



T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



Fizyoloji Anabilim Dalı

Fizyoloji

Yüksek Lisans Tezi

**AGOMELATİN VE SELENYUM, DENEYSSEL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARLI  
RAT TESTİS MODELİNİ NASIL ETKİLER?**

Ahmet Talha İNAL

ORCID:0000-0002-8730-9128

Danışman

Doç. Dr. Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ

ORCID:0000-0001-6762-6225

Bu tez çalışması BAP birimi tarafından 211318007 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Konya – 2023



## ÖN SÖZ (TEŞEKKÜR)

Tez çalışmam boyunca her zaman beni destekleyen, yardımlarını esirgemeyen danışmanım Doç. Dr. Zülfikare Işık SOLAK GÖRMÜŞ'e ve Dr. Öğr. Üyesi Raviye Özen KOCA'ya en içten şükranlarımı sunarım.

Ders ve seminer dönemim boyunca bana bilgi ve tecrübeleriyle katkıda bulunan hocalarım Prof. Dr. Selim KUTLU'ya, Dr. Öğr. Üyesi Faik ÖZDENGÜL'e, Dr. Öğr. Üyesi Hatice SOLAK'a, Öğr. Gör. Dr. Ayşe ÖZDEMİR'e ve Uzm. Dr. Aysu ŞEN'e teşekkür ederim.

Çalışmamın deneysel aşamalarında bana yardım eden Doç. Dr. Arif AYDIN'a, Öğr. Gör. Dr. Burcu GÜLTEKİN'e ve Öğr. Gör. Mehmet Sinan İYİSOY'a ve başta Prof. Dr. Mehmet Tuğrul YILMAZ olmak üzere tüm KONÜDAM çalışanlarına teşekkürü borç bilirim.

Ahmet Talha İNAL

Haziran 2023

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖN SÖZ (TEŞEKKÜR)</b> .....	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>iv</b>
<b>TEZ ONAY SAYFASI</b> .....	<b>vi</b>
<b>TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU</b> .....	<b>vii</b>
<b>BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b> .....	<b>ix</b>
<b>TABLolar LİSTESİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>ŞEKİLLER LİSTESİ</b> .....	<b>xii</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>xiii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>xiv</b>
<b>1.GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>3</b>
2.1. Düz Kas Fizyolojisi.....	3
2.1.1. Çok birimli düz kaslar .....	3
2.1.2. Tek birimli düz kaslar .....	4
2.1.3. İskelet kası ve düz kas fizyolojisinin karşılaştırılması .....	4
2.1.4. Düz kas kasılması ve gevşemesi .....	6
2.1.5. Düz kasta kasılmaya neden olan kalsiyum iyonlarının kaynakları .....	7
2.1.6. Düz kas kasılmasının sinirsel kontrolü.....	8
2.1.7. Lokal doku faktörleri ve hormonların düz kas kasılması üzerine etkisi .....	9
2.2. Testisin Fizyolojik Yapısı ve İşlevleri .....	10
2.2.1. Seminifer tübüller ve testiste sperm üretimi: spermatogenez .....	10
2.2.2. Testiste sertoli hücreleri ve işlevleri.....	11
2.2.3. Seminal sıvının testisten ejakülatuar kanala iletimi .....	12
2.2.4. Seminal sıvı içeriğini zenginleştiren aksesuar bezler.....	13
2.2.5. Testisin endokrin fonksiyonu .....	14
2.2.6. Testisin kanlanması: arteryel beslenme - venöz boşaltım .....	16
2.2.7. Testis kapsülünün kontraktilesi ve fizyofarmakolojik innervasyonu.....	17
2.2.8. Testis torsiyonu .....	19
2.3. İskemi Reperfüzyon Hasarı .....	21
2.3.1. İskemi - iskemik hasar.....	21
2.3.2. Reperfüzyon - reperfüzyon hasarı .....	23

