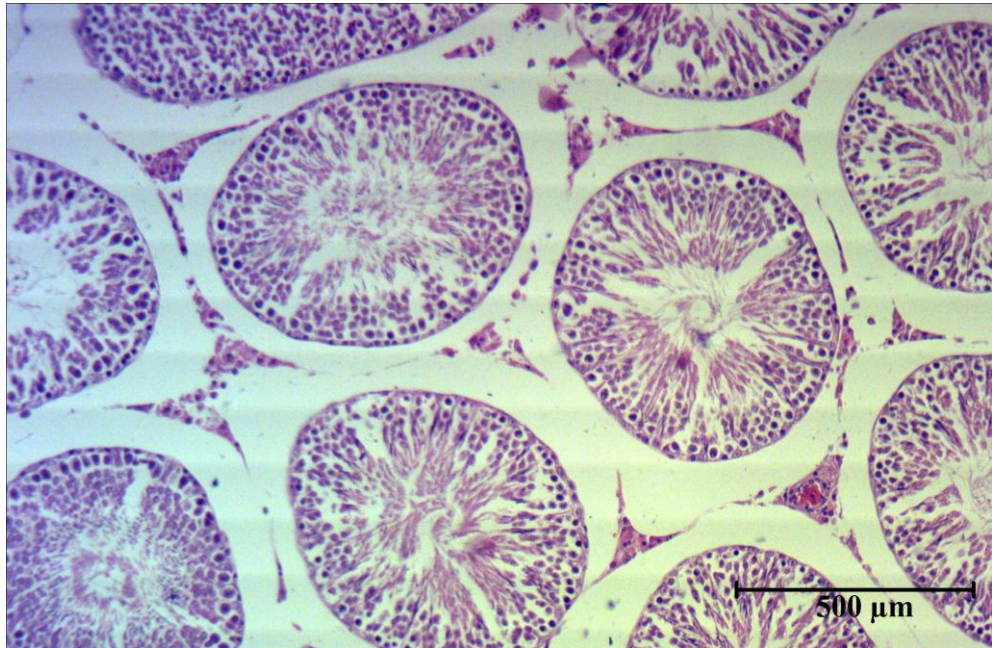


Şekil 14. Cypermethrin grubuna ait testis dokusu ve nekroze tubul (ok) (Hematoksilen-Eosin, X10).



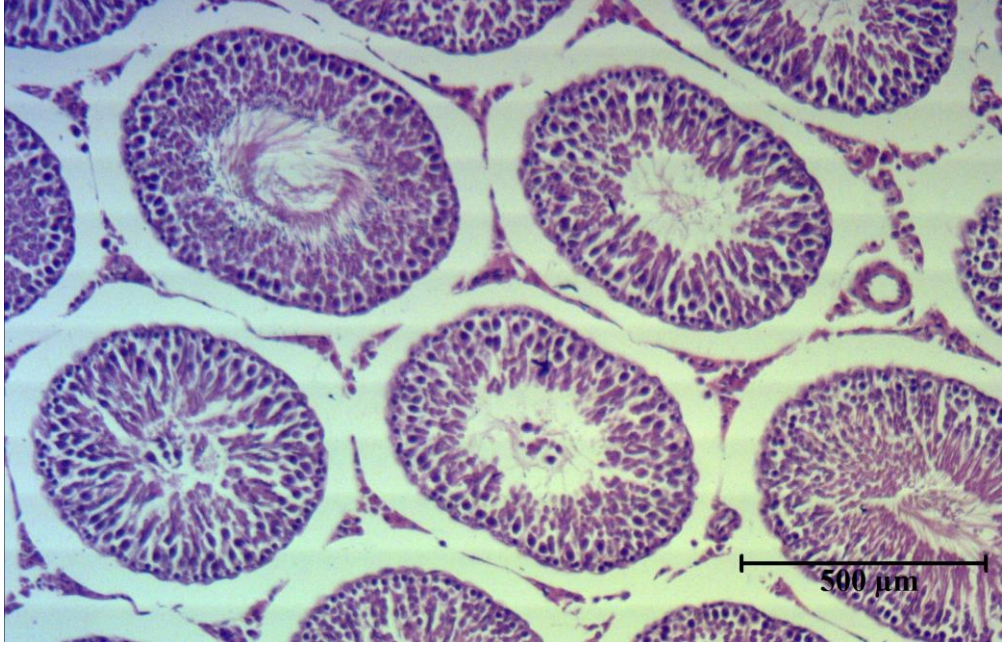
Şekil 15. Cypermethrin grubuna ait testis dokusu ve konjesyone kan damarı (ok) (Hematoksilen-Eosin, X10).

Otuz gün boyunca sadece *curcumin* verdiğimiz gruba ait *testis* dokusunun görünümünün kontrol grubuna benzer olduğu, *tubuli seminiferi epitel* ve duvar yapılarının düzgün olduğu belirlendi. *İnterstisyel* doku ve burada bulunan kan damarlarının da düzenli ve normal görünümde olduğu saptandı (Şekil 16).



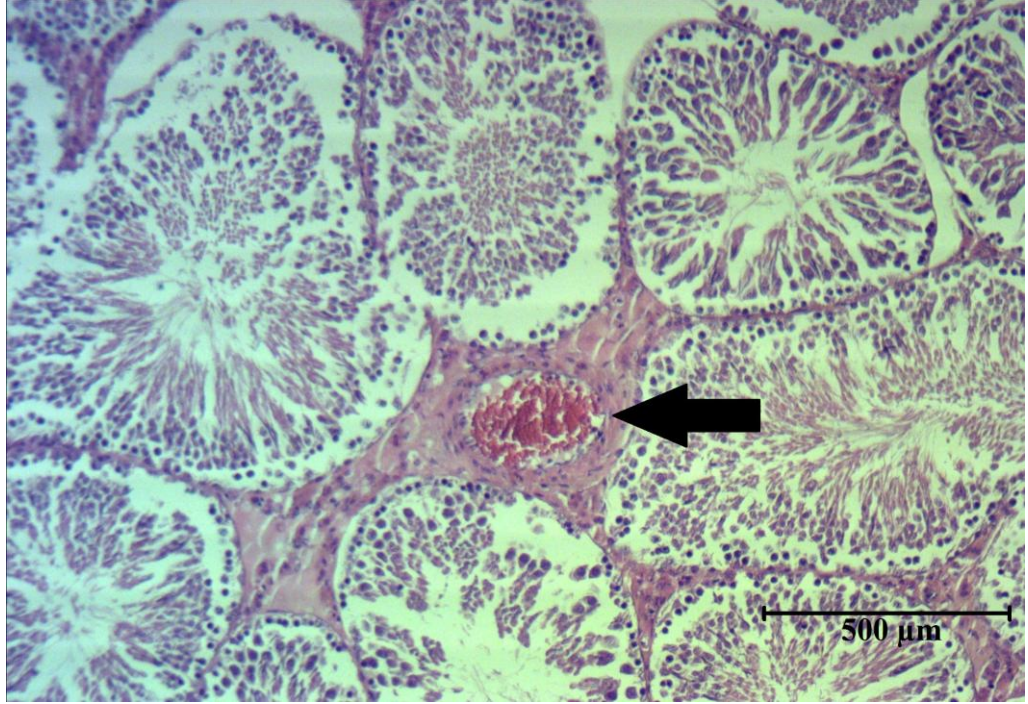
Şekil 16. Curcumin grubuna ait testis dokusu (Hematoksilen-Eosin, X10).

İlk 15 gün *cypermethrin* sonraki 15 gün *curcumin* verdiğimiz grubun *testis*'inde *histolojik* olarak kontrol grubuna benzer bulgular saptandı. Bu grupta da *tubuli seminiferi epitel* ve duvar yapılarının *histolojik* olarak normal olduğu tespit edildi (Şekil 17). Böylece ilk 15 gün verilen *cypermethrin*'e karşı sonraki 15 günde verilen *curcumin*'in onarıcı etkisinin olduğu görüldü.



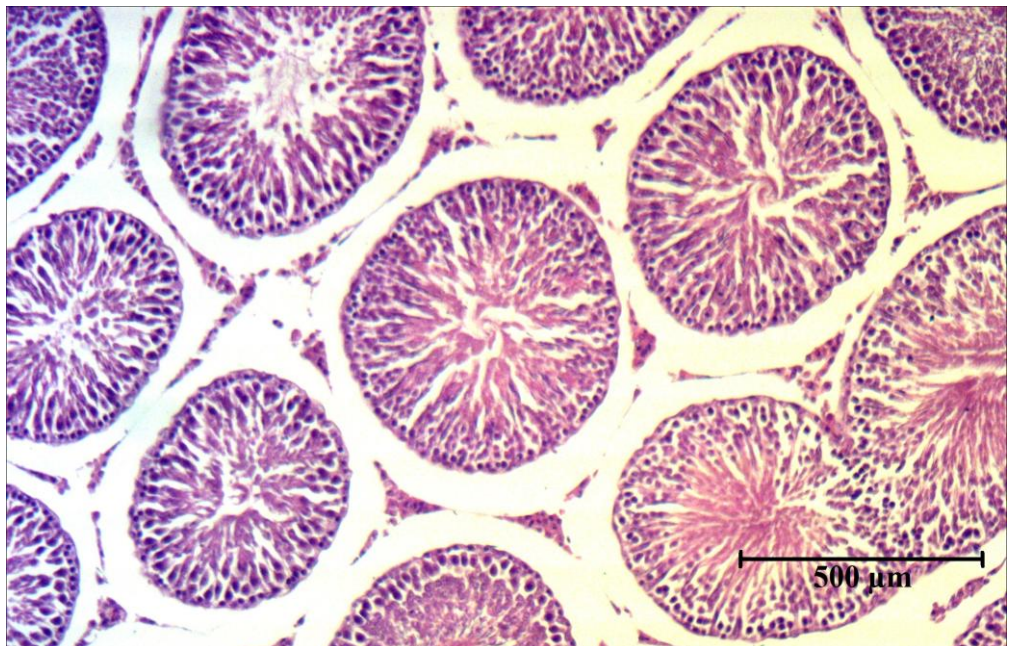
Şekil 17. 15 gün *cypermethrin* ardından 15 gün *curcumin* verilen gruba ait *testis* dokusu (Hematoksilen-Eosin, X10).

İlk 15 gün *curcumin* sonraki 15 gün *cypermethrin* verdiğimiz grubun *testis* dokusu ise *histolojik* olarak 30 boyunca *cypermethrin* verdiğimiz gruba benzerlik gösterdiği belirlendi. Bu grupta da *tubuli seminiferi epitel* ve duvar yapılarında bozukluklar, dejenere tubuller ve *interstisyum*'da *konjesyone* kan damarları tespit edildi (Şekil 18). Bu bulgu hem *cypermethrin*'in 15 günlük uygulamada da olumsuz etkilerini gösterdiğini, hem de ilk 15 gün verilen *curcumin*'in koruyucu etkisini sonraki 15 gün verilen *cypermethrin* üzerinde devam ettirmediğini gösterdi.



Şekil 18. 15 gün curcumin ardından 15 gün cypermethrin verilen gruba ait testis dokusu ve konjesyone kan damarı (ok) (Hematoksilen-Eosin, X10).

Otuz gün boyunca *curcumin* ile *cypermethrin*'in birlikte verildiği grupta ise bulguların kontrol grubuna paralel olduğu saptandı. *Tubuli seminiferi epitel* ve duvar yapıları, *interstisyel* doku ve buradaki kan damarlarının normal görünümde olduğu gözlemlendi (Şekil 19). Bu tabloda *cypermethrin*'in *testis* dokusu üzerine yaptığı olumsuz etkilerin *curcumin* tarafından önleniği gözlemlendi.



Şekil 19. Curcumin + cypermethrin grubuna ait testis dokusu (Hematoksilen-Eosin, X10).

3.3. Stereolojik Bulgular

İki mm'lik eşit aralıklarla dilimlenen sağ *testisler* üzerine rastgele bırakılan noktalı alan cetveli ($d=2.5$ mm) ile yapılan ölçümler neticesinde elde edilen *testis* hacimleri Tablo 3'de sunulmuştur.

Tablo 3. Gruplara göre sağ *testis* hacim ortalamaları

Gruplar	STH (mm ³) MEANS ±SE
Kontrol	1253,1 ± 61,95
Cyp	1125,5 ± 43,60
Cur	1268,8 ± 44,05
15 Cyp-15 Cur	1187,6 ± 54,82
15 Cur-15 Cyp	1106,0 ± 51,03
Cur+Cyp	1240,6 ± 29,04
P Değeri	0,126

STH	: Sağ <i>Testis</i> Hacmi
Cyp	: 30 gün boyunca sadece <i>cypermethrin</i> verilen grup
Cur	: 30 gün boyunca sadece <i>curcumin</i> verilen grup
15 Cyp-15 Cur	: ilk 15 gün <i>cypermethrin</i> , sonraki 15 gün <i>curcumin</i> verilen grup
15 Cur-15 Cyp	: ilk 15 gün <i>curcumin</i> , sonraki 15 gün <i>cypermethrin</i> verilen grup
Cyp+Cur	: 30 gün boyunca <i>curcumin</i> ve <i>cypermethrin</i> 'in birlikte verildiği grup
P<0,05	: kontrol grubuna nazaran anlamlı olarak farklıdır

Tablo 3 incelendiğinde 30 gün boyunca sadece *cypermethrin* verilen grup ve ilk 15 gün *curcumin*, sonraki 15 gün *cypermethrin* verilen gruplarda *testis* hacimlerinde bir miktar düşüş olduğu, ilk 15 gün *cypermethrin*, sonraki 15 gün *curcumin* verilen grup ile 30 gün boyunca *curcumin* ile birlikte *cypermethrin* verilen guruplarda ise *testis* hacimlerinin kontrol grubuna yakın olduğu belirlendi. Ancak deney grupları ile kontrol grupları arasında *testis* hacimleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı ($p>0,05$).

3.4. Hücre Sayımı ve Tubuli Seminiferi Ölçümlerine Ait Bulgular

Leydig hücre sayımı yaparken mikroskopta *immersiyon objektifi* (100X) kullanıldı. Bilgisayar yazılımı sayesinde bilgisayar monitörüne düşen görüntü üzerinde 125 µm x 105 µm kenar uzunluklarına sahip tarafsız sayım cetveli üzerinde yasak kenarlar sayılmayarak 40 farklı alan üzerinde yapılan sayımlarda gruplara ait ortalamalar Tablo 4’de verilmiştir.

Tablo 4. Gruplara göre *leydig* hücre sayısı ortalamaları

Gruplar	LHS MEANS ±SE
Kontrol	498 ± 13,12 ^a
Cyp	395 ± 11,00 ^b
Cur	487 ± 16,28 ^a
15 Cyp-15 Cur	478 ± 7,36 ^a
15 Cur-15 Cyp	414 ± 12,25 ^b
Cur+Cyp	497 ± 11,68 ^a
P Değeri	0,000

a,b : Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir.
 LHS : *Leydig* Hücre Sayısı
 Cyp : 30 gün boyunca sadece *cypermethrin* verilen grup
 Cur : 30 gün boyunca sadece *curcumin* verilen grup
 15 Cyp-15 Cur : ilk 15 gün *cypermethrin*, sonraki 15 gün *curcumin* verilen grup
 15 Cur-15 Cyp : ilk 15 gün *curcumin*, sonraki 15 gün *cypermethrin* verilen grup
 Cyp+Cur : 30 gün boyunca *curcumin* ve *cypermethrin*’in birlikte verildiği grup
 P<0,05 : kontrol grubuna nazaran anlamlı olarak farklıdır

Tablo 4’teki ortalama *leydig* hücre sayıları incelendiğinde kontrol grubunda 498 ± 13,12 olan *leydig* hücre sayısının 30 gün boyunca sadece *cypermethrin* verilen grupta 395 ± 11,00’e düştüğü ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi (P<0,05). Bu bulgu ile *cypermethrin*’in *testis*’te *leydig* hücre sayısının düşmesine neden olduğu saptandı. 30 gün boyunca sadece *curcumin* verilen grubu incelediğimizde ortalama *leydig* hücre sayısının kontrol grubuna yakın (487 ± 16,28) olduğu ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlam ifade etmediği tespit edildi (P>0,05). İlk 15 gün *cypermethrin*, sonraki 15 gün *curcumin* verilen grupta *leydig*

hücre sayısının $478 \pm 7,36$ olduğu, bu değer kontrol grubuna kıyasla benzer olduğu ve aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlendi ($P>0,05$). Bu bulgu testisteki *leydig* hücre sayısı bakımından ilk 15 gün verilen *cypermethrin*'in etkilerine karşı sonraki 15 gün verilen *curcumin*'in onarıcı etkisi olduğunu gösterdi. Ancak ilk 15 gün *curcumin*, sonraki 15 gün *cypermethrin* verilen grupta ortalama *leydig* hücre sayısının $414 \pm 12,25$ olduğu, bu grupta kontrol grubuna kıyasla düşüş olduğu ve bu düşüşün istatistiksel olarak anlam ifade ettiği saptandı ($P<0,05$). Böylece ilk 15 gün verilen *curcumin*'in koruyucu etkisini sonraki 15 gün verilen *cypermethrin*'e karşı devam ettiremediği belirlendi. Otuz gün boyunca *curcumin* ile birlikte *cypermethrin* verilen grupta ise *leydig* hücre sayısının ($497 \pm 11,68$) kontrol grubuna kıyasla benzerlik gösterdiği ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlam ifade etmediği tespit edildi ($P>0,05$). Böylece *cypermethrin* ile birlikte verilen *curcumin*'in *cypermethrin*'in olumsuz etkilerine karşı koruyucu etkisinin olduğunu saptandı.

