

**T.C.  
FIRAT ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI**

**DENEYSEL DİYABETİK SIÇAN TESTİS  
DOKUSUNDAKİ DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE  
OLEUOROEİN'İN KORUYUCU ETKİSİNİN  
İNCELENMESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TUBA YALÇIN**

**2013**

## ONAY SAYFASI

Doç. Dr. OKTAY BURMA

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans/Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. İ. Enver OZAN

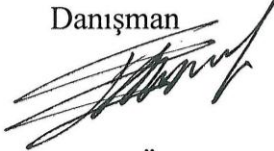


Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

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

Prof. Dr. İ. Enver OZAN

Danışman



Yüksek Lisans/Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İ. Enver OZAN

Prof. Dr. Leyla KOYUTÜRK

Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU

Yrd. Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU

Yrd. Doç. Dr. Ebru ÖNALAN



## İTHAF SAYFASI

*Sevgili Anneme.....*

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim sürecinde, eğitimime büyük katkıları olan başta tez danışmanım ve aynı zamanda Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İbrahim Enver OZAN olmak üzere, diğer saygıdeğer hocalarım; Prof. Dr. Leyla Canpolat KOYUTÜRK, Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU, Doç. Dr. Dürrin Özlem DABAK'a

Tezimin her aşamasında desteğini gördüğüm, deneyiminden ve bilgisinden faydalandığım Fırat Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU, Uzman Dr. Nevin KOCAMAN'a ve yine ekibiyle beraber tezime katkıları olan Veteriner Fakültesi'nden Doç. Dr. Gaffari TÜRK'e ,

Sağladığı finansmandan ötürü Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (FÜBAP)'ne, bugünlere gelmemde en büyük pay sahibi olan ve hayatımın tüm aşamalarında olduğu gibi yüksek lisans eğitimim süresince de bana sevgi ve desteklerini bir an bile eksik etmeyen ve bana sabırlarını sunan sevgili annem ve kardeşime, teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

|                                                |                                  |
|------------------------------------------------|----------------------------------|
| BAŞLIK SAYFASI .....                           | i                                |
| ONAY SAYFASI.....                              | Hata! Yer işareti tanımlanmamış. |
| İTHAF SAYFASI.....                             | iii                              |
| TEŞEKKÜR .....                                 | iv                               |
| İÇİNDEKİLER .....                              | v                                |
| TABLO LİSTESİ .....                            | ix                               |
| ŞEKİLLER LİSTESİ.....                          | x                                |
| KISALTMALAR LİSTESİ.....                       | xii                              |
| 1. ÖZET.....                                   | 1                                |
| 2. ABSTRACT .....                              | 3                                |
| 3. GİRİŞ .....                                 | 5                                |
| 3.1. Testis Anatomisi.....                     | 5                                |
| 3.2. Testis Embriyolojisi .....                | 8                                |
| 3.3. Testis Histolojisi ve Spermatogenez ..... | 9                                |
| 3.3.1. Sertoli Hücreleri.....                  | 13                               |
| 3.3.2. Spermatojenik Hücreler .....            | 14                               |
| 3.3.3. Leydig Hücreleri .....                  | 14                               |
| 3.3.4. İnterstisyel Doku.....                  | 14                               |
| 3.4. Erkeklerde Üreme Fizyolojisi.....         | 16                               |
| 3.5. Testis'in Endokrin Fonksiyonu .....       | 17                               |
| 3.6. Diabetes Mellitus.....                    | 17                               |
| 3.6.1. Epidemiyoloji.....                      | 18                               |

|                                                                                                                                      |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.6.2. Diabetes Mellitus'un Tanı ve Sınıflaması .....                                                                                | 20 |
| 3.6.3. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları .....                                                                                   | 21 |
| 3.7. Serbest Radikaller.....                                                                                                         | 22 |
| 3.8. Oksidatif Stres .....                                                                                                           | 24 |
| 3.8.1. Diyabet ve Oksidatif Stres .....                                                                                              | 25 |
| 3.8.1.1. Glukozun Oto-oksidasyonu ve Süperoksit Üretimi .....                                                                        | 27 |
| 3.8.1.2. Proteinlerin Glikolizasyonu ve İlerlemiş Glikolizasyon Son<br>Ürünleri Oluşumu (AGEs: Advanced glycation end-products)..... | 27 |
| 3.8.1.3. Poliol Yolunun Aktivasyonu.....                                                                                             | 28 |
| 3.9. Antioksidanlar .....                                                                                                            | 28 |
| 3.9.1. Antioksidan Mekanizmalar.....                                                                                                 | 28 |
| 3.9.2. Enzim Yapısındaki Antioksidanlar .....                                                                                        | 30 |
| 3.9.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....                                                                                              | 30 |
| 3.9.2.2. Katalaz (KAT).....                                                                                                          | 30 |
| 3.9.3. Enzim Yapısında Olmayan Antioksidanlar .....                                                                                  | 31 |
| 3.10. Testis ve Oksidatif Stres .....                                                                                                | 32 |
| 3.11. Diyabet ve Testis .....                                                                                                        | 33 |
| 3.12. Apoptozis.....                                                                                                                 | 34 |
| 3.12.1. Apoptozisin Tanımı ve Tarihçesi.....                                                                                         | 34 |
| 3.12.2. Apoptozisin Biyolojik Süreçlerdeki Rolü.....                                                                                 | 35 |
| 3.13. Oleuropein .....                                                                                                               | 37 |
| 3.13.1. Yapısı ve Özellikleri .....                                                                                                  | 37 |
| 3.13.2. Aktif Bileşenler.....                                                                                                        | 38 |
| 3.13.3. Kimyası.....                                                                                                                 | 38 |

|                                                      |           |
|------------------------------------------------------|-----------|
| 3.13.4. Oleuropeinin Biyosentezi .....               | 39        |
| 3.13.5. Oleuropein ve Sağlık .....                   | 40        |
| 3.13.6. Etki Mekanizmaları.....                      | 40        |
| 3.13.6.1. Hipoglisemik Etkisi.....                   | 40        |
| 3.13.6.2. Antimikrobiyal Etkisi .....                | 40        |
| 3.13.6.3. Antioksidan / Anti-İnflamatuar Etkisi..... | 41        |
| 3.13.7. Oleuropein ve Diyabet .....                  | 42        |
| 3.14. Araştırmanın Amacı .....                       | 43        |
| <b>4. GEREÇ VE YÖNTEM.....</b>                       | <b>44</b> |
| 4.1. Deney Hayvanları ve Beslenmeleri .....          | 44        |
| 4.2. Deney Gruplarının Oluşturulması .....           | 45        |
| 4.3. Diyabet İndüksiyonu .....                       | 46        |
| 4.4. Doku Örneklerinin Alınması .....                | 46        |
| 4.5. Histokimyasal Boyama.....                       | 47        |
| 4.6. TUNEL Metodu .....                              | 47        |
| 4.7. Vücut ve Organ Ağırlıklarının Ölçülmesi .....   | 49        |
| 4.8. Spermatolojik Muayeneler .....                  | 50        |
| 4.8.1. Sperm Yoğunluğu .....                         | 50        |
| 4.8.2. Sperm Motilitesi .....                        | 51        |
| 4.9. İstatistiksel Analiz .....                      | 51        |
| <b>5. BULGULAR.....</b>                              | <b>52</b> |
| 5.1. Spermatolojik Bulgular .....                    | 52        |
| 5.1.1. Vücut ve Üreme Organ Ağırlıkları .....        | 52        |
| 5.1.2. Spermatolojik Parametreler .....              | 52        |

|                                |           |
|--------------------------------|-----------|
| 5.2. Histolojik Bulgular ..... | 54        |
| 5.2.1. TUNEL Bulgular .....    | 60        |
| <b>6. TARTIŞMA .....</b>       | <b>64</b> |
| <b>7. KAYNAKLAR .....</b>      | <b>71</b> |
| <b>8. ÖZGEÇMİŞ.....</b>        | <b>80</b> |

## TABLO LİSTESİ

|                                                                       |    |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tablo 1.</b> DM'nin etiyolojik sınıflandırılması .....             | 21 |
| <b>Tablo 2.</b> Diyabetin akut ve kronik komplikasyonları .....       | 22 |
| <b>Tablo 3.</b> Reaktif oksijen türleri.....                          | 24 |
| <b>Tablo 4.</b> Antioksidanların sınıflandırılması .....              | 29 |
| <b>Tablo 5.</b> Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin terkibi..... | 45 |
| <b>Tablo 6.</b> Histolojik takip serileri.....                        | 48 |
| <b>Tablo 7.</b> TUNEL boyama işlemi .....                             | 49 |
| <b>Tablo 8.</b> Reprodüktif parametrelere ait değerler. ....          | 53 |

## ŞEKİLLER LİSTESİ

|                                                                                               |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. Testis'in anatomik görünümü .....                                                    | 7  |
| Şekil 2. Testis'in anatomik görünümü .....                                                    | 7  |
| Şekil 3. Spermatogenezin evreleri. Hematoksilen & Eozin .....                                 | 12 |
| Şekil 4. Spermatogenezin evreleri .....                                                       | 12 |
| Şekil 5. Testisin histolojik görünümü .....                                                   | 15 |
| Şekil 6. Seminifer tübülde spermatogenezin histolojik görünümü .<br>Hematoksilen & Eozin..... | 15 |
| Şekil 7. Testis'in histolojik görünümü .....                                                  | 16 |
| Şekil 8. Katalazın peroksidatik ve katalitik fonksiyonu .....                                 | 31 |
| Şekil 9. Oleuropeinin kimyasal yapısı .....                                                   | 37 |
| Şekil 10. Kontrol grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü<br>(→) H&E 400 X. ....     | 55 |
| Şekil 11. Kontrol grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü<br>(→) PAS 400 X. ....     | 55 |
| Şekil 12. DM grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü (→)<br>H&E 400 X. ....          | 56 |
| Şekil 13. DM grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü (→)<br>H&E 400 X. ....          | 56 |
| Şekil 14. DM grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü (→)<br>H&E 200 X. ....          | 57 |
| Şekil 15. DM grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü (→)<br>PAS 400 X. ....          | 57 |

|                                                                           |    |
|---------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Şekil 16.</b> DM+OLE grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü  |    |
| (→) H & E 400 X. ....                                                     | 58 |
| <b>Şekil 17.</b> DM+OLE grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü  |    |
| (→) H & E 400 X. ....                                                     | 58 |
| <b>Şekil 18.</b> OLE grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü (→) |    |
| H & E 200 X. ....                                                         | 59 |
| <b>Şekil 19.</b> OLE grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü (→) |    |
| PAS 200 X. ....                                                           | 59 |
| <b>Şekil 20.</b> Kontrol grubuna ait testis dokusunda TUNEL pozitif       |    |
| hücreler (→) 400 X.....                                                   | 60 |
| <b>Şekil 21.</b> DM grubuna ait testis dokusunda artmış TUNEL pozitif     |    |
| hücreler (→)400 X. ....                                                   | 61 |
| <b>Şekil 22.</b> DM + OLE grubuna ait testis dokusu TUNEL pozitif         |    |
| hücreler (→) 400 X. ....                                                  | 61 |
| <b>Şekil 23.</b> OLE grubuna ait testis dokusu kontrol grubuna benzer     |    |
| TUNEL pozitif hücre (→) 400 X. ....                                       | 62 |
| <b>Şekil 24.</b> Meme dokusuna ait TUNEL pozitif kontrol (→) 400 X. ....  | 62 |
| <b>Şekil 25.</b> TUNEL negatif kontrol 400 X. ....                        | 63 |

## KISALTMALAR LİSTESİ

|                |                                      |
|----------------|--------------------------------------|
| <b>ABP</b>     | : FSH Androjen-Bağlayıcı Protein     |
| <b>ADA</b>     | : Amerikan Diyabet Birliği           |
| <b>AGEs</b>    | : Glikozilasyon Son Ürünleri         |
| <b>ATP</b>     | : Adenozin Trifosfat                 |
| <b>cAMP</b>    | : Siklik Adenozin Monofosfat         |
| <b>DM</b>      | : Diabetes Mellitus                  |
| <b>DNA</b>     | : Deoksiribonükleik Asit             |
| <b>DSÖ</b>     | : Dünya Sağlık Örgütü                |
| <b>FSH</b>     | : Follikül Stimulan Hormon           |
| <b>GDM</b>     | : Gestasyonel Diabetes Mellitus      |
| <b>GER</b>     | : Granüllü Endoplazmik Retikulum     |
| <b>GR</b>      | : Glutasyon Redüktaz                 |
| <b>GSH</b>     | : Redükte Glutasyon                  |
| <b>GSİ</b>     | : Gonado-Somatik İndeks              |
| <b>GSH-Px</b>  | : Glutasyon Peroksidaz               |
| <b>H&amp;E</b> | : Hematoksilen Eozin                 |
| <b>IGT</b>     | : Bozulmuş Glukoz Toleransı          |
| <b>iNOS</b>    | : İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz |
| <b>İP</b>      | : İntra Peritoneal                   |
| <b>KAT</b>     | : Katalaz                            |
| <b>LDL</b>     | : Düşük Dansiteli Lipoprotein        |
| <b>LH</b>      | : Luteinizan Hormon                  |
| <b>LPO</b>     | : Lipid Peroksidasyonu               |

|               |                                                                       |
|---------------|-----------------------------------------------------------------------|
| <b>MDA</b>    | : Malondialdehid                                                      |
| <b>MIS</b>    | : Mülleriyan İnhibe Edici Hormon                                      |
| <b>NADPH</b>  | : Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat                               |
| <b>NO</b>     | : Nitrik Oksit                                                        |
| <b>OLE</b>    | : Oleuropein                                                          |
| <b>PON</b>    | : Paraoksonaz                                                         |
| <b>PSA</b>    | : Prostata Özgü Antijen                                               |
| <b>RNA</b>    | : Ribonükleik Asit                                                    |
| <b>ROS</b>    | : Reaktif Oksijen Türleri                                             |
| <b>SOD</b>    | : Süperoksit Dismutaz                                                 |
| <b>STZ</b>    | : Streptozotosin                                                      |
| <b>TUNEL</b>  | : Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Mediated Nick<br>and Labeling |
| <b>TURDEP</b> | : Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Araştırması                           |

## 1. ÖZET

Diabetes mellitus (DM), mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlarla seyreden kronik metabolik bir hastalıktır. Diyabetik erkeklerde, artmış oksidatif strese bağlı olarak testislerde germ hücrelerinde apoptozisde artış meydana gelmekte ve testiküler fonksiyon bozuklukları ortaya çıkmaktadır. Akdeniz’de yetişen bir bitki olan zeytinin yaprağında ki Oleuropein (OLE) son yıllarda antioksidatif etkiye sahip bir bitkidir.

Bu çalışmada, streptozotosin (STZ) ile oluşturulan deneysel diyabet modelinde OLE’nin, sıçan testis dokusundaki değişiklikler üzerine koruyucu etkileri incelenmiştir.

Çalışmada, 28 adet 8-10 haftalık Wistar albino cinsi erkek sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları her grupta 7 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna herhangi bir uygulama yapılmadı. DM ve DM+OLE grubuna 50 mg/kg olacak şekilde tek doz STZ 0,1 M fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4,5) çözdürülerek intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı. Diyabet oluşuktan sonra DM grubu belirlenip herhangi bir uygulama yapılmadı. DM + OLE grubuna ve OLE grubuna ise sadece OLE (10mg/kg/gün) 6 hafta süreyle oral yolla verildi. Deney sonunda sıçanlar dekapite edilerek testis dokuları çıkarıldı. Testis dokularına Hematoksilen&Eozin, Periyodik Asit Schiff (PAS) ve TdT-mediated nick and labeling (TUNEL) boyamaları yapıldı. Testis dokusu örneklerinin bir bölümü ise spermatolojik incelemeler için kullanıldı.

Diyabetik grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sperm sayısı, sperm motilitelerinde, vücut ağırlığı ile absolut testis, epididimis, sağ kauda epididimis,

vezikula seminalis, prostat ağırlıkları ve gonado-somatik indeks (GSI) de anlamlı azalmalar tespit edildi.

DM+OLE grubu, DM grubu ile karşılaştırıldığında vücut ağırlığı ile testis, epididimis ve sağ kauda epididimis ağırlıklarında önemsiz artışlar sağladı. OLE tedavisi DM+OLE grubunda diyabetin neden olduğu epididimal sperm sayısı ve motilitelerindeki azalmalar üzerinde herhangi bir iyileştirici etki göstermedi. OLE grubunda reproduktif parametreler kontrol grubuna benzerdi.

Histolojik incelemelerde, DM grubunda tübüllerde atrofi, dejenerasyon peritübüler konjesyon ve bazal membranda kalınlaşma mevcuttu. DM + OLE grubunda ise kontrol grubuna yakın histolojik bulgular gözlemlendi. TUNEL boyamada, diyabetik grupta apoptotik hücre artış vardı. Diyabetik grup ile kıyaslandığında DM + OLE grubunda apoptotik hücre artışında anlamlı bir azalma belirlendi. Sadece OLE uygulanan gruba ait sıçan testis dokusunda, interstisyel doku ve seminifer tübüllerde dejenerasyon izlendi.

Sonuç olarak, DM'nin oluşturduğu testiküler hasara karşı OLE'nin koruyucu etkilerinin gösterilmesi, diyabetin komplikasyonlarını önlemek için yeni tedavi yaklaşımlarının denenmesini sağlayabilir.

**Anahtar kelimeler :** Diabetes mellitus, testis, oleuropein

## **2. ABSTRACT**

### **PROTECTIVE EFFECTS OF OLEUROPEIN ON STRUCTURAL CHANGES IN THE EXPERIMENTAL DIABETIC RAT TESTES**

Diabetes mellitus (DM) is a chronic metabolic disease characterized by microvascular and macrovascular complications. In diabetic men, apoptosis increases in testicular germ cells and testicular dysfunction occurs, due to increased oxidative stress. The olive, Which is a plant growing in Mediterranean, includes OLE in its leaves Which recently revealed to effect as an antioxidative.

In this study, protective effects of OLE on changes of the rat testicular tissue in streptozotocin (STZ) induced experimental model of diabetes were investigated.

Twenty-eight Wistar albino male rats, aged 8-10 weeks were used. The experimental animals were divided into 4 groups that have 7 animals in each group. No application made to the control group. 50 mg/kg single-dose STZ was intraperitoneally (i.p) induced to DM and DM+OLE groups by dissolving on the 0,1 M phosphate-citrate buffer (pH: 4,5). After DM occurred, the diabetic group did not receive any medication. OLE (10mg/kg/day) was given to DM + OLE group and only OLE (10mg/kg/day) was given to OLE group, orally for 6 weeks. Rats were decapitated at the end of the experiment and testicular tissues were removed. The testicular tissues were stained with Hematoxylin-Eosin, PAS and TUNEL. The remaining testicular tissue specimens were used for spermatologic examination.

When the DM group compared to the control group, it has caused considerable decreases in the sperm number, sperm motilities, body weight, the absolute testis, the epididymis with on the right side and the vesicula seminalis, the prostate weights.

When DM+OLE group is compared to the DM group there were unimportant increases of the body weights, testes, epididymis and right cauda epididymis. Decreasing of motility and count of epididymal sperm were not healed by OLE treatment in the DM+OLE group. Reproductive parameter OLE group were similar to the control group.

In histological examinations of diabetic group, there were atrophy of tubules, peritubular congestion, and thickening of the basement membrane. But in DM + OLE group, there were similar histological findings with control group. Diabetic group had an increase in apoptotic cells with TUNEL staining. There was a reduction in apoptotic cells in DM + OLE group compared to diabetic group. In the group only OLE administered rat; interstitial tissue and seminiferous tubules had degeneration.

As a result, determination of the protective effects of OLE against the testicular damage caused by DM, new treatment approaches may provide in order to prevent complications of diabetes.

**Key words:** Diabetes mellitus, testes, oleuropein

### 3. GİRİŞ

#### 3.1. Testis Anatomisi

Testisler scrotum içinde yer alan, erkek üreme hücrelerinin yapıldığı organdır. Oval şekilli olup funiculus spermaticus'a asılı durumda bulunan testis'ler, sağlı sollu bir çift olup, scrotum'un içinde bulunurlar. Testis'in facies medialis ve facies lateralis olmak üzere iki yüzü; margo anterior ve margo posterior olmak üzere iki kenarı; extremitas superior ve extremitas inferior olmak üzere de iki ucu vardır (1).

Testis'ler sperm ve hormon üretirler. Spermier tubuli seminiferi conorti'ler içerisinde üretilirler. Tubuli seminiferi contorti'ler tubuli seminiferi recti'lere, onlar da rete testis'e açılırlar. Testis'lerin yüzeyi, epididimis ve funiculus spermaticus'un testis'e tutunduğu kısım hariç, her taraftan tunica vaginalis testis'in lamina vissceralis tarafında örtülmüştür (2). Lamina visceralis (epiorchium), epididimis'in büyük kısmı ile arka kenarının medial bölümü hariç, testisi örter ve bu iki oluşumu birbirine bağlar (1). Tunica vaginalis testis, testis'i kuşatan kapalı bir periton kesesidir ve lamina visceralis ve lamina parietalis olmak üzere iki yaprağı vardır (1,2).

Tunica vaginalis testis'in lamina visceralis'i, kaygan şeffaf seröz bir membran olup testis'e, epididimis'e ve ductus deferens'in alt kısmına sıkıca yapışıkır. Tunica vaginalis testis'in lamina parietalis'in lamina visceralis'ten daha kalın olup, fascia spermatica interna'ya yapışıkır. Lamina parietalis, funiculus spermaticus'un distal kısmı içerisinde lamina visceralis'ten biraz daha yukarıya uzanır. Tunica vaginalis testis'in iki yaprağı arasındaki cavum scroti'de az

miktarda sıvı bulunur. Bu sıvı testislerin scrotum içerisinde kolayca hareket etmelerini sağlar (2).

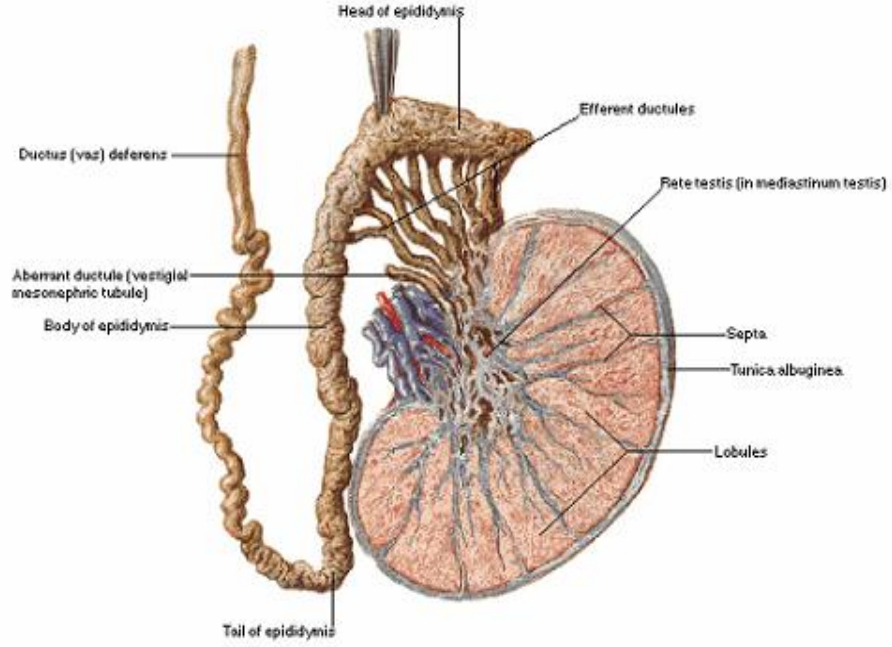
Testis lamina visceralis (epiorchium), tunica albuginea ve tunica vasculosa olmak üzere üç tabaka ile sarılmıştır.

