

## Deneysel Araştırma

# Etanolün Sıçan Testis Dokusunda Meydana Getirdiği Apoptotik Değişiklikler Üzerine Elettaria Cardamomum'un Etkilerinin Araştırılması

Esra ERDEM<sup>1</sup>, Dürrin Özlem DABAK<sup>a2</sup>

<sup>1</sup>Ağrı İbrahim Çeçen Üniversitesi, Merkezi Araştırma Laboratuvarı, Ağrı, Türkiye

<sup>2</sup>Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Elazığ, Türkiye

### ÖZET

**Amaç:** Etanol (etil alkol) testis toksini olarak bilinmektedir. Elettaria cardamomum (Cardamom) ise ülkemizde kakule adı ile bilinen bir bitkidir. Cardamom'un anti-inflamatuvar ve antioksidan etkileri bulunmaktadır. Bu çalışmada etanol ile oluşturulan testis hasarına karşı Cardamom'un koruyucu etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmada 21 adet erişkin Wistar Albino tipi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar 3 eşit gruba ayrıldı. Kontrol grubuna (Grup I); 10 gün boyunca her gün intraperitoneal (i.p.) yolla 5 ml serum fizyolojik, Etanol grubuna (Grup II); aynı sürede 5 ml serum fizyolojik + etanol (3 g/kg) ve Etanol+Cardamom grubuna (Grup III); aynı süre ve volümde i.p. serum fizyolojik + etanol (3 g/kg) ile birlikte oral olarak Cardamom (500 µL/kg) uygulaması yapıldı. Deney sonunda testis dokuları çıkarılıp rutin histolojik takip işlemleri sonrasında histolojik boyamalar ve TUNEL metodu uygulandı.

**Bulgular:** Etanol grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında testis dokularında peritübüler vasküler konjesyon, seminifer tübüllerde dejenerasyon, tübül bazal membranında invaginasyonlar ve spermatogenetik seri hücrelerinde lümen dökülmeler gözlemlendi. Etanol ile birlikte Cardamom uygulanan grupta ise peritübüler vasküler konjesyon, tübül bazal membranın invaginasyonlarında düzelme gözlenmesine rağmen seminifer tübül dejenerasyonu ve spermatogenetik seriye ait hücrelerin lümen içine dökülmelerinde belirgin bir iyileşme görülmedi. TUNEL boyamanın sonucunda Etanol verilen grupta seminifer tübüllerdeki apoptotik hücrelerin belirgin arttığı, Etanol ile birlikte Cardamom verilen grupta ise seminifer tübüllerdeki apoptotik hücrelerin etanol verilen gruba göre azaldığı belirlendi.

**Sonuç:** Cardamomun etanolün seminifer tübüllerde meydana getirdiği apoptotik hücre artışına karşı koruyucu etkilerinin olduğu gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Etanol, Testis, Cardamom, Apoptozis

### ABSTRACT

#### The Investigation of Effects of Elettaria Cardamomum on the Apoptotic Alterations Induced by Ethanol in Rat Testes

**Objective:** Ethanol (ethyl alcohol) is known as a testicular toxin. Elettaria cardamomum (cardamom) is a plant known as kakule. Cardamom has anti-inflammatory and antioxidant effects. The aim of this study was to investigate preventive effects of Cardamom on testicular damage induced with ethanol.

**Material and Methods:** Twenty-one adult male Wistar rats were used. The rats were divided into equal 3 groups, saline-treated group (Grup I), ethanol (3 g/kg)-treated group (Grup II), ethanol (3 g/kg) and Cardamom (500 µL/kg)-treated group (Grup III). Ethanol was administered daily intraperitoneally for 10 days, and the same volume of saline (5ml) was administered for the controls. Cardamom was administered orally for 10 days. At the end of the experiment, testes tissues collected from the animals were processed by using routine paraffin techniques. The sections of testes were stained by histological and administered TUNEL method.

**Results:** Peritubular vascular congestion, degeneration in seminiferous tubules, invaginations of tubular basement membrane and sloughing of immature germinal cells to the lumen were observed in ethanol-treated group. Although peritubular vascular congestion and invaginations of basement membrane were improved, degeneration in seminiferous tubules and sloughing of immature germinal cells weren't significant improvement in Grup III. TUNEL-positive cells were markedly increased in the seminiferous tubules in ethanol-treated group. TUNEL-positive cells were decreased in Cardamom treated group.

