



RUŞEYM YAĞININ DİYABETE BAĞLI TESTİKÜLER HASAR ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİ YÖNÜNDE İNCELENMESİ

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF WHEAT GERM OIL ON DIABETES-RELATED TESTICULAR DAMAGE IN TERMS OF OXIDATIVE STRESS PARAMETERS

Aylin BALCI ÖZYURT^{1*} , Sezen YILMAZ SARIALTIN² 

¹Bahçeşehir Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, 34353, İstanbul, Türkiye
²Ankara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı, 06560, Ankara, Türkiye

ÖZ

Amaç: Ruşeym yağının (RY) diyabetin neden olduğu testiküler hasar üzerinde oksidatif stres aracılı etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: 42 erkek Wistar albino sıçan randomize 6 gruba ayrılmıştır: kontrol, kontrol düşük doz (100 mg/kg/gün), kontrol yüksek doz (1000 mg/kg/gün), diyabet kontrol, diyabet düşük doz (100 mg/kg/gün), diyabet yüksek doz (1000 mg/kg/gün). Diyabet ve kontrol gruplarına 28 gün süre ile gavajla RY uygulanmıştır. Her hafta kan glukoz düzeyleri ölçülmüştür. Ötenazinin ardından testis dokuları çıkartılmıştır. Dokular homojenize edilmiş ve Bradford yöntemi ile total protein düzeyleri ölçülmüştür. Lipit peroksidasyonunun göstergesi olarak dokularda MDA düzeyleri, oksidatif stresin göstergesi olarak glutatyon düzeyleri ölçülmüştür.

Sonuç ve Tartışma: Kontrol grubunda hem düşük, hem de yüksek doz RY uygulaması rölatif testis ağırlığında azalmaya neden olmuştur. Diyabetik yüksek doz RY grubunun rölatif testis ağırlığı diyabet kontrol grubuna göre azalmıştır. Kan glukoz düzeyleri ve vücut ağırlıklarında RY'ye bağlı olarak anlamlı farklılık görülmemiştir ($p>0.05$). Diyabetik hayvanlar arasında en düşük testis MDA düzeyleri diyabet yüksek doz grubunda bulunmuştur. Kontrol düşük doz grubunda glutatyon düzeyleri artmıştır. Ancak gruplar arasında MDA ve glutatyon düzeyi bakımından anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$). Halk arasında kullanımı ve antioksidan aktivitesi olan RY'nin seksüel hormonlar ve diğer moleküler yollar üzerindeki etkisinin araştırılacağı yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Buğday ruşeymi, oksidatif stres, ruşeym yağı, testiküler hasar

ABSTRACT

Objective: Our study aimed to investigate the oxidative stress-mediated effect of wheat germ oil (WGO) on testicular damage caused by diabetes.

Material and Method: 42 male Wistar albino rats were randomly divided into 6 groups: control, control low-dose (100 mg/kg/day), control high-dose (1000 mg/kg/day), diabetes control, diabetes low-dose (100 mg/kg/day), diabetic high-dose (1000 mg/kg/day). RY/carrier cornoil was applied to the diabetes and control groups by gavage for 28 days. Blood glucose levels were measured every week. Following euthanasia, testicular tissues were removed. Tissues were homogenized and total protein levels were measured by Bradford method. MDA levels were measured in tissues as an

* Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Aylin Balcı Özyurt
e-posta / e-mail: aylinbalci87@gmail.com, Tel. / Phone: +902123810000

Gönderilme / Submitted : 06.11.2023

Kabul / Accepted : 27.11.2023

Yayınlanma / Published : 20.01.2024

indicator of lipid peroxidation, and glutathione levels were measured as an indicator of oxidative stress.

Result and Discussion: *Both low and high dose WGO administration in the control group caused a decrease in relative testicular weight. The relative testicular weight of the high dose diabetic group decreased compared to the diabetic control group. There was no significant difference in blood glucose levels and body weights depending on WGO ($p>0.05$). Among diabetic animals, the lowest testicular MDA levels were found in the high -dose group. Glutathione levels increased in the control low-dose group. However, there was no significant difference between the groups in terms of MDA and glutathione levels ($p>0.05$). Further research is needed to investigate the effectiveness of WGO, which has a traditionally usage and antioxidant activity, on sexual hormones and other molecular pathways.*

Keywords: *Germ oil, oxidative stress, testicular damage, wheat germ*

GİRİŞ

Diyabet, pankreasın yeterli insülin üretememesi ya da üretilen insülinin vücut tarafından kullanılamamasıyla ortaya çıkan; zamanla kalpte, kan damarlarında, gözlerde, böbreklerde, sinir sistemi ve üreme sisteminde ciddi hasarlara yol açabilen, yüksek kan glukoz düzeyleri ile karakterize edilen, kronik, metabolik bir hastalıktır [1]. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği diyabeti, insülin eksikliği ya da periferik dokularda insülin etkisine karşı gelişmiş olan, “insülin direnci” nedeniyle ortaya çıkan, organizmanın karbonhidrat, yağ ve proteinlerden yeterince yararlanamadığı, pek çok organı etkileyerek multisistemik tutulumu neden olan, hiperglisemi ile karakterize, sürekli tıbbi bakım gerektiren, kronik ve geniş spekturumlu bir metabolizma hastalığı olarak tanımlamaktadır [2]. Uluslararası Diyabet Federasyonu (International Diabetes Federation, IDF) 2021 yılı verilerine göre dünya genelinde yaklaşık 537 milyon yetişkin (20-79 yaş) diyabet hastası bulunmaktadır. Bu sayının 2030 yılında 643 milyon, 2045 yılında 783 milyon olacağı tahmin edilmektedir [3]. 2022 IDF verileri Türkiye’de erişkinlerin (20-79 yaş) %15.9’unun diyabet hastası olduğunu ve bu sayının yaklaşık 9 milyon hastayı ifade ettiğini göstermektedir [4].

