



Postnatal Gelişme Dönemlerinde Capsaicin Uygulanan Fare Testislerinde TGF Beta-1'in İmmunohistokimyasal Lokalizasyonu

Cansel Güzin ÖZGÜDEN AKKOÇ^{1,a,*}

¹Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji A.D., Bursa, Türkiye.

^aORCID: 0000-0003-0712-0892

Geliş Tarihi: 02.10.2022

Kabul Tarihi: 28.02.2023

Bu makale Nasıl kaynak gösterilir: Özgüden Akkoç CG. (2023). Postnatal Gelişme Dönemlerinde Capsaicin Uygulanan Fare Testislerinde TGF Beta-1'in İmmunohistokimyasal Lokalizasyonu. Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 12(1): 14-20, DOI:10.31196/huvfd.1228436.

***Yazışma adresi:** Cansel Güzin ÖZGÜDEN AKKOÇ
Bursa Uludağ Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji A.D., Bursa, Türkiye.
e-mail: cozguden@uludag.edu.tr

Online erişim adresi:

<https://dergipark.org.tr/tr/pub/huvfd>

Özet: Transforme edici büyüme faktörü beta-1 (TGF Beta-1) testiküler fonksiyonların parakrin ya da otokrin düzenleyicilerinden biridir. Bu çalışmada, postnatal gelişme sürecinde Capsaicin (CAP) uygulanan farelerin testislerinde TGF Beta-1'in lokalizasyonu incelendi. Çalışmada 60 adet Swiss albino soyu erkek fare kullanıldı. Deney grubundaki 21 günlük farelere(n:30)75 gün boyunca her gün deri altı yolla 1mg/kg dozunda CAP enjekte edildi. Deney ve kontrol gruplarından 10'ar hayvan, 35. günü (puberte dönemi), 50. günü (puberte sonrası dönem) ve 75. günü (erişkin dönem) temsil edecek şekilde gruplara ayrıldı. Örneklenen testislerin tartımı sonrası rutin histolojik prosedür uygulandı. Çalışma süresince her gün kontrol ve deney grubu hayvanların canlı ağırlıkları tartıldı. Tüm deney gruplarındaki hayvanların canlı ağırlık ortalamalarının kontrol gruplarına oranla daha fazla olduğu ve bu iki grup arasında $p<0,05$ düzeyinde istatistiki önem saptandı. 35 ve 50 günlük deney gruplarının testis ağırlıklarının kontrol gruplarına oranla daha fazla olduğu gözlemlendi. Gözlenen farklılıklar arasında istatistiki bir öneme rastlanmadı. TGF Beta-1 immunreaksiyonu kontrol ve deney gruplarında, farklı boyanma yoğunluklarında, Leydig hücrelerinde ve genç spermatidlerde gözlenirken Sertoli hücrelerinde, spermatogonyumlarda ve erişkin spermatidlerde immunreaksiyon gözlenmedi. Genç spermatidlerdeki boyanma yoğunluğu her iki grupta da hemen hemen benzerdi, fakat kontrol gruplarında boyanma yoğunluğu yaş ile artarken deney gruplarındaki bu artış 75 günlük grupta gözlenmedi. Leydig hücrelerindeki boyanma yoğunluğu ise deney gruplarında yaş ile artış gösterirken kontrol gruplarında farklı boyanma yoğunlukları saptandı. Sonuç olarak CAP'ın, spermatogenez sırasında Leydig hücrelerindeki reseptörüne bağlanarak TGF Beta-1 immunreaksiyonunu arttırdığı sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Capsaicin, Fare, İmmunohistokimya, Testis, TGF Beta-1.

The Immunohistochemical Localization of TGF Beta-1 in Capsaicin Injected Mice Testis at the Postnatal Development Period

Abstract: Transforming growth factor beta-1 (TGF Beta-1) is one of the paracrine or autocrine regulators of testicular function. In this study, we investigated the effect of Capsaicin (CAP) on the localization of TGF Beta-1 in the testis of mice treated with CAP during postnatal development. In the study, 60 Swiss albino male mice were used. The 21-day-old mice (n:30) in the experimental group were injected with CAP at 1 mg/kg subcutaneously daily for 75 days. Ten animals, each from the experimental and control groups, were divided into groups representing the 35th day (puberty), 50th day (post-puberty), and 75th day (adult). After weighing the testis, a routine histological procedure was performed. The body weights of the control and experimental group animals were measured daily during the study period. The mean body weights of all experimental groups were higher than the control groups, and we determined statistical significance at $p<0.05$ level between the groups. The mean testicular weights of the 35th and 50th experimental groups were higher than the 35th and 50th experimental groups, except for the 75th experimental group. No statistical significance was found between the groups. TGF Beta-1 immunoreaction was observed in Leydig cells and round spermatids at different intensities in all experimental and control groups. In contrast, no immunoreaction was observed in Sertoli cells, spermatogonia, and elongated spermatids. The staining intensity in round spermatids was almost similar in both groups. Still, the staining intensity increased with age in the control groups, while this increase in the 75th experimental groups was not observed. The staining intensity in Leydig cells increased with age in the experimental groups, while different staining intensities were found in the control groups. In conclusion, CAP increased TGF beta-1 immunoreaction by binding to its receptor in Leydig cells during spermatogenesis.

