


**T.C.**

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

# ZEYTİN (*Olea europaea*) YAPRAĞI EKSTRATLARININ ERKEK SURİYE HAMSTERLERİNDE (*Mesocricetus auratus*) SİRKADYEN RİTMİ VE TESTOSTERON HORMONU ÜZERİNE ETKİLERİ

**Oğuz KORTUN**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

**ÇANAKKALE**

**T.C.**

**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ**

**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

# ZEYTİN (*Olea europaea*) YAPRAĞI EKSTRATLARININ ERKEK SURİYE HAMSTERLERİNDE (*Mesocricetus auratus*) SİRKADYEN RİTMİ VE TESTOSTERON HORMONU ÜZERİNE ETKİLERİ

**Oğuz KORTUN**

**Biyoloji Anabilim Dalı**

Tezin Sunulduğu Tarih: **31/08/2018**

**Tez Danışmanı:**

**Prof. Dr. Bülent GÜNDÜZ**

**ÇANAKKALE**

Oğuz KORTUN tarafından Prof. Dr. Bülent GÜNDÜZ yönetiminde ve **31/08/2018** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan "**Zeytin (*Olea europaea*) Yaprağı Ekstratlarının Erkek Suriye Hamsterlerinde (*Mesocricetus auratus*) Sirkadyen Ritmi Ve Testosteron Hormonu Üzerine Etkileri**" başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

**JÜRİ**

Prof. Dr. Bülent GÜNDÜZ **……**
**Başkan**

Prof. Dr. Yusuf DİLGİN **……**
**Üye**

Dr. Öğr. Üyesi Fevzi UÇKAN **……**
**Üye**

Prof. Dr. Levent GENÇ
Müdür
Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:……

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: FYL-2016-917

## İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI

**Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.**

Oğuz KORTUN

## TEŞEKKÜR

Bu tezin ortaya çıkmasında, çalışmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen başta saygı değer danışman hocam Prof. Dr. Bülent GÜNDÜZ olmak üzere, çalışma süresince karşılaştığım her türlü zorlukta bana yardımcı olan Arş. Gör. Dr. Serhat KAYA'ya, doktora öğrencisi Gözde GÜLŞİN'e ve her türlü zorluğu benimle göğüsleyen, hayatımın her evresinde bana destek olan çok değerli aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Oğuz KORTUN

Çanakkale, Ağustos 2018

## SİMGELER VE KISALTMALAR

| | |
|---|---|
| 3,4-DHPEA-EA | 3,4-dihidroksifeniletanol-elenoik |
| AA | Antioksidan aktiviteleri |
| AGE | İleri glikasyon son ürünleri |
| FSH | Folikül uyarıcı hormon |
| Gn-RH | Gonadotropin salgılatıcı hormon |
| gr | Gram |
| IBAT | Adipoz doku |
| kg | Kilogram |
| mg | Miligram |
| mm | Milimetre |
| MTX | Metotreksat |
| LH | Lüteinleştirici hormon |
| OA | Osteoartrit |
| ORT | Ortalama |
| RA | Romatoid artritli |
| RHT | Retinohipotalamik yol |
| SCN | Suprakiasmatik nükleus |
| TPC | Toplam fenolik içeriği |
| TFC | Toplam flavonoid içeriği |
| UCP 1 | Protein 1 |

# ÖZET

## ZEYTİN (*Olea europaea)* YAPRAĞI EKSTRATLARININ ERKEK SURİYE HAMSTERLERİNDE (*Mesocricetus auratus)* SİRKADYEN RİTMİ VE TESTOSTERON HORMONU ÜZERİNE ETKİLERİ

Oğuz KORTUN
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi
Danışman: Prof. Dr. Bülent GÜNDÜZ
31/08/2018, 55

Zeytin yaprakları, başlıca etken madde oleuropein olmak üzere içerisinde 100 kadar aktif madde bulundurmaktadır. Sirkadyen ritim vücudumuzun kimyasal ve hormonal üretim ve metabolizmasını yaklaşık 24 saatlik döngü boyunca düzenlerken, testosteron hormonu da erkek eşey organlarının gelişimini ve farklılaşmasını sağlayan bir hormondur.

Bu çalışmada deney materyali olarak Çanakkale'nin Merkez ilçesinden mevsimsel olarak (İlkbahar, Yaz, Sonbahar, Kış) toplanılan zeytin yaprakları kullanıldı. Yapraklardan elde edilen ekstraktlar (15 gr yaprak – 250 mL %70'lik etanol) introperitonel olarak (bir dozu: 40 mg/kg) bir ay boyunca enjekte edilerek erkek Suriye hamsterleri üzerinde sirkadyen ritme ve testosteron hormonuna olan etkileri ölçüldü. Elde edilen bulgulara göre mevsimlere ait ekstraktların farklı sirkadyen ritmik sonuçlara neden olduğu görüldü. Kış ekstraktlarının diğer mevsimlere göre sirkadyen ritmik değişimleri çok daha fazla etkilediğini, buradan çıkardığımız sonuca göre sirkadyen ritmi etkileyen etken maddelerin kış mevsiminde artış gösterdiğini söyleyebiliriz. Testosteron hormonuyla ilgili elde ettiğimiz bulgulara göre yaz mevsimi ekstraktlarının testosteron hormonu değerlerine etkisinin daha yüksek olduğunu, testosteron hormonunu etkileyen yapraktaki etken maddelerin yaz mevsiminde artış gösterdiğini söyleyebiliriz.



**Anahtar sözcükler:** *Mesocricetus auratus*, *Olea europaea*, Sirkadiyen Ritim, Testosteron

## ABSTRACT

### EFFECTS OF OLIVE (*Olea europaea*) LEAFS EXTRACTS ON CIRCADIEN RHYTHM AND TESTOSTERON HORMONE OF MALE SYRIAN HAMSTERS (*Mesocricetus auratus*)

Oğuz KORTUN

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Master of Science Thesis in Biology Science

Advisor : Prof. Dr. Bülent GÜNDÜZ

31/08/2018, 55

Olive leaves contain up to 100 active ingredients, mainly oleuropein, the main active ingredient. Circadian rhythm arranges the chemical and hormonal production and metabolism of the body throughout the approximately 24-hour cycle. Testosterone hormone is a hormone that provides the development and differentiation of male sex organs.

In this study olive leaves collected seasonally (Spring, Summer, Autumn, Winter) from Central district of Çanakkale were used as experimental material. The extracts from the leaves (15 g leaf - 250 mL 70% ethanol) were injected introperitoneally (one dose: 40 mg / kg) for one month. Circadian rhythms on male Syrian hamsters and their effects on testosterone hormone were measured. As a result, seasonal extracts caused different circadian rhythmic results. Winter extracts were more influenced by circadian rhythmic changes than other seasons. We can say that the causative agents that affect the circadian rhythm show an increase in the winter season. According to the findings about testosterone hormone, we found that the effects of summer extracts on testosterone hormone levels were higher. We can say that leaf agents which affect testosterone hormone are increasing in summer. We believe that as the active ingredients contained in the olive leaf extracts reveal the mechanisms of the circadian rhythm and the relations with testosterone, they may provide more comprehensive results that will reduce many of the discomforts that will be caused directly or indirectly by the deterioration of the circadian rhythm and testosterone hormone circulation in the future.



**Keywords:** Circadian rhytm, *Mesocricetus auratus*, *Olea europaea*, Testosterone

# İÇİNDEKİLER

**Sayfa No**

TEZ SINAVI SONUÇ FORMU……ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI..... iii
TEŞEKKÜR.....iv
SİMGELER VE KISALTMALAR .....v
ÖZET .....vi
ABSTRACT……vii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....x
ÇİZELGELER DİZİNİ.....xi
BÖLÜM 1
GİRİŞ.....1
1.1. Olea *europaea L*'nin Genel Özellikleri.....1
1.2. *Olea europaea L*'nin İçindeki Bioaktif Bileşiklerin Genel Özellikleri.....1
1.3. *Olea europaea L*'nin Biyolojik Aktiviteleri.....5
1.4. Biyolojik Ritimlerin Genel Özellikleri ve Sirkadiyen Ritim .....8
1.5. Sirkadiyen Ritmin Biyolojik Aktivitesi .....9
1.6. Testosteron.....13
1.7. Suriye Hamsteri (*Mesocricetus auratus)* .....15
BÖLÜM 2
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....17
BÖLÜM 3
MATERYAL VE YÖNTEM.....22
3.1. Hayvan Denekleri.....22
3.1.1 Kontrol Grupları .....22
3.1.2. Deney Grupları .....22
3.1.2.1. Kış Deney Grubu.....23
3.1.2.2. İlkbahar Deney Grubu .....23
3.1.2.3. Yaz Deney Grubu.....23
3.1.2.4. Sonbahar Deney Grubu .....23
3.2. *Olea europaea L*. Ekstraktlarının Elde Edilmesi .....23
3.3. *Olea europaea L*. Ekstraktlarının Hayvanlara Uygulanması .....23
3.4. Kan Alımı ve Hormon Ölçümü.....24
3.5. Lokomotor Aktivite Ölçümü.....24
BÖLÜM 4
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....25

4.1. Araştırma Bulguları ..... 25
4.1.1. Sirkadiyen Ritim Sonuçları ..... 25
4.1.1.1. Kış Mevsimi *Olea europaea* Ekstraktları Sirkadiyen Ritmi ..... 25
4.1.1.1.1. Kış Mevsimi Kontrol Grupları ..... 25
4.1.1.1.2. Kış Mevsimi Deney Grupları ..... 26
4.1.1.2. İlkbahar Mevsimi *Olea europaea* Ekstraktları Sirkadiyen Ritmi ..... 28
4.1.1.2.1. İlkbahar Mevsimi Kontrol Grupları ..... 28
4.1.1.2.2. İlkbahar Mevsimi Deney Grupları ..... 29
4.1.1.3. Yaz Mevsimi *Olea europaea* Ekstraktları Sirkadiyen Ritmi ..... 31
4.1.1.3.1. Yaz Mevsimi Kontrol Grupları ..... 31
4.1.1.3.2. Yaz Mevsimi Deney Grupları ..... 32
4.1.1.4. Sonbahar Mevsimi *Olea europaea* Ekstraktları Sirkadiyen Ritmi ..... 33
4.1.1.4.1. Sonbahar Mevsimi Kontrol Grupları ..... 33
4.1.1.4.2. Sonbahar Mevsimi Deney Grupları ..... 34
4.1.2. Testosteron Sonuçları ..... 36
4.2. Tartışma ..... 37
BÖLÜM 5
SONUÇ VE ÖNERİLER ..... 41
KAYNAKLAR ..... 43
ÖZGEÇMİŞ ..... I

# ŞEKİLLER DİZİNİ

**Sayfa No**

Şekil 1.1. Standart aydınlık-karanlık döngüsünde bulunan gece aktif bir hayvanın tipik lokomotor aktivite kayıtları (aktogram) (Balkancı ve Segili, 2005). ..... 10
Şekil 1.2. Biyolojik ritim, zeitgeber ve zaman değerlendirmesi. Biyolojik ritim (x). Zeitgeber uyarısı (z). Maksimum and minimum seviye (X mak, X min, Z mak, Z min) (Fuller ve Fuller, 2002). ..... 11
Şekil 1.3. Suprakiazmatik nükleus (Kondratov, 2007). ..... 11
Şekil 1.4. Biyolojik saatin düzenlenmesi ve fizyolojik etkileri (Kondratov, 2007) ..... 12
Şekil 1.5. Testosteronun 3 boyutlu moleküler yapısı (Gül, 2008). ..... 13
Şekil 1.6. Leydig hücreleri (Öztürk ve ark., 2002). ..... 13
Şekil 1.7. Testosteron biyosentezi (Löffler ve Petrides 1988). ..... 14
Şekil 1.8. Hipotalamus-hipofiz-testiküler aksın şekli (Swerdloff ve Wang, 1997). ..... 15
Şekil 4.1. Kış mevsimi kontrol grubu lokomotor aktiviteleri A, B ve C her biri bir denek hayvanını ifade etmektedir. Işıklar saat 20:00'da kapanmakta, 08:00'da açılmaktadır ..... 26
Şekil 4.2. Kış mevsimi deney grubu lokomotor aktiviteleri A, B ve C her biri bir denek hayvanını ifade etmektedir. Işıklar saat 20:00'da kapanmakta, 08:00'da açılmaktadır..... 27
Şekil 4.3. İlkbahar mevsimi kontrol grubu lokomotor aktiviteleri A, B ve C her biri bir denek hayvanını ifade etmektedir. Işıklar saat 20:00'da kapanmakta, 08:00'da açılmaktadır ..... 28
Şekil 4.4. İlkbahar mevsimi deney grubu lokomotor aktiviteleri A, B ve C her biri bir denek hayvanını ifade etmektedir. Işıklar saat 20:00'da kapanmakta, 08:00'da açılmaktadır ..... 30
Şekil 4.5. Yaz mevsimi kontrol grubu lokomotor aktiviteleri A, B ve C her biri bir denek hayvanını ifade etmektedir. Işıklar saat 20:00'da kapanmakta, 08:00'da açılmaktadır ..... 31
Şekil 4.6. Yaz mevsimi deney grubu lokomotor aktiviteleri A, B ve C her biri bir denek hayvanını ifade etmektedir Işıklar saat 20:00'da kapanmakta, 08:00'da açılmaktadır..... 33
Şekil 4.7. Sonbahar mevsimi kontrol grubu lokomotor aktiviteleri A, B ve C her biri bir denek hayvanını ifade etmektedir. Işıklar saat 20:00'da kapanmakta, 08:00'da açılmaktadır ..... 34
Şekil 4.8. Sonbahar mevsimi deney grubu lokomotor aktiviteleri A, B ve C her biri bir denek hayvanını ifade etmektedir. Işıklar saat 20:00'da kapanmakta, 08:00'da açılmaktadır ..... 35
Şekil 4.9. Mevsimsel olarak hazırlanan zeytin yaprakları ekstraktlarının Suriye hamsterlerinde testosteron hormonu üzerine etkisi ..... 36

# ÇİZELGELER DİZİNİ

**Sayfa No**

Çizelge 1. Zeytin yaprağındaki bazı önemli fenolik bileşenlerin konsantrasyonları (Ünlüel ve Aydın, 2016) ..... 3
Çizelge 2. Zeytin yaprağındaki bazı fenolik bileşikler ve kimyasal formülleri (Pereira ve ark., 2007) ..... 4
Çizelge 3. Kontrol ve deney gruplarının testosteron hormonu değerleri ..... 36

# BÖLÜM 1
# GİRİŞ

## 1.1. Olea *europaea L*'nin Genel Özellikleri

Zeytin ağacı (*Olea europaea L.*) zeytingiller (Oleaceae) familyasına ait, akdeniz iklimine özgü olmasına karşın iklimin koşullarının hakim olduğu dünyanın bir çok bölgesine yayılmış olan, meyvesi yenen, yaprakları her zaman yeşil olan, yaprak dökmeyen bir ağaçtır. Gelişimi zahmetli ve yavaş olmasına karşın uzun ömürlü bir ağaçtır. Ortalama ömrü bir kaç yüz yıl olmakla birlikte iki – üç bin yaşında ağaçlara da sık rastlanır. Zeytin ağacı çoğunlukla düşük rakımlı coğrafyalarda yetişmesiyle bilinmesine karşın denizden yüksekliği 1000 metreye kadar olan bölgelerde de zeytin tarımı yapılabilmektedir. Zeytin ağacı köklerinin derinlere uzanması sayesinde kalkerli, taşlı, çakıllı ve kurak topraklarda yetiştirilmeye oldukça elverişlidir. Ağacın gelişimi için en verimli ortam yazların sıcak, kışların ise ılıman geçtiği iklim tipleridir. Yıllık yağış miktarının ortalama 220 mm olması, zeytin ağacının verimli bir şekilde büyümesi için yeterlidir (Uygur, 2010).

Zeytin ağacı bir çok mitolojik hikayede ve bütün semavi kitaplarda bahsedilen, kutsal bir ağaç olarak kabul edilmektedir. Örneğin Sophokles (M.Ö. 496–406), Oidipus Kolonos'ta, "Ne Asya toprağında ne de büyük Pelos Adası'nda bir eşi bulunduğunu sanmıyorum..." diyerek zeytin ağacı için çok büyük övgülerde bulunur ve o zamanlarda insanların zeytin ağacına bakışını devam eden şu sözlerinden anlayabiliriz, "çocuklarımızı doyuran zeytin ağacı, ister genç, ister yaşlı kimsenin zarar vermeyeceği bir ağaç..." (Sophokles – Oidipus Kolonos'ta). Yine Antik Yunan'ın yedi bilgesinden biri kabul edilen Solon'un koyduğu kurallarda zeytin ağacına zarar verenler için ağır cezalar mevcuttur (Sarı, 2016).

## 1.2. *Olea europaea L*'nin İçindeki Bioaktif Bileşiklerin Genel Özellikleri

İlk olarak Yunanistan'ın Santorini adasında ortaya çıktığı düşünülen (M.Ö. 37.000), Akdeniz ülkelerinin en önemli meyve ağacı olma özelliğini taşıyan zeytin ağacı, bölge insanı için temel besin maddesi olmasının yanında önemli bir ekonomik gelir kaynağıdır. Zeytin ağacının bu kıyılardaki üretimi, tüm dünyadaki üretimin yaklaşık olarak %98'ini oluşturmaktadır (Tabera ve ark., 2004; El ve Karakaya, 2009).

Zeytin yaprakları Türkiye, Yunanistan, Fransa, İspanya, İtalya, İsrail, Fas ve Tunus gibi Avrupa ve Akdeniz ülkelerinde halkın geleneksel ilaçlar olarak kullanmasının yanında, çeşitli diyet uygulamalarında yaprağın ekstraktları, bitki çayı ve toz olarak da kullanılmaktadır. Zeytine olan tıbbi ve terapötik ilginin nedeni zengin bir besin ve biyoaktif

bileşik kaynağı olmasıdır (Ghanbari ve ark., 2012). Zeytin yaprağı ekstraktların çeşitli şekillerde kullanımları sonrasında pek çok biyolojik aktivitenin (antimikrobiyal, antiviral, hipotansif - kan basıncını düşürücü, hipoglisemik , antioksidan , antienflamatuvar etkisi/5-lipoksigenaz enzimini inhibe ederek, antitrombosit, anti hiperlipidemik ve anti-iskemik vb.), ortaya çıktığı görülmektedir (Ficarra ve ark., 1991; Rice-Evans ve ark., 1997; Bisignano ve ark., 1999; Owen ve ark., 2000; Khayyal ve ark., 2002; Verspohl, 2002; Barbaro ve ark., 2014).

Zeytin yapraklarının bu aktiviteleri gerçekleştirmesini sağlayan, fenolik asitler, fenolik alkoller, flavonoidler, secoiridoidler ve triterpenler gibi pek çok potansiyel biyoaktif bileşiği içerdiği görülmektedir. Yapraklar fenolik bileşenler açısından oldukça zengindir ve birçok başka farmakolojik aktif bileşiği içerir. Bu bileşiklerin radikal süpürücü yeteneklerine ek olarak kan basıncını düşürmede, koroner arterlerin kan akışını arttırmasında, hastalıklara karşı direnç göstermede ve vücudun bağışıklık sisteminin güçlenmesinde de önemli rol oynayan yapılar olduğu gösterildi (Oh ve By, 2010; De Marino ve ark., 2014; Palmeri ve ark., 2016; Showraki ve ark., 2016). Zeytin yaprakları meyveden elde edilen zeytin yağının besleyici ve sağlığı teşvik edici potansiyeline, özellikle de tek seviyeli mono-doymamış maddeler ve fenolikler, fitosteroller gibi diğer değerli küçük bileşenlerin varlığından dolayı kardiyovasküler hastalıklara karşıda oldukça popülerdir (Ghanbari ve ark., 2012). Bunların dışında zeytin yapraklarındaki doğal fenolik bileşikler, sentetik gıdalar yerine doğal gıda katkı maddeleri, kozmetikte anti-aging, antibakteriyeller, koruyucular ve diyet takviyeleri olarak farmasötik, gıda ve kozmetik alanlarında da oldukça fazla kullanılmaktadır (Fito ve ark., 2007).

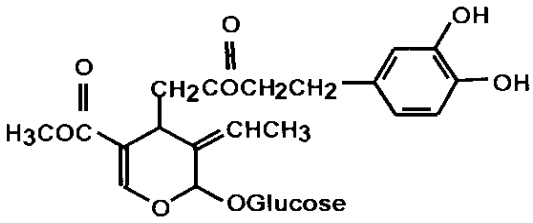
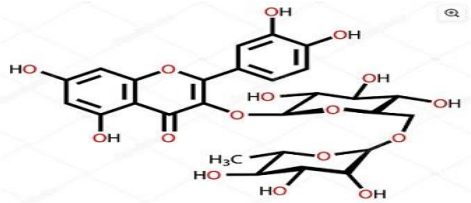
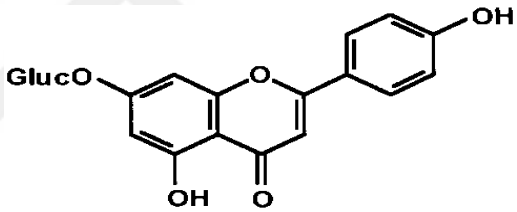
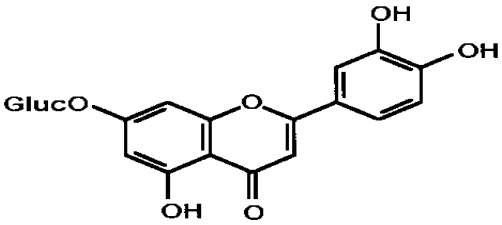
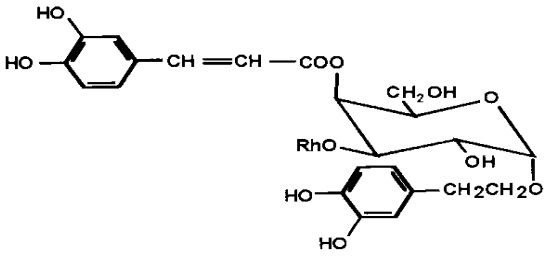
Yapılan araştırmalara göre zeytin yaprağının içerisinde 101 çeşit bioaktif bileşik bulunmaktadır. Zeytin ağacının tamamında bulunan oleuropein en önemlilerinden biridir ve doğada rahatlıkla bulunabilecekleri en büyük kaynak zeytin ağacıdır. (Malik ve Bradford, 2006). İlk olarak Bourquelot ve Vintilesco tarafından 1908 yılında tespit edilmiş, tanımlaması ancak 1960 yılında yapılabilmiştir (Panizzi ve ark., 1960; Benavente-Garcia ve ark., 2002). Ağacın tüm kısımlarında bulunmasına karşın özellikle zeytin yapraklarında oldukça yüksek miktarda bulunmaktadır. Yapraklar 60-90 mg / gr oranında secoiridoid oleuropein içerir (Panizzi ve ark., 1960; Servili ve ark., 1999; Omar, 2010). Zeytin ağaçları ürettikleri bu oleuropein sayesinde dünya üzerindeki en dayanıklı ve uzun ömürlü ağaçlardan biri olmuştur. Oleuropeinin zeytine acı tat veren bir yapısı vardır fakat bu oleuropein miktarındaki düşmeye bağlı olarak olgunlaşan meyvelerde gittikçe azalmaktadır (Tokuşoğlu, 2010).