Tablo 5. Gruplara göre *tubuli seminiferi* çap ortalamaları

Gruplar	TSC (μm) MEANS \pm SE
Kontrol	304,48 \pm 4,06
Cyp	288,98 \pm 8,37
Cur	298,38 \pm 7,59
15 Cyp-15 Cur	290,25 \pm 4,52
15 Cur-15 Cyp	287,95 \pm 6,45
Cur+Cyp	299,85 \pm 4,77
P Değeri	0,338

TSC : *Tubuli Seminiferi* Çapı
Cyp : 30 gün boyunca sadece *cypermethrin* verilen grup
Cur : 30 gün boyunca sadece *curcumin* verilen grup
15 Cyp-15 Cur : ilk 15 gün *cypermethrin*, sonraki 15 gün *curcumin* verilen grup
15 Cur-15 Cyp : ilk 15 gün *curcumin*, sonraki 15 gün *cypermethrin* verilen grup
Cyp+Cur : 30 gün boyunca *curcumin* ve *cypermethrin*'in birlikte verildiği grup
 $P<0,05$: kontrol grubuna nazaran anlamlı olarak farklıdır

Tablo 5 incelendiğinde *tubuli seminiferi* çap ortalamaları bakımından kontrol grubu ile deney grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi ($p>0,05$). Bununla birlikte 30 gün boyunca sadece *cypermethrin* verilen grup ve ilk 15 gün *curcumin*, sonraki 15 gün *cypermethrin* verilen gruplarda kontrol grubuna kıyasla bir miktar düştüğü gözlemlendi. Sadece *curcumin* verilen grup, ilk 15 gün *cypermethrin* sonraki 15 gün *curcumin* verilen grup ve *curcumin* ile *cypermethrin*'in birlikte verildiği gruplarda ise *tubuli seminiferi* çap ortalamalarının kontrol grubuna yakın olduğu saptandı. Yapılan araştırmada *cypermethrin*'in ortalama *tubuli seminiferi* çapında istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı belirlendi.

Tablo 6. Gruplara göre *tubuli seminiferi* epitel yüksekliği ortalamaları

Gruplar	TSEY (μm) MEANS \pm SE
Kontrol	76,43 \pm 1,83 ^a
Cyp	56,05 \pm 1,85 ^b
Cur	71,22 \pm 2,12 ^a
15 Cyp-15 Cur	71,52 \pm 2,16 ^a
15 Cur-15 Cyp	55,47 \pm 1,96 ^b
Cur+Cyp	72,72 \pm 0,69 ^a
P Değeri	0,000

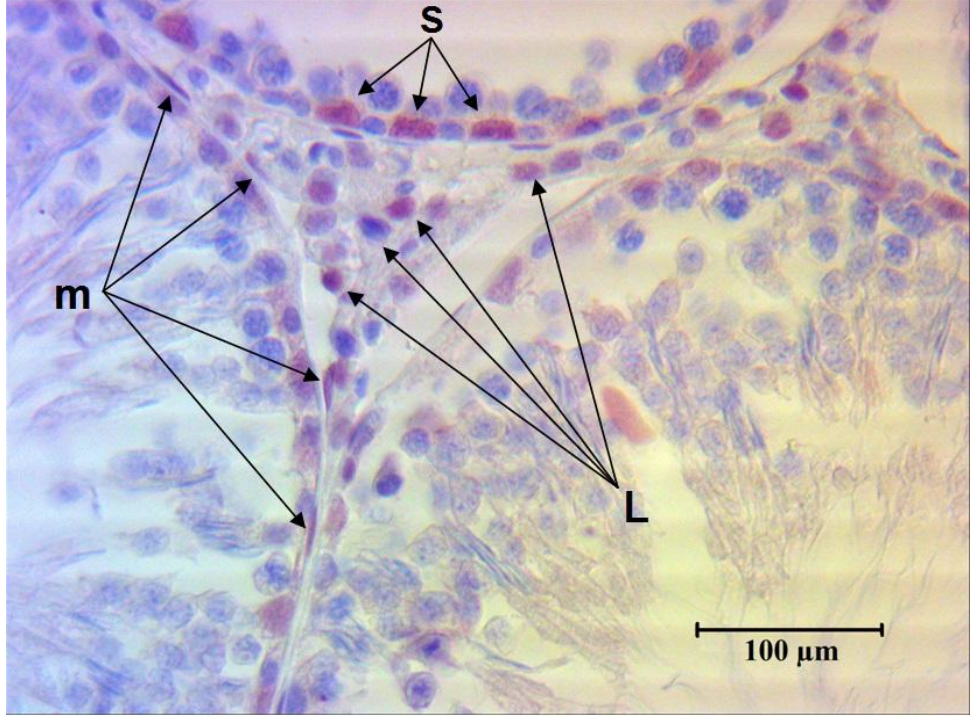
a,b : Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası farklılık önemlidir.
TSEY : *Tubuli Seminiferi Epitel* Yüksekliği
Cyp : 30 gün boyunca sadece *cypermethrin* verilen grup
Cur : 30 gün boyunca sadece *curcumin* verilen grup
15 Cyp-15 Cur : ilk 15 gün *cypermethrin*, sonraki 15 gün *curcumin* verilen grup
15 Cur-15 Cyp : ilk 15 gün *curcumin*, sonraki 15 gün *cypermethrin* verilen grup
Cyp+Cur : 30 gün boyunca *curcumin* ve *cypermethrin*'in birlikte verildiği grup
 $P<0,05$: kontrol grubuna nazaran anlamlı olarak farklıdır

Tablo 6 incelendiğinde *tubuli seminiferi epitel* yükseklikleri ortalaması kontrol grubunda 76,43 μm iken 30 gün boyunca sadece *cypermethrin* verilen grupta 56,05 μm 'ye düştüğü ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($P<0,05$). Bu bulgu *cypermethrin*'in *tubuli seminiferi epitel* hücre sayısını

düşürdüğünü göstermektedir. 30 gün boyunca sadece *curcumin* verilen grupta *epitel* yüksekliğinin 71,22 μm olduğu ve kontrol grubuna yakın olduğu saptandı. İlk 15 gün *cypermethrin* sonraki 15 gün *curcumin* verilen grupta ise ortalama *epitel* yüksekliğinin 71,52 μm olduğunu ve kontrol grubu ile aralarındaki farkın istatistiksel olarak anlam ifade etmediği belirlendi ($P>0,05$). Böylece ilk 15 gün verilen *cypermethrin*'in *tubul epitel*'ine yaptığı olumsuz etkilerine karşı sonraki 15 gün verilen *curcumin*'in onarıcı etkisinin olduğu saptandı. İlk 15 gün *curcumin* sonraki 15 gün *cypermethrin* verdiğimiz grupta ise *tubul epitel* yüksekliği 55,47 μm 'ye düştü ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlam ifade ettiği saptandı ($P<0,05$). Bu bulgu ile ilk 15 gün verilen *curcumin*'in sonraki 15 gün verilen *cypermethrin*'e karşı koruyucu etkisinin devam etmediği belirlendi. 30 gün boyunca *curcumin* ve *cypermethrin*'in birlikte verildiği grupta *epitel* yüksekliğinin 72,72 μm olduğunu saptandı ve kontrol grubu ile kıyaslandığında aradaki farkın istatistiksel olarak anlam ifade etmediği tespit edildi ($P>0,05$). Bu bulgu *cypermethrin* ile birlikte verilen *curcumin*'in *tubul epitel*'leri üzerine koruyucu etkisinin olduğunu gösterdi.

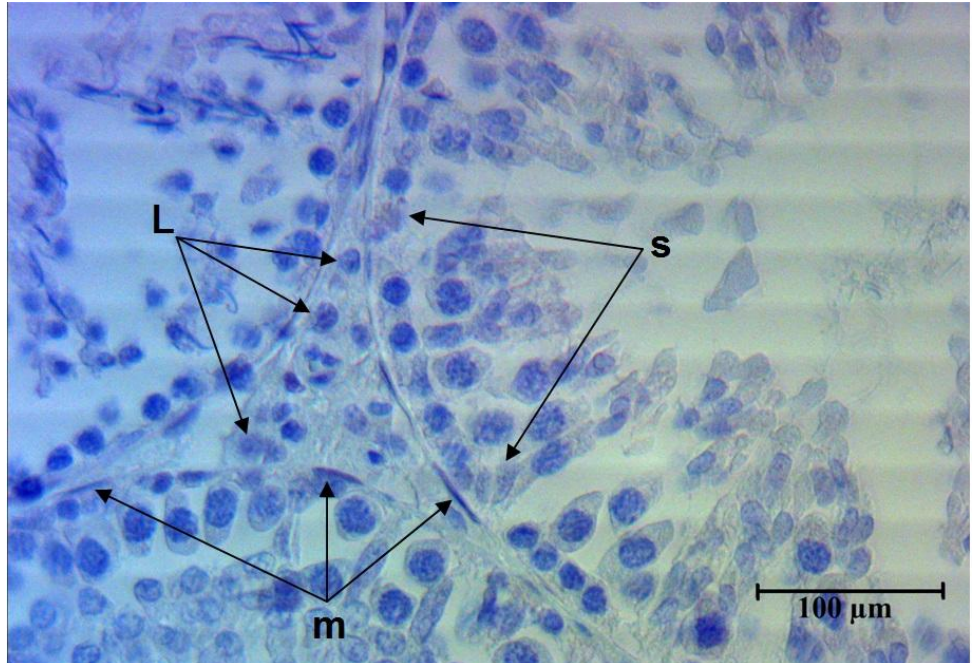
3.5. İmmunohistokimyasal Bulgular

İmmunohistokimyasal incelemelerimizde kontrol grubunda AR immunboyamanın *leydig*, *sertoli* ve *peritubuler myoid* hücrelerinde çok yoğun olarak görüldüğü ancak *germ* hücrelerinde AR immunboyamanın görülmediği tespit edildi. İmmunreaktivite görülen *leydig* hücre çekirdeklerindeki boyanma yoğunluğunun hücreden hücreye değişiklik gösterdiği saptandı. AR immunboyama *leydig* hücrelerinin bazılarının çekirdeklerinde yoğun olarak görülürken bazılarında görülmedi (Şekil 20).



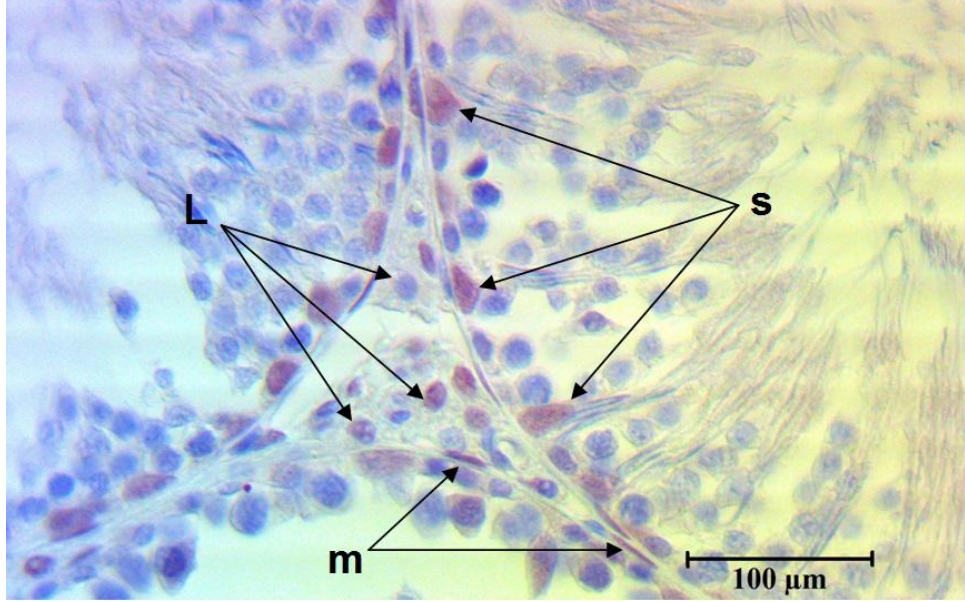
Şekil 20. Kontrol grubu testis dokusu. L: leydig hücresi, m: peritubuler myoid hücresi, s: sertoli hücresi. (İmmunohistokimya, X40).

Otuz gün boyunca *cypermethrin* verilen grupta AR immunboyamanın *leydig*, *sertoli* ve *peritubuler myoid* hücrelerinde oldukça düşük yoğunlukta olduğu görülürken, *germ* hücrelerinde AR immunboyamanın görülmediği tespit edildi (Şekil 21). Bu bulgular *cypermethrin*'in testiste AR immunboyama yoğunluğunu düşürdüğünü gösterdi.



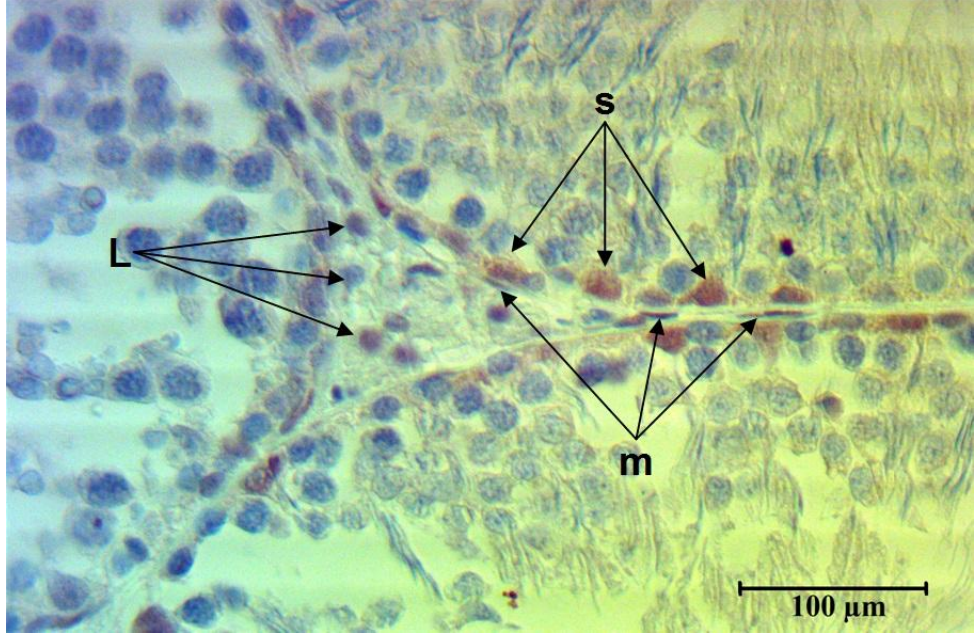
Şekil 21. Cypermethrin grubu testis dokusu. L: leydig hücresi, m: peritubuler myoid hücresi, s: sertoli hücresi. (İmmunohistokimya, X40).

Otuz gün boyunca sadece *curcumin* verilen grubun *testis* dokusunda AR immunboyama yoğunluğu kontrol grubuna benzediği ve *leydig*, *sertoli* ve *peritubuler myoid* hücrelerinde çok yoğun AR immunboyama olduğu görüldü (Şekil 22).



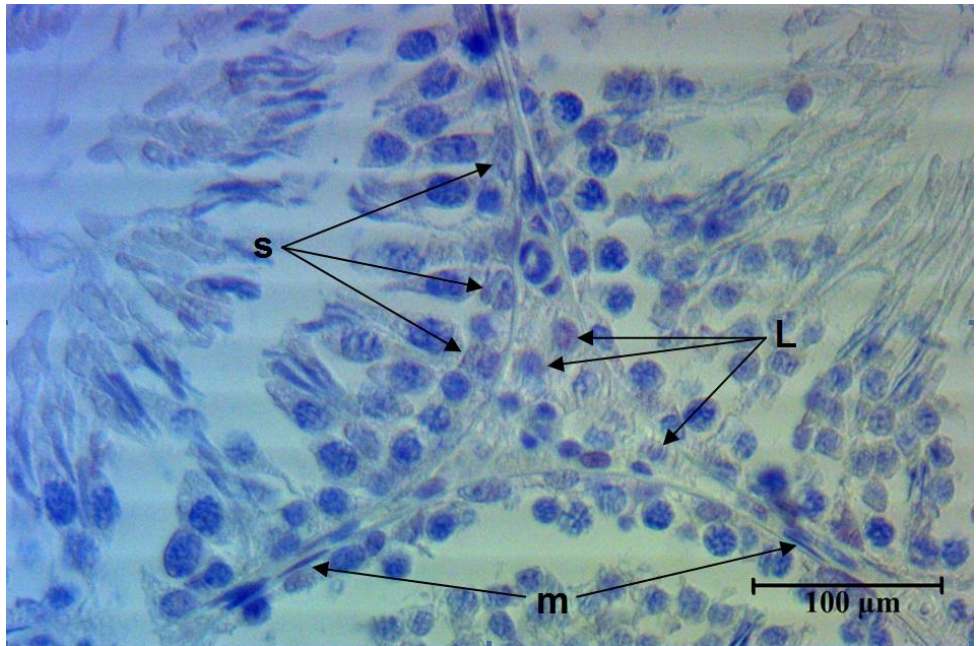
Şekil 22. Curcumin grubu testis dokusu. L: leydig hücresi, m: peritubuler myoid hücresi, s: sertoli hücresi. (İmmunohistokimya, X40).

