

**T.C.  
BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Yüksek Lisans Tezi**

**DIYABETİK RATLARDA FURANIN TESTİSLER ÜZERİNE  
TOKSİK ETKİSİ VE LİKOPENİN KORUYUCU ROLÜ**

**Özlem KARA**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Dilek PANDIR**

**Yozgat 2015**



**T.C.  
BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Yüksek Lisans Tezi**

**DIYABETİK RATLARDA FURANIN TESTİSLER ÜZERİNE  
TOKSİK ETKİSİ VE LİKOPENİN KORUYUCU ROLÜ**

**Özlem KARA**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Dilek PANDIR**

**Yozgat 2015**

T.C.  
BOZOK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEZ ONAYI

Enstitümüzün Biyoloji Anabilim Dalı 70110313004 numaralı öğrencisi Özlem KARA'nın hazırladığı "Diyabetik Ratlarda Furanin Testisler Üzerine Toksik Etkisi Ve Likopenin Koruyucu Rolü" başlıklı yüksek lisans tezi ile ilgili tez savunma sınavı, Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği uyarınca 03/07/2015 Cuma günü saat 15:00' da yapılmış, tezin onayına oy çokluğu / oy birliği ile karar verilmiştir.

Başkan : Prof. Dr. Ergin HAMZAOĞLU

Üye : Doç. Dr. Dilek PANDIR (Danışman)

Üye : Yrd. Doç. Dr. Murat KOÇ

ONAY:

Bu tezin kabulü, Enstitü Yönetim Kurulu'nun 07/07/2015 tarih ve 18 sayılı kararı ile onaylanmıştır.



# İÇİNDEKİLER

Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	<b>iii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>vii</b>
<b>TABLolar LİSTESİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>KISALTMALAR LİSTESİ</b> .....	<b>x</b>
<b>1.GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1.Tezin Amacı .....	1
1.2.Tezin Konusu ve Önemi .....	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>2</b>
2.1.Furan.....	2
2.1.1. Furanın kimyasal formülü ve özellikleri.....	2
2.1.2. Furan oluşum mekanizmaları .....	3
2.1.3. Furanın toksik etkisi .....	3
2.1.4. Furan içeren besinler.....	4
2.2. Antioksidanlar .....	4
2.3. Oksidatif stres ve antioksidanlar .....	6
2.3.1. Oksidatif stres ve antioksidanların testisteki rolü.....	6
2.4. Testis.....	7
2.4.1. Testis anatomisi .....	7
2.4.2. Testis histolojisi .....	8
2.4.3. Testis ve üreme sistemi hormonları.....	8
2.4.3.1. Testosteron.....	8
2.4.3.2. FSH.....	9
2.4.3.3.LH .....	10
2.5. Diabetes Mellitus.....	10

2.6. Likopen.....	11
2.6.1. Likopen'in antioksidatif etkisi .....	12
2.6.2. Likopen'in antikanserojen etkisi.....	12
2.6.3. Likopen'in antiinflamatuvar etkisi .....	13
2.6.4. Likopen ile diyabet arasındaki ilişki.....	13
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....</b>	<b>14</b>
3.1. Hayvanların hazırlanması .....	14
3.2. Kimyasallar.....	14
3.3. Hayvanlara uygulama planı .....	14
3.3.1. Grup 1 (Kontrol grubu).....	15
3.3.2. Grup 2 (Diyabetik kontrol grubu).....	15
3.3.3. Grup 3 (Furan uygulanan grup) .....	15
3.3.4. Grup 4 (Likopen uygulanan grup) .....	15
3.3.5. Grup 5 (Furan ve Likopen uygulanan grup) .....	16
3.3.6. Deneysel çalışma .....	16
3.4. Parametrelerin değerlendirilmesi ve ölçüm metodları .....	16
3.4.1. Malondialdehit (MDA) düzeyi tayini .....	16
3.4.2. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi tayini .....	17
3.4.3. Katalaz (CAT) aktivitesi tayini.....	17
3.4.4. Glutasyon peroksidaz (GPx) aktivitesi tayini .....	17
3.4.5. Glutasyon-S-transferaz (GST) aktivitesi tayini.....	18
3.4.6. Testosteron, LH ve FSH seviyelerinin tayini .....	18
3.5. Işık mikroskobu incelemeleri .....	18
3.6. Verilerin değerlendirilmesi.....	18
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>19</b>
4.1. Furan'ın Malondialdehit (MDA) düzeyi ve enzim aktivitelere etkisi.....	19
4.1.1. Furan'ın Malondialdehit (MDA) düzeyleri üzerindeki etkisi.....	19
4.1.2. Furan'ın Süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesine etkisi .....	19
4.1.3. Furan'ın Katalaz (CAT) enzim aktivitesine etkisi.....	20
4.1.4. Furan'ın Glutasyon peroksidaz (GPx) enzim aktivitesine etkisi.....	21
4.1.5. Furan'ın Glutasyon-S-transferaz (GST) enzim aktivitesine etkisi.....	22
4.2. Furan'ın plazma hormon seviyelerine etkisi .....	23

4.2.1. Plazma FSH seviyesi .....	23
4.2.2. Plazma LH seviyesi .....	23
4.2.3. Plazma Testosteron seviyesi .....	23
4.3. Işık mikroskobu bulguları.....	24
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....</b>	<b>30</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>33</b>

# **DİYABETİK RATLARDA FURANIN TESTİSLER ÜZERİNE TOKSİK ETKİSİ VE LİKOPENİN KORUYUCU ROLÜ**

**Özlem KARA**

**Bozok Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**2015; Sayfa: 42**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Dilek PANDIR**

## **ÖZET**

Furan (C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O) ısı kaynaklı gıda kirleticisidir ve sanayide kimyasal bir ajan olarak kullanılır. Likopen bitkiler ve domateste bulunan doğal bir bileşendir. Bu çalışmanın amacı, diyabetik ratlarda testisler üzerindeki furan toksisitesi ve likopenin koruyucu etkisini araştırmaktır. Sıçanlarda 55 mg/kg streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulduktan sonra kan örnekleri alındı ve glikoz düzeyleri ölçüldü. Wistar-Albino cinsi erkek sıçanlar kullanılarak 5 grup oluşturuldu: Grup 1'e (kontrol grubu), 1 ml/kg mısır yağı verildi. Grup 2'ye (diyabetik kontrol grubu), 55 mg/kg STZ ve 1 ml/kg mısır yağı verildi. Grup 3'e (diyabetik furan grubu), 55 mg/kg STZ ve 40 mg/kg furan verildi. Grup 4'e (diyabetik likopen grubu), 55 mg/kg STZ ve 4 mg/kg likopen verildi. Grup 5'e (diyabetik furan+likopen grubu), 55 mg/kg STZ, 40 mg/kg furan ve 4 mg/kg likopen verildi. 28 günlük periyodun sonunda testisler tüm gruplarda çıkarıldı. Testiküler doku örneklerinde malondialdehit (MDA) düzeyleri ve superoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GST) enzim aktiviteleri çalışıldı. Serum FSH, LH ve testosteron düzeyleri ölçüldü. Işık mikroskobu bulgularına göre histopatolojik değerlendirme yapıldı. Diyabetik furan grubundaki MDA düzeyleri ve SOD, CAT, GPx, GST enzim aktiviteleri kontrol ve diyabetik kontrol gruplarından anlamlı şekilde daha yüksekti (p<0.05). Diyabetik Furan+likopen grubundaki MDA düzeyleri ve SOD, CAT, GPx, GST enzim aktiviteleri diyabetik furan grubundan anlamlı şekilde daha düşüktü (p<0.05). Diyabetik kontrol grubu ile diyabetik furan uygulanan grup kıyaslandığında kan testosteron düzeyinin düşmesi endokrinolojik bir bozukluğu ve dolayısı ile hücrel dejeneratif değişiklikleri düşündürmektedir. Sonuç olarak,



likopen diyabetik sıçanların testislerinde furana bağlı olarak oluşan toksisiteyi geri çevirmede etkili olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Furan, sıçan, testis, toksisite, likopen, diyabet.

# **TOXICITY OF FURAN ON TESTIS IN DIABETIC RATS AND PROTECTIVE ROLE OF LYCOPENE**

**Özlem KARA**

**Bozok University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology  
Master of Science Thesis**

**2015; Page: 42**

**Thesis Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Dilek PANDIR**

## **ABSTRACT**

Furan (C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O) is a heat-induced food contaminant and utilized as a chemical agent in industry. Lycopene is a natural substance produced by plants and tomato. The aim of this study was to investigate the furan toxicity on testes and the protective effect of lycopene in diabetic rats. Diabetes was generated with 55 mg/kg single dose streptozotocin (STZ). 2 days after injection, blood samples were taken glucose levels were measured. Male Wistar–Albino rats were utilized to form five groups: Group 1 (control group), 1 ml/kg corn oil was given. Group 2 (diabetic control group), 55 mg/kg STZ and 1 ml/kg corn oil were administered. Group 3 (diabetic furan group), 55 mg/kg STZ and 40 mg/kg furan were given. Group 4 (diabetic lycopene group), 55 mg/kg STZ and 4 mg/kg lycopene were given. Group 5 (diabetic furan + lycopene group), 55 mg/kg STZ, 40 mg/kg furan and 4 mg/kg lycopene were administered. At the end of 28 days' period, testes were extirpated in all groups. In testicular tissue samples, malondialdehyde (MDA) levels and enzymatic activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and reduced glutathione (GST) were studied. Serum FSH, LH and testosterone levels were measured. Histopathologic examination was performed by light microscopic findings. MDA levels and enzymatic activities of SOD, CAT, GPx, GST were significantly higher in furan group than control and diabetic control groups ( $p<0.05$ ). MDA levels and enzymatic activities of SOD, CAT, GPx, GST were significantly lower in furan+likopen group than furan only group ( $p<0.05$ ). When control group and diabetic control group were compared, low blood testosterone levels in rats which furan applied suggested that an endocrinological defect and

cellular degenerative changes. In conclusion, lycopene might be effective to reverse furan toxicity in diabetic rat testes.

**Key Words:** Furan, rat, testis, toxicity, lycopene, diabetes mellitus.

## TEŞEKKÜR

Bu tez alıŐmasının gerekleŐtirilmesinde ve üniversite eğitimim süresince benden hiçbir zaman yardımlarını, desteğini ve tecrübelerini esirgemeyen değerli danışman hocam Sayın Do. Dr. Dilek PANDIR'a ve bana yol gösteren değerli hocam Sayın ArŐ. Gör. Dr. Hatice BAŐ'a en içten saygı ve teŐekkürlerimi sunarım.

Ayrıca üniversitedeki eğitimim boyunca bilgi ve becerilerinden yararlandığım, her konuda destek alabildiğim, danıŐabildiđim değerli hocalarıma sonsuz teşekkür ederim.

Hayatımın her anında karŐılıksız sevgilerini, maddi-manevi desteklerini benden esirgemeyen, varlıklarıyla ve davranıŐlarıyla her zaman gurur duyduğum sevgili eŐim Mustafa KARA ve ocuklarım Elif ve Ali KARA'ya bana her zaman özel olduğumu hissettirdikleri için teşekkür ederim. Her an, her koŐulda yanımda oldukları için ve bana hayata pozitif bakmayı öğrettikleri için onlara en içten sevgi ve saygılarımı sunuyorum ve bu tezimi sevgili aileme hediye ediyorum.

## TABLÖLAR LİSTESİ

**Tablo 3. 1:** Deneyde oluşturulan gruplar ve uygulanan madde miktarları .....15

**Tablo 4. 1:** Deneyde oluşturulan gruplar ve plazma hormon seviyeleri.....24

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2. 1: Furanın kimyasal yapısı.....	1
Şekil 2. 2: Antioksidanların sınıflandırılması .....	5
Şekil 2.4.1: Testisin anatomik yapısı .....	7
Şekil 2.4.2: Erkek üreme sisteminde rol alan hormonlar.....	9
Şekil 2. 6: Likopenin kimyasal yapısı.....	11
Şekil 4.1.1: Uygulama grupları arasında MDA seviyelerinin karşılaştırması .....	19
Şekil 4.1.2: Uygulama grupları arasında SOD aktivitelerinin karşılaştırması.....	20
Şekil 4.1.3: Uygulama grupları arasında CAT aktivitelerinin karşılaştırılması.....	21
Şekil 4.1.4: Uygulama grupları arasında GPx aktivitelerinin karşılaştırılması .....	22
Şekil 4.1.5: Uygulama grupları arasında GST aktivitelerinin karşılaştırılması .....	23
Şekil 4.3.1: Kontrol grubuna ait testis histoloji yapısı.....	25
Şekil 4.3.2: Diyabetik kontrol grubuna ait testis histoloji yapısı .....	25
Şekil 4.3.3: Diyabetik likopen grubuna ait testis histoloji yapısı .....	26
Şekil 4.3.4: Diyabetik likopen grubuna ait testis histoloji yapısı .....	26
Şekil 4.3.5: Diyabetik furan grubuna ait testis histoloji yapısı .....	27
Şekil 4.3.6: Diyabetik furan grubuna ait testis histoloji yapısı .....	27
Şekil 4.3.7. Diyabetik furan ve likopen grubuna ait testis histoloji yapısı.....	28
Şekil 4.3.8. Diyabetik furan ve likopen grubuna ait testis histoloji yapısı.....	29

## KISALTMALAR LİSTESİ

**ANOVA:** Tek yönlü varyans analizi

**CAT:** Katalaz

**CDNB:** 1-chloro-2,4-dinitrobenzen

**CRP:** C Reaktif Protein

**DM:** Diabetes Mellitus

**DNA:** Deoksiribonükleik asit

**EFSA:** European Food and Safety Authority

**FDA:** Gıda ve İlaç Yönetimi

**FSH:** Folikül Uyarıcı Hormon

**GnRH:** Gonadotropin Salgılatıcı Hormon

**GPx:** Glutasyon Peroksidaz

**GSH:** Glutasyon

**GST:** Glutasyon-S-Transferaz

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:** Hidrojen Peroksit

**IARC:** Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi (International Agency for Research on Cancer)

**LH:** Lüteinizan Hormon

**MDA:** Malondialdehit

**NADP:** Nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat

**NADPH:** Nikotinamid-adenin-dinükleotid hidrojen fosfat

**NTP:** Ulusal Toksikoloji Programı

**ROT:** Reaktif Oksijen Türleri

**SOD:** Süperoksit Dismutaz

**STZ:** Streptozotosin

# 1. GİRİŞ

## 1.1. Tezin amacı

Bu çalışmanın amacı, konserveleme ve kavanozlama gibi işlemlerle ısı muamelesi görmüş birçok besinde açığa çıkan furanın [1], diyabetik ratlarda testis üzerindeki toksik etkisi ve likopenin bu toksisite üzerine gösterdiği koruyucu etkisinin araştırılmasıdır. Bu amaca ulaşmak için antioksidan enzimler olan Süperoksit Dismutaz (SOD), Malondialdehit (MDA), Katalaz (CAT), Glutasyon Peroksidaz (GPx) ve Glutasyon-S-Transferaz (GST) enzim aktiviteleri, testosteron, FSH ve LH hormon seviyeleri ile testis histopatolojisi incelenmiştir.

