



**MİRİSETİNİN PERİPUBERTAL DÖNEMDEKİ ERKEK  
SIÇANLARDA TİROİD GONADAL EKSEN ÜZERİNE  
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**INVESTIGATION OF EFFECTS OF MYRICETIN ON  
THYROID GONADAL AXIS OF MALE RATS AT  
PREPUBERTAL PERIOD**

**ASLI OKAN**

**Prof. Dr. NURHAYAT BARLAS**

**Tez Danışmanı**

Hacettepe Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin  
Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
olarak hazırlanmıştır.

2014

**ASLI OKAN'** ın hazırladığı "**Mirisetin Peripubertal Dönemdeki Erkek Sıçanlarda Tiroid Gonadal Eksen Üzerine Etkilerinin Araştırılması**" adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **BİYOLOJİ ANABİLİM DALI'** nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

(Ünvanı, Ad ve Soyadı)

Başkan

Prof. Dr. Nurhayat BARLAS

Danışman

(Ünvanı, Ad ve Soyadı)

Üye

(Ünvanı, Ad ve Soyadı)

Üye

(Ünvanı, Ad ve Soyadı)

Üye

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

***Canım aileme...***

## ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

10/02/2014

ASLI OKAN

## ÖZET

# MİRİSETİNİN PERİPUBERTAL DÖNEMDEKİ ERKEK SIÇANLARDA TİROİD GONADAL EKSEN ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

**Aslı OKAN**

**Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nurhayat BARLAS**

**Ocak 2014, 81 sayfa**

Bu çalışmada, sebze ve meyvelerde yaygın bulunan bir flavonoid mirisetinin östrojenik etkisi, 17 $\beta$  östradiyol ile karşılaştırılarak jüvenil/peripubertal erkek sıçanlarda pubertal gelişim ve tiroid fonksiyon analizi yapılarak incelenmiştir. Bu amaçla mirisetin 30 gün süreyle 25 mg/kg/gün ve 50 mg/kg/gün dozlarında, gavaj yoluyla uygulanmıştır. Deney süresince sıçanlarda prepüsyal ayrımın (PPS) gerçekleştiği yaş ve vücut ağırlığı tespit edilmiştir. Deney süresi sonunda sıçanlardan alınan kan örneklerinde tam kan sayımı, serum örneklerinde alanin aminotransferaz (ALT), aspartat transaminaz (AST), üre- nitrojen (BUN), total protein, glikoz, laktat dehidrogenaz (LDH), kreatin ve albumin ile T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> ve TSH seviyeleri ölçülmüştür. Testis, epididimis, seminal vezikül, prostat ve tiroid dokularının ağırlıkları kaydedilmiş ve rölatif organ ağırlıkları hesaplanmıştır. Dokularda oluşabilecek histopatolojik etkiler ışık mikroskopunda incelenmiş ve değişik büyütme ile görüntülenmiştir. Mirisetin 25 mg/kg/gün doz gruplarında PPS'nin oluşumunda gecikme olduğu tespit edilmiştir. Mirisetin uygulanan gruplarda tiroid hormon seviyelerinde önemli bir farklılık görünmezken, tiroid bezinde kolloidal ve foliküler dejenerasyon gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, sıçanlara peripubertal dönemden pubertal döneme kadar oral gavajla verilen mirisetinin gonad gelişimi üzerine olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Mirisetin, Sıçan, Prepüsyal Ayrılma, Tiroid, Hormon.

## **ABSTRACT**

### **INVESTIGATION OF EFFECTS OF MYRICETIN ON THYROID GONADAL AXIS OF MALE RATS AT PREPUBERTAL PERIOD**

**Aslı OKAN**

**Master of Science, Department of Biology**

**Supervisor: Prof. Dr. Nurhayat BARLAS**

**January 2014, 81 pages**

In the present study, we investigated the estrogenic effects of myricetin, which is a flavonoid that is prevalently found in widespread among plants, comparing with  $17\beta$  estradiol via "Pubertal development and thyroid function in intact juvenile/peripubertal male rats" assay. For this purpose, myricetin was administered at 25 mg/kg/day and 50 mg/kg/day dose levels by gavage for 30 days. During the experiment, the day of preputial separation (PPS) and the body weights on the day of PPS were determined in rats. At the end of the experiment period blood samples were taken and whole blood count performed while T3, TSH and T4 hormone levels and alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), blood urea nitrogen (BUN), total protein, albumine, creatinine, lactate dehydrogenase (LDH) and glucose levels were determined in serum samples. Testis, epididymes, seminal vesicle, prostate and thyroid were dissected and tissue weights were recorded and then relative organ weights were calculated. In tissues were investigated potential histopathologic findings and monitorized in different magnifications by the Leica light microscopy. We determined that occurrence of preputial separation (PPS) was delayed in the 25 mg/kg myricetin dose groups. In hormone analysis, while the levels of thyroid hormones weren't found any differences in rats treated with myricetin, colloidal and follicular degeneration was observed in thyroid gland. The result of this study demonstrate that orally gavaged myricetin causes adverse effects on development of male gonad.

**Keywords:** Myricetin, Rat, Preputial Separation, Thyroid, Hormone.

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarımı yönlendiren, bilgi ve önerileri ile bana yardımcı olan çok değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Nurhayat BARLAS' a,

Tezimin son halini almasında önerileri ile beni yönlendiren jüri üyelerine,

Her türlü desteği ile hep yanımda olan, canım arkadaşlarım Eylül TURASAN, Elnaz YOUSEFI, Ayla BATU, Aslı KARTAL' a,

Yüksek lisans eğitimim boyunca akademik hayata beni teşvik eden ve yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen başta Araş. Gör. Gözde KARABULUT olmak üzere tüm Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ve Yardımcılarına,

Tez yazım süresince gerek bilimsel gerek de insani katkıları ile yanımda olan halen görev yapmakta olduğum Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyeleri ve Yardımcılarına,

Her şeyden önemlisi çalışmalarım süresince büyük bir özveri ile beni destekleyen ve her zaman yanımda olan çok sevgili ailem ve nişanlım Can Uğur OFLAMAZ' a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Aslı OKAN

Ankara, Şubat 2014



# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET .....	i
ABSTRACT .....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Endokrin Bozucular.....	2
1.2. Endokrin Bozucuların Etki Mekanizmaları.....	4
1.3. Doğal Östrojenler.....	5
1.4. Çevresel Östrojenler .....	6
1.4.1. Sentetik Kimyasal Östrojenik Bileşikler.....	6
1.4.2. Fitoöstrojenler.....	6
1.4.2.1. Fitoöstrojenlerin Yapıları ve Sınıflandırılmaları.....	7
1.4.2.2. Fitoöstrojenlerin Etki Mekanizmaları.....	8
1.4.2.3. Fitoöstrojenlerin Metabolizması.....	10
1.4.2.4. Fitoöstrojenlerin Olası Yararlı Etkileri.....	10
1.4.2.5. Fitoöstrojenlerin Olası Zararlı Etkileri.....	11
1.4.3. Mirisetin (3,3',4',5,5',7- heksahidroksiflavon).....	11
1.5. Erkek Üreme Sistemi .....	14
1.5.1. Testis.....	15
1.5.1.1. Sertoli Hücreler.....	15
1.5.1.2. Leydig (İnterstisyel) Hücreleri.....	16
1.5.1.3. Kan- Testis Bariyeri.....	16
1.5.2. Boşaltım Kanalları.....	17
1.5.3. Yardımcı Genital Bezler.....	17

1.5.3.1. Seminal Veziküller.....	17
1.5.3.2. Prostat Bezi.....	18
1.5.3.3. Bulboüreatral Bezler (Cowper Bezleri).....	18
1.5.4. Penis.....	18
1.6. Tiroid Bezi.....	18
1.6.1. Tiroid Hormonlarının Oluşumu.....	19
1.6.2. Tiroid Hormonlarının Salınması.....	19
2. GEREÇ ve YÖNTEM.....	21
2.1. Gereç .....	21
2.1.1. Kimyasallar.....	21
2.1.2. Deney Hayvanlarının Temini.....	21
2.1.3. Laboratuvar Koşulları.....	21
2.2. Yöntem .....	23
2.2.1. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması.....	23
2.2.2. Prepüsyal Ayrımın (PPS) Gerçekleştiği Yaş ve Vücut Ağırlığının Belirlenmesi.....	24
2.2.3. Histopatolojik İncelemeler.....	24
2.2.4. Kan ve Serum Analizleri.....	24
2.2.5. İstatistiksel Değerlendirme.....	25
3. BULGULAR.....	26
3.1. Vücut Ağırlıkları, Organ Ağırlıkları, Besin ve Su Tüketim Sonuçları.....	26
3.2. Prepüsyal Ayrımın (PPS) Gerçekleştiği Yaş ve Vücut Ağırlığı .....	31
3.3. Hormon Analizi Sonuçları .....	33
3.4. Biyokimyasal Analiz Sonuçları .....	35
3.5. Tam Kan Analiz Sonuçları .....	36
3.6. Histopatolojik Bulgular .....	37

4. TARTIŞMA/SONUÇ.....	60
KAYNAKLAR.....	71

# 1. GİRİŞ

Son zamanlarda endokrin bozucu kimyasalların insan sağlığını ciddi ölçüde tehdit ettiği yönünde çok sayıda bilimsel veri elde edilmiştir. Endokrin Derneği'nin ilk bilimsel açıklamasına göre hayvan modelleri, insan klinik gözlemleri ve epidemiyolojik çalışmalar; endokrin bozucuların erkek ve kadın üreme sisteminde, meme ve prostat kanserinde, tiroid dokusunda, metabolizma ve obezitede, kardiyovasküler endokrinolojide etkili olduğunu kanıtlamıştır [1].

Endokrin bozucuların çoğu hava, su ve toprak gibi çevresel alanlarda birikmekte ve bitkisel, hayvansal kaynaklı yiyeceklerde bulunabilmektedir. Farmasötiklerdeki sentetik hormonlar, yiyeceklerdeki pestisit, temizlik ürünlerindeki solventler, besin ambalajlarındaki Bisfenol A, deterjanlar insanların gün boyu maruz kaldıkları endokrin bozuculardır [2].

Son yıllarda bozulmuş üreme başarısı ile bu çevresel etmenler arasındaki ilişkiyi değerlendiren çok sayıda çalışma yapılmış ve halen de yapılmaktadır. Hayat standartları, çevresel ve mesleki etmenler erkek üremesini bozmaktadır [2]. Özellikle gelişimin hassas olduğu dönemlerdeki maruziyet geri dönüşümsüz ve gecikmiş etkilere neden olabilmektedir [3]. Hayvan çalışmalarından elde edilen verilere göre androjenik ve östrojenik özelliğe sahip bileşikler testiküler tümörlerde artış, sperm sayısında azalma, kriptorşidizm, hipospadias gibi rahatsızlıklara yol açabilmektedir [2].

Uygun doz, zamanlama ve devam süresine bağlı olarak yararlı ya da  $\alpha$  ve  $\beta$  östrojen reseptörlerine zayıf bağlanarak östrojenik ve androjenik etkilere neden olabilen endokrin bozucuların diğer bir grubu da fitoöstrojenlerdir. Kanserden koruduğu gerekçesiyle reçetesiz olarak satılan fitoöstrojenik besin takviyelerinin erkeklerde sperm kalitesini düşürdüğu ve bazı hayvanlarda ise üreme sistemi hastalıklarına ve bozulmuş fertiliteye yol açtığı bulunmuştur [4]. Gelişimin kritik dönemlerinde yüksek dozlarda fitoöstrojenle beslenen erkek sıçanlarda serum testosteron, östradiol değerlerinde ve prostat hücre proliferasyonunda artış gözlenirken, aynı miktarda fitoöstrojen tüketen dişi sıçanlarda yüksek östradiol değerleri, uzamış östrus döngüsü ve ovaryum ağırlıklarında artışa neden olmuştur [5].

Günlük yaşamda insanların besinlerinin bir parçası olan fitoöstrojenler izoflavonoidler, lignanlar, kümestanlar ve flavonoidler olarak dört sınıfta toplanmıştır. İzoflavonoid bileşikler diğer sınıflara göre daha çok çalışılmıştır. Soya ürünlerinde fazla miktarda bulunan genistein ve daidzein gibi izoflavonoid fitoöstrojenler küçük yaştaki çocuklar tarafından tüketildiğinde çocukların otoimmün tiroit hastalığına yakalanma risklerinin arttığı bulunmuştur [4]. İzoflavonların aksine flavonoidler (kuersetin, apigenin ve mirisetin) birçok meyve ve sebze de bulunmaktır [6]. Dolayısıyla izoflavonoidlerden daha çok tüketildiği düşünülmektedir. Bundan dolayı izoflavonoidlerin yol açtığı bir takım rahatsızlıkları flavonoidlerde yapabilmektedir. *In vivo* ve *in vitro* çalışmalar flavonoid tüketiminin tiroid hormonlarının hedef organlara ulaşılabilirliğini etkilediğini ve tiroit hormon sentezini değiştirebildiğini göstermektedir [7].

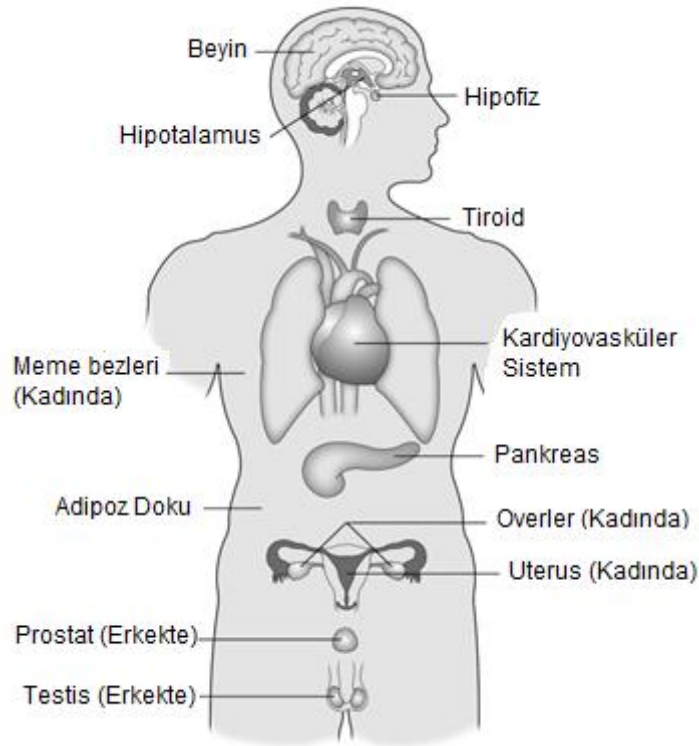
Bu çalışmada, peripubertal dönemdeki erkek sıçanlara pubertal döneme kadar bir flavonoid olan mirisetin uygulanmış ve bu maruziyetin sıçanların tiroit ve gonadal gelişimi üzerinde oluşturabileceği östrojenik etkilerin incelenmesi amaçlanmıştır.

### **1.1. Endokrin Bozucular**

Dünya Sağlık Örgütü endokrin bozucuları şöyle tanımlamaktadır: 'Sağlıklı bir organizmada veya onun gelecekteki neslinde endokrin sistemin çalışmasını değiştirerek, sağlık sorunlarına neden olan dışarıdan alınan madde veya madde karışımlarıdır' [3].

Endokrin bozucu kavramı ilk olarak, bazı çevresel kimyasalların eşey hormonları olan östrojen ve androjenleri taklit edebildikleri gözlemlendikten sonra ortaya çıkmıştır. Daha sonra endokrin bozulmanın endokrin sistemin bezleri ve bunların spesifik reseptörleri, transport proteinleri ve ilişkili enzimleri tarafından kan dolaşımına salgılanan diğer birçok hormonu da kapsadığı bulunmuştur. Endokrin bozucu kimyasalların insanda etkilediği hedef organlar Şekil 1. 1' de gösterilmiştir. Endokrin bezler hipofiz, tirod, paratiroid, böbrek üstü bezleri, pankreas ile gonadları içermekte ve böbreğin bölümleri, karaciğer ve kalpte bu sisteme dahil edilebilmektedir. Bu organlar birbirleriyle sürekli iletişim içindedirler ve böylelikle endokrin eksenleri oluşturmaktadırlar. Bu oluşan endokrin eksenlerden hipotalamus- hipofiz- gonad (HPG) eksen, hipotalamus-

hipofiz- adrenal eksen (HPA) ve hipotalamus- hipofiz- tiroit (HPT) eksen en önemlileridir [3].



**Şekil 1. 1.** Endokrin bozucu kimyasalların insanda etkilediği hedef organlar [1]

ABD Çevre Koruma Teşkilatı (EPA) tarafından endokrin bozucu bileşik 'Homeostazis, üreme ve gelişimsel süreçten sorumlu olan hormonların üretim, salınım, taşıma, bağlanma, yıkım ve vücuttan atılmalarına müdahale eden bir ekzojen ajan' olarak tanımlanmıştır [1]. Bu teşkilat Endokrin Bozucu Görüntüleme ve Test Etme Danışma Komitesini (EDSTAC) kurmuştur. Bu görüntüleme dizisi, HPG ve HPT eksenleri tarafından kontrol edilen üreme ve gelişim süreçlerindeki değişiklikleri tespit edebilmek için tasarlanmıştır. Deneyin 1. aşamasında (Tier 1) olumlu bir bulgu çıkarsa, incelenen maddenin olası bir endokrin bozucu olduğu kanaatine varılır ve daha kapsamlı bir sonraki çalışmaya tabi tutulur (2. aşama, Tier 2) [3].

Endüstriyel çözücüler ve yağlar ve bunların yan ürünleri, poliklorlu bifeniller (PCB'ler), polibromlu bifeniller (PBB'ler), dioksinler, plastikler, bisfenol A (BPA), plastikleştiriciler (fitalatlar), pestisitler (methoksiklor, diklorodifeniltrikloroethan-

(DDT), fungusitler (vinklozin) ve farmasötik maddeler [dietilstilbestrol (DES)] sentetik endokrin bozucular olarak değerlendirilirken, insan ve hayvanların besinlerinde doğal olarak bulunan fitoöstrojenlerde (genistein, kumesterol gibi) endokrin bozucu bileşik gibi davranmaktadır [1].

Bu tür bileşiklere yaşamın kritik öneme sahip dönemlerinde maruz kalmak oldukça tehlikelidir. Örneğin, intrauterin, perinatal, juvenil ya da puberte gibi dönemlerde canlılar hormonal değişime ya da etkiye karşı daha hassastır [8]. Memeli ve diğer omurgalı hayvanların gelişim sırasında endokrin bozuculara maruz kalması sonucu hem erkek hem de dişi gonad gelişiminde değişim, sperm sayısında azalma ve eşeyssel davranışlarda bozukluk gözlenmiştir [9]. Bir endokrin bozucu, maruziyet zamanına bağlı olarak farklı etkiler gösterebilmektedir. Örneğin farklı gelişimsel dönemlerde dioksine maruziyet aynı etkilere yol açmamaktadır. Perinatal dönemde dioksine (TCDD) maruziyet semen kalitesini olumsuz yönde etkilerken, ergenlik döneminde tam tersi bir etki ortaya çıktığı halde ergin dönemde maruz kalındığında semen kalitesinde herhangi bir farklılık gözlenmemiştir [3].

## **1.2. Endokrin Bozucuların Etki Mekanizmaları**

Endokrin bozucular genellikle birden fazla mekanizma ile etki etmektedirler. Bir kısmı hem östrojenik hem de androjenik özellikte olabilir ya da yan ürüne metabolize olarak kendinden çok farklı özellikte bir bileşik meydana getirebilir. Östrojen agonisti olan DDT'nin androjen özellikte olan DDE (Dikloradifenildikloraetilen) 'ye metabolize olması buna bir örnek olarak verilebilir [10].

Endokrin bozulma; canlıda toksikantlardan etkilenebilen hormonların sentezi, taşınması, metabolize olması ve atılması sırasında meydana gelmektedir. Endokrin bozucular androjen veya östradiol, E<sub>2</sub> gibi steroidlerin seviyelerini değiştirerek, taklit ederek ve antagonize ederek etkilerini gösterirler. Eşeyssel farklılaşma, üreme hormonlarının doğal aktivitelerine bağlıdır. Androjenlerin varlığı erkek gelişimi için ne kadar önemliyse, bulunmayışı da dişi gelişimi için o kadar önemlidir. Androjen/östrojen oranında meydana gelen bir dengesizlik eşeyssel farklılaşmayı bozabilmektedir. Anti-androjenik ve östrojenik bileşikler

erkeklerde kısırlaştırma, dişileştirme eğilimindeyken, androjenik bileşikler dişilerde erkeksi özelliklerin ortaya çıkmasını sağlamaktadır [11].

### 1.3. Doğal Östrojenler

Yumurtalık ve testiste üretilmekte olan östrojenler üreme sisteminin yanı sıra vücutta pek çok biyolojik etkiye sahiplerdir. Östrojen reseptörleri sitoplazmada bulunur ve östrojen bağlandığında dimerleri oluştururlar. DNA' da dimerler östrojene cevap veren element (The estrogen response element- ERE) ile etkileşime girerek, östrojene cevap veren genlerin transkripsiyonunu düzenler. Östrojen reseptörlerinin çok azı hücre zarında yer alır ve östrojenin genomik olmayan etkilerinin gerçekleşmesine katkıda bulunur [12].

Bilinen iki tane östrojen reseptörü vardır, ER $\alpha$  ve ER $\beta$ . Her ikisinde normal yumurtalığa ait foliküler gelişiminde, vasküler endotel hücrelerde, miyokardiyal hücrelerde, düz kaslarda ve meme dokusunda işlev görürler. ER $\alpha$  erkeklerde ve kadınlarda kemik olgunlaşmasına dahil olmakla birlikte ER $\beta$  kadınlarda kemik devamlılığının sağlanmasında önemli rol oynamaktadır. ER $\alpha$  kandaki folikül stimüle edici hormon (FSH) ve lüteinize edici hormon (LH) konsantrasyonlarının devamlılığını sağlamada etkilidir. Vücutta baskın östrojen tipi 17 $\beta$ - östradiyoldür [13].

Doğal dişi eşey hormonu olan östrojen hücre içindeki protein reseptörlerine bağlanarak 'ligand-hormon reseptör kompleksi' ni oluşturur. Bu bağlanma hormon reseptörünü harekete geçirerek spesifik hücresel işlevler başlatır. Aktive olmuş hormon reseptörü de DNA' da spesifik genleri açar ve hücresel değişikliklere neden olur. Östrojenler dişi karakterlerin ortaya çıkmasında etkili rol oynar. Üreme döngüsü ve hamileliği kontrol eder aynı zamanda deri, kemik, kardiyovasküler sistem ve bağışıklık sisteminde etkilidir. Doğal hormonlar diğer sentetik östrojenlerden daha güçlüdür. Östrojen üretimi cinsiyete, yaşa ve üreme döngüsüne bağlıdır. Kadınlarda östrojen üretimi daha fazladır. Ayrıca fetal gelişim sırasında ürettikleri östrojen miktarı çok olmakla birlikte menopoz sonrası döneme girdiklerinde bu miktar azalmaktadır. Doğal östrojenlerin çoğu vücutta birikmez, kısa ömürlü olup karaciğerde kolayca yıkılırlar. Doğal östrojenlerin aksine  $\beta$ - heksaklorosikloheksan ( $\beta$ - HCH), poliklorlu bifeniller (PCB'ler) gibi sentetik çevresel östrojenler ve izoflavon, lignan gibi



fitoöstrojenler daha duranıdır ve doğal östrojenlerden daha uzun süre vücutta kalabilirler [14].

#### **1.4. Çevresel Östrojenler**

Çevresel östrojenler, hayvan ve insanda östrojen hormonu gibi hareket eden sentetik kimyasallardan ve doğal bitki bileşiklerinden oluşan bir gruptur. Bileşik reseptöre bağlandığında hormon sistemini çeşitli yollarla etkilemektedir:

- Normal hormonal cevap meydana getirebilir.
- Anormal bir cevaba neden olabilir ya da doğal hormonların bağlanmasını engelleyerek hiçbir cevap oluşturmaz.
- Diğer reseptörlere bağlanabilir ve alışılmıőın dışında bir reaksiyona yol açabilir.
- Endokrin cevapları düzenleyen doğal hormonların ve hormon reseptörlerinin üretimini ve atılımını deęiőtirebilir [14].

##### **1.4.1. Sentetik Kimyasal Östrojenik Bileşikler**

Çevremizde belli bir amaç için üretilmiş çok sayıda sentetik kimyasal madde bulunmaktadır. İnsektisit, herbisit, fungusit, nematosit, endüstriyel bileşikler, evsel temizlik ürünleri ve ağır metaller sentetik kimyasalların bir kısmını oluşturmaktadır.

##### **1.4.2. Fitoöstrojenler**

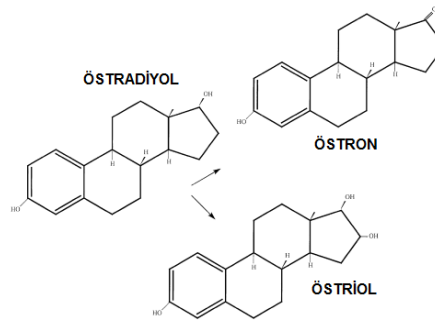
İlk olarak 1946 yılında bazı bitkisel kökenli bileşiklerin östrojenik etkilere yol açtığı farkedilmiştir. Kırmızı yonca (*Trifolium subterraneum*) ile beslenen koyunlarda gözlenen üreme bozukluğına yol açan bu bileşiğin izoflavon olduğu bulunmuştur [15].

İnsan ve hayvanlarda yapısal olarak benzer steroidal östrojenler bulunmaktadır. Östron, östradiyol ve östriyol bu yapılara örnektir (Şekil 1. 2). Buna karşın bazı bitkiler steroid olmayan fakat östrojenik etki gösterebilen bileşiklere sahiptirler [16].

Fitoöstrojenler bitkisel kaynaklı olup yapısal ve işlevsel olarak östradiole benzemektedir. Östradiole olan kimyasal yapı benzerliklerinden dolayı canlıda

bulunan çeşitli hücrelerdeki östrojen reseptörlerine bağlanarak östrojenik ya da antiöstrojenik etkilere neden olmaktadır [17].

Epidemiyolojik çalışmalar, fitoöstrojen tüketen toplumlarda (Japon) prostat kanseri, meme kanseri ve koroner kalp hastalığı gibi hormona bağlı oluşan hastalıklara yakalanma riskinin düşük olduğunu göstermektedir. Ancak bu bileşiklerin koruyucu mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Organizmada bulunan endojen östrojenin aktivitesini değiştirmek yoluyla asıl oluşacak hücresel cevabı bozabildikleri belirtilmektedir [18].



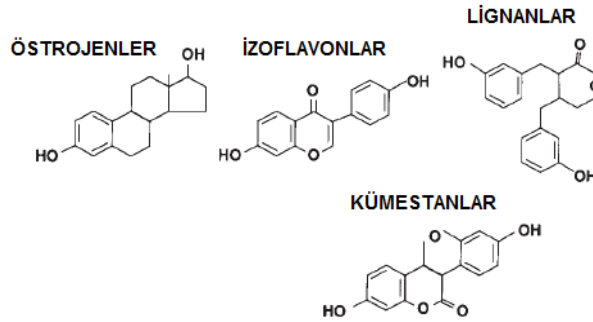
**Şekil 1. 2.** Steroidal yapıdaki doğal östrojen bileşikleri [14].

#### 1.4.2.1. Fitoöstrojenlerin Yapıları ve Sınıflandırılmaları

Fitoöstrojenler; steroid yapıda olmayan, bitkisel kaynaklı bileşiklerdir. Birkaç istisna olmakla beraber östrojen reseptörüne bağlanmak için ön koşul olan fenolik halka yapısına sahiplerdir. Böylelikle östrojen agonistleri ya da antagonistleri gibi hareket ederler [19].

