

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI



DENEYSEL DİYABET
OLUŞTURULMUŞ RATLARDA
KARVAKROLÜN TESTİKULAR
APOPTOZİS, İNFLAMASYON,
NRF2/HO-1 SİNYAL YOLAĞI VE
SPERMATOLOJİK PARAMETRELER
ÜZERİNE ETKİLERİ

DOKTORA TEZİ

Gözde ARKALI

Elazığ-2020

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Mehmet ÇAY

Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mesut AKSAKAL

Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Mesut AKSAKAL

Prof. Dr. Abdurrauf YÜCE

Prof. Dr. Mine ERİŞİR

Prof. Dr. Nurettin AYDİLEK

Dr. Öğretim Üyesi Halil ŞİMŞEK



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.


Gözde ARKALI

12/06/2020

TEŞEKKÜRLER

Doktora eğitim boyunca ve tez çalışmalarım sırasında bilgi, birikim ve tecrübelerinden yararlandığım, desteklerini benden esirgemeyen kıymetli danışman hocam Prof.Dr. Mesut AKSAKAL'a, Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyeleri; Prof. Dr. Mehmet ÇAY, Prof. Dr. Abdurrauf YÜCE ve Dr. Öğretim Üyesi Meltem KIZIL hocalarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda yer alan spermatolojik analizler kısmında benden yardımlarını esirgemeyen Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme, Suni Tohumlama ve Androloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr. Gaffari TÜRK hocama, Arş. Gör. Dr. Şeyma ÖZER KAYA, Arş. Gör. Tutkucan ACISU, Serap DAYAN ve Aslıhan Çakır'a; deneysel aşamalarda ve laboratuvar analizlerinde bana yardımcı olan Edanur Güler, Kübra GEÇMEZ ve Abdullah TOZ'a teşekkür ederim. Tezimin deneysel aşamalarını yürüttüğüm Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nin sorumlu yöneticisi olan Dr. Öğretim Üyesi Özgür BULMUŞ hocama, ayrıca birim personelleri; Veysel ÇAK, Lütfi DEMİREL ve rahmetli Suat DOĞAN'a teşekkür ederim.

Her koşulda yanımda olan, bana destek veren eşim Aydoğan ARKALI'ya, gülüşüyle en büyük destekçim olan kızım Elif Ela ARKALI'ya ve beni bugünlere getiren, tüm hayatım boyunca karşılıksız destek veren, sevgileriyle her koşulda yanımda olan aileme en içten teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması F.Ü Araştırma Projeleri Birimi (FÜBAP) tarafından desteklenmiştir. Verdikleri desteklerden dolayı FÜBAP'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI.....	ii
ETİK BEYAN.....	iii
TEŞEKKÜRLER	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLO LİSTESİ.....	viii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
KISALTMA LİSTESİ	xi
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT	4
3. GİRİŞ.....	7
4. GENEL BİLGİLER	12
4.1. Diyabetes Mellitus	12
4.2. Erkek Üreme Fizyolojisi	16
4.2.1. Erkek Üreme Organlarının Fizyolojik Anatomisi	16
4.2.2. Spermatogenezis.....	19
4.2.3. Erkek Hipotalamo-Hipofizer-Gonadal Eksen (HPG).....	22
4.3. Oksidatif Stres.....	23
4.3.1. Reaktif Oksijen Türleri ve Oluşum Mekanizması.....	24
4.3.2. Antioksidanlar	26
4.3.3. Lipid Peroksidasyonu	31
4.4. Hiperglisemiye Bağlı Serbest Radikallerin Üretim Yolları	33
4.4.1. Glikozun Otooksidasyonu ve Süperoksit Üretimi.....	33
4.4.2. Proteinlerin Glikasyonu ve İlerlemiş Glikasyon Son Ürünleri Oluşumu..	34

4.4.3. Poliöl Yol Aktivitesi.....	35
4.4.4. Heksozamin Yolu.....	35
4.4.5. Artmış Protein Kinaz C Aktivitesi	36
4.5. Nrf2/HO-1 Sinyal Yolağı.....	37
4.6. Nfkb ve COX-2 Sinyal Yolağı	39
4.7. Apoptozis	40
4.8. Diyabetin Erkek Üreme Sistemi Üzerindeki Etkileri.....	43
4.9. Karvakrol	47
5. GEREÇ VE YÖNTEM	49
5.1. Gereç	49
5.1.1. Kullanılan Alet ve Cihazlar.....	49
5.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeler.....	50
5.2. Hayvan Materyali.....	52
5.3. Yöntem.....	52
5.3.1. Deneysel Model.....	52
5.3.2. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması.....	54
5.3.2.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması.....	54
5.3.2.2. Doku Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması	54
5.3.3. Spermatolojik Analizler	55
5.3.3.1. Epididimal Spermatozoon Yoğunluğu.....	55
5.3.3.2. Spermatozoon Motilitesi.....	56
5.3.3.3. Anormal Spermatozoon Oranı	56
5.3.4. Serum Testosteron ve Glikoz Analizleri	57
5.3.5. Oksidatif Stres Analizleri	57
5.3.5.1. Malondialdehit (MDA) Tayini.....	57
5.3.5.2. İndirgenmiş Glutasyon (GSH) Tayini	57

5.3.5.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Tayini	58
5.3.5.4. Katalaz (CAT) Tayini	58
5.3.5.5. Total Protein Tayini	59
5.3.6. Western Blot Analizleri	59
5.3.7. Canlı Ağırlık Ölçümleri	61
5.3.8. İstatistiksel Analiz	61
6. BULGULAR	62
6.1. Canlı Ağırlık Değerleri	62
6.2. Serum Glikoz Düzeyleri	64
6.3. Serum Testosteron Düzeyleri	66
6.4. Oksidatif Stres Parametreleri	70
6.4.1. Malondialdehit (MDA) Düzeyleri	70
6.4.2. Glutasyon (GSH) Düzeyleri	72
6.4.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH.Px) Aktivitesi	74
6.4.4. Katalaz (CAT) Aktivitesi	76
6.5. Nrf2 ve HO-1 Protein Ekspresyon Düzeyleri	80
6.6. NfκB ve COX-2 Protein Ekspresyon Düzeyleri	84
6.7. Bax ve Bcl-2 Protein Ekspresyon Düzeyleri	88
6.8. Spermatolojik Parametreler	94
6.8.1. Motilite Değerleri	94
6.8.2. Yoğunluk Değerleri	96
6.8.3. Anormal Spermatozoon Değerleri	98
6.8.4. Absolut Üreme Organ Ağırlık Değerleri	102
7. TARTIŞMA	107
8. KAYNAKLAR	120
9. ÖZGEÇMİŞ	136

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Diyabetes Mellitus Tanı Kriterleri.....	14
Tablo 2: Karvakrolün Kimyasal Özellikleri.....	48
Tablo 3: Dördüncü Hafta Serum Glikoz ve Testosteron Düzeyleri	68
Tablo 4: Sekizinci Hafta Serum Glikoz ve Testosteron Düzeyleri	69
Tablo 5: Dördüncü Hafta Testis Dokusu Oksidatif Stres Parametreleri	78
Tablo 6: Sekizinci Hafta Testis Dokusu Oksidatif Stres Parametreleri	79
Tablo 7: Dördüncü Hafta Spermatolojik Parametreler	100
Tablo 8: Sekizinci Hafta Spermatolojik Parametreler.....	101
Tablo 9: Dördüncü Hafta Absolut Üreme Organ Ağırlık Değerleri	105
Tablo 10: Sekizinci Hafta Absolut Üreme Organ Ağırlık Değerleri	106

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Testisin Yapısı.....	17
Şekil 2: Spermatogenezis ve Sperm Hücresinin Yapısı.	21
Şekil 3: Testis Fonksiyonlarının Nöroendokrin Kontrolü	23
Şekil 4: Antioksidan Enzimlerin Reaktif Oksijen Türleri Üzerine Etkisi	30
Şekil 5: Malondialdehit Oluşumu.....	32
Şekil 6: Hiperglisemiye Bağlı Serbest Radikallerin Üretim Yolları	36
Şekil 7: Nrf2'nin Sitoplazmadan Çekirdeğe Translokasyonu ve Antioksidan Genlerin Ekspresyonu	38
Şekil 8: NfκB'nin Sitoplazmadan Çekirdeğe Translokasyonu ve İnflamasyon Genlerin Ekspresyonu	40
Şekil 9: Apoptozisin Oluşum Mekanizması	42
Şekil 10: Oksidatif Stres ve Testikular Disfonksiyon	45
Şekil 11: Apoptozis ve Testikular Disfonksiyon	45
Şekil 12: Diyabetes Mellitus'un Erkeklerde HPG Eksenine Etkisi.....	46
Şekil 13: Karvakrolün Yapısı	47
Şekil 14: Dördüncü Hafta Canlı Ağırlık Değerleri.....	62
Şekil 15: Sekizinci Hafta Canlı Ağırlık Değerleri	63
Şekil 16: Dördüncü Hafta Serum Glikoz Düzeyleri	64
Şekil 17: Sekizinci Hafta Serum Glikoz Düzeyleri	65
Şekil 18: Dördüncü Hafta Serum Testosteron Düzeyleri	66
Şekil 19: Sekizinci Hafta Serum Testosteron Düzeyleri	67
Şekil 20: Dördüncü Hafta Testis Dokusu MDA Düzeyleri	70
Şekil 21: Sekizinci Hafta Testis Dokusu MDA Düzeyleri	71
Şekil 22: Dördüncü Hafta Testis Dokusu GSH Düzeyleri	72
Şekil 23: Sekizinci Hafta Testis Dokusu GSH Düzeyleri	73
Şekil 24: Dördüncü Hafta Testis Dokusu GSH.Px Aktivitesi	74
Şekil 25: Sekizinci Hafta Testis Dokusu GSH.Px Aktivitesi	75
Şekil 26: Dördüncü Hafta Testis Dokusu Katalaz Aktivitesi	76
Şekil 27: Sekizinci Hafta Testis Dokusu Katalaz Aktivitesi	77
Şekil 28: Dördüncü Hafta Testis Dokusu Nrf2 Protein Ekspresyon Düzeyleri....	80

Şekil 29: Sekizinci Hafta Testis Dokusu Nrf2 Protein Ekspresyon Düzeyleri.....	81
Şekil 30: Dördüncü Hafta Testis Dokusu HO-1 Protein Ekspresyon Düzeyleri ..	82
Şekil 31: Sekizinci Hafta Testis Dokusu HO-1 Protein Ekspresyon Düzeyleri ...	83
Şekil 32: Dördüncü Hafta Testis Dokusu NfκB Protein Ekspresyon Düzeyleri ..	84
Şekil 33: Sekizinci Hafta Testis Dokusu NfκB Protein Ekspresyon Düzeyleri ...	85
Şekil 34: Dördüncü Hafta Testis Dokusu COX-2 Protein Ekspresyon Düzeyleri	86
Şekil 35: Sekizinci Hafta Testis Dokusu COX-2 Protein Ekspresyon Düzeyleri	87
Şekil 36: Dördüncü Hafta Testis Dokusu Bax Protein Ekspresyon Düzeyleri.....	88
Şekil 37: Sekizinci Hafta Testis Dokusu Bax Protein Ekspresyon Düzeyleri.....	89
Şekil 38: Dördüncü Hafta Testis Dokusu Bcl-2 Protein Ekspresyon Düzeyleri ..	90
Şekil 39: Sekizinci Hafta Testis Dokusu Bcl-2 Protein Ekspresyon Düzeyleri ...	91
Şekil 40: Dördüncü Hafta Testis Dokusu Bax/Bcl-2 Oranları	92
Şekil 41: Sekizinci Hafta Testis Dokusu Bax/Bcl-2 Oranları	93
Şekil 42: Dördüncü Hafta Motilite Değerleri	94
Şekil 43: Sekizinci Hafta Motilite Değerleri	95
Şekil 44: Dördüncü Hafta Epididimal Spermatozoon Yoğunluk Değerleri	96
Şekil 45: Sekizinci Hafta Epididimal Spermatozoon Yoğunluk Değerleri	97
Şekil 46: Dördüncü Hafta Anormal Spermatozoon Değerleri.....	98
Şekil 47: Sekizinci Hafta Anormal Spermatozoon Değerleri.....	99
Şekil 48: Dördüncü Hafta Testis, Epididimis, Sağ Kauda Epididimis Ağırlık Değerleri.....	102
Şekil 49: Dördüncü Hafta Vezikula Seminalis ve Ventral Prostat Ağırlık Değerleri.....	103
Şekil 50: Sekizinci Hafta Testis, Epididimis, Sağ Kauda Epididimis Ağırlık Değerleri.....	104
Şekil 51: Sekizinci Hafta Vezikula Seminalis ve Ventral Prostat Ağırlık Değerleri	104

KISALTMA LİSTESİ

ADA	: Amerika Diyabet Birliği
AGE	: İlerlemiş Glikasyon Son Ürünleri
ARE	: Antioksidan Yanıt Elementleri
CAT	: Katalaz
COX-2	: Siklooksijenaz-2
DKA	: Diyabetik Ketoasidoz
DM	: Diyabetes Mellitus
DNA	: Deoksirübönükleik Asit
LH	: Luteinize Edici Hormon
FSH	: Folikül Stimüle Edici Hormon
GCL	: Glutamin Sistein Ligaz
GCLC	: Glutamin Sistein Ligazın Katalitik Alt Birimi
GDM	: Gestasyonel Diyabetes Mellitus
GFAT	: Fruktoz 6-fosfat Amino Transferaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GnRH	: Gonadotropin Serbestleştirici Hormon
GSH	: Glutasyon
GSH.Px	:Glutasyon Peroksidaz
GSS	: Glutasyon Sentetaz
GSSG	: Glutasyon Disülfüt
HbA1c	: Hemoglobin A1c
HO-1	: Hem Oksijenaz-1
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HPG	: Hipotalamus-Hipofiz-Gonadal Eksen
L·	: Lipid Radikali
LOO·	: Lipit Peroksit Radikalleri
LOOH	: Lipit Peroksit
MDA	: Malondialdehit
NFκB	: Nükleer Faktör kappa B
NO	: Nitrik Oksit
Nrf2	: Nükleer Faktör-Eritroid 2-İlişkili Faktör 2
NQO-1	: Kinon Oksidoredüktaz

O₂	: Oksijen
O₂⁻	: Süperoksit Radikali
¹O₂	: Singlet Oksijen
OGTT	: Oral Glikoz Tolerans Testi
OH[·]	: Hidroksil Radikali
ONOOH	: Peroksinitrit
PAS	: Periyodik-asit-schiff
PG	: Prostaglandin
PKC	: Protein Kinaz C
RNS	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SHBG	: Seks Hormon Bağlayıcı Globülin
SOD	: Süperoksit Dismutaz
STZ	: Streptozotosin
T1DM	: Tip 1 Diyabetes Mellitus
T2DM	: Tip 2 Diyabetes Mellitus
UDP-GlcNAc	: Üridin-5-difosfat-asetil-glukozamin
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

1. ÖZET

Dünya genelinde yaygın olarak görülen ve birçok komplikasyona neden olan Diyabetes mellitus (DM), erkeklerde üreme sistemini de olumsuz yönde etkilemektedir. Diyabetin erkek üreme sistemi üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmak amacıyla antioksidan kullanımı, son zamanlarda en çok araştırılan konulardan biridir. Bu çalışmada; streptozotosin ile diyabet oluşturulan erkek ratlarda karvakrolün, deney sürecinin dördüncü ve sekizinci haftalardaki erkek üreme sistemi üzerindeki etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Bu amaçla, 74 adet Wistar albino ırkı erkek rat kullanıldı. Kontrol ve Karvakrol Gruplarında 14'er rat, DM ve DM + Karvakrol Gruplarında 23'er rat olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Gruplar; **1. Grup (Kontrol Grubu);** (mısır yağı, gavaj), **2. Grup (DM Grubu);** (STZ 55 mg/kg/tek doz/i.p), **3. Grup (Karvakrol Grubu);** (Karvakrol 75 mg/kg/gün/gavaj), **4.Grup (DM+Karvakrol Grubu);** (STZ 55 mg/kg/tek doz/i.p + Karvakrol 75 mg/kg/gün/gavaj) olacak şekilde planlandı.

Dördüncü haftanın sonunda Kontrol ve Karvakrol gruplarından 7'şer rat DM ve DM+Karvakrol gruplarından 10'ar rat son gavaj uygulamasından 24 saat sonra dekapite edildi. Kalan ratlara gavaj uygulaması ile belirtilen dozda karvakrol verilmeye devam edildi ve sekizinci haftanın sonunda son gavaj uygulamasından yine 24 saat sonra kalan ratlar da dekapite edildi. Ratlardan alınan kan örneklerinden serum testosteron ve glikoz düzeyleri, testis dokusundan; Malondialdehit (MDA) düzeyleri, Glutasyon (GSH) düzeyleri, Glutasyon Peroksidaz (GSH.Px) ve Katalaz (CAT) aktiviteleri, Nükleer Faktör-Eritroid 2-

İlişkili Faktör 2 (Nrf2), Hem Oksijenaz-1 (HO-1), Nükleer Faktör kappa B (NfkB), Siklooksijenaz-2 (COX-2), Bax ve Bcl-2 protein ekspresyon düzeyleri, spermatolojik parametreler (spermatozoon motilitesi, epididimal spermatozoon yoğunluğu, anormal spermatozoon oranı), üreme organ ağırlıkları (testis, epididimis, sağ kauda epididimis, vezikula seminalis, prostat) belirlendi.

Dördüncü ve sekizinci haftalarda; DM Gruplarında, canlı ağırlık ve serum testosteron düzeylerinin azaldığı ($p<0,001$), serum glikoz düzeylerinin arttığı ($p<0,001$) belirlendi. Testis dokusunda; GSH düzeylerinin (dördüncü hafta: $p<0,001$; sekizinci hafta: $p<0,01$), CAT (dördüncü hafta: $p<0,01$; sekizinci hafta: $p<0,001$) ve GSH.Px aktivitesinin, Nrf2, HO-1 ve Bcl-2 protein ekspresyon düzeylerinin azaldığı ($p<0,001$); MDA düzeylerinin, NfkB, COX-2, Bax protein ekspresyon düzeylerinin ve Bax/Bcl-2 oranının arttığı ($p<0,001$) belirlendi. Spermatolojik parametrelerden; spermatozoon motilitesinin ($p<0,001$), epididimal spermatozoon yoğunluğunun (dördüncü hafta: $p<0,05$; sekizinci hafta: $p<0,001$) ve üreme organ ağırlıklarının (testis, epididimis, sağ kauda epididimis, vezikula seminalis, ventral prostat) azaldığı; anormal spermatozoon oranının (baş, kuyruk, toplam) arttığı ($p<0,001$) tespit edildi.

Dördüncü haftada, DM+Karvakrol Grubu DM Grubu ile kıyaslandığında; canlı ağırlık, serum glikoz ve testosteron düzeylerinde bir fark olmadığı ($p>0,05$), sekizinci haftada DM+Karvakrol Grubu DM Grubu ile kıyaslandığında; canlı ağırlık ve serum testosteron düzeylerinin arttığı ($p<0,001$), glikoz düzeylerinin azaldığı ($p<0,001$) tespit edildi. Dördüncü haftada DM+Karvakrol Grubu DM Grubu ile kıyaslandığında testis dokusu CAT aktivitesinde bir fark belirlenmezken ($p>0,05$), sekizinci haftada DM+Karvakrol Grubu DM Grubu ile kıyaslandığında

CAT aktivitesinin arttığı ($p<0,001$) belirlendi. Dördüncü ve sekizinci haftalarda DM Grubuyla kıyaslandığında, DM+Karvakrol Grubunda testis dokusu GSH düzeylerinde bir fark bulunmazken ($p>0,05$); GSH.Px aktivitesinin, Nrf2, HO-1 ve Bcl-2 protein ekspresyon düzeylerinin arttığı ($p<0,001$); MDA düzeylerinin, Nfkb, COX-2, Bax ekspresyon düzeylerinin ve Bax/Bcl-2 oranının azaldığı ($p<0,001$) görüldü.

Dördüncü haftada DM+Karvakrol Grubu DM Grubu ile kıyaslandığında; spermatozoon motilitesinde ve üreme organ ağırlıklarında bir fark bulunmazken ($p>0,05$); sekizinci haftada DM+Karvakrol Grubu DM Grubu ile kıyaslandığında; spermatozoon motilitesinin ($p<0,001$) ve üreme organ ağırlıklarının arttığı belirlendi. Dördüncü ve sekizinci haftalarda DM Grubu ile kıyaslandığında, DM+Karvakrol Grubunda epididimal spermatozoon yoğunluğunun arttığı (dördüncü hafta: $p<0,05$; sekizinci hafta: $p<0,001$), anormal spermatozoon oranının azaldığı ($p<0,001$) belirlendi.

Bu çalışmada; diyabetli ratlara karvakrolün 75 mg/kg/gün/gavaj verilmesiyle, diyabetin testis dokusunda oluşturduğu oksidatif stresin, apoptozisin, inflamasyonun ve spermatolojik parametreler üzerindeki olumsuz etkilerin azaldığı belirlenmiştir. Bu çalışma sonucunda; hipergliseminin erkek üreme sistemindeki bu olumsuz etkilerinin, karvakrol verilmesi ile önlenilebileceği ve/veya azaltılabileceği kanısına varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Diyabet, Karvakrol, Nfkb/COX-2, Nrf2/HO-1, Sperm Kalitesi

2. ABSTRACT

The Effects of Carvacrol on Testicular Apoptosis, Inflammation, Nrf2/HO-1 Signaling Pathway and Spermatological Parameters in Experimentally Induced Diabetic Rats.

Diabetes mellitus, which is common worldwide and causes many complications, also adversely affects the reproductive system in men. In order to reduce negative effects caused by diabetes in male reproductive system, the use of antioxidants is one of the most researched topics recently. In this study, it was aimed to investigate the effects of carvacrol on male reproductive system at fourth and eighth weeks of the experimental process in streptozotocin-induced diabetic male rats.

For this purpose, 74 Wistar albino male rats were used. Rats were divided into 4 groups, 14 rats in the Control and Carvacrol Groups, 23 rats in the DM and DM + Carvacrol Groups. Groups; **Group 1 (Control Group)**; (corn oil, gavage), **Group 2 (DM Group)**; (STZ 55 mg/kg/single dose/i.p), **Group 3 (Carvacrol Group)**; (Carvacrol 75 mg/kg/day/gavage), **Group 4 (DM + Carvacrol Group)**; (STZ 55 mg/kg/single dose/i.p + Carvacrol 75 mg/kg/day/gavage).

At the end of fourth week, 7 rats from the Control and Carvacrol groups and 10 rats from the DM and DM+Carvacrol groups were decapitated 24 hours after the last gavage application. The remaining rats were continued to be given carvacrol at the dose indicated by the administration of gavage. At the end of eighth week, the rats were decapitated 24 hours after the last gavage application. From the blood samples serum testosterone and glucose levels and testicular Malondialdehyde (MDA) levels, Glutathione (GSH) levels, Glutathione Peroxidase (GSH.Px),

Catalase (CAT) enzyme activities; Nuclear Factor-Erythroid 2-Related Factor 2 (Nrf2), Heme Oxygenase-1 (HO-1), Nuclear Factor kappa B (NfκB), Cyclooxygenase-2 (COX-2), Bax and Bcl-2 protein expression levels; spermatological parameters (motility, epididimal spermatozoon density, abnormal spermatozoon ratio); reproductive organ weights (testis, epididymis, right cauda epididymis, vesicula seminalis, prostate) were evaluated.

It was found that the body weight and serum testosterone level decreased ($p<0,001$) and serum glucose level increased ($p<0,001$) in the DM Groups at fourth and eighth weeks. It was found that in testicular tissue GSH (fourth week: $p<0,001$; eighth week: $p<0,01$) levels, Catalase (fourth week: $p<0,01$; eighth week: $p<0,001$) and GSH.Px activities, Nrf2, HO-1 and Bcl-2 protein expression levels decreased ($p<0,001$); MDA levels, NfκB, COX-2, Bax protein expression levels and Bax / Bcl-2 ratio increased ($p<0,001$) in the DM Groups at fourth and eighth weeks. It was found that motility ($p<0,001$), epididimal spermatozoon density (fourth week: $p<0,05$; eighth week: $p<0,001$) and reproductive organ weights (testis, epididymis, right cauda epididymis, vesicula seminalis, ventral prostate) reduced, abnormal spermatozoon rate (head, tail, total) increased ($p<0,001$) in the DM Groups.

There was no difference in body weight, serum glucose and testosterone levels ($p>0,05$) in the DM+Carvacrol Group compared to the DM Group at fourth week. However it was determined that the body weight and serum testosterone level increased ($p<0,001$) and the glucose level decreased ($p<0,001$) in the DM+Carvacrol Group at eighth week. There was no difference in Catalase activities ($p>0,05$) in the DM+Carvacrol Groups compared to the DM Groups at fourth week; however it was determined to increase Catalase activities ($p<0,001$) in the

DM+Carvacrol Group compared to the DM Group at eighth week. There was no difference in GSH levels ($p>0,05$) in the DM+Carvacrol Groups compared to the DM groups at fourth and eighth weeks. However it was found that GSH.Px activities, Nrf2, HO-1 and Bcl-2 protein expression levels ($p<0,001$) increased in the DM+Carvacrol Groups compared to the DM groups at fourth and eighth weeks. Also it was found that MDA levels, Nfkb, COX-2, Bax expression levels and Bax / Bcl-2 ratio ($p<0,001$) decreased in the DM+Carvacrol Groups compared to the DM groups at fourth and eighth weeks.

There was no difference in spermatozoon motility and reproductive organ weight in the DM+Carvacrol Group compared to the DM Group at fourth week ($p>0,05$); however it was determined that spermatozoon motility ($p<0,001$) and reproductive organ weight were increased in the DM+Carvacrol Group compared to the DM Group at eighth week. It was determined that the density increased (fourth week: $p<0,05$; eighth week: $p<0,001$) and abnormal spermatozoon rate decreased ($p<0,001$) in the DM+Carvacrol Groups compared to the DM Groups at fourth and eighth week.

In this study it was determined that decreased negative effects of diabetes on oxidative stress, apoptosis, inflammation and spermatological parameters in the diabetic rats by giving carvacrol of 75 mg/kg/day/gavage. As a result of this study; it was concluded that the negative effects of hyperglycemia in the male reproductive system can be prevented and/or reduced by giving carvacrol.

Keywords: Diabetes, Carvacrol, Nfkb/COX-2, Nrf2/HO-1, Sperm Quality

3. GİRİŞ

Diyabetes Mellitus (DM); pankreastan insülin hormonunun salgılanmasındaki yetersizlik veya üretilen insülin hormonunun etkili bir şekilde kullanılamaması sonucu, kan glikoz düzeyinin yükseldiği metabolik bir hastalıktır. Hiperglisemi; karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasını önemli düzeyde etkileyerek, ciddi fonksiyonel komplikasyonlara neden olmaktadır (1). Diyabetes Mellitus, dünya genelinde değerlendirildiğinde, gün geçtikçe artan bir halk sağlığı sorunu haline gelmiştir. Uluslararası Diyabet Federasyonu raporunda, 2013 yılında 382 milyon insanın diyabetten etkilendiği ve 2035 yılına kadar diyabet prevalansının 522 milyon olması öngörüldüğü bildirilmiştir. Türkiye’de 2013 yılı verilerine göre ise yaklaşık 7 milyon civarında diyabet hastası olduğu tahmin edilmektedir (2). Tip 1 diyabet hastaları, diyabetli tüm hastaların yaklaşık % 5 ile % 10'unu oluşturmaktadır. Tip 1 diyabet, genellikle çocukluk veya ergenlik döneminde ortaya çıksa da, yetişkinlerde de görülmektedir ve ‘latent otoimmün diyabet’ olarak adlandırılmaktadır (3,4).

Diyabetes Mellitusun başlıca semptomları; polidipsi, polifaji ve poliüridir; ancak uzun süreli hiperglisemi olgularının en önemli komplikasyonları arasında nefropati, nöropati, retinopati, anjiyopati ve periferel damar hastalıkları bulunmaktadır. Ciddi komplikasyonlara yol açması nedeniyle de tedavi maliyeti oldukça yüksektir (5).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, diyabetin erkeklerde üreme sistemi üzerine de ciddi etkileri olduğunu göstermiştir. Libido azalması, erektil disfonksiyon ve retrograd ejakulasyon gibi seksüel fonksiyon bozuklukları diyabetin erkek üreme sistemi üzerindeki komplikasyonları arasında yerini almaktadır (6,7). Diyabetik

erkek hastalarda bu komplikasyonlar, subfertilite veya infertiliteye neden olmaktadır (8).

Diyabetes mellitusta, hipotalamo-hipofizer-gonadal eksenin (HPG) etkilenmesi sonucunda, testosteron hormon düzeyi düşmektedir. Testosteron hormon düzeyinin düşmesi, testis ağırlığının azalması, sperm sayısının azalmasıyla anormal spermatogenezisin artması ve germ hücrelerinde apoptotik sürecin başlamasıyla birlikte testis dokusunda histopatolojik değişikliklerin meydana gelmesi, diyabet ile ilgili yapılan birçok çalışmada bildirilmiştir (9–11). Deneysel DM oluşturulmuş hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda; sperm motilitesi, canlılığı ve yoğunluğu gibi spermatolojik parametrelerde önemli düşüşlerin olduğu bildirilmiştir (12–14). Bunun yanı sıra DM’li hastaların sperm yapısında; akrozom, çekirdek, mitokondri ve plazma membranındaki morfolojik değişikliklerin görüldüğü de rapor edilmiştir (15).

Diyabette görülen hiperglisemi, oksidatif stres oluşturmaktadır ve antioksidan mekanizmasını etkilemektedir. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) artması lipid peroksidasyonuna yol açmaktadır. Dokuda malondialdehit (MDA) düzeyinin, lipid peroksidasyonunun derecesiyle korelasyon gösterdiği, yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (16,17). Testisler üzerinde oluşan oksidatif stres, erkek üreme sisteminin aktivitesinden birinci derecede sorumlu olan androjenik hormonların üretiminde bozukluklar oluşturarak, üreme siklusunu etkilemektedir (18). Artan oksidatif strese karşın antioksidan kapasitenin yetersiz kalması deoksirübonükleik asitin (DNA) kendini replike etmesini etkilemekte ve hücre bölünmesine bir engel teşkil etmektedir. Bu durum aynı zamanda hücreyi apoptozise kadar götüren bir süreci de başlatmaktadır (19).

Nükleer Faktör-Eritroid 2-İlişkili Faktör 2 (Nrf2), bir transkripsiyon faktörüdür ve oksidatif strese karşı koruyucu rol oynayan genlerin transkripsiyonunu düzenlemektedir. Oksidatif strese cevap olarak, Nrf2 aktive olmakta ve Nrf2'nin aktivasyonu ile, kinon oksidoredüktaz (NQO-1), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH.Px) ve hem oksijenaz 1 (HO-1) gibi antioksidan moleküllerin sentezi uyarılmaktadır (20,21). Nrf2 geninin ekspresyonunda meydana gelen değişiklikler sonucunda spermatogenezis bozulmakta, testis ve epididimal oksidatif stres oluşmaktadır (22).

Diyabetes mellitusun, testis dokusunda inflamasyona da yol açabileceği yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (23,24). Siklooksijenazlar, çoklu doymamış yağ asitleri ve araşidonik asidin prostaglandine (PG) dönüştürülmesinde rol alan anahtar enzimlerdir. Siklooksijenazların bir izoformu olan, Siklooksijenaz-2 (COX-2) enzimi, çeşitli inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır. Shanmugam ve arkadaşları (25) yüksek düzeyde glikozun, COX-2 ekspresyonunu etkileyerek inflamatuvar tepkileri arttırabileceğini bildirmişlerdir. Nükleer faktör kappa B (NFkB) ise çok çeşitli hücresel süreçleri modüle eden bir transkripsiyon faktörüdür (26).

Apoptozis (programlı hücre ölümü), doku bütünlüğü için tehlike oluşturan hasar görmüş hücrenin hızlı bir şekilde kendini yıkımlama sürecidir. Reaktif oksijen türlerinin üretimi ile birlikte görülen, artmış sperm hasarı ve apoptozis arasında pozitif bir ilişki olduğu yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (27,28). Bax, proapoptotik protein olarak bilinir ve ekspresyonu arttığında apoptoz indüklenmektedir. Bcl-2 ise antiapoptotik protein olarak bilinir ve ekspresyonu

arttığında apoptoz baskılanmaktadır. Bax'ın Bcl-2'ye oranı (Bax/Bcl-2) ise hücrenin hayatta kalmasında etkili olan bir indekstir. (29).

Seminal plazma, oksidatif strese karşı spermi korumak için serbest radikal süpürücüsü olarak fonksiyon gören antioksidanlarla donatılmıştır. Ancak serbest radikallerle antioksidan sistem arasındaki dengenin, serbest radikal yönündeki artışı apoptozis ile sonuçlanabilmektedir (30). Diyabet nedeniyle erkek bireylerde ortaya çıkan bu olumsuzluklara karşı yapılan çalışmalar, her geçen gün artmaktadır (31–33).

Deney hayvanlarında, deneysel diyabet modelinin kimyasal olarak oluşturulmasında kullanılan kimyasallardan biri de Streptozotosindir (STZ). Streptozotosin pankreasın beta hücrelerini tahrip etmekte ve insülin salınım eksikliğinden kaynaklı diyabet oluşturmaktadır. Bu model diyabet oluşturmak için, çalışmalarda yaygın olarak kullanılan bir modeldir (14,24,34–36).

Diyabetin neden olduğu önemli komplikasyon risklerinin azaltılmasında, doğal antioksidanlardan zengin diyetlerin etkili olduğu yapılan bir çok çalışmada bildirilmiştir (35,37).

Monoterpenler, uçucu yağların yapısında bulunurlar ve besleyici özellikleri yoktur. Gıdalara tad katkı maddesi olarak ilave edilirler; ancak yapılan birçok çalışmada monoterpenlerin antioksidan, kemopreventif ve antimikrobiyal gibi etkileri olduğu ve birçok hastalığın komplikasyonlarının azaltılmasında etkili olabileceği öngörülmektedir (38,39).

Karvakrol [2-metil-5-(1-metiletil)-fenol]; kekik, biber ve yabani bergamot gibi aromatik bitkilerin uçucu yağlarında bulunan monoterpenoid bir bileşiktir (40). Karvakrol ile ilgili yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda karvakrolün antioksidan

özelliğinin (41,42) yanı sıra; antibakteriyel (43–45), antifungal (46), antiviral (47), immün modölatör (48) de dahil olmak üzere farklı biyoaktivitelerinin bulunduğu ifade edilmektedir. Karvakrolün farklı hastalıklar üzerindeki terapötik etkisinin olduğu yapılan birçok çalışmada bildirilmektedir (49–51).

Bu çalışmada; STZ ile deneysel diyabet modeli oluşturulan Wistar albino ırkı erkek ratlarda; karvakrol verilmesinin, deney sürecinin dördüncü ve sekizinci haftalarında erkek üreme sistemi üzerindeki etkileri, testis dokusu MDA, GSH düzeyleri, GSH.Px ve CAT enzim aktivitesi, Nrf2, HO-1, NfkB, COX-2, Bax ve Bcl-2 protein ekspresyon düzeyleri, spermatolojik parametreler (motilite, yoğunluk, anormal spermatozoon oranı), üreme organ ağırlıkları (testis, epididimis, sağ kauda epididimis, vezikula seminalis, prostat), serum testosteron ve glikoz düzeyleri belirlenerek araştırıldı.

Böylece; spermatolojik analizler, biyokimyasal parametreler, oksidatif stres, inflamasyon, apoptozis ve testosteron hormon düzeyi gibi diyabetin erkek üreme sistemi üzerindeki komplikasyonlarının gelişmesinde önemli rol alan parametreler değerlendirilerek, karvakrolün etkisinin araştırılması amaçlandı.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Diyabetes Mellitus

Diyabetes Mellitus; insülinin pankreastan salgılanması, insülinin glikoz metabolizmasındaki etkisi veya bu iki faktörün her ikisinde de meydana gelen bozukluklar nedeniyle kan glikoz düzeyinin yükselmesiyle karakterize metabolik bir hastalıktır (4). Amerika Diyabet Birliği'ne (ADA) göre, diyabet dört alt gruba ayrılmaktadır. Bunlar; Tip 1 Diyabetes Mellitus (T1DM), Tip 2 Diyabetes Mellitus (T2DM), Gestasyonel Diyabetes Mellitus (GDM; Gebelik Şekeri) ve diğer nedenlere bağlı gelişen Diyabetes Mellitus'dur (3).

Tip 1 Diyabetes Mellitusta; insülin hormonu eksikliğine yol açan, pankreastaki β hücrelerinin yıkımı söz konusudur (4). Vücut yeterli miktarda insülin üretemediğinden dolayı, T1DM insülinin mutlak bir eksikliği ile karakterizedir. Bu tip diyabet genetik veya oto immün antikorların üretimi ile ilişkilidir. Ayrıca pankreastaki β hücrelerini tahrip eden çevresel faktörler de, T1DM'nin oluşmasında rol oynamaktadır (52–54). Tip 1 diyabet genellikle çocuklarda ve gençlerde görülmektedir. Fakat son yıllarda yetişkinlerde de T1DM vakalarına rastlanmaktadır ve bu durum yetişkinlerde 'latent otoimmün diyabet' olarak adlandırılmaktadır (4).

Tip 2 Diyabetes Mellitusta; insülin direnci, göreceli insülin yetmezliği veya insülin direncine bağlı olarak ileriki dönemlerde insülinin salınımında meydana gelen bozukluklar görülmektedir (4). Genetik risk faktörlerinin yanı sıra; çevresel faktörler, obezite ve dislipidemi, T2DM'nin oluşmasına neden olan diğer faktörlerdendir (55). Tip 2 Diyabetes Mellitus, çoğunlukla 30 yaşından sonra

beslenmeye bağlı olarak ortaya çıksa da, son yıllarda sedanter yaşam tarzı ile birlikte beslenme bozukluğuna bağlı olarak oluşan obezite nedeniyle çocuklarda ve gençlerde de görülmektedir (4).

