



**T.C.**

**ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**STREPTOZOTOSİN(STZ) İLE DİYABET  
OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA KUERSETİN'İN TESTİS  
DOKUSUNA ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ÖYKÜ ÖZCAN**

**DANIŞMAN  
PROF.DR. CENGİZ BAYÇU**

**2017**



**T.C.**

**ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**STREPTOZOTOSİN(STZ) İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ  
SIÇANLARDA KUERSETİN'İN TESTİS DOKUSUNA ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ÖYKÜ ÖZCAN**

**DANIŞMAN**

**PROF.DR. CENGİZ BAYÇU**

**Bu Çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma  
Projeleri Komisyonunca desteklenmiştir.**

**Proje No: 2016-1222**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

ÖYKÜ ÖZCAN' ın Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı " **Streptozotosin (Stz) İle Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Kuersetin'in Testis Dokusuna Etkisi** " başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "**KABUL**" edilmiştir.

Tarih

07.04.2017

Üye: Prof. Dr. Cengiz BAYÇU

Üye: Prof. Dr. Varol ŞAHİNTÜRK

Üye: Prof. Dr. Yasemin AYDIN

Üye: Doç. Dr. Gözde Aydoğan KILIÇ

Üye: Yrd. Doç. Dr. Dilek Burukoğlu DÖNMEZ

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 07 / 04 / 2017 tarih ve 1124 / 5416 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasan Veyis GÜNEŞ  
Enstitü Müdürü

## ÖZET

Diabetes Mellitus, görülme sıklığı ve yarattığı sorunlar nedeniyle önemi gittikçe artan bir sağlık sorunudur. Kuersetin meyve, sebze ve tahıl gibi farklı bitkilerde yaygın olarak bulunan güçlü bir antioksidandır.

Bu çalışmada 3 ayrı dozda uygulanan Kuersetinin diyabetik sıçan testisleri ve bazı biyokimyasal parametreler üzerine olası tedavi edici etkilerinin araştırılması amaçlandı.

Her grupta 8 sıçan olacak şekilde Kontrol (K) , Sham (S), Diyabet (D), Diyabet+Kuersetin 15mg/kg (Q1), Diyabet+Kuersetin 30mg/kg (Q2), Diyabet+Kuersetin 60mg/kg (Q3) grupları oluşturuldu. Diyabet modeli oluşturmak için 50mg/kg/i.p. Streptozotosin uygulaması yapıldı. Diyabet oluştuktan 2 hafta sonra, 28 gün boyunca Q1, Q2 ve Q3 gruplarına Kuersetin uygulaması yapıldı.

Deney sonunda; sıçanların deney öncesi ve deney sonu vücut ağırlıkları ve açlık kan şekerleri ölçülüp karşılaştırıldı. Testosteron düzeyleri ölçülmek üzere kan örnekleri toplandı. Testisler çıkarılıp ağırlıkları kaydedildi ve Testis Ağırlık İndeksi (TAİ) hesaplandı. Testislerde mikroskobik incelemeler ve morfometrik ölçümler yapıldı. Testis GLUT2 değişimi immünohistokimyasal ve Western Blot yöntemleriyle incelendi. -80°C'ye kaldırılan testislerde Malondialdehit (MDA) seviyelerine bakıldı. Sperm parametrelerinin analizi için epididimisten spermatozoa aspire edilerek GLUT2 immünreaktivitesine bakıldı.

Deney sonunda Kuersetin verilen gruplarda diyabetle birlikte artan açlık kan şekerinin azaldığı görüldü. Histolojik incelemelerde, Diyabet grubunda düzensiz şekilli seminifer tübüller, germ hücre tabakalarında azalma, interstisyel alanda ödem, apikal blebler ve rezidüel cisimcikler saptandı. Q1 grubuna ait seminifer tübüllerde germ hücre tabakasında azalma ve rezidüel cisimcikler görülmeye devam ederken Q2 grubundaki seminifer tübül şekillerinde ve germ hücre tabakasında düzleşme saptandı. Q3 grubunda ise germ hücre tabakasında düzleşme gözlenirken düzensiz seminifer tübül yapısı saptandı.

Kontrol- Diyabet ve Sham- Diyabet grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir TAİ artışı gözlemlendi. Diyabet grubunda azalma gösteren seminifer tübül çapı Kuersetin gruplarında artış gösterdi.

Western blot ve immünohistokimya yöntemlerinde diyabet grubunda testisteki GLUT2 protein miktarının azaldığı, Kuersetin gruplarındaysa doz bağımlı olarak azalmaya devam ettiği gözlemlendi.

Sperm yaymaları incelendiğinde Kontrol ve Sham gruplarında spermlerin akrozom kısımlarında GLUT2 ekspresyonu gözlenirken, diğer gruplarda hiçbir reaksiyon gözlenmedi.

Diyabet grubunda azalan Testosteron seviyesi, Diyabet-Q2 ve Diyabet-Q3 grupları arasında istatistiksel artış gösterdi.

MDA analizinde Diyabet grubunda Kontrol ve Sham gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanırken, Diyabet ve Kuersetin grupları arasında anlamlı bir düşüş gözlemlendi.

Kuersetinin diyabette artan kan şekerini azalttığı, testiste diyabet sonucu oluşan hasara karşı iyileştirici etki gösterdiği, diyabette düşen testosteron seviyesini arttırıp ve diyabetle yükselen MDA seviyesini azalttığı gözlemlenmiştir. En etkili iyileşme Kuersetin 30mg/kg grubunda gözlemlendi.

**Anahtar kelimeler:** diyabet, kuersetin, sıçan, testis, GLUT2, testosteron, MDA

## SUMMARY

Diabetes Mellitus has been a constantly increasing health disorder due to its frequency and the problems it causes. Quercetin is a strong antioxidant contained in different plants such as fruit, vegetables and grain.

The groups as Control (C), Sham (S), Diabetes (D), Diabetes+Quercetin 15 mg/kg (Q1), Diabetes+Quercetin 30 mg/kg (Q2), Diabetes+Quercetin 60 mg/kg (Q3) were formed in a way that each will include 8 rats. 2 weeks after the Diabetes model was formed with 50 mg/kg/i.p. STZ, 15/30/60 mg/kg-i.p. Quercetin application was conducted to the groups of Q1, Q2 and Q3, respectively for 28 days.

At the end of the experiment, pre and post body weights and pre-prandial blood glucose of the rats were measured and compared. Their blood samples were collected in order to measure their level of testosterone. Their testicles were removed, their weight was recorded and the relative testis weight (RTW) was calculated. Microscopic examinations and morphometric measurements on the testicles were done. The changes in GLUT2 was examined through immunohistochemical methods and the method of western blot. Malondialdehyde (MDA) levels of the testicles reserved at - 80°C were observed. For the examination of the sperm parameters, GLUT2 immunoreactivity was analyzed by sperm aspiration from epididymis.

When the post-experiment body weights were compared, there seemed to be a significant decrease in the groups compared to the Control and Sham groups. While the post-experiment blood glucose levels of the rats in Diabetes group compared to Control and Sham group, the blood glucose increasing due to diabetes significantly decreased in the Quercetin groups. During the histologic examinations, in the Diabetes group, atrophied seminiferous tubules, degradation in the germ cell layers, edema in the interstitial space, apical blebs and residual particles were detected. Degradation in the germ cell layer, residual particles were observed in the seminiferous tubules in the Q1 group whereas in the forms of the seminiferous tubules and germ cell layer in the Q2 group were ameliorated yet residual particles were observed. As for the Q3 group, an amelioration was detected on the germ cell layer and atrophied seminiferous tubules.

When the RTW values are compared, there seemed to be a statistically significant increase between the Control-Diabetes and Sham-Diabetes groups. Examining the sperm smear, there seemed to be GLUT2 expression in the sperm acrosomes in the Control and Sham groups while there was no reaction observed in the other groups.

The seminiferous tubule sizes with a significant decrease in the group Diabetes compared to the Control group had a statistically significant increase in the Quercetin groups.

As the examination of GLUT2 protein amount through western blot and immunohistochemical methods suggests, the GLUT2 expression decreased in the Diabetes group compared to the Control and Sham groups, and continued to dose-dependently decrease in the Quercetin groups.

While a significant decrease was observed in the level of Testosterones in the other groups compared to the Control and Sham group, a significant increase was detected between the Diabetes-Q1 and Diabetes-Q2 groups.

In the MDA analysis, a statistically significant increase was seen in the Diabetes group compared to the Control and Sham groups, a significant decrease was detected between the Diabetes and Quercetin groups.

Depending on the Quercetin dose-increment, the decrease in the immunoreactivity and protein amount of GLUT2 could be explained by the blood glucose level decrease.

**Keywords:** Diabetes, quercetin, rat, testis, GLUT2, testosterone, MDA

# İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	iii
Hata! Yer işareti tanımlanmamış.	
ÖZET .....	v
SUMMARY .....	vii
İÇİNDEKİLER .....	ix
TABLO DİZİNİ.....	xii
ŞEKİL DİZİNİ.....	xiii
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xvi
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER .....</b>	<b>3</b>
2.1. Testis.....	3
2.1.1. Testis Anatomisi.....	3
2.1.2. Testis Embriyolojisi.....	3
2.1.3. Testis Histolojisi .....	4
2.1.3.1. Spermatogenez.....	6
2.1.4. Testis ve Üreme Sistemi Hormonları .....	7
2.1.4.1. Testosteron .....	8
2.1.4.2. Luteinizan Hormon (LH) .....	9
2.1.4.3. Folikül Uyarıcı Hormon (FSH) .....	10
2.2. Glukoz Metabolizması.....	10
2.2.1. Sperm Hücrelerinde Glukozun Alımı ve Metabolizması .....	13
2.3. Diabetes Mellitus .....	14
2.3.1. Tip 1 Diyabet.....	15
2.4. İnsülin ve Metabolik Etkileri .....	15
2.5. Diyabet ve Oksidatif Stres .....	16
2.6. Diabetes Mellitus ve Erkek İnfertilitesi .....	17
2.7. Deneysel Diyabet Modelleri .....	19
2.7.1. Streptozotosin (STZ) .....	20
2.7.1.1. STZ'nin Etki Mekanizması .....	20
2.7.1.2. STZ'nin Kullanım Şekli ve Doz .....	21
2.8. Oksidatif Stres ve Serbest Oksijen Radikalleri .....	22
2.9. Antioksidanlar .....	23



2.9.1. Polifenoller .....	24
2.9.2. Flavonoidler.....	25
2.9.3. Flavonoidlerin Genel Özellikleri.....	25
2.9.4. Kuersetin .....	27
2.9.4.1. Kuersetinin Yapısı ve Kaynakları .....	28
2.9.4.2. Kuersetinin Biyoyarlanımını .....	29
2.9.4.3. Kuersetin in Antioksidan Mekanizması.....	30
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEMLER .....</b>	<b>31</b>
3.1. Deney Hayvanlarının Elde Edilmesi .....	31
3.2. Deneysel Diyabetin Oluşturulması.....	31
3.3. Kuersetin Uygulaması .....	31
3.4. Deney Grupları.....	32
3.5. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü .....	32
3.6. Kan Şekeri Ölçümü .....	32
3.7. Bouin Fiksatifinin Hazırlanışı.....	33
3.8. Dokuların Alınması.....	34
3.9. Testis Ağırlık Ölçümü .....	34
3.10. Testis Ağırlık İndeksinin (TAİ) Hesaplaması.....	34
3.11. Histolojik İncelemeler İçin Dokuların Hazırlanması .....	34
3.12. Kesitlerin Alınması ve Hematoksilin-Eozin Boyaması.....	35
3.13. Seminifer Tübül Çapları Ölçümü (STÇ) .....	36
3.14. Parafin Kesitlerde İmmunohistokimya Yöntemi .....	36
3.15. Biyokimyasal Analizler.....	37
3.15.1. MDA Düzey Ölçümü .....	37
3.15.2. Testosteron Seviyesinin ELISA Yöntemiyle Ölçülmesi .....	38
3.16. Western Blot Yöntemi .....	38
3.17. İstatistiksel Analiz .....	39
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>40</b>
4.1. Deney Sonu Vücut Ağırlıkları .....	40
4.2. Kan Şekeri Düzeyi Sonuçları .....	42
4.3. Testis Ağırlık İndeksi (TAİ) Analizi .....	44
4.4. Histopatolojik Bulgular .....	45
4.5. Sperm H-E Bulguları .....	52

4.6.	İmmünohistokimyasal Bulgular .....	53
4.7.	Seminifer Tübül Çapı Ölçümü .....	56
4.8.	Grupların MDA Düzeylerinin Karşılaştırılması .....	57
4.9.	Grupların Testosteron Seviyelerinin Karşılaştırılması.....	59
4.10.	Western Blot Sonuçları .....	61
<b>5.</b>	<b>TARTIŞMA.....</b>	<b>63</b>
<b>6.</b>	<b>Sonuç Ve Öneriler .....</b>	<b>69</b>
<b>7.</b>	<b>Ekler Dizini.....</b>	<b>76</b>
<b>8.</b>	<b>Özgeçmiş .....</b>	<b>77</b>



## TABLO DİZİNİ

<b>Tablo 2.1.</b> Farklı hayvan türlerinde STZ doz aralığı.....	22
<b>Tablo 2.2.</b> Flavonoidlerin sınıflandırılması.....	26
<b>Tablo 2.3.</b> Kuersetinin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	28
<b>Tablo 3.1.</b> Doku takip yöntemine ait süreler.....	33
<b>Tablo 3.2.</b> H-E boyama yöntemine ait uygulama süreleri.....	35
<b>Tablo 4.1.</b> Gruplar arası GLUT2 proteinin kat değişimi.....	62

## ŞEKİL DİZİNİ

<b>Şekil 2.1</b> Testisin şematik gösterimi.....	5
<b>Şekil 2.2</b> Seminifer tübül ve interstisyel bağ doku yapısı.....	6
<b>Şekil 2.3</b> Spermatogenezin hormonal kontrolü.....	8
<b>Şekil 2.4.</b> Testosteronun kimyasal yapısı.....	9
<b>Şekil 2.5</b> İnsan sperm hücresinde GLUT'ların lokalizasyonu.....	12
<b>Şekil 2.6</b> STZ'nin kimyasal yapısı.....	20
<b>Şekil 2.7</b> STZ'nin toksik etkileri.....	21
<b>Şekil 2.8</b> Flavonoid iskeleti.....	26
<b>Şekil 2.9</b> Kuersetinin kimyasal yapısı.....	27
<b>Şekil 2.10</b> Kuersetinin yaygın metabolik ürünleri.....	29
<b>Şekil 4.1</b> Sıçanların deney öncesi ve sonrası ağırlıklarının karşılaştırılması.....	40
<b>Şekil 4.2</b> Sıçanların deney sonu ağırlıkları.....	41
<b>Şekil 4.3</b> Grupların deney öncesi ve sonrası kan şeker farkı.....	42
<b>Şekil 4.4</b> Gruplar arası deney sonu kan şeker düzeyi.....	43
<b>Şekil 4.5</b> Sıçanların gruplara göre testis ağırlık indeksleri.....	44
<b>Şekil 4.6</b> Kontrol ve Sham grupları ışık mikroskopik bulguları.....	46
<b>Şekil 4.7</b> Diyabet grubu ışık mikroskobu bulguları.....	47
<b>Şekil 4.8</b> Diyabet grubu ışık mikroskobu bulguları.....	4
<b>Şekil 4.9</b> Kuersetin 15mg/kg grubu ışık mikroskobu bulguları.....	49
<b>Şekil 4.10</b> Kuersetin 30mg/kg grubu ışık mikroskobu bulguları.....	50
<b>Şekil 4.11</b> Kuersetin 60mg/kg grubu ışık mikroskobu bulguları.....	51
<b>Şekil 4.12</b> Spermelerde H-E ışık mikroskobu bulguları.....	52

<b>Şekil 4.13</b>	Testiste GLUT 2 immünohistokimya ekspresyonları.....	54
<b>Şekil 4.14</b>	Spermlerde GLUT 2 immünohistokimya ekspresyonları.....	55
<b>Şekil 4.15</b>	Seminifer tübül çapları ölçümü.....	56
<b>Şekil 4.16</b>	Gruplar arası MDA seviyelerinin karşılaştırılması.....	57
<b>Şekil 4.17</b>	MDA standart grafiği.....	58
<b>Şekil 4.18</b>	Gruplar arası serum testosteron seviyesi karşılaştırılması.....	59
<b>Şekil 4.19</b>	Testosteron standart grafiği.....	60
<b>Şekil 4.20</b>	GLUT2 proteinin Western blot analizi.....	61

## SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ATP</b>	Adenozin trifosfat
<b>AMH</b>	Antimüllerian hormon
<b>BSA</b>	Bovine serum albümin
<b>DHT</b>	Dihidrotestosteron
<b>DM</b>	Diabetes Mellitus
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik asit
<b>FSH</b>	Folikül stimulan hormon
<b>g</b>	gram
<b>GLUT</b>	Kolaylaştırılmış glukoz taşıyıcısı
<b>GPx</b>	Glutasyon peroksidaz
<b>GR</b>	Glutasyon redüktaz
<b>GST</b>	Glutasyon-S-redüktaz
<b>GnRH</b>	Gonodotropin salgılatıcı hormon
<b>hCG</b>	İnsan koryonik gonodotropik hormonu
<b>H-E</b>	Hematoksilen Eozin
<b>IDF</b>	Uluslararası diyabet federasyonu
<b>IHC</b>	İmmünohistokimya
<b>i.p.</b>	intra peritoneal
<b>i.v.</b>	intravenöz
<b>i.m.</b>	intramüsküler
<b>LH</b>	Luteinizan hormon
<b>LDL</b>	Düşük yoğunluklu lipoprotein
<b>KAT</b>	Katalaz
<b>Kd</b>	Kilodalton
<b>M</b>	Molar
<b>MDA</b>	Malondialdehit
<b>mg</b>	miligram

<b>MİM</b>	Müllerian inhibitör madde
<b>ml</b>	mililitre
<b>NAD</b>	Nikotinamid adenin dinükleotid
<b>nm</b>	nanometre
<b>PARP</b>	Poli ADP riboz polimeraz
<b>PBS</b>	phosphate buffered saline
<b>PVDF</b>	polivinilidin difluorid
<b>RNS</b>	Reaktif nitrojen türleri
<b>ROS</b>	Reaktif oksijen türleri
<b>RIPA</b>	Radioimmunoprecipitation assay tamponu
<b>SDS</b>	Sodyum dodesil sülfat
<b>SF</b>	Serum fizyolojik
<b>SGLT</b>	Sodyum bağımlı glukoz taşıyıcı
<b>SHBG</b>	Seks hormonu bağlayıcı globülin
<b>SLC</b>	Solute carrier ailesi
<b>SOD</b>	Süperoksit dismutaz
<b>STZ</b>	Streptozotosin
<b>T1DM</b>	Tip 1 Diabetes Mellitus
<b>T2DM</b>	Tip 2 Diabetes Mellitus
<b>TBA</b>	Tiyobarbitürik asit
<b>TBARS</b>	Tiyobarbitürik asit reaktif ürünleri
<b>TBF</b>	Testis belirleyici faktör
<b>WHO</b>	Dünya sağlık örgütü
<b>µM</b>	mikromolar

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes Mellitus (DM), görülme sıklığı ve yarattığı sorunlar nedeniyle tüm dünyada önemi gittikçe artan bir sağlık problemi olarak karşımıza çıkmaktadır (M. Alves vd., 2013; Alves, Martins, Cavaco, Socorro, & Oliveira, 2013; Dias, Alves, Silva, & Oliveira, 2014).

DM; retinopati, nefropati, kardiyovasküler hastalıklar ve erkek infertilitesi gibi ciddi komplikasyonları içeren bir sağlık problemidir (Jangir & Jain, 2014). Diyabet hastalarının %5-10'unun Tip 1 diyabetli (T1DM) olduğu bilinmektedir. T1DM' nin birçok toplumda görülme sıklığının arttığı ve bu artışın okul öncesi çağlarda daha belirgin olduğu bildirilmektedir. Bu artışın aktif üreme çağındaki birçok diyabetli erkeği etkiliyor olması, yakın gelecekte DM'ye bağlı fertilitate problemlerinin artacağına göstergesi olarak düşünülmektedir (Aguiree vd., 2013; Association, 2014).

Uluslararası Diyabet Federasyonu'nun (IDF) 2013 yılı atlasına göre, 2013 yılı itibariyle dünyadaki diyabetli birey sayısı 382 milyonken bu sayının 2035 yılında %55 oranında artarak 592 milyona ulaşacağı öngörülmektedir (Aguiree vd., 2013). Dünya Sağlık Örgütüne (WHO) göre diyabet tüm dünyada ölüm nedenleri arasında 8. sırada yer almaktadır (Organization, 2015) ve 2013 yılında tüm dünyada 5.1 milyon insanın diyabet ve komplikasyonları nedeniyle hayatını kaybettiği bildirilmiştir (Aguiree vd., 2013). Fertilitateyle ilgili yapılan çalışmalarda, DM'nin görüş sıklığındaki artışın doğum oranında ve fertilitate azalmayla yakından ilişkili olduğunu göstermektedir (Dias vd., 2014; Jangir & Jain, 2014). Deneysel hayvanları ve diyabetik hastalarda yapılan çalışmalarda erkek üreme potansiyelinde endokrin bozukluklar, nöropati ve artmış oksidatif stresi içeren DM'ye bağlı değişikliklerden sorumlu moleküler mekanizmalar üzerinde durulmuştur (Vignera, Condorelli, Vicari, D'Agata, & Calogero, 2012). Bu çalışmalarda DM'nin erkek üreme fonksiyonlarında nükleer DNA hasarlı spermatozoalara neden olarak sperm kalitesinde bozulmaya, azalmış sperm motilitesi ve semen volümüne neden olduğu, ayrıca düşük testosteron düzeyleri ve testiküler disfonksiyon gibi olumsuz etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (M. Alves vd., 2013; Değişiklikler, 2002; Dias vd., 2014; Jangir & Jain, 2014; Kanter, Aktas, & Erboga, 2012).

Diyabetik erkek hastalarda, subfertilite ve/veya infertiliteye sebep olan ana problem, değişmiş sperm motilitesi, morfolojisi, konsantrasyonu ve DNA fragmentasyonu gibi abnormal sperm parametreleri görülmesine neden olan kusurlu sperm kalitesidir (Dias vd., 2014; MEMİŞOĞULLARI, 2005). Bu değişimlere ise DM' un sebep olduğu oksidatif stres ve hormonal değişikliklerin neden olduğu düşünülmektedir. Testiküler fonksiyonda DM tarafından uyarılan bu komplikasyonlar, glukoz homeostazından sorumlu lider hormon olan



insülinin eksikliği ile ilişkilendirilmiştir. Glukoz alımı ve metabolizması, in vivo spermatogenezin ve erkek spermlerin fertilité kapasitesinin korunması için oldukça önemlidir (Dias vd., 2014). DM esnasında şeker alımında ve metabolizmasında görülen bir düzensizlik sperm kalitesini etkileyebilir. Diyabetik koşullarda mitokondriyal ve nükleer DNA parçalanmasına yol açabilecek olan oksidatif stres dışında, diyabet hastalığında insülin disfonksiyonunun, testis dokusunda ciddi değişiklikler meydana getirdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (M. Alves vd., 2013; Dias vd., 2014; Pergialiotis vd., 2016).

Serbest radikaller hücrelerin membranlarına, hücre yapısındaki nükleik asitlere, proteinlere, lipitlere ve DNA'ya zarar verdiği bilinmektedir ve bunun sonucunda diyabet, kanser, karaciğer tahribatı gibi çeşitli hastalıklara sebep olmaktadır. Organizma tarafından sentezlenen veya besinle alınan antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu bu olumsuz etkileri önleyen, serbest radikalleri yakalama yeteneğine sahip olan moleküllerdir (Kasnak & Palamutoğlu, 2015).

Serbest radikal oluşumuyla antioksidan savunma mekanizması arasında bir denge vardır (Jangir & Jain, 2014). Bu dengenin serbest radikaller lehinde bozulması durumunda oksidatif stres olarak adlandırılan durum ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle vitaminler, flavonoidler gibi antioksidanlarla beslenme takviyesi, birçok kronik hastalığın ortaya çıkmasını önlemede veya etkilerinin azalmasında önemli olabileceği düşünülmektedir.

Meyve, sebze ve tahıl gibi farklı bitki materyallerinde bulunup en yaygın diyet antioksidanlarının biri olan Kuersetinin antikanser, hepatoprotektif, antidiyabetik, antienflamatuar ve antibakteriyel etkinlikler gibi geniş biyolojik ve sağlık teşvik edici etkileri gösterdiği bilinmektedir (Nabavi, Russo, Daglia, & Nabavi, 2015).

Tüm bu bilgiler ışığında çalışmamızda flavonoidler arasında güçlü bir antioksidan olduğu bilinen kuersetinin diyabetik testis üzerine olası tedavi edici etkilerini araştırdık.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Testis**

#### **2.1.1. Testis Anotomisi**

Erkek üreme sistemi; iki adet testis, genital kanallar, aksesuar bezler ve penisten oluşmaktadır (M. H. Ross & Pawlina, 2006). Testisler funikulus spermaticusa asılı olarak skrotum içine yerleşmiş, sperm üreten bir çift erkek üreme organıdır. Skrotumun iç skrotal septumla (septum scrotum) iki bölüme ayrılır ve testisler bu boşluklarda bulunur.

İnsanda her bir testisin boyutu yaklaşık 2.5x3.5 cm, ağırlığı ise 10-15 gramdır. 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. Testis, sperm üretimi ve seks hormonları olan androjen üretimi olmak üzere başlıca iki fonksiyona sahiptir (Hassa, 2003; Yıldırım, 1999).

#### **2.1.2. Testis Embriyolojisi**

Embriyonun cinsiyeti, fertilizasyon sırasında belirlenmiş olsa da, gelişimin 7. haftasına kadar gonadlar henüz dişiye veya erkeğe ait morfolojik karaktere sahip değildir (Hassa, 2003; Sadler, 2005). Erken dönemde genital sistem her iki cinstede birbirine benzediğinden genital sistem gelişiminin başlangıç dönemi seksüel gelişimin 'farklanmamış safhası' olarak adlandırılır.

Gonadlar (testisler ve overler); mezoderm epiteli, embriyonel bağ dokusu ve ilkel germ hücreleri (primordiyal germ hücreleri) olmak üzere 3 kaynaktan köken alırlar. Gonadal gelişimin ilk safhaları 5. haftada, sölom epitelinin çoğalması ve embriyonel bağ dokusunun yoğunlaşmasıyla ortaya çıkar. Bu yapı genital kabartı olarak bilinir. Parmak şeklindeki epitelyal kordonlar, gonadal kordonlar altındaki mezenşim içerisine doğru kısa sürede büyürler. Embriyo genetik olarak erkekse, primordiyal germ hücreleri XY kromozom kompleksine sahiptir.

Testislerin gelişimi, birlikte çalışılan bir takım genlerle sağlanır. Y kromozomunun kısa kolu üzerindeki cinsiyet belirleyen bölgede (sex deterring region on Y= SRY) bulunan testis belirleyici faktör (TBF) farklanmamış gonadın testis olarak gelişiminde anahtar fonksiyon görmektedir. TBF, gonadal kordonları uyararak, onların farklanmamış gonadın medulla derinlerine doğru uzanmasını sağlar. Kordonlar dallanarak birbirleriyle anastomoz yaparlar ve böylece rete testis oluşur. Gelişimin daha ileri evrelerinde kalın bir fibröz kapsül

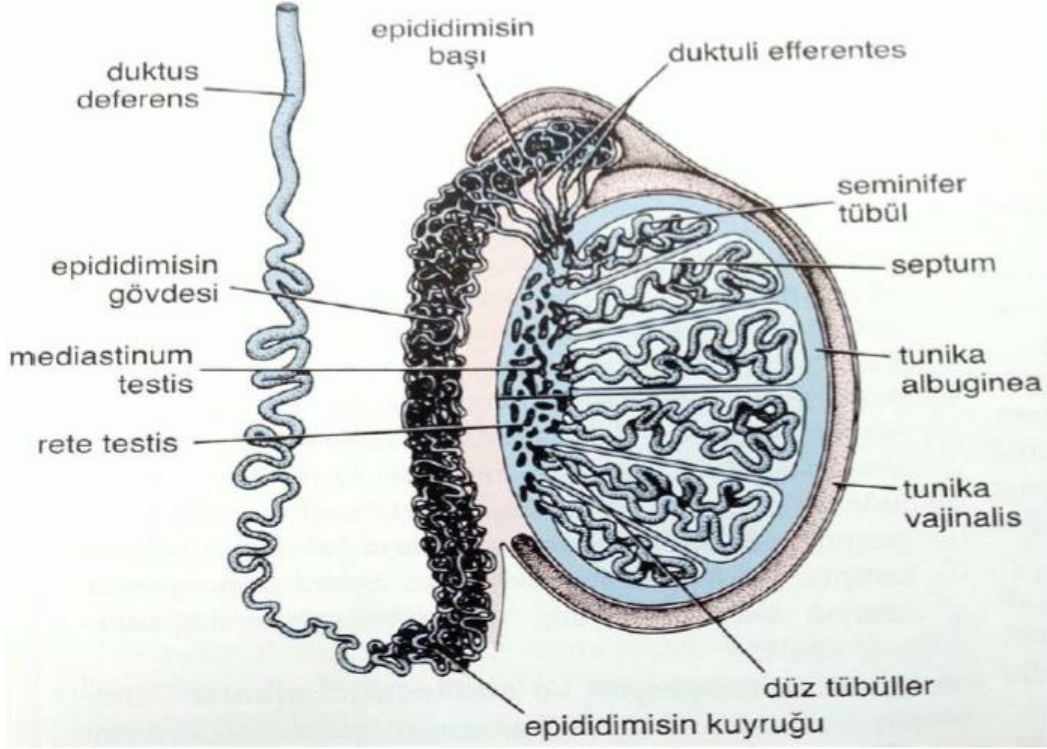
olan tunika albuginea, gonodal kordonları (seminifer kordonlar) yüzey epitelinde ayırır (Hassa, 2003; Moore & TVN, 2002; Sadler, 2005).

Fetal testiste, seminifer tübüllerde çoğunlukla sertoli hücreleri oluşturulur. Gelişim sırasında, testisin yüzey epiteli düzleşir ve yetişkin testisin dış yüzeyindeki mezoteli oluşturur. Rete testis, duktuli efferentesleri oluşturan, 15-20 adet mezonefrik tübüllerle devam eder. Bu duktuliler, duktus epididimisi oluşturan mezonefrik kanalla bağlanırlar (Moore & TVN, 2002). Puberteye kadar solid halde kalan testis kordonları pubertede lümenleri açılarak seminifer tübüllere dönüşür. Seminifer tübüller kanalize olur olmaz rete testis tübüleriyle birleşir ve duktuli efferenteslere girerler (Sadler, 2005).

