

KURKUMİN UYGULAMASININ YÜKSEK YAĞLI DİYETLE BESLENEN SIÇANLARIN TESTİS DOKUSUNDA OKSİDAN-ANTIOKSİDAN SİSTEM ÜZERİNE ETKİSİ

EFFECT OF DIETARY CURCUMIN ON OXIDANT-ANTIOXIDANT STATUS IN TESTIS TISSUES OF RATS FED A HIGH-FAT DIET

Muhammed SEYİTHANOĞLU¹ , Sevda TANRIKULU KÜÇÜK² , Yıldız ÖNER İYİDOĞAN^{3,4} , Hikmet KOÇAK² , Parvana MİKAİLOVA⁴ 

¹Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Kahramanmaraş, Türkiye

²Demiroğlu Bilim Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

³İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu, Tıbbi Laboratuvar Programı, İstanbul, Türkiye

⁴İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ORCID IDs of the authors: M.S. 0000-0002-8027-7549; Ş.T.K. 0000-0001-9446-4399; Y.Ö.İ. 0000-0001-6956-8794; H.K. 0000-0003-1720-9102; P.M. 0000-0002-6883-9051; A.F.A. 0000-0002-2595-0833

Cite this article as: Seyithanoglu M, Tanrikulu Kucuk S, Oner Iyidogan Y, Kocak H, Mikailova P, Aydin AF. Effect of dietary curcumin on oxidant-antioxidant status in testis tissues of rats fed a high-fat diet. J Ist Faculty Med 2020;83(3):247-53. doi: 10.26650/IUITFD.2019.0049

ÖZET

Amaç: Yüksek yağlı diyetin (YYD) neden olduğu oksidatif stresin testis fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir. Zerdeçal baharatının aktif bileşeni olan kurkuminin oksidan-antioksidan denge üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmanın amacı; YYD birlikte alınan kurkuminin testiste oksidan-antioksidan denge üzerine olan etkisini incelemektir.

Gereç ve Yöntem: Sprague-Dawley erkek sıçanlar dört gruba ayrılmış ve 16 hafta süreyle beslenmiştir. Birinci gruba kalorisinin %10'unun yağdan karşılandığı normal diyet, ikinci gruba kalorisinin %60'ının yağdan karşılandığı YYD, üçüncü gruba YYD'e karıştırılmış kurkumin (1g/kg yem) ve dördüncü gruba sadece normal diyet+kurkumin (1g/kg yem) verilmiştir. Deney süresi sonunda testis dokusu homojenize edilerek postmitokondriyal ve mitokondriyal fraksiyonlara ayrılmış; testiste reaktif oksijen türleri (ROS) düzeyleri florometrik yöntemle, malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) düzeyleri ile glutatyon peroksidaz (GPx), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon transferaz (GST) aktiviteleri spektrofotometrik yöntemlerle ölçülmüştür.

Bulgular: YYD uygulaması, testiste postmitokondriyal ve mitokondriyal MDA düzeylerini arttırmış; sitozolik GSH düzeylerini ise azaltmıştır. YYD+kurkumin uygulaması YYD'e bağlı artış gösteren MDA düzeylerini düşürmüştür; GSH düzeyini ve GST

ABSTRACT

Objective: High fat diet (HFD) induced oxidative stress is known to adversely affect testicular functions. Curcumin, which is an active ingredient of turmeric spice, has been shown to reduce lipid peroxidation and stimulate cellular antioxidant enzymes. The aim of this study is to investigate the effect of dietary curcumin on the testicular oxidant-antioxidant status in rats fed on a HFD.

Material and Method: Male Sprague-Dawley rats were divided into four groups. Group 1 was fed with a control diet (10% of total calories from fat). Group 2 was fed with a HFD (60% of total calories from fat). Groups 3 and 4 received a HFD and a control diet with curcumin (1g/kg diet; w/w) respectively for 16 weeks. The testis tissue was homogenized and divided into postmitochondrial and mitochondrial fractions and the reactive oxygen species (ROS) levels were measured with the fluorometric method. The malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) levels and glutathione peroxidase (GPx), superoxide dismutase (SOD) and glutathione transferase (GST) activities were measured with spectrophotometric methods.

Results: HFD supplementation increased postmitochondrial and mitochondrial MDA levels and decreased cytosolic GSH levels in testis. MDA levels decreased with curcumin supplementation. Moreover, GSH levels and GST activity increased.

İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: dr.muh.seyit@gmail.com

Başvuru/Submitted: 07.07.2019 • **Revizyon Talebi/Revision Requested:** 14.10.2019 •

Son Revizyon/Last Revision Received: 15.10.2019 • **Kabul/Accepted:** 27.11.2019 • **Online Yayın/Published Online:** 11.02.2020

©Telif Hakkı 2020 J Ist Faculty Med - Makale metnine jmed.istanbul.edu.tr web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2020 by J Ist Faculty Med - Available online at jmed.istanbul.edu.tr

aktivitesini ise arttırmıştır. Ancak sadece kurkumin uygulaması oksidan-antioksidan göstergeleri etkilememiştir. ROS düzeyleri ile SOD ve GPx aktiviteleri ise gruplar arasında anlamlı değişim göstermemiştir.