Tunica albuginea, testis'i saran mavimsi beyaz renkli, sıkı yapılı fibröz bir tabakadır. Bu tabakayı oluşturan beyaz fibröz demetler, farklı yönlerde uzanarak birbiri içine girerler. Tunica albuginea'yı, arka kenarı hariç olmak üzere, dıştan tunica vaginalis testis'in lamina visceralis'i (epiorchium) örter. Peritonun bulunmadığı arka kenara epididimis tutunur ve buradan testis'in damar sinirleri girip çıkar. Tunica albuginea, arka kenarda testis'in içine doğru kalın ve vertikal yarım bir bölme şeklinde uzantı gönderir. Bu bölmeye mediastinum testis denir (3). Tunica vasculosa, tunica albuginea'nın iç yüzünde bulunan damar ağı tabakasıdır (1).

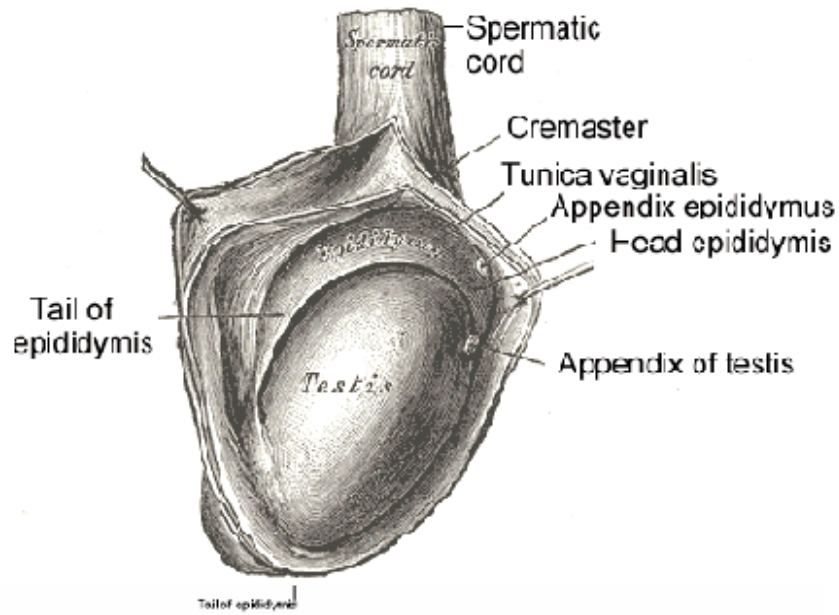
Rete testis, mediastinum testis'in üst bölümünde sayıları 12 ile 15 arasında değişen kanallar şekline dönüşür. Ductuli efferentes testis denilen bu kanallar, testis'in arka kenarının üst kısmında, tunica albuginea'yı delerek dışarı çıkarlar. Testiküler arter; testise girdiğinde internal arter, inferior testiküler arter ve epididimis başına giden kapital arter olmak üzere üç dala ayrılır. Testis sinirleri; T10-11 medulla spinalis segmentlerinden kaynaklanan simpatik lifler, damarların çevresindeki plexuslar aracılığı ile gelir (3).

Testiküler venler; Her bir testis'in arka tarafından çıkan küçük venler birleşerek plexus pampiniformis adı verilen venöz ağı oluştururlar. Plexus pampiniformis, funiculus spermaticus içinde yükselir ve canalis inguinalis'ten geçerek karın boşluğuna ulaşır. Plexus pampiniformis'i oluşturan venler daha

yukarıda birleşerek v. testicularis'i oluşturur. V. testicularis dextra, v. cava inferior'a; v. testicularis sinistra ise v. renalis sinistra'ya dökülür (1).



Şekil 1. Testis'in anatomik görünümü (4).



Şekil 2. Testisin anatomik görünümü (5).

### 3.2. Testis Embriyolojisi

Vitellus kesesi duvarındaki endodermal primordial germ hücrelerinin 3. haftada allantoisi aşarak barsağın arka kısmında mezenter kökü (Radix mesenterii)'nün sağında ve solunda mezonefrozun medialindeki mezoteldeki gonadal kabartı (Plicagenitalis) içine girmesi ve buradaki hücreleri indüklemesi (5. hafta başı) ile gonad taslakları gelişmeye başlar. Embriyonun erkeklik veya dişilik yönünde gelişmeye başlaması 7. haftadan itibaren gerçekleşir. Erkekte veya dişide primordial hücrelerin etrafını plika içindeki mezodermal hücreler sarar. Endodermal primordial hücrelerden germinal hücreler (gonositler = erkekte spermatogoniumlar, dişide oogoniumlar), mezodermal hücrelerden ise destek hücreleri (erkekte Sertoli hücreleri, dişide ise folikül hücreleri) gelişir (6). Testisler, genellikle, seks kromozom kompleksinde normal bir Y kromozomu taşıyan embriyolarda gelişir (7). Primer seks kordonları uzayarak farklılaşmamış gonad medullasına kadar iner. Kordonlar burada dallanarak birbirleriyle anastomozlar yapar ve rete testisi oluştururlar. Gonad taslakları dışında Tunica albuginea geliştikten sonra seks kordonları seminifer tübüllere ve düz tübüllere (Tubuli recti) farklılaşırlar. Seminifer tübüller, (Leydig'in) intertisyal hücreleri oluşturan mezenşim ile ayrılmışlardır. 8. haftada, bu hücreler, mezonefrik kanalların ve dış genital organların erkeklik yönünde farklılaşmasını uyaran androjenik hormonlar testosteron ve androstenodion salgırlar. Testosteron üretimi, embriyonik ve fetal gelişimin 8. ile 12. haftaları arasındaki dönemde, sırasında en yüksek miktarlara ulaşan human koryonik gonadotropin tarafından uyarılır. Fötal testis ayrıca, antimüllerian hormon veya müllerian inhibe edici madde (MIS) olarak bilinen bir glikoprotein üretir (6).

Sertoli hücreleri, destek hücreler olan bu hücreler testisin yüzey epitelinin gelişir. Spermatogonia, primordiyal sperm hücreleri olan bu hücreler primordiyal germ hücrelerinden farklıdır (6). Fötal testiste seminifer epitelin büyük bir kısmını oluşturur. Rete testis, Efferent kanalcıklara dönüşen 15-20 kadar mesonefrik tübül ile devam eder. Bu kanalcıklar, duktus epididimise dönüşen mezonefrik kanalla bağlantı kurar (7).

### **3.3. Testis Histolojisi ve Spermatogenez**

Testisler; embriyonik gelişimi, seksüel olgunlaşmayı ve üreme fonksiyonlarını etkileyen ekzokrin ve endokrin aktiviteye sahip bir çift organdır (8).

Skrotum içinde yer alan testisler, dıştan üç tabakalı kalın bir kapsül ile kuşatılmıştır. Kapsülün dış tabakası tunika vajinalis, orta tabakası tunika albuginea ve iç tabakası tunika vaskuloza olarak isimlendirilir. Tek katlı mezotelyal hücrelerden oluşan tunika vajinalis genellikle preparatlarda izlenmez. Kapsülün en kalın ve belirgin tabakası, yoğun bir fibroelastik bağ dokusu olan tunika albugineadır (9). Tunika albuginea testisin arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testisi oluşturur. Kapsülden testisin içine uzanan tunika albuginea'nın ince bağ dokusu uzantıları testisi insanda sayılar 250 'ye ulaşan lobüllere ayırır. Her testis lobülü kan damarlarını, sinirleri ve interstisyel hücreleri içeren gevşek bağ dokusu ile sınırlı seminifer tübüllerden oluşur. Seminifer tübüller spermilerin üretildiği, kıvrımlı seyreden tübüllerdir. Her testiste 250-300 adet tübül bulunur (10). Lobüllerin apeksinde düz seyreden tübüller, tubuli rekti olarak isimlendirilir. Düz tübüller mediastinumda bulunan rete testis ile

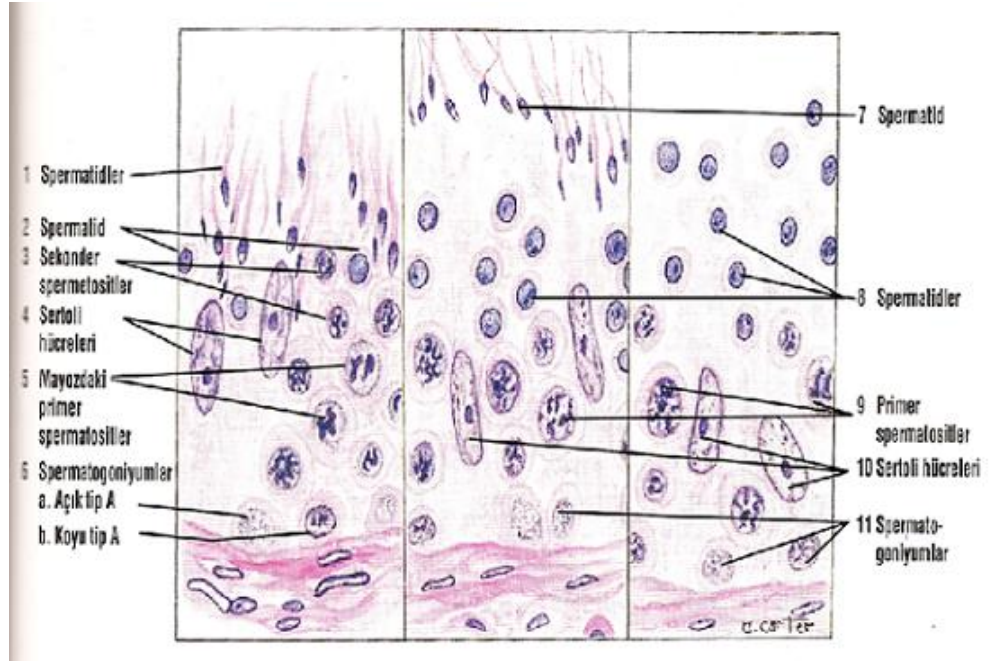
devamlılık gösterir. Rete testis, duktuli efferentes ile epididimisin baş kısmına bağlanmıştır (9).

Seminifer tübüller seminifer epitel ile döşeli kanallardır. Seminifer epitel iki farklı hücre grubu içerir. Birinci grup hücreler germ hücreleri olan spermatogenetik hücrelerdir. Diğer hücreler ise germ hücrelerine destek olan ve onlar besleyen sertoli hücreleridir. Sertoli hücreleri bazal membrandan tübül lümenine kadar uzanan prizmatik hücrelerdir. Sertoli hücreleri, spermin beslenmesi ve desteklenmesi, sperm hücrelerini koruma, ölü spermlerin temizlenmesi, olgunlaşan spermlerin kanala bırakılmasından, lümene protein ve iyondan zengin sıvının salınımından görevlidir (11).

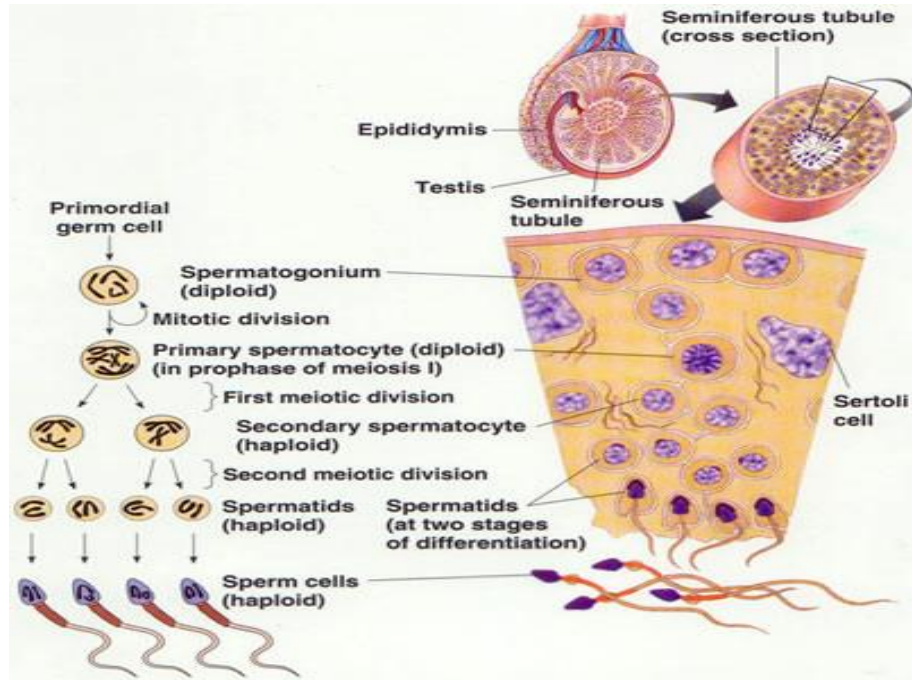
Spermatogenetik hücreler ise sertoli hücrelerinin lateral uzantılar ile oluşan bölmelerde yerleşmişlerdir. Bu iki hücre grubu arasındaki sıkı bağlantı kompleksleri epiteli bazal ve adluminal bölmelere ayırır ki buna bağlı olarak oluşan kan-testis bariyeri spermatogonyumlarla primer spermatositleri daha tepedeki sekonder spermatositler ve spermatidlerden ayırır. Seminifer tübüllerin iyon, aminoasit, karbonhidrat ve protein içeriği kan ve lenf içeriğinden oldukça farklıdır. Kan-testis bariyeriyle oluşan bu fark germ hücrelerinin kan yolu ile gelen zararlı maddelere karşı korunmasını sağlar. Leydig hücrelerinin en önemli görevi erkeklik hormonu olan testesteronu yapmaktır (4).

Spermatogenetik hücreler birbiri üzerine sıralanmış farklı gelişim aşamaları gösterir. Bunlardan bazal membrana en yakın olan spermatogonyumlardır. Lümeneye en yakın bulunan, daha olgun hücreler ise spermatidlerdir. Lümeneye ise spermiyumlar bulunur. Seminifer tübüllerin enine kesitinde spermatogenetik hücreler bazı özellikleri ile birbirlerinden ayır

edilebilirler. İnsanlarda spermatogenez ve spermiyogenez yaklaşık 9 haftalık bir sürede tamamlanır. Herhangi bir tübülde bu dönemde oluşan bütün aşamaları görmek genellikle mümkün olmaz (9). Bazal membranın hemen üzerinde yer alan spermatogonyumlar mitoz bölünme ile spermatogenetik hücreleri oluşturan ana hücrelerdir. Spermatogonyum tipA hücreleri heterokromatik veya ökromatik oval nükleuslu hücrelerdir. Spermatogonyum tip A' nın mitoz bölünmesiyle oluşan Spermatogonyum tipB ise kromotini nükleusun periferinde yoğunlaşmış, yuvarlak nükleuslu belirgin hücrelerdir. Her iki spermatogonyum da soluk boyanan az miktarda stoplazmaya sahiptirler. Heterokromatik nükleuslu tipA spermatogonyumların ana hücreler olduğu düşünülmektedir. Bir seri bölünmeden sonra tip A spermatogonyumlardan tipB spermatogonyumlar oluşur. Tip B spermatogonyumların mitoz bölünmesi ile primer spermatositler oluşur. Primer spermatositlerin birinci mayoz bölünmesi ile sekonder spermatositler oluşur. Bu bölünme ile primer spermatositin diploid kromozom sayısı haploide inmiş olur. Sekonder spermatositlerin ikinci mayoz bölünmesi sonucunda ise spermatidler oluşur. Bu hücreler haploid kromozom ve DNA içeriğine sahiptirler ve bu olaylara spermatogenez denir. Spermatidlerin farklılaşarak hareketli spermatozoonlara (sperm) dönüşmesine spermiyogenez denir. Bu olaylar testislerde gerçekleşir (8).



Şekil 3. Primat testisi: Spermatogenezin evreleri. Hematoksilen & Eozin (12).



Şekil 4. Spermatogenezin evreleri (13).

### 3.3.1. Sertoli Hücreleri

Sertoli hücreleri uzun ve sütuna benzeyen hücrelerdir. Bu prizmatik hücrelerinin tabanı bazal membran üzerine oturur; serbest uçları yayılarak uzanır ve lümene ulaşır (10). Birbirleriyle oluşturdukları bağlantı birimleri arasındaki alanlarda spermatogenetik serinin farklı olgunlaşma evrelerindeki hücreler bulunur.

Çoğalma özelliği göstermeyen sertoli hücreleri bu konumuyla gelişmekte olan spermatogenik hücreleri desteklemek, korumak ve beslemek, spermiyogenezin sonunda spermatidler tarafından atılan rezidual (artık) cisimcikler olarak adlandırılan fazla hücre kısımlarını fagositoz ile elimine etmek, olgun spermatidlerin aktin-aracılı kasılmalarla, spermiyasyon denilen süreç, seminifer tübül lümenine salınımını kolaylaştırmak ve seminifer tübül lümenine proteinler ve iyonlardan zengin bir sıvı salgılamak. Sertoli hücreleri folikül-stimüle edici hormon (FSH) uyarımına cevap verirler (11). FSH androjen-bağlayıcı protein (ABP) sentezini ve sekresyonunu düzenler. ABP testesteron ve dehidrotestesteron androjenlerine yüksek bağlanma afinitesinde olan bir salgısal proteindir. Sertoli hücreleri inhibin ve aktivin alt ünitelerini (alfa ve beta alt üniteleri ) salgırlar. İnhibin (alfa heterodimeri) hipotalamustan ve ön hipofizden salınan gonadotropin salgılatıcı faktör ve FSH üzerine negatif feedback (geri etki) bir etki gösterir. Aktivin (alfa veya beta homodimer) FSH salınımı üzerine pozitif feedback bir etki gösterir. Sertoli -Sertoli bağlantı komplekslerinin kan-testis bariyerleri saptanmıştır. Bu bariyerler immün sistem ile cins hücreleri arasında hertürlü etkileşimi ortadan kaldırarak, antikorların seminifer tübüllere geçmesini önler ve spermatogenetik hücreleri oto-immün reaksiyonlara karşı korur (8).

### **3.3.2. Spermatojenik Hücreler**

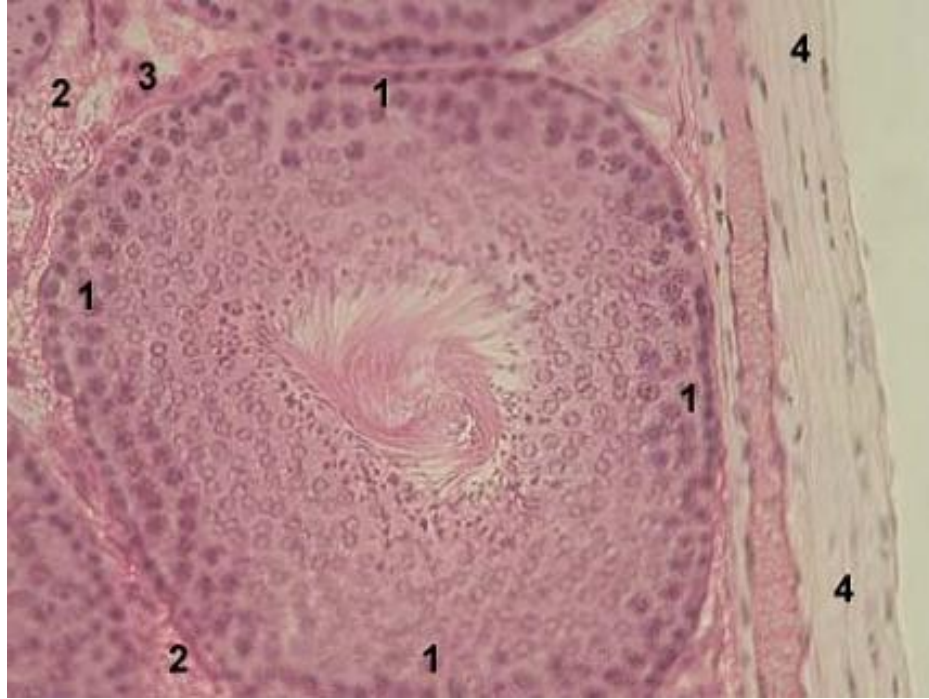
Spermatogenik hücreler; spermatogonyumlar, spermatositler ve spermatidlerdir (11).

### **3.3.3. Leydig Hücreleri**

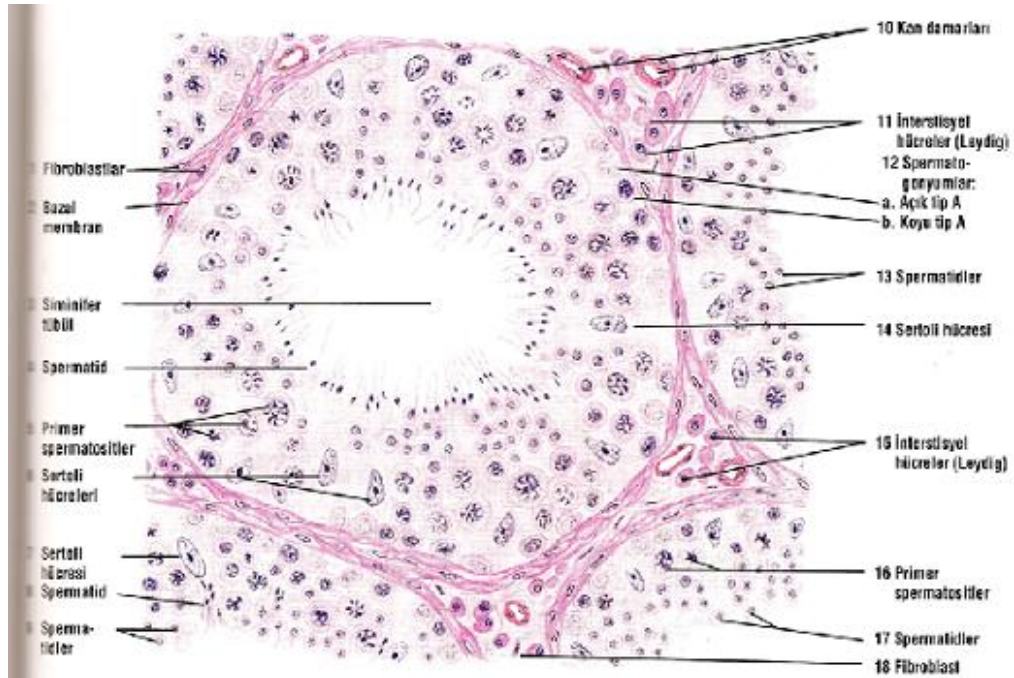
Leydig hücre toplulukları, kan damarları, lenfatik kanal ve sinüzoidler yakınında, inter tübüler alanda yerleşmiştir. Puberteden sonra, bir siklik adenozin monofosfat (cAMP)-aracılı mekanizma tarafından lüteinleştirici hormon (LH) ile uyarılmanın ardından, Leydig hücreleri,  $5\alpha$ -redüktaz enzimi ile dihidrotestosteron'a dönüştürülebilen, testosteron üretir. Serumda bulunan testosteronun yaklaşık %95'i (seks hormon-bağlayıcı globulin, SHBG ve diğer proteinlere tutunmuş halde) Leydig hücreleri tarafından sentezlenir; kalan testosteron adrenal korteks tarafından üretilir (8).