Diyabet; tipleri, nedenleri ve altında yatan mekanizmalara göre tip 1 diyabet (T1D), tip 2 diyabet (T2D), diğer spesifik diyabet tipleri, gestasyonel diyabet (GDM), bozulmuş glukoz toleransı (BGT) ve bozulmuş açlık glukozu (BAG) olarak sınıflandırılabilir [2]. Vücutta insülin üretiminin yetersizliği ile karakterize bir sendrom olan T1D; insülin bağımlı, çocukluk çağında başlayan juvenil diyabetir [1,2]. T2D insülin bağımlı olmayan ya da yetişkinlik döneminde başlayan diyabet olarak bilinmektedir. Uzun yıllar boyunca T2D’nin sadece yetişkinlerde görüldüğü düşünülmüş, ancak son zamanlarda çocukluk çağında da ortaya çıkabileceği saptanmıştır. T2D, vücudun bünyesindeki insülini etkili bir şekilde kullanamamasıyla ilişkili bir hastalıktır [1,2]. Diğer spesifik diyabet tipleri β -hücre fonksiyonlarının genetik defekti (monogenik diyabet formları), insülin etkisindeki genetik defektler, diğer genetik defektler, pankreasın ekzokrin doku hastalıkları, endokrinopatiler, ilaç veya kimyasal ajanlar veya immün aracılı nadir diyabet formlarıdır. GDM, gebelikte değişen fizyolojik koşullara bağlı olarak ortaya çıkan, uzun dönemde T2D riski taşıyan bir hastalıktır. Kan glukoz düzeylerinin normal sınırların üzerinde, ancak diyabet tanısı konamayacak kadar düşük düzeyde olduğu durum olarak ifade edilebilir. GDM’li gebelerde ve doğacak bebeklerinde komplikasyon görülme riski artmaktadır [1,2]. BGT ve BAG kan glukoz düzeyleri normalin üstünde olmasına rağmen, diyabet tanısı konulacak kadar yükselmemesi durumudur. Bazı bireylerde diyabete geçiş dönemi olarak değerlendirilir. BGT ve BAG olan bireylerde kalp krizi ve felç riskinin arttığı bilinmektedir [1,2].

Kontrol altında tutulamayan diyabet kişinin sağlığını tehdit eden ve yaşam kalitesini düşüren çeşitli komplikasyonlara yol açar. Kan glukoz düzeylerindeki ani yükselmelere bağlı olarak ortaya çıkan diyabetin akut komplikasyonları, T1D ve T2D’de diyabetik ketoasidoz, T2D’de hiperosmolar koma olarak görülebilmektedir. Kan glukoz düzeylerindeki ani düşümlere bağlı olarak tüm diyabet tiplerine bağlı olarak bilinç kaybı veya nöbetler görülebilir [5,6]. Diyabetin uzun dönem komplikasyonları; retinopati, periferik nöropati, nefropati, kardiyovasküler semptomlar ve seksüel disfonksiyon olarak sıralanabilir. Diyabetli hastalarda Alzheimer hastalığı, aterosklerotik kardiyovasküler, periferik arteriyel ve serebrovasküler hastalıkların insidansının arttığı bilinmektedir. Bu hastalarda zaman içinde diyabete bağlı lipoprotein metabolizması bozuklukları ve hipertansiyon

komplikasyon olarak görülebilir [7-9].

Diyabetin erkek üreme sistemi üzerine erektil disfonksiyon, azalmış cinsel dürtü ve boşalma sorunları gibi bir dizi olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir. Bu etkilerin üreme sistemi organlarını besleyen kan damarları ve işlevlerini düzenleyen sinir ağında meydana gelen hasara bağlı olabileceği düşünülmektedir [10,11]. Ayrıca diyabete bağlı hormon düzeyi bozuklukları, testis doku hasarı, spermatogenezis aşamasındaki problemlere bağlı olarak infertiliteye neden olabileceği bilinmektedir [10,12]. Erkek üreme sistemindeki bozuklukların dokulardaki oksidatif hasar, hipotalamus-hipofiz-testis aksında bozulma ve germ hücrelerindeki apoptoz ve otofaji kaynaklı olabileceğini gösteren insan ve hayvan çalışmaları bulunmaktadır [10,11,13-15]. Diyabetin neden olduğu erkek üreme sistemi hasarı ile ilgili yapılan birçok çalışma oksidatif hasarın etkiden sorumlu önemli bir mekanizma olduğunu ve bu hasarın antioksidan kullanımı ile önlenebileceğini göstermiştir [11,15-17].

Günümüzde oldukça yaygın bir şekilde görülen diyabet gibi metabolik hastalıkların önlenmesi, tedavi edilmesi ve neden olabileceği ikincil komplikasyonların oluşumunun önlenmesinde etkili doğal bileşiklerin kullanılması oldukça dikkat çeken bir konudur. Ruşeym yağı (RY), ülkemizde ve dünyada tüketilen birçok besin maddesinin temel hammaddesi olan buğday (*Triticum aestivum* L.)'dan elde edilmektedir. Buğday çekirdeğinin embriyosu olarak adlandırılan buğday rüşeyminin %8-14'ünü sabit bir yağ olan RY oluşturmaktadır. RY, E vitamini içeriği bakımından en zengin bitkisel kaynaklardan biridir [18]. Zengin vitamin ve mineral içeriği ve doymamış yağ asitlerinden dolayı RY'nin antioksidan kapasitesinin yüksek olduğu, tüketiminin oksidatif strese karşı koruyucu rol oynayabileceği bildirilmiştir [19-21]. Literatürde RY'nin diyabetin neden olduğu testiküler hasar üzerindeki etkisinin araştırıldığı çalışmaların yeterli olmadığı görülmektedir.

Çalışmamızda RY'nin diyabetin testiküler dokularda neden olduğu hasar üzerindeki etkisinin oksidatif stres aracılı yollar yönünden incelenmesi amaçlanmıştır. Araştırmada hem yüksek doz RY'nin, hem de düşük doz RY'nin etkisi oksidatif stresin temel biyogöstergelerinden olan glutasyon düzeyleri, lipid peroksidasyonun biyogöstergesi olan malondialdehit (MDA) düzeyleri ve kan glukozu düzeyleri ölçülerek incelenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM

Kimyasallar

Diyabet modeli oluşturmak için kullanılan streptozosin (STZ) "AG Scientific (San Diego, Amerika)" firmasından, RY "Zadevital (Konya, Türkiye)" firmasından satın alınmıştır. Doku homojenizasyonu tamponu (tris, dietilentriaminpentaasetik asit (DTPA) ve fenilmetansülfonil florür (PMSF)) ve sitrat tamponu (sitrik asit ve sodyum sitrat) hazırlanırken "Sigma Aldrich (St. Louis, Amerika)" firmasının kimyasalları kullanılmıştır. Doku MDA düzeylerinin ölçümünde kullanılan tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) kiti "Cayman Chemical (Ann Arbor, Amerika)" firmasından, total protein ölçüm kiti (Bradford) Quick Start™ "Bio-Rad (Amerika)" firmasından satın alınmıştır. Doku glutasyon düzeyleri ölçülürken kullanılan MOPS tamponu, sodyum bikarbonat, 5,5 ditiyobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB, Ellman reaktif), nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADP) ve glutasyon redüktaz enzim karışımı "Sigma Aldrich (St. Louis, Amerika)" firmasından satın alınmıştır. Tüm spektrofotometrik ölçümler, SpectraMax M2 spektrofotometre (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) kullanılarak yapılmıştır.