Bu bileşikler izoflavonoidler, flavonoidler, kumestanlar ve lignanlar olmak üzere dört sınıfta toplanabilir [20]. Bu bileşiklerin kimyasal yapıları Şekil 1. 3' te gösterilmiştir. Tek bir bitki genellikle birden fazla fitoöstrojen sınıfını bünyesinde barındırabilir. Örneğin, soya fasulyesi izoflavonlarca zenginken soyanın filizi önemli bir kumestan olan kumestrol kaynağıdır [21]. Genistein ve daidzein en önemli izoflavonlardır. Bazı baklagillerde bulunan biyokanın A ve formononetin genistein ve daidzeine metabolize olur [22]. Polifenolik antioksidanlar olan

flavonoidler bitkilerin çoğunda görülmekle birlikte çeşitli sebze ve meyvelerde bulunmaktadır. Özellikle çay, elma, soğan, baklagiller, domates ve kırmızı şarapta bol miktardadır. Kümesterolün kaynakları alfafanın filizleri, kaba yonca, çayır otları, düşük miktarlarda fasülye ve bezelyedir [23]. Kümesterol dişi sıçanlara verildiğinde östrus döngüsünü baskıladığı, erkek yavru sıçanlara verildiğinde ise eşeyssel davranış bozukluğuna yol açtığı görülmüştür [24]. Memeli lignanları kendi başına yiyeceklerde bulunmaz. Bunların öncülleri olan bitki lignanları mide mikroflorası tarafından memeli lignanlarına dönüşür. Memeli lignanlarının öncülleri keten tohumu, ham tahıl ürünleri, çavdar gibi lif bakımından zengin yiyeceklerde bulunmaktadır [25].



**Şekil 1. 3.** Endojen östrojen ile çeşitli fitoöstrojen sınıflarının kimyasal yapısının karşılaştırılması [26].

#### 1.4.2.2. Fitoöstrojenlerin Etki Mekanizmaları

Fitoöstrojenlerin kimyasal yapısı steroidal östrojenlerden farklıdır. Fakat aynı yönde etki gösterirler. Steroidal olmayan bitkisel östrojenler kimyasal yapılarına ve biyolojik çevreye bağlı olarak östrojenik ya da antiöstrojenik etkide bulunurlar. Örnek olarak, östrojen seviyesi yüksek olan premenopozal kadınlarda fitoöstrojenler antiöstrojenik etki gösterir. Çünkü endojen östrojen ile fitoöstrojen reseptöre bağlanmak için yarışır ve reseptöre bağlanma afinitesi yüksek olan endojen östrojen reseptöre bağlanır. Endojen östrojeni düşük olan postmenopozal kadınlarda ise fitoöstrojenler östrojenik etki gösterirler. Bunun nedeni çevrede endojen östrojen az olduğu için fitoöstrojenler kadar bağlanamaz. Bu bitkisel östrojenler zayıf bağlansa bile çok fazla reseptöre bağlandıklarından östrojenik etki gösterirler [27].

Fitoöstrojenler, zayıf östrojen gibi hareket eder ve çekirdek içinde bulunan gen transkripsiyonunu düzenleyen östrojen reseptör proteinine bağlanmak için 17 $\beta$ -östradiol ile yarışır. Yapılan bir çalışmada, flavonoidlerden genistein, apigenin ve kaempferolün çeşitli dokularda bulunan  $\alpha$  ve  $\beta$  östrojen reseptörlerinin her ikisine birden bağlandıkları bulunmuştur. Özellikle  $\beta$  östrojen reseptörüne daha güçlü bağlandıkları gösterilmiştir [28]. Ayrıca daidzein ve genistein gibi izoflavonlar da  $\beta$ - östrojen reseptörüne daha güçlü bağlanırlar. Yumurtalık, uterus, beyin, mesane, testis, prostat ve karaciğer hücrelerinde  $\beta$ - östrojen reseptörü ifade edilmektedir [29].

Fitoöstrojenlerin etki mekanizmasını üç maddede özetleyebiliriz:

- 1) Östrojenik veya antiöstrojenik etkiyle sonuçlanan östrojen reseptör aracılı etkiler: Fitoöstrojenler genellikle endojen steroidal östrojenlerden daha zayıftır. Bu yüzden östrojen reseptörüne bağlanmak için yarıştıklarında fitoöstrojenler antiöstrojen gibi davranabilirler. Naringenin gibi bazı fitoöstrojenler antiöstrojenik davranırlar. Bu durum izoflavonlar veya küemestroller için söylenemez [30]. Kuiper ve arkadaşlarının 1997 yılında yaptıkları çalışmada bu fitoöstrojenlerin bağlanma afinitelerinin diğerlerine göre daha güçlü olduğu gösterilmiştir [29]. Genistein daha çok *in vivo* olarak çalışılmıştır. Dişi ve erkek deney hayvanlarında bu fitoöstrojenlerin östrojen benzeri etkileri olduğu ortaya konulmuştur. Genistein dişi farelerde uterin yaş ve kuru ağırlığında artışa yol açmış, overektomi yapılmış hayvanlarda meme bezi gerilemesini inhibe etmiştir [31]. Erkek farelere genistein yemle verildiğinde düşük prostat ağırlığı ve serum testosteron konsantrasyonunda azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir [32].
- 2) Steroid metabolize eden enzimlerle etkileşim ve steroid biyoyararlanımına etkileri: *In vitro* çalışmaların çoğu fitoöstrojenlerin östrojen ve androjen biyosentezindeki bazı önemli enzimleri (17 $\beta$  hidroksisteroid oksidoredüktaz tip 1 ve tip 2, aromataz, 5 $\alpha$ -redüktaz) inhibe ettiği yönündedir [33]. *In vivo* olarak bu aktiviteler kanıtlanmış olmamakla birlikte, fitoöstrojenlerin endojen östrojen ve androjenlerin biyoyararlılığını ve üretimini düzenlediği ve böylelikle bu hormonların

maruziyetini değiştirerek hormon veya antihormon benzeri aktivitelere yol açtığı sonucuna varılmıştır.

- 3) Diğer hormonal olmayan etkiler: *In vitro* koşullarda bazı fitoöstrojenlerin östrojenle ilişkili olmayan çeşitli etkileri olduğu ileri sürölmüştür. Tirozin kinaz inhibisyonu ve antioksidan aktivitesi bu etkilere örnek olarak verilebilir [35].

#### **1.4.2.3. Fitoöstrojenlerin Metabolizması**

İzoflavonlar glikozit olarak aktif olmayan formda bitkilerde bulunur. İzoflavon glikozitleri (genistin ve daidzin) barsaklarda bakteriyel  $\beta$ -glikozidazlar tarafından hidrolize edilir. Bunlar biyoaktif aglikonlara (genistein ve daidzein) dönüştürölür. Aglikonlar barsaktan emilir ve karaciğerde glukuronidlere konjuge olurlar. Bu bileşikler ya safra kanalıyla atılır ya da enterohepatik geri döngü tarafından tekrar emilir veya idrarla değişime uğramadan atılırlar. Kolonda genistein p-etilfenole metabolize olurken, daidzein dihidrodaidzeine veya O-desmetilangolensine metabolize olur. Bunlar insan ve hayvanın kanında ve idrarında çoğunlukla rastlanan önemli izoflavon metabolitleridir [36].

Bitki lignanları, izoflavonlar gibi, bakteriyel  $\beta$ -glikozidazlar tarafından barsak tarafından hidrolize uğrarlar. Östrojenik olmayan bitki lignan glikozitleri, materesinol ve secoisolariciresinol, kolonik bakteriler tarafından östrojenik olarak aktif enterolakton ve enterodiol gibi memeli lignan metabolitlerine dönüştürölür. Bu metabolitler rektumda emilir ve karaciğerde glukuronik asitle veya sülfatla konjüge edilir. Lignanlar konjüge formda safra ve idrar yoluyla atılırken, konjuge olmayan formu safra ve oradan dışkı ile atılır [36].

#### **1.4.2.4. Fitoöstrojenlerin Olası Yararlı Etkileri**

İnsan ve hayvanlarla yapılan epidemiyolojik çalışmalar fitokimyasalca zengin bitkisel besin tüketiminin insan sağlığına bir takım yararlı etkileri olduğunu göstermiştir. Bunlardan ilki menoz belirtilerine karşı koruyucu etkilerinin olmasıdır. Özellikle fitoöstrojen zengin yiyeceklerle beslenen kadınlarda menopozal sıcak basmalarında azalma [37], menstrüel siklus uzunluğunda artma [38] gözlenmiştir. Ayrıca fitoöstrojen tüketiminin, kadınları kardiyovasküler hastalıklardan ve meme kanserinden koruduğu bulunmuştur [39]. Erkekler

tarafından tüketildiklerinde ise prostat kanserine yakalanma riskini azalttığı tespit edilmiştir [40]. Bunun dışında osteoporoz (kemik erimesi), kalp- damar rahatsızlığı, kanser, hiperlipidemi [41], kronik böbrek rahatsızlığının çeşitli tipleri gibi daha birçok hastalığa karşı koruyucu etkilerinin olduğu ileri sürülmektedir [42]. Ayrıca yoğun fitoöstrojen içerikli ek besin takviye tüketiminin şeker hastalığı ve obeziteye iyi geldiği yönünde insan ve hayvan çalışmaları bulunmaktadır [36].

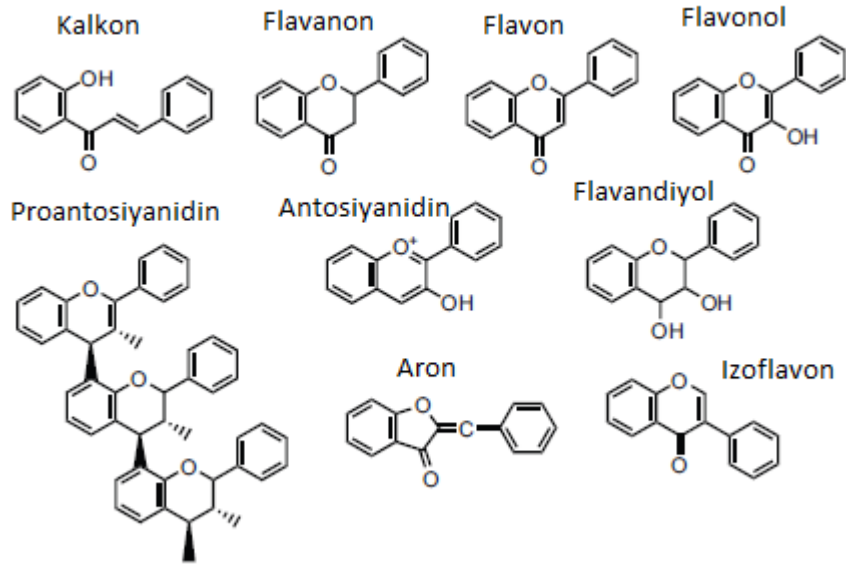
#### **1.4.2.5. Fitoöstrojenlerin Olası Zararlı Etkileri**

Yapılan çalışmalar sonucunda fitoöstrojenlerin (izoflavonlar ve kümesterol) gelişimin bazı aşamalarında hayvanlara uygulandığında ya da çok yüksek dozlarda verildiğinde bozulmuş fertilitateyle birlikte birçok üreme sistemi rahatsızlıklarına yola açtığı tespit edilmiştir [32]. Kuzey Amerika hayvanat bahçesinde barındırılan çitalarda, genistein ve daidzein içeren besin tüketimine bağlı üreme bozuklukları ve karaciğer hastalığı gözlenmiştir. Besin içeriği değiştirildiğinde ise bu rahatsızlıkların kaybolduğu görülmüştür [43].

Fitoöstrojen tüketimine bağlı insan sağlığının bozulduğuna dair henüz bir çalışma bulunmamaktadır. Fakat risk taşıyan iki grup vardır. Bunlar üreme sisteminin geliştiği kritik dönemlerde yüksek dozda soya sütü ile beslenen bebekler ve yüksek fitoöstrojen içerikli konsantre veya özüt şeklinde ek takviyeleri tüketen bireylerden oluşmaktadır. Genelde bu besin takviyeleri birçok ülkede menopoz sonrası hormon yerine koyma tedavilerinde doğal bir seçenek olarak satılmaktadır. Çoğunlukla bu ürünler yeterli klinik denemeler olmadan, faydalı ya da güvenli olduğuna dair henüz kesin bir kanıt yokken, içeriğinde hangi fitoöstrojenlerin olduğu ya da en uygun doz bilinmeden piyasaya sürülmektedir [22]. İlerleyen yaşlarda üreme sistemi rahatsızlıklarına, meme ya da prostat kanserine yol açıp açmayacağı konusunda uzun süreli *in vivo* bir çalışma bulunmamaktadır.

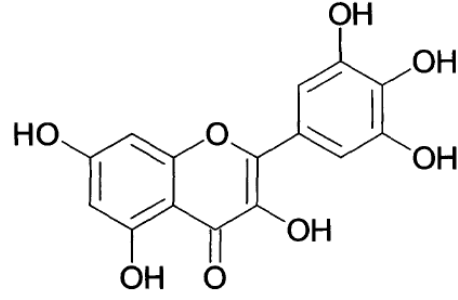
#### **1.4.3. Mirisetin (3,3',4',5,5',7- heksahidroksiflavon)**

Fitoöstrojenik bileşiklerden flavonoidler, kimyasal yapılarına göre 6 önemli alt grupta sınıflandırılırlar. Bunlar: kalkonlar, flavonlar, flavonoller, flavandiyoller, anthosiyeninler ve proanthosyanidinlerden oluşmaktadır. Bunlara ek olarak aron flavonoidi 7. grup olarak bazı türlerde tanımlanmıştır [44].



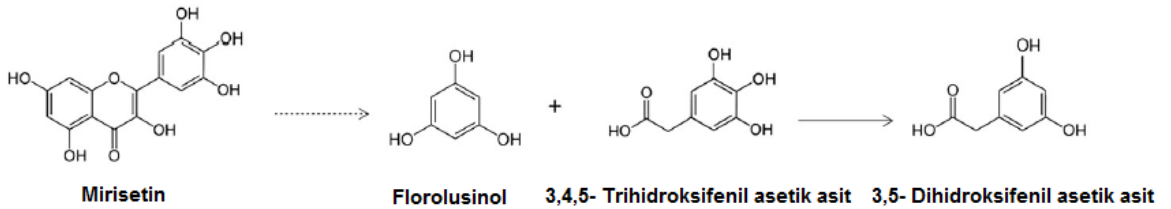
**Şekil 1. 4.** Flavonoid alt gruplarının kimyasal yapısı [44]

Flavonoidler antiviral, antiplatelet, antiinflamatuvar, antialerjik, antitümör ve antioksidan gibi pek çok aktiviteye sahiptir. Antioksidan özellikte, güçlü fizyolojik etkiye sahip flavonol alt grubu flavonoidlerin en önemli gruplarından [44]. Flavonol alt sınıfına ait olan mirisetin (Şekil 1. 5) daha çok dutsu meyvelerde, çayda, şarapta, sebzelerde, tıbbi bitkilerde bulunmaktadır [45]. Özellikle brokoli (62,5 mg/kg), kırmızı biber (171,5 mg/kg), taze fasulye (47,0 mg/kg), çin lahanası (31,0 mg/kg), sarımsak (693,0 mg/kg) gibi sebzelerde [47] ve kuş üzümü (71 mg/kg), yaban mersini (14-142 mg/kg), böğürtlen (23-26 mg/kg) gibi dutsu meyvelerde [48] ve siyah çayda (303.0 mg/kg) [47] bol miktarda bulunmaktadır.



**Şekil 1. 5.** Mirisetinin kimyasal yapısı [46]

Tüketildiğinde mirisetinin bir kısmı gastrointestinal sistemde absorbe edilmekte ve geriye kalan kısmı gastrointestinal mikrobiyotik tarafından metabolize edilmektedir. Emilimi gerçekleştiren mirisetinin metabolizmasından sorumlu olan organ başlıca karaciğerdir. Böbrek ve intestinal duvar metabolizmasından sorumlu ikincil organlardır [46]. Smith ve arkadaşları tarafından mirisetinin idrar ile atılan en önemli metaboliti 3,5- dihidroksifenilasetik asit olarak bulunmuştur (Şekil 1. 6) [49].



**Şekil 1. 6.** Mirisetinin metabolizma yolları [50]

Mirisetinin çeşitli tedavi edici özellikleri vardır. Bunlardan biri antioksidan olmalarıdır. Çevre kirliliği, ilaçlar, sigara, X- UV (fotokimyasal) ışınlar, sera etkisi gibi bir takım etkenler serbest radikal oluşumunu tetikler. Bu serbest radikaller hücrelere ve bağışıklık sistemine zarar veren moleküllerdir. Antioksidanlar ise bu serbest radikallerin zarar verici etkilerini engelleyerek çok sayıda hastalığa ve yaşlanmaya neden olabilecek zincir reaksiyonlarını önler [51]. Kuersetin,



mirisetin, kaemferol, katekin ve rutin gibi flavonoidlerin antioksidan etkilerine bakılmış ve bunlar içinde mirisetinin antioksidan aktivitesinin en yüksek olduğu gösterilmiştir. Mirisetinin diğerlerine göre fazla fenolik hidroksil grubu vardır. Flavonoidlerin fenolik hidroksil grup sayısındaki artışa bağlı olarak antioksidan aktivitelerinin arttığı kanıtlanmıştır [52]. Yapılan bir başka çalışmada, mirisetinin izole edilmiş insan lenfositlerinde X ışınları ve hidrojen peroksit ile başlatılan DNA hasarını azalttığı gösterilmiştir [53]. Roshan ve arkadaşları mirisetinin isoproterenol ile indüklenmiş kardiyotoksik etkileri engelleyecek potansiyele de sahip olduğunu göstermişlerdir [54].

Mirisetinin güçlü antikarsinojen ve antimutajen olduğu pek çok çalışmada gösterilmiştir [46]. Kang ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları çalışmada mirisetinin deri karsinogenesinde güçlü bir kemopreventif kimyasal olduğu kanıtlanmıştır [55]. Knekt ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada fazla miktarda mirisetin içeren yiyeceklerle beslenen erkeklerde prostat kanserine yakalanma riskinin düşük olduğu bulunmuştur [56].

Mirisetinin bakterisidal özelliği de bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada mirisetinin, birçok ilaca karşı direnç gösteren *Burkholderia cepacia*'nın, vankomisine dirençli enterokokların, *Klebsiella pneumoniae* ve *Staphylococcus epidermidis*' in gelişimini inhibe ettiği gösterilmiştir [57].

Mirisetin tüketimine bağlı bu yararlarından ötürü ek besin takviyesi adı altında tablet olarak satılmaktadır. Ancak bu tabletler ile ilgili kapsamlı, uzun süreli *in vivo* hayvan ve insan çalışması bulunmamaktadır. Yanlış dozda, sürede, dönemde kullanılmasına bağlı oluşturabileceği etkiler henüz bilinmemektedir. Bu çalışma, ileriki çalışmalara ışık tutmak açısından erkek sıçanlarda mirisetinin tiroit gelişimi ve hormonları üzerine olan etkileri ve üreme sistemi üzerine olan iyi ya da olumsuz etkileri ortaya çıkarmayı hedeflemiştir.

### **1.5. Erkek Üreme Sistemi**

Erkek üreme sistemi, bir çift testis, boşaltım kanalları, yardımcı bezler ve penisten oluşmuştur.

### 1.5.1. Testis

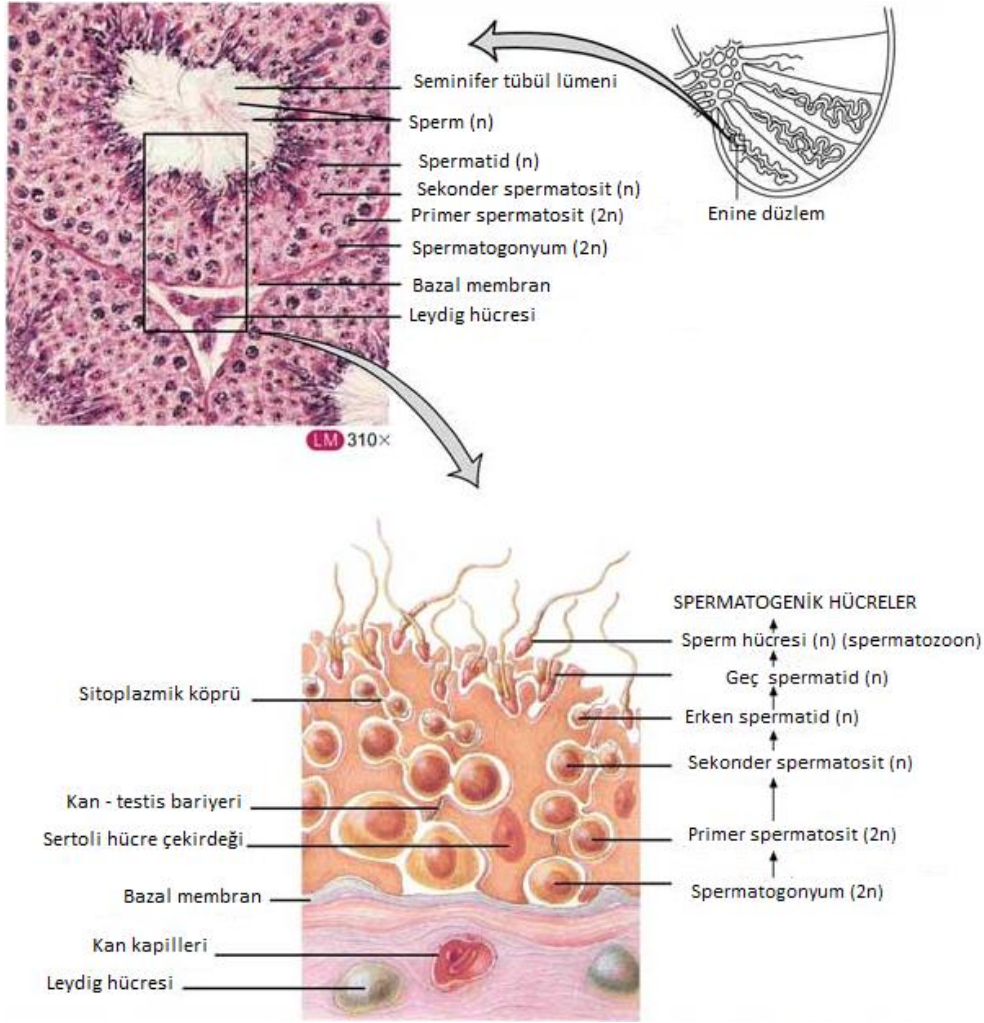
Bir çift testis, karın boşluğunun dışında skrotum içerisinde yerleşiktir. Burada testis sıcaklığı vücut ısısından 2°C- 3°C daha düşük olduğundan normal spermatogenezin (sperm üretimi) gerçekleşmesi için uygundur. Testisleri, tunika albugina denilen kalın bir kollejen bağ dokusu sarar. Tunika albugina testisin arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testisi oluşturur. Mediastinumdan testiküler kitleye doğru uzanan fibröz septumlar dokuyu yaklaşık 250 adet lopçuğa böler. Her bir lopçukta bir ila dört adet seminifer tübül yer alır [58].

Testisin iki önemli işlevi sperm üretimi ve testosteron sentezidir. Spermatogenik hücreler ve somatik sertoli hücrelerini içeren seminifer tübül, çok katlı epitel tabakasından meydana gelir. Seminifer tübüllerde spermatogenik hücreler bölünür, olgunlaşır ve sperm üretirler (Şekil 1. 7). Seminifer tübüller arası kan damarları, lenfatik damarlar, sinirler, kas benzeri hücreler, makrofajlar ve testosteron üreten interstisyel hücreler (Leydig hücreleri) ile doludur [59].

#### 1.5.1.1. Sertoli Hücreler

Sertoli hücrelerinin dört önemli fonksiyonu vardır:

1. Gelişmekte olan spermatidlerin fiziksel olarak desteklenmesini, korunması ve beslenmesini sağlamak.
2. Spermiyogenez sırasında oluşan artık sitoplazma parçacıklarını fagosite etmek.
3. Erkeklerde Müller kanallarının gerilemesini sağlayan ve dişi üreme organlarının gelişimini inhibe eden Anti- Müllerian Hormonun (Müllerian-inhibe edici hormon) üretimi ve salınımını sağlamak.
4. FSH ve testosteron kontrolü altında seminifer tübül içinde spermatogenezin gerçekleşmesi için gerekli olan testosteron yoğunlaşmasını sağlayan Androjen- bağlayıcı proteinin (ABP) üretimi ve salınımını sağlamak [61].



**Şekil 1. 7.** Testis ve seminifer tübülün enine kesit görünümü [60]

### 1.5.1.2. Leydig (İnterstisyel) Hücreleri

Leydig hücreleri, intertübüler alanda kan damarlarının ve lenfatik kanalların yakınında bulunmaktadır. Leydig hücrelerinin aktiviteleri ve miktarları hormonal uyarımlara bağlıdır. Puberteden sonra, leydig hücreleri lüteinleştirici hormon (LH) tarafından uyarılmanın ardından erkek cinsiyet hormonu olan testosteronu üretirler.

### 1.5.1.3. Kan- Testis Bariyeri

Sertoli hücrelerinin sitoplazmaları tıkalı sıkı bağlantılar ile birbirlerine kaynaşır ve kan ile seminifer tübüllerin iç bölgesi arasında bir bariyer oluşur. Spermatozoidal hücreler daha ileri aşamalarda sperme özgü proteinlerin ortaya çıkmasına yol açarlar ve böylelikle sperm hücreleri yabancı olarak algılanabilir. Bu durum germ hücrelerinin ölümüne sebep olabilecek immün cevaba neden

olabilir. Kan- testis bariyeri sayesinde gelişmekte olan spermilerin membran antijenlerinin kan dolaşımına girmesi engellenir ve böylelikle kişinin kendi spermine karşı otoimmün yanıt oluşturması ve antikör oluşumu sonucu spermatogenezin bozularak infertilitenin gerçekleşmesi engellenmiş olur. Buna ek olarak, kan testis bariyeri kandaki zararlı maddelerin gelişmekte olan germinal epitele geçişini önler [62].

### **1.5.2. Boşaltım Kanalları**

Henüz serbest bırakılmış spermiler tbli rekti' nin (düz tübüller) içinden geçerek rete testise taşındıktan sonra eferent kanalcıklara (duktili efferentes) girer. Efferent kanalcıklar rete testisi vas deferense doğru uzayan epididimis kanalının başlangıç parçasına bağlar. Tbli rektide, sertoli hücrelerinde de olan tıkayıcı bağlantılar apikal bölümdedir. Tek katlı kübik epitel ile döşelidir. Testisin mediastinumunda yer alır. Rete testis, testisin mediastinumu içinde bulunur. Kübik epitel ile döşelidir ve düzensiz anastomozlaşan kanallardan oluşmuştur. Rete testisten hareketsiz spermilerin sili hücreleri ile hareketini sağlayan 10-20 adet efferent kanalcıklar çıkar. Ayrıca silyasız kübik hücrelere de sahip olan efferent kanalcıklar seminifer tübüllerden salgılanan sıvının çoğunu absorbe ederler. Epididimise gelen spermiler burada döllenme yetenekleri için gerekli olan ileriye doğru hareket etme özelliğini kazanırlar. Epididimis kanalı baş (kaput), gövde (korpus) ve kuyruk (kauda) olmak üzere üç ana segmentten oluşur. Epididimis, sterosilyalı yalancı çok katlı prizmatik epitele sahiptir [62].

