

Orijinal Araştırma

Diyabetik Rat Testis Dokusundaki Apoptotik Değişiklikler Üzerine Oleuropeinin Etkisi

The Effect of Oleuropein on the Apoptotic Changes in the Testicular Tissues of Diabetics Rats

Tuba Yalçın¹, Tuncay Kuloğlu², Gaffari Türk³, İ. Enver Ozan²

¹Batman University, Health Services Vocational School, Batman, Türkiye

²Firat University, Faculty of Medicine Department of Histology and Embryology, Elazığ, Türkiye

³Firat University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Reproduction and Artificial Insemination, Elazığ, Türkiye

Özet

Diyabet hastanın yaşam kalitesini azaltarak hayat boyu süren, hastalık yapma ve ölüm oranı yüksek kronik metabolik bir hastalıktır. Bu çalışmada, oksidatif stresin önemli bir rol oynadığını ve streptozotosin (STZ) ile oluşturulan diyabetik sıçan modelinde Diabetes Mellitus'un (DM) sıçan testis dokusunda meydana getirdiği apoptotik değişiklikler üzerinde Oleuropein'in (OLE) etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada, 28 adet Wistar albino cinsi erkek sıçanlar randomize olarak her grupta 7 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrılarak 6 hafta süren bir deney yapıldı. Kontrol grubundaki sıçanlara herhangi bir uygulama yapılmadı. Diğer 2 (DM ve DM + OLE) gruba 50 mg/kg olacak şekilde tek doz STZ 0,1 M sodyum sitrat tamponunda çözülürerek intraperitoneal uygulaması ile oluşturuldu. DM + OLE (diyabet oluşuktan sonra) ve OLE gruplarına OLE (10ml/kg/gün) 6 hafta süreyle oral yolla verildi.

Deney sonunda sıçanlar dekapite edilerek testis dokuları çıkarıldı. Testis dokularına Hematoksilin&Eozin, Periyodik Asit Schiff (PAS) ve TdT-mediated nick and labeling (TUNEL) boyamaları yapıldı. Testis dokusu örneklerinin bir bölümü ise spermatolojik incelemeler için kullanıldı.

Histolojik incelemelerde, DM grubunda tübüllerde atrofi, dejenerasyon peritübüler konjesyon ve bazal membranda kalınlaşma mevcuttu. DM + OLE grubunda ise kontrol grubuna yakın histolojik bulgular gözlemlendi. TUNEL boyamada, diyabetik grupta apoptotik hücre artışı vardı. Diyabetik grup ile kıyaslandığında DM + OLE grubunda apoptotik hücre artışında anlamlı bir azalma belirlendi.

Sadece OLE uygulanan gruba ait sıçan testis dokusunda, interstisyel doku ve seminifer tübüllerde dejenerasyon izlendi.

DM'nin oluşturduğu testiküler hasara karşı OLE'nin direkt veya dolaylı antioksidan etkisiyle bu hasarı önlemede etkili olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Histoloji, Diabetes Mellitus, Oleuropein, Testis

Abstract

Diabetics is a chronic metabolic condition that proceeds for a lifetime and has a high incidence and mortality rate. In this study, it was aimed to investigate the effects of oleuropein (OLE) on the apoptotic changes in the testicular tissue caused by Diabetes Mellitus (DM) in diabetic rat model formed with streptozotocin, in which oxidative stress plays a significant role.

In this study, 28 Wistar albino type male rats were randomly divided into 4 groups with each group including 7 rats and the experiment was conducted for 6 months. No implementation was conducted on the control group rats. The other 2 groups (DM and DM + OLE) were formed by the intraperitoneal implementation, which was implemented by thawing a single dose STZ 0.1 M in sodium citrate buffer in a way that the implementation would be 50mg/kg. OLE administration (10 ml/kg/day) was administered orally for DM + OLE (after the occurrence of diabetics) and OLE groups.

As a result of the experiment, the rats were decapitated and the testicular tissues were removed. The testicular tissues were dyed with Hematoxylin&Eosin Periodic Acid Schiff (PAS) and TdT-mediated nick and labeling (TUNEL). Some of the testicular tissue samples were used for spermatological examinations.