2.3.3. İskemi reperfüzyon hasarında serbest radikaller ve organizmaya etkileri .....	29
2.4. Agomelatin .....	30
2.5. Selenyum .....	32
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>35</b>
3.1. Deney Hayvanlarının Genel Özellikleri ve Barınma Koşulları.....	35
3.2. Deney Gruplarının Belirlenmesi .....	35
3.3. İskemi-Reperfüzyon Hasarı Modelinin Oluşturulması .....	37
3.4. İzole Organ Banyosu Analizleri .....	39
3.5. Histopatolojik Analizler .....	41
3.5.1. Hematoksilen-eozin (HE) boya protokolü .....	41
3.5.2. Masson-trikrom (MT) boya protokolü .....	42
3.6. İstatistiksel Analizler .....	42
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>43</b>
4.1. İzole Organ Banyosu Verileri .....	43
4.1.1. İzole organ banyosu verilerinin istatistiksel analizi .....	43
4.2. Histopatolojik Bulgular ve Modifiye Johnsen Skorları.....	46
4.2.1. Histopatolojik verilerin istatistiksel analizi .....	53
<b>5. TARTIŞMA .....</b>	<b>57</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....</b>	<b>65</b>
<b>7. KAYNAKLAR.....</b>	<b>67</b>
<b>8. EKLER.....</b>	<b>73</b>
8.1. Etik Kurul Onay Belgesi .....	73

## TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans **Ahmet Talha İNAL**'ın “**Agomelatin ve Selenyum, Deneysel İskemi Reperfüzyon Hasarlı Rat Testis Modelini Nasıl Etkiler?**” başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans olarak kabul edilmiştir.

Konya / 02.06.2023

Tez Danışmanı Doç. Dr. Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ  
Necmettin Erbakan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Hatice SOLAK  
Kütahya Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı

Jüri Üyesi Dr. Öğr. Üyesi Raviye Özen KOCA  
Necmettin Erbakan Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 07/06/2023 tarih ve 13/41 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Hasibe VURAL

Enstitü Müdürü

## TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

“Agomelatin ve Selenyum, Deneysel İskemi Reperfüzyon Hasarlı Rat Testis Modelini Nasıl Etkiler?” başlıklı tez çalışmamın toplam **58** sayfalık kısmına ilişkin, 22.05.2023 tarihinde tez danışmanım tarafından **Turnitin** adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı **% 18** olarak belirlenmiştir.

Uygulanan filtrelemeler:

1. Tez kabul sayfası hariç
2. Tez çalışması orijinallik raporu sayfası hariç
3. Bilimsel etik beyannamesi sayfası hariç
4. Önsöz hariç
5. İçindekiler hariç
6. Simgeler ve kısaltmalar hariç
7. Materyal ve metot hariç
8. Kaynaklar hariç
9. Alıntılar dahil
10. 7 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Necmettin Erbakan Üniversitesi Tez Çalışması Orijinallik Raporu Uygulama Esaslarını inceledim ve tez çalışmamın, bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranının (%30) altında olduğunu ve intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

22.05.2023

Ahmet Talha İNAL

Doç. Dr. Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ

## **BİLİMSEL ETİK BEYANNAMESİ**

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarında bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini, tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez hazırlama kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel kurallara uygun olarak atıf yapıldığını ve bu kaynakların kaynaklar listesine eklendiğini beyan ederim.

