



ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.
2014; 28 (3): 127 – 133
http://www.fusabil.org

Yüksek Fruktoz Diyeti ile Metabolik Sendrom Oluşturulan Ratların Testis Dokusunda Ghrelin Dağılımına Oleuropeinin Etkisi*

Gonca OZAN¹
Nalan KAYA²
Osman Fatih YILMAZ²
Elif ERDEM³
Enver OZAN²

¹Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

²Fırat Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Histoloji - Embriyoloji
Anabilim Dalı,
Elazığ, TÜRKİYE

³Artuklu Üniversitesi,
Sağlık Yüksekokulu,
Mardin, TÜRKİYE

Bu çalışmada yüksek fruktoz diyeti ile deneysel olarak oluşturulan metabolik sendrom modelinin rat testis dokusuna etkileri ve ratların testis dokusundaki ghrelin ekspresyonunda oleuropein uygulamasının meydana getireceği değişimlerin, biyokimyasal ve immünohistokimyasal yöntemlerle belirlenmesi amaçlandı.

Sekiz haftalık 32 adet erkek Sprague–Dawley cinsi rat rastgele Kontrol, Metabolik sendrom, Oleuropein, Metabolik sendrom+Oleuropein olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Metabolik sendrom oluşturmak amacıyla %20 fruktoz içeren içme suyu kullanıldı ve Oleuropein 10 mg/kg/gün oral olarak uygulandı. 60 günlük deney sonunda ratlar dekapite edilerek kan ve testis doku örnekleri alındı. Serum glukoz, insülin ve trigliserid düzeyleri ölçüldü. Testis dokularında streptavidin-biyotin-peroksidaz yöntemi ile ghrelin immünreaktivitesi belirlendi. Ayrıca, testis dokularında malondialdehit (MDA) düzeyleri ve katalaz aktivitesi spektrofotometrik yöntemlerle ölçüldü.

Fruktoz uygulamasının; serum trigliserid, insülin düzeyleri ve insülin direncinde anlamlı bir artış yaptığı saptandı. Yüksek fruktoz diyeti ile deneysel olarak metabolik sendrom oluşturulan ratların testis dokusunda ghrelin ekspresyonunun azaldığı, oleuropein uygulamasının ise testis dokusunda azalmış ghrelin ekspresyonunu arttırdığı belirlendi. Metabolik sendrom grubunda testis dokusu MDA düzeylerinin arttığı ve katalaz aktivitesinin azaldığı belirlendi. Diğer taraftan metabolik sendrom+oleuropein grubunda, metabolik sendrom grubuna göre testis dokusunda MDA düzeylerinin azaldığı, katalaz aktivitesinin ise arttığı tespit edildi.

Yüksek fruktoz diyeti ile oluşturulan metabolik sendrom modelinde, testis dokusunda oksidatif stresin arttığı saptandı. Metabolik sendromda bu doz ve sürede oleuropein uygulamasının, aşırı fruktoz tüketiminin neden olduğu olumsuz etkilere karşı testis dokusunda koruma sağladığı ve antioksidan bir rol oynadığı belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Metabolik sendrom, oleuropein, ghrelin, testis.

The Effect of Oleuropein on Ghrelin Expression in Rat Testes with Fructose-Induced Metabolic Syndrome

We aimed to investigate the effects of oleuropein administration on ghrelin expression in rat testes tissues with fructose-induced metabolic syndrome by immunohistochemical and biochemical methods.

Thirty-two male adult (8 week aged) Sprague-Dawley rats were randomly divided into four groups (n=8); Control, Metabolic syndrome, Oleuropein, Metabolic syndrome plus Oleuropein. Metabolic syndrome was induced by fructose solution 20% in drinking water, and oleuropein was administered at the dose of 10 mg/kg daily by oral gavage. After the experimental period of 60 days, the rats were decapitated, testes tissues and blood samples were taken. Serum glucose, insulin and triglyceride levels were measured. The testes samples were immunohistochemically stained using avidin-biotin-peroxidase method for the determination of ghrelin immunoreactivity. Also testes tissue malondialdehyde (MDA) levels and catalase activity were determined spectrophotometrically.

Fructose consumption significantly increased serum triglyceride, insulin levels and insulin resistance. Ghrelin immunoreactivity in rat testes tissues with fructose-induced metabolic syndrome was determined as low. Oleuropein administration increased testes ghrelin levels. In comparison with control group, MDA levels increased and CAT activities decreased in metabolic syndrome group. On the other hand MDA levels were diminished and Cat activities were elevated in fructose plus oleuropein group compared to the metabolic syndrome group.