## 1.2. Tezin konusu ve önemi

Bu tez çalışmasında deneysel olarak diyabet oluşturulmuş ratlara uygulanan furanın neden olduğu toksik etkiyi azaltmak ya da ortadan kaldırmak için likopen kullanılmıştır. Likopen özellikle domates, karpuz gibi sebze ve meyvelerde doğal olarak bulunan karotenoid ailesine ait bir pigment olup bulunduğu sebze ve meyvelere kırmızı renk verir [2]. Likopen, antoksidan özelliği ile de birçok çalışmada kemoteropatik ajanlara yardımcı tedavi olarak kullanılmıştır [3-5].

Bu çalışma, ısı muamelesi görmüş birçok besinde açığa çıkan furanın uygulanması ile diyabetik ratlarda testiste meydana gelen hasarın histopatolojik olarak incelenmesi, antioksidan enzim sistemlerinde meydana gelen değişikliklerin ve serum Folikül Stimulan Hormon (FSH), Lüteinizan Hormon (LH) ve testosteron hormon seviyelerinin belirlenmesi, likopenin koruyucu etkisinin gösterilmesi ve bu konuyla ilgili yapılacak çalışmalara destek olması açısından önemlidir.

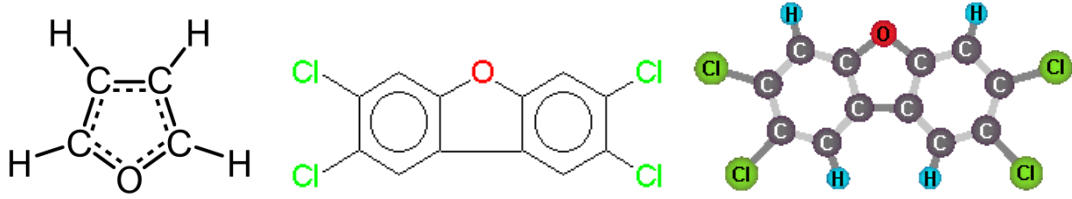


## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Furan

#### 2.1.1. Furanın kimyasal formülü ve özellikleri

Renksiz, uçucu, yanıcı bir madde olan furan aynı zamanda zehirli ve kanserojendir. Furanın kimyasal yapısı Şekil 2. 1.'de gösterilmiştir.



Şekil 2. 1. Furanın kimyasal yapısı [6-7].

**Formül:** C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O

**Yoğunluk:** 936,00 kg/m<sup>3</sup>

**Molar kütle:** 68,07g/mol

**Kaynama noktası:** 31,3 °C

**Erime noktası:** -85, 6 °C

Latince anlamı kepek olan furan, “furfur” kelimesinden köken almaktadır [8]. Furan, rezin, lake gibi bileşiklerin sentez ve üretiminde ara madde olarak kullanıldığı gibi [9] herbisitler, plastikler ve ilaçlar gibi bazı kimyasal bileşiklerin üretiminde de kullanılmaktadır [10]. Özellikle konserveleme ve kavanozlaşma gibi işlemlerle ısı muamelesi görmüş birçok besinde furan varlığına rastlanmıştır [1]. Furan endüstride oldukça yaygın kullanılan bir kimyasal olup çevrede bulunması sağlık açısından önem taşımaktadır [11]. Bazı araştırmalar çevrede sigara dumanı ve sisin bileşiminde de furan varlığını göstermiştir [12].

### **2.1.2. Furan oluşum mekanizmaları**

Besinlerde üç farklı mekanizmayla furan oluştuğu gösterilmiştir. Bu mekanizmalar;

1. Sıcaklıkla bozunmuş/ indirgenmiş şekerlerin tek başına ya da aminoasit varlığında Maillard reaksiyonu sonucu furan oluşumu,
2. Belirli aminoasitlerin sıcaklıkla bozunmaları ile furan oluşumu,
3. Askorbik asit, doymamış çoklu yağ asitleri ve karotenoidlerin sıcaklıkla okside olmaları sonucu furan oluşumudur [13].

### **2.1.3. Furanın toksik etkisi**

Furanların 2, 3, 7, 8 inci karbon atomunda klor bağlı olan bileşikler çabuk bozulmadıkları için oldukça toksik maddelerdir. Çevrede her yere yayılırlar ve besin zincirinde hızlı bir şekilde biyoakümüle olurlar. Furana hava, su, toprak, sediment gibi ekosistemin bütün bölümlerinde rastlanmıştır. Bu maddelerin hava ile taşınmasıyla ilgili çalışmalar da mevcuttur [14]. Furan toprakta, suda ve havada parçalanmaya dirençlidir. Bu yüzden memeli hayvanlara geçmekte ve onların yağ dokularında birikmektedir. Aynı zamanda insanların ve hayvanların yağ dokularında uzun yıllar kalabildiği için stres ve açlık neticesinde kana geçip, uzun yıllar sonra bile toksik etkilerini sürdürmektedir. İnsanlarda yapılan çalışmalarda, birkaç mg Furana maruz kalındığında bile ciltte, gözlerde ve davranışlarda çeşitli toksik etkiler gözlenmiştir [15]. Yapılan çalışmalarda furanın kadın ve erkek hormonlarının sentezlerini azaltarak üremeyi azalttığı, gelişmeyi engellediği belirlenmiştir. Laboratuvarında, hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar, furanın düşük konsantrasyonlarda bile, oldukça toksik olduğunu göstermiştir [16]. Furanın EFSA (European Food and Safety Authority = Avrupa Gıda Güvenliği İdaresi) tarafından yayınlanan toksisite risk değerlendirmesinde sığanlar ve fareler üzerinde doz artışına bağlı olarak ve büyük olasılıkla genotoksik mekanizmayı etkileyerek karsinojenik olduğu belirtilmiştir [17]. Furan sığanlarda ve farelerde karsinojenik olduğu gibi IARC (International Agency for Research on Cancer = Uluslararası Kanser Araştırma Merkezi) tarafından insanlar için de karsinojen olma olasılığı yüksek (Grup 2B) olarak sınıflandırılmıştır [18].

NTP (National Toxicology Program = Ulusal Toksikoloji Programı) tarafından yapılan toksisite çalışmaları sonucunda furanın çok sayıda organı etkileyerek etkili bir karsinojen potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir [6]. İntraperitoneal enjeksiyon yoluyla furan uygulanan fareler üzerinde yapılan bir çalışmada hepatik ve renal nekroz olduğu gözlenmiştir [19]. Yapılan başka bir çalışmada ise furan, fare lenfoma hücrelerinde mutajenite göstermiştir [20].

#### **2.1.4. Furan içeren besinler**

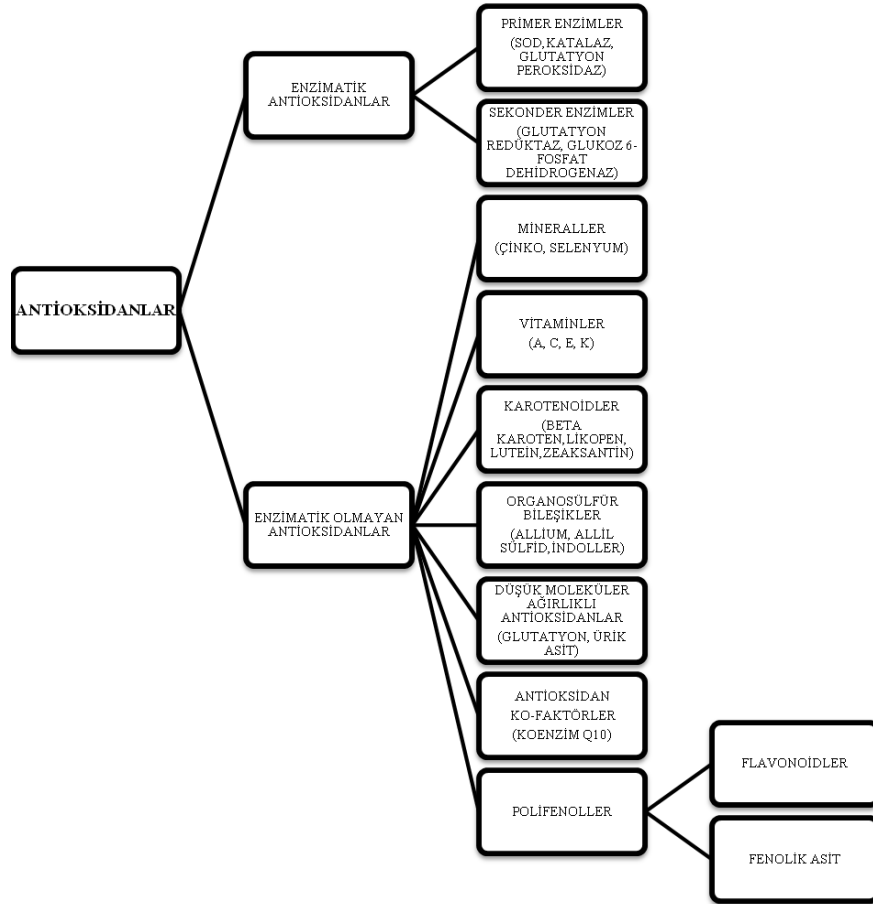
EFSA ve FDA (Food and Drug Administration = Gıda ve İlaç Yönetimi ) tarafından yapılan çalışmalar sonucunda, et suyu (13-174 µg/kg), karamel (220-400 µg/kg) ve soya sosu (17-90 µg/kg) gibi besinlerde yüksek miktarlarda furan tespit edilmiştir. Kahve, konserve etler, sodyum kazeinat, fındık, hidrolize soya proteini, kolza tohumu proteini, balık protein konsantresi ve karameli de kapsayan daha pek çok besin furan içeren besinler listesinde yer almaktadır [21]. Et suyu ve karamel çok düşük miktarlarda tüketilmekte iken soya sosu özellikle Asya ülkelerinde çok fazla miktarda tüketilmektedir [20]. Kavrulmuş, öğütülmüş kahve ve bebek mamaları ile yapılan çalışmalarda, besinlerin hazırlanmasından ya da ticari ürünlerin açılmasından sonra besinlerdeki furanın kalıcı olmadığı ve furanın etkisinin ürün sıcaklığından ve atmosferle temas ettiği zamanla bağlantılı olduğu gösterilmiştir [22].

#### **2.2. Antioksidanlar**

Serbest radikaller, üzerinde elektron fazlalığı veya eksikliği nedeniyle yüklü olan kimyasal olarak aktif atom veya moleküllerdir. Serbest radikallerin en önemlileri özellikle reaktif tür oksijen içerenlerdir. Bunlar; hidrojen peroksit, alkoksit ve ozon gibi eşleşmemiş elektronu bulunmayan oksijen türevleri ile hidroksil, peroksil, azot oksit, azot trioksit ve süperoksit radikallerini içerir. İşte bu serbest radikalleri ortadan kaldıran, oksidasyonunu engelleyen ya da oksidasyon reaksiyonunun gecikmesine neden olan maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denir [23]. Yani antioksidanlar, serbest oksijen radikallerini etkisiz hale getirip, reaksiyonları yavaşlatıp, sonlandırıp ya da serbest oksijen radikallerinin olumsuz etkilerini azaltmaya çalışırlar [24].

Antioksidan savunma radikal metabolit üretiminin önlenmesi, üretilmiş radikallerin temizlenmesi, oluşan hücre harabiyetinin onarılması, sekonder radikal üreten zincir reaksiyonlarının durdurulması ve endojen antioksidan kapasitenin artırılması şeklinde beş farklı bloğa ayrılabilir [25].

Bazı araştırmacılar antioksidan savunmayı enzimatik savunma ve nonenzimatik savunma olarak gruplandırmışlardır. SOD, CAT, GPx ve GST'nin rol aldığı antioksidan aktivitelerini “enzimatik antioksidan savunma”, vitamin A, vitamin E, askorbat, glutatyon ve ürik asit gibi maddelerle gerçekleştirilen deoksidasyon işlemlerini ise “nonenzimatik antioksidan savunma” şeklinde adlandırmışlardır [25]. Yapılan çalışmalar, antioksidanların serbest radikalleri etkisiz hale getirerek hücrelerin zarar görmesini engellediğini ortaya koymuştur [26].



Şekil 2. 2. Antioksidanların sınıflandırılması [27].

### **2.3. Oksidatif stres ve antioksidanlar**

Oksidatif stres, canlı organizmadaki prooksidan/antioksidan sistemin dengesinin bozulmasından kaynaklanmaktadır. Mitokondriyal elektron taşınımı ya da bazı nörotransmitterlerin (norepinefrin, dopamin gibi) otooksidasyonu sonucundaki oksidan oluşumunu ve doku hasarını tetiklemektedir. Oksidatif stres temel olarak süperoksit ve nitrik oksit üretimine dayanmaktadır [28].