### **3.3.4. İnterstisyel Doku**

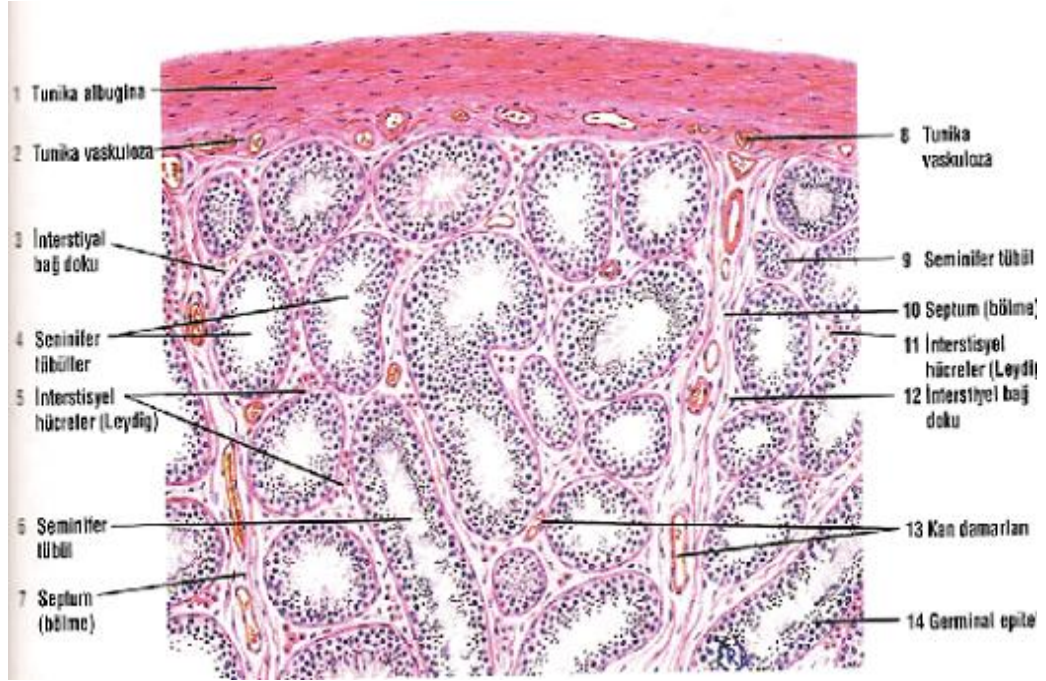
Seminifer tübüller arasında yer alan interstisyel bağ dokusu kan damarları, lenfatikler ve sinirlerden zengin olan gevşek bir bağ dokusudur. Bu dokuda fibroblastlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Pubertede bu hücrelere ek olarak Leydig hücreleri veya interstisyel hücreler olarak adlandırılan hücreler görülmeye başlar. Yuvarlak veya poligonal şekilli, yuvarlak nükleuslu asidofil sitoplazmalı bu hücreler bağ dokusu içinde tek tek veya gruplar ekinde bulunur (9).



**Şekil 5.** Testisin histolojik görünümü (Eosin ve Vitray ile Hematoksilen) 1- seminifer tübül, 2- interstisyel bağ dokusu, 3- Leydig hücreleri, 4-tunikaalbuginea (14).



**Şekil 6.** Primat testisi, seminifer tübülde spermatogenez Boya: Hematoksilen & Eozin (12).



Şekil 7. Testis'in histolojik görünümü Boya: Hematoksilen ve Eozin (12).

### 3.4. Erkek Üreme Fizyolojisi

Erkek üreme fonksiyonu hipotalamus, hipofiz ve testisler olarak üç organ tarafından düzenlenmektedir (15). Erkekte esas üreme fonksiyonu sperm hücrelerini (spermatozoon'u) oluşturmaktır (spermatogenezis'tir). Sperm hücresi testiste oluştururlar. Testis ayrıca erkek cinslik hormonu olan testosteron'u yapar. Testis iki ayrı doku taşır; birisi tubuli seminiferi'den oluşur ve sperm hücrelerini meydana getirir; diğeri interstiyel hücrelerden oluşur ve testosteron hormonunu salgılar. Spermatogenezis için testosteron hormonuna ihtiyaç vardır (16).

### **3.5. Testis'in Endokrin Fonksiyonu**

Testis'in esas hormonu bir steroid olan testosterondur. Bu hormon testis'in Leydig hücrelerinde kolesterolden sentezlenir. Testosteron ayrıca projesteron yoluyla 17-hidroksiprojesterondan da sentezlenir, fakat insanlarda bu yoldan sentez azdır. Testosteron salgılanması LH'nin kontrolü altındadır. LH'nin Leydig hücrelerini uyarması cAMP yoluyla olur. cAMP kolesterol esterden kolesterol şekillenmesini artırır; protein kinazın aktive edilmesi ile de kolesterol pregnenolon'a çevrilir. Kolesterolden pregnenolon sentezi mitokondride olur; pregnenolon mitokondriyi terk eder ve mikrozomal enzimler aracılığı ile projesterona çevrilir. Leydig hücrelerinin endoplasmik retikulumunda projesteron önce androstenedion'a bu da testosterona dönüştürülür (16).

### **3.6. Diabetes Mellitus**

Diyabetes Mellitus (DM), mutlak veya fonksiyonel insülin yetersizliğine bağlı olarak gelişen, yüksek kan şekeri (hiperglisemi) ile karakterize bir hastalıktır. İnsülin eksikliğinin yanı sıra insüline karşı gelişen direnç de DM gelişiminde rol oynamakta ve karbonhidrat başta olmak üzere lipid ve protein metabolizmasında bozuklukla seyreden bir endokrin ve metabolizma hastalığıdır. DM' un etkileri çeşitli organlarda uzun süreli hasar, fonksiyon bozukluğu ve yetersizliği içerir. Klinik olarak karakteristik belirtileri olan susama, poliüri, görme bulanıklığı ve kilo kaybı ile ortaya çıkabilir (17,18).

Pek çok bilinen ve bazı bilinmeyen nedenler olmasına karşın, DM'yi başlatan asıl neden, insülin salınımının azalması ya da tamamen sona ermesidir. Ancak DM'nin gelişiminde doğrudan ya da dolaylı olarak pankreas dışındaki

faktörlerin etkisi de bulunmaktadır. Nörolojik bozukluklar, sağlıksız beslenme, yağlılık, kalıtsal etmenler, karaciğer, enfeksiyon, böbrek üstü bezleri, tiroit ve hipofizdeki patolojik değişimler bu hastalığın nedenleri arasında yer alır. Ayrıca, kortikosteroidlerin doğal olarak yüksek düzeyde bulunması ya da dışarıdan uzun süre kortikosteroid verilmesi şeker hastalığını başlatabilir. Akut şeker hastalığına çok seyrek rastlanılır. Uygun bir tedavi uygulanmadığında birkaç hafta içerisinde ölümle sonuçlanabilir (19).

Günümüzde DM; Tip 1 diabetes mellitus, Tip 2 diabetes mellitus, Gestasyonel diabetes mellitus (GDM) ve diğer spesifik tipler olmak üzere dört ana başlıkta sınıflandırılmaktadır. Spesifik tiplere; beta hücresi fonksiyonel bozukluğu, insülin fonksiyon bozukluğu, ekzokrin pankreas hastalığı, ilaçlar, enfeksiyonlar ve genetik sendromlar örnek olarak gösterilebilir. Fakat bu dört ana başlıktan görülme sıklığı en fazla olan Tip 1 DM ve Tip 2 DM'dir (20).

Tip 1 DM, insülin salgılayan pankreatik  $\beta$  hücrelerinin azalmasına bağlı oluşur. Ciddi ve mutlak insülin yetmezliği bulunur. Tip 2 DM'de ise glukoz yüklemesine karşın göreceli insülin yetmezliği ve buna eklenen periferik dokularda insüline yanıt yetersizliği vardır (21).

### **3.6.1. Epidemiyoloji**

DM'nin tanınması, erken dönemde tanı konması ve tedavi programlarının belirlenmesi için hastalığın epidemiyolojik özelliklerinin bilinmesi önemlidir (22).

National Diabetes Data Group (1979) önerileri doğrultusunda, 1985 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından standardize edilen DM tanı kriterleri, 1997 yılında Amerikan Diyabet Birliği (ADA) tarafından, 1998 ve 1999

yıllarında ise WHO tarafından yeniden düzenlenmiş ve öncesinde 140 mg/dl olan açlık kan şekeri düzeyi 126 mg/dl'ye çekilmiştir. ADA, WHO, Japan Diabetes Society (JDS) gibi bir çok ulusal ve uluslar arası kuruluş sayesinde hemen hemen her yıl, elde edilen klinik ve literatür bilgiler taranarak, diyabetin tanı kriterlerinin güncel kalması sağlanmaktadır (23).

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre, 2000 yılında tüm dünyada en az 171 milyon diyabet hastası (toplam dünya nüfusunun %2.8'i) vardır. Tüm dünyada diyabetin görülme sıklığı hızla artmaktadır ve 2030 yılında yaklaşık 330 milyon kişinin diyabet hastası olacağı tahmin edilmektedir (24). Diyabet tüm dünya da görülen bir hastalıktır ancak, gelişmiş ülkelerde daha sık (özellikle tip 2 diyabet) görülür. Bununla birlikte, diyabet görülme sıklığındaki en büyük artışın, bu bölgedeki nüfus artışı ve toplam nüfus göz önüne alındığında Asya ve Afrika ülkelerinde görüleceği tahmin edilmektedir (24). 2030 yılında en fazla diyabet görüleceği tahmin edilen ülke yaklaşık 80 milyon kişi ile Hindistandır ve bu ülkeyi 40 milyon kişi ile Çin ve 30 milyon kişi ile de Amerika Birleşik Devletleri (ABD) izlemektedir (24).

ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri Hastalığın yıllık maliyetinin 132 milyar dolar olduğu tahmin edilmektedir. Kuzey Amerika'da görülen toplam diyabet vakalarının yaklaşık %5-10'unu tip 1 diyabet vakaları oluşturmaktadır. Bu oran tüm dünyadaki tip 1 diyabet görülme sıklığından biraz farklıdır ancak bu değişikliğin sebebi tam olarak anlaşılamamıştır. Amerikan Diyabet Birliği, ABD Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezleri tarafından, 2000 yılından sonra doğan her Amerikalı erkeğin 3 te 1'i ve her kadının 5 te 2'sinin

hayatları boyunca diyabete yakalanacakları değerlendirmesine dikkat çekmektedir (25).

Amerikan Diyabet Birliği' verilerine göre, 60 yaşından büyük Amerikalıların yaklaşık %18.3'ü (8.6 milyon kişi) diyabet hastasıdır. Diyabetin görülme sıklığı yaş ilerledikçe artmaktadır ve yaşlı nüfusun sayısının artmasına paralel olarak diyabetik hasta sayısının artacağı tahmin edilmektedir. Yapılan bir klinik çalışmaya göre, 65 yaşın üzerindeki nüfusun %18-20'sinde diyabet vardır ve %40'ında da diyabetin erken safhası sayılan glukoz toleransı bozukluğu vardır (26).

Ülkemizde yapılan en geniş çalışma Türkiye Diyabet Epidemiyoloji Araştırması (TURDEP) olup; 20 yaş ve üzerinde, % 45'i erkek ve % 55'i kadın; toplam 24.788 hastadan oluşan, toplum kökenli kesitsel bir alan çalışmasıdır. Bu çalışmada DM prevalansı % 7,2 (daha önce tanı almamış yeni DM % 2,3) ve glukoz tolerans bozukluğu (IGT) prevalansı % 6,7 olarak saptanmıştır. Kadınlarda DM, IGT ve obezite (özellikle kırsal kesimde) daha yüksek bulunmuştur (27).

### **3.6.2. Diabetes Mellitus'un Tanı ve Sınıflaması**

Diyabetin tanısı ile ilgili kriterler son 20 yıl içinde oldukça önemli sayılabilecek bir ölçüde değişime uğramıştır. 1979 yılında ABD'de "National Diabetes Data Group" ve 1980'de Dünya Sağlık Örgütü (WHO) diyabet için tanı ve sınıflandırmaya bir standardizasyon getirebilmek amacı doğrultusunda çalışmalara başlamış ve bozuk glukoz toleransı (BGT-"IGT-Impaired Glucose Tolerance) olarak adlandırılan yeni bir alt grup belirlenmiştir. Bozuk glukoz toleransı açlık glukozunun normal olduğu ancak, glukoz yüklenmesindeki sonraki

2. Saat plazma glukzunun yüksek olduğu grup olarak tanımlanmıştır (28).

Diyabetin spesifik etiyolojiyle teşhis edilen türlerinin artması üzerine 1997 yılında, ADA diyabetin klinik klasifikasyon kriterlerini düzenleyip DSÖ'ye bildirmiştir. Bu ölçütler 1999 yılında DSÖ tarafından bir rapor halinde açıklanmıştır. Yeni sınıflama etiyolojiye göre yapılmıştır. Bu sınıflama ile insüline bağımlı ve insüline bağımlı olmayan diyabetin yerine Tip 1 ve Tip 2 diyabet terminolojisinin kullanılması önerilmiştir. Diyabet 4 ana klinik grup olarak sınıflandırılmıştır (27,29). ADA'nın 2004'te kabul ettiği DM'nin etiyolojik sınıflandırması Tablo 1'de gösterilmiştir (29).

**Tablo 1.** DM'nin etiyolojik sınıflandırılması

---

|                            |
|----------------------------|
| I- Tip 1 Diyabet           |
| a) İmmunolojik             |
| b) İdiopatik               |
| II- Tip 2 Diyabet          |
| III- Diğer spesifik tipler |
| IV- Gestasyonel diyabet    |

---

### **3.6.3. Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları**

Diyabet, akut ve kronik komplikasyonlarla seyreder. Kan şekeri kontrolünün sağlanamaması, kısa veya uzun dönemde sağlık sorunları oluşturur. Diyabet küçük ve büyük damarlarla birlikte sinirlerin de hasar görmesine neden olabilir. Diyabetin neden olduğu bu hasarlar komplikasyon olarak tanımlanır. Diyabetin akut ve kronik komplikasyonları hem Tip 1 hem de Tip 2 diyabetli bireylerde görülebilir. Klinikte retina, renal glomerül ve büyük sinirlerdeki

patolojiler ile ortaya çıkar (30). DM'nin akut ve kronik komplikasyonları gruplar halinde Tablo 2'de gösterilmiştir (31).

**Tablo 2.** Diyabetin akut ve kronik komplikasyonları

---

|                                             |
|---------------------------------------------|
| <b>Akut Komplikasyonlar</b>                 |
| 1. Diyabetik ketoasidoz (DKA)               |
| 2. Hiperosmolar hiperglisemik sendrom (HHS) |
| 3. Laktik asidoz                            |
| 4. Hipoglisemi                              |
| <b>Kronik Komplikasyonlar</b>               |
| <b>Makrovasküler komplikasyonlar</b>        |
| a. Diyabetik kalp hastalığı                 |
| b. Periferik arter hastalığı                |
| c. Serebrovasküler hastalık                 |
| <b>Mikrovasküler komplikasyonlar</b>        |
| a. Diyabetik nöropati                       |
| b. Diyabetik nefropati                      |
| c. Diyabetik retinopati                     |
| <b>Diğer komplikasyonlar</b>                |
| a. Diyabetik ayak                           |
| b. Diyabetik gastroenteropati               |
| c. Genitoüriner bozukluklar                 |
| d. Erektile disfonksiyon                    |

---

### 3.7. Serbest Radikaller

Serbest radikaller için birçok tanım yapılmasına rağmen otoritelerin üzerinde birleştiği tanım; bir serbest radikalın moleküler ya da atomik yörüngesinde bulunan ve genelde çok reaktif olan çiftleşmemiş elektron bulunduran bir kimyasal ürün olduğu şeklindedir. Biyolojik sistemlerde en fazla elektron transferi ile oluşurlar (32).

Canlıda değişik patolojilere yol açan serbest radikaller, hem normal hücresel biyolojik olaylar esnasında oluşurlar hemde makrofajlar tarafından üretilirler. Hedef moleküllerden elektron alma yetenekleri nedeniyle oksidanlar, bu hedef molekülün yapısını veya fonksiyonunu değiştirebilirler. Bu şekilde oksidanlar hücre membranını, genetik materyali (DNA, RNA gibi) ve değişik enzimatik olayları etkileyerek hücre hasarı yapabilirler. Oksidanlar aynı zamanda bağ dokusu komponentleri, proteazlara karşı koruyucu doku komponentleri olan antiproteazlar ve hücreler arası haberleşme ajanları gibi ekstrasellüler bölgeyi de etkileyebilirler (33).

Bu oksidanlar organizmada sitoplazmik, mitokondriyal ve ekstrasellüler formları olan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi enzim sistemleri ile seruloplazmin, transferin, indirgenmiş glutatyon (GSH), metiyonin, vitamin E, vitamin A ve vitamin C gibi antioksidanlar tarafından yıkılırlar. Oksidanlar ve insan hastalıkları arasındaki ilişki antioksidanlar ve oksidan arasındaki dengeye bağlıdır. Bu dengede oksidanlar lehine bir artış olursa, oksidatif strese neden olur ve oksidatif hasar meydana gelir. Bu etkileşim kritik moleküllerde ve yeterli şiddette meydana geldiğinde doku harabiyeti oluşturabilir (33).

Biyolojik sistemlerde en çok üzerinde durulan reaktif oksijen türleri (ROS), nitrik oksit ( $\text{NO}^\cdot$ ), hidroksil radikali ( $\text{HO}^\cdot$ ), süperoksit anyonu ( $\text{O}_2^\cdot$ ) peroksil radikali ( $\text{ROO}^\cdot$ ) ve radikal olmayan hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) gibi serbest radikaller oksidatif stresin en önemli nedenleri olarak bilinir (34)

**Tablo 3.** Reaktif oksijen türleri (35).

| <b>Radikaller</b>                                         | <b>Radikal Olmayanlar</b>                          |
|-----------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Süperoksit anyon radikali (O <sub>2</sub> <sup>-</sup> .) | Hidrojen peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) |
| Hidroksil radikali (HO.)                                  | Lipit hidroperoksit (LOOH)                         |
| Peroksil radikali (ROO.)                                  | Hipohalöz asid (HOX)                               |
| Alkoksil radikali (RO.)                                   | N-Halojenli aminler (R-NH-X)                       |
| Semikinon radikali (HQ.)                                  | Singlet oksijen (1O <sub>2</sub> ) <sup>2</sup>    |
| Organik radikaller (R.)                                   | Ozon (O <sub>3</sub> )                             |
| Organik peroksit radikali (RCOO.)                         | Azot dioksit (NO <sub>2</sub> )                    |
| Nitrik oksid radikali (NO.)                               | Hipokloröz asid (HOCl)                             |
| Hemoproteine bağlı radikaller                             | Peroksinitrit (ONOO-)                              |

Oksidatif denge, serbest radikallerin oluşum hızı ile ortadan kaldırılma hızı organizmada bir denge içinde olmasına denir.

Biyolojik sistemlerde önemli serbest radikallerin çoğu oksijene dayanır. Hücreler hasta ve yaşlı olduğunda fazla miktarda serbest radikal üretirler (36).

### **3.8. Oksidatif Stres**

Oksidatif stres, diyabetin etiyolojisinde önemli bir mekanizmadır. Serbest radikaller vücutta üretilir ve sürekli olarak çevresel uyarılarla etkileşim halindedir. Antioksidanlar fizyolojik olarak serbest radikal üretiminin olumsuz etkilerine karşı vücudu savunur (37).

DM, günümüzde dünyada hızlıca yayılan, yüksek mortalite ve morbidite riski taşıyan bir hastalıktır. Oksidatif stresin diyabet etiyolojisinde ve ilerlemesinde rolü olduğu, deneysel olarak diyabet yapılan sıçanlarda ve diyabetik

hastalarda serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonun yüksek oranda arttığı saptanmıştır (38).

### **3.8.1. Diyabet ve Oksidatif Stres**

Oksidatif stres, oksidan oluşumu ve antioksidan savunma arasındaki dengenin oksidanlar yönünde bozulmasıdır. Oksidatif stres; yaşlanma, kanser, kalp hastalıkları, diyabet ve diyabetin komplikasyonları başta olmak üzere pek çok patolojik durumun ve de yaşlanmanın patogeneziyle yakın bir ilişki vardır. Diyabette oksidatif stres pek çok mekanizmaya bağlı olarak artabilmektedir, ancak bu mekanizmaların kesin katkısı tam olarak kanıtlanmış değildir. Çok sayıdaki deneysel bulgular artan reaktif oksijen ve nitrojen türlerinin oluşumunun ve zayıflayan antioksidan savunmanın mekanizmaların temelini oluşturduğu söylenmektedir (39).

Oksidatif stres, diyabet ve diyabetin daha sonraki komplikasyonlarının patogeneziinde önemli bir role sahiptir. Serbest radikaller, bir veya daha fazla ortaklanmamış elektron ihtiva eden atom veya moleküllerdir. Bu tip maddeler, ortaklanmamış elektronlarından dolayı oldukça reaktiftirler (40).

Serbest radikaller birçok hastalık sürecinde önemli rol oynarlar. Miyokardiyal enfarktüs, diyabet, kanser, katarakt, romatoid artrit, infertilite, solunum, sinir ve üriner sistem hastalıkları ile stres ve yaşlanma sürecinde antioksidan enzim düzeylerinde önemli değişiklikler ve lipid peroksidasyonunda artış, birçok araştırmacı tarafından söylenmiştir (41).

Serbest radikaller ile antioksidan savunma sistemi arasındaki hassas dengenin prooksidan ve oksidan maddelere doğru kayması DM'de oksidatif stresin gelişmesine yol açar (42).

Beta hücre apoptozuna yol açtığını ve glukasyon aracılı serbest radikal üretiminin insülinin gen transkripsiyonunu azalttığını gösteren çalışmaların sonucu bu görüşü destekler özelliktedir (43).

Oksidanlar, organizmada başlıca glukozun oksidasyonu sırasında olmak üzere tüm anabolik ve katabolik reaksiyonlar sırasında ve sonrasında sürekli bir oluşum ve antioksidan adı verilen moleküller tarafından da sürekli etkisizleştirme süreci içindedirler. Çünkü canlı organizma gerek dış ve gerekse iç etkilerin (stres, salgı maddeleri gibi) uyarılması ile her an zorlanmakta ve travmatize edilmektedir. Bu zorlamalar sırasında zaman zaman oksidan moleküller belirli düzeylerin üstüne çıkmaktadır (44).

Serbest radikaller; DM, infeksiyöz hastalıklar, kanser ve ateroskleroz gibi birçok hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadırlar (45).

Diyabet ve diyabet komplikasyonlarının reaktif oksijen türleri ile olan ilişkisini gösteren çalışmalarda, nonenzimatik glikasyon, enerji metabolizmasındaki değişikliklerden kaynaklanan metabolik stres, sorbitol yol aktivitesi, hipoksi ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının serbest radikal üretimini arttırdığı ve antioksidan savunma sistemini değiştirdiği vurgulanmaktadır. Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin ekspresyonlarının ve antioksidan kapasitenin pankreas adacık hücrelerinde, karaciğer, böbrek, iskelet kası ve adipoz doku gibi diğer dokularla kıyaslandığında en düşük düzeyde olduğu bilinmektedir. Oksidatif

strese en duyarlı yapılardan biri olduğu da bilinen beta hücrelerinde gözlenen hasarın, hipergliseminin toksik etkilerinden kaynaklandığı düşünülmektedir(32).

#### **3.8.1.1. Glukozun Oto-oksidasyonu ve Süperoksit Üretimi**

Bir geçiş elementinin varlığında glukoz, reaktif ketoaldehitlere ve süperoksit anyonuna dönüştürülür. Reaksiyonlar zinciri, süperoksit radikalının hidrojen peroksit üzerinden son derece reaktif olan hidroksil radikali oluşturmasıyla sonlanır. Hücre içi glukoz oksidasyonu redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfatın (NADH) açığa çıkmasına sebep olur. Solunum zincirinde oksidatif fosforilasyon yoluyla ATP üretimi için gerekli enerjiyi sağlamak üzere NADH kullanılır. Solunum zincirindeki bu reaksiyonda süperoksit radikali oluşur (46,47).

