



Fusun KARAÇAL  
TEMAMOĞULLARI <sup>1</sup>  
Faruk ARAL <sup>2</sup>  
Reşat DEMİRKOL <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Harran Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi  
Farmakoloji ve Toksikoloji  
Anabilim Dalı  
Şanlıurfa -TÜRKİYE

<sup>2</sup> Harran Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi  
Dölerme ve Sun'i  
Tohumlama Anabilim Dalı  
Şanlıurfa -TÜRKİYE

**Geliş Tarihi:** 17.06.2006  
**Kabul Tarihi:** 22.08.2006

**Yazışma Adresi**

**Fusun KARAÇAL**  
**TEMAMOĞULLARI**  
Harran Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi  
Farmakoloji ve Toksikoloji  
Anabilim Dalı  
63100  
Şanlıurfa -TÜRKİYE

fkacal@harran.edu.tr

## Erkek Farelerde Arı Sütünün Uzun Süreli Uygulanmasının Bazı Spermatolojik Özellikler Üzerine Etkisi

Bu çalışma, erkek farelerde arı sütünün bazı spermatolojik özellikler üzerine etkisini belirlemek amacıyla yapıldı.

Çalışmada, 20 adet Swiss albino ırkı ergin erkek fare (25±5 g, 3 aylık) kullanıldı. Çalışmada deney hayvanlarına bir hafta süre ile serbest yemleme ve su verildi. Deney grubuna (n=10) mide içi tüple 240 µl distile su içinde 20 µl arı sütü 60 gün süreyle verildi. Kontrol grubuna (n=10) mide içi tüple sadece distile su verildi.

Çalışma sonucunda, deneme ve kontrol grubu farelerde sırasıyla spermatozoa yoğunluğu (x10<sup>6</sup>/ml) 19.58±6.53 ve 11.45±10.32, spermatozoa motilitesi (%) 75.00±10.60 ve 35.00±20.3, anormal spermatozoa oranı (%) 14.53±5.86 ve 28.00±7.86 olarak belirlendi. Arı sütünün spermatozoa yoğunluğu, spermatozoa motilitesi ve anormal spermatozoa oranına etkisi önemli bulundu (P<0.05).

Sonuç olarak, arı sütünün spermatozoa yoğunluğu ile spermatozoa motilitesini artırarak anormal spermatozoa oranını ise azaltarak sperma kalitesini olumlu olarak etkilediği tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Arı Sütü, Erkek Fare, Sperma

### Effect of Long- Term Administration of Royal Jelly on Some Spermatological Properties in Male Mice

The aim of this study was to determine the effect of the royal jelly on some spermatological properties in male mice.

Twenty Swiss albino male mice (25 ±5 g.in body weight, 3 month old) were used in this study. During the first week of the study water and ad libitum feed were given. Experimental group (n=10) was given by intragastric intubation with a stomach tube daily 20µl royal jelly mixed in 240 µl distilled water per mouse for 60 days. Control group (n=10) was given by intragastric intubation with a stomach tube daily only distilled water (260µl) for 60 days.

In treatment and controls, spermatozoa concentration, spermatozoa motility and abnormal spermatozoa rate were 19.58±6.53 and 11.45±10.32 (x10<sup>6</sup>/ml), 75.00±10.60 and 35.00±20.3, (%),14.53±5.86 and 28.00±7.83 (%), respectively. Effect of royal jelly on the spermatozoa concentration, spermatozoa motility and abnormal spermatozoa rate was found significant compared with control group (p<0.05).

It is concluded that we suggested that royal jelly could increase the sperm quality in male mice.

**Key Words:** Royal Jelly, Male Mice, Sperm

### Giriş

Arı sütü işçi arılar tarafından üretilen bir besin maddesidir. Arı sütü temel yağ asitleri, amino asitler, mineral maddeler, kollajen, lesitin, A, B5, B6, C, D, E vitaminleri içerir (1). Farmakolojik olarak kan damarlarını genişletici ve kan basıncını düşürücü (2, 3), yangı giderici (4), tümör önleyici (5), yorgunluk giderici (1), antialerjik (6), antioksidatif (7), antibakteriyel (8) ve bağışıklık sistemini uyarıcı (9) gibi birçok etkiye sahiptir. Ayrıca, arı sütü gelişme ve büyümeyi hızlandırıcı, hormonal düzenleyici, cinsel gücü ve döl verimini arttırıcı olarak da kullanılmaktadır (7).