#### **2.3.1. Oksidatif stres ve antioksidanların testisteki rolü**

Tüm canlılar için hayati önemi olan oksijen, hücre için gerekli olan enerji üretiminde kullanılır. Enerji üretiminin doğal bir yan ürünü olan serbest oksijen radikalleri reaktif ve potansiyel olarak yüksek düzeyde zararlı maddelerdir [29]. Hücreler, serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için antioksidan üretirler. Serbest radikallerin oluşumları ve bunların antioksidanlar tarafından nötralize edilmeleri arasında bir denge vardır. Bu denge sayesinde hücreler serbest radikallerin olumsuz etkilerinden zarar görmez. Bu dengenin serbest radikaller lehinde bozulması halinde hücrede serbest radikaller artar. Serbest radikallerin hücredeki bu artışına ve hücre fonksiyonları üzerinde yapmış olduğu olumsuz etkiye oksidatif stres denir [30]. Testiste spermatogenez aktif olarak tekrarlanarak saniyede yaklaşık 1000 sperm üretilir. Bu süreçte hücre bölünmesi sırasında germinal epitel tarafından yüksek miktarda mitokondriyal oksijen tüketimi gerçekleşir. Testiste damarlanmanın zayıf olması nedeniyle bu dokudaki oksijen miktarı düşüktür. Bu yüzden oksijen rekabeti oldukça fazladır. Oksidatif stresle hem spermatogenez hem de Leydig hücre steroidogenezi hasar görebilir. Testis dokusundaki oksijen miktarının düşük olması, testisteki serbest radikal hasarından kendisini koruyabilmesini sağlayan mekanizma parçalarından biridir. Her ne kadar testiste düşük oksijen miktarı olsa da, fazla miktarda doymamış yağ asitlerinin ve ROT oluşturan sistemlerin varlığı nedeniyle, oksidatif stres bakımından hassastır. Testis serbest radikallerin hasarından korunmak için çeşitli antioksidan enzimler ve serbest radikal temizleyiciler içermektedir. Bu antioksidan sistemler, enzimatik ya da nonenzimatik öğelerden oluşabilmektedir [31]. SOD ve CAT bu enzimatik öğelerden bazılarıdır. Testis bu enzimlere ek olarak, oksidatif hasara karşı korunmak için küçük molekül ağırlıklı antioksidan faktörlere de başvurmaktadır. Bu faktörler iyonlar ve serbest radikal süpürücü etkinlikteki

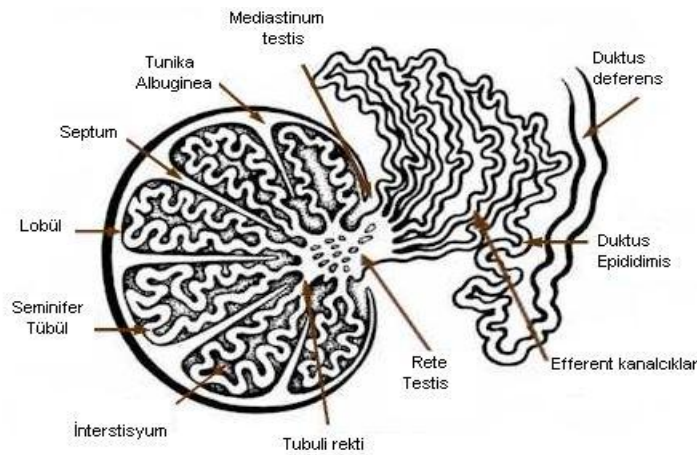
çinko, E vitamini, C vitamini, melatonin, sitokrom C gibi maddelerdir [32]. Testis, steroidogenez ve sperm üretimini desteklemek amacı ile antioksidan açıdan korunur fakat bazı endojen ve eksojen faktörler bu savunmayı bozar ve oksidatif stres meydana getirir. Bu gibi savunma sistemlerinin yeterli olmadığı durumlarda kullanılan antioksidan terapi erkek infertilitesinde de kullanılır. Antioksidan terapi ile lipid peroksidasyon potansiyeli azaltıldığında fertilizasyon oranı artmaktadır [33].

## 2.4. Testis

### 2.4.1. Testis anatomisi

Erkek üreme sisteminde iki adet testis bulunmaktadır. Testis içinde tubuli rekti ve rete testis, testis dışında ise epididimis, duktus deferens ve ejakülatör kanallardan oluşan genital kanal sistemi mevcuttur [34].

Testisler memelilerde karın boşluğunun dışında, skrotum içinde ayrı bölümlerde yerleşmiş oval şekilli organlardır. Her bir testisin boyutu yaklaşık 2.5x3.5 cm, ağırlığı ise 10-15 gramdır. Testislerin yerleşim yerleri nedeniyle testis sıcaklığı vücut ısısından 2-3 °C daha düşüktür. Bu da normal spermatogenez için gerekli sıcaklık olan 34-35 °C ye karşılık gelmektedir. Çift organ olan testisler, erkek üreme hücreleri olan spermatozoonlar ile erkek cinsiyet hormonları olan androjenleri üretirler [35].



Şekil 2.4.1. Testisin anatomik yapısı [36].

Seminifer tübüller uzun, oldukça kıvrımlı tüplerdir ve rete testis ile sonlanırlar. Rete testis testiküler sperm, salgısal proteinler ve iyonlar gibi seminifer epitel ürünlerini toplayan kanallar ağıdır. Bazal lamina üzerinde yer alan seminifer epitel, sertoli hücreleri ve çeşitli evrelerde olgunlaşan germ hücrelerinden oluşmaktadır [37].

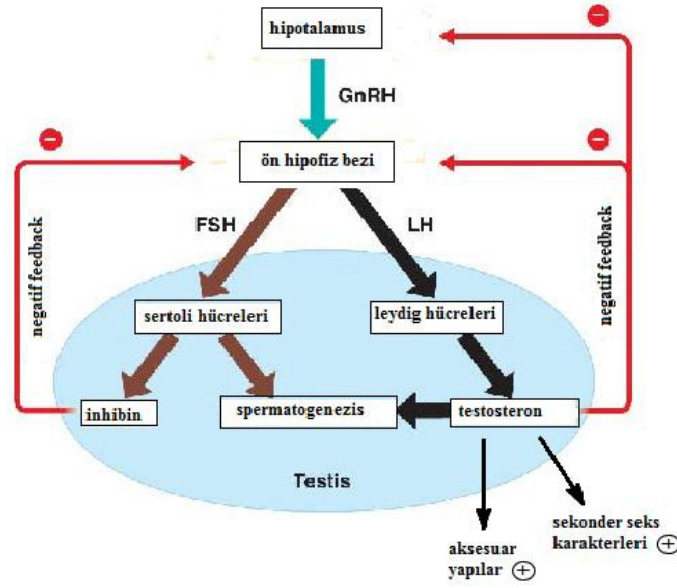
#### **2.4.2. Testis histolojisi**

Testisler dıştan testiküler kapsül adı verilen 3 tabakalı bir kapsül ile sarılıdır. Bu tabakalar dıştan içe doğru tunika vaginalis, tunika albuginea ve tunika vask lozadır [38]. Testislerin fibromüsküler bağ dokusu yapısındaki tabakası tunika albugineadır. İç kısmındaki damardan zengin bölüm tunika vask lozadır. Kapsül, mediastinum testiste kalınlaşır. Bu bölgeden testisi 250 kadar lobuli testise bölen septumlar çıkar. Her bir testis lobul nde bağ dokusu stroması içinde gömülü halde bir ila dört adet seminifer tübül bulunur. Oldukça kıvrımlı yapıda olan seminifer tübüller, fibromüsküler tunika propria ve seminifer epitelden oluşmaktadır. Tunika propria seminifer epitelden bazal membran ile ayrılmaktadır [39].

#### **2.4.3. Testis ve üreme sistemi hormonları**

##### **2.4.3.1. Testosteron**

Testosteron, androjen grubundan erkek cinsiyet hormonudur ve bir anabolik steroiddir. Testislerde interstisyumdaki leydig hücreleri tarafından ön hipofiz gonadotropik hormonların uyarısıyla salgılanmaktadır [40-42].



**Şekil 2.4.2.** Erkek üreme sisteminde rol alan hormonlar [43].

Testosteron erkek aksesuar cinsiyet bezlerinin yapısını ve fonksiyonunu korumaya yardımcı olur [44]. Ayrıca erkekte sekonder seks karakterlerinin gelişmesini sağlar [45, 46]. Buna ek olarak yapılan çalışmalar testosteronun insanlarda osteoporozun önlenmesinde önemli bir hormon olduğunu göstermiştir [47, 48]. Fetal ve postnatal dönemde normal testiküler gelişim ve spermatogenezin sürdürülebilmesi testosteron, LH ve FSH'nin kontrolü altındadır ve testosteronun geri dönüşümsüz olarak ortadan kalkması infertiliteye sebep olmaktadır [49].

#### 2.4.3.2. FSH

Hipotalamus, bir dekapeptid hormon olan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) sentezler ve salıverir [50]. GnRH, ön hipofiz bezini uyararak gonadatropik hormonlar adı verilen LH ve FSH salgılanmasına neden olmaktadır [51, 52]. FSH, özgül FSH reseptörleriyle sertoli hücrelerine bağlanarak spermatogenezini stimüle etmektedir. Spermatogenezin başlaması ve spermatozoanın olgunlaşması için FSH gerekmektedir ve FSH spermatogoniadaki mitotik ve mayotik deoksiribonükleik asit (DNA) sentezinin stimülasyonunda anahtar rol oynamaktadır [52]. Seminifer tübüller sperm yapımını azalttığında, ön hipofiz bezinden FSH salgısı belirgin olarak artmaktadır. Tersine spermatogenezin hızlanması FSH salgısını azaltmaktadır. Kandaki LH, FSH ve GnRH düzeyleri, androjenlerin geri bildirimleri ile



düzenlenirler. GnRH ayrıca, LH ve FSH'nin negatif geri bildirimini ile de kontrol edilir ve erkeklerde bu geri bildirim çevrimleri, hormonları oldukça kararlı bir düzeyde tutmaktadır. Hipofiz bezindeki bozulma FSH ve LH noksanlığıyla testiküler fonksiyonda aksamaya sonuçlanmakta ve infertiliteye sebep olmaktadır. Testisten sperm üretim problemine bağlı olarak sperm miktarının az olduğu durumda testis hacmi de düşük iken serum FSH düzeyinin yüksek olduğu gösterilmiştir [53].

#### **2.4.3.3. LH**

LH, testisteki Leydig hücre yüzeylerindeki reseptörlere bağlanır ve seminifer tübül içinde difüze olmuş testosteron üretimini uyarır [44, 50]. FSH seminifer tübüllere direkt etki ederken, LH testosteron aracılığıyla spermatogenezini uyarmaktadır. Hipofiz bezi hormonlarının sentezi ve salınmaları, gonadal hormonların feed back kontrolü altında olmaktadır [54]. Testosteronun hipotalamus ve hipofiz üzerine etki ederek FSH ve LH salınmasının negatif feed back kontrolünü sağladığı bilinmektedir [44, 54]. LH uyarısı ile testislerden salgılanan testosteron hormonu, karşıt olarak hipofizden LH sekresyonunu etkilemektedir. Bu inhibisyonun büyük kısmı olasılıkla testosteronun doğrudan hipotalamusa etkisi sonucu, GnRH salgısının azalmasına bağlıdır. Bu da ön hipofizden LH ve FSH salgısını azaltmaktadır ve LH'nin azalması da testislerden testosteron salgısının azalmasına neden olmaktadır. Böylece, testosteron salgısının çok fazla olması halinde, otomatik olarak feed back etkisiyle hipotalamus ve ön hipofiz bezi salgıları azaltılarak testosteron salgılanması baskılanmaktadır ve hormon düzeyi regüle edilmektedir [42].

#### **2.5. Diabetes Mellitus**

Diabetes Mellitus (DM), insülinin kısmi ya da tam eksikliğinin neden olduğu, kan şekeri yüksekliği ile karakterize, hastanın yaşam kalitesini oldukça azaltan bir sendromdur. DM'de, hedef dokularda insülin salgılanma yetersizliği ya da insülin etkisine karşı oluşan direnç karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmalarında bozukluklara yol açmaktadır [55]. Glikoz kullanımının bozulması, kan damarları ve sinirlerin bulunduğu organlarda ciddi hasarlar oluşturur ve hiperglisemiye (kan şekeri düzeyinin artmasına) neden olur.

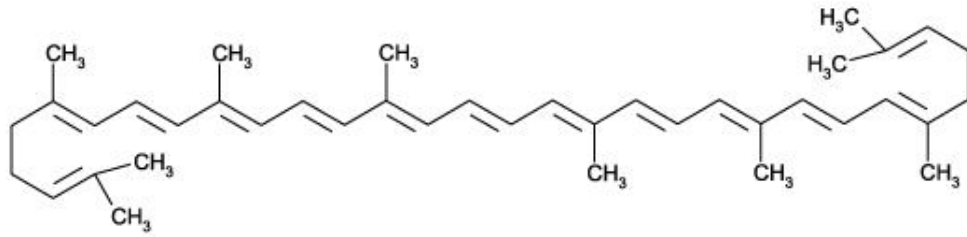
Hiperglisemide poliüri, polidipsi, polifaji, kilo kaybı, görmede bulanıklık ve enfeksiyonlara yatkınlık gibi semptomlar görülse de hastalık semptomsuz da seyredabilmektedir. Hastalık ilerledikçe, görme kaybına yol açan retinopati gibi mikrovasküler komplikasyonların yanısıra kardiovasküler, serebrovasküler, periferik vasküler hastalıklara yol açan makrovasküler komplikasyonların görülme sıklığı artmaktadır [55].

Önemli oranda morbidite ve mortalite artışına yol açan DM'nin komplikasyonlarından en önemlisi diyabetiklerin sağlığını ve yaşamını tehdit eden kardiyovasküler hastalıklardır. Bu sebeple DM'li olgularda erken tanının yanı sıra uygun ve etkin tedavi çok önemlidir [56, 57].

## 2.6. Likopen

En çok domates ile ketçap, sos ve domates suyu gibi domates ürünlerinde bulunan likopen birçok meyve ve sebzenin yapısında vardır [58-61]. Karpuz, kavun, greyfurt ve kayısı likopen içeren diğer besin gruplarıdır [62, 63].

Moleküler formülü  $C_{40}H_{56}$  olan likopen, düz zincirli, 8 tane izoprenin ( $C_5H_8$ ) birleşmesinden meydana gelmiş bir hidrokarbondur (Şekil 2. 6).



Şekil 2.6. Likopenin kimyasal yapısı [64].

### **2.6.1. Likopenin antioksidatif etkisi**

Karotenoidler önemli birer oksidan molekül temizleyicisidir [65]. Likopen, uzun zincir yapıya sahip olduğu ve konjuge çift bağ içerdiği için antioksidan aktivite gösterir. Likopen de retinol,  $\alpha$ - tokoferol ve karotenoidler gibi oksijen radikallerini yok ederek antioksidan özellik gösterir [66]. Fakat lipit peroksidasyonuna karşı likopen,  $\alpha$ -karoten ve  $\beta$ -karotenin antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında likopenin antioksidan aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmüştür [67].