Çalışma Gruplarının ve Diyabet Modelinin Oluşturulması

Çalışmamız Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda, sağlıklı 12 haftalık (250-350 gram) Wistar Albino erkek sıçanlar kullanılarak yapılmıştır. Sıçanların yem ve su tüketimi sınırlandırılmamıştır. Sıçanlar çalışma boyunca sıcaklık 22°C (\pm 3°C), nem oranı en az %30, en fazla %70, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık bir odada tutulmuştur [22]. Literatür verisi ve G*Power programı kullanılarak yapılan Güç Analizi sonuçları dikkate alınarak gruplardaki hayvan sayısı diyabet modeli oluşturulan gruplarda 8, oluşturulmayan gruplarda 6 olarak planlanmıştır [22,23].

Diyabet gruplarında hastalık modeli, literatürde sıklıkla kullanılan ve kabul görmüş bir yöntem olan STZ kullanılarak oluşturulmuştur [24,25]. Bu modele göre randomize seçilen sağlıklı sıçanlara 0.1 M sitrat tampon içinde (pH:4.5) hazırlanmış tek doz 45 mg/kg STZ çözeltisi intraperitoneal (ip) yoldan

uygulandı. STZ injeksiyonundan sonraki 72 saat boyunca hipoglisemi ve mortaliteyi engellemek amacıyla, içme suyu olarak (%10) glukoz içeren su verilmiştir. Diyabet indüksiyonundan 72 saat sonra kan glukozu düzeyleri ölçülmüş ve 250 mg/dl'nin altında olan sıçanlar çalışma dışı bırakılmıştır [24,25].

Literatürdeki benzer çalışmalar ve kemirgenlere uygulanabilecek dozlar dikkate alındığında uygulama oral yoldan, 28 gün süre ile, günlük 1000 mg/kg (yüksek doz olarak) ve 100 mg/kg (düşük doz olarak maksimum dozun 1/10'u) olarak planlanmıştır [19,21,22,26,27]. Kemirgenlere oral uygulama ile ilgili prosedürler göz önünde bulundurularak hayvan başına en fazla 0.5 ml olacak şekilde (250 g ağırlıktaki sıçana 0.5 ml yağ çözeltisi oral yoldan verilecek şekilde) dozlama yapılmış ve taşıyıcı olarak mısır özü yağı seçilmiştir [28].

Çalışma grupları aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur.

Kontrol grubu (K): Randomize seçilen sağlıklı sıçanlara oral yoldan ile 28 gün boyunca mısır özü yağı uygulanmıştır (n=6).

Kontrol+Düşük doz RY grubu (KDD): Randomize seçilen sağlıklı sıçanlara oral gavajla 28 gün boyunca 100 mg/kg/gün RY uygulanmıştır (n=6).

Kontrol+Yüksek doz RY grubu (KYD): Randomize seçilen sağlıklı sıçanlara oral gavajla 28 gün boyunca 1000 mg/kg/gün RY uygulanmıştır (n=6).

Diyabet grubu (D): Randomize seçilen, diyabet modeli oluşturulan sıçanlara oral gavajla 28 gün boyunca mısır özü yağı uygulanmıştır (n=8).

Diyabet+Düşük doz RY grubu (DDD): Randomize seçilen, diyabet modeli oluşturulan sıçanlara oral gavajla 28 gün boyunca 100 mg/kg/gün RY uygulanmıştır (n=8).

Diyabet+Yüksek doz RY grubu (DYD): Randomize seçilen, diyabet modeli oluşturulan sıçanlara oral gavajla 28 gün boyunca 1000 mg/kg/gün RY uygulanmıştır (n=8).

Çalışma süresi boyunca her sabah, gavajdan önce, tüm sıçanların vücut ağırlıkları ölçülmüş ve uygulanacak RY dozu hesaplanmıştır. 28 günlük dozlama süresinin sonunda hayvanlar tartılmış, ağırlıklarına uygun dozda anestezi uygulanmış ve ağırlıkları kaydedilmiştir. Anestezi altındaki hayvanlara kalpten kan alma yöntemi ile ötenazi işlemi uygulanmıştır.

Kan Glukoz Düzeyleri

Kan glukoz düzeyleri; glikoz oksidaz emdirilmiş test çubukları (stripler) aracılığıyla, strip üzerine kuyruk veninden damlatılan kanda glukometre kullanılarak ölçülmüştür. İlk dozlama gününden başlayarak haftada bir hayvanların açlık kan düzeyleri kaydedilmiştir.

Doku Ağırlıkları

Ötenazi işlemi sonrası hayvanların sağ testisleri alınarak serum fizyolojik ve deiyonize suda yıkamayı takiben kurutulmuş, hassas terazide tartılmış ve kaydedilmiştir. Ağırlığı kaydedilen organlar hızlıca sıvı azota atılarak dondurulmuştur. Sıvı azottan çıkarıldıktan sonra oksidatif stres parametrelerinin analizleri için deneysel işlemler yapılanaya kadar -80°C'de saklanmıştır.

Doku Homojenizasyonu

Testis dokuları yapılacak analizler öncesinde homojenize edilmiştir. Tartılan doku örneklerine 1:5 (a/h) olacak şekilde Tris (10 mM), DTPA (1 mM) ve PMSF (1 mM; pH 7.4'e ayarlanmış) tamponu eklenmiştir. Mekanik homojenizatör cihazı kullanılarak yapılan homojenizasyonu takiben homojenat 10 dk 1500 x g'de ve 4°C'de santrifüj edilmiştir. Süpernatant kısmı alikotlarına ayrılarak analize dek -80°C'de saklanmıştır.