These results indicate that metabolic syndrome increases oxidative stress in testicular tissue. It can be suggested that at that the dose and time of oleuropein administration can play a role as an antioxidant and protect the testes from the effects of high fructose induced metabolic syndrome.

Key Words: Metabolic syndrome, oleuropein, ghrelin, testes.

Geliş Tarihi : 07.10.2014
Kabul Tarihi : 05.11.2014

Yazışma Adresi Correspondence

Gonca OZAN
Fırat Üniversitesi,
Veteriner Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı,
Elazığ - TÜRKİYE

gozan@firat.edu.tr

*XII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, 27-30 Mayıs 2014, Ankara.

Giriş

Metabolik sendrom (MetS) oksidatif stres kaynaklı hiperkoagülasyon, hipertansiyon, dislipidemi, obezite ve diyabet gibi risk faktörlerinin bir araya gelmesiyle ortaya çıkan patofizyolojik bir antitedir. Hareketsiz yaşam tarzı, beslenme alışkanlığında değişimler, çevresel ve genetik etkenler sonucu oluştuğuna inanılan bu tablo, dünyada giderek daha fazla insanı etkileyen önemli bir mortalite ve morbidite nedenidir (1).

Metabolik sendrom tanısında kullanılan çok farklı tanı kriterleri bulunmaktadır. 2001'de NCEP/ATP III (National Cholesterol Education Adult Panel III)'e göre metabolik sendrom tanısı için abdominal obezite (bel çevresi; kadınlarda >88 cm, erkeklerde >102), yükselmiş trigliserid düzeyi (>150 mg/dL), azalmış HDL-Kolesterol düzeyi (erkeklerde <40 mg/dL, kadınlarda <50 mg/dL), yükselmiş kan basıncı (>130/85 mmHg) ve yükselmiş açlık glukozu (bozulmuş açlık glukozu veya tip-2 diyabet) kriterlerden üçünün varlığı esas alınmaktadır (2).

Son yıllarda MetS ile testiküler fonksiyonlar arasında önemli bir ilişki olduğunu gösteren çalışmalar vardır (3, 4). Obezite ve insülin direnci artmış skrotal ısıya neden olarak sperm motilitesi ve konsantrasyonunu etkilemekte ve sperme DNA hasarına yol açmaktadır. Dislipidemi de oksidatif stresi artırarak testiküler hasar ve fertilité ile ilgili birçok hastalığa neden olmaktadır. Dolayısıyla MetS ile erkek infertilitesi arasında yakın ilişki olduğu düşünülmektedir (3, 4).

Ghrelin ilk olarak rat midesinden elde edilen, sonraki çalışmalarda mide mukozasındaki endokrin alfa hücreleri tarafından da salgılandığı tespit edilen, 28 aminoasitlik lipopeptit yapıda bir hormondur (5, 6). İnsülin ve glukoz metabolizmasında da önemli rol oynadığı ileri sürülen ghrelin, testis dahil birçok dokuda bulunmaktadır (7-8-9). Kesin patofizyolojik mekanizmalar hala aydınlatılmamış olmakla birlikte, MetS ve testiküler fonksiyon arasındaki ilişkide ghrelinin ciddi rol oynadığı düşünülmektedir (3).

Zeytin ve zeytin yapraklarında bulunan fenolik bileşiklerin en önemlisi olan oleuropeinin (OLE) antioksidan, antimikrobiyel, antiinflamatuvar, antiaterojenik, antikarsinojenik, antiviral farmakolojik özelliklere sahip olmasının yanı sıra lipoprotein oksidasyonunu da önlediği bildirilmektedir (10). Bu özellikleri göz önünde bulundurulduğunda oleuropeinin tip II diyabet, obezite, hipertansiyon gibi durumları kapsayan MetS'a karşı koruyucu bir etki gösterebileceği düşünülmektedir.

Tüm bu bilgiler ışığında bu çalışmada, yüksek fruktoz ile deneysel olarak oluşturulan MetS modelinde ratlara oleuropein uygulanarak, testis dokusunda ghrelin ekspresyonunun immünohistokimyasal olarak belirlenmesi ve meydana gelen biyokimyasal değişikliklerin incelenmesi amaçlandı.

Gereç ve Yöntem

Hayvan Materyali: Çalışmada Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Birimi'nden temin edilen, 8 haftalık, 220±20 gram ağırlığında Sprague-Dawley cinsi 32 adet erkek rat kullanıldı. Ratlar deney öncesi ve deney sırasında standart şartlarda (22 – 24 °C sabit ısı ve havalandırılmalı odalarda; 12 saat gün ışığı ve 12 saat karanlık fotoperiyodunda olmak üzere) 4'erli gruplar halinde özel kafeslerde bekletildi. Ratların beslenmesinde standart rat pellet yemi ve içme suyu kullanıldı.