Seminifer tübüller, interstisyel hücreleri oluşturan mezenşimle ayrılmıştır. 8.haftadan itibaren Leydig hücreleri, androjenik hormonları (testosteron ve androstenediyon) salgılamaya başlar. Testisler bundan sonra genital kanal ve dış genital organların cinsiyetini etkilemeye başlarlar (Moore & TVN, 2002; Sadler, 2005). Hormon miktarı 8-10 haftalık dönemde en yüksek değerine ulaşır. Testosterona ilave olarak, fetal testisler, glikoprotein bir hormon olup sertoli hücreleri tarafından salınan antimülleriyan hormon (AMH) veya mülleriyan inhibitör madde (MİM) adı verilen hormonu da salgılamaktadır. Hormonun salınması puberteye kadar devam eder ve daha sonra seviyesi azalır. Antimülleriyan hormon, uterus ve tuba uterinalara farklı, paramezonefrik (mülleriyan) kanalların gelişimini baskılar (Moore & TVN, 2002).

### **2.1.3. 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 vaskülozadır. Fibromüsküler bağ dokusu yapısında olan tunika albuginea, testisin posteriyor yüzeyi boyunca kalınlaşır ve içeriye doğru mediastinum testis olarak uzanır. Kan damarları, lenf damarları ve genital boşaltım kanalları testise giriş çıkışta mediastinumun içinden geçer. Her bir testisi, kapsülden uzanan bağ dokusu yapısındaki septumlarla yaklaşık 250 piramidal lobüle böler (Hassa, 2003; Junqueira, 2006; M. H. Ross & Pawlina, 2006). Lobüllerin her biri 1-4 seminifer tübül içerir. İnsanda toplam 800-1200 adet, oldukça kıvrıntılı seminifer tübül bulunur. Her piramidal lobun daralmış tepesinde seminifer tübüller, tubuli rekti denen düz tübüllerle birleşirler. Bu birleşme noktaları, rete testisi oluşturur. Seminifer epitelin ürünlerini (testiküler sperm, salgısal proteinler ve iyonlar) toplayan kanallar ağı olan Rete testis kanalları anastomoz yaparak, yaklaşık 10-20 adet duktuli efferentesle, epididimin baş kısmına bağlanmaktadır. Duktuli efferentes testisten gelen spermatozoayı duktus epididimise iletir (Şekil 2.1) (Hassa, 2003).

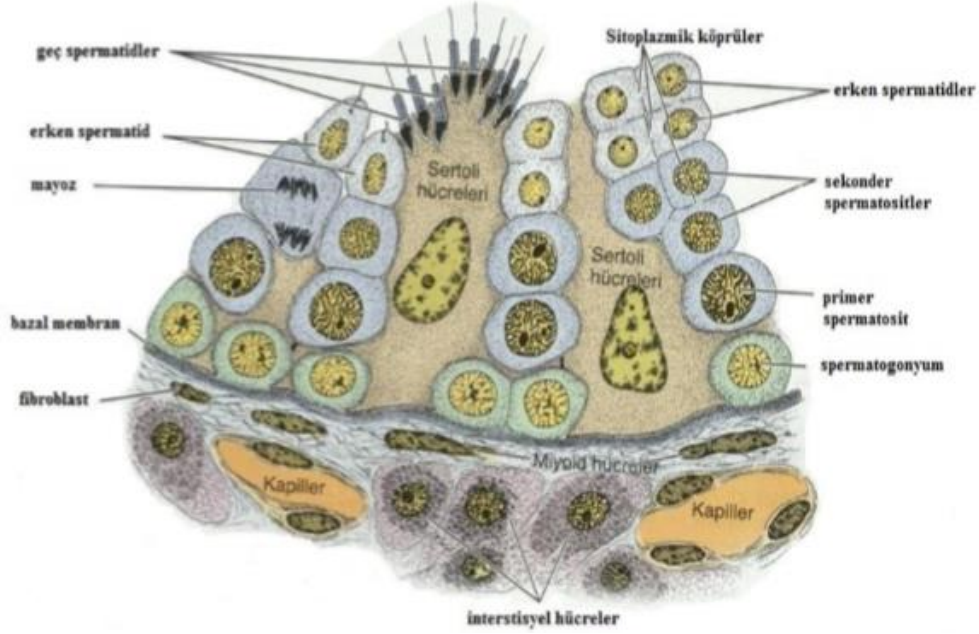


**Şekil 2.1** : Testisin şematik gösterimi (M. H. Ross & Pawlina, 2006).

Her bir seminifer tübül, bağ dokusu tabakası, seminifer epitel ve bir bazal membran tarafından çevrilidir. Bazal laminaya yapışık olan en içteki katman, düz kas özelliği gösteren yassılaştırmış myoid hücreleri içerir (Hassa, 2003). Şekil 2.2’de gösterildiği gibi seminifer tübül duvarı çok katlı kompleks bir epitelle döşelidir. Bu epiteli oluşturan hücreler, bölünme özelliği olmayan Sertoli (destek) hücreleri ile germ veya spermatogonik (spermatogonyumlar, spermatozoid-I, spermatozoid-II ve spermatozoid) hücreleridir.

Spermatogonik hücreler 4-8 tabaka halinde düzenlenmişlerdir ve düzenli olarak çoğalarak olgun sperme farklılaşırlar. Seminifer tübüllerin aralıkları oldukça vaskülarize gevşek bağ dokusuyla doludur. Bu bağ dokusunda bol miktarda kan damarları, lenf damarları, sinirler ve testosteronu salgılayan Leydig hücre kümeleri bulunur (Hassa, 2003; Moore & TVN, 2002; M. H. Ross & Pawlina, 2006).

Sertoli hücreleri testislerin işlevi açısından çok önemlidir. Bu hücreler spermatogenez serisindeki hücreleri saran uzun, piramidal hücrelerdir. Sertoli hücrelerinin tabanları bazal laminaya tutunur, tepe kısımları ise çoğunlukla seminifer tübülün lümenine uzanır (Şekil 2.2).



**Şekil 2.2:** Testis seminifer tübül ve interstisyel bağ dokusu yapısı (Junqueira, 2006).

### 2.1.3.1. Spermatogenez

Spermatogenez, olgun spermatozoon üretim sürecidir. İnsanda günlük sperm yapımı 4,2 milyon civarında olup diğer türlere göre daha azdır (Hassa, 2003). Spermatogenez süreci, bazal laminanın hemen üzerinde yer alan spermatogonyumla başlar (Junqueira, 2006). Puberterle birlikte spermatogonyumlar mitoz bölünmeyle çoğalmaya başlayarak yeni hücreler oluştururlar. Yeni oluşan hücreler A tipi spermatogonyum olarak adlandırılan kök hücreler olarak bölünmeyi sürdürebilir ya da sürmekte olan mitoz bölünmeler boyunca farklılaşarak B tipi spermatogonyumları oluştururlar. B tipi spermatogonyumlar öncül (progenitör) hücrelerdir ve primer spermatisitlere farklılaşırlar. 46 kromozom (44+XY) ve 4N DNA içeren primer spermatisitler oluştuktan hemen sonra birinci mayoz bölünmenin profaz aşamasına girer (Junqueira, 2006). Birinci mayoz bölünmeden sonra 23 kromozom (22+X veya 22+Y) içeren sekonder spermatisitler oluşur. Sekonder spermatisitlerin bölünmesiyle 23 kromozom içeren spermatidlerin oluşmasıyla sonuçlanır. Spermatisitlerde birinci ve ikinci mayoz bölünmeler arasında S fazı (DNA fazı) görülmediği için, ikinci bölünmeden sonra hücrelerdeki DNA sayısı yarıya iner ve haploid (N) hücreler meydana gelir (Junqueira, 2006).

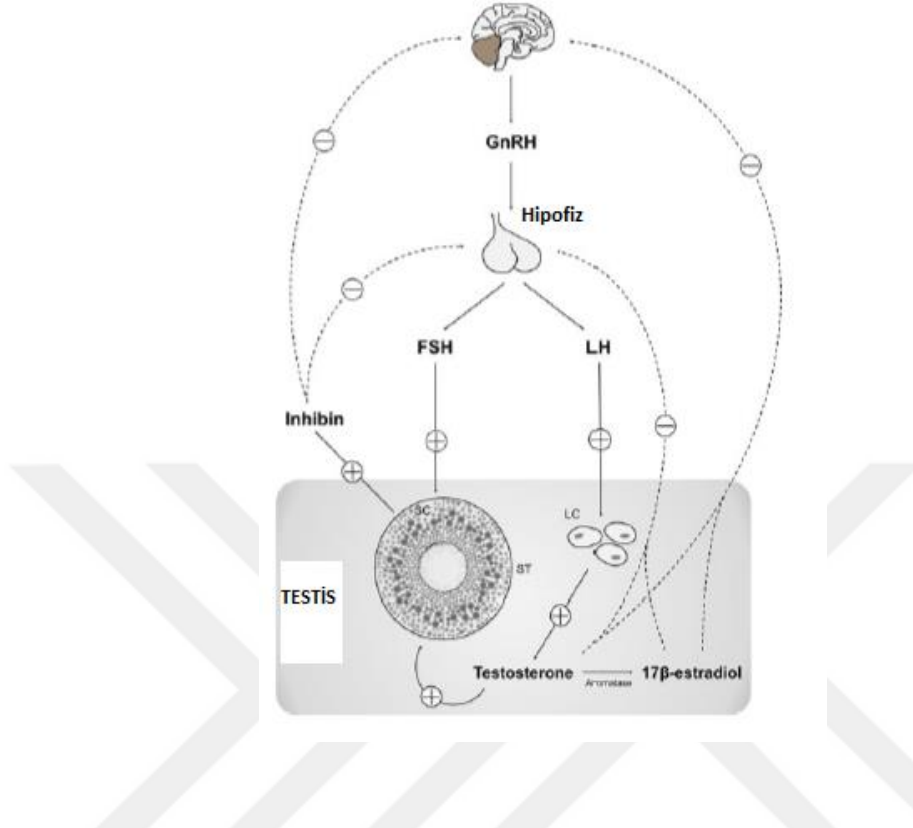
#### **2.1.4. Testis ve Üreme Sistemi Hormonları**

Cinsel işlevlerin kontrolü, hipotalamustan salınan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) salgısıyla başlar. GnRH, ön hipofiz bezini uyararak buradan başlıca iki gonodotropin olan luteinizan hormon (LH) ile folikül uyarıcı hormon (FSH) salgılatır. Testisin fonksiyonları ve spermatogenez, hipofiz bezinden salınan gonodotropinlerin kontrolü altındadır. Bu hormonlar büyümenin düzenlenmesinde, seksüel gelişimde ve üreme fonksiyonunda etkilidirler (M. Alves vd., 2013). Erkek fertilitesi ise hipotalamus, hipofiz bezi ve testisin etkileşim halinde dengede olmasına bağlıdır (M. G. Alves, L. Rato, vd., 2013).

LH, Leydig hücre fonksiyonunu kontrol ederek testislerden testosteron salgılanması için gereken başlıca uyaranken, FSH özellikle spermatogenezi düzenlemektedir. Bir endokrin hastalık olarak diyabet; endokrin sistemdeki hormonlardaki değişimlerle hipotalamo-hipofizer-testiküler aks hormonlarını etkileyerek, infertiliteye yol açabilmektedir (Ballester vd., 2004; Guyton vd., 2007).

Seminifer tübüller içinde sadece sertoli hücreleri Testosteron ve FSH için reseptörlere sahiptir. Bu özelliklerinden dolayı sertoli hücreleri spermatogenezi düzenleyen hormonal sinyaller için ana hedeflerdir.

Plazma testosteron miktarındaki bir artış, hipotalamusa giderek GnRH salınımını inhibe eder. GnRH seviyesinin düşmesi ise ön hipofizden salınan LH ve FSH üretiminde azalmaya sebep olur. LH seviyesindeki azalma Leydig hücrelerinden testosteron üretimini azaltmaktadır (Şekil 2.3) (Guyton vd., 2007). Diyabet hastalarında yapılan çalışmalarda FSH, LH, prolaktin ve büyüme hormonunun serum düzeylerinde azalmalar bildirilmiştir (Ballester vd., 2004).



**Şekil 2.3:** Spermatogenezin hormonal kontrolü (M. G. Alves, L. Rato, vd., 2013).

#### 2.1.4.1. Testosteron

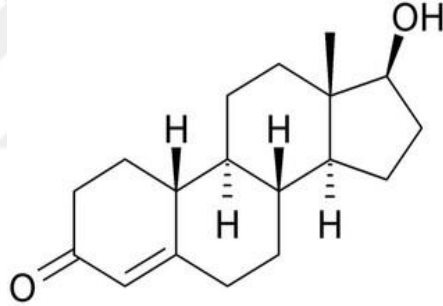
Testisler testosteron, dihidrotestosteron, androstenedion gibi, androjen adıyla tanımlanan steroid yapıda çeşitli erkek seks hormonlarını salgılar. Androjenler, testislerde ve adrenal bezlerde kolesterolden veya doğrudan asetil koenzim A'dan sentezlenirler. Testosteron bunlar içinde en çok bilinenidir ve 8. haftada interstisyel hücreler tarafından salgılanmaya başlar (Hassa, 2003; Moore & TVN, 2002). Erkek fetüsün erken farklılaşmasında aktif olan leydig hücreleri, fetal hayatın 5. ayından sonra inaktif bir döneme girer. Pubertede gonadotropik stimülasyonla birlikte leydig hücreleri tekrar androjen salgılamaya başlarlar ve hayat boyunca aktif kalırlar (Guyton vd., 2007; M. H. Ross & Pawlina, 2006). Testosteronun vücuttaki en önemli etkisi, sekonder cinsiyet karakterlerinin oluşması ve bunların devam ettirilmesidir.

Testosteron, 19 karbon atomu içeren ve bir steroid olan androstenedion türevidir (Şekil 2.4). Salgilandıktan sonra yaklaşık %97'si zayıf bağlarla plazma albumini ya da daha sıkı bir şekilde, seks hormonu bağlayan globülinle (SHBG) bağlanırlar. Bağlı hormonun dolaşım sisteminde kalma süresi 1 saat

veya daha uzun olabilir. Bu süre sonunda testosteron dokulara ulaşır ya da inaktif ürünlere dönüşerek vücuttan atılır.

Dokulara ulaşan testosteronun çoğu, 5 $\alpha$ -redüktaz enzimiyle hücrelerin içinde dihidrotestosterona (DHT) dönüştürülerek etkin hale gelir. Geri kalansa karaciğerde başlıca androsteron ve dehidroepiandrosterona dönüşür (Guyton vd., 2007). Her iki yapıda glukuronid veya sülfatlarla birleşerek bağlı hale getirilir. Bunlarda idrarla böbreklerden ve ya safra içinde sindirim kanalından ya da atılırlar.

Testosteron sentezi, hipotalamustan salgılanan GnRH ve ön hipofiz bezinden salgılanan LH hormonu tarafından kontrol edilmektedir. LH, Leydig hücrelerini stimüle ederek testosteron üretimini arttırabilmektedir. Salınan testosteron seminifer tübüllere etki ederek, sertoli hücrelerini uyarır. Testosteron bu şekilde spermatogenezi stimüle etmektedir. Testosteron üretimi ise insan koryonik gonodotropik hormonu (hCG) tarafından stimüle edilmektedir (Guyton vd., 2007).



**Şekil 2.4:** Testosteronun kimyasal yapısı.

#### 2.1.4.2. Luteinizan Hormon (LH)

İnterstisyel hücrelerden testosteron salgılanması ön hipofiz bezinden salgılanan LH'nın uyarısıyla gerçekleşmektedir. LH uyarısıyla salgılanan testosteron salgısı fazla olduğu zaman, negatif geri bildirim etkisiyle hipotalamus ve hipofiz bezinin salgısı azaltılır ve testosteron sekresyonu baskılanarak hormon düzeyi normal hale getirilir (Ballester vd., 2004) (Guyton vd., 2007). LH, Leydig hücre reseptörlerine bağlanarak cAMP oluşumunu ve dolayısıyla protein kinazların etkinliğini artırır. cAMP, Leydig hücrelerinden kolesterol sentezini uyarmaktadır.



### 2.1.4.3. Folikül Uyarıcı Hormon (FSH)

FSH, seminifer tübüllerde bulunan FSH reseptörleriyle sertoli hücrelerine bağlanarak hücrelerin büyümesini ve çeşitli spermatogenik maddelerin salgılanmasını sağlar. Leydig hücrelerinden tübüller içine difüze olan testosteron hormonu ise aynı zamanda spermatogenez üzerinde trofik bir etki gösterir. Bu yüzden spermatogenezin başlaması için her iki hormonun varlığına ihtiyaç vardır (Guyton vd., 2007).

FSH spermatogenezin başlaması ve spermatozoanın olgunlaşması için gereklidir. Seminifer tübüller sperm yapımını azalttığına, ön hipofiz bezinden FSH salgısı belirgin olarak artmaktayken, spermatogenezin hızlandığı durumda FSH salgısı azalmaktadır. Bunun sebebi, sertoli hücrelerinden salgılanan İnhibin adı verilen başka bir hormondur (Guyton vd., 2007).

FSH, aynı zamanda spermatogoniadaki deoksiribonükleik asit (DNA) sentezinin stimülasyonunda anahtar rol oynamaktadır (Babu, Sadhnani, Swarna, Padmavathi, & Reddy, 2004).

Kandaki LH, FSH ve GnRH düzeyleri, androjenlerin geri bildirimleri ile düzenlenirler. GnRH ayrıca, LH ve FSH'ın negatif geri bildirimleriyle de kontrol edilir ve erkeklerde bu geri bildirim çevrimleri, hormonları oldukça kararlı bir düzeyde tutmaktadır. Hipofiz bezindeki herhangi bir bozulmanın FSH ve LH eksikliğinde testiküler fonksiyonda aksamaya yol açarak infertiliteye sebep olduğu bilinmektedir.

## 2.2. Glukoz Metabolizması

Heksozların hücre içine alımları molekül ağırlıkları ve polariteleri nedeniyle çok yavaş ve verimsiz bir şekilde gerçekleşmektedir. Bu yüzden hücreler glukozu almak için özelleşmiş taşıyıcılara ihtiyaç duymaktadırlar. İki farklı glukoz transport proteini tanımlanmıştır. Bunlar; Sodyum Bağlı Glukoz Taşıyıcıları (SGLTs) ve Kolaylaştırıcı Glukoz Taşıyıcılarıdır (GLUT). Her iki taşıyıcı türü de, 43 aileyi içeren Solute carrier gen dizisine (SLC) dahildir (SLC1-SLC43) (Bucci vd., 2011; Dias vd., 2014; Wood & Trayhurn, 2003). GLUT, SLC2 ailesine; SGLT ise SLC5 ailesine dahildir. Bu proteinler yaklaşık 500 amino asitten oluşur ve 12 transmembran kapsayan alfa heliksine ve tek bir N-bağlı oligosakkarite sahip olduğu tahmin edilmektedir (Bucci vd., 2011).

SGLT'ler düzgün çalışmak için enerjiye ihtiyaç duyan aktif şeker taşıyıcılarıyken; GLUT' lar, şekeri enerji kullanımına ihtiyaç duymadan pasif olarak taşıyabilmektedirler. GLUT' lar glukoz taşıyıcı olarak adlandırılmalarına

rağmen aynı zamanda fruktoz, mannitol ve bunların dışında vitamin ve glukozamin gibi amino şekerleri de taşırlar. Aktif taşıma, spesifik olarak glukoz biriktirirken, pasif taşıma, tüm memeli hücrelerinde kan glukozunu ve hücre içi glukozu dengelemektedir (Kokk vd., 2003). Glukoz ve fruktoz plazma membranında kolaylaştırılmış difüzyon yoluyla memeli hücrelerine girer, bu süreç plazma membranındaki farklı glukoz taşıyıcı izoformlar tarafından düzenlenmektedir.

GLUT'lar ilk kez, kırmızı kan hücrelerinden GLUT1'in izole edilmesiyle çalışılmaya başlanmıştır (Bucci vd., 2011; Wood & Trayhurn, 2003). İnsanda şimdiye kadar, 14 tane GLUT izoformu (GLUT 1-14) eksprese edilmiştir (Bucci vd., 2011; Dias vd., 2014). Bunların farklı amino asit sekansları, substrat spesifiteleri, kinetik özellikleri ve doku ve hücrel lokalizasyonları vardır. Bunlardan GLUT2; glukoz ( $K_m \sim 17$  mmol/l) için benzersiz bir düşük afiniteye sahiptir ve aynı zamanda düşük afiniteli substratlar olarak mannoz, galaktoz ve fruktozu da kullanabilmektedir. Bununla birlikte, glukozamin için yüksek bir afiniteye ( $K_m \sim 0.8$  mmol/l) sahip olduğu bilinmektedir (Thorens, 2015).

GLUT2, özellikle karaciğer, pankreas, bağırsak ve böbrekte iyi bilinen kolaylaştırıcı bir glukoz taşıyıcısıdır. Düşük afinite ve yüksek kapasite nedeniyle hücre içinde ve dışında iki yönlü geniş glukoz akışı sağlar. Aynı zamanda, fruktoz ve galaktoz gibi diğer diyet şekerlerini fizyolojik konsantrasyonlar aralığında taşıdığı bilinmektedir (Leturque, Brot-Laroche, & Le Gall, 2009). GLUT2'nin karaciğer, bağırsak, böbrek ve pankreatik adacık beta hücrelerinde olduğu kadar merkezi sinir sisteminde nöronlarda, astrositlerde ve tanyositlerde de eksprese edildiği bilinmektedir (Angulo vd., 1998; Thorens, 2015).

Şekerin zar reseptörü olarak işlev gören GLUT2, glukoz metabolizmasından bağımsız olarak hücre dışı şeker varlığını tespit eder ve şeker ortamına göre  $\beta$ -hücre insülin sekresyonu, böbrek reabsorpsiyonu ve bağırsak absorpsiyonu da dahil olmak üzere hücre işlevlerini modüle etmek için bir sinyal transdüksiyonu yaptığı bilinmektedir (Leturque vd., 2009).

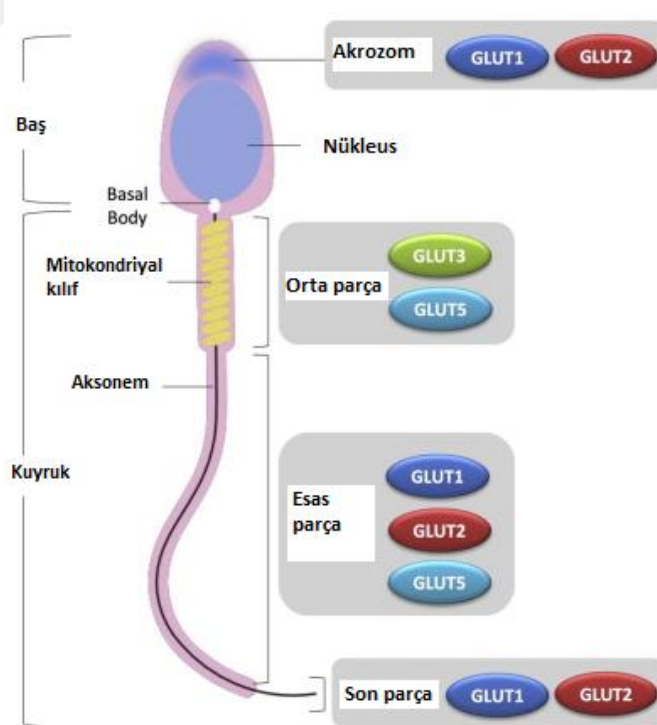
Yapılan çalışmalarda, GLUT2'nin çeşitli mekanizmalarda düzenleyici bir rolü olduğu ortaya konulmuştur. Pankreas beta hücrelerinde GLUT2, glukoz uyarımlı insülin sekresyonu için gerekli olduğu gösterilmiştir (Thorens, 2015).

GLUT2'nin bilinen fonksiyonu sadece plazma membranlarında glukozun pasif taşınmasını katalize etmek olmasına rağmen, knock-out fareler üzerinde yapılan çalışmalar, bu taşıma aktivitesinin, gen ekspresyonunu etkileyen hücrel mekanizmaların kontrolü, hücre içi metabolik yolların düzenlenmesi için önem taşıdığı, hormonal ve nöronal sinyallerin indüksiyonuyla birlikte glukoz homeostazını kontrol etmek için entegre bir organlar arası iletişim sisteminin temelini oluşturduğu gösterilmiştir (Thorens, 2015).

Testis dokuları ve çeşitli türlerin spermelerindeki GLUT ve SGLT ekspresyonlarını tanımlamak ve karakterize etmek için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. GLUT5, insan testisinde ve spermde bulunan ilk glukoz taşıyıcısıdır. Daha sonra, GLUT1 ve GLUT2'nin insan spermatozoasının akrozomal bölgesinde ve aynı zamanda baş ve kuyruk parçalarında da mevcut olduğu bildirilmiştir (Şekil 2.5) (Bucci, 2010; Bucci vd., 2011; Dias vd., 2014). Genel olarak, veriler insan spermatozoasının GLUT1, GLUT2, GLUT3 ve GLUT5'i eksprese ettiğini göstermektedir (Angulo vd., 1998).

Yapılan çalışmalarda insan testisinin, GLUT2'yi eksprese ettiği gösterilmiştir. Bunun yanı sıra insan sperm hücre membranında, GLUT1, GLUT2, GLUT3 ve GLUT5 proteinlerin varlığı ortaya konulmuştur (Angulo vd., 1998).

Sıçan testis dokusunda, sertoli hücrelerinde, peritübüler myoid hücrelerde, spermatozoidlerde, spermatidlerde, testiküler endotel hücrelerinde ve makrofaj benzeri interstisyel hücrelerde sıçan testislerinde GLUT2 için pozitif immün reaksiyon tespit edilirken leydig hücrelerinde gözlenmemiştir (Kokk vd., 2003).



**Şekil 2.5:** İnsan sperm hüresinin şematik temsili ve spermatozonun farklı kısımlarında, GLUT1, GLUT2, GLUT4 ve GLUT5 izoformlarının lokalizasyonu (Dias vd., 2014).

### **2.2.1. Sperm Hücrelerinde Glukozun Alımı ve Metabolizması**

Spermatogenezin devamlılığı, sıkı bir hormonal kontrol altında olan çeşitli testis hücreleri arasındaki işbirliğine bağlıdır. Spermatogenezle birlikte ortaya çıkan olgun sperm hücreleri spesifik metabolik ihtiyaçları için ana substrat olarak glukoz, fruktoz gibi heksozları kullanırlar. Primer ve sekonder spermatozoidler ve spermatidler kan-testis bariyerinin içinde bulunur, ancak spermatogonia bariyerin dışındadır. Bu nedenle, spermatogonia, enerji kaynağı olarak kandaki glukozu kullanabilmektedir. Kan testis bariyeri içinde bulunan germ hücreleri, glukozu metabolize etme yeteneğine sahip olmayıp enerji üretmek için laktatı kolayca kullanabilirler ve yüksek oranda laktat üretebilen somatik sertoli hücreleriyle metabolik işbirliği yapmaktadır. Bu işbirliği germ hücrelerinin hayatta kalmaları ve farklılaşmaları için kritik bir önem taşımaktadır (Boussouar & Benahmed, 2004; Dias vd., 2014).

Sertoli hücreleri tarafından yapılan laktat üretimi ağırlıklı olarak FSH, insülin ve insülin benzeri büyüme faktörü I (IGF-1) gibi endokrin sistemin kontrolünde olup glukozun piruvat ve laktata dönüşmesini kolaylaştırdığı gösterilmiştir (Boussouar & Benahmed, 2004).

Glukoz, *in vivo* olarak spermatogenezin korunması için gereklidir. Sperm yüksek bir glikolitik kapasiteye sahiptir ve glukozu etkili bir şekilde kullanabilir. Ayrıca, sperm hiperaktivasyonu ve kapasitasyonu oldukça glukoz bağımlıdır (Control & Group, 1993). Bu da şekerin genel erkek üreme fonksiyonundaki düzenleyici rolünün önemini göstermektedir (Boussouar & Benahmed, 2004). Bundan dolayı sperm hücrelerinde, ATP üretimiyle ilgili herhangi bir değişikliğin sperm kalitesinde anormalliklere sebep olmasından dolayı fertilitede problemlerin meydana gelmesi beklenir (Dias vd., 2014).

Sperm hücreleri tarafından enerji alımıyla ilgili ilk çalışma 1975 yılında Peterson ve Freund tarafından, spermilerin kendi bulunduğu ortamdan enerji substratını alıp almadıklarının araştırılmasına yönelik yapılmıştır. Devamında yapılan çalışmalar, daha çok sperm hücresindeki ya da gamet öncü hücrelerindeki şeker taşıyıcılarının varlığını ve işlevini açıklığa kavuşturmak için gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar, sperm hücreleri tarafından şeker alım kabiliyetinin değerlendirilmesinde ve metabolik yollardaki şeker transportunun ve kullanımının seçiciliğini anlamak için çok önemlidir (Bucci, 2010).

Sperm kapasitasyonu ile ilişkili çeşitli metabolik değişiklikler, oksidatif stresi indükleyebilmekte ve sonrasında sperm fonksiyonunda azalmaya sebep olabilmektedir (Dias vd., 2014).

Sperm hücresinin fertilizasyon potansiyeli, tirozin fosforilasyon, hiperaktif motilite, kalsiyum hareketleri ve akrozom reaksiyonu gibi bazı önemli değişiklikleri içerir. Bu nedenle glukozun alınması ve metabolizması erkek fertilitésinin korunmasında önemli bir role sahiptir, glukoz sadece

spermatogenezin in vivo devamlılığının sürdürülmesi için değil, aynı zamanda sperm hücreleri tarafından doğurganlık kapasitesinin elde edilmesi için de çok önemlidir.

### **2.3. Diabetes Mellitus**

Diyabet, insülin eksikliği ve/veya insülin direnci sonucunda kanda glukoz seviyesinin yükselmesine bağlı gelişen, kronik ve akut komplikasyonlara neden olabilen endokrin bir hastalıktır (Jangir & Jain, 2014). IDF raporuna göre, 2013 yılı itibariyle tüm dünyada diyabetli hasta sayısı 382 milyonken 2035 yılında bu sayının %55 oranında artarak 592 milyona ulaşacağı öngörülmektedir (Aguiree vd., 2013). Bu artışın nedenleri olarak yaşlanma, sağlıksız beslenme, nüfus artışı ve kentleşmenin getirdiği yaşam tarzı değişikliği sonucunda fiziksel inaktivitenin ve obezitenin artması olduğu düşünülmektedir. Yine IDF raporuna göre, 2013 yılında tüm dünyada yaklaşık 5.1 milyon insanın diyabet ve diyabetin neden olduğu komplikasyonlar nedeniyle hayatını kaybettiği bildirilmiştir (Aguiree vd., 2013). Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) 2015 yılı raporuna göreyse, diyabet dünyada ölüm nedenleri arasında 8. sırada yer almaktadır (Organization, 2015).