Total Protein Düzeyleri

Testis homojenatlarının total protein düzeyleri Bradford yöntemini kullanan ticari bir kit ile ölçülmüştür (Quick Start™ Bradford Protein Assay kit, Bio-Rad, USA). Bradford protein ölçüm yöntemi asidik koşullar altında protein moleküllerinin Coomassie boyasına bağlanması ve renk değişimine neden olması esasına dayanmaktadır. Doku total protein düzeyleri kit standartları (0.125-1.5 mg/ml) ile hazırlanan kalibrasyon doğrusu kullanılarak mg/ml cinsinden hesaplanmıştır.

Lipit Peroksidasyon Düzeyleri

Lipit peroksidasyonunun göstergesi olarak testis dokularında MDA seviyeleri ölçülmüştür. Dokular homojenize edildikten sonra deney günü muhafaza edildiği -80°C 'den çıkarılmıştır. Doku MDA düzeyleri ticari bir kit yardımı ile ölçülmüştür (TBARS Assay Kit, Item No. 10009055, Cayman, ABD). Kit, lipit peroksidasyonu sonucu oluşan MDA'nın uygun koşullar altında tiyobarbitürik asit (TBA) ile renkli bir kompleks oluşturması ve MDA-TBA kompleksinin renk yoğunluğunun spektrofotometrik olarak 530 nm'de ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Kit içerisinde yer alan MDA standartları kullanılarak elde edilen kalibrasyon doğrusu ile doku MDA miktarı hesaplanmış ve sonuçlar $\mu\text{M}/\text{mg}$ protein olarak verilmiştir.

Glutasyon Düzeyleri

Testis doku homojenatlarında oksidatif stresin önemli bir göstergesi olan glutasyon düzeyleri ölçülmüştür. Glutasyon düzeyleri Sedlak ve Lindsay'in kullandığı yöntem ile ölçülmüştür [29]. Bu yöntem, Ellman Reaktifinin sülfhidril gruplarıyla indirgenmesi ve reaksiyon sonucunda 1 mol sülfhidril grubu için 1 mol 2-nitro-5-merkaptobenzoik asit oluşması esasına dayanmaktadır. Oluşan sarı renkli nitromerkaptobenzoik asitin renk yoğunluğu 412 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Standartlar yardımı ile elde edilen kalibrasyon doğrusu kullanılarak doku glutasyon düzeyleri hesaplanmış ve sonuçlar $\mu\text{M}/\text{mg}$ protein olarak ifade edilmiştir.

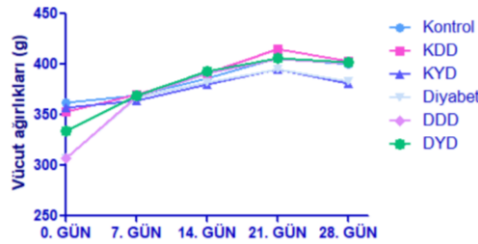
İstatistiksel Analizler

Çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar GraphPad Prism 5 software (Boston, USA) ve IBM SPSS version 17.0 (Chicago, IL) istatistik paket programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Kontrol ve deney gruplarındaki tüm veriler ortalama±standart sapma olarak ifade edilmiştir. Verilerin dağılım profilleri Shapiro wilk testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arasındaki farklılıklar, Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi ve ardından post hoc Dunn's testi ile değerlendirilmiştir. $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

SONUÇ VE TARTIŞMA

Hayvan Vücut ve Doku Ağırlıkları

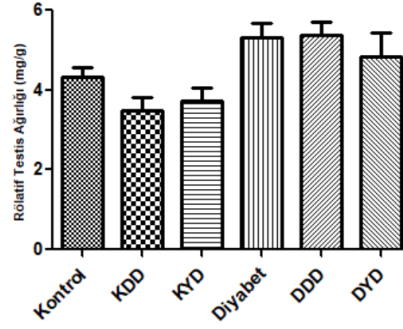
Çalışma süresince her gün dozlama işleminden önce hayvanların vücut ağırlıkları ölçülmüştür. 0. gün, 7. gün, 14. gün, 21. gün ve 28. gün vücut ağırlıkları Şekil 1'de gösterilmiştir. Hem kontrol, hem de diyabet gruplarında 7., 14. ve 21. günde vücut ağırlıkları artma eğilimi gösterirken, 21. günde azalma eğilimine geçmiştir.



Şekil 1. Kontrol ve diyabet grubundaki hayvanların vücut ağırlıkları (g)

KDD: kontrol düşük doz, KYD: kontrol yüksek doz, DDD: diyabet düşük doz, DYD: diyabet yüksek doz

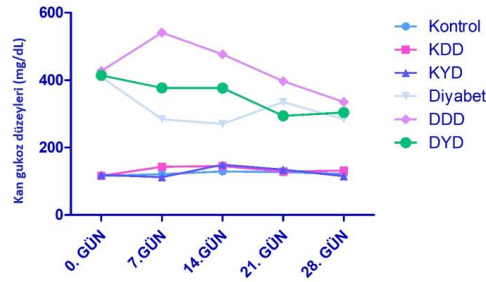
Testis doku ağırlıkları ölçülmüş ve bu değerler kullanılarak rölatif testis ağırlıkları hesaplanmıştır. Sonuçlar Şekil 2'de şematize edilmiştir. Diyabet grubunda rölatif testis ağırlığının kontrole göre arttığı görülmüştür. Kontrol grubunda hem düşük, hem de yüksek doz RY uygulamasının rölatif testis ağırlığında azalmaya neden olduğu görülmüştür. Yüksek doz RY uygulanan diyabetik grubun rölatif testis ağırlığının diyabet kontrol grubuna göre azaldığı belirlenmiştir.