**Conclusion:** Cardamom had protective effects on seminiferous tubule apoptotic cells induced by ethanol.

**Key Words:** Ethanol, Testis, Cardamom, Apoptosis

On dördüncü yüzyıldan itibaren ilaç olarak kullanılan etanol, kimyada mayalanmış içkilerin damıtılması ile elde edilen sıvı olarak tanımlanır. Etanolün zararlı etkileri XVIII. yüzyıldan itibaren anlaşılmaya başlanmış ve çeşitli çalışmalarla ortaya konulmuştur (1). Etanol ilk metabolit ürünü olan asetaldehid yolu ile mutajenik etkisini gösterir. Asetaldehid, DNA zincirleri

arasında bağlantı bölgelerini ve kardeş kromatidleri değiştirir, kromozomal aberasyonlara neden olur (2).

Testis dışarıdan verilen veya alınan toksik maddelerden kolaylıkla etkilenmektedir. Değişik toplumlarda yaygın olarak kullanılan etanol reproduktif toksin olarak kabul edilen bir ajandır ve etanol toplumlarda yaygın olarak kötüye kullanılan ilaçlar

arasındadır. Deney hayvanları ve insanlarda üreme fonksiyonu ve cinsel davranışı baskılar. Ayrıca etanol testislerde oksidatif stres üzerinden testiküler hasara neden olmaktadır. Etanol uygulamasının insanlarda ve hayvanlarda erişkin testis fonksiyonlarında inhibitör etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Erkeklerde kronik etanol kullanımı testislerde atrofiye sperm üretiminde azalmaya ve testosteron düzeyinde düşüşe neden olmaktadır (2-4).

Elettaria cardamomum ülkemizde 'kakule' adı ile bilinen zencefilgiller ailesinden batı ve güney Hindistan gibi sıcak bölgelerde yetişen, tohumları baharat olarak da kullanılan bir bitkidir. Yakın Doğu ülkelerinde tohumu kahve tohumu ile birlikte toz haline getirilerek kullanılmaktadır (5). Cardamom'un başlıca anti-inflamatuar ve antioksidan olmak üzere dokulara birçok olumlu etkileri bulunmaktadır (6-10).

Apoptozis, değişik doku ve hücre tiplerinde oluşabilecek morfolojik ve biyokimyasal seyri ile kompleks bir olgudur (11,12). Teorik olarak apoptozis, çeşitli travmatik hücre dışı lezyonlar ya da genetik faktörlerle aktive edilen ve hücrenin kendisi tarafından programlanmış bir mekanizma vasıtasıyla hücre ölümünü kontrol eden aktif bir işlem olup, hücrenin intiharı olarak da tanımlanabilir (13).

Hayvanlarda yapılan çalışmalarda etanolün yetişkin sıçan testislerinde germ hücrelerinin apoptozisinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (14-16). Etanole maruz kalmanın laboratuvar hayvanları ve insanlarda erkek üreme sistemine olumsuz etkileri olduğu ve testis dokusunda apoptozisi arttırdığı bilinmektedir. Ayrıca alkolün testosteron üretimini inhibe ettiği ve testis atrofisine yol açtığı da belirlenmiştir (2,4,14,17,18). Etanolün farklı hücre tiplerinde apoptozisi artırma mekanizması tam olarak açıklanamamıştır. Neonatal dönemde germ hücrelerinin normal gelişimi yetişkinde sağlıklı spermatogenezis süreci için önemlidir. Bu dönemde artan apoptozisin, yetişkinlerde anormal spermatogenezise neden olabileceği düşünülmektedir (19). İnsan beslenmesi radikal temizleme aktivitesi dahil olmak üzere, antioksidan kapasitesine sahip olan farklı bileşikler dizinini içerir. İnsan vücudunda antioksidanların dokularda ne düzeyde olduğunun diyet seviyeleri ile ilişkilendirilebileceği düşünülmektedir. Beslenme antioksidan temsilcilerinden en önde gelenler; karotenoidler, askorbat, tokoferol ve flavinoidlerdir. (20-22). Bu çalışmada, antioksidan özelliği de olan ve dokulara birçok olumlu etkileri bulunan Cardamom'un etanol ile oluşturulan testis hasarına karşı koruyucu etkisinin olup olmadığının incelenmesi amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 14.10.2010 tarih ve 2010/107 Sayılı kararı ile etik yönden uygun bulunarak Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM)

biriminde ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji laboratuvarında yapıldı.