Keywords: Capsaicin, Immunohistochemistry, Mouse, Testis, TGF Beta-1.

Giriş

TGF Beta, 1980 yılında epitel hücre kültüründe izole edilmiştir. TGF Beta ismini epitel hücrelerinde *in vitro* ortamda oluşturduğu fenotipik transformasyondan dolayı almıştır (Lui ve ark., 2003). TGF Beta ailesi TGF Beta-1, TGF Beta-2, TGF Beta-3, TGF Beta-4 ve TGF Beta-5 şeklinde alt gruplara ayrılır (Ingman ve Robertson, 2002). Bunlardan sadece TGF Beta-1'in, TGF Beta-2'nin ve TGF Beta-3'ün varlıklarımemele testislerinde saptanmıştır. Erkek genital sistemi hem LH ve FSH gibi gonadotropinlerin hem de TGF Beta gibi büyüme faktörlerinin kontrolü altındadır. Memeli testislerinde izole edilen TGF Betalar, testislerin gelişiminde, ekstrasellüler matriks sentezinde, steroidogeneziste ve spermatogeneziste rol oynadıkları gösterilmiştir (Itman ve ark., 2006).

Acı kırmızı biberin etken maddesi olan CAP, beyaz renkte, kokusuz ve acı özellikleri olan bir alkaloiddir (Sharma ve ark., 2013). CAP'in organizmada genital (Erdost ve ark., 2007; İlhan ve Erdost, 2013; Özer ve ark., 2006; Özgüden-Akkoç ve ark., 2018; Tütüncü ve Özfiliz, 2011), gastrointestinal (Özgüden-Akkoç ve ark., 2017; Srinivasan, 2016), kardiovasküler (Sharma ve ark., 2013), endokrin (Erdost ve ark., 2006) ve solunum sistemleri (Toukan ve ark., 2022) üzerine pek çok etkisi olduğu için tıp alanında kullanımı yaygınlaşmıştır (Adaszek ve ark., 2019). CAP'in etkisi öncelikli olarak dokuya, uygulama dozuna ve uygulama şekline göre farklılıklar göstermektedir (Oh ve ark., 2003). Erkek genital sistem üzerine yapılan çalışmalarda, CAP'in horozlarda (Özer ve ark., 2006) ve farelerde (Erdost ve ark., 2007) testis gelişimini hızlandırdığı bildirilmiştir. Bunun yanı sıra yapılan bir *in vitro* çalışmada CAP'in doza bağlı olarak mitotik germ hücreleri üzerine etkili olduğu da gösterilmiştir (Mizrak ve ark., 2008). Sunulan bu çalışmada, CAP'in, farklı gelişme dönemlerindeki farelerin testislerinde, erkek genital sistem organlarının gelişmesinde rol alan TGF Beta-1'in lokalizasyonu üzerine etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Deney Planı: Çalışmada standart laboratuvar koşullarında tutulan (oda sıcaklığı 21–23 °C, nem %50–60, 12 saat aydınlık/karanlık siklusu) 21 günlük Swiss albino soyu 60 adet erkek fare kullanıldı. Çalışmadaki tüm deneysel işlemler Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylandı (1.06.2004/1). İlk olarak fareler hiçbir enjeksiyon yapılmayan kontrol grubu (n=30) ve 1 mg/kg dozda CAP (Sigma, M 2028) uygulanan deney grubu (n=30) olarak iki ana gruba ayrıldı. Hayvanların her gün canlı ağırlıkları tartıldı. 75 gün boyunca her gün deney grubundaki farelere 1mg/kg dozdaki CAP, steril serum fizyolojik içerisinde çözündürülüp, çözelti içerisine %1 Tween 20 eklenerek 0,3 ml/fare şeklinde deri altı yolla verildi (Erdost ve ark., 2007). Kontrol ve deney gruplarındaki fareler, 35, 50 ve 75. günlerde dietil eter anestezisi altında testisleri alınarak testislerin tartımları yapıldı. Alınan testisler Bouin tespitine konuldu. Tespit işleminin ardından dereceli alkol serisinden geçirilen dokular, parafine gömüldü ve 5µm'lik kesitler alındı ve lizine kaplı lamlara çekildi. Testislerin morfolojik özelliklerinin

incelenmesi amacıyla Crossmon'un üçlü boyama yöntemi uygulandı.