### **1.5.3. Yardımcı Genital Bezler**

Yardımcı reme bezleri, bir çift seminal vezikül, bir çift bulboretral bez ve bir adet prostat bezinden oluşur. Bu yapılar spermilerle karışan semen adı verilen sıvıyı üretirler.

#### **1.5.3.1. Seminal Veziküller**

Seminal veziküller mesanenin arkasında, prostat bezininin üzerinde yer alırlar. Seminal vezikülün epiteli tek katlı prizmatikten yalancı çok katlı epitele doğru değişir. Buradaki epitelyum hücrelerinin boyutu ve aktivitesi androjenlere bağlıdır. Seminal veziküllerden spermilerin enerji kaynağı olan fruktoz bakımından zengin viskz bir sıvı salgılanır.

### **1.5.3.2. Prostat Bezi**

En büyük yardımcı bez olan prostat bezinin kanalları prostatik üretraya boşalır. 30- 50 adet dallanmış tübüloalveolar bezden oluşur. Bu bezler ejakulasyon sırasında itme gücü için gerekli olan prostatik sıvıyı üretir ve biriktirirler. Bu sıvının içeriğinde sitrik asit, alkalın fosfataz, poliaminler, çinko ve çeşitli proteazlar vardır [61].

### **1.5.3.3. Bulboüreatral Bezler (Cowper Bezleri)**

Penisin kök kısmında yer alan, mukus salgılayan tek katlı kübik epitele sahip tübüloalveolar bezdir. Bol galaktoz ve siyalik asit içeren salgı penil üretraya boşalır. Semenın önünden giden salgı kayganlaştırıcı fonksiyona sahiptir.

### **1.5.4. Penis**

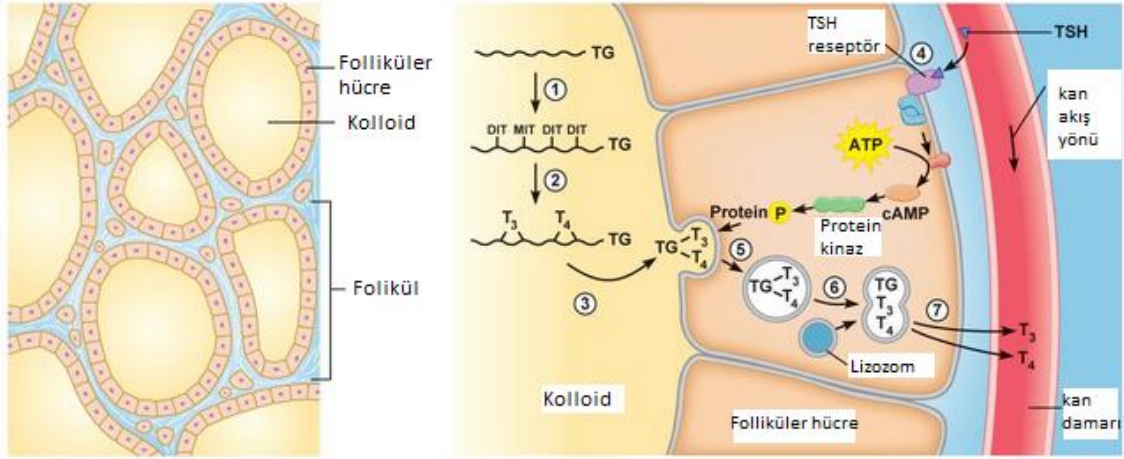
Endotel ile çevrili erektil doku veya damar boşluklarından oluşur. Peniste üç erektil doku kitlesi vardır. Bunlardan ikisi korpus kavernozumları dorsal bölgede bulunurken, üretrayı çevreleyen korpus spongiozum ise ventral bölgede yer alır. Korpus spongiozumun distal kısmı glans penistir. Tunika albuginea korpus kavernozumları çevreler. Dorsal arter ve derin arter erektil cisimleri kan ile besler [61]. Prepusyum (şünet derisi) düz kaslar ile bağ dokusu bulunan hareketli bir deri katlantısıdır [62].

### **1.6. Tiroid Bezi**

Tiroid bezi boynun önünde larinksin altında yer alır. Ortada bir istmusla birbirine bağlanmış geniş sağ ve sol loblardan meydana gelir [59]. Tiroid bezinin her bir lobu, çok sayıda folikülden oluşur. Tiroid folikülü ya da asinus, bezin fonksiyonel birimidir. Folikül, merkezi lümende glikoprotein olan tiroglobulin bakımından zengin bir madde olan kolloid ve onu çevreleyen tek sıralı kübik epitel hücrelerinden meydana gelmiştir. Folikül epiteli aynı zamanda, C hücreleri olarak da adlandırılan dağınık parafoliküler hücrelerin yaklaşık %10'unu içerir. Nöral kristadan köken alan C hücreleri depolanmış hormon kalsitonini temsil eden küçük sitoplazmik granüller içerirler [58]. Folikül epitelinin tek katlı, kübik veya alçak prizmatik olması tiroit bezinin aktivite durumuna göre değişir. Oldukça aktif foliküllerde epitel kübikken, az aktif foliküllerde epitel hücreleri yassı görünür [62].

### 1.6.1. Tiroid Hormonlarının Oluşumu

Tiroid hormonlarının üretiminden sorumlu olan folikül hücrelerinin salgı işlevleri adenohipofizden salınan tiroit- stimüle edici hormon (TSH) tarafından kontrol edilir. Tiroid bezinden kan dolaşımına verilen aktif tiroid hormonları triiyodotironin ( $T_3$ ) ve tiroksin ( $T_4$ ) üretimi için gerekli element iyodür.



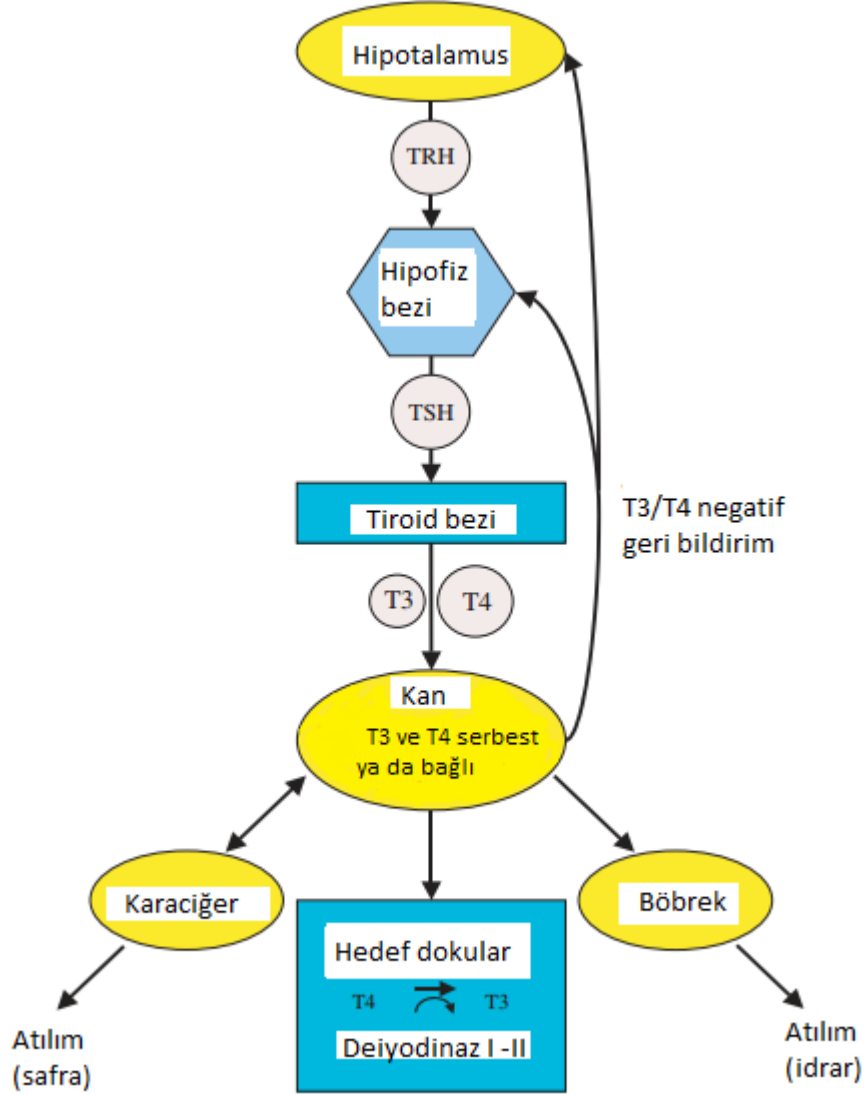
**Şekil 1. 8.** Tiroid follikülleri, tiroid hormonlarının sentezi ve salgılanması [63]

Tiroid hormonlarının kanda düşük seviyelerde bulunması adenohipofizden TSH salınmasını uyarır. Buna yanıt olarak tiroid bezindeki folikül hücreleri, foliküler bazal hücre membranında yer alan iyodid pompası aracılığıyla dolaşımdan sitoplazmaları içine iyodid alır. İyodid, folikül hücrelerinde iyodine okside olur ve folikül lümenine taşınır. Folikül lümeninde iyodin iyodinli tiroglobulin oluşturmak için tirozin aminoasiti gruplarına bağlanır.  $T_3$  ve  $T_4$  ihtiyaç duyuluncaya kadar tiroit folikülleri içinde inaktif formda iyodinli tiroglobuline bağlı kalır (Şekil 1. 8) [62].

### 1.6.2. Tiroid Hormonlarının Salınması

Tiroid hormonlarının biyosentezi ve salgılanması, hipotalamik (TRH: tirotropin salgılayıcı hormon) – hipofiz (TSH: tiroid stimüle edici hormon) – tiroid eksenin (Tiroid hormonları:  $T_3$  ve  $T_4$ ) geri bildirim kontrolü altındadır. TSH,  $T_3$  ve  $T_4$ ' ün sentezini düzenler (Şekil 1. 9) [62]. Salınan tiroid hormonlarının çoğu spesifik tiroksin bağlayan proteine sıkıca bağlanır. Tiroid, dolaşıma  $T_3$ ' ten daha fazla

miktarda  $T_4$  salgılar [54].  $T_4$ , karaciğerde Tip I 5' deiyodinaz tarafından aktif form olan  $T_3$ ' e dönüşür ya da beyin ve kahverengi yağ dokusunda Tip II 5' deiyodinaz tarafından  $T_3$ ' e dönüşür [64]. Fizyolojik olarak  $T_3$ , daha kısa bir yarılanma ömrüne (18 saat) sahip olduğu için  $T_4$ ' den daha güçlüdür [58]. Tiroid hormonları, vücuttaki protein, karbonhidrat ve yağ metabolizmasını artırır [61].



**Şekil 1. 9.** Tiroid hormon sentezi ve salgısının kontrolü [65]

## 2. GEREÇ ve YÖNTEM

### 2.1. Gereç

#### 2.1.1. Kimyasallar

Çalışmada kullanılan  $17\alpha$ -etinil östradiyol (%98), mirisetin (%96) Sigma firmasından temin edilmiştir. MS9-5 veteriner amaçlı kan sayım cihazı ile uyumlu kit kullanılarak hematolojik analizler yapılmıştır. Biyokimyasal analizler Audit Diagnostic (İrlanda) firmasından temin edilen ALT (Alanin aminotransferaz), AST (Aspartat aminotransferaz), BUN (Üre nitrojen), Total Protein, Kolesterol, Albümin, Kreatinin, Glikoz ve LDH (Laktat dehidrogenaz) kitleri kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada kullanılan T3, T4 ve TSH hormon kitleri Calbiotech firmasından temin edilmiştir.

#### 2.1.2. Deney Hayvanlarının Temini

Endokrin Bozucu Tarama Programlarından juvenil/ peripubertal erkek sıçanlarda tiroit işlev ve pubertal gelişim analiz yönteminde belirtildiği üzere [66] sütten kesilmiş 21 günlük Wistar albino (*Rattus norvegicus*) erkek sıçanlar Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim Merkezi'nden temin edilmiştir.

#### 2.1.3. Laboratuvar Koşulları

Deney süresince laboratuvar sıcaklığı ortalama  $22,4\pm 1,6^{\circ}\text{C}$ , nisbi nemi  $47,2\pm 1$  olarak ayarlanmıştır. Fotoperiyot 14 saat aydınlık 10 saat karanlık olacak şekilde zaman ayarlayıcı ile ayarlanmıştır. Deneyde içme suyu olarak çeşme suyu kullanılmıştır. Çalışmada, boyutları 20x40x22 cm olan ızgara kapaklı temiz polikarbonat otoklavlanabilir kafesler kullanılmıştır. Laboratuvar hayvanlarına verilen pelet yemler yüksek miktarda soya ve soya bazlı ürünler içermektedir. Bu durum çalışmanın sonuçlarını değiştirebileceğinden soya ya da fitoöstrojen içermeyen ürünler ile yem yapılmıştır. Yem yapımında kullanılan malzemeler Çizelge 2. 1' de gösterilmiştir.



**Çizelge 2. 1:** Sıçanlara verilen yemin yapımında kullanılan malzemeler ve 100g yemdeki miktarları

Besin Maddesi	100 g yemdeki miktarları
Tavuk Yumurtası (Çiğ)	18 g
Makarna	21,95 g
Sofra Tuzu	0,05 g
Kemik Suyu	500 ml
Mısırözü Yağı	1 ml
Talaş	60 g

Yemin hazırlanmasında kullanılan malzemeler karıştırılmış ve 80<sup>0</sup>C'lik etüvde 16 saat boyunca kurutulmuştur. Yemin besin değerlerinin analizi için Beslenme Bilgi Sistemi BeBİS 6.1programı kullanılmıştır. Hazırlanan yemin besin değeri Çizelge 2. 2'de verilmiştir.

**Çizelge 2. 2:** Sıçanlara verilen yemin besin değerleri

<b>Enerji</b>	240,8 kcal	<b>Vitamin B1</b>	0,1 mg
<b>Su</b>	488,3 g	<b>Vitamin B2</b>	0,3 mg
<b>Protein</b>	14,9 g	<b>Vitamin B2</b>	0,4 mg
<b>Yağ</b>	12,1 g	<b>Toplu folik asit</b>	23,5 µg
<b>Karbonhidrat</b>	18,0 g	<b>Vitamin C</b>	1,9 mg
<b>Lif</b>	1,1 g	<b>Sodyum</b>	1456,5 mg
<b>Alkol</b>	0,0 g	<b>Potasyum</b>	975,4 mg
<b>Çoklu doymamış yağ</b>	1,4 g	<b>Kalsiyum</b>	30,2 mg
<b>Kolesterol</b>	71,3 mg	<b>Magnezyum</b>	64,5 mg
<b>Vitamin A</b>	2,3 mg	<b>Fosfor</b>	135,2 mg
<b>Karoten</b>	2,8 mg	<b>Demir</b>	0,9 mg
<b>Vitamin E</b>	0,8 mg	<b>Çinko</b>	1,6 mg

## 2.2. Yöntem

### 2.2.1. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması

Bu çalışmada juvenil/ peripubertal erkek sıçanlarda pubertal gelişim ve tiroit fonksiyon analiz yöntemine göre erkek sıçanlar doğumdan sonra 21. günde sütten kesilmiştir. Uygulama doğumdan sonra 23. günden 53. güne kadar oral gavaj yöntemiyle her gün aynı saatte yapılmıştır. Bu uygulama süresi pubertal gecikme ve antitiroit etkilerin tespitinde önemlidir. Deneyde kullanılan her grup için 6 adet erkek sıçan kullanılmıştır. Yağ kontrol ile pozitif kontrol grupları olarak 17 $\alpha$ -Etinil östradiyol 0,7 $\mu$ g/kg/gün ve 7 $\mu$ g/kg/gün doz grupları oluşturulmuştur. Daha önce yapılan ve uterotrofik analiz yöntemi ile östrojenik aktivitesi tespit edilen [67] mirisetinin 25 mg/kg/gün ve 50 mg/kg/gün doz grupları oluşturulmuştur. Uygulama grupları ve doz miktarları Çizelge 2. 3' te gösterilmiştir. Buna göre çalışmada beş grup olacak şekilde toplam 30 Wistar albino erkek sıçanlar deney hayvanı olarak kullanılmıştır.

**Çizelge 2. 3:** Uygulama gruplarındaki hayvan sayıları ve uygulanan doz miktarları

Gruplar	n	Dozlar	
Taşıyıcı Kontrol (mısır yağı)	6	1 ml	-
Pozitif Kontrol Grubu (17- $\alpha$ etinill östradiyol (CAS No. 57-63-6)	6	0.7 $\mu$ g/kg/gün	7 $\mu$ g/kg/gün
Mirisetin (CAS No. 529-44-2)	6	25 mg/kg/gün	50 mg/kg/gün

n: Hayvan sayısı

Juvenil/peripubertal erkek sıçanlarda pubertal gelişim ve tiroit fonksiyon analizine göre [66] nekroskopide; testisler, epididimis, ventral prostat, dorsolateral prostat, seminal vezikül (sıvılı ve sıvısı çıkartılmış olarak), tiroit, karaciğer, böbrekler, hipofiz ve böbrek üstü bezleri çıkarılıp, ağırlıkları tartılmıştır. Böbrekler ve böbrek üstü bezleri çift olarak tartılmıştır. Sağ ve sol testisler, sağ ve sol epididimisler ise ayrı ayrı tartılmıştır. Dokuların mezenterik kısımdan ayrılma işlemi, küçük bir makas yardımıyla dokulara zarar vermeden yapılmıştır. Seminal vezikül akışkan kısım ile tartıldıktan sonra sıvı kısım dışarı alınmış ve tekrar tartılmıştır.

### **2.2.2. Prepüsyal Ayrımın (PPS) Gerçekleştiği Yaş ve Vücut Ağırlığının Belirlenmesi**

Juvenil/peripubertal erkek sıçanlarda pubertal gelişim ve tiroit fonksiyon analiz testine göre doğumdan sonra 30. günden itibaren hayvanlar günlük olarak her gün aynı zamanda muayene edilerek, PPS'nin başlayış zamanı kaydedilmiştir. Kısmi ya da tam prepüsyal ayrılmanın, ya da glans ve prepusyum (sünnet derisi) arasında kalan dokunun kalıcı kısmının saptandığı günlerin kaydı alınmıştır. Tam prepüsyal ayrılma günü, prepüsyal ayırmada yaş analizlerinin kullanımının son noktası olarak kabul edilmiştir [64].

### **2.2.3. Histopatolojik İncelemeler**

Nekroskopi sırasında erkek sıçanlardan alınan tek testis ve epididimis, karaciğer, prostat, seminal vezikül 8 saat süre ile Bouin fiksatifinde tespit edildikten sonra %70'lik alkole alınmıştır. Trake ile birlikte tiroit ve bir böbrek Formolin (%10) fiksatifinde 24 saat süre ile tespit edildikten sonra sırayla %70'lik, %80'lik, %95'lik, %100'lük alkol ve ksilen serilerinden geçirilmiş ve daha sonra parafine gömülerek blok haline getirilmiştir. Bloklar mikrotomda (Leica RM2125RT) 5 µm kalınlığında kesilerek preparat haline getirilmiştir. Hazırlanan preparatlar Hematoksilen & Eosin boyasıyla boyanarak Olympus BX51 ışık mikroskopunda incelenmiş ve Bab Bs200prop programı kullanılarak gözlenen histopatolojik değişiklikler değişik büyütmelemlerde fotoğraflanmıştır.

### **2.2.4. Kan ve Serum Analizleri**

Deneyin sonunda deney gruplarındaki sıçanların kalplerinden steril enjektör ile alınan kanın yaklaşık 1 ml'si, pıhtılaşmayı önlemek amacıyla kullanılan heparinli tüplere konulmuştur. Heparinli örnekler aynı gün, MS 9-5 marka otomatik kan sayım cihazında test edilerek lökosit, % nötrofil, % lenfosit, % monosit, eritrosit, hemoglobin, hematokrit, MCH (ortalama eritrosit hemoglobini), MCHC (ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu), MCV (ortama eritrosit hacmi), trombosit ve trombosit hacmi parametrelerinin sonuçlarını içeren kan tablosu elde edilmiştir. Geriye kalan yaklaşık 5 ml kan jelli vakumlu tüplere alınarak 3000 rpm'de 25 dakika süreyle +4°C' de santrifüj edilmiştir. Santrifüj ile ayrılan serum kısmı mikropipet ile çekilerek hormon analizi ve biyokimyasal analizler için ependorf

tüplere konulup - 80 °C'de analiz yapılacağı güne kadar saklanmıştır. Serum örneklerinde başlıca tiroit hormonları olan total T3,T4 ve TSH değerlerini belirlemek için Calbiotech ELISA kitleri kullanılmıştır. Hormon analizleri ELISA okuyucusu Bio-Tek µQuant Mikroplate spektrometre cihazında yapılmıştır. Biyokimya analizleri için ayrılan serum örneklerinde ALT (Alanin aminotransferaz), AST (Aspartat aminotransferaz), BUN (üre nitrogen), total protein, LDH (Laktat dehidrogenaz), glikoz, albümin ve kreatinin aktiviteleri belirlemek için Audit marka ticari ölçüm kitleri kullanılmıştır.

### **2.2.5. İstatistiksel Değerlendirme**

Deneysel verilerin istatistiksel analizinde SPSS 15 Paket İstatistik Programı kullanılmıştır. Öncelikle verilerin normal dağılım gösterip göstermediğini test etmek için 'Tek Örneklem Kolmogorov Smirnov Testi' uygulanmıştır. Daha sonra grupların varyanslarının eşit olduğu yerlerde 'Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA)' uygulanmıştır. Grupların varyanslarının eşit olmadığı yerlerde ise 'Kruskal- Wallis H Testi' yapılmıştır. Ayrı ayrı yapılan her iki test sonucunda gruplar arasında fark bulunduğu durumda hangi gruplar arasında fark olduğunu tespit etmek için post-hoc test olarak varyansların eşit olduğu durumda 'Tukey' testi, varyansların eşit olmadığı durumda 'Tamhane's T<sub>2</sub>' testi uygulanmıştır. İstatistiksel olarak önemlilik düzeyi 0.05 alınmıştır.

### 3. BULGULAR

#### 3.1. Vücut Ağırlıkları, Organ Ağırlıkları, Besin ve Su Tüketim Sonuçları

Taşıyıcı kontrol, etinil östradiyol pozitif kontrol grupları ve mirisetin uygulama gruplarına ait erkek sıçanların deney süresince günlük olarak tükettikleri besin (g) ve su (ml) miktarlarının ortalamaları hesaplanmış ve Çizelge 3. 1, Şekil 3. 1 ve 3. 2' de gösterilmiştir.

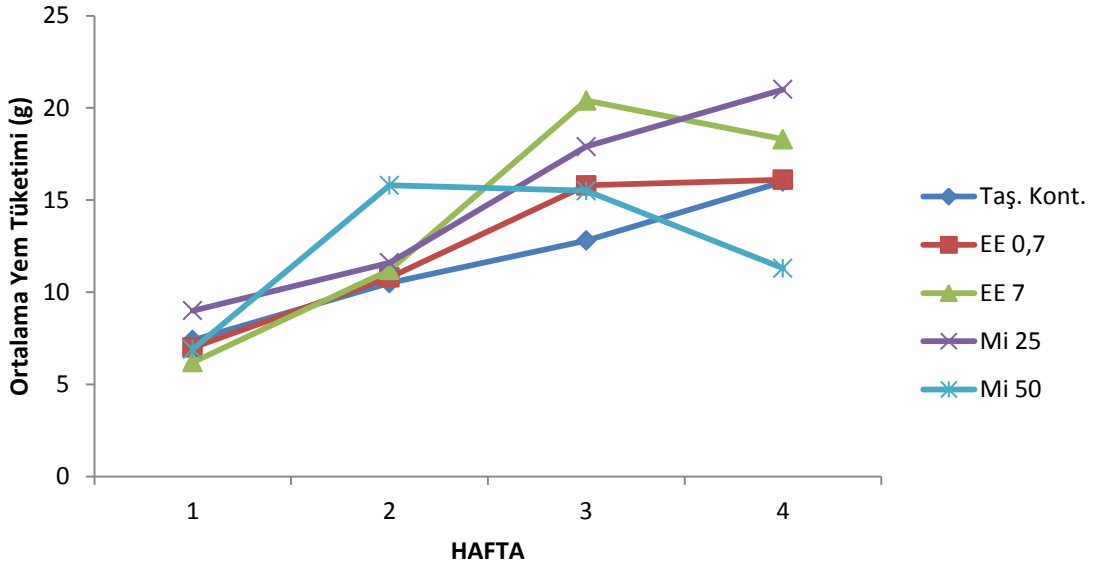
**Çizelge 3. 1:** Taşıyıcı kontrol, pozitif kontrol ve uygulama gruplarındaki erkek sıçanların tükettikleri besin ve su miktarları

	Taşıyıcı Kontrol (1 ml)	Etinil Östradiyol (0.7µg/kg/gün)	Etinil Östradiyol (7µg/kg/gün)	Mirisetin (25mg/kg/gün)	Mirisetin (50 mg/kg/gün)
Besin (g)	11,70±3,60	12,43±4,37	14,06±6,51	15,05±5,72	12,41±4,21
Su (ml)	11,82±2,76	12,75±2,95	12,12±2,39	13,34±3,71	12,02±3,85

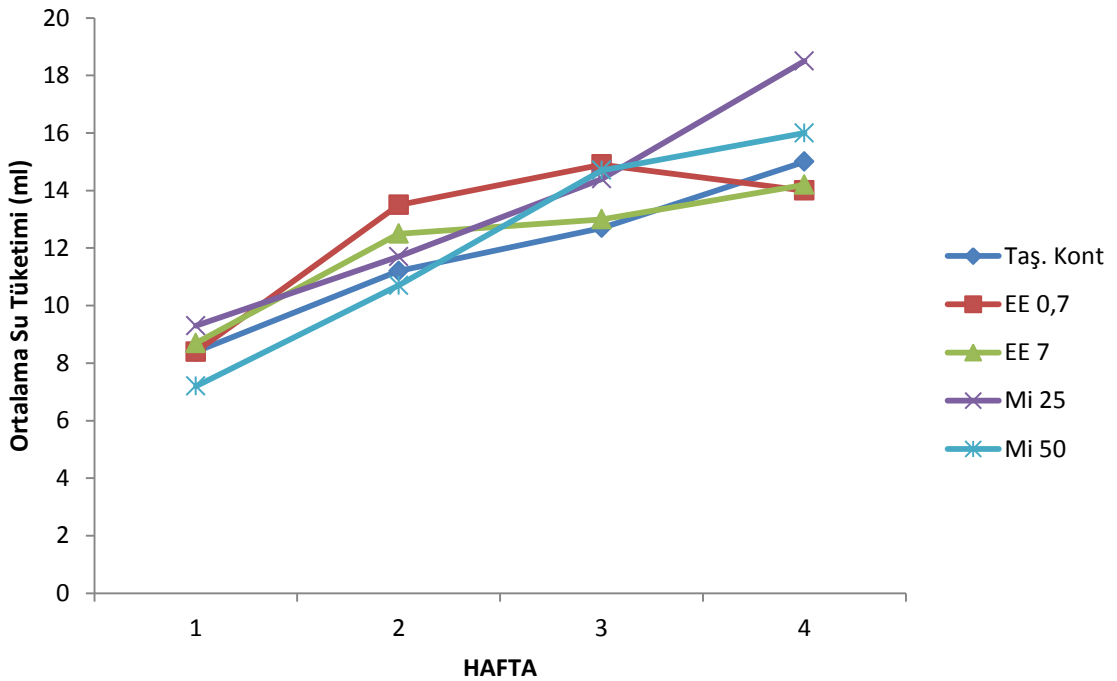
Değerler ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir.