Arı sütünün değişik organ ve sistemler üzerindeki etkileri konusunda çalışmalar bulunmasına rağmen, sperma kalitesi üzerine etkisi konusunda çok az bilgi bulunmaktadır. Bu çalışma, mevcut bilgiler dikkate alınarak arı sütünün erkek farelerde spermatozoa yoğunluğu, spermatozoa motilitesi ve anormal spermatozoa oranına etkileri belirlenerek sperma kalitesini nasıl etkilediğini ortaya koymak amacıyla yapılmıştır.

## Gereç ve Yöntem

Çalışmada kullanılacak deney hayvanları için Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Etik Kurul komitesinden onay alındı ve 12 haftalık 20 adet Swiss albino erkek fare kullanıldı. Fareler 24-29 0C sıcaklık, %60-65 neme sahip bir ortamda tutuldular. Deneme süresince günlük 12 saat karanlık, 12 saat ışık uygulaması yapıldı. Hayvanlar; kuru madde %88, ham protein %24, metabolik enerji 2600 kcal/kg, ham sellüloz %7, ham kül %8, kalsiyum %1, fosfor %0.9, sodyum %0.5, NaCl %1.0, metiyonin %0.6 olan yem ile beslendi. Fareler her birinde 10 adet olacak şekilde rastgele, deneme ve kontrol grubu olmak üzere iki gruba ayrıldı. Araştırmanın başlangıç aşamasında 1 hafta süreyle, serbest yemleme ve su verildi. Deney grubunda bulunan hayvanlara mide içi tüple 240 µl distile su içinde 20 µl arı sütü (10), (Arijel Ltd) 60 gün süreyle verildi (11). Kontrol grubuna mide içi tüple sadece distile su verildi. Çalışma sonunda deney hayvanları kloroform anestezisine alındıktan sonra öldürüldü.

Farelerin sağ testisleri çıkarılarak kauda epididimisleri ayrıldı ve 37°C 1 ml'lik serum fizyolojik (%0.9 NaCl) bulunan büyük saat camları içine konuldu. Birkaç yerinden kesilerek hafif basınç uygulanan kauda epididimislerden sperma alındı. Spermada motilite, yoğ-

unluk ve anormal spermatozoa oranı tayini, Tekin (12)'in bildirdiği yöntemle yapıldı. Hareketli spermatozoa oranını tayin için, spermadan 10 µl sperma alınıp, X400 büyütmede, ısıtma tablalı ışık mikroskopunda incelendi, ileri yönlü harekete sahip spermatozoa oranı belirlendi ve %olarak kaydedildi. Spermatozoa yoğunluğu ise hemositometrik yöntemle belirlendi. Bunun için spermadan 0.5 µl alınıp bir eppendorf tüpüne konuldu ve üzerine 99.5 µl serum fizyolojik ilave edildi, bu sperma örneğinden hemositometrik yöntemle spermatozoa yoğunluğu belirlendi ve  $\times 10^6$ /ml olarak kaydedildi. Anormal spermatozoa oranı için, spermadan froti hazırlandı ve Giemsa boyama yöntemi (13) ile boyandı. Her bir preparattan 400 spermatozoa sayılarak, anormal şekilli spermatozoaların biçim ve oranları belirlendi. İstatistiki analiz, spermatozoa yoğunluğu, spermatozoa motilitesi ve anormal spermatozoa oranı non-parametrik test (Mann-Whitney) ile analiz edildi.