İmmunohistokimyasal Boyama Prosedürü: Parafin kesitlerde TGF Beta-1'in immunohistokimyasal lokalizasyonunun gösterilmesi amacıyla indirekt streptavidin-biotin-peroksidaz kompleks tekniği kullanıldı. Deparafinize edilen kesitlerin suyu giderildikten sonra antijenin açığa çıkartılması için distile su içerisinde hazırlanan %0.05 Saponin (Serva, Heidelberg, Germany) solüsyonu içerisinde, oda ısısında 20 dk. bekletildi. Fosfat tampon solüsyonu (PBS) ile yıkamayı takiben endojen peroksidaz aktivitesini ortadan kaldırmak için, dokular metanol ile hazırlanan %3'lük hidrojen peroksit solüsyonu içerisinde oda ısısında 10 dk. bekletildi. Spesifik olmayan protein bağlanmalarını önlemek amacıyla sekonder kit içerisindeki kullanıma hazır bloklayıcı solüsyonu ile (Histostain® Plus Rabbit Primary Kit, 85-6743, Zymed Laboratories, San Francisco, CA) oda ısısında 60 dk. inkübasyona bırakıldı. Daha sonra kesitlere 1/750 oranında sulandırılmış primer antikor (rabbit poliklonal TGF Beta-1, sc-146, SantaCruz, CA) damlatılarak +4 °C'de bir gece bekletildi. Bu arada negatif kontrol grubu kesitlerine sadece antikor sulandırma solüsyonu damlatıldı. PBS ile yıkamayı takiben kesitlere kullanıma hazır biotinlenmiş sekonder antikor (Histostain® Plus Rabbit Primary Kit, 85-6743, Zymed Laboratories, San Francisco, CA) damlatılarak oda sıcaklığında 15 dk. bekletildi ve yıkamayı takiben kullanıma hazır streptavidin-HRP komplekste (Histostain® Plus Rabbit Primary Kit, 85-6743, Zymed Laboratories, San Francisco, CA) oda sıcaklığında 15 dk. inkübe edildi. 3,3'-diaminobenzidine (DAB-Zymed Laboratories, San Francisco, CA) ile kromojenize edilen kesitlere Harris hematoksilen (HHS16, Sigma Aldrich, Germany) ile karşıt boyama yapıldı ve entellan ile kapatıldı.

Değerlendirme: İmmunohistokimyasal değerlendirme iki farklı araştırmacı tarafından (AÖ, CGÖA) yapıldı. Boyanan kesitler ışık mikroskobu ile (Nikon eclipse 80'i, Tokyo, Japonya) incelendi. Değerlendirmede öncelikli olarak hedef hücrelerin boyanıp boyanmamasına, daha sonra da boyanma yoğunluğuna bakıldı. Boyanma yoğunluğu; zayıf, orta, şiddetli boyanma ve boyanmama şeklinde yapıldı (Adams ve ark. 1999).

İstatiksel Analizler: Çalışma bulgularının değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis Testi ve Mann-Whitney U testi kullanıldı. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Kontrol ve deney grubunu oluşturan hayvanlarda deney sürecinde ölüm gözlenmedi. Hayvanların canlı ağırlık oranları karşılaştırıldığında tüm deney gruplarındaki hayvanların ağırlıklarının daha fazla olduğu saptandı ve gruplar arasında $p < 0,05$ düzeyinde istatistiki öneme rastlandı (Tablo 1). Hayvanların testis ağırlıkları karşılaştırıldığında ise 35 ve 50 günlük deney gruplarındaki hayvanların testis ağırlıklarının daha fazla olduğu görüldü. 75 günlük deney grubunda ise testis ağırlıklarında bir azalma saptandı fakat gruplar arasında istatistiki bir önem saptanmadı (Tablo 1).

Tablo 1. Kontrol ve deney gruplarının canlı ağırlık ve testis ağırlıkları ortalamaları.

	n	35 günlük		50 günlük		75 günlük	
		Kontrol	Deney	Kontrol	Deney	Kontrol	Deney
Canlı Ağırlık (g)	10	20.6 ± 0.834	$27.7 \pm 0.834^*$	27.1 ± 0.834	$32.8 \pm 0.834^*$	28.6 ± 0.834	$32.9 \pm 0.834^*$
Testis Ağırlığı (g)	10	0.051 ± 0.003	0.056 ± 0.003	0.079 ± 0.003	0.093 ± 0.003	0.098 ± 0.003	0.088 ± 0.003

* : İki değer arasındaki önem ($p < 0,05$).

Crossmon'un üçlü boyama yöntemi ile boyanan preparatlar incelendiğinde gruplar arasında testislerin histolojik yapısında bir farklılık bulunmadı. Tüm gruplara ait farelerin testis dokularının dışarıdan tunika albuginea ile çevrili olduğu, bunun hemen altında tubulus seminiferus kontortusların yer aldığı gözlemlendi. Tubulus seminiferus kontörtusların içerisinde çeşitli spermatogenik hücreler görülürken tubulus seminiferus kontortusları çevreleyen peritübüler miyoid hücrelerin varlığı gözlemlendi. Tubulus seminiferus kontortusların arasındaki intersitisiyel alanlarda Leydig hücreleri ve kan damarlarının yer aldığı gözlemlendi (Şekil 1).