Yapılan istatistiksel analiz sonucu gruplar arasında fark bulunmamıştır ( $p_{(yem)}0,870 > p 0,05$ ;  $p_{(su)}0,958 > p 0,05$ ).

Uygulama sonucunda hayvanlar dissekte edilerek organ ağırlıkları kaydedilmiştir. Organ ağırlıkları ve rölatif organ ağırlık oranlarına ait sonuçlar Çizelge 3. 2, 3. 3 ve 3. 4' te gösterilmiştir.



**Şekil 3. 1.** Taşıyıcı kontrol grubu, pozitif kontrol ve mirisetin uygulanan gruplardaki sıçanların haftalık ortalama yem tüketimleri



**Şekil 3. 2.** Taşıyıcı kontrol grubu, pozitif kontrol ve mirisetin uygulanan gruplardaki sıçanların haftalık ortalama su tüketimleri

**Çizelge 3. 2:** Taşıyıcı kontrol, pozitif kontroller ve mirisetin uygulanan gruplara ait vücut ağırlıkları, testis, epididimis ağırlıkları ve organların rölatif ağırlıkları

Gruplar	Doz	Bitiş Vücut Ağırlığı (g)	Sağ Testis (g)		Sol Testis (g)		Sağ Epididimis (g)		Sol Epididimis (g)	
			Gerçek Ağırlık (g)	Rölatif Ağırlık ( $10^{-3}$ )	Gerçek Ağırlık (g)	Rölatif Ağırlık ( $10^{-3}$ )	Gerçek Ağırlık(g)	Rölatif Ağırlık( $10^{-3}$ )	Gerçek Ağırlık(g)	Rölatif Ağırlık( $10^{-3}$ )
<b>Taşıyıcı Kontrol</b>	1ml	119,6±11,29	0,841±0,177	6,977±1,046	0,855±0,185	6,825±0,853	0,093±0,033	0,773±0,237	0,092±0,029	0,762±0,196
<b>Etinil Östradiyol</b>	0,7µg/kg/gün	95,5±4,57 <sup>a</sup>	0,653±0,076	6,843±0,798	0,651±0,092	6,826±0,938	0,231±0,213	2,477±2,331	0,227±0,218	2,438±2,376
	7µg/kg/gün	92±16,2 <sup>a</sup>	0,163±0,096 <sup>a,b</sup>	1,654±0,767 <sup>a,b</sup>	0,168±0,099 <sup>a,b</sup>	1,699±0,799 <sup>a,b</sup>	0,053±0,019	0,568±0,148	0,061±0,025	0,676±0,265
<b>Mirisetin</b>	25mg/kg/gün	125,1±7,86 <sup>b,c</sup>	0,935±0,118 <sup>b,c</sup>	7,43±0,485 <sup>c</sup>	0,938±0,115 <sup>b,c</sup>	7,469±0,458 <sup>c</sup>	0,124±0,030	0,981±0,179	0,130±0,030	1,035±0,182
	50mg/kg/gün	106,1±5,2 <sup>d</sup>	0,836±0,128 <sup>c</sup>	7,874±1,119 <sup>c</sup>	0,879±0,111 <sup>c</sup>	8,288±0,999 <sup>c</sup>	0,111±0,018	1,046±0,165	0,112±0,019	1,058±0,18

(n=6) <sup>a</sup> Taşıyıcı kontrol grubundan farklı, <sup>b</sup> 0,7 mg/kg/gün etinil östradiyol grubundan farklı, <sup>c</sup> 7 mg/kg/gün etinil östradiyol grubundan farklı, <sup>d</sup> 25 mg/kg/gün mirisetin uygulama grubundan farklı (p≤0,05).

**Çizelge 3. 3:** Taşıyıcı kontrol, pozitif kontroller ve mirisetin uygulanan gruplara ait prostat ağırlıkları, seminal vezikül dolu ve boş ağırlıkları ve organların rölatif ağırlıkları

Gruplar	Doz	Prostat				Seminal Vezikül			
		Ventral Prostat		Dorsalateral Prostat		Dolu Ağırlığı		Boş Ağırlığı	
		Gerçek Ağırlık (g)	Rölatif Ağırlık ( $10^{-3}$ )	Gerçek Ağırlık (g)	Rölatif Ağırlık ( $10^{-3}$ )	Gerçek Ağırlık (g)	Rölatif Ağırlık ( $10^{-3}$ )	Gerçek Ağırlık (g)	Rölatif Ağırlık ( $10^{-3}$ )
<b>Taşıyıcı Kontrol</b>	1ml	0,055±0,026	0,456±0,182	0,0493±0,031	0,396±0,218	0,046±0,014	0,373±0,099	0,037±0,014	0,305±0,089
<b>Etinil Östradiyol</b>	0,7µg/kg/gün	0,035±0,0124	0,37±0,11	0,025±0,001	0,265±0,025	0,024±0,004	0,257±0,051	0,021±0,004	0,227±0,046
	7µg/kg/gün	0,004±0,001 <sup>a</sup>	0,053±0,012 <sup>a,b</sup>	0,015±0,009 <sup>a</sup>	0,162±0,1	0,021±0,009 <sup>a</sup>	0,256±0,145	0,017±0,006 <sup>a</sup>	0,197±0,113
<b>Mirisetin</b>	25mg/kg/gün	0,100±0,021 <sup>a,b,c</sup>	0,799±0,167 <sup>a,b,c</sup>	0,048±0,012 <sup>c</sup>	0,38±0,084	0,066±0,019 <sup>b,c</sup>	0,521±0,123 <sup>b,c</sup>	0,050±0,016 <sup>b,c</sup>	0,397±0,109 <sup>b,c</sup>
	50mg/kg/gün	0,068±0,012 <sup>b,c</sup>	0,646±0,122 <sup>b,c</sup>	0,020±0,012	0,195±0,118	0,044±0,009	0,417±0,091	0,035±0,008	0,336±0,075

(n=6) <sup>a</sup> Taşıyıcı kontrol grubundan farklı, <sup>b</sup> 0,7 mg/kg/gün etinil östradiyol grubundan farklı, <sup>c</sup> 7 mg/kg/gün etinil östradiyol grubundan farklı (p≤0,05).



**Çizelge 3. 4:** Taşıyıcı kontrol, pozitif kontroller ve mirisetin uygulanan gruplara ait böbrek, adrenal, karaciğer, tiroit ağırlıkları ve organların rölatif ağırlıkları

Gruplar	Doz	Karaciğer		Böbrekler		Adrenaller		Tiroit	
		Gerçek Ağırlık (g)	Rölatif Ağırlık ( $10^{-3}$ )	Gerçek Ağırlık (g)	Rölatif Ağırlık ( $10^{-3}$ )	Gerçek Ağırlık (g)	Rölatif Ağırlık ( $10^{-3}$ )	Gerçek Ağırlık (g)	Rölatif Ağırlık ( $10^{-3}$ )
<b>Taşıyıcı Kontrol</b>	1ml	5,394±0,463	45,15±2,01	1,196±0,206	9,943±0,861	0,0262±0,0017	0,22±0,021	0,0941±0,0134	0,789±0,105
<b>Etinil Östradiyol</b>	0,7µg/kg/gün	3,914±0,284 <sup>a</sup>	41,07±3,54	0,991±0,06	10,39±0,743	0,032±0,0026	0,335±0,039	0,0874±0,0067	0,915±0,068
	7µg/kg/gün	3,808±0,665 <sup>a</sup>	41,45±1,64	0,900±0,119	9,939±1,421	0,0427±0,0153 <sup>a</sup>	0,501±0,29 <sup>a</sup>	0,0782±0,0211	0,859±0,213
<b>Mirisetin</b>	25mg/kg/gün	5,347±0,458 <sup>b,c</sup>	42,69±1,81	1,338±0,263 <sup>b,c</sup>	10,81±2,648	0,0361±0,0082	0,286±0,053	0,1140±0,0062 <sup>b,c</sup>	0,915±0,086
	50mg/kg/gün	3,791±0,165 <sup>a,d</sup>	35,78±2,17 <sup>a,b,c,d</sup>	0,950±0,045 <sup>d</sup>	8,961±0,44	0,0275±0,0032 <sup>c</sup>	0,26±0,04	0,0935±0,01	0,884±0,12

(n=6) <sup>a</sup> Taşıyıcı kontrol grubundan farklı, <sup>b</sup> 0,7 mg/kg/gün etinil östradiyol grubundan farklı, <sup>c</sup> 7 mg/kg/gün etinil östradiyol grubundan farklı, <sup>d</sup> 25 mg/kg/gün mirisetin uygulama grubundan farklı (p≤0,05).

### 3.2. Prepüsyal Ayrımın (PPS) Gerçekleştiği Yaş ve Vücut Ağırlığı

Yapılan çalışmada, doğumdan sonra (PND) 30.günden itibaren bütün hayvanlarda prepüsyal ayrılma tamamlanana kadar gözlem yapılmış ve PPS' nin gerçekleştiği yaş (PND olarak) ve vücut ağırlıkları kaydedilmiştir.

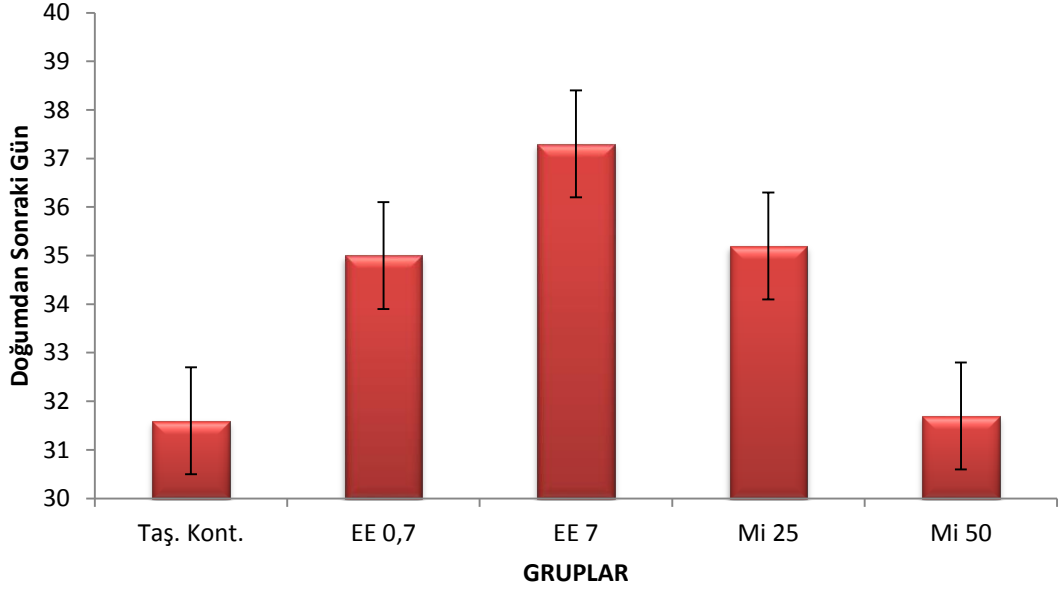
Gruplar arasında PPS' nin gerçekleştiği doğumdan sonraki günler arasında fark olup olmadığı tek yönlü varyans analizi ile test edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık hesaplamalarında sınır değeri kabul edilen 0,05' ten büyük olması gruplar arasında fark olmadığını gösterirken; 0,05' ten küçük olması gruplar arasında fark olduğunu gösterir. Yapılan analiz sonucunda p:0,00 bulunmuştur. Yani PPS' nin gerçekleştiği yaş gruplar arasında farklılık göstermektedir. Hangi gruplar arasında fark olduğunu test etmek için post-hoc parametrik testlerden Tukey testi uygulanmıştır. Gruplar arasındaki farklar Çizelge 3. 5' de ve Şekil 3. 3' de gösterilmiştir.

PPS' nin gerçekleştiği günde erkek sıçanların ağırlıkları arasında bir fark olup olmadığı tek yönlü varyans analizi ile test edilmiştir. Gruplar arasında bir fark olmadığı bulunmuştur (p:0,935> 0,05). Sonuçlar Şekil 3. 4' te gösterilmiştir.

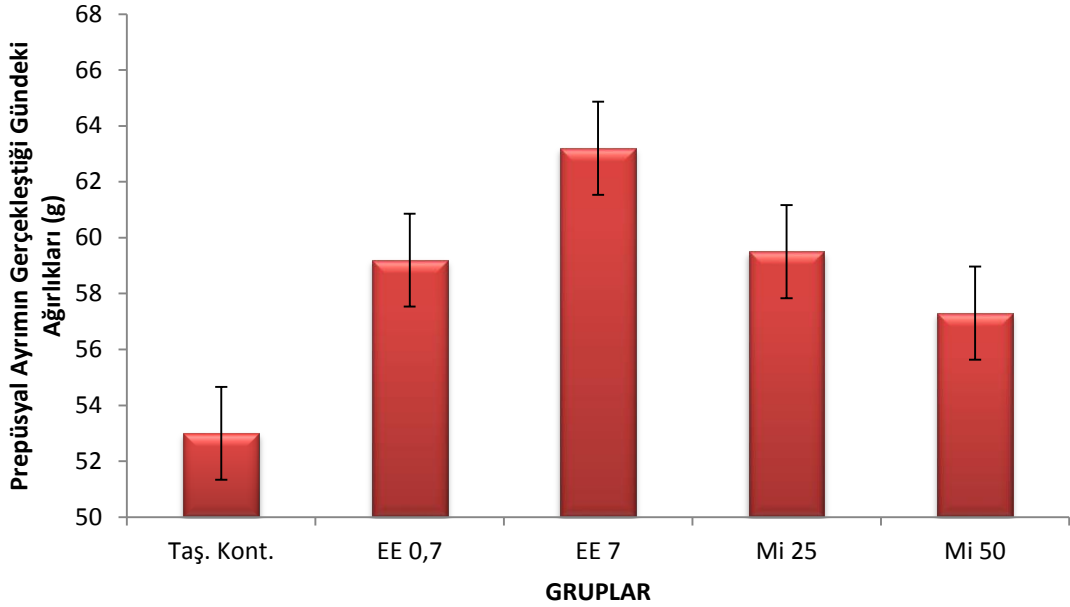
**Çizelge 3. 5:** Prepüsyal ayrımın (PPS) gerçekleştiği yaş ve vücut ağırlığı

	Taşıyıcı Kontrol (1 ml)	Etinil Östradiyol (0,7µg/kg/gün)	Etinil Östradiyol (7µg/kg/gün)	Mirisetin (25mg/kg/gün)	Mirisetin (50mg/kg/gün)
<b>PND</b>	31,6±0,47	35±1,82 <sup>a</sup>	37,3±1,49 <sup>a,b</sup>	35,1±1,34 <sup>a</sup>	31,6±0,47 <sup>b,c,d</sup>
<b>Vücut Ağırlığı (g)</b>	53±6,5	59,1±4,5	63,1±6,8	59,5±7,2	57,3±5,2

(n=6) <sup>a</sup> Taşıyıcı kontrol grubundan farklı, <sup>b</sup> 0,7 mg/kg/gün etinil östradiyol grubundan farklı, <sup>c</sup> 7 mg/kg/gün etinil östradiyol grubundan farklı, <sup>d</sup> 25 mg/kg/gün mirisetin uygulama grubundan farklı (p≤0,05).  
(PND: Doğumdan sonraki gün)



**Şekil 3. 3:** Zamana bağlı olarak prepüsyal ayrımın gerçekleşmesi (PND-postnatal day- doğumdan sonraki gün) üzerine mirisetinin etkisi



**Şekil 3. 4:** Sıçanlarda prepüsyal ayrılmanın gerçekleştiği zamandaki vücut ağırlıkları ortalama  $\pm$  s. sapma grafiği

### 3.3. Hormon Analizi Sonuçları

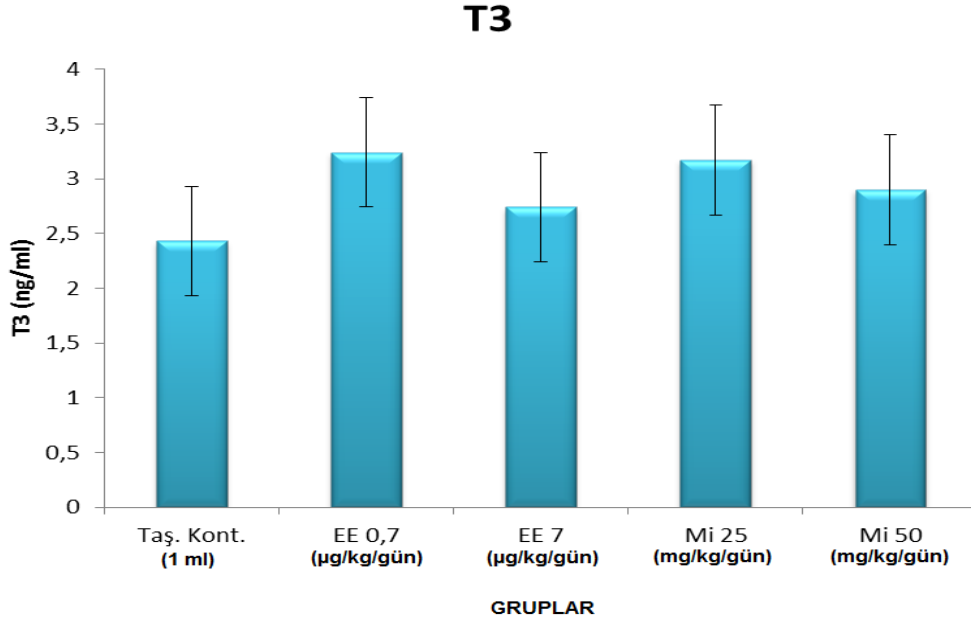
Deneyin sonunda sıçanlardan alınan kan örneklerinden elde edilen serumlarda T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> ve TSH seviyeleri tespit edilmiştir. Elde edilen veriler Çizelge 3. 6'da, Şekil 3. 5- 3. 7' de gösterilmiştir.

**Çizelge 3. 6:** Taşıyıcı kontrol, pozitif kontrol ve mirisetin uygulama gruplarına ait hormon değerleri

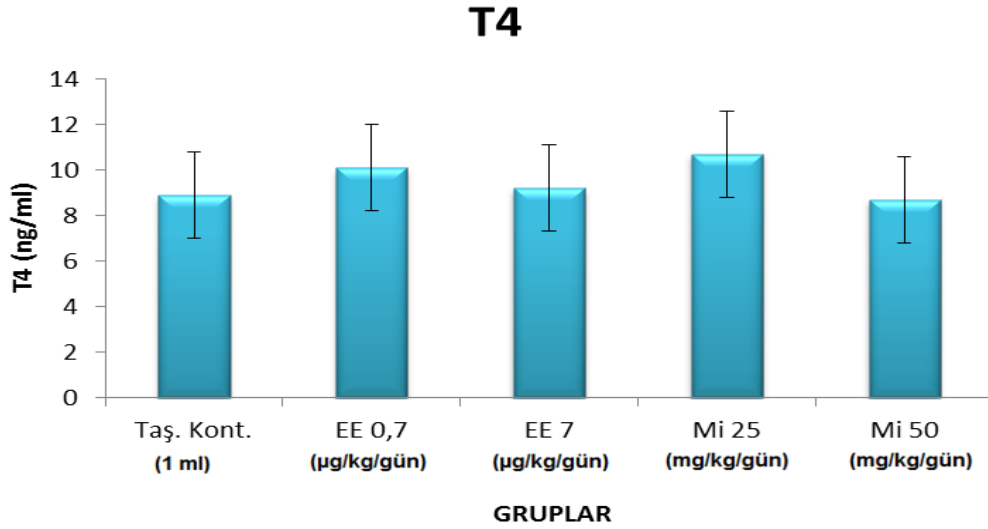
Parametreler	Taşıyıcı Kontrol (1ml)	Etinil Östradiyol (0,7µg/kg/gün)	Etinil Östradiyol (7mg/kg/gün)	Mirisetin (25mg/kg/gün)	Mirisetin (50mg/kg/gün)
T3 (ng/ ml)	2,43±0,48	3,23±0,66	2,74±1,03	3,17±0,82	2,90±0,61
T4 (ng/ml)	8,85±1,86	10,14±1,26	9,22±2,30	10,72±3,39	8,73±1,28
TSH (mIU/ L)	3,37±0,40	4,06±0,24	3,89±0,19	3,13±0,81	3,50±0,59

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

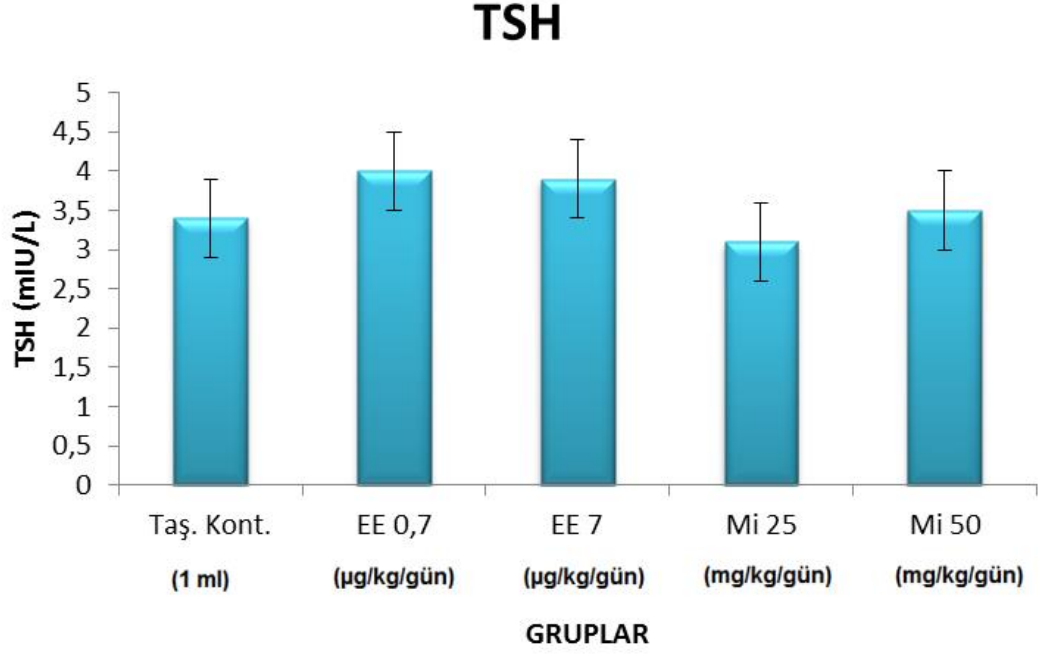
'Tek Örneklem Kolmogorov- Smirnov' nonparametrik test yöntemiyle gruplar arasındaki T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub> ve TSH değerlerinin normal dağılımları kontrol edilmiş ve p değerleri sırasıyla 0,990; 0,688; 0,541 bulunmuştur. Bu sonuçlar istatistiksel anlamlılık hesaplamalarında sınır değeri kabul edilen 0,05' ten büyük olduğu için değerler normal dağılım göstermektedir. Birden çok deney grubu varsa ve gruplar birbirinden bağımsız ve normal dağılım gösteriyorsa tek yönlü varyans analizi yapılabilmektedir. Analiz sonucunda gruptaki T<sub>3</sub> değerleri dışındaki T<sub>4</sub> ve TSH değerlerinin varyansları homojen çıkmamıştır. Bu durumda T<sub>4</sub> ve TSH verileri için tek yönlü varyans analizi yerine Kruskal Wallis non- parametrik test yöntemi uygulanmıştır. Kruskal Wallis uyguladığımızda gruplar arasında T<sub>4</sub> (p: 0,475) ve TSH (p: 0,055) değerleri bakımından bir fark bulunmamıştır. T<sub>3</sub> değerleri de tek yönlü varyans analizi ile test edildiğinde gruplar arasında bir fark olmadığı tespit edilmiştir (p: 0,641).



**Şekil 3. 5.** Taşıyıcı kontrol, pozitif kontrol ve mirisetin uygulama gruplarındaki sıçanların T<sub>3</sub> seviyelerini gösteren ortalama ± s. sapma grafiği



**Şekil 3. 6.** Taşıyıcı kontrol, pozitif kontrol ve mirisetin uygulama gruplarındaki sıçanların T<sub>4</sub> seviyelerini gösteren ortalama ± s. sapma grafiği



**Şekil 3. 7.** Taşıyıcı kontrol, pozitif kontrol ve mirisetin uygulama gruplarındaki sıçanların TSH seviyelerini gösteren ortalama  $\pm$  s. sapma grafiği

#### 3.4. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

Deneyin sonunda erkek sıçanların kalbinden steril enjektör ile alınan kandan elde edilen serumdan ALT, AST, üre, total protein, LDH, glikoz, albümin ve kreatin analizleri yapılmış ve sonuçlar istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Gruplara ait biyokimyasal analiz sonuçları Çizelge 3. 7' de gösterilmiştir.

Yapılan biyokimyasal analizler sonucunda, mirisetin 25 mg/kg/gün uygulama grubunun albümin değeri 0,7 µg/kg/gün pozitif kontrol grubundan yüksek bulunmuştur. Mirisetin 50 mg/kg/gün uygulama grubunun albümin değeri incelendiğinde her iki pozitif kontrol grubuna göre artış göstermektedir. Diğer parametrelerde kontrol grupları ve uygulama grupları arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır.

**Çizelge 3. 7:** Erkek sıçanların taşıyıcı kontrol, pozitif kontroller ve uygulama gruplarına ait biyokimya değerleri

Parametreler	Taş. Kontrol (1 ml)	Etinil Östradiyol (0,7µg/kg/gün)	Etinil Östradiyol (7µg/kg/gün)	Mirisetin (25mg/kg/gün)	Mirisetin (50/mg/kg/gün)
ALT (IU/L)	45,65±17,41	32,55±10,24	33,25±15,99	44,63±10,72	52,91±7,82 <sup>c</sup>
AST (IU/L)	210,1±101,6	227±164,7	129,8±88,9	182,6±36,9	268,3±110,6
LDH (IU/L)	945,8±704,6	606,8±727,8	437,8±294,5	717,3±250	702,6±266,4
Glikoz (IU/L)	191,5±61	138±20,5	181,1±33,5	157,1±19,3	185,6±43,5
Total Protein (g/dl)	8,6± 0,8	8,8±2,8	9,5±2,6	8,8±0,3	9,6±0,4
Albümin (g/dl)	32,35±2,73	22,21±5,47 <sup>a</sup>	27,93±1,34	31,03±1,88 <sup>b</sup>	34,66±1,53 <sup>b,c</sup>
Kreatin (mg/dl)	0,46±0,22	0,53±0,18	0,66±0,25	0,38±0,16	0,35±0,15
Üre (mg/dl)	14,8±3,3	20±9,3	7,7±1,8	22,3±8,3 <sup>c</sup>	11,5±2

<sup>a</sup>Taşıyıcı kontrol grubundan farklı, <sup>b</sup>0,7 µg/kg/gün etinil östradiyol grubundan farklı, <sup>c</sup>7 µg/kg/gün etinil östradiyol grubundan farklı (P≤0,05).

### 3.5. Tam Kan Analiz Sonuçları

Diseksiyon sonrası sıçanların kalbinden alınan kanda yapılan tam kan analizinden elde edilen değerler Çizelge 4. 8' de verilmiştir.

Analiz sonuçlarına göre; mirisetin 50 mg/kg/gün doz grubundaki MCV, hemoglobin değerleri taşıyıcı kontrol, pozitif kontrol ve mirisetin 25 mg/kg/gün doz gruplarından istatistiksel olarak artan yönde farklılık bulunmuştur. Çizelge 3. 8'de görüldüğü gibi diğer tam kan parametreleri incelendiğinde kontrol grupları ve uygulama grupları arasında anlamlı bir farklılık olmadığı saptanmıştır.