In the histological examination, it was determined that the DM group had tubular atrophy, degenerated peritubular congestion and thickening in basal membrane. In the DM + OLE group, histological findings close to those of the control group were observed. In the TUNEL dying, an apoptotic cell increase was observed in the diabetic group. Compared to the diabetic group, it was determined that there was a significant decrease in the apoptotic cell increase in the DM + OLE group.

In the testicular tissues of the group with sole OLE implementation, interstitial tissue, and degeneration in the seminiferous tubules were observed.

It was concluded that against the testicular damage caused by DM, the direct or indirect antioxidant effect of OLE could be effective in preventing that damage.

Keywords: Histology, Diabetes Mellitus, Oleuropein, Testes.

Giriş

Diabetes Mellitus, mutlak veya fonksiyonel insülin yetersizliğine bağlı olarak gelişen, yüksek kan şekeri (hiperglisemi) ile karakterize bir hastalıktır. İnsülin eksikliğinin yanı sıra insüline karşı gelişen direnç de DM gelişiminde rol oynamakta olan ve karbonhidrat başta olmak üzere lipid ve protein metabolizmasında bozuklukla seyreden bir endokrin ve metabolizma hastalığıdır (1, 2). Diyabet, vücut ve reproduktif organ ağırlıklarının azalmasıyla, testislerde ve epididimlerde sperm sayısında azalmaya neden olur (3).

Oksidatif stres, Serbest radikal oluşumu ile antioksidan savunma mekanizması arasındaki ciddi dengesizliği göstermekte olup sonuçta doku hasarına yol açmaktadır (4). Yayınlar Ole'nin anti-enflamatuar, anti-aterojenik, antioksidan, anti-kanser, antimikrobiyal, antiviral ve akut kalp koruyucu adriamisin kardiyotoksisite karşı olduğu gösterilmiş ve anti-iskemik ve hipolipidemik aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir (5- 11).

Oksidatif stres, diyabet ve diyabetin daha sonraki komplikasyonlarının patogenezinde önemli bir role sahip olduğu bilinmesine rağmen, oleuropeinin antioksidan etkinliğinin bu durumu nasıl değiştirdiğini gösteren çalışma az bulunmaktadır.

Bu çalışmada DM 'un sıçan testis dokusunda meydana getirebileceği olası hasarlara karşı Ole'nin koruyucu etkilerinin araştırılması planlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Hayvanların seçimi ve hazırlığı

Çalışmamızda ortalama 8-10 haftalık ve 205 gram ağırlığında 28 adet erkek Wistar albino cinsi sıçan kullanıldı. 21°C oda ısısında 12 saat ışık (7:00-19:00) ve 12 saat karanlıkta (19:00-7:00) tutulan sıçanlar her gün altları temizlenen kafeslerde beslendi. Sıçanlar havalandırma sistemi bulunan bir ortamda özel olarak hazırlanmış kafeslerde (3'lü-4'lü gruplar halinde) barındırıldı. Tüm sıçanlar aynı ortamda gözetim altında tutuldu ve aynı standart sıçan yemi verilerek ad libitum su, yiyecek alımları sağlandı. Çalışmamız Fırat Üniversitesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır.

Deney Hazırlığı ve Kullanılan Gereçler

Hayvanlar uyum sürecini tamamladıktan sonra randomize olarak her grupta 7 sıçan olmak

şartıyla 4 gruba ayrıldı. Grup I (n:7) kontrol grubundaki deney hayvanlarına 6 haftalık deney süresince hiçbir uygulama yapılmadı. Grup II (n:7) diyabetik gruptaki (DM) sıçanlara 50 mg/kg tek doz STZ 0,1 M Fosfat-sitrat tamponunda (pH:4,5) çözdürülerek i.p olarak uygulandı. Grup III (n:7) tedavi grubunda (DM + OLE) yer alan sıçanlara diyabetin başlangıcından itibaren 6 hafta süreyle OLE ekstraktı (Kale Naturel Limited şirketi, Balıkesir) 10ml/kg/gün olacak şekilde oragastrik tüp yardımı ile her gün sabah saat 9:00'da uygulandı. Grup IV (n:7) OLE grubundaki sıçanlara 6 hafta süreyle sağlıklı sıçanlara OLE ekstraktı 10ml/kg/gün olacak şekilde oragastrik tüp yardımı ile her gün sabah saat 9:00'da verildi.