Deneylerde kullanılan 21 adet 8 haftalık erişkin Wistar albino cinsi erkek sıçanlar, FÜDAM biriminden temin edildi. Hayvanlar FÜDAM hayvan laboratuvarında buldukları ortamın sıcaklığı 22–25 °C arasında sabit tutularak 12 saat ışık (07:00-19:00) ve 12 saat (19:00- 07:00) karanlıkta takip edildi. Sıçanlar özel olarak yaptırılan kafeslerde beslendi ve her gün altları temizlendi. Tüm hayvanlara aynı standart sıçan yemi verilerek ad libitum su ve yiyecek alımları sağlandı. Yemler; çelik kaplarda, su; cam biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi.

Çalışmada ortalama 250 gr ağırlığında 21 adet Wistar albino erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar her grupta 7 adet olacak şekilde 3 gruba ayrıldı.

Grup I (Kontrol Grubu): 10 gün boyunca sıçanlara her gün i.p. olarak 5 ml serum fizyolojik uygulanan grup (n=7).

Grup II (Etanol grubu): 10 gün boyunca sıçanlara her gün i.p. olarak 5 ml serum fizyolojik + etanol karışımı (3gr/kg etanol) uygulanan grup (n=7).

Grup III (Etanol + Cardamom grubu): 10 gün boyunca sıçanlara her gün i.p. olarak 5 ml serum fizyolojik + etanol karışımı (3gr/kg etanol) ile birlikte oral olarak 500 µL/kg Cardamom uygulanan grup (n=7).

Tüm gruptaki sıçanlar deney sonunda ketamin (75mg/kg) + xylazine (10mg/kg) i.p. uygulanarak anestezi altında dekapite edildi. Dekapitasyonun ardından sıçanların testis dokuları hızla çıkarılıp bouin solüsyonu ile tespit edildi. Daha sonra histolojik ve histo kimyasal incelemeler yapıldı.

## Histolojik Çalışmalar

Her gruptan alınan testis dokuları Bouin solüsyonu ile tespit edildikten sonra sırasıyla %50, %60 ve %70'lik alkollerde yıkanarak bu dokular rutin histolojik takip serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Ksilolde parlatılıp parafin bloklara (Sigma-paraplast embedding media, Stenheim, Germany) gömüldü. Parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E) boyası ve Periyodik Asit Schiff (PAS) metodları ile boyandı.

## TUNEL Metodu

Parafin bloklardan 5–6 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase InSitu Apoptosis Detection Kit(Cheicon, catno: S7101, USA) kullanılarak apoptozise giden hücreler belirlendi. Hazırlanan tüm preparatlar araştırma mikroskopunda (Olympus-BH2) incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoksilen ile maviye

boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi. Kesitlerde 10'luk büyütmede rastgele seçilen alanlarda, normal ve apoptotik en az 500 hücre sayıldı. Apoptotik hücrelerin, toplam (normal + apoptotik) hücelere oranlanması ile Apoptotik indeks (AI)'i hesaplandı.

### İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak belirlendi. İstatistiksel analizler SPSS version 22 programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arası değerlendirme One-way ANOVA ve post-hoc-tukey testi ile yapıldı.  $p < 0.05$  değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

### Histolojik Bulgular

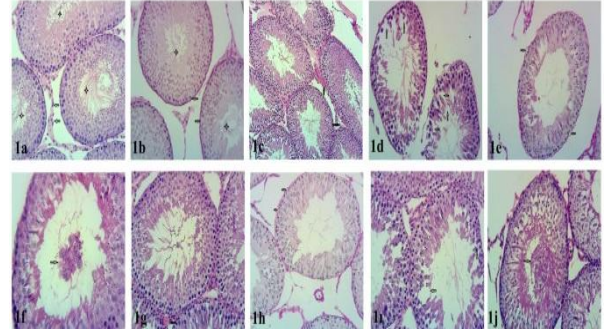
Tüm grupların Hematoksilen-Eozin ve Periyodik Asit Schiff ile boyalı preparatlarının ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucu; kontrol grubu (Grup I) testis dokusunda seminifer tübül kesitleri, Leydig hücreleri ve tübül bazal membranı normal yapıda izlendi (Şekil 1a, 1b).

Kontrol grubu (Şekil 1a, 1b) ile karşılaştırıldığında etanol verilen grupta (Grup II) testis dokularında peritübüler vaskülerkonjesyon (Şekil 1c), çok sayıda atrofik ve dejenere seminifer tübüller (Şekil 1d) ve bununla birlikte seminifer tübül bazal membranında invaginasyonlar ayırt edildi (Şekil 1e). Ayrıca bazı tübüllerde spermatogenetik seriye ait hücrelerinin lümen içine dökülmeleri gözlemlendi (Şekil 1f).