Gestasyonel Diyabetes Mellitus, hamilelik sırasında teşhis edilen bir diyabet türüdür. Gestasyonel Diyabetes Mellitus, hamile kadınların yaklaşık % 16'sında görülmektedir. Doğumdan sonra, glikoz metabolizması normale dönmektedir, ancak ileriki dönemlerde T2DM gelişme riski bulunmaktadır (56). Sağlıksız yaşam tarzı ve obezite, kadınlarda GDM görülme sıklığını arttırmaktadır (57). Gestasyonel Diyabetes Mellitus; hiperglisemi, hiperlipidemi, T2DM ve metabolik sendromun kompleksi olan insülin direnci ile karakterize edilmektedir (58).

β hücre fonksiyonunda meydana gelen genetik bozukluklar, insülin etkisindeki genetik bozukluklar, ekzokrin pankreas hastalıkları, endokrinopatiler ile ilaç ve kimyasal maddeler DM'nin oluşmasına sebep olan diğer nedenler arasındadır (4).

Diyabetes Mellitus'ta görülen genel semptomlar; hiperglisemi, glikozüri, ketozis, asidozis, poliüri, polidipsi ve polifajidir. Bunun yanı sıra bulanık görme, yaraların geç iyileşmesi, kilo kaybıyla birlikte yorgunluk gibi belirtilerde DM'de görülmektedir (3).

Dünya Sağlık rgt (WHO) ve ADA'ya göre; günün herhangi bir zamanında alınan venöz kandan, kan glikoz düzeyinin 200 mg/dl ve üzeri olması, açlık kan glikoz düzeyinin ise 126 mg/dl ve üzeri olması ya da venöz kandan alınan açlık plazma glikoz değerinin 140 mg/dl ve üzeri olması diyabet tanısında kullanılan başlıca kriterlerdir (3).

Diyabet tanısında kullanılan diğ er bir test oral glikoz tolerans testi (OGTT)'dir. Bu testte 75 g glikoz içeren bir çözelti hastaya i irildikten sonra günün belirli zaman dilimlerinde kan glikoz düzeyi     m  yapılarak, glikozun dolaşımdan uzaklaştıırılması takip edilmektedir. Sağılıklı bir bireyde, glikoz alınıımını takiben 2. saatin sonunda, kan glikoz düzeyinin 140 mg/dl'nin altında olması beklenmektedir. Oral glikoz tolerans testinde 2. saatin sonunda glikoz düzeyi 200 mg/dl'nin üzerinde olduğıunda ise diyabet tanısı konulmaktadır (3).

Hemoglobin A1c (HbA1C: A1C) testi de diyabet tanısında kullanılan diğ er bir testtir. Hemoglobin A1c testi son 3 ayda hemoglobine bağılanan glikoz miktarını belirtmektedir (3). Diyabet tanısında kullanılan OGTT ve A1C'nin birbirine göre üstünlüğü bulunmamaktadır (4).

Yukarıda belirtilen diyabet tanı kriterleri tablo 1'de g sterilmişt r.

Tablo 1: Diabetes Mellitus Tanı Kriterleri (3,4).

Yapılan Test	Değerler
Açlık Plazma Glikoz Düzeyi ����m�	�140 mg/dl
Açlık Kan Glikoz Düzeyi ����m�	�126 mg/dl
Rastlantısal Kan Glikoz Düzeyi ����m�	�200 mg/dl
OGTT'de 2.saat Glikoz Düzeyi	�200 mg/kg
HbA1C değıeri	�%6,5

Diyabetes Mellitus akut veya kronik komplikasyonlara neden olmaktadır. Mortalite ile iliştikili akut metabolik komplikasyonlar; diyabetik hipoglisemik koma ve ketoasidozdur (59). Hipoglisemi, insülin veya diyabet ilaçlarının hatalı kullanımına bağılı olarak kan glikoz değıerinin normalin altına (<3.0 mmol/l) inmesi olarak tanımlanmaktadır. Bu durum diyabet tedavisinde yaygın olarak görülen ciddi bir komplikasyondur. Diyabetli hastalarda; öğünlerde yetersiz karbonhidrat

tüketimi veya alınan kalori kısıtlaması, alkol tüketimi (60,61), insülin doz hataları ve fiziksel aktivitedeki artış (61) hipoglisemiye neden olmaktadır. Hipoglisemide terleme, titreme, açlık, çarpıntı, baş ağrısı, konsantrasyon zorluğu ve çift görme gibi semptomlar görülmektedir (61). Diyabetik ketoasidozis (DKA) ise, insülin eksikliği nedeniyle serumdaki keton cisimcik düzeyinin artması olarak tanımlanmaktadır. Diyabetik ketoasidozdaki semptomlar; susama, uyuşukluk ve nefesin aseton gibi kokmasıdır (61).

Uzun süreli hipergliseminin neden olduğu kronik metabolik komplikasyonlar ise, mikrovasküler hastalıklar ve makrovasküler hastalıklar olarak iki grup altında sınıflandırılabilir. Mikrovasküler komplikasyonlar arasında retinopati, nefropati ve nöropati yer almaktadır. Makrovasküler komplikasyonlar arasında; aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklar, serebrovasküler hastalıklar, koroner arter hastalıkları, inme ve miyokard infarktüsü gibi periferik vasküler hastalıklar yer almaktadır (59). Diyabetin sebep olduğu diğer komplikasyonlar ise depresyon (62), demans (63) ve cinsel işlev bozukluklarıdır (64,65).

Birçok hastalığın patogenezinin anlaşılmasında deneysel hayvan modellerinin kullanımı oldukça yaygındır. Kontrollerin kullanılabilmesi, araştırılan patolojiye uygun hayvan türlerinin genetik olarak seçilebilmesi, anlamlı istatistiksel değerlendirme yapmaya izin verecek sayıda örnekte çalışılabilmesi; çalışmalarda hayvan modelleri kullanımının avantajları arasındadır (34). Deney hayvanlarında deneysel diyabet modelinin oluşturulması; spontan olarak (66), cerrahi yollarla (67), virüs aracılığıyla (68) ve kimyasal ajanlarla (10,35,69) yapılabilir. Streptozotosin, kimyasal yollarla diyabet modeli oluşturmada yaygın olarak kullanılan bir kimyasaldır (11,35,69). Streptozotosin, pankreasın β hücrelerini

tahrip ederek kan glikoz düzeyinin yükselmesine neden olmaktadır. Yapısında bir glukoz molekülü içerdiğinden plazma membranındaki glukoreseptörlere bağlanarak glikoz bağımlı insülin salınımına engel olmaktadır (70). N-(Methylnitrosocarbamoyl)- α -D-glucosamine yapısındadır. Streptozotosin; ışıktan korunmalı, stabilitesinin korunması için ortam pH'sının 4 ile 4,5 arasında olması gerekmektedir. Bu nedenle STZ çözündürülürken pH 4 ile 4,5 arasında olan fosfat-sitrat tamponu kullanılır. Streptozotosin, -20 °C de muhafaza edilmelidir (71). Streptozotosin uygulanacak rat en az 6 ile 8 saat aç bırakılmalıdır (72).

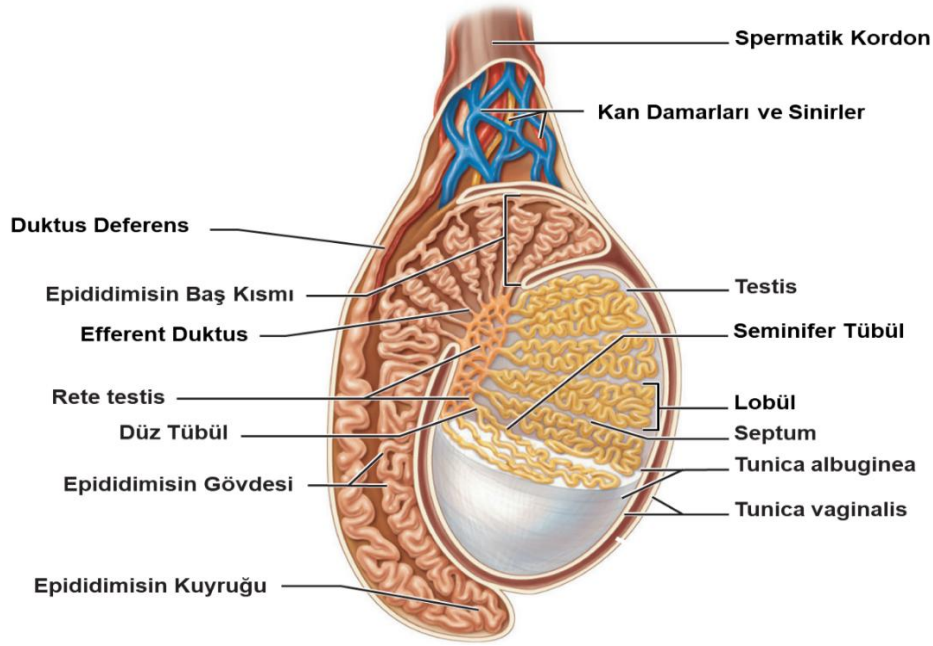
4.2. Erkek Üreme Fizyolojisi

Erkek üreme sistemi anatomik olarak spermatozoon ve erkek cinsiyet hormonlarının üretildiği testisler, üretilen spermatozoonların depolanması ve iletilmesini sağlayan genital kanallar, seminal sıvıyı üreterek spermatozoonların beslenmesini sağlayan genital bezler ile spermayı dışarı aktaran penisten oluşmaktadır (73–75).

4.2.1. Erkek Üreme Organlarının Fizyolojik Anatomisi

Erkek üreme sisteminin birincil organı, hormonal stimülasyona yanıt veren ve spermatozoa üreten hücreleri içeren testislerdir. Genital kanalların ilk bölümünü oluşturan testislere yarım ay şeklinde epididimis eklidir. Testisler tunica albuginea adı verilen sıkı bir bağ doku ile sarılıdır. Testisler skrotum adı verilen deriden bir kese içerisinde funiculus spermaticus ile asılı vaziyette bulunmaktadır. Testisin vücut dışında skrotum içerisinde bulunması, testislere spermatogenezis için gerekli olan minimum sıcaklığı (35°C) sağlamaktadır. Testisler, karın boşluğundan

skrotum içersine inerken, kendileriyle bağlantılı kan ve lenf damarları, otonom sinirler ve tunika vaginalis adı verilen bir periton kıvrımını da beraberinde skrotuma taşımaktadırlar. Testislere kan doğrudan abdominal aortadan ayrılan a. testikularis ile gelmektedir ve plexus pampiniformis ile uzaklaştırılmaktadır. Bu iki damar, duktus deferens ile bir arada ilerleyerek spermatik kordon adını almaktadır. Testisin arter ve venlerinin bu şekilde ilerlemesi ters akım ısı değişim sistemini sağlamaktadır. Ters akım ısı değişim sistemi, testis sıcaklığının minimum düzeyde tutulmasında etkili diğer bir faktördür (74–76).



Şekil 1: Testisin Yapısı (75).

Testisler interstisyum ve seminifer tübüller olmak üzere iki ana bölümden oluşmaktadır. Seminifer tübül duvarında, sertoli hücreleri ve spermatogenetik hücreler olmak üzere iki tip hücre bulunmaktadır. Seminifer tübüllerde spermatozoalar üretilmektedir. Sertoli hücrelerinin görevi; gelişmekte olan

spermatozoya destek sağlamaktır. Sertoli hücreleri seminifer tübülün periferinden başlayarak merkeze doğru uzanmaktadır (74,75).

Bazal bağlantılar ile sertoli hücreleri kan testis bariyerini oluşturmaktadır. Kan testis bariyeri tübül içerisindeki çevreyi kontrol altında tutmaktadır. Seminifer tübüllerin çevresinde bağ doku yer almaktadır. Bağ dokunun içinde de Leydig hücreleri ve bağ doku hücreleri bulunmaktadır. Leydig hücreleri interstisyumda seminifer tübüller arasında gevşek bağ doku içerisinde, tek tek ya da kümeler halinde bulunan hücrelerdir. Bu hücreler luteinize edici hormonun (LH) stimülasyonuna yanıt olarak testosteronun sentezinden ve salınmasından sorumludurlar. Leydig hücreleri fetal dönemden itibaren testosteron salgılamaktadırlar (74,75,77).

Epididimis testislerin üzerinde kıvrımlar halinde sarılmış vaziyette bulunan kanallar sistemidir. Epididimiste spermatozoalar depo edilmektedir. Epididimiste spermatozoalar, hareket kabiliyetlerini artırmaktadırlar.

Epididimisten sonra ise tubuli seminiferi contorti, tubuli seminiferi rekti ve vasa deferens adı verilen, spermatozoaları penise taşıyan kanallar yer almaktadır. Spermayı dışarı aktaran yapı ise penistir (74).

Genital bezler; ampullae, bulbouretral (Cowper) bezler, seminal veziküller ve prostat bezlerinden oluşmaktadır. Genital bezler seminal plazma hacminin büyük bir kısmının oluşmasını sağlamaktadırlar.

Tüm canlılar aynı genital bezlere sahip değildirler. Bezlerin işlevleri ve boyutu türler arasında değişmektedir. Bu bezler, sperm hareketliliğini ve canlılığını korumaya yardımcı olan maddelerin salgılanmasından sorumludurlar (73).

4.2.2. Spermatogenezis

Spermatogenezis, seminifer epiteline devamlı olarak gerçekleşmektedir. Spermatogenezde mitoz bölünme, mayoz bölünme ve spermiyogenez olmak üzere üç biyolojik süreç gerçekleşmektedir. Seminifer tübüllerde çeşitli gelişme evrelerinde olan erkek eşey hücreleri bulunmaktadır. Bu hücreler spermatogonyum, primer spermatosit, sekonder spermatosit, spermatid ve spermatozoonlardır. Bu hücreler tabakalar halinde seminifer tubullerde dizili vaziyette bulunmaktadır. (74).

Seminifer epitelyumun bazal membranının üzerinde diploid ($2n$) germ hücreleri olan spermatogonyum hücreleri (kök hücreler) vardır. Birey, cinsel olgunluğa eriştiğinde bu hücreler mitoz bölünme ile çoğalmaktadır. Mitotik aktivitenin gerçekleştiği bu döneme goniogenezis denilmektedir. Mitotik aktivite ile çoğalan bu hücrelerin bir kısmı A tipi spermatogonyumlar, diğerleri ise B tipi spermatogonyumlar olarak adlandırılmaktadır. A tipi spermatogonyum hücreleri bölünmelerini sürdürürlerken; B tipi spermatogonyum hücreleri bölünmeden büyüyerek, bazal membrandan uzaklaşır, seminifer tubuln lümenine yönelirler ve primer spermatositleri meydana getirmektedirler. Bu dönem ise büyüme evresi olarak adlandırılmaktadır. Primer spermatositler seminifer tblin en büyük hücreleridir. Bu hücreler şekillendikten sonra olgunlaşma evresi başlamaktadır.

Olgunlaşma evresi birbirini takip eden iki mayoz bölünmeyi içermektedir. Birinci mayoz bölünme sonucu oluşan hücreler sekonder spermatosit olarak adlandırılmaktadır. Oluşan sekonder spermatositler, yeni DNA sentezi olmaksızın hızla ve kısa süren ikinci bir mayoz bölünme evresine girmektedirler. İkinci mayoz bölünme sonunda ise bir adet sekonder spermatositten iki tane haploid (n) spermatid oluşmaktadır. Haploid spermatidler bir daha bölünme evresine girmezler. Bu

aşamaya kadar olan tüm evreler spermatositogenezis olarak ifade edilmektedir. Bu dönemden sonra spermiyogenesis başlamaktadır (74).

Spermatidlerin olgun spermlere dönüşmesi spermiyogenesis olarak adlandırılmaktadır. Bu dönem golgi evresi, kep evresi, akrozom evresi ve olgunlaşma evresi olmak üzere dört evreden oluşmaktadır. Bu evreler spermatid sertoli hücre membranına tutunduğu zaman gerçekleşmeye başlamaktadır (74).

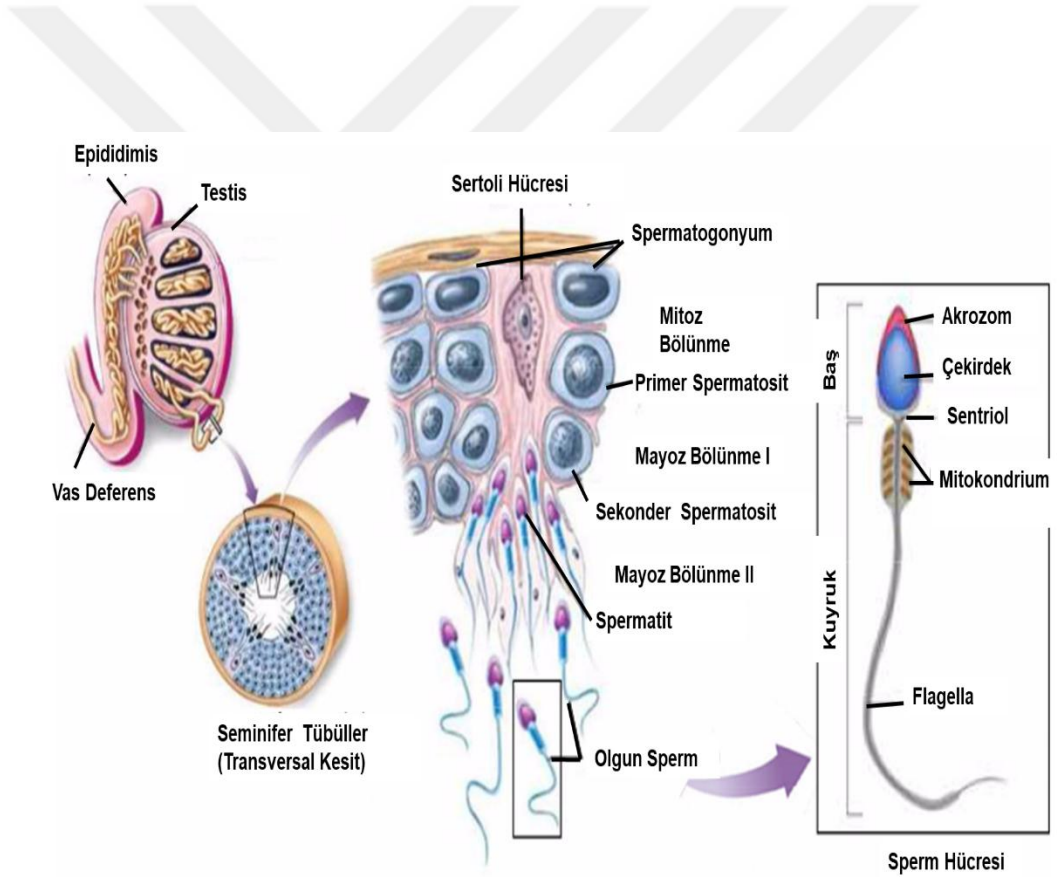
Golgi evresinde; spermatidin golgi aygıtında Periyodik-asit Schiff (PAS) pozitif granüller mevcuttur. Glikoproteinden zengin bu proakrozomal granüllerin birbirleriyle birleşmesi sonucunda akrozomal vezikül meydana gelmekte ve spermatid çekirdek zarına tutunmaktadır. Gelişen spermatidin anterior kutbu, akrozomal vezikülün konumu ile tespit edilmektedir. Bu evrede sentriolde, spermatidin posterior kutbuna göç ederek, spermatidin kuyruk kısmını oluşturmaktadır (74).

Kep evresinde; akrozomal vezikül çekirdeğin anterior kısmında yayılarak, çekirdeği bir şapka gibi sarmaktadır. Oluşan bu yapıya akrozomal kep denilmektedir. Akrozomal kepin altında kalan çekirdek zarı, porlarını kaybetmektedir. Çekirdek zarı kalınlaşmakta ve bunu takiben çekirdek içeriğe doğru yoğunlaşmaktadır (74)

Akrozom evresinde; spermatidin baş kısmı sertoli hücresinin içine gömülmekte ve spermatidin kuyruk kısmı seminifer tubülün lümenine doğru uzanmaktadır. Çekirdek yassılaşmakta ve uzamaktadır. Sentriollerden kuyruk oluşurken, mitokondriyonlar sitoplazmadan göç ederek kuyruğun ön kısmında toplanıp, orta parça adı verilen kalınlaşmayı meydana getirmektedir (74)

Olgunlaşma evresi son evredir. Bu evrede spermatidin farklılaşması sonucunda arta kalan sitoplazma sertoli hücreleri tarafından fagosit edilmekte ve spermatozoon son halini almaktadır. Bu evre spermatozoonların bağımsız hale geldiği evredir (74).

Spermatozoon olgun erkek cinsiyet hücresidir ve ışık mikroskopunda incelendiğinde baş ve kuyruk bölümleri ayırt edilebilmektedir. Elektron mikroskopuyla bakıldığında ise kuyruk bölümünün boyun, orta parça, ana parça ve son parça olmak üzere dört bölümden oluştuğu görülmektedir (74).



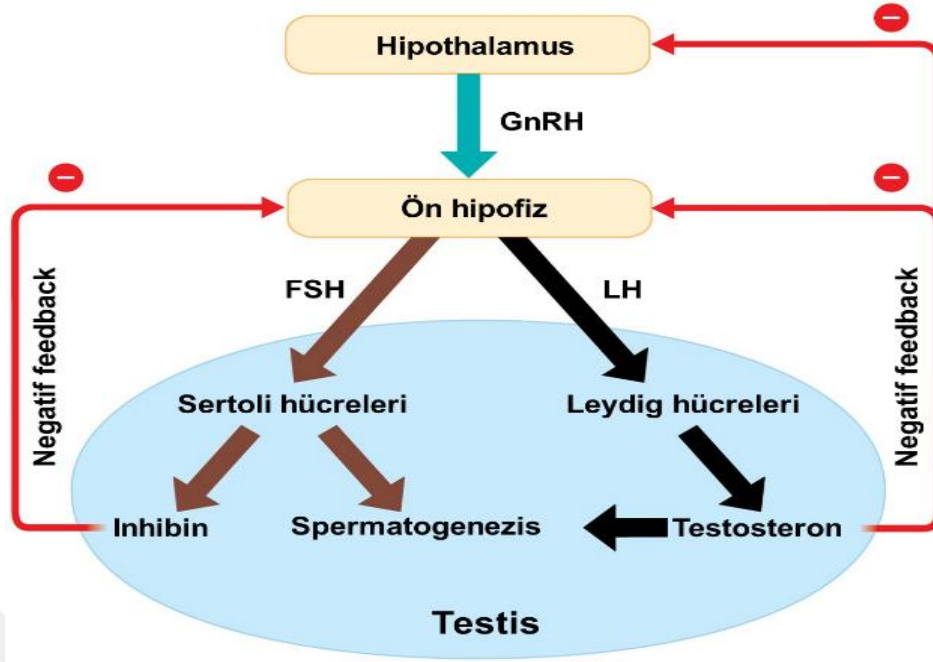
Şekil 2: Spermatogenezis ve Sperm Hücresinin Yapısı (78).

4.2.3. Erkeklerde Hipotalamo-Hipofizer-Gonadal Eksen (HPG)

Erkeklerde hipotalamo-hipofizer-gonadal eksenin temel olarak iki görevi bulunmaktadır. Bunlardan birincisi; üreme fizyolojisi için gerekli olan cinsiyet hormonlarının salgılanmasını kontrol etmek, ikincisi ise; sağlıklı spermatogenetik hücrelerin oluşması ve olgunlaşmasını sağlamaktır. Bu ekseninde; hipotalamus, ön hipofiz ve testisler üç temel bölümü oluşturmaktadır (76,79).

Hipotalamustan gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) salgılanmaktadır. Salgılanan GnRH kısa bir portal dolaşım sonrasında ön hipofizdeki reseptörleri aracılığıyla gonadotropik hücreleri uyarmaktadır. Uyarılan gonadotropik hücrelerden LH ve folikül stimüle edici hormon (FSH) salgılanmaktadır. Üretilen LH ve FSH sistemik dolaşıma katılarak testislere ulaşmaktadır. Luteinize edici hormon testislerde bulunan Leydig hücrelerini stimüle etmektedir. Bu stimülasyon sonucunda Leydig hücrelerinden testosteron salgılanmaktadır. Folikül stimüle edici hormon ise Sertoli hücrelerini uyarak seks hormon bağlayıcı globülin (SHBG) ve inhibin başta olmak üzere birçok molekülün salgılanmasını sağlamakta, spermatogenezin başlatılmasında ve sürdürülmesinde rol oynamaktadır (73,76,79).

Bu hormonların salınımları farklı feedback mekanizmaları tarafından düzenlenmektedir. Testosteron hipofizden LH salınımını inhibe ederken, Sertoli hücrelerinden salınan inhibin ise hipofizden FSH salınımını inhibe etmektedir (76,79,80). Hipotalamo-hipofizer-gonadal eksenin herhangi bir yerinde meydana gelen bir aksaklık fertilité problemlerine neden olmaktadır (81).



Şekil 3: Testis Fonksiyonlarının Nöroendokrin Kontrolü (79).

4.3.Oksidatif Stres

Fizyolojik olarak, hücrelerde açığa çıkan reaktif oksijen türleri (ROS) ile onlarla reaksiyona giren antioksidanlar arasında bir denge söz konusudur. Eğer hücrede ROS birikip, endojen savunma sistemleri yetersiz kalırsa oksidatif stres olarak tanımlanan durum oluşmaktadır (82,83).

Reaktif oksijen türlerinin birikmesinin engellenememesi, organizmada moleküler temelli birçok etkiye neden olmaktadır. Reaktif oksijen türlerinin artması hücre için toksik etkilidir. Reaktif oksijen türleri hücrede proteinleri, lipidleri ve nükleik asitleri hasara uğratarak hücre içi sinyal yollarında olumsuzluklar meydana getirmektedirler (83,84).

4.3.1. Reaktif Oksijen Türleri ve Oluşum Mekanizması

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde (orbitallerinde) bir ya da birden fazla eşlenmemiş elektron bulunduran moleküler yapılardır. Bu moleküler yapıların ömürleri kısadır. Serbest radikaller, biyolojik sistemlerde elektron transferi sonucu oluşurlar. Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötr, organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler. Cu^{+2} , Fe^{+3} , Mn^{+2} gibi geçiş metallerinde de eşlenmemiş elektronlar bulunduğu halde serbest radikal olarak kabul edilmezler. Bu geçiş metalleri reaksiyonları katalize ettiklerinden serbest radikallerin oluşumunda önemli rol oynarlar.

Biyolojik sistemlerde en önemli serbest radikaller oksijenden oluşan radikallerdir. Oksijenin indirgenmesi sonucu oluşmaktadır ve güçlü oksidan özellikteki oksijen metabolitleridir (83). Moleküler oksijenin iki tane eşlenmemiş elektronu vardır. Organizmadaki enzimler aracılığıyla moleküler oksijene bir elektron transferiyle oksitlenme reaksiyonları oluşmaktadır (85).

Organizmada oluşan serbest oksijen radikalleri, radikal olmayan bir molekülle veya başka bir radikalle birleşebilmektedir. Bu birleşme sonucunda organizmada birçok biyolojik süreç etkilenmektedir.

Hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit (O_2^-), singlet oksijen ($^1\text{O}_2$) ve hidroksil radikali ($\text{OH}^\cdot$) aktifleşmiş oksijen türleridir. Bu oksijenli moleküller organlarda toksik etkilere yol açmaktadır. Süperoksidin çevresindeki moleküllerden bir elektron veya moleküler oksijenin çevresindeki moleküllerden iki elektron almasıyla oluşan peroksitin, iki proton (H^+) ile birleşmesi sonucunda Hidrojen peroksit (H_2O_2) radikali oluşmaktadır. Hidrojen peroksit membrandan kolayca geçer ve uzun ömürlü bir oksidandır (83,86).

Hidrojen peroksit serbest radikal değildir; fakat serbest radikal oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. Çünkü H_2O_2 ; Fe^{+2} , Cu^{+} gibi geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu ile; süperoksit radikallerinin varlığında Haber-Weiss reaksiyonu ile hidroksil radikalini oluşturmaktadır (83).



Hidroksil radikali, H_2O_2 'nin geçiş metallerinin varlığında indirgenmesi (Fenton reaksiyonu) ile meydana gelir. Hidroksil radikali; DNA, proteinler, lipitler, aminoasitler, glikoz ve metallerle etkileşime girebilen en güçlü oksitleyici radikaldir (83).

Oksijen (O_2) molekülünün bir elektron alarak indirgenmesi sonucunda süperoksit radikali (O_2^{-}) oluşmaktadır.



Süperoksit radikali hücreye direkt olarak zarar vermez; fakat bu molekül, hidrojen peroksitin kaynağını oluşturmaktadır. Bu radikal genellikle mitokondride enerji oluşumu sırasında meydana gelen elektron kaçaklarından, oksijenin süperoksit radikaline dönüşmesine zemin hazırlaması sonucu oluşmaktadır (83).

Serbest radikaller nitrojen kaynaklı da olabilir. Nitrik oksit ve nitrojen dioksit, reaktif nitrojen türlerinden (RNS) dir. L-arjininden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleri etkisiyle nitrik oksit oluşmaktadır. Nitrik oksit vazodilatör bir etkiye sahiptir. Nitrik oksitin süperoksit radikalleriyle reaksiyona girmesi sonucunda

güçlü bir oksidan olan peroksinitrit oluşmaktadır. Peroksinitrit (ONOOH), hidroksile benzer şekilde davranmakta ve DNA hasarından sorumludur (83).

4.3.2. Antioksidanlar

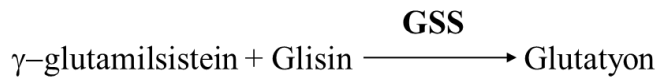
Hücrede lipitlerin, proteinlerin ve DNA'nın serbest radikaller tarafından oksidasyonunu önleyen veya geciktiren maddelere antioksidan, bu sistemlere ise antioksidan savunma sistemleri adı verilmektedir. Antioksidanlar, hücresel düzeyde meydana gelen oksidatif hasarı serbest radikallere elektron transferi yaparak engellemektedirler (83,87).

Antioksidanlar, endojen ve eksojen olarak iki grup altında toplanabilir. Endojen antioksidanlar enzimatik ve non enzimatik antioksidanlar olarak ikiye ayrılır. Süperoksit dismutaz (SOD), Katalaz (CAT), Glutasyon peroksidaz (GSH.Px) ve Glutasyon redüktaz (GR) enzim yapısındaki antioksidanlardandır. Enzim yapısında olmayan antioksidanlar arasında glutasyon (GSH), melatonin, ürik asit, bilirubin, albümin, koenzim Q10, selenyum, α -lipoik asit, seruloplazmin ve transferrin sayılabilir. Eksojen antioksidanlar arasında ise α -Tokoferol (Vitamin E), β -karoten (Vitamin A), askorbik asit (Vitamin C) ve folik asit (Vitamin B9) gibi dışarıdan alınan vitamin kaynaklı ve gıdaların yapısında bulunan antioksidanlar yer almaktadır (88). Yapılan birçok çalışmada, enzimatik antioksidanların ve enzimatik olmayan antioksidanların hücreyi oksidatif strese karşı korumakta önemli rolleri olduğu gösterilmiştir (88–90).

Antioksidanların dört farklı etki mekanizması vardır. Bunlardan birincisi temizleme etkisidir. Antioksidanlar, serbest oksijen radikallerini tutarak ya da oksidanları daha zayıf bir moleküle dönüştürerek etkisizleştirirler. Antioksidan

enzimler bu şekilde etki göstermektedirler. İkincisi, baskılama etkisidir. Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan veya inaktif şekle dönüştüren bu etkiye baskılama etkisi denir. Antioksidanlar, oksidanlara bir hidrojen vererek onları etkisiz hale getirmekte ya da reaksiyon hızlarını azaltmaktadırlar. Antioksidan özellikte olan vitaminler ve flavonoidler bu şekilde etki göstermektedirler. Üçüncüsü, onarma etkisidir. Lipitlerde, proteinlerde ve DNA gibi yapılarda serbest radikaller tarafından oluşan biyolojik hasar antioksidanlarca onarılmaktadır. Glikozidazlar ve nükleazlar gibi çeşitli enzimler onarıcı etkiye örnek verilebilir. Son olarak, zincir koparma etkisidir. Antioksidanlar, serbest oksijen radikallerini bağlayarak, serbest oksijen radikallerinin reaksiyon zincirlerini kırıp, serbest radikallerin işlevlerinin engellemektedirler. Hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller bu gruba örnek verilebilir (83,87).

Glutasyon (GSH), birçok hücrede sentezlenmektedir. Yapısında L-glutamat, L-sistein ve glisin bulunan tripeptiddir (91). Glutasyonun sentezlenmesi iki aşamada gerçekleşir. Birincisi glutamin-sistein ligaz (GCL), glutamin ve sisteini bağlayarak γ -glutamilsisteini meydana getirir. İkincisi ise; glutasyon sentetaz (GSS), γ -glutamilsisteine glisini bağlayarak GSH molekülünü oluşturur. Glutamin-sistein ligazın katalitik alt birimi (GCLC), katalitik aktivite için sistein ve glutaminin bağlanmasından sorumludur. Glutamin-sistein ligazın düzenleyici alt birimi ise GCLC'nin etkisini artırır (88,92).

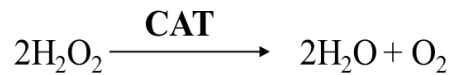


Glutasyon; GSH.Px'in katalizörlüğünde, H₂O₂ ve organik peroksitlerle reaksiyona girerek antioksidan etki göstermektedir. Hidrojen peroksit bu şekilde hücrelerden uzaklaştırılmaktadır (88,91).

Süperoksit dismutaz enzimi, ROS ve süperoksit radikallerine karşı savunmada görev alan en önemli antioksidan enzimdir. Süperoksit dismutaz enzimi, bir süperoksit radikalini O₂ molekülüne yükseltirken; başka bir süperoksit radikalini ise hidrojen peroksit (H₂O₂) indirgemektedir. Hidrojen peroksit radikali daha sonra, CAT veya GSH.Px ile suya dönüştürülerek etkisizleştirilmektedir (83,88).



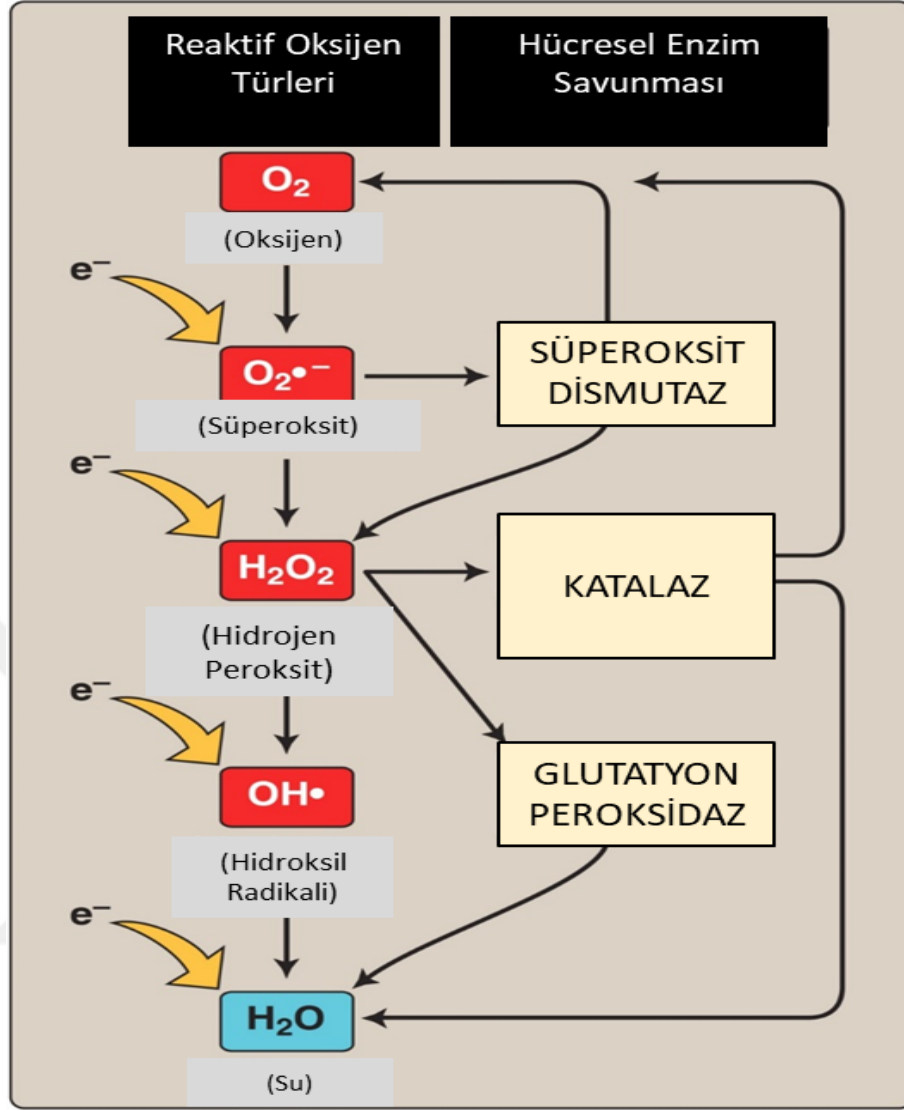
Katalaz enzimi (CAT), peroksizomlarda bulunmaktadır (93). Mitokondride oksijenin suya indirgenmesi aşamasında, sitotoksik yapıda olan süperoksit ve hidrojen peroksit oluşmaktadır. Süperoksit radikallerinin artması mitokondriye zarar vermektedir. Reaktif oksijen türlerinin neden olduğu hücresel hasara karşı antioksidan savunma sistemleri önlem almaktadır. SOD ve GSH.Px enzimleri mitokondride oluşan süperoksit radikallerine karşı savunmada rol alan ilk enzimlerdir. Zararlı radikallerin büyük çoğunluğu bu enzimler tarafından yok edilse de; önemli bir miktar H₂O₂ mitokondriden ayrılarak sitoplazmaya geçmektedir. Sitozole geçen H₂O₂'in detoksifikasyonu CAT enzimi tarafından gerçekleştirilmektedir (83,88,94).



Glutasyon peroksidaz, hücrelerin sitoplazmasında bulunmaktadır. Hidrojen peroksitten, (OH·) oluşmasını engelleyerek, oksidatif hasara karşı hücreleri korumaktadır. Glutasyon peroksidaz enzimi, elektron kaynağı olarak glutasyonu (GSH) kullanarak, H₂O₂ 'yi ve organik hidroperoksitleri (lipit hidroperoksitler, DNA hidroperoksitler) metabolize etmektedir.