Kontrol grubuna çalışmanın başından itibaren hiçbir uygulama yapılmadı. Tüm deneklerin deneyin başlangıcı ve sonundaki ağırlık değişimleri kaydedildi.

Diyabet oluşturacak gruba 26 gauge'lık insülin enjektörüyle 50 mg/kg dozunda STZ (Sigma Chemical Co Louis Missouri) 0,1 M Fosfat-sitrat tamponunda (pH: 4,5) çözdürülerek i.p enjeksiyonla tek doz olarak uygulandı. 72 saat sonra, 12 saat aç bırakılan sıçanlar sabah saat 9-10 arasında kuyruk venlerinden kan örneği alınarak, glukometre cihazındaki ölçümü sonucu açlık kan glukozu düzeyi >250 mg/dl'yi geçen sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi.

Deneyi 6 haftasında tüm gruptaki sıçanlar, ketamin (75 mg/kg) + xylazine (10 mg/kg) i.p uygulanarak anestezi altında dekapite edildi. Sıçanların testis dokuları hızla çıkarılarak bouin solüsyonunda tespit edilip ardından histokimyasal ve immünohistokimyasal incelemeler için parafin bloklar hazırlandı.

Spermatolojik Değerlendirmeler

Alınan sperm örneklerinden; sperm yoğunluğu, sperm motilitesi, ve anormal sperm miktarına bakılarak değerlendirilmeler yapıldı.

Histokimyasal Analizler

Hazırlanan testis dokusu preparatlarına Hematoksilen-Eozin (H&E) ve Periyodik Asit Schiff (PAS) boyamaları yapıldı. Apoptotik hücrelerin belirlenmesi için TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase (TdT)-mediated deoxyuridine triphosphate (dUTP)-biotin nick end-labeling) boyaması uygulandı.

İstatistiksel Analiz

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

Bulgular

Spermatolojik Değerlendirmeler

Sadece OLE uygulamasının kontrol grubu ile karşılaştırıldığında epididimal sperm sayısı ile motilitelerinde herhangi bir etkiye sahip olmadığı gözlemlendi. Bununla birlikte kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DM grubundaki hayvanların epididimal sperm sayısı ($p < 0.001$) ile sperm motilitelerinde ($p < 0.01$) önemli azalmalar tespit edildi. Diyabetli hayvanlara OLE verilmesi diyabetin neden olduğu epididimal sperm sayısı ve motilitelerinde sayısal artışlar meydana getirmesine rağmen, bu artışların istatistiksel olarak önemsiz olduğu gözlemlendi.

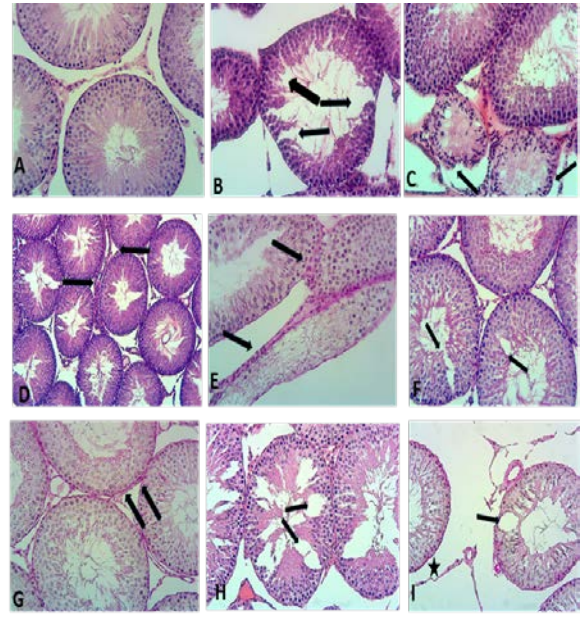
Histolojik Bulgular

Kontrol grubuna ait sıçan testis dokuları incelendiğinde seminifer tübüller, seminifer tübüllerin bazal laminası spermatogenik seriye ait hücreler, Sertoli hücreleri ve Leydig hücreleri normal yapıda gözlemlendi (Şekil 1A).