TGF Beta-1 immunreaksiyonu, tüm kontrol ve deney gruplarında, intrasitoplazmik olarak genç spermatidlerde ve Leydig hücrelerinde farklı boyanma yoğunluklarında belirlenirken Sertoli hücrelerinde, spermatogonyumlarda, primer spermatositlerde, olgun spermatidlerde ve negatif kontrol preparatlarında immunreaksiyon gözlenmedi. Kontrol ve deney gruplarında Leydig hücrelerindeki immunreaksiyon değerlendirildiğinde, 35 günlük kontrol grubunda immunreaksiyon görülmezken, 35 günlük deney grubunda zayıf immunreaksiyon görüldü (Şekil 2A, 2B). 50 günlük kontrol grubunda immunreaksiyon şiddetli iken deney grubunda orta şiddetli immunreaksiyon saptandı (Şekil 2C, 2D). 75 günlük kontrol grubunda immunreaksiyon orta şiddetli iken deney grubunda immun reaksiyonun şiddetli olduğu belirlendi (Şekil 2E, 2F). Kontrol ve deney gruplarında genç spermatidlerdeki immun reaksiyon değerlendirildiğinde ise 35 günlük deney ve kontrol gruplarında zayıf immun reaksiyon (Şekil 2A, 2B), 50 günlük kontrol ve deney gruplarında orta şiddetli immun reaksiyon görüldü (Şekil 2C, 2D). 75 günlük kontrol grubunda immun reaksiyon şiddetli iken deney grubunda immun reaksiyonun orta şiddetli olduğu saptandı (Şekil 2E, 2F).

Tartışma ve Sonuç

TGF Beta'lar, memeli testislerinde başta spermatogenez olmak üzere Leydig ve Sertoli hücrelerinin fonksiyonlarının düzenlenmesi, peritübüler miyoid hücrelerinin organizasyonu gibi testiküler fonksiyonların parakrin ya da otokrin düzenleyicileri olarak görev yapmaktadırlar (Itman ve ark., 2006). Testisler sinirsel innervasyondan son derece zengin organlardır (Eurell ve Frappier, 2006). Sunulan çalışmada kullanılan CAP, reseptörü olan Vanilloid Reseptör 1 (VR1) ile

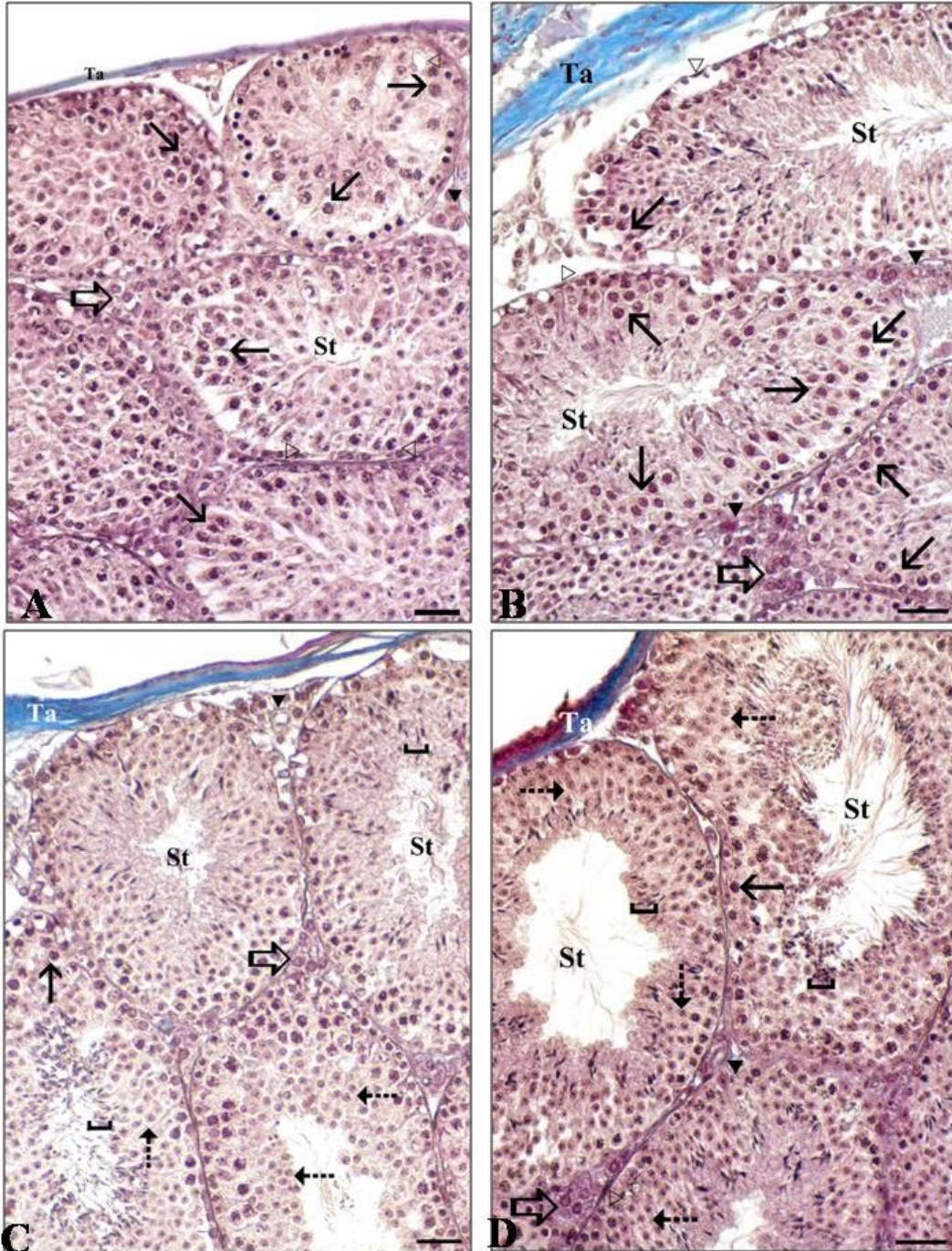
sensorik sinir sonlarından Substans P (SP) ve kalsitonin gen ilişkili peptid (CGRP) gibi nöyopeptidlerin salınımını uyararak etki göstermektedir (Holzer,1991). Yapılan literatür taramalarında CAP'ın testislerde TGF Beta-1 üzerine etkisini inceleyen herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada, CAP'ın, farklı gelişme dönemlerindeki farelerin testislerinde, TGF Beta-1'in lokalizasyonu üzerine etkisi incelenmiştir.