İlk 15 gün *cypermethrin* ardından 15 gün *curcumin* verilen grubun *testis* dokusunda AR immunboyama yoğunluğu kontrol grubuna benzediği belirlendi. *Leydig*, *sertoli* ve *peritubuler myoid* hücrelerinde çok yoğun AR immunboyama olduğu saptandı (Şekil 23). Bu bulgular ilk 15 gün verilen *cypermethrin*'in AR üzerine olan etkilerinin sonraki 15 gün verilen *curcumin* tarafından bertaraf edildiğini gösterdi.



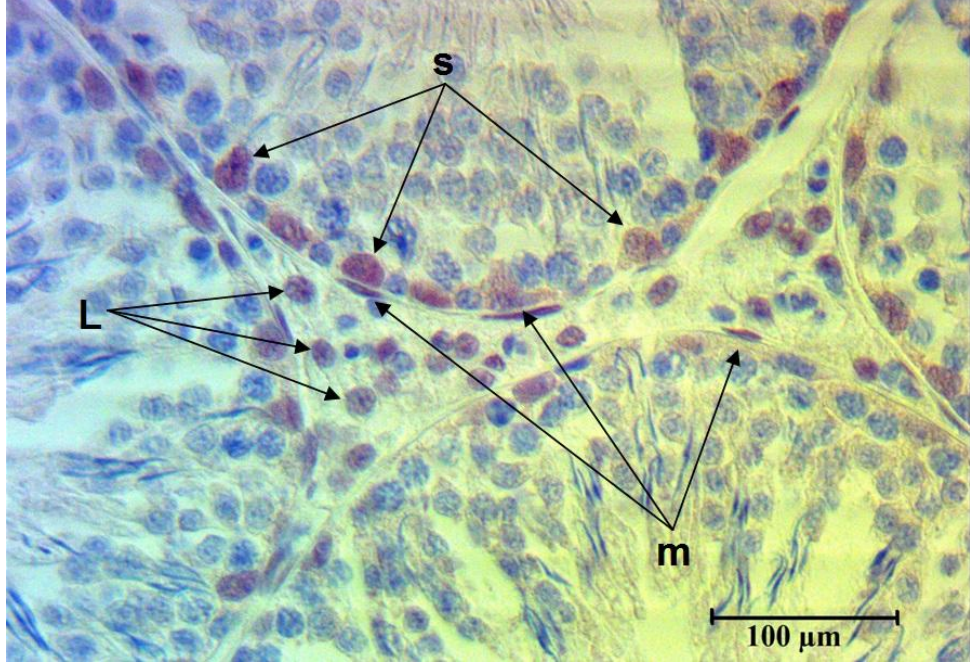
Şekil 23. 15 gün cypermethrin ardından 15 gün curcumin verilen gruba ait testis dokusu. L: leydig hücresi, m: peritubuler myoid hücresi, s: sertoli hücresi. (İmmunohistokimya, X40).

İlk 15 gün *curcumin* ardından 15 gün *cypermethrin* verilen grubun *testis* dokusunda AR immunboyamanın *leydig*, *sertoli* ve *peritubuler* myoid hücrelerinde oldukça düşük yoğunlukta görülürken *germ* hücrelerinde AR immunboyamanın görülmediğini tespit edildi (Şekil 24). Bu bulgular ilk 15 gün verilen *curcumin*'in koruyucu ve onarıcı etkilerini sonraki 15 gün verilen *cypermethrin*'e karşı devam ettirmediğini gösterdi.



Şekil 24. 15 gün curcumin ardından 15 gün cypermethrin verilen gruba ait testis dokusu. L: leydig hücresi, m: peritubuler myoid hücresi, s: sertoli hücresi. (İmmunohistokimya, X40).

Otuz gün boyunca *cypermethrin* ve *curcumin*'in birlikte verildiği grupta AR immunboyamanın *leydig*, *sertoli* ve *peritubuler myoid* hücrelerinde çok yoğun olarak görüldüğü ancak *germ* hücrelerinde AR immunboyamanın görülmediği saptandı (Şekil 25). Böylece *cypermethrin* ile birlikte verilen *curcumin*'in *testis*'te AR üzerine koruyucu ve/veya onarıcı etkisi olduğu belirlendi.



Şekil 25. Curcumin + cypermethrin grubuna ait testis dokusu. L: leydig hücresi, m: peritubuler myoid hücresi, s: sertoli hücresi. (İmmunohistokimya, X40).

Tablo 7. Gruplara göre testiste androjen reseptör dağılımı

Gruplar	Hücre Tipleri			
	Germ Hüç.	Leydig Hüç.	Peritubuler Myoid Hüç.	Sertoli Hüç.
Kontrol	-	+++/-	+++	+++
Cyp	-	+/-	+/-	+/-
Cur	-	+++/-	+++	+++
15 Cyp-15 Cur	-	+++/-	+++	+++
15 Cur-15 Cyp	-	+/-	+/-	+/-
Cur+Cyp	-	+++/-	+++	+++

Cyp : 30 gün boyunca sadece *cypermethrin* verilen grup

Cur : 30 gün boyunca sadece *curcumin* verilen grup

15 Cyp-15 Cur : ilk 15 gün *cypermethrin*, sonraki 15 gün *curcumin* verilen grup

15 Cur-15 Cyp : ilk 15 gün *curcumin*, sonraki 15 gün *cypermethrin* verilen grup

Cyp+Cur : 30 gün boyunca *curcumin* ve *cypermethrin*'in birlikte verildiği grup

4. TARTIŞMA

Cypermethrin ve diğer sentetik *piretroit*'ler; haşerelere karşı oldukça etkili olmalarının yanında diğer *pestisit*'lere nazaran memelilere karşı düşük toksisite gösterdikleri ve doğada kolay çözünebildikleri düşünüldüğünden yaygın bir kullanım alanına sahiptirler (Gabbianelli ve ark., 2002; Erdoğan, 2010; Oda ve El-Maddawy, 2012; Ismail ve Mohamed, 2013;). Bununla beraber *cypermethrin*'in memelilerde karaciğer, mide, barsak, beyin, dalak, böbrek, testis gibi bir çok organda toksik etkilerine yönelik çalışmalar yapılmıştır (Witkowska ve ark., 1991; Elbetieha ve ark., 2001; Manna ve ark., 2004; Maund ve ark., 2012; Eraslan ve ark., 2016; Aroonvilairat ve ark., 2018; Bhardwaj ve ark., 2018; Guo ve ark., 2018).

Cypermethrin üzerine yapılan araştırmalarda canlı ağırlık değişimleri üzerine elde edilen sonuçlar farklılık göstermektedir. Elbetieha ve ark. (2001) 12 hafta boyunca farklı dozlarda (13.15, 18.93 ve 39.66 mg/kg) ve Sangha ve ark. (2011) 4 hafta boyunca 50 mg/kg dozunda *cypermethrin* verdiği ratların canlı ağırlıklarında kontrol grubuna göre anlamlı düşüşler gözlediklerini bildirmişlerdir. Bununla birlikte Hu ve ark., (2011) 15 gün boyunca 12.5, 25, 50 mg/kg dozlarında, Li ve ark. (2013) 15 gün boyunca 30 ve 60 mg/kg dozlarında, Gabbianelli ve ark. (2002) 60 gün boyunca 12.5 mg/kg dozunda *cypermethrin* verilmiş ratlarda deney ve kontrol grupları arasında canlı ağırlıkları bakımından anlamlı fark bulunmadığını tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise 30 gün boyunca 30 mg/kg dozunda *cypermethrin* uyguladığımız ratların canlı ağırlıklarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir fark belirlenmedi.

Curcumin dünya üzerinde son dönemde oldukça popüler olan ve bu nedenle çeşitli etkenlere karşı böbrek, karaciğer, akciğer, mide, barsak, pankreas ve üreme organları gibi birçok organ üzerine koruyucu ve onarıcı etkilerinin araştırıldığı çalışmalara konu olan bir antioksidandır (Park ve ark., 2000; Ikezaki ve ark., 2001; Ireson ve ark., 2002; Radhakrishna Pillai ve ark., 2004; Dhillon ve ark., 2008; Yousef ve ark., 2010). *Curcumin*'in erkek üreme sistemi üzerine koruyucu ve onarıcı etkisi üzerine de birçok araştırma yapılmış, çeşitli parametrelere bakılmıştır. Bu parametrelerden birisi de canlı ağırlıktır. Desai ve ark. (2012) ise *chloroquine* verilen grupta anlamlı bir şekilde düşen canlı ağırlığın, *chloroquine* ile birlikte *curcumin* verilen grupta kontrol grubu ile benzer olduğunu saptamışlardır. Ahmed-Farid ve ark. (2017) proteinden yoksun diyetle beslenen ratlarda canlı ağırlığın kontrol grubuna nazaran anlamlı bir şekilde düştüğünü ancak *curcumin* verilen grupta canlı

ağırlığın proteinden yoksun beslenen gruba göre anlamlı bir şekilde yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Cheraghi ve ark. (2017) alüminyum verilen grupta canlı ağırlığın kontrol grubuna göre anlamlı olarak düştüğünü fakat alüminyum ile birlikte *curcumin* verilen grupta canlı ağırlığın kontrol grubuna yakın olduğunu tespit etmişlerdir. Noorafshan ve ark. (2011) yaptıkları çalışmalarda kontrol grubu, *metranidazol* grubu ve *metranidazol* ile *curcumin*'in birlikte verildiği gruplarda canlı ağırlıkları bakımından anlamlı bir fark olmadığını bildirilmiştir. Bu çalışmada da canlı ağırlıkları bakımından kontrol grubu ile deney grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi.

Cypermethrin'in erkek üreme sistemi ve *testis* dokusu üzerine olumsuz etkilerinin incelendiği araştırmalar mevcut olup *testis* ağırlıkları da incelenen parametreler arasındadır. Elbethieha ve ark. (2001) 12 hafta boyunca günlük 18.93 mg ve 39.66 mg dozlarında *cypermethrin* verilen ratların *testis* ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı artışlar olduğunu bildirirlerken, Alaa-Eldin ve ark. (2017) 12 hafta boyunca 12.5 mg/kg dozunda, Sharma ve ark. (2018) ise 14 gün boyunca 3.83 mg/kg dozunda *cypermethrin* uyguladıkları ratların *testis* ağırlıklarında anlamlı düşüşler olduğunu saptamışlardır. Bunların dışında 15 gün boyunca günlük 6.25, 12.5, 25, 50 mg/kg dozunda *cypermethrin* uygulanan bir çalışma (Hu ve ark., 2011) ile yine 15 gün boyunca 7.5, 15, 30 ve 60 mg/kg dozunda *cypermetrin* uygulanan bir başka çalışmada (Li ve ark., 2013) da *testis* ağırlıkları bakımından deney grupları ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir. Mevcut çalışmada da 30 gün boyunca 30 mg/kg dozunda *cypermethrin* uygulanan ratlarda *testis* ağırlıklarında kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi.

Curcumin'in testisteki koruyucu etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda incelenen parametrelerin başında *testis* ağırlığı gelmektedir. Noorafshan ve ark. (2010, 2011) iki farklı çalışmasında *metranidazol* verilen farelerin *testis* ağırlıklarında anlamlı bir düşüş olduğunu ancak *metranidazol* ile birlikte *curcumin* verdikleri grup ile kontrol grubu arasında *testis* ağırlıkları bakımından anlamlı bir fark olmadığını saptamışlardır. Desai ve ark. (2012), *chloroquine* verilen ratlarda *testis* ağırlıklarının anlamlı bir şekilde düştüğünü ancak *chloroquine* ile birlikte *curcumin* verilen ratlarda *testis* ağırlığının kontrol grubu ile benzer olduğunu bildirmişlerdir. Ahmed-Farid ve ark. (2017) proteinden yoksun diyetle beslenen ratlarda *testis* ağırlığının kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde düştüğünü, *curcumin* grubunda ise *testis* ağırlığının proteinden yoksun beslenen gruba kıyasla

anlamli bir şekilde yuiksek olduğunu saptanmişlardır. Cheraghi ve ark. (2017) da aluiminyum verilen grupta *testis* ağırlığının kontrol grubuna göre anlamli olarak dştğuğuğu fakat aluiminyum ile birlikte *curcumin* verilen grupta *testis* ağırlığının kontrol grubuna yakın olduğunu tespit etmişlerdir. Khalaji ve ark. (2018) *ultraviyole* ışık kaynağı olan floresan ışığa maruz kalan ratlarda *testis* ağırlığının kontrol grubuna nazaran anlamli olarak dştğuğuğu, *ultraviyole* ışığa maruz kalıp aynı zamanda *curcumin* de verilen grupta *testis* ağırlığının kontrol grubuna yakın olduğunu saptamışlardır. Bir diğer çalışmada ise (El-Maddawy ve El-Sayed, 2018) kontrol grubu, *parasetamol* verilen grup ve *parasetamol* ile birlikte *curcumin* verilen gruplarda *testis* ağırlıkları arasında anlamli bir fark olmadığı bildirilmiştir. Sharma ve ark. (2018) *cypermethrin* ve *deltamethrin*'in erkek ratlarda *genital* sistem uzerine etkilerini incelemişler, *cypermethrin* ve *deltamethrin*'i birlikte verdikleri gruplar ile *curcumin*'le birlikte *cypermethrin* ve *deltamethrin* verdikleri gruplar ve kontrol grubu arasında *testis* ağırlıkları bakımından anlamli farklılık olmadığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda *testis* ağırlıkları bakımından kontrol grubu ile deney grupları arasında anlamli fark olmadığı saptandı.

Işık mikroskobu altında *cypermethrin*'in *testis* dokusu uzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (Elbetieha ve ark., 2001) deney grubu hayvanlarına ait *testis*'te *seminifer* tubuller arasında bağ doku artışı, *konjesyone* kan damarları, *hemoraji* odakları grldğuğu belirtilmiştir. Hu ve ark. da (2011) *cypermethrin* verilen grup *testis* 'lerinde *tubuli seminiferi* yapılarında bozukluklar ve atrofiler, germ hücrelerinin yerleşimlerinde bozukluklar olduğunu bildirilmişlerdir. Li ve ark.'nın (2013) yaptıkları bir başka çalışmada ise *cypermethrin* verilen grubun *testis* dokusunda *tubuli seminiferi* yapısında bozukluklar ve *atrofi*, *germ* hücrelerinin düzensiz yerleşiminden söz edilmiştir. Alaa-Eldin ve ark. (2017) da diğer çalışmalara benzer bir şekilde *cypermethrin* uygulanan ratların *testis*'lerinde tubuler yapıda bozukluklar, parçalanmaların yanında *dilate* ve *konjesyone* kan damarlarının varlığından bahsetmişlerdir. Sharma ve ark. (2018) da *cypermethrin* verilen ratların *testis* dokusunda *tubuli seminiferi* yapısında ve *germ* hücrelerinde bozuklukluklar, tubul *bazal membran*'ında kopmalar, tubuller arası boşluk artışı olduğunu bildirilmişlerdir. Yapılan bu araştırmada 30 gün boyunca *cypermethrin* verilen gruptaki bulgular mevcut çalışmalarla uyumlu olup, *tubuli seminiferi* yapılarında ve duvarlarında bozulmalar, tubullerde dejenerasyonlar ve nekrozlar, *interstisyel* dokuda artış ve kırmızı kan hücreleri ile dolu *konjesyone* kan damarları tespit edildi. Bu

bulgular *cypermethrin*'in fertilite üzerine etkisini, *interstisyel* doku ve *tubuli seminiferi* yapısını bozarak yaptığını gösterdi.

Birçok çalışmada *testis* dokusunda *histolojik* değişimlere bakılarak *curcumin*'in koruyucu ve onarıcı etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmalardan Desai ve ark. (2012) *chloroquine*'in, Aktas ve ark. (2012) *cadmium*'un, Kanter ve ark. (2013) *streptozotocin*'in, Sudjarwo ve ark. (2017) *kurşun asetat*'in, Ahmed-Farid ve ark. (2017) proteinden yoksun diyetin, Cheraghi ve ark. (2017) alüminyumun, El-Maddawy ve El-Sayed (2018) *parasetamol*'ün, Khalaji ve ark. (2018) *ultraviyole ışığın*, Mercantepe ve ark. (2018) *cisplatin*'in, Sharma ve ark. (2018) ise *cypermethrin* ve *quercetin*'in *testis*'te yaptıkları hasara karşı *curcumin*'in koruyucu etki gösterdiklerini, araştırdıkları kimyasalla birlikte *curcumin* verilen gruplarda *tubuli seminiferi* duvar ve yapıları, *tubuli seminiferi epitel* yapılarının ve *interstisyel* dokunun da normal görünümde olduklarını yani deney gruplarında *testis histolojisi*'nin kontrol grubu ile aynı olduğunu bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada da 30 gün boyunca sadece *cypermethrin* verilen grupta saptadığımız *histolojik* olumsuzlukların, 30 gün boyunca sadece *curcumin* verilen grup, 15 gün *cypermethrin* ardından 15 gün *curcumin* verilen grup ve 30 gün boyunca *cypermethrin* ile *curcumin*'in birlikte verildiği gruplarda yukarıdaki araştırmalarda belirtilen *histolojik* bulgulara paralel olarak kontrol grubu ile aynı *histolojik* bulguların olduğu belirlendi. Ancak 15 gün *curcumin* ardından 15 gün *cypermethrin* verilen grupta *testis* dokusunda ilk 15 gün verilen *curcumin*'in sonraki 15 gün verilen *cypermethrin*'e karşı koruyucu etki göstermediği, *histolojik* olarak bozuk ve düzensiz *tubuli seminiferi* yapılarının yanında bazı tubullerde dejenerasyon ve nekrozların olduğu, *interstisyel* dokuda ise konjesyonların olduğu tespit edildi.