Şekil 2. Kontrol ve diyabet grubundaki hayvanların rölatif testis ağırlığı (mg/g)

Kan Glukoz Düzeyleri

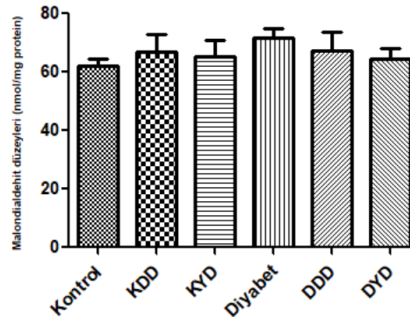
Diyabet grubuna kan glukoz düzeyleri 250 mg/dl ve üzerinde olan hayvanlar dahil edilmiştir. Kontrol ve diyabet grubundaki hayvanların kan glukoz düzeyleri Şekil 3'te gösterilmiştir. Düşük doz RY uygulanan diyabet grubunda 7. günde artan kan glukoz düzeyinin, 28. güne kadar azaldığı görülmüştür. Diyabet grubu ve kontrol grupları kendi içinde değerlendirildiğinde kan glukozu düzeylerinde RY uygulamasına bağlı olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 3. Kontrol ve diyabet grubundaki hayvanların kan glukoz düzeyleri (mg/ml)
KDD: kontrol düşük doz, KYD: kontrol yüksek doz, DDD: diyabet düşük doz, DYD: diyabet yüksek doz

Lipit Peroksidasyon Düzeyleri

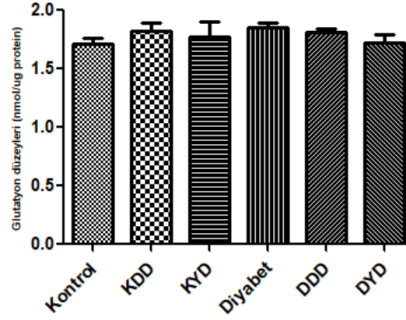
Testis dokularında lipid peroksidasyonun göstergesi olarak MDA düzeyleri ölçülmüştür (Şekil 4). Diyabet grubunda kontrole kıyasla testis doku MDA düzeylerinde artış olduğu saptanmıştır ($p>0.05$). Diyabetik hayvanlar arasında en düşük testis MDA düzeylerinin yüksek doz RY uygulanan grupta olduğu ve düşük doz RY uygulanan grupta da MDA düzeylerinin diyabet kontrol grubuna göre azaldığı görülmüştür. Ancak gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 4. Testis MDA düzeyleri (nmol/mg protein)
KDD: kontrol düşük doz, KYD: kontrol yüksek doz, DDD: diyabet düşük doz, DYD: diyabet yüksek doz

Glutasyon Düzeyleri

Testis dokularında glutasyon düzeyleri ölçülmüş ve sonuçlar Şekil 5'te şematize edilmiştir. Kontrole kıyasla diyabet grubunda glutasyon düzeyleri artmış olmakla birlikte RY uygulanan diyabet gruplarında glutasyon düzeylerinin kontrol grubu düzeylerine yakın olduğu saptanmıştır. Gruplara ait testis glutasyon düzeylerindeki bu değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. ($p>0.05$).



Şekil 5. Testis glutasyon düzeyleri (nmol/ug protein)

KDD: kontrol düşük doz, KYD: kontrol yüksek doz, DDD: diyabet düşük doz, DYD: diyabet yüksek doz

DM, kan glukoz düzeylerinde kontrolsüz artış ile karakterize, karbonhidrat, lipit ve protein yapılarında bozulmaya neden olabilen, kronik, metabolik bir hastalıktır. Kronik hiperglisemi ve kontrolsüz diyabet oküler sistem, boşaltım sistemi, endokrin sistem, sinir sistemi, kalp-damar sistemi ile üreme sisteminde hasarla birlikte mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonlara neden olabilir [30]. İnsülin eksikliği ve insülin direnci hipotalamus, hipofiz bezi, gonadlar ve perigonadlara zarar vererek seks hormonlarının salgılanmasını bozabilir. Bu süreç testis ve stromal hücre atrofisine, seminifer tübül hasarına, spermatojenik hücre hasarına neden olabilir [31]. Bu nedenle diyabet oluşumunun önlenmesinde, progresyonunun yavaşlatılmasında ve tedavi edilmesinde beslenme yaklaşımlarının değiştirilmesi, oksidatif stresin azaltılması ve antioksidan kullanımının artırılmasına yönelik araştırmalar yürütülmektedir [32,33].

Buğday; zengin vitamin ve mineral içeriği, yüksek verim potansiyeli, ekmek, makarna, erişte ve diğer gıda ürünlerine dönüştürülmesine olanak tanıyan viskoelastik özellikleri, taşıma ve depolama kolaylığı nedeniyle dünya nüfusunun temel gıda maddelerinden biridir [34]. Yapısında yüksek düzeyde karbonhidrat, protein, lipit, B ve E grubu vitaminler, bakır, magnezyum, çinko, fosfor, demir gibi mineraller bulunmaktadır [35,36]. Buğday tanesi temel olarak endosperm (%83), perikarp (%14), tohum (%3) kısımlarından oluşmaktadır [37]. Buğday çekirdeğinin embriyosu olan buğday ruşeymi, vitamin, mineral ve diğer besin maddeleri bakımından buğdayın en zengin kısımlarından biridir [38]. Buğday ruşeyminin sabit yağı olan RY, en zengin bitkisel E vitamini kaynağıdır. Yaklaşık 1 servis kaşığı RY'nin porsiyon başına 20.3 mg alfa-tokoferol içerdiği, bu miktarın tüketimi günlük E vitamini ihtiyacını karşıladığı ifade edilmiştir [39]. Çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengin olan RY'nin yapısında yüksek oranda linoleik asit, palmitik asit ve oleik asit bulunmaktadır. RY ayrıca polikosanoller, fitosteroller, tokoferoller, karotenoidler, tiamin, riboflavin, flavonoidler, steroller, oktakosanoller, glutasyon, steril ferulatlar ve çeşitli enzimler bakımından zengindir [40-43].

RY'nin zengin antioksidan içeriği ve bitkisel protein kaynağı olması sayesinde, oksidatif stres ve ilişkili hastalıklarda koruyucu etki gösterebileceği bildirilmiştir. RY'nin farklı hayvan türlerinin beyin, karaciğer, dalak, kalp, böbrek gibi organlarında tokoferol ve diğer biyoaktif bileşenlerin düzeyini arttırdığı ve oksidasyon sürecine karşı koruma sağladığı gösterilmiştir [44]. L-arjinin indüklü akut pankreatit oluşturulan sıçanlarda 3 gün oral RY (3 ml/kg/gün) uygulamasının olumlu etki sağladığı, ancak pankreatit oluşumundan önce RY uygulamasının, sonradan oluşturulan hastalık etkileri üzerine koruyucu etki göstermediği bildirilmiştir [45]. STZ indüklü diyabetik sıçanlara 3 hafta oral 0.4 g/kg/gün 1000 mg balık yağı+100 mg RY uygulamasının over fonksiyonlarını düzenlediği; GSH, katalaz (CAT), superoksit dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GPx), folikül stimüle edici hormon (FSH), estradiol (E2), luteinize edici hormon (LH), anti-Müllerian (AMH) düzeyleri ve folikül sayısını arttırdığı, MDA