Sonuç: Bulgularımız, YYD ile birlikte alınan kurkuminin testiküler oksidan-antioksidan dengesi koruyucu olabileceğini göstermektedir. Ancak bu etkinin moleküler mekanizmalarının incelenmesi için ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kurkumin, Yüksek Yağlı Diyet, Oksidan-Antioksidan Sistem, Testis

However, curcumin supplementation alone did not affect oxidant-antioxidant status. ROS levels, SOD and GPx activities did not change significantly between the groups.

Conclusion: Our data has shown that curcumin supplementation with HFD may prevent testicular oxidant damage. However, further studies are needed to investigate the underlying molecular mechanisms.

Keywords: Curcumin, High Fat-Diet, Oxidant-Antioxidant Status, Testis

GİRİŞ

Yağ içeriği yüksek gıdalarla beslenme alışkanlığı, özellikle teknolojinin yoğun kullanıldığı ve hazır besin tüketiminin yaygınlaştığı modern toplumlarda, obezite, tip 2 diyabet, hipertansiyon gibi birçok metabolik hastalıkla ilişkilendirilmesi nedeniyle önlem alınması gereken bir sağlık sorunudur. Obeziteye bağlı artan vücut yağ miktarının inflamatuvar ve oksidatif yolları etkileyerek, sistemik veya lokal doku hasarına neden olabileceği bildirilmiştir (1). Obezitenin özellikle erkek üreme sistemi üzerine olan zararlı etkileri, klinik ve deneysel çalışmalarla gösterilmiştir (1,2). Erkeklerde sperm fonksiyonlarını etkileyen başlıca faktörlerden biri oksidatif strese bağlı olarak sentezi artan reaktif oksijen türleridir (ROS). Yüksek yağlı diyetle (YYD) beslenmenin mitokondriyal oksidatif fosforilasyonda artışa yol açtığı ve buna bağlı olarak ROS salınımının da arttığı bildirilmiştir (3). ROS, nötrofil granülositlerinde bakterinin yok edilmesinde, karaciğerde zehirsizleştirme reaksiyonlarında ve prostaglandin sentezi gibi bazı fizyolojik süreçlerde önemli görevler üstlenmektedir (4). Ancak ROS üretiminin normalin üzerine çıkmasının testiküler oksidatif strese, DNA hasarına ve sperm membran geçirgenliğinin bozulmasına yol açabileceği bildirilmiştir (5). Testis ve spermatazoanın ROS ve oksidatif strese karşı çok duyarlı olmasının başlıca nedeninin, sperm hücre membranlarında bulunan çok doymamış yağ asitlerinden zengin lipidlerin peroksidasyonu olduğu bildirilmiştir (6). Sağlıklı fizyolojik süreçte, testiste artan ROS düzeyleri antioksidan sistemler ile dengelenmektedir. Antioksidanlar, yeni ROS sentezini baskıladıkları gibi, aşırı düzeyde oluşan ROS'u da ortadan kaldırılabirler (7). Ancak daha önce yapılan çalışmalarda, obezite ve yağlı diyet kaynaklı oksidatif stresin, testiste antioksidan enzimler olarak görev yapan glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon S-transferaz (GST) ve süperoksit dismutaz (SOD) ile glutatyonun (GSH) koruyucu ve engelleyici etkisine rağmen arttığı bildirilmiştir (7,8).

Zerdeçal, *Curcuma longa* (*C. Longa*) bitkisinin köklerinden elde edilen bir baharattır. *C. Longa*'nın en önemli ve aktif bileşeni kurkumindir (9). Kurkuminin farmakolojik etkileri arasında olan, anti-inflamatuvar, antioksidan ve antikarsinojenik özellikler pekçok çalışma tarafından irde-

lenmiştir (10-12). Kurkuminin güçlü antioksidan etkisinin hidroksil ve süperoksit radikalleri gibi reaktif oksijen türlerini yok edici etkisine bağlı olduğu bildirilmiştir (13).

Bu çalışmada amacımız, yağlı diyetle birlikte alınan kurkuminin testis dokusunda oksidan-antioksidan denge üzerindeki düzenleyici bir etkisinin olup olmadığını incelemektir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışma protokolü

Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi Deneysel Tıp ve Araştırma Enstitüsü'nden sağlanan 32 adet 3,5-4 aylık 200-250 g ağırlığında Sprague-Dawley erkek sıçan (İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu, karar no: 2013/48 ve 2014/63) kullanıldı. Tüm deneyler ulusal sağlık enstitüleri tarafından kabul edilen deney hayvanları bakımı ve kullanımı ilgili kurallar çerçevesinde yapıldı. Deney hayvanları 4 gruba ayrıldı:

1) Kontrol grubu (n=8): Sıçanlar kontrol pellet sıçan yemi ile beslendi (toplam kalorisinin %10'unun yağdan karşıldığı yem; 3,7 kcal/g yem, TD.06416 Harlan Laboratories, Madison, USA).

2) Yüksek Yağlı Diyet (YYD) grubu (n=8): Sıçanlar yağ oranı yüksek yem (toplam kalorisinin %60'ının yağdan karşıldığı yem; 5,1 kcal/g yem, TD.06414 Harlan Laboratories, Madison, USA) ile beslendi.

3) YYD+Kurkumin (YYD+Kur) grubu (n=8): Yağ oranı yüksek yeme, kg başına 1g olacak şekilde kurkumin (#820354; Merck, Germany) eklendi; karıştırılarak tekrar pellet haline getirildi ve hazırlanan bu yemle hayvanlar beslendi.