Biyolojik membranlarda likopen bir O<sub>2</sub> temizleyicisidir. Likopen in vitro ortamda güçlü antioksidan özelliğe sahip iken, in vivo ortamda DNA, protein ve lipitlerin oksidasyonuna karşı koruyucudur [68-70]. Göğüs, rahim, karaciğer ve prostat kanserlerinden koruyan, Alzheimer hastalığını önleyen, kalp-damar hastalıkları, kemik ve cilt sağlığı açısından koruyucu etkisi bulunan likopen, antioksidan özelliğiyle yaşlanma sürecini yavaşlatmaktadır [71, 72]. Ayrıca yapılan klinik çalışmalar domates tüketiminin, insan lökositlerinde oksidatif DNA hasarını önlediğini göstermiştir [73, 74].

### **2.6.2. Likopenin antikanserojen etkisi**

Kuvvetli bir antioksidan olan likopen, aynı zamanda yangı giderici ve antikanserojen özelliklere sahip bir vitamindir [58]. Sebze ve meyve tüketiminin, kolon, mide ve prostat kanserine karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir. Likopen bakımından zengin diyetin prostattaki oksidatif DNA hasarını azalttığı tespit edilmiştir [60, 62]. Likopenin antioksidan özelliklerinin yanı sıra antikanserojen, büyüme faktörleri, bazı hormonlar ve sitokinlerin sinyal iletimi, hücreler arasındaki haberleşme, hücreler arasındaki bağları güçlendirme ve hücre metabolizmasını geliştirme gibi önemli biyolojik süreçlerde rol oynadığı belirlenmiştir [65].

### **2.6.3. Likopenin antiinflamatuvar etkisi**

Yapılan araştırmalar kanser ve kardiyovasküler hastalıklarda inflamasyonun önemli rolü olduğunu göstermektedir. Bazı antioksidan vitaminlerin, likopenin ve C reaktif proteinin (CRP) seviyesini belirleyen sistemik enflamasyon tepkileri arasında ters bir ilişki gözlenmiştir. Likopen, siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerini düzenleyerek prostaglandin, prostasiklin, tromboksan ve lökotrien gibi inflamasyona yol açan moleküllerin sentezini baskılar. Böylece likopen, infeksiyöz etkenlere karşı savunma mekanizmalarını aktive ederek, antiinflamatuvar etki gösterir [75].

### **2.6.4. Likopen ile diyabet arasındaki ilişki**

Oksidatif stres tip 2 diyabetin ve komplikasyonlarının patogenezinde önemli bir rol oynar. Özellikle son yıllarda likopenin etkili bir antioksidan olması oksidatif strese bağlı kronik hastalıkların önlenmesinde bilimsel yönden ilgi odağı olmuştur [76, 77]. Serum karotenoidleri tip 2 diyabet ile yakından ilgilidir. Tip 2 diyabetli hastalarda domates suyu ile yapılan bir çalışmada plazma likopen seviyesinde belirgin bir artış gözlenmiş ve kötü huylu kolesterolün oksitlenerek damarlar için zararlı ürünlere dönüşümü azalmıştır [78].

Diyabete bağlı oksidatif stres endotel disfonksiyona neden olur. Likopenin güçlü antioksidan etkisi sayesinde oksidatif stresi azaltarak diyabetik endoteldeki disfonksiyonu azaltabileceği düşünölmüş ve diyabetteki vasküler komplikasyonları önlemede kronik likopen tedavisinin endotel disfonksiyon ile ilişkisi araştırılmıştır. Yapılan araştırmada likopen tedavisinin yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır [76].

2008'de yapılan bir çalışmada ise diyabete bağlı olarak oluşan öğrenme ve hafıza bozukluklarında beyin korteks ve hipokampusunda oksidatif stres parametrelerinin arttığı gözlemlenmiş ve tedavisinde uzun süreli likopen uygulanmasının tedavi edici olduğu bildirilmifitir [79].

### **3. GEREÇ VE YÖNTEMLER**

#### **3.1. Hayvanların hazırlanması**

Çukurova Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alınarak yapılan bu çalışmada 300-320 gr ağırlığında erkek Wistar-Albino tipi ratlar kullanılmıştır. Ratlar her kafeste 7 rat olmak üzere toplam 5 grup olacak şekilde özel kafeslere yerleştirilmiştir. 18-22 °C oda sıcaklığında standart laboratuvar diyeti ve su ile beslenen hayvanlara, aydınlık/karanlık (12 saat / 12 saat) fotoperiyodu uygulanmıştır. Ratlar uygulama yapılmadan 10 gün önce karantina altına alınmışlardır.

#### **3.2. Kimyasallar**

Yapılan deneyde ratlara streptozotosin (STZ), furan ve likopen olmak üzere 3 madde uygulanmıştır ve deney sırasında kullanılan tüm kimyasallar Sigma'dan temin edilmiştir. Furan [9] ve likopen [80] mısır yağında çözüldükten sonra hayvanlara uygulanmıştır.

#### **3.3. Hayvanlara Uygulama Planı**

Kimyasallar aç olmayan ratlara sabah saat 09.00-11.00 arasında uygulanmıştır. Her bir rata tek doz halinde vücut ağırlığına göre 55 mg/kg STZ, 0.1M sodyum sitrat tamponunda (pH 4.5) dilüe edilerek intraperitoneal (i.p) enjeksiyonla verilmiştir. Enjeksiyondan 2 gün sonra STZ uygulanmış hayvanların kuyruklarından kan alınarak glikometre ile glukoz düzeyleri ölçülmüştür. Alınan kanda kan glikoz düzeyi 300 mg/dl üzerinde olan ratlar diyabetik olarak kabul edilmiştir [81]. Likopen uygulamasından 1 saat sonra Furan uygulaması yapılmıştır. 28 gün süren deneyde maddeler ratlara her gün bir defa gavaj yoluyla verilmiştir. Deney grupları ve grup içindeki hayvanlara uygulanan madde miktarları Tablo 3. 1'de verilmiştir.

**Tablo 3.1.** Deneyde oluşturulan gruplar ve uygulanan madde miktarları

Grup No	Gruplar	Hayvan sayısı	Uygulanan madde miktarı	Uygulama Süresi
1	Kontrol	7	Mısır yağı (1 ml/kg)	28 gün boyunca günde bir kez
2	Diyabetik Kontrol	7	55 mg/kg v.a. STZ Mısır yağı (1 ml/kg)	
3	Diyabetik Furan	7	55 mg/kg v.a. STZ 40 mg/kg v.a. Furan	
4	Diyabetik Likopen	7	55 mg/kg v.a. STZ 4 mg/kg v.a. Likopen	
5	Diyabetik Furan + Likopen	7	55 mg/kg v.a. STZ 40 mg/kg v.a. Furan 4 mg/kg v.a. Likopen	

### 3.3.1. Grup 1 (Kontrol Grubu)

Kontrol grubundaki her bir rata oral gavaj yoluyla günlük 1 ml/kg mısır yağı verilmiştir.

### 3.3.2. Grup 2 (Diyabetik Kontrol Grubu)

Her bir rata oral gavaj yoluyla günlük 1 ml/kg mısır yağı ve 55 mg/kg v.a. STZ verilmiştir.

### 3.3.3. Grup 3 (Furan Uygulanan Grup)

Her bir rata günlük 55 mg/kg v.a. STZ ve mısır yağının içinde çözülen 40 mg/kg furan oral gavaj yoluyla verilmiştir.

### 3.3.4. Grup 4 (Likopen Uygulanan Grup)

Her bir rata günlük 55 mg/kg v.a. STZ ve vücut ağırlığına göre 4 mg/kg likopen, mısır yağında içerisinde çözülerek oral gavaj yoluyla verilmiştir.

### **3.3.5. Grup 5 (Furan ve Likopen Uygulanan Grup)**

Her bir rata günlük 55 mg/kg v.a. STZ ve vücut ağırlığına göre 4 mg/kg likopen ve uygulamasından 1 saat sonra ratlara vücut ağırlığına göre 40 mg/kg furan hazırlanarak oral gavaj yoluyla verilmiştir.

### **3.3.6. Deneysel Çalışma**

Yirmisekiz günlük deney sonunda ratlara intraperitoneal olarak ketamin (45 mg/kg) + xylazin (5 mg/kg) kombinasyonu ile anestezi uygulandı ve sonrasında testisler çıkarıldı. Daha sonra hormon analizleri için kalplerinden jelli steril tüplere kanları alındı. Her bir ratdan histopatolojik incelemeler ve MDA seviyesi ile antioksidan enzim (SOD, CAT, GPx, GST) aktivitelerini araştırmak için hedef doku olan testisleri alındı. Alınan doku örnekleri tamponda yıkılarak ışık mikroskopisiyle incelenmek için uygun büyüklüklerde bölünerek formaldehit tespit solüsyonu içine alındı. Enzim aktiviteleri ve MDA düzeyinin belirlenmesi için ayrılan testis dokuları daha sonra çalışılmak üzere -80°C’de saklamaya alındı.

MDA seviyesini ve SOD, CAT, GPx, GST aktivitelerini araştırmak için alınan ve -80°C’de saklanan doku örnekleri IKA T18 marka homojenizatör ile homojenizasyon tamponunda (pH 7.4) 3 dakika süreyle homojenize edildi. Miktar ve aktivite tespiti, Shimadzu UV-1800 (Shimadzu 1800, UV/VIS Spektrofotometre, Kyoto, Japan) marka spektrofotometre ile örneklerin absorbansı ölçülerek yapıldı. Protein içeriği Lowry ve arkadaşlarının geliştirdiği metod ile belirlendi [82]. İşlemlerin her biri 4°C’de yapıldı. Ayrıca MDA seviyesi ve enzim aktivite tayini için yapılan santrifüj işlemleri için 4°C’de soğutmali santrifüj kullanıldı (NF 800R, NÜVE).

## **3.4. Parametrelerin Değerlendirilmesi ve Ölçüm Metodları**

### **3.4.1. Malondialdehit (MDA) Düzeyi Tayini**

Süpernatantlar MDA miktarının tayini için 10 dakika 4.000 g’de santrifüj edildi. TBA (Tiyobarbitürik asit) ile reaksiyona giren LPO’nun son ürünü olan MDA miktarı Ohkawa ve ark.’nın metodu kullanılarak ölçüm yapıldı [83].

Spektrofotometre ile yapılan ölçümde TBA ilave edilmiş olan karışımın 532 nm’de absorbansı okundu. MDA miktarı nmol/mg protein olarak verildi.

#### **3.4.2. Süperoksit dismutaz (SOD) Aktivitesi Tayini**

SOD enzim aktivitesinin tayini için süpernatantlar 4 °C’de 10 dakika 1000 g’de santrifüj edildi. Aktivite tayini için Marklund ve Marklund’un metodu kullanıldı [84]. Küvetlere Tris-EDTA tamponu ve farklı hacimlerde süpernatant eklenip üzerlerine enzim kaynağı ilave edilerek bu karışımlara pyrogallol konuldu ve spektrofotometrede 440 nm’de absorbans ölçümü yapıldı. Hesaplamalar yapıldıktan sonra aktivite U/mg protein olarak verildi.

#### **3.4.3. Katalaz (CAT) Aktivitesi Tayini**

CAT enzim aktivitesinin tayini için süpernatantlar 4 °C’de 10 dakika 1000 g’de santrifüj edildi. Aktivite tayini Aebi tarafından ortaya konulan metot ile gerçekleştirildi [85]. Peroksizomlardaki CAT’ı açığa çıkarmak amacı ile süpernatantlara Triton X-100 ilave edildi, daha sonra H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenerek absorbans 240 nm’de ölçüldü. Hesaplamaların ardından enzim aktivitesi mmol/mg protein birimiyle verildi.

#### **3.4.4. Glutasyon peroksidaz (GPx) Aktivitesi Tayini**

GPx enzim aktivitesinin tayini için süpernatantlar 4 °C’de 20 dakika 16.000 g’de santrifüj edildi. GPx aktivitesinin belirlenmesinde Paglia ve Valentine’in metodu uygulandı [86]. Bu yöntem, GR’nin 340 nm’de NADPH’ı (nikotinamid-adenin-dinükleotid hidrojen fosfat) okside etmesi ile oluşan absorbansın ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. NADPH’ın NADP (Nikotinamid-adenin-dinükleotid fosfat)’a yükseltgenmesi 340 nm’de absorbansın azalmasına sebep olur, böylece dolaylı olarak GPx’in aktivitesinin tespitinde kullanılmaktadır. Bu karışımın üzerine H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> eklenerek enzimatik reaksiyon başlatıldı ve 3 dakika boyunca 340 nm’de azalan absorbanslar okundu. Enzimin spesifik aktivitesi nmol/mg protein olarak verildi.



### **3.4.5. Glutatyon-S-transferaz (GST) Aktivitesi Tayini**

GST enzim aktivitesinin tayini için süpernatantlar 4 °C'de 20 dakika 16.000 g'de santrifüj edildi. GST aktivitesinin belirlenmesinde Habig ve ark'nın metodu kullanıldı [87]. Enzim aktivitesi tayini 340 nm'de, GST enzimi tarafından CDNB (1-chloro-2,4-dinitrobenzen), indirgenmiş GSH (glutatyon) ile konjuge edilerek GSH'ın oksidasyonuna bağlı olarak yapıldı. Yapılan hesaplamaların sonrasında aktivite  $\mu\text{mol/mg}$  protein olarak verildi.

### **3.4.6. Testosteron, LH ve FSH Seviyelerinin Tayini**

Anestezi altında ratların kalp sağ ventrikül dokusundan enjektör yardımıyla hormonal analizler (FSH, LH ve testosteron) için kan örnekleri toplandı.

Testosteron; Cusabio Biotech Rat Testosterone (T) ELISA Kit, Çin,

LH; Cusabio Biotech Rat Luteotropic Hormone (LH) ELISA Kit, Çin,

FSH; Cusabio Biotech Rat Folicle-stimulating Hormone (FSH) ELISA Kit, Çin seviyeleri ilgili kitlerin üreticisi tarafından belirlenen deney prosedürüne göre tespit edildi.

### **3.5. Işık Mikroskobu İncelemeleri**

Hayvanlardan alınan testis dokuları ışık mikroskobu incelemeleri için formaldehit fiksatifinin içine konularak tespit edildi. Fiksasyon (tespit) aşamasının ardından yıkama ve dehidrasyon işlemleri yapıldı. Dokular parafine gömülerek bloklar haline getirildi. Hazırlanan bloklardan mikrotom (Leica RM 2255) ile 6-7  $\mu$  kalınlığında kesitler alınarak hematoksilin-eozin ile boyandı. Fotoğraf makinesi ataçmanlı Olympus BX 51 (Olympus Corp., Tokyo, Japan) marka mikroskop ile incelenerek fotoğrafları çekildi.