düzeylerini azalttığı bildirilmiştir [20]. Hepatotoksik tiyoasetamid (TAA) indüklü karaciğer ve böbrek hasarına karşı RY'nin etkinliği araştırılmış, 5 gün oral RY (1400 mg/kg) uygulamasının kreatin kinaz düzeylerinde iyileşme sağladığı, tek başına RY ve birlikte tedavi grubunun (TAA+olmutinib +RY), lezyon veya karyoliz olmaksızın normal hepatik ven ve normal hepatositler gösteren kontrol grubuna benzer duruma geldiği, böbrek tübüllerindeki tüm dejeneratif değişikliklerin düzeldiği, normal küboidal hücrelerin belirgin çekirdeklere sahip olduğu ifade edilmiştir [46].

En zengin bitkisel E vitamin kaynağı olan RY halk arasında üreme sağlığını koruyucu ve erkek üreme sistemine bağlı hastalıklarda destekleyici olarak kullanılmaktadır [47]. RY'nin dişi ve erkek üreme sistemi üzerine etkinliğinin araştırıldığı çalışma sayısı oldukça azdır. Ayrıca etki mekanizmasının aydınlatıldığı yeterli çalışma da bulunmamaktadır. Dişi albino sıçanlara 28 ve 42 günlük oral RY uygulamasının (900 mg/kg/gün) böbrek TBARS düzeyinde anlamlı azalış, GSH düzeyinde artışa neden olduğu, karaciğer ve böbreklerde oksidatif hasarı engellediği bildirilmiştir. İçme suyunda nitrat konsantrasyonunun artması serum östradiol düzeyinde kontrole göre önemli bir düşüşe neden olurken, RY'nin nitratla kombine olarak uygulanmasının, her iki zaman aralığında östradiol düzeyini arttırdığı ifade edilmiştir [48]. Başka bir çalışmada, Wistar sıçanlara 28 gün oral RY uygulamasının (68.75 mg/kg/gün), sertralinin neden olduğu testiküler DNA hasarını, testiküler dokularda lipid peroksidasyonu ve artmış serum testosteron konsantrasyonunu azalttığı bildirilmiştir [17]. Wistar sıçanlarda 5 hafta oral RY uygulamasının, diyabetin indüklediği erektil ve endotelial disfonksiyon üzerine etkisi araştırılmış; *in vitro* vasküler fonksiyon, *in vivo* erektil fonksiyon, aort ve penis oksidatif stres parametreleri incelenmiştir. Aortta asetilkolin aracılı gevşeme ve erektil fonksiyonların diyabet grubunda anlamlı derecede azaldığı ($p=0.018$, $p=0.005$), 3 ml/kg ve 6 ml/kg RY'nin diyabet gruplarında vasküler fonksiyonları iyileştirdiği, ($p=0.001$, $p=0.014$), vasküler veya erektil disfonksiyonda düzelme sağladığı ifade edilmiştir. Ancak yüksek doz RY'nin penis dokusunda MDA düzeylerini arttırdığı, SOD düzeylerinde anlamlı değişikliğe neden olmadığı, dolayısıyla bu iyileşmelerin antioksidan etkinlik ile ilişkili olmadığı, mekanizmanın aydınlatılması için yeni araştırmalara ihtiyaç olduğu ifade edilmiştir [27].

Çalışmamızda diyabetik sıçanlara ve kontrol grubuna 4 hafta süre ile düşük (100 mg/kg/gün) ve yüksek doz (1000 mg/kg/gün) oral RY uygulanmıştır. RY uygulamasının kan glukoz düzeylerinde incelendiğinde, DDD ve DYD gruplarında RY uygulamasının bu düzeylerde düşüşe neden olduğu görülmüştür. Bu düşüş RY'nin antidiyabetik etkinliğini destekler niteliktedir [32]. Diyabet kontrol grubunun rölatif testis ağırlığının kontrol grubuna göre arttığı; hem düşük, hem de yüksek doz RY uygulanan kontrol gruplarında rölatif testis ağırlığının kontrole göre azaldığı belirlenmiştir. Diyabetik grupta ise yalnızca yüksek doz RY uygulamasının rölatif testis ağırlığını diyabet kontrol grubuna göre azalttığı belirlenmiştir. RY'nin bu etkinliğinin östrojenik aktivitesi olan ve metabolizmayı değiştirebilen fitosteroller içermesine bağlı olabileceği düşünülmektedir [38,43]. RY'nin yapısı ve içeriği değerlendirildiğinde steroid sentezinde yer alan diğer enzimleri de inhibe edebileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda testis dokularında oksidatif stresin değerlendirilmesi için glutatyon düzeyleri, lipid peroksidasyonun değerlendirilmesi için MDA düzeyleri ölçülmüştür. Ayrıca kan glukoz düzeyleri, vücut ağırlıkları ve testis ağırlıkları kayıt altına alınmıştır. Diyabet grupları arasında en düşük testis MDA düzeyleri yüksek doz RY grubunda bulunmuştur. Diğer kontrol ve diyabet gruplarının testis glutatyon ve MDA düzeylerinde farklıklar bulunsa da, bu düzeyler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Çalışma sonuçlarımız bu yönüyle Güven ve arkadaşlarının (2022) verilerini destekler niteliktedir [27]. Yayımlanan literatür verileri, halk arasında kullanımı ve araştırma sonuçlarımız bir arada değerlendirildiğinde RY'nin testiküler hasara karşı koruyucu etkinliğinin mekanizmasının oksidatif stres kaynaklı olmayabileceği sonucu çıkarılabilir. Erkek üreme sistemi hasarına karşı koruyucu etkilerini serum testosteron düzeylerini değiştirerek hormon aracılı ya da hipotalamik-hipofiz yolundaki bozulmayı önleyerek gösterebileceği düşünülebilir. Öte yandan çok daha yüksek kan glukoz düzeyleri ile seyreden diyabetik hastalarda görülebilen ciddi oksidatif hasarda RY kullanımının oksidatif hasara karşı koruyucu etkisinin daha belirgin olabileceği ihtimali de bulunmaktadır.