## Bulgular

Uzun süreli (60 gün) arı sütü verilmesinin, erkek farelerde sperma kalitesine etkisini belirlemek amacıyla yapılan bu çalışmada, kontrol ve deneme grubunda belirlenen spermatolojik özellikler Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1. Deneme (n=10) ve Kontrol (n=10) Grubu Erkek Farelerde Arı Sütünün Spermatolojik Özellikler Üzerine Etkisi.**

Özellikler	Deneme Grubu	Kontrol Grubu	P
	X ± Sx	X ± Sx	
Spermatozoa Motilite Oranı (%)	75.00 ± 10.60	35.00 ± 20.3	P<0.05
Spermatozoa Yoğunluğu ( $\times 10^6$ /ml)	19.58 ± 6.53	11.45 ± 10.32	P<0.05
Anormal Spermatozoa Oranı (%)	14.53 ± 5.86	28.00 ± 7.83	P<0.05

## Tartışma

Üremede motil spermatozoa oranı sperma kalitesi yönünden önem taşımaktadır (12). Deneme grubuna 60 gün süreyle verilen arı sütünün spermatozoa motilitesi üzerinde olumlu etki göstermiş ve kontrol'e göre önemli şekilde (P<0.05) yüksek bulunmuştur (Tablo 1). Spermatozoa motilitesini epididimal olgunlaşma süreci içinde kazanmaktadır (14). Farelerde, spermatozoa motilite oranlarındaki farklılıklar, leyding hücrelerinden üretilen testesteron hormonundan ileri gelebilmektedir (15). Arı sütünün, spermatozoa motilitesini arttırması, epididimal spermatozoa olgunlaşma ortamına olumlu etkisinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür. Deneme grubu farelerde belirlenen %75.00 spermatozoa motilitesi, Sato ve Ishikawa (16)'nın %70.00, Hellsten ve ark. (14)'nın %84.95 olarak belirledikleri motilite oranları arasında yer almıştır. Buna karşılık, kontrol grubu farelerin spermatozoa motilitesi bu araştırmacıların sonuçlarından düşük bulunmuştur. Bu bulgulara dayanarak arı sütünün uzun süreli verilmesinin spermatozoa motilitesini arttırdığı söylenebilir.

Spermada her tür için yeterli sayıda spermatozoa olması durumunda döllenme gerçekleşebilmektedir (12). Tablo 1'de görüldüğü gibi spermatozoa yoğunluğu deneme ve kontrol grubunda sırasıyla 19.58 ve 11.45  $\times 10^6$ /ml olarak belirlenmiştir. Albino erkek farelerde

spermatozoa yoğunluğunu, Mishra ve Acharya (17) 23  $\times 10^6$ /ml, Rao ve Sharma (18) 42.50  $\times 10^6$ /ml olarak bildirmişlerdir. Deneme grubu farelerin spermatozoa yoğunluğu, Mishra ve Acharya (17)'nin sonuçlarına benzer olmakla birlikte, Rao ve Sharma (18)'nin sonuçlarından düşük bulunmuştur. Bu farklılık bakım, mide içi yolla besleme ve diğer çevresel faktörlerden kaynaklanmış olabilir. Deneme grubunun spermatozoa yoğunluğu, kontrol'e göre önemli şekilde yüksek bulunmuştur (P<0.05). Spermatogenezis, Leydig hücrelerinden üretilen testesteron hormonu etkisi altında bulunmaktadır. Leydig hücre sayısında azalma ya da testesteron hormonun yetersizliği germinativ epitel hücre sayısında azalmaya yol açabilmektedir (19). Bunun dışında, etkin oksijen grupları (ROS), lipid peroksidasyonu uyarak spermatozoa zarında ve DNA'sında bozukluklara, testis işlev bozukluklarına, spermatozoa sayısında azalmaya neden olabilmektedir (15, 17, 20). Antioksidan özelliğe sahip Vit C ile Vit E, farelerde spermatozoa sayısını arttırdığı belirlenmiştir (15, 21). Arı sütünde bulunan, A, E ve C vitaminlerinin, gerek leydig hücrelerini gerekse germinativ epitel hücrelerinin zararlı endojen maddelere karşı korumasına bağlı olarak deneme grubu farelerde spermatozoa yoğunluğu yüksek çıkmış olabilir.