#### **3.8.1.2. Proteinlerin Glikolizasyonu ve İlerlemiş Glikolizasyon Son Ürünleri Oluşumu (AGEs: Advanced glycation end-products)**

Protein glikolizasyonu glukozun aldehid formuyla proteinlerin serbest amino grupları arasındaki kovalent bağlanmalarla oluşur. Geçiş metallerinin varlığında (demir, bakır vs.) glikolizasyona uğramış proteinler moleküler oksijene bir elektron vererek serbest radikaller oluşur. Daha sonra bu olayın geçiş metallerinin yokluğunda da meydana gelebileceği belirtilmiştir. Proteinin yarı ömrünün 10 haftadan uzun olduğu durumlarda glikolizasyona uğramış proteinler geri dönüşümsüz modifikasyonlarla Maillard ürünlerini ya da AGEs'i oluştururlar. Glikolizasyona uğramış proteinler gibi, AGEs de serbest oksijen radikalleri oluşturabilirler. Ayrıca, ROS da AGEs'in oluşumunu hızlandırmaktadır (48).

### **3.8.1.3. Poliöl Yolunun Aktivasyonu**

Aldoz redüktaz bir oksidoredüktazdır. Bağımlı bir enzim olan NAD(P) Glukoz da dahil olmak üzere çeşitli karbonil bileşiklerini indirger. Glukoza ilgisi az olduğundan diyabetli olmayan hastalarda normal glukoz konsantrasyonlarında glukozun bu metabolizma ile kullanımı azdır. Hiperglisemide hücre içi glukoz konsantrasyonunun artması bir polialkol olan sorbitolun oluşumunu artırır. Bu sırada NADPH da azalır. Sorbitol, sorbitol dehidrogenazın etkisiyle fruktoza oksitlenirken NAD de NADH'a indirgenir. Sorbitolün NAD<sup>+</sup> ile oksidasyonuyla sitozolde NADH/NAD oranı yükselir. Gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz inhibe olurken trioz fosfatların da konsantrasyonları artar (49,50).

Trioz fosfat artışı AGE'lerin öncülü olan metil glioksal ve protein kinaz C aktivatörü, diaçil gliserol (DAG) oluşumlarını artırır. Glukozun sorbitole dönüşümünde NADPH harcandığından NAD(P) bağımlı bir enzim olan glutatyon redüktaz aktivitesi azalır bu da glutatyon yenilenmesinin azalmasına sebep olur. Oksidatif stres böylelikle indüklenir ya da şiddetlenir (51,52).

## **3.9. Antioksidanlar**

### **3.9.1. Antioksidan Mekanizmalar**

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar antioksidan savunma sistemleri ya da antioksidanlar olarak bilinmektedirler. Süperoksit radikalleri enzimatik dismutasyonla temizlenirken, antioksidan olarak bilinen fakat enzim olmayan bileşikler de organizmada oksijen radikallerinin temizlenmesini sağlarlar. Bu kimyasal bileşiklerin en önemlileri A, E ve C vitaminleridir. Enzimler oksidanları tutarak daha zayıf bir moleküle

dönüştürmektedirler. Vitaminler ve flavanoidler gibi bileşikler, oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirmektedirler. Oksidanların oluşturduğu hasarı onaran antioksidanlar da bulunmaktadır. Ağır metaller, hemoglobin, seruloplazmin ve E vitamini oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engellerler (35).

**Tablo 4.** Antioksidanların sınıflandırılması (53).

| <b>Endojen Kaynaklı Antioksidanlar</b> |                            |                             |
|----------------------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| <b>Enzim olanlar</b>                   | <b>Enzim olmayanlar</b>    |                             |
| Süperoksit dismutaz (SOD)              | Melatonin                  | Ferritin                    |
| Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)          | Seruloplazmin              | Bilirubin                   |
| Glutasyon S-Transferazlar (GST)        | Transferin                 | Glutasyon                   |
| Katalaz (CAT)                          | Miyogloblin                | Sistein                     |
| Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi | Hemoglobin                 | Metiyonin                   |
| Hidroperoksidaz                        | Albumin                    | Ürat                        |
| Laktoferrin                            |                            |                             |
| <b>Eksojen Kaynaklı Antioksidanlar</b> |                            |                             |
| <b>Vitamin Antioksidanlar</b>          | <b>İlaç Antioksidanlar</b> | <b>Gıda Antioksidanları</b> |
| $\alpha$ -tokoferol (vitamin E)        | Allopürinol, Oksipürinol,  | Butylated hydroxytoluene    |
| $\beta$ -karoten                       | Pterin aldehit, Tungsten   | (BHT)                       |
| Askorbik asit (vitamin C)              | Adenozin, Lokal            | Butylated hydroxyanisole    |
| Folik asit (folat)                     | anestezikler, Kalsiyum     | (BHA)                       |
| kanal blokerleri                       | Sodium benzoate            |                             |
| Diphenylene iodonium                   | Ethoxyquin                 |                             |
| Barbitüratlar, Mannitol,               | Propylgalate               |                             |
| Albümin, Sitokinler,                   | Fe-superoxyde dismutase    |                             |
| Barbitüratlar, Demir şelatörleri,      |                            |                             |
| Nötrofil adezyon inhibitörleri v.b.    |                            |                             |

### **3.9.2. Enzim Yapısındaki Antioksidanlar**

Süperoksit Dismutaz (SOD), Katalaz (KAT), Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px), Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PD), Glutasyon Redüktaz (GR), Paraoksonaz (PON) ve Glutasyon S-Transferaz (GST) enzim yapısındaki antioksidanlardır (32, 33).

#### **3.9.2.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)**

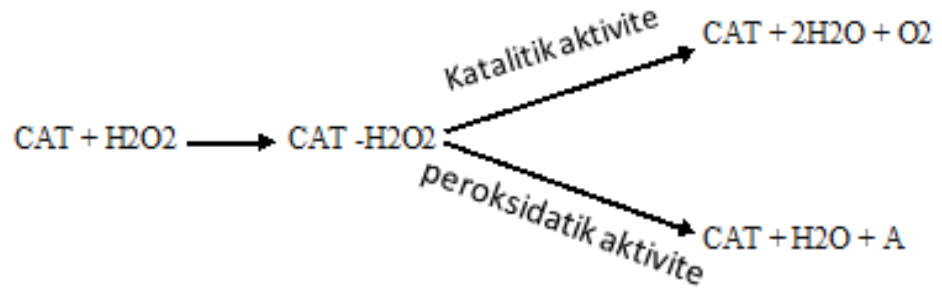
Endotel hücreleri ile düz kas hücreleri arasında çok fazla bulunan ve vasküler endotelde var olan en önemli antioksidan enzimlerden biridir. Normalde damar duvarında süperoksit radikallerini detoksifiye ederler. Bu şekilde lipid peroksidasyonunu ve ateroskleroz gelişimini inhibe ederler. Hücrede serbest oksijen radikalleri oluşurken ilk basamakta  $O_2^-$  olduğu ve SOD enzimi bu radikalın dismutasyonunu sağladığından, hücre içindeki ilk savunma sistemini bu enzim yapmaktadır (54).

#### **3.9.2.2. Katalaz (KAT)**

Katalaz ( $H_2O_2$ :  $H_2O_2$  oksidoredüktaz, EC 1.11.1.6) yapısında dört tane hem grubu bulunan hemoproteindir. Kan, kemik iliği, müköz membranlar, karaciğer ve böbrekte yüksek miktarda bulunmaktadır. Katalaz hidrojen peroksidi ( $H_2O_2$ ) suya ve oksijene parçalar (55).

Katalaz enzimi esas olarak peroksizomlarda lokalize olmakla birlikte endoplazmik retikulum ve sitozolde de yoğundur. Aktivitesi karaciğer, böbrek, miyokard, çizgili kaslar ve eritrositlerde yüksektir. Aşağıdaki reaksiyonda ifade edildiği üzere katalazın peroksidatik ve katalitik olmak üzere iki fonksiyonu vardır. Katalazın temel fonksiyonu olan  $H_2O_2$ 'in enzimatik parçalanmasının

yanında (katalitik aktivite); düşük  $H_2O_2$  konsantrasyonunda, metil veya etil hidroperoksitler, metanol, etanol, fenol gibi küçük moleküllü elektron vericilerini indirgeyebilme özelliği de (peroksidatik aktivite) bilinmektedir. Fakat katalaz, lipid peroksitleri gibi büyük molekülleri indirgeyememektedir. Enzim bir molekül  $H_2O_2$ 'den elektron alarak onu oksitlerken kendisi redüklenir, bir diğer molekül  $H_2O_2$ 'e elektron vererek onu indirgerken kendisi oksitlenerek başlangıçtaki durumuna döner (56).



Şekil 8. Katalazın peroksidatik ve katalitik fonksiyonu (56).

Kanser, diyabet, katarakt, ateroskleroz, iskemik-reperfüzyon hasarı, artrit, nörodejeneratif hastalıklar, beslenme yetersizliği ve yaşlanmayı içine alan pek çok patolojik şartlarda ortaya çıkan oksidatif strese karşı savunmada antioksidan sistemin öncelikli enzimleri katalaz ve glutatyon peroksidazdır (57).

### 3.9.3. Enzim Yapısında Olmayan Antioksidanlar

C vitamini, E vitamini, A vitamini, glutatyon, ürik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve bilirubin enzim yapısında olmayan antioksidanlardır (58).

### 3.10. Testis ve Oksidatif Stres

Spermatogenez saniyede 1000 sperm üretebilme kapasitesine sahip ve aktif olarak sürekli tekrarlanan bir süreçtir. Bu süreçte doğal olarak meydana gelen hücre bölünmesi, germinal epitel tarafından yüksek oranda mitokondriyal oksijen tüketimini göstermektedir. Testisteki zayıf vaskülarizasyona bağlı olarak oksijen miktarının düşük olması sonucu bu oksijene olan rekabet oldukça şiddetlidir. Ayrıca fazla miktarda doymamış yağ asitlerinin ve ROS oluşturan sistemlerin varlığı nedeniyle testis oksidatif strese karşı hassas hale gelmektedir (59).

Hem spermatogenez hem de Leydig hücrelerindeki steroidogenez, oksidatif stresle hasar görebildiği ve bu dokudaki düşük oksijen miktarı nedeniyle, testisin kendini serbest radikallerin hasarından koruyabileceği mekanizmalar önem kazanmaktadır (59). Testis bu korunmayı sağlamak için; çeşitli antioksidan enzimler ve serbest radikal temizleyiciler içermektedir. Bu antioksidan savunma sistemleri oldukça önemlidir. Testis, steroidogenez ve sperm üretimini desteklemek amacı ile antioksidan açıdan korunmasına rağmen, bazı endojen ve ekzojen faktörlerin bu savunmayı alt üst ettiği ve oksidatif stres meydana getirdiği bilinmektedir (Kriptorşidizm, testiküler torsiyon, varikosel, hipertiroidizm, diyabet, enfeksiyon, reproduktif hormon dengesizliği, zenobiyotiklerin etkisi vs.). Bunların sonucunda; erkek germ hücre hattında DNA hasarı, spermatozoada DNA hasarı, testiküler antioksidan enzim aktivitesinde bozukluk, oksidatif stres indüklenmesi, lipid peroksidasyonunun indüklenmesi, ROS temizleyicilerinin kaybı ve testiküler SOD ile KAT'ın baskılanması görülmektedir (58). Oksidatif stresin erkek infertilitesindeki önemi, ilk kez 1943 yılında İskoç androlog John

MacLeod'un aerobik şartlarda enkübe edilen insan spermazoonların hareketliliğinin KAT eklenmesi ile arttığını göstermesi ile başlamıştır (60). Diyabet, vücut ve reproduktif organ ağırlıklarının azalmasıyla, testislerde ve epididimislerde sperm sayısında azalmaya neden olur (61).

Oksidatif stres kaynaklı rahatsızlığı bulunan hastalarda endojen kaynaklı antioksidanlar etkili olmadığı için, oksidatif hasarı azaltabilecek diyet sadece dışardan alınacak antioksidanlarla mümkün olmaktadır (Örn: Vitamin E, C, Melatonin) ve spermin kalitesini yapılan antioksidan tedavi ile artmaktadır. Bu tedaviyle lipid peroksidasyon potansiyelinin azaltılması fertilizasyon oranlarının artmasıyla paralellik göstermektedir (62-67).

### **3.11. Diyabet ve Testis**

DM'nin uzun zamandır tanımlanmış bir sonucu da anormal sperm yapımı ve üremedeki engeldir. Diyabetik erkeklerde infertilite ortak etkidir (68-71). Testis; steroidogenez ve sperm üretimini desteklemek amacı ile antioksidan açıdan korunmasına rağmen, bazı endojen ve ekzojen faktörlerin bu savunmayı alt üst ettiği ve oksidatif stres meydana getirdiği bilinmektedir.

Meydana gelen rahatsızlıklar; kriptorşidizm, testiküler torsiyon, varikosel, hipertiroidizm, diyabet, enfeksiyon, reproduktif hormon dengesizliği, zenobiyotiklerin etkisidir (72).

İnsanlarda ve deney hayvanlarında diyabetin, gonadal fonksiyonlarını etkileyerek, düşük testosteron düzeyleri, testiküler disfonksiyon ve yetersiz spermatogenez oluşturduğu gösterilmiştir. Testislerde, tunika albugineada,

seminifer tubüllerde, interstisyel bağ dokusu içinde ve Leydig hücrelerinde diyabete bağlı olarak histolojik değişiklikler izlenmektedir (73).

STZ ile oluşturulan diyabet sonucu fertilite, proliferasyon yeteneği, testiküler sperm sayısı, hareketliliği ve testiküler ağırlık belirgin olarak azalır. STZ uygulanmasıyla testiste germ hücre sayısında azalma, Sertoli ve Leydig hücre vakoulizasyonu, Leydig hücrelerinin sayısında ve fonksiyonunda azalma gözlenir (74). Diyabet sıçanların testiküler germ hücrelerinde apoptozisde artış gözlenmektedir (75).

### **3.12. Apoptozis**

#### **3.12.1. Apoptozisin Tanımı ve Tarihçesi**

Apoptozis kelime anlamı olarak çiçeklerin taç yapraklarının ya da ağaçların yapraklarını dökmesi ile benzeştirilen “yaprak dökme” anlamına gelen bir terimdir. Programlı hücre ölümü adıyla da anılan bu süreç, hücrede bazen yeni proteinlerin sentezini, hücre iskeletinin yıkımı için bazı proteaz enzimlerin ve DNA'nın parçalanması için DNaz'ların aktif hale geçmesini tetikleyen, aktif olarak düzenlenen bir süreçtir. Apoptoz çok hücreli bir organizmanın embriyonik dönemdeki gelişiminden başlayarak erişkin bir organizma olarak varolmasına ve yaşlanmasına dek birçok gelişim aşamasında organizmada homeostazisin sürmesini sağlayan önemli bir fizyolojik işlevdir (76).

Apoptoz, homeostazisin korunmasında embriyonik dönemde ekstremitelerin ve içi boş organların oluşumunda, dişi fetüste Wolf ya da erkek fetüste Müller kanallarının körelmesi sırasında ve merkezi sinir sistemi gelişiminde nöron sayısının düzenlenmesinde yer alarak; doğumdan sonra T ve B

lenfositlerin seçiminde temel bir işlev yürüterek, ayrıca DNA'sı ağır hasar gören ya da virüsle infekte hücrelerin ölümünü sağlayarak temel bir rol oynar. Ayrıca büyüme faktörlerinin ortamdan çekildiği koşullarda (emzirme sonunda meme bezinin, doğum sonrası uterusun) organlarda gerçekleşen küçülmenin de temel mekanizması, ilgili organlardaki hücrelerin apoptozla ölümüdür. Hücre zarının ya da hücredeki metabolik süreçlerin çok hızlı ve ağır biçimde hasar gördüğü ve hızla bozulan zar geçirgenliğinin hücrenin şişmesi ve zarın patlayarak hücre içi maddelerin dışarı saçılmasıyla sonuçlanan nekrotik süreçten farklı olarak apoptozda zar bütünlüğü bozulmaz (76).

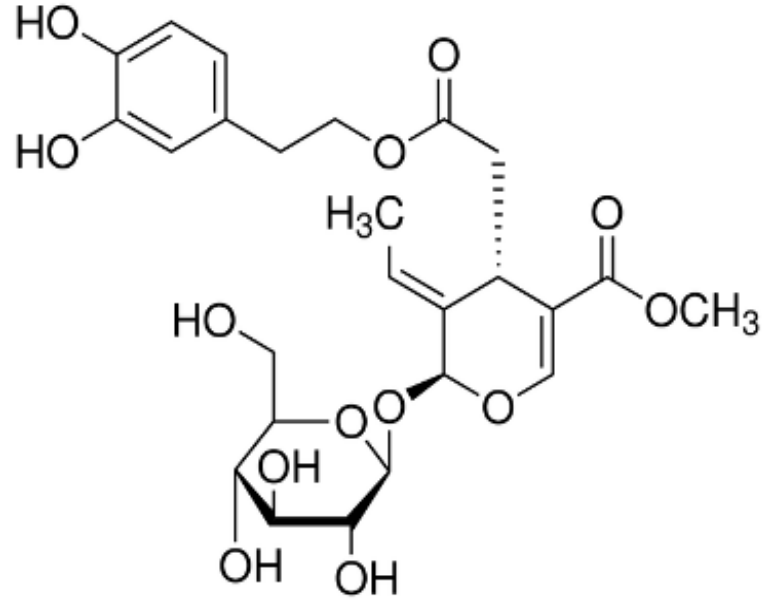
### **3.12.2. Apoptozisin Biyolojik Süreçlerdeki Rolü**

Apoptozis birçok biyolojik süreçte etkin rol oynamaktadır. Dokuların gelişmesi, yaşlanması ve kanama kontrolünün sağlanmasında olduğu gibi, normal dokulardaki hücre topluluklarının korunması sürecinde de meydana gelmektedir (77). Deri, barsak epiteli, kan hücreleri gibi hücre yenilenmesinin hızlı olduğu dokularda yaşanan hücreler apoptozisle ortadan kaldırılırlar. Embriyogenez ve metamorfoz sürecinde; fetusun implantasyonundan organogeneze kadar tüm gelişim sürecinde apoptozis rol alır. Embriyolojik süreçte; parmak aralarındaki zarın, sinir sisteminde istenmeyen nöronların ortadan kaldırılmasında apoptozis rol oynar. Erişkinde hormona bağlı involüsyonda; örneğin, menstrüel siklusta endomentriyal hücre yıkımı, menapozda folikül atrezisi, laktasyonun kesilmesinden sonra meme bezlerinin küçülmesinde apoptozis görülür. Bağışıklık sistemi hücrelerinin seçiminde de apoptozis önemli rol oynamaktadır. Apoptozisin en klasik örneği sayılan yenidoğan timusunun involüsyonu sonucunda T

lenfositlerin yaklaşık % 98'i seleksiyona uğramaktadır. B hücrelerinde ise apoptozisin baskılandığı belirtilmektedir. Bunun fizyolojik önemi, B lenfositlerinin duyarlı olduğu uyaranla yeniden karşılaşması durumunda hazır bulunmasını sağlamaktır (78). Ayrıca zararlı ajanların veya hastalıkların yaptığı hücre hasarlarına veya immun reaksiyonlara yanıtta da rol almaktadır (79). Apoptozisin bir dokuda uygunsuz bir şekilde az veya yetersiz meydana gelmesiyle birçok nörodejeneratif hastalık, iskemik hasar, otoimmun hastalık ve kanser tipi meydana gelebilmektedir (77).

### 3.13. Oleuropein

#### 3.13.1. Yapısı ve Özellikleri



Şekil 9. Oleuropeinin kimyasal yapısı (80).

|                    |                                                   |
|--------------------|---------------------------------------------------|
| Görünüm            | : Açık sarı                                       |
| Moleküler ağırlığı | : 540,51g/mol                                     |
| Moleküler formül   | : C <sub>25</sub> H <sub>32</sub> O <sub>13</sub> |

Olea europaea yaprakları dar ve uzun, üstü tozlu- yeşil ve altı gümüşümsü-beyazdır. Yerli ve antik çağlardan bu yana Akdeniz’de yetişen zeytin ağacı, zeytin yaprağında bulunan olea europaea’nın tıbbi özellikleri bilinmektedir. İncilde ilk kez botanik dikkate alınmış, Hezekiel 47:12’de ‘‘Bu meyvelerin özü ve yaprağı tıp için kullanılacaktır.’’ şeklinde tanımlanmıştır. Eski Mısırlılarda kraliyet ailesi üyelerini mumyalamada kullanılmış ve Yunanlılar’da dahil olmak üzere diğer kültürlerde de halk, yüksek ateşi tedavi etmek için bitkisel bir ilaç olarak kullanmışlardır (81).

Modern zamanda zeytin yaprağının ilk kullanımı 1843 yılında İngilterede Daniel Hambury tarafından zeytin yaprağının acı özü sıtmanın neden olduğu ateşin tedavisinde kullanılmıştır. Bu bulgular 1854 yılı *Pharmaceutical Journal* dozaj talimatları ve tedavi edici çayı yapmak için bir reçete ile birlikte bildirilmiştir (82). King'in Amerikan Dispensatory'da, iyice kaynatılan zeytin yaprağı, vücut ısısının düzenlenmesinde yararlı olduğu yer alıyordu (83). Son yüzyılda, zeytin yaprağı ekstraktı hem insanlarda hemde hayvanlarda çalışılmış ve parazit, maya, bakteri ve virüslere karşı güçlü antimikrobiyal özellikleri tespit edilmiştir. Zeytin yaprağı ekstraktı bazı hipoglisemik, antioksidan aktivite ile birlikte birçok kardiyovasküler yararları da vardır (84).

### **3.13.2. Aktif Bileşenler**

Primer zeytin yaprağı bileşenleri sekoiridoits (oleuropein ve türevleri), hidroksitirosol (84), polifenoller (verbascoside apigenin-7-glükoz ve luteolin-7-glükoz) (85), oleanolic asit içeren triterpenler (86) ve flavonoidlerdir (rutin ve Diosmin) (87). Bu bileşenler ağacın meyve ve yapraklarını patojen ve böcek hasarlarına karşı direnç oluştururlar (88). İlk 1908 yılında zeytin yaprağı ekstraktı, oleuropein izole edilerek birçok tedavi edici özelliğinin olduğuna inanılmaktadır (89).

### **3.13.3. Kimyası**

OLE, *Oleaceae*, *Gentianaceae*, *Cornaleae*, familyalarında ve bunun yanı sıra pek çok diğer bitkilerde bol miktarda bulunan secoiridoit grubu bir bileşiktir. Iridoit ve secoiridoit genellikle glikozidik bağlı bileşiklerdir ve çeşitli

indol alkaloidler öncüleri olarak terpenlerin sekonder metabolizmasında üretilmektedir. *Oleaceae* familyasındaki secoiridoitler ekzosiklik 8,9-olefinik bağ tarafından karakterize edilen, elenolik asit ve glikoz kalıntısının kombinasyonu oleosid türevleridir. *Oleaceae* secoiridoit glikozitlerine özgü oleosid iskeletine sahip olan ve oleuropein 2-(3,4- dihidroksifenil) ethanol (hidroksitirosol)'un bir esteridir, esas olarak aglycone formudur şeker kısmı yağ içinde çözülmez (90).