02.06.2023

Ahmet Talha İNAL



## SİMGELER VE KISALTMALAR

ABP: Androjen Bağlayıcı Protein

ACh: Asetilkolin

ADP: Adenozin Difosfat

AMP: Adenozin Monofosfat

ATP: Adenozin Trifosfat

ATPaz: Adenozin Trifosfataz

Ca<sup>++</sup>-ATPaz: Kalsiyum-ATPaz

cAMP: Siklik Adenozin Mono Fosfat

cGMP: Siklik Guanozin Mono Fosfat

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

EDRF: Endotel Kaynaklı Gevşetici Faktör

ER: Endoplazmik Retikulum

ETZ: Mitokondriyal Elektron Transport Zinciri

FSH: Folikül Stimüle Edici Hormon

GnRH: Gonadotropin Serbestleştirici Hormon

GSH-Px: Glutatyon Peroksidaz

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Hidrojen Peroksit

HE: Hematoksilen-Eozin

HOCl: Hipokloröz Asit

IgG: İmmüoglobulin G

IgM: İmmüoglobulin M

IP<sub>3</sub>: İnozitol Trifosfat

İR: İskemi Reperfüzyon

LH: Lüteinize Edici Hormon

LPO: Lipit Peroksidasyonu

LPS: Lipopolisaakkarit

M<sub>3</sub>: Muskarinik 3

MAO: Monoamin Oksidaz

MAC: Membran Atak Kompleksi

MASP: MBL İlişkili Serin Proteaz Yolu  
MBL: MannoZ Bağlayıcı Lektin  
MDA: Malondialdehit  
MPO: Miyeloperoksidaz  
MPTP: Mitokondriyal Geçirgenlik Geçiş Gözeneği  
MT: Masson-Trikrom  
MTX: Metotreksat  
mV: Milivolt  
NAD: NikotinamidAdeninDinükleotid  
NADH: NikotinamidAdeninDinükleotidHidrid  
NADP: NikotinamidAdeninDinükleotit Fosfat  
NADPH: İndirgenmiş NADP  
Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>ATPaz: Sodyum-Potasyum ATPaz  
NO<sup>-</sup>: Nitrik Oksit  
NOS: Nitrik Oksit Sentaz  
NOX: NADPH Oksidaz  
ONOO<sup>-</sup>: Peroksinitrit  
PMNL: PoliMorfo Nükleer Lökositler  
PSA: Prostat Spesifik Antijen  
REM: RapidEyeMovement  
ROS: Reaktif Oksijen Türleri  
RNS: Reaktif Nitrojen Türleri  
SCN: Suprakiazmatik Nükleus  
SOD: Süperoksit Dismutaz  
SR: Sarkoplazmik Retikulum  
VTA: VentralTegmental Alan

## TABLolar LİSTESİ

<b>Tablo No</b>	<b>Sayfa No</b>
Tablo 3.1. Krebs-Henseleit çözeltisinin kimyasal bileşenleri ve miktarları .....	41
Tablo 3.2. Johnsen Skorlama Sistemi .....	42
Tablo 4.1. İzole organ banyosu genlik ortalamaları (*Mean±SD) .....	43
Tablo 4.2. Genlik değerlerinin grup zaman etkileşim değerleri .....	44
Tablo 4.3. İzole organ banyosu verilerine göre zaman-grup değerleri anlamlı çıkan sonuçlar .....	45
Tablo 4.4. Mikroskopik inceleme sonucu ShamOp grubu için verilen Johnsen skorları .....	47
Tablo 4.5. Mikroskopik inceleme sonucu İR grubu için verilen Johnsen skorları .....	48
Tablo 4.6. Mikroskopik inceleme sonucu AgoK grubu için verilen Johnsen skorları .....	50
Tablo 4.7. Mikroskopik inceleme sonucu AgoİR grubu için verilen Johnsen skorları .....	51
Tablo 4.8. Mikroskopik inceleme sonucu AgoSeİR grubu için verilen Johnsen skorları .....	52
Tablo 4.9. Johnsen Skor Ortalamaları (*Mean±SD) .....	53
Tablo 4.10. Johnsen skorlarının grup tübül etkileşim değerleri .....	53
Tablo 4.11. İR grubu modifiye Johnsen skorlarının diğer gruplarla istatistiksel olarak karşılaştırılması .....	55
Tablo 4.12. İR grubu dışında kendi arasında anlamlı farklılıklar olan gruplar .....	56