Çalışma için Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu onayı alınarak (08/11/2012 tarih ve 2012/11 sayılı toplantısında, Karar No: 105); çalışma standart deneysel hayvan çalışmaları etik kurallarına uygun olarak yapıldı.

Deney Grupları: Sekiz haftalık 32 adet erkek Sprague-Dawley cinsi rat rastgele; kontrol, metabolik sendrom (MetS), oleuropein (OLE) ve metabolik sendrom+oleuropein (MetS+OLE) olmak üzere 4 gruba ayrıldı (n=8). Metabolik sendrom oluşturmak amacıyla MetS grubu ile MetS+OLE grubundaki ratlara %20 fruktoz içeren içme suyu verildi (11). MetS+OLE ve OLE gruplarındaki ratlara oleuropein 10 mg/kg/gün oral olarak uygulandı. Deney süresince ratların haftalık ağırlık ölçümleri kaydedildi. 60 günlük deney sonunda tüm gruplardaki ratlar ketamin (75 mg/kg)+xylozine (10 mg/kg) anestezi altında dekapite edildi. Ratların kan örnekleri hızla biyokimya tüplerine alındı ve 3000 xg'de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Ratların testis dokularının bir kısmı biyokimyasal incelemeler için %0.9'luk NaCl ile yıkandı ve paketlenerek -80°C de derin dondurucada çalışma gününe kadar saklandı. Testis dokularının bir kısmı ise immunohistokimyasal incelemeler için %10'luk formaldehitte tespit edildi ve ardından rutin histolojik takip serilerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü.

Biyokimyasal Analizler: Serum glukoz ve trigliserid düzeyleri otoanalizör ile, insülin düzeyi ise ELİSA rat kiti ile ölçüldü. HOMA-IR değerleri [HOMA-IR= açlık serum insülin düzeyi (µU/mL) x açlık serum glukoz düzeyi (mmol/L)/ 22.5] belirlendi.

Testis dokuları %1.15 KCl ile 1:10 oranda sulandırılarak homojenize edildi. Homojenat soğutmalı santrifüjde 1.000 g'de 15 dakika santrifüj edilerek süpernatant elde edildi. Bu süpernatantta malondialdehit (MDA) düzeyleri, katalaz aktivitesi (CAT) ve protein tayini spektrofotometrik yöntemlerle ölçüldü.

Testis dokusu MDA seviyesi Placer ve ark. (12)'nin metoduna göre tespit edildi. Oluşan MDA, tiyobarbitürük asitle (TBA) pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve bu çözeltinin absorbansı 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek lipid peroksidasyonun derecesi saptanmaktadır. MDA düzeyi nmol/g olarak hesaplandı.

Testis dokusu CAT aktivitesi Aebi (13)'nin bildirdiği metoda göre tespit edildi. Aktivite ölçümü ortamdaki H₂O₂'nin CAT vasıtasıyla suya dönüşümü sağlanırken meydana gelen absorban azalmasının 240 nm'de ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Harcanan H₂O₂ miktarından CAT aktivitesi sonuçları k/g protein cinsinden verildi. Protein miktarını ölçmede ise Lowry ve ark. (14)'nin metodu kullanıldı.

İmmünohistokimyasal Analizler: Testis dokusunda ghrelin immünreaktivitesinin belirlenmesi için streptavidin-biyotin-peroksidazkompleksi yöntemi uygulandı. Hazırlanan parafin bloklardan 5–6 µm kalınlığında kesitler polilizinli lamplara alındı. Deparafinize edilen dokular derceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildikten sonra endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için H₂O₂ ile muamele edildi. Zemin boyasını engellemek için UV Block ile muameleden sonra primer antikor (Ghrelin: goat poliklonal IgG, Santa Cruz Biotechnology, California, USA) ile +4 °C de nemli ortamda bir gece inkübe edildi. Ertesi gün sekonder antikor (Donkeyanti-goat IgG, Santa Cruz Biotechnology, California, USA), streptavidin horse radishperoksidaz ve 3-Amino-9-ethyl carbazole kromojeni uygulandıktan sonra Mayer's hematoksilenle zıt boyama yapıldı.