4) Kurkumin (Kur) grubu (n=8): Kontrol pellet yeme, kg başına 1g olacak şekilde kurkumin (#820354; Merck, Germany) eklendi; karıştırılarak tekrar pellet haline getirildi ve hazırlanan bu yemle hayvanlar beslendi.

Deney süresi 16 hafta olarak belirlendi. Hayvanların başlangıç ve deney sonundaki ağırlıkları ve günlük olarak yedikleri yem miktarı kaydedildi. Süre bitiminde, sıçanlar, bir gece aç bırakıldıktan sonra intraperitoneal enjeksiyonla

verilen Na-pentotal (50 mg/kg i.p) anestezisi altında kalplerinden kan alınarak sakrifiye edildi. Testis dokusu hızla çıkarıldı. Doku homojenatı %10'luk(w/v) soğuk 0.15 M KCl içinde hazırlandı. Postmitokondriyal fraksiyon elde etmek için homojenatın bir kısmı 600xg'de 10dk 4°C'de santrifüj edildi. Süpernatant 10000xg'de 20 dk santrifüj edilerek postmitokondriyal fraksiyon elde edildi. Pellet ise mitokondriyal fraksiyonda yapılacak analizler için ayrıldı. Homojenat ve tüm fraksiyonlar deneyler yapıncaya kadar -80°C'de saklandı.

Testiste yapılan biyokimyasal analizler

Doku homojenatlarında ve mitokondriyal fraksiyonlarda malondialdehit (MDA) düzeyleri Ohkawa ve ark. (1979) metodu kullanılarak ölçüldü (14). Standart olarak 1,1,3,3-tetraetoksipropan kullanıldı. GSH düzeyleri doku homojenatlarında 412 nm'de 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoat) kullanılarak ölçüldü (15).

GPx, GST ve SOD antioksidan enzim aktiviteleri postmitokondriyal ve mitokondriyal fraksiyonlarda ölçüldü. GPx ve GST aktiviteleri sırasıyla kümenhidroperoksit ve 1-kloro-2,4-dinitrobenzen substratları kullanılarak tayin edildi (16,17). SOD aktivitesi, riboflavin ile duyarlandırılmış o-dianisidinin fotooksidasyon hızını artırma yeteneği olarak ölçüldü. Mitokondriyal SOD (Mn-SOD) aktivitesi, deney ortamına 2 mmol/L KCN çözeltisi eklenerek sitozolik SOD'un (Cu-Zn SOD) inhibisyonu ile tayin edildi (18).

ROS ölçüm metodunun prensibi, önceki çalışmalarda kullanılan fluorometrik deneyin modifikasyonuna dayanmaktadır (19,20). Floresan olmayan 2,7-diklorofloresin diasetat (DCFH₂-DA) hücre zarından geçebilmektedir. DCFH₂-DA hücre içine girince esterazlar ile asetat grupları koparılmakta ve ROS tarafından güçlü floresan renk veren 2,7-diklorofloresin (DCF)'e oksitlenmektedir. Açığa çıkan 2,7-DCF düzeyleri ($\lambda_{\text{eksitasyon}}$: 485 nm, λ_{emisyon} : 538 nm) bir mikropilaka florometre ve luminometre (Fluoroskan Ascent FL, Thermo Scientific Inc, ABD) kullanılarak ölçüldü ve sonuçlar relatif floresan ünite (RFU)/mg protein olarak verildi.

Protein konsantrasyonları, standart olarak sığır serum albümini kullanılarak bişinkonik asit metodu ile ölçüldü (21).

İstatistiksel analiz

İstatistik analizler için SPSS versiyon 21.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) bilgisayar programı kullanıldı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel ve analitik yöntemlerle incelendi. Tüm değişkenler medyan±min-maks olarak ifade edildi. Deney grupları non parametrik Kruskal Wallis testi kullanılarak karşılaştırıldı. p değerinin 0,05'in altında olduğu durumlarda, gruplar arası anlamlılığı test etmek üzere ikişerli karşılaştırmalar için Mann Whitney U testi kullanıldı. Korelasyon analizi Spearman testi ile yapıldı.

BULGULAR

Tüm analizler, 2014/63 sayılı İ.Ü Hayvan Etik Kurulu kararıyla daha önceki çalışmamızda (11) kullanılan hayvanların testis dokusunda yapılmıştır. Bu nedenle Tablo 1'de verilen günlük yem ve enerji alım değerleri ile vücut ağırlıkları önceki çalışmada kullanılan değerler ile aynıdır. Testis ağırlıkları Tablo 1'e eklenmiştir.

Oksidatif hasarın göstergesi olarak testis doku homojenatlarında MDA ve ROS, homojenatların mitokondriyal fraksiyonunda ise MDA düzeyleri ölçüldü. ROS düzeyleri gruplar arasında anlamlı değişim göstermedi (Şekil 1). Ancak YYD uygulaması ile artış gösteren doku ve mitokondriyal MDA düzeyleri, YYD+Kur alan grupta anlamlı olarak azaldı. Sadece kurkumin alan grupta ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında doku ve mitokondriyal MDA düzeylerinde değişim gözlenmedi (Şekil 2).