#### 3.13.4. Oleuropeinin Biyosentezi

Oleosides oluşumu ile sonuçlanan *Oleaceae familyasındaki* OLE biyosentezi, ikinci metabolizma mevalonik asit aracılığı ile dallanarak oluşur (91). Bu bileşiklerden, secoiridoids türetildi (92). Oleosid biyosentezi Gentianales and Cornales familyalarında secoiridoit benzeri secologanın türevleridir. Bu bileşikler içinde, karbon iskeletini mevalonik asit oluşturur. Geraniol, 10-hydroxygeranoil yanı sıra 10-hydroxynerol ve iridoidal loganın öncüleri olarak bilinmektedir. Daha sonra, 7-ketologanik asit aracılığı ile deoksiloganik asit, 7- epiloganik asit ve oluşumundan sonra, gerçekleşen bir dizi dönüşüm sonucu OLE'nin direk prekürsörü olan ligstrosit meydana gelmektedir. Deoksiloganik asit ve 7-ketologanik arasındaki gerçekleşen dönüşümlerin bitki türüne ve yılın belli zamanlarına göre değişiklik gösterdiği belirtilmektedir (93). *O. europaeada*, secologanın ve secoxyloganın her ikisinde de epoksitler OLE'nin öncüleri olabilir (92).

*Oleaceae* familyasındaki OLE'nin, deoxyloganic asit, 7-epiloganic asit, 7-ketologanic asit, 8-epikingisidic asit, oleoside 11-metil ester,

7- $\beta$ -1-D-glucopyranosyl 11-metil oleoside, ligustroside ve OLE olmak üzere Damtoft ve ark. tarafından öngörülen biyosentez yoludur (92).

### **3.13.5. Oleuropein ve Sağlık**

OLE çeşitli farmakolojik özelliklere sahiptir (94). Bunlar; anti-enflamatuar, anti-aterojenik, antioksidan, anti-kanser, antimikrobiyal, antiviral, akut kalp koruyucu adriamisin kardiyotoksisite karşı olduğu gösterilmiş ve anti-iskemik ve hipolipidemik aktiviteler sergilediği de gösterilmiştir (95-101).

### **3.13.6. Etki Mekanizmaları**

#### **3.13.6.1. Hipoglisemik Etkisi**

Grenadalı araştırmacılar zeytin yaprağının vazodilatör özellik göstermesi ve hayvanların kan şekeri seviyeleri üzerinde olumlu etkisi olduğunu ispat etmişlerdir. Alloksana bağlı diyabet olan sıçanlarda, 16 ve 32 mg / kg 'lık dozda önemli ölçüde kan glikoz değerleri azalmış ve doza bağlı olarak periferik glikoz alımını artırmıştır (102). Onun luteolin ve oleanolic asit bileşenlerinin de diyabetik sıçanlarda tokluk şekeri artışı üzerinde inhibitör etkisi olduğu gösterilmiştir (103).

#### **3.13.6.2. Antimikrobiyal Etkisi**

1969 yılında araştırmacılar zeytin yaprağı bileşenlerinin çok sayıda virüs, parainfluenza içeren, herpes pseudorabies ve bazı palio türlerine karşı kuvvetli bir in vitro inhibitör olduğu ispat edilmiştir. Çeşitli soğuk ve grip virüsleri dahil olmak üzere neredeyse her virüs OLE kalsim elenolater kurucuya maruz kaldığında inaktif olur (104). Daha yakın zamanda, zeytin yaprağı özü proteaz

transkriptazın zıt nötralizasyon replikasyon yoluyla insan immünyetmezlik virüsünü inhibe ettiği gösterilmiştir. (104,105).

Ayrıca zeytin yaprağı viral enfeksiyon riskini önler, kritik amino asit üretimine müdahale eder ve viral dökülmeyi durdurur (104,106).

Zeytin yaprağı özü, aynı zamanda sıtmaya neden olan Plasmodium falciparum dahil olmak üzere birçok gram negatif ve gram pozitif mikroorganizmalar üzerinde olan inhibitör etkisi yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (107,108).

Antibakteriyal aktivite, bakteri çoğalmasında önemli hücresel enzimlerin aktivasyonu yoluyla olduğu düşünülmektedir. Sonuç olarak hücre membranı üzerinde glutamat, potasyum ve fosfor gibi bileşenler hücre içinde doğrudan sızıntı oluşturur (109). Bir başka çalışmada E. coli, K. pneumonia ve B. cereus'a karşı fenolik bileşiklerin ve oleuropeinin inhibe edici özellikleri bir başka çalışmada gösterilmiştir (110).

#### **3.13.6.3. Antioksidan / Anti-İnflamatuar Etkisi**

2007 yılında, Avustralyalı araştırmacılar antioksidan kapasiteye sahip 55 tıbbi bitkiyle yaptıkları çalışmalarında, zeytin yaprağı ekstresinin çalışılan tüm bitkilerden daha yüksek radikal temizleme aktivitesine sahip olduğunu bildirmişlerdir ve Camelia sinensis (green tea) ve Silybum marianum (milk thistle) ise iki kat fazla olarak bulundu (111). Oleuropein hem in vitro hemde tavşanlarda düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunu (LDL), azalttığı gösterilmiştir (112,113). Zeytin yaprağı özü, aynı zamanda trombosit agregasyonu ve tromboksan A<sub>2</sub> üretiminin inhibisyonuyla antiinflamatuar etkiye (anti-kompleman aktivitesi muhtemelen atfedilebilir) sahiptir (114,115).

OLE glutatyon sistemini kullanarak antioksidan savunma mekanizmalarına olumlu yönde etki eder. Süperoksit ve hidroksil radikallerine karşı temizleyici olarak işlev görür. Verildikten iki saat sonra OLE plasmada maksimum konsatrasyona ulaşarak, mide ve jejunumdan emilir. En önemli metaboliti hidroksitirozoldür ve idrardan glukoronid metaboliti olarak atılır (116).

De la Puerta ve ark. göre, OLE nitrik oksit temizleme ve hücredeki nitrik oksit sentaz (iNOS) artışına neden olur (117).

Coni ve ark. zeytinyağı ve OLE içeren özel diyetlerle beslenen laboratuvar tavşanlarıyla bir çalışma yapmışlar. Sonuçlar OLE ilavesiyle oksidasyona karşı LDL yeteneği artırdığını göstermektedir ve aynı zamanda, toplam plazma seviyelerini, serbest ve esterlenmiş kolesterolü azaltır (113).

Manna ve arkadaşları tarafından OLE'nin potansiyel koruyucu etkisi izole sıçan kalplerinde incelenmiştir. Yazarlara göre, çalışmanın bulguları zeytinyağının sağlığa faydalarını zeytinyağında mevcut oleuropein türevleri ile ilgili olduğu hipotezini güçlendirmektedir (118).

### **3.13.7. Oleuropein ve Diyabet**

In vitro ve hayvan çalışmaları zeytin yaprağı özünün bir hipoglisemik etki gösterdiğini kanıtlamıştır. Alloksana bağlı diyabetik sıçanlarda, OLE 16 ve 32 mg / kg vücut ağırlığı arasındaki dozlarda, insülin düzeylerini yükselttiği ve kan glukoz düzeylerini azalttığı, periferik glukoz alımını artırdığını göstermişlerdir (119). Diyabetik tavşanlarda, 16 hafta boyunca 20 mg / kg dozunda verilen OLE kan glukoz düzeylerini normale getirdiğini ve diyabetle oluşan hasarı azalttığını gözlemlemişlerdir (120).

### **3.14. Araştırmanın Amacı**

Yaptığımız bu çalışmada, oksidatif stresin önemli bir rol oynadığını ve DM 'un sıçan testis dokusunda meydana getirdiğı apoptotik değişiklikler üzerinde OLE'nin iyileştirici etkisinin histolojik ve immünohistokimyasal yöntemlerle incelenmesi amaçlanmıştır.

## 4. GEREÇ VE YÖNTEM

### 4.1. Deney Hayvanları ve Beslenmeleri

Bu deneysel çalışma, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Başkanlığı'nın onayı ve Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (FÜBAP) (Proje No: TF. 11. 79) desteği alındıktan sonra başlatıldı. Bu çalışmada denek olarak kullanılan Wistar albino cinsi sıçanlar F.Ü. Deney Hayvanları Merkezi (FÜDAM) biriminden temin edilmiştir. Deney, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deneysel Araştırma Merkezi'nde (FÜDAM) gerçekleştirildi. Çalışmada ortalama 8-10 haftalık ve 205 gram ağırlığında 28 adet erkek Wistar albino cinsi sıçan kullanıldı. 21°C oda ısısında 12 saat ışık (7:00-19:00) ve 12 saat karanlıkta (19:00-7:00) tutulan sıçanlar her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Sıçanlar havalandırma sistemi bulunan bir ortamda özel olarak hazırlanmış kafeslerde (3'lü-4'lü gruplar halinde) barındırıldı. Yemler; çelik kaplarda, su; paslanmaz çelik bilyeli cam biberonlarda günlük normal çeşme suyu verildi. Denekler Yem sanayi T.A.Ş. Elazığ Yem Fabrikasında hazırlanan peletler halindeki sıçan yemleriyle beslendi. Yemlerin terkibi aşağıdaki tabloda (Tablo 5) gösterilmektedir. Sıçanların deneysel uygulama yapılacak safhaya kadar bakımlarına bu şekilde devam edildi.

**Tablo 5.** Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin terkihi

|                       |      |
|-----------------------|------|
| Buğday (%)            | 15   |
| Mısır (%)             | 10   |
| Arpa (%)              | 27   |
| Kepek (%)             | 8    |
| Soya (%)              | 29,4 |
| Balık Unu (%)         | 8    |
| Tuz (%)               | 0,6  |
| Kavimix VM 23-Z (%) * | 0,2  |
| Methionin (%)         | 0,2  |
| DCP (%)**             | 1,6  |

\* 1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D<sub>3</sub>, 12 mg E, 0,8 mg K<sub>3</sub>, 0,8 mg B<sub>1</sub>, 2,4 mg B<sub>2</sub>, 1,2 mg B<sub>6</sub>, 0,006 mg B<sub>12</sub> vitaminleri, 16 mg Nicotin amid, 3,2 mg Cal. D. Panth. 0,32 mg Folic acid, 0,02 mg D-Biotin, 50 mg Cholin Chloride, 20 mg Zinc Bacitracin, 32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0,8 mg I, 0,2 mg Co, 0,06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca.

\*\* % 18 fosfor, % 25 kalsiyum, % 0,2 flor'dan oluşur.

#### 4.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Deneyisel çalışmalar, toplam 28 adet sıçan üzerinde gerçekleştirildi. İlk tartımları yapılarak ağırlıkları kaydedildi. Sıçanlar; kontrol (Grup I), diyabetik (Grup II), Diyabet + Oleuropein (Grup III) ve Oleuropein (Grup IV) olmak üzere 4 gruba ayrıldı.

**Grup I (n=7) Kontrol Grubu:** 6 haftalık deney süresince herhangi bir işlem yapılmadı. Deneklere ad libitum yem ve su verildi.

**Grup II (n=7) Diyabet Grubu:** 50 mg/kg dozunda, fosfat-sitrat tamponunda çözölmüş tek doz intraperitoneal (i.p) streptozotosin (STZ) verilip 72 saat sonra, 12 saat aç bırakılan hayvanların kuyruk veninden alınan kan şeker düzeyi 250 mg/dl üzerinde olanlar diyabetik kabul edildi.

**Grup III (n=7) Diyabet + Oleuropein Grubu:** 50 mg/kg dozunda, fosfat-sitrat tamponunda çözölmüş tek doz i.p STZ verilip 72 saat sonra, 12 saat

aç bırakılan hayvanların kuyruk veninden alınan kan şekeri düzeyi 250 mg/dl üzerinde olan ve diyabetik olarak tanımlanan sıçanlara diyabet oluşumu itibariyle 6 hafta boyunca oleuropein (OLE) ekstraktı (Kale Naturel Limited şirketi, Balıkesir) 10mg/kg/gün olacak şekilde oragastrik tüp yardımı ile her gün sabah saat 9:00'da verildi.

**Grup IV (n=7) Oleuropein Grubu:** 6 hafta boyunca sağlıklı sıçanlara OLE ekstraktı 10mg/kg/gün olacak şekilde oragastrik tüp yardımı ile her gün sabah saat 9:00'da verildi.

#### **4.3. Diyabet İndüksiyonu**

Çalışmanın bu kısmında kullanılacak 14 adet erkek sıçanları diyabet oluşturmak için 26 gauge'lık insülin enjektörüyle 50 mg/kg dozunda STZ (Sigma Chemical Co Louis Missouri) 0,1 M Fosfat-sitrat tamponunda ( pH: 4,5) çözdürülerek i.p enjeksiyonla tek doz olarak uygulandı.

72 saat sonra, 12 saat aç bırakılan sıçanlar sabah saat 9-10 arasında kuyruk venlerinden kan örneği alınarak, glukometre cihazındaki ölçümü sonucu açlık kan glukozu düzeyi >250 mg/dl'yi geçen sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi.

#### **4.4. Doku Örneklerinin Alınması**

Tüm gruplardaki sıçanlar deney sonunda tartıldıktan sonra, ketamin (75 mg/kg) + xylazine (10 mg/kg) i.p uygulanarak anestezi altında dekapite edilerek çalışma sonlandırıldı. Dekapitasyonun ardından sıçanların testis

dokuları hızla çıkarıldı. Çıkarılan testis dokuları histolojik çalışma için bouin solüsyonunda tespit edildi.

Testis ve epididimisler yağ dokularından arındırıldıktan sonra tartıldı. Eklenti bezlerinden seminal bez ile ventral prostat çıkarılarak tartıldı.

#### **4.5. Histokimyasal Boyama**

Her gruptan alınan testis dokuları, bouin solüsyonunda tespit edildikten sonra dereceli (50°-60°-70°) alkol serileri ile yıkandı. Dokular daha sonra rutin histolojik takip serilerinden geçirildi (Tablo 6). Daha sonra dokular parafin bloklara gömüldü. Bu parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E) ve PAS metodları ile boyandı. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskobunda incelenip fotoğraflandı.

#### **4.6. TUNEL Metodu**

Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda ApopTag Plus Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit (Chemicon, cat no: S7101, USA) kullanılarak apoptoziye giden hücreler belirlendi. Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 7). Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskobunda (Olympus BH-2) incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. TUNEL boyamanın değerlendirilmesinde Harris hematoksilen ile maviye boyanmış çekirdekler normal, kahverengi nükleer boyanma gösteren hücreler apoptotik olarak değerlendirildi.

**Tablo 6.** Histolojik takip serileri

| Sıra | İşlem                          | Süresi    |
|------|--------------------------------|-----------|
| 1    | % 70 Alkol                     | 2 saat    |
| 2    | % 80 Alkol                     | 1.5 saat  |
| 3    | % 96 Alkol I                   | 30 dakika |
| 4    | % 96 Alkol II                  | 30 dakika |
| 5    | % 100 Alkol I                  | 30 dakika |
| 6    | % 100 Alkol II                 | 30 dakika |
| 7    | Alkol + Xylol                  | 15 dakika |
| 8    | Xylol I                        | 25 dakika |
| 9    | Xylol II                       | 25 dakika |
| 10   | Yumuşak parafin + Xylol        | 45 dakika |
| 11   | Yumuşak parafin                | 1 Saat    |
| 12   | Yumuşak parafin – Sert parafin | 1.5 saat  |
| 13   | Sert Parafin                   | 3 saat    |
| 14   | Gömme                          |           |

**Tablo 7.** TUNEL boyama işlemi

|    | <b>İşlem</b>                                                        | <b>Süre</b> |
|----|---------------------------------------------------------------------|-------------|
| 1  | 60°C etüv                                                           | Bir gece    |
| 2  | Xylol                                                               | 3x15dakika  |
| 3  | % 100, % 96, % 80, % 70 etil alkol                                  | 3'er dakika |
| 4  | <b>PBS (Phosphate Buffered Saline), DAB (3,3'-diaminobenzidine)</b> | 5 dakika    |
| 5  | Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizilir.                 |             |
| 6  | 1: 500 dilüsyondaki Proteinaz K solüsyonu                           | 7 dakika    |
| 7  | PBS                                                                 | 3x5 dakika  |
| 8  | Endojen peroksit blokajı yapılır                                    | 5 dakika    |
| 9  | PBS                                                                 | 3x5 dakika  |
| 10 | Equilibration tampon solüsyonu                                      | 6 dakika    |
| 11 | Çalışma solüsyonu (% 77 µl Reaction Buffer + % 33 TdT Enzyme)       | 60 dakika   |
| 12 | Stop/Wash Buffer ( 1 ml ) +Distile su (34 ml) Oda sıcaklığında      | 10 dakika   |
| 13 | Anti-Digoxigenin-Peroxidase                                         | 30 dakika   |
| 14 | PBS                                                                 | 3x5 dakika  |
| 15 | DAB Dilution Buffer + DAB Substrate                                 | 5-10 dakika |
| 16 | PBS                                                                 | 3x5 dakika  |
| 17 | Distile su                                                          | 5 dakika    |
| 18 | Harris hematoksilin                                                 | 1-5 dakika  |
| 19 | Distile su                                                          | 5 dakika    |
| 20 | % 80, % 96 ve % 100 etil alkol                                      | 1'er dakika |
| 21 | Xylol                                                               | 2x5 dakika  |
| 22 | Kapatma medyumunu kullanılarak lamel ile kapatma.                   |             |

#### **4.7. Vücut ve Organ Ağırlıklarının Ölçülmesi**

Çalışma sonunda sıçanlar dekapite edilip testis ve epididimisleri yağ dokularından arındırıldıktan sonra tartıldı. Eklenti bezlerinden vezikula seminalis ile prostat çıkarılarak tartıldı. Tüm üreme organlarının absolut ağırlıkları tespit

edilerek kaydedildi. Ayrıca testislere ait gonado-somatik indeks (GSI) aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı.

$$\text{GSI} = \frac{\text{Ortalama (Sağ+Sol) testis ağırlığı (g)}}{2} \times 100$$
$$\text{GSI} = \frac{\text{Vücut ağırlığı (g)}}{\text{Vücut ağırlığı (g)}} \times 100$$

#### **4.8. Spermatolojik Muayeneler**

##### **4.8.1. Sperm Yoğunluğu**

Sağ kauda epididimis Petri kutusu içerisindeki 1 ml fizyolojik tuzlu suda (%0.9'luk NaCl) bistüri ve makas yardımıyla iyice parçalanarak 2 dakika boyunca bir pensle parçacıklar iyice ezildi. Sonra epididimal dokudaki bütün spermatozoonların sıvıya geçmesi için oda sıcaklığında 4 saat inkubasyona bırakıldı. Bekleme süresini takiben spermatozoon ihtiva eden süpernatant alyuvar pipetinin 0.5 çizgisine kadar, 5g sodyum bikarbonat, 1 ml formalin, 25 mg eozin ve 100 ml distile su içeren solüsyon da 101 çizgisine kadar çekildi. Dolayısıyla süpernatant 1:200 oranında sulandırılmış oldu. Yaklaşık 10 µl sulandırılmış süpernatant önceden lamel yapıştırılmış Neubauer lamının her iki sayım (toplam 400 küçük kare, 0.1 mm<sup>3</sup> hacim) alanına lamelin kenarına pipetin ucu değdirilerek yerleştirildi. Neubauer lamı ışık mikroskobuna yerleştirilip 5 dakika beklenerek solüsyon içerisindeki spermatozoonların tüm alana homojen bir şekilde dağılması sağlandı. Her iki sayım alanındaki tüm karelere düşen spermatozoonlar ışık mikroskobunun 200'lük büyütmesinde sayıldı ve hesaplandı (121).

#### **4.8.2. Sperm Motilitesi**

Bunun için bir lam mikroskobun ısıtma tablasına yerleştirilerek sıcaklığının 37 °C'ye ulaşması sağlandı. Birkaç damla Tris buffer solüsyonu [Tris (hidroksimetil) aminometan 3.63 g, glukoz 0.50 g, sitrik asit 1.99 g ve distile su 100 ml] ısıtma tablası üzerindeki lama damlatıldıktan sonra sol kauda epididimisten kesit yapılarak alınan ve spermatozoon ihtiva eden küçük bir damla süspansiyon bu solüsyon üzerine yerleştirilip lamel yardımıyla karıştırılarak homojen bir hal alması sağlandı. Daha sonra 400'lük büyütmede gözle motilite yüzdesi belirlendi. Motilite tahminleri sol kauda epididimisten alınan bir damla süspansiyon için 3 farklı saha incelenerek yapıldı. Bu 3 farklı sahanın ortalama değerleri yüzde motilite oranı olarak hesaplandı (122).

#### **4.9. İstatistiksel Analiz**

Veriler ortalama  $\pm$  SEM değerleri olarak sunuldu.  $P < 0.05$  değeri anlamlı olarak kabul edildi. Verilerin normal dağılımı varsayımına uygun olup olmadığı Shapiro Wilk testi uygulanarak incelendi ve test sonucunda verilerin normal bir dağılım gösterdiği tespit edildi. Buna istinaden normal dağılım gösteren grupları karşılaştırarak aralarındaki farklılıkları tespit etmek amacıyla Tek Yönlü Varyans (ANOVA) Analizi uygulandı ve ikili karşılaştırmalar için de post-hoc Duncan testi kullanıldı. Tüm istatiki analizler SPSS (Statistical Package for Social Sciences), versiyon 15.0 paket programı kullanılarak yapıldı.

## **5. BULGULAR**

### **5.1. Spermatolojik Bulgular**

#### **5.1.1. Vücut ve Üreme Organ Ağırlıkları**

Sadece OLE uygulamasının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında vücut ve üreme organ ağırlıklarında herhangi bir etkiye sahip olmadığı gözlemlendi. Öte yandan STZ'nin uyardığı DM, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında vücut ağırlığı ( $P<0.01$ ) ile absolut testis ( $P<0.05$ ), epididimis ( $P<0.05$ ), sağ kauda epididimis ( $P<0.05$ ), vezikula seminalis ( $P<0.01$ ), prostat ağırlıkları ( $P<0.05$ ) ve GSI ( $P<0.05$ )' de anlamlı azalmalara neden oldu. Diyabetli hayvanlara OLE uygulaması sadece diyabet grubu ile karşılaştırıldığında vücut ağırlığı ile testis, epididimis ve sağ kauda epididimis ağırlıklarında önemsiz artışlar sağladı. Ancak bu artışlar kontrol grubu değerlerine de yakın bulundu. GSI'de gözlenen artışlar ise istatistiki açıdan önemli ( $P<0.05$ ) idi. Bununla birlikte DM'li hayvanlara OLE uygulamasının sadece DM grubu ile karşılaştırıldığında eklenti bezlerindeki azalmaları sayısal olarak artırmasına rağmen bu artışlar istatistiksel açıdan anlamlı değildi.

#### **5.1.2. Spermatolojik Parametreler**

Sadece OLE uygulamasının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında epididimal sperm sayısı ile motilitelerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığı gözlemlendi. Bununla birlikte kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DM grubundaki hayvanların epididimal sperm sayısı ( $P<0.001$ ) ile sperm motilitelerinde ( $P<0.01$ ) önemli azalmalar tespit edildi. Diyabetli hayvanlara OLE verilmesi diyabetin

neden olduğu epididimal sperm sayısı ve motilitelerinde sayısal artışlar meydana getirmesine rağmen, bu artışların istatistiksel olarak önemsiz olduğu gözlemlendi (Tablo 8).