Glutasyon peroksidaz enziminin aktif bölgesinde, selenyum içeren selenyuma bağımlı glutasyon peroksidaz (Se-GSH.Px) ve selenyuma bağımlı olmayan glutasyon peroksidaz (GST) olmak üzere iki ana tipi bulunmaktadır. Selenyuma bağımlı glutasyon peroksidaz, H₂O₂ ve organik hiperoksitlere karşı etkilidir. Selenyuma bağımlı olmayan glutasyon peroksidaz ise daha çok organik hidroperoksitlerin metabolize edilmesinde faaliyet göstermektedir. Bu reaksiyonlar sırasında GSH, hidrojen kaynağı olarak kullanıldığından dolayı H₂O₂ ve hidroperoksitler indirgenirken; GSH okside olmaktadır. Glutasyon disülfit (GSSG) okside glutatyonudur. Okside glutatyon, glutasyon redüktaz (GR) enzimi varlığında redükte glutatyon haline geri indirgenmektedir. Bu indirgenme reaksiyonu esnasında GR elektron vericisi olarak NADPH'yi kullanmaktadır (83,88,95).





Şekil 4: Antioksidan Enzimlerin Reaktif Oksijen Türleri Üzerine Etkisi (96).

4.3.3. Lipid Peroksidasyonu

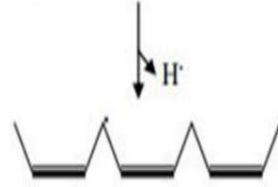
Hücre membranında bulunan kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları ile organizmada oluşan serbest radikallerin reaksiyona girmesi sonucu lipid peroksidasyonu oluşmaktadır. Lipid peroksidasyonu, yağ asidi zincirinin bir lipid radikali ($L\cdot$) özelliği kazanması ile başlamaktadır. Lipid radikali daha sonra moleküler oksijenle reaksiyona girmekte ve bunun sonucunda da lipid peroksit radikalleri ($LOO\cdot$) meydana gelmektedir. Ardından oluşan bu lipid peroksit radikalleri membranın yapısında bulunan diğer yağ asitleri ile reaksiyona girerek yeni lipid radikalleri oluşmakta ve bu reaksiyon sonucunda açığa çıkan hidrojen, lipid peroksit tarafından bağlanarak lipidperoksitleri ($LOOH$) oluşmaktadır. Bu şekilde zincirleme reaksiyonlar meydana gelmektedir (16,97). Lipid peroksitlerin yıkımı sonucu açığa çıkan acrolein, malondialdehit, 4-hidroksinonenal gibi ürünler biyolojik olarak aktiftir. Açığa çıkan bu ürünler hücrede metabolize edilmediği takdirde, oluşan hasar hücrenin diğer bölümlerine yayılmaktadır (16,97).

Malondialdehit (MDA), çoklu doymamış yağ asidi peroksidasyonu sonucu en çok oluşan yıkım ürünüdür. Malondialdehit yağ asidi oksidasyonunun kantitatif bir göstergesi olmamakla birlikte, lipid peroksidasyonunun derecesiyle korelasyon göstermektedir. 1960'lardan itibaren, hem in vivo hem de in vitro olarak yapılan çalışmalarda, oksidatif stres seviyesini ölçmek için MDA düzeyi farklı yöntemlerle araştırılmaktadır (16,17).

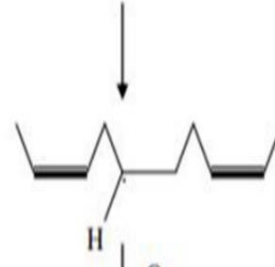
Çoklu Doymamış Yağ Asiti



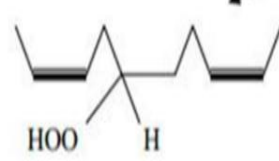
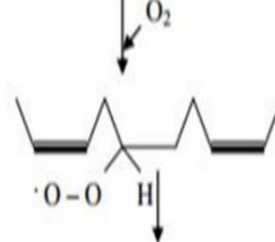
Lipid Radikali



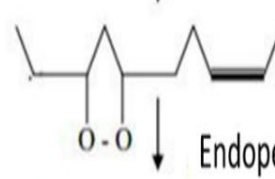
Dien Konjugat



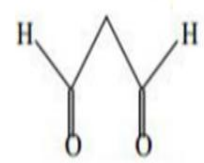
Lipid Peroksil Radikali



Hidroksiperoksit



Endoperoksit



Malondialdehit

Şekil 5: Malondialdehit Oluşumu (97).

4.4. Hiperglisemiye Bağlı Serbest Radikallerin Üretim Yolları

Hiperglisemiye bağlı serbest radikallerin üretimi; glikozun otooksidasyonu ve süperoksit üretimi, proteinlerin glikasyonu ve ilerlemiş glikasyon son ürünlerinin oluşumu (AGE), poliol yol aktivitesi, artmış protein kinaz C aktivitesi ve heksozamin yoludur (30,98).

4.4.1. Glikozun Otooksidasyonu ve Süperoksit Üretimi

Glikozun büyük bir çoğunluğu enerji üretmek için oksidatif fosforilasyon ile mitokondriyal elektron zincirine girmektedir. Glikoz hücre içine girdiği zaman hızlı bir şekilde pirüvat ve NADH'a dönüşmektedir. Daha sonra NADH ve FADH₂, malat-aspartat veya gliserol fosfat sistemleri aracılığıyla mitokondriye taşınmaktadır. Mitokondriyal solunum zincirinin temel elektron vericisi NADH'dır. Bu mekanizma, ATP üretimi için gerekli enerjiyi sağlamak üzere kullanılmaktadır. Solunum zincirindeki bu reaksiyonda süperoksit serbest radikali açığa çıkar. Hiperglisemide, NADH/NAD oranının artması ile birlikte süperoksit radikalide artar. Mitokondriyal kaynaklı süperoksit radikalinin üretiminin, NFκB aracılı sitokin üretimi, protein kinaz C (PKC) ve NADPH oksidaz aracılığıyla ROS ve RNS üretimini uyarak DM'de oksidatif stresi başlattığı varsayılmaktadır (30,99,100).

4.4.2. Proteinlerin Glikasyonu ve İlerlemiş Glikasyon Son Ürünleri Oluşumu

Hiperglisemide, glikozun bir enzimin aracılığına ihtiyaç duymadan proteine bağlanması sonucunda kontrolsüz glikasyon reaksiyonları oluşmaktadır. Bu reaksiyonlar sonucunda glikasyona uğramış olan protein, moleküler oksijene bir elektron vererek serbest oksijen radikali oluşumuna sebep olmaktadır. Proteinlerin amino grupları ve glikoz arasında gelişen enzimatik olmayan glikasyon reaksiyonları yoluyla ilk olarak Shiff bazları, daha sonra stabil olan Amadori ürünleri oluşmaktadır. Amadori ürünlerinin oluşumundan sonra ise ilerlemiş glikasyon son ürünleri (AGE) meydana gelmektedir (30).

İlerlemiş glikasyon son ürünleri, endotelin-1 molekülünü etkileyerek vazokonstriksiyonu tetiklemektedir. Bunun sonucunda ise endotel hasar meydana gelmektedir. Glikasyon son ürünleri proteinlerin yapılarını ve fonksiyonlarını değiştirebilmektedirler. Glikasyon son ürünleri, kendi reseptörleri ile oksidatif stresi indükleyerek Nükleer Faktör kapa B (NFkB) gibi redoks duyarlı proteini aktive ederler ve NFkB'nin aktivasyonu endotelin-1, adhezyon molekülü, VCAM-1 gibi proteinlerin ekspresyonlarının artmasına sebep olmaktadır (30,101,102).

Yapılan araştırmalar AGE'lerin, reseptör aracılı mekanizmayla, serbest radikal üretimini uyarmasının yanı sıra, artmış serbest radikallerin de hücre içi AGE oluşumunu arttırdığını göstermektedir (30,103).

4.4.3. Poliol Yol Aktivitesi

Aldoz redüktaz enzimiyle, toksik aldehytler inaktif olan alkollere çevirilmektedir. Aldoz redüktaz enzim yolağında meydana gelen bir değişme diyabetik komplikasyonların gelişmesindeki kilit noktalarındandır. Glikoz, aldoz redüktaz için yetersiz bir substrattır. Ancak yüksek düzeylerdeki aldoz redüktaz glikozu, sorbitole çevirerek fruktoz oluşumuna neden olmaktadır. Normoglisemide glikozun çok az bir kısmı sorbitol ve fruktoza dönüşürken hiperglisemide, hücre içinde sorbitol ve fruktoz konsantrasyonu giderek artmaktadır. Hiperglisemi, poliol yolu aktivitesi ile sorbitol üretimine sebep olmaktadır. NADPH bu yoldaki aldoz redüktaz enzim aktivitesi için gereklidir. Poliol aktivitesinde NADPH kullanılmakta ve hücre içindeki NADPH tüketilmektedir. Bunun sonucunda da okside glutatyonun redükte forma dönüştürülebilmesi ve nitrik oksit (NO) sentezi için gerekli olan NADPH azaldığından hücrenin antioksidan kapasitesi sınırlanmaktadır (30,104).

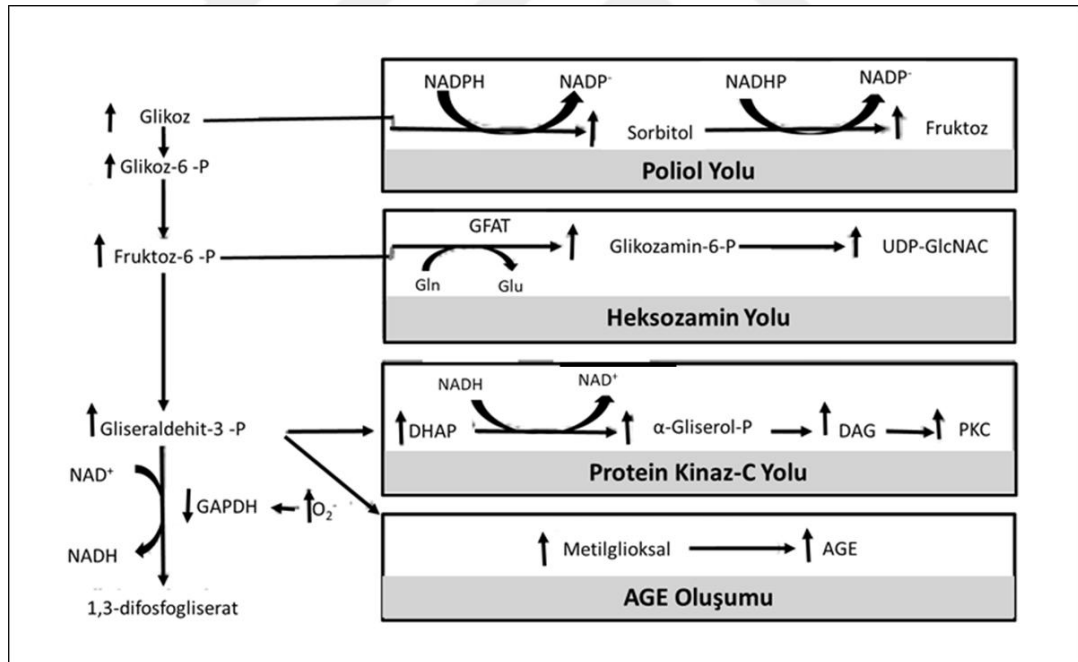
4.4.4. Heksozamin Yolu

Heksozamin biyosentez yolağında, amino şekerler sentez edilmektedir. Bu yolda fruktoz-6-fosfat, glutamin fruktoz-6-fosfat amino transferaz (GFAT) tarafından glukozamin-6-fosfata dönüştürülmektedir. Glukozamin-6-fosfat, üridin-5 difosfat-asetilglukozamine (UDP-GlcNAc) aktive edilmektedir. Üridin-5 difosfat-asetilglukozamine miktarının dokularda artması sonucunda O-GlcNAc modifiye olmaktadır. Bu sürecin heksozamin yolunun etkinliğine aracılık ettiği düşünülmektedir (105). Hiperglisemi sonucunda heksozamin yolunda fruktoz- 6-

fosfattaki değişmeler artarak diyabetik komplikasyonların patogeneğinde etkili olduğu düşünölmektedir (106).

4.4.5. Artmış Protein Kinaz C Aktivitesi

Protein kinaz C (PKC)'lerin izoformları, AGE'ler ve onların hücre yüzeyindeki reseptörleriyle etkileşim gösterir (106). Hiperglisemide NADH/NAD oranının artışına bağlı olarak artan diaçilgliserol sentezi protein kinaz C aktivasyonuna neden olarak DM'deki damar patolojilerine neden olmaktadır (107). Hiperglisemi kaynaklı PKC aktivasyonu endotel hücrelerde NFkB aktivasyonunuda etkileyerek ROS oluşumuna neden olmaktadır (106).



Şekil 6: Hiperglisemiye Bağlı Serbest Radikallerin Üretim Yolları (108).

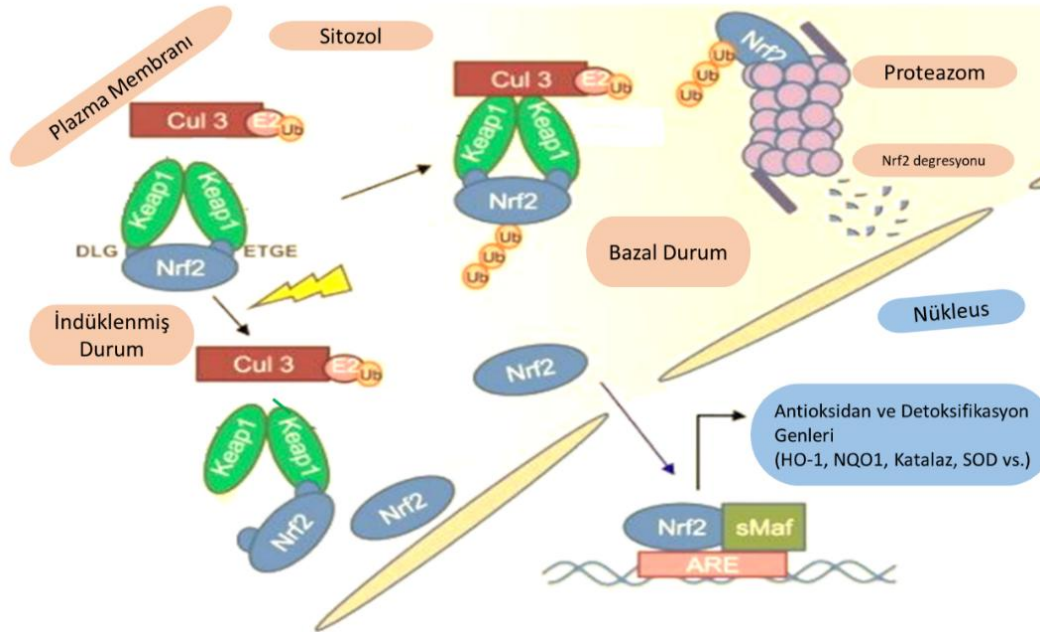
4.5. Nrf2/HO-1 Sinyal Yolağı

Nükleer faktör E2 ilişkili faktör 2 (Nrf2), Nfe2l2 geni tarafından kodlanmaktadır. Nrf2 proteini p45 ve p18 alt birimlerine sahip heterodimerik bir proteindir. Nrf2, fizyolojik şartlarda sitoplazmada sitoskelet ilişkili protein olan Keap1'e bağlı olarak bulunmaktadır. Serbest radikaller Nrf2'nin Keap1'den ayrılmasına sağlayarak, Nrf2'nin çekirdeğe transloke olmasına neden olmaktadır. Nrf2 burada küçük Maf (sMaf) proteini ile heterodimer bir yapı oluşturmaktadır. Nrf2-sMAF dimeri, ardından hücrede savunma mekanizmasında rol alan birçok genin promotor bölgesinde bulunan antioksidan yanıt elementine (ARE) bağlanmakta ve bu genlerin aktivasyonunu sağlamaktadır (21,109,110).

Nrf2 proteini hücrel redoks dengesinde, antioksidan ve faz II detoksifikasyon yanıtlarının düzenlenmesinden sorumlu bir transkripsiyon faktörüdür. Antioksidan olan glutamat sistein ligaz (GCL), tioredoksin redüktaz 1 (Txnrd1), NAD(P)H-kinon oksidoredüktaz 1 (NQO1) ve hem oksijenaz-1 (HO-1) ekspresyonları Nrf2 tarafından düzenlenmektedir. Böylece hücrelerde oksidatif stres durumunda, güçlü antioksidan koruma mekanizmalarının aktive olması sağlanmaktadır (111).

Hem oksijenaz (HO) enzimi; hem molekülünü, safra pigmentlerinden biliverdin'e katalize etmektedir. Reaksiyon sırasında, hem molekülünün α -methen köprüsündeki karbon atomu, karbon monoksit olarak, demir ise +2 formunda salınmaktadır. Bu reaksiyon için oksijene ve NADPH'a ihtiyaç duyulmaktadır. Reaksiyon sonucunda oluşan biliverdin, biliverdin redüktaz enzimi vasıtasıyla bilirubin'e dönüşmektedir.

Hem oksijenaz enziminin üç izoformu tanımlanmıştır. Bunlar; HO-1, HO-2 ve HO-3 tür. HO-2 ve HO-3 yapısal olarak eksprese edilen form iken; HO-1 indüklenebilen formdur. HO-1'in, çeşitli patofizyolojik olaylarda ekspresyon seviyesi değiştiği, yapılan birçok çalışma da bildirilmiştir. HO-1 sitoprotektif ajan olarak düşünülmektedir ve ekspresyon aktivite seviyelerindeki modülasyonu terapötik bir potansiyel sunmaktadır (107). HO-1; antioksidan, anti-inflamatuar, antiapoptotik bir faktör olarak kabul edilmiştir. HO-1; oksidatif stresin oluşturduğu doku hasarına karşı savunma mekanizmalarından birini oluşturmaktadır ve HO-1'in aktivite artışı diyabette apoptoz ve oksidatif stres oluşumunu azalttığı yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (107,108).



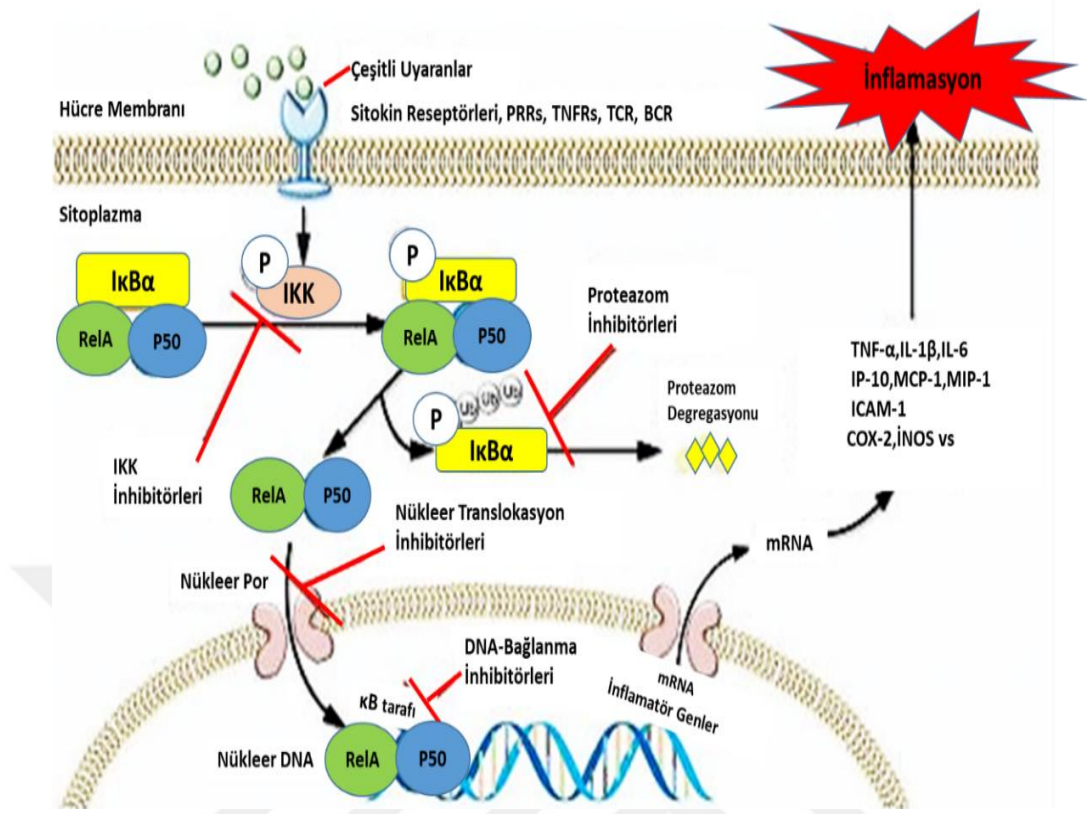
Şekil 7: Nrf2'nin Sitoplazmadan Çekirdeğe Translokasyonu ve Antioksidan Genlerin Ekspresyonu (111).

4.6. NfκB ve COX-2 Sinyal Yolağı

NfκB; NF-κB1 (p50), NF-κB2 (p52), RelA (p65), RelB ve c-Rel dahil olmak üzere yapısal olarak beş üyeden oluşmaktadır (112). NfκB proteini fizyolojik şartlar altında IκB proteinine bağlı bir şekilde sitoplazmada inaktif halde bulunmaktadır. Ancak herhangi bir uyarı olduğunda IκB kinaz proteini IκB molekülünü fosforile etmekte ve NfκB proteini IκB proteininden ayrılarak sitoplazmadan çekirdeğe taşınmaktadır. Çekirdeğe taşınan NfκB proteini bazı genlerin transkripsiyonunu uyarmaktadır. Nükleer faktör-κB (NfκB) proteini, inflamasyon, apoptozis ve hücre proliferasyonunda önemli rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür (113).

Siklooksijenazlar (COX), çoklu doymamış yağ asitleri ve araşidonik asidin prostaglandine (PG) dönüştürülmesinde rol alan anahtar enzimlerdir. Siklooksijenazların COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki izoformu vardır (114). COX-1 izoformu çoğu dokuda yapısal olarak eksprese edilirken; COX-2 indüklenebilir bir izoformdur ve genellikle bazı organlarda veya dokularda eksprese edilmektedir. Yapılan çalışmalarda, yetişkin ve fetal insan üreme dokularında COX-2'nin lokalizasyonunu bildirmiştir (115,116).

Siklooksijenaz-2 (COX-2) enzimi, çeşitli enflamatuar hastalıkların patogeneğinde rol oynamaktadır. Yapılan çalışmalarda indüklenebilir siklooksijenazın farklı prostaglandinlerin üretilmesi yoluyla hem pro- hem de anti-enflamatuar özelliklere sahip olabileceği ve NfκB proteini ile olan ilişkisi bildirilmektedir (117).



Şekil 8: NfκB'nin Sitoplazmadan Çekirdeğe Translokasyonu ve İnflamasyon Genlerin Ekspresyonu (118).

4.7. Apoptozis

Apoptozis doku için potansiyel olarak tehlike arz eden hücreleri ortadan kaldırmak için gerçekleşen programlı bir hücre ölümü olarak tanımlanmaktadır. Apoptozis başlangıçta hücrede karakteristik morfolojik değişikliklere dayanarak açıklanırken, daha sonraları apoptotik hücre ölümüne aracılık eden proteinlerin karakterizasyonu ile de moleküler düzeyde açıklanmaktadır. Moleküler düzeyde apoptozisin gerçekleşmesi iki ana yolla olmaktadır. Bu yollar intrinsik ve ekstrinsik sinyal yollarıdır (119).

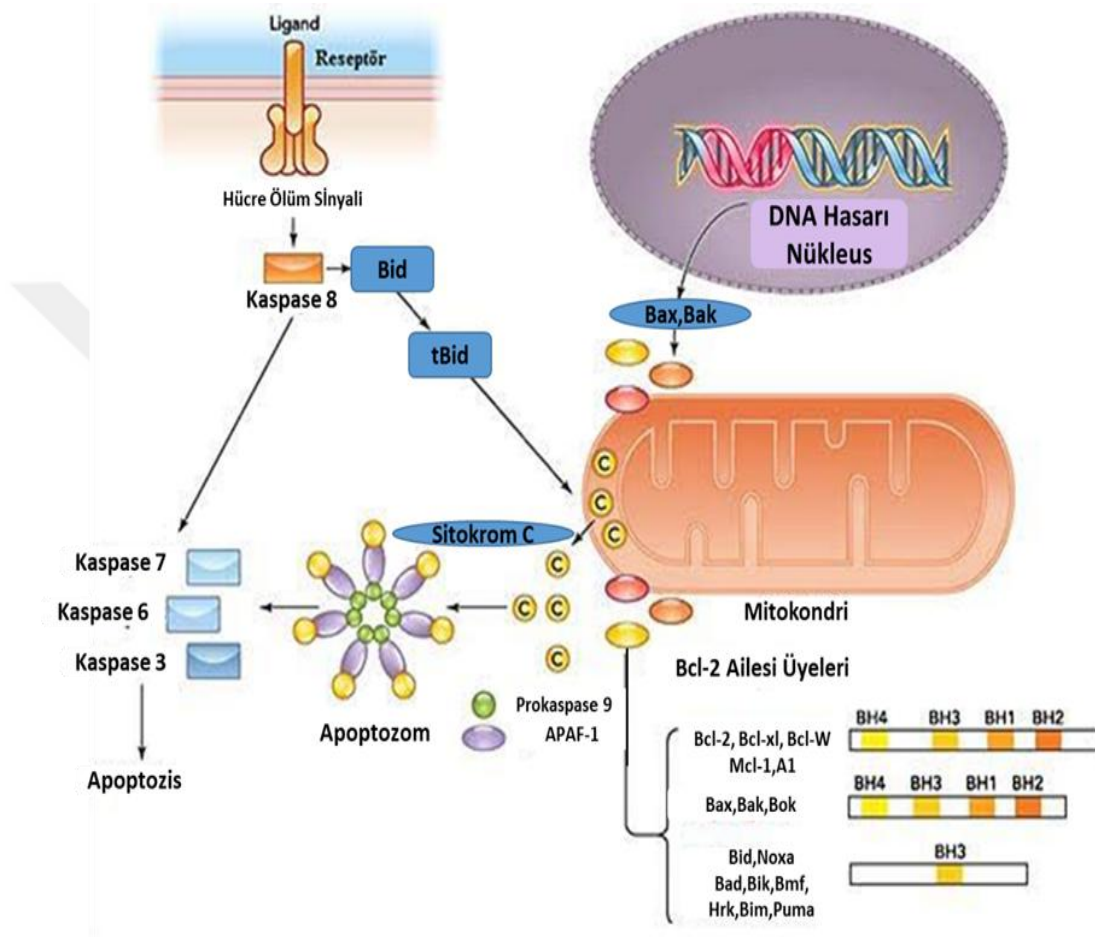
Ekstrinsik sinyal yolu; bir ölüm ligandının, hücre yüzeyi üzerindeki bir ölüm reseptörüne bağlanmasıyla başlatılmaktadır. Bu ölüm reseptörleri, tümör nekroz faktör reseptörü ailesine aittir ve TNF-R1, CD95 (Fas), TRAIL-R1 ve TRAIL-R2'yi içermektedir (120). Bir ölüm ligandının reseptöre bağlanmasının ardından hücre ölüm sinyali başlamaktadır. Yüksek kaspaz-8 seviyeleri ile karakterize edilen bazı hücrelerde, aktif kaspaz-8 doğrudan kaspaz-3 ve diğer efektör kaspazları aktive etmektedir. Bununla birlikte, kaspaz-8 seviyeleri daha düşük olan hücrelerde, proapoptotik sinyallerin, Bcl-2 ailesi üyesi Bid'in kaspaz-8 aracılı uyarılması ile gerçekleşmektedir. tBid proteinin, intrinsik sinyal yolunu aktive etmekte ve sitokrom c'nin mitokondriden salınmasına neden olmaktadır (120,121).

İntrinsik apoptotik sinyalizasyon ise DNA hasarı ve sitokin yoksunluğu gibi çok çeşitli uyaranlara veya hücrel streslere yanıt olarak meydana gelmektedir. Bcl-2 ailesinden etkileşen üç protein alt grubu, mitokondriyal membrandaki intrinsik sinyal yolunu kontrol etmektedir (122). Bcl-2 gen ailesi üyelerinin bazıları apoptozisi indüklerken (Bid, Bad, Bax), bazıları (Bcl-2, Bcl-xl) apoptozisi inhibe etmektedir.

Bcl-2 proteini mitokondrinin hem iç hem de dış membranında bulunmaktadır. Bunun yanı sıra endoplazmik retikulum, çekirdek membranı dış yüzeyi ve sitoplazmada bulunabilmektedir. Bcl-2, iyon transportunun regülasyonundan sorumludur ve sitokrom c salınımını engelleyerek apoptozisi baskılamaktadır.

Bax proteini, mitokondri üzerinde yer almaktadır. Bax proteinleri, apoptik süreçteki etkilerini kaspazlar üzerinden gerçekleştirmektedir. Proapoptik proteinler mitokondri membranının permeabilitesini değiştirerek sitokrom c'nin serbest hale gelmesini sağlamakta ve böylece kaspaz aktivasyonu gerçekleşmektedir (123–125).

Apoptozis, spermatogenez sırasında testis germ hücrelerinde önemli bir rol oynamaktadır ve apoptotik hücre ölümünde meydana gelen düzensizliklerin infertilite ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (126).



Şekil 9: Apoptozisin Oluşum Mekanizması (127).

4.8. Diyabetin Erkek Üreme Sistemi Üzerindeki Etkileri

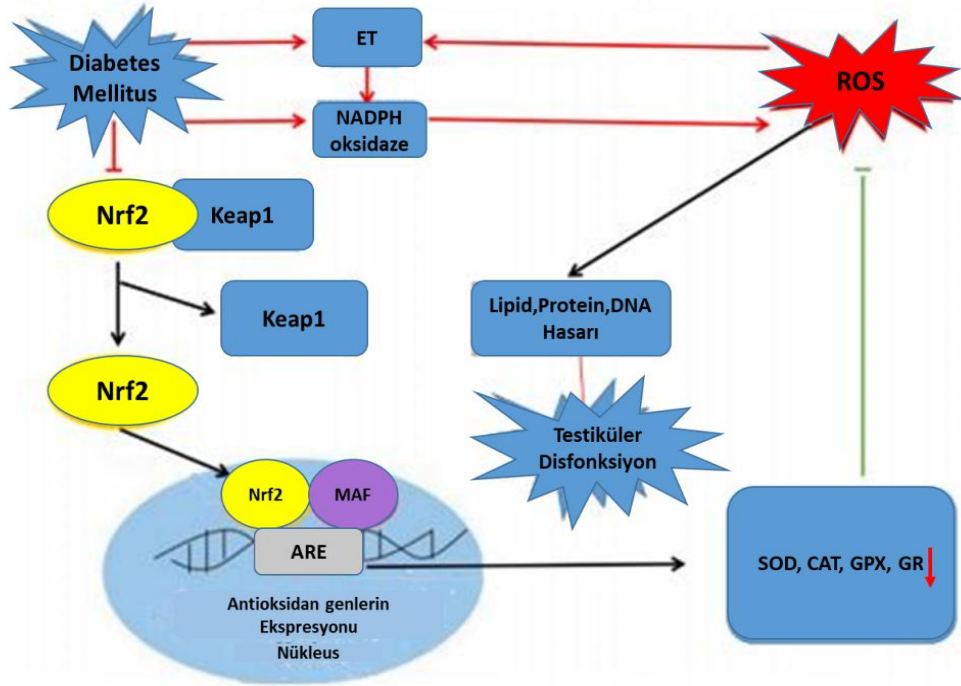
Testislerin iki büyük fizyolojik işlevi vardır. Bunlar; testosteron salgılanması ve sperm üretimidir. Testisin ağırlığı, testosteron seviyesi ve sperm miktarı erkeklerde üreme fonksiyonlarını yansıtan önemli parametreler arasındadır. Diyabet, testisleri yapısal ve fonksiyonel düzeyde etkilemektedir (11,31). Diyabetik erkeklerde üreme işlev bozukluğuna birden fazla patojenik faktörün etkili olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir. Bu faktörler; serum endokrin hormon düzeylerindeki azalma, oksidatif stresin artması, testislerde dejeneratif ve apoptotik değişiklikler, anormal otofaji, endotel disfonksiyonu ve enerji metabolizmasındaki bozukluklardır (128–131).

Diyabetes Mellitusta yeteri kadar insülin üretilemediğinden veya üretilen insülinin uygun şekilde kullanılamadığından dolayı kan glikoz seviyeleri yüksektir. Hipergliseminin glikoz otooksidasyonuna ve protein glikasyonuna neden olması, proteinlerin oksidatif bozulmasına ve dolayısıyla da reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimine neden olmaktadır. Hücrelerde gerçekleşen lipid peroksidasyonu enzimatik veya non-enzimatik antioksidan sistemler tarafından kontrol edilmektedir. Ancak diyabetes mellitusta antioksidan sistemlerde yetersizlik görülmektedir (132) ve bu durum oksidatif strese neden olmaktadır. İn vivo ve in vitro olarak yapılan çalışmalarda ROS, hücre membran lipidlerinin peroksidasyonuna, DNA'nın oksidasyonuna, transport proteinlerinin inaktivasyonuna ve mitokondriyumlarda enerji üretiminin inhibisyonuna neden olarak hücresel yapıların oksidatif hasarlarına yol açtığı bildirilmiştir (133). Germ hücreleri, somatik hücrelere kıyasla oksidasyona karşı daha savunmasızdır; çünkü plazma membranları daha yüksek miktarda çoklu doymamış yağ asitleri

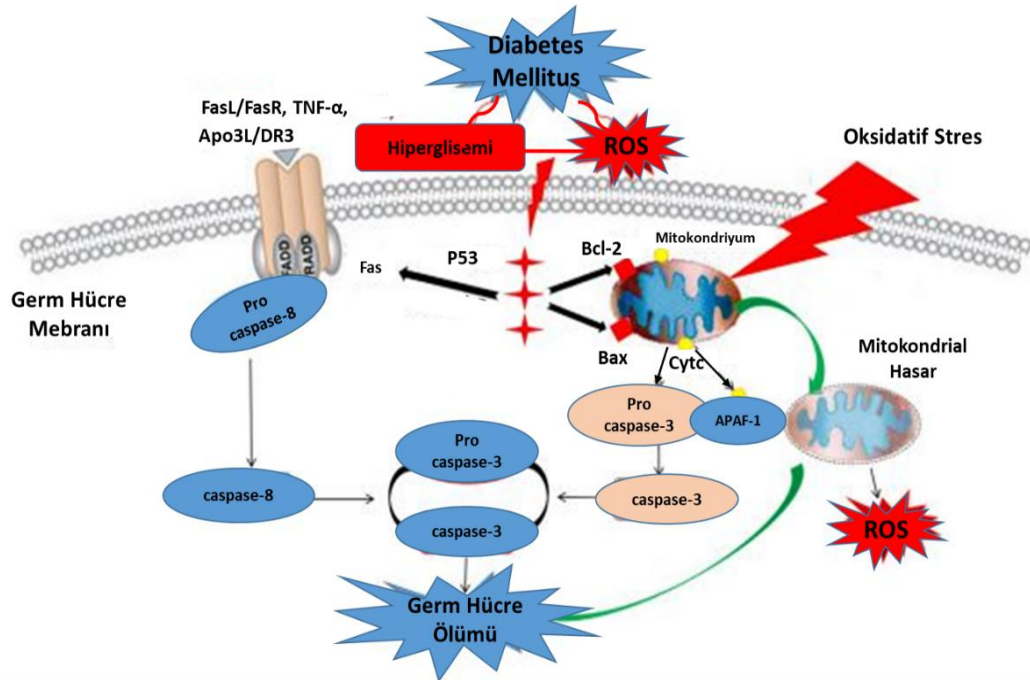
içermektedir. Serbest oksijen radikalleri, hücrede membran lipidlerini, aminoasitlerini, karbonhidratlarını oksidasyona uğratarak; kapasitasyon, akrozom reaksiyonu, hiperaktivasyon, sperm-oosit füzyonu gibi sperm fonksiyonlarını etkilemektedir. Sperm hücresinin membranı hasar gördüğünde de, motilite ve canlılık olumsuz yönde etkilenmektedir (134,135).

Nrf2'nin spermatogenezisin oksidatif stresten korunmasında önemli bir rol aldığı bildirilmiştir. Diyabette, testislerde antioksidan yolakta rol alan Nrf2 protein ekspresyonu düzeyindeki azalma, antioksidan mekanizmada yer alan sitoprotektif ajanların yetersiz kalmasına neden olmaktadır. Bunlar arasında özellikle süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT) ve HO-1 gibi antioksidan moleküller yer almaktadır. (136). Bunlar oksidanların aşırı üretimini temizleyebilmekte ve antioksidan tepki elemanı (ARE) bağımlı yol vasıtasıyla zararlı ROS oluşumunu önleyebilmektedirler (128,137).

Diyabette üreme sisteminde oluşan patolojik durumların patogeneğinde kontrolsüz apoptozis de yer almaktadır. Aşırı apoptozis, testis dokusunda ve diğer üreme organlarında dejenerasyona neden olmaktadır. Fizyolojik koşullar altında testis dokusunda, hasarlı veya anormal germ hücrelerini ortadan kaldırarak spermin kalitesini ve miktarını korumak için apoptotik süreçler görülmektedir. Ancak düzensizlik veya aşırı apoptoz, testiküler hücre ölümüne neden olarak spermatojenik işlev bozukluğuna ve kısırlığa neden olabilmektedir (128,130). Diyabetin neden olduğu germ hücre ölümü, hem tip-1 hem de tip-2 diyabette görülmektedir (138,139).