Diyabet; karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmalarında bozukluklara sebep olmaktadır. Hastalığın en önemli bulgusu olan hiperglisemi kontrol altına alınmazsa, zamanla diyabetin neden olduğu otonom ve periferik nöropati, nefropati ve retinopati gibi komplikasyonlar gelişebilmektedir (Jangir & Jain, 2014; Vincent, Russell, Low, & Feldman, 2004). Yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda, Tip 1 ve tip 2 diyabette metabolik kontrolün yeterince sağlanması durumunda bu komplikasyonların önlenilebileceği veya geciktirilebileceği gösterilmiştir (Control & Group, 1993; Group, 1995; Health, 2015).

Diyabet; tip 1 diyabet, tip 2 diyabet, gebelikte ortaya çıkan Gebelik diyabeti (gestasyonel diyabet) ve bazı genetik defektler veya ekzokrin pankreas hastalıklarının sebep olduğu Spesifik nedenlere bağlı diyabet olmak üzere başlıca 4 gruba ayrılır (Health, 2015). Diyabetli hastaların çoğunluğunu ise tip 1 ve tip 2 diyabetli bireylerin oluşturduğu bilinmektedir (Association, 2014).

### **2.3.1. Tip 1 Diyabet**

Tip1 diyabet, insüline bağımlı diyabet ya da 'juvenil diyabet' olarak da adlandırılmaktadır. Çoğunlukla pankreas  $\beta$  hücrelerinin otoimmün hasarına bağlı olarak insülin eksikliği görülmektedir. Tip 1 Diabetes Mellitus'lu (T1DM) hastaların bir kısmında viral enfeksiyonlar ya da otoimmün bozukluklar pankreas  $\beta$  hücrelerinde hasar oluşturabildiği gibi kalıtımda bu hücrelerin hasara karşı yatkınlıklarını belirlemektedir (Aguiree vd., 2013; Guyton vd., 2007).

Tip 1 diyabeti olan hastaların %90'ında otoimmün (Tip 1A)  $\beta$  hücre yıkımı görülür. Genetik yatkınlığı olan kişilerde çevresel faktörlerinde (virüsler, toksinler) etkisiyle otoimmünite tetiklenir ve ilerleyici  $\beta$  hücre hasarı başlar. Geri kalan %10'unda ise otoimmünite dışındaki bazı nedenlerden kaynaklı non-otoimmün (Tip 1B)  $\beta$  hücre yıkımı söz konusudur ve kanda adacık otoantikorları bulunmaz.

Tip 1 diyabet, erken yaşta başlar ve belirtileri hızla ciddileşmektedir. Pankreas  $\beta$  hücrelerinin otoimmün harabiyetinden ve buna bağlı olarak yeterince insülin üretememelerinden kaynaklandığı için insülin enjeksiyonlarına yanıt vermektedir. İnsülin tedavisi ve dengeli beslenmeyle insülin dozu dengesinin hayat boyu korunması gerekir (Health, 2015). Diyabet hastalarının %10 civarı Tip 1 diyabetlidir ve günümüzde Tip 1 diyabetli birey sayısının gittikçe arttığı bilinmektedir (Association, 2014). Yaklaşık 497.100 çocuğun Tip 1 diyabet ile yaşadığı ve her yıl 15 yaş altı 79.100 çocukta geliştiği tahmin edilmektedir. Günümüzde Tip 1 diyabet açısından hastalığın gelişmesi veya ilerlemesini önleyecek yeterince güvenilir bir korunma ve/veya tedavi yöntemi bulunmamaktadır (Aguiree vd., 2013; Association, 2014; Health, 2015). Yapılan birçok klinik çalışmada ve hayvan deneylerinde erkek üreme potansiyelinde DM'ye bağlı değişikliklerden sorumlu moleküler mekanizmalar üzerine odaklanılmıştır. Bu çalışmalar ise özellikle; endokrin bozukluklar, nöropati ve artmış oksidatif stresi içermektedir (Vignera vd., 2012).

## **2.4. İnsülin ve Metabolik Etkileri**

İnsülin, pankreas beta hücrelerinden sentezlenen, birbirine disülfid köprüleriyle bağlanmış iki aminoasit zincirinden oluşan ve molekül ağırlığı 5808 dalton olan küçük bir proteindir. İnsülin ilk olarak 1922 yılında Banting ve Best tarafından izole edilmiştir (Guyton vd., 2007).

İnsülin, karbonhidrat metabolizması üzerinde önemli bir etki göstermektedir. Karbonhidrat içerikli bir besinin alınmasından sonra kana geçen glukoz, pankreastan hızla insülin salınmasına neden olur. İnsülin,

glukozun özellikle karaciğer, kas ve yağ dokusu tarafından hızla yakalanması, depolanması ve kullanılmasını sağlar. Kan-glukoz seviyesi düşmeye başladığında, insülin salgılanması azalır. Karaciğer glikojeninin parçalanması sonucu serbest kalan glukoz, kan-glukoz konsantrasyonunun düşmesini engellemek için kana geri bırakılır. Uzun süreli diyabeti olan hastalarda protein sentez yeteneğindeki azalma, dokuların tükenmesine ve birçok hücrel işlev bozukluklarına yol açmaktadır. Ayrıca diyabetli hastalardaki ölümlerin nedeni olan asidoz ve ateyoskleroz gibi tabloların ortaya çıkması yağ metabolizmasındaki bozukluklara bağlıdır. Dolayısıyla insülin karbonhidrat metabolizmasının yanı sıra yağ ve protein metabolizmasını da etkilemektedir (Guyton vd., 2007). İnsülin kana salındığında dolaşımda neredeyse tümüyle serbest halde bulunmaktadır ve plazmadaki ortalama yarı ömrü 6 dakika olduğundan 10-15 dakika içinde plazmadan temizlenir. İnsülinin hedef hücredeki etkilerinin başlayabilmesi için önce zar reseptörüne bağlanması gerekir ve bundan sonraki süreci aktive olmuş bu reseptör oluşturur (Guyton vd., 2007).

## **2.5.**

## **2.6. Diyabet ve Oksidatif Stres**

Diyabet, metabolik bir bozukluk olduğu gibi aynı zamanda artmış bir oksidatif stres durumudur. Diyabette görülen hiperglisemi durumunda, oksidatif stresin arttığı, antioksidanların ise azaldığı bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda diyabetin neden olduğu komplikasyonların gelişmesinde en önemli etken olarak oksidatif stres gösterilmektedir (Vural, Sabuncu, Arslan, & Aksoy, 2001).

Diyabette artan serbest radikaller lipid, protein ve nükleik asitlerle etkileşerek hücrelerde membran bütünlüğünün kaybolmasına, proteinlerde yapısal değişikliklere ve genetik mutasyonlara yol açmaktadır (MEMİŞOĞULLARI, 2005). Yapılan çalışmalarda serbest oksijen radikallerinin (ROS) ve lipid peroksidasyonunun kardiyolojik hastalıklar, nörolojik hastalıklar, diyabet, astım, romatolojik hastalıklar gibi birçok hastalığın patogeneğinde rol oynadığı gösterilmiştir (Altan, Dincel, & Koca, 2006). Diyabetin neden olduğu nonenzimatik glikasyon, dokulardaki oksijen miktarının azalması, metabolik stres ve iskemi-reperfüzyon sonucu oluşan doku hasarının vücuttaki antioksidan savunma sistemini azalttığı ve serbest radikal üretimini arttırdığı bilinmektedir (Guyton vd., 2007; Jangir & Jain, 2014).

Diyabetle ilgili yapılan bazı çalışmalar diyabetin neden olduğu komplikasyonlarla artmış lipid peroksidasyonu arasındaki ilişki üzerinde

durulmuştur. Bu çalışmalardan bazıları, diyabetik gruplardaki plazma ve dokudaki lipid peroksidasyon ürünlerini kontrol gruplarıyla karşılaştırdıklarında belirgin bir artış gördüklerini bildirmişlerdir. Diğer taraftan diyabetli hastalarda antioksidan kapasitenin azaldığı bildirilmiştir. Bu sebeple lipid peroksidasyonunun kontrolü önemlidir ve bu bulgular, diyabetik hastaların tedavisine yeni yaklaşımlar getirebilmektedir.

Diyabette antioksidan tedavisinin glisemik indeksi yükselttiği, diyabetik komplikasyonları azalttığı ve serbest radikalle uyarılmış oksidatif strese karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir. Ayrıca oksidatif stresin, erkek üreme disfonksiyon ve anomalileriyle ilgili diyabetin patofizyolojisinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (Jangir & Jain, 2014). Yapılan çalışmalarda, hastaların antioksidan sistemlerinin desteklenmesi önerilmiştir (MEMİŞOĞULLARI, 2005).

## **2.7. Diabetes Mellitus ve Erkek İnfertilitesi**

İnfertilite, popülasyonda %15 oranında görülen ve 1 yıl boyunca korunmasız ve düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebeliğin oluşmaması durumu olarak tanımlanır (Dias vd., 2014; Hassa, 2003). Üreme işlevinin eksiksiz ve sorunsuz olarak gerçekleşebilmesi için kadının ve erkeğin hormonal, fizyolojik ve anatomik sistemlerin birbiriyle uyumlu çalışması gerekmektedir. Ters bir durumda üreme işlevlerinde bozulmalar meydana gelmekte ve sonuç olarak da infertilite ortaya çıkmaktadır. Erkeğin infertilitedeki etkisi; % 30 olguda tek başına, % 20 olguda kadın faktörüyle birlikte olmak üzere %50 oranındadır (Hassa, 2003).

Erkek infertilitesi çeşitli nedenlere bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. İnfertilitenin başlıca sebepleri olarak hormonal bozukluklar, geçirilen enfeksiyonlar, diyabet, böbrek yetmezliği gibi metabolik hastalıklar gösterilmektedir. İnmemiş testis gibi patolojiler de çevresel etkenlerden bağımsız olarak infertiliteye sebep olmaktadır. Son dönemde erkek infertilitesinin görülme sıklığını artıran diğer nedenler arasında kötü beslenme, artmış çevre kirliliği, çeşitli kimyasal maddelere maruz kalma, radyasyon, sigara tüketimi, alkol ve bağımlılık yapıcı maddelerin kullanımı gibi çevresel sebepler de yer almaktadır.

Yapılan birçok klinik ve deneysel çalışmada, DM'nin, testiste dejeneratif ve apoptotik değişikliklere neden olarak spermatogenezde bozulmaya, bozulmuş sperm kalitesine, yüksek oranda nükleer DNA hasarlı spermatozoalara, kan testis bariyerinde değişmiş glukoz metabolizmasına, testosteron sentez ve salgısında azalma ve libidoyu azaltarak erkek infertilitesine sebep olduğu bildirilmiştir. Bu değişimlere DM'ye bağlı oksidatif



stres ve hormonal değişikliklerin neden olduğu düşünölmektedir (Aitken & Roman, 2008; M. Alves vd., 2013; Khaki vd., 2009; Sexton & Jarow, 1997; Singh, Devi, & Pankaj, 2016).

Sperm metabolizması ve DM, oksidatif stres ile yakından ilişkilidir. Diyabetik hastalarda genellikle yüksek seviyede oksidatif stres ve dolayısıyla aşırı ROS üretiminin yanı sıra antioksidan savunma düzeylerinde azalma görölmektedir. Bu koşullar erkeklerin üreme potansiyeli için oldukça tehlikelidir çünkü diyabetik bireylerin fertilizasyon kapasitesi, hipergliseminin neden olduğu yüksek oksidatif stres seviyelerinden kaynaklanan spermde artan DNA hasarı yüzünden tehlike altındadır. Spermdeki ROS üretimi çoğunlukla mitokondriyal kompleks I ve kompleks III' te bu organelden gelen elektron kaçaklarını içermektedir (Dias vd., 2014).

Testiste damarlanmanın zayıf olması nedeniyle burada oksijen miktarı düşüktür. Bu düşük oksijen seviyesi testiste serbest radikal hasarından kendini koruyabilmesini sağlayan mekanizma parçalarından biridir. Fakat her ne kadar testiste düşük oksijen miktarı olsa da, doymamış yağ asitleri ve ROS oluşturan sistemlerin varlığı nedeniyle, testis oksidatif stres bakımından oldukça hassastır. Oksidatif stresin sonucu olarak testiste hem spermatogenez hem de Leydig hücre steroidogenezi hasar görebilmektedir (Aitken & Roman, 2008; Peltola, Huhtaniemi, & Ahotupa, 1992). Spermatogenez, testiste aktif olarak tekrarlanarak saniyede yaklaşık 1000 sperm üretilir. Bu süreçte hücre bölünmesi sırasında germinal epitel tarafından yüksek miktarda mitokondriyal oksijen tüketimi gerçekleşir (Aitken & Roman, 2008).

DM' de glukoz homeostazisinin başarısız olması, özellikle seks hormonları üzerinde değişikliklere sebep olmaktadır (Singh vd., 2016). DM'nin neden olduğu bu hormonal değişiklikler, testis ve sperm hücrelerinin glukoz algılama mekanizmalarını etkileyerek diyabetik hastaların plazmasında tanımlanan luteinizan hormon (LH) ve folikül uyarıcı hormon (FSH) düzeylerini azaltmaktadır (Dias vd., 2014). Ayrıca hipotalamohipofizeal aksta cinsel steroidlerle anormal geribildirimlerde bulunmasına ve hipofiz duyarlılığının azalmasına sebep olmaktadır. Bu değişiklikler, özellikle testiküler işlevselliği, spermatogenezi, spermiyogenezi ve sperm metabolizmasını etkilemektedir (Ballester vd., 2004). Glukoz homeostazı, *in-vivo* spermatogenezin ve spermlerin fertilite kapasitesinin korunması için çok önemlidir (Dias vd., 2014). Testiküler fonksiyonda DM tarafından uyarılan bu komplikasyonlar, glukoz homeostazından sorumlu lider hormon olan insülinin eksikliğiyle ilişkilendirilmiştir. Beyindeki insülin sinyali üreme fonksiyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (Brüning vd., 2000). İnsülinin, hipotalamik GnRH nöronal hücre dizisinde GnRH sekresyonunu arttırdığı ve hipofiz hücre kültürlerinden gonadotropin salgılanmasını ve kültüre edilmiş leydig hücrelerinden testosteron salınımını uyardığı gösterilmiştir (Pitteloud

vd., 2005). Yapılan deneysel çalışmalarda, düşük plazma insülin seviyesinin, plazma LH seviyesini düşürdüğü bilinmektedir (Pitteloud vd., 2005).

Fertiliteyle ilgili yapılan çalışmalar, DM' nin görülme sıklığındaki artışın fertilitede azalmayla yakından ilişkili olduğunu göstermektedir (Dias vd., 2014; Jangir & Jain, 2014). Yapılan son çalışmalar, tip 1 ve tip 2 diyabete sahip genç hasta sayısında devam eden bir artış olduğunu göstermektedir. Bu artışın aktif üreme çağındaki birçok diyabetli erkeği etkiliyor olması, yakın gelecekte DM' ye bağlı fertilitate problemlerinin artacağına göstergesi olarak düşünülebilir. Ayrıca DM ile ilişkili hormonal ve metabolik değişikliklerin de erkek infertilitesinin gelişmesinde anahtar rol oynadığı bilinmektedir. Glukoz homeostazisi, spermatogenezin devamında ve spermin fertilizasyon kapasitesinin korunmasında kritik bir önem taşıdığından DM'nin testiste meydana getirdiği komplikasyonlar, glukoz homeostazisinde önde gelen hormon olan insülin yokluğuyla ilgili olduğunu düşündürmektedir (Dias vd., 2014).

## **2.8. Deneysel Diyabet Modelleri**

Günümüzde çeşitli hastalıklara tanı konulması, patogenezlerinin aydınlatılması, hastalıklardan korunma ve uygun tedavi yöntemlerinin incelenebilmesi için deneysel hayvan modellerinin kullanımı oldukça yaygındır. Tanımlanmış birçok diyabet modeli bulunmakla beraber, bu modeller insan diyabetiyle eşdeğer tutulmamaktadır.

Diyabetle ilgili çalışmalarda, ilk olarak 1880' lerde Von Mering tarafından, yağların bağırsaktan absorpsiyonu araştırılarak hiperglisemi oluşum mekanizmasına ışık tutmuştur. 1920 yılında Marjorie' nin bir köpek pankreas dokusundan insülini izole etmesi, hayvan deneyleri tarihinde önemli bir yer almıştır. Banting ve Best 1921 yılında insülinin pankreasın Langerhans adacıklarından salgılandığını bulmuşlardır ve hiperglisemi çalışmalarında, cerrahi dışı yöntemlerle pankreasın harap edilmesine ve beta hücre spesifik toksinler kullanılmaya başlamıştır (Vignera vd., 2012). Kimyasal ajanların kullanılmasıyla oluşturulan deneysel diyabet modellerinde Alloksan, Streptozotosin (STZ), çinko şelatörleri (8-hidroksikinolin, dithizone), diyet nitrozaminleri gibi diyabetojenik etkisi bulunan toksinler kullanılmıştır (Sexton & Jarow, 1997). Günümüzde yaygın olarak kullanılan toksinler STZ ve Alloksandır (Kurçer & Karaoğlu, 2012) STZ ve Alloksan pankreatik  $\beta$  hücrelerine karşı spesifik toksisite göstererek  $\beta$  hücrelerinde deformasyona neden olmaktadır.

### 2.8.1. Streptozotosin (STZ)

Laboratuvar hayvanlarında deneysel diyabet modeli, yaygın olarak pankreatik  $\beta$  hücrelerine karşı spesifik toksisite gösteren STZ ile oluşturulmaktadır.

Kimyasal adı 2-Deoksi-2-(3-Metil-3-Nitrozoüredio)-D-Glikopiranoz olan STZ, *streptomyces achromogenes* tarafından sentezlenen, neoplastik, antineoplastik ve diyabetojenik özellikleri olan geniş spektrumlu bir antibiyotiktir (Şekil 2.6). STZ' nin pankreas  $\beta$  hücrelerinde yarattığı hasar sonucu gelişen hipoinsülinemi, hiperglisemi ve insülin bağımlı tip 1 ve insülin bağımlı olmayan tip 2 diyabet modellerini oluşturmak için sıklıkla kullanılmaktadır (Kanter, Uysal, Karaca, & Sagmanligil, 2006; Szkudelski, 2001).



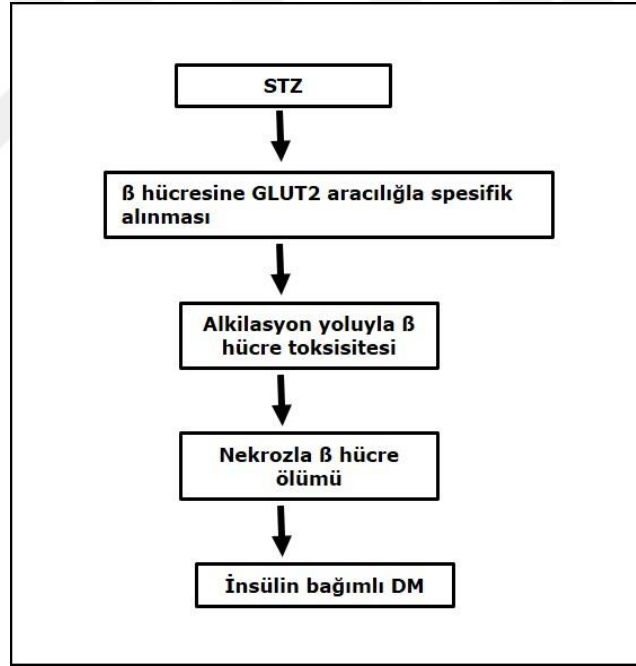
Şekil 2.6 : Streptozotosin'in kimyasal yapısı (Lenzen, 2008).

#### 2.8.1.1. STZ'nin etki mekanizması

STZ, yapısında bir glukoz molekülü içerir ve pankreas  $\beta$  hücrelerine GLUT2 aracılığıyla alınarak burada birikir (Şekil 2.7) (Lenzen, 2008; Schnedl, Ferber, Johnson, & Newgard, 1994). Böylece glukoz taşıyıcıları ile etkileşmeyen hücreler STZ' ye karşı dirençli kalmış olurlar (Vignera vd., 2012).

STZ' nin ilk etkisi, pankreatik  $\beta$  hücrelerinin glukozu yanıtını ortadan kaldırmaktır (İrer & Alper). Bu olayı kalıcı  $\beta$  hücre hasarı ve kaybı izler. Sıçanlara STZ verildikten yaklaşık 2 saat sonra kan glukoz düzeylerinde ani bir artış ve 6 saat sonrasında kandaki insülin düzeyindeki yükselmeye bağlı olarak

hipoglisemi gözleendiği bilinmektedir. İnsülin düzeyindeki azalmayla gelişen hiperglisemiyle STZ'nin diyabetik etkileri kendini göstermeye başlar (West, Simon, & Morrison, 1996). STZ' nin asıl hedefinin  $\beta$  hücresinin DNA'sı olduğu düşünülmektedir. STZ' nin hücre içinde nitrozüre gruplarının dekompozisyonu sonucu meydana gelen reaktif karbonyum iyonları, DNA bazlarında alkilasyona sebep olmaktadır. Bunu DNA tamiri izler ve tamir sırasında görev alan poli (ADP-riboz) polimeraz (PARP) hücre içindeki nikotinamid adenin dinükleotidi (NAD) kullanarak NAD depolarını boşaltır ve ATP içeriğini azaltır. Böylece hücresel enerji depolarının tüketimi beta hücresinde nekroza yol açar (Lenzen, 2008; Murata, Takahashi, Saito, & Kawanishi, 1999). STZ oksidan özellik gösteren bir kimyasal olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. STZ uygulandıktan sonra, ksantin oksidaz sisteminin aktive olduğu ve buna bağlı hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerinin üretildiği bildirilmektedir. STZ' nin glukoz oksidasyonunu, insülinin biyosentezini ve sekresyonunu azalttığı da bildirilmektedir (Kurçer & Karaoğlu, 2012).



**Şekil 2.7:** STZ'nin toksik etkilerinin şematik gösterimi (Lenzen, 2008).

#### 2.8.1.2. STZ'nin Kullanım Şekli ve Doz

STZ dokulara karşı irritan olduğundan uygulanımı sırasında damar dışına sızdırılmamalıdır. Uygulanmadan önce taze olarak hazırlanıp pH' sı 4,5 olan sitrat tampon içinde çözülerek hemen kullanılmalıdır (İrer & Alper). Sıçanlarda

tek doz 50-100 mg/kg dozunda i.v. veya i.p. olarak uygulanabilmektedir. Tablo 2.1' de farklı hayvan türlerinde uygulanan STZ dozları verilmiştir.

**Tablo 2.1.** STZ doz aralıkları (Kurçer & Karaoğlu, 2012).

<b>TÜR</b>	<b>STZ DOZ ARALIĞI</b>
<b>Sıçan</b>	40-80 mg/kg-i.v. 35**-150 mg/kg- i.p. 60-100 mg/kg- s.c.
<b>Fare</b>	60-200 mg/kg *** i.v. 50-180 mg/kg-i.p.
<b>Tavşan</b>	Direnç gösterir
<b>Köpek</b>	20-30 mg/kg i.v.
<b>i.v.</b> intravenöz; <b>i.p.</b> intraperitoneal; <b>s.c.</b> , subkutan; <b>i.m.</b> intramusküler * Tekrarlayan dozlarda kullanım şeklinde uygulanmaktadır. ** Yüksek yağlı diyetle birlikte uygulanmaktadır. *** Nikotinamid (NAD) tedavisiyle birlikte uygulanmaktadır.	

## 2.9. Oksidatif Stres ve Serbest Oksijen Radikalleri

Canlılar için hayati önem taşıyan oksijen, hücre içi gerekli olan enerji üretiminde kullanılır. Enerji üretiminin doğal bir yan ürünü olan serbest oksijen radikalleri önemli derecede zararlı maddelerdir (Kasprzak, 2002). Serbest radikallerin neden olduğu hastalıklara çözüm getirmek öncelikle serbest radikallerin olumsuz etkilerini azaltmak ve hastalıkların oluşumunu engellemekle gerçekleşebilir. İnsan vücudunda bunu engelleyebilecek antioksidan savunma sistemi mevcut olsa da karşılaşılan çevresel etmenler bu savunma direncini düşürebilmektedir. Organizma içinde serbest radikallerin oluşum hızıyla ortadan kaldırılma hızları arasında oksidatif bir denge vardır. Oksidatif denge sağlandığı sürece, organizma serbest radikallerden etkilenmez. Fakat bu radikallerin oluşum hızındaki bir artış ya da ortadan kaldırılma hızlarındaki düşüş bu dengenin bozulmasına sebep olarak oksidatif stres olarak adlandırılan durumun ortaya çıkmasına neden olur (Kuyvenhoven

& Meinders, 1999). Bu sebeple her hücre için intrinsik oksidasyon ve antioksidanlar arasındaki dengenin fizyolojik sınırlarda tutulması organ/dokular için önemlidir (Boots, Haenen, & Bast, 2008; Yılmaz, 2010). Oksidatif strese bağlı olarak proteinler, enzimler, karbonhidratlar, lipidler ve DNA zarar görebilmekte, membranlarda oluşan hasarın neticesinde DNA zincirinde rastgele kırılmalar ve bağlantılar meydana gelebilmektedir. Protein ve enzimlerin zarar görmesi hücrenin ölümüyle sonlanabileceği gibi kanser, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklarla diyabet ve otoimmün bozuklukların gelişiminde moleküler temeli oluşturmaktadır (Cemeli, Baumgartner, & Anderson, 2009; Yılmaz, 2010).

Serbest radikaller, hidroksil, süperoksit, lipit peroksit ve nitrik oksit gibi farklı kimyasal yapılara sahiptir ve en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir. Süperoksit gruplarının oluşturduğu singlet oksijen, hücre zarlarının yapısındaki doymamış yağ asitleriyle reaksiyona girerek çeşitli lipid peroksidasyon ürünlerini oluşturur. Lipid peroksidasyonunun en önemli ürünü malondialdehid (MDA)' dir. MDA, üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu ile meydana gelen bir çeşit aldehittir. Bu nedenle MDA miktarı dokulardaki lipid peroksidasyonunun derecesini yansıtmaktadır. MDA, serbest oksijen iyonunun azalmasına sebep olarak süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) oluşumuna neden olur. Bu ürünler de hücre ve dokularda hasara sebep olurlar. Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açarak iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz etkilere neden olur (Mercan, 2004).

Artmış oksidatif stresin neden olduğu hastalıkların çözümü öncelikle serbest radikallerin olumsuz etkilerini azaltmak ve hastalıkların oluşumunu engellemekle gerçekleşebilir. İnsan vücudunda bunu engelleyebilecek antioksidan savunma sistemi mevcut olsa da karşılaşılan çevresel etmenler bu savunma direncini düşürmekte ve çoğu kez yetersiz kalmaktadır.

## **2.10. Antioksidanlar**

Vücutta oluşan veya dışarıdan alınan serbest radikallerin oluşturduğu hasara karşı vücudun antioksidan savunma mekanizmaları vardır. Bu antioksidan mekanizmalar serbest radikallerin neden olduğu reaksiyonu durdurarak, oksijeni veya metalleri bağlayarak, oksidasyonun sebep olduğu zararları engellerler. (Cemeli vd., 2009; NİZAMLIOĞLU & Sebahattin, 2010). Antioksidanların insan sağlığındaki başlıca etkisi, serbest radikalleri nötralize eden ve zincir kıran mekanizmalarda aktif rol almasıyla ortaya çıkmaktadır (Boots vd., 2008).

Antioksidanlar, enzimatik ve nonenzimatik antioksidanlar olarak sınıflandırılabilirler (So, Guthrie, Chambers, & Carroll, 1997). Enzimatik antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon peroksidaz (GPx) , sitokrom oksidaz ve katalazdır (KAT). Enzimatik olmayan antioksidan bileşikler ise mineral (SE, Zn), vitamin (A,C,K,E), antioksidan kofaktörler ve polifenoller şeklinde incelenmektedir (Kasprzak, 2002). Antioksidanların serbest radikalleri ve reaktif türevleri süpürme, dolayısıyla oksidatif stres ve oksidatif stresle bağlantılı olan hasarı azaltmaları nedeniyle, besinlerle antioksidan takviyesi hakkında sayısız çalışma ve sağlık önerileri yapılmıştır (So vd., 1997). Bazı gıda antioksidanlarının oksidasyonu engelleyerek arteroskleroz, malarya, romatoid artrit ve diyabette faydalı olabileceği, antitümöral, antitrombotik, antiülser, antikarsinojenik, antihipertansif, antinakteriyel, antifungal, antiviral etkileri olduğu yapılan *in- vivo* çalışmalarda gösterilmiştir (Kasprzak, 2002).

ROS ve antioksidanlar arasındaki dengenin korunması, oksidatif stresten kaynaklanan hasarın önlenmesinde önemli bir mekanizmadır. Organizmanın antioksidan kapasitesinin yetersizliği durumunda, metabolik reaksiyonlar hücreler için zararlı olmaktadır. Bu reaksiyonlar koroner damar hastalıkları, diyabet, Alzheimer, Parkinson ve değişen kanser türlerinin oluşmasına zemin hazırlamaktadır (Kasprzak, 2002). Bu nedenle, vitaminler ve flavonoidler gibi antioksidanlar ile beslenme takviyesi, birçok kronik hastalığın önlenmesinde kullanılmaktadır. Antioksidanlar serbest radikallerin neden olduğu zararlı etkileri, düşük yoğunluklu lipoproteinleri (LDL) ve lipoprotein oksidasyonunu önleyerek yapabilirler (NİZAMLIOĞLU & Sebahattin, 2010).

### **2.10.1. Polifenoller**

Polifenoller olarak isimlendirilen antioksidanlar, zengin biyoaktif bileşiklerdir. Bitkilerin meyve, sebze, tohum, çiçek, gövde, dal ve yapraklarında bulunup pek çok gıdanın tat ve aromasına katkıda bulunurlar (Kasnak & Palamutoğlu, 2015; NİZAMLIOĞLU & Sebahattin, 2010). Beslenme fizyolojisi açısından olumlu etkileri nedeniyle 'biyoflavonoid' olarak da isimlendirilirler. Bu bileşiklerin diyetteki günlük 1 gr tüketimi, vitamin C tüketimine göre 10 kat daha değerli olması nedeniyle polifenoller güçlü antioksidanlar olarak kabul edilirler (Kasnak & Palamutoğlu, 2015; NİZAMLIOĞLU & Sebahattin, 2010; Scalbert, Johnson, & Saltmarsh, 2005). Fenolik bileşikler, gıda maddelerinin görünüş, tat ve lezzet gibi tüketim açısından önemli olan özellikleriyle doğal antioksidan olarak insan sağlığı üzerinde gösterdikleri olumlu etkileri nedeniyle oldukça önemli bileşenlerdir (NİZAMLIOĞLU & Sebahattin, 2010).