**Çizelge 3. 8:** Taşıyıcı kontrol, pozitif kontrol ve mirisetin uygulama gruplarına ait sıçanların kan analiz sonuçları

Parametreler	Taşıyıcı Kontrol (1 ml)	Etinil Östradiyol (0,7 µg/kg/gün)	Etinil Östradiyol (7 µg/kg/gün)	Mirisetin (25mg/kg/gün)	Mirisetin (50 mg/kg/gün)
Lökosit (mm <sup>3</sup> )	2,35±1,54	1,16±0,41	2,98±2,34	3,13±1,11	3,19±1,39
Lenfosit (%)	69,60±16,17	78,22±14,89	70,83±21,34	65,42±8,39	78,41±16,90
Monosit (%)	11,17±5,40	8,40±5,54	11,40±9,41	10,30±1,97	2,40±0,10 <sup>a,b,c,d</sup>
Nötrofil/ Granülosit (%)	19,27±11,06	13,38±9,90	17,73±14,22	24,28±6,89	17,48±12,79
Eritrosit (mm <sup>3</sup> )	13,22±3,53	9,41±3,91	11,6±2,68	13,3±1,76	8,26±0,68
MCV (fl)	27,8±5,34	33,03±5,94	29,42±2,13	25,78±3,89	53,12±2,89 <sup>a,b,c,d</sup>
Hematokrit (%)	35,27±8,18	29,43±8,45	33,6±6,06	27,1±6,29	39,27±3,65
MCH (pg)	7,87±4,52	11,08±3,76	8,93±3,39	11,6±11,24	14,9±1,24
MCHC (g/dl)	26,75±8,78	32,87±8,62	29,8±9,16	23,05±6,05	28,07±1,06
Hemoglobin (g/dl)	8,92±1,26	8,97±0,9	9,5±1,16	9,02±1,6	12,28±0,93 <sup>a,b,c,d</sup>
Trombosit (mm <sup>3</sup> )	3287,83±1276,73	3714,83±2648,25	4009,33±2483,02	2266±1598,19	2765,17±1659,21
Pct (%)	3,92±1,45	4,78±2,58	5,7±3,34	3,97±1,89	3,61±1,42

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. <sup>a</sup> Taşıyıcı kontrol grubundan farklı, <sup>b</sup> 0,7 µg/kg/gün etinil östradiyol grubundan farklı, <sup>c</sup> 7 µg/kg/gün etinil östradiyol grubundan farklı, <sup>d</sup> 25 mg/kg/gün mirisetin uygulama grubundan farklı (p≤0,05).

### 3.6. Histopatolojik Bulgular

Rutin histolojik yöntemlerle hazırlanan ve H&E ile boyanan doku preparatları (testis, epididimis, seminal vezikül, tiroit, karaciğer ve prostat) histopatolojik açıdan incelenmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda Çizelge 3. 9'da deney gruplarına ait sıçanların histopatolojik bulgularının görülme sıklığı verilmiştir.

Kontrol ve uygulama gruplarının histopatolojik olarak incelenmesinden sonra 20X ve 40X büyütmelemlerde fotoğrafları çekilmiştir. Deney grubundaki sıçanlara



ait testis dokusunun genel görünümü Şekil 3. 8 - 3. 12' de verilmiştir. Mirisetinin her iki uygulama grubuna ait sıçanların testis dokusunda, seminifer tübül lümenine atılmış hücreler, konjesyon ve ödem görülmüştür.

Histopatolojik verilere 'Ki kare örneklem testi' uygulandığında beklenen değerler 5'ten küçük bulunduğu için p değeri belirlenememiştir. Verileri daha doğru yorumlamak ve kıyaslamak için sıklıklar yüzde değerlerine dönüştürülerek incelenmiştir.

Çizelge 3. 9 'da görüldüğü gibi mirisetin deney gruplarında bulunan hayvanların hemen hemen %50'sinde ya da daha fazlasında histopatolojik bulgular taşıyıcı kontrol grubundaki hayvanlara göre daha fazla bulunmuştur. Testiste sertoli hücre vakuolizasyonu kontrol grubunda bulunan 6 hayvanda da görülmezken, mirisetin 50 mg/kg doz grubunda bulunan hayvanların %67'sinde gözlenmiştir. Tübül içindeki hücrelerde düzensizlik taşıyıcı kontrol grubunda gözlenmezken diğer bütün deney gruplarında gözlenmiştir. Etinil östradiyol yüksek doz grubuyla mirisetin yüksek doz grubunda görülen sıklıklar benzerdir (%67). Mirisetin 25 mg/kg doz grubunda bulunan hayvanların tamamının testislerinde ödem gözlenmiştir (%100). Testiste gözlenen çok çekirdekli dev hücre ve lümenine atılmış hücreler gibi bulgular etinil östradiyol 7 µg/kg doz verilen bütün hayvanlarda görülmüştür (%100).

Epididimiste bütün deney gruplarında bulunan hayvanların hepsinde lümenine atılmış hücrelere rastlanmıştır. Sıklık oranları değişmekle birlikte en çok %100 mirisetin 25 mg/kg doz grubunda ve %83 sıklıkta da mirisetin 50 mg/kg doz grubunda gözlenmiştir. Mirisetin yüksek doz uygulama grubuna ait sıçanların epididimis dokusunun histolojik görüntüsü ve kontrol gruplarına ait epididimis dokusunun genel görüntüsü Şekil 3. 13 - 3. 19' de verilmiştir.

Seminal vezikülde salgıda azalma incelendiğinde, mirisetin en yüksek doz grubuna ait sıçanlarda salgının azaldığı tespit edilmiştir (%100). Doz artışına bağlı olarak salgı azalma sıklığında da bir artışın olduğu gözlenmiştir (Şekil 3.20- 3.27).

Prostat kesitlerinde mononükleer hücre infiltrasyonu kontrol grubuna ait dokularda hiç gözlenmezken, mirisetin 50 mg/kg doz grubuna ait dokuların

%83'ünde gözlenmiştir. En düşük sıklık etinil östradiyol 0,7 µg/kg doz grubunda %33.3 oranında görülmüştür (Şekil 3.28 - 3.33).

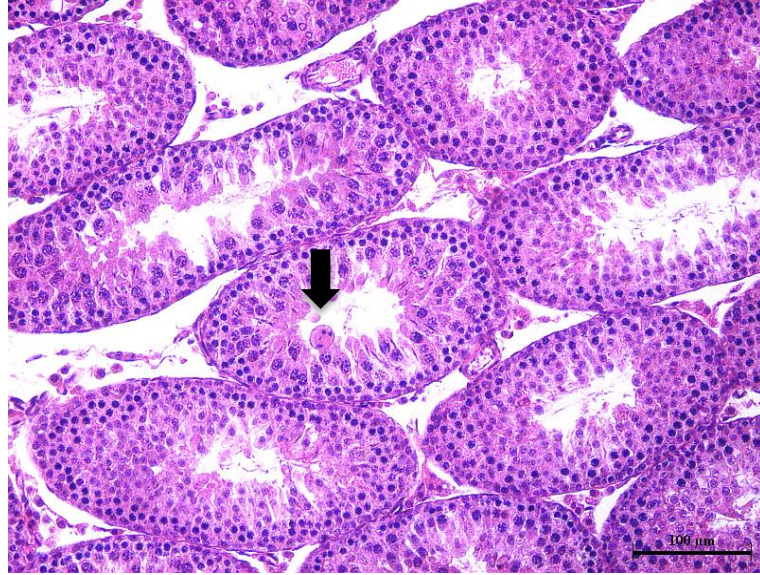
**Çizelge 3. 9.** Taşıyıcı kontrol, pozitif kontrol ve mirisetin uygulama gruplarına ait sıçanların üreme sistemi dokularına ait histopatolojik bulgular

	Taşıyıcı Kontrol (1ml)	Etinil Östradiyol (0,7µg/kg/gün)	Etinil Östradiyol (7µg/kg/gün)	Mirisetin (25mg/kg/gün)	Mirisetin (50mg/kg/gün)
<b>Testis</b>					
Sertoli hücre vakuolizasyonu	0/6	1/6	3/6	4/6	4/6
Tübül içindeki hücrelerde düzensizlik	0/6	5/6	4/6	6/6	4/6
Ödem	1/6	2/6	3/6	6/6	5/6
Lümene atılmış hücreler	0/6	5/6	6/6	2/6	3/6
Tübül dejenerasyonu	0/6	3/6	2/6	1/6	2/6
Atrofik tübül	0/6	5/6	4/6	5/6	3/6
Çok çekirdekli dev hücre	0/6	3/6	6/6	0/6	2/6
<b>Epididimis</b>					
Lümene atılmış hücreler	2/6	4/6	3/6	6/6	5/6
<b>Prostat</b>					
Tübüler atrofi	1/6	6/6	5/6	3/6	4/6
<b>Seminal vezikül</b>					
Salgıda azalma	0/6	4/6	3/6	3/6	6/6

Değerler değişiklik gözlenen hayvan sayısı/ grupta yer alan toplam incelenen hayvan sayısı şeklinde verilmiştir.



**Şekil 3. 8.** Taşıyıcı kontrol grubundaki sıçana ait testis dokusunun genel görünümü, H&E, 20x.



**Şekil 3. 9.** Etinil östradiyol 0,7 µg/kg/gün pozitif kontrol grubundaki sıçana ait seminifer tübülde çok çekirdekli dev hücre ( **➡** ), H&E, 20x.





**Şekil 3. 10.** Etinil östradiyol 7 µg/kg/gün pozitif kontrol grubundaki sıçana ait testis dokusunda seminifer tübülde düzensizlik ( **➡**), H&E, 20x.

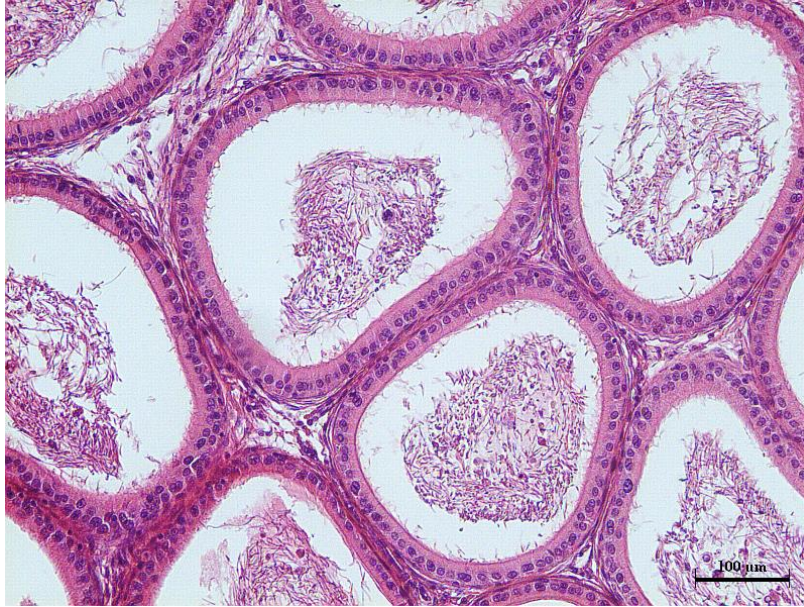


**Şekil 3. 11.** Mirisetin 25 mg/kg/gün uygulama grubundaki sıçana ait testis dokusunda tübüler atrofi ( **➡** ) ve ödem ( **➡** ), H&E, 20x.





**Şekil 3. 12.** Mirisetin 50 mg/kg/gün uygulama grubundaki sıçana ait testis dokusunda sertoli hücre vakualizasyonu ( **→**), H&E, 20x.

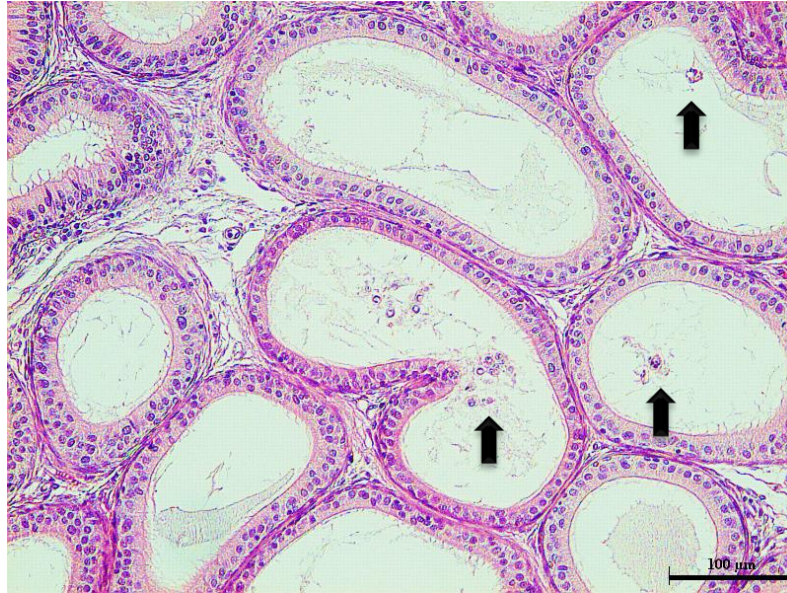


**Şekil 3. 13.** Taşıyıcı kontrol grubundaki sıçana ait epididimis dokusunun genel görünümü, H&E, 20x.



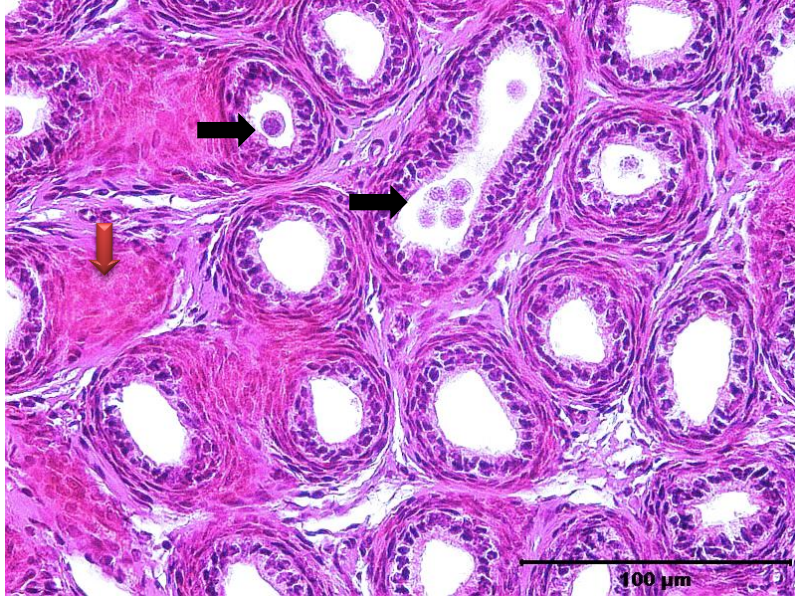


**Şekil 3. 14.** Etinil östradiyol 0,7 µg/kg/gün pozitif kontrol grubundaki sıçana ait epididimis dokusunda tübüler atrofi ( ──> ) ve H&E, 20x.

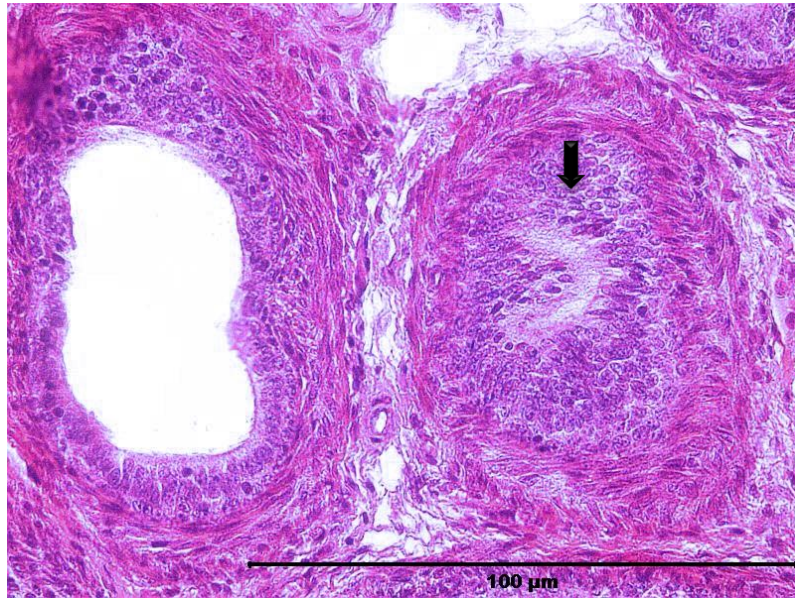


**Şekil 3. 15.** Etinil östradiyol 0,7 µg/kg/gün pozitif kontrol grubundaki sıçana ait epididimis dokusunda lümeneye atılmış hücreler ( ──> ), H&E, 20x.

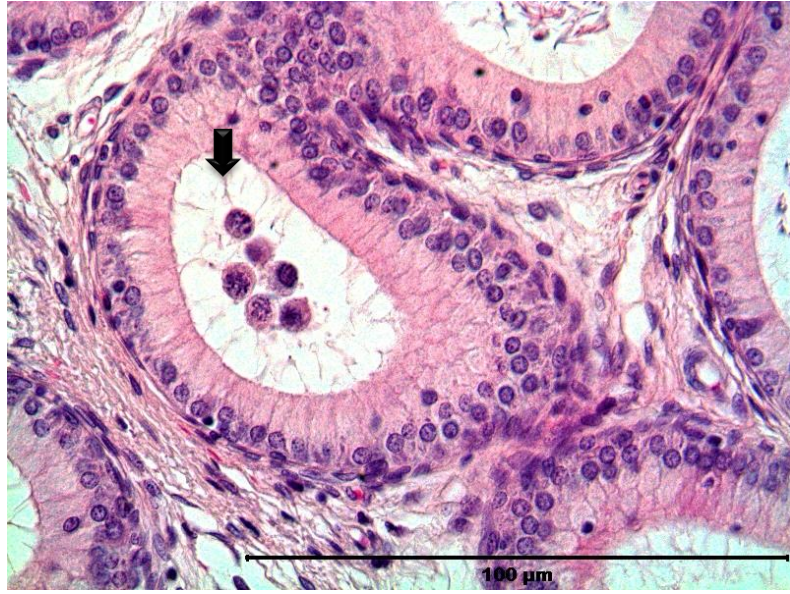




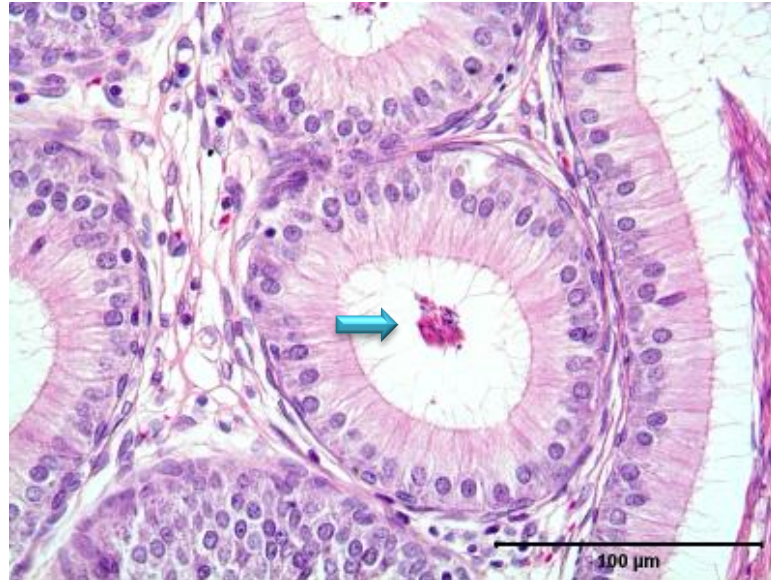
**Şekil 3. 16.** Etinil östradiyol 7 µg/kg/gün pozitif kontrol grubundaki sıçana ait epididimis dokusunda çok çekirdekli dev hücre ( **➡** ) ve tübüller arası konjesyon ( **➡** ), H&E, 20x.



**Şekil 3. 17.** Etinil östradiyol 7 µg/kg/gün pozitif kontrol grubundaki sıçana ait epididimis dokusunda tübüller atrofi ( **➡** ), H&E, 40x.

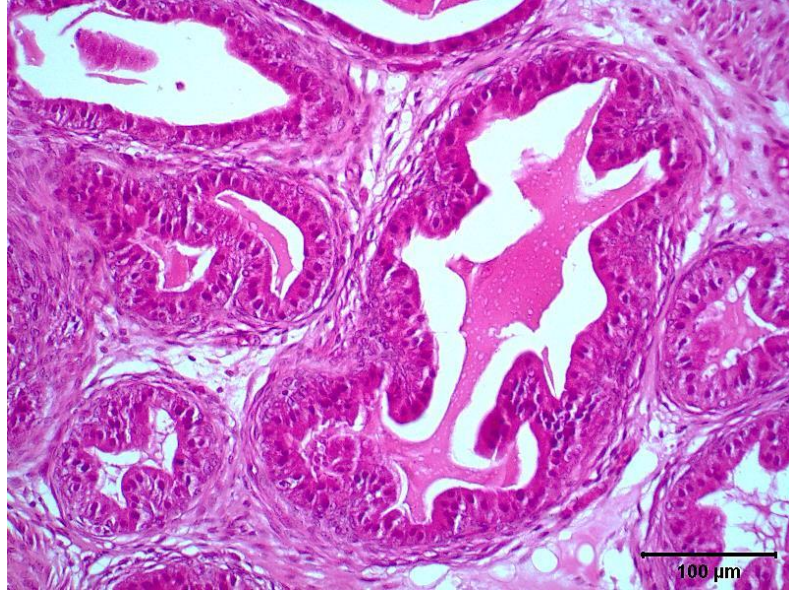


**Şekil 3. 18.** Mirisetin 25 mg/kg/gün uygulama grubundaki sıçana ait epididimis dokusunda lümene atılmış dev hücreler ( **➡** ), H&E, 40x.

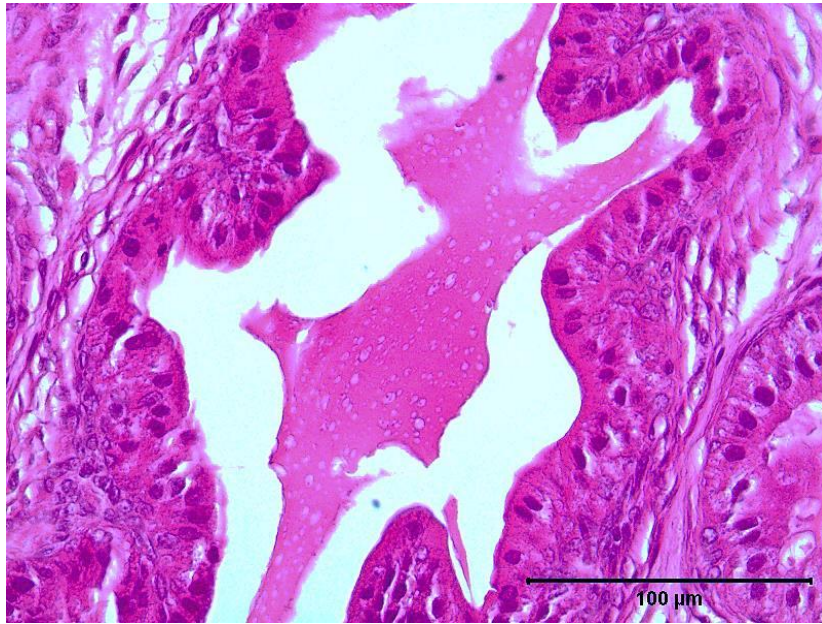


**Şekil 3. 19.** Mirisetin 50 mg/kg/gün uygulama grubundaki sıçana ait epididimis dokusunda lümene atılmış hücreler ( **➡** ), H&E, 40x.

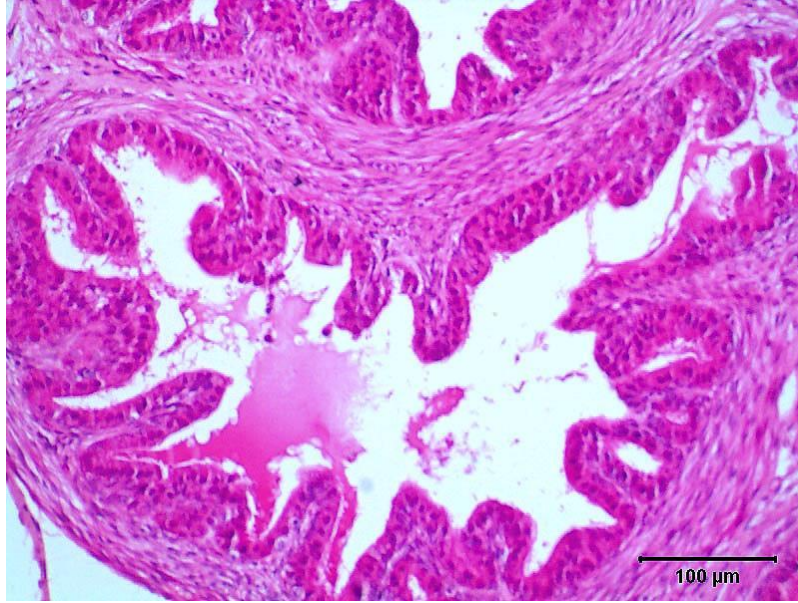




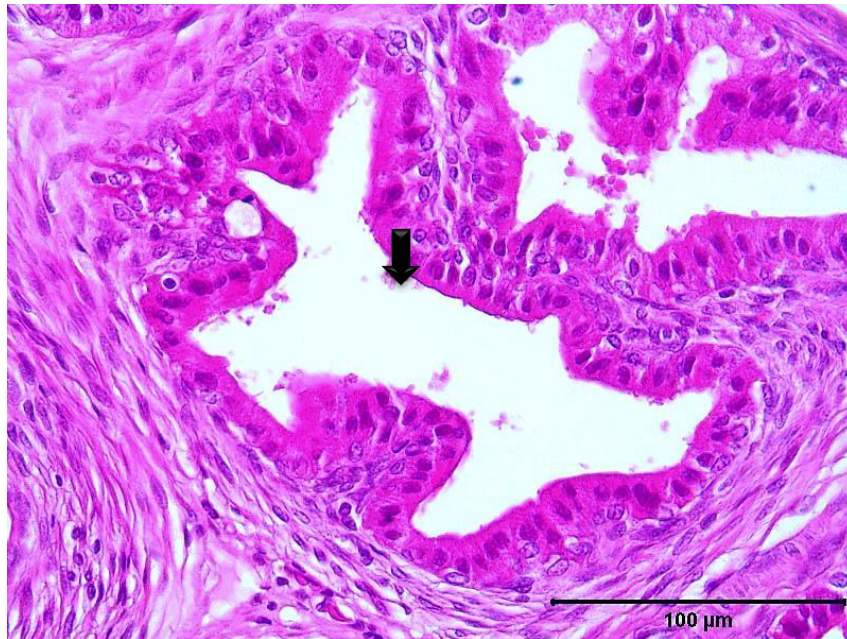
**Şekil 3. 20.** Taşıyıcı kontrol grubundaki sıçana ait seminal vezikül dokusunun genel görünümü, H&E, 20x.