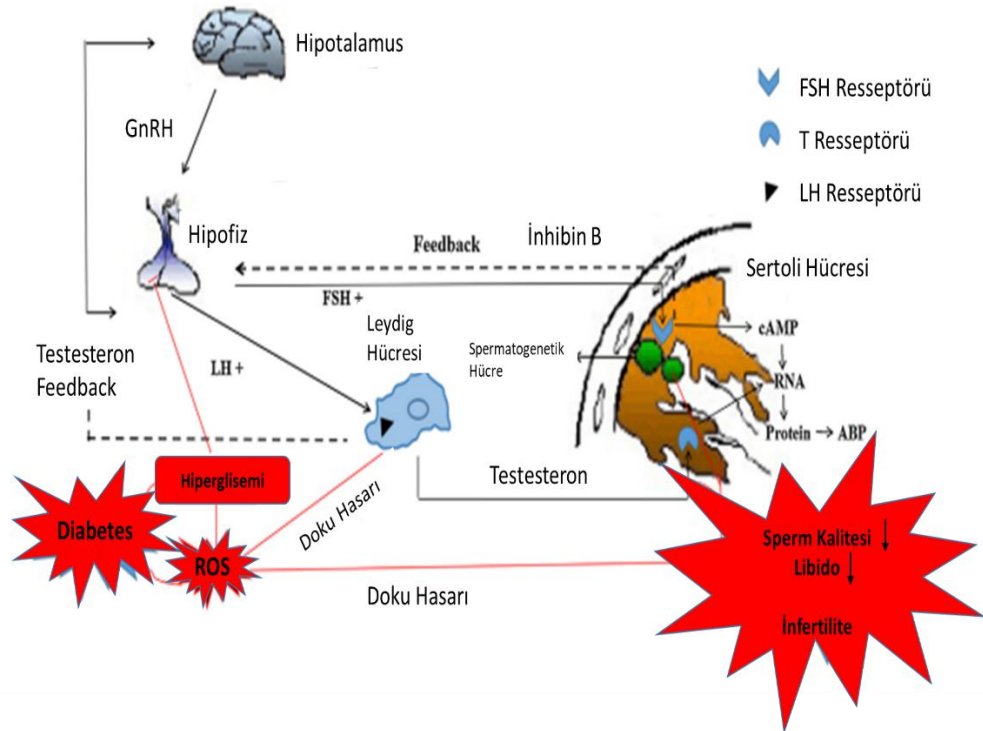


Şekil 10: Oksidatif Stres ve Testikular Disfonksiyon (128).



Şekil 11: Apoptozis ve Testikular Disfonksiyon (128).

Erkeklerde hipotalama-hipofizer-gonadal eksenin disfonksiyonu, diyabetin neden olduğu infertilitede patofizyolojinin bir parçası olarak kabul edilmektedir. Uzun süreli şiddetli hiperglisemideki sistemik metabolik dengesizlikler HPG ekseninin işlevini etkileyerek, endokrin sistemin işlevini bozmakta ve leydig hücrelerinin steroidojenik kapasitesini azaltmaktadır. Yapılan çalışmalarda, diyabette LH ve FSH serum düzeylerindeki azalmayı takiben erkeklerde hem spermatogenez hem de libido için önemli bir steroid hormon olan testosteron seviyelerinde azalma olduğu bildirilmiştir. Diyabette oluşan bu hormonal değişiklikler libido ve spermatogenez üzerindeki olumsuz etkilerle ilişkilendirilmiştir (6,128,140,141).

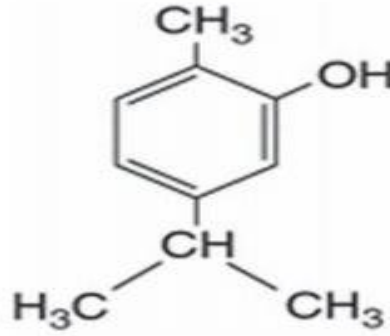


Şekil 12: Diyabetes Mellitus'un Erkeklerde HPG Eksenine Etkisi (128).

4.9. Karvakrol

Monoterpenler, uçucu yağların yapısında bulunan, besleyici özellikleri olmayan, gıdalara tad katkı maddesi olarak ilave edilen bileşiklerdir. Yapılan birçok çalışma da monoterpenlerin antioksidan, kemopreventif, antimikrobiyal gibi etkileri olduğu ve birçok hastalığın komplikasyonlarının azaltılmasında etkili olabileceği bildirilmektedir (37,38).

Karvakrol, Labiatae familyasından *Origanum* (Kekik) cinsinden elde edilen aromatik yapıda bir terpen bileşiğidir. Karvakrol (2-metil-5-(1-metiletil)-fenol), kekik, biber ve yabani bergamot gibi bitkilerin uçucu yağlarında bulunmaktadır (142).



Şekil 13: Karvakrolün Yapısı (143).

Karvakrol ile ilgili yapılan in vitro ve in vivo çalışmalarda, karvakrolün antioksidan özelliğinin (41,42) yanında; antibakteriyel (43–45), antifungal (46), antiviral (47), antienflamatuar (144), immün modülatör (48) ve rumen mikrobiyal fermantasyon modifikatörü (145) gibi farklı biyolojik aktiviteleri tanımlanmıştır. Karvakrol, hücre membranlarında meydana gelen oksidatif stresin neden olduğu lipid peroksidasyonuna karşı doğal bir antioksidandır (146).

Karvakrol bakımından zengin olan uçucu yağlar güçlü antioksidan özelliklere sahiptir (41). Karvakrol antioksidan özelliğini yapısında bulunan hidroksil grupları sayesinde kazanmaktadır (147). Karvakrolün antioksidan özelliği ile ilgili sınırlı sayıda in vivo çalışma bulunmaktadır (148–150).

Tablo 2: Karvakrolün Kimyasal Özellikleri (151).

Karvakrolün Kimyasal Özellikleri	
Eşanlamlı İsmi	: 2-methyl-5-(1-methylethyl)phenol
Linear Kimyasal Formülü	: (CH ₃) ₂ CHC ₆ H ₃ (CH ₃)OH
Kapalı Kimyasal Formülü	: C ₁₀ H ₁₄ O
CAS No	: 499-75-2
Moleküler Ağırlığı	: 150.22 g/mol
Safılık	: %98
Erime Noktası	: 3-4 °C (lit.)
Kaynama Noktası	: 236-237 °C (lit.)
Yoğunluk	: 0.976 g/mL / 20 °C (lit.)
Fiziksel Yapısı	: Sıvı
Renk	: Açık Sarı
Rat oral LD50	: 810 mg/kg
Rat i.p. LD50	: 73 mg/kg
Rat s.c. LD50	: 680 mg/kg
Rat i.v. LD50	: 80 mg/kg

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Gereç

5.1.1. Kullanılan Alet ve Cihazlar

Analitik Hassas Terazı	Mettler Toledo (AL204)
Buzdolabı (+4)	Arçelik
Buzdolabı (-20)	Uğur
Spektrofotometre	Shimadzu UV-1700
Benmari (Su banyosu)	Kottermann
Soğutmalı Santrifüj	Nüve NF 800R
Santrifüj	Nüve NF400
Mini Spinner	Thermo myspin12
Homojenizatör	Ultra-Turrax T-25
Distile Su Cihazı	Şimşek Lab SS200
Manteyik Karıştırıcı	Snijders
Etüv	Blulab
Vorteks	Nüve NM110
pH metre	Thermo Orion Star A111
Çalkalayıcı (shaker)	Thermo
Isıtıcı Blok	Biosan TBD-120
Elektroforez Sistemi	Biorad Mini Protean Tetra System
Güç Kaynağı	Biorad Powerpac Basic
Immunoblot Sistemi (Islak Transfer Sistemi)	Biorad Mini Protean Tetra System
Kemilüminesan Görüntüleme Cihazı	Biorad Chemidoc Tm XRS ⁺ (Image Lab Software)
Mikropipetler (0,5-10,10-100,100-1000 µl)	Brand
Makropipetler (0,5-5 ml)	Brand

5.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Sarf Malzemeler

Tiyobarbitürik Asit (TBA)	Merck 1.08180.0025
Trikloraasetik asit (TCA)	Sigma 27242
Trisma Base	Sigma 1513
Hidroklorik Asit	Merk 314.2500
5,5-Dithiobis (2-nitro-benzoic acid)	Sigma D8130
Di-Sodyum Hidrojen Fosfat Heptahidrat	Merck 106574.1000
Potasyum Dihidrojen Fosfat	Merck 1.04873.1000
Hidrojen Peroksit	Merck 1.08597.2500
Amonyum Molibdat	Merck 1.01182.0500
Glutathione Reduced Form	Sigma G4251
Cumene Hydroperoxide	Sigma 247502
Sodyum Karbonat	Sigma 13418
Sodyum Potasyum Tartarat Tetrahidrat	Sigma 217255
Folin- ciocalteu'sphenol reagent	Merck 1.09001.0100
RIPA Lysis Buffer System	Santacruz SC24948A
BCA Protein Assay Kit	Thermofisher 23227
Acrylamide	Sigma A9099
N,N'-Methylenebis(acrylamide)	Sigma 146072
Sodyum Dodesil Sülfat	Roth 4360.2
N,N,N',N' Tetramethylethylenediamine (TEMED)	Sigma T9281
Ammonium persulfate ($H_8N_2O_8S_2$)	Sigma A3678
2- isoproponol	Carla Erba 67-63-0
4x- laemmli buffer	Biorad 1610747
2- merkaptotetanol	Aldrich 6250
Glisin	Sigma G8898
Metanol	Sigma 34885
Yağsız Süt Tozu (Blotting- grade)	Biorad 170-6404
İmmunoblot PVDF Membran	Biorad 162-0177
Filtre Kağıdı	Biorad 1703932
Tween-20	Sigma P9416

PonceauS	Sigma P3504
Coomassie Brilliant Blue R-250 Dye	Thermo Fisher 20278
Western ECL Substrat	Biorad 1705060
Betaactin Primer Antibody	Santacruz sc-47778
Bax Primer Antibody	Abcam ab32503
Bcl-2 Primer Antibody	Santacruz sc-7382
Nrf2 Primer Antibody	Fine test FNab05855
HO-1 Primer Antibody	Santacruz sc-390991
Nfkb Primer Antibody	Santacruz sc-514451
COX-2 Primer Antibody	Santacruz sc-19999
Anti-Mouse Seconder Antibody	Santacruz sc-516102
Anti-Rabbit Seconder Antibody	Abcam ab6721
Protein Ladder	Abcam 116028
Karvakrol	Sigma 282197
Streptozotosin	Sigma S0130
Disodyum Hidrojen Fosfat	Sigma 71650
Sitrik Asit	Sigma 251275
Jel yükleme pipet ucu	Biorad
Ependorf tüpler (200µl,2 ml)	Isolab
Makropipet ve Mikropipet Uçları	Brand
İnsilün Enjektörü	Roy-Med
%0,9'luk NaCl	Polifleks
Sodyum Bikarbonat	Sigma S6014
Eozin	Merck 1.15935.0100
Thoma Lamı (0,1 mm derinlik, 0,0025 mm ² 'lik alan)	HBG, Germany
D(+) –Glukoz	Merck 1.08337.0250
Sitrik Asit Monohidrat	J.T.Baker 2064
Nigrozin,	Aldrich 198285
Lam kutusu	Isolab
Lam	Isolab
Lamel 24x24 mm	Isolab

5.2. Hayvan Materyali

Bu çalışma, F.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınan **2018/89** protokol numaralı Etik Kurul Kararı'na tabi olarak gerçekleştirildi. Çalışmada Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi (FÜDAM)'dan temin edilen 8 haftalık 200-250 g ağırlığında 74 adet Wistar-Albino ırkı erkek rat kullanıldı. Deneysel uygulamalar laboratuvar hayvanlarının bakımı ve kullanımı şartlarına (12 saat aydınlık: 12 saat karanlık ve 24±3°C) uygun olarak gerçekleştirildi. Ratlara deneysel uygulamalar süresince standart ticari rat yemi (pellet yem) ve musluk suyu ad libitum olarak verildi.

5.3. Yöntem

5.3.1. Deneysel Model

Ratlar bir haftalık adaptasyon sürecinin ardından 4 çalışma grubuna ayrıldı. Çalışmada diyabet oluşturmak için kullanılan streptozotosin Gençoglu ve ark. (69) tarafından belirtilen doza göre, pH:4,5 fosfat-sitrat tamponunda (0,1 M Sitrik Asit Solüsyonu: 2,1 g sitrik asit+100 ml serum fizyolojik; 0,2 M Di Sodyum Hidrojen Fosfat: 7,2 g Disodyum Hidrojen Fosfat+100 ml serum fizyolojik hazırlanır ve 5 birim sitrik asit ile 4 birim di sodyum hidrojen fosfat solüsyonu karıştırılır ve pH 4,5'e ayarlanır) çözündürülerek bir gece aç bırakılan ratlara intraperiotenal olarak uygulandı. Kullanılan karvakrol'ün dozu ise Aksu ve ark.(148)'nın belirttikleri doza göre mısır yağı içerisinde çözündürülerek gavaj uygulaması ile verildi.

Dördüncü haftanın sonunda Kontrol ve Karvakrol gruplarından 7'şer rat DM ve DM+Karkvakrol gruplarından 10'ar rat son gavaj uygulamasından 24 saat sonra dekapite edildi. Kalan ratlara gavaj uygulaması ile belirtilen dozda karkvakrol verilmeye devam edildi ve sekizinci haftanın sonunda son gavaj uygulamasından yine 24 saat sonra kalan ratlar da dekapite edildi. Çalışma grupları aşağıda belirtildiği şekilde planlandı;

1.Grup: Kontrol Grubu (n=14): Çalışma süresince her gün gavaj uygulaması ile tek doz mısır yağı verildi.

2.Grup: Diyabet (DM) Grubu (n=23): Periton içi tek doz 55 mg/kg streptozotosin (69) uygulaması yapıldıktan 72 saat sonra kan glikoz seviyesi 200 mg/dl ve üzerinde olan ratlar diyabetli olarak kabul edildi.

3.Grup: Karkvakrol Grubu (n=14): Çalışma süresince her gün karkvakrol 75 mg/kg (148) dozda mısır yağı içerisinde çözündürülerek tek doz gavaj uygulaması ile verildi.

4.Grup: Diyabet (DM)+Karkvakrol Grubu (n=23): Periton içi tek doz 55 mg/kg streptozotosin (69) uygulaması yapıldıktan 72 saat sonra kan glikoz seviyesi 200 mg/dl ve üzerinde olan ratlar diyabetli olarak kabul edildi ve bu ratlara çalışma süresince her gün karkvakrol 75 mg/kg (148) dozda mısır yağı içerisinde çözündürülerek tek doz gavaj uygulaması ile verildi.

5.3.2. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması

5.3.2.1. Kan Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması

Ratlardan yaklaşık 6-10 ml arasında alınan kan örnekleri, jelli serum tüplerine alınarak, 4000 rpm de 10 dk santifürüj edildikten sonra serumları ayrıldı. Elde edilen serumlar biyokimyasal analizler yapılana kadar -20°C muhafaza edildi ve serumlardaki testosteron ile glikoz seviyeleri ölçüldü.

5.3.2.2. Doku Örneklerinin Alınması ve Hazırlanması

Dekapite edilen ratlardan kan örnekleri alındıktan sonra üreme organlarının (testis, epididimis, sağ kauda epididimis, vezikula seminalis, ventral prostat) ağırlıkları tartılarak kaydedildi ve spermatolojik analizler yapıldıktan sonra her iki testis dokusu PBS ile yıkanıp polietilen poşetlere sarılıp etiketlendi. Western blot ve oksidatif stres analizleri yapılana kadar testis dokuları -20°C’de muhafaza edildi.

Oksidatif stres analizleri için testis dokuları tartılıp cam tüplere aktarıldıktan sonra üzerlerine 1/10 (g/v) oranında Tris Buffer (pH:7,4) ilave edilerek homojenize edildi. Homojenatlar 4000 rpm de 60 dk santifürüj edildikten sonra süpernatant kısmı ayrıldı. Süpernatanttan MDA, GSH, CAT ve GSH-Px düzeylerine bakıldı.

Western blot analizleri için testis dokuları RIPA Protein Lysis Kit (Santacruz sc24948A) ile firmanın belirttiği protokole uygun şekilde homojenize edildi ve homojenatlar 4000 rpm de 60 dk satrifüj edilerek supernatant kısmı ayrıldı.

Supernatant kısmından Bax, Bcl-2, Nrf2, HO-1, NfκB ve COX-2 protein ekspresyon düzeylerine bakıldı.

5.3.3. Spermatolojik Analizler

5.3.3.1. Epididimal Spermatozoon Yoğunluğu

Hemositometrik yöntem kullanılarak spermatozoon yoğunluğu belirlendi (152,153). Sağ cauda epididimis petri kutusu içerisindeki 1 ml fizyolojik tuzlu suda (%0,9'luk NaCl) trimlendi. Sonra epididimal dokudaki bütün spermatozoonların sıvıya geçmesi için oda sıcaklığında 4 saat inkubasyona bırakıldı. Bekleme süresini takiben alyuvar sayımında kullanılan sulandırma pipetinin 0,5 çizgisine kadar sperma ve 101 çizgisine kadar %2'lik eozin solüsyonu çekildi. Dolayısıyla sperma 1/200 oranında sulandırılmış oldu. Pipetten ilk birkaç damla atıldıktan sonra, Thoma lamının (0,1 mm derinlik, 0,0025 mm² 'lik alan) her iki sayım alanına lamelin kenarına pipetin ucu değdirilerek sulandırılmış sperma bırakıldı. Thoma lamı ışık mikroskobuna yerleştirilip 5 dakika beklenerek solüsyon içerisindeki spermatozoonların tüm alana homojen bir şekilde dağılması sağlandı. Thoma lamının her iki sayım alanında 10x40'luk büyütmede toplam 5 orta büyüklükteki karede (toplam 80 küçük kare) bulunan spermatozoonlar sayılarak hesaplandı. Sonuçlar milyon/sağ cauda epididimis olarak verildi.

5.3.3.2. Spermatozoon Motilitesi

Bir lam, mikroskobun ısıtma tablasına yerleştirilerek lamenin sıcaklığının 37°C'ye ulaşması sağlandı. Tris buffer solüsyonu ısıtma tablası üzerindeki lama damlatıldıktan sonra sol kauda epididimise kesit yapıldı ve spermatozoon ihtiva eden küçük bir damla lamel yardımıyla Tris buffer solüsyonu ile karıştırılarak homojen olması sağlandı. Daha sonra 400'lük büyütme (10X40) motilite yüzdesi belirlendi. Motilite tahminleri, sol kauda epididimisten alınan bir damla süspansiyon için 3 farklı saha incelenerek yapıldı. Bu 3 farklı sahada motilite oranlarının ortalaması alındı ve 0-100 arasında değer verilerek, motilite oranı % olarak belirtildi (152,153).

5.3.3.3. Anormal Spermatozoon Oranı

Anormal spermatozoon oranını tayin etmek için birkaç damla Tris buffer solüsyonu temiz, kuru ve önceden ısıtılmış (37°C) bir lama damlatıldıktan sonra üzerine sol kauda epididimise kesit yapılarak alınan, spermatozoon ihtiva eden küçük bir damla ile birkaç damla Eozin-Nigrozin karışımı boya damlatılarak bir lam yardımıyla karıştırılıp homojen hale getirildi. Daha sonra bu karışımdan ince frotiler çekilerek, frotiler oda sıcaklığında kurutuldu. Kurutma işleminden sonra frotiler ışık mikroskobunda 400'lük büyütme (10X40) ile incelendi. Bir frotide toplam 200 spermatozoon incelenip baş, kuyruk ve toplam anormal spermatozoon oranı % olarak ifade edildi (152,153).

5.3.4. Serum Testosteron ve Glikoz Analizleri

Ratlardan alınan kan örneklerinden sentrifüj sonrasında elde edilen serumlardan, testosteron ve glikoz düzeyleri Fırat Üniversitesi Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarında otoanalizatörde tespit edilmiştir.

5.3.5. Oksidatif Stres Analizleri

5.3.5.1. Malondialdehit (MDA) Tayini

Malondialdehit tayini Placer ve ark. (154)'nın belirlediği yönteme göre spektrofotometrik olarak yapıldı. Standart eğri çizimi için, 1,1,3,3 Tetraethoxypropane'den 10 µl/10 ml absolut etanolde stok solüsyon hazırlandı ve bu stok solüsyondan farklı konsantrasyonlarda standartlar hazırlanarak bir MDA standart eğrisi çizildi. Örneklerden elde edilen absorbanslar MDA standart eğriden hesaplanan sabit rakama oranlanarak dokudaki MDA düzeyi hesaplandı. Çıkan sonuçlar nmol/g doku olarak ifade edildi. Prensipte; anaerobik bir ortamda ve pH'nın 3,4 olduğu durumda, doku homojenatının 100°C'de 1 saat inkubasyonunda, lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan malondialdehitin tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyonu sonucunda pembe renkli bir kompleks oluşur. Oluşan bu pembe renk 532 nm'de spektrofotometrik olarak okunur.

5.3.5.2. İndirgenmiş Glutasyon (GSH) Tayini

Glutasyon tayini Sedlak ve Lindsay'ın (155) belirttiği yönteme göre spektrofotometrik olarak yapıldı. Elde edilen absorbans değerler hesaplanarak

sonuçlar nmol/g doku olarak ifade edildi. Prensibi; 5,5-ditiyo-bis [2-nitrobenzoik asit] sulfidril gruplarıyla reaksiyonu sonucunda sarı renkli bir kompleks meydana gelir. Oluşan bu renk değişimi 412 nm'de spektrofotometrik olarak okunur.

5.3.5.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Tayini

GSH-Px aktivite düzeyi Lawrence ve ark. (156)'nın belirttiği yönteme göre spektrofotometrik olarak yapıldı. Elde edilen absorbans değerler hesaplanarak sonuçlar IU/g protein olarak ifade edildi. Prensibi; GSH-Px, GSH'ı Cumenehidroperoksit (CHPO) ile oksidasyona uğratır. Renk ajanı olan 5,5-ditiyobis (2- nitrobenzoik asit; DTNB) solüsyonunu hem kr ve hem de örneklerle muamele edildiğinde sarı renk kompleksi oluşur bu da spektrofotometrede 412 nm'de okunur.

5.3.5.4. Katalaz (CAT) Tayini

Katalaz aktivitesinin tayini Goth'un (157) belirttiği yönteme göre spektrofotometrik olarak yapıldı. Elde edilen absorbans değerler hesaplanarak sonuçlar kU/g protein olarak ifade edildi. Prensibi; Doku homojenatı hidrojen peroksit (H_2O_2) içeren substrat ile inkube edilir. Hidrojen peroksit katalaz aktivitesi ile H_2O ve oksijene parçalanır. Ortama ilave edilen amonyum molibdat H_2O_2 ile birleşerek reaksiyonu sonlandırılır. Bu süre de meydana gelen renk değişimi 405 nm'de köre karşı spektrofotometrik olarak okunur.

5.3.5.5. Total Protein Tayini

Örneklerdeki total protein tayininde Lowry metodu kullanıldı (158). Prensibi; Alkali bakır ayıracında bulunan Cu^{++} peptit bağları ile kompleks oluşturmaktadır. Doku homojenatlarına alkali bakır ayracı eklenip fenol ayracıyla muamele edildiğinde mor-mavi renk şekillenir. Oluşan bu rengin 650 nm’de spektrofotometrik olarak okunmasıyla total protein düzeyi belirlenir.

5.3.6. Western Blot Analizleri

Homojenatlardan elde edilen supernatantlardaki total protein miktarları, BCA kiti (Thermofisher 23227) kullanılarak prosedüre göre spektrofotometrik olarak belirlendi (159). Doku homojenatları 2- merkaptotanol içeren 4x laemmli buffer solüsyonu ile ¼ oranında hazırlandıktan sonra, 95 °C’de 5 dk inkübasyona bırakıldı. Hazırlanan bu örnekler yükleme (%4) ve ayırma jellerinden (%10) oluşan iki gradientli poliakrilamid jellere, her kuyucukta 50 µg protein olacak şekilde, birinci kuyucuğa protein markerı konularak yüklendi. Elektroforez Biorad mini-protean tetra cell jel elektroforez sisteminde 1X yürütme tamponu kullanılarak jel başına 10 mA ayarlanarak yapıldı. Proteinlerin jel içerisindeki takibi, laemmli buffer içerisinde bulunan bromofenol mavisinin oluşturduğu mavi renkli bant ile yapıldı (160). Yürütme işleminin ardından jeller transfere hazırlandı. Transfer kaseti içerisine katottan anota doğru olacak şekilde sünger, filtre kağıdı, jel, poliviniliden diflorit (PVDF) membran, filtre kağıdı, sünger konularak sandiviç modeli oluşturuldu. Bu işlemi yaparken jel ile membran arasında hava kabarcığı kalmamasına dikkat edildi. Transfer kaseti kapatılarak transfer tankının içerisine

yerleştirildi ve tank 1X transfer tamponu ile dolduruldu. Jeldeki proteinler Biorad mini protean tetra cell ıslak transfer sistemi kullanılarak western blotlama tekniği ile 90 V'da 90 dk PVDF membrana aktarıldı (161). Blotlamanın ardından PVDF membranlar, nonspesifik bağlanmaları engellemek için, %5 lik süt tozu ile 1 saat bloklandı ve bloklamadan sonra TBS-T ile 5'er dk 3 kez yıkandı. Membranlar Bcl-2:1/1000, Bax; 1/10000, NfκB:1/1000, COX-2:1/1000, Nrf2:1/3000, HO-1: 1/1000, Betaaktin: 1/10000 oranında %5 lik süt tozuyla sulandırılan antikorlarla bir gece inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından membranlar 5 er dk 3 kez TBS-T ile yıkandı. Primere uygun sekonder antikorlar %5'lik süt tozunda sulandırılarak (Anti Mouse Seconder Antibody; 1/5000, Anti-Rabbit Seconder Antibody: 1/10000) membranlar bu antikorlarla 1 saat inkübasyona bırakıldı ve ardından membranlar tekrar 5 er dk 3 kez TBS-T ile yıkandı. Yıkanan membranlar kemilüminesan konjugat (ECL) ile muamele edildi. Bant görüntüleri Biorad ChemiDoc™ XRS+ görüntüleme cihazı kullanılarak elde edildi (162,163). Elde edilen görüntülerdeki bant yoğunlukları Biorad Image Lab™ Software version 5.2.1 programı kullanılarak ölçüldü. Protein ekspresyon düzeyleri internal kontrol olarak kullanılan beta aktine göre normalize edildi ve kontrolün yüzdesi şeklinde ifade edildi (163).

5.3.7. Canlı Ağırlık Ölçümleri

Her grupta, ratlara çalışma başlangıcında bireysel kuyruk işaretlemesi yapıldı. Canlı ağırlık tartımları; çalışmanın başlangıcında, STZ uygulamaları öncesi ve çalışma sonunda günün aynı saatlerinde ve 1 g hassasiyetteki terazi (Denver DL-3, Amerika) ile yapıldı.

5.3.8. İstatistiksel Analiz

Çalışma sonucunda elde edilen değerlerin normal dağılım gösterip göstermedikleri Shapiro-Wilk normallik analizi ile belirlendi. Shapiro-Wilk normallik analizi sonucu normal dağılım gösteren verilerin grup ortalamaları Anova tek yönlü varyans analiziyle karşılaştırıldı. Gruplar arasındaki farklılıklar ise Duncan testi ile belirlendi. Normal dağılım göstermeyen verilerde ise, Kruskal Wallis Varyans Analiz testi uygulandı. Gruplar arasındaki farklılıklar ise Mann Witney-U testi ile belirlendi. Anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ kabul edildi. İstatistiksel analizler için IBM SPSS Statistics 22 paket programı kullanıldı (164).

Veriler; Ortalama $\pm$ Standart Sapma ($X \pm SD$) olarak verildi.

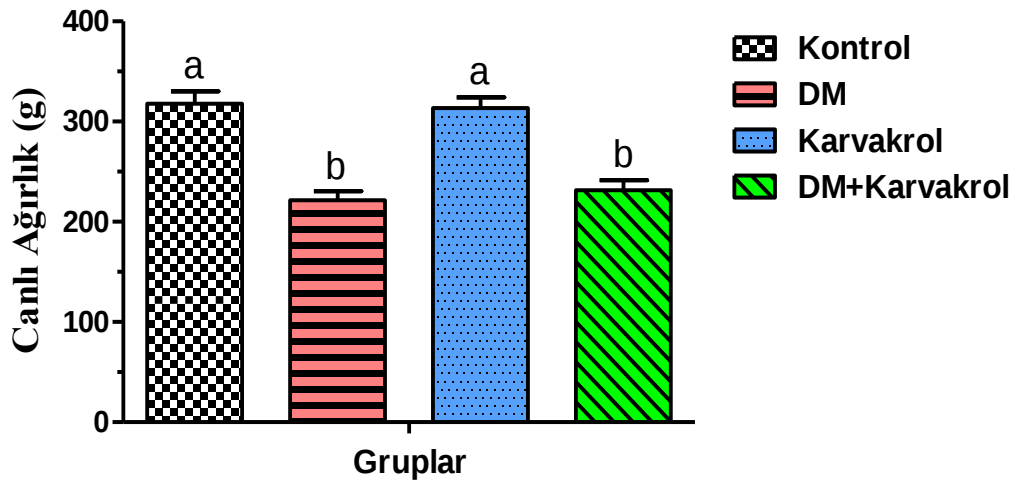
6. BULGULAR

6.1. Canlı Ağırlık Değerleri

Canlı ağırlık değerleri; Şekil 14 ve 15’te verilmiştir.

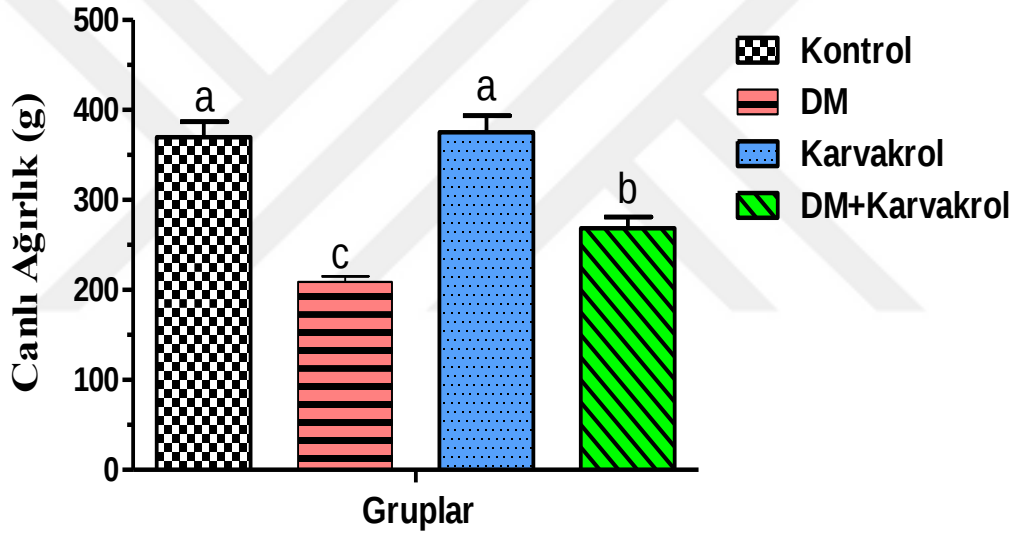
Şekil 14 ve 15 incelendiğinde; dördüncü ve sekizinci haftalarda canlı ağırlık değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,001$).

Şekil 14 incelendiğinde; dördüncü haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında canlı ağırlık değerlerinde bir azalma olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 14: Dördüncü Hafta Canlı Ağırlık Değerleri; Ortalama, SD, ($p<0,001$).

Şekil 15 incelendiğinde; sekizinci haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında canlı ağırlık değerlerinde bir azalma olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



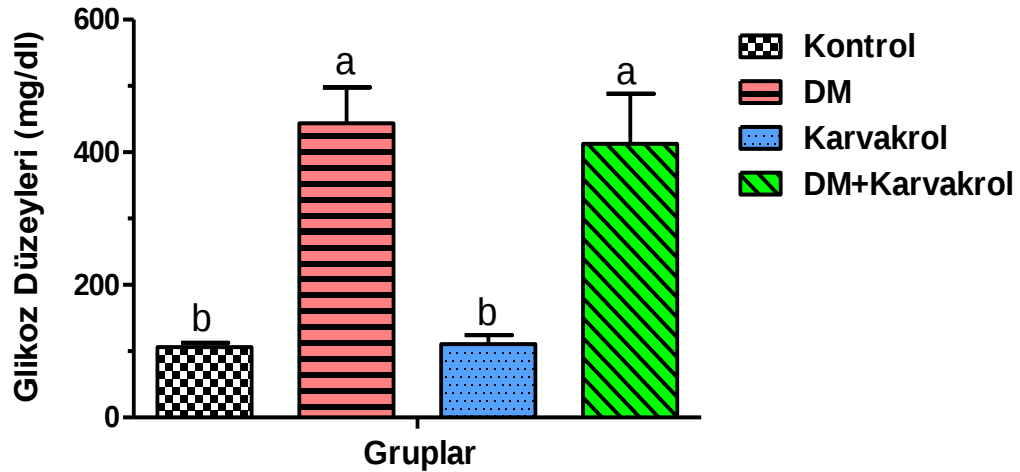
Şekil 15: Sekizinci Hafta Canlı Ağırlık Değerleri; Ortalama, SD, ($p<0,001$).

6.2. Serum Glikoz Düzeyleri

Serum glikoz düzeyleri; Şekil 16 ve 17 ile Tablo 3 ve 4’te verilmiştir.

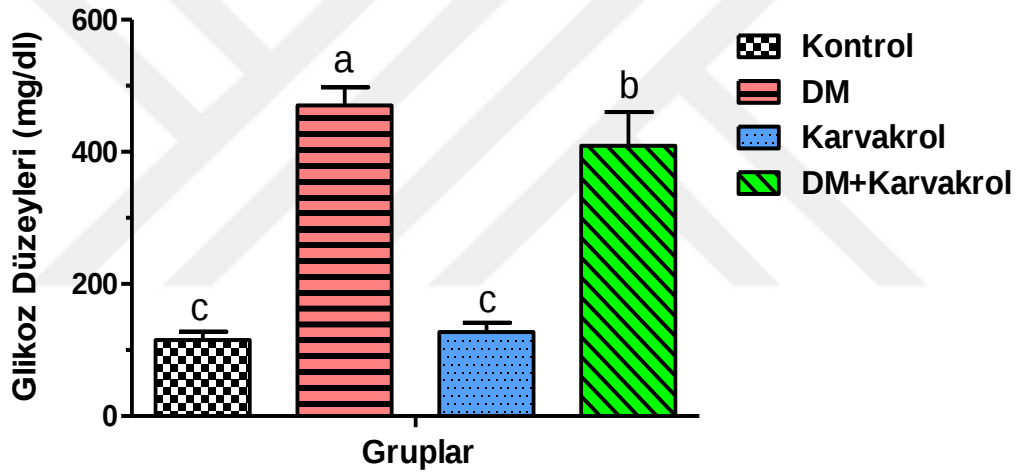
Şekil 16 ve 17 ile Tablo 3 ve 4 incelendiğinde, dördüncü ve sekizinci haftalarda serum glikoz düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,001$).

Şekil 16 ve Tablo 3 incelendiğinde; dördüncü haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında serum glikoz düzeylerinde bir artış olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 16: Dördüncü Hafta Serum Glikoz Düzeyleri; Ortalama, SD, ($p<0,001$).

Şekil 17 ve Tablo 4 incelendiğinde; sekizinci haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında serum glikoz düzeylerinde bir artış olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



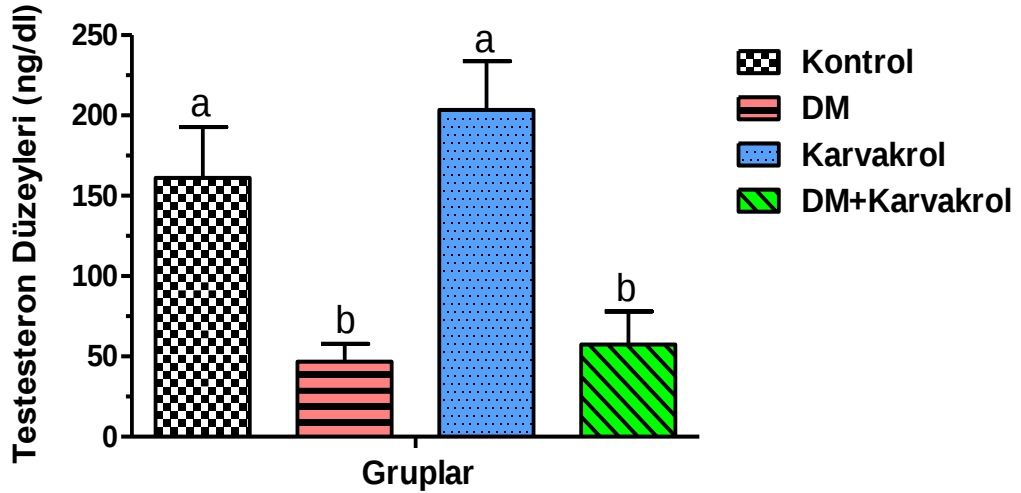
Şekil 17: Sekizinci Hafta Serum Glikoz Düzeyleri; Ortalama, SD, ($p<0,001$).

6.3. Serum Testosteron Düzeyleri

Serum testosteron düzeyleri; Şekil 18 ve 19 ile Tablo 3 ve 4’te verilmiştir.