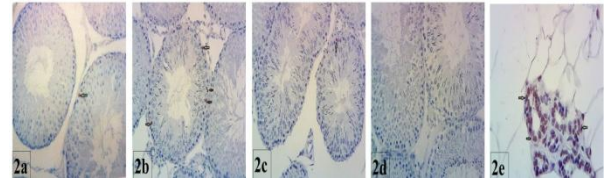
Etanol ile birlikte Cardamom uygulanan grupta (Grup III) ise peritübüler vasküler konjesyon (Şekil 1g, 1j) ve tübül bazal membranında invaginasyonlarda (Şekil 1h) düzelme gözlemlendi. Ancak, seminifer tübüllerde dejenerasyon (Şekil 1i) ve spermatogenetik seriye ait hücrelerinin lümen içine dökülmeleri (Şekil 1j) daha az sayıda tübülde izlenmekle birlikte devam etmekteydi.

### TUNEL Bulguları

Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamanın ışık mikroskobu altında incelenmesi sonucunda TUNEL pozitifliği, testis dokusunda seminifer tübüllerdeki spermatogenetik seri hücrelerinde gözlemlendi. TUNEL pozitifliği Grup I (Şekil 2a) ile karşılaştırıldığında Grup II (Şekil 2b) de anlamlı olarak artmıştı ( $p < 0.05$ ). Grup III (Şekil 2c) de ise seminifer tübüllerdeki apoptotik hücre sayısının Grup II ile kıyaslandığında anlamlı olarak azaldığı belirlendi ( $p < 0.05$ ). Negatif kontrolde (Şekil 2d) TUNEL pozitifliğinin saptanmadığı gözlemlendi. Pozitif kontrol (Şekil 2e) için meme dokusu kullanıldı (Tablo 1).



**Şekil 1.** (a) Grup I testis dokusunda normal yapıda seminifer tübüller (\*) ve interstisyel Leydig hücreleri (oklar) H&E. (b) Grup I normal yapıda seminifer tübüller(\*) ve tübül bazal membranı (oklar) PAS. (c) Grup II testis dokusunda peritübüler alanda vasküler konjesyon (oklar) H&E. (d) Grup II atrofik ve dejenere seminifer tübül epiteli (oklar) H&E. (e) Grup II seminifer tübüllerde bazal membran invaginasyonları (oklar) PAS. (f) Grup II seminifer tübüllerde spermatogenetik seriye ait olgunlaşmasını tamamlamamış hücrelerde lümen içine dökülmeler (ok) PAS. (g) Grup III testis dokusunda peritübüler vasküler konjesyon (ok) H&E. (h) Grup III tübül bazal membranında invaginasyonlarda azalma (oklar)PAS. (i) Grup III seminifer tübüllerde dejenerasyon (oklar). (j) Grup III olgunlaşmasını tamamlamamış spermatogenetik seriye ait hücrelerde lümen içine dökülme (ok), kan damarı (\*) H&E x400.



**Şekil 2.** (a) Grup I TUNEL pozitif hücre (ok). (b) Grup II TUNEL pozitif hücreler (oklar). (c) Grup III TUNEL pozitif hücre (ok). (d) Negatif kontrol. (e) Pozitif kontrol. Meme dokusunda TUNEL pozitif hücreler (oklar) TUNEL x400.

**Tablo 1.** Apoptotik indeks (%)

GRUP	APOPTOTİK İNDEKS (%)
Grup I	1.16 $\pm$ 0.75
Grup II	4.33 $\pm$ 0.51 <sup>a</sup>
Grup III	1.83 $\pm$ 0.75 <sup>b</sup>

Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

<sup>a</sup>Grup I ile karşılaştırıldığında,

<sup>b</sup>Grup II ile karşılaştırıldığında, ( $p < 0.05$ ).