Stereolojik yöntemler tarafsızlık ve etkinlik gibi avantajları sayesinde *testis*'ler de dahil olmak üzere pek çok organ ya da dokuda hacim hesaplamasında kullanılmaktadır. Noorafsan ve ark. (2005) bir *anabolik steroid* olan *nandrolone*'ün ratlarda *testis* dokusu üzerine etkilerini araştırmış ve *testis* hacminin kontrol grubunda $1430 \pm 0,11 \text{ mm}^3$, deney grubunda ise $970 \pm 0,32 \text{ mm}^3$ olduğunu bildirmiştir. Bir antiparaziter olan *metranidazol* üzerine yapılan bir başka çalışmada ise (Noorafsan ve ark., 2010) farelerde *testis* hacimleri kontrol grubunda $124 \pm 10 \text{ mm}^3$ iken, deney grubunda $88 \pm 10 \text{ mm}^3$ olarak saptanmıştır. Fenolitik bir pigment olan *gossypol*'ün ratlarda *testis* üzerine etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada (Chang ve ark., 2011) *testis* hacmi kontrol grubunda $1600 \pm 30 \text{ mm}^3$, deney

grubunda ise $860 \pm 60 \text{ mm}^3$ olarak saptanmıştır. Mehranjani ve ark. (2009) bir endokrin bozucu olan *nonylphenol* verdikleri ratların *testis* hacmini $875 \pm 119.1 \text{ mm}^3$ olarak tespit ederken, kontrol grubunda bu değeri $1125.7 \pm 124.8 \text{ mm}^3$ olarak tespit etmiştir. Çalışmamızda kontrol grubu ratların *testis* hacminin $1253.13 \pm 61.95 \text{ mm}^3$, 30 gün boyunca *cypermethrin* verdiğimiz grubun ise $1125.5 \pm 35.72 \text{ mm}^3$ olduğu, ancak istatistiksel olarak aradaki farkın anlam ifade etmediği gözlemlendi.

Testis'te *curcumin*'in koruyucu etkisi ile ilgili yapılan araştırmalardan bazılarında *stereolojik* yöntemlere de başvurulmuştur. *Stereolojik* olarak *testis* hacminin ölçüldüğü Noorafshan ve ark. (2010, 2011)'nin iki çalışmasında da *metranidazole* verilen grupta anlamlı bir şekilde düşen *testis* hacminin *metranidazole* ve *curcumin*'in birlikte verildiği grupta kontrol grubu ile benzer olduğunu belirtmişlerdir. Çalışmamızda deney grupları ile kontrol grupları arasında *testis* hacimleri bakımından anlamlı fark olmadığı saptandı.

Erkeklerde *testosteron* birincil olarak *leydig* hücrelerinde sentezlenir ve dolaşıma salınır. Bu yüzden erkek üreme sistemi ve infertilite ile ilgili yapılan araştırmalarda *leydig* hücrelerindeki değişimler büyük öneme sahiptir. Pahnke ve ark. (1975) doğumdan sonra 10. günden itibaren 110. güne kadar *testis*'te *leydig* hücre sayılarını hesaplamışlar, en fazla *leydig* hücre sayısının (10 alandaki sayımlarında ortalama 77 ± 23 adet) 60 günlük hayvanlarda olduğunu bildirmişlerdir. Köse ve ark. (2010) 35 gün boyunca günde 1 saat boyunca solunum yoluyla *formaldehit*'e maruz kalan erişkin sıçanların *testis*'lerinde *leydig* hücre sayısının anlamlı bir şekilde düştüğünü saptamışlardır. Bir diğer çalışmada gebeliğin 12. ve 21. günleri arasında bir organik klorlu *insektisit* olan *methoxychlor* verilen ratların yavrularının *testis*'lerinde de *leydig* hücre sayısının kontrol grubuna nazaran anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir (Liu ve ark., 2016). Lv ve ark. (2019), erişkin ratlarda bir plastik katkı maddesi olan *dicyclohexyl phthalate*'in *leydig* hücre rejenerasyonuna etkilerini incelemiş, 1000 mg/kg dozunda verdikleri kimyasalın *leydig* hücre sayısını kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak azalttığını bildirmişlerdir. Wang ve ark. (2010)'nın 35 günlük ratlara 35 gün boyunca 25 mg/kg dozunda *cypermethrin* verdikleri çalışmalarında *leydig* hücre sayısı bakımından deney grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Bunun yanında 15 gün boyunca günlük 25 ve 50 mg/kg ile 30 ve 60 mg/kg dozunda *cypermethrin* verilen ratların *testis*lerinde *leydig* hücre sayısının düştüğü de bildirilmiştir (Hu ve ark., 2011; Li ve ark., 2013). Araştırmamızda da 30 gün boyunca sadece *cypermethrin*

verilen grupta *leydig* hücre sayısının kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde düşük olduğu saptandı. Bu sayede *cypermethrin*'in *leydig* hücre sayısını, dolayısıyla *testosteron* salınımını azaltarak fertilité üzerine olumsuz etkileri olduğunu düşündürdü.

Curcumin'in *metranidazole*'e karşı *testis*'te *leydig* hücre sayısı üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada (Noorafshan ve ark., 2011), *leydig* hücre sayısının *metranidazole* verilen grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde arttığı ancak *metranidazole*'ün *curcumin* ile birlikte uygulandığı grupta bu sayının kontrol grubu ile benzer olduğu tespit edilmiştir. Mercantepe ve ark. (2018) bir kemoterapötik olan *cisplatin* verilen grupta *interstisyel* dokuda *leydig* hücre sayısının düştüğünü, *cisplatin* ile birlikte *curcumin* verilen grupta ise kontrol grubuna benzer olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda 30 gün boyunca sadece *cypermethrin* verilen grupta anlamlı bir şekilde düşen *leydig* hücre sayısının, 30 gün boyunca sadece *curcumin*, 15 gün boyunca *cypermethrin* ardından 15 gün boyunca *curcumin* ve 30 gün boyunca *cypermethrin* ile birlikte *curcumin* verilen gruplarda kontrol grubuna benzer olduğu belirlendi. Bununla birlikte 15 gün *curcumin* ardından 15 gün *cypermethrin* uygulanan grupta *leydig* hücre sayısının 30 gün boyunca sadece *cypermethrin* verilen grupla benzer olduğu saptandı.

Tubuli seminiferi germinal epitel hücreleri ile erişkin *spermatozoon*'ları içermektedir ve *spermatozoon* üretiminden doğrudan sorumludur. Bu nedenle çeşitli etkenlerin *tubuli seminiferi* çapı ve çevresi, *epitel* yüksekliği ve hacmi üzerine olan etkileri araştırmalarda yer bulmuştur. Korman ve Hovatta (1972) *tubuli seminiferi*'lerin *postnatal* gelişimini araştırdığı çalışmalarında 3 aylık ratlarda tubul çapının $258.3 \pm 9.3 \mu\text{m}$ olduğu bildirilmişlerdir. Noorafshan ve ark. (2005) bir *anabolik steroid* olan *nandrolone* uygulanan ratların *testis*'lerinde tubul çapını $310.68 \pm 50.72 \mu\text{m}$, kontrol grubunda ise $257.78 \pm 58.76 \mu\text{m}$ olarak saptamıştır. Bir anti paraziter ilaç olan *metranidazol*'ün *tubuli seminiferi* üzerine etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada (Noorafshan ve ark., 2011) ise kontrol grubu farelerde $209.6 \pm 0.08 \mu\text{m}$ olarak saptanan *tubuli seminiferi* çapı, deney grubunda $175.6 \pm 58.76 \mu\text{m}$ olarak tespit edilmiştir. Opuwari ve Monsees (2014) Güney Afrika'da aromatik çay yapımında kullanılan bir bitki olan *Aspalathus linearis* verilen ratların *testis*'lerinde *tubuli seminiferi* çapının $246.3 \pm 23.6 \mu\text{m}$, kontrol grubunda ise $281.4 \pm 29.4 \mu\text{m}$ olduğunu bildirilmişlerdir. Cheraghi ve ark. (2017) alüminyum verilen ratlarda *tubuli seminiferi* çapını $157.19 \pm 1.2 \mu\text{m}$, kontrol

grubunda ise 181.27 ± 0.2 μm olarak saptamışlardır. Jalili ve ark. (2015) maydonozun alkolik ekstratını verdikleri farelerin testis dokusunda *tubuli seminiferi* çapını 19.7 ± 0.2 μm , kontrol grubunda ise 19.5 ± 0.2 μm olduğunu tespit etmişlerdir. Muratoğlu ve ark. (2018) ise ilerleyen yaşın testis üzerine etkilerini araştırdığı çalışmalarında, 4 aylık genç *Wistar albino* ratlarda 406.29 ± 67.43 μm olarak buldukları *tubuli seminiferi* çapını, 20-22 aylık yaşlı ratlarda 388.14 ± 57.08 μm olarak hesaplamışlardır. Elbetieha ve ark. (2001) 12 hafta boyunca günlük 39.66 mg dozunda *cypermethrin* verilen ratların *testis*'lerinde kontrol grubuna nazaran tubul çevre uzunluğunu anlamlı olarak düşüğünü ancak lümen hacminde anlamlı bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir. Wang ve ark. (2011) 21 gün boyunca 25 mg/kg dozunda *cypermethrin* verilen yavru farelerde, *tubuli seminiferi* çaplarında kontrol grubuna kıyasla artış olduğunu tespit etmişlerdir. *Cypermethrin*'in erişkin ratlarda erkek üreme sistemi üzerine etkilerinin araştırıldığı diğer bir çalışmada (Li ve ark., 2013) 15 gün boyunca 15, 30 ve 60 mg/kg dozunda *cypermethrin* verilen gruplarda *tubuli seminiferi* çevre uzunluğunda kontrol grubuna nazaran düşüşler gözlemlendiği, bunun yanında 7.5, 15 ve 30 mg/kg dozunda *cypermethrin* verilen gruplarda da lümen çaplarında daralmalar olduğu bildirilmiştir. Hu ve ark. (2011)'nin ratlarda 15 gün boyunca 6.25, 12.5, 25 ve 50 mg/kg dozunda *cypermethrin* uyguladıkları ratlarda ise *tubuli seminiferi* çevrelerinde deney grubuna nazaran anlamlı düşüşler olduğu saptanmıştır. Bu çalışmada ise kontrol grubunda 304.48 ± 4.06 μm olarak tespit edilen tubul çapı, 30 gün boyunca sadece *cypermethrin* uygulanan ratlarda 288.98 ± 8.37 μm olarak tespit edildi ancak bu düşüşün istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediği belirlendi.

Curcumin'in çeşitli kimyasallara karşı koruyucu etkisi araştırılırken *tubuli seminiferi* üzerine etkileri de araştırılmış olup tubul çapı ve çevresi parametreleri de incelenmiştir. Noorafshan ve ark. (2011) *metranidazole* uyguladıkları ratlarda *tubuli seminiferi* çapının kontrol grubuna nazaran anlamlı olarak düşüğünü, ancak *metranidazole* ile birlikte *curcumin* verilen grupta ise tubul çapının kontrol grubuna benzer olduğunu tespit etmişlerdir. Cheraghi ve ark. (2017) alüminyum verilen ratların *testis*'lerinde *tubuli seminiferi* çapının kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak düşüğünü, alüminyumla birlikte *curcumin* verilen grupta ise tubul çapının kontrol grubuna benzer olduğunu bildirilmişlerdir. Muratoğlu ve ark. (2018) yaptıkları çalışmada *curcumin* ve *melatonin*'in yaşlı rat testislerinde koruyucu etkilerini araştırmış, yaşlı ratlarda *tubuli seminiferi* çapının genç ratlara nazaran anlamlı olarak azaldığını, ancak *melatonin* ve *curcumin*'in birlikte verildiği yaşlı ratlarda da tubul

çapının genç ratlara benzer olduğunu saptamıştır. Mevcut çalışmada da deney grupları ile kontrol grubu arasında *tubuli seminiferi* çapları bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı saptandı.

Tubuli seminiferi epitel hacmi ya da *epitel* yükseklikleri, *germinal epitelyum* miktarı ile direkt ilişkili olduğu için bu parametlerin incelendiği birçok araştırma yapılmıştır. Farelerde *metranidazole*'ün *tubuli seminiferi epitel* hacmi üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (Noorafshan ve ark., 2010), toplam *epitel* hacminin deney grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak azaldığı bildirilmiştir. Mehranjani ve ark. (2009) bir endokrin bozucu olan *paranonylphenol*'ün, Dehghani ve ark. (2018) ise alkilleyici bir ajan olan *bisulfan*'ın rat *testis*'leri üzerine etkilerini incelemiş, her iki çalışmada da *tubul epitel* hacminin kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir şekilde düştüğü saptanmıştır. Opuwari ve Monsees (2014) *Aspalatus linearis* bitkisi verdikleri ratların *testis*'lerinde *tubuli seminiferi epitel* yüksekliğini $84.3 \pm 13.7 \mu\text{m}$, kontrol grubunda ise $92.8 \pm 14.8 \mu\text{m}$ olarak belirlemişlerdir. *Diethylhexylphthalate* (DEHP: bir plastik yumuşatıcı)'ın rat *testis*'lerinde oluşturduğu hasarın incelendiği bir diğer çalışmada (Abdel-Kawi ve ark., 2016) ise kontrol grubunda *tubuli seminiferi epitel* yüksekliği $76.50 \pm 0.54 \mu\text{m}$, deney grubunda ise $70.88 \pm 58.76 \mu\text{m}$ olarak saptanmıştır. Muratoğlu ve ark. (2018) ise 4 aylık genç *Wistar albino* ratlarda $121.16 \pm 18.07 \mu\text{m}$ olarak buldukları *tubuli seminiferi epitel* yüksekliğini, 20-22 aylık yaşlı ratlarda $97.87 \pm 17.09 \mu\text{m}$ olarak hesaplamışlardır. Bu çalışmaların yanında *cypermethrin*'in erkek ratlardaki üreme sistemi üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda Elbetieha ve ark. (2001), Hu ve ark. (2011), Li ve ark. (2013) *cypermethrin* uygulanan gruplarda *tubuli seminiferi epitel* hücre miktarında düşüşler olduğunu bildirmiştir. Çalışmamızda ise *tubuli seminiferi epitel* yüksekliği kontrol grubunda $76.43 \pm 1.83 \mu\text{m}$, 30 gün boyunca *cypermethrin* verilen grupta ise $56.05 \pm 1.85 \mu\text{m}$ olarak tespit edildi. Deney grubu ile kontrol grubu arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı. Bulgular neticesinde *cypermethrin*'in *leydig* hücre sayısını ve *testosteron* seviyesini düşürmesinin *tubuli seminiferi* yapısının bozulmasında ve hücre sayısının azalmasında etkili olabileceği kanısına varıldı.

Curcumin'in *testis*'lerde çeşitli etkenlere karşı koruyucu etkileri araştırılırken *tubuli seminiferi epitel* kalınlığı ya da yüksekliği parametreleri de incelenmiştir. *Tubuli seminiferi epitel* hacmi ya da kalınlığı üzerine yapılan Noorafshan ve ark. (2010, 2011)'nin iki çalışmasında da *tubuli seminiferi epitel* hacminin terapotik

dozda verilen *metranidazole* grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak düştüğü, *metranidazole* ile *curcumin*'in birlikte verildiği grupta ise kontrol grubuna benzer olduğu bildirilmiştir. Cheraghi ve ark. (2017) erkek *wistar albino* ratlarda *tubuli seminiferi epitel* kalınlığının alüminyum verilen grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak düştüğünü, alüminyum ile birlikte *curcumin* verilen grupta ise kontrol grubuna benzer ölçüde olduğunu tespit etmişlerdir. Muratoğlu ve ark. (2018) *tubuli seminiferi epitel* kalınlığının yaşlı ratlarda genç ratlara nazaran anlamlı olarak düştüğü, *curcumin* verilen yaşlı ratlarda ise yaşlı ratlara nazaran yükseldiği bildirilmiştir. Bu çalışmada ise 30 gün boyunca sadece *cypermethrin* verilen grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak düşen *tubuli seminiferi epitel* yüksekliğinin, 30 gün boyunca sadece *curcumin*, 15 gün boyunca *cypermethrin* ardından 15 gün boyunca *curcumin* ve 30 gün boyunca *cypermethrin* ve *curcumin*'in birlikte verildiği gruplarda kontrol grubuna benzer olduğu saptandı. Bunun yanında 15 gün boyunca *curcumin* ardından 15 gün boyunca *cypermethrin* verilen grupta tubul epitel yüksekliğinin ise 30 gün boyunca sadece *cypermethrin* verilen gruba benzerlik gösterdiği tespit edildi.