Sonuç olarak diyabete bağlı görülen testiküler hasara karşı akut ve kronik RY uygulamasının koruyucu etkinliğinin hormonal ya da diğer moleküler yollar aracılığıyla incelendiği yeni araştırmalara da ihtiyaç vardır.

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından desteklenmiştir (21B0237006).

YAZAR KATKILARI

Kavram: A.B.Ö., S.Y.S.; Tasarım: A.B.Ö., S.Y.S.; Denetim: A.B.Ö., S.Y.S.; Kaynaklar: A.B.Ö., S.Y.S.; Malzemeler: A.B.Ö., S.Y.S.; Veri Toplama ve/veya İşleme: A.B.Ö., S.Y.S.; Analiz ve/veya Yorumlama: A.B.Ö., S.Y.S.; Literatür Taraması: A.B.Ö., S.Y.S.; Makalenin Yazılması: A.B.Ö., S.Y.S.; Kritik İnceleme: A.B.Ö., S.Y.S.; Diğer: -

ÇIKAR ÇATIŞMASI BEYANI

Yazarlar bu makale için gerçek, potansiyel veya algılanan çıkar çatışması olmadığını beyan ederler.

ETİK KURUL ONAYI

Çalışmamız Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı A.Ş. Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu tarafından 15.09.2021 tarih ve 582 sayılı karar ile onaylanmıştır.

KAYNAKLAR

1. World Health Organisation (WHO) Web site. (2023). Erişim adresi: https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1. Erişim tarihi: 01.09.2023.
2. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu-2022 (2022). Erişim adresi: https://file.temd.org.tr/Uploads/publications/guides/documents/diabetes-mellitus_2022.pdf. Erişim tarihi: 01.09.2023.
3. International Diabetes Federation Diabetes Atlas. Diabetes around the world in 2021. (2021). Erişim adresi: <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/>. Erişim tarihi: 01.09.2023.
4. International Diabetes Federation, Turkey. (2022). Erişim adresi: <https://idf.org/europe/our-net-work/our-members/turkey/>. Erişim tarihi: 01.09.2023.
5. Umpierrez, G., Korytkowski, M. (2016). Diabetic emergencies - ketoacidosis, hyperglycaemic hyperosmolar state and hypoglycaemia. *Nature Reviews Endocrinology*, 12(4), 222-232. [CrossRef]
6. Ceriello, A., Monnier, L., Owens, D. (2019). Glycaemic variability in diabetes: Clinical and therapeutic implications. *Lancet Diabetes Endocrinology*, 7(3), 221-230. [CrossRef]
7. Tripathi, B.K., Srivastava, A.K. (2006). Diabetes mellitus: Complications and therapeutics. *Med Sci Monit*, 12(7), RA130-147.
8. Deshpande, A.D., Harris-Hayes, M., Schootman, M. (2008). Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. *Physical Therapy*, 88(11), 1254-1264. [CrossRef]
9. Zheng, Y., Ley, S.H., Hu, F.B. (2018). Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(2), 88-98. [CrossRef]
10. Shi, G.J., Li, Z.M., Zheng, J., Chen, J., Han, X.X., Wu, J., Li, G.Y., Chang, Q., Li, Y.X., Yu, J.Q. (2017). Diabetes associated with male reproductive system damages: Onset of presentation, pathophysiological mechanisms and drug intervention. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 90, 562-574. [CrossRef]
11. Rato, L., Oliveira, P.F., Sousa, M., Silva, B.M., Alves, M.G. (2019). Role of Reactive Oxygen Species in Diabetes-Induced Male Reproductive Dysfunction. In: R. Henkel, L. Samanta, and A. Agarwal (Eds.), *Oxidants, Antioxidants and Impact of the Oxidative Status in Male Reproduction*, (pp. 135-147). Cambridge: Elsevier.
12. Zhong, O., Ji, L., Wang, J., Lei, X., Huang, H. (2021). Association of diabetes and obesity with sperm parameters and testosterone levels: A meta-analysis. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 13(1), 109. [CrossRef]
13. Facondo, P., Di Lodovico, E., Delbarba, A., Anelli, V., Pezzaoli, L.C., Filippini, E., Cappelli, C., Corona, G., Ferlin, A. (2022). The impact of diabetes mellitus type 1 on male fertility: Systematic review and meta-analysis. *Andrology*, 10(3), 426-440. [CrossRef]
14. Omolaoye, T.S., Skosana, B.T., du Plessis, S.S. (2018). Diabetes mellitus- induction: Effect of different streptozotocin doses on male reproductive parameters. *Acta Histochemica*, 120(2), 103-109. [CrossRef]