**Şekil 3. 21.** Taşıyıcı kontrol grubundaki sıçana ait seminal vezikül dokusunun genel görünümü, H&E, 40x.

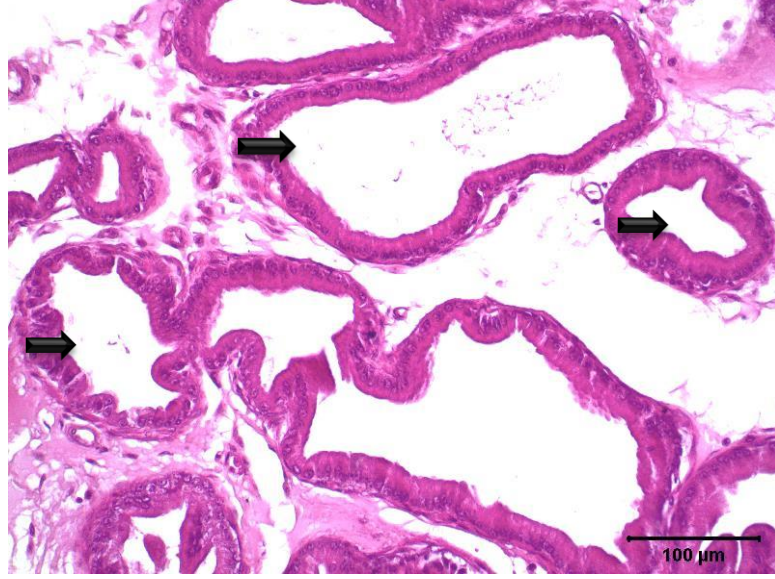


**Şekil 3. 22.** Etinil östradiyol 0,7 µg/kg/gün pozitif kontrol grubundaki sıçana ait seminal vezikül bez salgısında azalma, H&E, 20x.

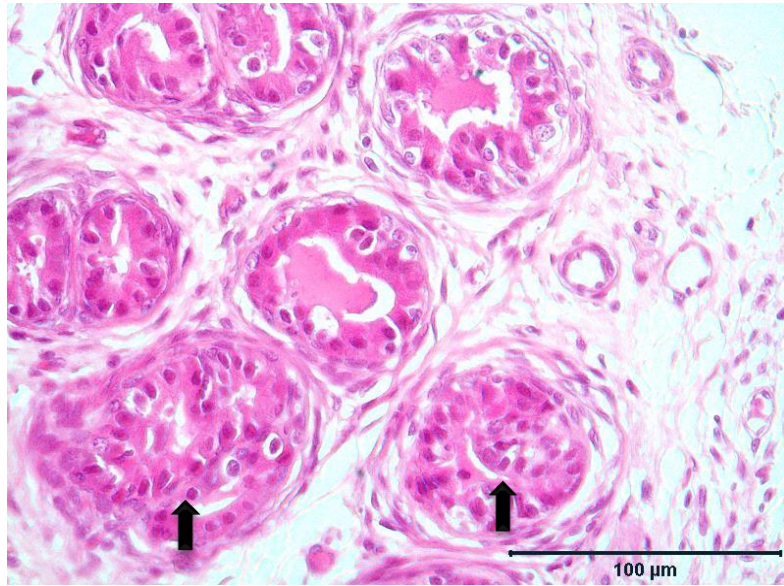


**Şekil 3. 23.** Etinil östradiyol 0,7 µg/kg/gün pozitif kontrol grubundaki sıçana ait seminal vezikül bez salgısında azalma ( **➡**), H&E, 40x.





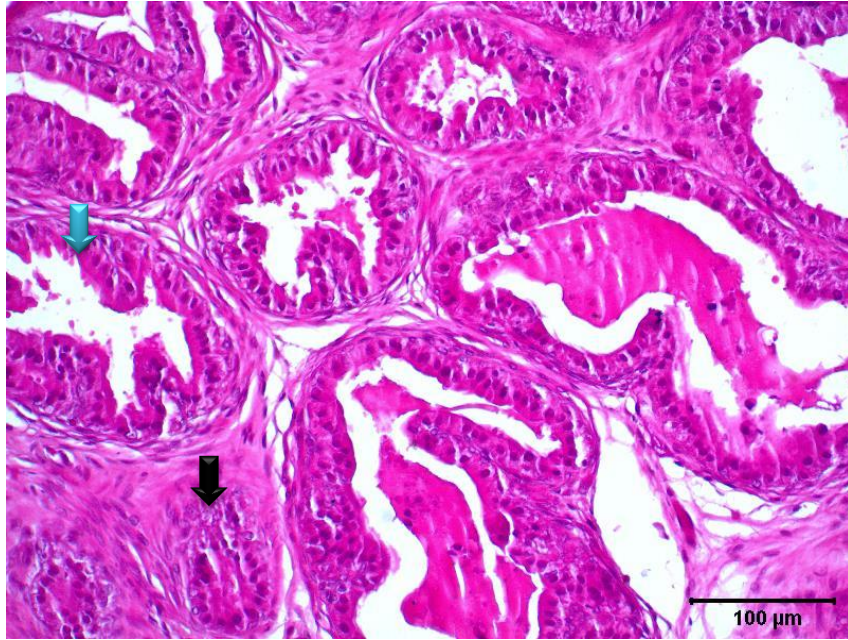
**Şekil 3. 24.** Etinil östradiyol 7 µg/kg/gün pozitif kontrol grubundaki sıçana ait seminal vezikül bez salgısında azalma ( ➡ ), H&E, 40x.



**Şekil 3. 25.** Etinil östradiyol 7 µg/kg/gün pozitif kontrol grubundaki sıçana ait bozulmuş katlantılı mukozaya sahip seminal vezikül dokusu ( ➡ ), H&E, 40x.

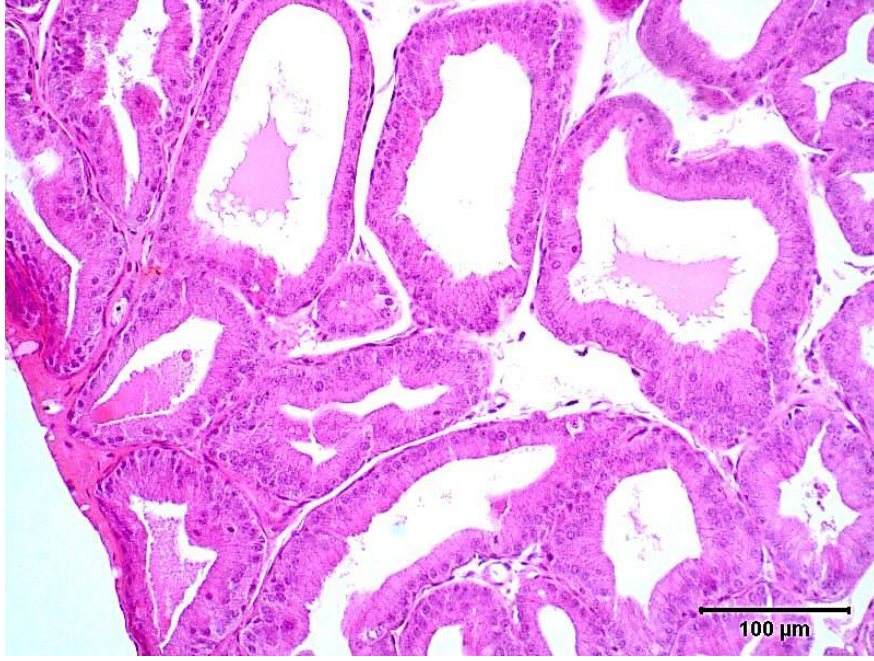


**Şekil 3. 26.** Mirisetin 25 mg/kg/gün uygulama grubundaki sıçana ait seminal vezikül sıvısında azalma, H&E, 40x.



**Şekil 3. 27.** Mirisetin 50mg/kg/gün uygulama grubundaki sıçana ait seminal vezikül sıvısında azalma ( → ), tübüler atrofi görünümü ( → ), H&E, 20x.





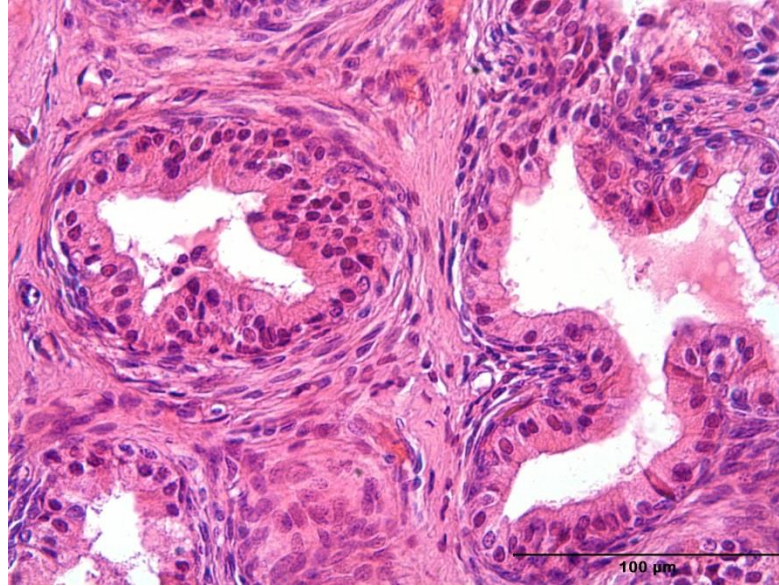
**Şekil 3. 28.** Taşıyıcı kontrol grubundaki sıçana ait prostat dokusunun genel görünümü, H&E, 20x.



**Şekil 3. 29.** Taşıyıcı kontrol grubundaki sıçana ait prostat dokusunda tübüler hiperplazi ( **→** ), H&E, 40x.



**Şekil 3. 30.** Etinil östradiyol 0,7 µg/kg/gün pozitif kontrol grubundaki sıçana ait prostat dokusunda tübüler hiperplazi ( ➡ ), H&E, 40x.

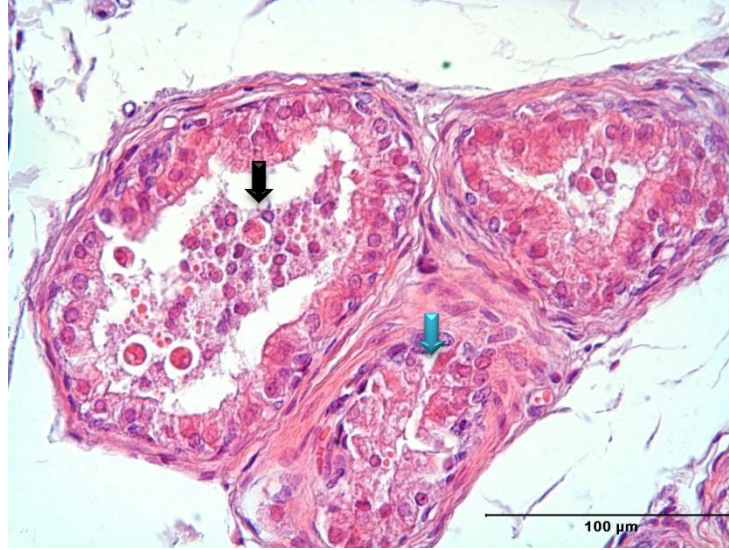


**Şekil 3. 31.** Etinil östradiyol 7 µg/kg/gün pozitif kontrol grubundaki sıçana ait prostat dokusunun genel görünümü, H&E, 40x.





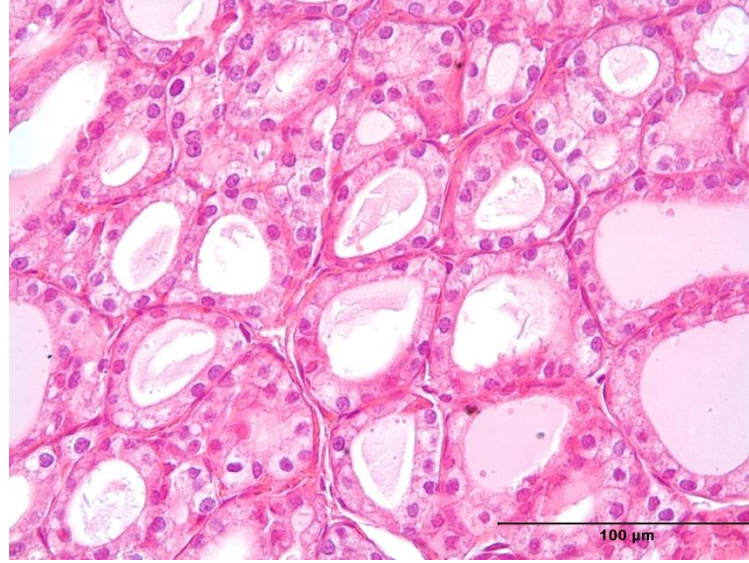
**Şekil 3. 32.** Mirisetin 25 mg/kg/gün uygulama grubundaki sıçana ait prostat dokusunda tübüler hiperplazi ( **→** ), H&E, 40x.



**Şekil 3. 33.** Mirisetin 50 mg/kg/gün uygulama grubundaki sıçana ait prostat dokusunda tübüler atrofi ( **→** ) ve lümeneye atılmış hücreler ( **→** ), H&E, 40x.

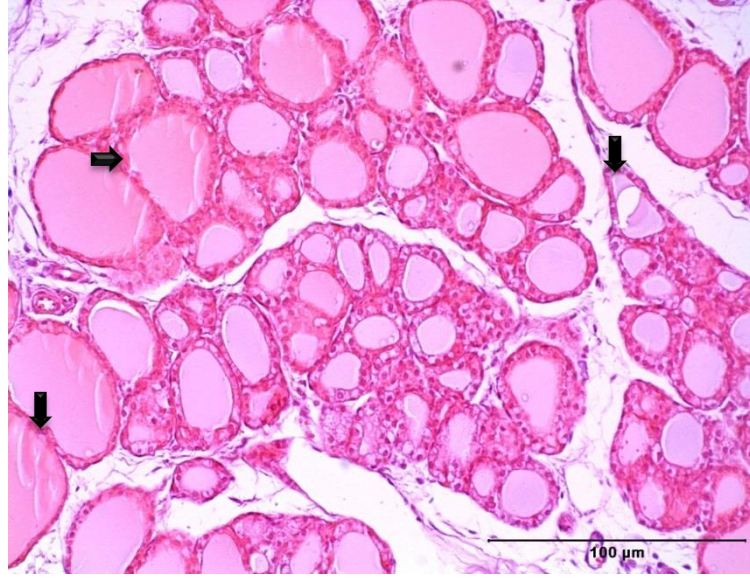
Deney gruplarındaki sıçanların tiroit dokusunun histolojik görüntüsü Şekil 3. 34-3.40' da verilmiştir. Yapılan histolojik incelemelerde etinil östradiyol 7 mg/kg/gün pozitif kontrol grubuna ait sıçanda foliküller arası bağ doku oluşumu, koloidal ve foliküler dejenerasyon gözlenirken, mirisetin 50 mg/kg/gün uygulama grubunda foliküller arası konjesyon gözlenmiştir.

Mirisetinin karaciğere olan etkisini belirlemek için kan serum analizleri yapılmış ve AST, ALT ve LDH karaciğer enzimleri için taşıyıcı kontrol grubu ile uygulama grupları arasında anlamlı bir artış ya da azalış bulunmamıştır. Ancak karaciğer dokularını histolojik olarak taşıyıcı kontrol grubu ile karşılaştırarak incelendiğimizde bazı hayvanların karaciğer dokusunda mirisetin sinüzoidal dilatasyona, hücresel erimeye, ödeme, vasküler konjesyona ve mononükleer hücre infiltrasyonuna yol açmaktadır (Şekil 3.41- 3.45).



**Şekil 3. 34.** Taşıyıcı kontrol grubundaki sıçana ait tiroit dokusunun genel görünümü, H&E, 40x.

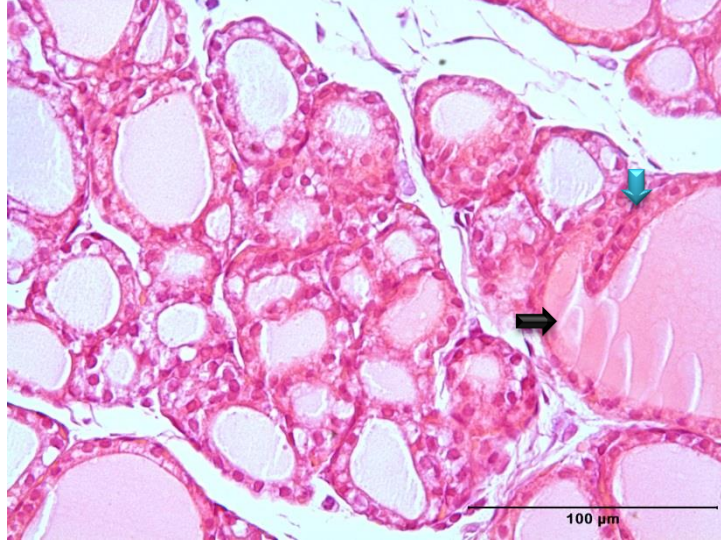




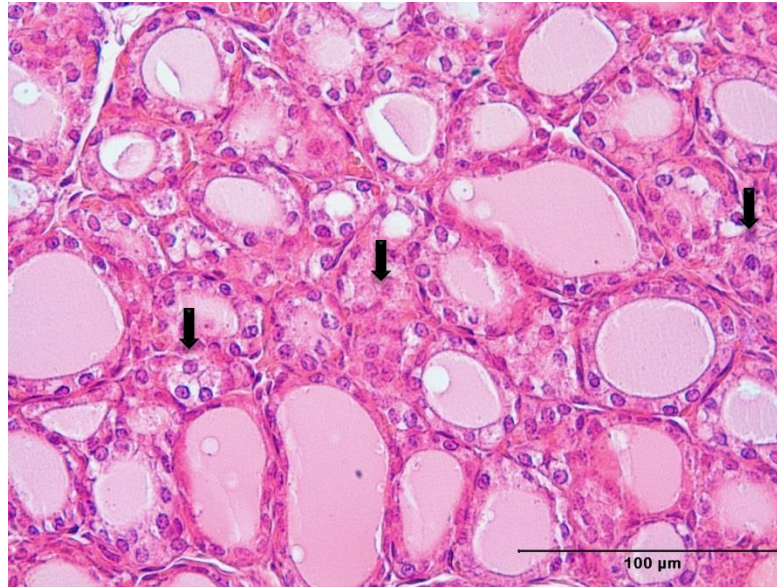
**Şekil 3. 35.** Etinil östradiyol 0,7 µg/kg/gün pozitif kontrol grubundaki sıçana ait tiroit dokusunda kolloidal sıvıda artış ( → ), H&E, 20x.



**Şekil 3. 36.** Etinil östradiyol 0,7 µg/kg/gün pozitif kontrol grubundaki sıçana ait tiroit dokusunda foliküler dejenerasyon ( → ), H&E, 40x.

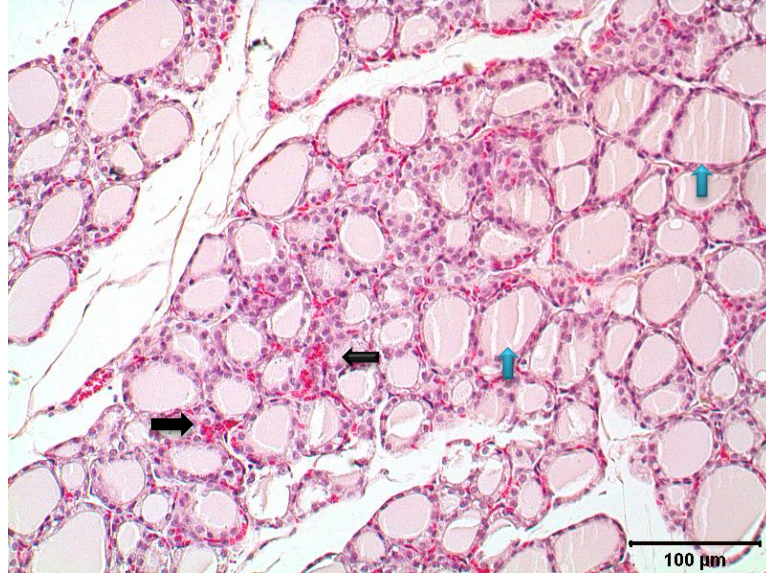


**Şekil 3. 37.** Etinil östradiol 7 µg/kg/gün pozitif kontrol grubundaki sıçana ait tiroit dokusunda kolloidal ( ➡ ) ve foliküler dejenerasyon ( ➡ ), H&E, 40x.

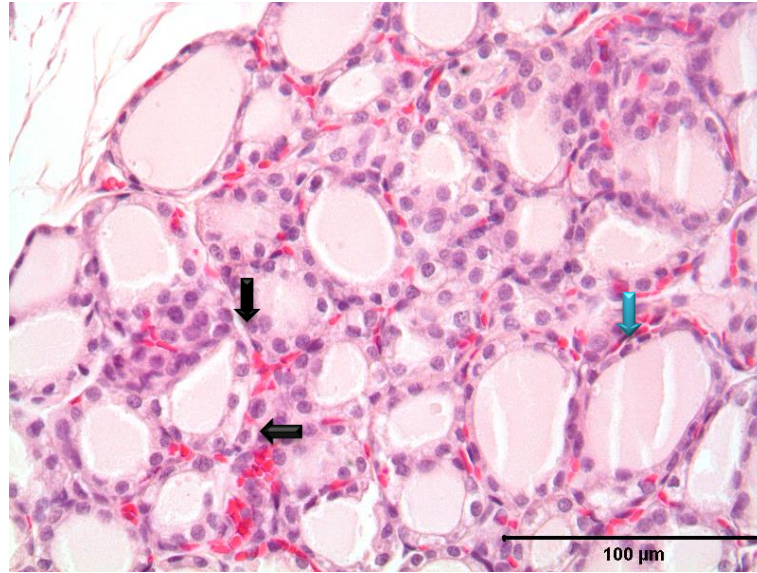


**Şekil 3. 38.** Mirisetin 25 mg/kg/gün uygulama grubundaki sıçana ait tiroit dokusunda foliküler dejenerasyon ( ➡ ), H&E, 40x.

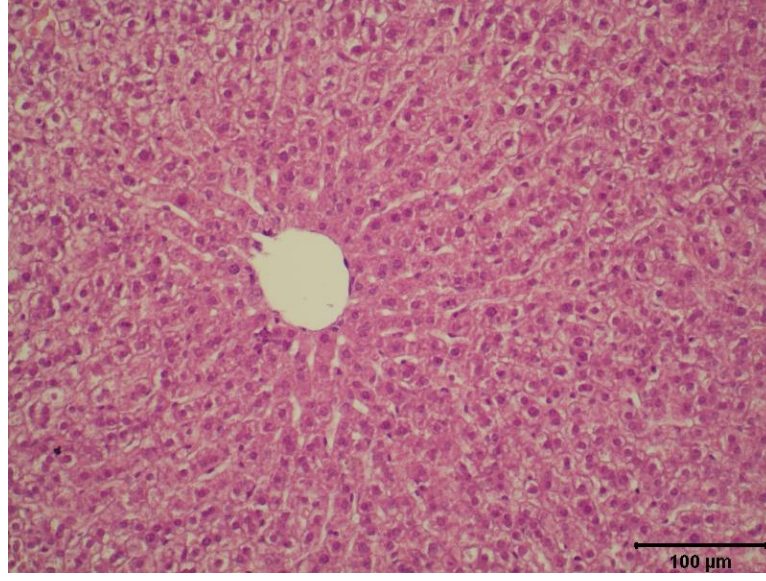




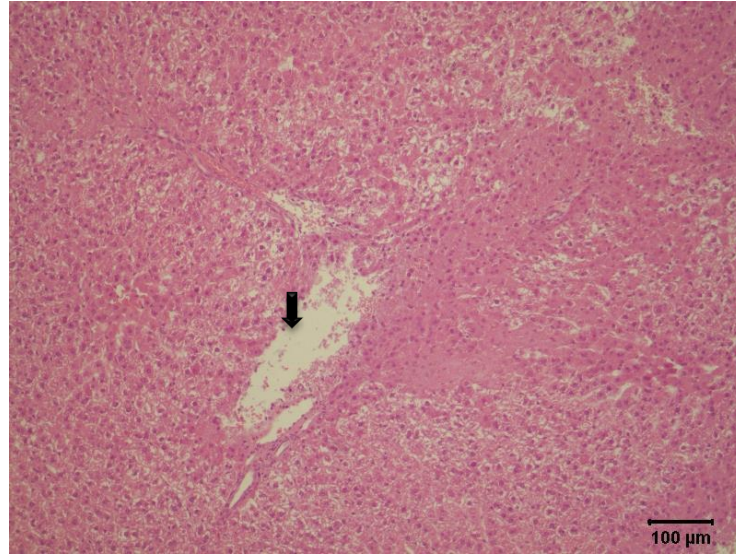
**Şekil 3. 39.** Mirisetin 50 mg/kg/gün uygulama grubundaki sıçana ait tiroit dokusunda kolloidal dejenerasyon ( **→** ) ve folüküller arası konjesyon ( **→** ) görünümü, H&E, 20x.



**Şekil 3. 40.** Mirisetin 50 mg/kg/gün uygulama grubundaki sıçana ait tiroit dokusunda kolloidal dejenerasyon ( **→** ) ve folüküller arası konjesyon ( **→** ) görünümü, H&E, 40x.

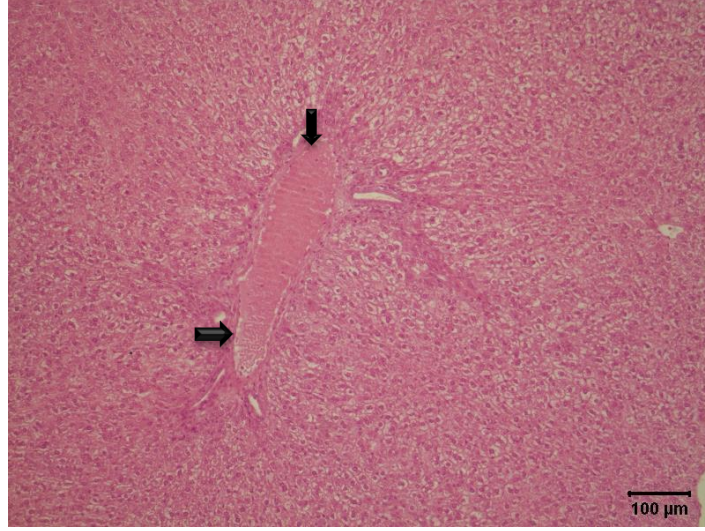


**Şekil 3. 41.** Taşıyıcı kontrol grubuna ait karaciğer dokusunun genel görünümü, H&E, 20x.

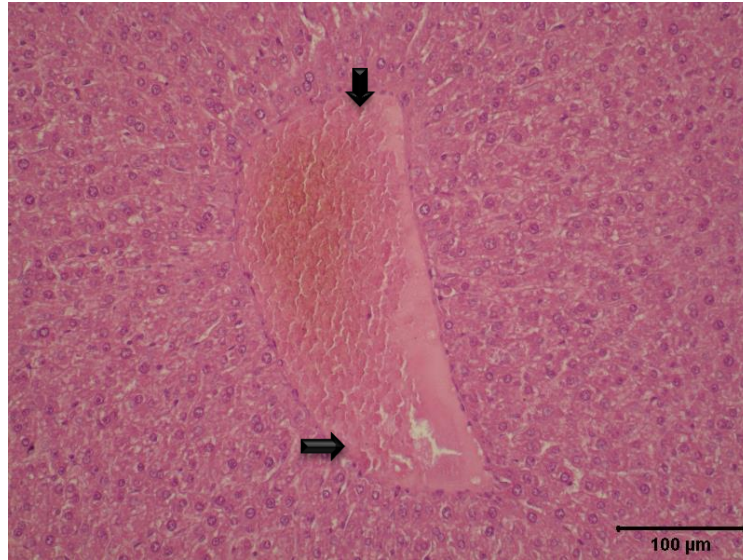


**Şekil 3. 42.** Etinil östradiyol 0,7 µg/kg/gün pozitif kontrol grubundaki sıçana ait karaciğer dokusunda hücresel erime ( → ), H&E, 10x.