Fenolik bileşiklerin antialerjik, antienflamatuar, antidiyabetik, antimikrobiyal, antipatojenik, antiviral ve antitrombotik etkiye sahip olduğu

yapılan araştırmalarla gösterilmiştir. Antioksidan olarak fenolik bileşiklerin kanser, kalp hastalıkları, katarakt, göz hastalıkları ve Alzheimer gibi hastalıklara karşı koruyucu özellik gösterdikleri bilinmektedir. Polifenollerin antioksidan aktivitelerinin ise, serbest radikalleri bağlama kapasitesi veya demiri indirgeme gücüne dayandığı bilinmektedir (Kasnak & Palamutoğlu, 2015; NİZAMLIOğLU & Sebahattin, 2010).

Polifenoller, fenolik asitler ve flavonoidler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Flavonoidler, bitkisel polifenollerin en yaygın grubunu oluştururlar ve önemli düzeyde antioksidan ve şelatlama özelliklerine sahip difenilpropanoidler olup insan vücudunda sentezlenememektedirler (Boots vd., 2008). Fenolik asitlerse, aromatik karboksilik asitlerin hidroksi türevleridir. Doğal olarak meydana gelen bu bileşikler; birçok kronik hastalığa sebep olan serbest radikallere ve diğer reaktif oksijen türlerine karşı güçlü antioksidan özellik gösterirler (Kasnak & Palamutoğlu, 2015; NİZAMLIOğLU & Sebahattin, 2010).

### **2.10.2. Flavonoidler**

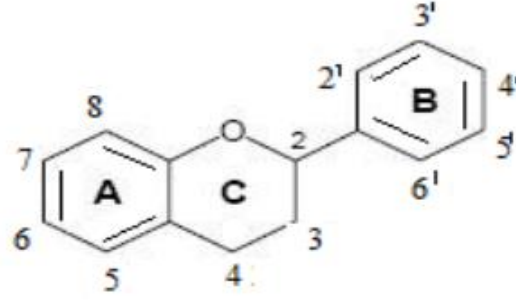
Flavonoidler doğada en yaygın bulunan polifenollerdir. Bitkisel çayların, meyve ve sebzelerin doğal yapılarında bulunan ve insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan, polifenolik antioksidanlardır (Boots vd., 2008; Nabavi vd., 2015; NİZAMLIOğLU & Sebahattin, 2010; So vd., 1997). Meyveler, yapraklar, çiçekler, kök ve tohumlar gibi bitkilerin farklı bölümlerinde bulunurlar (Nabavi vd., 2015). Biyolojik aktiviteleriyle ilgili ilk çalışma 1936 yılında Rusznyak ve Szent- Gyorgyi tarafından yayınlanmıştır (Güven, Otkun, & Boyacıoğlu, 2010).

Yapılan çalışmalar flavonoidlerin anti-inflamatuar, antioksidan, antialerjik, antitrombotik, antiviral ve antikarsinojenik aktivitelere sahip olduğunu göstermiştir (Cemeli vd., 2009).

### **2.10.3. Flavonoidlerin Genel Özellikleri**

Flavonoidlerin karbon iskeleti, iki fenil halkasının propan zinciriyle birleşmesinden oluşan ve 15 karbon atomu içeren, difenilpropan (C6-C3-C6) yapısındadır. Flavonoid iskeleti (şekil 2.8) heterosiklik (C) bir halde bulunan 3 karbonlu bir zincirle bağlanmış iki fenolik (A,B) halkadan oluşur ve flavonoidlerin karakteristik özelliklerini bu heterosiklik halkanın belirlediği bilinmektedir (Gibellini vd., 2011; Nabavi vd., 2015; So vd., 1997). Aynı zamanda, B halkasındaki hidroksilasyon da antioksidan aktivitelerine katkıda bulunmaktadır (ÇİMEN, 1999).





**Şekil 2.8:** Flavonoid iskeleti.

Doğada, 5000'den fazla flavonoid olduğu belirlenmiştir ve bunlar moleküler yapılarına göre 5 sınıfta toplanmaktadır (Tablo 2.2) (Boots vd., 2008; Gibellini vd., 2011; NİZAMLIOĞLU & Sebahattin, 2010) ;

1. Flavon
2. Flavanon
3. Flavonol
4. Antosiyanidin
5. Flavanol (Kateşin)
6. İzoflavonlar

**Tablo 2.2:** Flavonoidlerin sınıflandırılması ve örnekler

<b>SINIF</b>	<b>ÖRNEKLER</b>
<b>Flavonlar</b>	Apigenin,Chrysin, Luteolin
<b>Flavonoller</b>	Kaemferol,Miricetin, Kuersetin
<b>Flavanonlar</b>	Hesperidin, Naringenin
<b>Flavanoller</b>	Epikateşin,Gallocatecin
<b>Antosiyanidinler</b>	Cyanidin,Malvidin,Pelargonidin
<b>İzoflavonlar</b>	Genistein, Daidzein

Flavonodiler, serbest radikal süpürücü bazı enzim aktivitelerini düzenlemeleri, hücre çoğalmasını inhibe etmeleri ve antibiyotik, antialerjen özellik göstermelerinden dolayı önem taşımaktadır (Kasnak & Palamutoğlu, 2015).

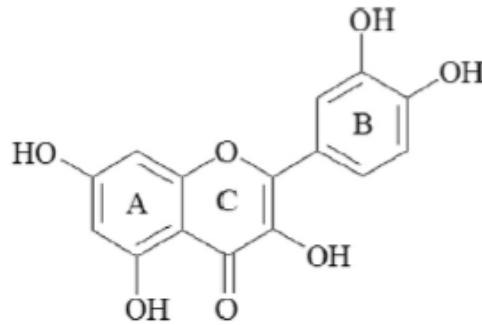
Flavonoidlerin süperoksit (O $\cdot$ ), lipid alkoksil (RO $\cdot$ ), lipid peroksil (ROO $\cdot$ ), nitrik oksit (NO) radikal temizleme, demir ve bakır şelasyon, fonksiyonlarına ek olarak; vazodilatatör, immünstimulan, antialerjik, östrojenik, antiviral (HSV,HIV, influenza) etkileri vardır. Fosfolipaz-A2, siklooksijenaz, lipooksijenaz enzimlerinin inhibisyonuyla da antiinflamatuvar özellik gösterdikleri bilinmektedir (ÇİMEN, 1999).

Ortalama yiyeceklerle günlük flavonoid alımının 26 mg/gün olduğu ve predominant flavonoidin kuersetin olduğu belirlenmiştir (ÇİMEN, 1999).

#### **2.10.4. Kuersetin**

Kuersetin (3,3',4',5,7-pentahidroksiflavon), meyve, sebze ve tahıl gibi farklı bitki materyallerinde yaygın olarak bulunan güçlü bir antioksidandır (59). 3 halka ve 5 hidroksil grubundan oluşur (Şekil 2.9) (Khaki vd., 2009; Kocabaş, 2008; Nabavi vd., 2015).

Kuersetin, antikanserojenik, antiastmatik, antiviral, antialerjenik, antihipertansif, hepatoprotektif, antidiyabetik, anti-inflamatuvar, kardiyoprotektif ve antibakteriyel etkinlikler gibi geniş biyolojik etkilere sahip bir antioksidandır. Elma, soğan ve kırmızı şarap başta olmak üzere, greyfurt, siyah çay, ahududu, yaban mersini, kiraz, brokoli gibi sebze ve meyvelerde bulunan, günlük 25-30 mg tüketiminin insanlar için yeterli olduğu bir flavonoiddir (Gibellini vd., 2011; Kelly, 2011; Nabavi vd., 2015; Yılmaz, 2010).



**Şekil 2.9:** Kuersetinin kimyasal yapısı (Nabavi vd., 2015).

Kuersetinin insan sağlığı üzerinde birçok faydası olduğu bilinmektedir. Bazı durumlarda klinik çalışmalar yapılmış olsa da diğer alanlarda yapılan mevcut araştırmaların tamamı veya çoğu n kliniklidir (Kelly, 2011). Kuersetin, *in-vitro* ve *in-vivo* şartlar altında, güçlü bir antioksidan ve reaktif oksijen ve azot türleri (ROS ve RNS) sprcsdr (Nabavi, Nabavi, Mirzaei, & Moghaddam, 2012). Süperoksit ve hidroksil radikallerine, nitrik oksite (NO) ve peroksinitrite (ONOO) karşı güçlü bir toplayıcı aktivite gösterir (Nabavi vd., 2015). Aynı zamanda deneyel diyabet çalışmalarında oksidatif stresi azalttığı ve lipid peroksidasyonuna karşı koruma gösterdiği de bilinmektedir (Kanter vd., 2012). Diğer pek çok antioksidan gibi, Kuersetinin konsantrasyonu da antioksidan aktivite seviyesini belirlemektedir. Düşük konsantrasyonlarda (1uM), kuersetin antioksidan aktivite gösterirken yüksek konsantrasyonlarda (100 uM), bir oksidandır ve çift sarmallı DNA kırılmalarına neden olabildiği bilinmektedir (Miles, McFarland, & Niles, 2014).

#### 2.10.4.1. Kuersetinin Yapısı ve Kaynakları

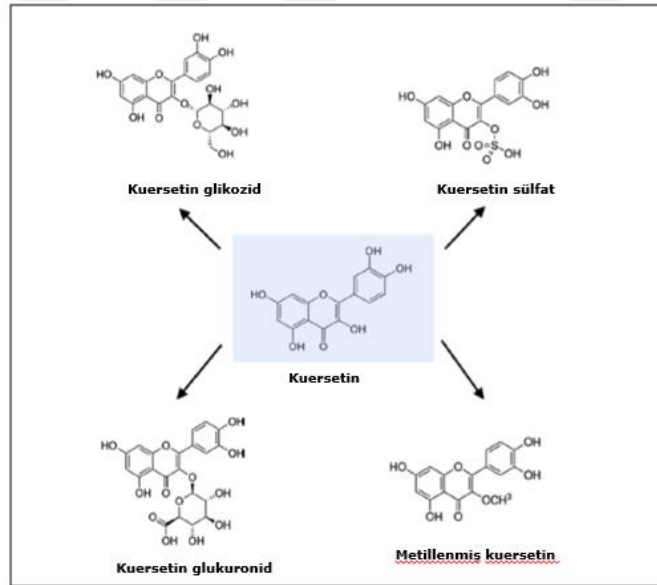
Kuersetin, sarı renkte, kristalize katı bir maddedir (Nabavi vd., 2015). Suda oznmemekle birlikte alkolde kısmen, yağda ise oldukça iyi ozndğ bilinmektedir (J. A. Ross & Kasum, 2002). Kuersetin genelde rutin adlı flavonoid glikozidin hidrolizi ile elde edilse de kimyasal sentezide mümkündür (Khnau, 1976). İnsan diyetinde yaygın olarak bulunan kuersetinin diğer glikozit formları, 3-rutinosit (siyah ay), 4'-O-glukozit (soğan), kuersetin galaktozidler (elmalar) ve kuersetin arabinosidlerdir (meyveler) (Hollman, de Vries, van Leeuwen, Mengelers, & Katan, 1995; Kelly, 2011).

**Tablo 2.3:** Kuersetinin fiziksel ve kimyasal özellikleri

<b>KUERSETİN</b>	
<b>Molekül Formülü</b>	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub>
<b>Molekül Ağırlığı</b>	302.24 g/mol
<b>Fiziksel zellikleri</b>	Sarı, toz
<b>oznrlk</b>	1M NaOH'da 50 mg/mL

#### 2.10.4.2. Kuersetinin Biyoyarlanımını

Kuersetin doğada aglikon veya glikozid formlarında bulunabilmektedir. Flavonoid aglikonlar hücre membranından serbestçe geçebilirken glikozitler bağırsağa girmeden önce şeker kısmından ayrılmaktadır. Diyetle çoğunlukla glikozid şeklinde bulunan kuersetin, bağırsaktan emilebilmesi için küçük molekül ağırlıklı formlara dönüşmesi gerekmektedir. Bunun için gastrointestinal sistemde serbest fenolik kısımları ayrılır. Glikozidlerinin çözülmesi bağırsaklarda bulunan mikroorganizmalar tarafından gerçekleşir. Yaklaşık %1'i bozulmadan, büyük bir kısmı ise çeşitli hidroksiaromatik asitlere dönüştürülerek böbreklerden atılır (Nijveldt vd., 2001). Kuersetinin distribüsyon yarı ömrü 3.8 saat; eliminasyon yarı ömrü ise 16.8 saattir (Elliott, Scheiber, Thomas, & Pardini, 1992). Emilen flavonoidler karaciğere taşınır ve çeşitli metabolik reaksiyonlara maruz kalarak glukoronitler, sülfatlar ve metillenmiş türevleri gibi çeşitli formlara dönüşürler (Şekil 2.10). Yapılan bazı çalışmalarda flavonoidlerin sağlık üzerine gösterdikleri olumlu etkilerin bu metabolitlerinin sorumlu olduğunu ortaya koymaktadır (Güven vd., 2010; Nijveldt vd., 2001).



**Şekil 2.10:** Kuersetinin yaygın metabolik ürünlerinin yapısı (Miles vd., 2014).

#### 2.10.4.3. Kuersetinin Antioksidan Mekanizması

Kuersetinin antioksidan potansiyeli üzerine birçok *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar yapılmıştır. Bu çalışmalar, kuersetinin antioksidan etkisinin beyin, kalp, testis ve diğer dokuları iskemi-reperfüzyon hasarından, toksik bileşiklere ve oksidatif strese neden olan diğer faktörlere karşı koruyucu olduğunu göstermiştir (Kelly, 2011). Kuersetin, ROS ve RNS tutma özelliklerinde dolayı güçlü bir antioksidan olarak kabul edilmektedir. Ayrıca doğrudan lipid peroksidleri yok ettiği (Baghel, Shrivastava, Baghel, Agrawal, & Rajput, 2012) ve dolaylı olarak enzimatik antioksidanların etkinliğini arttıp, nonenzimatik antioksidanların üretimini arttırdığı bilinmektedir (Nabavi vd., 2012). Kuersetinin antioksidan ve serbest radikal süpürücü potansiyelinden sorumlu olan is B halkasında ve serbest hidroksil gruplarındaki katekol kısmının varlığı olduğu bilinmektedir (Boots vd., 2008; Nabavi vd., 2015).

Kuersetinin *in vitro* antienflamatuar, anti-proliferatif ve gen ekspresyonu kapasitelerine sahip bir antioksidan olduğu kanıtlanmıştır. Fakat şimdiye kadar *in vivo* şartlarda sadece antioksidatif ve antienflamatuar etkileri gösterilmiştir. Kuersetin'in bu iki etkisi oksidatif stres ve inflamasyonun bazal düzeyleri yüksek olduğunda daha da belirgin görünmektedir. Bu etki, kuersetin takviyesinin hipertansiyon ve sarkoidoz gibi her iki süreçle ilişkili bir hastalığı olan insanlarda özellikle verimli olduğunu ortaya koymaktadır (Boots vd., 2008).

Kuersetin tedavisi diyabete bağlı testiküler disfonksiyon ve histopatolojik hasarları azaltmaktadır. Kuersetin, antioksidan enzimlerin aktivitelerini arttırırken, ROS seviyelerini düşürdüğü, diyabetik sıçan testisindeki PCNA aktivitesini ve TUNEL pozitif hücrelerin sayısını azaltarak diyabetin neden olduğu oksidatif DNA hasarını ve sıçan testisindeki apoptozu iyileştirici etkileri vardır (Kanter vd., 2012).

Kuersetinin plazma glukozunu düşürdüğü (Adewole, Caxton-Martins, & Ojewole, 2007; Khaki vd., 2010; Vessal, Hemmati, & Vasei, 2003), glukoz tolerans testlerini normalleştirdiği, pankreatik  $\beta$ -hücre bütünlüğünü ve fonksiyonunu koruduğu ve deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda, diyabetin neden olduğu biliş, ruh hali ve böbrek fonksiyonlarında düşüşe karşı koruduğu bilinmektedir (Adewole vd., 2007).

Kuersetin birçok önemli enzimin aktivitesini de etkilemektedir. Diyabetik katarakt oluşumunda aldoz redüktaz inhibitörünün önemli bir rol oynadığı bilinmektedir (Kelly, 2011). Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibe ettiği de bilinmektedir. Kuersetinin bu etkisi kısmen hipertansiyonun azaltılmasında sorumlu olabilmektedir (Miles vd., 2014).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEMLER**

#### **3.1. Deney Hayvanlarının Elde Edilmesi**

Çalışmamız için Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan (491/2016) onay alındıktan sonra Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıbbi ve Cerrahi Araştırma Merkezinden (TICAM) deneyimizde kullanılmak üzere 8-10 haftalık 270-320 g ağırlığında toplam 48 adet *Wistar Albino* cinsi erkek sıçan temin edildi. Sıçanlar 1 hafta boyunca yeni ortam koşullarına alışmaları için bırakıldılar. Hayvanlar standart koşullar altında (oda sıcaklığı 24-26 °C, % 55±5 nem oranı, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ışık periyodu olan odada) barındırıldı ve sağlık durumları günlük olarak takip edildi. Sıçanların beslenmesi için standart hazır pelet yem ve çeşme suyu kullanıldı.

#### **3.2. Deneysel Diyabetin Oluşturulması**

Deneysel diyabet modeli Diyabet, Q1, Q2 ve Q3 gruplarına vücut ağırlığına göre tek doz 50 mg/kg STZ (Glentham Life Sciences, İngiltere) pH'sı 4,5 olan 0,1M sodyum sitrat tamponunda çözülerek i.p. verilerek oluşturulmuştur.

Sitrat tamponu; 0,960615 g sitrik asit ( $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ ) ve 1,4705 g sodyum sitrat dihidrat ( $C_6H_5O_7Na_3 \cdot 2H_2O$ ), 1 litre % 0,09'luk serum fizyolojik içinde çözünerek hazırlanmıştır. STZ uygulamasından sonra, sıçanlara 24 saat boyunca şekerli su (%10 glukoz solüsyonu) verildi (Kurçer & Karaoğlu, 2012). STZ uygulamasından 72 saat sonra sıçanların kan şeker düzeyleri ölçüldü. Kan şeker düzeyleri 270 mg/dL ve üstünde çıkan sıçanlar diyabet kabul edildi (Öntürk & Özbek, 2007).

#### **3.3. Kuersetin Uygulaması**

Kuersetin (Glentham Life Sciences, İngiltere), STZ uygulandıktan 2 hafta sonra (Maneesh, Jayalakshmi, Singh, & Chakrabarti, 2006) her gün taze olarak %0.9 luk serum fizyolojik (SF) içinde sulandırılmış %20 lik gliserol karışımında çözülerek 28 gün boyunca i.p. olarak uygulanmıştır (Khaki vd., 2010). Kuersetin uygulaması 3 farklı grupta, 3 farklı dozda (15 mg/kg, 30mg/kg ve 60 mg/kg) yapılarak doza bağlı etkisine bakılmıştır.

### 3.4. Deney Grupları

Çalışmamızda kullanılan 48 adet sıçan 6 gruba ayrılmış olup her grupta 8 denek bulunmaktadır. Deney grupları aşağıdaki gibidir.

- 1. Kontrol grubu:** Bu gruptaki sıçanlara herhangi bir uygulama yapılmamıştır.
- 2. Sham grubu:** Bu grubu oluşturan sıçanlara, tek doz 0.8 cc sitrat tamponu i.p. uygulanmıştır.
- 3. Diyabet grubu:** Bu grubu oluşturan her bir sıçana tek doz 50 mg/kg STZ i.p. uygulanmıştır. Enjeksiyondan 72 saat sonra STZ uygulanan hayvanlara 12 saatlik açlık sonrası kuyruk venlerinden alınan kandan glikometre ile kan-glukoz düzeyleri ölçülmüştür. Kan-glukoz düzeyi 270 mg/dl üzerinde olan sıçanlar diyabetik olarak kabul edilmiştir.
- 4. Diyabet+ Kuersetin 15mg/kg grubu:** Bu grubu oluşturan sıçanlara, diyabet modeli oluşturulduktan 2 hafta sonra 28 gün boyunca (15mg/kg/i.p.) Kuersetin verilmiştir.
- 5. Diyabet+ Kuersetin 30 mg/kg grubu:** Bu grubu oluşturan sıçanlara, diyabet modeli oluşturulduktan 2 hafta sonra 28 gün boyunca (30mg/kg/i.p.) Kuersetin verilmiştir.
- 6. Diyabet+ Kuersetin 60mg/kg grubu:** Bu grubu oluşturan sıçanlara, diyabet modeli oluşturulduktan 2 hafta sonra 28 gün boyunca (60mg/kg/i.p.) Kuersetin verilmiştir.

### 3.5. Vücut ağırlıklarının ölçümü

Deneye başlarken ve deney sonunda sıçanların vücut ağırlıkları tartılarak kaydedildi.

### 3.6. Kan şekeri ölçümü

Deneye başlamadan önce her bir sıçanın kan şekeri ölçülüp not edildi. STZ uygulandıktan 72 saat sonra, 12 saatlik açlığa bırakılan sıçanların kan şekeri düzeyleri, kan şekeri ölçüm cihazı (Lifechek compact TD-4283, TaiDoc Technology Corporation, Taiwan) aracılığıyla kuyruk veninden alınan kan damlası ile ölçüldü.

### 3.7. Bouin Fiksatifinin Hazırlanışı

Testis dokularının tespitinde kullanılan Bouin Solüsyonu hazırlanışı;

- Doymus Pikrik Asit çözeltisi: 75 ml
- Formaldehit (%37): 25 ml
- Glasiyal Asetik Asit: 5 ml

Molekül ağırlığı kadar tartılan pikrik asit (12,2 g), 1000 ml distile su içinde eritilerek iyice çözdürüldü. Dipte tortu kalmamasına dikkat edilerek gerekli miktarda pikrik asit kullanıldı. Bouin tespitini hazırlamak için önce doymus pikrik asit çözeltisi formaldehit ile iyice karıştırıldı, sonra üzerine yavaşça glasiyal asetik asit eklenerek tekrar karıştırıldı (Tablo 3.1) (Bancroft & Gamble, 2008).

**Tablo 3.1:** Doku takip yöntemi

Kimyasal	Uygulama Süresi
Bouin Tespiti	24 saat
%50 Alkolde yıkama	3 defa
%70'lik Alkol	1 saat
% 80'lik Alkol	1 saat
%90'lık Alkol	1 saat
%96-I 'lik Alkol	1 saat
%96-II'lik Alkol	1 saat
%100'lük Alkol	10 dakika
Ksilol I	20 dakika
Ksilol II	20 dakika
Parafin+ Ksilol	15 dakika
Parafin I	30 dakika
Parafin II	1 saat
Parafin III	1 saat
Bloklama aşaması	



### **3.8. Dokuların Alınması**

Deney sonunda sıçanlar anesteziye [Ketalar 90 mg/kg (ketamin) + Alfazyne 10 mg/kg i.p. (ksilazin)] alınarak kalbin sağ ventrikülünden biyokimyasal analizler için kan alındı. Hızlı bir şekilde hayvanların karın bölgesi açılarak testisleri çıkarıldı. Testis ağırlıkları sağ ve sol olarak ayrı ayrı ölçüldü. Histopatolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmeler için sağ testisler Bouin ve formaldehit fiksatiflerinde 24 saat süreyle fikse edildi. Sol testisler ise protein ve MDA incelemeleri için  $-80^{\circ}\text{C}$ ' ye kaldırıldı. Sıçanların sol epididimislerinden sperm parametrelerinin analizi için epididimis kaudasından spermatozoa aspire edildi (Vaez, Mardani, & Razavi, 2014).

### **3.9. Testis Ağırlıklarının Ölçümü**

Gruplardaki her sıçanın sa ve sol testisleri OHAUS AV264C Adventurer Pro marka hassas terazi ile tartıldı.

### **3.10. Testis Ağırlık İndeksinin (TAİ) Hesaplaması**

Deneyin son günü ölçülen vücut ağırlığı ile aynı sıçana ait sol ve sağ testis ağırlıkları toplamı aşağıda verilen formüle göre hesaplanarak her bir sıçan için TAİ değerleri belirlendi (Sahinturk, Guclu, & Baycu, 2007) ;

$$\text{TAİ: } [(\text{sol testis ağırlığı} + \text{sağ testis ağırlığı}) / \text{vücut ağırlığı}] \times 100$$

### **3.11. Histolojik İncelemeler İçin Dokuların Hazırlanması**

Testislerin kapsüllerine enjektör ucuyla karşılıklı birkaç delik açıldı. Taze hazırlanan Bouin ve formaldehit fiksatiflerinde 24 saat bekletildikten sonra testisler enine önce ortadan iki eşit parçaya daha sonra bu parçalarda tekrar ikiye bölünerek doku takip kasetlerine alındı. Rutin doku takibi işlemleri sonrası hayvana ait parafin bloklar hazırlandı. Her testisten 4 parafin blok elde edildi. Parafin bloklar hazırlamak için uyguladığımız doku takip yönteminin basamakları Tablo 3.1 de gösterilmiştir.

### 3.12. Kesitlerin Alınması ve Hematoksilin-Eozin Boyaması

Her blok 15 µm trimlendikten sonra 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Her bloktan alınan kesitler ışık mikroskopunda inceleme yapılması için Hematoksilin-Eozin (H-E) ile boyandı ve DP 70 dijital kamera ekli ışık mikroskopunda (Olympus Corp. Tokyo, Japonya) incelenerek grupları temsil eden görüntüler elde edildi. H-E boyama yöntemi Tablo 3.2 de gösterilmiştir (Bancroft & Gamble, 2008).

**Tablo 3.2:** H-E boyama yöntemine ait uygulama süreleri.

<b>H-E Boyama Yöntemi</b>	
Ksilol-I	10 dakika
Ksilol-II	10 dakika
%96-1' lik Alkol	5 dakika
%96-2' lik Alkol	5 dakika
%90' lık Alkol	5 dakika
%80' lik Alkol	5 dakika
%70' lik Alkol	5 dakika
Distile Su	5 dakika
Hematoksilen	1 dakika
Çeşme Suyu	Akan su altında 5 dakika
Eosin	5 dakika
%70 lik Alkol	3 dakika
%80 lik Alkol	3 dakika
%90' lık Alkol	3 dakika
%96-1' lik Alkol	3 dakika
%96-2' lik Alkol	3 dakika
Ksilol-I	10 dakika
Ksilol-II	10 Dakika

### **3.13. Seminifer Tübül Çapları Ölçümü (STÇ)**

Testisteki hasarın bir başka göstergesi olarak STÇ ölçüm yöntemi kullanıldı. Ölçüm sırasında her bir gruptan x20 objektif büyültmede, farklı alanlardan 20'şer olmak üzere toplam 120 seminifer tübül çapı görüntü işleme ve analiz programıyla (BAB soft pro) ölçüldü ve veriler uygun istatistik programlarında değerlendirildi (Songur, Karateke, Tosun, Gönül, & Turamanlar, 2016).

### **3.14. Parafin Kesitlerde İmmunohistokimya Yöntemi**

Tüm gruplar için hazırlanan bloklardan poli-L-lizinli lamlara 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler, bir gece 37°C etüvde tutuldu. Boyama başlamadan önce etüvün sıcaklığı 60°C'ye çıkarılarak 1 saat beklendi ve 2x15 dk ksilolde tutuldu. Gerekli bilgiler lamın üzerine kurşun kalemle yazıldı. Kesitler; %96, %80, %70 ve %60'lik etil alkolde 2'şer dk tutuldu ve distile su ile yıkandı. Kesitlerin çevreleri sınırlayıcı kalem ile çizildi. PBS solüsyonu ile 3x5 dk yıkandı. Kullandığımız antikor için önerilmiş olan antijen "retrival" yöntemi uygulandı. PBS solüsyonuyla 3x5 dk yıkandıktan sonra Endojen peroksit blokajı yapıldı (% 3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> içerisinde 5 dk) ve tekrar PBS solüsyonuyla 3x5 dk yıkandı. Kesitlerin üstüne blok solüsyonu damlatıldı ve 1 saat oda ısısında beklendi. Blok solüsyonu uzaklaştırıldı ve dilüsyonu yapılmış 70 µl primer antikor damlatıldı (GLUT-2 Santa Cruz), kapağı kapalı olan nemli kutuda 1 saat boyunca bekletildi. PBS solüsyonuyla 3x5 dk yıkandıktan sonra Primer antikorla uyumlu olan biyotinlenmiş sekonder antikor damlatıldı, kapalı nemli kutuda 30 dk oda ısısında bekletildi. PBS solüsyonu ile 3x5 dk yıkandı. Streptavidinle işaretli olan sekonder antikor damlatılıp oda ısısında kapağı kapatılmış nemli kutuda 30 dk PBS solüsyonu ile tekrar 3x5 dk yıkandı. AEC solüsyonu (Thermo Scientific, USA) damlatılıp kapağı kapalı nemlendirilmiş kutuda 10-15 dk bekletildi. PBS solüsyonu ile 3x5 dk yıkandıktan sonra distile su ile yıkandı. Mayer'in hematoksilin boyası ile çekirdek boyaması yapıldı. Kesitler son olarak distile suda yıkanarak kapatma medyumu kullanılarak kesitler kapatıldı.

## 3.15. Biyokimyasal Analizler

### 3.15.1. MDA Düzey Ölçümü

Lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan MDA, hücre ve dokulardaki oksidatif stresin göstergesi olarak kullanılmaktadır. Çalışmamızda grupların MDA seviyeleri, tiyobarbitürik asit (TBA) reaktivitesi yöntemiyle ölçüldü (Uchiyama & Mihara, 1978). Yağ asidi peroksidasyonunun son ürünü olan MDA, TBA ile reaksiyona girerek sıcak ve alkali ortamda, 530-540 nm dalga boyunda maksimum absorbands veren renkli kompleks oluşturur. Bu renkli kompleksin okunan absorbandsından faydalanılarak MDA değerleri elde edildi. MDA analizinde Cayman TBARS (item no: 700870) ticari kiti kullanıldı. Kitin protokolü takip edildi.

#### *Analiz prosedürü:*

-80°C'de muhafaza edilen testis dokuları çalışma günü çıkarıldı. Gruptaki her bir sıçandan 300 mg'lık dokular tartıldı. Dokular içerisinde demir misketler ve RIPA liziz tamponu (Radioimmunoprecipitation assay buffer) olan homojenizatör tüplerine kondu. Dokular homojenizatör cihazında 2 dakika homojenize edildi. Tüpler 1600 g de 4°C'de 10 dk santrifüj edildi. Süpernatant ayrı tüplere kondu.

1. Tüplere 100 µl örnek veya standard eklendi.
2. % 10'luk (w/v) trikloroasetik asit (TCA) çözeltisi konup vorteksle karıştırıldı.
3. Her tüpe 800 µl Color reagent eklenip vortekslendi.
4. Ağız kapatılan tüpler 1 saat boyunca 100°C'de su banyosunda bekletildi.
5. Reaksiyonu durdurmak için tüpler buz banyosunda bekletildi ve soğutulduktan sonra 4°C, 1600 g de 10 dakika boyunca santrifüj edildi.
6. Santrifüjden sonra 96 kuyucuklu plakaların 1. sütununa standartlar artan dilüsyon oranlarında yüklendi. Diğer sütunlara ise (2.-12.) deney örneklerinden 200'er µl yüklenerek 535 nm'de mikroparka okuyucuda (Thermo Multiskan GO, Japonya) sonuçlar alındı.