**Tablo 8.** Reprodüktif parametrelere ait değerler.

| Parametreler                                    | Kontrol                   | Oleuropein                | Diyabet                  | Diyabet+Oleuropein         |
|-------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------------|
| <b>Vücut ağırlığı (g)</b>                       | 257.00±15.00 <sup>A</sup> | 244.75±16.52 <sup>A</sup> | 139.50±4.50 <sup>B</sup> | 189.25±16.24 <sup>AB</sup> |
| <b>Testis ağırlığı (g)</b>                      | 1.33±0.01 <sup>a</sup>    | 1.33±0.07 <sup>a</sup>    | 0.60±0.40 <sup>b</sup>   | 1.04±0.18 <sup>ab</sup>    |
| <b>Gonado-somatik indeks (GSI)</b>              | 0.52±0.03 <sup>a</sup>    | 0.55±0.03 <sup>a</sup>    | 0.42±0.27 <sup>b</sup>   | 0.54±0.07 <sup>a</sup>     |
| <b>Epididimis ağırlığı (g)</b>                  | 0.39±0.07 <sup>a</sup>    | 0.47±0.02 <sup>a</sup>    | 0.16±0.07 <sup>b</sup>   | 0.26±0.05 <sup>ab</sup>    |
| <b>Sağ kauda epididimis ağırlığı (g)</b>        | 0.13±0.03 <sup>a</sup>    | 0.16±0.01 <sup>a</sup>    | 0.05±0.02 <sup>b</sup>   | 0.09±0.02 <sup>ab</sup>    |
| <b>Seminal bez ağırlığı (g)</b>                 | 0.77±0.27 <sup>A</sup>    | 0.85±0.08 <sup>A</sup>    | 0.09±0.02 <sup>B</sup>   | 0.20±0.06 <sup>B</sup>     |
| <b>Prostat ağırlığı (g)</b>                     | 0.43±0.16 <sup>a</sup>    | 0.35±0.04 <sup>a</sup>    | 0.03±0.01 <sup>b</sup>   | 0.11±0.04 <sup>b</sup>     |
| <b>Sperm sayısı (milyon / kauda epididimis)</b> | 82.00±16.00 <sup>x</sup>  | 88.75±2.06 <sup>x</sup>   | 6.00±3.05 <sup>y</sup>   | 21.50±8.13 <sup>y</sup>    |
| <b>Sperm motilitesi (%)</b>                     | 85.00±5.00 <sup>A</sup>   | 84.17±2.49 <sup>A</sup>   | 11.67±5.66 <sup>B</sup>  | 22.50±13.14 <sup>B</sup>   |

-Veriler ortalama ± SEM değerleri olarak sunulmuştur.

-Aynı satır içerisinde değişik harf (a ve b:P<0.05; A ve B:P<0.01; x ve y:P<0.001) taşıyan değerler arasındaki farklılıklar istatistikî açıdan anlamlıdır.

## **5.2. Histolojik Bulgular**

Kontrol grubuna ait sıçan testis dokuları incelendiğinde seminifer tübüller, seminifer tübüllerin bazal laminası spermatogenik seriye ait hücreler, Sertoli hücreleri ve Leydig hücreleri normal yapıda gözlendi ( Şekil 10, 11).

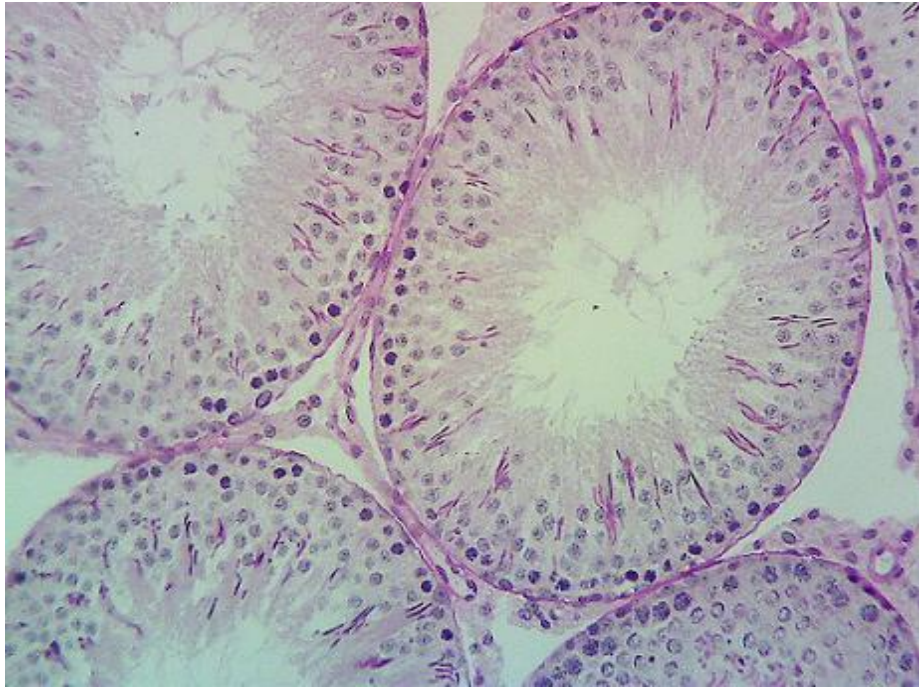
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DM grubunda seminifer tübül epitelinde dejenerasyon (Şekil 12), atrofi (Şekil 13), peritübüler konjesyon (Şekil 14) ve seminifer tübüllerde bazal membran kalınlaşması gözlendi (Şekil 15).

DM + OLE uygulanan grupta ise DM'de gözlenen seminifer tübül dejenerasyonunda ve bazal membran kalınlaşmasında azalma gözlendi. Ayrıca seminifer tübül epitelinde atrofi ve peritübüler konjesyonun düzelmiş olduğu belirlendi (Şekil 16, 17).

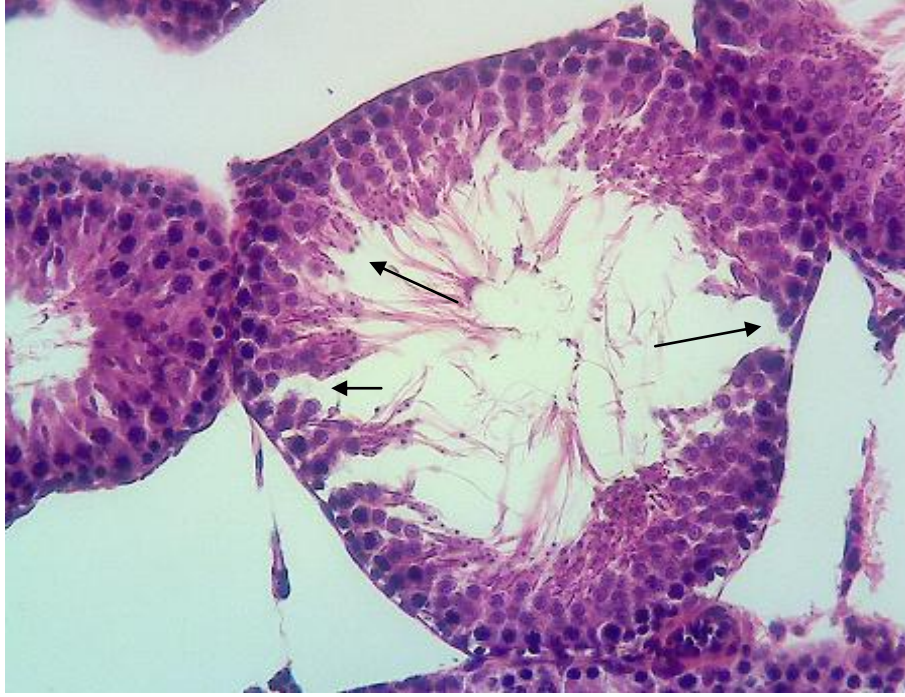
Sadece OLE uygulanan gruba ait sıçan testis dokusunda, interstisyel doku ve seminifer tübülde dejenerasyon izlendi (Şekil 18,19).



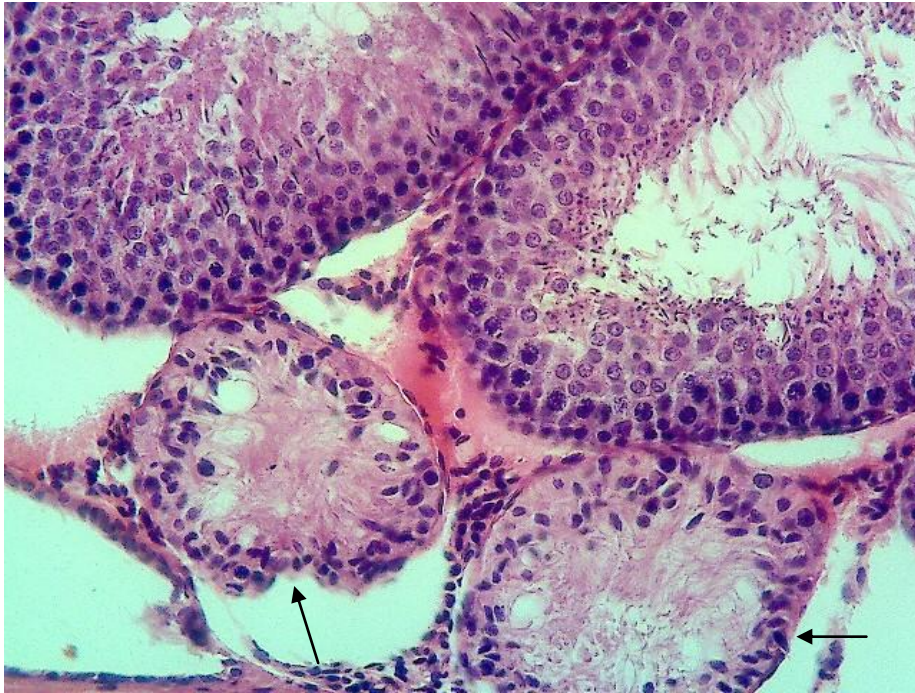
Şekil 10. Kontrol grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü H&E 400 X.



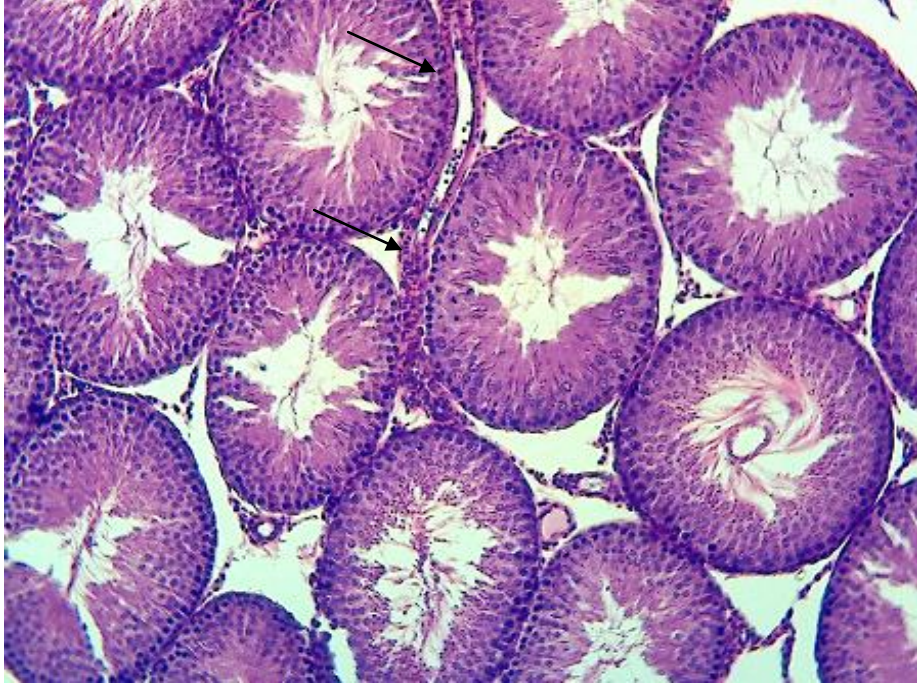
Şekil 11. Kontrol grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü PAS 400 X.



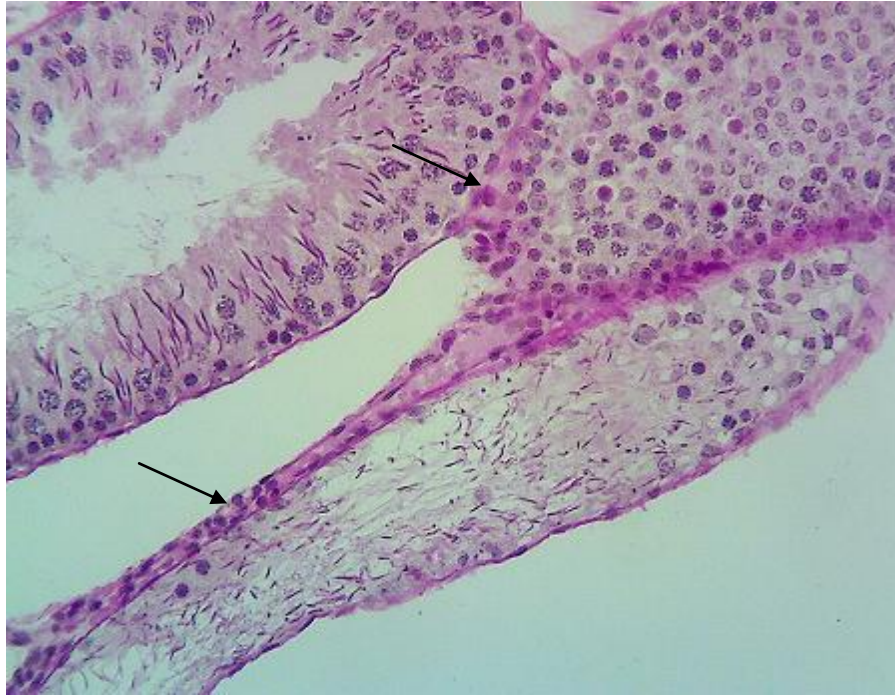
Şekil 12. DM grubuna ait testis dokusunda dejenere tübül görünümü (→) H&E 400 X.



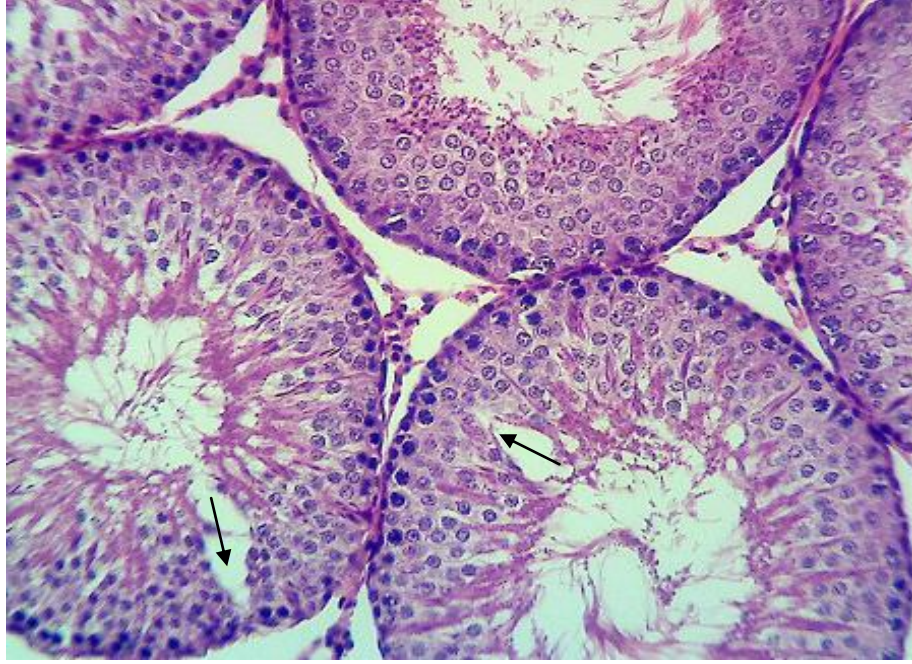
Şekil 13. DM grubuna ait testis dokusunda atrofik tübül görünümü (→) H&E 400 X.



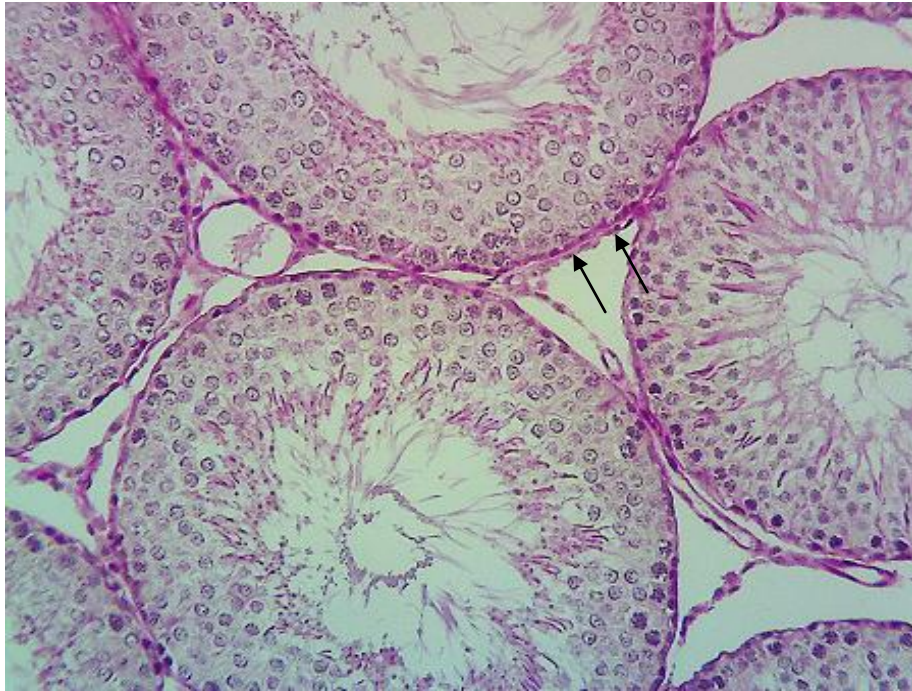
Şekil 14. DM grubuna ait testis dokusunda peritübüler konjesyon (→) H&E 200 X.



Şekil 15. DM grubuna ait testis dokusu bazal membran kalınlaşması (→) PAS 400 X.



**Şekil 16.** DM + OLE grubuna ait testis dokusunda azalmakta olan dejenere tübül görünümü (→) ve normal görünümlü intertisyel vasküler yapı. H&E 400 X.



**Şekil 17.** DM + OLE grubuna ait testis dokusunda azalmakta olan bazal membran kalınlaşması (→) ve normal görünümlü seminifer tübül epiteli H&E 400 X.



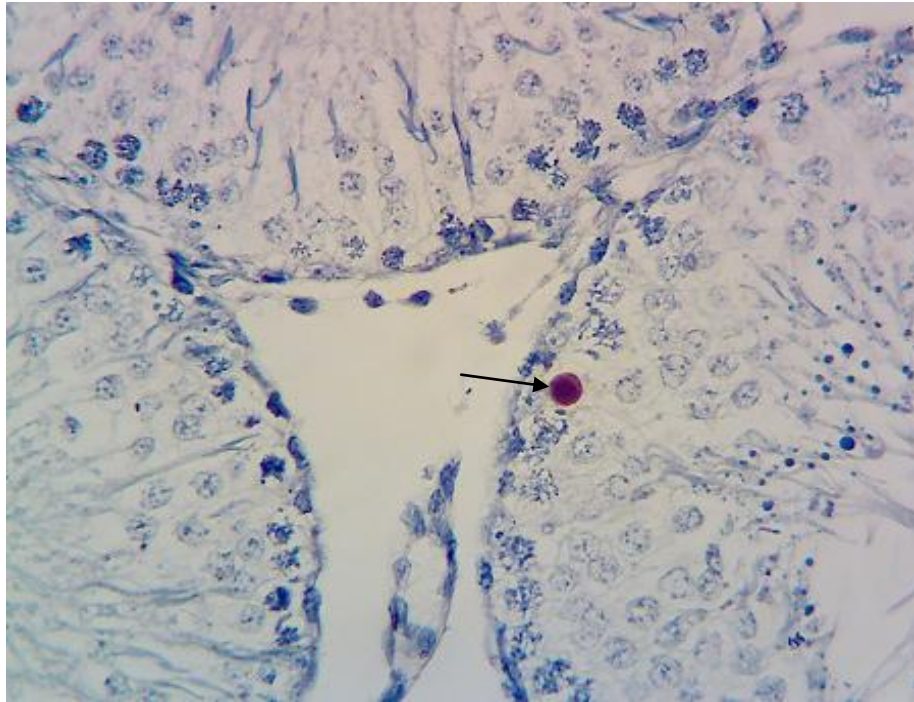
**Şekil 18.** OLE grubuna ait testis dokusunda dejenere tübül görünümü (→) H&E 400 X.



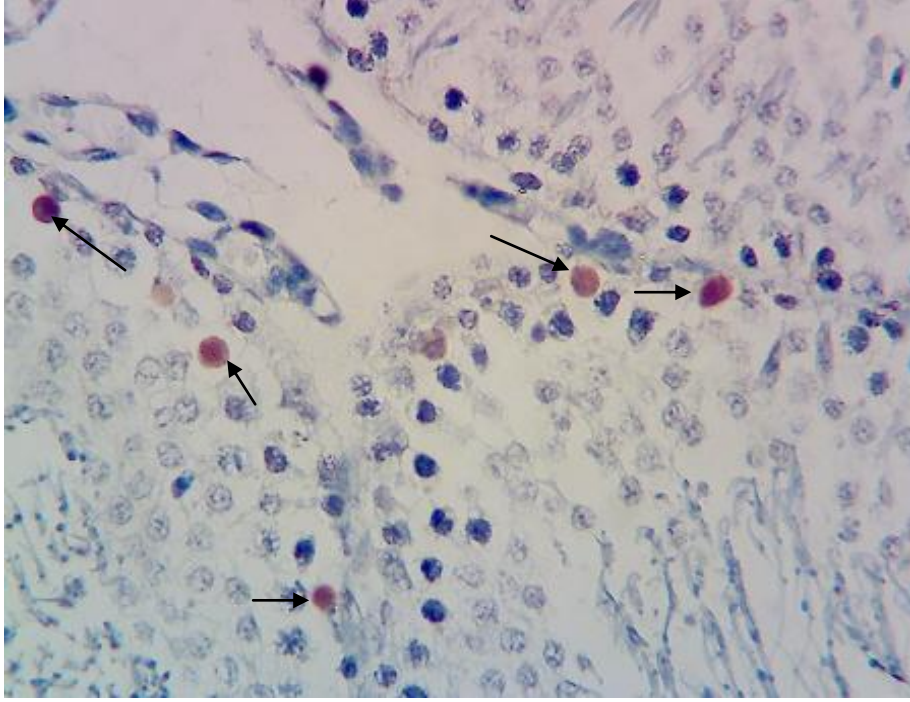
**Şekil 19.** OLE grubuna ait testis dokusunda dejenere interstisyel doku (☆) ve tübül görünümü (→) PAS 400 X.

### 5.2.1. TUNEL Bulgular

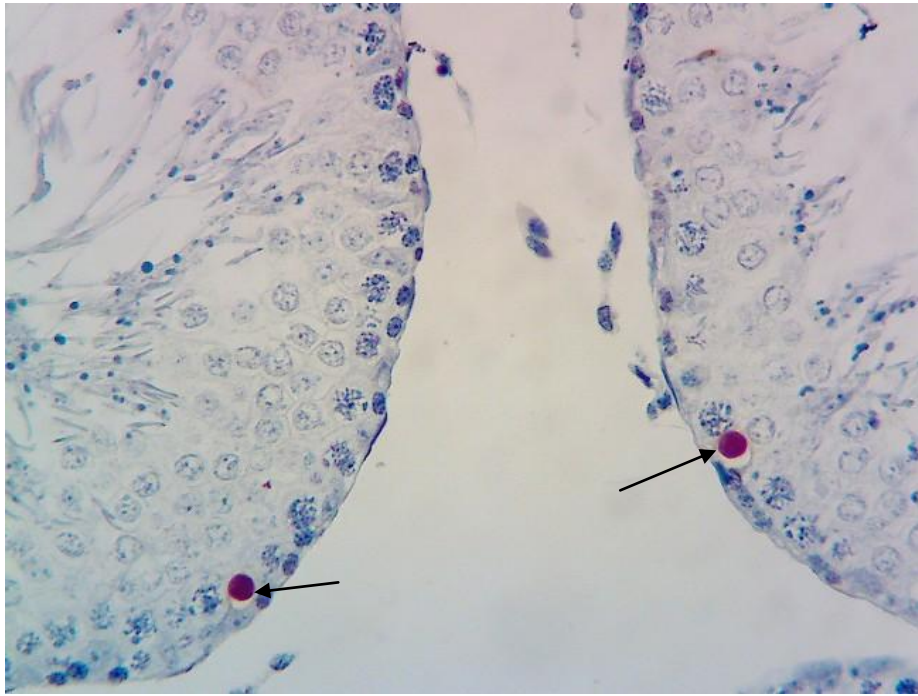
Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için yapılan TUNEL boyamasının ışık mikroskopi altında incelenmesi sonucu; TUNEL pozitifliği kontrol grubunda +1 yaygınlığında gözlemlendi (Şekil 20). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DM grubunda belirgin bir artış vardı ve +3 yaygınlığında olduğu saptandı (Şekil 21). OLE verilen tedavi grubunda ise DM grubuna göre TUNEL pozitifliğin belirgin azaldığı, kontrol grubuna yakın olduğu izlendi ve +2 olarak değerlendirildi (Şekil 22). Sadece OLE uygulanan grupta TUNEL pozitifliği kontrole benzerdi ve +1 yaygınlığında gözlemlendi (Şekil 23). Pozitif kontrol için meme dokusu (Şekil 24) kullanıldı. Negatif kontrolde TUNEL pozitifliği saptanmadı (Şekil 25).