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında DM grubunda seminifer tübül epitelinde dejenerasyon (Şekil 1B), atrofi (Şekil 1C), peritübüler konjesyon (Şekil 1D) ve seminifer tübüllerde bazal membran kalınlaşması gözlemlendi (Şekil 1E).

DM + OLE uygulanan grupta ise DM'de gözlenen seminifer tübül dejenerasyonunda ve bazal membran kalınlaşmasında azalma gözlemlendi. Ayrıca seminifer tübül epitelinde atrofi ve peritübüler konjesyonun düzelmiş olduğu belirlendi (Şekil 1F, G).

Sadece OLE uygulanan gruba ait sıçan testis dokusunda, interstisyel doku ve seminifer tübülde dejenerasyon izlendi (Şekil 1H, I)



Şekil 1 A. Kontrol grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü H&E 400X.

B. DM grubuna ait testis dokusunda dejenere tübül görünümü H&E 400 X.

C. DM grubuna ait testis dokusunda atrofik tübül görünümü H&E 400 X.

D. DM grubuna ait testis dokusunda peritübüler konjesyon H&E 200 X.

E. DM grubuna ait testis dokusunda bazal membran kalınlaşması PAS 400 X.

F. DM + OLE grubuna ait testis dokusunda azalmakta olan dejenere tübül görünümü ve normal görünümlü interstisyel vasküler yapı. H&E 400 X.

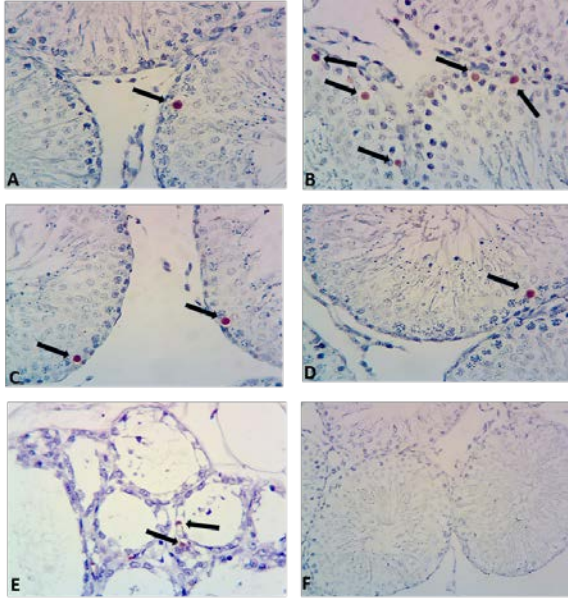
G. DM + OLE grubuna ait testis dokusunda azalmakta olan bazal membran kalınlaşması ve normal görünümlü seminifer tübül epitelini H&E 400 X.

H. OLE grubuna ait testis dokusunda dejenere tübül görünümü H&E 400 X.

I. OLE grubuna ait testis dokusunda dejenere interstisyel doku (★) ve tübül görünümü PAS 400 X.

TUNEL Bulguları

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



Şekil 2A. Kontrol grubuna ait testis dokusunda TUNEL pozitif hücre 400 X.
B. DM grubuna ait testis dokusunda artmış TUNEL pozitif hücreler 400 X.
C. DM + OLE grubuna ait testis dokusu TUNEL pozitif hücreler 400 X.
D. OLE grubuna ait testis dokusu kontrol grubuna benzer TUNEL pozitif hücre 400X.
E. Meme dokusuna ait TUNEL pozitif kontrol 400 X.
F. Negatif kontrolde TUNEL pozitifliği saptanmadı 400 X.