### **3.15.2. Testosteron Seviyesinin ELISA Yöntemiyle Ölçülmesi**

Deney sonunda intrakardiyak yoldan tüm grupların kanları toplanarak testosteron serum seviyeleri ölçüldü. Kan örnekleri 10 dk boyunca 11000 rpm' de santrifüj edildi. Toplanan serumlar analiz gününe kadar -80 derecede tüplüklerde saklandı. Testosteron analizinde YH biosearch Laboratory ticari kiti kullanıldı. Kitin protokolü takip edildi.

*Analiz prosedürü:*

96 kuyucuklu plakaların 1. sütununa 50 µl standart-Biotin + 50 µl streptavidin-HRP yüklendi. Diğer sütunlara ise (2.-12.) oda ısısına getirdiğimiz her gruba ait örneklerden 40 µl + 10 µl testosteron antikoru + 50 µl streptavidin-HRP yüklendi. Plakalar 60 dakika 37°C'de inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda kuyulardaki sıvılar plakanın ters çevrilmesi suretiyle boşaltıldı. Kuyuların tamamen boşaltılması amacıyla plakalar hafifçe kurutma kâğıdı üzerine vurularak örnekler uzaklaştırıldı. Sonrasında 350 µl yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı. Yıkamalar sonunda kuyuların tamamen boşaltılması amacıyla hafifçe kurutma kâğıdı üzerine vurularak kurulandı. Yıkama işleminden sonra kuyulara 50 µl kromojen reagent A + 50 µl kromojen reagent B eklendi, karıştırıldı ve 37°C'de karanlıkta 10 dk inkübasyona bırakıldı. Kuyulara 50 µl durdurma solüsyonu eklenerek spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okutuldu. Tüm işlemler her kuyuya eşit solüsyon veren mikropipetör kullanılarak yapıldı.

### **3.16. Western Blot Yöntemi**

Testisler küçük parçalara ayrılarak homojenizasyon tüpüne boncuklarla beraber konuldu. Tüpe, içerisinde proteinaz kokteyli bulunan doku liziz tamponu konuldu. Tüpler homojenitör cihazında (Benchmark BeadBlaster, Çin) 2 dk boyunca homojenizasyona bırakıldı. Tüpler 14000 g de 4°C'de 10 dakika santrifüj (Kubota-3500, Japonya) edildi. Santrifüj sonucunda sitozolik proteinlerin bulunduğu üstteki süpernatant alındı, daha sonra florometrik olarak Qubit 2.0 Fluorometer cihazıyla protein konsantrasyonu ölçüldü. Her grupta eşit miktarda total protein olacak şekilde proteinler 4:1 oranında örnek tamponuyla eşitlenerek vortekslenip, santrifüj edilerek tekrar buz üzerine konuldu. Daha sonra 5 dk 95°C'de kaynatılarak tekrar vortekslenip, santrifüj edilerek buz üzerine yerleştirildi. 80 µg total protein % 10'luk SDS jel içerisine elektroforez yöntemi ile ayrılması için kondu, ardından PVDF membrana transfer edildi. Membranlar % 5'lik BSA (Bovine serum albümin) olan bloklama tamponu ile oda sıcaklığında 1 saat boyunca bloklandı. Daha sonra gece boyunca 4°C'de GLUT2 primer antikoru ile inkübe edildi. Membranlar 10 dakika

boyunca 3 kez yıkama solüsyonu ile yıkandıktan sonra uygun sekonder antikolar ile inkübasyon yapıldı, immünreaktif bantlardaki proteinlerin ekspresyon seviyeleri görüntüleme sistemiyle (C-Digit, Licor, Cambridge, İngiltere) gözlenir hale getirildi. Görüntü sonuçlarının analizleri Image Studio Digit Ver. 5.0 ile yapıldı.

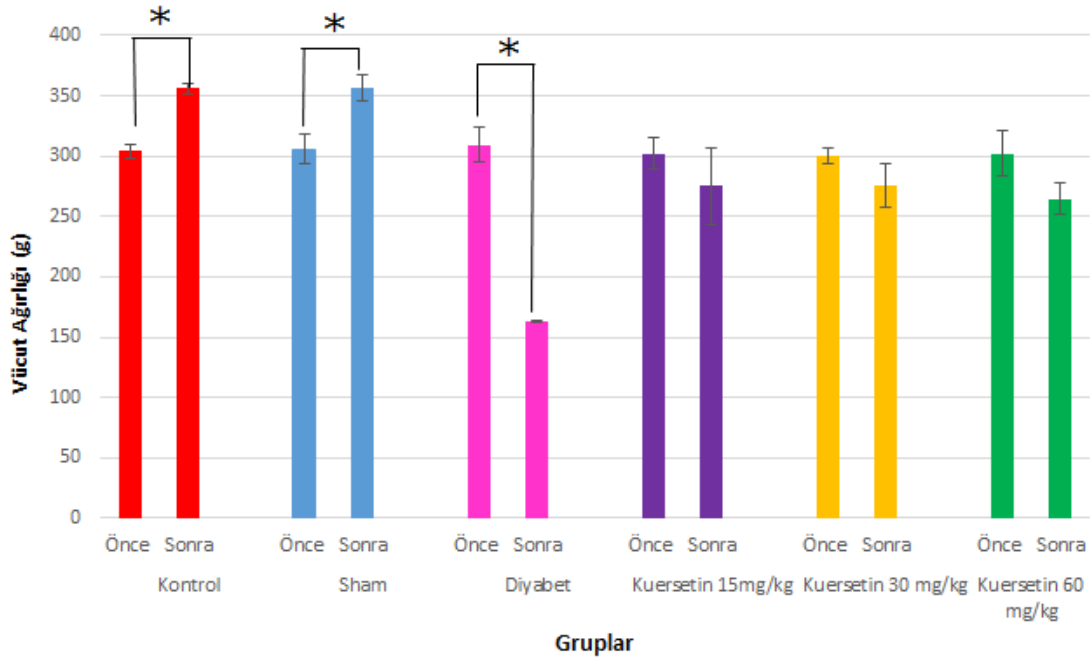
### **3.17. İstatistiksel Analiz**

Çalışmamızda elde edilen bulguların analizi IBM SPSS statistics 21 programıyla yapıldı. Deney sonu vücut ağırlıkları, Kan şekeri düzeyi, Testis ağırlık indeksi, histopatolojik skorlama, MDA düzeyleri, testosteron seviyelerinin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk normalite testi ile araştırılmıştır. Grupların her birinin normal dağılım gösterdiği değişkenlerde gruplar tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırılmıştır. Tek yönlü varyans analizinde varyansların homojenliği Levene testi ile ölçülmüştür. Varyansların homojen olduğu durumlarda Tukey HSD, olmadığı durumlarda Tamhane's T2 çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. Grupların her birinin normal dağılım göstermediği değişkenlerde Kruskal-Wallis testi uygulanmıştır. Karşılaştırma sonuçları değerlendirilirken  $p < 0,05$  olduğu durumlarda anlamlı fark bulunduğu kabul edilmiştir.

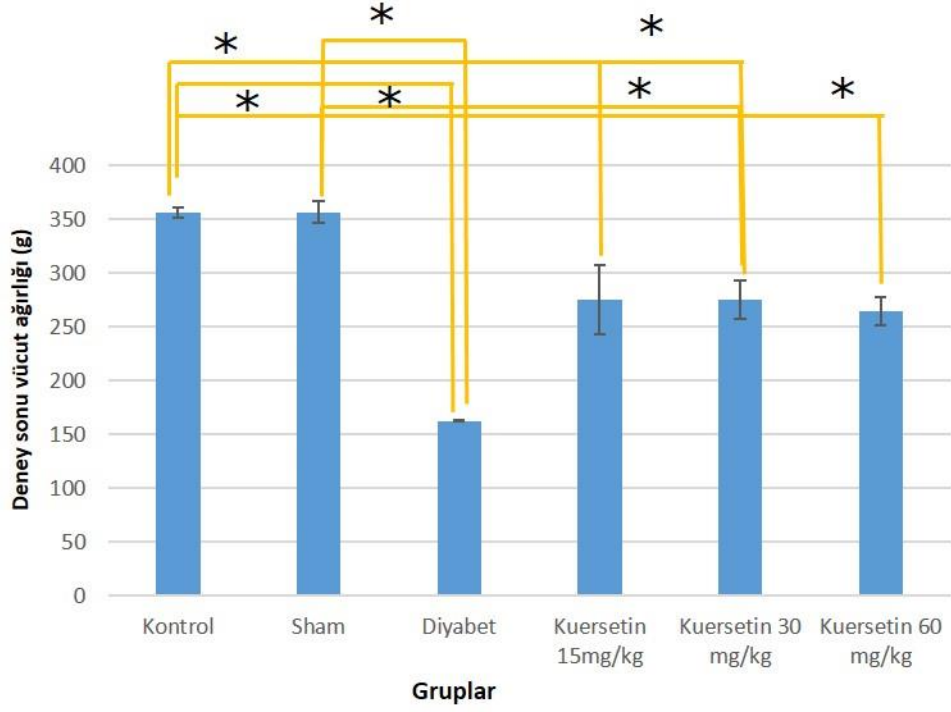
## 4. BULGULAR

### 4.1. Deney Sonu Vücut Ağırlıkları

Deneklerin deney başındaki ağırlıkları ile deney sonundaki ağırlıkları karşılaştırıldığında; kontrol, sham ve diyabet gruplarının ilk ve son ağırlıkları arasında anlamlı bir fark bulunurken, Q1, Q2 ve Q3 grupların vücut ağırlıklarında anlamlı bir fark bulunmamaktadır. Grupların deney sonu ağırlıklarını karşılaştırdığımızda ise kontrol-diyabet, kontrol-Q1, kontrol-Q2, kontrol-Q3, sham-diyabet, sham-Q1, sham-Q2, sham-Q3, grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptandı ( $P<0,05$ ) (Şekil 4.1, Şekil 4.2).



**Şekil 4.1:** Sıçanların deney öncesi ve sonrası vücut ağırlığı farkı. Gruplar arasında \*  $p<0,05$  düzeyinde anlamlı fark vardır.



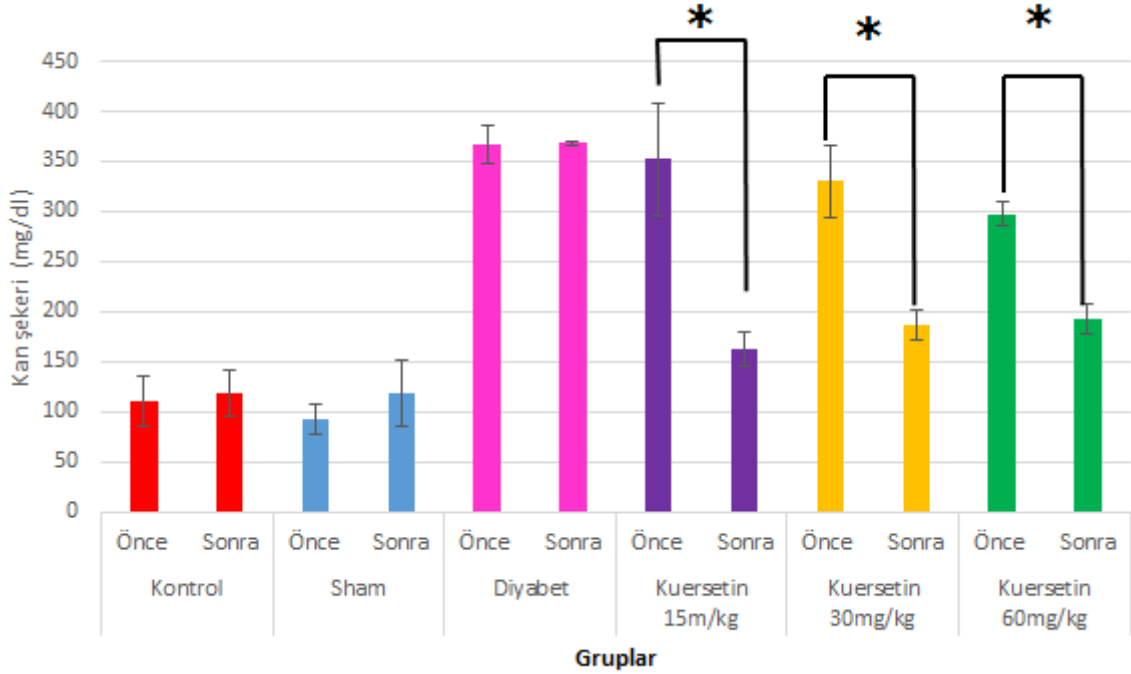
**Şekil 4.2:** Grupların denev sonu vücut ağırlıkları. Gruplar arasında \*  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı fark vardır.

Diyabetle azalan vücut ağırlıkları kuersetin uygulamasıyla artış gösterse de bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi.

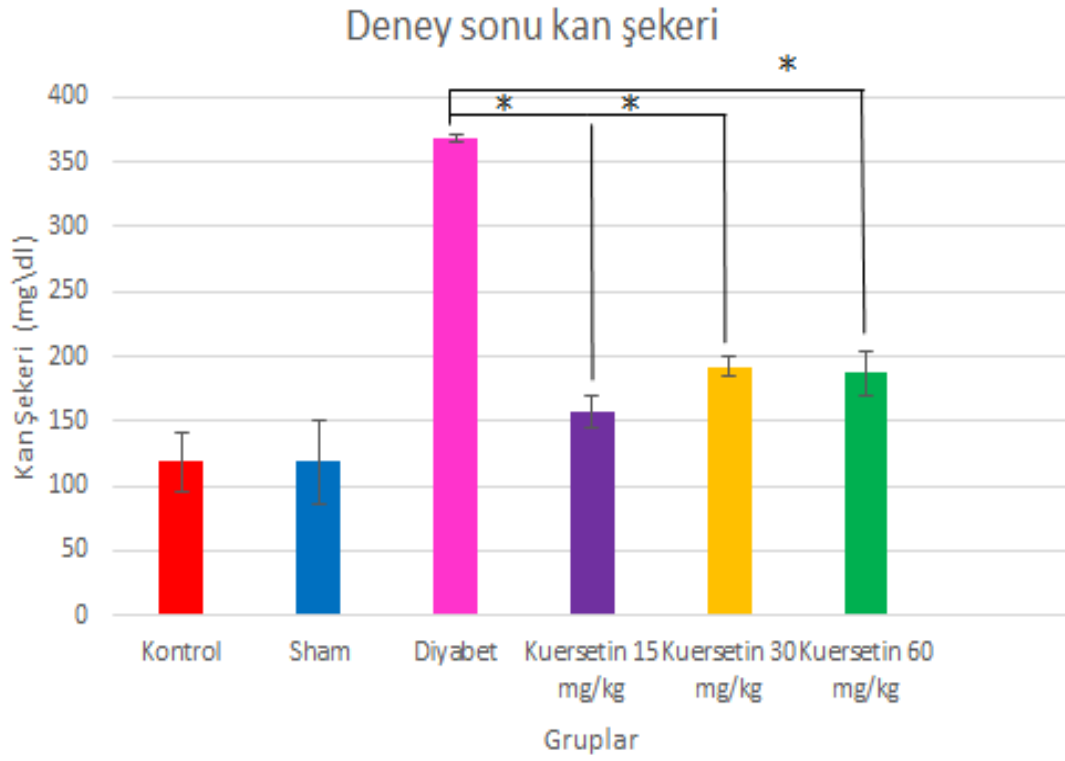


## 4.2. Kan şekeri düzeyi sonuçları

Sıçanların deney başındaki ile deney sonundaki kan şekeri düzeyleri karşılaştırıldığında Q1, Q2 ve Q3 gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi (Şekil 4.3). Deney sonundaki kan şekeri düzeyleri gruplar arası karşılaştırıldığında diyabet grubunda kontrol ve sham gruplarına göre belirgin artış gözlemlendi. Diyabet ile artan kan şekeri düzeyi, üç farklı dozu uygulanan Kuersetin ile düşmüştür (Şekil 4.4). Bu düşüşün diyabet-Q1, diyabet-Q2 ve diyabet-Q3 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ( $P < 0,05$ ).



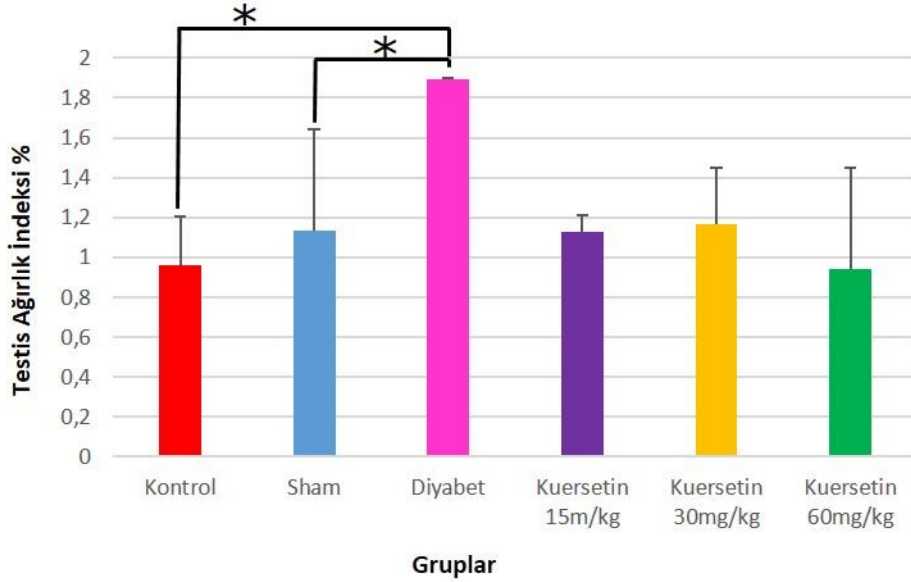
**Şekil 4.3:** Grupların deney öncesi ve deney sonrası kan şekeri düzeylerinin karşılaştırılması. Gruplar arasında \*  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı fark vardır.



**Şekil 4.4:** Gruplar arası deney sonu kan şekeri düzeyleri. Gruplar arasında \*  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı fark bulunmuştur.

### 4.3. Testis ağırlık indeksi (TAİ) analizi

Deney sonunda alınan sağ ve sol testislerin ağırlıklarının vücut ağırlığına bölünüp 100 ile çarpılması ile elde edilen testis ağırlık indeksine ait bulgular Şekil 4.5' te görülmektedir. Tüm gruplar arasında karşılaştırdığımızda kontrol-diyabet ve sham-diyabet grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır ( $P < 0,05$ ). Diyabet-Q3 grupları arasında testis ağırlık indeksinde düşüş gözlenirse de istatistiksel olarak anlamlı değildir ( $P > 0,05$ ).



**Şekil 4.5:** Testis ağırlık indeksi. Gruplar arasında \*  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı fark vardır.

#### **4.4. Histopatolojik Bulgular**

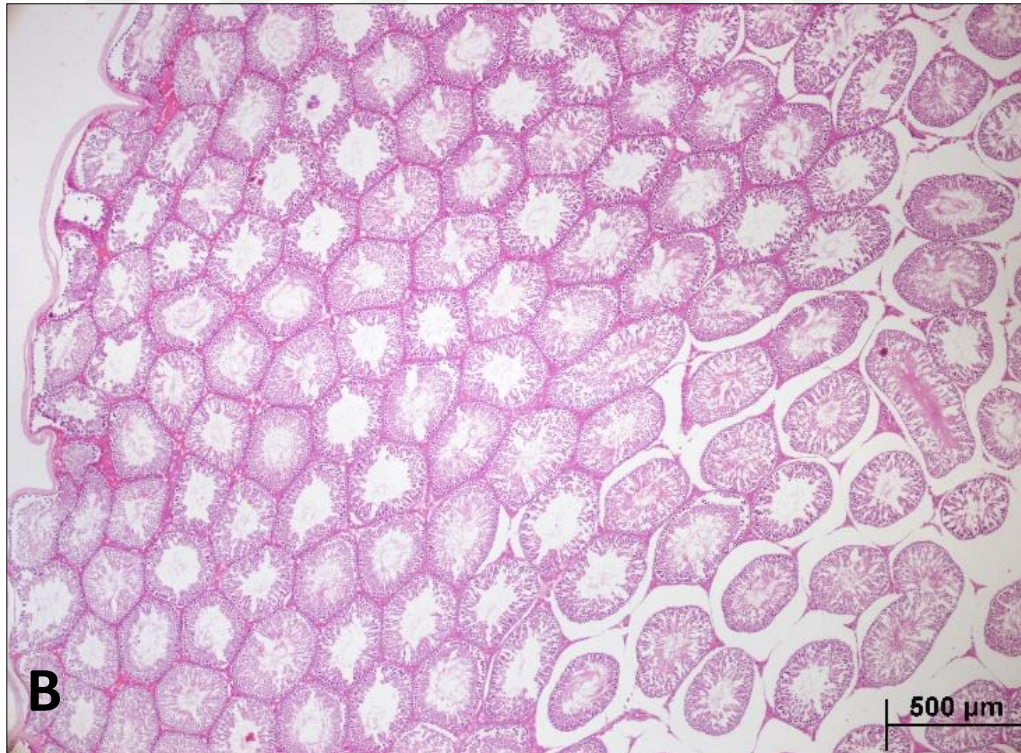
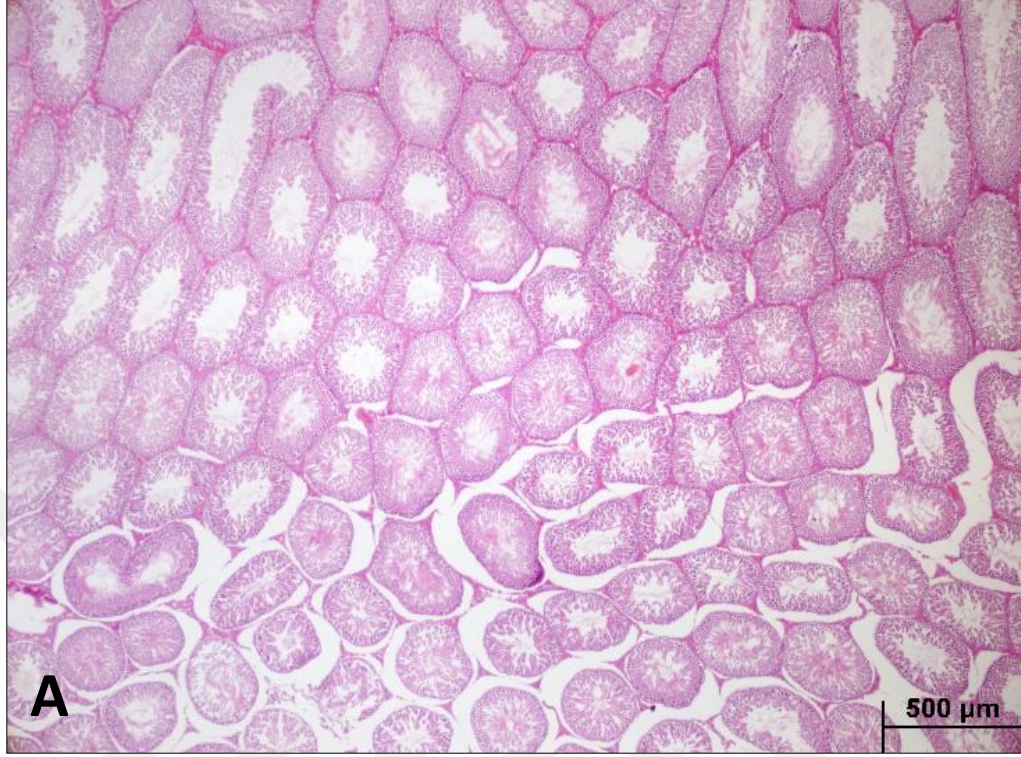
Kontrol ve sham gruplarındaki (0.8 cc sitrat tamponu, i.p.) sıçanların testisleri incelendiğinde, düzenli bir seminifer tübül, intersitisyel alan ve germ hücre tabakaları gözlemlendi (Şekil 4.6).

Diyabet grubuna ait seminifer tübül örnekleri incelendiğinde ise düzensiz şekilli seminifer tübüller, germ hücre tabakalarında azalma, interstisyel alanda ödem, apikal blebler ve rezidüel cisimcikler belirlendi (Şekil 4.7, Şekil 4.8).

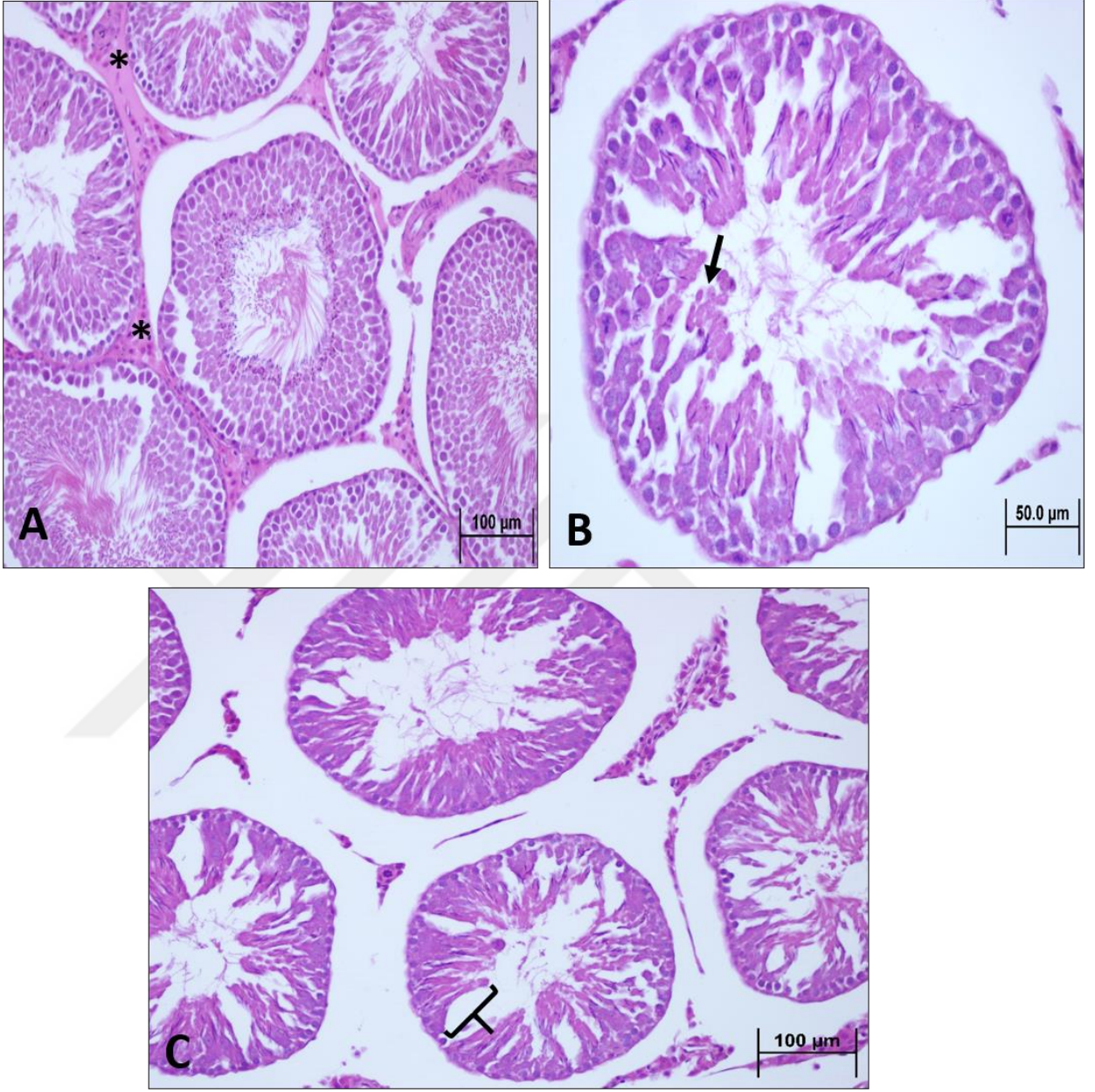
Kuersetin gruplarında ise, 15 mg/kg Kuersetin uygulanan Q1 grubuna ait seminifer tübüllerde germ hücre tabakasında azalma ve rezidüel cisimcikler gözlemlendi (Şekil 4.9).

30 mg/kg Kuersetin uygulanan Q2 grubuna ait seminifer tübüllerde ise, germ hücre tabakalarında kontrol grubuna yakın bir düzelmeye gözlenmekle beraber tübül içerisinde vakuolizasyon ve rezidüel cisimcikler saptandı (Şekil 4.10).