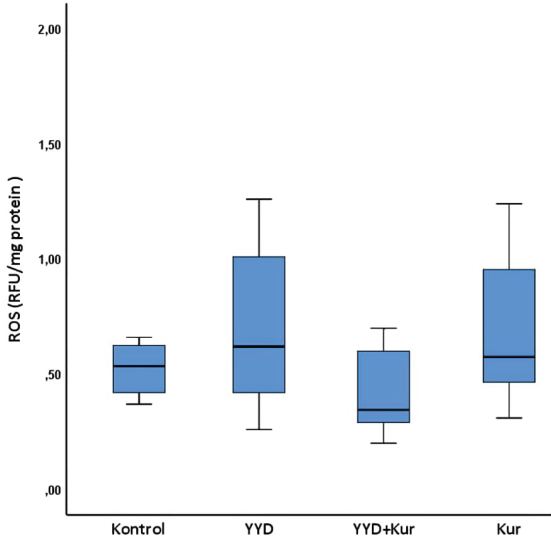
Enzim olmayan antioksidan olarak kabul edilen doku GSH düzeyleri YYD uygulaması ile azaldı. Ancak YYD ile YYD+Kur grupları karşılaştırıldığında, YYD+Kur grubunda GSH düzeyleri artış göstererek kontrol grubu düzeylerine yaklaştı. Sadece kurkumin alan grupta kontrole göre GSH düzeylerinde anlamlı değişim olmadı (Şekil 3).

Antioksidan enzimlerden SOD ve GPx'in postmitokondriyal fraksiyonda ölçülen aktivitelerinde gruplar arasında farklılık gözlenmedi. GST aktivitesi YYD uygulaması ile an-

Tablo 1: Çalışma gruplarını oluşturan sıçanların günlük yem tüketimi-enerji alımı ve vücut- testis ağırlıkları. Değerler ortalama±SD olarak verilmiştir (n=8/grup)

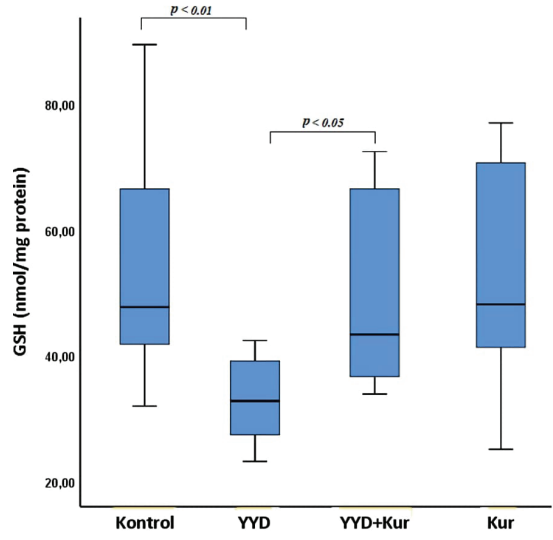
	Kontrol (n=8)	YYD (n=8)	YYD+Kur (n=8)	Kur (n=8)
Günlük yem tüketimi (g/sıçan)	15,6±0,27	12,1±0,48	11,5±0,99	16,1±0,20
Günlük enerji alımı (g/sıçan)	57,6±1,01	61,8±2,45	58,9±5,02	59,5±0,75
Başlangıç vücut ağırlığı (g)	255±11	255±11	249±9	259±12
16 hafta sonra vücut ağırlığı (g)	361±14	364±22	357±38	351±25
Testis ağırlığı (g)	1,60±0,06	1,66±0,19	1,62±0,14	1,54±0,07

YYD: Yüksek yağlı diyet grubu; Kur: Kurkumin grubu; YYD+Kur: Yüksek yağlı diyet ile birlikte kurkumin alan grup



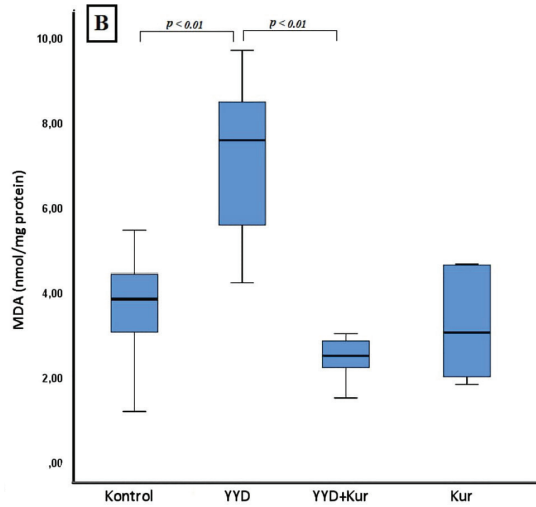
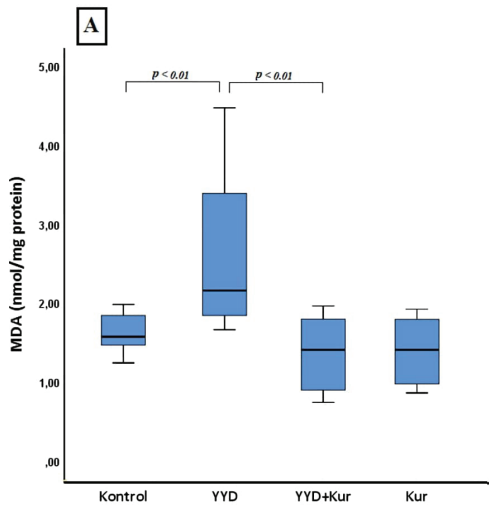
Şekil 1: Çalışma gruplarını oluşturan sıçanların testis ROS düzeyleri. Değerler medyan (min-maks) olarak verilmiştir. Yatay çizgiler medyan değerleri, kutular %50 dağılımı, üst çizgiler %75, alt çizgiler ise %25 dağılımı göstermektedir. Yukarı ve aşağı doğru olan "T" şeklinde çizgiler uç olmayan en düşük ve en yüksek değeri göstermektedir. (n=8/grup).