Negatif kontrol için hazırlanan dokularda primer antikor yerine fosfat tampon tuzu (PBS) kullanıldı, diğer basamaklar aynı şekilde uygulandı. Pozitif kontrol için mide dokusu kullanıldı. PBS ve distile sudan geçirilen dokular uygun kapatma solüsyonu ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar araştırma mikroskopunda (Olympus BH-2) incelenerek Tablo 1'de belirtildiği şekilde değerlendirildi ve fotoğraflandı.

Tablo 1. İmmünohistokimyasal boyanma yoğunluğunun derecesi

DERECE	ANLAMI
0	Yok
+1	Az
+2	Orta
+3	Şiddetli

Tablo 2. Grupların deney başlangıcı ve deney sonundaki ağırlık değişimleri

GRUPLAR	KONTROL	MetS	MetS+OLE	OLE	P
Başlangıç ağırlığı (g)	226.71±29.09	225.59±4.35	228.84±20.75	227.65±17.23	0.26*
Son ağırlık (g)	345.96±29.7	358.05±29.61	326.44±30.97	344.27±26.81	0.07*

* P>0.05

Tablo3. Grupların serum parametreleri düzeyleri değişimleri

GRUPLAR	KONTROL	MetS	MetS+OLE	OLE	P
Trigliserid (mg/dL)	69.83±3.87 ^b	160.00±17.71 ^a	94.00±8.46 ^b	74.66±3.64 ^b	0.03*
Glukoz (mg/dL)	114.17±3.22 ^c	126.00±3.27 ^a	137.33±2.25 ^b	123.33±1.74 ^{bc}	0.02*
İnsülin (mg/dL)	5.52±0.20 ^c	9.83±0.40 ^a	6.29±0.05 ^c	7.68±0.11 ^b	0.02*
HOMA (mg/dL)	1.90±0.01 ^c	3.07±0.12 ^a	1.94±0.51 ^c	2.54±1.10 ^b	0.01*

*: P<0.05

^{a,b,c} : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen grup ortalamaları arası farklar önemlidir (P<0.05).

İstatistiksel Analiz: Verilerin istatistiksel analizi SPSS 20.0 programı ile Kruskal Wallis ve Bonferroni Mann Whitney-U testi kullanılarak yapıldı. Kruskal-Wallis Varyans Analizi ile gruplar arası karşılaştırmalar, Bonferroni Mann-Whitney-U ile gruplar arasındaki farklılığın önemli olup olmadığı test edildi. Tüm sonuçlar ortalama±standart hata olarak ifade edildi ve P<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Biyokimyasal Bulgular: Deney başlangıcında ve sonundaki vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında (Tablo 2); kontrol grubuna göre MetS grubunda anlamlı olmayan bir artış tespit edildi. OLE grubunun kontrol grubundan farklı olmadığı ve MetS+OLE grubunda ise kontrole göre daha az ağırlık artışı olduğu tespit edildi. Serum trigliserid düzeylerinin (Tablo 3) kontrol grubuna göre; MetS grubunda anlamlı derecede arttığı tespit edilirken (P<0.05), OLE ve MetS+OLE gruplarında ise anlamlı artış tespit edilmedi. Serum glukoz, insülin ve HOMA-IR değerlerinin (Tablo 3) kontrol grubuna göre MetS grubunda anlamlı düzeyde arttığı saptandı (P<0.05).

Testis dokusu MDA seviyelerinin (Tablo 4); kontrol grubuna göre MetS grubunda istatistiksel açıdan anlamlı derecede arttığı saptandı (P<0.05). MetS+OLE grubu ve OLE grubunda ise MetS grubuna göre anlamlı derecede azaldığı (P<0.05), kontrol grubuna göre ise anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edildi.

Testis dokusu katalaz aktivitesinin ise MetS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede azaldığı saptandı (P<0.05). MetS+OLE grubu ve OLE grubunda ise MetS grubuna göre anlamlı derecede arttığı (P<0.05), kontrol grubuna göre ise anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edildi (Tablo 4).

Tablo 4. Grupların testis dokusu MDA düzeyleri ve katalaz aktiviteleri

	MDA (nmol/g)	KATALAZ (k/g protein)
Kontrol Grubu	10.62±1.32 ^b	30.24±1.43 ^a
MetS Grubu	15.96±1.30 ^a	19.19±2.08 ^b
MetS+OLE Grubu	11.57±0.86 ^b	31.65±4.19 ^a
OLE Grubu	12.43±1.97 ^b	29.37±1.046 ^a

^{a,b,c} : Aynı satırda farklı harflerle gösterilen grup ortalamaları arası farklar önemlidir (P<0.05).