Tartışma

Diabetes Mellitus, insülin salgısının mutlak veya göreceli eksikliği ya da insülin rezistansı ile oluşan, hiperglisemi ile kendini belli eden, karbohidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları ile karakterize bir hastalıktır (12).

Diabetes Mellitusun gonadal fonksiyonları etkileyerek, düşük testosteron düzeyleri, testiküler disfonksiyon ve yetersiz spermatogenez oluşturduğu insanlarda ve deney hayvanlarında gösterilmiştir (13).

DM'nin serbest radikallerin arttığı ve antioksidan mekanizmaların inhibe olduğu oksidatif stres durumlarından birisi olduğu vurgulanmaktadır ve bu yüzden DM tedavisinde antioksidan maddelerin kullanımı tavsiye edilmektedir (14). Son araştırmalar vitamin E, vitamin C ve α -lipoik asit gibi antioksidanların oksidatif stresin oluşturduğu hasarı azalttığını göstermiştir (15). Fakat antioksidanların sağlıklı dokularda özellikle de doz aşımı durumlarında hasara neden olduğu bilinmektedir (16-20). Zeytin yaprağında bulunan OLE'nin sağlığı destekleyen etkili bir antioksidan özelliği vardır. Ayrıca OLE vazodilatör, hipotansif, anti-inflamatuar, anti-romatizmal, diüretik ve

antipiretik gibi etkilere sahip bir fenolik bileşiktir (15).

Son yıllarda diyabetin sebep olduğu etkileri araştırmak, tedavisine yeni yöntemler bulmak amacıyla deney hayvanlarında STZ ve alloxan (ALX) kullanılarak oluşturulan DM modelleri sıklıkla kullanılan bir yöntemdir (21).

STZ ile DM oluşturulan deneysel hayvan modellerinde adrojen reseptörlerinin epididimisinde, prostat bezinde ve testiste azaldığı gösterilmiştir. Androjen reseptörlerinin azalması, diyabetik sıçanlarda hormon sentezinde ve seksüel fonksiyonlarda bozukluklara sebep olur (22). Vücut ve reproduktif organ ağırlıklarının azalmasıyla da testislerde ve epididimilerde sperm sayısında azalmaya neden olur (3).

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

Yapılan bir çalışmada da DM'da tunika albuginea, seminifer tübüllerde, interstisyel bağ dokusu içinde ve Leydig hücrelerinde histolojik değişiklikler izlenmiştir (13). Ghafari ve ark. yaptıkları çalışmalarında diyabetik grupta seminifer tübül hücrelerinde dökülme, Sertoli ve spermatogonyum hücrelerde vakuolizasyon, seminifer tübül sperm konsantrasyonunda azalma görülmüştür. Ayrıca seminifer tübüllerin çapı ve seminifer epitelin boyunda önemli derecede azalma olmuştur (23).

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

dejenerasyon olduğunu gözlemledik. OLE'nin sağlıklı dokulardaki bu etkisinin doz aşımına bağlı olabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamızdaki histopatolojik bulgular literatür bilgileri ile paralellik arz etmektedir.

Apoptozis birçok biyolojik süreçte etkin rol oynamaktadır. Dokuların gelişmesi, yaşlanması ve kanama kontrolünün sağlanmasında olduğu gibi, normal dokulardaki hücre topluluklarının korunması sürecinde de meydana gelmektedir (24). Diyabete bağlı apoptozisin mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Fakat günümüzde yapılan çalışmalar apoptozise yol açanın oksidatif stresin olabileceğini göstermişlerdir (25).