Oleuropein, elenolik asit ve hidroksitrosolün bir glikosidik esteri (3,4-dihidroksifeniletanol) ile karakterize edilir (Inouye ve ark., 1970). Oleuropeinin insan vücudunda elenoik aside dönüştürülmesi, esteraz ve beta–glukozidaz adlı iki enzim tarafından gerçekleştirilir (Bisignano ve ark., 1999). Literatürde zeytinlerde fenoliklerin ontojenik varyasyonları ile ilgili raporlar genellikle oleuropein ile ilgilidir. (Gariboldi ve ark., 1986). Bunun en önemli nedeni oleuropeinin yaprağın en etkili fenolik bileşiği olmasıdır. Yaprakta en çok bulunan bioaktif bileşiklerden bir diğeride rutin olarak bulunmuştur. (Savournin ve ark., 2001; Sheu ve ark., 2004; Ghica ve ark., 2005). Bu bileşiklerle birlikte *Olea europaea L.,* flavonoid glikozitlerden yaygın olarak özellikle rutin olmak üzere, luteolin glikozidlerin [luteolin 7-glukozit, luteolin 7-rutinosid ve luteolin 4'-glukozit, apigenin glikozidleri [apigenin 7-glukozit ve apigenin 7-rutinosid] zeytin yapraklarında bulunur (Ragazzi ve ark., 1973; Fleuriet ve ark., 1984).

Çizelge 1. Zeytin yaprağındaki bazı önemli fenolik bileşenlerin konsantrasyonları (Ünlüel ve Aydın, 2016)

| Fenolik Bileşen | Konsantrasyon (mg/kg) |
|---|---|
| Hydroxytyrosol | 219 ± 3 |
| Oleuropein | 2,231 ± 52 |
| Demethyloleuropein | 984 ± 47 |
| Verbascoside | 27.45 ± 4.05 |
| Rutin | 15.80 ± 4.51 |
| Luteolin 7-o-glucoside | 15.80 ± 4.51 |

Çizelge 2. Zeytin yaprağındaki bazı fenolik bileşikler ve kimyasal formülleri (Pereira ve ark., 2007)

| | |
|---|---|
| Oleuropein |  |
| Rutin |  |
| Apigenin-7-glukosit |  |
| Luteolin-7-glucosit |  |
| Verbaskosid |  |

### 1.3. *Olea europaea L*'nin Biyolojik Aktiviteleri

Zeytin ağacının sahip olduğu fenolik maddelerin insan sağlığıyla ilgili fizyolojik ve farmasötik olarak çok önemli roller oynadığı kanıtlanmıştır (Tsimidou ve ark., 1992a). 1800'lü yıllarda malarya salgınına karşı kullanılmış ve ilk terapötik özellikleri yine o yıllarda ortaya atılmıştır (Sarı, 2016).

Zeytin ağacının sahip olduğu en önemli biyolojik aktivitelerden biri antioksidan özelliğidir. Antioksidanlar, serbest radikal oluşumunu önleyen önemli maddelerdir. Zeytin yaprağının fenolik içeriği sayesinde doğadaki en önemli doğal antioksidan kaynaklarının başında gelmektedir. Yapılan çalışmalar, zeytin yaprağının meyveden çok daha fazla antioksidan aktivite bileşimi içerdiğini ve zeytin yaprağında oleuropeinin, flavonoidlerinin bunda etken maddeler olduğunu göstermiştir (Zheng ve ark., 2016).

Günümüzde yapılan çok sayıda epidemiyolojik araştırma antioksidan kapasitesi yüksek olan meyve, sebze ve tahıl tüketiminin, koroner kalp hastalığı ve bazı kanserler türlerinin önlenmesinde önemli olduğunu göstermiştir (Rice-Evans ve ark, 1997). Bu meyvelerin en önemlilerinden olan zeytinin yapraklarının hidroalkolik ekstreleriyle yapılan bir çalışmada, nitrik oksitin bazal salınımını arttırarak önemli ölçüde daha düşük ortalama arter basıncı elde ettiği gözlenmiştir (Nekooeian ve ark., 2011). Akdeniz diyetinin uygulandığı başka bir çalışmadaysa Meksikalı çocuklarda astım ve alerjik rinit üzerine koruyucu etkisi gösterilmiştir (De Batlle ve ark., 2008).

Diğer bir çalışmada sızma zeytinyağının fareler ve sıçanlar üzerinde antinosiseptif, anti-enflamatuar ve anti-kanser etkileri araştırılmış ve zeytin yağının asetik asitle indüklenen abdominal kistleri önemli ölçüde azalttığı ve yapılan formalin testinin iki fazında da akut ve inflamatuar ağrıyı azalttığı gözlenmiştir. Zeytin yağının intraperitonal uygulaması, atimik farelerde ksenogreftlenmiş HCT 116 tümörlerinin büyümesini etkilemiştir. Bu çalışmanın sonucunda zeytin yağının önemli bir analjezik, anti-enflamatuar ve antikanser özelliklerine sahip olduğu gösterilmiştir (Fezai ve ark., 2013). Yine bir kanser çalışmasında kullanılan zeytin yaprağı ekstreleri pankreatik kanser hücrelerinin, kontrol gruplarına kıyasla yaşayabilirliğini azaltmış, yüksek anti-proliferatif aktivite sergilemiştir (Goldsmith ve ark., 2015).

Yapılan başka bir çalışmada sıçanlarda histolojik ve histomorfometrik analizlerinden elde edilen sonuçlarda kıkırdak dokusunun ve iskelet kasının durumu, fiziksel aktivite programıyla ve zeytin yaprağı türevleri ile iyileşme gözlendiği belirtilmiştir. Osteoartrit (OA) artikülerin eklem kıkırdağı kaybı, ağrı ve eklem yetmezliğine yol açtığı bir rahatsızlık için yapılan bu çalışmada fiziksel aktivite ve zeytin yağı ile zenginleştirilmiş Akdeniz

diyetinin konjugasyonu, erken OA'da eklem kıkırdağı iyileşme sürecini önemli derecede belirlemektedir (Szychlinska ve ark. 2018).

Zeytinyağı ve zeytin yaprağı ekstresinin eşzamanlı takviyesiyle yapılan bir çalışmadaysa dolaşımdaki karaciğer fonksiyon işaretleyici enzimleri ve pro-inflamatuar sitokinleri önemli ölçüde azalttığı ve fluoksetin kaynaklı histolojik değişiklikleri önlediği belirtilmektedir (Elgebalya ve ark., 2017). Hem zeytinyağı hem de yaprak ekstraktı, karaciğer lipid peroksidasyonunu ve nitrik oksidi önemli ölçüde azaltmış ve karaciğer glutatyonu, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidazını iyileştirmiş sonuç olarak zeytinyağı ve yaprak ekstresi, sıçanlarda oksidatif stres, inflamasyon ve apoptozun zayıflaması yoluyla fluoksetin kaynaklı karaciğer hasarına karşı koruma sağladığı görülmektedir (Elgebalya ve ark., 2017).

Zeytinin yapraklarının bir alkol ekstresi ağız yoluyla uygulanmasının diyabet tedavisi için bir çare olarak literatürde belirtilmiş ve zeytin yaprağı ekstresinin antioksidan özelliği sayesinde bilinen bir antidiyabetik ilaç olan glibenklamid (600 ug / kg) arasında yapılan karşılaştırmada ekstrenin antidiyabetik etkisi, glibenklamid ile gözlemlenenden daha etkili olduğu ortaya koyulmuştur (Eidi ve Darzi, 2008). Ayrıca, alkolle yapılan zeytin ekstresinin, diyabetik sıçanlarda serum lipitleri seviyesinde önemli bir düşüş sergilediğini göstermiştir. Bu sonuçlarla tutarlı olarak, diğer çalışmalarda, diyabetik sıçanlarda zeytin ağacının hipolipidemik etkilere sahip olduğunu bildirilmiştir (Somova ve ark., 2003). Diyabet, nörodejeneratif ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkilendirilen ileri glikasyon son ürünleri (AGE'ler), oleuropein tarafından erken aşamada amadori ürünlerinin oluşumunu ve glikasyonun ileri evresinde floresan AGE oluşumunu önemli ölçüde inhibe etmiştir (Navarro ve ark., 2017a). Aynı zamanda zeytin yaprağı ekstraktlarının gastrik floranın kompozisyonunun düzenlenmesinde de bir role sahip olabileceği ve gastrit için doğal bir tedavi olarak oleuropeinin yararlı olabileceği sonucuna varılmıştır (Sudjana ve ark., 2009; Al-Quraishy ve ark., 2017). Diğer bir çalışmada oleuropeinin bağışıklık sistemi düzenlenmesinde rol oynayan yeni bir bileşen olarak kullanılabildiği gösterilmiş, oleuropein takviyeli yüksek proteinli diyetle beslenen sıçanlarda idrar noradrenalin ve testis testosteron düzeylerini arttırdığını ve plazma kortikosteron düzeyini azaltttığı gözlenmiştir (Giamarellos ve ark. 2006; Oi-Kano ve ark., 2013). Oleuropeinin anti-inflamatuar ve anti-oksidan etkilerinin gösterildiği bir çalışmadaysa, akut miyokard enfarktüsünü takip eden ve bozulmuş spinal sinir hücrelerini kurtaran miyokardiyal hasara karşı koyabildiği gösterilmiştir (Yu ve ark., 2016).

Ayrıca oküler cerrahide anestezi yönetimi için önemli olan göz içi basıncının kontrol altında tutulması, oleuropein alımının göz içi basıncı azaltıcı özelliği ile mümkün olabileceği gösterilmiştir (Şimşek ve ark., 2016). Kuru zeytin yaprağı ekstreleriyle yapılan bir çalışmadaysa erken ve uzun süreli romatoid artritli (RA) hastalarda oleuropein ile standart metotreksat (MTX) tedavisinin birlikte uygulanması sonucunda DNA hasarının hızla azaldığı ve oksidatif dengeyi yeniden düzenlediği görülmektedir (Čabarkapa ve ark., 2016).

Zeytin ağacının oldukça güçlü etkinlik gösterdiği bir başka biyoaktivite özelliği ise antimikrobiyal olmasıdır (Bisignano ve ark., 1999). İlaçların yan etkilerinin yüksek ve ilaç direncinin gittikçe arttığı günümüzde, zeytin ağacının gösterdiği bu biyoaktivite oldukça önemlidir. Örneğin; Giardia lamblia, çocuklarda dünya çapında ishalin yaygın nedenlerinden biriyken ve buna karşı kullanılan ilaçların yan etkileri oldukça yüksekken, ilaçların zeytin yaprağı ekstraktlarıyla birlikte kullanımı bu rahatsızlığı etkili bir şekilde ve herhangi bir yan etki göstermeden ortadan kaldırmaktadır (Fallahi ve ark., 2015).

Yakın zamanda yapılan başka bir çalışmada *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı antimikrobiyal aktivitelerinin değerlendirildiği bir çalışmada, Luteolin 7 - O - Glikozit'in, oleuropeinin ve başlıca fenolik sekonder metabolitlerin, *S. aureus* üzerinde daha fazla aktivite göstermekle birlikte her iki bakteride de etkili olduğu gözlenmiş ve *Listeria monocytogenes, Salmonella enteritidis* gibi patojenlerin büyümesini neredeyse tamamen inhibe ettiği gösterilmiştir (Lim ve ark., 2016; Liu ve ark., 2017). Oleuropein, kritik hastalarda enteral beslenme çözümlerine eklenmesiyle, enterik bakteriyellerin sayılarını azaltarak, bakteriyel translokasyona yatkınlık gösteren klinik durumların varlığında yararlı olabileceği belirtilmiştir (Kiraz ve ark., 2016). Ayrıca Hepatit B virüsü ve HIV'e karşı antiviral etki gösterdiği tespit edilen oleuropeininin, insan sağlığı açısından çok önemli bir biyoaktif bileşik olduğu ve yapılan çalışmalarda herhangi bir toksisite etkisinin bulunmaması sebebiyle de rahatlıkla kullanılabileceği belirtilmektedir (Barbaro ve ark., 2014; Verschaeve ve ark., 2017).

Zeytin yapraklarının kullanımında yabani ya da kültivar kullanılmasının arasında çok büyük bir fark görülmemiştir. Esansiyel yağ bileşimleri hariç, kantitatif ve kalitatif kompozisyonlarına göre yabani ve endüstriyel amaçlar için yetiştirilen diğer kültivarların yaprakları kıyaslandığında önemli bir fark olmadığı görülmüş ve önemli ölçüde antioksidan ve sitotoksik özellikler yabani türlerde de ortaya çıkmıştır. Bu nedenle, yabani türlerin geleneksel tıpta kullanımlarının uygun oldukları söylenebilir (Makowska-Wąs ve ark., 2017).

### 1.4. Biyolojik Ritimlerin Genel Özellikleri ve Sirkadiyen Ritim

Doğadaki birçok canlı zamana bağlı olarak gerçekleşen döngüsel değişikliklere sahiptir. Bu döngülerin gerçekleştiği biyolojik, fizyolojik, biyokimyasal, davranışsal ve psikolojik işlevlerin zaman kavramıyla ilişkisi, canlılar için hayati öneme sahiptir. Örneğin, fizyolojik mekanizmalar nanosaniye değişimleriyle açıklanabilecek farklı sürelere ve salınım frekanslarına sahiptirler. İyon kanallarındaki kaymalar veya enzimatik reaksiyonlar ve protein sentezindeki değişimler, elektroensefalografik veya elektrokardiyografi dalgalarının değişimine sebep olarak, birkaç dakika veya saatteki ultra ritimlerden, daha uzun sirkadiyen ritimlere ve bir ay, bir yıl veya daha uzun ritimlerin değişimine yol açacaktır (Schulz, 2007). Bitki ve hayvandan elde edilen deneysel veriler, bu değişimlerin mekanizmalarını anlatan ve biyolojik ritimlerle ilgili birçok model ve kavram ortaya çıkarmıştır. Bu kavramlar genel olarak biyolojik ritimler olarak adlandırılan, sirkadiyen, infradiyen, ultradiyen gibi çeşitli alt gruplara ayrılmaktadır (Reinberg ve Ashkenazi, 2003).

Bu gezegende yaşayan organizmalar, dünyanın gece-gündüz, ışık-sıcaklık durumlarına göre çevresel faktörlerdeki periyodik değişimlere uyarlanmıştır. Biyosferdeki canlıların yaşamlarını etkileyen, tüm organizmalar için ortak bir ana evrimsel özellik olan bu uyarlanma, yaşam formlarının çevresel geçişleri öngörmesine ve bu sayede biyolojik olarak avantajlı zamanlarda aktiviteler gerçekleştirmesine olanak sağlar. 20. yüzyılda, tek hücreli organizmalar da dahil olmak üzere tüm canlı varlıkların, biyolojik saat sistemine sahip olduğunun farkına varılmıştır. 24 saatlik bir süre sonucunda meydana gelen ritimler, sirkadiyen ritimler olarak adlandırılır (Moore-Ede ve ark., 1982; Edery, 2000; Fuller ve Fuller, 2002). Latince –*circa* (ilişkin, dair) ve -*diem* (gün) kelimelerinin birleşiminden oluşan Sirkadyen (circadian) kelimesi, günlük ritim anlamında Franz Halberg tarafından 1950 ilk defa kullanılmıştır (Lemmer, 2009). Bilim adamları uzun yıllardan beri memeli retinalarının çevresel ışık döngülerine sirkadiyen ritimlerin çekilmesinden sorumlu fotoreseptörler içerdiğini bilmektedir (Menaker, 1974).

Sirkadyen ritim, özetle vücudumuzun saatidir. Vücudumuzun biyokimyasal, fizyolojik ve davranışsal süreçlerini, enerji metabolizması gibi fonksiyonları 24 saatlik döngü boyunca düzenleyen bir sistemdir. Işığın ve karanlığın bilgisini kullanarak zamanında uyumamızı ve uyanmamızı sağlar. Canlıların çevresel değişimlere adaptasyonu da sirkadiyen ritim tarafından gerçekleştirilir (Sukumaran ve ark., 2010). Geçmişte yapılan çalışmalarda iki deney faresinde hipotalamusun suprakiazmatik çekirdeğinde (SCN) sonlanan bir direkt retinohipotalamik yolun (RHT) tanımlanmasıyla sirkadiyen ritmin biyolojik yapısıyla ilgili daha geniş çapta fikirler elde edilmiştir (Hendrickson ve ark., 1972).

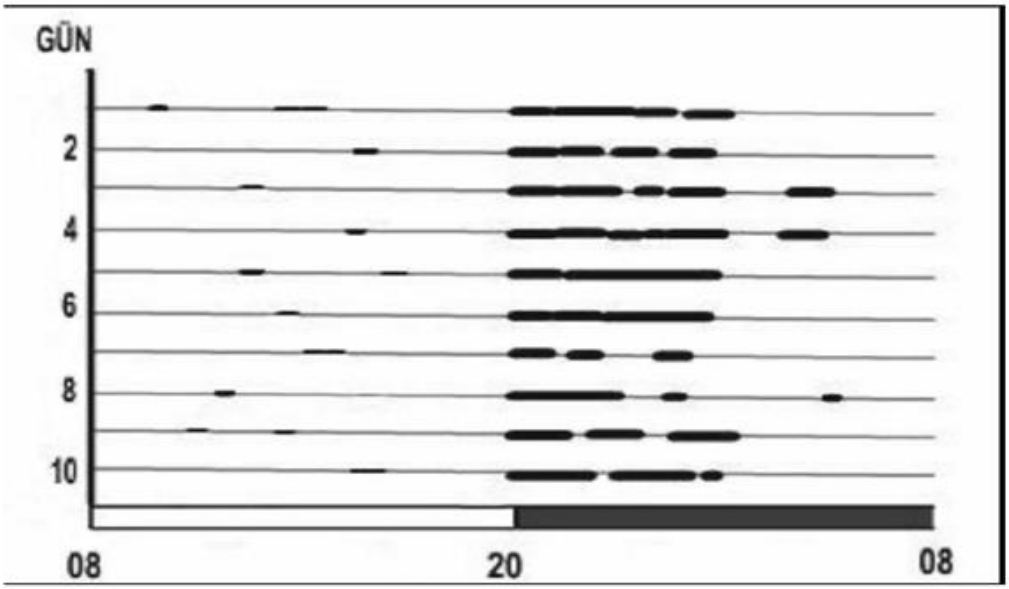
Mevsimsel üreyen hayvanların yıl içerisinde gerçekleşen döngülere uyum sağlayabilmek için ışık bilgisini kullanmaları iç mekanizmalara etkisinin oldukça yüksek ve önemli olduğu görülmüştür (Korn, 1989; Ellison ve ark., 1993).

### 1.5. Sirkadiyen Ritmin Biyolojik Aktivitesi

Çevresel koşulların aynı olduğu durumlarda sirkadyen ritim kendi kendini yönetmektedir. Yapılan bir çalışmada tüm uyaranlardan arındırılmış ve ışıksız bir ortamda, laboratuvar farelerinde ve insanlarda ritmin sıfırlanarak düzenli bir şekilde kendini tekrarladığı görülmektedir (Refinetti, 2000).

Sirkadyen ritim ve günlük fiziksel aktivite arasında önemli ilişki bulunmaktadır. Gece aktif olan hayvanların lokomotor aktivite kayıtları incelendiğinde sirkadyen ritim için kullanılabilecek güvenilir bir yöntem olduğu görülmektedir. Karanlıkta lokomotor aktivite gösterip aydınlıkta dinlenen bu hayvanların aktivitelerini elde edebilmek için kafeslerine yerleştirilen bir koşma tekerleği ile hayvanın gün boyu yaptığı aktivite, grafik olarak (aktogram) kaydedilebilir (Moore ve Eichler, 1972; Stephan ve Zucker, 1972b).