İmmünohistokimyasal

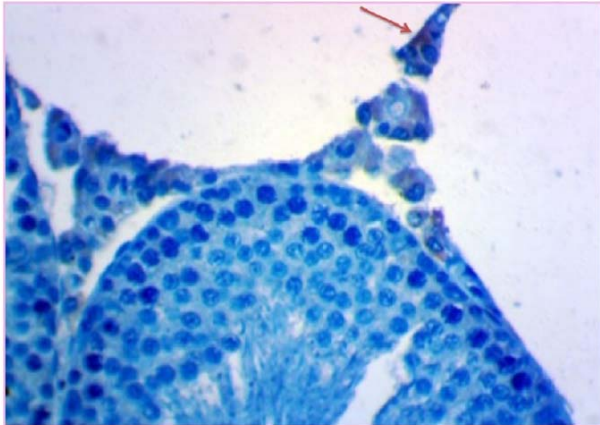
Bulgular:

İmmünohistokimyasal analizler sonucunda, MetS grubundaki ratların testis dokusunda ghrelin ekspresyonunun azaldığı, MetS+OLE grubunda ise MetS grubuna göre testis dokusunda ghrelin ekspresyonunun arttığı belirlendi (Şekil 2 ve 4).

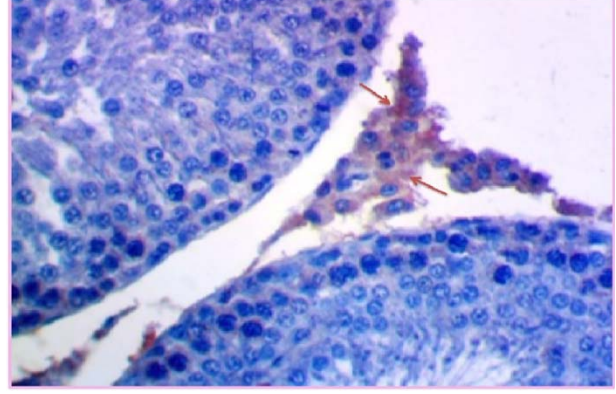
Testis dokusunda kontrol, OLE ve MetS+OLE gruplarında orta şiddette (+2) ve MetS grubunda ise az şiddette (+1) bir ghrelin immünreaktivitesi gözlemlendi (Şekil 1-3-4-2). Negatif kontrol için yapılan boyamada herhangi bir immünreaktivite gözlemlenmedi (Şekil 5). Pozitif kontrol olarak kullanılan mide dokusunda ise ghrelin immünreaktivitesi belirlendi (Şekil 6).



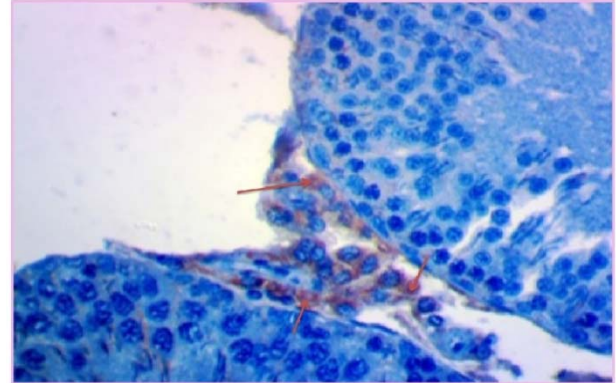
Şekil 1. Kontrol grubuna ait rat testis dokusunda orta şiddette (+2) ghrelin immünreaktivitesi (ok) x40



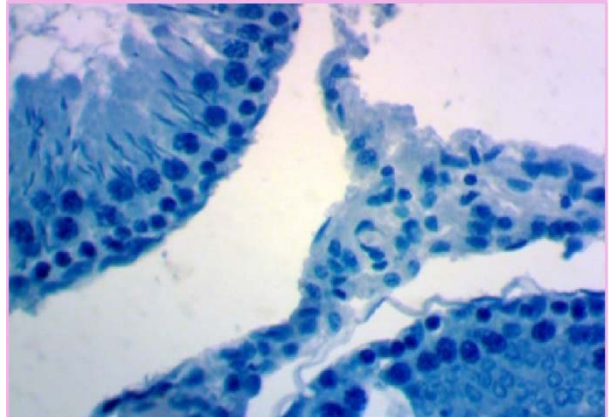
Şekil 2. Metabolik sendrom grubuna ait rat testis dokusunda az şiddette (+1) ghrelin immünreaktivitesi (ok) x40