Sunulan çalışmada, kontrol ve deney gruplarındaki hayvanların canlı ağırlıkları karşılaştırıldığında deney gruplarının canlı ağırlığının daha fazla olduğu gözlemlenmiş ve deney ve kontrol grupları arasında $p < 0,05$ düzeyinde istatistiki öneme rastlanmıştır. Silva ve ark. (2021) insanlarla yaptıkları 6 hafta süren çalışmalarında, günlük 12 mg CAP tüketen deneklerde kontrol grubuna oranla kilo artışı tespit etmişlerdir. Araştırmacıların (Silva ve ark., 2021) bulguları sunulan çalışmanın bulgularını desteklemektedir. Fakat Özer ve ark. (2006) yaptıkları bir çalışmada 1 günlük yaştan itibaren yemlerine %1 acı biber ilave edilen, 5 ay süre ile beslenen horozların vücut ağırlıklarında azalma gözlemlenmişlerdir. Çalışmalarda gözlenen bu farklılığın CAP'ın uygulama şekli, uygulama dozu ve uygulama süresinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Sunulan çalışmada 35 ve 50 günlük deney gruplarının testis ağırlıklarında kontrollere kıyasla bir artış olduğu gözlemlendi fakat istatistiki bir önem rastlanmadı. Park ve ark.'nın (2017) yapmış oldukları bir çalışmada, CAP uygulamasının fare testislerinde özellikle primer spermatosit, genç ve erişkin spermatid sayılarını arttırarak testis ağırlığını da arttırdığını bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada (Erdost ve ark., 2007) farelerde CAP uygulamasının seminifer tubul gelişim hızının arttırdığı ve bununla birlikte testis ağırlıklarında da artış olduğu bildirilmiştir. Sunulan çalışmanın bulguları bahsedilen çalışmaların (Erdost ve ark., 2007; Park ve ark., 2017) bulguları ile paralellik göstermektedir.

Sunulan çalışmada kontrol ve deney gruplarında, TGF Beta-1 immunreaksiyonu farklı boyanma yoğunluklarında, genç spermatidlerde ve Leydig hücrelerinde saptanmıştır. Kontrol gruplarının genç spermatidlerindeki boyanma yoğunluğunun yaş ile beraber artış gösterdiği görülmüştür. Bazı araştırmacılar (Ingman ve ark., 2002; Mullaney ve Skinner, 1993) TGF Beta-1 immun reaksiyonunu sadece puberte dönemi rat testislerindeki genç spermatidlerde saptadıklarını bildirmişlerdir. Fakat Watrin ve ark.'nın (1991) TGF Beta-1 mRNA'sını erişkin farelerin genç spermatidlerinde eksprese edildiğini bildirmesi aynı zamanda Haagmans ve