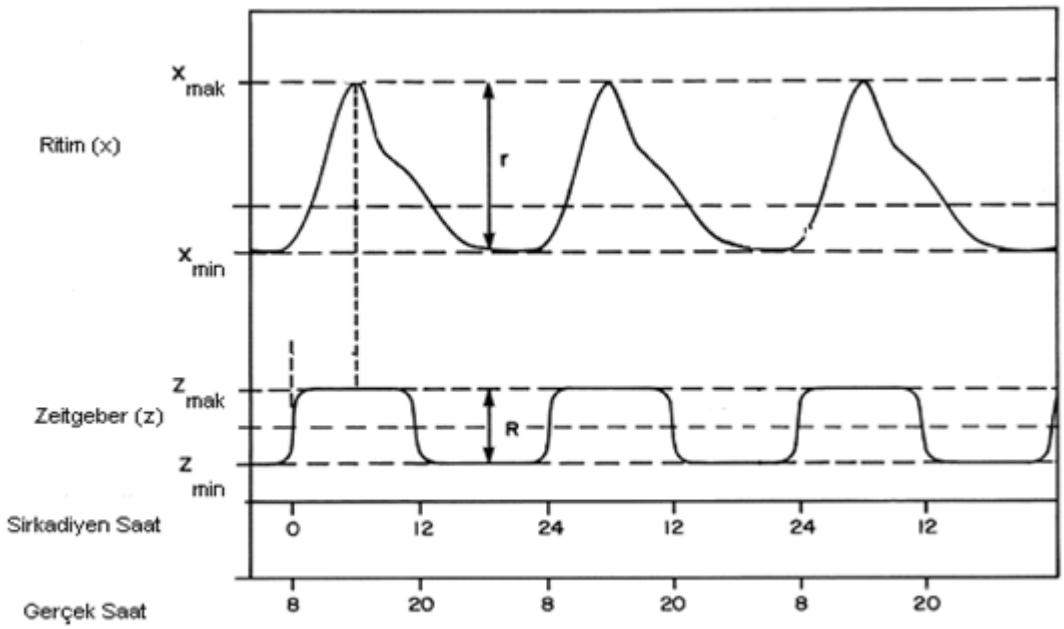
Memeli hayvanlarda, tüm sirkadyen ritimler fotoperiyodik çevreyi algılamak üzere çeşitli biyolojik aşamalarda özelleşmiş bir nöral yapı olan Suprakiyazmatik nukleus (SCN) tarafından oluşturulur ve lokomotor aktvite ritimleri de dahil sirkadiyen ritimlerin kontrolünü sağlayan ana biyolojik saattir (Gündüz ve Karakaş, 2010). Şekil 1'de gece aktif olan bir hayvanın örnek lokomotor aktivite kayıtları gösterilmektedir.



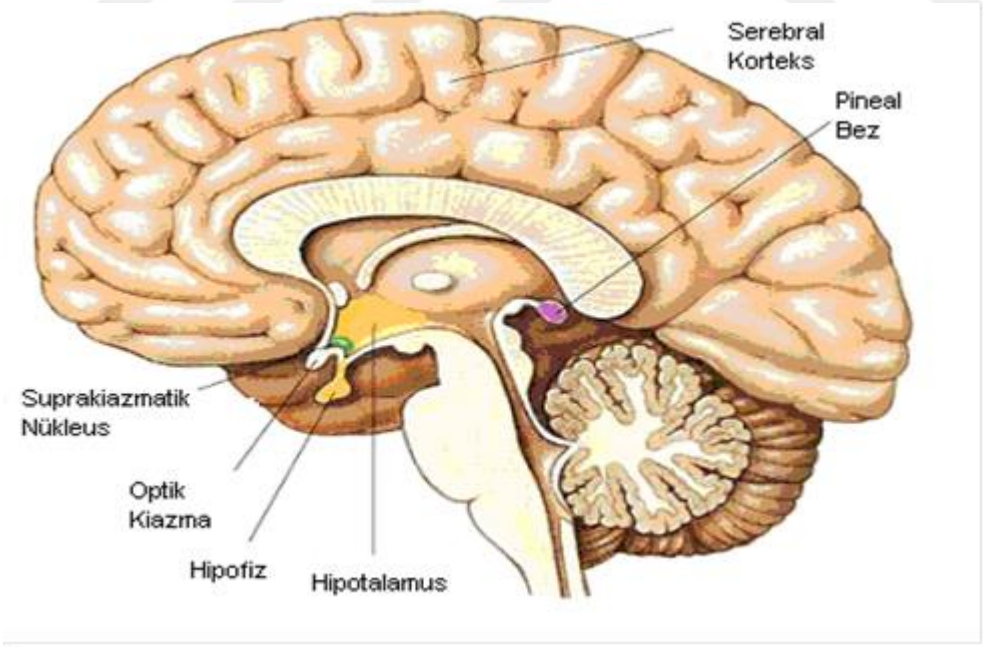

Şekil 1.1. Standart aydınlık-karanlık döngüsünde bulunan gece aktif bir hayvanın tipik lokomotor aktivite kayıtları (aktogram) (Balkancı ve Segili, 2005)

1970'lerde SCN lezyonlarının, lokomotor aktivite, kortikosteroid sekresyonu ve diğer fizyolojik ve davranışsal aktivitelerin sirkadiyen ritminde kayıplara neden olduğunun keşfedilmesiyle, SCN'nin beynin ana biyolojik saati olduğu ve 1990'lardan bu yana da zamanın transkripsiyonel-translasyonel döngülerine dayanan bir genetik saat kullandığı bilinmektedir (Moore ve Eichler, 1972; Stephan ve Zucker, 1972b). Çoğu hücre bu genetik saate sahiptir (Reppert ve Weaver, 2002; Yoo ve ark., 2004). SCN'de bulunan ana biyolojik saat zeitgeber adı verilen ışık, uyku programı, aktivite, sıcaklık, yemek gibi sinyallerin yorumlanmasıyla düzenlenir (Fuller ve Fuller, 2002). SCN'den gönderilen sinyaller vücutta bulunan diğer hücrelerin saatlerini ayarlamalarını ve fonksiyonlarını buna göre yerine getirmelerini sağlamaktadır (Kondratov, 2007).

Yapılan bir başka çalışmada hamsterlerin SCN'sinin, davranışsal ritimler ve bunların RHT yoluyla çevresel aydınlatma döngülerinin, endojen oluşumunda kritik bir ikili rol oynadığını göstermiştir. Yine albino farelerle yapılan çalışmalar da benzer sonuçlar vermiştir (Stephan ve Zucker, 1972b; Moore ve Eichler, 1972).



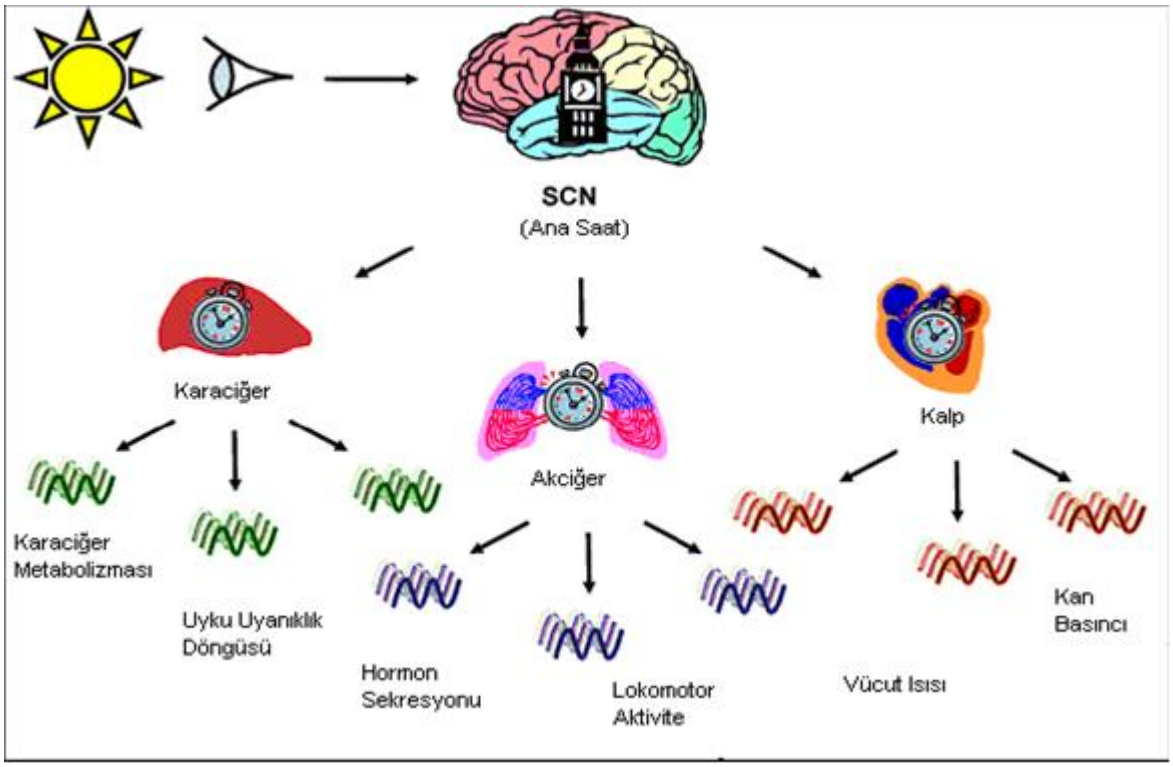

Şekil 1.2. Biyolojik ritim, zeitgeber ve zaman değerlendirmesi. Biyolojik ritim (x). Zeitgeber uyarısı (z). Maksimum and minimum seviye (X mak, X min, Z mak, Z min) (Fuller ve Fuller, 2002)




Şekil 1.3. Suprakiazmatik nükleus (Kondratov, 2007)

SCN'nin ana hedefi memelilerde, sürüngenlerde ve kuşlarda pineal bezidir. SCN, ışık ile ilgili bilgileri doğrudan retinadan alır. Melatoninin pineal bezinden salınımını ve ayrıca

beyin dışındaki dokularda birçok periferik saati etkiler. Hemen hemen tüm dokularda, biyokimyasal aktivitelerinin döngüsel bir kalıbı ve etkileşim saatleri hiyerarşisi vardır. Bu saatler, geri besleme veya ileri besleme efektleri aracılığıyla SCN'yi düzenleyebilirler (Liu ve ark., 2007).




Şekil 1.4. Biyolojik saatin düzenlenmesi ve fizyolojik etkileri (Kondratov, 2007)

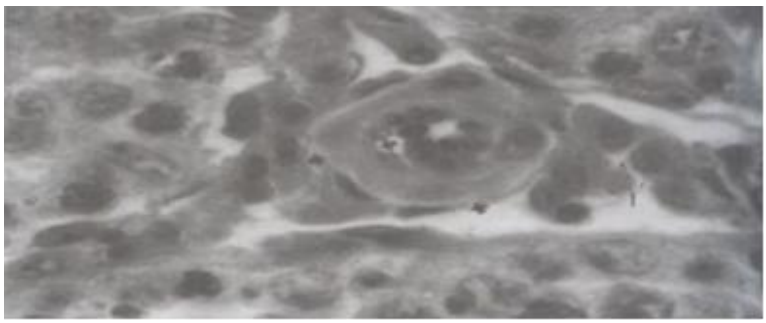
SCN nöronlarının 24 saatlik bir süre boyunca fonksiyonel salınımını belirleyen moleküler olaylar, karmaşık transkripsiyon / translasyon geri besleme döngülerinde etkileşime giren çeşitli saat proteinlerinin tekrarlayan ekspresyonunu içerir. Memelilerde retinadan kaynaklanan glutamaterjik bir monosinaptik yol, SCN nöronlarındaki saat gen ekspresyonunu düzenleyerek, bunların ışık-karanlık döngüsüne göre senkronize olmasını sağlar. Ortaya çıkan kavram, SCN'den gelen nöral / humoral çıkış sinyallerinin, beyin, kalp, akciğer, gastrointestinal sistem, karaciğer, böbrek, fibroblastlar ve hücre fenotiplerinin çoğunda yer alan periferik saatler üzerindeki etkilerinin, açık sirkadiyen ritimlerle sonuçlanmasıdır (Richter ve ark., 2004). Sirkadiyen ritimlerin aşırı yüklenmesi, SCN'den gelen nöronların koordinasyonundan kaynaklanır. Ayrıca, SCN içinde özel grup nöronlar bulunabilir ve her grup belirli bir organın düzenlenmesini hedefler, yani pineal bezi, karaciğeri veya diğer organları hedefler (Kalsbeek ve ark., 2006).

### 1.6. Testosteron

Testosteron hormonu başlıca erkeklerde testislerin seminifer tübülleri arasında bulunan leydig hücrelerinde üretilen, 19 karbon atomu içeren ve bir steroid olan androstenedion türevidir. 17 beta-hidroksi-4-androsten-3-10 olarakta ifade edilir. Ayrıca seminifer tübüllerin sertoli hücreleri ile epididimis hücrelerinde de oluşur. Kadınlarda ise daha az miktarda yumurtalıklardan üretilmektedir. Tüm steroid hormonlar gibi dört halkalı bir yapı gösteren siklopentanoperhidrofenantren çekirdeğine sahiptir. Bu halkanın 10. ve 13. karbon atomuna metil, 17. karbon atomuna bir hidroksil (-OH) grubunun girmesiyle testosteron hormonu oluşur (Yılmaz, 1999).



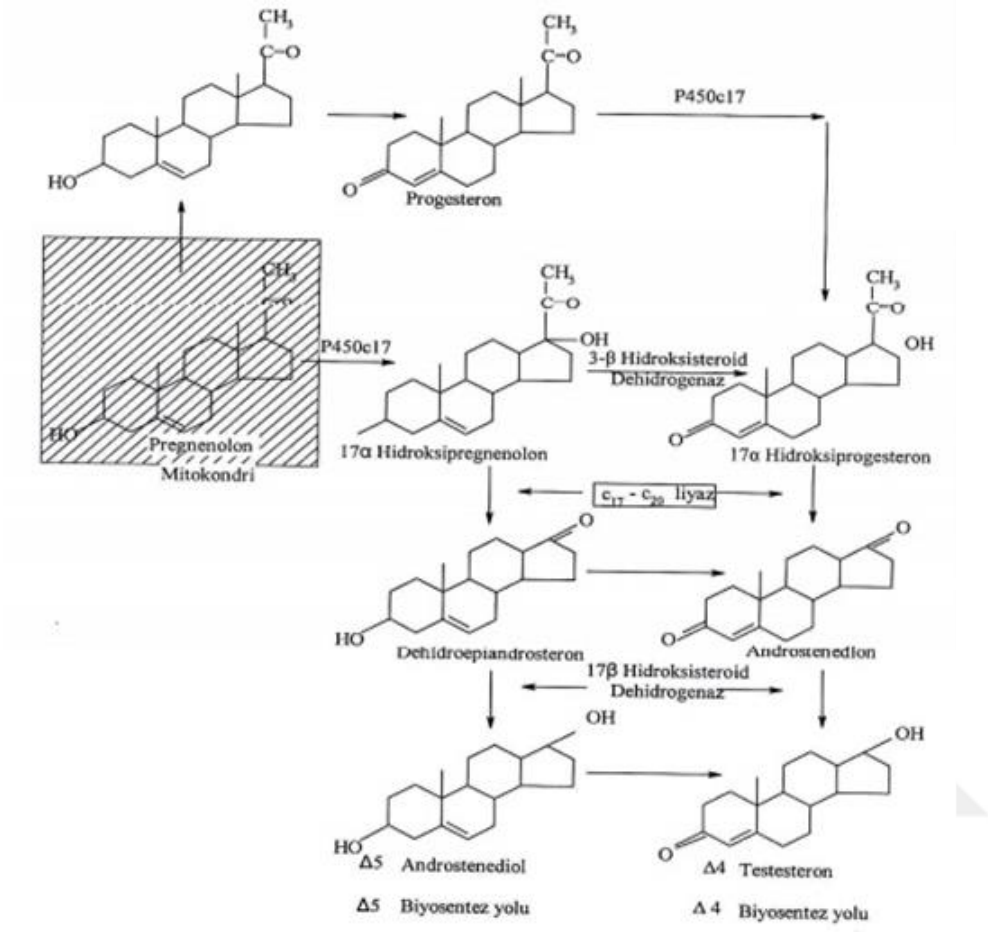

Şekil 1.5. Testosteronun 3 boyutlu moleküler yapısı (Gül, 2008)



Şekil 1.6. Leydig hücreleri (Öztürk ve ark., 2002)

Erkek özelliklerinin oluşumunda rol oynayan genel olarak androjen adını alan hormonlardan biri olan testosteron testislerin leydig hücrelerinde üretilmektedir. Üretilen testosteronun yaklaşık olarak %95'i testislerde meydana gelmektedir ve kalan %5'i ise

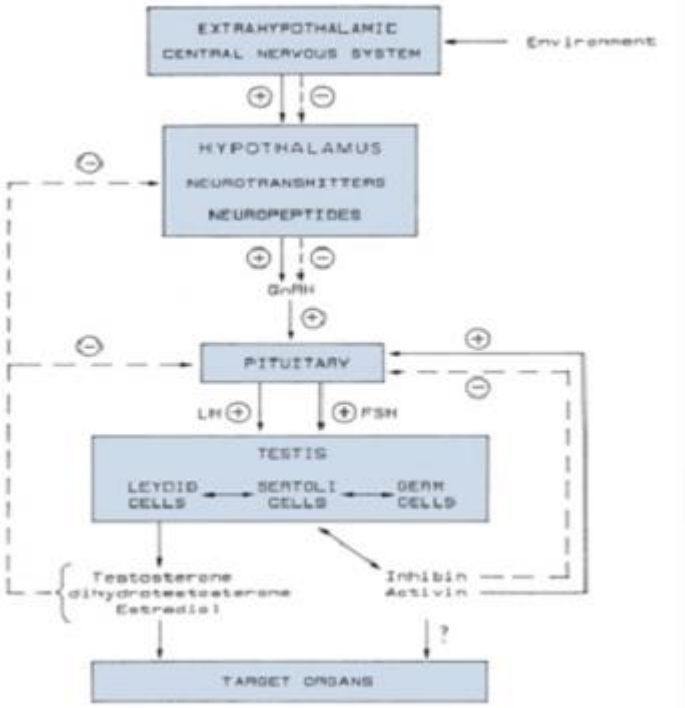
adrenal kortekste sentezlenir. Bazı durumlarda sentetik olarak da üretimi sağlanmaktadır (Yılmaz 1999; Yesalis ve ark., 2000; Wood ve Stanton 2012; Stanton 2017).




Şekil 1.7. Testosteron biyosentezi (Löffler ve Petrides 1988)

Testosteron üretimi, daha fazla testosterona ihtiyaç duyan hipotalamustan gonadotropin salgılayan hormon salınımıyla, hipofiz bezine ulaşır ve folikül uyarıcı hormon (FSH) ve lüteinleştirici hormon (LH) üretim başlar. Testislerin endokrin ve enzokrin işlevi ön hipofizin denetimi altındadır. Ön hipofizden salgılanan FSH, seminifer tübüllerde germinal epiteli uyararak spermatozoon oluşumunu hızlandırır. LH ise Leydig hücrelerini uyararak hormon oluşumunu hızlandırır. Plazma LH düzeyleri gün içi ritim gösterir. Leydig hücrelerinde sentezlenen testosteron, seminifer tubüllerin içine ve oradan dolaşıma salgılanır ve burada albümine bağlanır. Çok az bir kısmıysa serbest kalarak kanda dolaşımını sürdürmeye devam eder. Testesteron dolaşımdayken feedback mekanizması üzerinden (böbreküstü bezi korteks hormonları ile beraber) ön hipofiz üzerine kısıtlayıcı etki yapar ve

hipotalamustan salınan gonadotropin salgılatıcı hormonun (GnRH) salgılanma sıklığını azaltarak FSH ve LH üretimini ve salınımını baskılar (Yılmaz, 1999).




Şekil 1.8. Hipotalamus-hipofiz-testiküler aksın şekli (Swerdloff ve Wang, 1997)

Testosteron hormonu yaşamın değişik dönemlerinde farklı oluşumlar gösterir. İlk salınımı fetüste gözlenmektedir. Plasentadan salınan korionik gonadotropin anne kanından fetüse geçerek Leydig hücrelerini uyarır ve testosteron oluşumuna ve salımına neden olur. Böylece erkek eşey organlarımın gelişimi ve farklılaşması gerçekleşir. Ergenliğe (puberte) kadar geçen bu sürede gonadotropinlerin baskılanmasıyla Leydig hücreleri dinlenmeye devam eder ve testosteron hormonu düşük bir seviyede sınırlandırılır. Ergenliğin başında bu baskının kalkmasıyla ön hipofizden salınan LH, testosteron oluşumunu ve salımını kolesterolden ya da asetatın dönüşümüyle hızla artar. Ergenlikten önce 0.25 mg / gün düzeyinde olan testesteron üretimi sonrasında 11 mg / gün'e kadar yükselmektedir. Bu dönemde en üst düzeyde olan testosteron oranları 40'lı yaşlardan itibaren düşmeye başlar, 50'li yaşlarda bu düşme yavaşlarken 80 yaşlarına gelindiğinde bu oran neredeyse %20 oranlarına kadar düşmektedir (Yesalis, 1993; Yılmaz, 1999).

### 1.7. Suriye Hamsteri (*Mesocricetus auratus)*

Suriye hamsteri (*Mesocricetus auratus*) Rodentia ordosuna ve *Cricetidae* familyasına

dahildir (Waterhouse, 1839). Işığa oldukça duyarlı olan bu canlılar, kısa üreme dönemleri ve fotoperiyodik özellikleri nedeniyle deneysel çalışmalar için sıkça kullanılan bir hayvan modelidir. Suriye hamsteri gibi fotoperiyodik hayvanlarda birçok fizyolojik ve hormonal aktivitenin işleyişi ışığın süresine bağlıdır özellikle üreme dönemlerinin belirlenmesinde, seksüel olgunlaşmanın gerçekleşmesindeki en önemli çevresel faktördür (Beasley ve ark., 1981).

Üremeleri bütün bir yıla yayılmasına rağmen ışığın en bol olduğu ilkbahar ve yaz mevsimlerinde çok sık aralıklarla yavru verebilirler. Yüksek ışık süreleri gonodal gelişmeyi uyarırken, ışık miktarının düşük olması gelişimin baskılanmasına neden olur. Hamsterlar için alt sınır en az 12.5 saat aydınlık periyod olmalıdır. Bu sürenin altındaki ışık süreleri hamsterlerde seksüel davranışlarda azalma veya tamamen kaybolmayla sonuçlanır. Testis ağırlığında %80 azalma, saptanamayan spermatogenez ve düşük serum testosteronu gibi sonuçlara yol açabilir (Hoffman ve Illnerova, 1986; Pospichal ve ark., 1991).