YYD: yüksek yağlı diyet grubu; Kur: kurkumin grubu; YYD+Kur: Yüksek yağlı diyet ile birlikte kurkumin alan grup; ROS: reaktif oksijen türleri; RFU: relatif floresan ünite



Şekil 3: Çalışma gruplarını oluşturan sıçanların testis GSH düzeyleri. Değerler medyan (min-maks) olarak verilmiştir. Yatay çizgiler medyan değerleri, kutular %50 dağılımı, üst çizgiler %75, alt çizgiler ise %25 dağılımı göstermektedir. Yukarı ve aşağı doğru olan "T" şeklinde çizgiler uç olmayan en düşük ve en yüksek değeri göstermektedir. (n=8/grup).

YYD: yüksek yağlı diyet grubu; Kur: kurkumin grubu; YYD+Kur: Yüksek yağlı diyet ile birlikte kurkumin alan grup; GSH: glutatyon



Şekil 2: Çalışma gruplarını oluşturan sıçanların testis homojenatında (A) ve mitokondrisinde (B) MDA düzeyleri. Değerler medyan (min-maks) olarak verilmiştir. Yatay çizgiler medyan değerleri, kutular %50 dağılımı, üst çizgiler %75, alt çizgiler ise %25 dağılımı göstermektedir. Yukarı ve aşağı doğru olan "T" şeklinde çizgiler uç olmayan en düşük ve en yüksek değeri göstermektedir. (n=8/grup).

YYD: yüksek yağlı diyet grubu; Kur: kurkumin grubu; YYD+Kur: Yüksek yağlı diyet ile birlikte kurkumin alan grup; MDA: Malondialdehit

lamalı düzeyde değişmedi. Ancak YYD ile birlikte kurkumin alan grupta YYD grubu ile kıyaslandığında GST aktivitesi artmış bulundu. Sadece kurkumin alan grupta ise kontrole göre postmitokondriyal GST aktivitesi değişmedi (Tablo 2). Mitokondriyal antioksidan enzim aktiviteleri ise YYD ve kurkumin uygulamasından etkilenmedi (Tablo 3). Doku MDA ile mitokondriyal MDA düzeyleri arasında ileri derecede anlamlı pozitif korelasyon bulundu ($r=0.562$, $p=0.001$, $n=32$).

üzerine olan etkisini incelemektir. Bu konuda daha önce yapılmış çalışmalar sınırlıdır ve net bir sonuca varabilmek açısından yetersizdir.

Bulgularımıza göre, testis dokusunda postmitokondriyal ve mitokondriyal fraksiyonlarda yağlı beslenmeye bağlı artış gösteren MDA düzeyleri, kurkumin kullanımı ile anlamlı olarak azalmıştır. Sadece kurkumin alan grupta ise kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir değişiklik

Tablo 2: Postmitokondriyal bakır-çinko süperoksit dismütaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon S- transferaz aktiviteleri. Değerler medyan (min-maks) olarak verilmiştir.

	Kontrol (n=8)	YYD (n=8)	YYD+Kur (n=8)	Kur (n=8)
Cu-Zn SOD (U/mg prot)	16,87 (14,09-29,24)	16,04 (8,93-25,25)	14,91 (11,18-27,18)	14,87 (11,76-19,66)
GPx (nmol/mg prot)	317,6 (287,2-348,4)	286,3 (171,1-387,4)	360,1 (248,7-576,7)	316,8 (256,5-394,1)
GST (nmol/mg prot)	840,2 (683,9-981,7)	815,4 (520,6-899,7)	991,0 ^a (821,0-1182,5)	972,5 (716,3-4512,6)

^aYYD grubu ile karşılaştırma $p=0,003$; YYD: Yüksek yağlı diyet grubu; Kur: Kurkumin grubu; YYD+Kur: Yüksek yağlı diyet ile birlikte kurkumin alan grup; Cu-Zn SOD: Bakır-çinko süperoksit dismütaz; GPx; Glutatyon peroksidaz; GST; Glutatyon S-transferaz

Tablo 3: Mitokondriyal Mangan-süperoksit dismütaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon S- transferaz aktiviteleri. Değerler medyan (min-maks) olarak verilmiştir

	Kontrol (n=8)	YYD (n=8)	YYD+Kur (n=8)	Kur (n=8)
Mn-SOD (U/mg prot)	7,63 (4,66-9,36)	7,29 (2,02-9,04)	6,02 (5,21-8,69)	5,98 (3,20-13,03)
GPx (nmol/mg prot)	70,40 (30,59-92,54)	76,05 (62,28-91,86)	73,77 (61,90-88,65)	70,95 (53,81-126,64)
GST (nmol/mg prot)	480,3 (380,5-550,6)	504,9 (226,6-692,5)	396,5 (108,5-586,8)	463,1 (241,7-710,0)