### **3.6. Verilerin Değerlendirilmesi**

İstatistiksel analizlerin tamamı Windows SPSS 11. 5 bilgisayar programında ANOVA (tek yönlü varyans analizi) ve Tukey testi ile yapıldı.  $p < 0,05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

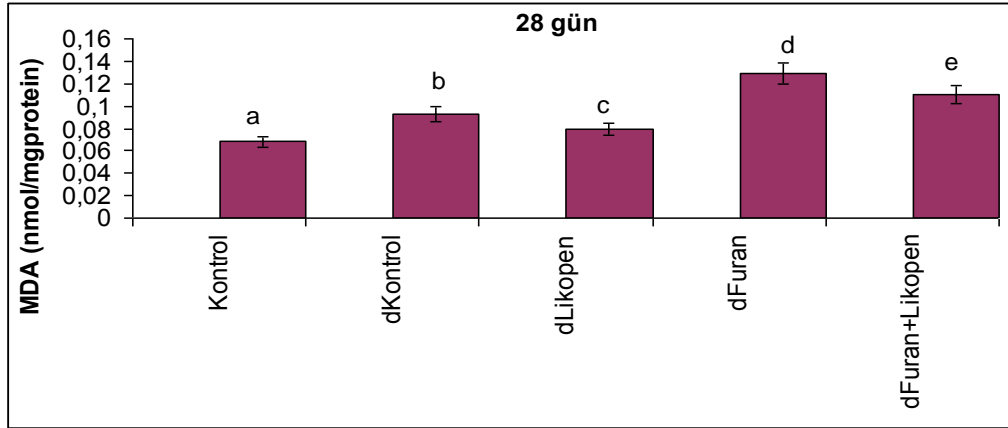
## 4. BULGULAR

### 4.1. Furan'ın Malondialdehit (MDA) Düzeyi ve Enzim Aktivitelerine Etkisi

Kontrol grubu ile diyabetik kontrol grubu karşılaştırıldığında MDA düzeyinde ve antioksidan enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ( $p<0,05$ ).

#### 4.1.1. Furan'ın Malondialdehit (MDA) Düzeyleri Üzerindeki Etkisi

Diyabetik furan grubu ile diyabetik kontrol grubu karşılaştırıldığında MDA değerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ( $p<0,05$ ). Diyabetik likopen uygulanan grup ile diyabetik kontrol grubu karşılaştırıldığında MDA seviyesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Furan ve likopenin uygulandığı diyabetik grupla diyabetik furan grubu karşılaştırıldığında MDA seviyesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.1.1).

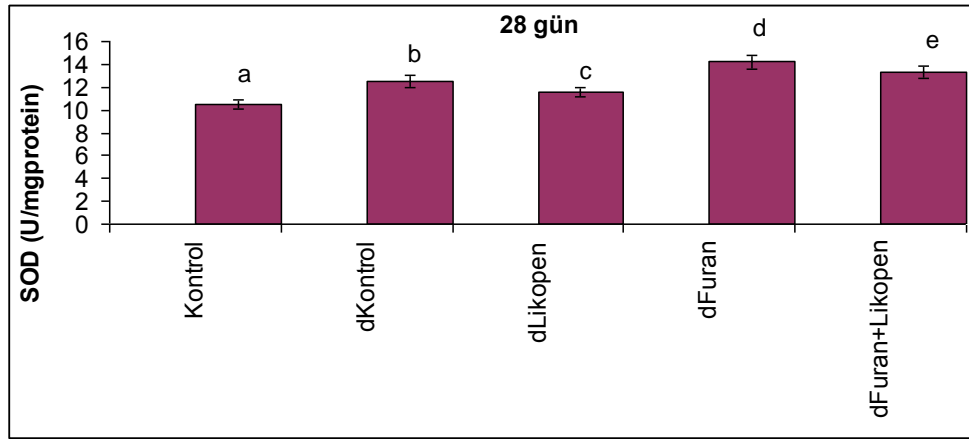


Şekil 4.1.1. Uygulama grupları arasında MDA seviyelerinin karşılaştırılması (Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade etmektedir.)

#### 4.1.2. Furan'ın Süperoksit Dismutaz (SOD) Enzim Aktivitesine Etkisi

Sadece Furan uygulanan diyabetik grupta SOD enzim aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmıştır ( $p<0,05$ ). Sadece Furan uygulanan diyabetik grupla diyabetik kontrol grup karşılaştırıldığında SOD enzim aktivitelerinde anlamlı bir artış bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Sadece likopen uygulanan diyabetik grupla Furan ve likopen

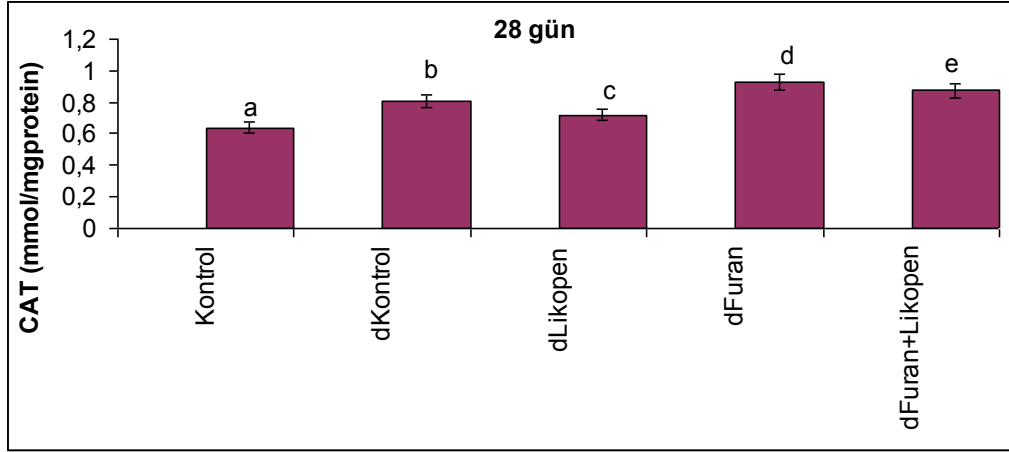
uygulanan diyabetik grup karşılaştırıldığında SOD enzim aktivitelerinde anlamlı bir artış bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Sadece Furan uygulanan diyabetik grup ile Furan ve likopen uygulanan diyabetik grup karşılaştırıldığında SOD enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.1.2).



**Şekil 4.1.2.** Uygulama grupları arasında SOD aktivitelerinin karşılaştırılması (Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade etmektedir.)

#### 4.1.3. Furan'ın Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesine Etkisi

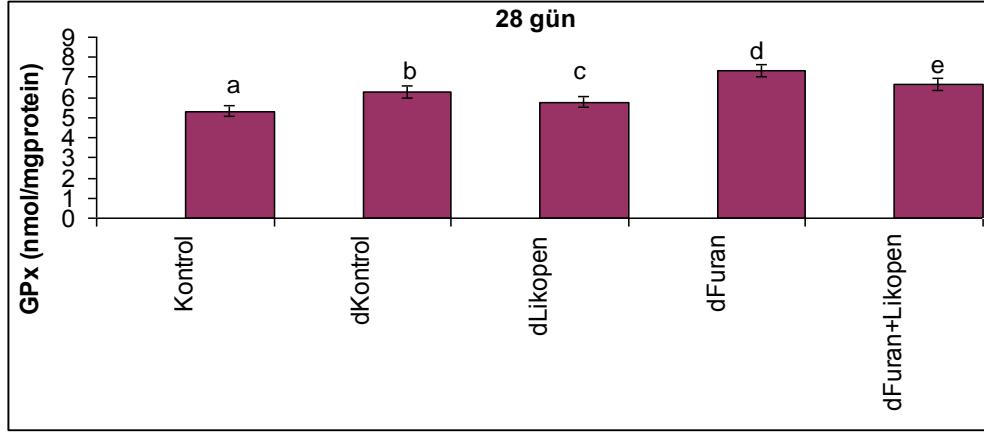
Sadece Furan uygulanan diyabetik grupta, CAT enzim aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı şekilde artırmıştır ( $p<0,05$ ). Sadece Furan uygulanan diyabetik grupla diyabetik kontrol grubu karşılaştırıldığında CAT enzim aktivitelerinde anlamlı bir artış bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Sadece likopen uygulanan diyabetik grup ile Furan ve likopen uygulanan diyabetik gruptaki CAT enzim aktivitesi karşılaştırıldığında anlamlı bir artış bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Yalnızca Likopen uygulanan diyabetik grupla Furan uygulanan diyabetik grup karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ) (Şekil 4.1.3).



**Şekil 4.1.3.** Uygulama grupları arasında CAT aktivitelerinin karşılaştırılması (Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade etmektedir.)

#### 4.1.4. Furan'ın Glutatyon Peroksidaz (GPx) Enzim Aktivitesine Etkisi

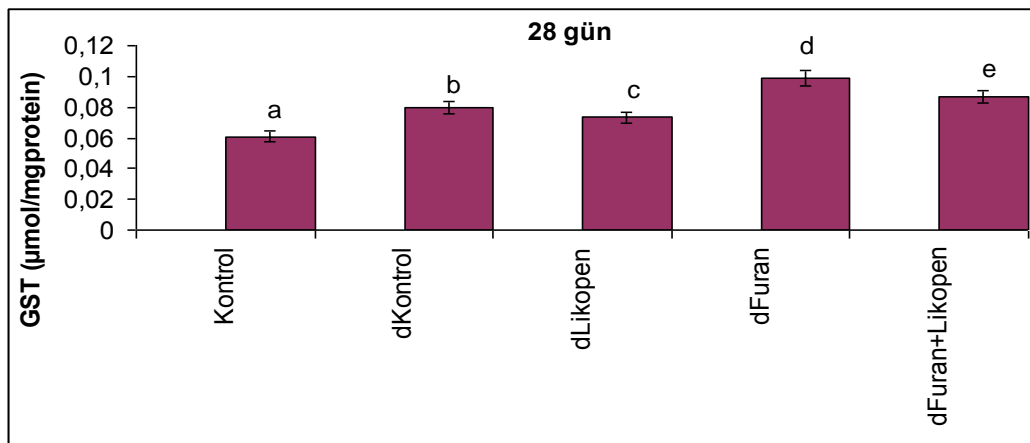
Furan uygulanan gruplarda GPx enzim aktivitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur. Furan ve likopen uygulanan diyabetik grup ile sadece Furan uygulanan diyabetik grup karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ). Furan uygulanan diyabetik grupla diyabetik kontrol grubu karşılaştırıldığında GPx enzim aktivitelerinde anlamlı bir artış bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Diyabetik kontrol grubu ile diyabetik likopen grubunun GPx enzim aktiviteleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir ( $p < 0.05$ ) (Şekil 4.1.4).



**Şekil 4.1.4.** Uygulama grupları arasında GPx aktivitelerinin karşılaştırılması (Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade etmektedir.)

#### 4.1.5. Furan'ın Glutatyon-S-Transferaz (GST) Enzim Aktivitesine Etkisi

GST enzim aktivitesi Furan uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ( $p < 0,05$ ). Furan ve likopen uygulanan diyabet grubundaki GST enzim aktivitesi sadece furan uygulanan diyabetik grubun GST enzim aktivitesi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha az bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Sadece furan uygulanan diyabetik grup, diyabetik kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise GST enzim aktivitesi istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir ( $p < 0,05$ ). (Şekil 4.1.5).



**Şekil 4.1.5.** Uygulama grupları arasında GST aktivitelerinin karşılaştırılması (Sütunlar üzerindeki harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade etmektedir.)

## **4.2. Furan'ın Plazma Hormon Seviyelerine Etkisi**

### **4.2.1. Plazma FSH seviyesi**

Gruplardaki plazma FSH seviyeleri karşılaştırıldığında Furan ve Likopen uygulanan diyabetik grupta diyabetik kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalma tespit edilmiştir. Diyabetik kontrol grubu ile diyabetik likopen grubunun plazma FSH seviyeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir (Tablo 4. 1.).

### **4.2.2. Plazma LH seviyesi**

Diyabetik Furan grubunun plazma LH seviyesi ile kontrol grubunun plazma LH seviyesi karşılaştırıldığında Diyabetik Furan grubunun LH hormon seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. Diyabetik kontrol grubu ile diyabetik likopen grubunun plazma LH seviyeleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edilmiştir. Furan ve likopen uygulanan diyabet grubundaki plazma LH seviyesi sadece furan uygulanan diyabetik grubun plazma LH seviyesi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha fazla bulunmuştur ( Tablo 4. 1.).

### **4.2.3. Plazma Testosteron seviyesi**

Plazma testosteron seviyeleri açısından Likopen uygulanan diyabetik grupta uygulama sonrasında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptanmıştır. 1–28 gün süre ile furan uygulanan diyabetik ratlarda ise testosteron kan düzeylerinin kontrol grubunda saptanan değerlere oranla giderek azaldığı tespit edilmiştir. Sadece furan uygulanan diyabetik grubun plazma testosteron seviyesi Furan ve likopen uygulanan diyabet grubundaki plazma testosteron seviyesi ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmıştır (Tablo 4. 1.).

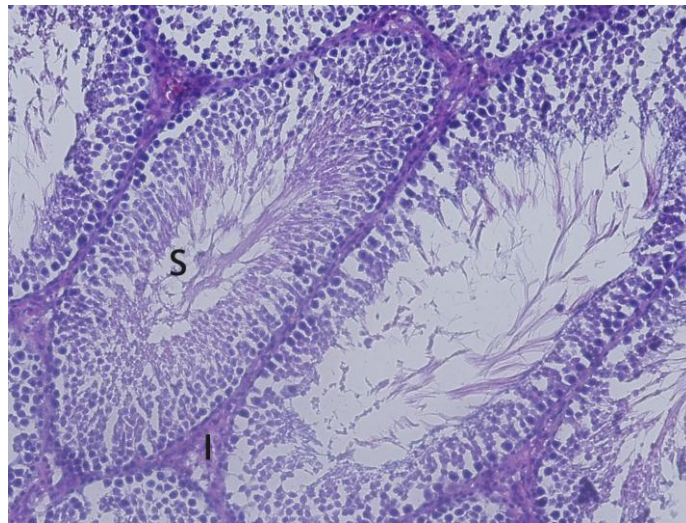
**Tablo 4. 1.** Deneyde oluşturulan gruplar ve plazma hormon seviyeleri

Gruplar	FSH (mlU/ml)	LH (mlU/ml)	Testosteron (ng/ml)
<b>Kontrol</b>	3,32 ± 0,03 <sup>a</sup>	1,42 ± 0,021 <sup>a</sup>	4,04 ± 0,06 <sup>a</sup>
<b>dKontrol</b>	3,21 ± 0,02 <sup>b</sup>	1,29 ± 0,035 <sup>b</sup>	3,93 ± 0,02 <sup>b</sup>
<b>dLikopen</b>	3,26 ± 0,02 <sup>c</sup>	1,36 ± 0,024 <sup>c</sup>	3,85 ± 0,04 <sup>c</sup>
<b>dFuran</b>	2,67 ± 0,05 <sup>d</sup>	0,88 ± 0,047 <sup>d</sup>	2,81 ± 0,03 <sup>d</sup>
<b>dFuran+Likopen</b>	2,81 ± 0,07 <sup>e</sup>	0,97 ± 0,033 <sup>e</sup>	2,96 ± 0,08 <sup>e</sup>

Her grupta 7 sıçan yer almaktadır ve değerler bunların ortalaması ± standart sapmadır (p<0,05). Tabloda kullanılan harfler gruplar arasındaki farklılığı ifade etmektedir.