Erkek hamsterlerin kısa gün ışığına uzun süre maruz kalmaları, testis regresyonunu tetikleyen gonadotropin sekresyonunda ciddi azalmalara neden olur. Üreme fonksiyonları yaklaşık olarak 6 hafta içinde önemli ölçüde baskılanır ve 12 haftalık düşük ışık süresinden sonra nadiren görülür. Hamsterlerin üremeleri için bir diğer önemli faktörler ise; besin miktarı, ortam sıcaklığı ve yağış miktarıdır (Hoffman ve Illnerova, 1986).

# BÖLÜM 2
# ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Zeytin ağacı üzerine yapılan çeşitli çalışmalarda içeriğindeki biyoakftif bileşiklerin birçok faktörden etkilenerek değişiklikler gösterdiği belirlenmiştir. Ağacın yetiştiği coğrafi bölgeye, zeytin yaprağının olgunluk aşamalarına, zeytin ağacının farklı türlerine veya hasat dönemine kadar geçirdiği aşamalar da dahil olmak üzere zeytin yapraklarının toplam fenolik içeriği (TPC), toplam flavonoid içeriği (TFC) ve antioksidan aktiviteleri (AA)'ni etkileyen kültivar, iklim, toprak türü vb. etkileyen birçok parametre vardır (Al-Rimawi ve ark., 2014).

Yapılan bir çalışmada Filistin'in farklı coğrafi bölgelerinden (kuzey, orta ve güney) elde edilen zeytin yapraklarının antioksidan aktiviteleri (AA), toplam fenolik içeriği (TPC) ve toplam flavonoid içeriği (TFC) üzerine coğrafi bölge ve hasat tarihi (mevsimsel değişim) etkisine göre bakılmış, farklı olgunlaşma aşamalarında (Haziran 2013, Ekim 2013 ve Ocak 2014) incelenmiş, hem coğrafi bölgenin hem de olgunlaşma evresinin, zeytin yapraklarının AA, TPC ve TFC'sini etkilediği ortaya koyulmuştur. Haziran ayında toplanan örnekler için en yüksek AA, TPC ve TFC elde edilmiş ve TPC'nin kuzeyde en yüksek ve güneyde en düşük olduğu, en yüksek AA ve TFC içeriklerinin ise kuzey, orta ve güney arasında değiştiği bulunmuştur (Al-Rimawi ve ark., 2014). İki İtalyan kültürünün karşılaştırıldığı bir çalışmadaysa *Olea europaea*'nın olgunlaşma döneminde meyve ve yaprakların fenolik bileşiminde önemli değişiklikler olduğunu bildirmişlerdir (Briante ve ark., 2002).

İtalya'da yapılan yine başka bir çalışmada, farklı dönemlerde hasadı yapılan 7 zeytin ağacı türünün biyoaktif bileşiklerinin değişiminin incelenmesi sonucunda; oleuropein içeriğindeki değişimin genel olarak ağaç türlerinin farklılığından kaynaklandığı, genç yaprakların daha fazla oleuropein içeriğine sahip olduğu ve mart ayında yapılan hasattaki oleuropein miktarının ekim ayına göre biraz daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Ranalli ve ark., 2006). İtalya'ya yakın bir coğrafya olan Yunanistan'da ise, farklı Yunan zeytin çeşitlerinden elde edilen zeytin yaprağı ekstraktlarındaki toplam fenol miktarlarında da farklılıklar bulunmuştur **(**Kiritsakis ve ark., 2010). İran'da yapılan bir çalışmada kullanılan altı çeşit zeytin ağacının içerik aktivitelerindeki farklılıklar açısından değerlendirilmesindeyse antioksidan aktivite, fenolik içerik ve zeytin çeşitleri arasında güç azalması bulunmuştur (Hajimahmoodi ve ark., 2008). Benzer şekillerdeki diğer çalışmalarda yine farklı coğrafyalarda yapılan Tunus'tan, Türkiye'den ve Suudi Arabistan'dan gelen zeytin yaprağı çeşitlerinin toplam fenolik ve flavonoid içeriği farklılıkları belirlenmiştir (Ben Salah ve ark., 2012).

Somova ve arkadaşlarının (2003) çalışmalarına göre Afrika kökenli bir zeytinin ekstrelerindeki temel biyoaktif maddeleri, oleanolik asit ile izomeri ursolik asitin 1:1 karışımıyken bu oran Yunanistan ve Avrupa zeytin yapraklarında, sırasıyla %0.71 ve %2.47 oleanolik asit içerdiği bulunmuş ama bu zeytin türlerinde ursolik asit tespit edilememiştir.

Limiroli ve arkadaşlarının (1996) yaptığı diğer bir çalışmada karakteristik oleuropein sinyallerinin Dritta cv'nin sulu ekstreleri haziran zeytin özlerinde görülmemiştir. Bu erken mevsimde, oleuropeinin ya yokluğu ya da saptanması için çok düşük bir miktarda mevcut olduğu anlamına gelir. Bununla birlikte, oleuropein rezonansları, ağustos zeytin özlerinde kolaylıkla gözlemlenebilir hale gelmiştir. Fenolik kompozisyonlar, zeytin meyvesinin gelişimi ile sürekli olarak değişmiş, basit fenolikleri ve üç kültivarın türevlerini etkileyen en kayda değer değişiklikler, Haziran ayında Cipressino cv. konjuge tirosol, serbest formda, iki form ise, hemen hemen aynı oranlarda Ağustos ekstresinde mevcut olduğu ve Dritta ve Leccino cvs. 'ın Haziran aylarının baskın olan Cornoside, Ağustos ayında ve Ekim ayında hasat edilen zeytinlerde büyük ölçüde azaldığı belirtilmiştir.

Akdeniz diyetinin başlıca diyetsel yağ kaynağı olan zeytinyağının tüketiminin insan sağlığı üzerinde çok çeşitli yararlı etkilere sahip olduğu son yıllarda yapılan birçok çalışmayla ortaya koyulmuştur (Stark ve Mader, 2002; Visioli ve Galli, 2002). Çalışmalar, zeytinyağlı fenollerin çok güçlü biyolojik aktivitelere yol açan güçlü antioksidanlar olduğunu göstermiştir. Doğal sızma zeytinyağının sahip olduğu birçok fenolik bileşik; ki bunların en önemlileri arasında olan hidroksitirosol ve oleuropein bulunur, zeytinyağının karakteristik tadı ve dengesini veren temel bileşenler olduğu düşünülmektedir (Lavelli, 2002; Tuck ve Hayball, 2002; Visers ve ark., 2004).

Zeytinyağında aglycone formunda bulunan Oleuropeinin; in vivo ve in situ deneylerle trigliserit metabolizması ve sızma zeytinyağındaki oleuropein ve oleuropein aglycone fenolik bileşiklerinin, interskapular kahverengi adipoz dokudaki (IBAT) ayrılmayan protein 1 (UCP1) seviyesini arttırarak termojenezi artırdığını ve sıçanlarda noradrenalin ve adrenalin sekresyonlarını artırarak oleuropein ve oleuropein aglikonun intravenöz uygulanmasıyla, plazma noradrenalini ve adrenalin düzeylerini de önemli ölçüde artırdığı belirtilmiştir. Artışlar doza bağımlı olarak değişmiş ve plazma noradrenalin ve adrenalin seviyeleri ile oleuropein ve oleuropein aglycone uygulanan dozlar arasında anlamlı pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir. Buna benzer bir çalışmadaysa 8 g / 100 g sarımsaklı diyet desteğinin, protein anabolizmi ile ilişkili hormon düzeylerini, yüksek proteinli bir diyetle beslenen sıçanlarda testiküler testosteron düzeyini artırarak ve kortikosteron düzeyini düşürerek değiştirdiği de bildirilmiş ve sarımsak desteğinin, artmış plazma noradrenalin düzeyinin

neden olduğu hipofiz bezinden luteinize edici hormon (LH) sekresyonunun uyarılması nedeniyle testis testosteron düzeyini artırdığı öne sürülmüştür. Hormon sekresyonunu uyarmada önemli rol oynayan noradrenalin ve adrenalin oleuropeinin, noradrenalin sekresyonu ile hormon sekresyonunu stimüle ederek tüm vücut protein metabolizmasını etkileyebileceğini ve çeşitli diyetlerle oleuropein desteğinin hormonla düzenlenmiş protein anabolizmini artırabileceği düşünülmüştür (Oi-Kano ve ark., 2001; Oi-Kano ve ark., 2007; Oi-Kano ve ark., 2008).

Oi-Kano ve arkadaşlarının (2013) yaptığı başka bir çalışmadaysa 28 gün boyunca farklı protein düzeyleri (40, 25 ve 10 g / 100 g kazein) ile beslenen farelerde, oleuropein takviyesinin (0.1 g / 100 g) protein metabolizması üzerindeki etkileri araştırılmış % 40 kazein diyetiyle beslenen sıçanlarda, oleuropein takviyesi testis testosteron düzeyini önemli ölçüde arttırmış ve plazma kortikosteron seviyesini azaltmıştır. Ayrıca idrarda da noradrenalin düzeyini arttırmıştır. Yapılan bu çalışmayla, sıçanlarda plazma testosteron düzeylerinin, tespit sınırının ötesine geçtiği doğrulanmıştır.

Aynı çalışmanın bir başka deney düzeneğinde anestezi uygulanmış sıçanlarda testiste testosteron üretimini düzenleyen hipofiz bezinden LH salgılanması üzerine oleuropein aglikononun (sızma zeytinyağında önemli bir fenolik bileşik) etkisi araştırılmış ve LH'nin testiste Leydig hücrelerinin testosteron üretmesini uyardığı bildirilmiştir. Oleuropein aglikon ve hidroksitirosol, yaklaşık 12 saat sonra sıçanlardan tespit edilememiştir. Böylelikle, bu bulgu, sıçan vücudunun, yutulan oleuropeinin, oleuropein aglikon ve hidroksitirosol içine hızla katabolize olduğunu açıkça göstermiştir. Bu nedenle, steroid hormon üretiminin indüksiyonu (yani, LH sekresyonunun geliştirilmesi yoluyla testosteron üretimindeki artış), gastrointestinal sistemdeki oleuropein hidrolizinden sonra ince bağırsakta absorbe edilen oleuropein aglikon ile noradrenalin sekresyonunun uyarılmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür (Chubb ve Eving, 1979; Ultee-van Gessel ve ark., 1988; Griggs ve ark., 1989; Erickson ve ark., 1990; Oi-Kano ve ark., 2013).

Oi-Kano ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda fenol konsantrasyonada değinilmiştir. Fenol konsantrasyon oldukça önemlidir. Çünkü içeriğindeki aktif maddelerin çeşitliliği, azlığı çokluğu ulaşmak istediğimiz sonuçlarla doğrudan ilgilidir. Örneğin; doğal zeytinyağındaki fenol konsantrasyonu 50-800 mg / kg arasında değişmekte olup, ticari zeytinyağı için ortalama olarak yaklaşık 180 mg / kg olduğu belirtilmiştir. Bununla ilgili yapılan çalışmada ticari zeytinyağı ve doğal zeytinyağındaki fenol konsantrasyonları doğal zeytinyağı ve ticari zeytin yağının yağ asidi bileşimleri hemen hemen aynı olmasına rağmen, doğal zeytin yağındaki toplam fenol konsantrasyonu 141 mg / kg iken, ticari zeytinyağının

içinde 0 mg / kg olarak tespit edilmiştir. Buna göre, doğal zeytin yağındaki fenollerin idrar noradrenalin ve adrenalin ekskresyonlarını arttırdığını ve vücut yağ birikimini baskıladığını, aynı zamanda perirenal adipoz doku ve epididimal yağ yastıklarının ağırlıklarını azalttığını, tromliserit katabolizmasını IBAT'de termojenezin artmasıyla gösterilmiştir. Ama hidroksitirosol uygulamaları, noradrenalin veya adrenalin sekresyonunu etkilemediği, bu da hidroksitirosolün termojenezi etkilemediğini düşündürmüştür. Bu sonuçlara bakılarak, hidroksitirosolün hormonal sekresyonun artışı için ana sinyal olarak hareket etmediği ileri sürülmüştür (Visioli ve Galli, 2002; Tuck ve Hayball, 2002; Oi-Kano ve ark., 2013).

Yapılan bir çalışmada diyabetik erkek sıçanlarda zeytin (*Olea europaea L.*) hidro-alkolik ekstraktının gonadotropin, cinsiyet hormonları ve spermatogenez düzeylerine etkileri araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre LH, FSH, testosteron ve dihidro testosteron düzeyleri, kontrol ve sham gruplarına göre diyabetik kontrol grubunda anlamlı bir düşüş göstermiş ve *olea europaea* özütü (500 mg / kg) alan deney gruplarında diyabetli kontrol grubuna göre LH ve testosteron konsantrasyonları anlamlı olarak artmışken, serum FSH ve dihidrotestosteron düzeyleri sadece tek bir deney grubunda anlamlı olarak arttığı belirtilmiştir. Diyabetik kontrolde spermatogonyum, primerperperyum, spermatid, leydig ve sertoli hücrelerinin hücre sayımında kontrol ve sahte gruplarda anlamlı bir düşüş olduğu görürlürken bunun aksine, diyabetik olan *ve olea europaea* özütü (500 mg / kg) alan deney grubu diyabetik kontrol grubuyla karşılaştırıldığında önemli bir artış göstermiştir. Yapılan bu çalışmanın sonucunda hidro-alkolik zeytin yaprağı ekstrelerinin, gonadotropinler, cinsiyet hormonları, spermatogenez düzeylerine katkı sağlayarak diyabetik sıçanlarda hipofiz-testis aksını geliştirebileceği gösterilmiştir (Mokhtari ve ark., 2014).

Hormon salınımında ve kardiyovasküler, biyofiziksel ve davranışsal işlevlerde ve diğerlerinde sirkadiyen ritimler bulunur. Sirkadiyen sistemin düzensizliği, mevsimsel bozukluklar da dahil olmak üzere bir dizi duygudurum ve gelişimsel bozukluklarla ilişkilidir. Kış depresyonu, mevsimsel olmayan depresyon, bipolar bozukluk ve otizm gibi duygudurum bozukluklarının en önemli özelliği uyku-uyanıklık döngülerinin ve sirkadiyen ritimlerin bozulması ile ilişkilidir ve sirkadiyen bozulma, otizm spektrumunun bir endofenotipi bozukluk olarak sınıflandırılır (Boivin, 2000).

Yapılan bir başka çalışmada beynin 5-HT (Serotonin) ve sirkadiyen ağları, merkezi sinir sisteminin temel düzenleyici sinyalizasyon ağlarından ikisini oluşturduğu belirtilmiştir. Her ikisi de, birden fazla nöral merkez üzerinde, biyolojik ritimlerin ve duygusal davranışların altında yatan beyin devrelerinin gelişimini etkilemenin yanı sıra, duyuşsal ve zamansal geçişli davranışlara aracılık etmede yaygın bir etki göstermişlerdir (Ciarleglio ve

ark., 2011; Ciarleglio ve ark., 2014). Böylece serotonin hormonunun sirkadiyen ritim ilişkisinin oldukça önemli olduğu bu çalışmada bir kez daha görülmüştür. Son yıllarda yapılan bir çok çalışmada, çeşitli biyolojik aktivitelerde sirkadiyen ritimlerin saat genleri adı verilen bir grup gen tarafından kontrol edildiği bulunmuştur. Ayrıca uyku ritmi bozukluklarının saat genlerindeki değişikliklerle ilişkili olduğu da bilinmektedir. Farelerde yapılan bir çalışmada sadece SCN'nin ana saatini işlevsiz kılındığında sirkadiyen ritmi tamamen kaybettiğini ortaya koymuştur. Çalışmada Bmal1 geni silinmiş ve fareye tekrar yüklendiğinde locomotor aktivetinin ve vücut ısısının düzeldiği gözlenmiştir. Bu çalışma merkezi bir saatin olması gerektiğini ortaya koymuştur. Ana biyolojik saat anterior hipotalamustaki SCN'da bulunur. (Mieda ve Sakurai, 2011).

Memelilerde yapılan çalışmalarda en önemli saat genlerinin Per ve Bmal genleri olarak adlandırılan gen grubu olduğu gösterilmiştir. Sağlıklı bir sirkadyen ritimde, Bmal ifadesi geceleri artarken buna karşılık, Per ifadesinin gün ışığında arttığı belirtilmiştir. Per ve Bmal genlerin ekspresyon ritimlerinin fazlarındaki gerçekleşşen herhangi bir kayma, sirkadiyen ritimlerde rahatsızlığa yol açabilir. Bu nedenle, Per ve Bmal genlerin ekspresyon ritimleri, ekspresyon düzeylerinin düzenlenmesi yoluyla normal fazlarına çekilebilmeleri nedeniyle, uyku ritminin kontrolünün sağlanabileceği düşünülmektedir (Vitiello, 2000).

Per ve Bmal genlerinin ekspresyon ritimlerinin fazlarını normal durumlarına etkili bir şekilde aktarabilmek için geni ifadesini düzenleyici görev yapacak önemli bir regülatöre ihtiyaç vardır. Yapılan bir çalışmada zeytin ağacının sahip olduğu yüksek biyoaktif madde çeşitliliğinin sirkadyen ritimleri düzenleyici bir işlev görebileceği düşünülmüştür. Bu çalışmaya göre zeytinden ekstre edilen bir polifenol olan oleuropeinin ve 3,4-dihidroksifeniletanol-elenolik (3,4-DHPEA-EA) asidin, bahsedilen genlerin ekspresyon seviyelerini düzenleme yeteneğine sahip olduğu bulunmuştur. Oleuropein ve 3,4-DHPEA-EA, faz dışı bulunan Per ve Bmal (Per1 ve Bmal1) genlerinin ekspresyon seviyelerini düzenleyerek, bu genlerin ekspresyon ritimlerini normal fazlarına çekebileceğini ve sirkadyen ritmi kontrol edebileceğini, bu biyobileşiklerin türevlerinin ve hidrolize ürünü bileşiklerininde gen düzenlenmesinde etkili rol oynayabileceği söylenmiştir. (Kasajima ve Konimani, 2016).

# BÖLÜM 3
# MATERYAL VE YÖNTEM

## 3.1. Hayvan Denekleri

Çalışmada kullanılan erkek yetişkin Suriye Hamsterleri (*Mesocricetus auratus*) Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezine (ÇOMÜDAM) bağlı olan Hamster ve Gerbil ünitesinde bulunan hamster kolonisinden elde edilmiştir. Deneyde kullanılan erkek hamsterlerin ağırlıklarının birbirlerine yakın olacak şekilde (90-110 gram) seçilmesine ve en az 3 aylık olmasına dikkat edilmiştir. Hamsterler deney süresi boyunca plastik kafesler içerisinde (16x31x42cm) talaş kullanılarak bakılmıştır. Hayvanlar kafeslerde tek tek olacak şekilde tutulmuşlardır. Deneyde kullanılan lokomotor aktivite tekerleklerinin her birinin çapı 36cm'dir. Deneyin yapıldığı laboratuvara ihtiyaç duyulduğunda besin maddelerini (Bilyem-Rat Yemi) yenilemek ve su (Ad libitum) ihtiyaçlarını karşılamak için sabit koşullar altındaki labroratuvara her gün sadece bir kez girilmiştir. Hayvanlar havalandırmalı odalarda tutulup oda sıcaklıkları 22 ± 2 ºC olacak şekilde ayarlanmıştır. Fotoperiyot odalarındaki ışık şiddeti en az 200 lüks beyaz floresan ışık olarak ayarlanmıştır. Hamsterlar doğumlarından itibaren 14L:10D (14 saat ışık, 10 saat karanlık) uzun fotoperiyodunda tutulmuşlar ve ışıklar otomatik zaman ayarlayıcı sayaçlarla kontrol edilmiştir (ışıklar saat 07.00’ da açılıp 21.00’da kapanmaktadır). Çalışmanın tamamı Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Deney Hayvanları Etik Kurulu’ndan alınan izin ile gerçekleşmiştir (21.01.2016 tarihli 2016/ 01-11 numaralı karar ile).

### 3.1.1 Kontrol Grupları

Her deney grubu için belirlediğimiz 3 hamster, zeytin yaprağı ekstraktlarının enjeksiyonunun yapılmasından önce 1 haftalık süre boyunca, lokomotor aktivite tekerleklerinin bulundukları kafeslere konularak, hayvanın günlük strandart aktivite değerleri ölçülmüştür.

### 3.1.2. Deney Grupları

Bu çalışmada yetişkin erkek Suriye Hamsterleri (*Mesocricetus auratus*) kullanılmıştır. Farklı mevsimlerde toplanılan zeytin yapraklarından elde edilen ekstraktların, sirkadiyen ritim ve testosteron hormonu üzerine etkileri gözlemlenmiştir. Çalışma toplam 4 gruptan oluşmaktadır. Her grupta 3 hayvan kullanılmıştır (n=3).

#### 3.1.2.1. Kış Deney Grubu

Ocak ayında toplanılan zeytin yapraklarının ekstraktlarının elde edilmesiyle birlikte, bu ekstraktlar kış grubunda bulunan 3 hamstere 30 günlük süre boyunca enjekte edildi.

#### 3.1.2.2. İlkbahar Deney Grubu

Nisan ayında toplanılan zeytin yapraklarının ekstraktlarının elde edilmesiyle birlikte bu ekstraktlar ilkbahar grubunda bulunan 3 hamstere 30 günlük süre boyunca enjekte edildi.

#### 3.1.2.3. Yaz Deney Grubu

Temmuz ayında toplanılan zeytin yapraklarının ekstraktlarının elde edilmesiyle birlikte bu ekstraktlar yaz grubunda bulunan 3 hamstere 30 günlük süre boyunca enjekte edildi.

#### 3.1.2.4. Sonbahar Deney Grubu

Ekim ayında toplanılan zeytin yapraklarının ekstraktlarının elde edilmesiyle birlikte bu ekstraktlar sonbahar grubunda bulunan 3 hamstere 30 günlük süre boyunca enjekte edildi.