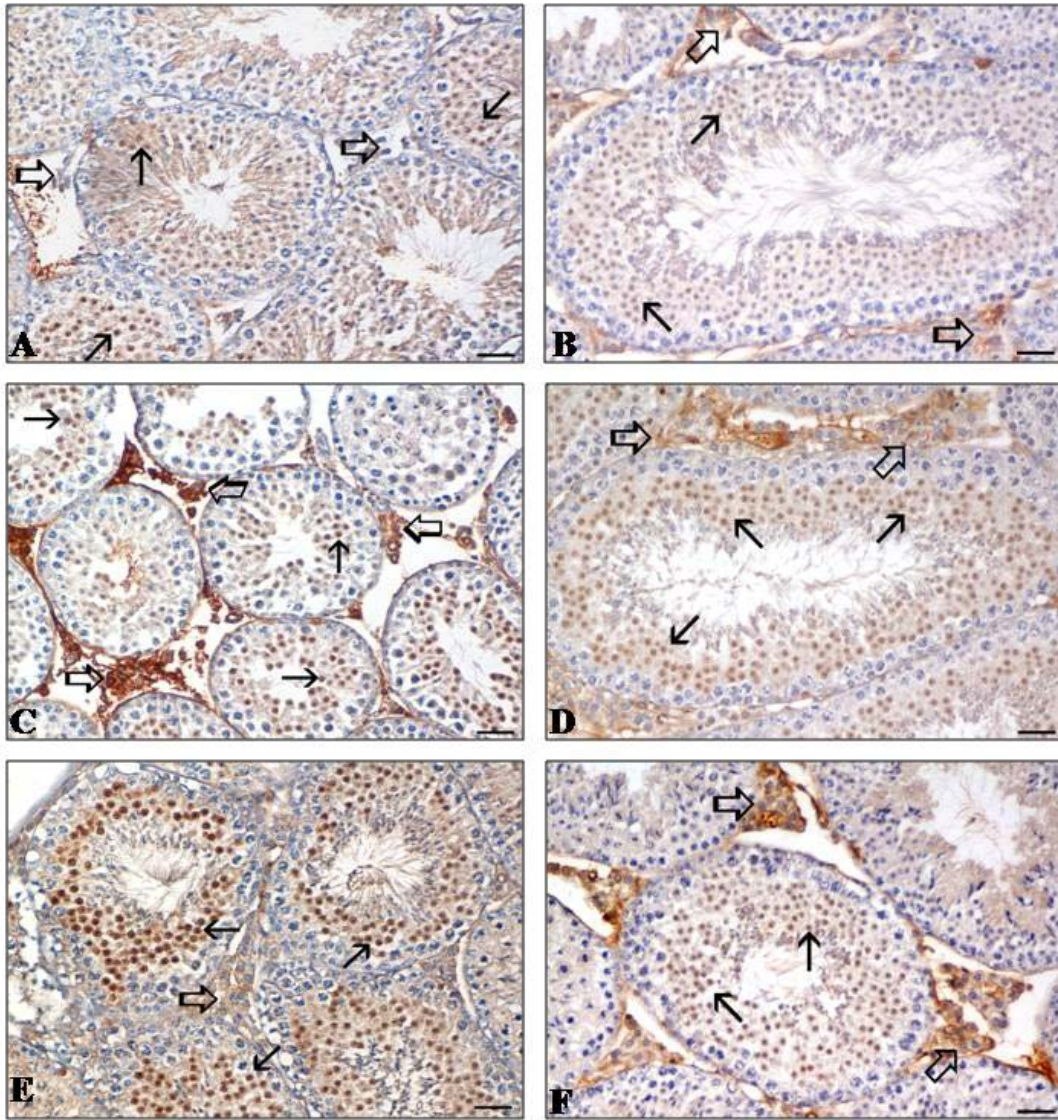
ark.'nın (2003) erişkin ratlar ile yaptıkları çalışmada genç spermatidlerde TGF Beta-1 immun reaksiyonunu göstermesi sunulan çalışmanın kontrol gruplarına ait bulguları desteklemektedir. Sunulan çalışmada, kontrol gruplarından farklı olarak deney gruplarının genç spermatidlerdeki TGF Beta-1 immun boyanma yoğunluğunun özellikle 50 ve 75 günlük gruplarda aynı olduğu gözlenmiştir. Yapılan literatür taramalarında (Jung ve ark., 2004; Lui ve ark., 2003) TGF Beta-

1 sentezindeki artışın spermatogenik hücrelerin mitotik aktivitelerini azalttığını gösteren makalelere rastlanmıştır. Sunulan çalışmada genç spermatidlerdeki TGF Beta-1'in immun boyanma yoğunluğunun 75 günlük kontrol grubunda şiddetli olması bu hücrelerdeki mitotik aktivitenin azaldığını, deney grubunda ise immun boyanma yoğunluğunun kontrol grubuna kıyasla daha zayıf olmasının bu hücrelerde mitotik aktivitenin devam ettiğini düşündürmüştür.



Şekil 1. Kontrol ve deney gruplarına ait testis dokularının genel görünümü.

A: 35 günlük (puberte) kontrol grubu, **B:** 35 günlük (puberte) deney grubu, **C:** 75 günlük (erişkin) kontrol grubu, **D:** 75 günlük (erişkin) deney grubu, **Ta:** Tunika albuginea, **St:** Tubulus seminiferus kontortus, **↑:** Primer spermatosit, **⇨:** Leydig hücresi, **↑:** Genç spermatid, **▲:** Kan damarı, **△:** Peritübüler miyoid hücre, **┘:** Erişkin spermatid, Masson'un üçlü boyaması, Bar:100µm.



Şekil 2. Kontrol ve deney gruplarında TGF Beta-1'in immunohistokimyasal lokalizasyonu.

A: 35 günlük (puberte) kontrol grubu, B: 35 günlük (puberte) deney grubu, C: 50 günlük (puberte sonrası) kontrol grubu, D: 50 günlük (puberte sonrası) deney grubu, E: 75 günlük (erişkin) kontrol grubu, F: 75 günlük (erişkin) deney grubu, ↑: Genç spermatozid, ⇨: Leydig hücresi,,A, C, E için Bar:100µm, B,D,F için Bar:50µm.