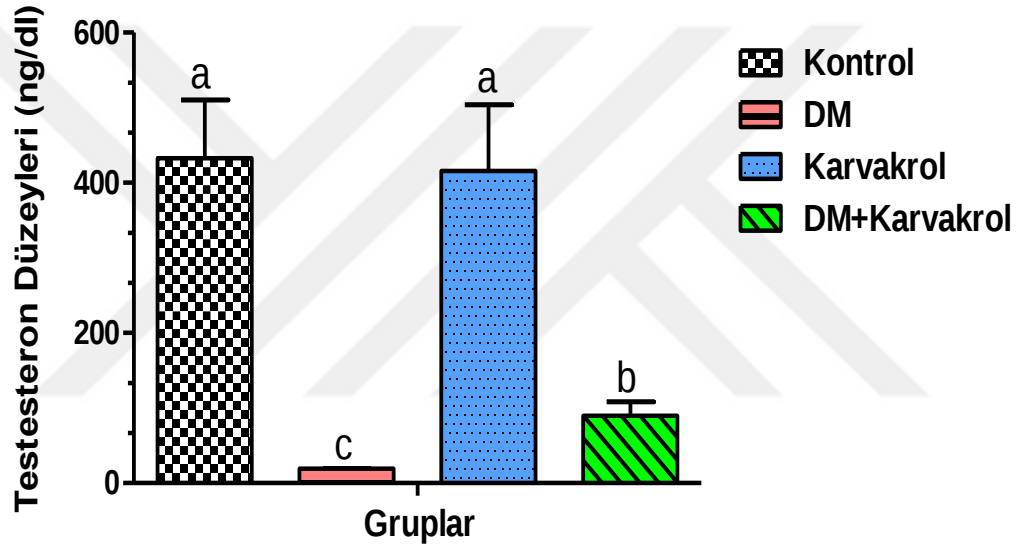
Şekil 18 ve 19 ile Tablo 3 ve 4 incelendiğinde, dördüncü ve sekizinci haftalarda serum testosteron düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,001$).

Şekil 18 ve Tablo 3 incelendiğinde; dördüncü haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında serum testosteron düzeylerinde bir azalış olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 18: Dördüncü Hafta Serum Testosteron Düzeyleri; Ortalama, SD, ($p<0,001$).

Şekil 19 ve Tablo 4 incelendiğinde; sekizinci haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında serum testosteron düzeylerinde bir azalış olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 19: Sekizinci Hafta Serum Testosteron Düzeyleri; Ortalama, SD, ($p<0,001$).

Tablo 3: Dördüncü Hafta Serum Glikoz ve Testosteron Düzeyleri

GRUPLAR		Serum Glikoz Düzeyleri (mg/dl)	Serum Testosteron Düzeyleri (ng/dl)
4. Hafta	Kontrol	106,42±6,34 ^b	161,11±31,70 ^a
	DM	443,71±54,27 ^a	46,78±10,98 ^b
	Karvakrol	110,85±13,35 ^b	203,38±30,45 ^a
	DM+Karvakrol	412,85±75,38 ^a	57,41±20,62 ^b
	Önemlilik	p<0,001	p<0,001

^{a,b}: Aynı sütunda farklı harfle belirtilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir (X±SD).

Tablo 4: Sekizinci Hafta Serum Glikoz ve Testosteron Düzeyleri

	GRUPLAR	Serum Glikoz Düzeyleri	Serum Testosteron Düzeyleri
		(mg/dl)	(ng/dl)
8. Hafta	Kontrol	115,28±12,41 ^c	432,83±77,22 ^a
	DM	470,12±27,78 ^a	19,12±0,35 ^c
	Karvakrol	127,00±14,31 ^c	415,57±88,26 ^a
	DM+Karvakrol	409,25±51,07 ^b	89,68±18,40 ^b
	Önemlilik	p<0,001	p<0,001

^{a,b,c}: Aynı sütunda farklı harfle belirtilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir (X±SD).

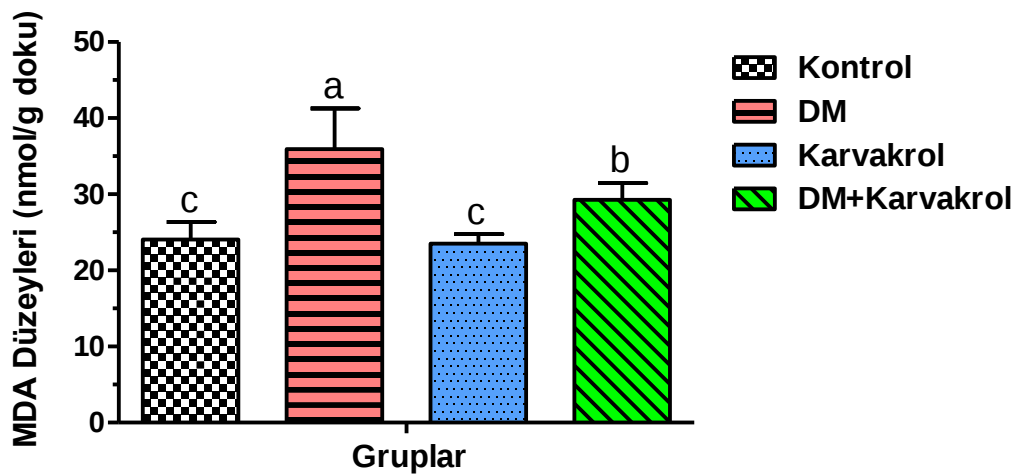
6.4. Oksidatif Stres Parametreleri

6.4.1. Malondialdehit (MDA) Düzeyleri

Testis dokusu malondialdehit düzeyleri; Şekil 20 ve 21 ile Tablo 5 ve 6’ta verilmiştir.

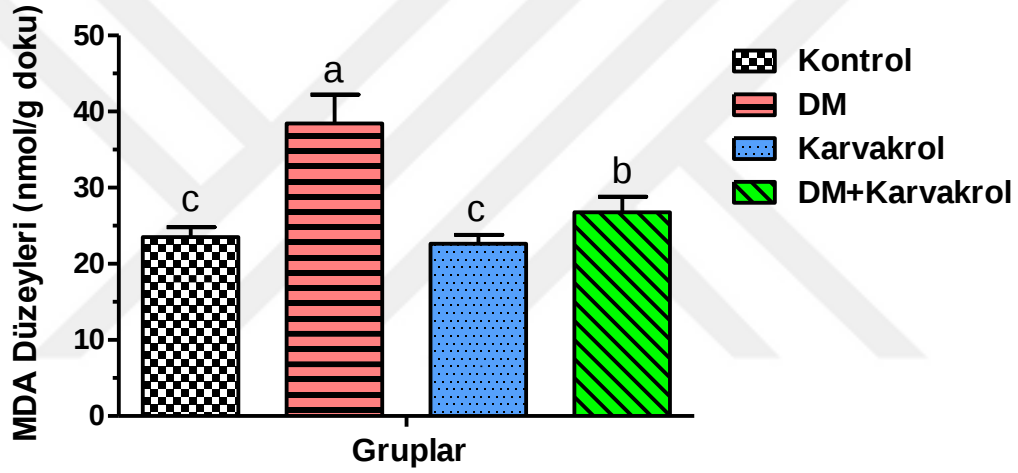
Şekil 20 ve 21 ile Tablo 5 ve 6 incelendiğinde; dördüncü ve sekizinci haftalarda, MDA düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,001$).

Şekil 20 ve Tablo 5 incelendiğinde; dördüncü haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında MDA düzeylerinde bir artış olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış tespit edilmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı artış olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 20: Dördüncü Hafta Testis Dokusu MDA Düzeyleri; Ortalama, SD, ($p<0,001$).

Şekil 21 ve Tablo 6 incelendiğinde, sekizinci haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında MDA düzeylerinde bir artış olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



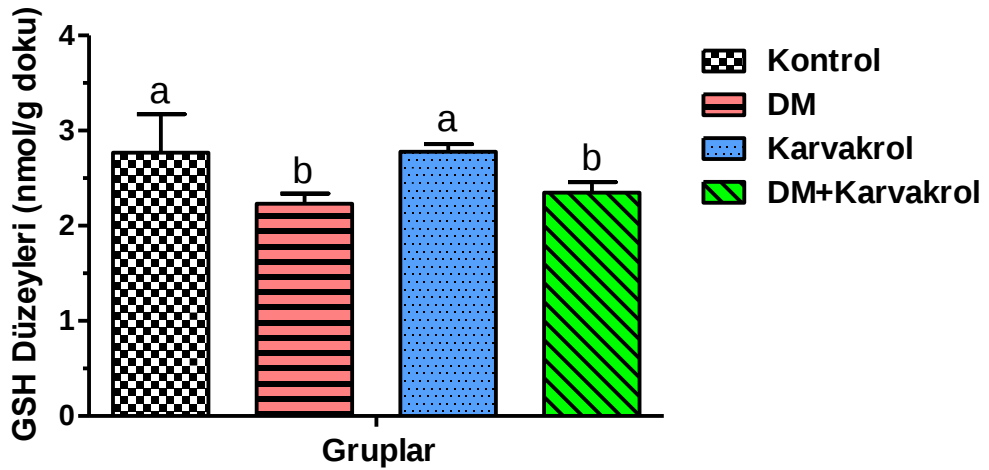
Şekil 21: Sekizinci Hafta Testis Dokusu MDA Düzeyleri; Ortalama, SD, ($p<0,001$).

6.4.2. Glutasyon (GSH) Düzeyleri

Testis dokusu glutasyon düzeyleri; Şekil 22 ve 23 ile Tablo 5 ve 6’ta verilmiştir.

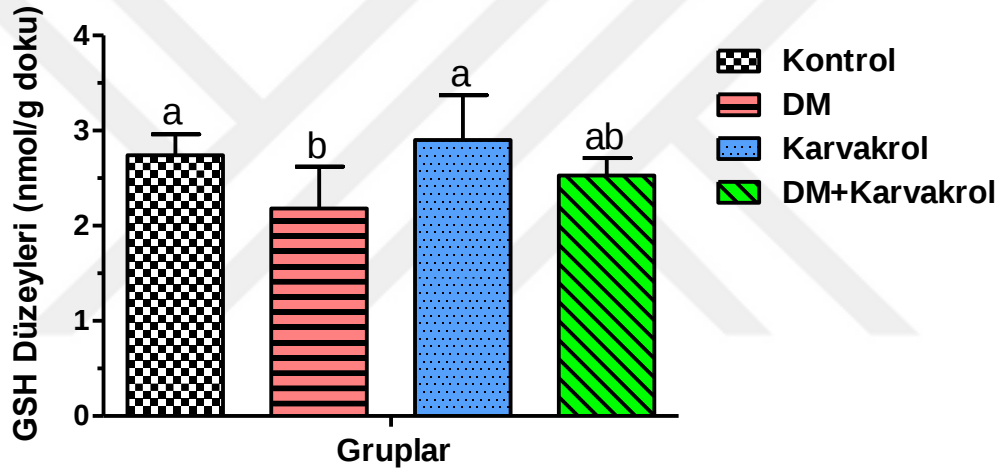
Şekil 22 ve 23 ile Tablo 5 ve 6 incelendiğinde; dördüncü ve sekizinci haftalarda GSH düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir (dördüncü hafta: $p<0,001$; sekizinci hafta: $p<0,01$).

Şekil 22 ve Tablo 5 incelendiğinde, dördüncü haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında GSH düzeylerinde bir azalış olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 22: Dördüncü Hafta Testis Dokusu GSH Düzeyleri; Ortalama, SD, ($p<0,001$).

Şekil 23 ve Tablo 6 incelendiğinde; sekizinci haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında GSH düzeylerinde bir azalış olduğu belirlenmiştir ($p<0,01$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç belirlenmemiştir ($p>0,05$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



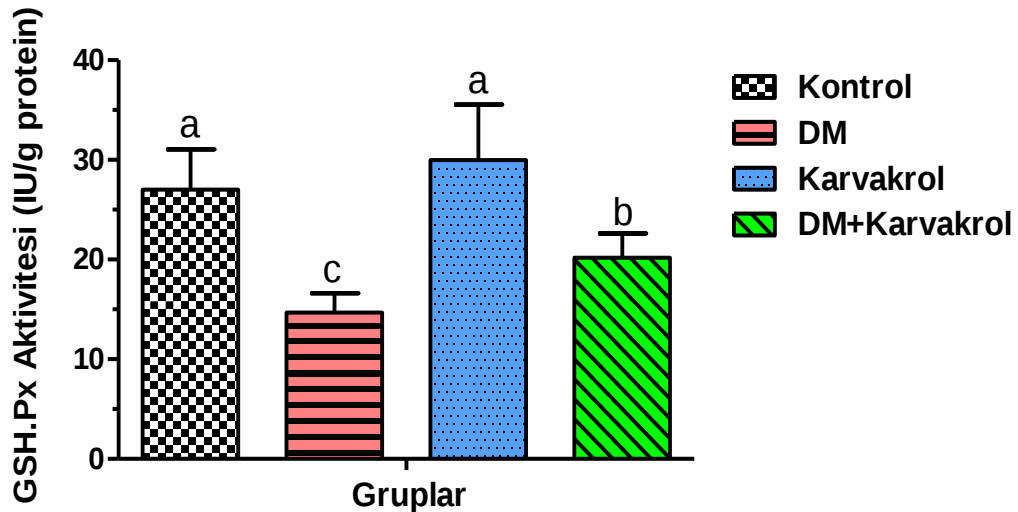
Şekil 23: Sekizinci Hafta Testis Dokusu GSH Düzeyleri; Ortalama, SD, ($p<0,01$).

6.4.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH.Px) Aktivitesi

Testis dokusu glutasyon peroksidaz aktivitesi; Şekil 24 ve 25 ile Tablo 5 ve 6’ta verilmiştir.

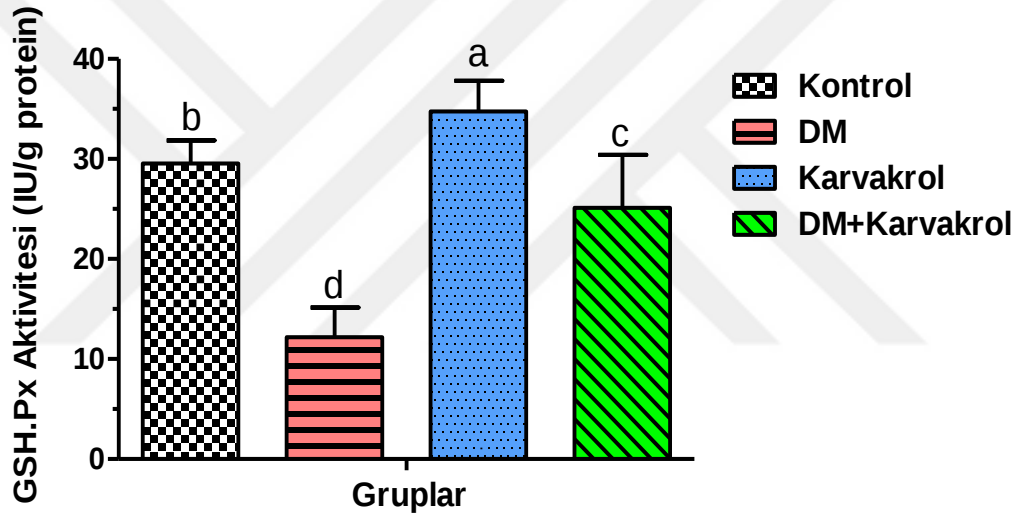
Şekil 24 ve 25 ile Tablo 5 ve 6 incelendiğinde; dördüncü ve sekizinci haftalarda GSH.Px aktivitelerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,001$).

Şekil 24 ve Tablo 5 incelendiğinde; dördüncü haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında GSH.Px aktivitesinde bir azalış olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 24: Dördüncü Hafta Testis Dokusu GSH.Px Aktivitesi; Ortalama,SD, ($p<0,001$).

Şekil 25 ve Tablo 6 incelendiğinde; sekizinci haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında GSH.Px aktivitesinde bir azalış olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). Karvakrol Grubu Kontrol Grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$).



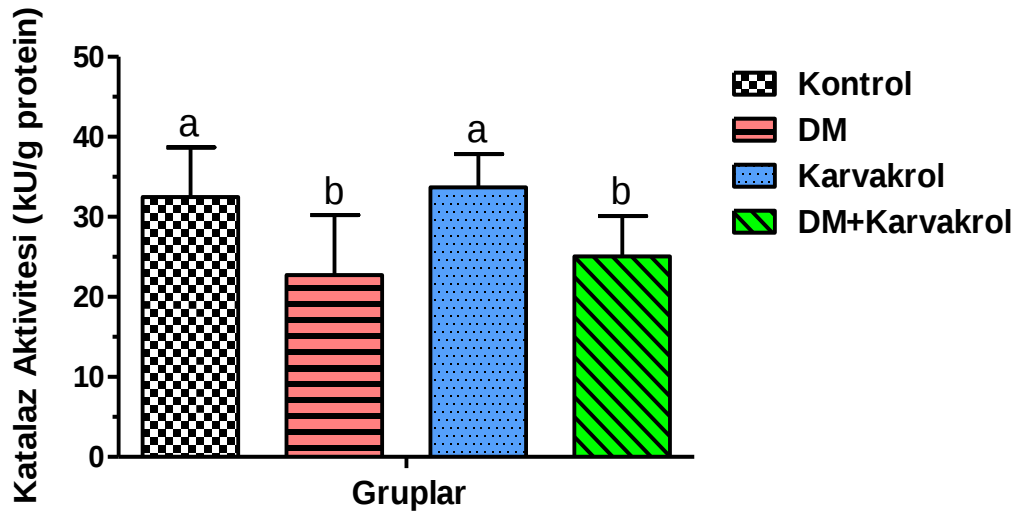
Şekil 25: Sekizinci Hafta Testis Dokusu GSH.Px Aktivitesi; Ortalama, SD, ($p<0,001$).

6.4.4. Katalaz (CAT) Aktivitesi

Testis dokusu katalaz aktivitesi; Şekil 26 ve 27 ile Tablo 5 ve 6’ta verilmiştir.

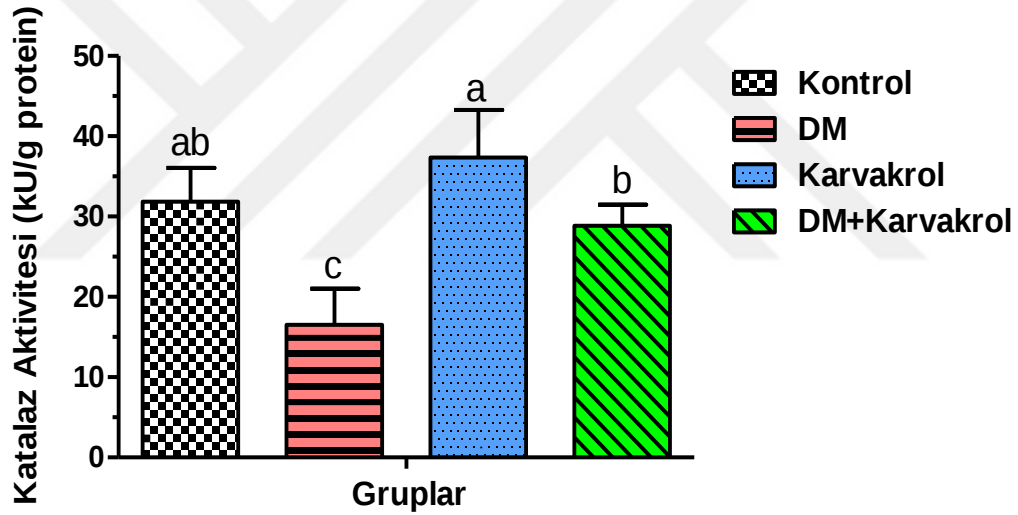
Şekil 26 ve 27 ile Tablo 5 ve 6 incelendiğinde; dördüncü ve sekizinci haftalarda CAT aktivitesinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir (dördüncü hafta: $p<0,01$; sekizinci hafta: $p<0,001$).

Şekil 26 ve Tablo 5 incelendiğinde, dördüncü haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında CAT aktivitesinde bir azalış olduğu belirlenmiştir ($p<0,01$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış belirlenmiştir ($p<0,01$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 26: Dördüncü Hafta Testis Dokusu Katalaz Aktivitesi; Ortalama, SD, ($p<0,01$).

Şekil 27 ve Tablo 6 incelendiğinde; sekizinci haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında CAT aktivitesinde bir azalış olduğu belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak bir fark bulunmazken ($p>0,05$); Karvakrol Grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 27: Sekizinci Hafta Testis Doku Katalaz Aktivitesi; Ortalama, SD, ($p<0,001$).

Tablo 5: Dördüncü Hafta Testis Dokusu Oksidatif Stres Parametreleri

OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ					
	GRUPLAR	MDA (nmol/g doku)	GSH (nmol/g doku)	GSH-Px (IU/g protein)	Katalaz (kU/g protein)
4. Hafta	Kontrol	24,08±2,29 ^c	2,77±0,40 ^a	27,03±4,03 ^a	32,48±6,21 ^a
	DM	35,94±5,33 ^a	2,23±0,11 ^b	14,68±1,92 ^c	22,72±7,51 ^b
	Karvakrol	23,54±1,25 ^c	2,78±0,08 ^a	29,98±5,57 ^a	33,67±4,18 ^a
	DM+Karvakrol	29,27±2,22 ^b	2,35±0,11 ^b	20,19±2,42 ^b	25,08±5,01 ^b
	Önemlilik	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,01

^{a,b,c}: Aynı sütunda farklı harfle belirtilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir (X±SD).

Tablo 6: Sekizinci Hafta Testis Dokusu Oksidatif Stres Parametreleri

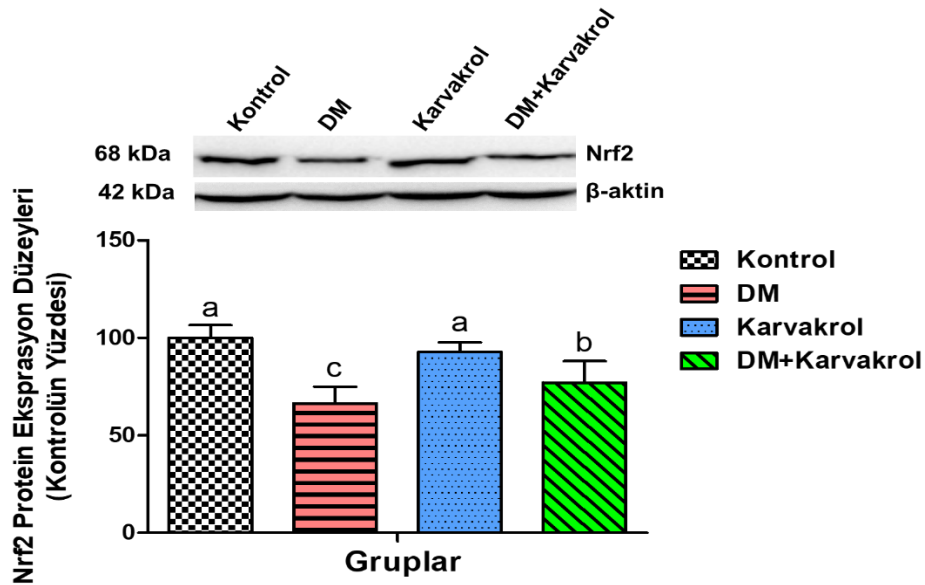
OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ					
	GRUPLAR	MDA (nmol/g doku)	GSH (nmol/g doku)	GSH-Px (IU/g protein)	Katalaz (kU/g protein)
8. Hafta	Kontrol	23,51±1,31 ^c	2,74±0,22 ^a	29,55±2,29 ^b	31,85±4,21 ^{ab}
	DM	38,45±3,78 ^a	2,18±0,44 ^b	12,18±2,96 ^d	16,54±4,49 ^c
	Karvakrol	22,66±1,16 ^c	2,90±0,47 ^a	34,74±3,06 ^a	37,37±5,88 ^a
	DM+Karvakrol	26,75±2,08 ^b	2,53±0,18 ^{ab}	25,11±5,31 ^c	28,85±2,62 ^b
	Önemlilik	p<0,001	p<0,01	p<0,001	p<0,001

^{a,b,c,d}: Aynı sütunda farklı harfle belirtilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir (X±SD).

6.5. Nrf2 ve HO-1 Protein Ekspresyon Düzeyleri

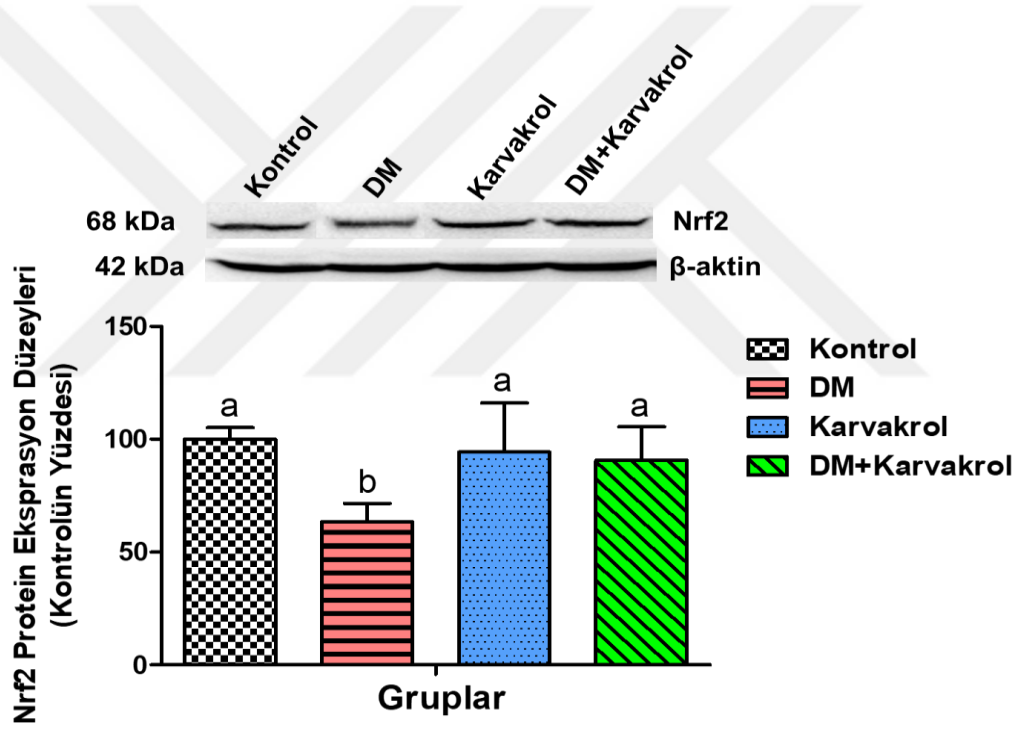
Testis dokusu Nrf2 ve HO-1 protein ekspresyon düzeyleri ve protein ekspresyonlarını ifade eden western blot bant görüntüleri; Şekil 28, 29, 30 ve 31’de verilmiştir. Şekil 28 ve 29 incelendiğinde; dördüncü ve sekizinci haftalarda Nrf2 protein ekspresyon düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,001$).

Şekil 28 incelendiğinde; dördüncü haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında Nrf2 protein ekspresyon düzeylerinin azaldığı belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 28: Dördüncü Hafta Testis Dokusu Nrf2 Protein Ekspresyon Düzeyleri; Ortalama, SD ($p<0,001$).

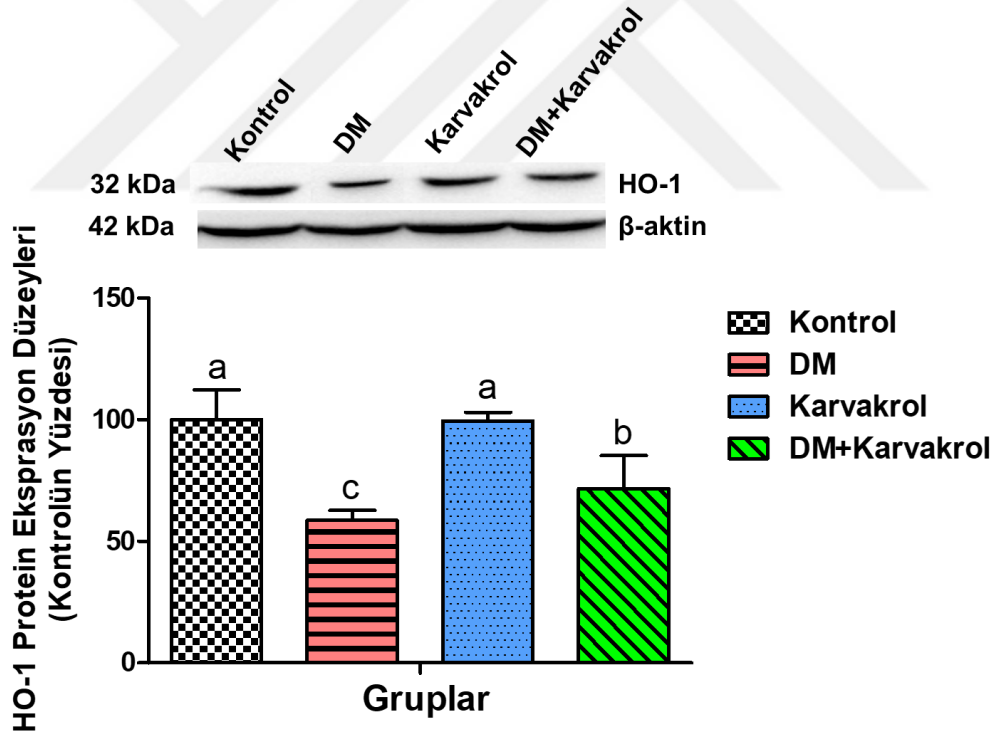
Şekil 29 incelendiğinde; sekizinci haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında Nrf2 protein ekspresyon düzeylerinin azaldığı belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 29: Sekizinci Hafta Testis Dokusu Nrf2 Protein Ekspresyon Düzeyleri; Ortalama, SD ($p<0,001$).

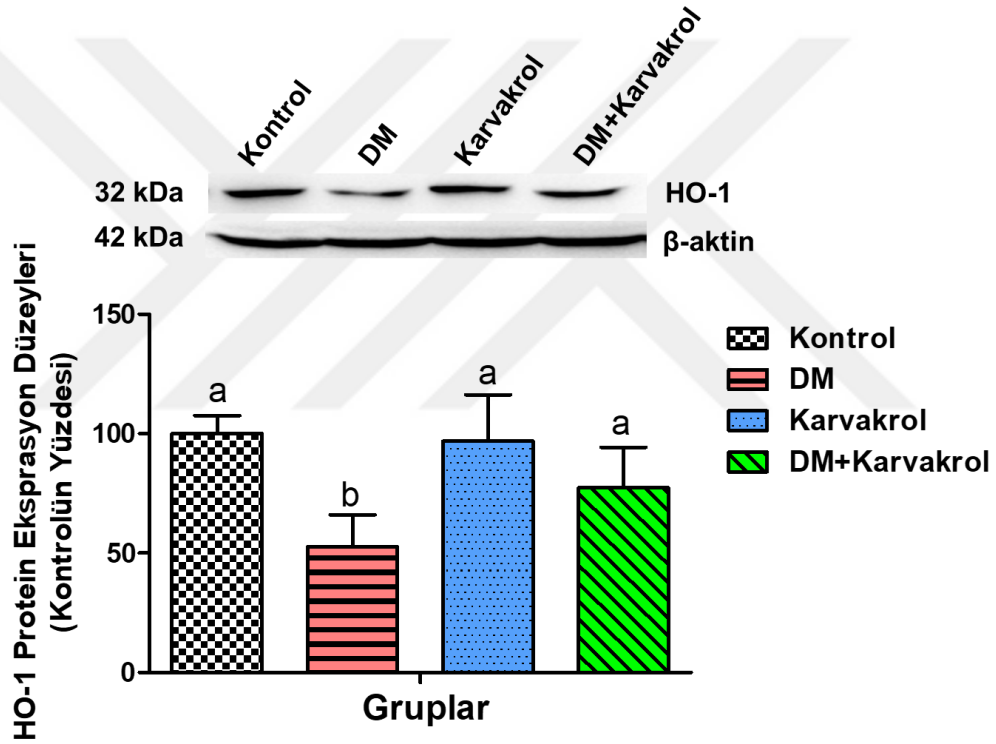
Şekil 30 ve 31 incelendiğinde; dördüncü ve sekizinci haftalarda HO-1 protein ekspresyon düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,001$).

Şekil 30 incelendiğinde; dördüncü haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında HO-1 protein ekspresyon düzeylerinin azaldığı belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 30: Dördüncü Hafta Testis Dokusu HO-1 Protein Ekspresyon Düzeyleri; Ortalama, SD ($p<0,001$).

Şekil 31 incelendiğinde; sekizinci haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında HO-1 protein ekspresyonunun azaldığı belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol Grubu ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).

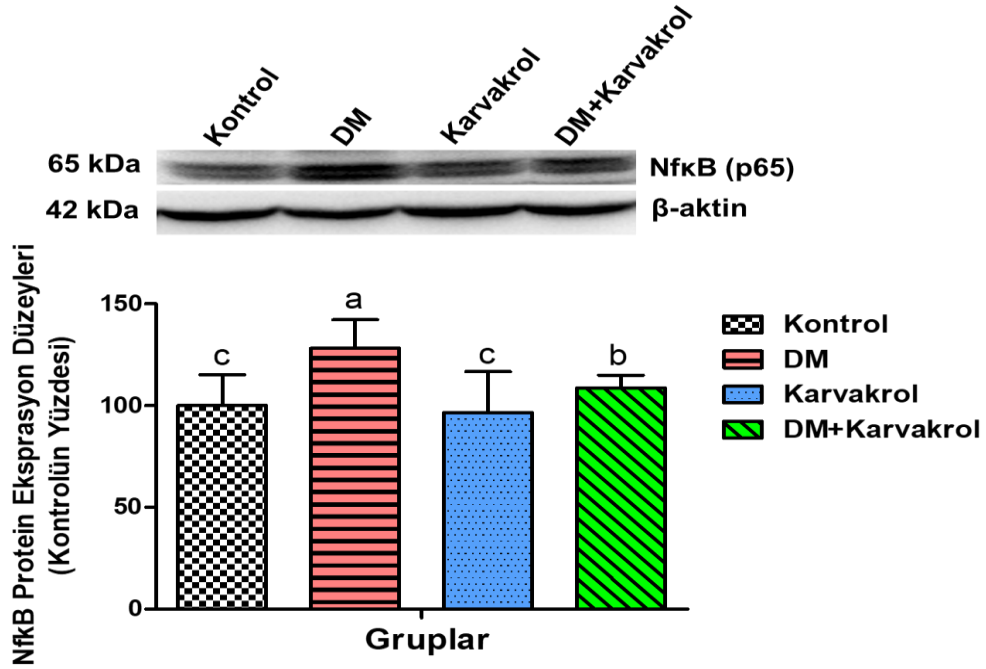


Şekil 31: Sekizinci Hafta Testis Dokusu HO-1 Protein Ekspresyon Düzeyleri; Ortalama, SD ($p<0,001$).

6.6. NfκB ve COX-2 Protein Ekspresyon Düzeyleri

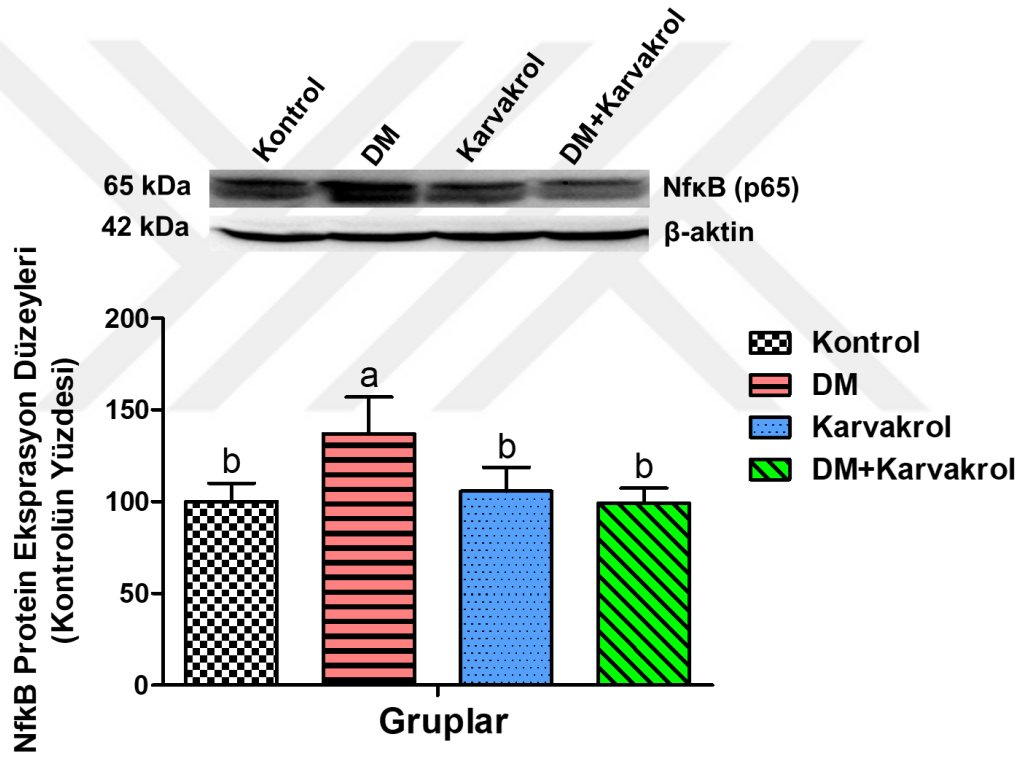
Testis dokusu NfκB ve COX-2 protein ekspresyon düzeyleri ve protein ekspresyonlarını ifade eden western blot bant görüntüleri; Şekil 32, 33, 34 ve 35'te verilmiştir. Şekil 32 ve 33 incelendiğinde; dördüncü ve sekizinci haftalarda NfκB protein ekspresyon düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,001$).

Şekil 32 incelendiğinde; dördüncü haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında NfκB protein ekspresyon düzeylerinin arttığı belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı bir azalış tespit edilmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 32: Dördüncü Hafta Testis Dokusu NfκB Protein Ekspresyon Düzeyleri; Ortalama, SD ($p<0,001$).