### 3.2. *Olea europaea L.* Ekstraktlarının Elde Edilmesi

Deney materyali olarak Çanakkale'nin merkez ilçesinden mevsimsel olarak (ilkbahar, yaz, sonbahar, kış) topladığımız zeytin yaprakları (*Olea europaea L.*) kullanılmıştır. Yapraklar Ocak, Nisan, Temmuz ve Ekim aylarının 15. gününde toplanmıştır. Topladığımız zeytin yapraklarından ekstrakt elde edebilmek için yapraklar önce, kurutma kağıtları üzerinde üç haftalık bir kurutulma sürecine bırakılmış, daha sonra elde ettiğimiz kurutulmuş yapraklar iyice ufalanarak, soxhlet cihazına, 15 gr yaprak – 250 ml %70'lik etanol olacak şekilde koyulduktan sonra 12 saat boyunca çalıştırılmış ve deneyde kullanacağımız zeytin yaprağı ekstraktları elde edilmiştir.

### 3.3. *Olea europaea L.* Ekstraktlarının Hayvanlara Uygulanması

Okere ve arkadaşlarının (2014) çalışmasında kullanılan yöntem esas alınarak Zeytin yaprağı ekstraktları intraperitonel olarak (40 mg /kg – 0,05 mL eksrakt enjeksiyonu/100 gram hayvanda) bir ay boyunca günün öğle vaktinde (12:00 – 13.00) yetişkin erkek Suriye hamsterlerine (*Mesocricetus auratus*) enjekte edildi.

### 3.4. Kan Alımı ve Hormon Ölçümü

Deney süresi boyunca alınan kan örnekleri, testosteron hormonu ölçümü için, deney gruplarına bir ay süreyle enjeksiyon uygulamaları sonucunda, gözün orbital sinüs kısmından mikrohematokrit tüp (ISOLAB, Herlev, Denmark) yardımıyla 12.00-13.00 saatleri arasında alınmıştır. Alınan kanlar ortalama olarak 1-1,5 mL miktarındadır. Kanlar alındıktan hemen sonra 6000 devirde 30 dakika süre ile santrifüj edilmiş (DAIHAN Scientific, Co., Ltd. Model CF-10, Seul, Kore) ve serumları ayrılmıştır. Ayrılan serumlar -20°C'de muhafaza edilmiştir. Hayvanların testosteron değerleri, mevsimsel olarak enjeksiyonu yapılan zeytin yaprağı ekstraktlarının her bir deney grubu için (ilkbahar, yaz, sonbahar, kış) ayrı ayrı değerlendirilmiştir. Testosteron hormonu seviyeleri ticari eliza kitleri (Rodent Testosteron Elisa Kit, Endocrin Tecnologies, Inc. USA) ile kitte belirtilen protokole uygun olacak şekilde tespit edilmiştir. Sonuçlar 450 nm optik yoğunlukta otomatik mikroplaka okuyucu (Thermo Scientific, Multiskan FC Mikroplaka Okuyucu, USA) ile belirlenmiştir.

### 3.5. Lokomotor Aktivite Ölçümü

Deney hayvanları sabit koşullar altında aktivite tekerleklerinin bağlı olduğu kafeslere birer hayvan gelecek şekilde koyularak, tekerlekler üzerinde bulunan sayaçlar aracılığıyla aktivite ölçümleri otomatik olarak 30 dakika aralıklarla 30 gün boyunca (Lafayetta Instrument Activity Wheel System, In, USA) bilgisayara kayıt edilerek, aktivite ritimlerinde meydana gelebilecek değişimler incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar vital view programı ile değerlendirilmiş ve çizilmiştir. Sonuçlar grafiklere actogram adlı programla aktarılmıştır.

# BÖLÜM 4
# ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

## 4.1. Araştırma Bulguları

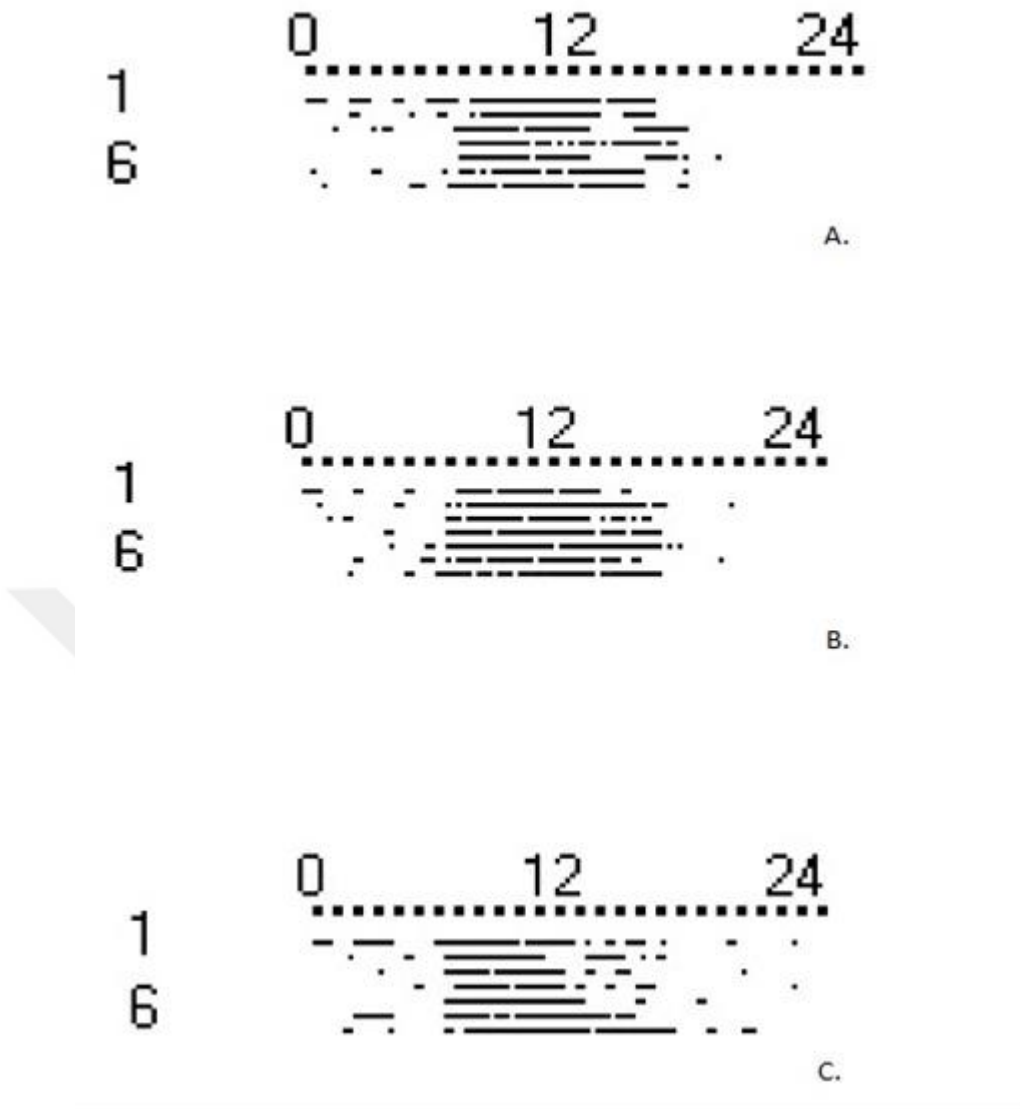
### 4.1.1. Sirkadiyen Ritim Sonuçları

Mevsimsel toplanılan *Olea europaea* yapraklarından elde ettiğimiz ekstraktlar, deney gruplarının her birinde bulunan 3 erkek Suriye hamsterine uygulandı. 14L (aydınlık periyot) uzun periyotta tutulan hamsterler enjeksiyondan önce 1 hafta boyunca kendi kontrol gruplarını oluşturdular ve lokomotor aktiviteleri kayıt altına alındı. Deney süresi boyunca hayvanların besin ve su ihtiyaçları her gün düzenli olarak kontrol edilmiş ve herhangi bir kısıtlanma uygulanmadı. Lokomotor aktivite kayıtlarındaki 0 (sıfır) başlangıç noktası öğlen saat 1'e denk gelmektedir.

#### 4.1.1.1. Kış Mevsimi *Olea europaea* Ekstraktları Sirkadiyen Ritmi

##### 4.1.1.1.1. Kış Mevsimi Kontrol Grupları

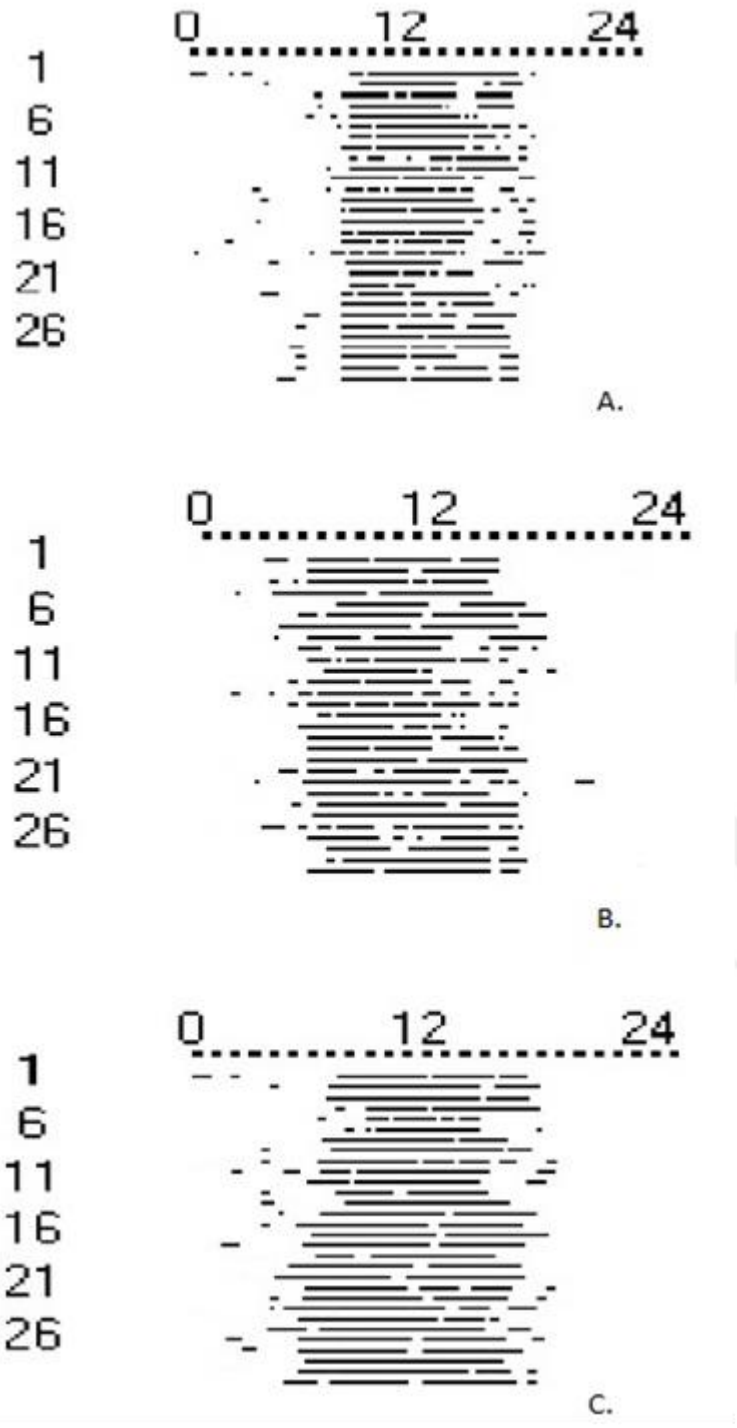
Kış mevsimi kontrol gruplarının lokomotor aktivite sonuçlarını incelediğimizde 3 erkek Suriye hamsterininde, *Olea europaea* ekstraktlarının enjeksiyonu öncesinde kış mevsimi kontrol grubu üyelerinde belirlenen lokomotor aktiviteye ilişkin veriler Şekil 4.1'de gösterildi.




Şekil 4.1. Kış mevsimi kontrol grubu lokomotor aktiviteleri A, B ve C her biri bir denek hayvanını ifade etmektedir. Işıklar saat 20:00'da kapanmakta, 08:00'da açılmaktadır

#### 4.1.1.1.2. Kış Mevsimi Deney Grupları

Kış mevsimi deney gruplarının lokomotor aktivite sonuçlarını incelediğimizde 3 erkek Suriye hamsterininde, *Olea europaea* ekstraktlarının 30 gün boyunca gerçekleşen enjeksiyonlarından (0,05 mL zeytin ekstraktı/100 gr hayvanda) sonra lokomotor aktivite sonuçlarında en yüksek artış bu grupta görüldü. Kontrol gruplarında gün başına aktivite ortalama 6600 devir/gün olarak görülürken, kış mevsiminde toplanan *Olea europaea* ekstraktlarının enjeksiyonundan sonra bu aktivite değerleri gün başına ortalama 10000 devir/gün olarak görüldü. Sonuç olarak kış mevsiminde toplanan *Olea europaea* yapraklarının ekstraktlarının önemli sirkadyen ritmik değişimler gösterdiği ortaya koyuldu.

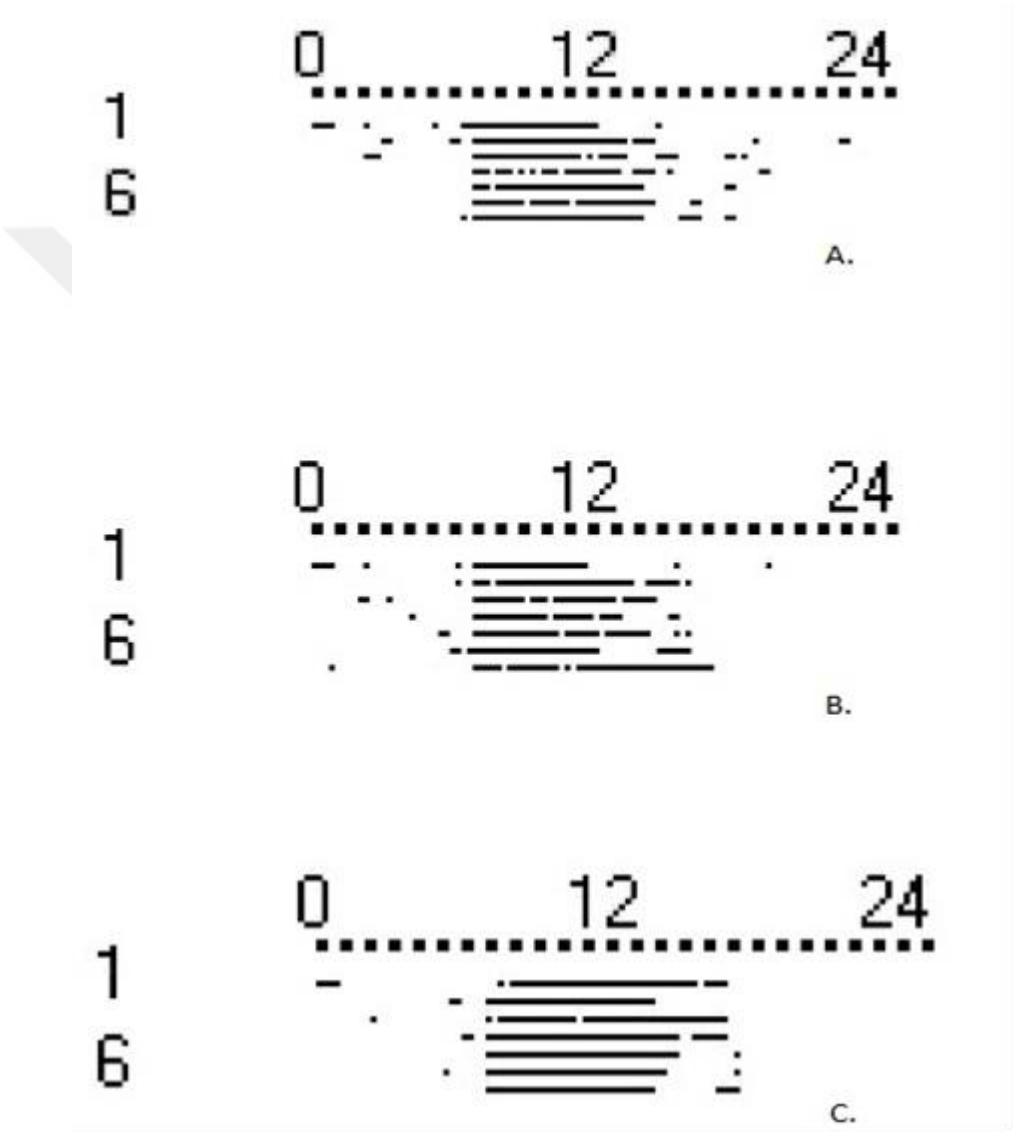



Şekil 4.2. Kış mevsimi deney grubu lokomotor aktiviteleri A, B ve C her biri bir denek hayvanını ifade etmektedir. Işıklar saat 20:00'da kapanmakta, 08:00'da açılmaktadır

#### 4.1.1.2. İlkbahar Mevsimi *Olea europaea* Ekstraktları Sirkadiyen Ritmi

##### 4.1.1.2.1. İlkbahar Mevsimi Kontrol Grupları

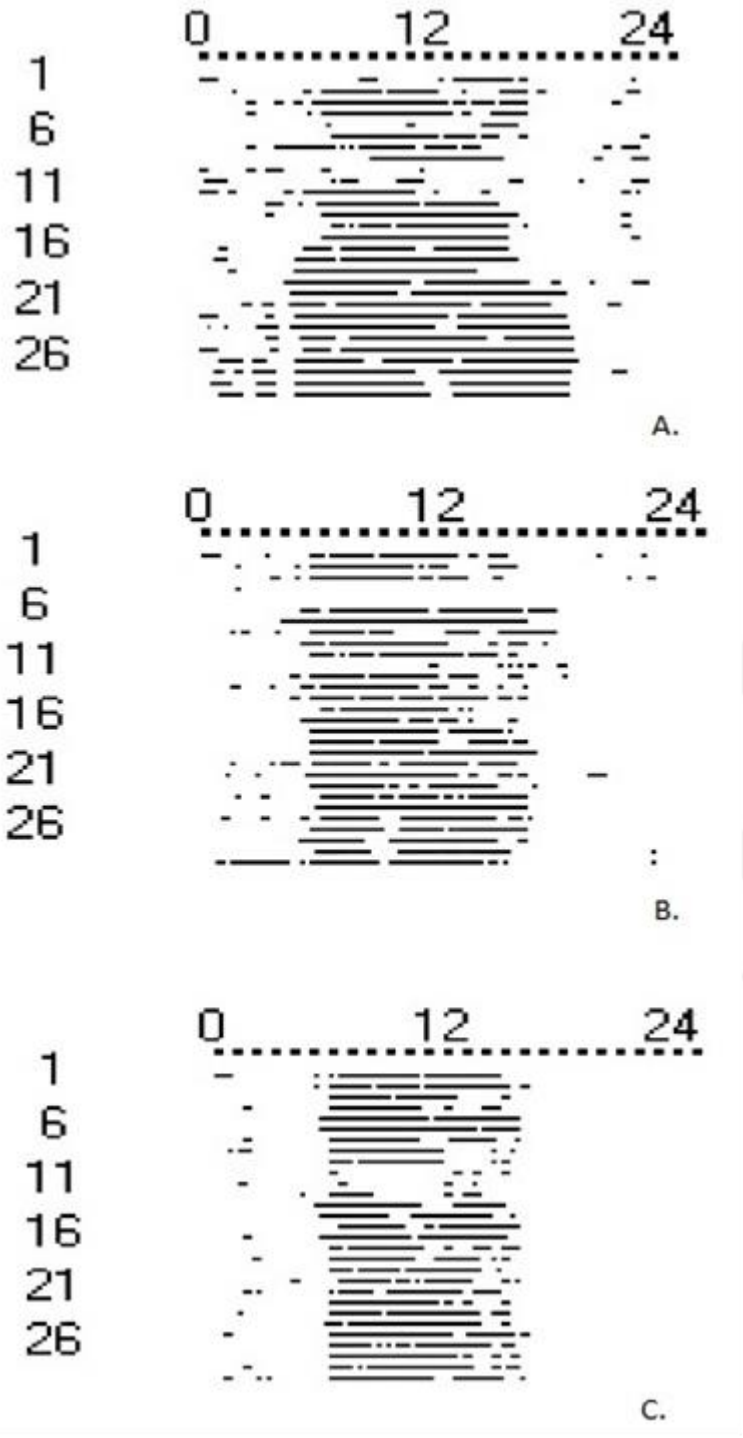
İlkbahar mevsimi kontrol gruplarının lokomotor aktivite sonuçlarını incelediğimizde 3 erkek Suriye hamsterininde, *Olea europaea* ekstraktlarının enjeksiyonu öncesinde ilkbahar mevsimi kontrol grubu üyelerinde belirlenen lokomotor aktiviteye ilişkin veriler Şekil 4.3'de gösterildi.




Şekil 4.3. İlkbahar mevsimi kontrol grubu lokomotor aktiviteleri A, B ve C her biri bir denek hayvanını ifade etmektedir. Işıklar saat 20:00'da kapanmakta, 08:00'da açılmaktadır

#### 4.1.1.2.2. İlkbahar Mevsimi Deney Grupları

İlkbahar mevsimi deney gruplarının lokomotor aktivite sonuçlarını incelediğimizde 3 erkek Suriye hamsterininde, *Olea europaea* ekstraktlarının 30 gün boyunca gerçekleşen enjeksiyonlarından sonra lokomotor aktivite sonuçları, tüm deney grupları içerisinde en yüksek ikinci artış bu grupta görüldü. Kontrol gruplarında gün başına aktivite ortalama 6300 devir/gün olarak görülürken, ilkbahar mevsiminde toplanan *Olea europaea* ekstraktlarının enjeksiyonundan sonra bu aktivite değerleri gün başına ortalama 9150 devir/gün olarak belirlendi. Sonuç olarak ilkbahar mevsiminde toplanan *Olea europaea* yapraklarının ekstraktlarınında önemli sirkadiyen ritmik değişimler gösterdiği ortaya koyuldu.