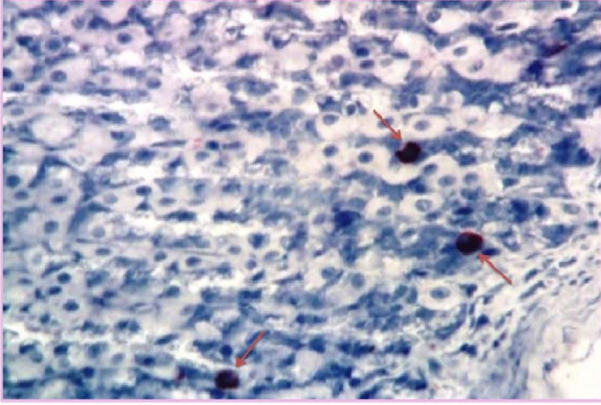
Şekil 3. Oleuropein grubuna ait rat testis dokusunda orta şiddette (+2) ghrelin immünreaktivitesi (ok) x40



Şekil 4. Metabolik sendrom+OLE grubuna ait rat testis dokusunda orta şiddette (+2) ghrelin immünreaktivitesi (ok) x40



Şekil 5. Negatif kontrol (0) ghrelin immünreaktivitesi x40



Şekil 6. Pozitif kontrol. Mide dokusunda ghrelin immünreaktif hücreler (ok) x 40

Tartışma

Metabolik sendromun; insülin direnci, obezite, dislipidemi, endotelial disfonksiyon, hiperkoagülasyon ve hipertansiyonun eşlik ettiği, temelinde genetik ve çevresel faktörlerin rol oynadığı kompleks bir dizi inflamasyonu kapsadığı ve gittikçe artan sıklıkta görülen sağlık problemlerinden biri olduğu bilinmektedir (15).

Son zamanlarda diyetle alınan fruktozun, obezite ve MetS komponentlerine neden olan çevresel faktörlerden biri olduğu düşünülmektedir (16). Yüksek fruktoz tüketimi ile MetS modeli oluşturulabilmektedir. Bu model, farelerde hipertansiyon, hipertrigliseridemi, hiperinsülinemi ve insülin direnci meydana getirebilmektedir (17). Bu amaçla, çalışmada fruktoz aracılı MetS modeli oluşturmak amacıyla, ratlara 60 gün boyunca %20 fruktoz içeren içme suyunu gavaj yolu ile uygulandı.

Deney süresince grupların ağırlık değişimleri ile serum trigliserid, glukoz, insülin ve HOMA-IR düzeyleri metabolik sendrom oluşumunu belirlemek için ölçüldü. Deneyin başlangıcında ve sonunda ölçülen ağırlık artışları değerlendirildiğinde, kontrol grubuna göre MetS grubunda artış olduğu tespit edildi. Ayrıca serum trigliserid, glukoz, insülin ve insülin direnci göstergesi olan HOMA-IR değerlerinin de kontrol grubuna göre MetS grubunda arttığı saptandı. Bu sonuçlara dayanarak da metabolik sendromun oluştuğu kanaatine varıldı (17).

MetS sonucu ortaya çıkan oksidatif strese bağlı olarak testiküler dokuda hasar meydana gelmektedir. Oksidatif stres, spermatozoa fonksiyonunu azaltan en önemli faktörlerden biridir (4). Sperm plazma membranı doymamış yağ asitlerinden zengindir ve bu nedenle peroksidatif hasara çok yatkındır. Bu hasar sonucu sperm hücre fonksiyonu bozulmakta ve spermatozoa motilitesi azalmaktadır (18). Yağ asitleri erkek üreme hücrelerinde sperm fonksiyonlarının sağlanmasında çok önemlidir (18). Yüksek metabolizma oranı ve hücre turnover değişiminin olduğu testis dokusunda oksidatif stres hasara neden olmaktadır. Buna ilaveten çoklu

doymamış yağ asitlerinden zengin testiküler hücre membranları oksidatif stresten etkilenmekte ve sperm fonksiyonları bozularak infertilite oluşmaktadır (19). Kısacası oksidatif stres sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri testiküler disfonksiyona neden olarak infertilite oluşturmakta ve yapılan çalışmalar testiste oluşan oksidatif hasar ve testiküler disfonksiyon ile infertilite oluşması arasında kuvvetli bir ilişki olduğunu göstermektedir (20, 21).

Sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında MetS'li erkeklerde serum testosteron seviyelerinin de anlamlı ölçüde azaldığı bildirilmiştir (4). Bir başka çalışmada düşük testosteron seviyesinin tip II diyabet ve MetS için önemli bir belirteç olduğu ortaya konulmuştur (22).