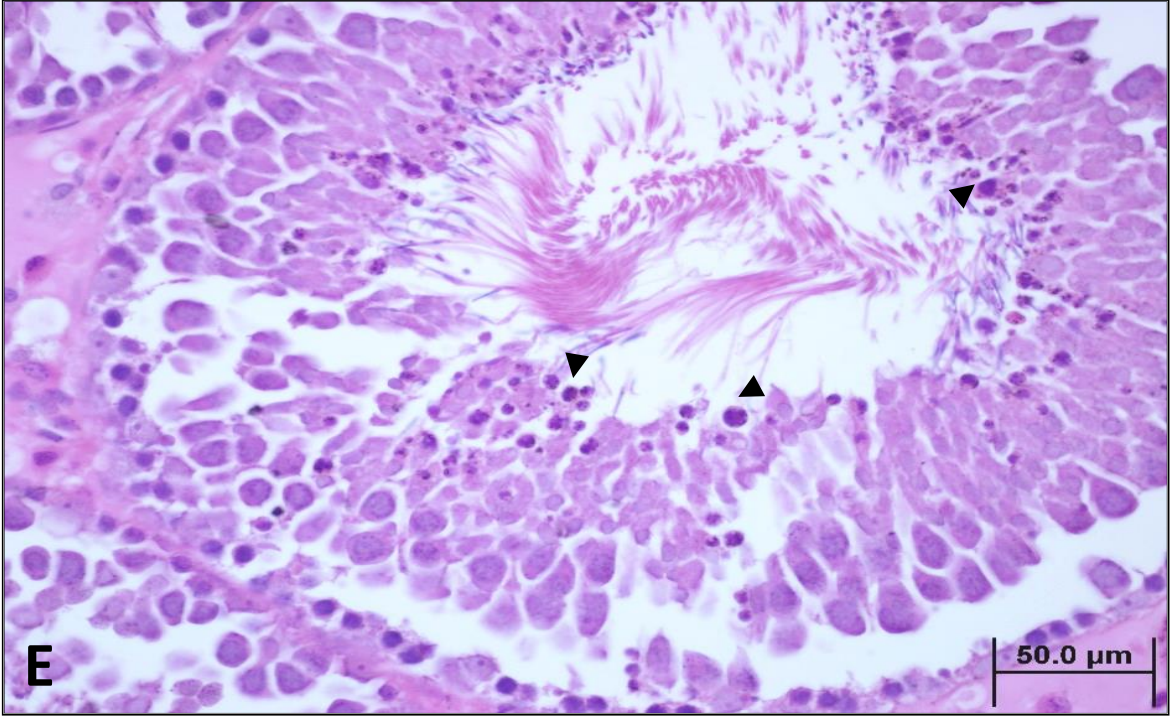
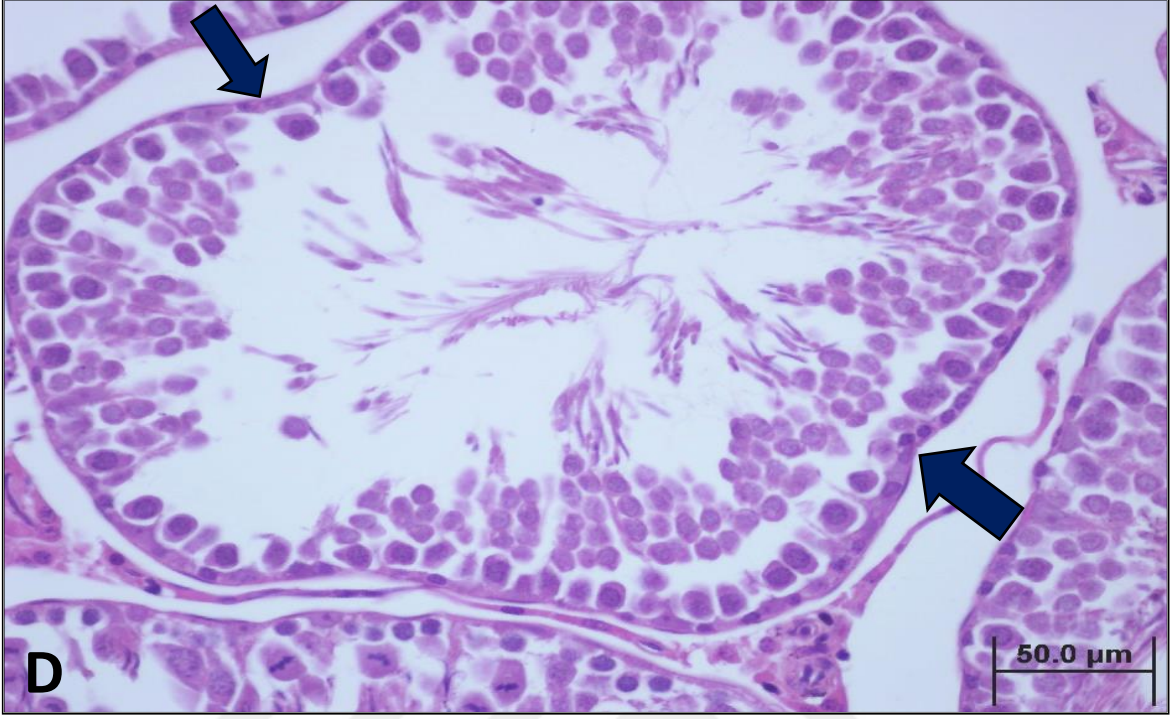
Son olarak 60 mg/kg Kuersetin uygulanan Q3 grubuna ait seminifer tübüllere baktığımızda ise intersitisyel alanda konjesyonun yanı sıra düzensiz şekilli seminifer tübüller gözlemlense de germ hücre tabakalarının kontrol ve sham gruplarına benzer olduğu belirlendi (Şekil 4.11).





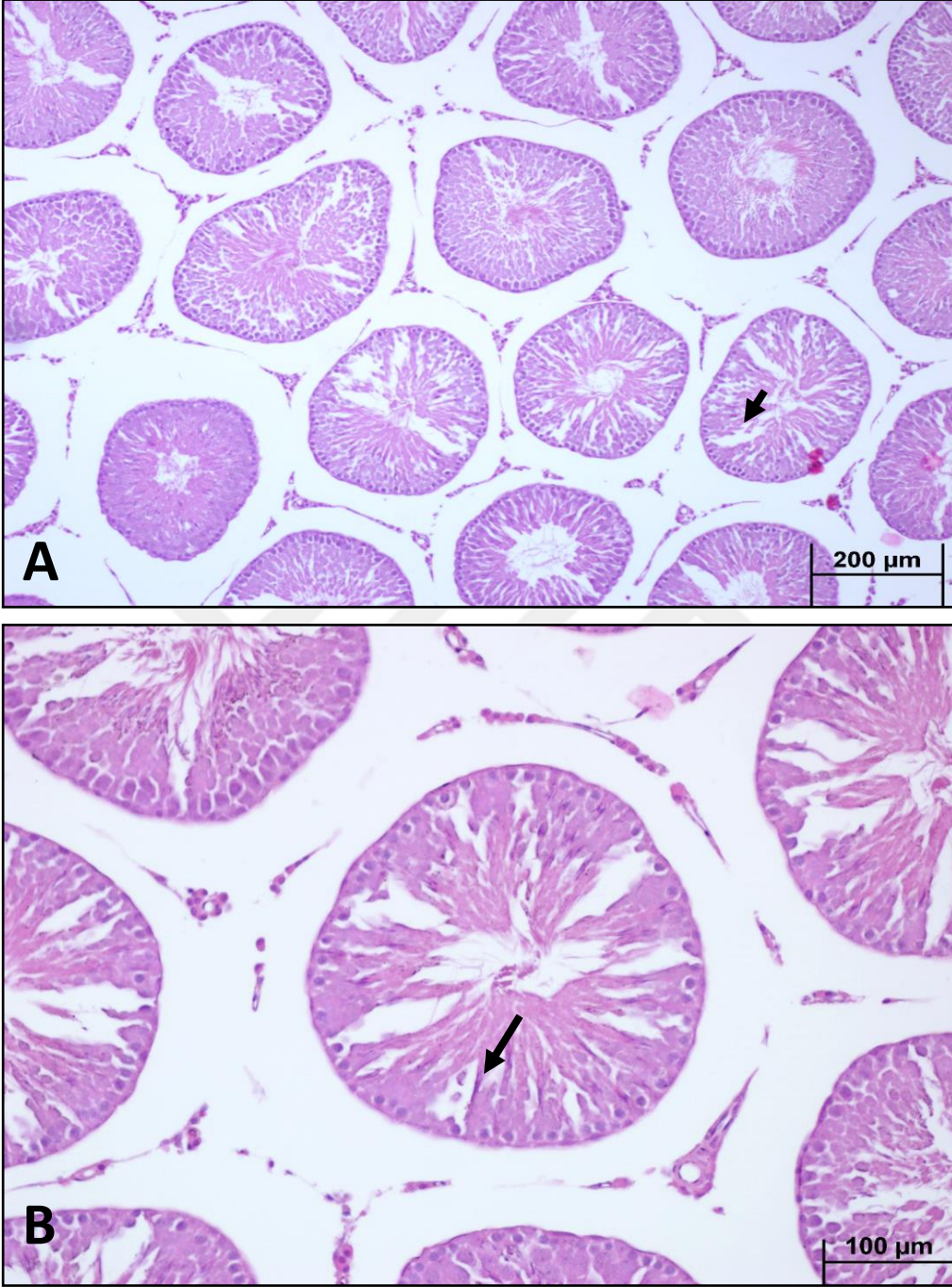
**Şekil 4.6:** Sağlıklı seminifer tübül yapısına sahip kontrol (A) ve sham grupları (B) (Bar=500 µm, H-E).




**Şekil 4.7:** Diyabetik sıçanlarda seminifer tübüller. İntersitisyel alanda ödem (\*) (A), apikal blebler ( ↓ ) (B), germ hücre kaybı ( } )(C), (Bar=50 µm, 100 µm, H-E).

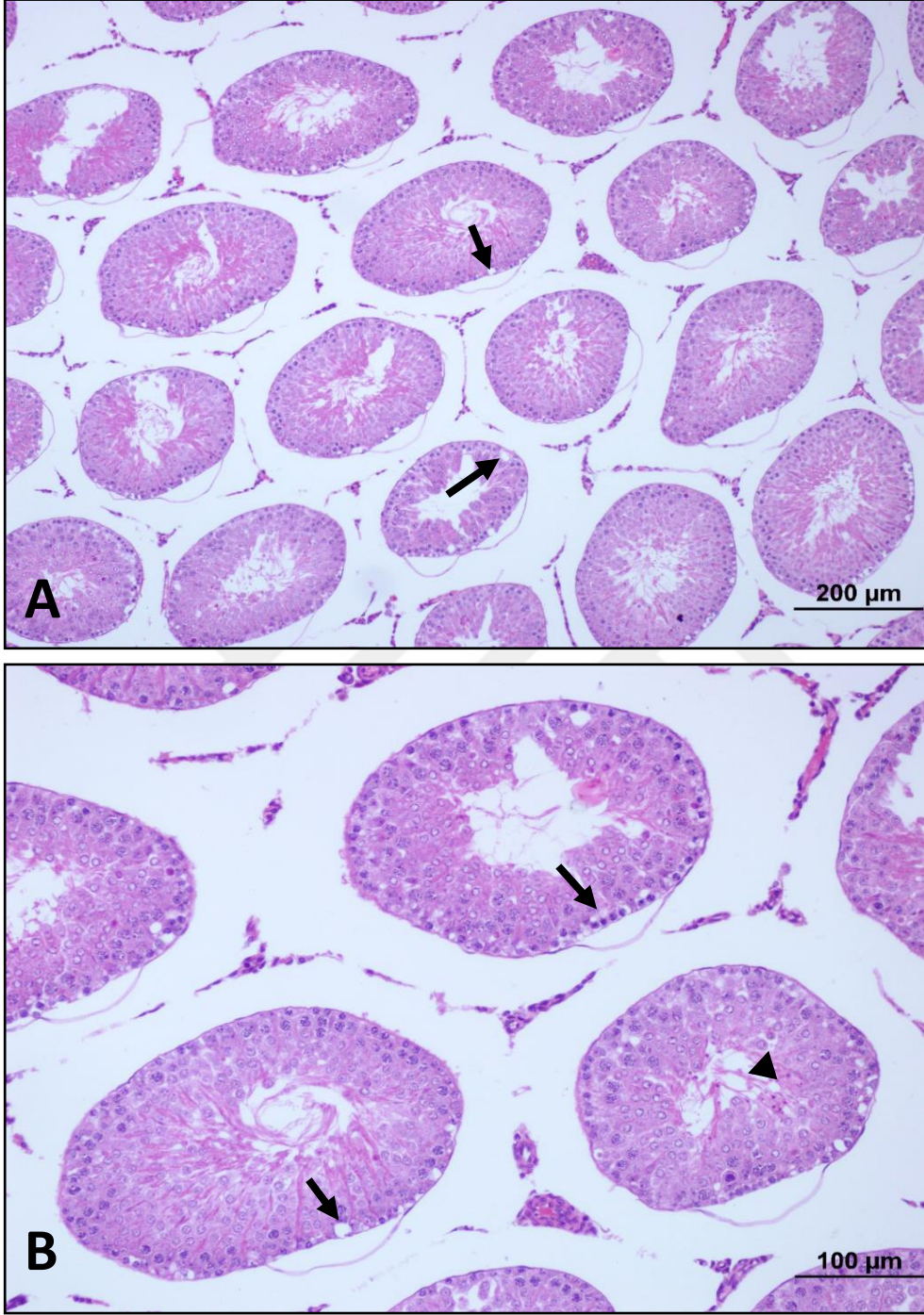


**Şekil 4.8:** Diyabet grubunda düzensiz şekilli seminifer tübül (  )(D), rezidüel cisimcikler (  )(E) (Bar=50 µm, H-E).

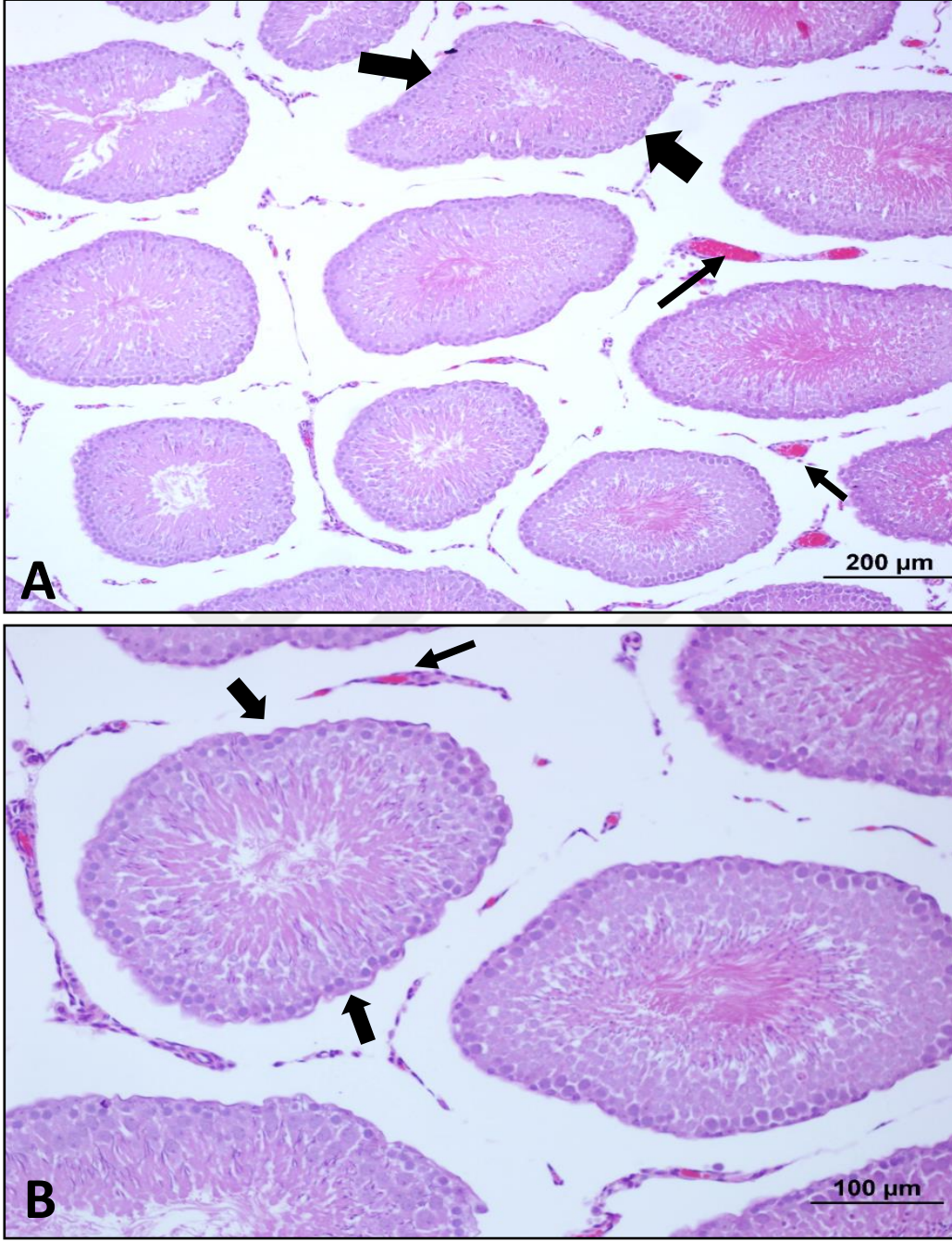


**Şekil 4.9:** Kuersetin 15 mg/kg (Q1 grubu) uygulanan diyabetik sıçan seminifer tübülleri. (A) ve germ hücre kayıpları (  ) (A, B) (Bar=100 µm, 200 µm, H-E).





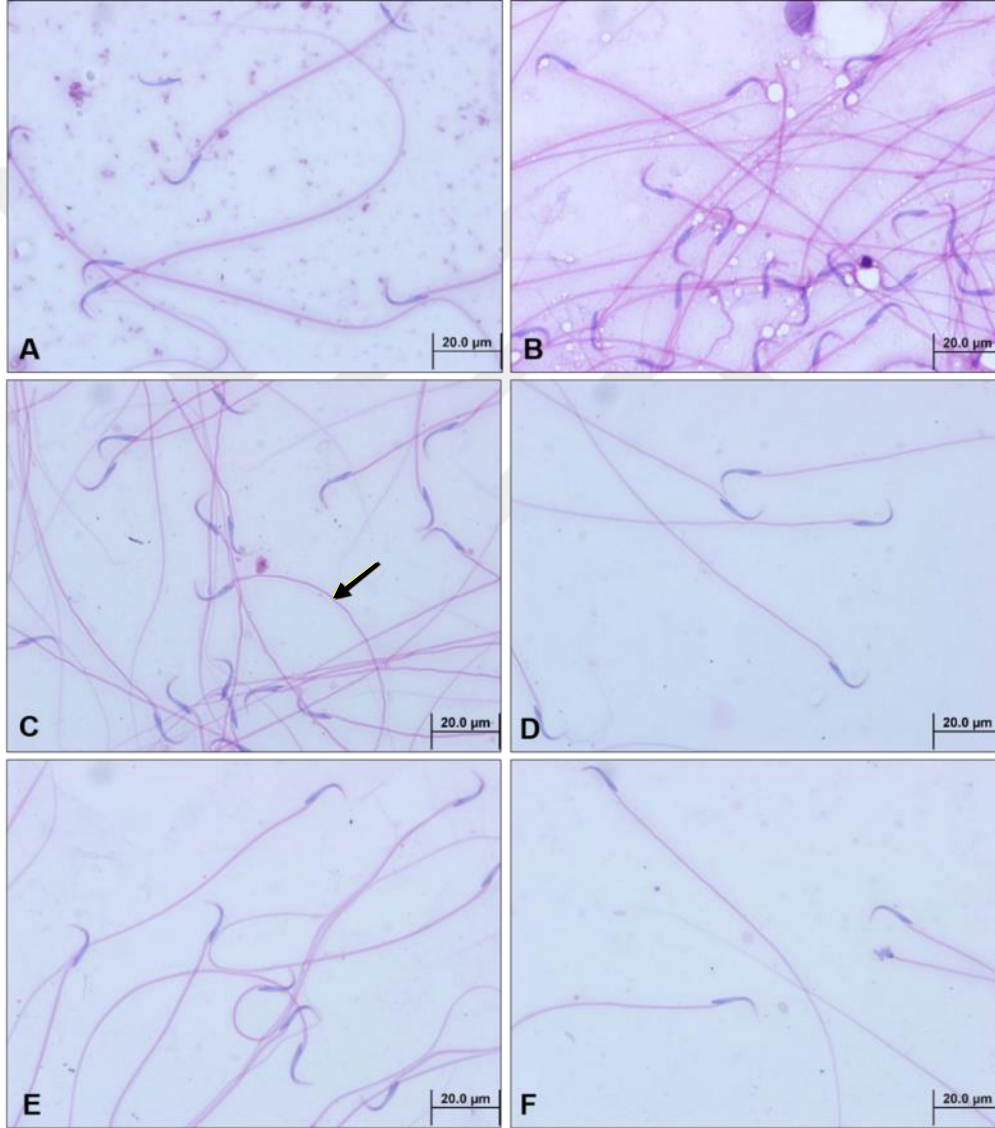
**Şekil 4.10:** 30 mg/kg Kuersetin (Q2 grubu) uygulanan diyabetik rat seminifer tübülleri. Tübül içerisinde vakuolizasyon ( → ) (A, B) ve Rezidüel cisimcikler ( ▲ ) (B) (Bar=100 µm, 200 µm, H-E).




**Şekil 4.11:** Kuersetin 60 mg/kg (Q3 grubu) uygulanan diyabetik sıçan seminifer tübüleri. Düzensiz seminifer tübül yapıları (→) (A, B) ve intersitisyel alanda konjesyon (→) (B) (Bar=100 µm, 200 µm, H-E).

## 4.5. Sperm H-E bulguları

Kontrol ve sham grubunun morfolojik olarak benzer olduğu saptanmıştır. Diyabet grubunda spermlerin kuyruk bölümünde ondülasyonla beraber yapısal bozulma gözlenmiştir. Kuersetinin doz bağımlı olarak bu kuyruk dejenerasyonunu azalttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.12).

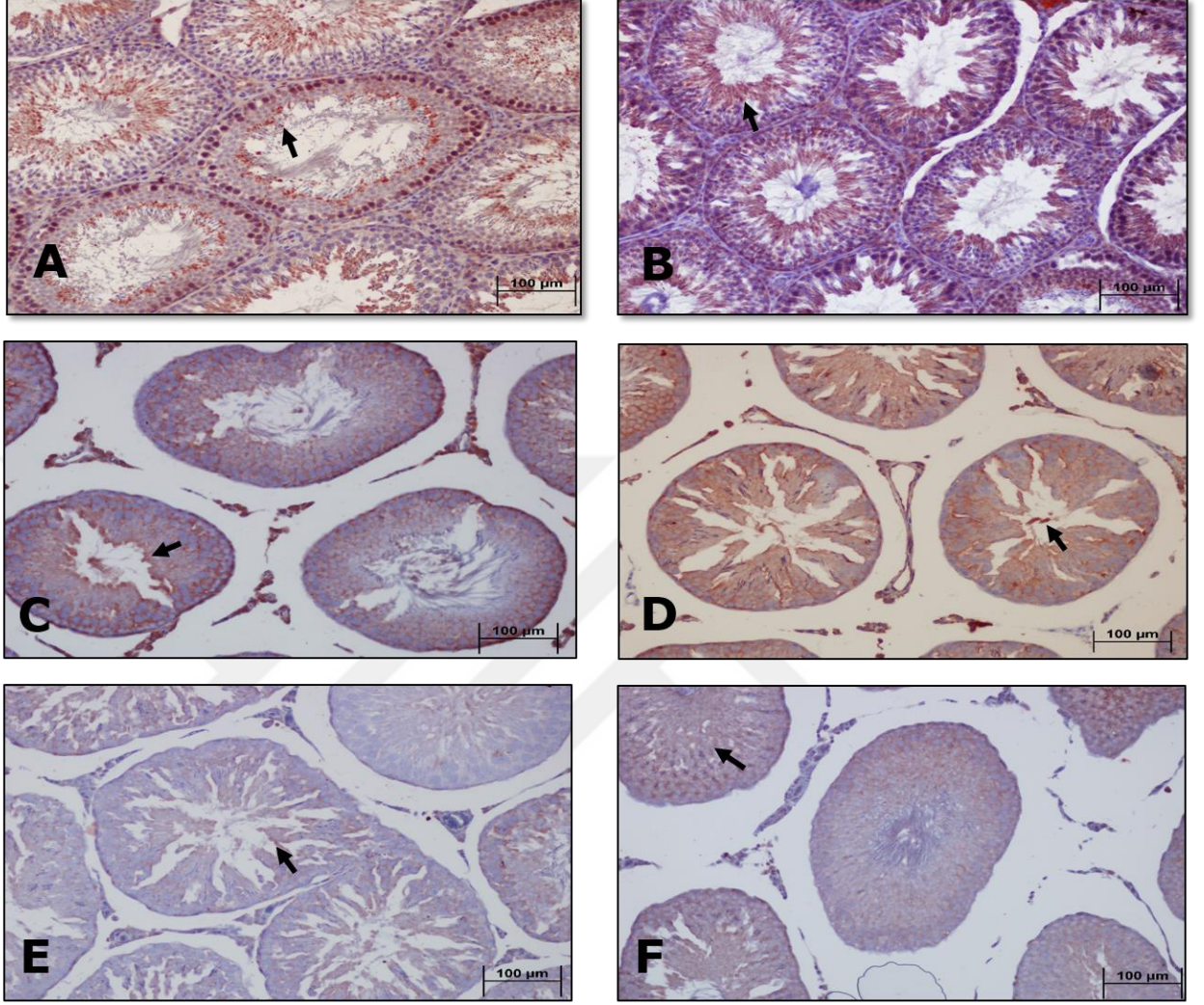


**Şekil 4.12:** Sperm H-E boyaması Kontrol grubu (A), Sham grubu (B), Diyabet grubu (C), Q1 grubu (D), Q2 grubu (E), Q3 grubu (F) (  : ondülasyon gösteren kuyruk ) (Bar=20.0 µm, H-E).

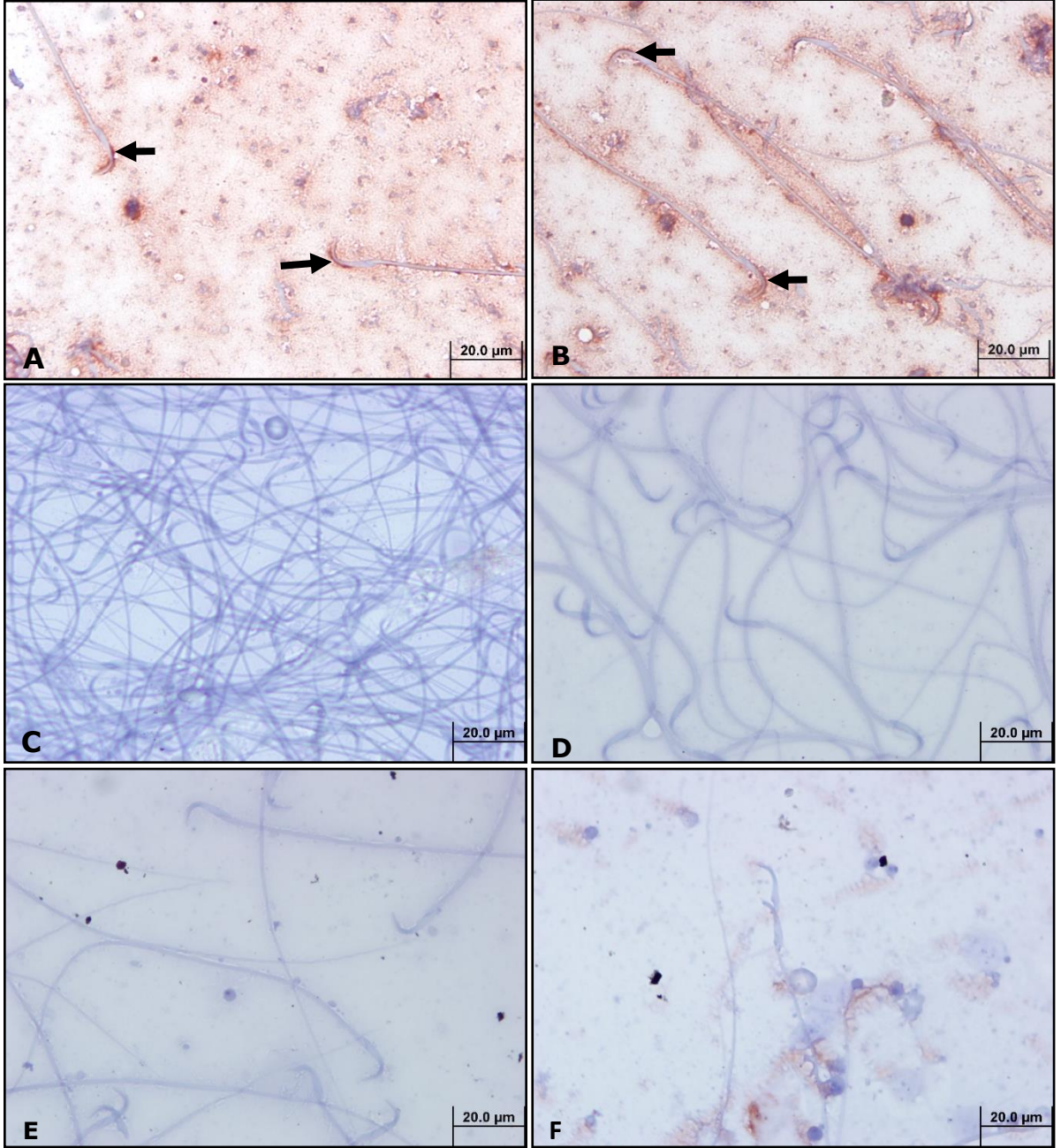
## 4.6. İmmünohistokimyasal Bulgular

Tüm deney gruplarına ait testis kesitlerinde anti- GLUT2 antikorunun immünohistokimyasal (IHK) ekspresyonunu incelediğimizde kontrol ve sham gruplarında özellikle spermatidler olmak üzere primer spermatozoid ve interstisyel alanda yüksek düzeyde GLUT-2 immün reaktivite gözlemlendi. Diyabet grubunda bu reaksiyon özellikle interstisyel alan ve spermatozoidler ile sınırlı kaldı. Q1 grubunda bu reaksiyon gözlenmeye devam etse de Q2 ve Q3 gruplarında oldukça azaldı (Şekil 4.13).

Tüm gruplara ait sperm yaymaları incelendiğinde ise kontrol ve sham gruplarında spermlerin akrozom kısımlarında GLUT-2 ekspresyonu gözlenirken, diğer gruplarda hiçbir reaksiyon gözlenmemiştir (Şekil 4.14).



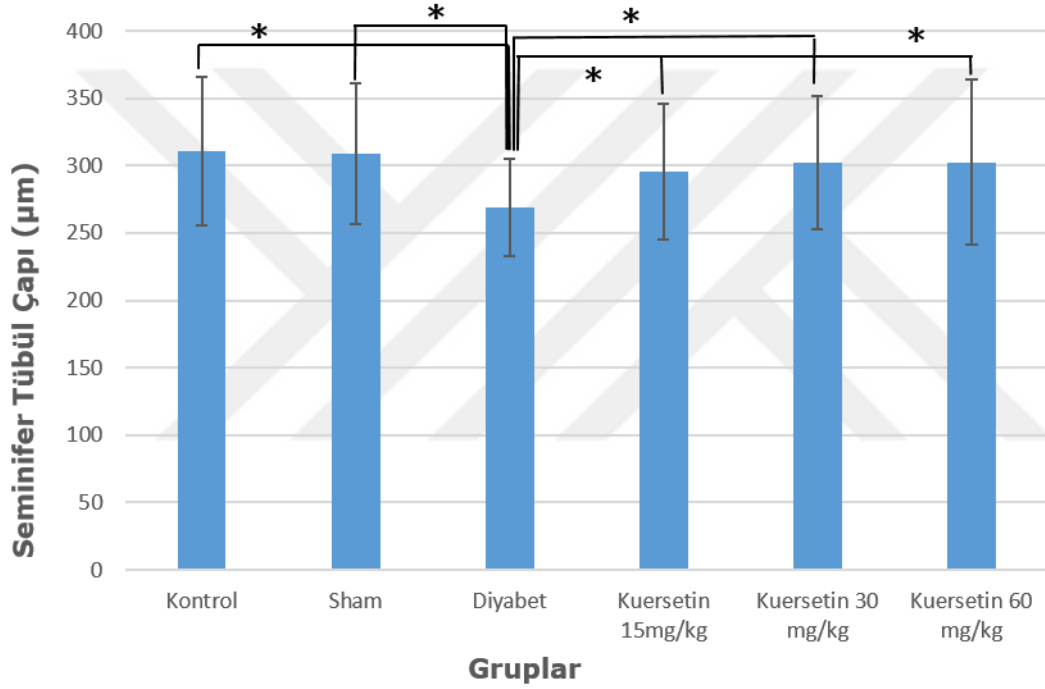
**Şekil 4.13:** Seminifer tübüllerde GLUT 2 İmmünohistokimya ekspresyonları (→). Kontrol grubu (A), Sham grubu (B), Diyabet grubu (C), Q1 grubu (D), Q2 grubu (E), Q3 grubu (F) (Bar=100 μm).