Erkek üreme sistemi için *androjen*'ler ne kadar önemli ise *androjen*'lerin etki etmesi için gerekli olan AR'ler de o kadar önemlidir. AR'lerin lokalizasyonlarının araştırıldığı birçok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalardan bazılarında AR'lerin çekirdek dışında stoplazmik bölgelerde de mevcut olduğu bildirilirken (Goyal ve ark., 1997a; Vornberger ve ark., 1994), çoğu çalışmada AR'lerin sadece çekirdekte lokalize olduğu bildirilmiştir (Takeda ve ark., 1990; Zhou ve ark., 1996; Shan ve ark., 1997; Zhu ve ark., 2000; Liu ve ark., 2010; Hu ve ark., 2011; Gür ve ark., 2018). Bu çalışmada da AR immunboyama sadece hücre çekirdeklerinde görüldü. AR'lerin *testis* hücrelerindeki yerleşimleri ile ilgili de birçok araştırma yapılmıştır. Bazı araştırmalarda *leydig*, *peritubuler myoid*, *sertoli* ve *germ* hücrelerinde AR immunboyama olduğu (Sanborn ve ark., 1975; Wright ve Frankel, 1980; Kimura ve ark., 1993; Vornberger ve ark., 1994; Zhou ve ark., 1996), bazılarında ise *germ* hücrelerinde AR immunboyama olmadığı tespit edilmiştir (Buzek ve ark., 1988; Sar ve ark., 1990; Ruizeveld de Winter ve ark., 1991; Kimura ve ark., 1993; Vornberger ve ark., 1994; Van Roijen ve ark., 1995; Zhou ve ark., 1996; Goyal ve ark., 1997b; Suarez-Quian ve ark., 1999; Zhu ve ark., 2000; Chang ve ark., 2004; Liu ve ark., 2010; Hu ve ark., 2011; Genovese ve ark., 2018). Çalışmamızda AR immunboyamanın belirtilen araştırmalara paralel olarak *leydig*, *peritubuler myoid* ve *sertoli* hücrelerinde şekillendiği ancak *germ* hücrelerinde şekillenmediği belirlendi.

Testis dokusunda AR immunboyama ile ilgili yapılan bazı çalışmalarda (Vornberger ve ark., 1994; Goyal ve ark., 1997b; Gür ve ark., 2018) *leydig* hücrelerinde AR immunboyamanın hücreden hücreye farklılık gösterdiği, *leydig* hücrelerinin bazılarının yoğun ya da orta derecede boyandığı, bazılarının ise hiç boyanmadığı bildirilmiştir. Bu çalışmada da kontrol grubu rat testislerinde *leydig* hücrelerinin AR immunboyama yoğunluğunun negatif (-) ile çok yoğun pozitif (+++) arasında değişmekte olduğu tespit edildi. Bremner ve ark. (1994), Goyal ve ark. (1997b), Vornberger ve ark. (1994), Chang ve ark. (2004), Liu ve ark. (2010), Hu ve ark. (2011), Genovese ve ark. (2018), Gür ve ark. (2018) yaptıkları çalışmalarda *peritubuler myoid* ve *sertoli* hücre çekirdeklerinde AR immunboyamanın oldukça yoğun bir biçimde gerçekleştiğini bildirmişlerdir. Çalışmamızda da kontrol grubu rat *testis*'lerinde *peritubuler myoid* ve *sertoli* hücrelerde çok yoğun (+++) AR immunboyama olduğu saptandı.

Çeşitli infertilite olgularında ya da infertiliteye neden olan etkenlerin *testis*'te AR'ler üzerine etkileri de araştırılmıştır. Van Rooijen ve ark. (1995) fertilite seviyesi normalden düşük olan erkek bireylerde *leydig*, *sertoli* ve *peritubuler myoid* hücrelerde AR immunboyamanın fertil erkeklerden farklı olmadığını bildirmiştir. Liu ve ark. (2010) 15 gün boyunca 15 ve 30 mg/kg dozunda β -*cypermethrin* verdikleri ratların testislerinde AR yoğunluğunun kontrol grubuna nazaran anlamlı olarak düştüğünü saptamışlardır. Hu ve ark. (2011) ise 15 gün boyunca günlük 12.5, 25 ve 50 mg/kg dozlarında *cypermethrin* verilen hayvanların testislerinde *sertoli*, *leydig* ve *peritubular myoid* hücrelerinde AR seviyesinde kontrol grubuna göre azalma olduğunu bildirmiştir. Mevcut çalışmada da *cypermethrin* verilen grubun *testis*'lerinde *sertoli*, *leydig* ve *peritubuler myoid* hücrelerinde AR immunboyama yoğunluğunun kontrol grubuna nazaran düştüğü tespit edildi. Bu sayede *cypermethrin*'in *antiandrojenik* etkisinin AR sentezini inhibe etmesine bağlı olabileceği kanaatine varıldı.

Antioksidanların *testis*'te AR'ye etkilerinin araştırıldığı çalışmalar sınırlıdır. *Prostat* kanseri üzerine yapılan çalışmalarda (Tsui ve ark., 2008; Wang ve ark., 2011; Hong ve ark., 2015; Schmidt ve Figg, 2016), *curcumin*'in *prostat*'ta kanserli hücrelerde ASE'ler (androjen sorumlu elementler) üzerinde AR bağlanma aktivitesini ve AR sentezini düzenleyerek tümörlü hücrelerde çoğalmayı azalttığı bildirilmiştir. Elgawish ve Abdelrazek (2014) *kurşun asetat* verilen ratların *testis*'lerinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak düşen AR miktarının, *kurşun*

asetat'la birlikte tarçın ekstratı verilen grupta ise kontrol grubuna yakın olduğunu tespit etmişlerdir. Çalışmamızda 30 gün boyunca sadece *cypermethrin* verilen grupta *leydig*, *peritubuler myoid* ve *sertoli* hücrelerinde AR miktarının kontrol grubuna kıyasla düştüğü ancak 30 gün boyunca sadece *curcumin*, 15 gün boyunca *cypermethrin* ardından 15 gün boyunca *curcumin* ve 30 gün boyunca *cypermethrin* ve *curcumin*'in birlikte verildiği gruplarda ise kontrol grubuna benzer olduğu saptandı. Bunun yanında ilk 15 gün *curcumin* ardından sonraki 15 gün *cypermethrin* verilen grupta ise AR miktarının *cypermethrin* verilen gruba benzerlik gösterdiği tespit edildi.

5. SONUÇ

Çalışmamızda *curcumin*'in rat *testis* dokusunda, *cypermethrin*'e karşı koruyucu etkileri araştırıldı. *Testis* dokusunda ağırlık, hacim, *leydig* hücre sayısı, *tubuli seminiferi* çap ve epitel yükseklikleri, AR immunreaktivitesi gibi parametreler incelendi. Sonuç olarak 30 gün boyunca sadece 30 mg/kg dozunda *cypermethrin* uygulandığında, ratların testislerinde olumsuz etkiler belirlenirken, 30 mg/kg dozda *cypermethrin* ile birlikte uyguladığımız 100 mg/kg dozunda *curcumin*'in ratların testisinde incelediğimiz parametreler bakımından koruyucu etkisinin olduğu saptandı. Bunun yanında 30 günlük gavaj uygulamalarında bazı gruplara ilk 15 gün sadece *curcumin* ardından 15 gün sadece *cypermethrin* verildi ve bu grupta ilk 15 gün verilen *curcumin*'in incelediğimiz parametreler bakımından onarıcı etki göstermediği belirlendi. Bir diğer gruba ise ilk 15 gün sadece *cypermethrin* sonraki 15 gün ise sadece *curcumin* uygulandı. Bu grupta *curcumin*'in incelenen parametreler bakımından ilk 15 gün uygulanan *cypermethrin*'e karşı onarıcı etki gösterdiği belirlendi. İleride yapılacak çalışmalarda serum FSH, LH ve *testosteron* düzeyleri yanında günlük sperm üretimi parametrelerine de bakılması, *cypermethrin* ve *curcumin*'in fertilité üzerine olan etkilerinin daha iyi anlaşılmasına katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

ÖZET

Cypermethrin Verilmiş Ratların Testis'lerinde Curcumin'in Koruyucu Etkisinin İmmunohistokimyasal ve Stereolojik Metotlarla Araştırılması

Cypermethrin tip II sentetik *piretroit* grubundan bir *pestisit* olup, diğer sentetik *piretroit*ler gibi memelilerde daha az toksik olduğu düşünüldüğünden oldukça yaygın bir kullanım alanı bulmuştur. Ancak *cypermethrin*'in erkek üreme sistemi de dahil birçok sistem üzerine toksik etkilerinin incelendiği araştırmalar gün geçtikçe artmaktadır. *Curcumin* zerdeçal (*curcuma longa*) bitkisinden elde edilen, son dönemde fiziksel, kimyasal birçok zararlı etkene karşı koruyucu etkisi olduğu tespit edilen bir antioksidandır. Bu çalışma *cypermethrin*'in rat *testis*'leri üzerine olumsuz etkilerinin ve *curcumin*'in bu olumsuz etkilerine karşı olası koruyucu etkilerinin araştırması amacıyla yapılmıştır.

Üç aylık erkek ratlar, her grupta 8 hayvan olacak şekilde 6 gruba ayrıldı ve 30 gün boyunca gastrik gavaj yoluyla kimyasallar uygulandı. İlk grup çözücü olarak kullanılan mısırözü yağı verdiğimiz kontrol grubu olup, 2. grup *cypermethrin*, 3. grup *curcumin*, 4. grup ilk 15 gün *cypermethrin* sonraki 15 gün *curcumin*, 5. grup ilk 15 gün *curcumin* sonraki 15 gün *cypermethrin*, 6. grup ise *cypermethrin* ve *curcumin*'in birlikte uygulandığı gruplardı. 30 günlük uygulamanın ardından ötenazisi yapılan ratların sağ *testis*'leri *stereolojik* inceleme, sol *testis*'leri ise *histolojik* inceleme, ölçüm ve *immunohistokimyasal* inceleme amacıyla alındı. *Stereolojik* inceleme amaçlı 2 mm'lik eşit aralıklarla dilimlenen sağ *testis*'lerden *Cavalieri* metodu ile hacim hesaplandı. Sol *testis*'ler küçültme işlemi ve *histolojik* doku takibi ardından parafin bloklara gömüldü. Bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitlerden bir kısmı *histolojik* inceleme ve ölçüm amacıyla *Hematoksilen-Eosin* yöntemiyle boyandı. Diğer kesitler ise *immunohistokimyasal* olarak boyandı.

İncelemeler sonucunda canlı ağırlık, *testis* ağırlıkları, *tubuli seminiferi* çapı bakımından kontrol grubu ve deney grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. *Cypermethrin* verilen grupta *histolojik* olarak *testis* yapısında olumsuzluklar tespit edilirken, *cypermethrin* ve *curcumin*'in birlikte verildiği grup ve ilk 15 gün *cypermethrin* ardından 15 gün *curcumin* verilen grupta bu olumsuzluklara rastlanmadı. İlk 15 gün *curcumin* ardından 15 gün *cypermethrin* verilen grupta ise *histolojik* bulgular *cypermethrin* verilen gruba benzerdi. *Leydig* hücre sayısı ve *tubuli seminiferi epitel* yüksekliğinin *cypermethrin* verilen grupta anlamlı olarak düştüğü

tespit edilirken, *cypermethrin* ve *curcumin*'in birlikte verildiği grup ve ilk 15 gün *cypermethrin* ardından 15 gün *curcumin* verilen grupta bu ölçüm değerleri kontrol grubuna benzer olarak tespit edildi. İlk 15 gün *curcumin* ardından 15 gün *cypermethrin* verilen grupta ise bu ölçüm değerleri *cypermethrin* verilen gruba benzerdi. *Immunohistokimyasal* incelemelerde ise *cypermethrin* verilen grupta *leydig*, *sertoli* ve *peritubuler* myoid hücrelerinde AR immunboyama yoğunluğu kontrol grubuna göre düşerken, *cypermethrin* ve *curcumin*'in birlikte verildiği grup ve ilk 15 gün *cypermethrin* ardından 15 gün *curcumin* verilen grupta yoğunluğun kontrol grubuna benzer olduğu saptandı. İlk 15 gün *curcumin* ardından 15 gün *cypermethrin* verilen grupta ise AR immunboyama yoğunluğu *cypermethrin* verilen grup ile benzerlik göstermekte idi.

Sonuç olarak çalışmada *cypermethrin*'in rat *testis*'lerinde incelediğimiz parametreler bakımından olumsuz etkileri ve *curcumin*'in *cypermethrin*'e karşı koruyucu etkileri tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Cypermethrin, curcumin, immunohistokimya, rat, stereoloji, testis.

SUMMARY

Immunohistochemical and Stereological Investigation of the Protective Effects of Curcumin on the Cypermethrin Treated Rat Testes.

Cypermethrin is a pesticide of type II synthetic pyrethroid group and has been found to be of widespread use as it is thought to be less toxic in mammals such as other synthetic pyrethroids. However, the studies on the toxic effects of cypermethrin on many systems, including the male reproductive system, are increasing recently. Curcumin is an antioxidant obtained from turmeric (*Curcuma longa*) plant, which has a protective effect against many physical and chemical harmful substances. This study was carried out to investigate the negative effects of cypermethrin on rat testicles and the possible protective properties of curcumin on these negative effects.

Three-month-old male rats were divided into 6 groups of 8 animals in each group, and 30 days of gastric gavage of chemicals were applied. The first group was the "control" group, the second group was "cypermethrin", the third group was "curcumin", the fourth group was "15 days cypermethrin + 15 days curcumin", the fifth group was "15 days curcumin + 15 days cypermethrin", and the sixth group was "cypermethrin + curcumin" group. After 30 days of application, the right testicles of euthanized rats were taken for stereological examination and left testicles were taken for measurement, histological and immunohistochemical examinations. The volume was calculated by the Cavalieri method from the right testicles, which were cut at 2 mm equal intervals for stereological examination. Left testicles were embedded in paraffin blocks followed by reduction and histological tissue procedures. 5 µm thick sections were taken from the blocks and stained with Hematoxylin-Eosin method for histological examination and measurement. Other sections were stained immunohistochemically.

As a result of the investigations, no statistically significant difference was found between the control group and the experimental groups in terms of live weight, testicle weight, seminiferous tubule diameter. In the group of Cypermethrin histological disorders were detected in the testis structure but in "cypermethrin + curcumin" and "15 days cypermethrin + 15 days curcumin" groups these disorders were not found. Histological findings were similar to the cypermethrin group in the "15 days curcumin + 15 days cypermethrin" group. Leydig cell number and seminiferous tubule epithelial height were significantly decreased in the

“cypermethrin” group. However, in the group of "cypermethrin + curcumin" and "15 days cypermethrin + 15 days curcumin" these values were similar to the control group. These values were similar to the cypermethrin group in the "15 days cypermethrin + 15 days curcumin" group. In the immunohistochemical examination, the intensity of AR immunostaining in Leydig, Sertoli and peritubular myoid cells in cypermethrin group were decreased compared to the control group, cypermethrin and curcumin group were given together and the first 15 days of cypermethrin followed by cypermethrin in 15 days curcumin group was similar to the control group. The first 15 days of curcumin followed by cypermethrin for 15 days in the group of AR immunostaining density cypermethrin showed similarity with the group.

As a result, the negative effects of cypermethrin in rat testes and the protective effects of curcumin against cypermethrin were determined.

Key Words: Cypermethrin, curcumin, immunohistochemistry, rat, stereology, testes.