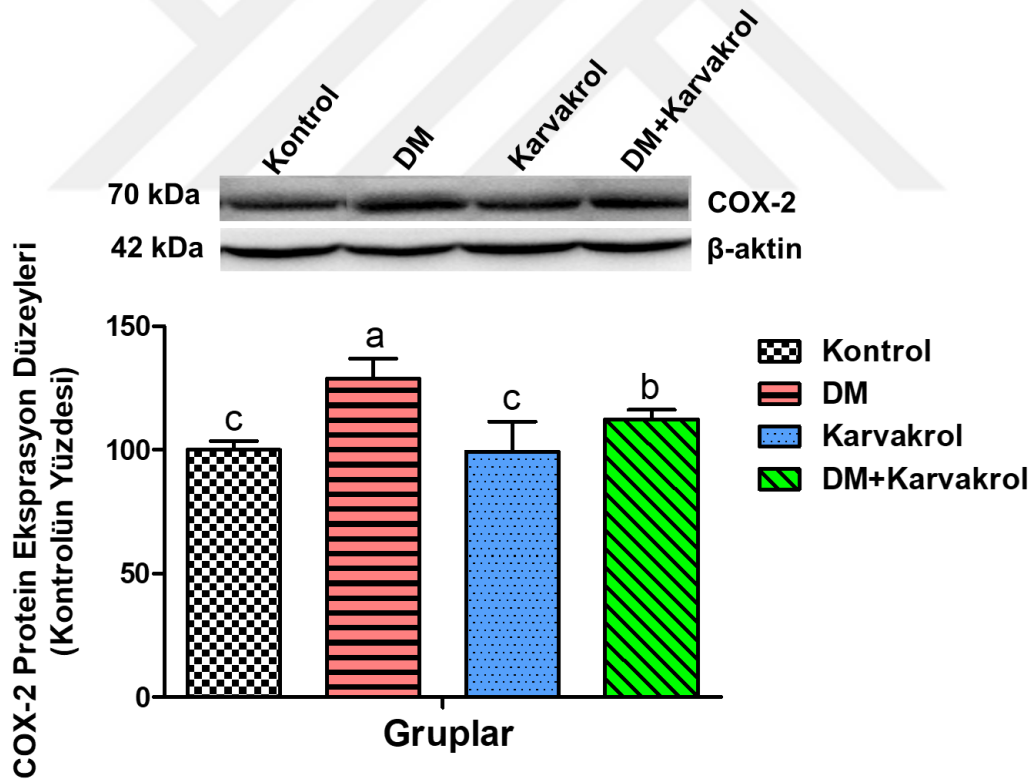
Şekil 33 incelendiğinde; sekizinci haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında, NfκB protein ekspresyon düzeylerinin arttığı belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol Grubu ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında, istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 33: Sekizinci Hafta Testis Dokusu NfκB Protein Ekspresyon Düzeyleri; Ortalama, SD ($p<0,001$).

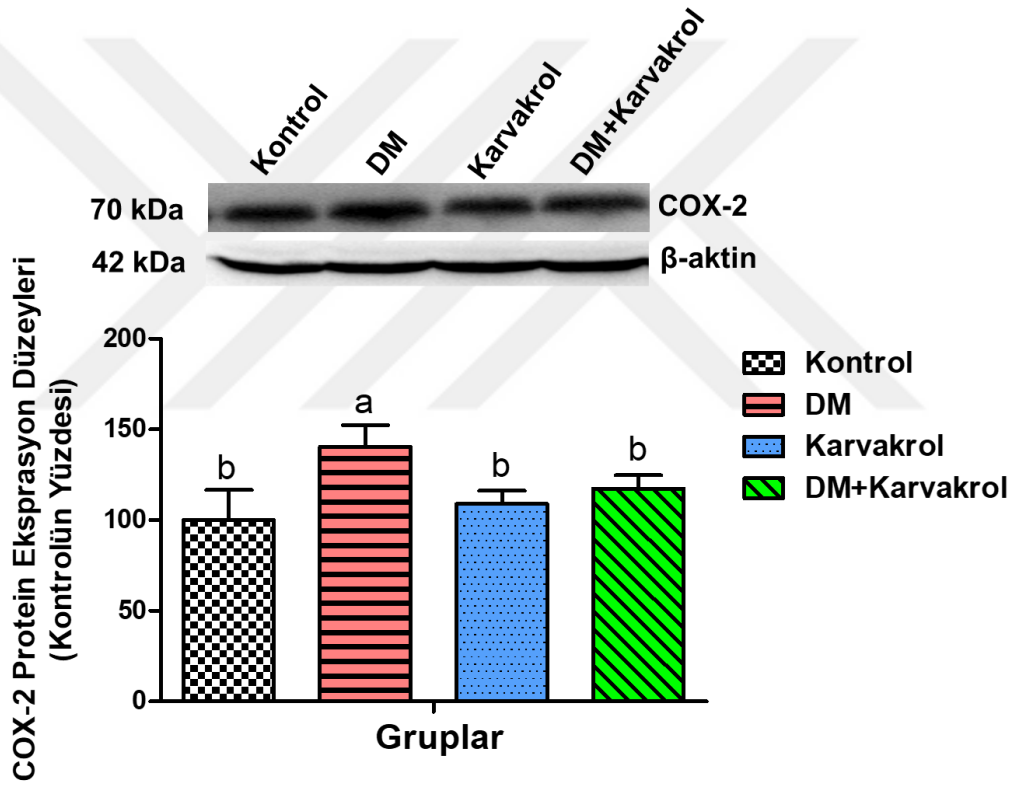
Şekil 34 ve 35 incelendiğinde; dördüncü ve sekizinci haftalarda COX-2 protein ekspresyon düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,001$).

Şekil 34 incelendiğinde; dördüncü haftada DM Grubu, Kontrol Grubu ile kıyaslandığında COX-2 protein ekspresyon düzeylerinin arttığı belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış tespit edilmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 34: Dördüncü Hafta Testis Dokusu COX-2 Protein Düzeyleri; Ortalama, SD ($p<0,001$).

Şekil 35 incelendiğinde; sekizinci haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında COX-2 protein ekspresyon düzeylerinin arttığı belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol Grubu ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).

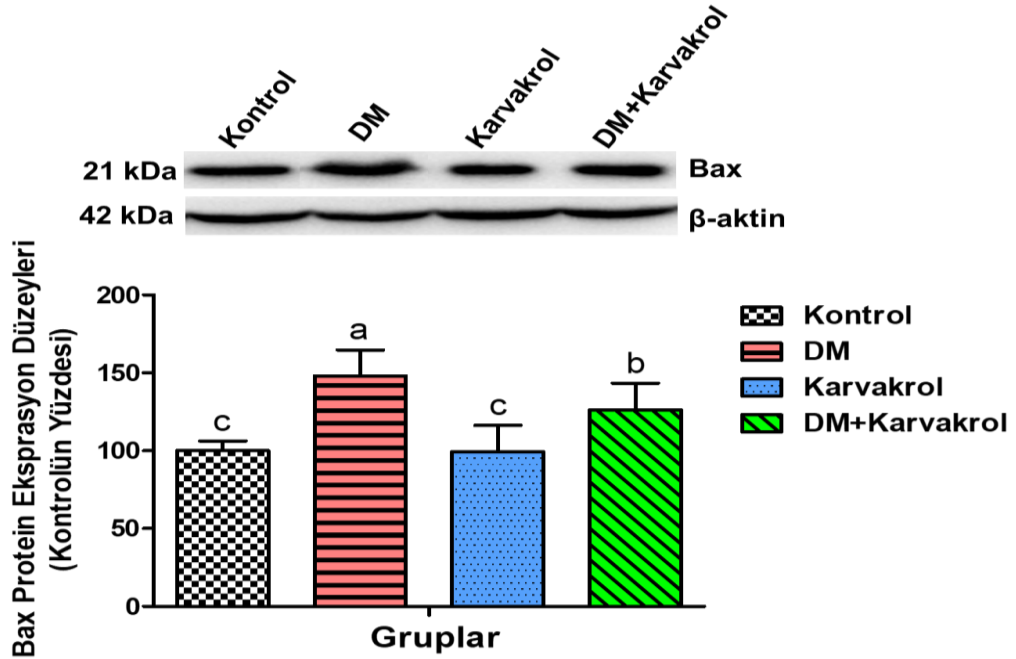


Şekil 35: Sekizinci Hafta Testis Dokusu COX-2 Protein Ekspresyon Düzeyleri; Ortalama, SD ($p<0,001$)

6.7. Bax ve Bcl-2 Protein Ekspresyon Düzeyleri

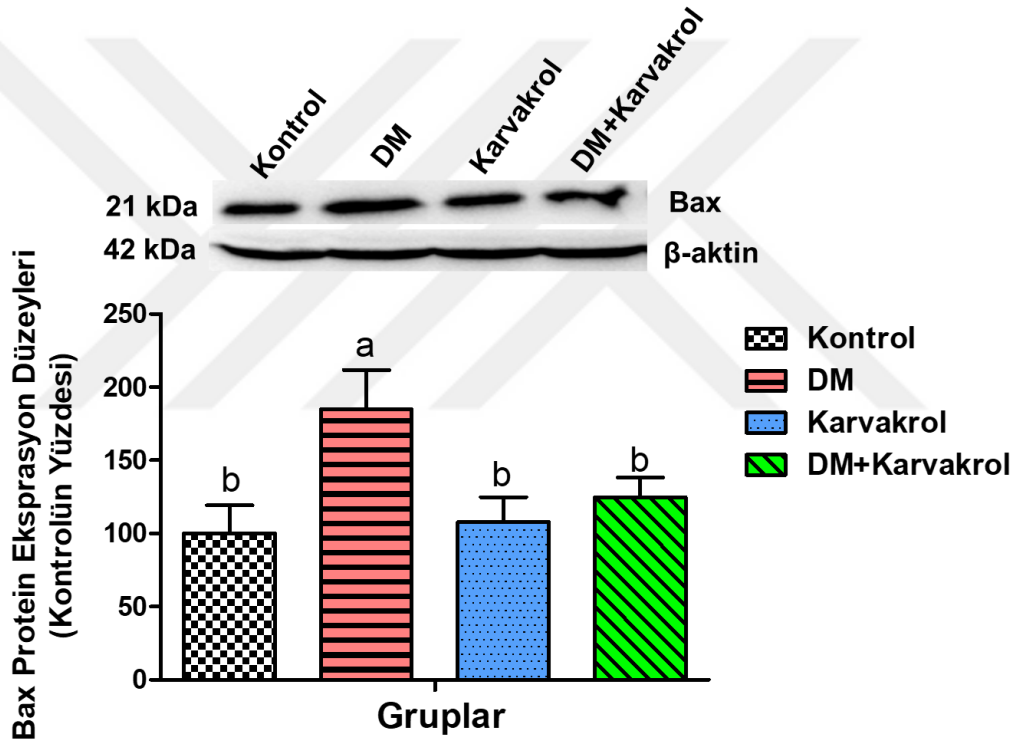
Testis dokusu Bax ve Bcl-2 protein ekspresyon düzeyleri ve protein ekspresyonlarını ifade eden western blot bant görüntüleri; Şekil 36, 37, 38 ve 39’ta verilmiştir. Şekil 36 ve 37 incelendiğinde; dördüncü ve sekizinci haftalarda Bax protein ekspresyon düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,001$).

Şekil 36 incelendiğinde; dördüncü haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında Bax protein ekspresyon düzeylerinin arttığı belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış tespit edilmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 36: Dördüncü Hafta Testis Dokusu Bax Protein Ekspresyon Düzeyleri; Ortalama, SD ($p<0,001$).

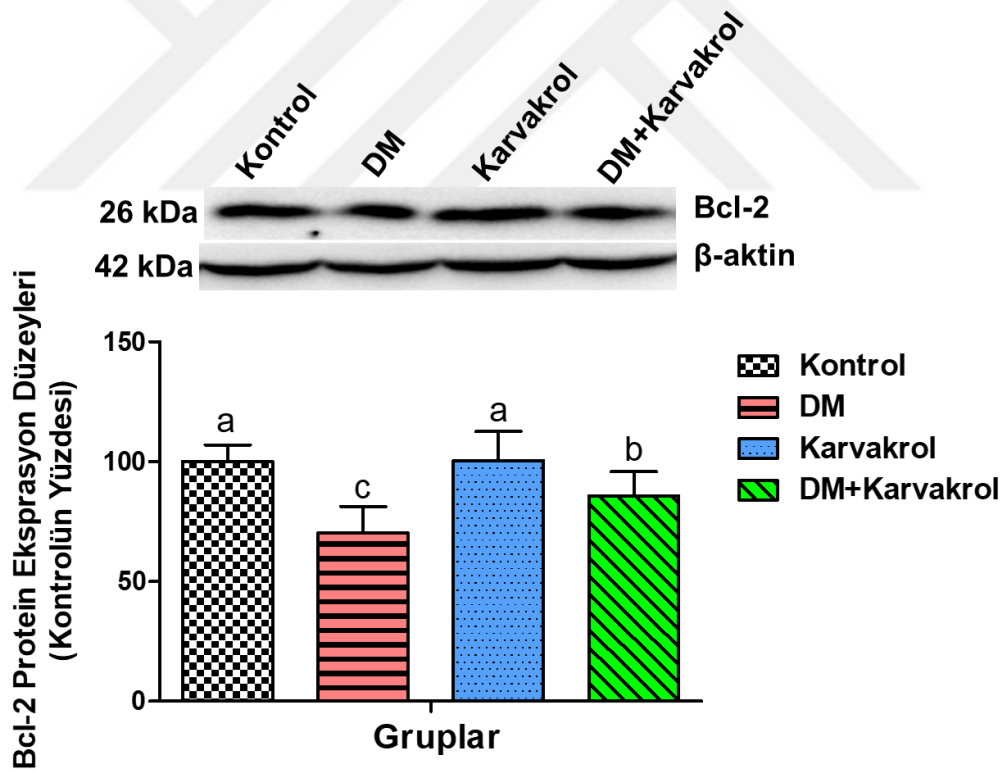
Şekil 37 incelendiğinde; sekizinci haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında Bax protein ekspresyon düzeylerinin arttığı belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol Grubu ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 37: Sekizinci Hafta Testis Dokusu Bax Protein Ekspresyon Düzeyleri; Ortalama, SD ($p<0,001$).

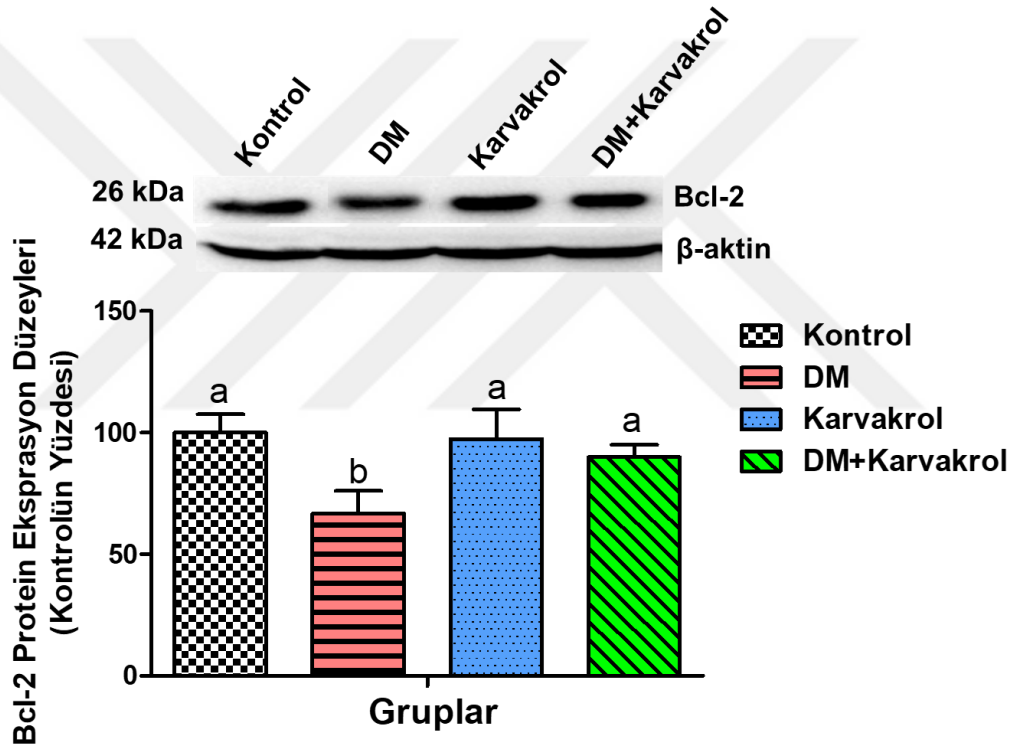
Şekil 38 ve 39 incelendiğinde; dördüncü ve sekizinci haftalarda Bcl-2 protein ekspresyon düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,001$).

Şekil 38 incelendiğinde; dördüncü haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında Bcl-2 protein ekspresyon düzeylerinin azaldığı belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 38: Dördüncü Hafta Testis Dokusu Bcl-2 Protein Ekspresyon Düzeyleri; Ortalama, SD ($p<0,001$).

Şekil 39 incelendiğinde; sekizinci haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında Bcl-2 protein ekspresyon düzeylerinin azaldığı belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).

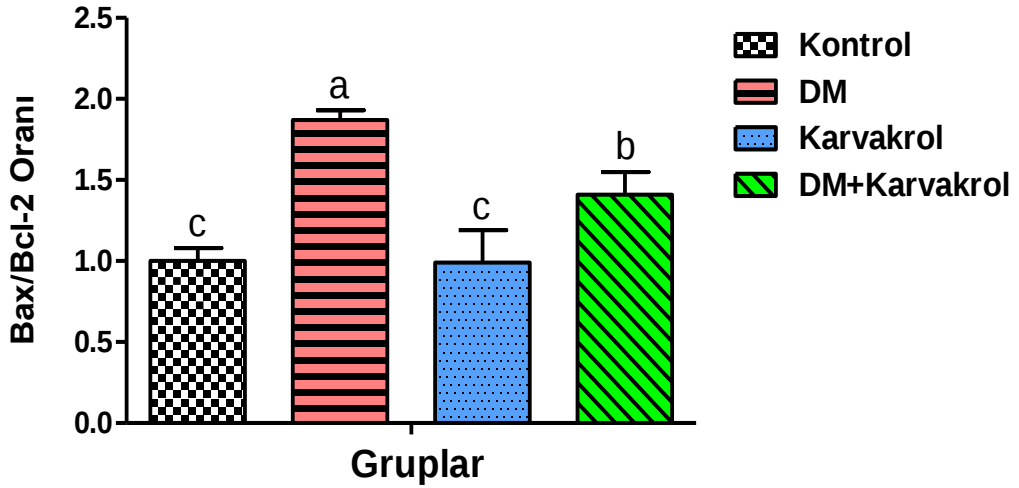


Şekil 39: Sekizinci Hafta Testis Dokusu Bcl-2 Protein Ekspresyon Düzeyleri; Ortalama, SD ($p<0,001$).

Bax/Bcl-2 Oranları; Şekil 40 ve 41’te verilmiştir.

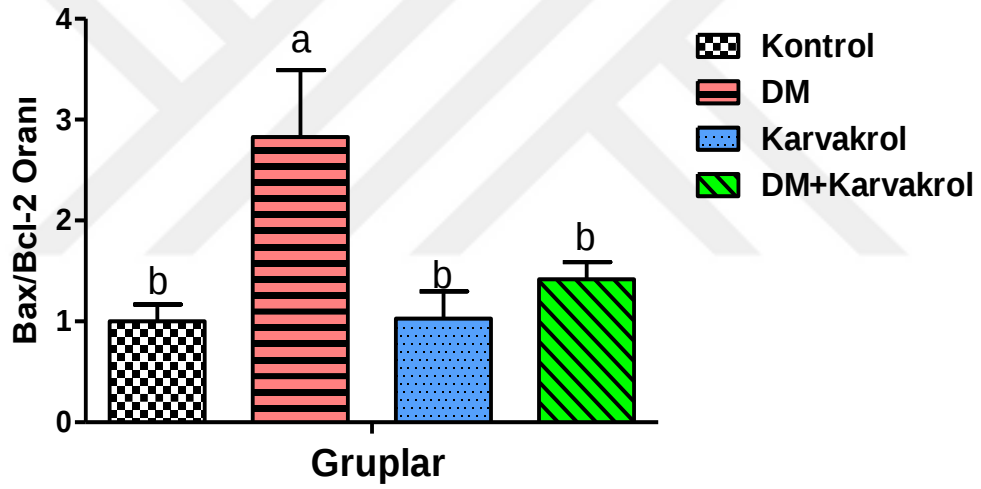
Şekil 40 ve 41 incelendiğinde; dördüncü ve sekizinci haftalarda Bax/Bcl-2 oranlarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,001$).

Şekil 40 incelendiğinde; dördüncü haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında Bax/Bcl-2 oranının arttığı belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış tespit edilmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 40: Dördüncü Hafta Testis Dokusu Bax/Bcl-2 Oranları; Ortalama, SD, ($p<0,001$).

Şekil 41 incelendiğinde; sekizinci haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında Bax/Bcl-2 oranının arttığı belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol Grubu ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Kontrol Grubu ile Karvakrol Grubu arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



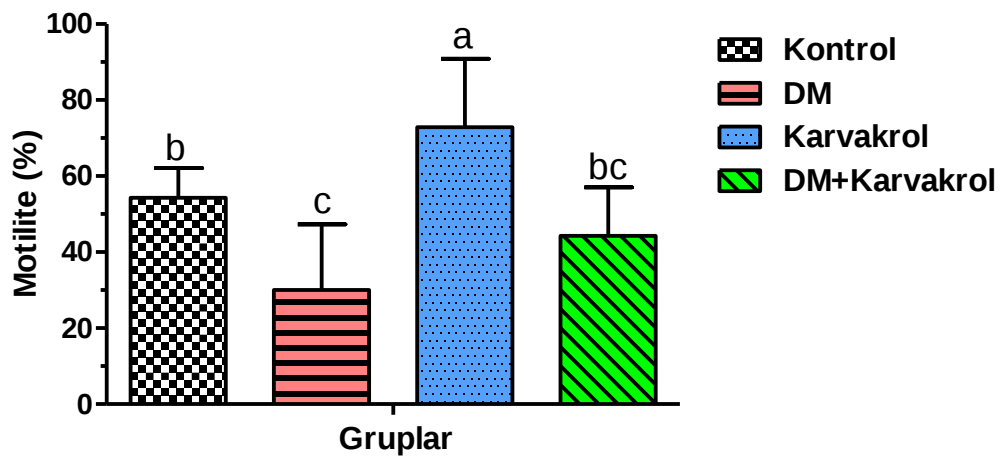
Şekil 41: Sekizinci Hafta Testis Dokusu Bax/Bcl-2 Oranları; Ortalama, SD, ($p<0,001$).

6.8. Spermatolojik Parametreler

6.8.1. Motilite Değerleri

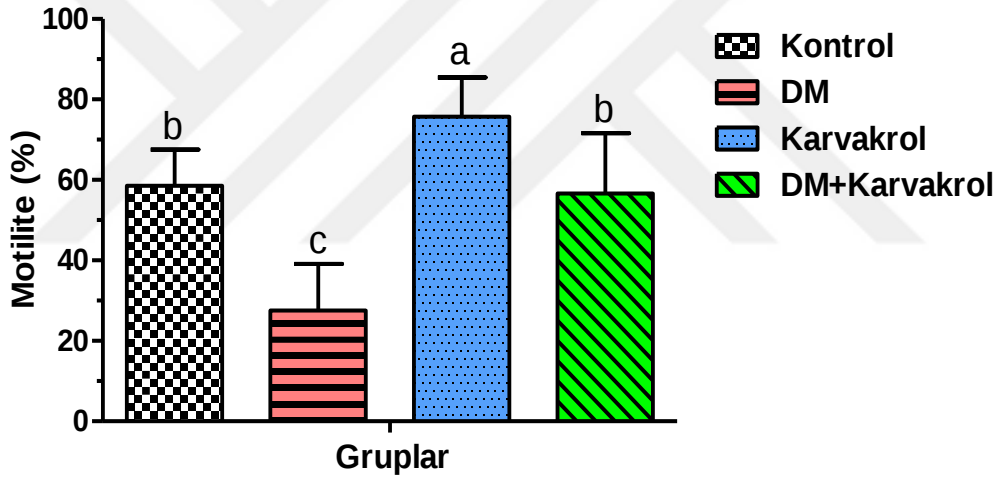
Spermatozoon motilite değerleri; Şekil 42 ve 43 ile Tablo 7 ve 8’de verilmiştir. Şekil 42 ve 43 ile Tablo 7 ve 8 incelendiğinde; dördüncü ve sekizinci haftalarda motilite değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,001$).

Şekil 42 ve Tablo 7 incelendiğinde; dördüncü haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında motilite değerlerinde bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak bir fark belirlenmemiştir ($p>0,05$). DM+Karvakrol Grubu, Karvakrol Grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış ($p<0,001$) belirlenmiş, Kontrol grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Karvakrol Grubu, Kontrol Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$).



Şekil 42: Dördüncü Hafta Motilite Değerleri; Ortalama, SD, ($p<0,001$).

Şekil 43 ve Tablo 8 incelendiğinde; sekizinci haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında motilite değerlerinde bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak bir fark bulunmazken ($p>0,05$); Karvakrol Grubuyla kıyaslandığında azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). Karvakrol Grubu, Kontrol Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur ($p<0,001$).



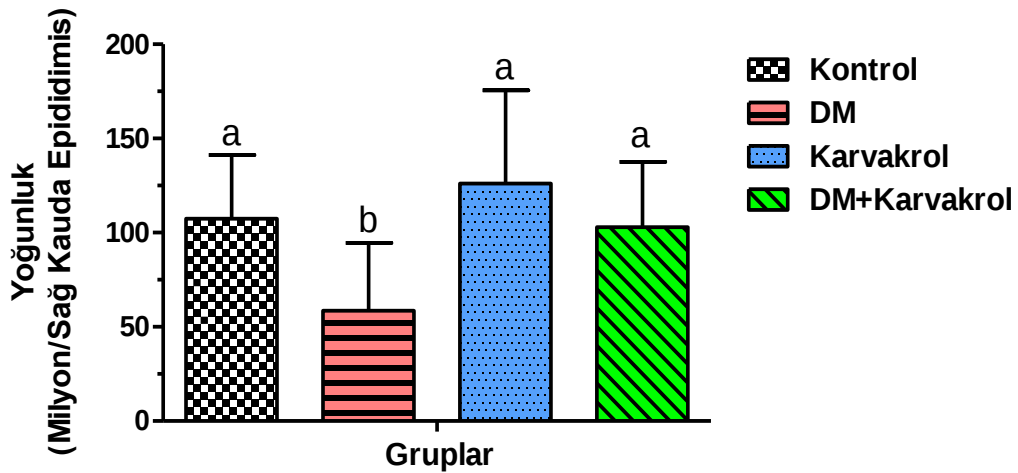
Şekil 43: Sekizinci Hafta Motilite Değerleri; Ortalama, SD ($p<0,001$).

6.8.2. Yoğunluk Değerleri

Epididimal spermatozoon yoğunluk değerleri; Şekil 44 ve 45 ile Tablo 7 ve 8’de verilmiştir.

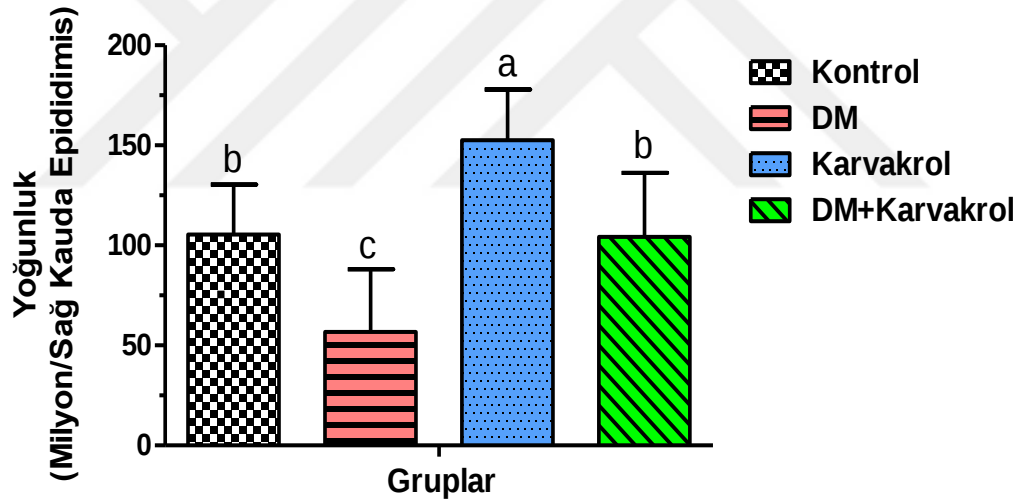
Şekil 44 ve 45 ile Tablo 7 ve 8 incelendiğinde; dördüncü ve sekizinci haftalarda epididimal spermatozoon yoğunluk değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir (dördüncü hafta: $p<0,05$; sekizinci hafta: $p<0,001$).

Şekil 44 ve Tablo 7 incelendiğinde; dördüncü haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında epididimal spermatozoon yoğunluğunda bir azalış belirlenmiştir ($p<0,05$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,05$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$). Karvakrol Grubu, Kontrol Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 44: Dördüncü Hafta Yoğunluk Değerleri; Ortalama, SD ($p<0,05$).

Şekil 45 ve Tablo 8 incelendiğinde; sekizinci haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında epididimal spermatozoon yoğunluğunda bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$). DM+Karvakrol Grubu, Karvakrol Grubuyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). Karvakrol Grubu, Kontrol Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur ($p<0,001$).

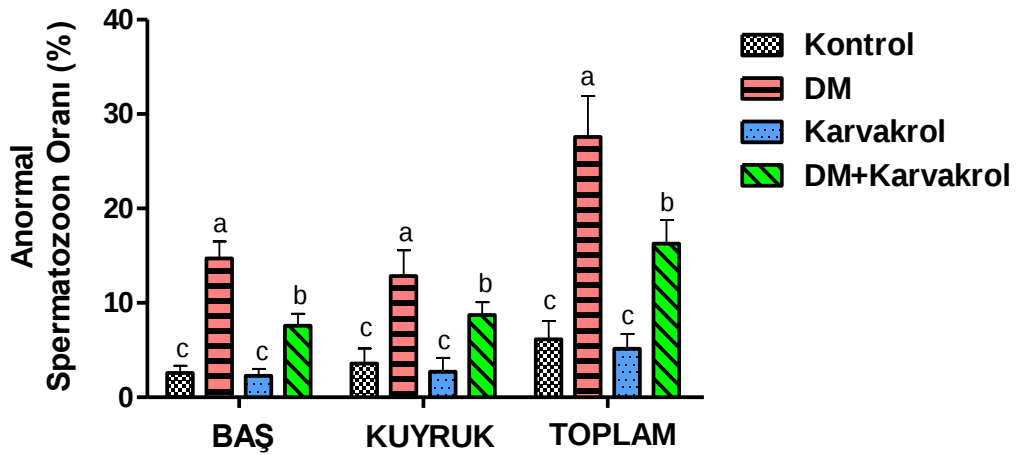


Şekil 45: Sekizinci Hafta Yoğunluk Değerleri; Ortalama, SD, ($p<0,001$).

6.8.3. Anormal Spermatozoon Değerleri

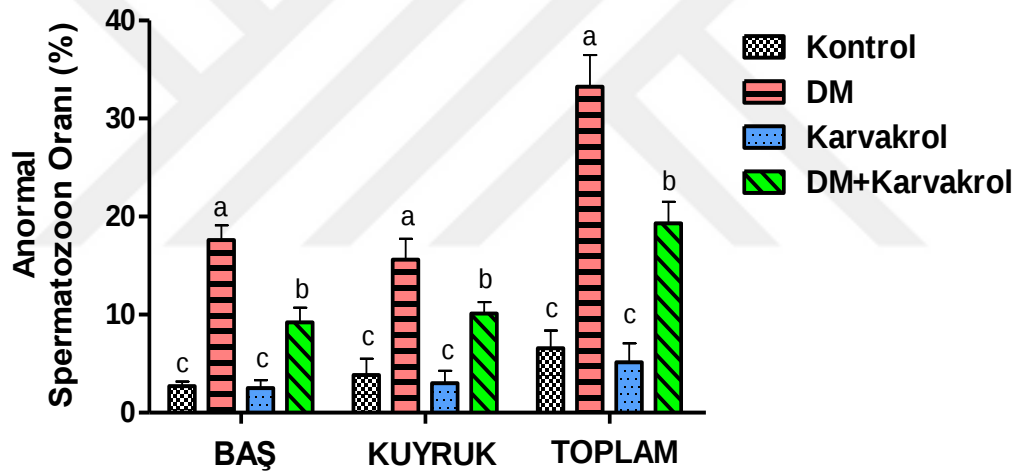
Anormal Spermatozoon değerleri; Şekil 46 ve 47 ile Tablo 7 ve 8’de verilmiştir. Şekil 46 ve 47 ile tablo 7 ve 8 incelendiğinde; dördüncü ve sekizinci haftalarda anormal spermatozoon oranlarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,001$).

Şekil 46 ve Tablo 7 incelendiğinde; dördüncü hafta DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında baş, kuyruk ve toplam anormal spermatozoon oranlarında bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında baş, kuyruk ve toplam anormal spermatozoon oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak bir artış bulunmuştur ($p<0,001$). Karvakrol Grubu, Kontrol Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 46: Dördüncü Hafta Anormal Spermatozoon Değerleri; Ortalama, SD, ($p<0,001$).

Şekil 47 ve Tablo 8 incelendiğinde, sekizinci haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında baş, kuyruk ve toplam anormal spermatozoon oranlarında bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, DM Grubu ile kıyaslandığında baş, kuyruk ve toplam anormal spermatozoon bulgularında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış belirlenmiştir ($p<0,001$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak bir artış bulunmuştur ($p<0,001$). Karvakrol Grubu, Kontrol Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).



Şekil 47: Sekizinci Hafta Anormal Spermatozoon Değerleri; Ortalama, SD, ($p<0,001$)

Tablo 7: Dördüncü Hafta Spermatolojik Parametreler

SPERMATOLOJİK PARAMETRELER						
GRUPLAR	Motilite (%)	Yoğunluk (Milyon/Sağ Cauda Epididimis)	Anormal Spermatozoon Oranı (%)			
			Baş	Kuyruk	Toplam	
4.Hafta	Kontrol	54,28±7,86 ^b	107,42±33,73 ^a	2,57±0,78 ^c	3,57±1,61 ^c	6,14±1,95 ^c
	DM	30,00±17,32 ^c	58,57±35,97 ^b	14,71±1,79 ^a	12,85±2,73 ^a	27,57±4,35 ^a
	Karvakrol	72,85±17,99 ^a	126,00±49,55 ^a	2,28±0,75 ^c	2,71±1,49 ^c	5,14±1,57 ^c
	DM+Karvakrol	44,28±12,72 ^{bc}	102,85±34,67 ^a	7,57±1,27 ^b	8,71±1,38 ^b	16,28±2,49 ^b
	Önemlilik	p<0,001	p<0,05	p<0,001	p<0,001	p<0,001

^{a,b,c}: Aynı sütunda farklı harfle belirtilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir (X±SD).

Tablo 8: Sekizinci Hafta Spermatolojik Parametreler

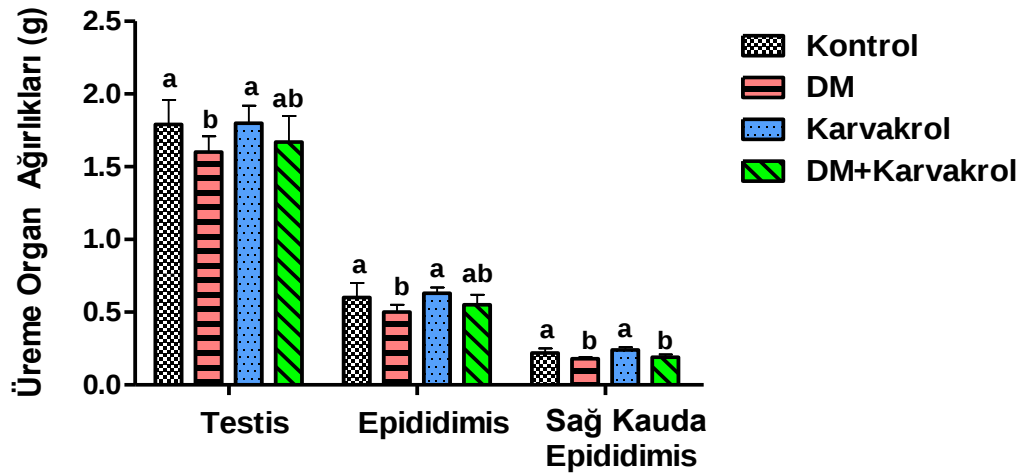
SPERMATOLOJİK PARAMETRELER						
GRUPLAR	Motilite (%)	Yoğunluk (Milyon/Sağ Cauda Epididimis)	Anormal Spermatozoon Oranı (%)			
			Baş	Kuyruk	Toplam	
8.Hafta	Kontrol	58,57±8,99 ^b	105,42±24,97 ^b	2,71±0,48 ^c	3,85±1,67 ^c	6,57±1,81 ^c
	DM	27,50±11,64 ^c	56,75±31,25 ^c	17,62±1,50 ^a	15,62±2,13 ^a	33,25±3,24 ^a
	Karvakrol	75,71±9,75 ^a	152,57±25,36 ^a	2,50±0,83 ^c	3,00±1,29 ^c	5,14±1,95 ^c
	DM+Karvakrol	56,66±15,00 ^b	104,22±31,97 ^b	9,22±1,48 ^b	10,11±1,16 ^b	19,33±2,17 ^b
	Önemlilik	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001	p<0,001

^{a,b,c}: Aynı sütunda farklı harfle belirtilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir (X±SD).