YYD: yüksek yağlı diyet grubu; Kur: kurkumin grubu; YYD+Kur: Yüksek yağlı diyet ile birlikte kurkumin alan grup; Mn-SOD: mangan süperoksit dismütaz; GPx; glutatyon peroksidaz; GST; glutatyon S-transferaz

TARTIŞMA

Obezite ve yağlı diyetle beslenmenin erkek üreme sistemi üzerine olan olumsuz etkileri birçok çalışma ile gösterilmiştir (7, 22). Obez kişilerde artış gösteren yağ kütlesinin testis skrotumunda biriktiği ve oksidatif strese yol açtığı bildirilmiştir (7). Testis dokusunun ve sperm membranlarının çok doymamış yağ asitlerinden zengin içerikte olması erkek üreme sistemini oksidasyona açık hale getirmektedir (6). Membran lipidlerinin oksidatif strese bağlı peroksidasyonu sonucu, başta MDA olmak üzere doku hasarına yol açan pekçok doymamış reaktif aldehit türevleri oluştuğu bilinmektedir (23). Bu çalışmadaki amacımız, YYD ile beslenen sıçanlarda kurkuminin testiküler oksidatif stres

görülmemiştir. Bu sonuç, yağlı diyetle uyarılmış oksidatif stresi, kurkuminin başarılı bir şekilde baskılayabildiğini göstermektedir. Kurkuminin antioksidan etkisini oksidasyonu uyarıcı transkripsiyon faktörlerini baskılama yoluyla gerçekleştirdiği bildirilmiştir (24). *In vitro* bir çalışmada kurkuminin nükleer faktör κ B (NF- κ B) aktivasyonunu baskılayarak antioksidan etki gösterdiği bildirilmiştir (24). Başka bir çalışmada, kurkuminin peroksil oluşumunu ve oksidatif stresi azaltıp, antioksidan enzim aktivitesini arttırdığı bildirilmiştir (25). Çalışmamızda yağlı diyet alan grupta MDA düzeylerinin artıp ROS düzeylerinin değişmemesi, testiküler ROS salınımının, MDA sentezi ile sonuçlanan lipid peroksid oluşumuna göre daha az olduğunu düşündürmektedir. Çoklu doymamış yağ asidi oranının

testiste fazla olması, lipid peroksit salınımını artırarak MDA düzeylerinin yükselmesine neden olabilir. Ancak MDA düzeyindeki bu artış ROS düzeyleri ile ilişkili değildir. 2019 yılında 16 hafta kurkumin ve kapsaisin alan YYD ile beslenmiş sıçanların testis dokusunda yaptığımız bir çalışmada, YYD grubunda artan MDA düzeyleri, YYD ile birlikte kurkumin+kapsaisin alan grupta azalmıştır. ROS düzeyleri ise değişim göstermemiştir (10). Bulgularımız daha önceki çalışmamızla uyumludur. Kanter ve ark'larının yaptığı başka bir çalışmada, streptozotosinle uyarılmış diyabetik sıçanların testis dokusunda MDA düzeyleri artmış, kurkumin alan diyabetik grupta ise azalmıştır (22). Zhao ve ark'larının yaptığı bir çalışmada ise, 8 hafta YYD ve sıçan vücut kg'ı başına 100 mg kurkumin verilen sıçanların testis dokusunda YYD ile birlikte artan MDA düzeyleri kurkumin ile azalmıştır (26). Kurkuminin testis dokusunda yağlı beslenmeye verdiği koruyucu cevabın uygulanması doz ve süre ile ilişkili olduğu görülmektedir.

Testis fonksiyonlarının fizyolojik olarak normal düzeylerde sürdürülmesi ancak serbest radikal tutucu ve/veya antioksidan sistemin yeterli olması ile mümkündür. GSH hücrel redoks potansiyelini düzenleyen en önemli antioksidanlardan biridir (27). Deney grubumuzda GSH düzeyleri YYD uygulaması ile azalmıştır. Ancak YYD ile birlikte alınan kurkumin, GSH düzeylerini kontrol grubuna yakın düzeylere yükselterek süreci tersine çevirmiştir. Bununla birlikte sadece kurkumin alan grupta GSH düzeylerinde değişim olmaması, GSH'ın yağlı beslenmeye karşı oluşan oksidatif stres ile baş etmekte ne derece önemli olduğunu göstermektedir. YYD beslenme modeli oluşturulan daha önceki hayvan çalışmalarında, plazma ve doku GSH düzeylerinde azalma olduğu bildirilmiştir (28,29). Bulgumuz bu çalışmalarla uyumludur.