## TARTIŞMA

Kronik alkolizmde, özellikle karaciğer ve mide başta olmak üzere, vücudun tüm organ ve dokularında morfolojik değişiklikler oluşur (23). Kronik alkolizmde; karaciğerde siroz, midede ülser, beyinde serebellar atrofi ve dejenerasyon, gözde optik nöropati, kalpte kardiomyopati, iskelet kasında miyopati, pankreasta akut veya kronik pankreatit görülmektedir (23-25). Kronik etanol alan erkeklerde, seksüel ve üreme bozuklukları sonucunda fertilité ile ilgili problemler görülmektedir. Etanolün bir erkek üreme sistemi toksini, özellikle de bir testis toksini olduğu bilinmektedir (26,27). Etanol ile ilişkili olarak yapılan araştırmalar sonucunda deney hayvanlarında testis atrofi ve testis ağırlığında azalma, seminifer tübüller ve spermatogenezise belirgin olumsuz etkiler meydana

geldiği tespit edilmiştir (28-34). Etanol kullanımı spermatogonyumların çoğalma aktivitesini ve spermatogenetik aktiviteyi de azaltmaktadır (14). Etanol kullanımı, alkolik erkeklerde hipotalamus-hipofiz-gonad aksını da bozmakta (35), plazma testosteronunu ve testosteron yapım oranını düşürmekte ve infertiliteye neden olmaktadır (36). Önceki çalışmalar etanolün seminifer tübül döngüsünün bütün evrelerinde spermatogonyumların çoğalma aktivitesini düşürdüğünü göstermiştir (37).

Etanol metabolizmasının testislerde testiküler MDA artışı ve testiküler glutasyon düzeylerindeki azalmayla kendini gösteren oksidatif stresi oluşturduğu bilinmektedir (3). Etanol metabolizmasının bir sonucu olarak lipidperoksidasyonu da oluşmaktadır (38). Testisler seviyesinde, oksidatif stres Leydig hücrelerinin steroidojenik kapasitesini bozabilmekte ve bunun sonucunda da seminifer tübüllerin olumsuz yönde etkilenmesi söz konusu olabilmektedir (39). Bu nedenle oksidatif strese karşı antioksidan tedavi seçenekleri önerilmektedir. Alkolle indüklenen toksik etkilerden testisi koruma amaçlı olarak uygulanan zerdeçal, resveratrol, kayısı gibi bitkisel kökenli bazı antioksidanların olumlu etkileri göz önüne alındığında (40-42), bu çalışmanın sonucunda Cardamom'un alkolün testis dokusunda meydana getirdiği oksidatif strese bağlı gelişebilen apoptozisi azaltacak olumlu etkilerinin olabileceği düşüncesinden yola çıkılmıştır.

Cardamom'un başlıca antioksidan etkisinin yanı sıra anti-inflamatuar, anti-mikrobiyal ve analjezik etkileri de bilinmektedir (7-10). Ayrıca Cardamom'un lipid peroksidasyon ürünlerini, kısmen yok ettiği de bildirilmiştir. Dhuley ve ark.'nın yaptıkları çalışmada sıçanlarda Cardamom kullanımı sonucu antioksidan enzim aktivitesinde önemli bir artış belirlediklerini ifade etmişlerdir (10). Abdel-Wahhab ve arkadaşları ise Cardamom ve karanfil ekstraktlarının MDA düzeylerinde önemli azalmalara sebep olduğu göstermişlerdir (43).

Deneysel araştırmalarda kronik alkol kullanımının germ hücre hasarı gibi dejeneratif değişikliklere yol açtığı gözlenmiştir. Etanolün farelerde; testis ağırlığı, testosteron düzeyi, spermatogonium, spermatozoid, spermatid, motil sperm ve epididimal sperm sayısında azalmaya; testis ve seminifer tübül çaplarında küçülmeye; immatür germ hücrelerinin seminifer tübül lümenine dökülme sıklığı ve sperm morfolojisi bozukluklarında artışa neden olduğu belirlenmiştir. (32,44-47).

Etanolün sıçanlarda, plazma FSH düzeylerinin artmasına; plazma testosteron düzeyleri, testis ağırlığı ve germ hücreleri sayısının azalmasına ve testis atrofişi oluşumuna neden olan bir gonadal toksin olduğu bildirilmiştir (27,28,48-50).

Araştırmamızda histolojik olarak, etanol verilen grupta testis dokularında peritübüler vasküler

konjesyon, atrofik ve dejenere seminifer tübüller, tübül bazal membranında invaginasyonlar ile spermatogenetik seriye ait hücrelerin olgunlaşmalarını tamamlamadan lümen içine döküldükleri gözlenmiştir. Çalışmamızdaki histopatolojik bulguların literatürlerde gözlenen bulgularla uyumlu olduğu belirlenmiştir. Etanol ile birlikte Cardamom uygulanan grupta ise peritübüler vasküler konjesyon ve tübül bazal membranında invaginasyonlarda belirgin bir düzelme gözlenmesine rağmen, seminifer tübüllerde dejenerasyon ve spermatogenetik seriye ait hücrelerinin lümen içine dökülmelerinin devam ettiği gözlenmiştir.