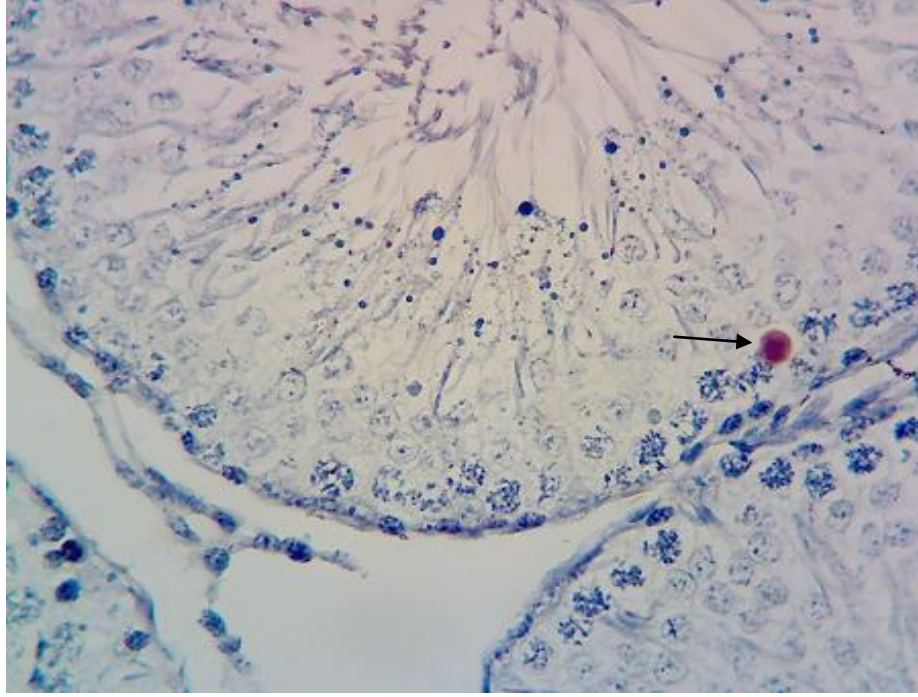
**Şekil 20.** Kontrol grubuna ait testis dokusunda TUNEL pozitif hücre (→) 400 X.



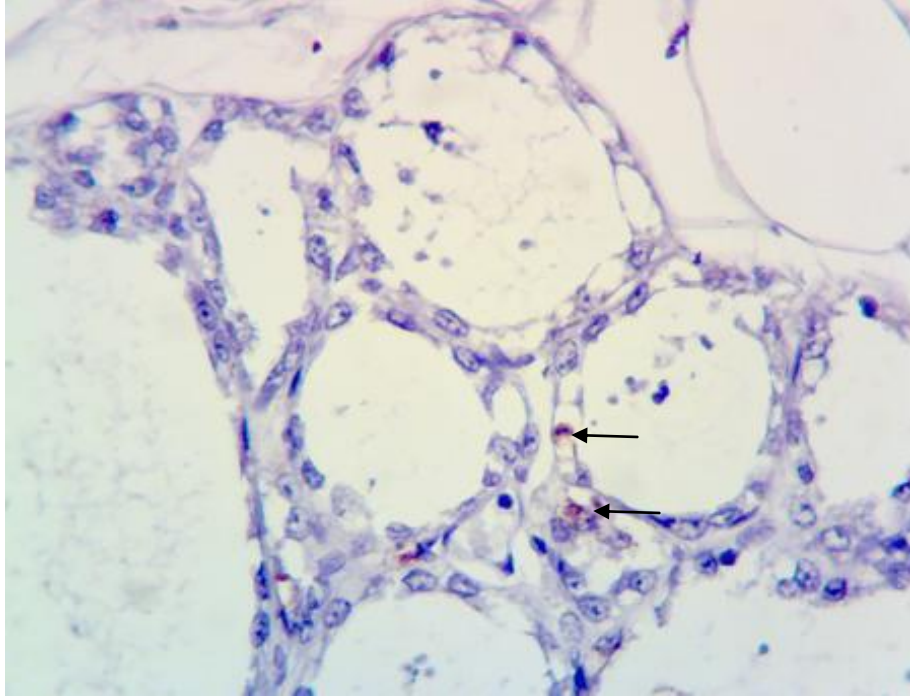
**Şekil 21.** DM grubuna ait testis dokusunda artmış TUNEL pozitif hücreler (→) 400 X.



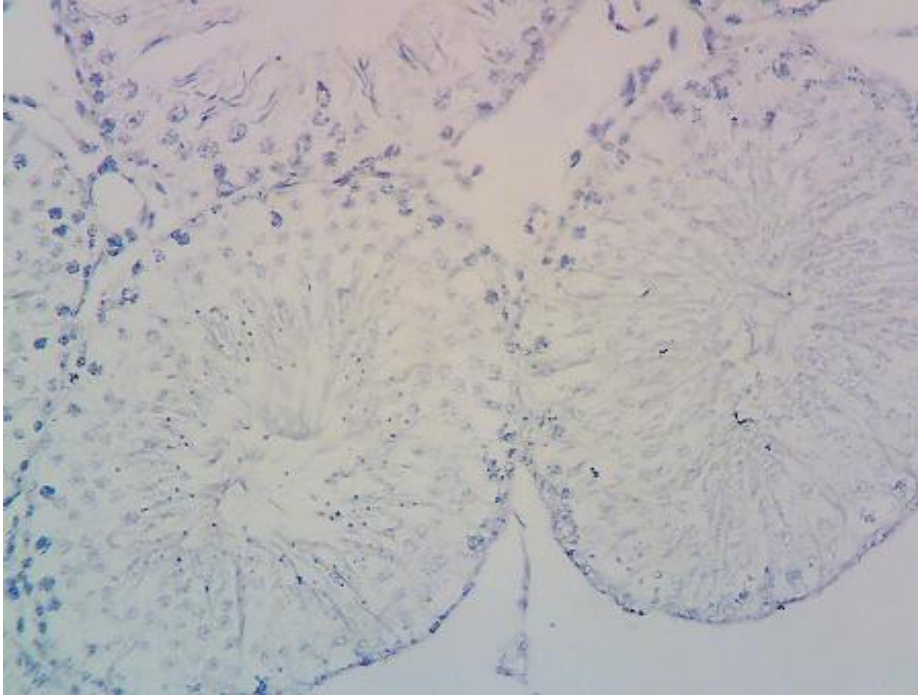
**Şekil 22.** DM + OLE grubuna ait testis dokusu TUNEL pozitif hücreler (→) 400 X.



**Şekil 23.** OLE grubuna ait testis dokusu kontrol grubuna benzer TUNEL pozitif hücre (→) 400 X.



**Şekil 24.** Meme dokusuna ait TUNEL pozitif kontrol (→) 400 X.



**Şekil 25.** Negatif kontrolde TUNEL pozitifliği saptanmadı 400 X.

## 6. TARTIŞMA

Bu çalışmada deneysel diyabet modeli, *Streptomyces griseus*'un metaboliti olan STZ ile oluşturuldu.

Diabetes Mellitus (DM), insülin salgısının mutlak veya göreceli eksikliği yada insülin rezistansı ile oluşan, hiperglisemi ile kendini belli eden, karbohidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları ile karakterize bir hastalıktır. DM'nin etyopatogeneziyle ilgili araştırmalar, hastalığın multifaktöryel etkenlerle meydana geldiğini ve hiperglisemi ile karakterize pek çok durumu içine alan bir sendrom olduğunu ortaya koymuştur. (38).

DM'nin, gonadal fonksiyonları etkileyerek, düşük testosteron düzeyleri, testiküler disfonksiyon ve yetersiz spermatogenez oluşturduğu insanlarda ve deney hayvanlarında gösterilmiştir (73).

DM'nin serbest radikallerin arttığı ve antioksidan mekanizmaların inhibe olduğu oksidatif stres durumlarından birisi olduğu vurgulanmaktadır (123). Oksidatif stresin diyabet etiyolojisinde ve ilerlemesinde rolü olduğu, deneysel olarak DM yapılan sıçanlarda ve diyabetik hastalarda saptanmıştır (38-41) ve bu yüzden DM tedavisinde antioksidan maddelerin kullanımı tavsiye edilmektedir (123). Son araştırmalar vitamin E, vitamin C ve  $\alpha$ -lipoik asit gibi antioksidanların oksidatif stresin oluşturduğu hasarı azalttığını göstermiştir (120). Fakat antioksidanların sağlıklı dokularda özellikle de doz aşımı durumlarında hasara neden olduğu bilinmektedir (124-128). Zeytin yaprağında bulunan OLE'nin sağlığı destekleyen etkili bir antioksidan özelliği vardır. Ayrıca OLE

vazodilatatör, hipotansif, anti-inflamatuar, anti-romatizmal, diüretik ve antipiretik gibi etkilere sahip bir fenolik bileşiktir (120).

Son yıllarda diyabetin sebep olduğu etkileri araştırmak, tedavisine yeni yöntemler bulmak amacıyla deney hayvanlarında streptozotolin (STZ) ve alloksan (ALX) kullanılarak oluşturulan DM modelleri sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (129).

STZ ile DM oluşturulan deneysel hayvan modellerinde androjen reseptörlerinin epididimide, prostat bezinde ve testiste azaldığı gösterilmiştir. Androjen reseptörlerinin azalması, diyabetik sıçanlarda hormon sentezinde ve seksüel fonksiyonlarda bozukluklara neden olur (130). Vücut ve reproduktif organ ağırlıklarının azalmasıyla da testislerde ve epididimislerde sperm sayısında azalmaya neden olur (61). Erektile bozukluklarla birlikte, sperm sayısında ve testis ağırlığında azalma ile çeşitli anormallikler olduğu rapor edilmiştir (72).

Çalışmamızda ilk olarak testislerdeki reproduktif parametreleri inceledik. DM grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında vücut ağırlıkları ile absolut testis, epididimis, sağ kauda epididimis, vezikula seminalis, prostat ağırlıkları, gonado-somatik indeks (GSI) ve sperm motilitesinde anlamlı azalmalar saptandı. DM grubuna göre DM + OLE grubunda vücut ağırlığı ile testis, epididimis ve sağ kauda epididimis ağırlıklarında kontrol grubuna yakın fakat istatistiki açıdan önemsiz artışlar sağlandı ve eklenti bezlerindeki azalmaların düzeltilmesinde etkisiz kaldığı gözlemlendi.

Altay ve ark. yaptıkları çalışmalarında DM'de testis dokusunda vakülerizasyonun olduğunu, seminifer tübül duvarında kalınlaşmalara rastlanılmış

(74) ve tunika albugineada, seminifer tubüllerde, interstisyel bağ dokusu içinde ve Leydig hücrelerinde histolojik değişiklikler izlenmiştir (73). Ghafari ve ark. yaptıkları çalışmalarında diyabetik grupta seminifer tübül hücrelerinde dökülme, Sertoli ve spermatogonyum hücrelerde vakuolizasyon, seminifer tübül sperm konsantrasyonunda azalma görülmüştür. Ayrıca seminifer tübüllerin çapı ve seminifer epitelin boyunda önemli derecede azalma olmuştur (131). Bal ve ark. yaptıkları çalışmalarında diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre sperm motilitesi, epididimal sperm konsantrasyonunda azalma gözlenmiştir ve başta ve kuyrukta anormal sperm oranı artmıştır. Diyabetik sıçanlarda alfa-tokoferol ve alfa-tokoferol asetat düzeyleri istatistiki açıdan anlamlı olarak azalmıştır. Yine bu çalışmada diyabet grubunda dejenerasyon, interstisyel ödem ve kapiller tıkanıklık oluşturduğunu gözlenmiştir (132).

Cameron ve ark. yaptıkları çalışmalarında ise diyabetik insanların seminifer tübül bazal laminasında kalınlaşma tespit etmişlerdir. Yine bu çalışmada damar duvarlarındaki kalınlaşmanın tübül beslenmesini, testosteron diffüzyonunu engelleyebileceğini ve bu kalınlaşmanın daha da artarak spermatogenezisi olumsuz yönde etkileyebileceğini belirtmişlerdir. Tübül beslenmesinin bozulması sonucunda tübüler atrofinin oluşmasında, interstisyel kan damarlarındaki kalınlaşmanın etkili olabileceğini söylemişlerdir (133).

Biz de çalışmamızda benzer şekilde histopatolojik olarak DM grubundaki sıçanlarda kontrol grubuna göre seminifer tübül epitelinde dejenerasyon, atrofi, peritübüller konjesyon ve seminifer tübüllerde bazal membran kalınlaşmasını gözlemledik. DM+OLE verilen grupta ise DM'de gözlenen seminifer tübüllerin dejenerasyonunda ve bazal membranın kalınlaşmasında azalma ayrıca seminifer

tübül epitelinde atrofi ve peritübüler konjesyonun düzelmiş olduğunu ve sadece OLE verilen grupta ise interstisyel doku ve seminifer tübülde dejenerasyon olduğunu gözlemledik. OLE'nin sağlıklı dokulardaki bu etkisinin doz aşımına bağlı olabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızdaki histopatolojik bulgular literatür bilgileri ile paralellik arz etmektedir.

Erkek infertilitesinde oksidatif stres önemli bir rol oynamaktadır (134). Testisteki zayıf vaskülerizasyona bağlı olarak oksijen miktarının düşük olması sonucu bu oksijene olan rekabet oldukça şiddetlidir (64). Ayrıca fazla miktarda doymamış yağ asitlerinin ve ROS oluşturan sistemlerin varlığı nedeniyle testis oksidatif strese karşı hassas hale gelmektedir (64). Oksidatif stresin belirteçlerinden biri olan MDA konsantrasyonunun artması lipid peroksidasyonu ve doku hasarına işaret etmektedir (135). STZ ile diyabet oluşturulmuş testis dokusunda 8-OHdG seviyeleri ve MDA'nın arttığı gösterilmiştir (136). Hem spermatogenez hem de Leydig hücrelerindeki steroidogenezin, oksidatif stresle hasar görebildiği ve bu dokudaki düşük oksijen miktarı nedeniyle, testisin kendini serbest radikallerin hasarından koruyabileceği mekanizmalar önem kazanmaktadır (59). Testiküler fonksiyon bozukluğu sonucunda spermatogenez sırasında kontrolsüz ve gereksiz apoptozis meydana gelmektedir. Bu nedenle, diyabetik erkeklerdeki testiküler fonksiyon bozukluğunun patogenezinde apoptozis çok önemli bir rol oynar (75). Türk ve ark. deneysel DM oluşturarak yaptıkları çalışmalarında DM grubunda vücut ve testis ağırlıklarının azaldığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca testislerdeki ağırlık azalmasının hücrelerdeki apoptozise bağlı olduğunu söylemişlerdir (137). Bal ve ark. diyabet grubunda belirgin bir apoptotik hücre artışını tespit etmişlerdir (132). Tosounapi ve ark. ise

testiküler ve epididimal ağırlıklardaki azalmanın apoptotik hücrelerin artışından kaynaklandığını ve apoptozisteki bu artışın oksidatif hasara bağlı olduğunu söylemişlerdir (136).

Programlı hücre ölümü olarak adlandırılan apoptozis, hücrelerin proliferasyon ve diferansiyasyonu sırasında ortadan kaldırılmasında rol alan bir ölüm şeklidir (138). Apoptozis birçok biyolojik süreçte etkin rol oynamaktadır. Dokuların gelişmesi, yaşlanması ve kanama kontrolünün sağlanmasında olduğu gibi, normal dokulardaki hücre topluluklarının korunması sürecinde de meydana gelmektedir (83). Apoptozis normal spermatogenezde önemli rol oynar. Testis çevresel faktörlere bağlı hücre hasara karşı hassastır. DM, iskemi, hipertermi ve radyasyon gibi fizyolojik olmayan stres durumlarında germ hücrelerinde apoptozis görülebilmektedir (138). Diyabete bağlı apoptozisin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Fakat günümüzde yapılan çalışmalar apoptozise yol açanın oksidatif stresin olabileceğini göstermişlerdir (139).

Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu ve bunların meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizmaları vardır. Bu mekanizmalar antioksidan savunma sistemleri ya da antioksidanlar olarak bilinmektedirler. Antioksidan moleküller endojen ve eksojen kaynaklı yapılar olup, oluşan oksidan moleküllerinin neden olduğu hasarı hem hücre içi hem de hücre dışı savunma ile etkisiz hale getirirler. Hücre dışı savunma, albümin, bilirubin, transferin, seruloplazmin, ürik asit gibi çeşitli molekülleri içermektedir. Hücre içi serbest radikal toplayıcı enzimler asıl antioksidan savunmayı sağlamaktadır. Bu enzimler süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon- S-transferaz, glutatyon peroksidaz,

glutasyon redüktaz, katalaz ve sitokrom oksidazdır. Bakır, çinko ve selenyum gibi eser elementler ise bu enzimlerin fonksiyonları için gereklidir (32).

Başaraner ve ark. diyabetik sıçanlara vitamin E, vitamin C ve selenyum gibi antioksidanların birlikte verilmesi sonucu LPO'nun bir miktar azaldığını rapor etmişlerdir (140). Al-Azzawie ark. yaptıkları araştırmada, OLE'nin oksidatif stresle ilişkili diyabetik komplikasyonların önlenmesinde yararlı olabileceği ve OLE'nin inhibe hiperglisemi için de bir avantaj olabileceğini önermektedirler (120). Jemai ve ark. yaptıkları araştırmada ise alloksan ile indüklenen diyabetik sıçanlara OLE ve hidroksityrosol'ün zengin özleri verildiğinde serum glikoz, kolesterol düzeyleri ve antioksidant bozukluklarının azaldığını rapor etmişlerdir. Bu sonuçlara göre OLE ve hidroksityrosol'ün antioksidan aktiviteleri yaygın bir antidiyabetik etkisi, diyabet patolojileri ve komplikasyonları ile ilişkili oksidatif stres frenleyicisi olduğu ileri sürülmüştür (141). Ayrıca Aksoy ve ark. STZ ile oluşturulan diyabetik sıçanlarda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında vücut ağırlığında azalma ve kan glukoz seviyelerinde anlamlı artış gözlemişlerdir. DM grubunda MDA seviyelerinin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında daha yüksek olduğu görülmüş ve DM+Melatonin grubu sıçanlarda ise GSH, GSH-Px ve SOD seviyeleri bakımından, DM grubu sıçanlara göre artış olduğu gözlenmiştir. DM+Melatonin grubunda DM grubuna göre bulunan değerler kontrol grubuna yakın olduğunu söylemişlerdir (142).

Bizde apoptozisin belirlenmesi için yaptığımız bu çalışmada TUNEL boyama sonuçlarına göre DM grubunda testiste belirgin apoptotik hücre artışını gözlemlerken, aynı şekilde tedavi olarak verdiğimiz OLE grubunda belirgin bir azalma olduğunu gözlemledik. OLE'nin iyileştici etkilerinin antioksidan

özelliğinden kaynaklandığını düşünmekteyiz ve yaptığımız bu çalışmada bunu destekler niteliktedir.

Sonuç olarak; STZ ile deneysel DM modelinde testislerde belirgin hasar gözleendiği, OLE'nin DM testiste histopatolojik bulguları azalttığı fakat tamamen iyileştirmediği, OLE'nin DM testiste spermatolojik bulguları da azalttığı fakat tamamen iyileştirmediği, OLE'nin DM testiste apoptozisi belirgin azalttığı ve sağlıklı sıçanlarda OLE'nin testiste histopatolojik hasara neden olduğunu fakat apoptozu artırmadığını gözlemledik. Bu konuda OLE'nin verilme süresi ve dozuna bağlı olarak ileride daha kapsamlı çalışmalar yapılması kanaatine varılmıştır.

## 7. KAYNAKLAR

1. Sancak B, Cümhur M. Fonksiyonel Anatomi, 2. Baskı, Ankara, 2002: 291-292.
2. Moore KL, Agur AMR. Temel Klinik Anatomi, Elhan A. (Çeviri editörü). 2. Baskı, Ankara:Güneş Tıp Kitabevi, 2006: 135.
3. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 4. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi Ltd. Şti, 2006: 330-332.
4. Ovalle WK, Nahirney PC. Temel Histoloji. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P (Çeviri Editörü). Ankara: Güneş Tıp Kitabevi Ltd. Şti. 2009: 380,385.
5. Gray's Anatomy, Lea and Febinger 1918, Philadelphia, USA Noyan A. Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. 13. Baskı, Ankara: 2003: 1106,1114-1115.
6. Moore KL, Persaud TVN. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. Yıldırım M, Dalçık H (Çeviri Editörü). 8. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitap Evleri, 2009: 262-265.
7. Moore KL, Persaud TVN. Embriyoloji ve Doğum Defektlerinin Temelleri. Müftüoğlu S, Atilla P, Kaymaz F (Çeviri Editörleri). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 2009: 176-178.
8. Kierszenbaum AL. Histoloji ve Hücre Biyolojisi. Demir R (Çeviri Editörü). 1. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, 2006: 531,535-538.
9. Eşrefoğlu M. Genel ve Özel Histoloji. Malatya: Pelikan Yayıncılık, 2004: 305-308.
10. Junquera LC, Carneiro J. Temel Histoloji. Aytekin Y, Solakoğlu S (Çeviri Editörleri). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2009: 419.
11. Karagöz E. Özel Histoloji. Isparta:Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fak. Yayını. 2002: 196-199.
12. Eroschenko P.V. difiore Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkileriyle, Demir R(Çeviren). 10.baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, 2008:355, 359.
13. Coşkun E."Sperm nedir, sperm kök hücre" <http://www.spermtesti.com/> 01.10.2012.
14. "Histology images" [www.histol.chuvashia.com-histology images](http://www.histol.chuvashia.com-histology-images) 05.10.2012.
15. Özyalvaçlı ME. Varkoselli İnfertil Hastalarda İnternal Spermatik Ven Duvarında Nos İzoformlarının Ekspresyonu ve Periferik Ven ile Karşılaştırılması.Uzmanlık Tezi, İstanbul: İstanbul eğitim ve araştırma hastanesi Üroloji Kliniği, 2009.
16. Noyan A. Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. 18. Baskı, Ankara: 2010: 1106,1114-1115.
17. Kağa S. Streptozotozin ile Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Papatya Ekstresinin Antidayabetik ve Antioksidatif Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Afyonkarahisar: Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2006.
18. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes. Diabetes Care. 2003 Jan;26 Suppl 1:S5-20.
19. Yılmaz B. Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi. Ankara: Feryal Matbaacılık, 1999.
20. Bennet, PH. Classificationand Diagnosis Of Diabetes Mellitus. In: Pickup J, Williams G (Eds). Textbook Of Diabetes, London, Blackwell Scientific Publications. 1991; 37-44.