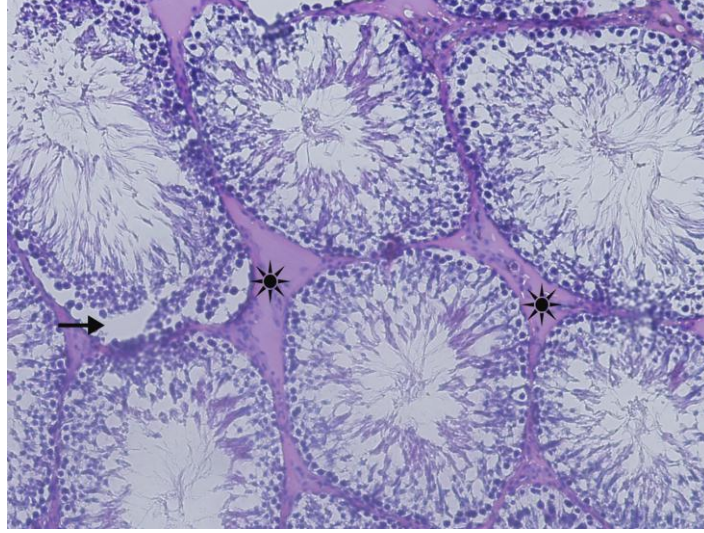
### 4.3. Işık Mikroskobu Bulguları

Kontrol grubuna ait testis kesitleri Hemotoksilen-Eosin ile boyanıp incelendiğinde, seminifer tübül çapları birbirine yakın yerleşimli olarak saptandı. Spermatogonyum ve spermatidler seminifer tübülün bazalından lümenine kadar düzgün bir biçimde izlendi. Koyu nukleuslar içeren spermatogonyumlar bazal membrana yakın yerleşimli olup interstisyel alanda bulunan Leydig hücreleri ise vasküler yapılara yakın olduğu tesbit edildi (Şekil 4.3.1.)



**Şekil 4.3.1.** Kontrol grubuna ait testis histolojik yapısı S: Seminifer tübül,  
I: İnterstisyel alan, X200

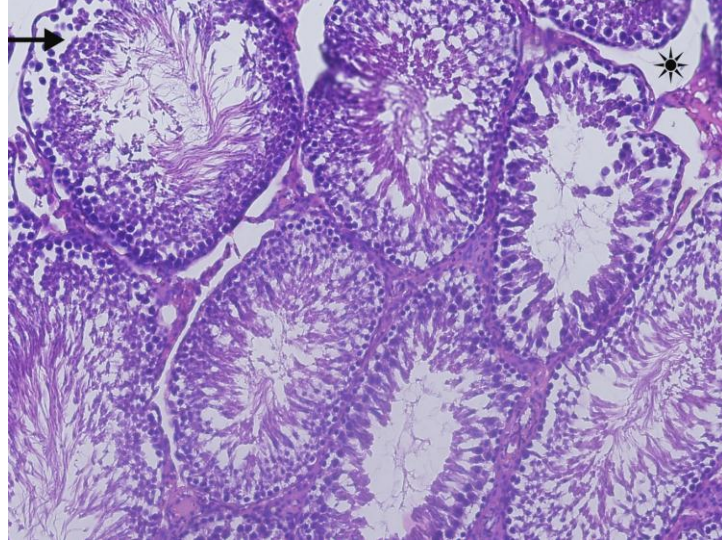
Diyabetik kontrol grubuna ait testis kesitlerinde ise interstisyel alanda ödem oluşumuna bağlı olarak seminifer tüpçüklerin bazal bölgesindeki hücrelerde ayrılmalar gözlemlendi (Şekil 4.3.2.).



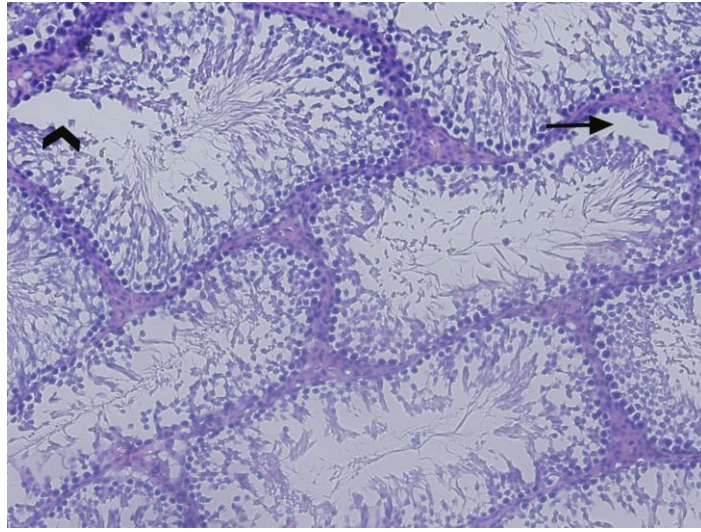
**Şekil 4.3.2.** Diyabetik kontrol grubuna ait testis histolojik yapısı (\*) interstisyel alanda ödem, ( →) seminifer tüpçüklerin bazal bölgesindeki hücrelerde ayrılmalar X200.

Diyabetik likopen grubuna ait testis kesitlerinde ise interstisyel alanda ödem oluşumuna bağlı seminifer tüpçüklerin bazal bölgesindeki hücrelerde ayrılmalarla birlikte (Şekil 4.3.3) seminifer tübülde bazal spermatogenik hücre kaybı gözlemlendi (Şekil 4.3.4)





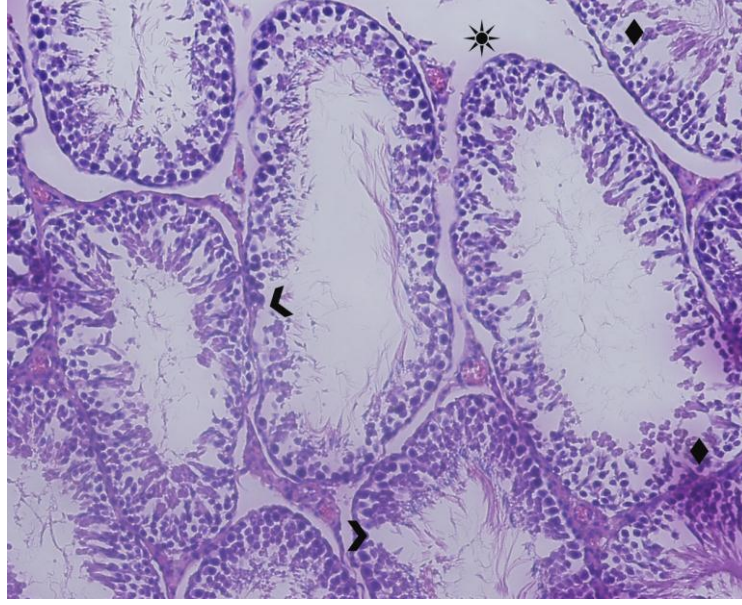
**Şekil 4.3.3.** Diyabetik lipopen grubuna ait testis histolojik yapısı (\*) interstisyel alanda ödem, ( → ) seminifer tüpçüklerin bazal bölgesindeki hücrelerde ayrılmalar X200.



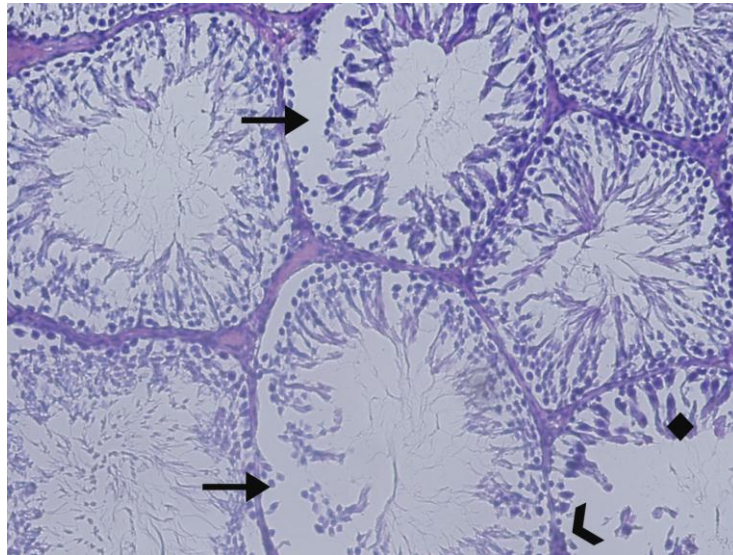
**Şekil 4.3.4.** Diyabetik lipopen grubuna ait testis histolojik yapısı ( → ) seminifer tüpçüklerin bazal bölgesindeki hücrelerde ayrılmalar, ( > ) seminifer tübülde bazal spermatojenik hücre kaybı X200

Diyabetik furan grubu testis kesitleri incelendiğinde, kontrol grubuna oranla seminifer tübül lümeninde artış gözlemlendi (Şekil 4.3.5.). Seminifer tübül epitelinde dejenere olmuş germ hücrelerinin dökülmesi nedeniyle tübül lümeninde hücre debrisleri izlendi (Şekil 4.3.6.). Germ hücrelerinde dejenerasyonla birlikte seminifer tübül epitelinde hücre sırasının bozulduğu, sekonder spermatidlerin kaybı nedeniyle lümeninde spermatozoa olmadığı tespit edildi.

Leydig hücrelerinde azalmaya bağlı olarak interstisyel alanda bağ doku artışı görüldü. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında tübül çapları birbirinden farklı olup düzgün oval şekillerinin yerine düzensiz tübüller bulunduğu tespit edildi (Şekil 4.3.6.).



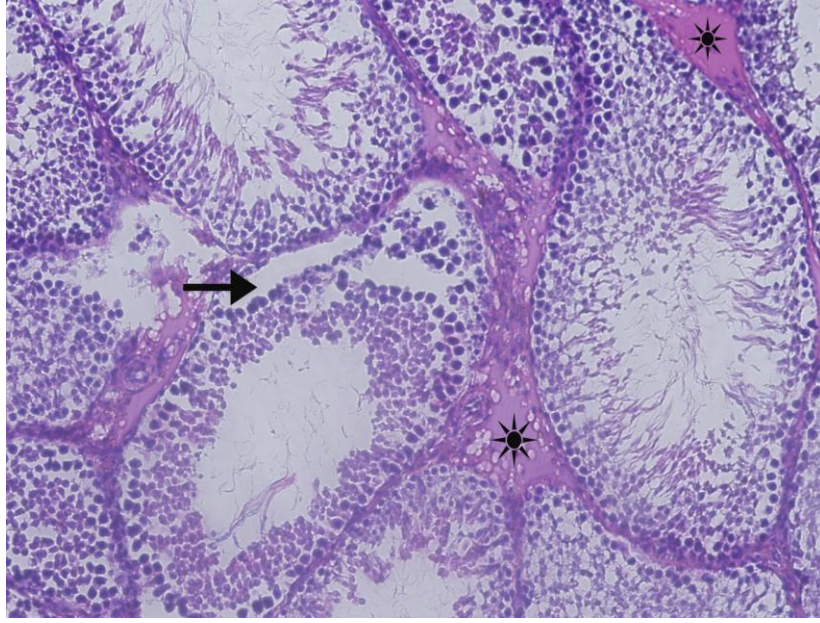
**Şekil 4.3.5.** Diyabetik furan grubuna ait testis histolojik yapısı (\*) interstisyel alanda ödem, (◆) dejenerasyon, (>) seminifer tübülde bazal spermatojenik hücre kaybı X200.



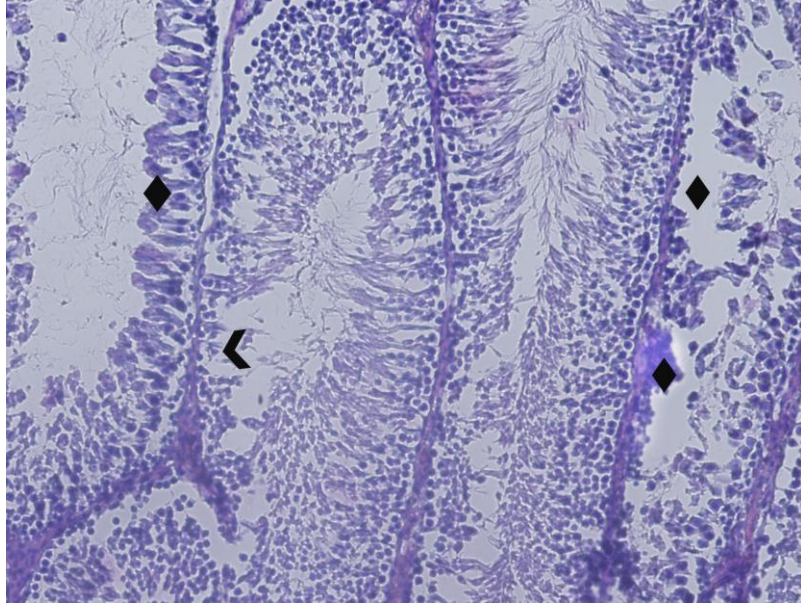
**Şekil 4.3.6.** Diyabetik furan grubuna ait testis histolojik yapısı (→) seminifer tüpçüklerin bazal bölgesindeki hücrelerde ayrılmalar, (◆) dejenerasyon, (>) seminifer tübülde bazal spermatojenik hücre kaybı X200.