Antioksidan savunma sisteminde SOD, GPx ve GST gibi antioksidan enzim aktiviteleri de önemlidir. Mitokondriyal ve postmitokondriyal fraksiyonlarda ölçtüğümüz antioksidan enzim aktivitelerinden sadece postmitokondriyal GST aktivitesi kurkumin ile artmıştır. Bu sonuç GST'nin substratı olan sitozolik GSH düzeylerinin kurkumin ile uyarılıp artmasına bağlı olarak GST aktivitesinin de artması ile açıklanabilir. Testiküler antioksidan enzim aktivitelerini ölçen çalışmalarda verilen sonuçlar çok değişken ve çeşitlidir. Gujjala ve ark'larının yaptığı çalışmada 90 gün YYD ve *Caralluma fimbriata* ile beslenen sıçanların testis dokusunda GSH ve enzim aktivitelerinin arttığı gösterilmiştir (2). 2017'de yapılan farklı bir çalışmada, YYD ile beslenen diyabetik sıçanların testislerinde kurkumin uygulaması ile MDA azalmış; SOD aktivitesi ise artmıştır (26). 2019 yılındaki çalışmamızda ise 16 hafta kurkumin ve kapsaisin alan sıçanların testis GSH düzeyleri ile SOD, GPx ve GST aktivitelerinde değişiklik bulunmamıştır (10).

Sonuç olarak, 16 hafta süreyle YYD ve yem kg'ı başına 1g kurkumin alan sıçanların testislerinde oksidatif hasar göz-

tergesi olan MDA düzeyleri artmıştır. MDA düzeylerinin mitokondriyal fraksiyonda da artmış olması ve sitozolik MDA düzeyleri ile pozitif korelasyon göstermesi mitokondriyal oksidatif hasarın oluştuğunu ve bunun sitozolik oksidan stresle ilişkili olduğunu göstermektedir. Oksidatif hasar, kurkumin uygulaması ile gerilemiş; ancak bu durum antioksidan enzim aktivitelerini etkilememiştir. Kurkuminin antioksidan sistem üzerine etkisi GSH düzeylerini uyarıcı boyutla sınırlı kalmıştır. Kurkuminin oksidatif stresi baskılayıcı etkisinin özellikle serbest radikal yok edici özelliğine bağlı olduğu bildirilmiştir (30). Bu etki testis dokusunda oldukça etkili gözükmemektedir. Kurkuminin özellikle MDA düzeyleri üzerine etkili olması, testiste yüksek miktarda bulunan çok doymamış yağ asitlerinin peroksitlere dönüşümünü baskılayıcı özelliğine bağlı olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda testiküler antioksidan enzim aktivitelerinin kurkuminle değişmiş olmasının bir nedeninin de, kurkuminin testiste transkripsiyon faktörleri, özellikle NF- κ B üzerine baskılayıcı etki göstermiş olma ihtimalidir. Bu konuda yapılacak ileri çalışmalar, erkek üreme sisteminde kurkuminin oksidan-antioksidan sistem üzerindeki koruyucu etkilerinin moleküler mekanizmalarının belirlenmesinde önemli olacaktır.

Etik Komite Onayı: Bu çalışma için etik komite onayı İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'ndan alınmıştır. (No: 2013/48 ve 2014/63)

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/Tasarım- M.S., S.T.K., Y.Ö.İ., H.K.; Veri Toplama- M.S., S.T.K., Y.Ö.İ., H.K., P.M., A.F.A.; Veri Analizi/Yorumlama- M.S., S.T.K., Y.Ö.İ., H.K., A.F.A.; Yazı Taslağı- M.S., S.T.K., Y.Ö.İ., H.K.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi- M.S., S.T.K., Y.Ö.İ., H.K.; Son Onay ve Sorumluluk- M.S., S.T.K., Y.Ö.İ., H.K., P.M., A.F.A.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Ethics Committee Approval: This study was approved by the Ethics Committee of Istanbul University Animal Experiments. (No: 2013/48 and 2014/63)

Peer Review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Conception/Design of Study- M.S., S.T.K., Y.Ö.İ., H.K.; Data Acquisition- M.S., S.T.K., Y.Ö.İ., H.K., P.M., A.F.A.; Data Analysis/Interpretation- M.S., S.T.K., Y.Ö.İ., H.K., A.F.A.; Drafting Manuscript- M.S., S.T.K., Y.Ö.İ., H.K.; Critical Revision of Manuscript- M.S., S.T.K., Y.Ö.İ., H.K.; Final Approval and Accountability- M.S., S.T.K., Y.Ö.İ., H.K., P.M., A.F.A.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: Authors declared no financial support.