21. Öztürk, F, Iraz M, Eşrefoğlu M, Kuruş M, Gül M, Otlu A. Deneysel diyabetin sıçan böbreklerinde meydana getirdiği histolojik değişiklikler. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2005; 12(1): 1-4.
22. Yenigün M. Her Yönüyle Diabetes Mellitus. 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2001: 1: 51-62.
23. Sever UN. Koroner Arter Hastalığı Olan Olgularda İnsülin Direnci ve Bozulmuş/Diyabetik Glukoz Toleransı Sıklığının Sağlıklı Populasyonla Karşılaştırılması, Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim Ve Araştırma Hastanesi, 2006.
24. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care 2004; 27 (5): 1047-53.
25. Narayan K, Boyle J, Thompson T, Sorensen S, Williamson D. Lifetime risk for diabetes mellitus in the united states. JAMA 2003; 290 (14): 1884-1890.
26. Harris MI, Flegal KM, Cowie CC, et al .Prevalence of diabetes, impaired fasting glucose, and impaired glucose tolerance in U.S. adults. The Third National Health and Nutrition Examination Survey. Diabetes Care 1998; 21 (4): 518-524.
27. Satman I, Yılmaz T, Sengul A, Salman S, Salman F, Uygur S, ark. The TURDEP Group: Popalation-Based Study Of Diabetes And Risk Charasteristics İn Turkey: Result Of The Turkish Diabetes Epidemiology Study. Diabetes Care 2002; 25: 1551-1556.
28. Altıparmak MR, Hamuryudan V, Sonsuz A, Yazıcı H. İç Hastalıkları. Cilt 2. 2. Baskı, İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi, 2012: 1373-1374.
29. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2004; 27: 5-10.
30. Tiryakioğlu Ö. "Diyabette Acil Durumlar" <http://www.pharmetic.org/pdf/diyabette-acil-durumlar.pdf>
31. Gedik O. Diabetes mellitus'un komplikasyonları. Erdoğan G (editör). Koloğlu Endokrinoloji Temel ve Klinik. 2. Baskı, Ankara: MN Medical & Nobel, 2005: 367-383.
32. Altan N, Dinçel AS, Koca C. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. Türk Biyokimya Dergisi 2006; 31(2);51-56.
33. Aydın A, Sayal A., Işimer A. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi. Ankara: Gata Basımevi, 2001.
34. Babior BM. Phagocytes and oxidative stress. Am J Med 2000; 109: 33-44.
35. Onat T. Emerk K. Sözmen EY. İnsan Biyokimyası. Ankara: Palme Yayıncılık, 2002:667,671
36. Mc Cord, JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. Clin. Biochem 1993; 26(5): 351- 357.

37. Birrell AM, Heffernan SJ, Ansselin AD, McLennan S, Church DK, Gillin AG, Yue DK. Functional and structural abnormalities in the nerves of type I diabetic baboons. aminoguanidine treatment does not improve nerve function. *Diabetologia* 2000; 43: 110-116.
38. Pitkanen OM, Martin JM, Hallman M, Akerblom HK, Sariola H, Andersson SM. Free radical activity during development of insulin-dependent diabetes mellitus in the rat. *Life Sci* 1992; 50: 335-339.
39. Atalay M, Laaksonen DE. Diabetes, oxidative stress and physical exercise. *Journal of Sports Science and Medicine* 2002; 1: 1-14.
40. Halifeoğlu İ, Karataş, F, Çolak R, Canatan H, Telo S. Tip 2 Diyabetik Hastalarda Tedavi Öncesi Ve Tedavi Sonrası Oksidan ve Antioksidan Durum. *Fırat Tıp Dergisi* 2005; 10(3): 117-122.
41. Ak H, Dingiloğlu T, Habif N. et al. Plasma lipid peroxidation, Vit. E, superoxide dismutase and glutathione peroxidase alterations in coronary atherosclerosis. *Tr J Med Sci* 1994; 26:11-15.
42. Wolff SP. Diabetes mellitus and free radicals. *Br Med Bull* 1993; 49: 642-652.
43. Kajimoto Y, Kaneto H. Role Of Oxidative stress in pancreatic-cell dysfunction. *Ann. N.Y. Acad. Sci* 2004; 1011: 168-176.
44. Özdemir G. Relatif oksijen partikülleri. *Roche Bilimsel Eserler Serisi* 1993; 1-5.
45. Akkuş İ, Kalak S, Vural H, Çağlayan O, Menekşe E, Can G, Durmuş B. Leukocyte lipid peroxidation, SOD, GSH and serum and leukocyte vitamin C levels of patients with type II diabetes mellitus. *Clinica Chimica Acta* 1996; 244:221-227.
46. Bonnefont-Rousselot D. Glucose and reactive oxygen species. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002; 5: 561-568.
47. Altan N, Yiğit S, Elmalı E, Malhatun E, Rota S, Kılıç N. Effect of the sulfonylurea glyburide on superoxide dismutase in streptozotocin-induced diabetic rat muscle. *Gen Pharmacol* 1997; 28: 795-796.
48. Bonnefont-Rousselot D, Bastard JP, Jaudon MC, Delattre J. Consequences of the diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes Metab* 2000; 26: 163-176.
49. Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications. A new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 1999; 48:1-9.
50. Dunlop M. Aldose reductase and the role of polyol pathway in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2000; 58(77): 3-12.
51. Giugliano D, Paolisso G, Ceriello A. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes care* 1996; 19(3): 257-267.
52. Nishikawa T, Edelstein D, Brownlee M. The missing link: a single unifying mechanism for diabetic complications. *Kidney Int* 2000; 58(77): 26-30.
53. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza yayınları*, 1995.

54. Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev* 1998; 78:547-581.
55. Onat T, Emerk K, Sözmen EY. İnsan Biyokimyası. Ankara: Palme Yayıncılık, 2006: 755.
56. Karabulut AB. Hepatit B'li Hastalarda Eritrosit ve Lenfosit Antioksidan Enzimler, Nitrik Oksit Düzeyleri ve Plazma Stokini, Doktora Tezi, Malatya: İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2001.
57. Yılmaz S, Ozan TS. Meme Kanseri Hastalarında Lipid Peroksidasyonu ve Bazı Enzim Aktiviteleri Arasındaki İlişki, *Türk Biyokimya Dergisi* 2003; 28(4): 252-256.
58. Kuru M. Diyabetik Nefropati Oluşturulmuş Ratlarda Pioglitazonun Antioksidan Parametreler ve Patolojik Süreçlere Etkileri. Uzmanlık Tezi, Aydın: Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Bölümü, 2009.
59. Tekcan M. Oksidatif stres-antioksidan sistemler ve testis. *Androloji Bülteni* 2009; 37: 131-136.
60. MacLeod J. The role of oxygen in the metabolism and motility of human spermatozoa. *Am J Physiol* 1943; 138: 512-518.
61. Ricci G, Catizone A, Esposito R, Pisanti FA, Vietri MT, Galdieri M. Diabetic rat testes: morphological and functional alterations. *Andrologia* 2009; 41: 361-368.
62. El-Missiry MA, Shalaby F. Role of beta-carotene in ameliorating the cadmium-induced oxidative stress in rat brain and testis. *J Biochem Mol Toxicol* 2000; 14: 238-243.
63. Oner-Iyidogan Y, Gurdol F, Oner P. The effects of acute melatonin and ethanol treatment on antioxidant enzyme activities in rat testes. *Pharmacol Res* 2001; 44: 89-93.
64. Hussein MR, Abu-Dief EE, Abou El-Ghait AT, Adly MA, Abdelraheem MH. Melatonin and roentgen irradiation of the testis. *Fertil Steril* 2006; 86: 750-752.
65. Gavazza MB, Catala A. Protective effect of N-acetyl-serotonin on the nonenzymatic lipid peroxidation in rat testicular microsomes and mitochondria. *J Pineal Res* 2004; 37: 153-160.
66. Juan ME, Gonzalez-Pons E, Munuera T, Ballester J, Rodriguez-Gil JE, Planas JM. trans-Resveratrol, a natural antioxidant from grapes, increases sperm output in healthy rats. *J Nutr* 2005; 135: 757-760.
67. Orozco TJ, Wang JF, Keen CL. Chronic consumption of a flavanol- and procyanidin-rich diet is associated with reduced levels of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat testes. *J Nutr Biochem* 2003; 14: 104-110.
68. Ficher M, Zuckerman M, Fishkin RE, Goldman A, Neeb M, Fink PJ, et al. Do endocrines play an etiological role in diabetic and nondiabetic sexual dysfunctions? *J Androl* 1984; 5: 8-16.
69. Murray FT, Cameron DF, Orth JM. Gonadal dysfunction in the spontaneously diabetic BB rat. *Metabolism* 1983; 32: 141-147.
70. Calvo JC, Baranao JL, Tesone M, Charreau EH. Hypothalamic-hypophyseal-gonadal axis in the streptozotocin-induced diabetic male rat. *J Steroid Biochem* 1984; 20: 769-772.

71. Steger RW, Amador A, Lam E, Rathert J, Weis J, Smith MS. Streptozotocin-induced deficits in sex behavior and neuroendocrine function in male rats. *Endocrinology* 1989; 124(4): 1737-1743.
72. Ikeda M, Kodama H, Fukuda J et al. Role of radical oxygen species in rat testicular germ cell apoptosis induced by heat stress. *Biol Reprod* 1999;61:393–399.
73. Öztürk F, Ağkadir M, Yağmurca U. Deneysel Diyabetin Sıçan Testislerinde Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler. *T Klin J Med Sci* 2002; 22:173–178.
74. Altay B, Çetinkalp S, Doganavsargıl B, Hekimgil M, Serci B. Streptozotocin-induced diabetic effects on spermatogenesis with proliferative cell nuclear antigen immunostaining of adult rat testis, *Fertility and Sterility*, Volume 80, supplement 2, September 2003; 828-831;37:131-136.
75. Cai L, Chen S, Evans T, Deng DX, Mukherjee K, Chakrabarti S. Apoptotic germ-cell death and testicular damage in experimental diabetes: prevention by endothelin antagonism. *Urol Res* 2000; 28: 342-347.
76. Solakoğlu Z. Apoptoz varlığı yada yokluğu bir hastalık nedeni: Klinik fizyopatoloji, *Klinik Gelişim* 2009; 22(3):20-25.
77. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR Cell death: the significance of apoptosis. *Int Rev Cytol* 1980; 68:251–306.
78. Tomatır AG. Apoptoz: Programlı Hücre Ölümü. *T Klin Tıp Bilimleri* 2003; 23:499–508.
79. Norbury CJ, Hickson ID. Cellular responses to DNA damage. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2001;41:367–401.
80. "Sigma-aldrich" [www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/12247?lang=en&region=](http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/12247?lang=en&region=) 01.09.2012.
81. "Olive leaf." Wikipedia the free encyclopedia. [http://en.wikipedia.org/wiki/Olive\\_leaf](http://en.wikipedia.org/wiki/Olive_leaf) [Accessed December 18, 2012].
82. "The olive leaf in medicine and history." <http://www.oliveleafextract.com/history.html> [Accessed December 18, 2012].
83. Felter HW, Lloyd JL. 3. King's American Dispensatory. Cincinnati, OH: Ohio Valley Co 1898.
84. Briante R, Patumi M, Terenziani S, et al. 4. *Olea europaea* L. leaf extract and derivatives: antioxidant properties. *J Agric Food Chem* 2002;50:4934–4940.
85. Japon-Lujan R, Luque de Castro MD. Superheated 5. liquid extraction of oleuropein and related biophenols from olive leaves. *J Chromatogr A* 2006;1136:185–191.
86. Sato H, Genet C, Strehle A, et al. Anti-6. hyperglycemic activity of a TGR5 agonist isolated from *Olea europaea*. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;362:793–798.
87. Benavente-Garcia O, Castillo J, Lorente J, Alcaraz M. 7. Radioprotective effects in vivo of phenolics extracted from *Olea europaea* L. leaves against X-ray-induced chromosomal damage: comparative study versus several flavonoids and sulfur-containing compounds. *J Med Food* 2002;5:125–135.

88. Baidez AG, Gomez P, Del Rio JA, Ortuno A. 8. Dysfunctionality of the xylem of *Olea europaea* L. plants associated with the infection process by *Verticillium dahliae* Kleb. Role of phenolic compounds in plant defense mechanism. *J Agric Food Chem* 2007;55:3373–3377.
89. Walter WM Jr, Fleming HP, Etchells JL. Preparation 9. of antimicrobial compounds by hydrolysis of oleuropein from green olives. *Appl Microbiol* 1973;26:773–776.
90. Soler-Rivas C, Espin JC, Wichers HJ. Oleuropein and related compounds. *J Sci Food Agric* 2000;80:1013–1023.
91. Damtoft S, Franzyk H, Jensen SR. Excelsioside, a secoiridoid glucoside from *Fraxinus excelsior*. *Phytochemistry* 1992; 31: 4197–4201.
92. Damtoft S, Franzyk H, Jensen SR. Biosynthesis of secoiridoid glucosides in *Oleaceae*. *Phytochemistry* 1993; 34: 1291–1299.
93. Damtoft S, Franzyk H, Jensen SR. Biosynthesis of iridoids in *Syringa* and *Fraxinus*: carbocyclic iridoid precursors. *Phytochemistry* 1995; 40: 785–792.
94. Visioli F, Poli A, Galli C. Antioxidant and other biological activities of phenols from olives and olive oil. *Med Res Rev* 2002; 22: 65–75.
95. Visioli F, Bellosta S, Galli C. Oleuropein, the bitter principles of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. *Life Sci.* 1998; 62: 541–546.
96. Carluccio MA, Siculella L, Ancora MA, Massaro M, Scoditti E, Storelli C, Visioli F, Distant A, De Caterina R. Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation: antiatherogenic properties of mediterranean diet phytochemicals. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23: 622–629.
97. Owen RW, Giacosa A, Hull WE, Haubner R, Würtele G, Spiegelhalder B, Bartsch H. Olive oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *Lancet Oncol* 2000; 1: 107–112.
98. Tripoli E, Giammanco M, Tabacchi G, Di Majo D, Giammanco S, La Guardia M. The phenolic composition of olive oil: structure, biological activity, and beneficial effects on human health. *Nutr Res Rev* 2005; 18: 98–112.
99. Fredrickson WR, F and S Group, Inc. Method and Composition for Antiviral Therapy with Olive Leaves. U.S. Patent 2000; 6: 117,884.
100. Andreadou I, Sigala F, Iliodromitis EK, Papaefthimiou M, Sigalas C, Aligiannis N, Savvari P, Gorgoulis V, Papalabros E, Kremastinos DT. Acute doxorubicin cardiotoxicity is successfully treated with the phytochemical oleuropein through suppression of oxidative and nitrosative stress. *J Mol Cell Cardiol* 2007; 42: 549–558.
101. Andreadou I, Iliodromitis EK, Mikros E, Constantinou M, Agalias A, Magiatis P, Skaltsounis AL, Kamber E, Tsantili-Kakoulidou A, Kremastinos DT. The olive constituent oleuropein exhibits anti-ischemic, antioxidative, and hypolipidemic effects in anesthetized rabbits. *J Nutr* 2006; 136: 2213–2219. PMID:16857843

102. Gonzalez M, Zarzuelo A, Gamez MJ, et al. Hypoglycemic activity of olive leaf. *Planta Med* 1992;58:513–515.
103. Komaki E, Yamaguchi S, Maru I, et al. Identification of anti-alpha-amylase components from olive leaf extracts. *Food Sci Technol Res* 2003;9:35–39.
104. Renis HE. In vitro antiviral activity of calcium elenolate. *Antimicrob Agents Chemother* (Bethesda) 1969; 9:167–172.
105. Lee-Huang S, Zhang L, Huang PL, et al. Anti-HIV activity of olive leaf extract (OLE) and modulation of host cell gene expression by HIV–1 infection and OLE treatment. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;307:1029–1037.
106. Micol V, Caturla N, Pérez-Fons L, et al. The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV). *Antiviral Res* 2005;66:129–136.
107. Elliott GA, Buthala DA, DeYoung EN. Preliminary safety studies with calcium elenolate, an antiviral agent. *Antimicrob Agents Chemother* (Bethesda) 1969;9:173–176.
108. Markin D, Duek L, Berdicevsky I. In vitro antimicrobial activity of olive leaves. *Mycoses* 2003;46:132–136.
109. Tassou CC, Nychas GJ, Board RG. Effect of phenolic compounds and oleuropein on the germination of *Bacillus cereus* T spores. *Biotechnol Appl Biochem* 1991;13:231–237.
110. Aziz NH, Farag SF, Mause LA, Abo-Zaid MA. Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios* 1998; 93:41–44.
111. Wojcikowski K, Stevenson L, Leach D, et al. Antioxidant capacity of 55 medicinal herbs traditionally used to treat the urinary system: a comparison using a sequential three-solvent extraction process. *J Altern Complement Med* 2007;13:103–109.
112. Visioli F, Galli C. Oleuropein protects low density lipoprotein from oxidation. *Life Sci* 1994; 55:1965–1971.
113. Coni E, Di Benedetto R, Di Pasquale M, et al. Protective effect of oleuropein, an olive oil biophenol, on low density lipoprotein oxidizability in rabbits. *Lipids* 2000;35:45–54.
114. Pieroni A, Heimler D, Pieters L, et al. In vitro anti-complementary activity of flavonoids from olive (*Olea europaea* L.) leaves. *Pharmazie* 1996; 51:765–768.
115. Petroni A, Blasevich M, Salami M, et al. Inhibition of platelet aggregation and eicosanoid production by phenolic components of olive oil. *Thromb Res* 1995; 78:151–160.
116. Ioanna A, Efsthios K, Emmanuel M, Maria C, Apostolos A, Prokopios M, Aleksios LS, Elli K, Anna TK, Dimitrios TK. The olive constituent oleuropein exhibits anti-ischemic, antioxidative, and hipolipidemic effect in anesthetized rabbits. *The J of Nutrition* 2006; 136:2213–2219.
117. De la Puerta R, Dominguez MEM, Ruiz-Gutierrez V, Flavill JA, Hoult JRS. Effects of olive oil phenolics on scavenging of reactive nitrogen species and upon nitrenergic neurotransmission. *Life Sci* 2001; 69: 1213–1222.

118. Manna C, Migliardi V, Golino P, Scognmiglio A, Galetti P, Chiariello M, Zappia V. Oleuropein prevents oxidative myocardial injury by ischemia and reperfusion. *J Nutr Biochem* 2004; 15: 461–468.
119. Gonzalez M, Zarzuelo A, Gamez MJ, et al. 26. Hypoglycemic activity of olive leaf. *Planta Med* 1992; 58:513–515.
120. Al-Azzawie HF, Alhamdani MS. Hypoglycemic and 40. antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sci* 2006;78:1371–1377.
121. Türk G, Ateşşahin A, Sönmez M, Yüce A, Çeribaşı AO. Lycopene protects against cyclosporine A-induced testicular toxicity in rats. *Theriogenology* 2007; 67: 778-785.
122. Sönmez M, Türk G, Yüce A. The effect of ascorbic acid supplementation on sperm quality, lipid peroxidation and testosterone levels in male wistar rats. *Theriogenology* 2005; 63: 2063-2072.
123. Memişoğulları R. Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi, *Düzce Tıp Fakültesi Dergisi* 2005; 3:30-39.
124. Bircan FS, Balabanlı B, Turkozkan N, Ozan G. Effects of taurine on nitric oxide and 3-nitrotyrosine levels in spleen during endotoxemia. *Neurochem Res* 2011; 36(11):1978-83.
125. Ozan G, Turkozkan N, Bircan FS, Balabanlı B. Effects of taurine on brain 8-hydroxydeoxyguanosine and 3-nitrotyrosine levels in endotoxemia. *Neurochem Res* 2012; 35(2):665-70.
126. Fox JT, Sakamuru S, Huang R, et al. Mechanisms of antioxidant-induced DNA damage. *PNAS* 2012; 109(30): E2029.
127. Fox JT, Sakamuru S, Huang R, et al. High-throughput genotoxicity assay identifies antioxidants as inducers of DNA damage response and cell death. *PNAS* 2012;109(14): 5423-5428.
128. Dündar Y, Aslan R. Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar, 1. Baskı, Ankara, 2000; 95.
129. Anderson LC. Effects of alloxan diabetes and insulin in vivo on the rat parotid gland. *Am J* 1983; 245: 431-437.
130. Lin SH, Wang ZS. Study on the Expression of Androgen Receptor in Testis, Epididymis and Prostate of Adult Rats with Diabetes. *Zhonghua Nan Ke Xue*, Dec 2005;11(12), 891-894.
131. Ghafari S, Balajadeh BK, Golalipour MJ. Effect of *urtica dioica* L. (Urticaceae) on testicular tissue in STZ-induced diabetic rats. *Pak. J. Biol. Sci* 2011; 14(16):798-804.
132. Bal R, Türk G, Tuzcu M, Yılmaz Ö, Özercan İ, Kuloğlu T ve ark. Protective effects of nanostructures of hydrated C60 fullerene on reproductive function in streptozotocin-diabetic male rats. *Toxicology* 2010; 282 (2011) 69–81.
133. Cameron DF, Murray FT, Drylie DD. Interstitial compartment pathology and spermatogenic disruption in testes from impotent diabetic men. *Anat Rec* 1985;213:53-62.

134. Yiğitbaşı T, Baskın Y, Çelik H ve ark. Fertil ve infertil erkeklerde yeni bir otomatik metotla seminal plazmada total oksidan ve antioksidan yanıtın değerlendirilmesi. Türkiye Klinikleri J Med Sci 2011;31(1):61.
135. Tav RÇ, Okudan N, Gökbel H, Büyükbaş S, Belviranlı M. Alfa lipoik asidin diyabetli sıçanlarda egzersizle oluşan lipit peroksidasyonu üzerine etkileri. Selçuk Tıp Dergisi 2012; 28(4):227-229.
136. Tsounapi P, Saito M, Dimitriadis F, et al. Antioxidant treatment with edaravone or taurine ameliorates diabetes-induced testicular dysfunction in the rat. Moll Cell Biochem 2012; 369:195-204.
137. Türk AE. Deneysel Diyabetik Rat Testis Dokusundaki Apoptotik Değişiklikler Üzerine Vitamin D ve Vitamin E'nin Etkisinin Araştırılması. Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, 2010.
138. Guneli E, Tuğyan K, Öztürk H, Gümüştekin M, Cilaker S, Uysal N. Effect of melatonin on testicular damage in streptozotocin-induced diabetes rats. Eur Surg Res 2008; 40: 354-360.
139. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. A review. J Biomed Sci 2000; 7: 444-458.
140. Başaner H. Streptozotosin ile deneysel diabet oluşturulmuş sıçanların çeşitli doku antioksidan sistemlerine, Vitamin E, Vitamin C ve selenyumun etkileri. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul:İstanbul Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, 1999.
141. Jemai H, et al. antidiabetic and antioxidant effects of hydroxytyrosol and oleuropein from olive leaves in alloxan-diabetic rats. J. Agric. Food Chem 2009; 57:8798-8804.
142. Aksoy N, Vural H, Sabuncu T, Aksoy S. Effects of melatonin on oxidative–antioxidative status of tissues in streptozotocin-induced diabetic rats. Cell Biochem Funct 2003; 21:121-125.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Elazığ'da doğdum. 2001 yılında Balakgazi Lisesinden mezun olup, 2003 yılında Fırat Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandım ve 2007 yılında mezun oldum. 2007 yılında Fırat Üniversitesi Tezsiz Yüksek Lisansı kazandım ve 2008 yılında mezun oldum. 2010 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans eğitimime başladım. Halen eğitime devam etmekteyim. Yabancı dilim İngilizcedir.