KAYNAKLAR

- ABDEL-KAWI, S.H., HASHEM, K.S., ABD-ALLAH, S. (2016). Mechanism of diethylhexylphthalate (DEHP) induced testicular damage and of grape seed extract-induced protection in the rat. *Food and Chemical Toxicology*, **90**: 64-75.
- ADAMSSON, A., SIMANAINEN, U., VILUKSELA, M., PARANKO, J., TOPPARI, J. (2009). The effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on foetal male rat steroidogenesis. *International Journal of Andrology*, **32(5)**: 575-585
- AHMED, T., TRIPATHI, A.K., AHMED, R.S., BANERJEE, B.D. (2010). Assessment of phosphamidon-induced apoptosis in human peripheral blood mononuclear cells: protective effects of N-acetylcysteine and curcumin. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, **24(5)**: 286-92.
- AHMED, T., PATHAK, R., MUSTAFA, M.D., KAR, R., TRIPATHI, A.K., AHMED, R.S., BANERJEE, B.D. (2011). Ameliorating effect of N-acetylcysteine and curcumin on pesticide-induced oxidative DNA damage in human peripheral blood mononuclear cells. *Environmental Monitoring and Assessment*, **179(1-4)**: 293-299.
- AHMED-FARID, O.A.H., NASR, M., AHMED, R.F., BAKEER, R.M. (2017). Beneficial effects of curcumin nano-emulsion on spermatogenesis and reproductive performance in male rats under protein deficient diet model: enhancement of sperm motility, conservancy of testicular tissue integrity, cell energy and seminal plasma amino acids content. *Journal of Biomedical Science*, **24(1)**: 66.
- AKBAS, H., SAHIN, B., EROGLU, L., ODACI, E., BILGIC, S., KAPLAN, S., UZUN, A., ERGUR, H., BEK, Y. (2004). Estimation of breast Prosthesis Volume by the Cavalieri principle using magnetic resonance images. *Aesthetic Plastic Surgery*, **28**: 275 – 280.
- AKOSMAN, M.S. (2009). Yeni Zelanda tavşanında Leydig hücrelerinin sayısının Stereolojik Metodlarla hesaplanması. (Doktora Tezi), Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.
- AKTAS, C., KANTER, M., ERBOGA, M., OZTURK, S. (2012). Anti-apoptotic effects of curcumin on cadmium-induced apoptosis in rat testes. *Toxicology and Industrial Health*, **28(2)**: 122–130.

- ALAA-ELDIN, E.A., EL-SHAFEI, D.A., ABOUHASHEM, N.S. (2017). Individual and combined effect of chlorpyrifos and cypermethrin on reproductive system of adult male albino rats. *Environmental Science and Pollution Research*, **24(2)**: 1532-1543.
- ALP, H., AYTEKİN, I., HATİPOĞLU, N.K., ALP, A., OGUN, M. (2012). Effects of sulfuraphane and curcumin on oxidative stress created by acute malathion toxicity in rats. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, **3**: 144-148.
- AL-ZAHRANI, K.N., COOK, D.P., VANDERHYDEN, B.C., SABOURIN, L.A. (2018). Assessing the efficacy of androgen receptor and Sox10 as independent markers of the triple-negative breast cancer subtype by transcriptome profiling. *Oncotarget*, **9(70)**: 33348-33359.
- ANAND, P., KUNNUMAKKARA, A.B., NEWMAN, R.A., AGGARWAL, B.B. (2007). Bioavailability of Curcumin: Problems and Promises. *Molecular Pharmaceutics*, **4(6)**: 807-818.
- ANDREWS, F.N. (1940). Thermo-Regulatory Function of Rat Scrotum. I. Normal Development and Effect of Castration. *Experimental Biology and Medicine*, **45(3)**: 867-869.
- AROONVILAIRAT, S., TANGJARUKIJ, C., SORNPRACHUM, T., CHAISURIYA, P., SIWADUNE, T., RATANABANANGKON, K. (2018). Effects of topical exposure to a mixture of chlorpyrifos, cypermethrin and captan on the hematological and immunological systems in male Wistar rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **59**: 53-60. doi: 10.1016/j.etap.2018.02.010.
- BAHADIR, A., YILDIZ, H. (2008). Veteriner Anatomi: Hareket Sistemi & İç Organlar. Bursa.
- BANCROFT, J.D., GAMBLE, M. (2008). Theory and practice of histological techniques. 6th Edition, Elsevier, Philadelphia.
- BAUM, L., NG, A. (2004). Curcumin interaction with copper and iron suggests one possible mechanism of action in Alzheimer's disease animal models. *Journal of Alzheimer's Disease*, **6(4)**: 367-77.

- BHARDWAJ, J.K., KUMARI, P., SARAF, P., YADAV, A.S. (2018). Antiapoptotic effects of vitamins C and E against cypermethrin-induced oxidative stress and spermatogonial germ cell apoptosis. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, **32(8)**: e22174. doi: 10.1002/jbt.22174.
- BODEY, B. (2002). The significance of immunohistochemistry in the diagnosis and therapy of neoplasms. *Expert Opinion on Biological Therapy*, **2**: 371–393.
- BONEFELD-JØRGENSEN, E.C., ANDERSEN, H.R., RASMUSSEN, T.H., VINGGAARD, A.M. (2001). Effect of highly bioaccumulated polychlorinated biphenyl congeners on estrogen and androgen receptor activity. *Toxicology*, **158(3)**: 141–153.
- BRADBERRY, S.M., CAGE, S.A., PROUDFOOT, A.T., VALE, J.A. (2005). Poisoning due to pyrethroids. *Toxicological Reviews*, **24(2)**: 93-106.
- BRANDTZAEG, P. (1998). The increasing power of immunohistochemistry and immunocytochemistry. *Journal of Immunological Methods*, **216**: 49–67.
- BREMNER, W.J., MILLAR, M.R., SHARPE, R.M., SUNDERS, P.T.K. (1994). Immunohistochemical localization of androgen receptors in the rat tissue: evidence for stage-dependent expression and regulation by androgen. *Endocrinology*, **135**: 1227-1234.
- BROCKSCHMIDT, F., NOTHEN, M., HILLMER, A. (2007). The two most common alleles of the coding GGN repeat in the androgen receptor gene cause differences in protein function. *Journal of Molecular Endocrinology*, **39(1)**: 1-8.
- BUZEK, S.W., SANBORN, B.M. (1988). Increase in testicular androgen receptor during sexual maturation in the rat. *Biology of Reproduction*, **39**: 39-49.
- CANALES-AGUIRRE, A.A., GOMEZ-PINEDO, U.A., LUQUIN, S., RAMÍREZ-HERRERA, M.A., MENDOZA-MAGAÑA, M.L., FERIA-VELASCO, A. (2012). Curcumin protects against the oxidative damage induced by the pesticide parathion in the hippocampus of the rat brain. *Nutritional Neuroscience*, **15(2)**: 62-69.
- CANAN, S., ŞAHİN, B., ODACI, E., ÜNAL, B., ASLAN, H., BİLGİÇ, S., KAPLAN, S. (2002). Toplam hacim, hacim yoğunluğu ve hacim oranlarının hesaplanmasında kullanılan bir stereolojik yöntem: Cavalieri prensibi. *Tıp Bilimleri Dergisi*, **22 (S)**: 7 – 14.

- CARREAU, S., SILANDRE, D., BOURGUIBA, S., HAMDEN, K., SAID, L., LAMBARD, S., GALERAUD-DENIS, I., DELALANDE, C. (2007). Estrogens and male reproduction: a new concept. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **40(6)**: 761-768.
- CHANG, C., CHEN, Y.T., YEH, S.D., XU, Q., WANG, R.S., GUILLOU, F., LARDY, H., YEH, S. (2004). Infertility with defective spermatogenesis and hypotestosteronemia in male mice lacking the androgen receptor in Sertoli cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**: 6876-6881.
- CHANG, Q., LIU, Z., MA, W.Z., HEI, C.C., SHEN, X.S., QIAN, X.J., XU, Z.L. (2011). Drug synergistic antifertility effect of combined administration of low-dose gossypol with steroid hormones in rats. *Chinese Medical Journal*, **124(11)**: 1678-1682.
- CHEN, J., TANG, X.Q., ZHI, J.L., CUI, Y., YU, H.M., TANG, E.H., SUN, S.N., FENG, J.Q., CHEN, P.X. (2006). Curcumin protects PC12 cells against 1-methyl-4-phenylpyridinium ion-induced apoptosis by bcl-2-mitochondria-ROS-iNOS pathway. *Apoptosis*, **11(6)**: 943-953.
- CHERAGHI, E., GOLKAR, A., ROSHANAELI, K., ALANI, B. (2017). Aluminium-Induced Oxidative Stress, Apoptosis and Alterations in Testicular Tissue and Sperm Quality in Wistar Rats: Ameliorative Effects of Curcumin. *International Journal of Fertility and Sterility*, **11(3)**: 166-175.
- CISCATO, C.H.P., GEBARA, A.B., SPINOSA, H.S. (2002). Pesticide residues in cow milk consumed in Sao Paulo city (Brazil). *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, **37(4)**: 323-330, 2002.
- CRAIGIE, E.H. (1948). Bensley's Practical anatomy of the rabbit. 8th Ed. University of Toronto Press, Toronto. 245-250.
- CROFTON, K.M., REITER, L.W. (1984). Effects of two pyrethroid insecticides on motor activity and the acoustic startle response in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **75(2)**: 318-328.
- CRUZ-ORIVE, L.M. (1993). Systematic sampling in stereology. Bulletin of the international statistical institute, 451 - 468.

- CRUZ-ORIVE, L.M. (1999). Precision of Cavalieri sections and slices with local errors. *Journal of Microscopy*, **193 (3)**: 182 – 198.
- ÇALIŞKAN, M., ERKMEN, B., YERLİ, S.V. (2003). The effects of zeta cypermethrin on the gills of common guppy *Lebistes reticulatus*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **14(3)**: 117-120.
- ÇÖVEN, N. (1994). Prenatal ve postnatal dönemdeki ratlarda testisin histogenezisi üzerinde ışık mikroskopik çalışmalar (Doktora Tezi). Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
- DE FAUBERT MAUNDER, M.J., EGAN, H., GODLY, E.W., HAMMOND, E.W., ROBURN, J., THOMSON, J. (1964). Clean-up of animal fats and dairy products for the analysis of chlorinated pesticide residues. *Analyst*, **89**: 168-174.
- DEHGHANI, F., SOTOUDE, N., BORDBAR, H., PANJESHAHIN, M.R., KARBALAY-DOUST, S. (2018). The use of platelet-rich plasma (PRP) to improve structural impairment of rat testis induced by busulfan. *Platelets*, **8**: 1-8.
- DESAI, K.R., DATTANI, J.J., RAJPUT, D.K., MOID, N., HIGHLAND, H.N., GEORGE, L.B. (2012). Role of curcumin on chloroquine phosphate-induced reproductive toxicity. *Drug and Chemical Toxicology*, **35(2)**: 184-191.
- DHILLON, N., AGGARWAL, B.B., NEWMAN, R.A., WOLFF, R.A., KUNNUMAKKARA, A.B., ABBRUZZESE, J.L., NG, C.S., BADMAEV, V., KURZROCK, R. (2008). Phase II trial of curcumin in patients with advanced pancreatic cancer. *Clinical Cancer Research*, **14(14)**: 4491-4499.
- DOBSIKOVA, R., VELIEK, J., WLASOW, T., GOMULKA, P., SVOBODOVA, Z., NOVOTNY, L. (2006). Effects of cypermethrin on some haematological, biochemical and histopathological parameters of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Neuro Endocrinology Letters*, **27(2)**: 91-95.
- DUMAN, A. (2010). Meme tümörlerinde tümör hacminin stereolojik hesaplanmasının prognostik parametreler ile karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi, Erzurum.
- DURSUN, N. (2005). Veteriner Anatomi II. Medisan Yayınevi, Ankara.
- DYM, M., FAWCETT, D.W. (1970). The Blood-Testis Barrier in the Rat and the Physiological Compartmentation of the Seminiferous Epithelium. *Biology of Reproduction*, **3(3)**: 308-326.

- ELBETIEHA, E., DA'AS, S.I., KHAMAS, W., DARMANI, H. (2001). Evaluation of the Toxic Potentials of Cypermethrin Pesticide on Some Reproductive and Fertility Parameters in the Male Rats. *Toxicology*, **41(4)**: 522–528.
- ELGAWISH, R.A.R., ABDELRAZEK, H.M.A. (2014). Effects of lead acetate on testicular function and caspase-3 expression with respect to the protective effect of cinnamon in albino rats. *Toxicology Reports*, **16(1)**: 795–801.
- EL-MADDAWY, Z.K., EL-SAYED, Y.S. (2018). Comparative analysis of the protective effects of curcumin and N-acetyl cysteine against paracetamol-induced hepatic, renal, and testicular toxicity in Wistar rats. *Environmental Science and Pollution Research*, **25(4)**: 3468-3479.
- ERASLAN, G., KANBUR, M., SİLİĞ, Y., KARABACAK, M., SOYER SARİCA, Z., ŞAHİN, S. (2016). The acute and chronic toxic effect of cypermethrin, propetamphos, and their combinations in rats. *Environmental Toxicology*, **31(11)**: 1415-1429.
- ERDOĞAN, B.Y. (2010). Samsun'da yaygın olarak kullanılan pestisitlerin sağlığa ve çevreye etkileri. *Alinteri Ziraat Bilimler Dergisi*, **19(B)**: 28-35.
- Erişim tarihi: 05.06.2018.
- EVERS, P., UYLINGS, H.B.M., SUURMEIJER, A.J.H. (1998). Antigen retrieval in formaldehyde-fixed human brain tissue. *Methods*, **15**: 133–140.
- FARAG, A.T., GODA, N.F., SHAABAN, N.A., MANSEE, A.H. (2007). Effects of oral exposure of synthetic pyrethroid, cypermethrin on the behavior of F1-progeny in mice. *Reproductive Toxicology*, **23(4)**: 560-567.
- FOX, C.H., JOHNSON, F.B., WHITING, J., ROLLER, P.P. (1985). Formaldehyde fixation. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, **33**: 845–853.
- GABBIANELLI, R., FALCIONI, G., NASUTI, C., CANTALAMESSA, F. (2002). Cypermethrin-induced plasma membrane perturbation on erythrocytes from rats: reduction of fluidity in the hydrophobic core and in glutathione peroxidase activity. *Toxicology*, **175(1-3)**: 91-101.
- GAST, A., SCHNEIKERT, J., CATO, A.C. (1998). N-terminal sequences of the human androgen receptor in DNA binding and transrepressing functions. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, **65**: 117-123.

- GENOVESE, P., HERRERA, E., RIAÑO, V., BIELLI, A. (2018). Subnutrition Effects During Pregnancy and Lactation on Mitosis, Apoptosis, and Androgen Receptor Expression in the Rat Testis. *Reproduction in Domestic Animals*, doi: 10.1111/rda.13385.
- GEORGE, F.W., PETERSON, K.G. (1988). Partial characterization of the androgen receptor of the newborn rat gubernaculum. *Biology of Reproduction*, **39(3)**: 536-539.
- GLEN, D., BRAUNSTEIN, G.D. (2001). Testes in: Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology. Ed: Greenspan, FS, Gardner, DG, McGraw Hill Companies: Sixth Edition.
- GOYAL, H.O., BARTOL, F.F., WILEY, A.A., NEFF, C.W. (1997a). Immunolocalization of receptors for androgen and estrogen in male caprine reproductive tissues: Unique distribution of estrogen receptors in efferent ductule epithelium. *Biology of Reproduction*, **56(1)**: 90-101.
- GOYAL, H.O., BARTOL, F.F., WILEY, A.A., KHALIL, M.K., CHIU, J., VIG, M.M. (1997b). Immunolocalization of androgen receptor and estrogen receptor in the developing testis and excurrent ducts of goats. *The Anatomical Record*, **249(1)**: 54-62.
- GROOTEGOED, J.A., PETERS, M.J., MULDER, E., ROMMERTS, F.F.G., VAN DER MOLEN, H.J. (1977). Absence of a nuclear androgen receptor in isolated germinal cells of rat testis. *Molecular and Cellular Endocrinology*, **9(2)**: 159-167.
- GUNDERSEN, H.J.G. (1977). Notes on the estimation of the numerical density of arbitrary particles: the edge effect. *Journal of Microscopy*, **111**: 219 – 223.
- GUNDERSEN, H.J.G., JENSEN, E.B.V. (1987). The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *Journal of Microscopy*, **147**: 229 – 363.
- GUNDERSEN, H.J.G., BENDTSEN, T.F., KORBO, L., MARCUSSEN, N., MOLLER, A., NIELSEN, K., NYENGAARD, J.R., PAKKENBERG, B., SORENSEN, F.B., VESTERBY, A., WEST, M.J.(1988a). Some new simple and efficient stereological methods and their use in pathological research and diagnosis. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica*, **96**: 379 – 394.

- GUNDERSEN, H.J.G., BAGGER, P., BENDTSEN, T.F., EVANS, S.M., KORBO, L., MARCUSSEN, N., MOLLER, A., NIELSEN, K., NYENGAARD, J.R., PAKKENBERG, B., SORENSEN, F.B., VESTERBY, A., WEST, M.J. (1988b). The new stereological tools: disector, fractionator and point-sampled intercepts and their use in pathological research. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica*, **96**: 857 – 881.
- GUNDERSEN, H.J.G., JENSEN, E.B.V., KIEU, K., NIELSEN, J. (1999). The efficiency of systematic sampling in stereology – reconsidered. *Journal of Microscopy*, **193**: 199 – 211.
- GUO, J., XU, J., ZHANG, J., AN, L. (2018). Alteration of mice cerebral cortex development after prenatal exposure to cypermethrin and deltamethrin. *Toxicology Letters*, **1(287)**: 1-9.
- GÜR, F.M., TIMURKAAN, S., BAYGELDİ, S.B., ÖZKAN, Z.E., KANMAZ, Y.A., GÜR, H.E., İLGÜN, R., TARAKÇI, B.G. (2018). Cüce Hamsterlerin (*Phodopus roborovskii*) Genital Dokularında Androjen Reseptör Lokalizasyonu. *Türk Tarım –Gıda Bilim veTeknoloji Dergisi*, **6(4)**: 415-420.
- HAINES, D.M., WEST, K.H. (2005). Immunohistochemistry: forging the links between immunology and pathology. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, **108**: 151–156.
- HEMMING, H., FLODSTRÖM, S., WÄRNGÅRD, L. (1993). Enhancement of altered hepatic foci in rat liver and inhibition of intercellular communication in vitro by the pyrethroid insecticides fenvalerate, flucythrinate and cypermethrin. *Carcinogenesis*, **14(12)**: 2531-2535.
- HOLTZ, W., FOOTE, R.H. (1978). The Anatomy of the Reproductive system in male Dutch Rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) with Special Emphasis Accessory sex glands. *Journal of Morphology*, **158**: 1-20.
- HONG, J.H., LEE, G., CHOI, H.Y. (2015). Effect of curcumin on the interaction between androgen receptor and Wnt/ β -catenin in LNCaP xenografts. *Korean Journal of Urology*, **56(9)**: 656-665.
- HOWARD, C.V., REED, M.G. (1998). Unbiased stereology. Three-dimensional measurement in microscopy. Oxford: Bios, 39-54.