**Şekil 4.14:** Spermelerde GLUT 2 İmmünohistokimya ekspresyonları (→). Kontrol grubu (A), Sham grubu (B), Diyabet grubu (C), Q1 grubu (D), Q2 grubu (E), Q3 grubu (F) (Bar=20.0 µm). Kontrol ve Sham gruplarına ait sperm akrozomlarında GLUT2 reaksiyonu gözlenmekte.

## 4.7. Seminifer Tübül Çapı Ölçümü

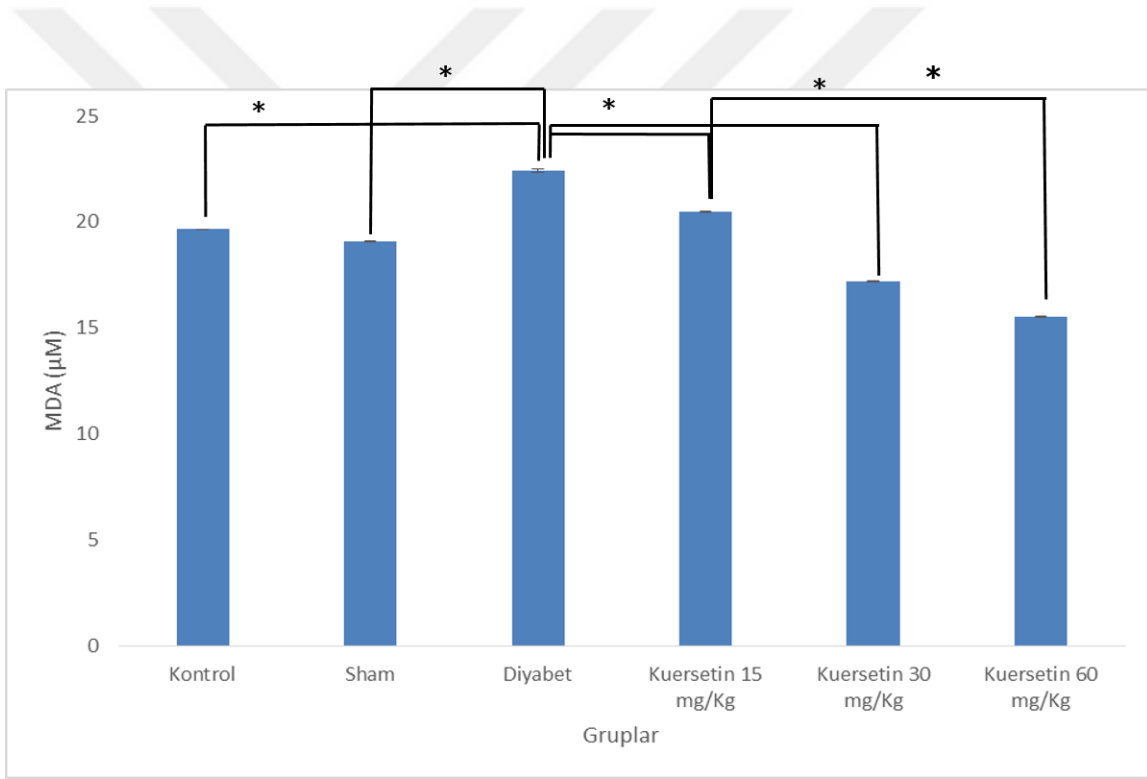
İstatistiksel verilerde, Kontrol-diyabet ve Sham-Diyabet grupları arasında anlamlı bir düşüş saptanırken ( $p < 0.05$  \*) Diyabet-Q1, Diyabet- Q2, Diyabet-Q3 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ( $p < 0.05$  \*) (Şekil 4.15).



**Şekil 4.15** : Gruplardaki seminifer tübül çapları ölçümü. Gruplar arasında  $p < 0.05$  \* düzeyinde anlamlı fark bulunmuştur.

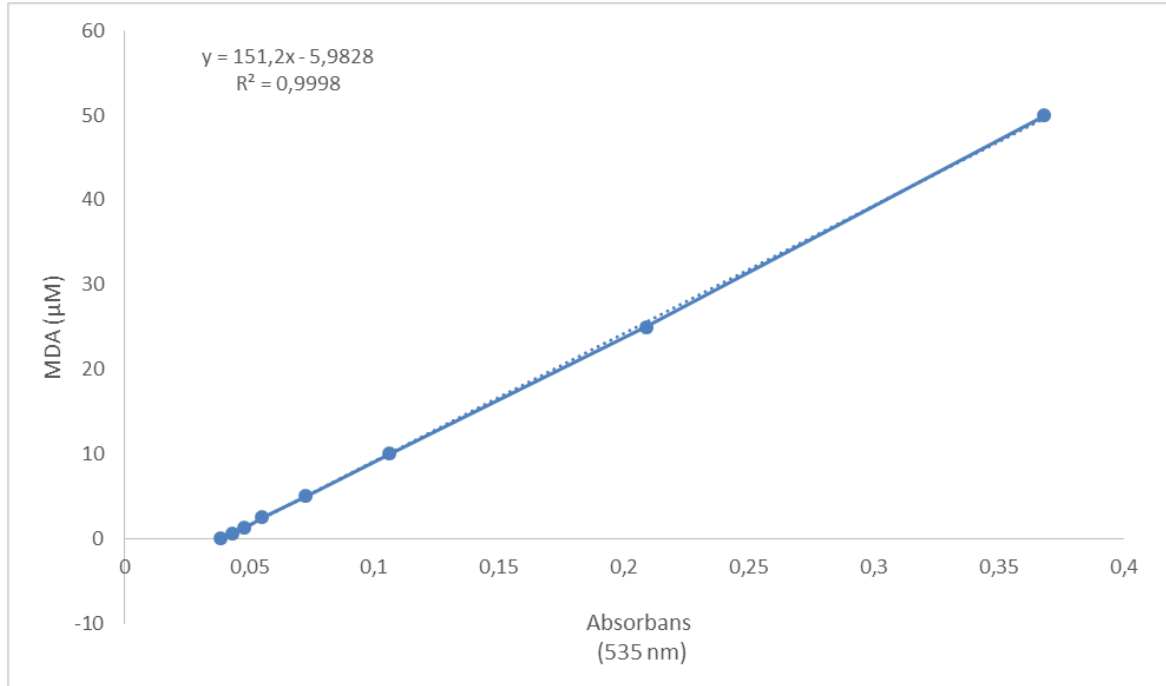
#### 4.8. Grupların MDA düzeylerinin karşılaştırılması

Deney sonunda alınan testis doku örnekleri üzerinde yapılan MDA analizlerini incelediğimizde Kontrol-Diyabet ve Sham-Diyabet grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanırken ( $p < 0.05$  \*), Diyabet-Q1, Diyabet-Q2 ve Diyabet-Q3 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlenmiştir ( $P < 0,05$ ). (Şekil 4.16, Şekil 4.17).



**Şekil 4.16:** Gruplar arası MDA seviyelerinin karşılaştırılması. Gruplar arasında \*  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı fark bulunmuştur.



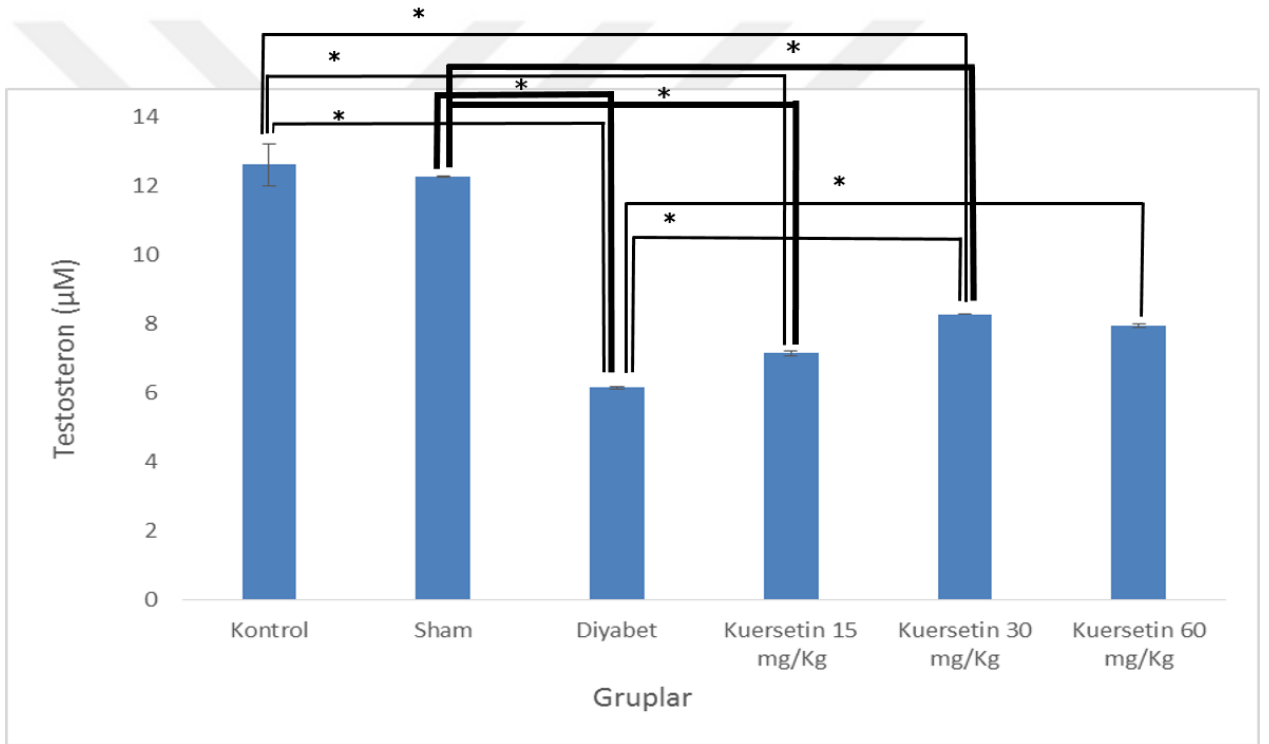


**Şekil 4.17:** MDA standart grafiği

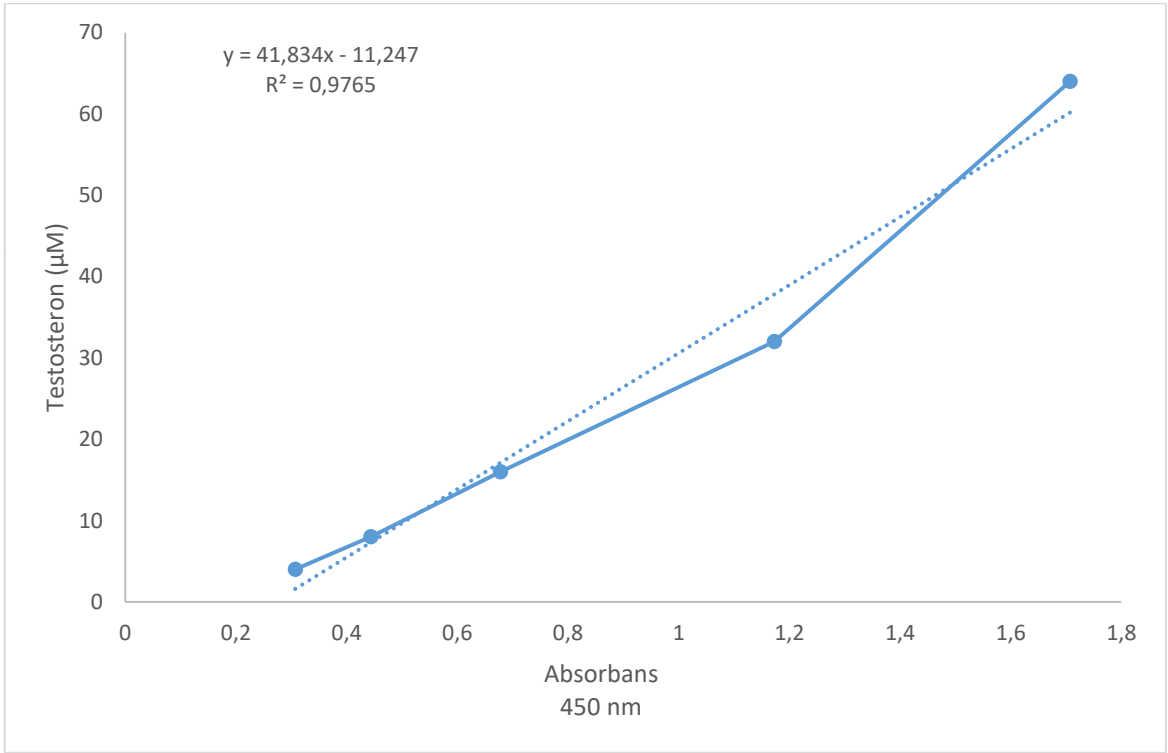
## 4.9. Grupların Testosteron seviyelerinin karşılaştırılması

Deney sonunda tüm deney gruplarından alınan kan örneklerinde serum testosteron düzeyleri karşılaştırıldığında Kontrol-Diyabet, Kontrol-Q1, Kontrol-Q2, Sham-Diyabet, Sham-Q1 ve Sham-Q2 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlendi ( $p < 0.05^*$ ).

Diyabet-Q2 ve Diyabet-Q3 grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlendi ( $p < 0,05^*$ ) (Şekil 4.18).



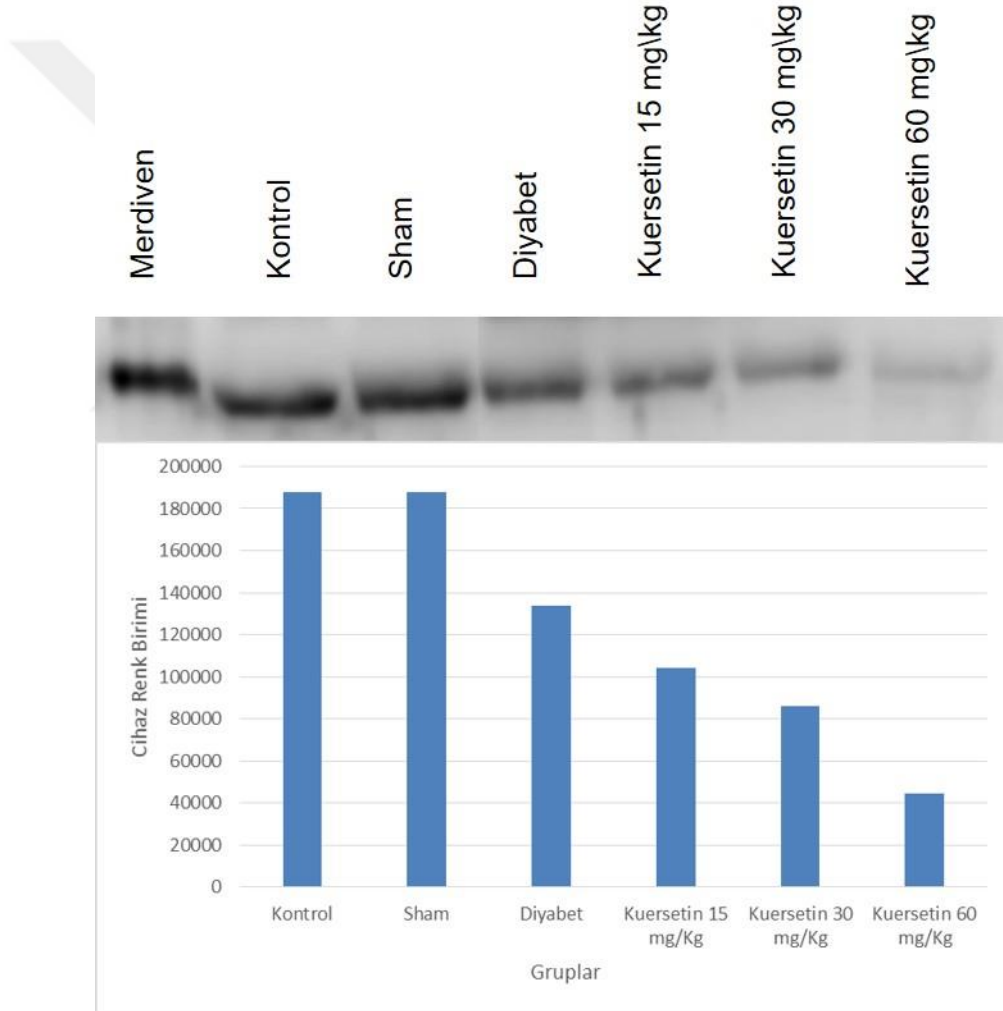
**Şekil 4.18:** Gruplar arası serum testosteron seviyesi. Gruplar arasında \*  $p < 0,05$  düzeyinde anlamlı fark vardır.



**Şekil 4.19:** Testosteron standart grafiği

#### 4.10. Western Blot Sonuçları

Tüm deney gruplarına ait testis örneklerinde Western Blot yöntemi ile GLUT-2 protein miktarı düzeyini incelediğimizde kontrol ve sham gruplarına göre diyabet grubunda GLUT-2 protein miktarının 0,71 kat, Q1 grubunda 0,55 kat, Q2 grubunda 0,46 kat ve Q3 grubunda ise 0,24 kat azaldığı görülmüştür (Şekil 4.20).



Şekil 4.20: GLUT2 proteinin gruplara göre Western blot analizi.

**Tablo 4.1:** Gruplar arası GLUT2 proteini kat değişimi

<b>Gruplar</b>	<b>Cihaz Renk Birimi</b>	<b>Kat Değişimi</b>
Kontrol	188000	1
Sham	188000	1
Diyabet	134000	0,712
Kuersetin 15 mg/Kg	104000	0,553
Kuersetin 30 mg/Kg	86200	0,458
Kuersetin 60 mg/Kg	44400	0,236

## 5. TARTIŞMA

Diabetes Mellitus, insülin eksikliği veya insülin direnci sonucu gelişip hiperglisemi ve glikozüriyle kendini gösteren, kronik ve akut komplikasyonlara neden olabilen endokrin bir hastalıktır (Jangir & Jain, 2014). Son yıllarda yapılan çalışmalar göz önünde bulundurulduğunda diyabetin neden olduğu komplikasyonların gelişmesinde en önemli etken olarak serbest radikal oluşumuyla antioksidan savunma mekanizması arasındaki dengesizlik sonucu oluşan oksidatif stres gösterilmektedir (Vural vd., 2001). Oksidatif stresin erkek üreme disfonksiyon ve anomalilerinin patofizyolojisinde önemli rol oynadığı bilinmektedir (Jangir & Jain, 2014).

Diyabetin farmakolojik yönden tedavisi hipoglisemik ilaçlar ve insülin üzerine kurulmuştur. Diyabet tedavisi için geleneksel bitki tedavilerine sıklıkla başvurulduğu bilinmekte olup bitkilerin hipoglisemik etkileri üzerinde de bilimsel çalışmalar yapılmaktadır. Antioksidanların büyük olasılıkla diyabette bozulan oksidatif stresin, protein glikasyonunun ve glukoz metabolizmasının düzeltilmesinde önemli etkiler oluşturabilecekleri düşünülmektedir (Öntürk & Özbek, 2007).

Deney hayvanlarında diyabet modeli kimyasal ajanlarla, spontan olarak veya virüs aracılığıyla yapılabilmektedir. STZ bu amaçla yaygın olarak kullanılan kimyasal maddelerden biridir (Kurçer & Karaoğlu, 2012). Tip I diyabet oluşturmak için yetişkin sıçanlarda i.p. yoldan 40-60 mg/kg arasındaki bir değer tek doz kullanımı yeterlidir (Green vd., 1996). Çalışmamızda, deneysel Tip 1 diyabet modeli oluşturmak üzere 50mg/kg STZ kullanılmıştır.

STZ ile deneysel diyabetin oluşturulduğu çalışmalarda, diyabetik sıçanların ağırlıklarının ilerleyen günlerle birlikte anlamlı bir şekilde azaldığı bildirilmiştir (Ballester vd., 2004; Kanter vd., 2012; Khaki vd., 2010; Seethalakshmi, Menon, & Diamond, 1987). Diyabetik sıçanların vücut ağırlığının protein ve lipidlerin yıkılması, terleme ve aşırı idrar atılımıyla oluşan dehidratasyon sonucu azaldığı düşünülmektedir. Bizim çalışmamızda da literatürlerle uyumlu şekilde diyabet grubunun vücut ağırlığının istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır.

Gelişmekte olan teknoloji, çevre kirliliği, X-UV ışınları, ilaçlar, sigara gibi pek çok etken oksidatif stres oluşturan maddelerle karşı karşıya kalmamıza neden olmaktadır. Bu etkiler kendini serbest radikal oluşumuyla göstermektedir. Serbest radikaller ise hücre yapısındaki lipitlere, proteinlere ve nükleik asitlere karşı oksidatif hasar yapmakta ve hücre içindeki yapıları

bozarak DNA'ya zarar vermektedir. Vücutta artmış serbest radikal düzeyleri, diyabet, koroner hastalıklar, kanser, karaciğer tahribatı, katarakt gibi çeşitli hastalıklara yol açabilmektedir (Boots vd., 2008; NİZAMLIOĞLU & Sebahattin, 2010). Ayrıca diyabetik dokularda oksidatif stresle ilişkili mitokondriyal DNA mutasyonları bildirilmiştir (Ramalho-Santos, Amaral, & Oliveira, 2008). Oksidatif stresle mitokondride oluşacak bir hasar, spermelerin gelişmesi için gerekli olan enerji seviyesinde bir düşüşe neden olabilmektedir (Dias vd., 2014). Antioksidanlar ise serbest radikallerin yıkıcı etkilerini engelleyerek, pek çok hastalığa neden olabilecek reaksiyonları önleyebilen moleküllerdir. Antioksidan aktivite gösteren flavonoidlerin, serbest radikal toplayıcı özelliği olduğu bilinmektedir. Doğada en yaygın bulunan flavonoid olan kuersetinin diğer flavonoidlere göre oldukça güçlü bir antioksidan etkinlik gösterdiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Yapılan *in-vitro* çalışmalar kuersetinin serbest radikalleri temizleme özelliklerine ilave olarak antienflamatuar, antiviral, antialerjik, antitrombotik, antiaterosklerotik, antitümoral ve kardiyoprotektif etkileri de olduğunu göstermektedir (Kelly, 2011). Kuersetin, oksidatif radikallerin temizlenmesi ve lipit peroksidasyona karşı koruma gösterdiği ve deneysel diyabet oluşturulmuş hayvanların tedavisinde oksidatif stresi azalttığı bilinmektedir (Kanter vd., 2012; Mahesh & Menon, 2004).

STZ ile diyabet oluşturulan sıçan testislerinde testis ağırlığında azalma, seminifer tübül yapısında bozulmayla birlikte seminifer tübüllerde atrofi ve spermatogenik seri hücrelerinde azalmaların görüldüğü bildirilmiştir (Kanter vd., 2012; Khaki vd., 2010; Kianifard, Sadrkhanlou, & Hasanzadeh, 2012; Ramalho-Santos vd., 2008; Scarano, Messias, Oliva, Klinefelter, & Kempinas, 2006) . Ayrıca Ballester vd., 2004 yılında yaptıkları çalışmada diyabetik sıçan testislerinde Leydig hücre sayısında azalma bildirirken; Kianifard,2012 yılında yaptıkları çalışmada ise interstisyel dokuda ödem gözlemlenmişlerdir (Ballester vd., 2004; Kianifard vd., 2012). Bizde çalışmamızda literatürlere paralel olarak diyabet grubunu oluşturan sıçanlarda kontrol grubuna göre düzensiz şekilli seminifer tübüller, germ hücre tabakalarında azalma, interstisyel alanda ödem, apikal blebler ve rezidüel cisimcikler gözlemledik.

Yapılan deneysel diyabet çalışmalarında, diyabet grubunu oluşturan sıçanların seminifer tübül çapında kontrol grubuna göre azalma olduğu bildirilmiştir (Cai vd., 2000; Kanter vd., 2012; Kianifard vd., 2012). Çalışmamızda sıçanların seminifer tübül çaplarını ölçtüğümüzde diyabet grubunu oluşturan sıçan seminifer tübül çaplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptadık.

Diyabetik testiste spermatogenez sırasında kontrolsüz apoptozisin meydana geldiği bildirilmiştir. Bu nedenle, diyabetik erkeklerdeki testiküler fonksiyon bozukluğunun patogenezinde apoptozisin önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Cai vd., 2000).

Khaki & Arash,2010 yılında yaptıkları diyabet çalışmasında kuersetin tedavisi uygulanan grupta apoptotik indeksin azaldığı, seminifer tübül yapısının ve epitelinin iyileştiğini göstermişlerdir. Kanter, 2012 yılında yaptığı çalışmada ise kuersetinin testis dokusu üzerindeki benzer iyileştici etkisini gözlemiştir. (Kanter vd., 2012; Khaki vd., 2010). Khaki & Arash, 2009 yılında yaptıkları çalışmalarında kuersetinin diyabetik sıçan testislerinde koruyucu etkisini incelemişlerdir ve kuersetinin epididimal sperm kalitesini arttırdığı bildirilmiştir (Khaki vd., 2009). Bizde çalışmamızda Kuersetin gruplarında; seminifer tübül epitelinde ve tübül çapında düzelleme ve epididimden alınan spermlerin kuyruklarında diyabetin neden olduğu ondulasyonlarda azalmalar gözlemledik. Kuersetin tedavisinin sıçan testislerinde histolojik olarak iyileşme sağladığını söyleyebiliriz. Diyabette artan serbest oksijen radikallerinin Bu iyileşmeler ise en fazla kuersetin 30mg/kg grubunda gözlenmekteydi.

Diyabetin neden olduğu Leydig hücre fonksiyonlarındaki değişimler, bu hücrelerin toplam sayısında ve androjen sentezinde bir azalmayı içermektedir (Khaki vd., 2010) ve bu etkilerin bir arada erkek libidosunu olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir.

Khaki & Aras (2010) ve Kanter (2012) yaptıkları çalışmalarda diyabette azalan testosteron hormonu seviyesinin Kuersetin tedavi grubunda tersine döndüğünü bildirmişlerdir (Kanter vd., 2012; Khaki vd., 2010). Bizim çalışmamızda da Diyabet ile birlikte Testosteron seviyesinin azaldığı saptanmıştır. Kuersetin uygulanan gruplarda ise düşen testosteron seviyesi istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir. En yüksek artış Kuersetin 30mg/kg verilen grupta gözlenmiştir.

Diyabette düşen Testosteron seviyesini gösteren deneysel çalışmalara paralel olarak yapılan klinik çalışmalarda bulunmaktadır. Maneesh vd., 2006 yılında Tip1 Diyabetli 35 erkek hasta ve 25 sağlıklı erkeklerle yaptıkları klinik çalışmalarında, diyabetik erkeklerin düşük Testosteron seviyesiyle birlikte düşmüş LH ve FSH seviyelerine ve artmış oksidatif strese sahip olduklarını bildirmişlerdir (Maneesh vd., 2006).

Serbest radikal düzeylerinin *in vivo* olarak ölçülmesi yüksek reaktiviteleri, kısa yarılanma ömürleri ve düşük konsantrasyonları nedeniyle zordur. Bu yüzden klinikte lipid peroksidasyonunun göstergesi olan MDA ve lipid peroksitler gibi oksidatif hasarın ikincil reaksiyon ürünlerinin tayin edildiği metotlar kullanılmaktadır. MDA, üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu ile meydana gelen bir çeşit aldehid ve lipid peroksidasyonunun son ürünüdür. Bu nedenle MDA miktarının ölçümü dokulardaki lipid peroksidasyonunun derecesini yansıtmaktadır. MDA, moleküler oksijen azalmasına sebep olarak süperoksit anyonu ve hidrojen peroksit oluşumuna neden olur. Bu ürünlerinde hücre ve dokularda hasara sebep olduğu bilinmektedir. Biyolojik ortamlarda MDA hem serbest hem de



protein ve nükleik asit gibi makromoleküllerin sülfür (SH) ve amin (NH<sub>2</sub>) gruplarına bağlı bulunmasından dolayı, genellikle total (serbest ve bağlı) MDA değerlendirilmektedir (Young & Woodside, 2001). Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açarak iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olduğu bilinmektedir (Mercan, 2004).

Yapılan diyabet çalışmalarında diyabet sıçanların MDA seviyelerinin kontrol gruplarına göre artan oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu ile paralel olarak istatistiksel bir şekilde artış gösterdiği bildirilmektedir (Adewole vd., 2007; Mohasseb, Ebied, Yehia, & Hussein, 2011).

Çalışmamızda oksidatif hasarın belirteci olarak tüm grupların testis doku MDA seviyelerini karşılaştırdık. Diyabet grubunda MDA seviyesi kontrol ve sham gruplarına göre artış göstermiştir. Bulgumuz literatürle paralellik göstermektedir. Kuersetin uygulanan gruplarda ise doz bağımlı olarak düşmüştür. Güçlü bir antioksidan olduğunu bildiğimiz Kuersetinin, diyabetle birlikte artan oksidatif stresi azaltarak diyabette artan MDA seviyesini düşürdüğünü düşünmekteyiz.

Adewole (2007), STZ kaynaklı diyabetik sıçanlarda kuersetin tedavisinin pankreatik  $\beta$  hücresinin bütünlüğünün korunduğu ve bunu direkt olarak lipid peroksitleri azaltarak ve dolaylı olarak endojen antioksidan üretimini arttırarak yaptığını bildirmişlerdir (Adewole vd., 2007). Kuersetinin lipid peroksidasyonu üzerindeki inhibasyon özelliği başka çalışmalarda da gösterilmiştir (Coskun, Kanter, Korkmaz, & Oter, 2005; Mahesh & Menon, 2004).

Olgun sperm hücresi yüksek bir glikolitik kapasiteye sahiptir ve glukozu etkili bir şekilde kullanabilmektedir. Sperm hücresinin fertilizasyon potansiyeli, akrozom reaksiyonu gibi bazı önemli değişikliklerinin devamlılığı için glukozun varlığına ihtiyaç duyulurken sperm hareketliliği için de glukozun gerekli olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Boussouar & Benahmed, 2004).

Glukozun hücre içine alınması için özelleşmiş taşıyıcılara ihtiyaç duyulmaktadır. GLUT'lar, glukozu enerji kullanımına ihtiyaç duymadan pasif olarak taşırlar. Bu pasif taşıma tüm memeli hücrelerinde kan glukozu ve hücre içi glukozun dengelenmesini sağlamaktadır (Kokk vd., 2003). GLUT'lar glukoz dışında fruktoz, vitamin ve glukozamin gibi amino şekerleri de taşıdıkları bilinmektedir.