Bazı araştırmacılar (Dickson ve ark., 2002; Haagmans ve ark.,2003; Ingman ve Robertson, 2002; Mullaney ve Skinner, 1993) yapmış oldukları çalışmalarda, puberte ve erişkin rat testislerindeki Leydig hücrelerinde TGF Beta-1'i immunohistokimyasal olarak saptamışlar ve boyanma şiddetinin yaşla beraber azaldığını, TGF Beta-1'in Leydig hücrelerinde testosteron salınımını inhibe ettiğini ve DNA sentezini durdurduğunu bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada da kontrol gruplarındaki Leydig hücrelerinde immun boyanma yoğunlukları değerlendirildiğinde yukarıda bahsi geçen araştırmacılar (Dickson ve ark., 2002; Haagmans ve ark.,2003; Ingman ve Robertson, 2002; Mullaney ve Skinner, 1993) ile benzer bulgular saptanmıştır. Çalışmanın deney gruplarındaki Leydig hücrelerinde ise TGF Beta-1 immun boyanma yoğunluğunun yaşla birlikte arttığı gözlenmiştir. Yapılan bir *in vitro* çalışmada (Lui ve ark., 2003), yüksek

miktardaki TGF Beta-1'in LH sentezini durdurarak Leydig hücrelerinden testosteron inhibe ettiği ve spermatogonik hücrelerin gelişimini düzenlediği bildirilmiştir. Bunun yanı sıra Erdost ve ark.'nın (2006) kanatlı hayvanlarda yapmış oldukları bir çalışmada, CAP uygulamasının hipofizde LH salınımını arttırdığı ve bu hayvanların kontrol gruplarına oranla daha erken dönemde puberteye girdiklerini göstermişlerdir. Sunulan çalışmada, kontrol gruplarından farklı olarak deney gruplarının Leydig hücrelerinde daha erken dönemde immunreaksiyonun gözlenmesi, CAP uygulamasının sensorik sinir sonlarından SP ve CGRP gibi nörotransmitter maddelerin salınımını uyarak (Holzer, 1991), sinirsel innervasyondan zengin olan testis dokusu üzerine etkili olduğunu ve spermatogonik hücre gelişiminin kontrol grubuna kıyasla daha erken dönemde başladığını düşündürmektedir. Bununla birlikte CAP'ın reseptörü olan

VR1'in Leydig hücrelerinde varlığı düşünüldüğünde (Erdost ve ark., 2007) CAP'ın VR1 aracılığı ile TGF Beta-1'i aktive ederek spermatogenezisi düzenlediği de ileri sürülebilir.

Sonuç olarak sunulan çalışmada, CAP uygulamasının spermatogenez aşamasında, Leydig hücrelerinde TGF Beta-1 immunreaksiyonunu arttırdığı, genç spermatidlerde ise boyanma yoğunluğunu azalttığı saptanmıştır. CAP'ın testislerdeki TGF Beta-1 üzerine olası etkilerinin gösterilmesi için daha detaylı çalışmaların yapılması gerektiği düşünülmektedir.

Çıkar çatışması

Yazar bu yazı için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan etmiştir.

Etik izin

Bu çalışma için Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (B.U.Ü HADYEK) 1.06.2004/1 numara ile izin alınmıştır. Ayrıca yazar Araştırma ve Yayın Etiğine uyulduğunu beyan etmiştir.

Finansal destek

Bu çalışma, Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu tarafından 1050348 proje numarası ile desteklenmiştir.

Benzerlik Oranı

Makalenin benzerlik oranının sisteme yüklenen raporda belirtildiği gibi % 14 olduğunu beyan ederim.

Teşekkür

Bu çalışmada bana destek olan ve yardımlarını esirgemeyen, ebediyete intikal eden kıymetli hocam Prof. Dr. Aytekin ÖZER'e çok teşekkür ediyor, kendisini özlemle ve rahmetle anıyorum.

Açıklama

19. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresinde (2009) poster bildiri olarak sunulmuştur ve yazarın aynı isimli doktora tezinden özetlenmiştir.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: CGÖA

Tasarım: CGÖA

Denetleme/Danışmanlık: CGÖA

Veri Toplama ve/veya İşleme: CGÖA

Analiz ve/veya Yorum: CGÖA

Kaynak Taraması: CGÖA

Makalenin Yazımı: CGÖA

Eleştirel İnceleme: CGÖA.