KAYNAKLAR

1. Liu Y, Ding Z. Obesity, a serious etiologic factor for male subfertility in modern society. *Reproduction* 2017;154(4):123-31. [CrossRef]
2. Gujjala S, Putakala M, Gangarapu V, Nukala S, Bellamkonda R, Ramaswamy R, Desireddy S. Protective effect of *Caralluma fimbriata* against high-fat diet induced testicular oxidative stress in rats. *Biomed Pharmacother* 2016;83:167-76. [CrossRef]
3. Nakamura S, Takamura T, Matsuzawa-Nagata N, Takayama H, Misu H, Noda H, et al. Palmitate induces insulin resistance in H4IIEC3 hepatocytes through reactive oxygen species produced by mitochondria. *J Biol Chem* 2009;284:14809-18. [CrossRef]
4. Webster NR, Nunn JF. Molecular structure of free radicals and their importance in biological reactions. *Br J Anaesth* 1988;60(1):98-108. [CrossRef]
5. Rato L, Alves MG, Cavaco JE, Oliveira PF. High-energy diets: a threat for male fertility? *Obesity Reviews* 2014;15:996-1007. [CrossRef]
6. Dohle GR, Diemer T, Giwercman A, Jungwirth A, Kopa Z, Krausz C. Guidelines on Male Infertility. E.A.U. 2010:6-8.
7. Mortazavi M, Salehi I, Alizadeh Z, Vahabian M, Roushandeh AM. Protective Effects of Antioxidants on Sperm Parameters and Seminiferous Tubules Epithelium in High Fat-fed Rats. *J Reprod Infertil* 2014;15(1):22-8.
8. Chen H, Zhao HX, Huang XF, Chen GW, Yang ZX, Sun WJ, et al. Does high load of oxidants in human semen contribute to male factor infertility? *Antioxid Redox Signal* 2012;16(8):754-9. [CrossRef]
9. Sharma RA, Gesch er AJ, Steward WP. Curcumin: the story so far. *Eur J Cancer* 2005;41:1955-68. [CrossRef]
10. Tanrikulu-Küçük S, Başaran-Küçükgergin C, Seyithanoğlu M, Doğru-Abbasoğlu S, Koçak H, Beyhan-Özdaş Ş, Öner-İyidoğan Y. Effect of dietary curcumin and capsaicin on testicular and hepatic oxidant-antioxidant status in rats fed a high-fat diet. *Appl Physiol Nutr Metab* 2019;3:1-9. [CrossRef]
11. Öner-İyidoğan Y, Tanrikulu-Küçük S, Seyithanoğlu M, Koçak H, Doğru-Abbasoğlu S, Aydın AF, et al. Effect of curcumin on hepatic heme oxygenase 1 expression in high fat diet fed rats: is there a triangular relationship? *Can J Physiol Pharmacol* 2014;92:805-12. [CrossRef]
12. Aggarwal BB, Harikumar KB. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases. *Int J Biochem Cell Biol* 2009;41:40-59. [CrossRef]
13. Goel A, Jhurani S, Aggarwal BB. Multi-targeted therapy by curcumin: How spicy is it? *Molecular Nutrition and Food Research* 2008;52:1010-30. [CrossRef]
14. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxidation in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351-8. [CrossRef]
15. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1979;61:882-8.
16. Lawrence RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1976;71:952-8. [CrossRef]
17. Habig WH, Jacoby WB. Assays for differentiation of glutathione S-transferases. *Methods Enzymol* 1981;77: 398-405. [CrossRef]
18. Mylorie AA, Collins H, Umbles C, Kyle J. Erythrocyte superoxide dismutase activity and other parameters of copper status in rats ingesting lead acetate. *Toxicol Appl Pharmacol* 1986;82:512-20. [CrossRef]
19. Lu J, Wu DM, Zheng YL, Hu B, Cheng W, Zhang ZF, Li MQ. Troxerutin counteracts domoic acid-induced memory deficits in mice by inhibiting CCAAT/enhancer binding protein β -mediated inflammatory response and oxidative stress. *J Immunol* 2013;190:3466-79. [CrossRef]
20. Wang H, Joseph JA. Quantifying cellular oxidative stress by dichlorofluorescein assay using microplate reader. *Free Radic Biol Med* 1999;27:612-6. [CrossRef]
21. Smith S. The animal fatty acid synthase: one gene, one polypeptide, seven enzymes. *FASEB J* 1994; 8:1248-59. [CrossRef]
22. Kanter M, Aktas C, Erboğa M. Curcumin attenuates testicular damage, apoptotic germ cell death, and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol Nutr Food Res* 2013;57(9):1578-85. [CrossRef]
23. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med* 1991;11(1):81-128. [CrossRef]
24. Xu DP, Li Y, Meng X, Zhou T, Zhou Y, Zheng J, et al. Natural antioxidants in foods and medicinal plants: Extraction, assessment and resources. *Int J Mol Sci* 2017;18:96. [CrossRef]
25. Alappat L, Awad AB. Curcumin and obesity: evidence and mechanisms. *Nutr Rev* 2010;68(12):729-38. [CrossRef]
26. Zhao L, Gu Q, Xiang L, Dong X, Li H, Ni J, et al. Curcumin inhibits apoptosis by modulating Bax/Bcl-2 expression and alleviates oxidative stress in testes of streptozotocin-induced diabetic rats. *Ther Clin Risk Manag* 2017;28:1099-105. [CrossRef]
27. Pastore A, Federici G, Bertini E, Piemonte F. Analysis of glutathione: implication in redox and detoxification. *Clin Chim Acta* 2003;333(1):19-39. [CrossRef]
28. Sudhakara G, Mallaiha P, Sreenivasulu N, Sasi Bhusana Rao B, Rajendran R, Saralakumari D. Beneficial effects of hydroalcoholic extract of *Caralluma fimbriata* against high-fat diet induced insulin resistance and oxidative stress in Wistar male rats. *J Physiol Biochem* 2014;70:311-20. [CrossRef]
29. Lee SJ, Choi SK, Seo JS. Grape skin improves antioxidant capacity in rats fed a high fat diet. *Nutr Res Pract* 2009;3(4):279-85. [CrossRef]
30. Dikmen M, Kaya-Tilki E, Engur S, Ozturk Y. Neuritogenic activity of epigallocatechin gallate and curcumin combination on rat adrenal pheochromocytoma cells. *Fresenius Environ Bull* 2017;26:4726-33.