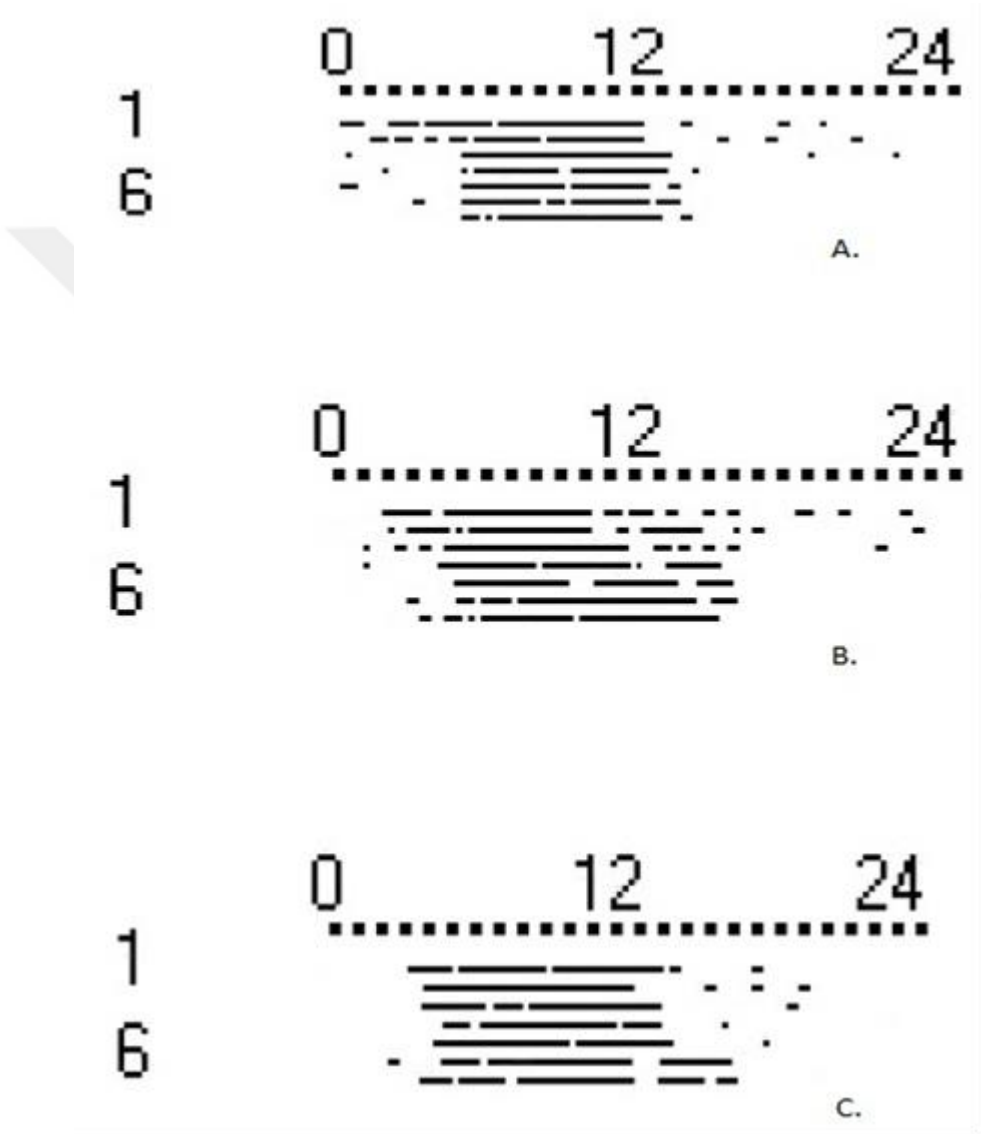



Şekil 4.4. İlkbahar mevsimi deney grubu lokomotor aktiviteleri A, B ve C her biri bir denek hayvanını ifade etmektedir. Işıklar saat 20:00'da kapanmakta, 08:00'da açılmaktadır

#### 4.1.1.3. Yaz Mevsimi *Olea europaea* Ekstraktları Sirkadiyen Ritmi

##### 4.1.1.3.1. Yaz Mevsimi Kontrol Grupları

Yaz mevsimi kontrol gruplarının lokomotor aktivite sonuçlarını incelediğimizde 3 erkek Suriye hamsterininde, *Olea europaea* ekstraktlarının enjeksiyonu öncesinde yaz mevsimi kontrol grubu üyelerinde belirlenen lokomotor aktiviteye ilişkin veriler Şekil 4.5'de gösterildi.




Şekil 4.5. Yaz mevsimi kontrol grubu lokomotor aktiviteleri A, B ve C her biri bir denek hayvanını ifade etmektedir. Işıklar saat 20:00'da kapanmakta, 08:00'da açılmaktadır

#### 4.1.1.3.2. Yaz Mevsimi Deney Grupları

Yaz mevsimi deney gruplarının lokomotor aktivite sonuçlarını incelediğimizde 3 erkek Suriye hamsterininde, *Olea europaea* ekstraktlarının 30 gün boyunca gerçekleşen enjeksiyonlarından sonra lokomotor aktivitelerinde artış görülmesine rağmen tüm deney grupları içinde en düşük artış bu grupta görüldü. Kontrol gruplarında gün başına aktivite ortalama 6200 devir/gün olarak görülürken, yaz mevsiminde toplanan *Olea europaea* ekstraktlarının enjeksiyonundan sonra bu aktivite değerleri gün başına ortalama 7450 devir/gün olarak görüldü. Sonuç olarak kış, ilkbahar ve sonbahar mevsimlerinde toplanan *Olea europaea* yapraklarının ekstraktlarının meydana getirdiği önemli sirkadyen ritmik değişimlere kıyasla yaz mevsiminde sirkadyen ritmik değişimde de nispeten önemli sonuçlar belirlendi. Ektraktların enjeksiyonundan sonra deney grubunda sirkadiyen ritim görülmektedir.









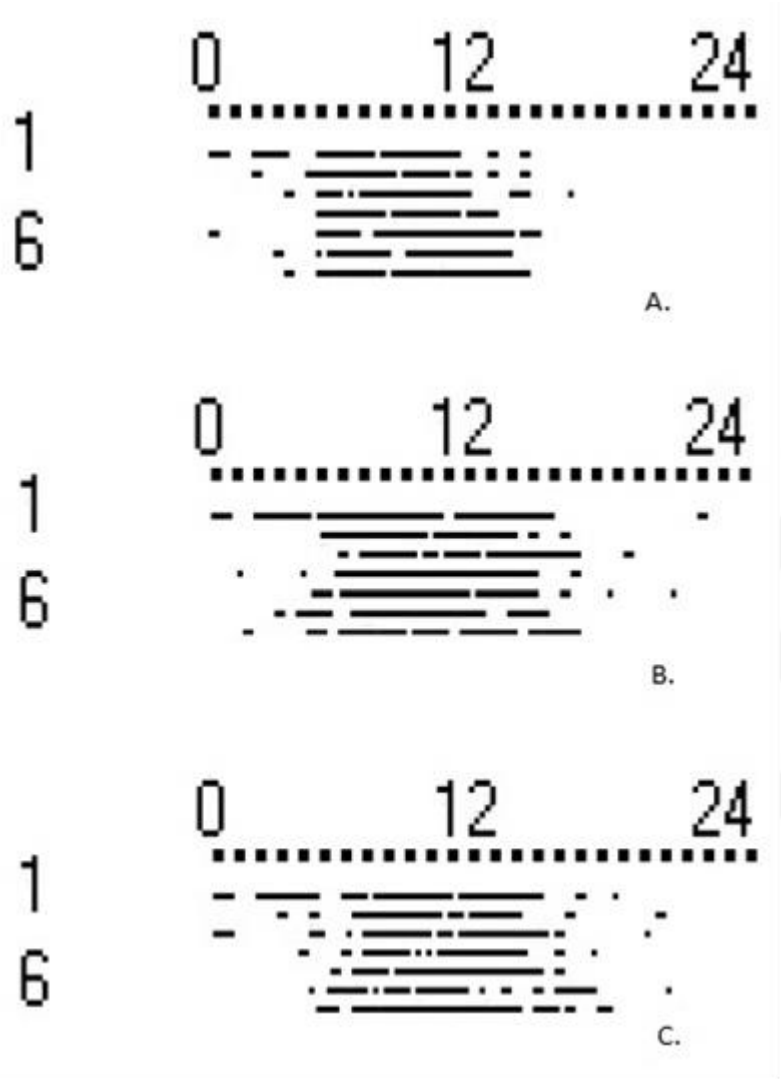

Şekil 4.6. Yaz mevsimi deney grubu lokomotor aktiviteleri A, B ve C her biri bir denek hayvanını ifade etmektedir Işıklar saat 20:00'da kapanmakta, 08:00'da açılmaktadır

#### 4.1.1.4. Sonbahar Mevsimi *Olea europaea* Ekstraktları Sirkadiyen Ritmi

##### 4.1.1.4.1. Sonbahar Mevsimi Kontrol Grupları

Sonbahar mevsimi kontrol gruplarının lokomotor aktivite sonuçlarını incelediğimizde 3 erkek Suriye hamsterininde, *Olea europaea* ekstraktlarının enjeksiyonu öncesinde

sonbahar mevsimi kontrol grubu üyelerinde belirlenen lokomotor aktiviteye ilişkin veriler Şekil 4.7'de gösterildi.

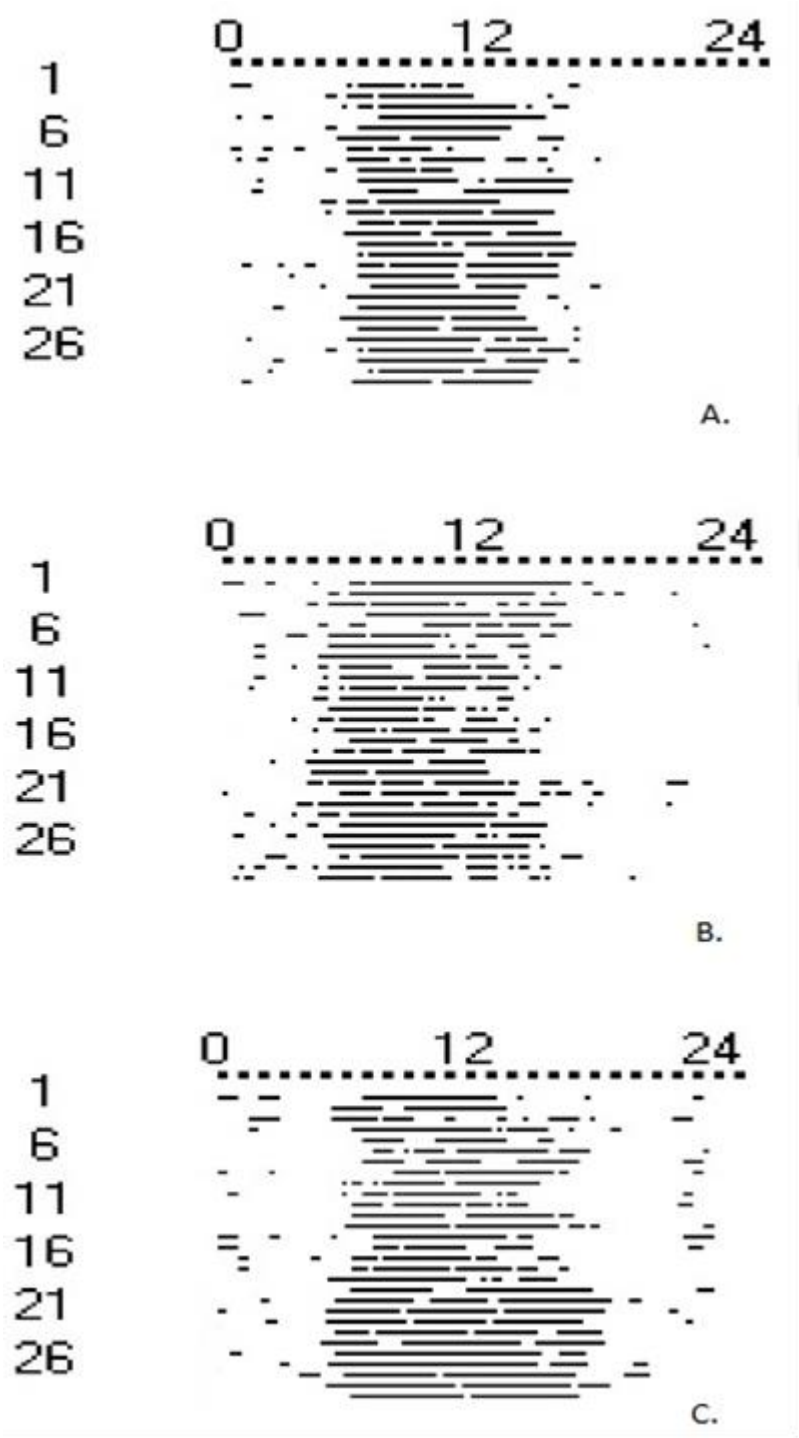



Şekil 4.7. Sonbahar mevsimi kontrol grubu lokomotor aktiviteleri A, B ve C her biri bir denek hayvanını ifade etmektedir. Işıklar saat 20:00'da kapanmakta, 08:00'da açılmaktadır

#### 4.1.1.4.2. Sonbahar Mevsimi Deney Grupları

Sonbahar mevsimi deney gruplarının lokomotor aktivite sonuçlarını incelediğimizde 3 erkek Suriye hamsterininde, *Olea europaea* ekstraktlarının 30 gün boyunca gerçekleşen enjeksiyonlarından sonra lokomotor aktivitelerinde önemli bir artış görüldü. Sonbahar mevsimi aktivite sonuçları, ilkbahar mevsimi sonuçlarına göre daha düşük çıksada sonuçların birbirine oldukça yakın olduğu belirlendi. Kontrol gruplarında gün başına aktivite ortalama 6450 devir/gün olarak görülürken, sonbahar mevsiminde toplanan *Olea europaea* ekstraktlarının enjeksiyonundan sonra bu aktivite değerleri gün başına ortalama 8850

devir/gün olarak görülmüştür. Sonuç olarak her mevsimden toplanarak hazırlanan *Olea europaea* yapraklarının ekstraktlarının meydana getirdiği önemli sirkadyen ritmik değişimler özellikle kış mevsimi yapraklarında ortaya çıkmıştır. Ektraktların enjeksiyonundan sonra bu deney grubunda da sirkadiyen ritim görülmektedir.



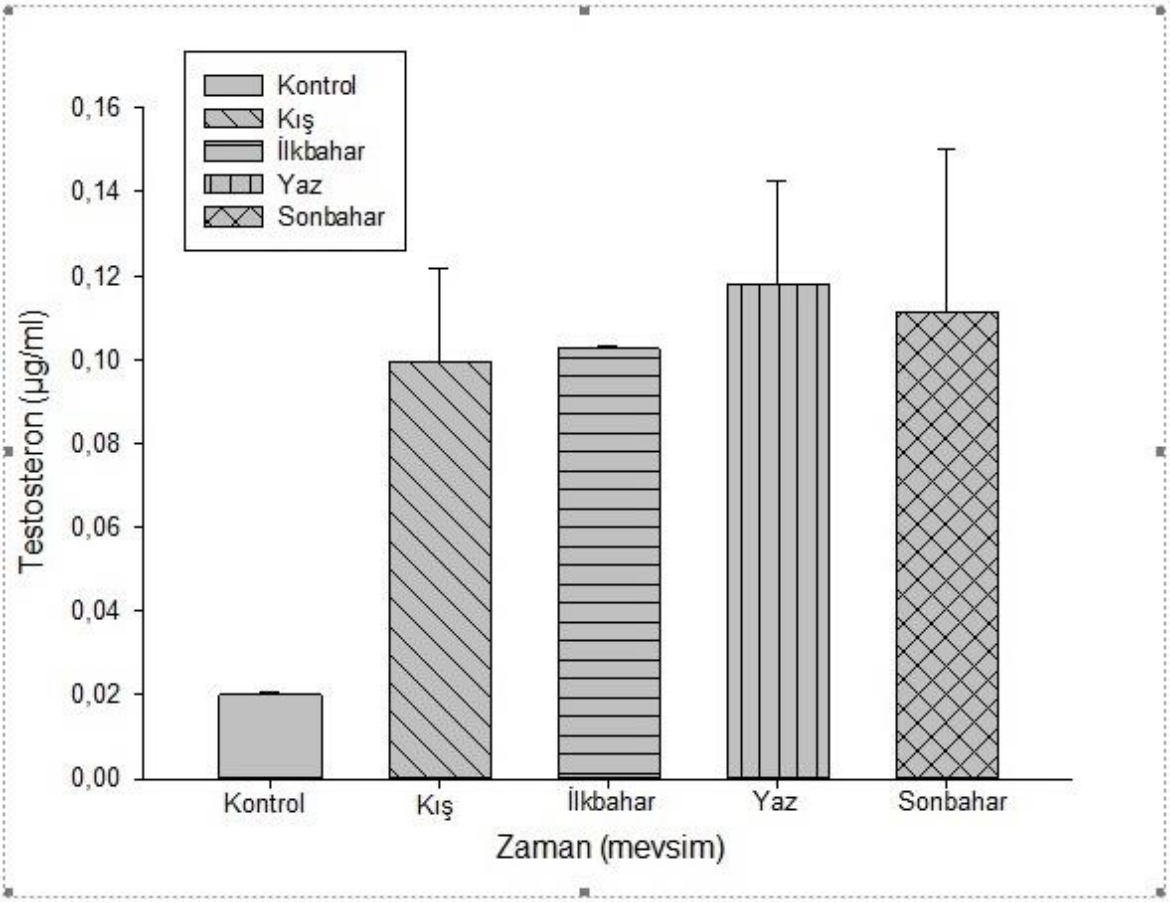

Şekil 4.8. Sonbahar mevsimi deney grubu lokomotor aktiviteleri A, B ve C her biri bir denek hayvanını ifade etmektedir. Işıklar saat 20:00'da kapanmakta, 08:00'da açılmaktadır

### 4.1.2. Testosteron Sonuçları

Farklı mevsimlerde toplanan yaprakların ekstraktlarının enjeksiyonu ile oluşturulan deney gruplarından toplanan kan örneklerinden elde ettiğimiz sonuçlar testosteron kontrol grubuyla karşılaştırıldığında tüm deney gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görülürken ($p<0,01$), en yüksek değer yaz mevsimi yapraklarının uygulandığı grupta, en düşük değer ise kış mevsimi grubunda görülmüştür. Ancak tüm gruplardaki testosteron değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$) (Şekil 4.9).

Çizelge 3. Kontrol ve deney gruplarının testosteron hormonu değerleri

| **Gruplar** | **Kontrol µg/mL** | **Kış Ort. µg/mL** | **İlkbahar Ort. µg/mL** | **Yaz Ort. µg/mL** | **Sonbahar Ort. µg/mL** |
|---|---|---|---|---|---|
| **Testosteron Değerleri** | 0,020 ± 0,006 | 0,099 ± 0,012 | 0,102 ± 0,005 | 0,116 ± 0,014 | 0,110 ± 0,016 |




Şekil 4.9. Mevsimsel olarak hazırlanan zeytin yaprakları ekstraktlarının Suriye hamsterlerinde testosteron hormonu üzerine etkisi

### 4.2. Tartışma

Zeytin ağaçlarının içeriğindeki biyoaktif bileşiklerinin pek çok çevresel faktörden etkilendiği görülmüştür. Ağacın yetiştiği coğrafi bölge, iklim, toprak türü, zeytin yaprağının olgunluk aşamaları, zeytin ağacının farklı türleri ya da zeytin yapraklarının hasat öncesi ve sonrası dönemleri gibi çeşitlenebilecek olan bu etkenler antioksidan aktiviteleri (AA), toplam fenolik içeriği (TPC) ve toplam flavonoid içeriği (TFC) gibi pek çok sonucu etkileyebilir (Al-Rimawi ve ark., 2014). Filistin'de yapılan bir çalışmada mevsimsel olarak elde edilen zeytin yaprağı ektraktlarının, yapraktaki AA, TPC ve TFC'ye etkisi (Haziran 2013, Ekim 2013 ve Ocak 2014) incelendiğinde mevsimsel olarak önemli farklar olduğu ortaya konulmuştur. AA, TPC ve TFC için değerlerin en yüksek Haziran ayı için olduğu belirtilmiştir (Al-Rimawi ve ark., 2014).

Fotoperiyodik özellikleri çok güçlü olan Suriye hamsterleri bu sayede sirkadyen ritmik çalışmalar için oldukça ideal bir modeldir. Doğal şartlarda uzun gün ışında çok sık yavru verebilirlerken kış mevsiminde gün ışığı süresinin düşmesi ve mevsim sıcaklıkları hamster üreme döngüsünü baskılayarak önemli derecede etkilemektedir (Pospichal ve ark., 1991). Lokomotor aktivitesi, uyarılma veya ilişkili durumlar içeren davranışların manipülasyonu, sirkadiyen saatlerin fazını sıfırlayabilmektedir (Mrosovsky, 1996). Yaptığımız çalışma sabit sıcaklık ve 14L (14 saatlik aydınlık periyot) ışık altında gerçekleşmiştir. Böylece düşük sıcaklığın ve ışık miktarının neden olduğu deney dışı testosteron baskılanması ve ritim kaybı önlenmiştir. Ancak daha sonra zeytin yaprağı ektraktlarının ve enjeksiyon iğnesinin etkisiyle bazı deney gruplarında ilk bir kaç gün ile bir hafta arasında lokomotor aktivite sonuçlarında aksamalar görülmüştür.

Testosteron hormonu leyding hücrelerinden salgılanan ve erkek eşey organlarının gelişimi ve farklılaşmasını gerçekleştiren bir hormondur. Zeytin yaprağı ektraktlarının özellikle çeşitli diyetlerle birlikte testosteron hormonunun artışını ortaya koyan çalışmalar mevcuttur. Oi-Kano ve arkadaşlarının (2013) oleuropeinin kazein diyetiyle birlikte verildiği bir çalışmada, oleuropein grubunun testosteron oranlarının kontrol grubuna göre oldukça yükseldiği görülmüştür.