Bununla birlikte testosteron seviyesindeki düşüklük, döngüde bozukluğa yol açarak artan yağ birikimine neden olmaktadır. Kas kütlelerinin azalması, insülin direncinde artış, dislipidemi ve buna bağlı oksidatif stres sonucu yağ hücrelerinde trigliserid alımını düzenleyen temel enzim olan lipoprotein lipaz aktivitesinde artış ile birlikte abdominal bölgede yağ birikimine neden olmaktadır. Bu durum da MetS'e zemin hazırlamaktadır (23).

Son yıllarda MetS ve testiküler fonksiyon arasındaki ilişkide ghrelinin çok önemli rolü olduğu bildirilmiştir (10). Ghrelinin yaygın doku dağılımının önemi henüz tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte, erkekte testiküler fonksiyonlarda da önemli rollere sahip olabileceği düşünülmektedir (9, 24).

Ghrelinin gıda alımı ve enerji dengesinin sağlanması yanında, glukoz metabolizması ve MetS ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Ghrelin konsantrasyonu obezite, Tip-2 diyabet ve diğer metabolik bozukluklar gibi farklı patofizyolojik durumlarda azalmaktadır. Plazma ghrelin konsantrasyonunun obezlerde düştüğü gösterilmiştir. Düşük ghrelin konsantrasyonunun MetS prevalansı ve MetS'nin birçok komponenti ile yüksek oranda ilişkili olduğu tespit edilmiştir (25). Yüksek vücut kitle indeksi olanlarda ghrelin düzeyi düşük bulunmuştur. Metabolik sendromlu obezlerde plazma ghrelin konsantrasyonunun, non-obezlere göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir (26, 27). Ayrıca insülin direnci olanlarda ve obez polikistik oversendromu olanlarda da ghrelin konsantrasyonunun düştüğü tespit edilmiştir (28, 29). Bunun yanı sıra kilo kaybının obezlerde ghrelin konsantrasyonunu arttırdığı gösterilmektedir (30). Bu durum insülinin ghrelin sekresyonunu inhibe ettiğini göstermektedir. İnsülin ve HOMA-IR düzeyleri total ghrelin konsantrasyonu ile negatif ilişkilidir (31).

Yapılan çalışmalara uyumlu bir şekilde bu çalışmada da fruktoz ile MetS oluşturulan ratlarda testis ghrelin immünreaktivitesinin azaldığı belirlendi. Buna karşılık oleuropein uygulamasının, MetS grubundaki ratların testis dokularında ghrelin immünreaktivitesini arttırdığı tespit edildi. Ayrıca çalışmada insülin ve HOMA-IR değerlerinin MetS grubunda artması ve MetS+OLE grubunda azalması da; insülin, HOMA-IR değerleri ile

testis ghrelin immunoreaktivitesi arasında negatif ilişki olduğunu desteklemektedir.

Oleuropein zeytin ve zeytin ağacı yaprağında bulunan, güçlü hipotansif, hipoglisemik ve antioksidan polifenolik bir ajan olarak tanımlanmaktadır (32). Lipid peroksidasyonundan koruyucu, lipid profilini ve endotelial fonksiyonları düzeltici olarak da etkileri vardır. Oleuropein, süperoksit anyonları ve hidroksil radikallerini süpürerek oksidatif stresi inhibe etmektedir (33).

Alirezaei ve ark. (34) yaptıkları çalışmada etanol ile oluşan oksidatif stresin testiküler hasara bağlı infertiliteyol açtığını göstermişlerdir. Oleuropeinin antioksidan etkisine bağlı olarak oksidatif stresin baskılandığı, testiküler oksidatif hasarın önlendiği, lipid peroksidasyonunun azaldığı, total sperm motilitesinin arttığı belirlenmiştir.

Bu sonuçlar, bu çalışmanın bulguları ile uygunluk göstermektedir. Çalışmanın bulguları değerlendirildiğinde