Yapılan bir araştırmada, etanolün testiste oksidatif stres oluşturduğu ve hücre ölümünü arttırdığı belirlenmiştir. Etanol, Sertoli hücrelerinin sekretuar fonksiyonunu da olumsuz etkilemekte, testis içinde oksidatif stresi; apoptotik spermatozoidler ve spermatogonyumların sayısını arttırmaktadır. (51). Daha önceki çalışmalar etanolün önemli derecede bütün spermatogonia ve spermatozoidlerdeki apoptotik hücre sayısını arttırdığını göstermektedir (14). Zhu ve arkadaşları da etanole maruz kalınmasının spermatozoidler, spermatogonyumlar ve testiküler germ hücrelerinde apoptozisi arttırdığını ifade etmişlerdir (15). Germ hücrelerinde etanol kaynaklı apoptozis artışı ve testiküler atrofi, erkeklerde kısırlığa neden olabilir (35). Aslında apoptozis vücudumuzda birçok dokuda düzenleyici rolü olan fizyolojik bir olaydır. Normal spermatogenezisin gerçekleşebilmesi için de belli bir oranda gereklidir. Testislerde germ hücrelerinin apoptozisinin fizyolojik şartlar altında meydana geldiği ayrıca anormal germ hücrelerinin matürasyonu ve normal germ hücrelerinin aşırı üretimini önlemeye yardımcı olduğu bilinmektedir. Ancak patolojik şartlar altında bazı çevresel toksinlere maruz kalma apoptozis aracılığı ile germ hücrelerinin büyük bir bölümünün dejenerasyonuna, spermatogenezide bozulmalara ve infertiliteye neden olabilmektedir (52).

Çalışmamızda da apoptotik hücrelerin belirlenmesi ve ışık mikroskobu altında değerlendirilebilmesi amacıyla TUNEL metodu uygulanmıştır. Kontrol grubu testis dokusu ile karşılaştırıldığında, literatür bilgilerine uyumlu bir şekilde, etanol verilen grupta seminifer tübüllerdeki apoptotik germ hücrelerinde belirgin bir artış tespit edilmiştir. Etanol ile birlikte Cardamom verilen grupta ise etanol verilen gruba göre seminifer tübüllerdeki apoptotik germ hücresi sayısının azaldığı ve kontrol grubuna daha yakın bir düzeyde olduğu izlenmiştir.

Sonuç olarak; etanolün testiste belirgin histopatolojik değişiklikler oluşturduğu, bu histopatolojik değişiklikleri Cardamom'un azalttığı fakat tamamen iyileştirmediği gözlenmiştir. Ancak aynı zamanda, etanolün testiste apoptozisi anlamlı olarak arttırdığı, Cardamom'un bu apoptozis artışına karşı koruyucu olumlu etkilerinin olduğu gözlenmiştir.

Cardamom'un testis dokusunda apoptozisi azaltıcı etkisinin önemi göz önüne alınarak, etanol ve Cardamom doz ve süreleri ile ilgili olarak daha

kapsamlı ve ileri düzeyde çalışmaların yapılması gerektiği kanaatine varılmıştır.