- HOWARD, M.A., ROBERTS, N., GARCIA-FINANA, M., COWELL, P.E. (2003). Volume estimation of prefrontal cortical subfields using MRI and stereology. *Brain Research Protocols*, **10**: 125-138.
- HU, J.X., LI, Y.F., LI, J., PAN, C., HE, Z., DONG, H.Y., XU, L.C. (2011). Toxic effects of cypermethrin on the male reproductive system: with emphasis on the androgen receptor. *Journal of Applied Toxicology*, **33(7)**: 576-585.
- IKEZAKI, S., NISHIKAWA, A., FURUKAWA, F., KUDO, K., NAKAMURA, H., TAMURA, K., MORI, H. (2001). Chemopreventive effects of curcumin on glandular stomach carcinogenesis induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine and sodium chloride in rats. *Anticancer Research*, **21(5)**: 3407-3411.
- IRESON, C.R., JONES, D.J., ORR, S., COUGHTRIE, M.W., BOOCOCK, D.J., WILLIAMS, M.L., FARMER, P.B., STEWARD, W.P., GESCHER, A.J. (2002). Metabolism of the cancer chemopreventive agent curcumin in human and rat intestine. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **11(1)**: 105-111.
- ISMAIL, M.F., MOHAMED, H.M. (2013). Modulatory effect of lycopene on deltamethrin-induced testicular injury in rats. *Cell Biochemistry and Biophysics*, **65(3)**: 425-432.
- İLERİ, N. (1988). "Drosophila melanogaster Meig. (Diptera: Drosophilidae) Yabanıl (Keçiören) ve İki Mutant (Vestigial ve Spinless) Populasyonları Üzerinde Sentetik Pyrethroidlerin Etkisi". Doktora tezi, H.Ü. Fen Bil. Enst., Ankara.
- JAENSSON, A., SCOTT, A.P., MOORE, A., KYLIN, H. AND OLSEN, K.H. (2007). Effects of a pyrethroid pesticide on endocrine responses to female odours and reproductive behaviour in male parr of brown trout (*Salmo trutta* L.). *Aquatic Toxicology*, **81(1)**: 1-9.
- JAFFER, S., BLEIWEISS, I.J. (2004). Beyond hematoxylin and eosin—the role of immunohistochemistry in surgical pathology. *Cancer Investigation*, **22**: 445–465.
- JALILI, C., SALAHSHOOR, M.R., NADERI, T. (2015). The effect of hydroalcoholic extract of *P. crispum* on sperm parameters, testis tissue and serum nitric oxide levels in mice. *Advanced Biomedical Research*, **11(4)**: 40.
- JEWETT, M.A.S., THACHIL, J.V., HARRIS, J.F. (1983). Exocrine function of testis with germinal testicular tumour. *British Medical Journal*, **286(6381)**: 1849–1850.

- JOE, B., LOKESH, B.R. (1994). Role of capsaicin, curcumin and dietary n-3 fatty acids in lowering the generation of reactive oxygen species in rat peritoneal macrophages. *Biochimica et Biophysica Acta*, **1224(2)**: 255-263.
- JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO, J. (2003). Temel Histoloji. (Çeviri Editörü: Prof. Dr. Yener Aytekin, Doç. Dr. Seyhun Solakoğlu). Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul. 431-443.
- KAKKO, I., TOIMELA, T., TAHTI, H. (2004). Oestradiol potentiates the effects of certain pyrethroid compounds in the MCF7 human breast carcinoma cell line. *ATLA: Alternatives to Lab Animals*, **32(4)**: 383-390.
- KALKAN, Y. (2001). Sıçanlarda Testisin Postnatal Gelişimi Üzerine Histolojik ve Histoşimik Araştırmalar. (Yüksek Lisans Tezi), Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Van.
- KALKAN, Y. (2009). Sıçan yenidoğan ve erişkinlerde hipokampus gelişiminde nöron sayısının cinsiyete ve dönemlere bağlı olarak hesaplanması (Bir stereolojik ve histolojik çalışma). Doktora Tezi, Erzurum.
- KANTER, M., AKTAS, C., ERBOGA, M. (2013). Curcumin attenuates testicular damage, apoptotic germ cell death, and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Molecular Nutrition & Food Research*, **57(9)**: 1578-1585.
- KAPLAN, S. (2006). Klinik ve Deneysel Çalışmalarda Stereolojik Yöntemler Kursu. Stereoloji Derneği. www.stereoloji.org. 27-29 Haziran, Afyonkarahisar.
- KELCH, R.P., JENNER, M.R., WEINSTEIN, R., KAPLAN, S.L., GRUMBACH, M.M. (1973). Estradiol and Testosterone Secretion by Human, Simian, and Canine Testes, in Males with Hypogonadism and in Male Pseudohermaphrodites with the Feminizing Testes Syndrome. *The Journal of Clinical Investigation*, **51(4)**: 824–830.
- KHALAJI, N., NAMYARI, M., RASMI, Y., POURJABALI, M., CHODARI, L. (2018). Protective effect of curcumin on fertility of rats after exposure to compact fluorescent lamps: An experimental study. *International Journal of Reproductive BioMedicine*, **16(7)**: 447-454.

- KIM, S.H., SHIN, Y.K., LEE, K.M., LEE, J.S., YUN, J.H., LEE, S.M. (2003). An improved protocol of biotinylated tyramine-based immunohistochemistry minimizing nonspecific background staining. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, **51(1)**: 129-132.
- KIM, I.Y., SHIN, J.H., KIM, H.S., LEE, S.J., KANG, I.H., KIM, T.S., MOON, H.J., CHOI, K.S., MOON, A., HAN, S.Y. (2004). Assessing estrogenic activity of pyrethroid insecticides using in vitro combination assays. *Journal of Reproduction and Development*, **50(2)**: 245-255.
- KIM, S.W., ROH, J., PARK, C.S. (2016). Immunohistochemistry for Pathologists: Protocols, Pitfalls, and Tips. *Journal of Pathology and Translational Medicine*, **50(6)**: 411-418.
- KIMURA, N., MIZOKAMI, A., OONUMA, T., SASANO, H., NAGURA, H. (1993). Immunocytochemical localization of androgen receptor with polyclonal antibody in paraffin-embedded human tissues. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, **41(5)**: 671- 678.
- KORMANO, M., HOVATTA, O. (1972). Contractility and histochemistry of the myoid cell layer of the rat seminiferous tubules during postnatal development. *Zeitschrift für Anatomie und Entwicklungsgeschichte*, **137(3)**: 239-248.
- KOUBA, M. (2003). Quality of organic animal products. *Livestock Production Science*, **80(1-2)**: 33-40.
- KÖNIG, H.E., LIEBICH, H.G. (2018). Veteriner Anatomi (Evcil Memeli Hayvanlar). Medipress, Malatya.
- KÖSE, E., SARSILMAZ, M., MEYDAN, S., PEKMEZ, H., DABAK, D.Ö., KAVAKLI, A., ÖGETÜRK, M. (2010). Solunum Yoluyla Formaldehit ve Lavanta Uygulanan Sıçan Testislerinin Değerlendirilmesi; Bir Histolojik Çalışma. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **17(3)**: 169-173.
- KUŞ, M.A. (2006). Sıçanlarda Formaldehit Maruziyetiyle Testislerde Oluşan Morfolojik Değişiklikler Üzerine Melatonin Hormonunun Koruyucu Etkisi. (Yüksek Lisans Tezi), Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Afyonkarahisar.

- KUTTAN, R., BHANUMATHY, P., NIRMALA, K., GEORGE, M.C. (1985). Potential anticancer activity of turmeric (*Curcuma longa*). *Cancer Letters*, **29**: 197-202.
- LEE, H.Y., KIM, S.W., LEE, G.H., CHOI, M.K., JUNG, H.W., KIM, Y.J., KWON, H.J., CHAE, H.J. (2016). Turmeric extract and its active compound, curcumin, protect against chronic CCl₄-induced liver damage by enhancing antioxidation. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, **16(1)**: 316-324.
- LEE, S.L., HUANG, W.J., LIN, W.W., LEE, S.S., CHEN, C.H. (2005). Preparation and anti-inflammatory activities of diarylheptanoid and diarylheptylamine analogs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **13**: 6175-6181.
- OZEN, N., USLU, E., OZEN, M., AYDIN, S., ALTUG, T., BELCE, A., KOKOGLU, E. (2002). Curcumin's effects on sialic acid level and sialidase activity in Ehrlich ascites tumor bearing mice. *The Tohoku Journal of Experimental Medicine*, **197(4)**: 221-227.
- LEMAIRE, G., BALAGUER, P., MICHEL, S., RAHMANI, R. (2005). Activation of retinoic acid receptor-dependent transcription by organochlorine pesticides. *Toxicology and Applied Pharmacology*, **202(1)**: 38-49.
- LEONG, A.S., WRIGHT, J. (1987). The contribution of immunohistochemical staining in tumour diagnosis. *Histopathology*, **11**: 1295-1305.
- LEVY, S., SERRE, V., HERMO, L., ROBAIRE, B. (1999). The effects of aging on the seminiferous epithelium and the blood-testis barrier of the Brown Norway rat. *Journal of Andrology*, **20**: 356-365.
- LI, Y.F., PAN, C., HU, J.X., LI, J., XU, L.C. (2013). Effects of cypermethrin on male reproductive system in adult rats. *Biomedical and Environmental Sciences*, **26(3)**: 201-208.
- LIU, L., HU, J., WANG, H., CHEN, B., HE, Z., XU, L. (2010). Effects of beta-cypermethrin on male rat reproductive system. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **30(3)**: 251-256.
- LIU, S., LI, C., WANG, Y., HONG, T., SONG, T., LI, L., YE, L., LIAN, Q., GE, R.S. (2016). In utero methoxychlor exposure increases rat fetal Leydig cell number but inhibits its function. *Toxicology*, **31(370)**: 31-40.

- LUKOWICZ-RATAJCZAK, J., KRECHNIAK, J. (1991). Effect of decamethrin and cypermethrin on kidney function and metabolism. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 24: 133-137.
- LV, Y., FANG, Y., CHEN, P., DUAN, Y., HUANG, T., MA, L., XIE, L., CHEN, X., CHEN, X., GAO, J., GE, R.S. (2019). Dicyclohexyl phthalate blocks Leydig cell regeneration in adult rat testis. *Toxicology*, **1(411)**: 60-70.
- MALONEY, S.K., SHEPHERD, K.L., BAKKER, A.J. (2005). Contractile physiology and response to temperature changes of the tunica dartos muscle of the rat. *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*, **451**: 489–497.
- MANGELSDORF, D.J., THUMMEL, C., BEATO, C., HERRLICH, P., SCHÜTZ, G., UMESONO, K., BLUMBERG, B., KASTNER, P., MARK, M., CHAMBON, P., EVANS, R.M. (1995). The nuclear receptor super-family: the second decade. *Cell*, **83**: 835-839.
- MANNA, S., BHATTACHARYYA, D., MANDAL, T.K., DAS, S.(2004). Repeated dose toxicity of alfa-cypermethrin in rats. *Journal of Veterinary Science*, **5(3)**: 241-245.
- MARONI, M., COLOSIO, C., FERIOLI, A., FAIT, A. (2000). Biological monitoring of pesticide exposure: A review. *Introduction. Toxicology*, **143(1)**: 1-1180.
- MARTÍNEZ-BERGANZA, M.T., SARRÍA, L., COZCOLLUELA, R., CABADA, T., ESCOLAR, F., RIPA, L. (1998). Cysts of the tunica albuginea: sonographic appearance. *American Journal of Roentgenology*, **170(1)**: 183-185.
- MAUND, S.J., CAMPBELL, P.J., GIDDINGS, J.M., HAMER, M.J., HENRY, K., PILLING, E.D., WARINTON, J.S., WHEELER, J.R. (2012). Ecotoxicology of synthetic pyrethroids. *Topics in Current Chemistry*, **314**: 137-65.
- MAYHEW, T.M., GUNDERSEN, H.J.G. (1996). If you assume, you can make an ass out of u and me: A decade of the disector for stereological counting of particles in 3D space. *Journal of Anatomy*, **188**: 1 – 15.
- MCCARTHY, A.R., THOMSON, B.M., SHAW, I.C., ABELL, A.D. (2006). Estrogenicity of pyrethroid insecticide metabolites. **Journal of Environmental Monitoring**, **8(1)**: 197-202.

- MEHRANJANI, M.S., NOORAFSHAN, A., MOMENI, HR, ABNOSI, M.H., MAHMOODI, M., ANVARI, M., HOSEINI, S.M. (2009). Stereological study of the effects of vitamin E on testis structure in rats treated with para-nonylphenol. *Asian Journal of Andrology*, **11(4)**: 508-516.
- MERCANTEPE, T., UNAL, D., TÜMKAYA, L., YAZICI, Z.A. (2018). Protective effects of amifostine, curcumin and caffeic acid phenethyl ester against cisplatin-induced testis tissue damage in rats. *Experimental and Therapeutic Medicine*, **5(4)**: 3404-3412.
- MESSARAH, M., AMAMRA, W., BOUMENDJEL, A., BARKAT, L., BOUASLA, I., ABDENNOUR, C., BOULAKOUD, M.S., FEKİ, A.E. (2013). Ameliorating effects of curcumin and vitamin E on diazinon-induced oxidative damage in rat liver and erythrocytes. *Toxicology and Industrial Health*, **29(1)**: 77-88.
- MITAL, P., HINTON, B.T., DUFOUR, J.M. (2011). The Blood-Testis and Blood-Epididymis Barriers are More than Just Their Tight Junctions. *Biology of Reproduction*, **84**: 852-858.
- MORTON, D., WETSBRODE, S.E., WYDER, W.E., MAURER, J.K., CAPEN, C.C. (1986). Histologic alterations in the testes of laboratory rabbits. *Veterinary Pathology*, **23**: 214-217.
- MOUTON, P.R. (2002). Principles and practices of unbiased stereology. John Hopkins University Press, 5 – 6.
- MURATOĞLU, S., AKARCA DİZAKAR, O.S., KESKİN AKTAN, A., ÖMEROĞLU, S., AKBULUT, K.G. (2018). The protective role of melatonin and curcumin in the testis of young and aged rats. *Andrologia*. Nov 22:e13203. doi: 10.1111/and.13203.
- NASUTI, C., CANTALAMESSA, F., DALY, C.J., MCGRATH, J.C. (2007). Alterations in rabbit aorta induced by types I and II pyrethroids. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **23(2)**: 250-253.
- INTERNATIONAL COMMITTEE ON VETERINARY GROSS ANATOMICAL NOMENCLATURE. (2017). *Nomina Anatomica Veterinaria*, 7th edition, Gent, Belgium.

- NOORAFSHAN, A., KARBALAY-DOUST, S., ARDEKANI, F.M. (2005). High doses of nandrolone decanoate reduce volume of testis and length of seminiferous tubules in rats. *APMIS*, **113(2)**: 122-125.
- NOORAFSHAN, A., KARBALAY-DOUST, S., VALIZADEH, A., ALIABADI, E., MIRKHANI, H. (2010). Ameliorative effects of curcumin on the seminiferous epithelium in metronidazole-treated mice: a stereological study. *Toxicologic Pathology*, **38(3)**: 366-371.
- NOORAFSHAN, A., KARBALAY-DOUST, S., VALIZADEH, A., ALIABADI, E. (2011). Ameliorative effects of curcumin on the structural parameters of seminiferous tubules and Leydig cells in metronidazole-treated mice: a stereological approach. *Experimental and Toxicologic Pathology*, **63(7-8)**: 627-633.
- ODA, S.S., EL-MADDAWY, Z.K. (2012). Protective effect of vitamin E and selenium combination on deltamethrin- induced reproductive toxicity in male rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, **64(7-8)**: 813-819.
- OGBUEWU, I.P., OKOLI, I.C., ILOEJE, M.U. (2009). Semen quality characteristics, reaction time, testis weight and seminiferous tubule diameter of buck rabbits fed neem (*Azadirachta indica* A. Juss) leaf meal based diets. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, **7(1)**: 23-28.
- OPUWARI, C.S., MONSEES, T.K. (2014). In vivo effects of *Aspalathus linearis* (rooibos) on male rat reproductive functions. *Andrologia*, **46(8)**: 867-877.
- PAHNKE, V.G., LEIDENBERGER, F.A., KÜNZIG, H.J. (1975). Correlation between hcg (lh)-binding capacity, leydig cell number and secretory activity of rat testis throughout pubescence. *Acta Endocrinologica (Copenhagen)*, **79(3)**: 610-618.
- PAN, M.H., HUANG, T.M., LIN, J.K. (1999). Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice. *Drug Metabolism and Disposition*, **27(4)**: 486-494.
- PAN, C., LIU, Y.P., LI, Y.F., HU, J.X., ZHANG, J.P., WANG, H.M., LI, J., XU, L.C. (2012). Effects of cypermethrin on the ligand-independent interaction between androgen receptor and steroid receptor coactivator-1. *Toxicology*, **299(2-3)**: 160-164.