Diyabetik furan ve likopen uygulanan diyabet grubuna ait testis kesitleri incelendiğinde, seminifer tübül çapları kontrol grubundaki seminifer tübül çaplarına göre artmıştır. İnterstisyel alanda ödem oluşumuna bağlı seminifer tüpçüklerin bazal bölgesindeki hücrelerde ayrılmalar gözlemlense de germ hücrelerinde seminifer tübül bazalinden lümenine doğru Diyabetik furan grubuna göre daha düzgün ve eksiksiz sıralanma tespit edilmiştir (Şekil 4.3.7 ve 4.3.8).



**Şekil 4.3.7.** Diyabetik furan ve likopen grubuna ait testis histolojik yapısı (\*) interstisyel alanda ödem, (→) seminifer tüpçüklerin bazal bölgesindeki hücrelerde ayrılmalar X200.



**Şekil 4.3.8.** Diyabetik furan ve likopen grubuna ait testis histolojik yapısı (◆) dejenerasyon, (>) seminifer tübülde bazal spermatojenik hücre kaybı X200.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada Furan'ın diyabetik sıçanlardaki testis dokusu üzerindeki toksik etkileri incelenmiştir. Oksidatif stres sonucu oluşan hücresel harabiyetin hassas göstergelerinden biri olan lipid peroksidasyon seviyeleri ve antioksidan enzim aktivite değişimleri ile hormonal parametreleri belirlenmiştir.

Kontrol grubu ile diyabetik kontrol grubu kıyaslandığında furan uygulanan sıçanlarda kan testosteron düzeyinin düşmesi endokrinolojik bir bozukluğu ve dolayısı ile hücresel dejeneratif değişiklikleri düşündürmektedir. Şüphesiz, olası dejeneratif değişikliklerin öncelikle Sertoli ve Leydig hücrelerinde gözlenmesi beklenir. Ancak, testisin genel yapısı içerisinde yer alan spermatojenik hücreler ile membrana propria da furanın toksik etkisi altında kalmaktadır. Clement ve ark. furanın kadın ve erkek hormonlarının sentezlerini azaltarak üremeyi azalttığını, gelişmeyi engellediğini bildirmiştir. Laboratuvarında, hayvanlar üzerinde yapılan çalışma, furanın düşük konsantrasyonlarda bile, oldukça toksik olduğunu göstermiştir [16]. Şüphesiz, olası dejeneratif değişikliklerin öncelikle Sertoli ve Leydig hücrelerinde gözlenmesi beklenir. Ancak, testisin genel yapısı içerisinde yer alan spermatojenik hücreler de furanın toksik etkisi altında kalmaktadır. Bizim çalışmamızda diyabetik kontrol grubu ile diyabetik furan grubu FSH, LH ve testosteron hormonları karşılaştırıldığında diyabetik furan grubunda anlamlı bir azalma gözlenirken diyabetik likopen grubunda diyabetik furan grubuna göre anlamlı bir artış gözlenmesi furanın toksik olduğunu düşündürmüştü ve bu bulgu histolojik incelemeler ile de desteklenmiştir.

Testiste spermatogenez sırasında germinal epitel tarafından yüksek miktarda mitokondriyal oksijen tüketimi gerçekleşir. Testiste damarlanmanın zayıf olması nedeniyle bu dokudaki oksijen miktarı düşüktür. Bu yüzden oksijen rekabeti oldukça fazladır. Cavdar ve ark. oksidatif stresle hem spermatogenez hem de Leydig hücre steroidogenezinin hasar görebileceğini göstermişlerdir [30]. Bu çalışmadaki diyabetik kontrol grubu ile diyabetik furan grubundaki testis kesitlerinin ışık mikroskopisi karşılaştırıldığında diyabetik furan grubunda seminifer tübülde bazal spermatojenik hücre kaybı gözlenmesi ve oksidatif parametreler oksidatif strese bağlı hasarı desteklemiştir.

Daha önce yapılan bazı çalışmalarda geçici anoksik ortam yaratan testiküler arter ligasyonunda [90] ve testiküler bir hastalık olan varikoselde [91-93] seminifer tübülde gözlenen yapısal değişikliklerin, ligasyonun durdurulmasından veya varikosel nedeninin ortadan kaldırılmasıyla bu tip hücresel bozulmaların belirli durumlarda geriye dönüşebildikleri görüşleri rapor edilmiştir. Testiste spermatogenez sırasında germinal epitel tarafından yüksek miktarda mitokondriyal oksijen tüketimi gerçekleşir. Testiste damarlanmanın zayıf olması nedeniyle bu dokudaki oksijen miktarı düşüktür. Bu yüzden oksijen rekabeti oldukça fazladır. Oksidatif stresle hem spermatogenez hem de Leydig hücre steroidogenezi hasar görebilir [31]. Bizim çalışmamızda da oksidatif strese bağlı olarak enzim aktivitelerinde istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiş ve spermatojenik hücrelerde kayıplar gözlenmiştir.

Oksidatif hasar sonrasında oluşan serbest oksijen radikallerini temizleyen ve kuvvetli antioksidan özellikler gösteren likopenin aynı zamanda birçok kanser türüne karşı koruyucu etki gösterdiği bilinmektedir [58, 60, 61, 62]. Likopen serbest oksijen radikallerini nötrleştirici etki gösterir [66]. Bu çalışmadaki diyabetik likopen grubu ile diyabetik kontrol grubu karşılaştırıldığında likopenin serbest oksijen radikallerini nötrleştirici benzer etki gözlenmiştir. Aynı zamanda lipit peroksidasyonunu önler.

Başta meme, endometriyum ve karaciğer kanseri olmak üzere birçok kansere karşı koruyucu etki gösteren likopen, kalp-damar hastalıkları ve kemik sağlığı açısından önemlidir. Hatta antioksidan özelliğiyle yaşlanma sürecini yavaşlattığı gösterilmiştir [71,72]. Bir çok çalışmada antioksidan özelliğiyle etkili olan likopen bu çalışmada da antioksidan özelliği sayesinde furanın toksik etkisine karşı koruyucu etki göstermiştir.

Li ve ark. likopenin diyabetik hastalarda meydana gelen vasküler endotelial hasarı geri döndürebileceğini göstermiştir. Li ve arkadaşlarının 2010'da yaptığı bu çalışma diyabete bağlı oksidatif stresin endotel disfonksiyona neden olduğunu ve likopenin güçlü antioksidan etkisi sayesinde oksidatif stresi azaltarak diyabetik endoteldeki disfonksiyonu azaltabileceğini göstermiştir. Diyabetteki vasküler komplikasyonların önlenmesinde likopen tedavisinin endotel disfonksiyon ile ilişkisi araştırılmıştır ve likopen tedavisinin yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır [76]. Bizim çalışmamızda ise kontrol grubu ile diyabetik kontrol grubu antioksidan enzim aktiviteleri açısından

kıyaslanmıştır. Diyabetik kontrol grubundaki enzim aktivitesi düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha yüksek olarak bulunmuştur. Diyabetik likopen grubunda ise enzim aktivite düzeyi diyabetik kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azalmıştır. Işık mikroskopik görüntüler ise endokrinolojik bir bozukluğu ve dolayısı ile hücrel dejeneratif değişiklikleri desteklemektedir.

Coyne ve ark. Avustralya’da yaptıkları bir çalışmada, likopen ve serum karotenoidlerinin tip 2 diyabeti ve bozulmuş glikoz metabolizmasını geriye döndürebildiğini göstermişlerdir [78]. Bu çalışmada likopen uygulanması diyabetin yaptığı oksidatif hasara karşı da likopenin etkinliğini göstermiştir. Testis serbest radikallerin hasarından korunmak için çeşitli antioksidan enzimlere başvurur. Bu antioksidan enzimlerden bazıları SOD, CAT, GPx, GST’dir [32]. Biz de bu nedenle çalışmamızda sıçan testis dokusundaki furana bağlı oksidatif hasarı ve likopenin muhtemel koruyucu etkisinin değerlendirilmesinde SOD, CAT, GPx, GST enzim aktivitelerinin ve MDA seviyelerini ölçtük. Elde edilen bulgulara göre MDA düzeyleri ve SOD, CAT, GPx, GST aktiviteleri furan grubunda kontrol ve diyabetik kontrol gruplarından anlamlı şekilde daha yüksek iken ( $p<0,05$ ) furan ve likopen uygulanan gruptaki MDA düzeyleri ve SOD, CAT, GPx, GST aktiviteleri furan grubundan anlamlı şekilde daha düşük olması likopenin antioksidan etkisini göstermektedir.

Özellikle sanayileşmiş ülkelerde tüketilen gıda maddelerinde furan bulunmaktadır. Bu nedenle, furana bağlı toksik etkilerin değerlendirilebilmesi için büyük ölçekte çalışmalara ihtiyaç vardır [89].

IARC furanın insanlar üzerinde grup 2B düzeyinde toksik ve karsinogenik etkisinin olduğunu bildirmiştir [18]. Kederis ve ark. furan verdikleri farelerde hepatik ve renal nekroz geliştiğini bildirmişlerdir [19]. Crews ve ark. furanın mutajenik özellikler taşıdığını ileri sürmüşlerdir [20]. Sonuç olarak, bu çalışma diyabetik sıçanlarda furanın testisler üzerinde yaptığı toksik etkileri ve likopenin olası koruyucu rolünü araştıran ilk çalışmadır. Kullandığımız plastik maddelerde ve ısıya maruz kalmış besinlerde ve tükettiğimiz konservelerde furan varlığı nedeni ile kullanımları ile ilgili olarak uyulması zorunlu olan bazı temel ilkeler bulunmaktadır. Bu ilkeler doğrultusunda konuyla ilgili olarak tüketiciler bilinçlendirilmeli ve denetimler

arttırılmalıdır. Besin sanayisinde tüketici talepleri yön verici olduğu için bilinçli tüketici, doğru gıda maddeleri kullanımını konusunda, hem üreticiyi hem de denetleme birimlerinin etkin kontrol yapma konusunda daha duyarlı hale getirecektir.



## KAYNAKLAR

1. Food and Drug Administration, 2004, FDA to investigate potential health effects of furan in food. A news letter for the members of the National Center for Food Safety and Technology (NCFST), 14: 1.
2. Stahl, W., Sies, H., Lycopene: a biologically important carotenoid for humans, *Arch Biochem Biophys*, 336(1), 1-9, 1996.
3. Böhm, F., Edge, R., Truscott, TG., Interactions of dietary carotenoids with single toxygen (1O2) and tree radicals: potential effects for human health, *Acta Biochim Pol*, 59(1), 27-30, 2012.
4. Turk, G., Atessahin, A., Sonmez, M., Yuce, A., Ceribasi, AO., Lycopene protects against cyclosporine A- induced testicular toxicity in rats, *Therigenolgy*, 67, 778-785, 2007.
5. Kujawska, M., Ewertowska, M., Adamska, T., Sadowski, C., Ignatowicz, E., Jodynys-Liebert, J., Antioxidant effect of lycopene-enriched tomato paste on N-nitrosodiethylamine-induced oxidative stress in rats, *J Physiol Biochem*, 70(4), 981-90, 2014.
6. NTP, Toxicology and carcinogenesis studies of furan (CAS No. 110-00-9) in F344/N rats and B6C3F1 mice (gavage studies). NTP Technical Report No. 402. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, Research Triangle Park, NC., 1993.
7. Olie, K., Addink, R., Schoonenboom, M., Metals as Catalysts During the Formation and Decomposition of Chlorinated Dioxins and Furans in Incineration Processes, *J.Air &Waste Manage .Assos.*, 48, 101-105,1998.
8. Senning A., Elsevier's Dictionary of Chemoetymology. Elsevier, ISBN0444522395, 2006
9. Hamadeh, HK., Jayadev, S., Gaillard, ET., Huang, Q., Stoll, R., Blanchard, K., Chou, J., Tucker, CJ., Collins, J., Maronpot, R., Bushel, P., Afshari, CA., Integration of clinical and gene expression endpoints to explore furan-mediated hepatotoxicity, *Mutation Research*, 549, 169-183, 2004.
10. Lynne, WE., Alphonse, ES., Phenotypic characterization of metaplastic intestinal glands and ductular hepatocytes in cholangiofibrotic lesions rapidly induced in the caudate liver lobe of rats treated with furan, *Cancer Research*, 51, 5752-5759, 1991.

11. Peterson, LA., Cummings, ME., Chan, JY., Vu, CC., Mateer, BA., Identification of a cis- 2- butene-1,4 –dial-derived glutathione conjugate in the urine of furan- treated rats, *Chemical Research in Toxicology*, 19, 1138-1141, 2006.
12. Sprankle, CS., Goldsworthy, TL., Wilson, DM., Butterworth, BE., Expression of the hepatocyte growth factor and c-MET genes during furan-induced regenerative cell proliferation in the livers of B6C3F1 mice and F-344 rats, *Cell Proliferation*, 27, 529-539, 1994.
13. Yaylayan, VA., Precursors, Formation and determination of furan in foods, *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 1, 5-9, 2006.
14. Astle, JW., Gobas, FAPC., Shiu, D., Wan-Ying, D., Mac Kay, D., Lake Sediments as Historic Records of Atmospheric Contamination by Organic Chemicals, *Adv Chem. Ser.216: 57-77*, 1987.
15. WHO, Polychlorinated dibenzo-para-dioxins and dibenzofurans Environmental Health Criteria 88, International Programme on Chemical Safety. Geneva, Switzerland, 1989.
16. Clement, RE., Tosine, HM., Taguchi, V., Musial, CJ., Uthe JF Investigation of American lobster, *Homarus americanus*, for the presence of chlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans, *Bull Environ Contam Toxicol.*, 39(6), 1069-75, 1987
17. EFSA, Report of the CONTAM Panel on provisional findings on furan in food, Annexe corrigendum Available at: [http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science/contam/contam\\_documents/760.Par.0002.File.dat/furan\\_annex1.pdf](http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science/contam/contam_documents/760.Par.0002.File.dat/furan_annex1.pdf)., 2004.
18. IARC (International Agency for Research on Cancer), Summaries & Evaluations,1995,(Avaliableat<http://www.inchem.org/documents/iarc/vol63/furan.html>).
19. Kedderis, GL., Ploch, SA., The biochemical toxicology of furan, *Chemical Industry Institute of Toxicology*, 19 (12), 1-8, 1999.
20. Crews, C., Castle, LA., Review of the occurrence, formation and analysis of furan in heat-processed foods, *Trends in Food Science & Tecnology*, 18, 344-345, 2007.
21. Maga, JA., Furans in foods, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 355-399, 1979.