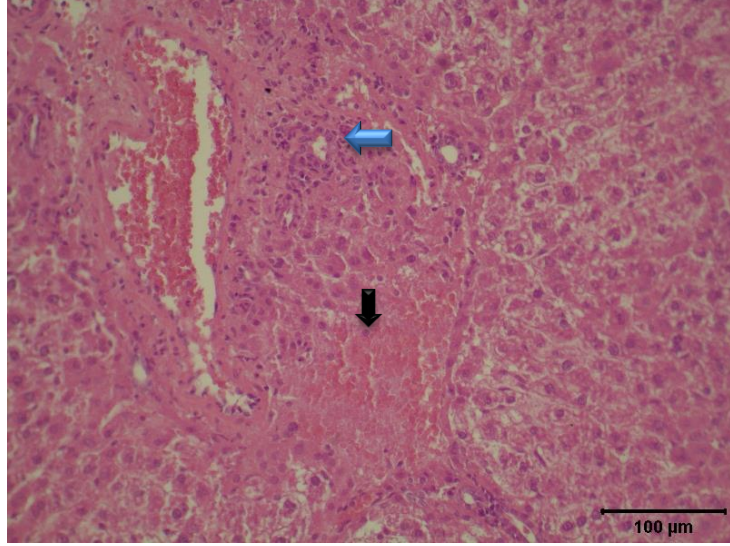






**Şekil 3. 43.** Etinil östradiyol 7 µg/kg/gün pozitif kontrol grubundaki sıçana ait karaciğer dokusunda sinüzoidal dilatasyon ve vasküler konjesyon ( ➡ ), H&E, 10x.



**Şekil 3. 44.** Mirisetin 25 mg/kg/gün uygulama grubundaki sıçana ait karaciğer dokusunda ödem ( ➡ ), H&E, 20x.



**Şekil 3. 45.** Mirisetin 50 mg/kg/gün uygulama grubundaki sıçana ait karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (  ) ve konjesyon (  ) görünümü, H&E, 20x.

## 4. TARTIŞMA/SONUÇ

Son on yıl içinde bitkilerde bulunan biyoaktif bileşiklerin fizyolojik ve farmakolojik rolleri bilim insanlarının ilgi odağı olmuştur. İlk olarak yoncayla zengin alanda otlayan koyunlarda ve hayvanat bahçelerinde yüksek soya içerikli yemle beslenen çitalarda bitkisel fitokimyasalların memelilerde üreme bozuklukları gibi normal biyolojik süreci etkilediği ortaya çıkmıştır [43]. Yapılan hayvan çalışmaları fitoöstrojenlerin endokrin bozucu olarak hareket ettiklerini ve endokrin sistemi olumsuz yönde etkileyeceklerini savunmaktadır [22]. Buna karşın bazı epidemiyolojik ve deneysel çalışmalar fitoöstrojen zengin yiyecek tüketiminin insan sağlığına bir takım yararlar sağlayabileceğini göstermektedir. Japonya gibi ülkelerde soya tüketimi dolayısıyla izoflavonoid tüketimi fazladır. Burada yaşayan insanlarda, meme ve prostat kanseri gibi östrojenle ilişkili kanser türlerinin görülme riski oldukça düşüktür [18]. Ayrıca bu bileşiklerin, östrojenle ilişkili kardiyovasküler hastalıkları, menopozal semptomları ve menopoz sonrası osteoporozisi engellediği ya da baskıladığı savunulmaktadır. Bu her iki etkinin oluşmasında maruziyetin gerçekleştiği yaş, doz miktarı, verilen bileşiğin yapısı gibi faktörler etkilidir [68]. Fakat insanlar bu gibi faktörleri dikkate almadan fitoöstrojen içerikli besin takviyelerini tüketmeye devam etmektedirler. Özellikle antioksidan etkilerinden ötürü ek besin olarak alınan mirisetinin aşırı dozda tüketimine bağlı ileride oluşturabileceği rahatsızlıkları ortaya koyabilecek *in vivo* ya da *in vitro* bir çalışma bulunmamaktadır. Yapılacak çalışmalara ışık tutması amacıyla bu tez çalışmasında östrojenik etkisi juvenil dişi sıçanlarda uterotrofik analiz yöntemi ile kanıtlanmış olan mirisetinin [67] erkek juvenil sıçanlarda puberteye geçiş döneminde oluşturabileceği tiroit ve gonad gelişimi üzerine etkileri incelenmiştir.

Bu doğrultuda EPA Endokrin Bozucu Tarama Programı (EDSP) Tier 1 erkek pubertal protokolü uygulanmıştır [66]. Bu protokol, üreme gelişimini ve tiroit işlevini değiştirebilen endokrin bozucu kimyasalların tespitinde kullanılmaktadır. Bu *in vivo* tanımlayıcı protokolün amacı; pubertal gelişimde meydana gelen değişiklikleri, tiroit toksikantlarını, tiroit hormon sentezi veya klerans gibi çok sayıda işlevsel mekanizma yoluyla teşhis etmektir [69].

Bu protokole göre; PN 21. günde sütten kesilmiş erkek sıçanlara PN 23. günden PN 53. güne kadar mirisetin gavaj yoluyla 30 gün boyunca verilmiştir. Çünkü bu uygulama süresi pubertal gecikme ve antitiroid etkileri saptayabilmek için yeterli bir süredir [66]. Mirisetin için çözgen madde olarak toksik etkisi olmayan, test maddesinin özelliklerini değiştirmeden onu tutabilen, temiz, tortu içermeyen, mısır yağı kullanılmıştır.

Çalışmamızda uygulanacak doz miktarı, yapılan çalışmalarda mirisetinin etkili olduğu doz miktarları ve literatürde yer alan günlük tahmini flavonoid tüketimi dikkate alınarak belirlenmiştir. Amerika Tarım Bakanlığı'nın yaptığı inceleme sonucu Amerikalı yetişkinlerin ortalama günlük flavonoid tüketimi 189,7 mg' dır. Bu değer % 6,8' inin yaklaşık 12,9 mg' ının flavonol tüketimi olduğu belirtilmiştir [70]. Mirisetin güçlü antioksidan olması ve LDL kolesterolü düşürücü özelliği nedeniyle besin takviyesi olarak tablet şeklinde ticari olarak satılmaktadır ve 1 tabletin içinde 100 mg mirisetin bulunmaktadır. Bitkisel besinlerin yapısında bulunan apigenin, filoretin ve mirisetinin fitoöstrojenik potansiyellerinin belirlenmesinin amaçlandığı bir çalışmada dişi sıçanlara günlük verilecek doz miktarları 1 mg/kg/gün, 10 mg/kg/gün ve 100 mg/kg/gün olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada 3 gün boyunca PN 19 günlük dişi sıçanlara uygulanan fitoöstrojenlerden mirisetinin sıçanların uterus dolu ve boş ağırlıklarında en fazla artışa neden olduğu için en yüksek fitoöstrojenik etkiye sahip olduğu tanımlanmıştır [67]. Jüvenil/ peripubertal erkek sıçanlarda pubertal gelişim ve tiroit fonksiyon analiz yöntemine göre en yüksek doz etkisi görülen doz miktarı ya da bu doz miktarının altında bir doz belirlenmelidir. Bunun üzerine etkisi görülen dozun altında bir değer olan 50 mg/kg/gün mirisetin yüksek doz grubu ve literatürde belirtilen günlük flavonol tüketiminin üstünde 25 mg/kg/gün mirisetin düşük doz grubu oluşturulmuştur.

Potansiyel östrojenik etkisi dişi sıçanlarda bilinen mirisetinin erkek sıçanlarda meydana getireceği pubertal değişikliklerin mirisetinden kaynaklandığını tanımlayabilmek için hayvanlara verilen yemin fitoöstrojenik içerik barındırmaması gerekmektedir [66]. Bu nedenle hayvanlara içeriğinde fitoöstrojen olmayan özel yem yapılmıştır.

Jüvenil/ peripubertal erkek sıçanlarda pubertal gelişim ve tiroit fonksiyon analiz protokolünün önemli noktalarından biri hayvanlarda prepütyal ayrılmanın



gerçekleştiği günü kaydetmektir. Erkek sıçanda post- natal eşeyssel gelişme dört dönemden oluşmaktadır. PN 1. ve 7. günler yenidoğan dönem, PN 8. ve 21 günler infantil dönem, PN 22. ve 35. günler jüvenil dönem olarak kabul edilirken, ilk olgun spermatozoanın vas deferenste görüldüğü PN 36. ve 55. günler peripubertal dönem olarak sınıflandırılmıştır [71]. Glans penisten prepüsün (sünnet derisinin) ayrılması olan prepüsyal ayrılma, erkek sıçanda ergenliğe geçişin göstergesi olarak kullanılmaktadır. Normal olarak PPS'nin gerçekleşme yaşı hayvan ırkına göre değişmekle birlikte PN 40. ve 50. günler arasındadır. Sünnet derisinin el ile tam olarak geri çekilmesi olarak tanımlanan prepüsyal ayrılma, ayrılmanın ilk belirtisinden sonra 24 saat içinde tamamlanır. Hayvanı strese sokmadan ve dissekte etmeden pubertenin gerçekleşme yaşı kolay ve hızlı bir şekilde anlaşılmaktadır [72]. Prepüsyal ayrılmanın androjenlere bağlı olarak oluştuğu düşünülmektedir. Çünkü kastrasyon prepüsyal ayrılmayı bloke ederken, testosteron veya dihidrotestosteron ilavesi kastrasyon etkisini yok etmektedir [73]. Hem östrojenik hem de anti-androjenik kimyasallar erkek pubertesinde gecikmelere yol açabilmektedir. Bu çalışmada, PPS oluşumunun kontrolü PN 30. günden itibaren başlanmış ve gerçekleşene kadar devam ettirilmiştir. Yapılan istatistiksel analizlere göre mirisetin yüksek doz grubu dışındaki tüm gruplarda PPS yaşı, taşıyıcı kontrolden önemli derecede farklı bulunmuştur ( $p:0,00 \leq 0,05$ ). Taşıyıcı kontrol grubunda PPS erken gerçekleşirken (PND 31-32), pozitif kontrol gruplarında ve mirisetin 25 mg/kg/gün doz grubunda geç (PND 37-40) gerçekleşmiştir. Etilin östradiyol pozitif kontrol grupları ile mirisetin düşük doz grubu hemen hemen aynı günlerde prepütyal ayrımın gerçekleştiği gözlenmiştir. Bu gruplar taşıyıcı kontrol grubundan daha geç zamanda PPS yaşı belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada sentetik östrojen olan etinil östradiyolün 10 µg/kg/gün erkek sıçanlara verildiğinde PPS' nin geç gerçekleştiği rapor edilmiştir [73]. PPS' nin gerçekleştiği vücut ağırlığında, gruplar arasında önemli bir farklılık tespit edilmemiştir ( $p:0,935 \geq 0,05$ ).

Deney süresince her gün uygulamadan önce hayvanların vücut ağırlıkları, tükettikleri yem ve su miktarları kaydedilmiştir. Yapılan istatistiksel anlamlılık testine göre gruplar arasında ortalama tüketilen yem ve su miktarları arasında önemli bir farklılık tespit edilmemiştir ( $p \geq 0,05$ ). Buna göre mirisetinin düşük ve yüksek dozu besin ve su tüketimini etkilememektedir.

Çalışmamızda taşıyıcı kontrol, pozitif kontrol ve uygulama gruplarındaki erkek sıçanların bitiş vücut ağırlıkları arasındaki ilişki istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Mirisetin uygulanan grupları kendi aralarında karşılaştırdığımızda vücut ağırlıkları bakımından fark bulunmuştur. 25 mg/kg/gün mirisetin uygulama doz grubuna ait sıçanların vücut ağırlıkları 50 mg/kg/gün mirisetin uygulanan gruptaki sıçanlardan daha fazladır. Bu sonuca göre mirisetin uygulama doz artışı sıçanlarda besin ve su tüketimini etkilemezken vücut ağırlıklarında bir azalmaya yol açmaktadır. Trent ve arkadaşları bitkilerde doğal olarak bulunan östrojen benzeri molekül tüketiminin dişi ve erkek sıçanlarda vücut ağırlığı üzerinde düşürücü bir etkisi olduğunu göstermişlerdir. Buna ek olarak; fitoöstrojenlerin su ve besin tüketimini artırdığını gözlemlemişlerdir [74].

Deney sonunda PN 53. günde gruplardaki sıçanların organ ağırlıkları ve organ/vücut ağırlık oranları arasındaki ilişki istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Genel olarak taşıyıcı kontrol grubundaki sıçanların organ ağırlıkları ve rölatif ağırlıkları, uygulama gruplarındaki hayvanların verileriyle karşılaştırıldığında gruplar arasında önemli bir farklılık bulunmamıştır. Ancak, mirisetin 50 mg/kg/gün doz uygulanan sıçanların karaciğer doku ağırlığı taşıyıcı kontrol grubundaki hayvanlara göre düşük bulunmuştur. Chia Ju Chang ve arkadaşları mirisetinin antihiperlipidemik etkisini incelemişlerdir. Bu çalışmada yüksek yağ içeren diyetle beslenen sıçanlara her gün 300 mg/kg oral yolla mirisetin verilmiştir. 'Mirisetinin sıçanlarda hepatik trigliserid ve kolesterol miktarlarını düşürdüğü gibi hepatik lipid damlacık birikimini ve epididimal adiposit boyutunu da düşürmektedir.' sonucuna varmışlardır. Bu çalışmaya göre; mirisetin bu etkileri, karaciğerde bulunan yüksek yağlı diyetle indüklenmiş hepatik peroksizom çoğaltıcıyı aktive eden reseptör (PPAR)  $\alpha$ 'nın aşağı regülasyonunu ters çevirerek ve hepatik sterol düzenleyici element bağlayan proteinlerin (SREBPs) artan ekspresyonlarını düşürerek yapmaktadır [75]. Dolayısıyla, mirisetin yüksek doz verilmiş sıçanlarda karaciğer ağırlığındaki düşüş mirisetinin karaciğerdeki lipid depolama regülasyon etkisinden kaynaklı olabilir.

Mirisetin metabolizmasından sorumlu başlıca organ karaciğerdir [46]. Deney sonunda elde edilen serum örneklerinde karaciğer hasarında biyokimyasal belirteç olarak kullanılan ALT, AST ve LDH enzim aktiviteleri incelenmiştir.

ALT; transaminazlara aittir. Serum glutamat piruvat transaminaz (SGPT) olarak da adlandırılır. Başta karaciğer olmak üzere böbrekte, kalpte ve iskelet kasında üretilir. ALT ölçümleri, parankimal karaciğer hasarını teşhis etmede kullanılır. Herhangi bir klinik anormallik olduğunda, bu enzim düzeylerinde artış gözlenir [76]. Yapılan analiz sonucunda, mirisetin 50 mg/kg/gün uygulama dozunun ALT değeri taşıyıcı kontrole göre artmış olarak gözlemlenmiştir istatistiksel olarak bu farklılık anlamlı bulunmamıştır.

Serum glutamat oksaloasetat transaminaz (SGOT) olarak da adlandırılan AST, hücrenin sitoplazmasında ve yüksek konsantrasyonlarda kalpte, karaciğerde ve iskelet kas dokusunda bulunur. Miyokardiyal enfarktüs ve hepatik hastalıkların tedavi ve tanısında kullanılır. AST'nin 5-10 kat yükselmesi karaciğerde birincil metastatik karsinoma olduğunu gösterir [76]. Çizelge 4. 7.'de görüldüğü gibi mirisetin 50 mg/kg doz grubuna ait AST değeri taşıyıcı kontrol grubuna göre artma göstermiştir. Fakat istatistiksel olarak incelendiğinde ikisi arasındaki farklılık anlamlı bulunmamıştır.

LDH, hücrelerin sitoplazmasında bulunur. LDH' in en yüksek aktivitesi iskelet kasında, karaciğerde, kalpte, böbrekte ve kırmızı kan hücrelerinde olur. Hücre hasarının olduğu tüm durumlarda düzeyi artar. Akut viral hepatit, siroz, akciğerlerde ve böbreklerde tümör ve hemolitik hastalıkların tanısında kullanılır. Mirisetin uygulama gruplarında LDH düzeyi azalmıştır. Screehofer ve arkadaşlarının yaptıkları *in vitro* çalışmada, daidzein ve genisteinin sıçan embriyonik kortikal nöronlardaki LDH üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir [77].

Bazı fitokimyasallar hepatotoksikken, bazıları da hepato koruyucudur [78]. Mirisetin uygulama grupları ile taşıyıcı kontrol deney grupları arasındaki ALT, AST ve LDH değerlerinde anlamlı bir artış ya da azalışın olmayışı erkek sıçanlarda 25 ve 50 mg/kg dozlarında uygulanan mirisetinin serum analizlerinde değişikliğe yol açmadığını gösterir. Ancak uygulama gruplarının karaciğer kesitlerini histolojik olarak incelediğimizde mirisetin 25 mg/kg/gün doz grubunda sinüzoidal dilatasyona ve konjesyon görünümüne rastlanmıştır. Buna ek olarak,

mirisetin 50 mg/kg/gün doz grubuna ait sıçan karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu gözlenmiştir. Dolayısıyla hayvanlara uyguladığımız mirisetin düşük ve yüksek doz miktarı ortalama serum değerlerini etkilemezken, karaciğer gelişimini olumsuz yönde etkilediğini söyleyebiliriz.

Glikoz, hücrelerin normal işlevi için gereklidir. Ölçümleri Tip 1 ve Tip-2 diabetin tanısında, neonatal hipoglisemi ve pankreatik adacık hücre karsinoma teşhisinde kullanılır. Östrojenlerin glukoz metabolizmasında rol oynadıkları ve insülin hassasiyetini düzenledikleri bilinmektedir [79]. Tip 2 diyabet sıçan modellerinde yapılan bir çalışmada; dişi sıçanlarda overektomi hiperglisemiyi etkilerken, östrojen perfüzyonu erkek sıçanlarda diyabet hastalığını geriye döndürmüştür [80]. Mirisetin uygulama gruplarıyla kontrol grupları arasındaki glukoz değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmasada, mirisetin uygulama gruplarındaki glikoz değerleri taşıyıcı kontrol grubuna göre düşük çıkmıştır. Bu durum mirisetinin insüline bağlı glukoz metabolizmasına etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Flavonoidlerin yüksek konsantrasyonlarda besin ile alımı (örneğin, mirisetin, kuersetin) bağırsakta proteoliz engellenmesi, glikoz alımı azalması, besin alımı ve mineral emilimi bozulmasına yol açmaktadır [81].

Total protein, serum proteinleri özellikle karaciğerde, plazma hücrelerinde, lenf nodlarında, dalakta ve kemik iliğinde sentezlenir. Kan kaybında, nefrotik sendromda ve tuz tutma sendromunda düşük çıkar. Total protein, albümin ile birlikte tanılarda ve tedavilerde kullanılır. Analiz sonucuna göre, mirisetin uygulama gruplarında total protein seviyesi taşıyıcı kontrol grubundan fazladır. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Asma ve arkadaşları post menopozal kadınlara 3 ay boyunca fitoöstrojen tablet verdiklerinde total serum protein seviyelerinde artış gözlemişlerdir. Ancak, araştırmacılar bu farklılığı istatistiksel olarak anlamlı bulmamışlardır [82].

Albümin, insan ve diğer memeli hayvanların kan plazmasında bulunan en yaygın proteindir. Kanda bulunan proteinlerin % 60'ını oluşturur. Ayrıca, doku sıvılarında, özellikle kas ve deride, az miktarda gözyaşı, ter, mide suları ve safrada da bulunur. Yağ asitleri ve çeşitli başka maddeleri kanda taşımasının yanı sıra en önemli işlevi, kan ile doku sıvıları arasında suyun dengelenmesini sağlamaktır. Mirisetin 50 mg/kg/gün uygulama grubundaki albümin değeri

taşıyıcı kontrol grubuyla benzer bulunmuştur. Etilil östradiyol uygulanan her iki deney grubundaki sıçanların albümin değerlerinde azalma gözlenmiştir. Dolaşımdaki östradiyol seks hormonu bağlayıcı globülinlere ve albumine bağlı olarak bulunur. Bu nedenle bu gruplara ait serumda serbest albümin miktarı azalmış olabilir.

Kreatin vücutta; L-Arjinin, Glisin ve L-Metiyonin aminoasitlerinden; böbrekte, karaciğerde ve pankreasta sentezlenir. Biyosentezden sonra iskelet kaslarına, kalbe, beyne ve diğer dokulara taşınır. Kreatin bu dokularda en büyük enerji depolayıcı form olan kreatin fosfat halinde metabolize olur. Kan kreatin düzeyi artışı böbreğin yetersiz çalıştığına bir göstergesidir. Nefropatiyi teşhis etmede, kan üre nitrojeninden (BUN) daha hassas bir renal fonksiyon göstergesidir [83]. Yapılan istatistiksel teste göre, kontrol gruplarıyla uygulama grupları arasında fark olmadığı bulunmuştur.

Üre- nitrojen, ekzojen veya endojen doku proteinlerinin katabolizmasından türeyen bir metabolittir. İnsanlarda protein katabolizmasının metabolik ürünüdür. Pre-renal ve post-renal üremi ayırımını tespit etmede kreatinin ile birlikte ölçülür. Pre-renal üremi kardiyak dengelemede, su tüketiminde, artan protein katabolizmasında, nefrit, kronik nefrit, polikistik böbrek ve nefroskleroz da gözlenir. Mirisetinin 50 mg/kg/gün doz grubundaki üre seviyesi taşıyıcı kontrol grubuyla benzer çıkmıştır. İstatistiksel olarak mirisetin 25 mg/kg/gün doz grubunun BUN değeri 7 µg/kg/gün etinil östradiyolden yüksek bulunmuştur. Mirisetinin düşük dozu erkek sıçanlarda taşıyıcı kontrole göre üre- nitrojen seviyesini artan yönde değiştirmiştir. Fakat istatistiksel olarak bu artış anlamlı bulunmamıştır. Dolayısıyla mirisetinin böbrek toksisitesine neden olmadığını söyleyebiliriz.

Hematolojik analizler kapsamında, lökosit, lenfosit, monosit, eritrosit, MCV, hematokrit, MCH, MCHC, hemoglobin, trombosit ve Pct gibi önemli parametreler istatistiksel olarak değerlendirilmiştir. Yapılan analizler sonucunda, mirisetin 50 mg/kg/gün doz grubundaki MCV, hemoglobin ve monosit değerleri yağ kontrol, pozitif kontrol ve mirisetin 25 mg/kg/gün doz gruplarından istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Mirisetin yüksek doz grubunun MCV ve hemoglobin parametreleri diğer gruplara göre artış göstermiştir. MCV 'nin yüksek olması eritrositlerin geniş olduğunu gösterir ve genellikle B12 vitamini

eksikliği anemisinde MCV değeri yüksek bulunur. Ayrıca mirisetin 50 mg/kg/gün doz grubunda kanda bulunan toplam hemoglobin miktarında artış tespit edilmiştir. Eritrositlerde bulunan hemoglobin dokulara oksijen taşımaktadır. Akciğer ya da kalp işlev bozukluğunda kandaki düşük oksijen değerlerini kompanse etmek için eritrositler tarafından hemoglobin üretimi artar. Herhangi bir enfeksiyon durumunda artan lökosit, lenfosit ve monosit değerleri incelendiğinde [84] lökosit ve lenfosit değerlerinde gruplar arasında bir farklılık gözlenmezken mirisetin 50 mg/kg/gün doz grubuna ait monosit (%) taşıyıcı kontrol grubuna göre ciddi şekilde düşük bulunmuştur. Karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu gözlenmiştir. Bundan dolayı kanda monosit değerleri azalmış olabilir. Diğer parametreler gruplar arasında karşılaştırıldığında önemli bir istatistiksel fark bulunmamıştır.

Mirisetin 25 mg/kg/gün doz grubunda PPS' nin geç gerçekleşmesi pubertenin geç meydana gelmesi demektir. Bu doğrultuda sıçanlarda mirisetinin düşük dozda özellikle erkek üreme sisteminin işlevsel gelişimini olumsuz yönde etkilediği söylenebilir [66]. Bu durumu desteklemek amacıyla testis, epididimis, seminal vezikül ve prostat histolojik yönden incelenmiştir.

Testis dokusu taşıyıcı kontrol grubuna göre değerlendirilmiştir. Özellikle etinil östradiyol yüksek doz grubunda görülen hücrelerin düzensiz dağılımı, çok çekirdekli dev hücre ve ödem gibi histopatolojik değişiklikler mirisetin uygulama gruplarında da gözlenmiştir. Bu durum mirisetinin östrojenik etkisine bağlı apoptotik etkisinden kaynaklı olabilir. Apoptozis, sperm üretiminin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Androjen ve gonadotropinlerin yokluğu ya da östrojenlerin varlığı germ hücre apoptozisini uyarmaktadır. Anne karnından yetişkinliğe kadar fitoöstrojenle beslenen sıçanlarda spermatogenezin bozulduğu ve germ hücre apoptozisinin arttığı gösterilmiştir [85].

Epididimis steroid bağımlı bir organdır. Testinden salınan spermatidlerin olgunlaşmasından ve depolanmasından sorumludur. Epididimisteki sperm, reaktif oksijenlere karşı hassastır. Bundan dolayı epididimis, steroid regülasyonu ile spermi oksidadif hasardan korur. Daha önce yapılan bir çalışmada, 3 gün boyunca yüksek miktarda fitoöstrojenle beslenen erkek sıçanların epididimal spermelerinde lipid peroksidasyonunun arttığı görülmüştür.

Fitoöstrojenler tarafından steroid regülasyonun bozulması sonucu sperm kalitesinde düşüş gözlenmiştir [86]. Sharpe ve arkadaşları, östrojenin epididimisin baş bölgesindeki luminal sıvının geri emilimini düzenlediğini göstermişlerdir. Bu işlevin bozulması durumunda sperm konsantre olması gerekirken dilüe olarak epididimise girdiği için infertilite meydana gelir [87]. Çalışmamızda taşıyıcı kontrol grubuna ait epididimis kesitlerinde göreceli olarak spermatid varlığı, pozitif kontrol ve uygulama gruplarına ait epididimis kesitlerinde görünenden daha fazla olduğu söylenebilir. Dolayısıyla sıçanda mirisetin spermin epididimal maturasyonunu olumsuz yönde etkilediği düşünülmektedir.

Epididimis histopatolojik olarak incelendiğinde, 7 µg/kg/gün etinil östradiyol pozitif kontrol grubunda ve mirisetin uygulama gruplarında lümene atılmış spermatojenik hücrelere rastlanmıştır. Eşeyssel erginliğe giren hayvanlarda epididimis lümeninde germ hücrelerinin görülmesi yaygın bir durumdur [88].