Testiküler fonksiyon bozukluğu sonucunda spermatogenez sırasında kontrolsüz ve gereksiz apoptozis meydana gelmektedir. Bu nedenle, diyabetik erkeklerdeki testiküler fonksiyon bozukluğunun patogenezinde apoptozis çok önemli bir rol oynar (26). Türk ve ark. deneysel DM oluşturarak yaptıkları çalışmalarında DM grubunda vücut ve testis ağırlıklarının azaldığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca testislerdeki ağırlık azalmasının hücrelerdeki apoptozise bağlı olduğunu söylemişlerdir (27). Bal ve ark. diyabet grubunda belirgin bir apoptotik hücre artışı tespit etmişlerdir (28). Tosounapi ve ark. ise testiküler ve epididimal ağırlıklardaki azalmanın apoptotik hücrelerin artışından kaynaklandığını ve apoptozisteki bu artışın oksidatif hasara bağlı olduğunu söylemişlerdir (29).

Bizde apoptozisin belirlenmesi için yaptığımız bu çalışmada TUNEL boyama sonuçlarına göre DM grubunda testiste belirgin apoptotik hücre artışı gözlemledik.

Al-Azzawie ve ark. yaptıkları çalışmada, OLE'nin oksidatif stresle ilişkili diyabetik komplikasyonların önlenmesinde yararlı olabileceği ve OLE'nin inhibe hiperglisemi için de bir avantaj olabileceğini önermektedirler. Ayrıca oksidatif stres frenleyicisi olduğunu da ileri sürülmüştür (15).

Çalışmamızda tedavi olarak verdiğimiz OLE grubunda belirgin bir azalma olduğunu gözlemledik. OLE'nin iyileştici etkilerinin antioksidan özelliğinden kaynaklandığını düşünmekteyiz ve yaptığımız bu çalışmada bunu destekler niteliktedir.

Sonuç olarak; STZ ile deneysel DM modelinde testislerde belirgin hasar gözlemlendiği, OLE'nin

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

Teşekkür

Bu çalışmayı TF. 11. 79 nolu FÜBAP proje numarası ile destekleyen Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkür ederim.

Kaynaklar

1. Kağa S. Streptozotolin ile Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Papatya Ekstresinin Antidiyabetik ve Antioksidatif Etkisinin Araştırılması. Afyonkarahisar: Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi 2006.
2. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes. Diabetes Care 2003 Jan; 26 Suppl 1: 5-20.
3. Ricci G, Catizone A, Esposito R, Pisanti FA, Vietri MT, Galdieri M. Diabetic rat testes: morphological and functional alterations. Andrologia 2009; 41: 361-8.
4. Altan N. Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. Türk Biyokimya Dergisi 2006; 31(2); 51-6
5. Visioli F, Bellosa S, Galli C. Oleuropein, the bitter principles of olives, enhances nitric oxide production by mouse macrophages. Life Sci 1998; 62: 541-6.
6. Carluccio MA, Siculella L, Ancora MA, Massaro M, Scoditti E, Storelli C, Visioli F, Distanto A, De Caterina R. Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation: antiatherogenic properties of mediterranean diet phytochemicals. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2003; 23: 622-9.
7. Owen RW, Giacosa A, Hull WE, Haubner R, Würtele G, Spiegelhalder B, Bartsch H. Olive oil consumption and health: the possible role of antioxidants. Lancet Oncol 2000; 1: 107-12.
8. Tripoli E, Giammanco M, Tabacchi G, Di Majo D, Giammanco S, La Guardia M. The phenolic composition of olive oil: structure, biological activity, and beneficial effects on human health. Nutr Res Rev 2005; 18: 98-112.
9. Fredrickson WR, F and S Group, Inc. Method and Composition for Antiviral Therapy with Olive Leaves. U.S. Patent 2000; 6: 117, 884.
10. Andreadou I, Sigala F, Iliodromitis EK, Papaefthimiou M, Sigalas C, Aligiannis N, Savvari P, Gorgoulis V, Papalabros E,