Kaynaklar

1. Reaven GM. Banting Lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988; 37: 1595-1607.
2. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults: Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285: 2486-2497.
3. Goulis DG, Tarlatzis BC. Metabolic syndrome and reproduction: I. Testicular function. *Gynecol Endocrinol* 2008; 24: 33-39.
4. Kasturi SS, Tannir J, Brannigan RE. The metabolic syndrome and male infertility. *J Androl* 2008; 29: 251-259.
5. Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al. Ghrelin is a growth hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-659.
6. Aydin S, Ozkan Y, Caylak E, Aydin S. Ghrelin and its biochemical functions. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2006; 26: 272-283.
7. Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, et al. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001; 86: 5992.
8. Gauna C, Delhanty PJ, Hofland LJ, et al. Ghrelin stimulates, whereas des-octanoyl ghrelin inhibits, glucose output by primary hepatocytes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2005; 90: 1055-1060.
9. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2002; 87: 2988-2991.
10. Owen RW, Giacosa A, Hull WE, et al. Olive oil consumption and health: The possible role of antioxidants. *Lancet Onco* 2000; 21: 107-112.
11. Sanchez-Lozada LG, Tapia E, Jimenez A, et al. Fructose – induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292: F423-429.
12. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyldialdehyde) in biochemical systems. *Anal Biochem* 1966; 16: 359-364.
13. Aebi H. Catalase in vitro. *Method Enzymol* 1984; 105: 121-126.
14. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurements with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193: 265-275.
15. Monteiro R, Andazevedo I. Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome. *J Mediators of Inflammation* 2010; 14: 289645.
16. Elliott SS, Keim NL, Stern JS, Teff K, Andhavel PJ. Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *The American Journal of Clinical Nutrition* 2002; 76: 911-922.
17. Hwang IS, Ho H, Hoffman BB, Reaven GM. Fructose-induced insulin resistance and hypertension in rats. *Hypertension* 1987; 10: 512-516.
18. Turner T, Lysiak J. Oxidative stress: A common factor in testicular dysfunction. *J Androl* 2008; 29: 488-498.
19. Kim JH, Kim HJ, Noh HS, et al. Suppression by ethanol of male reproductive activity. *Brain Research* 2003; 989: 91-98.
20. Shrilatha B. Early oxidative stress in testis and epididymal sperm in streptozotocin-induced diabetic mice: Its progression and genotoxic consequences. *Reprod Toxicol* 2007; 23: 578-587.
21. Doreswamy K, Shrilatha B, Rajeshkumar T. Nickel-induced oxidative stress in testis of mice: Evidence of DNA damage and genotoxic effects. *J Androl* 2004; 25: 996-1003.

22. Menéndez E, Valdés S, Botasa P. Glucose tolerance and plasma testosterone concentrations in men. *Endocrinol Nutr* 2011; 58: 3-8.
23. Laaksonen D, Niskanen L, Punnonen K. Testosterone and sex hormone-binding globulin predict the metabolic syndrome and diabetes in middle-aged men. *Diabetes Care* 2004; 27: 1036-1041.
24. Gaytan F, Barreiro ML, Caminos JE, et al. Expression of ghrelin and its functional receptor, the type 1a growth hormone secretagogue receptor, in normal human testis and testicular tumors. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004; 89: 400-409.
25. Ukkola O, Pöykkö SM, Kesaniemi YA. Low plasma ghrelin concentration is an indicator of the metabolic syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2005; 90: 6448-6453.
26. Ukkola O. Ghrelin and metabolic disorders. *Current Protein and Peptide Science* 2009; 10: 2-7.
27. Barazzoni R, Zanetti M, Ferreira C, et al. Relationships between desacylated and acylated ghrelin and insulin sensitivity in the metabolic syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2007; 92: 3935-3940.
28. McLaughlin T, Abbasi F, Lamendola C, Frayo RS, Cummings DE. Plasma ghrelin concentrations are decreased in insulin-resistant obese adults relative to equally obese insulin-sensitive controls. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2004; 89: 1630-1635.
29. Schoffl C, Horn R, Schill T, et al. Circulating ghrelin levels in patients with polycystic ovary syndrome. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2002; 87: 4607-4610.
30. Reinehr T, Roth CL, Alexy U, et al. Ghrelin levels before and after reduction of overweight due to a low-fat high-carbohydrate diet in obese children and adolescents. *International Journal of Obesity* 2005; 29: 362-368.
31. Broglio F, Gottero C, Prodam F, et al. Ghrelin secretion is inhibited by glucose load and insulin-induced hypoglycaemia but unaffected by glucagon and arginine in humans. *Clinical endocrinology* 2004; 61: 503-509.
32. Tuck KL, Freeman MP, Hayball PJ, Stretch GL, Stupans I. The in vivo fate of hydroxytyrosol and tyrosol, antioxidant phenolic constituents of olive oil, after intravenous and oral dosing of labeled compounds. *J Nutr* 2001; 131: 1993-1996.
33. Visioli F, Bellomo G, Galli C. Free radical-scavenging properties of olive oil polyphenols. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1998; 247: 60-64.
34. Alirezai M, Kheradmand A, Heydari R, et al. Oleuropein protects against ethanol-induced oxidative stress and modulates sperm quality in the rat testis. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism* 2012; 5: 205-211.