15. Condorelli, R.A., La Vignera, S., Mongioi, L.M., Alamo, A., Calogero, A.E. (2018). Diabetes mellitus and infertility: Different pathophysiological effects in type 1 and type 2 on sperm function. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 9, 268. [CrossRef]
16. Matough, F.A., Budin, S.B., Hamid, Z.A., Alwahaibi, N., Mohamed, J. (2012). The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 12(1), 5-18. [CrossRef]
17. Hamdi, H. (2019). The preventive role of wheat germ oil against sertraline-induced testicular damage in male albino rats. *Andrologia*, 51(10), e13369. [CrossRef]
18. Piras, A., Rosa, A., Falconieri, D., Porcedda, S., Dessi, M.A., Marongiu, B. (2009). Extraction of oil from wheat germ by supercritical CO₂. *Molecules*, 14(7), 2573-2581. [CrossRef]
19. Shedid, S.M.E. (2008). Masters' Thesis. Role of wheat germ oil in radiation-induced oxidative stress and alteration in energy metabolism in rats. Department of Chemistry, Faculty of Science, Helwan University, Helwan, Egypt.
20. Khedr, N.F. (2017). Fish oil and wheat germ oil supplementation modulates brain injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Diabetes*, 9(11), 1012-1022. [CrossRef]
21. Hamdi, L., Suleiman, A., Hoogenboom, G., Shelia, V. (2019). Response of the durum wheat cultivar um qais (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) to salinity. *Agriculture*, 9(7), 135. [CrossRef]
22. Organisation for Economic Co-Operation and Development. Guidelines for the Testing of Chemicals Test Guideline 407: Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents (2008). Erişim adresi: https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-407-repeated-dose-28-day-oral-toxicity-study-in-rodents_9789264070684-en. Erişim tarihi: 01.09.2023.
23. Charan, J., Kantharia, N.D. (2013). How to calculate sample size in animal studies? *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 4(4), 303-306. [CrossRef]
24. Filho, O.A.R., Fazan, V.P.S. (2006). Streptozotocin induced diabetes as a model of phrenic nerve neuropathy in rats. *Journal of Neuroscience Methods*, 151(2), 131-138. [CrossRef]
25. Mayyas, F., Alzoubi, K.H., Bonyan, R. (2017). The role of spironolactone on myocardial oxidative stress in rat model of streptozotocin-induced diabetes. *Cardiovascular Therapeutics*, 35(2), e12242. [CrossRef]
26. Karabacak, M., Kanbur, M., Eraslan, G., Soyer Sarıca, Z. (2011). The antioxidant effect of wheat germ oil on subchronic coumaphos exposure in mice. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 74(7), 2119-2125. [CrossRef]
27. Guven, H., Durmus, N., Hocaoglu, N., Guner, O., Acar, S., Akan, P., Calan, O.G. (2022). Protective effects of wheat germ oil against erectile and endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *International Journal of Impotence Research*, 34(6), 581-587. [CrossRef]
28. United States Environmental Protection Agency. Health Effects Test Guidelines OPPTS 870.1100 Acute Oral Toxicity. (2002). Erişim adresi: https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/iccav/suppdocs/feddocs/epa/epa_870r_1100.pdf. Erişim tarihi: 01.09.2023.
29. Sedlak, J., Lindsay, R.H. (1968). Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Analytical Biochemistry*, 25, 192-205. [CrossRef]
30. Shrivastav, D., Dabla, P. K., Sharma, J., Viswas, A., Mir, R. (2023). Insights on antioxidant therapeutic strategies in type 2 diabetes mellitus: A narrative review of randomized control trials. *World Journal of Diabetes*, 14(6), 919-929. [CrossRef]
31. He, Z., Yin, G., Li, Q. Q., Zeng, Q., Duan, J. (2021). Diabetes mellitus causes male reproductive dysfunction: A review of the evidence and mechanisms. *In Vivo*, 35(5), 2503-2511. [CrossRef]
32. Sarkar, D., Christopher, A., Shetty, K. (2022). Phenolic bioactives from plant-based foods for glycemic control. *Frontiers in Endocrinology*, 12, 727503. [CrossRef]
33. Baloglu, F.K., Tas, D.G., Yilmaz, O., Severcan, F. (2023). The recovery effect of Vitamin C on structural alterations due to Streptozotocin-Induced diabetes in rat testicular tissues. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 288, 122149. [CrossRef]
34. Shewry, P.R. (2009). Wheat. *Journal of Experimental Botany*, 60(6), 1537-1553. [CrossRef]
35. Liu, M., Huang, J., Ma, S., Yu, G., Liao, A., Pan, L., Hou, Y. (2023). Allergenicity of wheat protein in diet: Mechanisms, modifications and challenges. *Food Research International*, 169, 112913. [CrossRef]
36. Ram, S., Govindan, V. (2020). Improving Wheat Nutritional Quality Through Biofortification. In: Igrejas, G., Ikeda, T.M., Guzmán, C. (Eds), *Wheat Quality for Improving Processing and Human Health*, (pp.205-224). Switzerland: Springer Nature.
37. Balandrán-Quintana, R.R., Mendoza-Wilson, A.M. (2018). Wheat Bran Proteins. In: J.M., Mérillon and K. Ramawat (Eds.), *Bioactive Molecules in Food. Reference Series in Phytochemistry*, (pp.1-24). Springer, Cham.
38. Brandolini, A., Hidalgo, A. (2012). Wheat germ: Not only a by-product. *International Journal of Food*

- Sciences and Nutrition, 63(1), 71-74. [\[CrossRef\]](#)
39. Rizvi, S., Raza, S. T., Ahmed, F., Ahmad, A., Abbas, S., Mahdi, F. (2014). The role of vitamin E in human health and some diseases. *Sultan Qaboos University Medical Journal*, 14(2), 157-165.
 40. Nyström, L., Paasonen, A., Lampi, A.M., Piironen, V. (2007). Total plant sterols, steryl ferulates and steryl glycosides in milling fractions of wheat and rye. *Journal of Cereal Science*, 45(1), 106-115. [\[CrossRef\]](#)
 41. Zhu, K.X., Lian, C.X., Guo, X.N., Peng, W., Zhou, H.M. (2011). Antioxidant activities and total phenolic contents of various extracts from defatted wheat germ. *Food Chemistry*, 126(3), 1122-1126. [\[CrossRef\]](#)
 42. Kumar, G.S., Krishna, A.G. (2015). Studies on the nutraceuticals composition of wheat derived oils wheat bran oil and wheat germ oil. *Journal of Food Science and Technology*, 52(2), 1145-1151. [\[CrossRef\]](#)
 43. Siraj, N. (2022). Wheat germ oil: A comprehensive review. *Food Science and Technology*, 42, e113721. [\[CrossRef\]](#)
 44. Field, R., Verghese, M., Walker, L., Panala, V., Shackelfo, L., Boateng, J. (2008). Feeding wheat germ meal and wheat germ oil reduced azoxymethane-induced aberrant crypt foci in fisher 344 male rats. *International Journal of Cancer Research*, 4(4), 127-136. [\[CrossRef\]](#)
 45. Abdel-Gawad, S.K. (2015). Therapeutic and protective effect of wheat germ oil on l-arginine induced acute pancreatitis in adult Albino rats. *Journal of Cell Science & Therapy*, S8, S8-004. [\[CrossRef\]](#)
 46. Alamery, S., Zargar, S., Yaseen, F., Wani, T.A., Siyal, A. (2022). Evaluation of the effect of wheat germ oil and olmutinib on the thioacetamide-induced liver and kidney toxicity in mice. *Life*, 12(6), 900. [\[CrossRef\]](#)
 47. Akool, E.S. (2019). Molecular Mechanisms of the Protective Role of Wheat Germ Oil Against Oxidative Stress-Induced Liver Disease. In: R.R. Watson and V.R. Preedy (Eds.), *Dietary Interventions in Liver Disease*, (pp. 233-238). Amsterdam: Elsevier.
 48. Anwar, M., Mohamed, N. (2015). Amelioration of liver and kidney functions disorders induced by sodium nitrate in rats using wheat germ oil. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 8(1), 77-83. [\[CrossRef\]](#)