- Kremastinos DT. Acute doxorubicin cardiotoxicity is successfully treated with the phytochemical oleuropein through suppression of oxidative and nitrosative stress. *J Mol Cell Cardiol* 2007; 42: 549–58.
11. Andreadou I, Iliodromitis EK, Mikros E, Constantinou M, Agalias A, Magiatis P, Skaltsounis AL, Kamber E, Tsantili-Kakoulidou A, Kremastinos DT. The olive constituent oleuropein exhibits anti-ischemic, antioxidative, and hypolipidemic effects in anesthetized rabbits. *J Nutr* 2006; 136: 2213–19.
 12. Pitkanen OM, Martin JM, Hallman M, Akerblom HK, Sariola H, Andersson SM. Free radical activity during development of insulin-dependent diabetes mellitus in the rat. *Life Sci* 1992; 50: 335-9.
 13. Öztürk F, Ağkadir M, Yağmurca U. Deneysel Diyabetin Sıçan Testislerinde Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler. *T Klin J Med Sci* 2002; 22: 173–8.
 14. Memişoğulları R. Diyabette Serbest Radikallerin Rolü ve Antioksidanların Etkisi Düzce Tıp Fakültesi Dergisi 2005; 3: 30-9.
 15. Al-Azzawie HF, Alhamdani MS. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. *Life Sci* 2006; 78:1371-7.
 16. Bircan FS, Balabanli B, Turkozkan N, Ozan G. Effects of taurine on nitric oxide and 3-nitrotyrosine levels in spleen during endotoxemia. *Neurochem Res* 2011; 36(11): 1978-83.
 17. Ozan G, Turkozkan N, Bircan FS, Balabanli B. Effects of taurine on brain 8-hydroxydeoxyguanosine and 3-nitrotyrosine levels in endotoxemia. *Neurochem Res* 2012; 35(2): 665-70
 18. Fox JT, Sakamuru S, Huang R, et al. Mechanisms of antioxidant-induced DNA damage. *PNAS* 2012; 109(30): E2029.
 19. Fox JT, Sakamuru S, Huang R, et al. High-throughput genotoxicity assay identifies antioxidants as inducers of DNA damage response and cell death. *PNAS* 2012; 109(14): 5423-28.
 20. Dündar Y, Aslan R. Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar, 1. Baskı, Ankara 2000; 95.
 21. Anderson LC. Effects of alloxan diabetes and insulin in vivo on the rat parotid gland. *Am J Physiol* 1983; 245: 431-7.
 22. Lin SH, Wang ZS. Study on the Expression of Androgen Receptor in Testis, Epididymis and Prostate of Adult Rats with Diabetes. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2005; 11(12); 891-4.
 23. Ghafari S, Balajadeh BK, Golalipour MJ. Effect of urtica dioica L. (Urticaceae) on testicular tissue in STZ-induced diabetic rats. *Pak. J Biol Sci* 2011; 14(16): 798-804.
 24. Felter HW, Lloyd JL. 3. King's American Dispensatory. Cincinnati, OH: Ohio Valley Co 1898.
 25. Reiter RJ, Tan DX, Osuna C, Gitto E. Actions of melatonin in the reduction of oxidative stress. A review. *J Biomed Sci* 2000; 7: 444-58.
 26. Cai L, Chen S, Evans T, Deng DX, Mukherjee K, Chakrabarti S. Apoptotic germ-cell death and testicular damage in experimental diabetes: prevention by endothelin antagonism. *Urol Res* 2000; 28: 342-7.
 27. Türk AE. Deneysel Diyabetik Rat Testis Dokusundaki Apoptotik Değişiklikler Üzerine Vitamin D ve Vitamin E'nin Etkisinin Araştırılması. Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Uzmanlık Tezi 2010.
 28. Bal R, Türk G, Tuzcu M, Yılmaz Ö, Özercan İ, Kuloğlu T ve ark. Protective effects of nanostructures of hydrated C60 fullerene on reproductive function in streptozotocin-diabetic male rats. *Toxicol* 2010; 282 (2011): 69–81.
 29. Tsounapi P, Saito M, Dimitriadis F, et al. Antioxidant treatment with edaravone or taurine ameliorates diabetes-induced testicular dysfunction in the rat. *Mol Cell Biochem* 2012; 369: 195-204.

Sorumlu Yazar:

Tuba YALÇIN

Batman Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek
Yüksekokulu, BATMAN, TÜRKİYE

E mail: tubayalcin1@hotmail.com