Anormal spermatozoa oranı, arı sütü verilen ve kontrol grubu farelerde sırasıyla %14.53 ve 28.00 olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmalarda, farelerde anormal spermatozoa oranını, Faraq ve ark. (22)'leri 10 haftalık ICR farelerde %2.7, Kyselova ve ark. (23)'leri 90 günlük ICR farelerde %10, Mishra ve Acharya (17) ise 10 haftalık İsviçre albino farelerde %22 olarak tespit etmişlerdir. Çalışmadaki her iki grubun sonuçları, Faraq ve ark. (22)'lerinin bulgularından yüksek bulunmuştur. Bu farklılığın türe bağlı olarak oluştuğu düşünülmüştür. Benzer türde çalışan, Mishra ve Acharya (17)'nin bulguları, sonuçlarımızı destekler niteliktedir. Çalışmada, arı sütü kullanılan farelerde, anormal spermatozoa oranı, kontrol'e göre önemli şekilde düşük bulunmuştur ( $P<0.05$ ). Çok sayıda otozomal ve cinsiyet bağlantılı genler, poligenetik olarak spermatozoa hacmini kontrol etmektedirler. Kimyasal etki sonucu spermatozoa başına bağlı anomaliler ile germ hücre mutasyonları şekillenebilmektedir (24). Mitogenetik ya da sitotoksik etkili

maddeler ROS üreterek etkilerini göstermektedirler (21). Oluşan etkin oksijen grupları, spermatozoa hücre zarında hasara yol açmaktadırlar (17, 20). Postmitotik spermatozoa tipleri olan spermatid ve spermatozoalar oksidatif strese diğer gelişim aşamalarına göre daha duyarlıdır (25). ROS, mitotik ve sitotoksik maddeler spermatozoanın oluşumu, gelişimi ve olgunlaşması aşamalarına etki ederek anormal spermatozoalar oluşumuna neden olabilmektedir. Arı sütü kullanılan farelerde anormal spermatozoa oranının düşük çıkması, arı sütünün spermatozoa üzerindeki zararlı etkenlere karşı koruması sonucunda oluşmuş olabilir.

Sonuç olarak, arı sütünün uzun süreli verilmesinin spermatozoa yoğunluğu ile spermatozoa motilitesini arttırdığı, anormal spermatozoa oranını ise azalttığı ve buna bağlı olarak sperma kalitesini olumlu olarak etkileyerek üremeye faydalar sağlayabileceği kanaatine varılmıştır. Çalışmanın sperma kalitesinin artırılmasına yönelik araştırmalara ışık tutacağı düşünülmektedir.