22. Goldmann, T., Périsset, A., Scanlan, F., Stadler, RH., Rapid determination of furan in heated foodstuffs by isotope dilution solid phase micro-extraction-gas chromatography-mass spectrometry (SPME-GC-MS), *The Analyst*, 130, 878-883, 2005.
23. Yilmaz B., Kilic, S., Aksakal, O., Ertas, IE., Tanrisever, GG., Aksoy, Y., et al., Melatonin causes regression of endometriotic implants in rats by modulating angiogenesis, tissue levels of antioxidants and matrix metalloproteinases, *Arch Gynecol Obstet.*, Dec 19. [Epub ahead of print], 2014.
24. Gutteridge, JMC., Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage, *Clin Chem*, 41, 1819-1828, 1995.
25. Byung, PY., Cellular defenses against damage from reactive species, *Physiological Reviews*, 74(1), 139-172, 1994.
26. Gökpınar, Ş., Koray, T., Akçiçek, E., Göksan, T., Durmaz, Y., Algal antioksidanlar, *EÜ Su Ürünleri Dergisi*, 23, 85-89, 2006.
27. Ratnam, DV., Ankola, DD., Bhardwaj, V., Sahana, DK., Kumar, MN., Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A Pharmaceutical Perspective, *J Control Release*, 113(3), 189-207, 2006.
28. Warner, DS., Sheng, H., Batinić-Haberle I. Oxidants, antioxidants and the ischemic brain, *J Exp Biol*, 207 (18), 3221 -3231, 2004.
29. Kasprzak, KS., Oxidative DNA and protein damage in metal-induced toxicity and carcinogenesis, *Free Radic Biol Med*, 32(10), 958-967, 2002.
30. Cavdar, C., Sifil, A., Camsari, T., Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal of the Turkish Nephrology Association*, 3(4), 92-95, 1997.
31. Peltola, V., Huhtaniemi, I., Ahotupa, M., Antioxidant enzyme activity in the maturing rat testis, *J Androl*, 13, 450-455, 1992.
32. Atiken, RJ., Roman, SD., Antioxidant systems and oxidative stress in the testes, *Oxid Med Cell Longev*, 1(1), 15-24, 2008.
33. 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*, 14, 238-243, 2000.
34. Berman, I., *Color Atlas of Histology*, s.310-317, Appleton&Lange, Connecticut, 1998.

35. Yıldırım, M., İnsan Anatomisi, s. 226-236, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2003.
36. Male reproductive system, Veterinary Histology, Oklahoma State University College, USA,  
<http://instruction.cvhs.okstate.edu/histology/mr/himrp2.htm>, November, 2007.
37. Creasy, DM., Foster, PMD., Male Reproductive System. In: Haschek WM, Rousseaux C. G., editors, Handbook of Toxicologic Pathology, 2, Amsterdam: Elsevier, 785-846, 2002.
38. Ovalle, WK., Nahirney PC., Netter's Essential Histology. Second Edition. USA, Saunders Elsevier, 378-387, 2009.
39. Leslie, PG., James, LH., Color Atlas of Histology. Lippincott Williams & Wilkins, 369-386, 2009.
40. Leeson CR, Leeson TS. Histology, 4.baskı, Philadelphia, London, Toronto, W.B. Saunders Company, 1981
41. Bozdağın, Ö., Fizyoloji, Palme Yayın Dağıtım Pazarlama İç ve Dış Ticaret Ltd. Şti., Ankara, 439-452, 2000
42. Guyton, A.C., Hall, J.E., Tıbbi Fizyoloji, Yüce Yayınları & Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul, 916-928, 2001.
43. An introduction to the hormones in the male reproductive system, <https://malereprobio12.wikispaces.com/> (16.01.2015).
44. Wangikar, P., Ahmed, T., Vangala, S., Toxicologic pathology of the reproductive system, Reproductive and Developmental Toxicology, R.C. Gupta, Elsevier Inc., Londra, İngiltere, 1003-1026, 2011.
45. Kretser, D.M., Loveland, K.L., Meinhardt, A., Simorangkir, D., Wreford, N., Spermatogenesis, Hum. Reprod., 13, 1-8, 1998.
46. Çalışkan, S., Koca, O., Öztürk, M., Akyüz, M., Karaman, M.İ., Hormonal evaluation in erectile dysfunction, Turkish J. Urology, 38 (1), 19-22, 2012.
47. Tuck, S.P., Francis, R.M., Testosterone, bone and osteoporosis Front Horm Res. Frontiers of Hormone Research, 37, 123- 32, 2009.
48. Dabbs, M., Dabbs, J.M., Heroes, rogues, and lovers: testosterone and behavior. New York: Mc Graw- Hill, 2000.
49. Gnnessi, L., Fabbri, A., Spera, G., Gonadal peptides as mediators of development and functional control of the testis: an integrated system

- with hormones and local environment, *Endocrine R.*, 18 (4), 541-609, 1997.
50. Walker, W.H., Cheng, J., FSH and testosterone signaling in sertoli cells, *Reprod.*, 130, 15-28, 2005.
  51. Tilbrook, A.J., Clarke, I.J., Negative feedback regulation of the secretion and actions of gonadotropin-releasing hormone in males, *Biol. Rep.* 64, 735-742, 2001.
  52. Babu, S.R., Sadhnani, M.D., Swarna, M., Padmavathi, P., Reddy, P.P., Evaluation of FSH, LH and testosterone levels in different subgroups of infertile males, *Indian J. Clin. Biochem.*, 19 (1), 45-46, 2004.
  53. Kojima, Y., Hayashi, Y., Mizuno, K., Kurokawa, S., Sasaki, S., Kohri, K. Assessment of serum follicle-stimulating hormone level and testicular volume for prediction of paternity potential in pubertal boys who underwent bilateral orchiopexy in childhood. *J. Urol.*, 175: 2290-4, 2006.
  54. Weinbauert, G.F., Bartlett, J.M.S., Fingscheidt, U., Tsonis, C.G., Kretser, D.M., Nieschlag, E., Evidence for a major role of inhibin in the feedback control of FSH in the male rat, *J. Reprod. Fert.*, 85, 355-362, 1989.
  55. Onat, T., Emerk, K., Sözmen, YE., İnsan Biyokimyası. Palme Yayıncılık, 2. Basım, Ankara, 2006.
  56. Borodaco, A., Classification and diagnosis of Diabetes, *Terapia*, 15, 6-11, 2007.
  57. ADA (American Diabetes Association Diagnosis) and Classification of diabetes mellitus *Diabetes Care*, 34(suppl. 1), 62-69, 2011.
  58. Rao, AV., Agarwal, S., Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review, *Nutr Res*, 19, 199-203, 1999.
  59. Hadley, C.W., Clinton, S.K., Schwartz, S.J., The consumption of processed tomato products enhances plasma lycopene concentrations in association with a reduced lipoprotein sensitivity to oxidative damage, *J Nutr*, 133, 727-732, 2003.
  60. Nguyen, D.J.F., Sowell, A., Swanson, C.A., Potischman, N., Miller, R., Schussler, N., Stephenson, H.E.Jr., Dose-response effects of lycopene on selected drug-metabolizing and antioxidant enzymes in the rat. *Cancer Lett*, 154, 201-210, 2000.

61. Erhardt, J.G., Meisner, C., Bode, J.C., Lycopene, beta-carotene and colorectal adenomas, *Am J Clin Nutr*, 78, 1219-1224, 2003.
62. Edwards, A.J., Vinyard, B.T., Wiley, E.R., Brown, E.D., Collins, J.K., Perkins-Veazie, P., Consumption of watermelon juice increases plasma concentrations of lycopene and carotene in humans, *J Nutr*, 133, 1043-1050, 2003.
63. Nguyen, M.L., Schwartz, S.J., Lycopene: chemical and biological properties, *Food Technol*, 53, 38-45, 1999.
64. Bramley, P.M., Is lycopene beneficial to human health, *Phyt Rev*, 54(3), 233-236, 2000.
65. Di, M.P., Kaiser, S., Sies, H., Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher, *Arch. Biochem. Biophys.*, 274:532-8, 1989.
66. Bast, A., Haenen, G.R., Van Den Berg, R., Van Den Berg, H., Antioxidant effects of carotenoids, *Int J Vitam Nutr Res*, 68, 399-403, 1998.
67. Anguelova, T., Warthesen, J., Lycopene stability in tomato powders, *J Food Sci*, 65, 67-70, 2000.
68. Stahl, W., Junghans, A., de Boer, B., Driomina, E.S., Briviba, K., Sies, H., Carotenoid mixtures protect multilamellar liposomes against oxidative damage: synergistic effects of lycopene and lutein, *FEBS Lett*, 427, 305-308, 1998.
69. Matos, H.R., Capelozzi, VL., Gomes, OF., Mascio, P.D., Medeiros, M.H., Lycopene inhibits DNA damage and liver necrosis in rats treated with ferric nitrilotriacetate, *Arch Biochem Biophys*, 396, 171-177, 2001.
70. Cantrell, A., Mc Garvey, D.J., Truscott, T.G., Rancan, F., Bohm, F., Singlet oxygen quenching by dietary carotenoids in a model membrane environment, *Arch Biochem Biophys*, 412, 47-54, 2003.
71. Mashima, R., Witting, P.K., Stocker, R., Oxidants and antioxidants in atherosclerosis, *Curr Opin Lipidol*, 12(4), 411-418, 2001.
72. Boileau, T.W., Clinton, S.K., Zaripheh, S., Monaco, M.H., Donovan, S.M., Erdman, J.W., Testosterone and food restriction modulate hepatic lycopene isomer concentrations in male F344 rats, *J Nutr*, 131(6), 1746-1752, 2001.

73. Rehman, A., Bourne, L.C., Halliwell, B., Rice-Evans, C.A., Tomato Consumption Modulates Oxidative DNA Damage in Humans, *Biochem Biophys Res Commun*, 262, 828–831, 1999.
74. Porrini, M., Riso, P., Lymphocyte lycopene concentration and DNA protection from oxidative damage is increased in women after a short period of tomato consumption, *J Nutr*, 130, 189–192, 2000.
75. Pruthi, RS., Derksen, E., Gaston, K., Cyclooxygenase-2 as a potential target in the prevention and treatment of genitourinary tumors, a review, *J Urol*, 169, 2352–2359, 2003.
76. Li, Z.Z., Lu, X.Z., Ma, C.C., Chen, L., Serum lycopene levels in patients with diabetic retinopathy, *Eur J Ophthalmol*, 20(4),719-723, 2010.
77. Zhu, J., Wang, C.G., Xu, Y.G., Lycopene attenuates endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats by reducing oxidative stress, *Pharm Biol*, 49(11), 1144-1149, 2011.
78. Coyne, T., Ibiebele, T.I., Baade, P.D., Dobson, A., Mc Clintock, C., Dunn, S., et al., Diabetes mellitus and serum carotenoids: findings of a population-based study in Queensland, Australia, *Am J Clin Nutr*, 82(3), 685-693, 2005.
79. Kuhad, A., Chopra, K., Lycopene ameliorates thermal hyperalgesia and cold allodynia in STZ-induced diabetic rat, *Indian J Exp Biol*, 46(2), 108-111, 2008.
80. Atessahin, A., Karahan, I., Turk, G., Gur, S., Yilmaz, S., Ceribasi, A.O., Protective role of lycopene on cisplatin-induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats, *Reprod Toxicol*, 21, 42-47, 2006.
81. Schmatz, R., Mazzanti, C.M., Spanevello, R., Stefanello, N., Gutierrez, J., Corrêa, M., et al., Resveratrol prevents memory deficits and the increase in acetylcholinesterase activity in streptozotocin-induced diabetic rats, *European J Pharmacol*, 610, 42-48, 2009.
82. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L., Randall, R.J., Protein measurement with the folin reagent, *Journal of Biological Chemistry*, 19, 265-275, 1951.
83. Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction, *Analytical Biochemistry*, 95, 351-358, 1979.

84. Marklund, S., Marklund, G., Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase, *European Journal of Biochemistry*, 47, 469-474, 1974.
85. Aebi, H., Catalase in vitro, *Methods in Enzymology*, 105, 121-126, 1984.
86. Paglia, D.E., Valentine, W.N., Studies on the quantitative and qualitative characterization of glutathione peroxidase, *Journal Laboratory Medicine*, 70, 158-165, 1987.
87. Habig, W.H., Pabst, M.J., Jakoby, W.B., Glutathione-S-transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation, *The Journal of Biological Chemistry*, 249, 7130-7139, 1974.
88. Mugford C.A, Carfagna M.A, Kedderis G.L., Furan-mediated uncoupling of hepatic phosphorylation in Fisher-344 rats: an early event in cell death. *Toxicol Appl Pharm.*, 144: 1–11, 1997.
89. Grandjean, P., Non-precautionary aspects of toxicology. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 207: 652–57, 2005.
90. Kaya, M., Sertoli cells and various types of multinucleates in the rat seminiferous tubules following temporary ligation of the testicular artery. *J Anat*, 144: 15-29, 1986.
91. Ozgur, H., Kaya, M., Doran, Solmaz, S., Ultrastructure of the seminiferous tubules in human testes before and after varicocele. *Anat Embryol*, 207: 343- 353, 2003.
92. Terquem, E., Dadoune, J.P., Morphological finding in varicocele. An ultrastructural study of 30 bilateral testicular biopsies. *Int J Androl*, 4, 515 – 31, 1981.
93. Vydra, G., Ultrastructure of testicular damage caused by varicocele. *Acta Chir Acad Sci Hung*, 21, 72 – 85, 1980.



## ÖZGEÇMİŞ

1971 yılında İstanbul'da doğan Özlem KARA, orta ve lise öğrenimini sırasıyla 50. yıl General Refet Bele İlkokulu, Kartal Orhangazi Lisesi'nde tamamlamıştır. Bozok Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü 2013 yılında bitirmiştir.

2013-2014 öğretim yılında yüksek lisans eğitimine Bozok Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında başlamıştır. Bildiği yabancı dil İngilizcedir. Özlem KARA, evli ve 2 çocuk annesidir.

### İletişim Bilgileri

Adres: Bozok Üniversitesi FEF Biyoloji Bölümü Divanlı Yolu 10. km.

66100 YOZGAT

Telefon: (354) 242 10 42

Faks: (354) 242 10 44

**e-posta:** ozle Mozarturk34@hotmail.com