Bizim yaptığımız bu çalışmada Çanakkale'nin merkez ilçesinden toplanılan zeytin yapraklarının ekstraktlarının mevsimlere göre testosteron hormunu ve sirkadyen ritmi üzerine etkileri araştırılmıştır. Elde ettiğimiz bulgulara göre erkek Suriye hamsterlerine 30 günlük süre boyunca yapılan 40 mg/kg'lik zeytin ekstraktlarının 0,005 mL'lik enjeksiyonların, testosteron hormonunu etkilediği görülmüştür. Testosteron hormonuyla ilgili en yüksek değerler yaz mevsimi ekstraktlarında ortaya çıkmıştır. Al-Rimawi ve

arkadaşlarının (2014) çalışmalarına göre mevsimsel olarak yaptıkları çalışmada Haziran ayı için tespit ettikleri en yüksek derecede AA, TPC ve TFC, yaptığımız çalışmayla uyumluluk göstermektedir. Yaz mevsimi zeytin yapraklarında artmış olan AA, TPC ve TFC'nin içeriğindeki biyoaktiflerin testosteron hormonuyla ilişkili oldukları düşünülebilir. Ayrıca Ranalli ve arkadaşlarının (2006) oleuropeinin farklı aylardaki miktarına yönelik yaptıkları bir çalışmada zeytin ağacının Mart ayı oleuropein miktarının Ekim ayına göre biraz daha yüksek olduğu belirlenmiştir.

Biyoaktif bileşiklerin mevsimsel değişimiyle alakalı Limiroli ve arkadaşlarının elde ettiği bulgularda karakteristik oleuropein sinyallerinin Haziran zeytin özlerinde oransal olarak daha düşük miktarlarda gözlemlenirken aynı çalışmanın devamında oleuropein rezonansları, Ağustos zeytin özlerinde kolaylıkla gözlemlenebilir hale gelmiştir. Fenolik kompozisyonlar, zeytin meyvesinin gelişimi ile sürekli olarak değişmiş, basit fenolikleri ve üç kültivarın türevlerini etkileyen en kayda değer değişiklikler, Haziran ayında Cipressino cv. konjuge tirosol, serbest formda, iki form ise, hemen hemen aynı oranlarda Ağustos ekstresinde mevcut olduğu ve Dritta ve Leccino cvs. 'ın Haziran aylarının baskın olan Cornoside, Ağustos ve Ekim aylarında hasat edilen zeytinlerde büyük ölçüde azaldığı belirtilmiştir (Limiroli ve ark., 1996).

Yaptığımız çalışmayı, Ranalli ve Limiroli'nin çalışmalarıyla değerlendirdiğimizde yaprak içeriğindeki Cornoside miktarı yaz aylarından oldukça yüksek görülürken, Ekim ayına doğru büyük ölçüde düştüğü belirtilmiş buna karşın oleuropein sinyalleri Haziran ayında daha düşük görülürken Ağustos ayında gözlemlenebilir hale geldiği ve gittikçe arttığı belirtilmiştir. Literatürdeki bu bilgilere göre sirkadyen ritmik ve testosteron değişimlerinin oleuropein ve cornoside ile ilişkili olduğu düşünülebilir.

Yaptığımız çalışmadan elde ettiğimiz diğer bulgulara göre ilkbahar, yaz, sonbahar ve kış aylarında toplanan zeytin yaprağı ekstrelerinin farklı sirkadyen ritmik sonuçlara neden olduğu görülmüştür. Kış mevsimi zeytin yaprağı ekstraktlarının diğer mevsimlere göre sirkadyen ritmik değişimleri çok daha fazla etkilediğini (Kış: Ort. 300.000, İlkbahar: Ort. 275.000, Yaz: Ort. 220.000, Sonbahar: Ort. 265.000), buradan çıkardığımız sonuca göre sirkadyen ritmi etkileyen yapraktaki etken maddelerin kış mevsiminde artış gösterdiğini söyleyebiliriz.

Kasajima ve Konimani'nin (2016) yaptığı çalışmada, su, etanol ya da bunların karışımından elde edilecek zeytin yaprağı ekstrelerinden elde edilen; oleuropein, 3,4-DHPEA-EA ve bunların türevlerinden en az bir bileşiğin kullanımıyla gen ifadesinin düzenlenebileceği ve sirkadyen ritmin etkin bir şekilde kontrol edilebileceği belirtilmiştir.

Yapılan çalışmada 7 haftalık erkek sıçanların karaciğerlerinden yapılan örnekleme de Bmal1 ifadesi anlamlı bir şekilde düşerken Per1 ifadesiyse artmıştır. Normal şartlarda Bmal ifadesi gece artarken Per ifadesi gün ışığında artmaktadır. Oleuropeinin izole edilmesiyle yapılan çalışmanın sonucunda, Per1 ekspresyonunu arttırırken Bmal1 ekspresyonunu azaltmıştır. Yani, oleuropeinin, saat genlerinin ifadelerini normal modellerine göre düzenleyebildiği, dolayısıyla gen ifadelerinin değişen fazlarını normal modellerine çekmeye yardımcı olduğu bulunmuştur.

Yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar, Kasajima ve Konimani'nin (2016), sirkadyen ritim genlerinin ifadelerinin düzenlenmesinde zeytin ekstrelerinden elde edilen oleuropein, 3,4-DHPEA-EA ve türevlerinin önemli bir rol oynadıklarını söyledikleri çalışmanın sonuçlarıyla uyumludur. Daha önce ki çalışmalarda sirkadyen ritmin ifadesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı belirtilen zeytin yaprağı ekstrelerini, mevsimsel olarak elde ettiğimiz (Kış, İlkbahar, Yaz, Sonbahar) bu çalışmamızda kış mevsimi ekstrelerinin, sirkadyen ritim üzerinde daha etkili olduğunun tespit edilmesiyle bu alanda yapılmış olan çalışmaları bir adım daha ileriye götürdük.

Bu çalışmada sirkadiyen ritmin en aktif olduğu mevsimin yapraklarından en aza doğru bir sıralama yaptığımızda, “kış, ilkbahar, sonbahar, yaz” sonucuyla karşılaşırken, testosteron hormonundaki değişim için bunun tam tersi (yaz, sonbahar, ilkbahar, kış) bir sonuç çıkmıştır. Testosteron hormonun en yüksek değerde çıktığı Haziran ayında sirkadyen ritmik değerlerin düşük sonuç alması testosteron-sirkadyen ritim ilişkisi açısından da daha ayrıntılı bir çalışma yapılması gerektiğini düşündürmektedir. Ayrıca zeytin yapraklarının yaz ve kış mevsimlerinde sahip oldukları biyoaktif bileşiklerin hangileri oldukları ve bunların miktarlarının belirlenmesi, bu bileşiklerin testosteron ve sirkadyen ritim mekanizmalarının üzerindeki etkilerinin açıklığa kavuşması için de oldukça önemlidir. Çünkü Somova ve arkadaşlarının (2003) yaptığı bir çalışmayı örnek alacak olursak yaprak ekstrelerinin temel içeriğinde, oleanolik asit ile izomeri ursolik asitin hemen hemen aynı olduğu görülürken, bu oran Yunanistan ve Avrupa zeytin oleanolik asit içeriği bakımından yapraklarında büyük farklar görülmektedir (Yun: %0.71 ve Avp: %2.47). Ayrıca bu zeytin türlerinde ursolik asit tespit edilememiş olması çalışmalarımızda kullanılan zeytin ağacının yetiştiği coğrafyanın önemli farklar ortaya çıkarabileceğini göstermektedir. Bu yüzden elde edilen sonuçlarla devam edilecek ileriki çalışmalarda içerik aktivitelerinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Örneğin Oi-Kano ve arkadaşları da yaptığı çalışmalarda bu konu üzerinde durmuş ve fenol konsantrasyonlara değinmişlerdir. Fenol konsantrasyon oldukça önemlidir. Çünkü içeriğindeki aktif maddelerin çeşitliliği, azlığı-çokluğu ulaşmak istediğimiz sonuçlarla

doğrudan ilgilidir (Oi-Kano ve ark., 2013).

Oi-Kano ve arkadaşlarının (2013) yaptıkları bir çalışmada doğal zeytinyağındaki oleuropein aglycone'un, plazma noradrenalin seviyelerini arttırmasıyla ve hipofiz bezinin uyarılması yoluyla LH salgısının artmasından sorumlu olduğunu düşünülmektedir.

Ciarleglio ve arkadaşlarının (2011, 2014) yaptıkları çalışmalardaysa Beynin 5-HT (Serotonin) ve sirkadiyen ağları, merkezi sinir sisteminin temel düzenleyici sinyalizasyon ağlarından ikisini oluşturduğu belirtilmiştir. Her ikisi de, birden fazla nöral merkez üzerinde, biyolojik ritimlerin ve duygusal davranışların altında yatan beyin devrelerinin gelişimini etkilemenin yanı sıra, duyuşsal ve zamansal geçişli davranışlara aracılık etmede de yaygın bir etki göstermişlerdir. Serotonin hormonunun hem sirkadiyen ritimle olan çok önemli mekanizmaları hem de testosteronla ilişkisi, çalışmamız olan zeytin yaprağı ekstrelerinin sirkadyen ritim ve testosteron ilişkilerinde bir rolü olabileceğini düşündürmektedir.

# BÖLÜM 5
# SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada mevsimsel olarak toplanılan (ilkbahar, yaz, sonbahar, kış) zeytin (*Olea europaea*) yapraklarından elde edilen eksraktların, Suriye hamsterlerinde (*Mesocricetus auratus*) sirkadyen ritim ve testosteron hormonu üzerine etkileri gösterilmiştir. Mevsimsel olarak ayrılan gruplarda testosteron değerlerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artış görülürken ($p<0,01$) tüm gruplardaki testosteron değerleri birbirleriyle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. ($p>0,05$) Sirkadiyen ritmik grupların lokomotor aktivite değerlerindeki farklarına bakıldığında hem kontrol gruplarına göre hemde gruplar arası anlamlı bir artış olduğu görülmüştür ($p<0,01$). Sirkadiyen ritmik değişimlerin en yüksek görüldüğü ekstreler kış mevsimine aitken, testosteron hormonu değerlerinin en yüksek görüldüğü ekstreler ise yaz mevsiminde görülmüştür. Sirkadiyen ritim değişimlerinin en yüksek görüldüğü mevsimler sırasıyla "kış, ilkbahar, sonbahar ve yaz" olarak görülürken testosteron hormonunda bunun tam tersi bir sonuçla karşılaşarak sıralamanın "yaz, sonbahar, ilkbahar ve kış" olduğu görülmüştür. Sirkadiyen ritim ve testosteron hormonu değişimlerinde aydınlatılması gereken birçok nokta olduğu görülmektedir.

Zeytin yaprağının içeriğindeki çeşitli biyoaktif maddelerin elde ettiğimiz sonuçlarla doğrudan bir bağlantısı olduğu söylenebilir. Özellikle hem sirkadyen ritim hemde testosteron çalışmalarında oleuropeinin ciddi etkisi görülmektedir. Fakat bu etkiyi sağlayan başka biyoaktif maddelerin olup olmadığı bilinmemektedir. Zeytin yapraklarındaki hidroksitirosol konsantrasyonunun da yılın belli seviyelerinde azalması ya da artış göstermesi, yapılan bu deneyin sonuçlarında çeşitli farklılıkların ortaya çıkmasında rol oynamış olabilir. Ancak oleuropeinin hidroliz ürünü olan oleuropein aglycone'un, plazma noradrenalin seviyeleri arttırması ve hipofiz bezinin uyarılması yoluyla LH salgısının artmasından sorumlu olduğu düşünüldüğünde, oleuropein miktarının zeytin yapraklarının yıl içindeki değişimlerine göre azalması ya da artması elde ettiğimiz bulguları daha önceki çalışmalarla kıyasladığımızda buradaki en önemli etkenin yapraktaki oleuropein miktarının mevsimsel olarak gösterdiği değişimlerle ilgili olduğunu düşündürmektedir.

Suriye hamsterlerinin fotoperiyodik karakteri ve üreme davranışlarına karşı verdiği hassas tepkiler, zeytin yaprağı ekstraktlarının sirkadyen ritmi ve testosteron hormonunu nasıl etkilediği sorusuna verilecek cevaplar için en uygun hayvan modeli olduğunu düşündürmektedir.

Tüm bunlarla birlikte canlı organizmalardaki hemen hemen her fizyolojik değişkenin sirkadyen ritim gösterdiği bilinmektedir. Sirkadyen ritmin düzensizliği birçok psikolojik ve gelişimsel bozuklukluğa neden olduğu günümüzde bilinmektedir. Sirkadyen ritmin işleyişini manipüle ederek, sirkadyen ritmik döngünün düzelmesini ve bu sayede birçok duygudurum bozukluğu için etkili bir tedavi yöntemi geliştirilebilir. Kış depresyonu, mevsimsel olmayan depresyon, bipolar bozukluk ve otizm gibi birçok duygudurum bozukluğunun temelinde sirkadiyen ritim bozukluklarının yattığı gerçeği, bu çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçları daha da önemli hale getirmektedir. Sirkadyen ritmin düzensizliği insan ruh sağlığını derinden etkiler.

Günümüzdeki en büyük problemlerden biri erkeklerde hızla düşmekte olan testosteron düzeyleridir. Vücuttaki testosteron seviyesi desilitrede 300 nanogramın altına düştüğünde (ng / dL) testosteron eksikliği dediğimiz durum ortaya çıkar. Hormonun ileri seviyede eksikliği andropoza (menopozun erkek versiyonudur) neden olur. Bunun sonucunda birçok rahatsızlık durumu ortaya çıkmaktadır. Cinsel isteksizlik, kas kitlelerinde azalma, vücut yağında artış ve beynin çalışmasında aksamalar ve ruhsal hastalıklar gibi pek çok sorun baş göstermektedir. Testosteron miktarındaki düşme aynı zamanda sirkadyen ritimle güçlü bir ilişkisi olan serotonin hormonunun beyinde düşmesinden de kaynaklanır. Gelecekte yapılacak testosteron – ritim çalışmalarında daha ayrıntılı sonuçlar almak için serotonin hormonunun da göz önünde bulundurulması önerilebilir.

Sonuç olarak canlıların sirkadiyen ritminin ve testosteron hormonu düzeylerinin korunmasının sağlık açısından ne kadar önemli olduğu artık bilinen bir gerçektir. Zeytin yaprağı ekstrelerinin sirkadyen ritim ve testosteron hormonu üzerine etki mekanizmalarıyla ilgili daha kapsamlı yapılacak çalışmalar elde edilen bulgular ışığında planlanmaktadır. Henüz bir başlangıç olan bu çalışmalar doğrultusunda zeytin yaprağı ekstrelerinin içerdikleri aktif maddelerin sirkadyen ritim ve testosteronla ilişkilerinin mekanizmaları ortaya çıkartıldıkça, gelecekte sirkadyen ritim ve testosteron hormonu döngülerindeki bozulmaların doğrudan ya da dolaylı olarak neden olacakları pek çok rahatsızlığı ortadan kaldıracak ya da etkilerini azaltacak daha kapsamlı sonuçlar sağlayabileceği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR


Al-Quraishy S., Othman M. S., Dkhil M. A., Abdel Moneim A. E., 2017. Olive (Oleaeuropaea) leaf methanolic extract prevents HCl/ethanol-induced gastritis in rats by attenuating inflammation and augmenting antioxidant enzyme activities. Biomed Pharmacother Jul;91:338-349. doi: 10.1016/j.biopha.2017.04.069.

Al-Rimawi F., Odeh I., Bisher A., Abbadi J., Qabbajeh M., 2014. Effect of Geographical Region and Harvesting Date on Antioxidant Activity, Phenolic and Flavonoid Content of Olive Leaves Received September 13, 2014; Revised November 10, 2014; Accepted November 17, 2014.

Balkancı Z. C., Segili M. A., 2005. Biyolojik ritimler ve anestezi. Anestezi Dergisi; 13: 223–236. web.deu.edu.tr/anestezi/images/dosya-yukle/biyolojik-ritm-anestezi.ppt

Barbaro B., Toietta G., Maggio R., Arciello M., Tarocchi M., Galli A., Balsano C., 2014. Effects of the Olive-Derived Polyphenol Oleuropein on Human Health. International J. of Mol. Sci. 15:18 508-524.

Beasley L. J., Jonston P. G., Zucker I., 1981. Photoperiodic Regulation of Reproduction in Posrpartum Peromyscus leucopus. Biol. Reprod., 24: 962-966.

Ben Salah M., Abdelmelek H., Abderraba M., 2012. Study of Phenolic Composition and Biological Activities Assessment of Olive Leaves from different Varieties Grown in Tunisia. Medicinal Chemistry. 2. 107-111.

Benavente-Garcia O., Castillo J., Lorente J., Alcaraz M., 2002. Radioprotective effects in vivo of phenolics extracted from Olea europaea L. leaves against X-ray-induced chromosomal damage: comparative study versus several flavonoids and sulfurcontaining compounds. J. Med. Food ;5(3):125-35. Epub 2002/12/24.

Bisignano G., Tomaino A., Lo Cascio R., Crisafi G., Uccella N., Saija A., 1999. "On the in-vitro antimicrobial activity of oleuropein and hydroxytyrosol". J. Pharm. Pharmacol. 51. 971-974.

Boivin D. B., 2000. Influence of sleep-wake and circadian rhythm disturbances in psychiatric disorders. J. Psychiatry. Neurosci. 25: 446 – 458.

Briante R., Patumi M., LimongellicS., Febbraio F., Vaccaro C., Di Salle A., La Cara F., and Nucci R., 2002. Changes in phenolic and enzymatic activities content during fruit ripening in two Italian cultivars of Olea europaea L. Plant Science. 162. 791-798.

Chubb C., Ewing L. I., 1979. Steroid secretion by in vitro perfused testes: secretion of rabbit and rat testes. Am. J. Physiol. ;237:E231–8.

Ciarleglio C. M., Resuehr H. E. S., Mcmahon D. G., 2011. Interactions of the serotoninand circadien systems: nature and nurture in rhythms and blues. Neuroscience 197 8 –16.

Ciarleglio C. M., Resuehr H. E. S., Axley J. C., Deneris E. S., McMahon D. G., 2014. *Pet-1* Deficiency Alters the Circadian Clock and Its Temporal Organization of Behavior. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097412.

Čabarkapa A., Živković L., Borozan S., Zlatković-Švenda M., Dekanski D., Jančić I., Radak-Perović M., Bajić V., Spremo-Potparević B., 2016. Dry Olive Leaf Extract in Combination with Methotrexate Reduces Cell Damage in Early Rheumatoid Arthritis Patients-A Pilot Study. Phytother. Res. Oct;30(10): 1615-1623.

De Batlle J., Garcia-Aymerich J., Barraza-Villarreal A., Ant J. M., Romieu I., 2008. Mediterranean diet is associated with reduced asthma and rhinitis in Mexican children. Allergy : 63: 1310–1316.

De Marino S., Festa C., Zollo F., Nini A., Antenucci L., Raimo G., Iorizzi M., 2014. Antioxidant activity and chemical components as potential anticancer agents in the olive leaf (Olea europaea L. cv Leccino.) decoction. Anticanser Agents Med Chem. ;14(10):1376-85.

Edery I., 2000. Circadian rhythms in a nutshell. Physiol Genomics Aug 9;3(2):59-74.

Eidi A., Eidi M., Darzi R., 2009. Antidiabetic effect of *Olea europaea* L. in normal and diabetic rats, Phytother. Res. 23, 347–350

El S. N., Karakaya S., 2009. Olive tree (Olea europaea) leaves: potential beneficial effects on human health, Nutr Rev. Nov; 67(11): 63 2-8. doi: 10.1111/j.1753-4887.2009.00248.x.

Elgebalya H. A., M. Mosaa N. M., Allacha M., Khaled F. El-Massry K. F., Ahmed H. El-Ghorab A. H., Al Hroobd A. M., Mahmoud A. M., 2017. Olive oil and leaf extract prevent fluoxetine-induced hepatotoxicity by attenuating oxidative stress, inflammation and apoptosis, Biomedicine & Pharmacotherapy, Volume 98, February 2018, Pages 446-453.

Ellison G.T.H., Bronner G.N., Taylor P.J., 1993. Is the Annual Cycle in Body Weight of Pouched Mice (Saccostomus campestris) the Result of Seasonal Changes in Adult Size or Population Structure? J. Zool. Lond., 229: 545-551.

Erickson L. D., Rizza S. A., Bergert E. R., Charlesworth M. C., McCormick D. J., Ryan R. J., 1990. Synthetic α-subunit peptides stimulate testosterone production in vitro by rat Leydig cells. Endocrinology; 126:25 55–60.

Fallahi S. H., Rostami A., De lfan B., Pournia Y., Rashidipour M., 2015. Effect of olive leaf, *Satureja khuzestanica*, and *Allium sativum* extracts on *Giardia lamblia* cysts compared with metronidazole in vitro. J. Parasit Dis. Dec;40(4): 1204-1209.

Fezai M., Senovilla L., Jemaà M., Ben-Attia M., 2013. Analgesic, Anti-Inflammatory and Anticancer Activities of Extra Virgin Olive Oil, Hindawi Publishing Corporation Journal of Lipids Volume, Article ID 129736, 7 pages http://dx.doi.org/10.1155/2013/129736 .

Ficarra P., Ficarra R., de Pasquale A., Monforte M. T., Calabro M. L., 1991. HPLC analysis of oleuropein and some flavonoids in leaf and bud of Olea europaea L. Farmaco 199; 46(6):8 03-15.

Fito M., De La Torre R., and Covas M. I., 2007. "Olive oil and oxidative stress". Mol. Nutr. Food Res. 51. 1215-1224.

Fleuriet A., Macheix J. J., Andary C. and Villemur P., 1984. C. R. Acad. Sci. Paris 299, S&e III, 253.

Fridovich I., 1976. Biological effects of superoxide radical. Archives of biochemistry and Biophsics,247, 1-11.

Fuller C. A., Fuller P., 2002. Circadian Rhythms. Encyclopedia of The Human Brain ; 1:793-812.

Gariboldi P., Jommi G. and Verotta L., 1986. Secoiridoids from Olea europaea. Phytochemistry, 25, 865−869.