- PAPADOPOULOS, V., MUKHIN, A.G., COSTA, E., KRUEGER, K.E. (1990). The peripheral-type benzodiazepine receptor is functionally linked to Leydig cell steroidogenesis. *The Journal of Biological Chemistry*, **265**: 3772-3779.
- PARK, E.J., JEON, C.H., KO, G., KIM, J., SOHN, D.H. (2000). Protective effect of curcumin in rat liver injury induced by carbon tetrachloride. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **52(4)**: 437-440.
- PATUMRAJ, S., WONGEAKIN, N., SRIDULYAKUL, P., JARIYAPONGSKUL, A., FUTRAKUL, N., BUNNAG, S. (2006). Combined effects of curcumin and vitamin C to protect endothelial dysfunction in the iris tissue of STZ-induced diabetic rats. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*, **35(4)**: 481-489.
- PEREY, B., CLERMONT, Y., LEBLOND, C. (1961). The wave of the seminiferous epithelium in the rat. *American Journal of Anatomy*, **108**: 47-77.
- PEREZ-ARRIAGA, L., MENDOZA-MAGANA, M.L., CORTES-ZARATE, R., CORONA-RIVERA, A., BOBADILLA-MORALES, L., TROYO-SANROMÁN, R., RAMÍREZ-HERRERA, M.A. (2006). Cytotoxic effect of curcumin on *Giardia lamblia* trophozoites. *Acta Tropica*, **98(2)**: 152-161.
- PIPER, J.T., SINGHAL, S.S., SALAMEH, M.S., TORMAN, R.T., AWASTHI, Y.C., AWASTHI, S. (1998). Mechanisms of anticarcinogenic properties of curcumin: the effect of curcumin on glutathione linked detoxification enzymes in rat liver. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **30**: 445-456.
- RADHAKRISHNA PILLAI, G., SRIVASTAVA, A.S., HASSANEIN, T.I., CHAUHAN, D.P., CARRIER, E. (2004). Induction of apoptosis in human lung cancer cells by curcumin. *Cancer Letters*, **208(2)**: 163-170.
- RADULESCU, R.T., BOENISCH T. (2007). Blocking endogenous peroxidases: a cautionary note for immunohistochemistry. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, **11**: 1419.
- RAMSEWAK, R.S., DEWITT, D.L., NAIR, M.G. (2000). Cytotoxicity, antioxidant and anti-inflammatory activities of curcumins III from *Curcuma longa*. *Phytomedicine*, **7(4)**: 303-308.

- REGADERA, J., MARTINEZ-GARCIA, F., LEZ-PERAMATO, P.G., SERRANO, A., NISTAL, M., SUAREZ-QUIAN, C.A. (2001). Androgen Receptor Expression in Sertoli Cells as a Function of Seminiferous Tubule Maturation in the Human Cryptorchid Testis. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **86**: 413-421.
- RUIZVELD DE WINTER, J.A., TRAPMAN, J., VERMEY, M., MULDER, E., ZEGERS, N.D., VAN DER KWAST, T.H. (1991). Androgen receptor expression in human tissues: an immunohistochemical study. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, **39(7)**: 927-936.
- SAHIN, B., EMIRZEOGLU, M., UZUN, A., INCESU, L., BEK, Y., BILGIC, S., KAPLAN, S. (2003). Unbiased estimation of liver volume by the Cavalieri principle using magnetic resonance images. *European Journal of Radiology*, **47**: 164 – 170.
- SAITO, K., TOMIGAHARA, Y., OHE, N., ISOBE, N., NAKATSUKA, I., KANEKO, H. (2000). Lack of significant estrogenic or antiestrogenic activity of pyrethroid insecticides in three in vitro assays based on classic estrogen receptor alpha-mediated mechanisms. *Toxicological Sciences*, **57(1)**: 54-60.
- SANBORN, B.M., STEINBERGER, A., MEISTRICH, M.L., STEINBERGER, E. (1975). Androgen binding sites in testis cell fractions as measured by a nuclear exchange assay. *Journal of Steroid Biochemistry*, **6(11-12)**: 1459-1465.
- SANGHA, G.K., KAUR, K., KHERA, K.S., SINGH, B. (2011). Toxicological effects of cypermethrin on female albino rats. *Toxicology International*, **18(1)**: 5-8.
- SANKAR, P., TELANG, A.G., MANIMARAN, A. (2010). Curcumin protects against cypermethrin-induced genotoxicity in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, **30(3)**: 289–291.
- SANKAR, P., TELANG, A.G., MANIMARAN, A. (2012). Protective effect of curcumin on cypermethrin-induced oxidative stress in Wistar rats. *Experimental and Toxicologic Pathology*, **64(5)**: 487-493.
- SAR, M., LUBAHN, D.B., FRENCH, F.S., WILSON, E.M. (1990). Immunohistochemical localization of androgen receptor in rat and human tissues. *Endocrinology*, **127(6)**: 3180- 3186.
- SATOH, M. (1985). The histogenesis of the gonad in rat embryos. *Journal of Anatomy*, **143**: 17–37.

- SCARTEZZINI, P., SPERONI, E. (2000). Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity. *Journal of Ethnopharmacology*, **71(1-2)**: 23-43.
- SCHACHT, V., KERN, J.S. (2015). Basics of immunohistochemistry. *Journal of Investigative Dermatology*, **135(3)**: 1-4.
- SCHMIDT, K.T., FIGG, W.D. (2016). The potential role of curcumin in prostate cancer: the importance of optimizing pharmacokinetics in clinical studies. *Translational Cancer Research*, **5(6)**: 1107-1110.
- SHAKOORI, A.R., ALI, S.S., SALEEM, M.A. (1988). Effects of six months feeding of cypermethrin on the blood and liver of albino rats. *Journal of Biochemical Toxicology*, **3**: 59-71.
- SHAN, L.X., BARDIN, C.W., HARDY, M.P. (1997). Immunohistochemical analysis of androgen effects on androgen receptor expression in developing Leydig and Sertoli cells. *Endocrinology*, **138**: 1259-1266.
- SHARMA, O.P. (1976). Antioxidant activity of curcumin and related compounds. *Biochemical Pharmacology*, **25**: 1811-1812.
- SHARMA, P., SINGH, R. (2010). Protective role of curcumin on lindane induced reproductive toxicity in male Wistar rats. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, **84(4)**: 378-384.
- SHARMA, P., ASLAM KHAN, I., SINGH, R. (2018). Curcumin and Quercetin Ameliorated Cypermethrin and Deltamethrin-Induced Reproductive System Impairment in Male Wistar Rats by Upregulating The Activity of Pituitary-Gonadal Hormones and Steroidogenic Enzymes. *International Journal of Fertility & Sterility*, **12(1)**: 72-80.
- SHI, S.R., KEY, M.E., KALRA, K.L. (1991). Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: Enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, **39**: 741-748.
- SIMEUNOVIC, B., STRBENE, M., BAVDEK, S.V. (2000). Position and histological structure of the testes in the brown hare (*Lepus europaeus*) during seasonal regression and recrudescence. *Anatomy Histology Embryology*, **29**: 73-82.

- SODERLUND, D.M., CLARK, J.M., SHEETS, L.P., MULLIN, L.S., PICIRILLO, V.J., SARGENT, D., STEVENS, J.T., WEINER, M.L. (2002). Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. *Toxicology*, **171(1)**: 3–59.
- STEFANOVIC, D., STEFANOVIC, M, NIKIN, Z. (2013). Romanowsky-Giemsa as a counterstain for immunohistochemistry: optimizing a traditional reagent. *Biotechnic & Histochemistry*, **88**: 329-335.
- SUAREZ-QUIAN, C.A., MARTINEZ-GARCIA, F., NISTAL, M., REGADERA, J. (1999). Androgen Receptor Distribution in Adult Human Testis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **84**: 350-358.
- SUDJARWO, S.A., SUDJARWO, G.W., KOERNIASARI. (2017). Protective effect of curcumin on lead acetate-induced testicular toxicity in Wistar rats. *Research in Pharmaceutical Sciences*, **12(5)**: 381-390.
- ŞAHİNTÜRK, V., GÜÇLÜ, C., BAYÇU, C. (2007). Protective effects of vitamin E on ethane dimethane sulfonate-induced testicular toxicity in rats. *Asian Journal of Andrology*, **9(1)**: 117–124.
- TAKEDA, H., CHODAK, G., MUTCHNIK, S., NAKAMOTO, T., CHANG, C. (1990). Immunohistochemical localization of androgen receptors with mono-and polyclonal antibodies to androgen receptor. *Journal of Endocrinology*, **126(1)**: 17-25.
- TAYLOR, C.R., COTE, R.J. (1994). Immunomicroscopy: a diagnostic tool for surgical pathologist. In: ed. Major Problems in Pathology. Nova Iorque: WB Saunders.
- TAYLOR, C.R., SHI, S.R., BARR, N.J., WU, N. (2006). Techniques of Immunohistochemistry: principles, pitfalls and standardization, In Dabbs D. diagnostic immunohistochemistry, second edition, Churchill Livingstone, Elsevier.
- TSUI, K.H., FENG, T.H., LIN, C.M., CHANG, P.L., JUANG, H.H. (2008). Curcumin Blocks the Activation of Androgen and Interlukin-6 on Prostate-Specific Antigen Expression in Human Prostatic Carcinoma Cells. *Journal of Andrology*, **29(6)**: 661-668.
- TSUNENARI, I, KAST, A. (1992). Developmental and regressive changes in the testes of the Himalayan rabbit. *Laboratuary Animals*, **26**: 167-179.

- TUT, T.G., GHADESSY, F.J., TRIFIRO, M. A., PINSKY, L., YONG, E.L. (1997). Long Polyglutamine Tracts in the Androgen Receptor Are Associated with Reduced Trans-Activation, Impaired Sperm Production, and Male Infertility. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **82(11)**: 3777-3782.
- UNNIKRISHNAN, M.K., RAO, M.N.A. (1995). Curcumin inhibits nitrogen dioxide induced oxidation of hemoglobin. *Molecular and Cellular Biochemistry*, **146(1)**: 35–37.
- ÜNAL, B., CANAN, S., ASLAN, H., ŞAHİN, B., ÇATALOLUK, O., KAPLAN, S. (2002). Doku örneklerindeki objelerin sayılarının hesaplanmasında tarafsız stereolojik metodlar: Fiziksel Disektör. *Tıp Bilimleri Dergisi*, **22**: 15 – 24.
- VAN ROIJEN, J.H., VAN ASSEN, S., VAN DER KWAS, T.H., DE ROOIJ, D.G., BOERSMA, W.J., VREEBURG, J.T., WEBER, R.F. (1995). Androgen receptor immunoeexpression in the testes of subfertile men. *Journal of Andrology*, 16(5): 510-516.
- VENKATESAN, N., PUNITHAVATHI, D., ARUMUGAM, V. (2000). Curcumin prevents adriamycin nephrotoxicity in rats. *British Journal of Pharmacology*, **129(2)**: 231–234.
- VERMA, S.P., GOLDIN, B.R., LIN, P.S. (1998). The inhibition of the estrogenic effects of pesticides and environmental chemicals by curcumin and isoflavonoids. *Environmental Health Perspectives*, **106(12)**: 807-812.
- VORNBERGER, W., PRINS, G., MUSTO, N.A., SUAREZ-QUIAN, C.A. (1994). Androgen receptor distribution in rat testis: new implantations for androgen regulation of spermatogenesis. *Endocrinology*, **134(5)**: 2307-2316.
- WALKER, R.A. (2006). Quantification of immunohistochemistry—issues concerning methods, utility and semiquantitative assessment I. *Histopathology*, **49(4)**: 406–410.
- WANG, H., WANG, Q., ZHAO, X.F., LIU, P., MENG, X.H., YU, T., JI, Y.L., ZHANG, H., ZHANG, C., ZHANG, Y., XU, D.X. (2010). Cypermethrin exposure during puberty disrupts testosterone synthesis via downregulating StAR in mouse testes. *Archives of Toxicology*, **84(1)**: 53-61.

- WANG, H., WANG, S.F., NING, H., JI, Y.L., ZHANG, C., ZHANG, Y., YU, T., MA, X.H., ZHAO, X.F., WANG, Q., LIU, P., MENG, X.H., XU, D.X. (2011). Maternal cypermethrin exposure during lactation impairs testicular development and spermatogenesis in male mouse offspring. *Environmental Toxicology*, **26(4)**: 382-394.
- WENSING, C.J.G. (1986). Testicular Descent in the Rat and a Comparison of This Process in the Rat With That in the Pig. *The Anatomical Record*, **214**: 154-160.
- WERNER, M., CHOTT, A., FABIANO, A., BATTIFORA, H. (2000). Effect of formalin tissue fixation and processing on immunohistochemistry. *The American Journal of Surgical Pathology*, **24**: 1016–1019.
- WHEATER, P.R., BURKITT, H.G, DANIELS, V.G. (1987). *Functional Histology*. Edinburgh London Melbourne and New York. 329-336.
- WITKOWSKA, D., OLEDZKA, R., SEDROWICZ, L. (1991). Studies on the combined effect of pesticide mixtures belonging to different chemical groups on calcium absorption in rat intestine. Part II. Chlorfenvinphos and cypermethrin. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, **42(4)**: 431-436.
- WOLANSKY, M.J., HARRILL, J.A. (2008). Neurobehavioral toxicology of pyrethroid insecticides in adult animals: A critical review. *Neurotoxicology and Teratology*, **30(2)**: 55–78.
- WRIGHT, W.W., FRANKEL, A.I. (1980). An androgen receptor in the nuclei of late spermatids in testes of male rats. *Endocrinology*, **107**: 314-318.
- YAMAN, K. (1993). *Fizyoloji*. Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa.
- YAVUZ ERDOĞAN, B. (2010). Samsun’da Yaygın Olarak Kullanılan Pestisitlerin Sağlığa ve Çevreye Etkileri. *Alinteri Journal of Agricultural Sciences*, **19 (2)**: 28-35.
- YOUNG, I.S., WOODSIDE, J.V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, **54(3)**: 176–186.
- YOUSEF, M.I., OMAR ,S.A., EL-GUENDI, M.I., ABDELMEGID, L.A. (2010). Potential protective effects of quercetin and curcumin on paracetamol-induced histological changes, oxidative stress, impaired liver and kidney functions and haematotoxicity in rat. *Food and Chemical Toxicology*, **48(11)**: 3246-3261.

- YULUĞ, E., TÜREDİ, S., KAHRAMAN, C. (2013). Effect of resveratrol on methotrexate induced testicular damage in rats. *Scientific World Journal*, **2013**: 1-6.
- YU-TAO, T., ZHAO-WEI, L., YANG, Y., TAO, Z. AND ZHUO, Y.(2008). Effects of alpha- and theta cypermethrin insecticide on transient outward potassium current in rat hippocampal CA3 neurons. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **90(1)**: 1-7.
- YÜCEL, Ü. (2007). Pestisitlerin insan ve çevre üzerine etkileri. Erişim: [<http://www.dogainsanisbirligidernegi.org.tr/makaleler/pestisitler.doc>] Erişim Tarihi: 12.06.2018.
- ZHANG, C., YEH, S., CHEN, Y., WU, C., CHUANG, K., LIN, H., WANG, R., CHANG, Y., MENDIS-HANDAGAMA, C., HU, L., LARDY, H., CHANG, C. (2006). Oligozoospermia with normal fertility in male mice lacking the androgen receptor in testis peritubular myoid cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **103(47)**: 17718-17723.
- ZHOU, X., KUDO, A., KAWAKAMI, H., HIRANO, H. (1996). Immunohistochemical localization of androgen receptor in mouse testicular germ cells during fetal and postnatal development. *The Anatomical Record*, **245(3)**: 509-518.
- ZHU, L.J., HARDY, M.P., INIGO, I.V., HUHTANIEMI, I., BARDIN, C.W., MOO-YOUNG, A.J. (2000). Effects of androgen on androgen receptor expression in rat testicular and epididymal cells: a quantitative immunohistochemical study. *Biology of Reproduction*, **63(2)**: 368-376.
- ZHU, W., CROMIE, M.M., CAI, Q., LV, T., SINGH, K., GAO, W. (2014). Curcumin and vitamin E protect against adverse effects of benzo[a]pyrene in lung epithelial cells. *PLoS One*, **9(3)**: e92992. doi: 10.1371/journal.pone.0092992.