## KAYNAKLAR

- Özfiliz N. Alkol (Etanol) kullanımının testis yapı ve işlevi üzerine etkileri. *J Fac Vet Med* 2001; 20: 109-115.
- Obe G, Ristow H. Mutagenic, cancerogenic and teratogenic effects of alcohol. *Mutat Res* 1979; 65: 229-259.
- Rosenblum E, Gavaler JS and Van Thiel DH. Lipid peroxidation: a mechanism for ethanol-associated testicular injury in rats. *Endocrinology* 1985; 116: 311-318.
- Villata J, Balleca JL, Nicolas JM et al. Testicular function in asymptomatic chronic alcoholics: relation to ethanol intake. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21: 128-133.
- Baytop T. Therapy with medicinal plants in Turkey. 2. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Basımevi, 1999: 242
- Padmakumari Amma KP, Rani MP, Sasidharan I et al. Chemical composition, flavonoid - phenolic contents and radical scavenging activity of four major varieties of cardamom. *Int J Biol Med Res* 2010; 1: 20-24.
- Al Zuhair H, El Sayeh B, Amenn HA et al. Pharmacological studies of cardomom oil in animals. *Pharmacol Res* 1996; 34: 79- 82.
- Sapra B, Gupta S, Tiwary AK. Role of volatile oil pretreatment and skin cholesterol on permeation of ion-paired diclofenac sodium. *Indian J Exp Biol* 2000; 38: 895- 900.
- Nair S, Nagar R, Gupta R. Antioxidant phenolics and flavonoids in common Indian foods. *J Assoc Physicians India* 1998; 46: 708- 710.
- Dhuley JN. Anti-oxidant effects of cinnamon bark and greater cardamom seeds in rats fed high fat diet. *Indian J Exp Biol* 1999; 37: 238-242.
- Zakeri Z, Bursch W, Tenniswood M, Lockshin RA. Cell death: Programmed, apoptosis, necrosis, or other. *Cell Death Differ* 1995; 2: 87-96.
- Wyllie AH, Kerr JF, Currie AR. Cell death: The significance of apoptosis. *Int Rev Cytol* 1980; 68: 251-306.
- Searle J, Kerr JF, Bishop CJ. Necrosis and apoptosis distinct modes death with fundamentally different significance. *Pathol Annu* 1982; 17: 229-259.
- Koh PO and Kim MO. Ethanol exposure decreases cell proliferation and increases apoptosis in rat testes. *J Vet Med Sci* 2006; 68: 1013-1017.
- Zhu Q, Meisinger J, Emanuelle NV, Emanuelle MA et al. Ethanol exposure enhances apoptosis within the testes. *Alcohol Clin Exp Res* 2000; 24: 1550-1556.
- McGivern RF, Handa RJ, Redei E. Decreased postnatal testosterone surge in male rats exposed to ethanol during last week of gestation. *Alcohol Clin Exp Res* 1993; 17: 1215-1222.
- Quintans LN, Castro GD, Castro JA. Oxidation of ethanol to acetaldehyde and free radicals by rat testicular microsomes. *Arch Toxicol* 2005; 79: 25- 30.
- Giannesi F, Giambelluca MA, Grasso L et al. Curcumin protects Leydig cells of mice from damage induced by chronic alcohol administration. *Med Sci Monit* 2008; 14: 237-242.
- De Rooji DG. Stem cells in the testis. *Int J Exp Pathol* 1998; 79: 67-80.
- Catoni C, Peters A, Schaefer HM. Life history trade-offs are influenced by the diversity, availability and interactions of dietary antioxidants. *Anim Behav* 2008; 76: 1107-1119.
- Ruiz D, Egea J, Tomas-Barberan FA, Gil MI. Carotenoids from new apricot (*Prunus armeniaca* L) varieties and their relationship with flesh and skin color. *Agric Food Chem* 2005; 53: 6368-6374.
- Diplock, AT, Charleux, JL, Crozier-Willi G et al. Functional food science and defence against reactive oxidative species. *Brit. J. Nutr* 1998; 80: 77-112.
- Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Basic Pathology (Temel Patoloji Çev. Ed. Çevikbaş U.) 6. Baskı, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti. İstanbul, 2000: 234: 256-257.
- Diamond I, Van Thiel DH, Lester R. Alcoholic myopathy and cardiomyopathy. *N Engl J Med* 1989; 320: 458-460.
- Urbano-Marquez A, Estruch R, Navarro-Lopez F et al. The effects of alcoholism on skeletal and cardiac muscle. *N Engl J Med* 1989; 320: 409-415.
- Anderson RA, Willis BR, Oswald C, Zaneveld LJ. Male reproductive tract sensitivity to ethanol: A critical overview. *Pharmacol Biochem Behav* 1983; 18: 305-310.
- Van Thiel DH. Ethanol: its adverse effects upon the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *J Lab Clin Med* 1983; 101: 21-33.
- Van Thiel DH, Gavaler JS, Cobb CF et al. Alcohol-induced testicular atrophy in the adult male rat. *Endocrinology* 1979; 105: 888-895.
- Van Thiel DH, Cobb CF, Herman GB et al. An examination of various mechanisms for ethanol-induced testicular injury: studies utilizing the isolated perfused rat testes. *Endocrinology* 1981; 109: 2009-2015.
- Anderson RA, Willis BR, Oswald C et al. Hormonal imbalance and alterations in testicular morphology induced by chronic ingestion of ethanol. *Biochem Pharmacol* 1980; 29: 1409-1419.
- Anderson RA, Willis BR, Oswald C. Spontaneous recovery from ethanol-induced male infertility. *Alcohol* 1985; 2: 479-84.
- Willis BR, Anderson RA, Oswald et al. Ethanol-induced male reproductive tract pathology as a function of ethanol dose and duration of exposure. *J Pharmacol Exp Ther* 1983; 225: 470-478.
- Berryman SH, Anderson RA, Weis J et al. Evaluation of the co-mutagenicity of ethanol and delta 9-tetrahydrocannabinol with Trenimon. *Mutat Res* 1992; 278: 47-60.
- Zhu Q, Van Thiel DH, Gavaler JS. Effects of ethanol on rat Sertoli cell function: studies in vitro and in vivo. *Alcohol Clin Exp Res* 1997; 21: 1409-1417.
- Van Thiel DH, Gavaler JS, Eagon PK, Lester R. Mechanisms of hypogonadism and feminization in alcoholic liver disease. *Z Gastroenterol* 1979; 17: 413-421.
- Gordon GG, Altman K, Southren AL, Rubin E, Lieber CS. Effect of alcohol (ethanol) administration on sex-hormone metabolism in normal men. *N Engl J Med* 1976; 295: 793-797.
- El Sokary G. H. Quantitative study on the effects of chronic ethanol administration on the testis of adult male rat. *Neuro Endocrinol Lett* 2001; 22: 93-99.