Ghanbari R., Anwar F., Alkharfy K. M., Gilani A. H., Saari N., 2012. Valuable Nutrients and Functional Bioactives in Different Parts of Olive (Olea europaea L.)-A Review. Int. J. Mol. Sci. 2012, 13, 3291-3340; doi:10.3390/ijms13033291.

Ghica M. E., Brett A. M. O., 2005. Electrochemical oxidation of rutin, *Electroanalysis*, 17, 313- 318.

Giamarellos-Bourboulis E. J., Geladopoulos T., Michael Chrisofos M., Koutoukas P., Vassiliadis J., Alexandrou I., Tsaganos T., Sabracos L., Karagianni V., Pelekanou E.,Tzepi I., Kranidioti H., Koussoulas V., Giamarellou H., 2006. Oleuropein: a novel immunomodulator conferring prolonged survival in experimental sepsis by *Pseudomonas aeruginosa*, Shock. 26(4):41 0-6.

Goldsmith C. D., Vuong Q. V., Sadeqzadeh E., Stathopoulos C. E., Roach P. D., Scarlett C. J., 2015. Phytochemical properties and anti-proliferative activity of Olea europaea L. leaf extracts against pancreatic cancer cells. Molecules 2015 Jul 17; 20(7):1 299 3004.

Griggs R. C., Kingston W., Jozefowicz R. F., Herr B. E., Forbes G., Halliday D., 1989. Effect of testosterone on muscle mass and muscle protein synthesis. J. Appl. Physiol. ;66: 498–503.

Gül M., 2008. Testosteron hormon seviyesinin koroner yavaş akım ile ilişkisi. İstanbul, Dr. Siyami Ersek Göğüs Kalp Damar Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi. Uzmanlık Tezi.

Gündüz B., Karakaş A., 2010. The Effects of Pinealectomy and Melatonin Implants on Circadian Locomotor Activity Responses of the Mongolian Gerbils Exposed to Rapid Photoperiodic Transitions. Journal of Neurological Sciences [Turkish] 27:(4) 25; 429-437.

Hajimahmoodi M., Sadeghi N., Jannat B., Oveisi M. R., Madani S., Kiayi M., Akrami M. R., Ranjbar A. M., 2008. "Antioxidant Activity, Reducing Power and Total Phenolic Content of Iranian Olive Cultivar". Journal of biological sciences. 8. 779-783.

Hendrickson A. E., Wagoner N., 1972. Cowan, W.M. : An autoradiographic and electron microscopic study of retino-hypothalamic connections. Z. Zellforsch. 135, 1-26.

Hoffman K., Illnerova H., 1986. Photoperiodic effects in the Djungarian hamster. Neuroendocrinology ;43: 317–321.

Inouye H., Yoshida T., Tobita S., Tanaka K., Nishioka T., 1970. *Tefruhedron* Letters *2459.*

Kalsbeek A., Perreau-Lenz S., Buijs R. M., 2006. A network of (autonomic) clock outputs. *Chronobiol Int.* ;23: 201–215.

Kasajima N., Kominami M., 2016. Clock gene expression level regulator. United States Patent Application Publication, Pub: Date: Jul. 21; Pub. No.: US 2016/0206642 A1

Khayyal M. T., el-Ghazaly M. A., Abdallah D. M., Nassar N. N., Okpanyi S. N., and Kreuter M. H., 2002. "Blood pressure lowering effect of an olive leaf extract (Olea europaea ) in L-NAME induced hypertension in rats". Arzneimittelforschung. 52. 797-802.

Kiraz A., Simsek T., Tekin S. Z., Elmas S., Tekin M., Sahin H., Altinisik H. B., Pala C., 2016. Investigation of the effects of oleuropein rich diet on rat enteric bacterial flora. Bratisl Lek Listy. ;117(12): 734-737.

Kiritsakis K., Kontominas M. G., Kontogiorgis C., Hadjipavlou-Litina D., A., Moustakas A., Kiritsakis A., 2010. "Composition and Antioxidant Activity of Olive Leaf Extracts from Greek Olive Cultivars". Journal of the American Oil Chemists' Society. 87. 369-376.

Kondratov R. V., 2007. A role of the circadian system and circadian proteins in aging. Ageing Research Reviews ; 6:12–27.

Korn H., 1989. The Annual Cycle in Body Weight of Small Mammals From the Trasvaal South Africa, As an Adaptation to a Subtropical Seasonal Environment. J. Zool. Lond., 218: 223-231.

Lavelli V., 2002. Comparison of the antioxidant activities of extra virgin olive oils. J. Agric. Food. Chem. ;50:770 4 – 8.

Lemmer B., 2009. Discoveries of rhythms in human biological functions: A historical review. Chronobiol. Int. ; 26:1019-1068.

LeSauter J., Hoque N., Weintraub M., Pfaff D. W., Silver R., 2009. Stomach ghrelin-secreting cells as food-entrainable circadian clocks. Proc Natl Acad Sci USA, 106: 13582-13587.

Lim A., Subhan N., A. Jazayeri J. A., John G., Thiru Vanniasinkam T., Obied H. K., 2016. Plant Phenols as Antibiotic Boosters: In Vitro Interaction of Olive Leaf Phenols with Ampicillin. Phytother. Res. 30: 503–509.

Limiroli R., Consonni R., Ranalli A., Bianchi G., Zetta L., 1996. H NMR Study of Phenolics in the Vegetation Water of Three Cultivars of *Olea europaea*: Similarities and Differences J. Agric. Food Chem., *44* (8): 2040–2048.

Liu C., Li S., Liu T., 2007. Transcriptional coactivator PGC-1° integrates the mammalian clock and energy metabolism. Nature. May 24 ;447: 477–481.

Liu Y., McKeever L. C., Malik N. S., 2017. Assessment of the Antimicrobial Activity of Olive Leaf Extract Against Foodborne Bacterial Pathogens. doi: 10.3389/fmicb.2017.00113. Front Microbiol. Feb 2;8:113.

Löffler G., Petrides P. E., 1988. Physiologische chemie, Springerverlag, Berlin sf. 698-707.

Makowska-Wąs J., Galanty A., Gdula-Argasińskab J., Tyszka-Czochara M., Szewczyk A., Nunes R., De Carvalho I., Michalik M., Paśko P., 2017. Identification of Predominant Phytochemical Compounds and Cytotoxic Activity of Wild Olive Leaves (Olea europaea L. ssp. sylvestris) Harvested in South Portugal. Chem. Biodivers., Mar;14(3). doi: 10.1002/cbdv.201600331.

Malik N., S., A., Bradford J., M., 2006. Changes in oleuropein levels during differentiation and development of floral buds in ‘Arbequina’ olives. Scientia Hort. 110: 274-278.

Menaker M., 1974. Aspects of the physiology of circadian rhythmicity in the vertebrate central nervous system. In: The Neurosciences: Third Study Program (eds. F.O. Schmitt, F.G. Worden) pp. 479489. Cambridge, Mass. : MIT Press.

Micol V., Caturla N., Perez-Fons L., Mas V., Perez L., Estepa A., 2005. "The olive leaf extract exhibits antiviral activity against viral haemorrhagic septicaemia rhabdovirus (VHSV)". Antiviral Res. 66. 129-136.

Mieda M., Sakurai T., 2011. Bmal1 in the nervous system is essential for normal adaptation of circadian locomotor activity and food intake to periodic feeding. J. Neurosci., 31:15391-15396.

Moifnie F., Mohkhtari M., Sharifi E., 2014. The effect of hydro-alcoholic leaf extract of Olea europaea on the levels of gonadotropins, sex hormones and spermatogenesis in diabetic rat. The Quarterly Journal of Animal Physiology and Development (Quarterly Journal of Biological Sciences) Fall 2014, Volume 7, Number 4 (27); sf: 9 - 20.

Moore R. Y., Eichler V. B., 1972. Loss of a circadian adrenal cortiscosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. Brain Res. 42, 201-206.

Moore-Ede M. C., Sulzman F. M., Fuller C. A., 1982. The clocks that time us. Harvard University Press, Cambridge MA. Pp: 30-133.

Mrosovsky N., 1996. Locomotor activity and non-photic influences on circadien clocks. Biol. Rev., 71. pp. 343-372.

Navarro M., Morales F. J., 2017a. Evaluation of an olive leaf extract as a natural source of antiglycativecompounds. Doi:10.1016/j.foodres.2016.12.017. Food Res. Int. Feb;92:56-63.

Nekooeian A. A., Dehghani G. A., Mostafavi H., Khalili A., 2011, The Effect of Hydroalcoholic Extract of Olive Leaves on Blood Pressure in Rat Model of Two-Kidney, One-Clip Goldblatt Hypertension, Iran Cardiovasc Res J 2011;5(1):1-6.

Oh L., By L., 2010. Antioxidant and antimicrobial activities of individual and combined phenolics in Olea europaea leaf extract. Bioresour Technol. May;101(10):375 1-4.

Oi-Kano Y., Imafuku M., Shishido C., Kominato Y., Nishimura S., Iwaia K., 2001. Garlic supplementation increases testicular testosterone and decreases plasma corticosterone in rats fed a high protein diet. J. Nutr. ;131:215 0–6.

Oi-Kano Y., Kawada T., Watanabe T., Koyama F., Watanabe K., Senbongi R., 2007. Extra virgin olive oil increases uncoupling protein 1 content in brown adipose tissue and enhances noradrenaline and adrenaline secretion in rats. J. Nutr. Biochem. 18:6 sf: 85–92.

Oi-Kano Y., Kawadab T., Watanabec T., Koyamad F., Watanabed K., Senbongie R., 2008. Oleuropein, a phenolic compound in extra virgin olive oil increases uncoupling protein 1 content in brown adipose tissue and enhances noradrenaline and adrenaline secretion in rats. J. Nutr. Sci. Vitaminol 54:3 sf: 63 – 70.

Oi-Kano Y., Kawadab T., Watanabec T, Fumihiro Koyamad F., Watanabed K., Senbongie R., Iwaia K., 2013. Oleuropein supplementation increases urinary noradrenaline and testicular testosterone levels and decreases plasma corticosterone level in rats fed high-protein diet. Journal of Nutritional Biochemistry, 24(5), 887–893.

Okere O. S., Sangodele J. O., Adams M. D., Anyanwu G. O., Ifeonu S. C., 2014. Effect of ethanolic extract of Olea europaea on Plasmodium falciperum infected mice. International Journal of Biomedical Research. 5(6) 400-404.

Omar S. H., 2010. Oleuropein in Olive and its Pharmacological Effects, Sci Pharm, 78, 133-154.

Owen R. W., Mier W., Giacosa A., Hull W. E., 2000. Spiegelhalder B, Bartsch H. Identification of lignans as major components in the phenolic fraction of olive oil. Clin Chem 2000; 46: 976-88.

Öztürk F., Gül M., Ağkadir M., Yamurca M., 2002. Deneysel Diyabetin Sıçan Testislerinde Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler. T Klin Tıp Bilimleri, 22:173- 178

Palmeri R., Monteleone I. J., Spagna G., Restuccia C., Raffaele M., Vanella L., L Volti G., Barbagallo I., 2016. Olive Leaf Extract from Sicilian Cultivar Reduced Lipid Accumulation by Inducing Thermogenic Pathway during Adipogenesis. Front Pharmacol. May 31;7: 143. doi: 10.3389/fphar.2016.00143.

Panizzi L., Scarpati M. L., and Oriente G,. 1960. Gazz. Chino. Ibai. 90, 1449.

Pereira A. P., Ferreira I. C., Marcelino F., Valentão P., Andrade P. B., Seabra R., 2007. Phenolic compounds and antimicrobial activity of olive (L. Cv. Cobrançosa) leaves. Molecules 2007; 12(5):11 53-62.

Pospichal M.W., Karp J. D., Power J. B., 1991. Influence of Daylength on Male Hamster Sexual Behaviour: Masking Effectes of Testesterone. *Physiol. Behav.*, 49: 243-250.

Ragazzi E., Veronese G. and Guiotto A., 1973. Ann. Chim. (Rome) 63, 13.

Ranalli A., Contento S., Lucera L., Di Febo M., Marchegiani D., Di Fonzo V., 2006. Factors affecting the contents of iridoid oleuropein in olive leaves *(Olea europaea L.*), J. Agric Food Chem, 54(2):434- 440.

Reinberg A., Ashkenazi I., 2003. Concepts in human biological rhythms. Dialogues Clin Neurosci Dec; 5(4):327-342.

Reiter R. J., Rosales-Corral S., Coto-Montes A., Boga J. A., Tan D. X., Davis J. M. Konturek P. C., Konturek S. J., Brzozowski T., 2011. The photoperiod, circadian regulation and chronodisruption: the requisite interplay between the suprachiasmatic nuclei and the pineal and gut melatonin. J Physiol Pharmacol, 62, 269-274.

Reppert S. M., Weaver D.R., 2002. Coordination of circadian timing in mammals. Nature, Aug 29;418: 935-941.

Rice-Evans C. A., Miller N. J., Paganga G., 1997, Antioxidant properties of phenolic compounds, Trends in Plant Science, 2, 152-159.

Richter H. G., Torres-Farfan C., Rojas-Garcia P. P., Ccampino C., Torrealba F., Seron-Ferre M., 2004. The Circadian Timing System: Making Sense of day/night gene expression. Biol. Res. v.37 n.1 Santiago.

Ryan D., Robards K., Lavee S., 1999. Changes in phenolic content of olive during maturation. Int. J. Food Sci. Technol. 34:265–274.

Ryan D., Antolovich M., Prenzler P., Robards K., and Lavee S., 2002. "Biotransformations of phenolic compounds in Olea europaea L. Scientia Horticulturae". 92. 147-176.

Sanders T. A. B., 2001. Olive oil and the Mediterranean diet. Int. J. Vitam. Nutr. Res. 71: 179 - 84.

Sarı İ., 2016. Oil – Kutsal Yiyecek Zeytin, 2016, Net Medya Yayıncılık, Antalya.

Savournin C., Baghdikian B., Elias R., Dargouth-Kesraoui F., Boukef K., Balansard G., 2001. Rapid high-performance liquid chromatography analysis for the quantitative determination of oleuropein in Olea europaea leaves. J. Agric. Food Chem. 2001, 49, 618−621.

Schulz P., 2007. Biological clocks and the practice of psychiatry. Dialogues Clin Neurosci 2007; 9: 237-255.

Servili M., Baldioli M., Selvaggini R., Macchioni A., Montedoro G. F., 1999. Phenolic compounds of olive fruit: one and twodimensional nuclear magnetic resonance characterization of nuezhenide and its distribution in the constitutive parts of fruit. J Agric Food Chem 47,12- 18.

Sheu J. R., Hsiao G., Chou P. H., Shen M. Y., Chou D. S., 2004. Mechanisms involved in the antiplatalet activity of rutin, glycoside of the flavonol quercetin, in human platelets, J. Agric. Food Chem., 52, 4414- 4418.

Showraki N., Mardani M., Emamghoreishi M., Andishe-Tadbir A., Aram A., Mehriar P., Omidi M., Sepehrimanesh M., Koohi-Hosseinabadi O., Tanideh N., 2016. Topical Olive Leaf Extract Improves Healing of Oral Mucositis in Golden Hamsters. J. Dent. Shiraz Univ. Med. Sci., Dec; 17(4): 334-342.

Somova L. I., Shode F. O., Ramnanan P., Nadar A., 2003. Antihypertensive, antiatherosclerotic and antioxidant activity of triterpenoids isolated from Olea europaea, subspecies Africana leaves. J. Ethnopharmacol 84: 299–305.

Stanton S. J., 2017. The role of testosterone and estrogen in consumer behavior and social & economic decision making: A review. Hormones and behavior, 92, 155-63.

Sudjana A. N., D'Orazio C., Ryan V., Rasool N., Ng J., Islam N., Riley T. V., Hammer K. A., 2009, International Journal of Antimicrobial Agents 33 (2009) 461–463.

Sukumaran S., Almon R. R., DuBois D. C., Jusko W. J., 2010. Circadian rhythms in gene expression: Relationship to physiology, disease, drug disposition and drug action. *Adv Drug Deliv Rev*, 62, 904-917.

Stark A. H., Mader Z., 2002. Olive oil as a functional food: epidemiology and nutritional approaches. Nutr Rev 2002;60:17 0 – 6.

Stephan F. K., Zucker I., 1972b. Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions. Proc. Nat. Acad. Sci. 69, 1583-1586

Szychlinska M. A., Castrogiovanni P., Trovato F. M., Nsir H., Zarrouk M., Lo Furno D., Di Rosa M., Imbesi R., Musumeci G., 2018. Physical activity and Mediterranean diet based on olive tree phenolic compounds from two different geographical areas have protective effects on early osteoarthritis, muscle atrophy and hepatic steatosis. Eur J Nutr. 2018 Feb 15. doi: 10.1007/s00394-018-1632-2.

Şimşek T., Altınışık U., Erşan İ., Şahin H., Altınışık B., Erbaş M., Pala Ç., 2016. Prevention of intraocular pressure elevation with oleuropein rich diet in rabbits, during the general anaesthesia SpringerPlus (2016) 5:952 DOI 10.1186/s40064-016-2402-3

Tabera J., Guinda A., Ruiz-Rodriguez A., Senorans J.F., Ibanez E., Albi T., Reglero G., 2004. Countercurrent supercritical fluid extraction and fractionation of high added value compounds from a hexane extract of olive leaves, J. Agric. Food Chem., 52, 4774- 4779.

Tokuşoğlu Ö., 2010. Özel Meyve Zeytin: Kimyası, Kalite ve Teknolojisi. Seher Matbaacılık.Yayın No: 006-1B; Sidas Medya Ltd. Şti., Fevzipaşa Bulvarı Çelik İş Merkezi-İzmir. 350 s.

Trovato F. M., Castrogiovanni P., Szychlinska M. A., Purrello F., Musumeci G., 2018. Impact of Western and Mediterranean Diets and vitamin D on Muscle Fibers of Sedentary Rats.

Tsimidou M., Papadopoulos G., Boskou D., 1992a. Phenolics compounds and stability of virgin olive oil-Part I. Food Chem., *45*, 141−144. 2048.

Tuck K. L., Hayball P. J., 2002. Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health. J. Nutr. Biochem. 13:6 36 – 44.

Ultee-van Gessel A. M., Timmerman M. A., De Jong F. H., 1988. Effects of treatment of neonatal rats with highly purified FSH alone and in combination with LH on testicular function and endogenous hormonal levels at various ages. J. Endocrinol. 116:4 13–20.

Uygur Z., (27 Aralık 2010). Zeytin Ağacı ve Zeytin. http://www.yaklasansaat.com/dunyamiz/canlilar/zeytin.asp

Ünlüel İ., Aydın Ö., 2016. Bir Zeytin Fenoliği Olan Oleuropeinin Sağlığımız Üzerine Etkileri. Zeytin Bilimi 6 (2), 77-14.

Verschaeve L., Edziri H., Anthonissen R., Buojnah D., Skhiri F., Chehab H., Aouni M., Mastouri M., 2017. *In vitro* Toxicity and Genotoxic Activity of Aqueous Leaf Extracts From Four Varieties of *Olea europea* (L). doi: 10.4103/0973-1296.203980. Pharmacogn Mag. Jan; 13(Suppl 1): S63-S68.

Verspohl E. J., 2002. Recommended testing in diabetes research. Planta Med 68: 581–590.

Visioli F., Galli C., 2002. Biological properties of olive oil phytochemicals. Crit. Rev. Food. Sci. Nutr;42:209 – 21.

Vissers M. N., Zock P. L., Katan M. B., 2004. Bioavailability and antioxidant effects of olive oil phenols in humans: a review. Eur. J. Clin. Nutr. 2004;58:9 55 – 65.

Vitiello M. V., Effective treatment of sleep disturbances in older adults. Clin. Cornerstone, 2000; 2 (5): 16-27

Wang ., Swerdloff R. S., 1997. Androgen replacement therapy. Ann Med. Oct;29(5):3 65-70.

Waterhouse, 1838. Funambulus sublineatus. Published in: Proc. Zool. Soc. Lond. vol.1838 p.19

Wood R. I., Stanton S. J., 2012. Testosterone and sport: current perspectives. Hormones and behavior, 61(1), 147-155.

Yesalis C. E., Courson S. P., Wright J. E., 2000. History of anabolic steroid use in sport and exercise. In; Yesalis C.E., ed. Anabolic Steroids in Sports and Exercise. Champaign, IL: Human Kinetics; 51-71

Yılmaz B., 1999. Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi, Feryal matbacılık 1. basım, Ankara, sf. 40-53.

Yoo S. H., Yamazaki S., Lowrey P. L., Shimomura K., Ko C. H., Buhr E. D., Siepka S. M., Hong H. K., Oh W. J., Yoo O. J., 2004. PERIOD2::LUCIFERASE real-time reporting of circadian dynamics reveals persistent circadian oscillations in mouse peripheral tissues. Proc Natl Acad Sci USA, Apr 13;101 :5339-5346.

Yu H., Liu P., Tang H., Jing J., Lv X., Chen L., Jiang N., Xu J., Li J., 2016. Oleuropein, a natural extract from plants, offers neuroprotection in focal cerebral ischemia/reperfusion injury in mice. Eur. J. Pharmacol. 2016 Mar 15;775:11 3-9.

Zheng J., Wei J. T., Liu J. F., Liu Y. W., 2016. Research progress on biological activities of Olea europaea leaf extract. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. 2016 Feb;41(4): 613-618.

# ÖZGEÇMİŞ

## KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Oğuz KORTUN

Doğum Yeri : Çanakkale

Doğum Tarihi : 14.08.1988

## EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Ondokuz Mayıs Üniversitesi – Biyoloji Bölümü

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

Yüksek Lisans Öğrenimi : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi – Fen Bilimleri Enstitüsü – Biyoloji Anabilim Dalı

## BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Trakya Üniversiteler Birliği Üçüncü Lisansüstü Öğrenci Kongresi Poster Sunumu 3 Mayıs 2018 Tekirdağ

## İLETİŞİM

E-posta Adresi : oguz.kortun@icloud.com