Kaynaklar

- Adams EJ, Green JA, Clark AH, Youngson JH, 1999: Comparison of different scoring systems for immunohistochemical staining. *J Clin Pathol*, 52(1), 75-77.
- Adaszek Ł, Gadomska D, Mazurek Ł, Łyp P, Madany J, Winiarczyk S, 2019: Properties of capsaicin and its utility in veterinary and human medicine. *Res Vet Sci*, 123, 14-19.
- Dickson C, Webster DR, Johnson H, Cecilia Millena A, Khan SA, 2002: Transforming growth factor-beta effects on morphology of immature rat Leydig cells. *Mol Cell Endocrinol*, 195(1-2), 65-77.
- Erdost H, Özer A, Yakışık M, Özfiliz N, Zık B, 2006: FSH and LH cells in the laying hens and cocks, fed with a diet containing red hot pepper. *J Food Agr Env*, 4(1), 119-123.
- Erdost H, Ozfiliz N, Ozguden C, Gunes N, Onen S, İlhan T, Ozer A, 2007: Expression of a capsaicin receptor (VR1) in the testes of mice after an application of capsaicin. *Bull Vet Inst Pulawy*, 51(4), 649-653.
- Eurell AJ ve Frappier BL, 2006: Dellman's Textbook of Veterinary Histology. 6th ed., Blackwell Publishing, Iowa, USA.
- Haagmans BL, Hoogerbrugge JW, Themmen AP, Teerds KJ, 2003: Rat testicular germ cells and Sertoli cells release different types of bioactive transforming growth factor beta in vitro. *Reprod Biol Endocrinol*, 5, 1-3.
- Holzer P, 1991: Capsaicin as a tool for studying sensory neuron functions. *Adv Exp Med Biol*, 298(1), 3-16.
- İlhan T, Erdost H, 2013: Effects of capsaicin on testis ghrelin expression in mice. *Biotech Histochem*, 88(1), 8-10.
- İtman C, Mendis S, Barakat B, Loveland KL, 2006: Focus on TGF-β signaling. All in the family: TGF-β family action in testis development. *Reproduction*, 132(2), 233-246.
- İngman WV, Robertson SA, 2002: Defining the actions of transforming growth factor beta in reproduction. *Bioessays*, 24(10), 904-914.
- Jung JC, Park GT, Kim KH, Woo JH, An JM, Kim KC, Chung HY, Bae YS, Park JW, Kang SS, Lee YS, 2004: Differential expression of transforming growth factor-beta in the interstitial tissue of testis during aging. *J Cell Biochem*, 92(1), 92-8.
- Lui WY, Lee WM, Cheng CY, 2003: TGF-betas: their role in testicular function and Sertoli cell tight junction dynamics. *Int J Androl*, 26(3), 147-60.
- Mizrak SC, Gadella BM, Erdost H, Ozer A, van Pelt AM, van Dissel-Emiliani FM, 2008: Spermatogonial stem cell sensitivity to capsaicin: an in vitro study. *Reprod Biol Endocrinol*, 6(52), 1-9.
- Mullaney BP, Skinner MK, 1993: Transforming growth factor-beta (beta 1, beta 2, and beta 3) gene expression and action during pubertal development of the seminiferous tubule: potential role at the onset of spermatogenesis. *Mol Endocrinol*, 7(1), 67-76.
- Oh TW, Oh TW, Ohta F, 2003: Dose-dependent effect of capsaicin on endurance capacity in rats. *Br J Nutr*, 90(3), 515-20.
- Özer A, Zık B, Erdost H, Özfiliz N, 2006: Histological investigations on the effects of feeding with a diet containing red hot pepper on the reproductive system organs of the cock. *Turk J Vet Anim Sci*, 30, 7-15.
- Özgüden-Akkoç CG, İlhan T, Peker S, Zık B, 2017: Düşük doz kapsaisin rat duodenumunda substans P ekspresyonu üzerine etkileri. *Ankara Üniv Vet Fak Derg*, 64(1), 31-36.
- Özgüden-Akkoç CG, Asmaz ED, İlhan T, Zık B, 2018: Düşük doz kapsaicin uygulanan siçanların ovaryumlarında TGF-Beta 1'in immunohistokimyasal yerleşimi. *Erciyes Üniv Vet Fak Derg*, 15(3), 238-246.

- Park SG, Yon JM, Lin C, Gwon LW, Lee JG, Baek IJ, Lee BJ, Yun YW, Nam SY, 2017: Capsaicin attenuates spermatogenic cell death induced by scrotal hyperthermia through its antioxidative and anti-apoptotic activities. *Andrologia*, 49(5), 1-8.
- Sharma SK, Vij AS, Sharma M, 2013: Mechanisms and clinical uses of capsaicin. *Eur J Pharmacol*, 720(1-3), 55-62.
- Silva VEL, Cholewa JM, Jäger R, Zanchi NE, de Freitas MC, de Moura RC, Barros EML, Antunes BM, Caperuto EC, Ribeiro SLG, Lira FS, Pereira Dos Santos MA, Rossi FE, 2021: Chronic capsaicin supplementation increases fat-free mass and upper body strength but not the inflammatory response to resistance exercise in young untrained men: a randomized, placebo-controlled and double-blind study. *J Int Soc Sports Nutr*, 18(1), 50.
- Srinivasan K, 2016: Biological Activities of Red Pepper (*Capsicum annuum*) and Its Pungent Principle Capsaicin: A Review. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 56(9), 1488-1500.
- Toukan N, Kulnik ST, Lewko A, ElShaer A, 2022: Therapeutic applications of capsaicin in humans to target conditions of the respiratory system: A scoping review. *Respir Med*, 194(2022), 106772.
- Tütüncü Ş, Özfiliş N, 2011: Distribution of the vanilloid (capsaicin) receptor type 1 in the capsaicin treated rat ovaries on different sexual development periods. *Rev Med Vet*, 163(10), 460-467.
- Watrin F, Scotto L, Assoian RK, Wolgemuth DJ, 1991: Cell lineage specificity of expression of the murine transforming growth factor beta 3 and transforming growth factor beta 1 genes. *Cell Growth Differ*, 2(1), 77-83.