### Kaynaklar

1. Kamakura M, Mitani N, Fukuda T, Fukushima M. Antifatigue effect of fresh royal jelly in mice. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2001; 47: 394–401.
2. Matsui T, Yukiyooshi A, Doi S, et al. Gastrointestinal enzyme production of bioactive peptides from royal jelly protein and their antihypertensive ability in SHR. *J Nutr Biochem* 2002; 13: 80–86.
3. Shimoda M, Nakajin S, Oikawa T, et al. Biochemical studies on vasodilative factor in royal jelly. *Yakugaku Zasshi* 1978; 98: 139–145.
4. Fujii A, Kobayashi S, Kuboyama N, et al. Augmentation of wound healing by royal jelly in streptozotocin-diabetic rats. *Jpn J Pharmacol* 1990; 53: 331–337.
5. Tamura T, Fujii A, Kumoyama N. Antitumor effect of royal jelly. *Folia Pharmacol* 1987; 89: 73–80.
6. Kataoka M, Arai N, Taniguchi Y, et al. Analysis of anti-allergic function of royal jelly. *Natural Med.* 2001; 55: 174–180.
7. Nagai T, Sakai M, Inoue R, Suzuki N. Antioxidative activities of some commercially honeys, royal jelly, and propolis *Food Chemistry* 2001; 75(2) :237-240.
8. Yatsunami K, Echigo T. Antibacterial action of royal jelly. *Bull Fac Agr* 1985; 25: 13–22.
9. Heidrick ML, Hendricks LC, Cook DE. Effect of dietary 2-mercaptoethanol on the life span, immune system, tumor incidence and lipid peroxidation damage in spleen lymphocytes of aging BC3F1 mice. *Mech Ageing Dev* 1984; 27: 341–358.
10. Oka H, Emori Y, Kobayashi N, Hayashi Y, Nomoto K.. Suppression of allergic reactions by royal jelly in association with the reiteration of macrophage function and the improvement of Th1/Th2 cell responses. *Int Immunophar* 2001; 1: 521-532.
11. Kaya S, Bilgili A. Zehirlenme ve Zehirlilik Denemeleri. In: S. Kaya, İ. Pirinççi, A. Bilgili (Ed.), *Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji*. 2. Baskı, Ankara : Medisan Matb, 2002: 21-28.
12. Tekin N. Erkek Üreme Organlarının Muayenesi (Androlojik Muayeneler). In: E. Alaçam, (Ed.). *Theriyogenoloji Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Sun'i Tohumlama Obstetrik ve Infertilite*. Ankara: Nuru Matbaacılık, 1990: 53-67.
13. Daşkın A. Sığırcılık İşletmelerinde Reprodüksiyon Yönetimi ve Sun'i Tohumlama. In: A. Daşkın, (Ed). *Spermanın Fertilitesi ve Değerlendirilmesi*. Ankara: Aydan Web Ofset, 2005: 86-94.
14. Hellsten E, Evans PJ, Bernard JD, et al. Disrupted Sperm Function and Fertilin b Processing in Mice Deficient in the Inositol Polyphosphate 5-Phosphatase. *Develop Biol* 2001; 240: 641–653.
15. Acharya UR, Rathore RM, Mishra M. Role of vitamin C on lead acetate induced spermatogenesis in swiss mice. *Envir Tox Pharm* 2003; 13: 9-14.
16. Sato M, Ishikawa A. Room temperature storage of mouse epididymal spermatozoa: exploration of factors affecting sperm survival. *Theriyogenology* 2004; 61: 1455–1469.
17. Mishra M, Acharya UR. Protective action of vitamins on the spermatogenesis in lead-treated Swiss mice *J Tr Elem Med Biol* 2004; 18: 173–178.
18. Rao VM, Sharma NSP. Protective effect of vitamin E against mercuric chloride reproductive toxicity in male mice. *Repr Toxicol* 2001; 15: 705–712.
19. Agnes VF, Akbarsha MA. Spermatotoxic effect of aflatoxin B1 in the albino Mouse. *Food Chem Tox* 2003; 41:119–130.
20. Muralidhara DK. Genotoxic consequences associated with oxidative damage in testis of mice subjected to iron intoxication *Toxicology*. 2005; 206: 169–178.
21. Acharya UR, Mishra I, Rashmi M, Tripathy R R. Potential role of vitamins in chromium induced spermatogenesis in Swiss mice. *Envir Toxicol Pharmacol* 2004; 15:53–59.
22. Farag TA, Eweidah HM, El-Okazy MA. Reproductive toxicology of acephate in male mice. *Reproductive Toxicology* 2000; 14: 457–462.

23. Kyselova V, Peknicova J, Boubelik M, Buckiova D. Body and organ weight, sperm acrosomal status and reproduction after genistein and diethylstilbestrol treatment of CD1 mice in a multigenerational study. *Theriogenology* 2004; 61: 1307–1325.
24. Otubanjo OA, Mosuro AA. An in vivo evaluation of induction of abnormal sperm morphology by some anthelmintic drugs in mice. *Mut Res* 2001; 497: 131–138.
25. Rajesh KT, Doreswamy K., Shrilatha B, Muralidhara A. Oxidative stress associated DNA damage in testis of mice: induction of abnormal sperms and effects on fertility. *Mut Res* 2002; 513: 103–111.