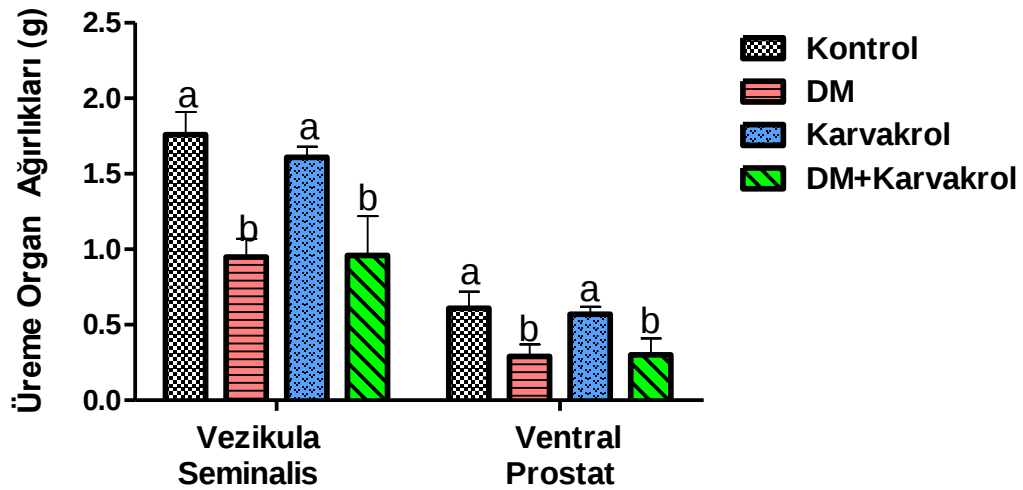
6.8.4. Absolut Üreme Organ Ağırlık Değerleri

Absolut üreme organ ağırlık değerleri; Şekil 48,49,50 ve 51 ile Tablo 9 ve 10’de verilmiştir. Şekil 48, 49, 50 ve 51 ile Tablo 9 ve Tablo 10 incelendiğinde; dördüncü ve sekizinci haftalarda üreme organ ağırlık değerlerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlenmiştir ($p<0,05$).

Şekil 48 ile 49 ve Tablo 9 incelendiğinde; dördüncü haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında üreme organ ağırlıklarında testis, epididimis ($p<0,05$), sağ kauda epididimis, ventral prostat ve vezikula seminalis ($p<0,001$) bir azalış belirlenmiştir. DM+Karvakrol Grubu, DM grubu ile kıyaslandığında üreme organ ağırlıklarında bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). DM+Karvakrol Grubu, Kontrol ve Karvakrol Gruplarıyla kıyaslandığında testis ve epididimis ağırlıklarında fark tespit edilmezken ($p>0,05$); sağ kauda epididimis, vezikula seminalis ve ventral prostat ağırlıklarında azalış bulunmuştur ($p<0,001$). Karvakrol Grubu, Kontrol Grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamıştır ($p>0,05$).

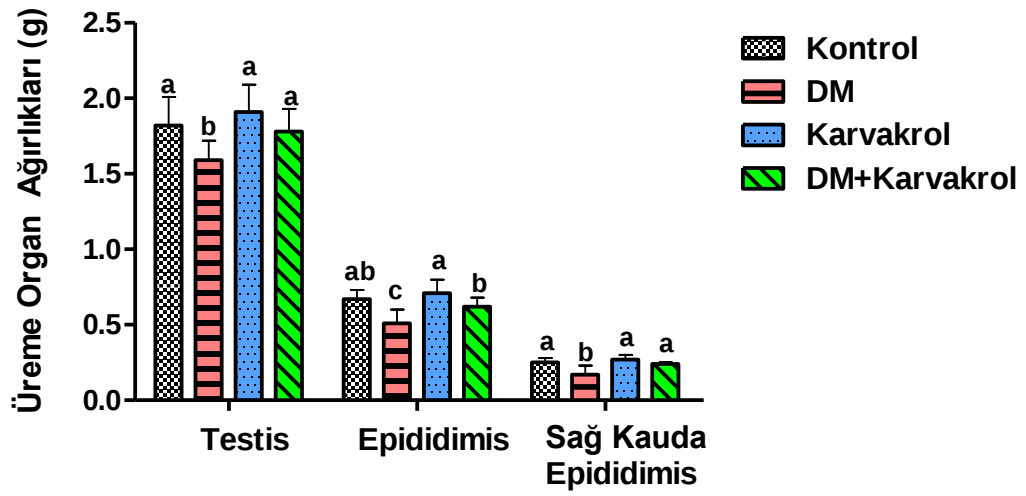


Şekil 48: Dördüncü Hafta Testis, Epididimis, Sağ Kauda Epididimis Ağırlık Değerleri; Ortalama,SD.

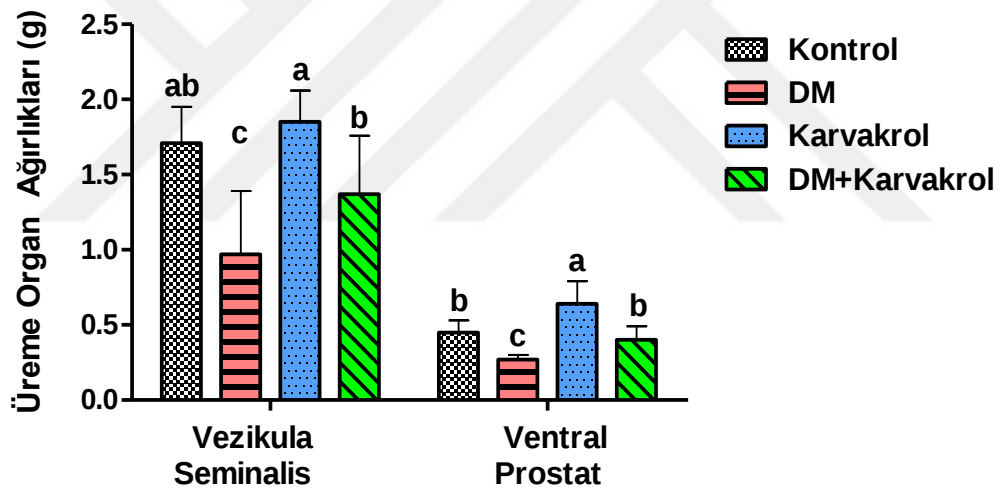


Şekil 49: Dördüncü Hafta Vezikula Seminalis ve Ventral Prostat Ağırlık Değerleri; Ortalama, SD.

Şekil 50 ve 51 ile Tablo 10 incelendiğinde; sekizinci haftada DM Grubu, Kontrol Grubuyla kıyaslandığında üreme organ ağırlıklarında testis ($p<0,05$), epididimis ($p<0,01$), sağ kauda epididimis, ventral prostat ve vezikula seminalis ($p<0,001$) azalış belirlenmiştir. DM+Karvakrol Grubu, DM grubu ile kıyaslandığında testis ($p<0,05$), epididimis ($p<0,01$), sağ kauda epididimis, vezikula seminalis ve ventral prostat ($p<0,001$) üreme organ ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir. DM+Karvakrol Grubu, Kontrol Grubu ile kıyaslandığında üreme organ ağırlıklarında istatistiksel olarak fark bulunmazken ($p>0,05$); Karvakrol Grubuyla kıyaslandığında sadece epididimis ($p<0,01$), vezikula seminalis ve ventral prostat ağırlığında ($p<0,001$) bir azalış belirlenmiştir. Karvakrol Grubu, Kontrol grubu ile kıyaslandığında sadece ventral prostat ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlenmiştir ($p<0,001$).



Şekil 50: Sekizinci Hafta Testis, Epididimis, Sağ Kauda Epididimis Ağırlık Değerleri;Ortalama,SD.



Şekil 51: Sekizinci Hafta Vezikula Seminalis ve Ventral Prostat Ağırlık Değerleri; Ortalama, SD.

Tablo 9: Dördüncü Hafta Absolut Üreme Organ Ağırlık Değerleri

ABSOLUT ÜREME ORGAN AĞIRLIKLARI (g)						
	GRUPLAR	Testis (Sağ+Sol)/2	Epididimis (Sağ+Sol)/2	Sağ Kauda Epididimis	Vezikula Seminalis	Ventral prostat
4.Hafta	Kontrol	1,79±0,17 ^a	0,60±0,10 ^a	0,22±0,03 ^a	1,76±0,15 ^a	0,61±0,11 ^a
	DM	1,60±0,11 ^b	0,50±0,05 ^b	0,18±0,01 ^b	0,95±0,12 ^b	0,29±0,08 ^b
	Karvakrol	1,80±0,12 ^a	0,63±0,04 ^a	0,24±0,02 ^a	1,61±0,07 ^a	0,57±0,05 ^a
	DM+Karvakrol	1,67±0,18 ^{ab}	0,55±0,07 ^{ab}	0,19±0,02 ^b	0,96±0,26 ^b	0,30±0,11 ^b
	Önemlilik	p<0,05	p<0,05	p<0,001	p<0,001	p<0,001

^{a,b}: Aynı sütunda farklı harfle belirtilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir (X±SD).

Tablo 10: Sekizinci Hafta Absolut Üreme Organ Ağırlık Değerleri

ABSOLUT ÜREME ORGAN AĞIRLIKLARI (g)						
	GRUPLAR	Testis (Sağ+Sol)/2	Epididimis (Sağ+Sol)/2	Sağ Kauda Epididimis	Vezikula Seminalis	Ventral prostat
8.Hafta	Kontrol	1,82±0,19 ^a	0,67±0,06 ^{ab}	0,25±0,03 ^a	1,71±0,24 ^{ab}	0,45±0,08 ^b
	DM	1,59±0,13 ^b	0,51±0,09 ^c	0,17±0,06 ^b	0,97±0,42 ^c	0,27±0,03 ^c
	Karvakrol	1,91±0,18 ^a	0,71±0,09 ^a	0,27±0,03 ^a	1,85±0,21 ^a	0,64±0,15 ^a
	DM+Karvakrol	1,78±0,15 ^a	0,62±0,06 ^b	0,24±0,02 ^a	1,37±0,39 ^b	0,40±0,09 ^b
	Önemlilik	p<0,05	p<0,01	p<0,001	p<0,001	p<0,001

^{a,b,c}: Aynı sütunda farklı harfle belirtilen değerler arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak önemlidir (X±SD).

7. TARTIŞMA

Glikoz homeostazısı; temel hücre aktivitesinin yanı sıra spermatogenez, olgun spermelerde hareketlilik ve döllenme kabiliyeti gibi spesifik fonksiyonların korunmasında oldukça önemlidir. Diyabetes mellitusta glikoz homeostazısı bozulduğundan, DM erkek üreme sistemi üzerinde önemli komplikasyonlara sebep olmaktadır (165). Dünya genelinde yaygın olarak görülen DM’de, erkek hastalarda subfertilite ve infertilite prevalanslarının yüksek olması da oldukça dikkat çekmektedir (8,138,166,167). Diyabetik erkek hastalarda ve deneysel diyabet oluşturulan deney hayvanlarında, hem tip 1 hem de tip 2 diyabette hipergliseminin sperm hareketliliğini, sperm DNA bütünlüğünü ve seminal plazmanın bileşenlerini etkileyerek fertilizasyon üzerindeki olumsuz etkileri olduğu bildirilmiştir (165).

Diyabetin sebep olduğu bu önemli komplikasyon risklerinin azaltılmasında antioksidanların kullanımının etkili olduğu birçok çalışmada ifade edilmiştir (35,37,131). Kekik, biber ve yabani bergamot gibi aromatik bitkilerin uçucu yağlarında bulunan karvakrolün antioksidan özelliğinin olduğu da yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (143,168). Ancak karvakrolün testikular doku hasarına karşı etkinliği ile ilgili yapılan çalışmalar ise oldukça kısıtlıdır (148,169,170).

Bütün bu bilgilerden yola çıkarak yapılan bu çalışmada; deneysel diyabet oluşturulan ratlarda diyabetin üreme sisteminde yol açtığı olumsuz etkiler üzerine karvakrolün dördüncü ve sekizinci haftalardaki etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla oksidatif stres parametreleri (MDA, GSH, GSH.Px, CAT), antioksidan yolakta önemli rol alan Nrf2/HO-1 sinyal yolağı, apoptozis ile inflamasyonda rol alan Bax, Bcl-2, NFkB ve COX-2 protein ekspresyon düzeyleri

ayrıca spermatolojik parametreler ile üreme organ ağırlıkları, serum testosteron ve glikoz düzeyleri değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada ratlarda diyabet modeli, kimyasal ajan (Streptozotosin) kullanılarak oluşturulmuştur. Diyabete neden olan kimyasal ajanların (Streptozotosin, alloksan) tek doz intraperiotenal veya intravenöz verilmesi; uygulama kolaylığı sağlaması, diğer yöntemlere göre daha ucuz olması, diyabet modelini daha kısa sürede geliştirebilmesi, pankreastaki beta hücrelerini tahrip ederken alfa ve delta hücrelerine zarar vermemesi, ketozis ve mortalitenin göreceli olarak daha az olması nedeniyle en çok tercih edilen diyabet oluşturma yöntemidir. Streptozotosin'nin diyabetojenik doz aralığının alloksan kadar dar olmaması ve alloksanın diyabetojenik dozları ile toksik dozlarının birbirine çok yakın olmasından dolayı bu çalışmada STZ tercih edilmiştir (171–175).

Kan glikoz düzeyinin kontrolü, diyabetik komplikasyonları önlemede veya azaltmada önemli bir adımdır (4). Yapılan bazı çalışmalarda karvakrolün kan glikoz düzeyini düşürdüğü bazı çalışmalarda ise etkilemediği bildirilmiştir (36,149,150). Bu litaretürlerle paralel olarak, bu çalışmada diyabet grubuyla kıyaslandığında, diyabetli gruplara karvakrol verilmesi ile dördüncü haftada serum glikoz düzeylerinde bir fark tespit edilmezken ($p>0,05$), (Şekil 16, Tablo 3); sekizinci haftada serum glikoz düzeylerinde anlamlı bir azalış tespit edilmiştir ($p<0,001$), (Şekil 17, Tablo 4).

Bu çalışmada; gruplar arası vücut ağırlıkları değerlendirildiğinde ise sağlıklı ratlara kıyasla, diyabetli ratlarda vücut ağırlıklarında anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür ($p<0,001$), (Şekil 14,15). Diyabette görülen kilo kaybının nedeni; ozmotik diürez ile glikoz metabolizmasında oluşan anormalliklerle

ilişkilendirilmektedir (176). Hou ve ark. (36)'ı Tip 1 ve Tip 2 diyabet modeli oluşturulan fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada; karvakrolün tip 1 diyabet modelinde canlı ağırlık üzerinde bir etki göstermediğini; Deng ve ark. (176)'ı ise, ratlarda diyabetle ilişkili bilişsel bozukluklar üzerine karvakrolün farklı dozlardaki (25,50,100 mg/kg) etkisini araştırmak için yaptıkları bir çalışmada diyabetli ratlara karvakrol verilmesinin canlı ağırlık üzerinde olumlu bir etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Bu çalışmada diyabet grubuyla kıyaslandığında; diyabetli ratlara karvakrol verilmesi ile dördüncü haftada canlı ağırlık değerlerinde bir fark tespit edilememesi ($p>0,05$), (Şekil 14); sekizinci haftada canlı ağırlık değerlerinde anlamlı bir artış tespit edilmesi ($p<0,001$), (Şekil 15) Deng ve ark. (176) ile Hou ve ark. (36)'nın bildirimlerini desteklemektedir.

Canlı ağırlık değerleri ve glikoz düzeyleri üzerindeki bu farklı sonuçların; bireysel farklılıklardan, karvakrolün dozu, uygulama şekli ve uygulama sürelerinden, diyabet oluşturmak için kullanılan STZ doz farklılıklarından ve/veya kullanılan diyabet modelinin farklılığından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Oksidatif stres, diyabetik komplikasyonların gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır (35,177). Diyabetes Mellitusta aşırı ROS üretimi ve sonuçta ortaya çıkan oksidatif stres, lipid peroksidasyonuna yol açtığından (35), germ hücrelerinde apoptozisi tetiklediğinden (178), spermatogenezisi olumsuz yönde etkilediğinden ve androjenik hormonların üretim seviyelerinde değişikliklere neden olduğundan (28) infertilite olgularına neden olmaktadır (179). Oksidatif Stres, testis dokusunun yanı sıra, epididimdeki olgun spermatozoayı da olumsuz yönde etkilemektedir (180). Germ hücrelerinin plazma membranları, diğer hücre mebranlarına kıyasla serbest radikaller tarafından oksidasyona eğilimli daha fazla çoklu doymamış yağ

asitleri içerdiklerinden, somatik hücelere göre oksidatif hasara daha duyarlı oldukları bildirilmiştir (135).

Katalaz ve GSH.Px gibi enzimatik antioksidanlar ile GSH gibi non enzimatik yapıdaki antioksidanlar hücelerin oksidatif hasara maruz kalmasının önlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (91,181). Diyabetes mellitus, testislerde süperoksit, hidroksil ve peroksil gibi serbest radikallerin artmasına neden olmakta ve bunun sonucunda hücelerde lipid peroksidasyonu indüklenmektedir. Serbest radikallerin aşırı üretimi ise endojen antioksidan enzimlerin (GSH, CAT, GSH.Px gibi) tükenmesine neden olmaktadır (182,183). Diyabetin erkek üreme sistemi üzerindeki etkilerinin incelenmesi amacıyla yapılan birçok çalışmada (33,35,184–189) enzimatik veya non enzimatik antioksidanların yetersiz kalması sonucu oluşan oksidatif strese bağılı olarak testis dokusunda MDA düzeyinin arttığı bildirilmiştir. Bu noktadan hareketle bu çalışmada; testiküler MDA düzeyi, lipid peroksidasyonu ve oksidatif stres için bir indeks olarak kabul edilmiştir. Bu çalışmada; dördüncü ve sekizinci haftalarda sağlıklı ratlara kıyasla, diyabetli ratlarda MDA düzeylerinin önemli ölçüde arttığı ($p<0,001$) (Şekil 20,21 ve Tablo 5,6), Glutatyon düzeyleri (Şekil 22,23 ve Tablo 5,6), GSH.Px (Şekil 24,25 ve Tablo 5,6) ve CAT (Şekil 26,27 ve Tablo 5,6) aktivitesinin azaldığı belirlenmiş olup, bu bulguların diyabetin testis dokusunda MDA düzeyini arttırdığını ve antioksidan enzim aktivitesini azalttığını bildiren çalışmaların (184–189) bulgularıyla benzerlik arzettiği görülmüştür.

Aksu ve ark. (148)'nın, sisplatinin neden olduğu testiküler doku hasarına karşı karvakrolün etkinliğini araştırdıkları bir çalışmada; karvakrolün testis dokusunda MDA düzeyini azalttığını, GSH düzeyini ve CAT, GSH.Px enzim aktivitesini arttırdığını ifade etmişlerdir. Daggulli ve ark. (169)'ı, metotreksatin

neden olduğu testikular doku hasarına karşı karvakrolün etkinliğini araştırdıkları bir başka çalışmada da, karvakrolün MDA düzeyini azalttığı belirtilmiştir. Shoorie ve ark. (170)'da diyabet modeli oluşturulmuş ratlarda karvakrolün testikular MDA düzeyini azalttığını ve SOD, GSH.Px enzim aktivitesini arttırdığını ifade etmişlerdir. Cengiz ve ark (190)'ı ise karvakrolün sıçanlarda siklofosfamidin neden olduğu üreme sistemi hasarı üzerine koruyucu etkilerini araştırdıkları bir çalışma da karvakrolün MDA düzeyini azalttığını, GSH düzeyini ve SOD, CAT enzim aktivitesini arttırdığını göstermişlerdir. Bu çalışmada, diyabetli ratlara karvakrol verilmesiyle dördüncü ve sekizinci haftalarda diyabet kaynaklı lipid peroksidasyonunun önemli ölçüde azaldığı ($p<0,001$) (Şekil 20, 21 ve Tablo 5, 6) ve hücreler için bir savunma sistemi olarak kabul edilen endojen antioksidan enzimlerden CAT aktivitesinin ($p<0,001$), (Şekil 27 ve Tablo 6) sekizinci haftada, GSH.Px aktivitesinin ($p<0,001$), (Şekil 24,25 ve Tablo 5,6) ise dördüncü ve sekizinci haftalarda arttığı belirlenmiştir. Bu veriler ışığında bu bulgular karvakrolün antioksidan özelliğini bildiren çalışmalarla (148,169,170,190) paralellik göstermektedir.

Diyabetli ratlarda GSH.Px, CAT enzim aktivitelerindeki ve GSH düzeylerindeki azalmanın hiperglisemiden kaynaklı ROS üretiminin artmasına bağlı olarak bu enzimlerin kullanılmasının artmasından kaynaklanabileceği ve diyabetli ratlara karvakrol verilmesi ile lipid peroksidasyonunun azalması ve antioksidan enzimlerin kullanımının azalmasına bağlı olarak enzim aktivitesinde artışın olduğu düşünülmektedir ve bu çalışmanın bulguları yapılan bir çok çalışmayı destekler niteliktedir (82,191,192).

Nrf2, oksidatif strese karşı savunmada rol alan genlerin ekspresyonunda kritik bir rol oynamasından dolayı, redoks dengesinin ana regülatörü olarak adlandırılmaktadır (111). Nakamura ve ark.'nın (22), Nrf2-knockdown farelerde yaptıkları bir çalışmada, Nrf2 eksikliğinin testiküler oksidatif stres oluşturduğunu, spermatogenezde olumsuzluklar meydana getirdiğini ve Nrf2'nin redoks durumunu ve spermatogenezisi korumada önemli bir rolü olduğunu vurgulamışlardır. Chen ve ark (193) sperm motilitesi düşük olan hastalarda spermatozoada Nrf2 etkinliğinin düşük olduğunu; ayrıca Nrf2 mRNA ekspresyon seviyeleri ile motilite, canlılık ve morfoloji gibi sperm parametreleri arasında anlamlı bir korelasyon olduğunu bildirmişlerdir. Rashid ve ark. (10) ile Maremanda ve ark. (24)'nın yaptıkları çalışmalarda; STZ ile diyabet oluşturulmuş ratlarda, diyabet gruplarında Nrf2 ekspresyonunda azalmanın olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada; sağlıklı ratlarla kıyaslandığında dördüncü ve sekizinci haftalarda, diyabetli ratlarda Nrf2 protein ekspresyon düzeylerinin azaldığı ($p<0,001$), (Şekil 28,29) tespit edilmiş olup, Rashid ve ark (10) ile Maremanda ve ark. (24)'nın sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Banik ve ark. (194)'nın PC12 hücre kültüründe kadmiyumun toksisitesine karşı karvakrolün etkinliğini araştırdıkları bir çalışmada; karvakrolün Nrf2 ekspresyonunu arttırdığını bildirilmişlerdir. Bu çalışmada ise diyabet grubuyla kıyaslandığında dördüncü ve sekizinci haftalarda diyabetli ratlara karvakrol verilmesi ile Nrf2 ekspresyon düzeyinin arttığı belirlenmiş olup ($p<0,001$) (Şekil 28, 29), Banik ve ark. (194)'nın Nrf2 protein ekspresyonu üzerindeki sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Nrf2, antioksidan duyarlı elemanlarla (ARE) etkileşime girerek antioksidan enzimlerin transkripsiyonunu düzenlemektedir. ARE bölgeleri arasında hem oksijenaz-1 (HO-1) proteini de bulunmaktadır (20). HO-1, vücuttaki en önemli endojen antioksidan koruyucu faktörlerden biridir ve birçok patofizyolojik süreçte önemli bir rol oynamaktadır (195,196). Diyabetle ilgili yapılan birçok çalışmada, testis dokusunda HO-1 seviyesinde azalma olduğu bildirilmiştir (24,197,198). Bu çalışmada; sağlıklı ratlarla kıyaslandığında dördüncü ve sekizinci haftalarda, diyabetli ratlarda HO-1 protein ekspresyon düzeylerinde azalma olduğu belirlenmiş olup ($p<0,001$) (Şekil 30, 31), bu çalışmanın diyabetin testis dokusunda HO-1 protein ekspresyon düzeyini azalttığını bildiren birçok çalışmayla (24,197–199) benzerlik gösterdiği görülmüştür. Bu çalışmada; diyabetli ratlarla kıyaslandığında dördüncü ve sekizinci haftalarda, diyabetli ratlara karvakrol verilmesi ile HO-1 protein ekspresyon düzeylerinin arttığı belirlenmiştir ($p<0,001$) (Şekil 30,31). Yapılan çalışmalarda Nrf2 ekspresyonunun arttırılmasının testikular hasarı azaltan ve spermatogenez fonksiyonunu iyileştiren etkili bir terapötik yöntem olabileceği ifade edilmektedir (196-198).

Oksidatif strese bağlı doku hasarının ortaya çıkması, olası bir inflamasyon oluşumunu ve apoptotik sürecin başlamasını tetikleyebilmektedir. NF κ B aracılı inflamatuvar sinyal yolağı, ROS kaynaklı inflamasyonda ve apoptotik sürecin tetiklenmesinde rol alan yolaklardan biri olduğu bildirilmektedir (113,200). Diyabetle ilgili yapılan çalışmalarda, testis dokusunda artan ROS üretiminden kaynaklı NF κ B protein ekspresyon düzeyinin arttığı bildirilmiştir (178,201). Bir transkripsiyon faktörü olan ve birçok inflamatuvar süreçte yer alan proteinlerin kodlanmasından sorumlu olan NF κ B ve inflamasyonda rol alan COX-2 protein

ekspresyon düzeylerinin arttığı diyabetle ilgili yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (23,24). Bu çalışmada; dördüncü ve sekizinci haftalarda, diyabetli ratlarda NFκB (Şekil 32,33) ve COX-2 (Şekil 34, 35) protein ekspresyon düzeylerinde artış belirlenmiş olup ($p<0,001$), sonuçlar Heeba ve ark. (201) ile Kushwaha ve ark. (23)'nın bulgularıyla benzerlik göstermektedir. Bu çalışma da dördüncü ve sekizinci haftalarda, diyabetli gruplara karvakrol verilmesi ile hem NFκB hemde COX-2 protein ekspresyon düzeylerinde azalma olduğu belirlenmiş olup ($p<0,001$) (Şekil 32, 33, 34, 35), bu bulguların karvakrolün antienflamatuvar özelliği ile ilgili yapılan birçok çalışma (144,202,203) sonuçlarıyla uyumlu olduğu görülmektedir.

Proapoptotik Bax ve antiapoptotik Bcl-2 proteinleri, hücre ölümünü belirleyen iki kritik proteindir. Bax'ın Bcl-2'ye oranı (Bax/Bcl-2) ise, hücrelerin apoptotik sürece girip girmeyeceğini belirleyen bir faktördür. Diyabette ROS kaynaklı oksidatif stres, antiapoptik olan Bcl-2'nin ekspresyonunu azaltırken, apoptotik olan Bax protein ekspresyonunu artırdığı yapılan çalışmalarda belirtilmiştir (204,205). Bu çalışmada; sağlıklı ratlarla kıyaslandığında dördüncü ve sekizinci haftalarda, diyabetli ratlarda Bax protein ekspresyon düzeylerinin arttığı ($p<0,001$) (Şekil 36, 37), Bcl-2 protein ekspresyon düzeylerinin azaldığı ($p<0,001$) (Şekil 38, 39) ve Bax'ın Bcl-2'ye oranının (Bax/Bcl-2) ($p<0,001$) (Şekil 40, 41) arttığı belirlenmiştir. Bu bulguların Zhao ve ark. (204) ile Heidari Khoei ve ark. (205)'nin çalışma sonuçlarıyla uyumlu olduğu görülmektedir. Sadeghzadeh ve ark. (206) ratlarda hipertrofik kalp modellemesi oluşturdukları bir çalışmada; karvakrolün, apoptik süreçte yer alan proteinlerin üzerinde olumlu etkisinin olduğunu bildirmişlerdir. Shoorei ve ark (170) diyabetli ratlarda testis dokusundan immunofloresans yöntemiyle Bax ve Bcl-2 yoğunluklarına ve RT-PCR ile mRNA

seviyelerini araştırdıkları çalışmada, diyabetli ratlara karvakrol verilmesiyle Bax seviyesinin azaldığını, Bcl-2 seviyesinin arttığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada diyabetli ratlarla kıyaslandığında dördüncü ve sekizinci haftalarda, diyabetli ratlara karvakrol verilmesi ile Bax protein ekspresyon düzeylerinin azaldığı ($p<0,001$) (Şekil 36, 37), Bcl-2 protein ekspresyon düzeylerinin arttığı ($p<0,001$) (Şekil 38, 39) ve Bax'ın Bcl-2'ye oranının azaldığı ($p<0,001$) (Şekil 40, 41) belirlenmiştir. Bu çalışmanın bu yönüyle Sadeghzadeh ve ark (206) ile Shoorei ve ark (170)'nın bildirimleriyle uyumlu olduğu görülmüştür.

Spermatogenez ve sperm fonksiyonlarında hipotalama-hipofizer-gonadal (HPG) eksen oldukça önemlidir. GnRH salgılanmasındaki değişiklikler, Leydig ve sertoli hücrelerinde sırasıyla LH ve FSH sekresyonunu etkilemektedir. Tip I diyabette HPG ekseninin bozulması sonucunda spermatogenezin etkilendiği ve ardından subfertiliteye neden olduğu bildirilmiştir (207). Bu çalışmada; dördüncü ve sekizinci haftalarda, sağlıklı ratlarla kıyaslandığında diyabetli ratlarda, serum testosteron düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir ($p<0,001$) (Şekil 18, 19 ve Tablo 3,4). İnsanlarda ve deneysel hayvan modellerinde yapılan bazı çalışmalarda (208–210) diyabetin testosteron seviyesini değiştirmedeği bildirilse de; bu çalışmadaki testosteron bulguları, testosteron seviyesinin azaldığını bildiren birçok çalışmayla (131,133,211) benzerlik göstermektedir. Diyabetle ilgili yapılan çalışmalarda testosteron seviyesi ile ilgili farklılıkların; türler arası farklılıklardan, çalışma süresi ve/veya yöntem seçimi ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bu çalışmada dördüncü haftada diyabetli ratlarla kıyaslandığında, diyabetli ratlara karvakrol verilmesi ile testosteron düzeylerinde bir fark tespit edilmezken ($p>0,05$) (Şekil 18 ve Tablo 3), sekizinci haftada testosteron düzeylerinde artış ($p<0,001$) (Şekil 19 ve

Tablo 4) tespit edilmiştir. Karimi ve ark. (212)'ı, bileşiminde karvakrol ve timol gibi monoterpenlerin bulunduğu *Zataria Multiflora* ile yaptıkları çalışmada, testosteron seviyesinin arttığını ifade etmişlerdir. Shoorei ve ark. (213) ise diyabetli erkek ratlarda testis dokusundan hipofizer ve cinsel hormonlar ve onların reseptörleri üzerindeki karvakrolün etkisini araştırdıkları bir çalışmada, karvakrolün testosteron hormon düzeyini arttırdığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada sekizinci haftadaki testosteron bulguları, Karimi ve ark. (212) ile Shoorei ve ark. (213) elde ettiği sonuçlarla paralellik göstermektedir.

Bu çalışmada dördüncü ve sekizinci haftalarda diyabetli ratlar sağlıklı ratlarla kıyaslandığında sperm motilitesinde ($p<0,001$) (Şekil 42,43 ve Tablo 7,8), yoğunluğunda azalma (dördüncü hafta: $p<0,05$; sekizinci hafta $p<0,001$) (Şekil 44, 45 ve Tablo 7,8) ve anormal spermatozoon oranında artış ($p<0,001$) (Şekil 46, 47 ve Tablo 7,8) görülmüştür. Sperm kalitesindeki azalma hipergliseminin neden olduğu artmış ROS düzeylerine bağlı olarak membrandaki lipidlerin ve proteinlerin bozulmasının bir sonucu olarak hücre zarının bütünlüğünde hasar oluşması ile açıklanabilir (148). Diyabetle ilgili yapılan çalışmalarda; Navarro ve ark. (13) STZ uygulamasının spermatozoon motilitesini etkilemediğini, Bal ve ark. (214) ile Scarano ve ark. (215) ise spermatozoon motilitesini azalttığını bildirmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen motilite bulguları Bal ve ark. (214) ile Scarano ve ark. (215)'nın sonuçlarıyla paralellik göstermesine karşın, Navarro ve ark. (13) sonuçlarıyla farklılık göstermektedir. Bu durumun, motilite muayenesi için kullanılan seyreltme ortamının bileşimindeki farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Epididimal spermatozoon yoğunluğu bulguları ise Navarro ve ark (13)'nın yaptıkları çalışmayla farklılık gösterirken; Shrilatha ve ark. (216)'nın

yaptıkları çalışma ile benzerlik göstermektedir. Anormal spermatozoon oran bulguları ise Navarro ve ark. (13) çalışmasıyla paralellik gösterirken; Scarano ve ark. (215) sperm morfolojisinde anormal morfoloji bulamadıkları ifadesiyle farklılık göstermektedir. Epididimal sperma yoğunluğundaki ve anormal spermatozoon oranı ile ilgili farklı sonuçların deneysel süreçten kaynaklanabileceği düşünülmektedir (215).

Aksu ve ark (148)'ı karvakrolün spermatolojik parametreler üzerinde iyileştirici etki gösterdiğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada diyabetli ratlarla kıyaslandığında dördüncü haftada diyabetli ratlara karvakrol verilmesi ile motilitede değerlerinde bir fark tespit edilmezken ($p>0,05$) (Şekil 42 ve Tablo 7), sekizinci haftada motilitede anlamlı bir artış ($p<0,001$) (Şekil 43 ve Tablo 8), dördüncü ve sekizinci haftalarda epididimal spermatozoon yoğunluğunda artış (dördüncü hafta: $p<0,05$; sekizinci hafta $p<0,001$) (Şekil 44,45 ve Tablo 7,8) ve anormal spermatozoon oranında azalış ($p<0,001$) (Şekil 46, 47 ve Tablo 7, 8) tespit edilmiştir. Bu bulgular Aksu ve ark. (148)'nın karvakrol ile ilgili yaptıkları çalışmanın bulguları ile paralellik göstermektedir.

Ratlarda, STZ ile diyabet modeli oluşturulan bazı çalışmalarda testis, epididimis, sağ kauda epididimis, vezikula seminalis ve ventral prostat ağırlıklarının azaldığı bildirilmiştir (13,215,216). Bu çalışmada; dördüncü ve sekizinci haftalardaki bulgular, üreme organ ağırlıklarının azaldığını belirten çalışmalarla (13,215,216) benzerlik göstermektedir. Diyabetli ratlarda görülen üreme organ ağırlıklarındaki önemli azalmaların nedeni, muhtemelen testosteron düzeyindeki düşüşten kaynaklanmaktadır. Çünkü testosteron üreme organlarının gelişmesinin ana regülatörüdür (217). Düşük testosteron seviyesi, serum insülin

seviyesinin azalması ile ilişkilendirilmiştir. Seethalakshmi ve ark. (218)'nın yaptıkları bir çalışmada, insülin tedavisinin üreme organının ağırlığının azalmasını önlediğini bildirmişlerdir. Bu çalışmada diyabetli ratlarla kıyaslandığında, dördüncü haftada diyabetli ratlara karvakrol verilmesi ile üreme organ ağırlıklarında bir fark tespit edilmezken ($p>0,05$) (Şekil 48, 49 ve Tablo 9), sekizinci haftada üreme organ ağırlıklarında artış (Şekil 50, 51 ve Tablo 10) belirlenmiştir.

Bu çalışmada; dördüncü ve sekizinci haftalarda Karvakrol Gruplarında Kontrol Gruplarına kıyasla serum glikoz ve testosteron seviyelerinde; testis dokusu MDA, GSH düzeylerinde ve Katalaz aktivitesinde; testis dokusu Nrf2, HO-1, Nfkb, COX-2, Bax, Bcl-2 protein ekspresyon düzeylerinde ve Bax/Bcl-2'ye oranında anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir ($p>0,05$). Karvakrol grubu kontrol grubuyla kıyaslandığında sekizinci hafta GSH.Px aktivitesinde, motilitede, epididimal spermatozoon yoğunluğunda ve ventral prostat ağırlığında artış belirlenmiştir ($p<0,001$). Diyabet oluşturulmayan gruptaki karvakrolün bu etkileri, Güvenç ve ark.(219)'nın bulgularıyla benzerlik göstermektedir.

Bu çalışmayla; diyabetin testis dokusunda lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA düzeyini, apoptik süreçte ve inflamasyonda rol alan Nfkb, COX-2, Bax protein ekspresyon düzeylerini, Bax/Bcl-2 oranını arttırdığı; buna karşın, antioksidan enzimlerden GSH düzeylerini, GSH.Px ve Katalaz aktivitesini azalttığı, Nrf2 ve HO-1 protein ekspresyon düzeylerini, antiapoptik bir protein olan Bcl-2 protein ekspresyon düzeyini azalttığı belirlenmiştir. Diyabetli grupta görülen testikular doku hasarının yanında, serum testosteron seviyesinin düşmesiyle birlikte spermatolojik parametreler de olumsuz yönde etkilenmiştir.

Diyabetli ratlara karvakrol 75 mg/kg/gün/gavaj verilmesiyle diyabetin neden olduğu bu olumsuz etkilerin azaldığı belirlenmiştir. Karvakrolün bu etkileri; karvakrolün antioksidan özelliği ile vücut hücrelerinin antioksidan savunma sistemine yardımcı olması ve dolayısıyla ROS'un neden olduğu oksidatif hasarı azaltması ile karvakrolün diyabet kaynaklı üreme hasarına karşı olası koruma mekanizması ile açıklanabilir.

Sonuç olarak; elde edilen bu verilerden, diyabetin erkek üreme sistemi üzerindeki olumsuz etkilerinin karvakrol ile önlenebileceği ve/veya azaltılabileceği düşünülmektedir. Ancak, karvakrolün farklı dozlardaki ve sürelerdeki antioksidan etkinliğinin daha detaylı olarak irdelenmesi, spermatogenez üzerine olan çalışmaların daha detaylandırılması, bu mekanizmaların daha iyi anlaşılabilmesi için ilgili proteinlerle ilişkili genlerin ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi, bu antioksidan maddenin koruyucu etkilerinin daha belirgin olarak ortaya çıkmasını sağlayacağı düşünülmektedir.