38. Rosenblum ER, Gavaler JS, Van Thiel DH. Vitamin A at pharmacologic doses ameliorates the membrane lipid peroxidation injury and testicular atrophy that occurs with chronic alcohol feeding in rats. *Alcohol Alcohol* 1987; 22: 241-249.
39. Naughton CK, Nangia AK, Agarwal A. Pathophysiology of varicoceles in male infertility. *Hum Reprod Update* 2001; 7: 473-481.
40. Giannesi F, Giambelluca MA., Grasso L et al. Curcumin protects Leydig cells of mice from damage induced by chronic alcohol administration. *Med Sci Monit* 2008; 14: 237-242.
41. Kasdallah-Grissa A, Mornagui B, Aouani E et al. Protective effect of resveratrol on ethanol-induced lipid peroxidation in rats. *Alcohol Alcohol* 2006; 41: 236-239.
42. Kurus M, Ugras M, Ates B ve ark. Apricot ameliorates alcohol induced testicular damage in rat model. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 2666-2672.
43. Abdel-Wahhab M, Aly S. Antioxidant property of *Nigella sativa* (blackcumin) and *Syzygium aromaticum* (clove) in rats during aflatoxicosis. *Journal of Applied Toxicology* 2005; 25: 218-223.
44. Anderson RA, Berryman SH, Phillips JF et al. Biochemical and structural evidence for ethanol-induced impairment of testicular development: apparent lack of Leydig cell involvement. *Toxicol Appl Pharmacol* 1989; 100: 62-85.
45. Anderson RA, Willis BR, Oswald C et al. Partial reversal of ethanol-induced male reproductive pathology following abstinence. *Alcohol Alcohol* 1985; 20: 273-286.
46. Anderson RA, Phillips JF, Zaneveld LJ. Chronic ethanol ingestion during puberty alters the transient increase in testicular 5 alpha-reductase in the Swiss-Webster mouse. *J Androl* 1989; 10: 28-36.
47. SeetharamYN, Sujeeth H, Jyothishwaran G et al. Antifertility effect of ethanolic extract of *Amalakyadi churna* in male albino mice. *Asian J Androl* 2003; 5: 247-250.
48. Weinberg J, Vogl AW. Effects of ethanol consumption on the morphology of the rat seminiferous epithelium. *J Androl* 1988; 9: 261-269.
49. Gavaler JS, Perez HA, Estes L et al. Morphologic alterations of rat Leydig cells induced by ethanol. *Pharmacol Biochem Behav* 1983; 18: 341-347.
50. Van Thiel DH, Gavaler JS, Lester R, Goodman MD. Alcohol-induced testicular atrophy. An experimental model for hypogonadism occurring in chronic alcoholic men. *Gastroenterology* 1975; 69: 326-332.
51. Emanuele NV, Lapagli N, Steiner J et al. Peripubertal paternal EtOH exposure. *Endocrine* 2001; 14: 213-219.
52. Bartke A. Apoptosis of male germ cells, a generalized or a cell type-specific phenomenon. *Endocrinology* 1995; 136: 3-4.