İnsanlarda 14 farklı glukoz taşıyıcı olduğu bilinmektedir. Bunlardan GLUT2 glukoz dışında mannoz, galaktoz ve fruktozu da taşıyabilmektedir (Thorens, 2015). GLUT2, özellikle karaciğer, pankreas, bağırsak ve böbrekte iyi bilinen bir glukoz taşıyıcısıdır ve merkezi sinir sisteminde nöronlarda, astrositlerde ve tanisitlerde de eksprese edilmektedir (Leturque vd., 2009).

Kokk vd., 2003 yılında yaptıkları çalışmalarında sıçan testislerinde sertoli hücrelerinde, peritübüler myoid hücrelerde, spermatositlerde, spermatidlerde ve testiküler endotel hücrelerinde GLUT2 varlığını göstermişlerdir (Kokk vd., 2003). Bizde çalışmamızda testis dokusunda kontrol ve sham gruplarında özellikle spermatidler olmak üzere primer spermatosit ve interstisyel alanda yüksek düzeyde GLUT-2 immün reaktivitesi gözlemledik. Diyabet grubunda bu reaksiyon özellikle interstisyel alan ve spermatozoonlarla sınırlıydı. Kuersetin 15mg/kg grubunda bu reaksiyon nispeten artsa da Kuersetin 30mg/kg ve Kuersetin 60mg/kg gruplarında oldukça azalmıştı.

İnsan spermatozoasının GLUT1, GLUT2, GLUT3 ve GLUT5'i eksprese ettiği bilinmektedir. Angulo vd., 1998 sıçan spermalarında, sperm başında sadece akrozom seviyesinde GLUT2 reaksiyonu gördüklerini belirtirken, reaksiyonun sperm kuyruğu boyunca oldukça düşük seviyede olduğu bildirilmişlerdir (Angulo vd., 1998). Bizde çalışmamızda kontrol ve sham grubuna ait spermelerde bu literatürle uyumlu olarak akrozomda kuvvetli GLUT2 reaksiyonu gözlemlerken diğer gruplarda reaksiyon gözlenmedi.

Araştırmalarımız sonucunda diyabetik sıçan testislerinde GLUT2 ekspresyonunu irdeleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Bu noktada çalışmamız diyabetik testislerdeki GLUT2 kanallarının değişimini gösteren ilk çalışmadır. Ballester vd., 2004 yılında STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda yaptıkları çalışmalarında testis ve sperm hücrelerinde varlığı bilinen bir diğer glukoz taşıyıcı olan GLUT3 ekspresyonunu Western Blot ve immünohistokimya analizleriyle araştırmışlardır. Western blot sonuçlarına bakıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. IHC sonuçlarında ise kontrol grubunda dağınık bir GLUT3 reaksiyonu gözlenirken, diyabetik sıçanlarda intersitisyel alanda belirgin bir reaksiyon düşüşü gözlemlediklerini bildirmişlerdir (Ballester vd., 2004).

Angulo vd., 1998, insan testinde GLUT2 immünoreaktivitesinin testiküler hücrelerin plazma membranında ve sitoplazmasında olduğunu bildirmişlerdir (Angulo vd., 1998).

Guz, Nasir & Teitelman, 2001 yılında yaptıkları çalışmada pankreas adacık hücrelerinde GLUT2'nin sitoplazmik ve plazma membranında yerleşim gösterdiğini bildirmişlerdir (Guz, Nasir, & Teitelman, 2001).

Çalışmamızda testis dokusundan sitoplazmik total protein izolasyonu yapıldıktan sonra western blot analiziyle gruplar arası GLUT2 ifadesi araştırıldı. Tüm gruplarda GLUT2 ifadesi gözlemlendi. Gruplar arası karşılaştırma yaptığımızdaysa GLUT2 miktarının diyabetle beraber düştüğü, kuersetin uygulamalarıyla düşüşün doz bağımlı olarak devam ettiğini saptadık.

Yamamoto, Fukumoto, Koh, Yano, Yasuda, Masuda, Ikeda, Imura & Seino, (1991) STZ ile indüklenen diyabetik sıçanlarda yaptıkları çalışmada düşük insülin ve yüksek glukoz seviyesinin karaciğerdeki GLUT2 ekspresyonunu arttırdığını gözlemlemişlerdir (Yamamoto vd., 1991). Miyamoto, Hase, Taketani, Minami, Oka, Nakabou,& Hagihira (1991), Diyabetik sıçanların ince bağırsağında Glukoz taşıyıcıların gen ekspresyonunu inceledikleri çalışmalarında GLUT2 mRNA ekspresyonunun arttığını bildirmişlerdir (Miyamoto vd., 1991). Tersine, Thorens vd.,1992 diyabetik pankreaslarda GLUT2 ekspresyonunun gözle görülür şekilde azaldığını tespit etmişlerdir (Thorens, Wu, Leahy, & Weir, 1992). Çeşitli dokularda diyabet durumunda GLUT2 ifadesinde farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bizde çalışmamızda diyabetle beraber GLUT2 ifadesinin testiste azaldığını, kuersetin uygulamasıyla doz bağımlı bir düşüş saptadık.

Flavonoidlerin GLUT'lar üzerindeki inhibisyon etkisi daha önce GLUT1 ve GLUT4 üzerinden tanımlanmıştır. GLUT2 taşıyıcılarının şeker ve Kuersetin molekülü için farklı bağlanma bölgelerine sahip olduğu gösterilmiştir (Kwon vd., 2007).

GLUT2'nin glukoz ve fruktozu bağırsak lümeninden enterositlere taşıdığı bilinmektedir. Kwon vd., 2007 yılında yaptıkları çalışmalarında Kuersetin ve metabolitlerinin yeterli düzeyde bulunmalarının intraluminal alanda apikal ve bazolateral GLUT2'leri inhibe ettiği, GLUT2 tarafından glukoz ve fruktoz taşınmasının durduğunu göstermişlerdir. Bu şekilde glukoz emilimi inhibe edilerek kan glukozunun düzenlendiği göstermişlerdir (Kwon vd., 2007).

Yapılan çalışmalar kuersetinin, uzun vadeli çalışmalarda belirgin toksisitesi olmadığını göstermiştir. Oral yoldan verilen 1 g Kuersetinin 50-100 g glukozun emilimini engelleyebileceği düşünülmektedir (Kwon vd., 2007). Bu durum diyabetli kişilerde hipergliseminin azaltılması ve diyabet hastalığının getirdiği ikincil hastalıkların tedavisinde alternatif bir tedavi yaklaşımı olarak kuersetinin kullanılabilirliğini göstermektedir.

## 6. Sonuç ve Öneriler

### *Sonuçlar*

- Deneysel sonuçta vücut ağırlıkları diyabet grubunda düşüş göstermiştir. Kuersetin gruplarında diyabet grubuna göre kilo artışı görülse de bu artış kontrol grubunun altında gözlenmiştir.
- Diyabetle birlikte artan kan şekeri düzeyleri Kuersetin gruplarında doz bağımlı olarak azalma göstermiştir.
- Testis dokusunun histopatolojik incelemesinde diyabet grubunda görülen dejenerasyonu en iyi 30mg/kg kuersetinin giderdiği görülmüştür.
- Diyabetle oluşan sperm hasarının kuersetinle düzeldiği görülmüştür.
- Diyabet grubunda azalma gösteren seminifer tübül çapları kuersetin gruplarında anlamlı bir şekilde artmıştır.
- Diyabet grubunda azalan serum testosteron seviyesi 15mg/kg ve 30mg/kg kuersetin gruplarında anlamlı bir artış göstermesine karşın en belirgin artış 30mg/kg kuersetin grubunda görülmüştür.
- Kontrol grubuna göre diyabet grubunda anlamlı bir artış gösteren MDA seviyesi, Kuersetin gruplarında doz bağımlı olarak azalma göstermiştir. Kuersetinin oksidatif stresi azalttığı saptanmıştır.
- Kuersetin uygulanan diyabetik sıçanlarda GLUT2 ifadesinin testislerde doz bağımlı düştüğü görülmüştür.
- Diyabet ve Kuersetin gruplarının spermlerinde GLUT2 ekspresyonu görülmemiştir.

### *Öneriler*

Bu bulgular farmakolojik olarak, inhibitör bir flavonoid olduğu bilinen kuersetinin bağırsak lümeninde glukoz absorpsiyon oranını veya mutlak miktarını azaltarak diyabetin alternatif bir tedavisi olabileceğini göstermiştir. Kuersetin ve diyabet konuları temel alınarak ilaç geliştirme çalışmaları yapılabilir.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

- Adewole, S. O., Caxton-Martins, E. A., & Ojewole, J. A. (2007). Protective effect of quercetin on the morphology of pancreatic  $\beta$ -cells of streptozotocin-treated diabetic rats. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 4(1), 64-74.
- Aguiree, F., Brown, A., Cho, N. H., Dahlquist, G., Dodd, S., Dunning, T., . . . Patterson, C. (2013). IDF diabetes atlas.
- Aitken, R. J., & Roman, S. D. (2008). Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 1(1), 15-24.
- Altan, N., Dincel, A. S., & Koca, C. (2006). Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Türk Biyokimya Dergisi/Turkish Journal of Biochemistry*, 1(31), 51-56.
- Alves, M., Martins, A., Rato, L., Moreira, P., Socorro, S., & Oliveira, P. (2013). Molecular mechanisms beyond glucose transport in diabetes-related male infertility. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1832(5), 626-635.
- Alves, M. G., Martins, A. D., Cavaco, J. E., Socorro, S., & Oliveira, P. F. (2013). Diabetes, insulin-mediated glucose metabolism and Sertoli/blood-testis barrier function. *Tissue barriers*, 1(2), e23992.
- Alves, M. G., Rato, L., Carvalho, R. A., Moreira, P. I., Socorro, S., & Oliveira, P. F. (2013). Hormonal control of Sertoli cell metabolism regulates spermatogenesis. *Cellular and molecular life sciences*, 70(5), 777-793.
- Angulo, C., Rauch, M. C., Droppelmann, A., Reyes, A. M., Slebe, J. C., Delgado-López, F., . . . Concha, I. I. (1998). Hexose transporter expression and function in mammalian spermatozoa: cellular localization and transport of hexoses and vitamin C. *Journal of cellular biochemistry*, 71(2), 189-203.
- Association, A. D. (2014). Standards of medical care in diabetes—2014. *Diabetes Care*, 37(Supplement 1), S14-S80.
- Babu, S. R., Sadhnani, M., Swarna, M., Padmavathi, P., & Reddy, P. (2004). Evaluation of FSH, LH and testosterone levels in different subgroups of infertile males. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 19(1), 45-49.
- Baghel, S. S., Shrivastava, N., Baghel, R. S., Agrawal, P., & Rajput, S. (2012). A review of quercetin: antioxidant and anticancer properties. *World J Pharm Pharmaceutical Sci*, 1(1), 146-160.
- Ballester, J., Muñoz, M. C., Domínguez, J., Rigau, T., Guinovart, J. J., & Rodríguez-Gil, J. E. (2004). Insulin-dependent diabetes affects testicular function by FSH-and LH-linked mechanisms. *Journal of andrology*, 25(5), 706-719.
- Bancroft, J. D., & Gamble, M. (2008). *Theory and practice of histological techniques*: Elsevier Health Sciences.
- Boots, A. W., Haenen, G. R., & Bast, A. (2008). Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical. *European journal of pharmacology*, 585(2), 325-337.
- Boussouar, F., & Benahmed, M. (2004). Lactate and energy metabolism in male germ cells. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 15(7), 345-350.
- Brüning, J. C., Gautam, D., Burks, D. J., Gillette, J., Schubert, M., Orban, P. C., . . . Kahn, C. R. (2000). Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. *Science*, 289(5487), 2122-2125.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Bucci, D. (2010). *Detection and localization of GLUTs in spermatozoa from different domestic species*. *Alma*.
- Bucci, D., Rodriguez-Gil, J. E., Vallorani, C., Spinaci, M., Galeati, G., & Tamanini, C. (2011). GLUTs and mammalian sperm metabolism. *Journal of andrology*, 32(4), 348-355.
- Cai, L., Chen, S., Evans, T., Deng, D. X., Mukherjee, K., & Chakrabarti, S. (2000). Apoptotic germ-cell death and testicular damage in experimental diabetes: prevention by endothelin antagonism. *Urological research*, 28(5), 342-347.
- Cemeli, E., Baumgartner, A., & Anderson, D. (2009). Antioxidants and the Comet assay. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 681(1), 51-67.
- Control, D., & Group, C. T. R. (1993). The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 1993(329), 977-986.
- Coskun, O., Kanter, M., Korkmaz, A., & Oter, S. (2005). Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and  $\beta$ -cell damage in rat pancreas. *Pharmacological research*, 51(2), 117-123.
- ÇİMEN, M. B. Y. (1999). Flavonoidler ve antioksidan özellikleri. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 19(5), 296-304.
- Değişiklikler, M. G. H. (2002). Deneysel Diyabetin Sıçan Testislerinde.
- Dias, T. R., Alves, M. G., Silva, B. M., & Oliveira, P. F. (2014). Sperm glucose transport and metabolism in diabetic individuals. *Molecular and cellular endocrinology*, 396(1), 37-45.
- Elliott, A. J., Scheiber, S. A., Thomas, C., & Pardini, R. S. (1992). Inhibition of glutathione reductase by flavonoids: a structure-activity study. *Biochemical pharmacology*, 44(8), 1603-1608.
- Gibellini, L., Pinti, M., Nasi, M., Montagna, J., De Biasi, S., Roat, E., . . . Cossarizza, A. (2011). Quercetin and cancer chemoprevention. *Evidence-Based Complementary Alternative Medicine* 15 (Article no. 591356), ht tp. dx. doi. org/10.1093/ecam/neaq053.
- Green, A., Sjølie, A. K., & Eshøj, O. (1996). Trends in the epidemiology of IDDM during 1970–2020 in Fyn County, Denmark. *Diabetes Care*, 19(8), 801-806.
- Group, U. P. D. S. (1995). UK Prospective Diabetes Study 16: overview of 6 years' therapy of type II diabetes: a progressive disease. *Diabetes*, 44(11), 1249-1258.
- Guyton, A. C., Hall, J. E., Çavuşoğlu, H., Yeğen, B. Ç., Aydın, Z., & Alican, İ. (2007). *Tıbbi fizyoloji: Nobel Tıp Kitabevleri*.
- Guz, Y., Nasir, I., & Teitelman, G. (2001). Regeneration of pancreatic  $\beta$  cells from intra-islet precursor cells in an experimental model of diabetes. *Endocrinology*, 142(11), 4956-4968.
- Güven, E. Ç., Otkun, G. T., & Boyacıoğlu, D. (2010). Flavonoidlerin biyoyararlılığını etkileyen faktörler. *Gıda Dergisi*, 35(5).
- Hassa, H. (2003). IVF Tarihi. *İnfertil Olgulara Klinik Yaklaşım Ve IVF Laboratuvar Uygulamaları*. Ed: Hassa H. Osmangazi Üniversitesi Yayınları, Osmangazi Üniversitesi Basımevi.
- Health, M. o. (2015). Türkiye Diyabet Programı 2015-2020. July 9, 2015, from [http://diyabet.gov.tr/content/files/guncel/turkiye\\_diyabet\\_programi.pdf](http://diyabet.gov.tr/content/files/guncel/turkiye_diyabet_programi.pdf)
- Hollman, P. C., de Vries, J. H., van Leeuwen, S. D., Mengelers, M. J., & Katan, M. B. (1995). Absorption of dietary quercetin glycosides and quercetin in healthy ileostomy volunteers. *The American journal of clinical nutrition*, 62(6), 1276-1282.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

İrer, S. V., & Alper, G. Deneysel Diyabet Modelleri.

- Jangir, R., & Jain, G. (2014). Diabetes mellitus induced impairment of male reproductive functions: a review. *Current diabetes reviews*, 10(3), 147-157.
- Junqueira, L. (2006). Carneiro J (Çeviri: Y. Aytekin, S. Solakoğlu). *Temel Histoloji. İstanbul: Nobel matbaacılık*, 299-307.
- Kanter, M., Aktas, C., & Erboga, M. (2012). Protective effects of quercetin against apoptosis and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Food and chemical toxicology*, 50(3), 719-725.
- Kanter, M., Uysal, H., Karaca, T., & Sagmanligil, H. O. (2006). Depression of glucose levels and partial restoration of pancreatic  $\beta$ -cell damage by melatonin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Archives of toxicology*, 80(6), 362-369.
- Kasnak, C., & Palamutoğlu, R. (2015). Doğal Antioksidanların Sınıflandırılması ve İnsan Sağlığına Etkileri. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*, 3(5).
- Kasprzak, K. S. (2002). Oxidative DNA and protein damage in metal-induced toxicity and carcinogenesis 1, 3. *Free Radical Biology and Medicine*, 32(10), 958-967.
- Kelly, G. S. (2011). Quercetin. *Altern. Med. Rev.*, 16(2), 172-194.
- Khaki, A., Fathiazad, F., Nouri, M., Khaki, A., Maleki, N. A., Khamnei, H. J., & Ahmadi, P. (2010). Beneficial effects of quercetin on sperm parameters in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Phytotherapy Research*, 24(9), 1285-1291.
- Khaki, A., Nouri, M., Fathiazad, F., Ahmadi-Ashtiani, H., Rastgar, H., & Rezazadeh, S. (2009). Protective effects of quercetin on spermatogenesis in streptozotocin-induced diabetic rat. *Journal of Medicinal Plants*, 1(29), 57-64.
- Kianifard, D., Sadrkhanlou, R. A., & Hasanzadeh, S. (2012). The ultrastructural changes of the sertoli and leydig cells following streptozotocin induced diabetes. *Iranian journal of basic medical sciences*, 15(1), 623-635.
- Kocabaş, N. (2008). *Homosisteinin İndüklediği Oksidatif Stres Üzerinde Quercetin'in Koruyucu Etkisi*. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Kokk, K., Veräjänkorkva, E., Wu, X., Tapfer, H., Poldoja, E., & Pöllänen, P. (2003). Immunohistochemical detection of glucose transporters class I subfamily in the mouse, rat and human testis. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 40(2), 156-160.
- Kurçer, Z., & Karaoğlu, D. (2012). Deneysel diyabet modellerinde alloksan ve streptozotosin kullanımı. *Türk Jem*, 16, 34-40.
- Kuyvenhoven, J., & Meinders, A. (1999). Oxidative stress and diabetes mellitus: pathogenesis of long-term complications. *European Journal of Internal Medicine*, 10(1), 9-19.
- Kühnau, J. (1976). The flavonoids. A class of semi-essential food components: their role in human nutrition *World review of nutrition and dietetics* (pp. 117-191): Karger Publishers.
- Kwon, O., Eck, P., Chen, S., Corpe, C. P., Lee, J.-H., Kruhlak, M., & Levine, M. (2007). Inhibition of the intestinal glucose transporter GLUT2 by flavonoids. *The FASEB Journal*, 21(2), 366-377.
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51(2), 216-226.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Leturque, A., Brot-Laroche, E., & Le Gall, M. (2009). GLUT2 mutations, translocation, and receptor function in diet sugar managing. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 296(5), E985-E992.
- Mahesh, T., & Menon, V. P. (2004). Quercetin alleviates oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytotherapy Research*, 18(2), 123-127.
- Maneesh, M., Jayalakshmi, H., Singh, T., & Chakrabarti, A. (2006). Impaired hypothalamic-pituitary-gonadal axis function in men with diabetes mellitus. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 21(1), 165-168.
- MEMİŞOĞULLARI, R. (2005). Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi.
- Mercan, U. (2004). Toksikolojide serbest radikallerin önemi. *YYU Vet Fak Derg*, 15(1-2), 91-96.
- Miles, S. L., McFarland, M., & Niles, R. M. (2014). Molecular and physiological actions of quercetin: need for clinical trials to assess its benefits in human disease. *Nutrition reviews*, 72(11), 720-734.
- Miyamoto, K.-i., Hase, K., Taketani, Y., Minami, H., Oka, T., Nakabou, Y., & Hagihira, H. (1991). Diabetes and glucose transporter gene expression in rat small intestine. *Biochemical and biophysical research communications*, 181(3), 1110-1117.
- Mohasseb, M., Ebied, S., Yehia, M. A., & Hussein, N. (2011). Testicular oxidative damage and role of combined antioxidant supplementation in experimental diabetic rats. *Journal of physiology and biochemistry*, 67(2), 185-194.
- Moore, K., & TVN, P. (2002). İnsan embriyolojisi, klinik yönleri ile. *Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H (Editörler). 6ncı Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi*, 398-401.
- Murata, M., Takahashi, A., Saito, I., & Kawanishi, S. (1999). Site-specific DNA methylation and apoptosis: induction by diabetogenic streptozotocin. *Biochemical pharmacology*, 57(8), 881-887.
- Nabavi, S. F., Nabavi, S. M., Mirzaei, M., & Moghaddam, A. H. (2012). Protective effect of quercetin against sodium fluoride induced oxidative stress in rat's heart. *Food & function*, 3(4), 437-441.
- Nabavi, S. F., Russo, G. L., Daglia, M., & Nabavi, S. M. (2015). Role of quercetin as an alternative for obesity treatment: you are what you eat! *Food chemistry*, 179, 305-310.
- Nijveldt, R. J., Van Nood, E., Van Hoorn, D. E., Boelens, P. G., Van Norren, K., & Van Leeuwen, P. A. (2001). Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *The American journal of clinical nutrition*, 74(4), 418-425.
- NİZAMLIOĞLU, N. M., & Sebahattin, N. (2010). Meyve ve sebzelerde bulunan fenolik bileşikler; yapıları ve önemleri. *Electronic Journal of Food Technologies*, 5(1), 20-35.
- Organization, W. H. (2015). The top ten causes of death. from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/#>
- Ovalle, W. K., Netter, F. H., Chovan, J., Müftüoğlu, S., Kaymaz, F., & Atilla, P. (2009). *Netter temel histoloji: Güneş Tıp Kitabevleri*.
- Öntürk, H., & Özbek, H. (2007). Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şeker seviyesinin ölçülmesi. *Genel Tıp Derg*, 17(4), 231-236.
- Peltola, V., Huhtaniemi, I., & Ahotupa, M. (1992). Antioxidant enzyme activity in the maturing rat testis. *Journal of andrology*, 13, 450-450.



## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Pergialiotis, V., Prodromidou, A., Frountzas, M., Korou, L. M., Vlachos, G. D., & Perrea, D. (2016). Diabetes mellitus and functional sperm characteristics: A meta-analysis of observational studies. *Journal of diabetes and its complications*, 30(6), 1167-1176.
- Pitteloud, N., Hardin, M., Dwyer, A. A., Valassi, E., Yialamas, M., Elahi, D., & Hayes, F. J. (2005). Increasing insulin resistance is associated with a decrease in Leydig cell testosterone secretion in men. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(5), 2636-2641.
- Ramalho-Santos, J., Amaral, S., & Oliveira, P. J. (2008). Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species. *Current diabetes reviews*, 4(1), 46-54.
- Ross, J. A., & Kasum, C. M. (2002). Dietary flavonoids: bioavailability, metabolic effects, and safety. *Annual review of Nutrition*, 22(1), 19-34.
- Ross, M. H., & Pawlina, W. (2006). *Histology*: Lippincott Williams & Wilkins.
- Sadler, T. (2005). Langman Medikal Embriyoloji, (Çev.: Başaklar, AC), 9. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Sahinturk, V., Guclu, C., & Baycu, C. (2007). Protective effects of vitamin E on ethane dimethane sulfonate-induced testicular toxicity in rats. *Asian journal of andrology*, 2007;9:117-24
- Scalbert, A., Johnson, I. T., & Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 215S-217S.
- Scarano, W., Messias, A., Oliva, S., Klinefelter, G., & Kempinas, W. (2006). Sexual behaviour, sperm quantity and quality after short-term streptozotocin-induced hyperglycaemia in rats. *International journal of andrology*, 29(4), 482-488.
- Schnedl, W. J., Ferber, S., Johnson, J. H., & Newgard, C. B. (1994). STZ transport and cytotoxicity: specific enhancement in GLUT2-expressing cells. *Diabetes*, 43(11), 1326-1333.
- Seethalakshmi, L., Menon, M., & Diamond, D. (1987). The effect of streptozotocin-induced diabetes on the neuroendocrine-male reproductive tract axis of the adult rat. *The Journal of urology*, 138(1), 190-194.
- Sexton, W. J., & Jarow, J. P. (1997). Effect of diabetes mellitus upon male reproductive function. *Urology*, 49(4), 508-513.
- Singh, K., Devi, S., & Pankaj, P. P. (2016). Diabetes Associated Male Reproductive Dysfunctions: Prevalence, Diagnosis and Risk Factors. *International Journal of Drug Development and Research*.
- So, F. V., Guthrie, N., Chambers, A. F., & Carroll, K. K. (1997). Inhibition of proliferation of estrogen receptor-positive MCF-7 human breast cancer cells by flavonoids in the presence and absence of excess estrogen. *Cancer letters*, 112(2), 127-133.
- Songur, A., Karateke, H., Tosun, M., Gönül, Y., & Turamanlar, O. (2016). Ratlarda Postnatal Dönemde Testis Dokusu ile Kan Testis Bariyerinin Gelişiminin Histomorfometrik ve İmmunohistokimyasal Değerlendirilmesi. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 17(2).
- Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research*, 50(6), 537-546.
- Thorens, B. (2015). GLUT2, glucose sensing and glucose homeostasis. *Diabetologia*, 58(2), 221-232.
- Thorens, B., Wu, Y., Leahy, J. L., & Weir, G. C. (1992). The loss of GLUT2 expression by glucose-unresponsive beta cells of db/db mice is reversible and is induced by the diabetic environment. *Journal of Clinical Investigation*, 90(1), 77.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

- Uchiyama, M., & Mihara, M. (1978). Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Analytical biochemistry*, 86(1), 271-278.
- Vaez, A., Mardani, M., & Razavi, S. (2014). Impact of saffron on rat sperm membrane integrity and spermatogenesis status. *Advanced biomedical research*, 3.
- Vessal, M., Hemmati, M., & Vasei, M. (2003). Antidiabetic effects of quercetin in streptozocin-induced diabetic rats. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 135(3), 357-364.
- Vignera, S., Condorelli, R., Vicari, E., D'Agata, R., & Calogero, A. E. (2012). Diabetes mellitus and sperm parameters. *Journal of andrology*, 33(2), 145-153.
- Vincent, A. M., Russell, J. W., Low, P., & Feldman, E. L. (2004). Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocrine reviews*, 25(4), 612-628.
- Vural, H., Sabuncu, T., Arslan, S. O., & Aksoy, N. (2001). Melatonin inhibits lipid peroxidation and stimulates the antioxidant status of diabetic rats. *Journal of pineal research*, 31(3), 193-198.
- West, E., Simon, O. R., & Morrison, E. (1996). Streptozotocin alters pancreatic beta-cell responsiveness to glucose within six hours of injection into rats. *The West Indian medical journal*, 45(2), 60-62.
- Wood, I. S., & Trayhurn, P. (2003). Glucose transporters (GLUT and SGLT): expanded families of sugar transport proteins. *British Journal of Nutrition*, 89(01), 3-9.
- Yamamoto, T., Fukumoto, H., Koh, G., Yano, H., Yasuda, K., Masuda, K., . . . Seino, Y. (1991). Liver and muscle-fat type glucose transporter gene expression in obese and diabetic rats. *Biochemical and biophysical research communications*, 175(3), 995-1002.
- Yıldırım, M. (1999). *İnsan anatomisi: Nobel Tıp Kitabevleri*.
- Yılmaz, İ. (2010). Antioksidan içeren bazı gıdalar ve oksidatif stres. *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, 17(2).
- Young, I., & Woodside, J. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of clinical pathology*, 54(3), 176-186.

## 7. Ekler Dizini



T.C.  
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ  
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU ( HADYEK)

### HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ : 14. 01. 2016  
TOPLANTI SAYISI : 91  
DOSYA KAYIT NUMARASI : 491  
KARAR NUMARASI : 491  
ARAŞTIRMA YÜRÜTÜCÜSÜ : Prof. Dr. Cengiz BAYÇU  
YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR : Yüksek Lisans Öğr. Öykü ÖZCAN  
Arş. Gör. N. Ezgi BEKTUR  
Arş. Gör. Erhan ŞAHİN  
HAYVAN TÜRÜ ve SAYISI : Wistar Albino ( 48 adet erkek )

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Prof. Dr. Cengiz BAYÇU'nun araştırma yürütücüsü olduğu 491/2016 kayıt numaralı ve " Streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda kuersetin'in testis dokusuna etkisi " konulu çalışma; Deney Hayvanları Etik Kurulu Yönergesi'ne göre değerlendirilmiş ve gerekçede belirtildiği şekilde yapılması uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Keyser EROL (Başkan)

Prof. Dr. Kubilay UZUNER (Üye)

Prof. Dr. Hasan V. GÜNEŞ (Üye)

Prof. Dr. Emel ULUPINAR. (Üye)

Doç. Dr. Engin YILDIRIM (Üye)

Yrd. Doç. Dr. Ünal ÖZELMAS (Üye)

Yrd.Doç.Dr.Nurdan KIRIMLIOĞLU (Üye)

Vet.Hek .Yrd.Doç.Dr.Oya ERALP İNAN (Üye)

Vet. Hek. Refik ARTAN (Üye)

Avukat Şükrü KIRDEMİR (Üye)

Adres: Meşelik Kampüsü 26480 Eskişehir  
Telefon: 0 222 239 29 79 / (45 63)

## 8. Özgeçmiş

### Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : ÖYKÜ ÖZCAN  
Doğum tarihi ve yeri : 23.07.1990  
Uyruğu : T.C.  
Medeni durumu : Bekar  
İletişim adresleri : oykuuozcan@hotmail.com

### Eğitim Durumu

1997-2002 **Kardelen İlköğretim Okulu**  
2002-2005 **Refika Aksoy İlköğretim Okulu**  
2005-2007 **Batıkent Lisesi**  
2008-2014 **Ankara Üniversitesi** Biyoloji Bölümü  
2011-2012 **Jagiellonian Üniversitesi** Zooloji Bölümü (Erasmus Programı)  
2014 –devam ediyor **Eskişehir Osmangazi Üniversitesi** Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans

### Yabancı diller

İngilizce seviyesi : İyi

### Katıldığı Kongreler:

**2011**-Ege Üniversitesi 3.Kök Hücre Sempozyumu

**9-10 Temmuz 2013** Scuola Superiore Sant'Anna Üniversitesi-İtalya  
'Stem cells and heart:shipyards from the future'

**2016** XIII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi

**2016** 'ALZHEIMER HASTALIĞININ MOLEKÜLER TEMELİ VE YENİ TEDAVİ STRATEJİLERİ ' Sempozyumu

**Poster Bildirisi:**

Özcan Öykü, BEKTUR NURİYE EZGİ, SAHİN ERHAN, BAYCU CENGİZ (2016). Mirtazapin'in diyabetik karaciğer üzerine etkisi. 13. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi. (Yayın No: 2812558)