Erkek üreme sisteminin yardımcı bezleri olan seminal vezikül ve prostat bezi histolojik olarak incelenmiştir. Toksikite çalışmaları sırasında seminal vezikül ve prostat bezinde yaygın olarak görülen değişiklik glandular atrofi kaynaklı boyut ve ağırlıktaki azalmadır. Her iki yapıda androjen bağımlı olduğundan herhangi bir hipofiz gonadal eksenindeki bozulma bu iki organın atrofiye uğramasına yol açabilir. Glandular epitelyumdaki salgılayıcı aktivitedeki azalma sonucu morfolojik değişiklikler meydana gelmektedir [89]. Taşıyıcı kontrole göre seminal vezikül kesitleri incelendiğinde etinil östradiyol 0,7 µg/kg/gün doz grubunun ~ % 67' sinde, etinil östradiyol 7 µg/kg/gün doz grubunun % 50' sinde, mirisetin 25 mg/kg/gün uygulama doz grubunun % 50' sinde ve mirisetin 50 mg/kg/gün uygulama doz grubundaki hayvanların tamamında glandular epitelyumdan salgılanan sıvıda azalma gözlenmiştir. Prostat dokusundaki değişiklikleri taşıyıcı kontrol grubuna göre değerlendirdiğimizde, tübüler atrofi mirisetin 25 mg/kg/gün doz grubunun %50' sinde gözlemlenirken, mirisetin yüksek doz grubunun yaklaşık % 67' sinde görülmüştür. Sonuç olarak, hem prostatta görülen tübüler atrofi hem de seminal vezikül salgısındaki azalma gibi değişikliklerin görülme sıklığı mirisetin doz miktarı arttıkça artmaktadır. Doza bağımlı bir etkinin olduğunu söyleyebiliriz. Memelilerde erken antiandrojenik kimyasal maruziyeti üreme sisteminde malformasyonlara yol açabilmektedir [90]. Mirisetin

antiandrojenik etki göstererek androjen bağımlı dokularda malformasyonlara yol açabileceğini söyleyebiliriz.

Tiroid bezi metabolizmayı, büyüme ve gelişmeyi düzenleyen hormonların üretiminden sorumludur. Tiroid hormonları olarak bilinen tri-iyodotironin ( $T_3$ ) and tiroksin ( $T_4$ ), tiroid bezinde iyot ve aminoasit tirozinden sentezlenir. Bu hormonların sentesi tiroid stimüle edici hormon (TSH) tarafından kontrol edilir. TSH, merkezi sinir sistemi (MSS) tarafından düzenlenir ve hipofiz bezinden salgılanır [64].

Tiroit hormon dengesi hipotalamik-hipofiz-tiroit eksen sınırları içinde hassas geribildirim mekanizması tarafından kontrol edilmektedir. TSH, tiroidi uyararak tiroit hormonu  $T_4$ 'ü salgılatır, sonra biyolojik olarak daha aktif olan  $T_3$ 'e dönüştürülür. TSH salınımının hızı, hem hipotalamus tarafından sentezlenen tirotropin-salgılayan hormon (TRH) tarafından hem de dolaşan  $T_3$  ve  $T_4$  konsantrasyonları tarafından kontrol edilir. Bundan dolayı, tiroit hormon dengesindeki değişiklikler, tiroit hormon sentezinde, salınımında ve yıkımındaki bozukluklardan kaynaklanabilir. Bozukluklar, tiroit hormon kleransındaki artma yoluyla veya iyot alımının engellenmesi sonucunda olabilir. Tiroit hormon dengesindeki değişiklik hepatik mikrozomal enzimlerin indüklenmesi sonucunda veya  $T_4$ 'ü  $T_3$ 'e çevirmekle yükümlü olan 5'-deidonazın engellenmesi sonucunda meydana gelebilir [64]. *In vitro* çalışmalar ve hayvan verilerine göre, özellikle izoflavonlar, hayatın kritik evrelerinde tiroit kanser riskini artırmakta ve guatr oluşumunu hızlandırmaktadır. Kimura ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada iyot olmayan diyetle soya fasulyesi eklendiğinde, Wistar sıçanlarda malignant guatrı arttırdığı bulunmuştur. Bu duruma rağmen, Son ve arkadaşları, erkek ve dişi sıçanlarda izoflavonların tiroit karsinojenizine bir etkide bulunmadığını göstermişlerdir [81]. Mirisetinin erkek sıçanlarda tiroit hormonları üzerine etkilerini ortaya çıkarmak amacıyla deney sonunda serumda tri-iodotironin ( $T_3$ ), serum tiroksin ( $T_4$ ) ve tiroit stimüle edici hormonlarının (TSH) seviyeleri incelenmiştir. Sonuçlara göre, mirisetin uygulanan gruplarda taşıyıcı kontrole göre hormonlarda bir artma olduğu gözlemlenmiştir. İstatistiksel olarak bu artma anlamlı bulunmamıştır. Yalnız TSH'nin p değeri 0,055 bulunmuştur. İstatistiksel anlamlılık derecesine (p: 0,05) çok yakındır. Az da olsa taşıyıcı kontrolden yüksek olduğunu söyleyebiliriz.



Tiroit dokusu histopatolojik olarak incelendiğinde, etinil östradiyol deney grubundaki sıçanların tiroit dokusunda kolloidal ve foliküler dejenerasyona rastlanmıştır. Bu durum mirisetin uygulanan deney gruplarında da gözlenmiştir. Serumda tiroid hormon seviyelerinde taşıyıcı kontrol grubuyla uygulama grupları arasında önemli bir farklılık bulunmazken, mirisetinin doku düzeyinde tiroid bezini olumsuz yönde etkilediği söylenebilir.

Flavonoidler; moleküler, hücresel ve dokusal düzeyde geniş çaplı işlevleri etkileyebilirler. Bu bileşikler yüksek miktarlarda tüketildiğinde oluşabilecek risk ve tehlike henüz tam olarak bilinmemektedir. Çünkü 1) flavonoid ailesinde çok sayıda bileşik bulunmaktadır, 2) flavonoid alımı ile ilgili doğru bilgi eksikliği bulunmaktadır ve 3) tehlike, risk ve güvenlik değerlendirme amaçlı çalışmaların eksik olmasıdır. Bu bileşiklerin yaygın olarak kullanımının önerilebilmesi için daha çok güvenilir araştırmaların yapılması sağlanmalıdır [81].

Mirisetin puberteye geçen erkek sıçanlarda besin ve su tüketimine etki etmezken ergenliğe geçişin bir göstergesi olan prepüsyal ayrımın gerçekleşme gününü geciktirmiştir. Bu durum mirisetinin östrojenik etkisinden kaynaklı olabilir. Testis, epididimis, seminal vezikül ve prostat dokularından aldığımız histolojik kesitleri incelediğimizde taşıyıcı kontrole göre patolojik bulguların sıklığı mirisetin uygulama gruplarında daha fazladır ve pozitif kontrol grubundaki sıçan dokularına daha çok benzemektedir. Tiroit hormon değerlerine baktığımızda ise taşıyıcı kontrole göre hormon seviyelerinde önemli bir farklılık gözlenmemiştir. Mirisetinin doku düzeyinde tiroid bezi yapısını etkilediği söylenebilir [61].

Sonuç olarak, peripuberteden puberteye geçen erkek sıçanlarda mirisetin tüketimi tiroit ve gonadal gelişim üzerine olumsuz etkilerde bulunmaktadır. Bu nedenle takviye besin olarak tüketilen ve ticari olarak satılan ürünlerin denetim altında kullanılmaları ve ileriki dönemlerde oluşturabilecekleri olumsuz etkileri teşhis etmek için uzun dönem *in vivo* ve *in vitro* çalışmaların yapılması önerilmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J., Giudice, L., Hauser, R., Prins, G., Soto, A., Zoeller, R., Gore, A., Endocrine-disrupting chemicals: An endocrine society scientific statement, *Endocrine Reviews*, 30, 293-342, **2009**
- [2] Pflieger-Bruss, S., Schuppe, H.C., Schill, W. B., The male reproductive system and its susceptibility to endocrine disrupting chemicals, *Andrologia*, 36, 337-345, **2004**.
- [3] Kortenkamp, A., Martin, O., Faust, M., Evans, R., McKinlay, R., Orton, F., Rosivatz, E., State of the art assessment of endocrine disrupters final report, **2011**.
- [4] Mitchell, J. H., Cawood, E., Kinniburgh, D., Provan, A., Collins, A. R., Irvine, D. S., Effect of a phytoestrogen food supplement on reproductive health in normal males, *Clinical Science*, 100, 613-618, **2001**.
- [5] Tou, J. C. L., Chen, J., Thompson, L. U., Dose, timing, and duration of flaxseed exposure affect reproductive indices and sex hormone levels in rats, *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A: Current Issues* , 555-570, **2008**.
- [6] Ganry, O., Phytoestrogens and prostate cancer risk, *Preventive Medicine*, 41, 1-6, **2005**.
- [7] De Souza Dos Santos, M.C., Gonçalves, C.F., Vaisman, M., Ferreira, A. C., De Carvalho, D. P., Impact of flavonoids on thyroid function, *Food and Chemical Toxicology*, 49, 2495-2502, **2011**.
- [8] Frye, C., Bo, E., Calamandrei, G., Calza, L., Dessi-Fulgheri, F., Fernandez, M., Fusani, L., Kah, O., Kajta, M., Le Page, Y., Patisaul, H.B., Venerosi, A., Wojtowicz, A.K., Panzica, G.C., Endocrine disrupters: A review of some sources, effects, and mechanisms of actions on behaviour and neuroendocrine systems, *Journal of Neuroendocrinology*, 24, 144-159, **2012**.
- [9] Ottinger, MA., vom Saal, F. S., Impact of environmental endocrine disruptors on sexual differentiation in birds and mammals, hormones and behaviour in higher vertebrates , *New York: Academic Press*, 325-383, **2002**.

- [10] Rasier, G., Parent, A. S., Gerard, A., Lebrethon, M. C., Bourguignon, J. P., Early maturation of gonadotropin-releasing hormone secretion and sexual precocity after exposure of infant female rats to estradiol or dichlorodiphenyltrichloroethane, *Biology of Reproduction*, 77, 734-742, **2007**.
- [11] Toppari, J., Skakkebaek, N. E., Sexual differentiation and environmental endocrine disruptors, *Bailliere's Clinical Endocrinology and Metabolism*, 12, 143-156, **1998**.
- [12] Razandi, M., Pedram, A., Greene, G. L., Levin, E. R., Cell membrane and nuclear estrogen receptors (ERs) originate from a single transcript: studies of ER $\alpha$  and ER $\beta$  expressed in chinese hamster ovary cells, *Molecular Endocrinology*, 307-319, **1999**.
- [13] Nilsson, S., Gustafsson, J. A., Biological role of estrogen and estrogen receptors, *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 1-28, **2002**.
- [14] Tapiero, H., Nguyen B., G., Tew, K. D., Estrogens and environmental estrogens, *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 56, 36-44, **2002**.
- [15] Bennets, H. W., Uuderwood, E. J., A specific breeding problem of sheep on subterranean clover pastures in Western Australia, *The Australian Veterinary Journal*, 22, 2-12, **1946**.
- [16] Dedio, W., *Variation In Estrogenic-like Substances In Red Clover And Alfalfa As Related To Environment, Varieties, And Stage Of Growth*, The Degree of Doctor, University of Manitoba Department of Plant Science, Winnipeg, Manitoba, **1973**.
- [17] Van De Poll, L., Phytoestrogens: health benefits, bioavailability and safety, *AgroFOOD Industry Hi Tech Journal*, 10-11, **2004**.
- [18] Adlercrantz, H., Honjo, H., Higashi, A., Fotsis, T., Hamalainen, E., Hasegawa, T., Okada, H., Urinary excretion of lignan and isoflavonoid phytoestrogen in Japanese men and women consuming a traditional Japanese diet, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1093-1100, **1991**.

- [19] Makela, S., Santti, R., Salo, L., McLachlan, J. A., Phytoestrogens are partial estrogen agonists in the adult male mouse, *Environmental Health Perspective*, 123-127, **1995**.
- [20] Dixon, R. A., Phytoestrogens, *Annual Reviews Plant Biology*, 225-261, **2004**.
- [21] Price, K. R., Fenwick, G. R., Naturally occurring oestrogens in foods- a review, *Food Additives and Containants*, 2, 73-106, **1985**.
- [22] Peeters, P. H. M., Keinan-Boker, L., van der Schouw, Y. T., Grobbee, D. E., Phytoestrogens and breast cancer risk, *Breast Cancer Research and Treatment*, 77, 171-183, **2003**.
- [23] Kamiloğlu, N. N., Beytut, E., Özsar, N. S., İnsan ve hayvan sağlığında fitoöstrojenlerin önemi, *Kafkas Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi*, 8, 189-194, **2002**.
- [24] Whitten, P. L., Lewis, C., Russell, E., Naftolin, F., Potential adverse effect of phytoestrogens, *The Journal of Nutrition*, 771-776, **1995**.
- [25] Strauss, L., Santti, R., Saarinen, N., Streng, T., Joshi, S., Makela, S., Dietary phytoestrogens and their role in hormonally dependent disease, *Toxicology Letters*, 102-103, **1998**.
- [26] Setchell, K. D. R., Phytoestrogens: the biochemistry, physiology, and implications for human health of isoflavones, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 68, 1333-1346, **1998**.
- [27] Xu, X., Duncan, A. M., Merz, B. E., Kurzer, M. S., Effect of soy isoflavones on estrogen and phytoestrogen metabolism in premenopausal women, *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 1101-1108, **1998**.
- [28] Kuiper, G. G. J. M., Lemmen, J. G., Carlson, B., Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor  $\beta$ , *Endocrinology*, 4252-4263, **1998**.
- [29] Kuiper, G. G., Carlsson, B., Grandien, K., Enmark, E., Haggblad, J., Nilsson, S., Gustafsson, J. A., Comparison of the ligand binding

specificity and transcript tissue distribution of estrogen receptors alpha and beta, *Endocrinology*, 863-870, **1997**.

- [30] Ruh, M. F., Zacharewski, T., Connor, K., Howell, J., Chen, I., Safe, S., Naringenin: A weakly estrogenic bioflavonoid that exhibits antiestrogenic activity, *Biochemical Pharmacology*, 1485-1493, **1995**.
- [31] Santhell, R. C., Chang, Y. C., Nair, M. G., Helferich, W. G., Dietary genistein exerts estrogenic effects upon the uterus, mammary, gland and the hypothalamic/pituitary axis in rats, *The Journal of Nutrition*, 263-269, **1996**.
- [32] Strauss, L., Makela, S., Joshi, S., Huhtainami, I., Santti, R., Genistein exerts estrogen- like effects in male mouse reproductive tract, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 144, 83-93, **1998**.
- [33] Kao, Y., Zhou, C., Sherman, M., Laughton, C. A., Chen, S., Molecular basis of the inhibition of human aromatase (estrogen synthetase) by flavone and isoflavone phytoestrogens: A site- directed mutagenesis study, *Environmental Health Perspectives*, 85-92, **1998**.
- [34] Evans, B. A. J., Griffiths, K., Morton, M. S., Inhibition of the 5 $\alpha$ -reductase in genital skin fibroblasts and prostate tissue by dietary lignans and isoflavonoids, *Journal of Endocrinology*, 295-302, **1995**.
- [35] Akiyama, T., Ishida, J., Nakagawa, S., Ogawara, H., Watanabe, S., Itoh, N., Shibuya, M., Fukami, Y., Genistein, a specific inhibitor of tyrosine- specific protein kinases, *The Journal of Biological Chemistry*, 5592-5595, **1987**.
- [36] Bhathena, S. J., Velasquez, M. T., Beneficial role of dietary phytoestrogens in obesity and diabetes, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1191-1201, **2002**.
- [37] Murkies, A. L., Lombard, C., Strauss, B. J., Wilcox, G., Burger, H. G., Morton, M. S., Dietary flour supplementation decreases post-menopausal hot flushes: Effect of soy and wheat, *Maturitas*, 21, 189-195, **1995**.

- [38] Lu, L. J., Anderson, K. E., Grady, J. J., Nagamani, M., Effects of soya consumption for one month on steroid hormones in premenopausal women: Implications for breast cancer risk reduction, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, 5, 63-70, **1996**.
- [39] Anthony, M. S., Clarkson, T. B., Hughes, C. L., Jr., Morgan, T. M., Burke, G. L., Soybean isoflavones improve cardiovascular risk factors without affecting the reproductive system of peripubertal rhesus monkey, *The Journal Of Nutrition*, 43-50, **1995**.
- [40] Hedelin, M., Klint, A., Chang, E. T., Bellocco, R., Johansson, J., Andersson, S., Heinonen, S., Adlercreutz, H., Adami, H., Grönberg, H., Balter, K. A., Dietary phytoestrogen, serum enterolactone and risk of prostate cancer: the cancer prostate sweden study (Sweden), *Cancer Causes and Control*, 17, 169-180, **2000**.
- [41] Adlercreutz, H., Mazur, W., Phyto- oestrogens and Western diseases, *Annals of Medicine*, 29, 95-120, **1997**.
- [42] Ranich, T., Bhatena, S. J., Velasquez, M. T., Protective effects of dietary phytoestrogens in chronic renal disease, *Journal of Renal Nutrition*, 11, 183-193, **2001**.
- [43] Setchell, K. D. R., Gosselin, S. J., Welsh, M. B., Johnston, J. O., Balistreri, W. F., Kramer, L. W., Dressner, B. L., Tarr, M. J., Dietary estrogens a probably cause of infertility and liver disease in captive cheetah, *Gastroenterology*, 93, 225-233, **1987**.
- [44] Ferreyra, M. L. F., Rius, S. P., Casati, P., Flavonoids: biosynthesis, biological functions, and biotechnological applications, *Frontiers in Plant Science*, 3, 1-15, **2012**.
- [45] McDonald, M. S., Hughes, M., Burns, J., Lean, M. E. J., Matthews, D., Crozier, A., Survey of the free and conjugated myricetin and quercetin content of red wines of different geographical origins, *Journal of the Agricultural and Food Chemistry*, 46, 368-375, **1998**.
- [46] Ong, K. C., Khoo, H., Biological effects of myricetin, *General Pharmacology: The Vascular System*, 121-126, **1997**.

- [47] Miesan, K. H., Mohamed, S., Flavonoid (myricetin, quercetin, kaempferol, luteolin, and apigenin) content of edible tropical plants, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 3106- 3112, **2001**.
- [48] Hakkinen, S. H., Karenlampi, S. O., Heinonen, I. M., Mykkanen, H., M., Törrönen, A. R., Content of flavonols quercetin, myricetin, and kaempferol in 25 edible berries, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 2274-2279, **1999**.
- [49] Smith, G. E., Griffiths, L. A., Metabolism of myricitrin and 3,4,5-trihydroxyphenylacetic acid, *Biochemical Journal*, 118, 53-54, **1970**.
- [50] Vissiennon C., Nieber, K., Kelber, O., Butterweck, V., Route of administration determines the anxiolytic activity of the flavonols kaempferol, quercetin and myricetin- are they prodrugs?, *Journal of Nutritional Biochemistry*, 23, 733-740, **2012**.
- [51] Elik, M., Serdaroğlu, G., Özkan, R., Mirisetin ve kuersetin bileşiklerinin antioksidan etkilerinin DFT yöntemiyle incelenmesi, *Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2, 53- 65, **2007**.
- [52] Pekkarinen, S. S., Heinonen, I. M., Hopia, A. I., Flavonoids quercetin, myricetin, kaemferol and (+)- catechin as antioxidants in methyl linoleate, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 499-506, **1999**.
- [53] Anderson, D., Başaran, N., Dobrzynska, M. M., Başaran, A. A., Yu, T., Modulating effects of flavonoids on food mutagens in human blood and sperm samples in the comet assay, *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 17, 45- 58, **1997**.
- [54] Tiwari, R., Mohan, M., Kasture, S., Maxia, A., Ballero, M., Cardioprotective potential of myricetin in isoproterenol- induced myocardial infarction in wistar rats, *Phytotherapy Research*, 23, 1361-1366, **2009**.

- [55] Kang, N. J., Jung, S. K., Lee, K. W., Lee, H. J., Myricetin is a potent chemopreventive phytochemical in skin carcinogenesis, *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1229, 124-132, **2011**.
- [56] Knekt, P., Kumpulainen, J., Jarvinen, R., Rissanen, H., Heliövaara, M., Reunanen, A., Hakulinen, T., Aromaa, A., Flavonoid intake and risk of chronic diseases, *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76, 560-568, **2002**.
- [57] Xu, H., Lee, S.F., Activity of plant flavonoids against antibiotic-resistant bacteria, *Phytotherapy Research*, 15, 39-43, **2001**.
- [58] Kierszenbaum, A. L., *Histoloji Ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş*, (çev. Demir, R., Palme Yayıncılık, Ankara, **2006**.
- [59] Pryor, J. L., Hughes, C., Foster, W., Hales, B. F., Robaire, B., Critical windows of exposure for children's health: The reproductive system in animals and humans, *Environmental Health Perspectives*, 108, 491-503, **2000**.
- [60] Tortora, G. J., Grabowski, S. R., The Reproductive Systems, *In: Principles of Anatomy and Physiology*, John Wiley & Sons, New York, 974-1021, **2000**.
- [61] Eroschenko, V. P., *diFiore'nin Histoloji Atlası*, (çev. Demir, R.), Palme Yayıncılık, Ankara, **2013**.
- [62] Junqueira, L. C., Carneiro, J., Kelley, R. O., *Temel Histoloji*, (çev. Aytekin, Y., Ahışalı, B., Barış Kitabevi, İstanbul, **1988**.
- [63] Anonim, Chapter 21 - Endocrine System: Regulation of Energy Metabolism and Growth, <http://www.droualb.faculty.mjc.edu> (Şubat, **2014**).
- [64] Stoker, T. E., Parks, L. G., Gray, L. E., Cooper, R. L., Endocrine-Disrupting Chemicals: Prepubertal exposures and effects on sexual



maturation and thyroid function in the male rat. A focus on the EDSTAC Recommendations, *Critical Reviews in Toxicology*, 30, 197-252, **2000**.

- [65] Choksi, N. Y. , Jahnke, G. D. , Hilaire, C. S. , Shelby, M. , Role of thyroid hormones in human and laboratory animal reproductive health, *Birth Defects Research. Part B, Developmental and Reproductive Toxicology*, 68, 479-491, **2003**.
- [66] United States Environmental Protection Agency, Endocrine Disruptor Screening Program Test Guidelines, OPPTS 890. 1500: Pubertal Development and Thyroid Function in Intact Juvenile/ Peripubertal Male Rats, **2009**.
- [67] Özer, S., Bitkisel Besinlerin İçeriğinde Bulunan Apigenin, Floretin ve Mirisetinin Fitoöstrojenik Potansiyellerinin Belirlenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2012**.
- [68] Kurzer, M. S., Xu, X., Dietary Phytoestrogens, *Annual Reviews Nutrition*, 353-381, **1997**.
- [69] Stoker, T. E., Ferrell, J. M., Laws, S. C., Cooper, R. L., Buckalew, A., Evaluation of ammonium perchlorate in the endocrine disruptor screening and testing program's male pubertal protocol: Ability to detect effects on thyroid endpoints, *Toxicology*, 228, 58-65, **2006**.
- [70] Chun, O. K., Chung, S. J., Song, W. O., Estimated dietary flavonoid intake and major food sources of U. S. Adults, *The Journal of Nutrition*, 1244-1252, **2006**.
- [71] Ojeda, S. R., Andrews, W. W., Advis, J. P., White, S. S., Recent advances in the endocrinology of puberty, *Endocrine Reviews*, 1, 228-257, **1980**.
- [72] Korenbrot, C. C., Huhtainen, I. T., Weiner, R. I., Prepubertal separation as an external sign of pubertal development in the male rat, *Biology of Reproduction*, 17, 298-303, **1977**.

- [73] Yoshimura, S., Yamaguchi, H., Konno, K., Ohsawa, N., Noguchi, S., Chisaka, A., Observation of preputial separation is a useful tool for evaluating endocrine active chemicals, *Journal of Toxicologic Pathology*, 18, 141-157, **2005**.
- [74] Trent, D. L., Edwin, D. L., Dietary soy phytoestrogens produce anxiolytic effects in the elevated plus-maze, *Brain Research*, 913, 180-184, **2001**.
- [75] Chang, J. U., Tzeng, T., Liou, S., Chang, Y., Liu, I., Myricetin increases hepatic peroxisome proliferator-activated receptor  $\alpha$  protein expression and decreases plasma lipids and adiposity in rats, *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-11, **2012**.
- [76] Johnstan, D. E., Special considerations in interpreting liver function tests, *American Family Physician*, 59, 2223-2230, **1999**.
- [77] Schreihof, D. A., Redmond, L., Soy phytoestrogens are neuroprotective against stroke-like injury in vitro, *Neuroscience*, 158, 602-609, **2009**.
- [78] Akpanabiatu, M. I., Igiri, A. O., Eyong, E. U., and Eteng, M. U., Biochemical and histological effects of *Eleophorbia drupifera* leaf extract in Wistar albino rats, *Pharmaceutical Biology*, 41, 96-99, **2003**.
- [79] Goodland, I. F., Oestrogens and insulin secretion, *Diabetologia*, 48, 2213-2220, **2005**.
- [80] Louet, J. F., LeMay, C., Mauvais-Jarvis, F., Antidiabetic actions of estrogen: insight from human and genetic mouse models, *Current Atherosclerosis Reports*, 6, 180-185, **2004**.
- [81] Erdman, J. W., Balentine, D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J. T., Folts, J., Harnly, J., Hollman, P., Keen, C. L., Mazza, G., Messina, M., Scalbert, A., Vita, J., Williamson, G., Burrowes, J., Flavonoids and heart: Proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop, *The Journal of Nutrition*, 718-737, **2005**.

- [82] Rashid, A., Khurshid, R., Latif, A., Ahmad, N., Aftab, L., Role of phytoestrogen in suppressing bone turnover in a group of postmenopausal women, *J Ayub Med Coll Abbottabad*, 22, 201-204, **2010**.
- [83] Jadhaw, S. H., Sarkar, S. N., Patil, R. D., Tripathi, H. C., Effects of subchronic exposure via drinking water to a mixture of eight water-contaminating metals: A biochemical and histopathological study in male rats, *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 53, 667-677, **2007**.
- [84] Wallace, H. A., *Principles and Methods of Toxicology*, Raven Press, New York, **1994**.
- [85] Assinder, S., Davis, R., Fenwick, M., Glover, A., Adult-only exposure of male rats to a diet of high phytoestrogen content increases apoptosis of meiotic and post-meiotic germ cells, *Reproduction*, 133,11-19, **2007**.
- [86] Glover A., Assinder, S. J., Acute exposure of adult male rats to a dietary phytoestrogens reduces fecundity and alters epididymal steroid hormone receptor expression, *Journal of Endocrinology*, 189, 565-573, **2006**.
- [87] Sharpe, R. M., Skakkebaek, N. E., Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract?, *The Lancet*, 341, 1392-1396, **1993**.
- [88] Karacaoğlu E., Furanın Gelişmekte Olan Erkek Sıçanların Üreme Sistemi Üzerine Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2009**.
- [89] Gupta, R. C., *Reproductive and Development Toxicology*, Academic Press, USA, **2011**.
- [90] Klinefelter, G. R., Hess, R. A., *Reproductive and Developmental toxicology*, (eds: Korach K. S.), Marcel Decker Inc., New York, **1998**.

## ÖZGEÇMİŞ

### **Kimlik Bilgileri:**

Adı Soyadı: Aslı Okan

Doğum Yeri: Bolu

Medeni Hali: Bekar

E-posta: asly\_okan@msn.com

Adresi: Altinkum Mah, 445. Sok., 10/5, Konyaaltı, ANTALYA

### **Eğitim:**

Lise: Eryaman Lisesi

Lisans: Hacettepe Üniversitesi

Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi

### **Yabancı Dil ve Düzeyi**

İngilizce – Advanced (ileri)

### **İş Deneyimi**

04. 2013 - .....: Araştırma Görevlisi, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Antalya

### **Deneyim Alanları**

Toksikoloji, histoloji

### **Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi (-)**

### **Tezden Üretilmiş Yayınlar (-)**

### **Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/ veya Poster Sunumu İle Katıldığı Toplantılar:**

03-09 Eylül 2012, EGE Üniversitesi Biyoloji Kongresi, İzmir, Türkiye.