8. KAYNAKLAR

1. Vlad I, Popa AR. Epidemiology of diabetes mellitus: A current review. *Rom J Diabetes Nutr Metab Dis* 2012;19(4):433–440.
2. Aguires F, Brown A et al. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 6th edn. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation. 2013.
3. Association AD. 2. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care* 2016;39(1):13–22.
4. Taslipinar A, Corakci A, Kaya A et al. *TURKDIAB Diyabet Tanı ve Tedavi Rehberi*. 2017; 1–148.
5. Singh R, Kaur N, Kishore L et al. Management of diabetic complications: A chemical constituents based approach. *J Ethnopharmacol* 2013;150(1):51–70.
6. Jain GC, Jangir RN. Modulation of diabetes-mellitus-induced male reproductive dysfunctions in experimental animal models with medicinal plants. *Pharmacogn Rev* 2014;8(16):113–121.
7. Alves MG, Martins AD, Rato L, et al. Molecular mechanisms beyond glucose transport in diabetes-related male infertility. *Biochim Biophys Acta* 2013;1832:626–635.
8. Bener A, Al-Ansari AA, Ziric M, et al. Is male fertility associated with type 2 diabetes mellitus? *Int Urol Nephrol* 2009;41:777–784.
9. Tsounapi P, Honda M, Dimitriadis F, et al. Impact of antioxidants on seminal vesicles function and fertilizing potential in diabetic rats. *Asian J Androl* 2017;19:639–646.
10. Rashid K, Sil PC. Curcumin ameliorates testicular damage in diabetic rats by suppressing cellular stress-mediated mitochondria and endoplasmic reticulum-dependent apoptotic death. *Biochim Biophys Acta* 2015;1852:70–82.
11. Saumya S, Mahaboob Basha P. Fluoride exposure aggravates the testicular damage and sperm quality in diabetic mice: Protective role of ginseng and banaba. *Biol Trace Elem Res* 2017;177:331–344.
12. Kim ST, Moley KH. Paternal effect on embryo quality in diabetic mice is related to poor sperm quality and associated with decreased glucose transporter expression. *Reproduction* 2008;136:313–322.
13. Navarro-Casado L, Juncos-Tobarra MA, Cháfer-Rudilla M, et al. Effect of experimental diabetes and STZ on male fertility capacity. Study in rats. *J Androl* 2010;31:584–592.
14. Mangoli E, Talebi AR, Anvari M, et al. Effects of experimentally-induced diabetes on sperm parameters and chromatin quality in mice. *Iran J Reprod Med* 2013;11:53–60.

15. Baccetti B, Marca A, Piomboni P, et al. Insulin-dependent diabetes in men is associated with hypothalamo-pituitary derangement and with impairment in semen quality. *Hum Reprod* 2002;17:2673–2677.
16. Ayala A, Munoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. *Oxid Med Cell Longev* 2014;2014:1–31.
17. Frankel EN, Neff WE. Formation of malonaldehyde from lipid oxidation products. *Biochim Biophys Acta* 1983;754:264–270.
18. Yigitturk G, Acara AC, Erbas O, et al. The antioxidant role of agomelatine and gallic acid on oxidative stress in STZ induced type I diabetic rat testes. *Biomed Pharmacother* 2017;87:240–246.
19. Sexton WJ, Jarow JP. Effect of diabetes mellitus upon male reproductive function. *Urology* 1997;49:508–513.
20. Ha KN, Chen Y, Cai J, et al. Increased glutathione synthesis through an ARE-Nrf2-dependent pathway by zinc in the RPE: Implication for protection against oxidative stress. *Investig Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(6):2709–2715.
21. Ma Q. Role of Nrf2 in oxidative stress and toxicity. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2013;53:401–426.
22. Nakamura BN, Lawson G, Chan JY, et al. Knockout of the transcription factor Nrf2 disrupts spermatogenesis in an age-dependent manner. *Free Radic Biol Med* 2010;49(9):1368–1379.
23. Kushwaha S, Jena GB. Enalapril reduces germ cell toxicity in streptozotocin-induced diabetic rat: Investigation on possible mechanisms. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2012;385:111–24.
24. Maremanda KP, Khan S, Jena GB. Role of zinc supplementation in testicular and epididymal damages in diabetic rat: Involvement of Nrf2, SOD1, and GPX5. *Biol Trace Elem Res* 2016;173:452–464.
25. Shanmugam N, Gonzalo ITG, Natarajan R. Molecular mechanisms of high glucose-induced cyclooxygenase-2 expression in monocytes. *Diabetes* 2004;53(3):795–802.
26. Biswas R, Bagchi A. NFκB pathway and inhibition: an overview. *Comput Mol Biol* 2016;6:1–20.
27. Roessner C, Paasch U, Kratzsch J, et al. Sperm apoptosis signalling in diabetic men. *Reprod Biomed Online* 2012;25:292–299.
28. Aitken RJ, Baker MA. Oxidative stress, sperm survival and fertility control. *Mol Cell Endocrinol* 2006;250:66–69.

29. Hikim APS, Swerdloff RS. Hormonal and genetic control of germ cell apoptosis in the testis. *Rev Reprod* 1999;4:38–47.
30. Altan N, Sepici Dinçel A, Koca C. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Türk Biyokim Derg* 2006;31:51–56.
31. Ghanbari E, Nejati V, Najafi G, et al. Study on the effect of royal jelly on reproductive parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *Int J Fertil Steril* 2015;9:113–120.
32. Bae WJ, Ha US, Choi JB, et al. Protective effect of decursin extracted from angelica gigas in male infertility via Nrf2/HO-1 signaling pathway. *Oxid Med Cell Longev* 2016;2016:1–9.
33. Simas JN, Mendes TB, Paccola CC, et al. Resveratrol attenuates reproductive alterations in type 1 diabetes-induced rats. *Int J Exp Pathol* 2017;98:312–328.
34. Öntürk H, Özbek H. Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şeker seviyesinin ölçülmesi. *Genel Tıp Derg* 2007;17:231–236.
35. Kanter M, Aktas C, Erboga M. Curcumin attenuates testicular damage, apoptotic germ cell death, and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol Nutr Food Res* 2013;57:1578–1585.
36. Hou N, Mai Y, Qiu X, et al. Carvacrol attenuates diabetic cardiomyopathy by modulating the PI3K/Akt/GLUT4 pathway in diabetic mice. *Front Pharmacol* 2019;10:1–15.
37. Ersoy O, Kizilay G. Effects of fucoidan on diabetic rat testicular tissue. *Biotech Histochem* 2018;93:277–285.
38. Gould MN. Cancer chemoprevention and therapy by monoterpenes. *Environ Health Perspect* 1997;105:977–979.
39. Loza-Tavera H. Monoterpenes in essential oils: biosynthesis and properties. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1999;464:49–62.
40. Ipek E, Zeytinoglu H, Okay S, et al. Genotoxicity and antigenotoxicity of origanum oil and carvacrol evaluated by ames salmonella/microsomal test. *Food Chem* 2005;93:551–556.
41. Alma MH, Mavi A, Yildirim A, et al. Screening chemical composition and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. growing in Turkey. *Biol Pharm Bull* 2003;26:1725–1729.
42. Radonic A, Milos M. Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant effect of free volatile compounds from *satureja montana* L. *Free Radic Res* 2003;37:673–679.
43. Rattanachaikunsopon P, Phumkhachorn P. Assessment of factors influencing antimicrobial activity of carvacrol and cymene against *vibrio cholerae* in food. *J Biosci Bioeng* 2010;110:614–619.

44. Ravishankar S, Zhu L, Reyna-Granados J, et al. Carvacrol and cinnamaldehyde inactivate antibiotic-resistant salmonella enterica in buffer and on celery and oysters. *J Food Prot* 2010;73:234–240.
45. Rivas L, McDonnell MJ, Burgess CM, et al. Inhibition of verocytotoxigenic Escherichia coli in model broth and rumen systems by carvacrol and thymol. *Int J Food Microbiol* 2010;139:70–78.
46. Chami N, Chami F, Bennis S, et al. Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats. *Brazilian J Infect Dis* 2004;8:217–226.
47. Pilau MR, Alves SH, Weiblen R, et al. Antiviral activity of the Lippia graveolens (Mexican oregano) essential oil and its main compound carvacrol against human and animal viruses. *Brazilian J Microbiol* 2011;42:1616–1624.
48. Hashemipour H, Kermanshahi H, Golian A, et al. Metabolism and nutrition: Effect of thymol and carvacrol feed supplementation on performance, antioxidant enzyme activities, fatty acid composition, digestive enzyme activities, and immune response in broiler chickens. *Poult Sci* 2013;92:2059–2069.
49. Jayakumar S, Madankumar A, Asokkumar S, et al. Potential preventive effect of carvacrol against diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in rats. *Mol Cell Biochem* 2012;360:51–60.
50. Arunasree KM. Anti-proliferative effects of carvacrol on a human metastatic breast cancer cell line, MDA-MB 231. *Phytomedicine* 2010;17:581–588.
51. Melo FHC, Moura BA, de Sousa DP, et al. Antidepressant-like effect of carvacrol (5-Isopropyl-2-methylphenol) in mice: Involvement of dopaminergic system. *Fundam Clin Pharmacol* 2011;25:362–367.
52. Kazeem MI, Davies TC. Anti-diabetic functional foods as sources of insulin secreting, insulin sensitizing and insulin mimetic agents. *J Funct Foods* 2016;20:122–138.
53. Rains JL, Jain SK. Oxidative stress, insulin signaling and diabetes. *Free Radic Biol Med* 2011;50:567–575.
54. Ransom T, Goldenberg R, Mikalachki A, et al. Reducing the risk of developing diabetes. *Can J Diabetes* 2013;37:16–19.
55. Aouacheri O, Saka S, Krim M, et al. The investigation of the oxidative stress-related parameters in type2 diabetes mellitus. *Can J Diabetes* 2015;39:44–49.
56. Bellamy L, Casas JP, Hingorani AD, et al. Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2009;373(23):1773–1779.

57. Gilinsky AS, Kirk AF, Hughes AR, et al. Lifestyle interventions for type 2 diabetes prevention in women with prior gestational diabetes: A systematic review and meta-analysis of behavioural, anthropometric and metabolic outcomes. *Prev Med Reports* 2015;2:448–461.
58. López-Tinoco C, Roca M, García-Valero A, et al. Oxidative stress and antioxidant status in patients with late-onset gestational diabetes mellitus. *Acta Diabetol* 2013;50:201–208.
59. Forbes JM, Cooper ME. Mechanisms of diabetic complications. *Physiol Rev* 2013;93:137–188.
60. Emons MF, Bae JP, Hoogwerf BJ, et al. Risk factors for 30-day readmission following hypoglycemia-related emergency room and inpatient admissions. *BMJ Open Diabetes Res Care* 2016;4:1-8.
61. Watkins PJ. ABC of diabetes. Fifth Edition. London: BMJ Pub. Group. Ethnicity and Disease 2003;15.
62. Nouwen A, Nefs G, Caramlau I, et al. Prevalence of depression in individuals with impaired glucose metabolism or undiagnosed diabetes: A systematic review and meta-analysis of the European Depression in Diabetes (EDID) research consortium. *Diabetes Care* 2011;34:752–762.
63. Cukierman T, Gerstein HC, Williamson JD. Cognitive decline and dementia in diabetes - systematic overview of prospective observational studies. *Diabetologia* 2005;48:2460–2469.
64. Adeniyi AF, Adeleye JO, Adeniyi CY. Diabetes, sexual dysfunction and therapeutic exercise: A 20 Year Review. *Curr Diabetes Rev* 2010;6:201–206.
65. Thorve VS, Kshirsagar AD, Vyawahare NS, et al. Diabetes-induced erectile dysfunction: Epidemiology, pathophysiology and management. *J Diabetes Complications* 2011;25:129–136.
66. Kohnert KD, Myrsén Axcrona U, Hehmke B, et al. Islet neuronal abnormalities associated with impaired insulin secretion in type 2 diabetes in the chinese hamster. *Regul Pept* 1999;82:71–79.
67. Bonner Weir S, Trent DF, Weir GC. Partial pancreatectomy in the rat and subsequent defect in glucose-induced insulin release. *J Clin Invest* 1983;71:1544–1553.
68. Ejrnaes M, Von Herrath MG, Christen U. Cure of chronic viral infection and virus-induced type 1 diabetes by neutralizing antibodies. *Clin Dev Immunol* 2006;13:67–77.
69. Gencoglu H, Tuzcu M, Hayirli A, et al. Protective effects of resveratrol against streptozotocin-induced diabetes in rats by modulation of visfatin/sirtuin-1 pathway and glucose transporters. *Int J Food Sci Nutr* 2015;66:314-320.

70. İrer SV, Gülinnaz A. Deneysel diyabet modelleri. *Türk Klin Biyokim Derg* 2004;2:127–136.
71. Wu KK, Huan Y. Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Curr Protoc Pharmacol* 2008;40:1–14.
72. Akça M, Çeltik MN. Kemirgenlerde diabetes mellitus modelleri. *Gr Anal* 2007;28:104–105.
73. Waller DP, Nikurs AR. Review of the physiology and biochemistry of the male reproductive tract. *J Am Coll Toxicol* 1986;5:209–223.
74. Ergün L. Erkek genital sistem. Özer A. (Editör). *Veteriner Özel Histoloji*. Dora BasımYayın Dağıtım Ltd. Şti. 1.Baskı, Bursa 2016: 251-268.
75. Mescher LA. Junqueira's basic histology, 13th ed. London, McGraw-Hill. 2013: 429-448.
76. Noyan A. Yaşamda ve hekimlikte fizyoloji 18. Baskı, Ankara: Meteksan A.Ş 2010; 1106-1116.
77. William O Reece. Evcil hayvanların fonksiyonel anatomisi ve fizyolojisi. İn: Çötelioglu Ü, Özcan M (editör) 4. Basımdan çeviri, erkek üreme sistemi 2012: 432-454.
78. Allais-Bonnet A, Pailhoux E. Role of the prion protein family in the gonads. *Front Cell Dev Biol* 2014;2:1–9.
79. Köylü H. Klinik anlatımlı tıbbi fizyoloji 3. Baskı, İstanbul: Medikal Sağlık ve Yayıncılık Hizmetleri Erkek Üreme Sistemi 2019;546-565.
80. Bruhg VM, Matschke HM, Lipshultz LI. Male factor infertility. Vol. 12, *Endocrinol Metab Clin N Am* 2003; 12:689–707.
81. Kim HH, Schlegel PN. Endocrine manipulation in male infertility *Urologic Clinics of North America* 2008; 35(2):303–318.
82. Sies H, Cadenas E. Oxidative stress: damage to intact cells and organs. *Philos Trans R Soc London* 1985;311:617–631.
83. Aslankoç R, Demirci D, İnan Ü ve ark. Oksidatif stres durumunda antioksidan enzimlerin rolü - Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPX). *SDÜ Tıp Fakültesi Derg* 2019;26:362–369.
84. López-Alarcón C, Denicola A. Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays. *Anal Chim Acta* 2013;763:1–10.
85. Gutteridge JMC. Biological origin of free radicals and mechanisms of antioxidant protection. *Chem Biol Interact* 1994;91:133–140.

86. Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions and methods for their quantification. *Toxicol Pathol* 2002;30:620–650.
87. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 2007;39:44–84.
88. Karabulut H, Gülay MŞ. Antioksidanlar. *MAE Vet Fak Derg* 2016;1:65.
89. Kojo S. Vitamin C: Basic metabolism and its function as an index of oxidative stress. *Curr Med Chem* 2004;11:1041–1064.
90. Smith AR, Shenvi SV, Widlansky M, et al. Lipoic acid as a potential therapy for chronic diseases associated with oxidative stress. *Curr Med Chem* 2004;11:1135–1146.
91. Murray RK, Granner DK, Mayes PA. *Harper's Biochemistry*. 25. Baskı. USA, McGraw-Hill Press, Biochemical Education 2000;24.
92. Lagman M, Ly J, Saing T, et al. Investigating the causes for decreased levels of glutathione in individuals with type II diabetes. *PLoS One* 2015;10:1–19.
93. Ighodaro OM, Akinloye OA. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid. *Alexandria J Med* 2018;54:287–293.
94. Radi R, Turrens JF, Chang LY, et al. Detection of catalase in rat heart mitochondria. *J Biol Chem* 1991;266:22028–22034.
95. Cnubben NHP, Rietjens IMCM, Wortelboer H, et al. The interplay of glutathione-related processes in antioxidant defense. *Environ Toxicol Pharmacol* 2001;10:141–152.
96. Robin R. Lippincott Illustrated Reviews Flash Cards Physiology - Preston, 2015: 401.
97. Betteridge DJ. What is oxidative stress? *Metabolism* 2000;49:3–8.
98. Bonnefont-Rousselot D. Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002;5:561–568.
99. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature* 2001;414:813–820.
100. Green K, Brand MD, Murphy MP. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes* 2004;53:110–118.
101. Bierhaus A, Chevion S, Chevion M, et al. Advanced glycation end product-induced activation of Nf-kB is suppressed by α -lipoic acid in cultured endothelial cells. *Diabetes* 1997;46:1481–1490.

102. Heidland A, Sebekova K, Schinzel R. Advanced glycation end products and the progressive course of renal disease. *Am J Kidney Dis* 2001;38:100–106.
103. Giardino I, Edelstein D, Brownlee M. BCL-2 expression or antioxidants prevent hyperglycemia-induced formation of intracellular advanced glycation endproducts in bovine endothelial cells. *J Clin Invest* 1996;97:1422–1428.
104. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: A review. *J Biochem Mol Toxicol* 2003;17:24–38.
105. Buse MG. Hexosamines, insulin resistance and the complications of diabetes: Current status. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006;290:1–8.
106. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *NIH Public Access Author Manuscr* 2010;107:1058–1070.
107. Memişoğulları R. Diyabette serbest radikaller ve antioksidanların etkisi. *Düzce Tıp Fakültesi Derg* 2005;3: 30-39.
108. Mogensen CE, Zimmet PZ, Matthews DR, et al. 25 Years of progress in type 2 diabetes. *Medicographia* 2011;33:1-108.
109. Itoh K, Chiba T, Takahashi S, et al. An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;236:313–322.
110. Surh Y, Kundu JK, Na H et al. Nrf2 as a master redox switch in turning on the cellular signaling involved in the induction of cytoprotective genes by some chemopreventive phytochemicals. *Planta Med* 2008;74:1526–1539.
111. Espinosa-Diez C, Miguel V, Mennerich D, et al. Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress. *Redox Biol* 2015;6:183–197.
112. Sun SC. Non-canonical NF- κ B signaling pathway. *Cell Res* 2011;21:71–85.
113. Park MH, Hong JT. Roles of NF- κ B in cancer and inflammatory diseases and their therapeutic approaches. *Cells* 2016;5:1-13.
114. Rouzer CA, Marnett LJ. Cyclooxygenases: Structural and functional insights. *J Lipid Res* 2009;50:29–34.
115. Kirschenbaum A, Liotta DR, Yao S, et al. Immunohistochemical localization of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in the human fetal and adult male reproductive tracts. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:3436–3441.
116. Perrotta I, Santoro M, Guido C, et al. Expression of cyclooxygenase-1 (COX-1) and COX-2 in human male gametes from normal patients and those with varicocele and diabetes: A potential molecular marker for diagnosing male infertility disorders. *J Anat* 2012;221:209–220.

117. Poligone B, Baldwin AS. Positive and negative regulation of NF- κ B by COX-2. Roles of different prostaglandins. *J Biol Chem* 2001;276:38658–38664.
118. Liu T, Zhang L, Joo D, et al. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther* 2017;2:e17023.
119. Galluzzi L, Vitale I, Abrams JM, et al. Molecular definitions of cell death subroutines: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. *Cell Death Differ* 2012;19(1):107–120.
120. Ashkenazi A, Dixit VM. Death Receptors: Signaling and Modulation. *Science* 1998;281:1305–1308.
121. Esposti MD. The roles of Bid. *Apoptosis* 2002;7:433–440.
122. Death C, Chao DT, Korsmeyer SJ. BCL-2 Family: Regulators of cell death. *Annu Rev Immunol* 1998;16:395–419.
123. Elmore S. Apoptosis: A Review of programmed cell death. *Toxicol Pathol* 2007;35:495–516.
124. Schulze-Osthoff K, Ferrari D, Los M, et al. Apoptosis signaling by death receptors. *Eur J Biochem* 1998;254:439–459.
125. Kanduc D, Mittelman A, Serpico R, et al. Cell death: apoptosis versus necrosis (review). *Int J Oncol* 2002;21:165–170.
126. Akşit H, Bildik A. Apoptozis. *YYÜ Vet Fak Derg* 2008;19:55–63.
127. Sendoel A, Hengartner MO. Apoptotic cell death under hypoxia. *Physiology* 2014;29:168–176.
128. Shi GJ, Li ZM, Zheng J, et al. Diabetes associated with male reproductive system damages: Onset of presentation, pathophysiological mechanisms and drug intervention. *Biomed Pharmacother* 2017;90:562–574.
129. Ballester J, Muñoz MC, Domínguez J, et al. Insulin-dependent diabetes affects testicular function by FSH and LH linked mechanisms. *J Androl* 2004;25:706–719.
130. Adedara IA, Awogbindin IO, Anamelechi JP, et al. Garcinia kola seed ameliorates renal, hepatic and testicular oxidative damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharm Biol* 2015;53:695–704.
131. Kanter M, Aktas C, Erboğa M. Protective effects of quercetin against apoptosis and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Food Chem Toxicol* 2012;50:719–725.

132. Limaye PV, Sivakami S. Evaluation of the fluidity and functionality of the renal cortical brush border membrane in experimental diabetes in rats. *Int J Biochem Cell Biol* 2003;35:1163–1169.
133. Zhao H, Xu S, Wang Z, et al. Repetitive exposures to low-dose X-rays attenuate testicular apoptotic cell death in streptozotocin-induced diabetes rats. *Toxicol Lett* 2010;192:356–364.
134. Said TM, Agarwal A, Sharma RK, et al. Human sperm superoxide anion generation and correlation with semen quality in patients with male infertility. *Fertil Steril* 2004;82:871–877.
135. Moazamian R, Polhemus A, Connaughton H, et al. Oxidative stress and human spermatozoa: Diagnostic and functional significance of aldehydes generated as a result of lipid peroxidation. *Mol Hum Reprod* 2015;21:502–515.
136. Wang Y, Zhang Z, Guo W, et al. Sulforaphane reduction of testicular apoptotic cell death in diabetic mice is associated with the upregulation of Nrf2 expression and function. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2014;307:14–23.
137. Rajesh Kumar T, Doreswamy K, Shrilatha B. Oxidative stress associated DNA damage in testis of mice: Induction of abnormal sperms and effects on fertility. *Mutat Res* 2002;513:103–111.
138. La Vignera S, Condorelli R, Vicari E, et al. Diabetes mellitus and sperm parameters. *J Androl* 2012;33:145–153.
139. La Vignera S, Condorelli RA, Di Mauro M et al. Reproductive function in male patients with type 1 diabetes mellitus. *Andrology* 2015;3:1082–1087.
140. Ayuob NN, Murad HAS, Ali SS. Impaired expression of sex hormone receptors in male reproductive organs of diabetic rat in response to oral antidiabetic drugs. *Folia Histochem Cytobiol* 2015;53:35–48.
141. Steger RW, Rabe MB. The effect of diabetes mellitus on endocrine and reproductive function. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997;214:1–11.
142. Suntres ZE, Coccimiglio J, Alipour M. The bioactivity and toxicological actions of carvacrol. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2015;55:304–318.
143. Aristatile B, Al-numair KS, Al-assaf AH, et al. Protective effect of carvacrol on oxidative stress and cellular DNA damage induced by uvb irradiation in human peripheral lymphocytes. *J Biochem Mol Toxicol* 2015;29:497–507.
144. Lima MDS, Quintans-Júnior LJ, De Santana WA, et al. Anti-inflammatory effects of carvacrol: Evidence for a key role of interleukin-10. *Eur J Pharmacol* 2013;699:112–117.

145. Yosra Ahmed Soltanab V, Salah Morsybc A, Canonenco Araujob R, et al. Carvacrol and eugenol as modifiers of rumen microbial fermentation, and methane production in. Middle East North Africa J Anim Sci 2011;4:354–364.
146. Yanishlieva NV, Marinova EM, Gordon MH, et al. Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. Food Chem 1999;64:59–66.
147. Kulisic T, Radonic A, Katalinic V, et. al. Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. Food Chem 2004;85:633–640.
148. Aksu EH, Kandemir FM, Altun S, et al. Ameliorative effect of carvacrol on cisplatin-induced reproductive damage in male rats. J Biochem Mol Toxicol 2016;30:513–520.
149. Ezhumalai M, Radhiga T, Pugalendi KV. Antihyperglycemic effect of carvacrol in combination with rosiglitazone in high-fat diet-induced type 2 diabetic C57BL/6J mice. Mol Cell Biochem 2014;385:23–31.
150. Bayramoglu G, Senturk H, Bayramoglu A, et al. Carvacrol partially reverses symptoms of diabetes in STZ-induced diabetic rats. Cytotechnology 2014;66:251–257.
151. Azırak S. Thymol ve carvacrol'un in vivo genotoksik etkilerinin araştırılması. Doktora Tezi, Adana Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.
152. Bearden HJ, Fuquay JW. Applied animal reproduction. 3rd Ed. Englrwood Cliffs, New Jersey. 1992.
153. Türk G, Ateşşahin A, Sönmez M, et al. Lycopene protects against cyclosporine A-induced testicular toxicity in rats. Theriogenology 2007;67:778–785.
154. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyl dialdehyde) in biochemical systems. Anal Biochem 1966;16:359–364.
155. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total protein-bound and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. Anal Biochem 1968;25:192–205.
156. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. Biochem Biophys Res Commun 1976;71:952–958.
157. Goth L. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range. Clinica Chimica Acta 1991;196:143-151.
158. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al. Protein measurement with folin phenol reagent The Journal of Biological Chemistry 1951;193:265–275.
159. Smith PK, Krohn RI, Hermanson GT, et al. Measurement of protein using bicinchoninic acid. Anal Biochem 1985;150:76–85.
160. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature 1970; 227:680-685.

161. Towbin H, Staehelin T, Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1979;76:4350–435.
162. Kielkopf CL, Bauer W, Urbatsch IL. Expressing cloned genes for protein production, purification and analysis. In: Green MR, Sambrook J. (Editors) *Molecular cloning: A laboratory manual* (4th Edition), Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York 2012: 159.
163. Bass JJ, Wilkinson DJ, Rankin D, et al. An overview of technical considerations for western blotting applications to physiological research. *Scand J Med Sci Sport* 2017;27:4–25.
164. Karagöz Y. SPSS 22 uygulamalı biyoistatistik. 2nd Edition, Ankara: Nobel Tıp Kitapevi 2015.
165. Ding GL, Liu Y, Liu ME, et al. The effects of diabetes on male fertility and epigenetic regulation during spermatogenesis. *Asian J Androl* 2015;17:948–953.
166. Delfino M, Imbrogno N, Elia J, et al. Prevalence of diabetes mellitus in male partners of infertile couples. *Minerva Urol Nefrol* 2007;59(2):131-135.
167. La Vignera S, Calogero AE, Condorelli R, et al. Andrological characterization of the patient with diabetes mellitus. *Minerva Endocrinol* 2009;34:1–9.
168. Guimares AG, Oliveira GF, Melo MS, et al. Bioassay-guided evaluation of antioxidant and antinociceptive activities of carvacrol. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2010;107(6):949–957.
169. Daggulli M, Dede O, Utangac MM. Protective effects of carvacrol against methotrexate-induced liver toxicity in rats. *Int J Clin Exp Med* 2014;7(12):5511–5516.
170. Shoorei H, Khaki A, Khaki AA, et al. The ameliorative effect of carvacrol on oxidative stress and germ cell apoptosis in testicular tissue of adult diabetic rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 2019;111:568-578.
171. Hoybergs YMJJ, Biermans RLV, Meert TF. The impact of bodyweight and body condition on behavioral testing for painful diabetic neuropathy in the streptozotocin rat model. *Neurosci Lett* 2008;436(1):13–18.
172. Wang L, Zhang XT, Zhang HY, et al. Effect of vaccinium bracteatum thunb. leaves extract on blood glucose and plasma lipid levels in streptozotocin-induced diabetic mice. *J Ethnopharmacol* 2010;130(3):465–469.
173. Elsner M, Guldbakke B, Tiedge M, et al. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin. *Diabetologia* 2000;43(12):1528–1533.
174. Büyükleblebici O. Streptozotosin ile deneysel olarak diyabet oluşturulan ratlarda kromun biyokimyasal etkileri. Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2009.

175. Kurçer Z, Karaoğlu D. Deneysel diyabet modellerinde alloksan ve streptozotosin kullanımı. *Turkish J Endocrinol Metab* 2012;16:34–40.
176. Hahm SW, Park J, Son YS. *Opuntia humifusa* stems lower blood glucose and cholesterol levels in streptozotocin-induced diabetic rats. *Nutrition Research* 2011;31:479–487.
177. Pitocco D, Tesaro M, Alessandro R, et al. Oxidative stress in diabetes: Implications for vascular and other complications. *Int J Mol Sci* 2013;14:21525–21550.
178. Nna VU, Bakar ABA, Ahmad A, et al. Diabetes-induced testicular oxidative stress, inflammation, and caspase-dependent apoptosis: the protective role of metformin. *Arch Physiol Biochem* 2018;1–12.
179. Nna VU, Bakar ABA, Ahmad A, et al. Down-regulation of steroidogenesis-related genes and its accompanying fertility decline in streptozotocin-induced diabetic male rats: ameliorative effect of metformin. *Andrology* 2019;7:110–123.
180. Agarwal A, Virk G, Ong C, et al. Effect of oxidative stress on male reproduction. *World J Mens Health* 2014;32:1–17.
181. Sathishsekar D, Subramanian S. Beneficial effects of *Momordica charantia* seeds in the treatment of STZ-induced diabetes in experimental rats. *Biol Pharm Bull* 2005;28:978–983.
182. Davi G, Falco A, Patrono C. Lipid peroxidation in diabetes mellitus. *Antioxidants Redox Signal* 2005;7:256–268.
183. Khosravi Z, Sedaghat R, Baluchnejadmojarad T, et al. Diosgenin ameliorates testicular damage in streptozotocin-diabetic rats through attenuation of apoptosis, oxidative stress and inflammation. *Int Immunopharmacol* 2019;70:37–46.
184. Hassanzadeh-Taheri M, Hosseini M, Dorrani pour D, et al. The oleo-gum-resin of *Commiphora myrrha* ameliorates male reproductive dysfunctions in streptozotocin-induced hyperglycemic rats. *Pharm Sci.* 2019;25:294–302.
185. Kermani J, Goodarzi N, Bakhtiari M. An experimental study to evaluate the protective effects of *Solanum lycopersicum* seed essential oil on diabetes-induced testicular injuries. *Med* 2019;55:1–16.
186. Atta MS, Almadaly EA, El-Far AH, et al. Thymoquinone defeats diabetes-induced testicular damage in rats targeting antioxidant, inflammatory and aromatase expression. *Int J Mol Sci* 2017;18:1–15.
187. Zha W, Bai Y, Xu L, et al. Curcumin attenuates testicular injury in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Biomed Res Int* 2018;1–10.

188. Armagan A, Uz E, Yilmaz HR, et al. Effects of melatonin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Asian J Androl* 2006;8:595–600.
189. Sudirman S, Hsu YH, Johnson A et al. Amelioration effects of nanoencapsulated triterpenoids from petri dish-cultured antrodia cinnamomea on reproductive function of diabetic male rats. *Int J Nanomedicine* 2018;13:5059–5073.
190. Cengiz M, Tekin Y, İnal B, ve ark. Kekik bitkisinin temel bileşeni olan karvakrolün sıçanlarda siklofosfamid nedenli üreme sistemi hasarı üzerine koruyucu etkileri. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Derg* 2017;4:171–175.
191. Chandrashekar KN, Muralidhara. Evidence of oxidative stress and mitochondrial dysfunctions in the testis of prepubertal diabetic rats. *Int J Impot Res* 2009;21:198–206.
192. Sharma RK, Agarwal A. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urol Clinical Rewiew* 1996;48:835–850.
193. Chen K, Mai Z, Zhou Y, et al. Low NRF2 mRNA expression in spermatozoa from men with low sperm motility. *Tohoku J Exp Med* 2012;228:259–266.
194. Banik S, Akter M, Corpus Bondad SE, et al. Carvacrol inhibits cadmium toxicity through combating against caspase dependent/independent apoptosis in PC12 cells. *Food Chem Toxicol* 2019;134:110835.
195. Zhao L, Qi Y, Xu L, et al. MicroRNA-140-5p aggravates doxorubicin-induced cardiotoxicity by promoting myocardial oxidative stress via targeting Nrf2 and Sirt2. *Redox Biol* 2018;15:284–296.
196. Xia Y, Chen H, Chen Q, et al. Effects of sancai lianmei particle on autophagy and apoptosis in testes of diabetic mice via the Nrf2 / HO-1 pathway. *Int J Clin Exp Med* 2019;12:6720–6732.
197. Zhu X, Guo F, Tang H, et al. Islet Transplantation attenuating testicular injury in type 1 diabetic rats is associated with suppression of oxidative stress and inflammation via Nrf-2/HO-1 and NF-κ B pathways. *J Diabetes Res* 2019;1–10.
198. Zhao Y, Song W, Wang Z, et al. Resveratrol attenuates testicular apoptosis in type 1 diabetic mice: Role of Akt-mediated Nrf2 activation and p62-dependent Keap1 degradation. *Redox Biol* 2018;14:609–617.
199. Jiang X, Bai Y, Zhang Z, et al. Protection by sulforaphane from type 1 diabetes-induced testicular apoptosis is associated with the up-regulation of Nrf2 expression and function. *Toxicol Appl Pharmacol* 2014;279:198–210.
200. Rochette L, Zeller M, Cottin Y, et al. Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. *Biochim Biophys Acta* 2014;1840:2709–2729.

201. Heeba GH, Hamza AA. Rosuvastatin ameliorates diabetes-induced reproductive damage via suppression of oxidative stress, inflammatory and apoptotic pathways in male rats. *Life Sci* 2015;141:13–9.
202. Barnwal P, Vafa A, Afzal SM, et al. Benzo(a)pyrene induces lung toxicity and inflammation in mice: prevention by carvacrol. *Hum Exp Toxicol* 2018;37:752–761.
203. Xiao Y, Li B, Liu J, et al. Carvacrol ameliorates inflammatory response in interleukin 1 β -stimulated human chondrocytes. *Mol Med Rep* 2018;17:3987–3992.
204. Zhao L, Gu Q, Xiang L, et al. Curcumin inhibits apoptosis by modulating Bax/ Bcl-2 expression and alleviates oxidative stress in testes of streptozotocin-induced diabetic rats. *Ther Clin Risk Manag* 2017;13:1099–1105.
205. Heidari Khoei H, Fakhri S, Parvardeh S, et al. Testicular toxicity and reproductive performance of streptozotocin-induced diabetic male rats: the ameliorating role of silymarin as an antioxidant. *Toxin Rev* 2019;38:223–233.
206. Sadeghzadeh S, Hejazian SH, Jamhiri M, et al. The effect of carvacrol on transcription levels of Bcl-2 family proteins in hypertrophied heart of rats. *Physiol Pharmacol* 2018;22:54–62.
207. Schoeller E, Schon S, Moley K. The effects of type 1 diabetes on the hypothalamic, pituitary and testes axis. *Cell Tissue Res* 2012;349:839–847.
208. Öztaş E, Yılmaz TE, Güzel E, et al. Gliclazide alone or in combination with atorvastatin ameliorated reproductive damage in streptozotocin-induced type 2 diabetic male rats. *Saudi Pharm J* 2019;27:422–431.
209. Doustmohammadian S, Samedanifard SH, Doustmohammadian N, et al. Iranian type 2 diabetics may not have serum testosterone level lower than healthy subjects; A case-control study. *J Paramed Sci.* 2013;4:11–6.
210. Natah TM, Abdul- Adheem M, Al-saadi HK, et al. Study the levels of adiponectin , FSH , LH and sex hormones in type 2 diabetes (NIDDM). *J Biol Agric Healthc* 2013;3:172–182.
211. Khaki A, Fathiazad F, Nouri M, et al. Beneficial effects of quercetin on sperm parameters in streptozotocin- induced diabetic male rats. *Phyther Res* 2010;24:1285–1291.
212. Karimi S, Hosseinimehr SJ, Mohammadi HR, et al. Zataria multiflora ameliorates cisplatin-induced testicular damage via suppression of oxidative stress and apoptosis in a mice model. *Iran J Basic Med Sci* 2018;21:607–614.
213. Shoorei H, Khaki A, Shokoohi M, et al. Evaluation of carvacrol on pituitary and sexual hormones and their receptors in the testicle of male diabetic rats. *Hum Exp Toxicol* 2020;1–12.

214. Bal R, Türk G, Tuzcu M, et al. Protective effects of nanostructures of hydrated C60 fullerene on reproductive function in streptozotocin-diabetic male rats. *Toxicology* 2011;282:69–81.
215. Scarano WR, Messias AG, Oliva SU, et al. Sexual behaviour, sperm quantity and quality after short-term streptozotocin-induced hyperglycaemia in rats. *Int J Androl* 2006;29:482–488.
216. Shrilatha B, Muralidhara. Early oxidative stress in testis and epididymal sperm in streptozotocin-induced diabetic mice: Its progression and genotoxic consequences. *Reprod Toxicol* 2007;23:578–587.
217. Mallick C, Mandal S, Barik B et al. Protection of testicular dysfunctions by MTEC, a formulated herbal drug, in streptozotocin induced diabetic rat. *Biol Pharm Bull* 2007;30:84–90.
218. Seethalakshmi L, Menon M, Diamond D. The effect of streptozotocin-induced diabetes on the neuroendocrine-male reproductive tract axis of the adult rat. *J Urol* 1987;138:190–194.
219. Güvenç M, Cellat M, Gökçek İ, et al. Effects of thymol and carvacrol on sperm quality and oxidant/antioxidant balance in rats. *Arch Physiol Biochem* 2019;125:396–403.

9. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler:

Ad Soyad: Gözde ARKALI

Doğum Tarihi: 20.07.1990

Doğum Yeri: Merkez/Balıkesir

Medeni Durumu: Evli

Eğitim Bilgileri

Lisans (2009- 2014): Selçuk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi

Doktora (2015-2020): Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji
Anabilimdalı

İş Deneyimi

Araştırma Görevlisi (2015- Devam ediyor): Fırat Üniversitesi Veteriner
Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı

Seminer, Eğitim ve Kurslar

1. Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Yabancı Dil Eğitim Kursu (Ankara)
2. Uygulamalı Moleküler Genetik Kursu (Genom ve Kök Hücre
Merkezi/Kayseri)
3. Tübitak 1002 Proje Hazırlama Kursu (Fırat Üniversitesi/Elazığ)

Yabancı Dil

İngilizce: Orta (YÖKDİL: 81,25-YDS: 72,50)