## ŞEKİLLER LİSTESİ

### Şekil No

### Sayfa No

Şekil 2.1. A)Spermatogenez ve hücre bölünmeleri (Köylü, 2019), B)Testisin longitudinal kesiti ve ductus deferens (Ross and Wilson, 2001).....	11
Şekil 2.2. Erkek üreme sistemi (Guyton ve Hall, 2013).....	13
Şekil 2.3. Testesteron salgısının geri bildirimle düzenlenmesi (Rhoades ve Bell, 2017).....	15
Şekil 2.4. A) Testisin venöz boşaltımı (Prometheus, 2007), B) Testisin arteryel beslenmesi (Prometheus, 2007).....	16
Şekil 2.5. İR hasarında ksantin oksidaz aracılı ROS oluşumu (Özcan, 2015).....	24
Şekil 2.6. Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları (Yöntem ve Ünalı, 2018) .....	24
Şekil 2.7. Postiskemik dokularda ksantin oksidaz türevi oksidanlar ve granülosit infiltrasyonuna bağlı hücresel işlev bozukluğu (Korthuis ve Granger, 1993) .....	25
Şekil 2.8. İskemi-reperfüzyonda oluşumu artan süperoksit, nitrik oksitle birleşerek peroksinitrit üretimine yol açar (Özcan, 2015) .....	28
Şekil 2.9. Melatonin ve agomelatinin yapısal olarak karşılaştırılması (Kennedy, 2007) .....	31
Şekil 3.1. Ratlarda 4 saatlik 720° medial cerrahi torsiyon ile iskemik hasarın indüklenmesi .....	38
Şekil 3.2. Rat testisinde 4 saatlik 720° medial torsiyonu takiben 24 saatlik detorsiyon ile İR hasarı modellenmesi .....	38
Şekil 3.3. İzole organ banyosunda 1 gr. gerim altından kasılma cevabı oluşturulan rat testisi .....	39
Şekil 3.4. İzole organ banyosu sistemi.....	40
Şekil 3.5. İzole organ banyosu tarafından oluşturulan kasılma cevabını amplifiye eden yazılım programı .....	40
Şekil 4.1. 30 dakikalık periyotlarla, 3 saat süreyle kaydedilen genlik değerlerinin karşılaştırılması.....	44
Şekil 4.2. Yıldız: normal görünümlü interstisyel alan, ok: normal seminifer tübül ve spermatogenik seri hücreleri (HE 5X büyütme, sol); yıldızlar: normal seminifer tübül ve spermatogenik seri hücreleri, ok: normal görünümlü interstisyel alan (HE 10X büyütme, orta); yıldız: normal seminifer tübül, ok: spermatogenik seri hücreleri, (HE 20X büyütme, sağ). .....	46
Şekil 4.3. Oklar: interstisyel alan (MT 10X, sol), ok: interstisyel alan (MT 20X, sağ). .....	47
Şekil 4.4. Oklar: sertoli ve spermatogenik hücrelerde kayıp, yıldız: interstisyel alanda ödem (HE 5X büyütme, sol); ince oklar: sertoli ve spermatogenik hücrelerde kayıp, yıldızlar: tübüllerde vakuolizasyon, kalın ok: interstisyel alanda ödem (H.E 10X büyütme, orta); ince oklar: sertoli ve spermatogenik hücrelerde kayıp, kalın oklar: çok çekirdekli dev hücreler (HE 20X büyütme, sağ). .....	48
Şekil 4.5. Kırmızı oklar: interstisyel alanda bağ doku artışı (MT 10X büyütme, sol); kırmızı ok: interstisyel alanda bağ doku artışı (MT 20X büyütme, sağ).....	48
Şekil 4.6. İnce ok: normal seminifer tübül yapısı, kalın ok: normal interstisyel alan (HE 10X büyütme, sol); ince ok: normal seminifer tübül yapısı, yıldız: normal interstisyel alan (HE 20X büyütme, sağ). .....	49
Şekil 4.7. Yıldızlar: interstisyel alan (MT 10X büyütme, sol); yıldız: normal interstisyel alan (MT 20X büyütme, sağ) .....	49
Şekil 4.8. İnce oklar: seminifer tübüldeki spermatogenik hücreler, yıldız: tübüldeki vakuolizasyon, kalın ok: interstisyel alan (HE 10X büyütme, sol); ince ok: seminifer tübüldeki spermatogenik hücreler, kalın ok: tübüldeki vakuolizasyon, yıldız: interstisyel alan (HE 20X büyütme, sağ). .....	50
Şekil 4.9. Yıldızlar: interstisyel alanda bağ doku artışı (MT 10X büyütme, sol); yıldız: interstisyel alanda bağ doku artışı (MT 20X büyütme, sağ).....	51
Şekil 4.10. İnce oklar: normal seminifer tübül yapısı, yıldız: normal interstisyel alan (HE 10X büyütme, sol); ince oklar: normal seminifer tübül ve spermatogenik hücre serisi, yıldız: normal interstisyel alan (HE 20X büyütme).....	52
Şekil 4.11. Ok: normal interstisyel alan (MT 10X büyütme, sol); ok: interstisyel alan (MT 20X büyütme, sağ).....	52
Şekil 4.12. Modifiye Johnson skorlarının karşılaştırılma grafiği .....	54

## ÖZET

Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Fizyoloji Anabilim Dalı  
Fizyoloji

### AGOMELATİN VE SELENYUM, DENEYSEL İSKEMİ REPERFÜZYON HASARLI RAT TESTİS MODELİNİ NASIL ETKİLER?

Ahmet Talha İNAL

Konya-2023

Agomelatin, literatürde antioksidatif, antiinflamatuvar, antiapoptotik ve düz kaslarda miyorelaksan etkileri olduğu bildirilen bir melatonerjik reseptör analogudur. Selenyum ise çok uzun zamandır antioksidan enzim aktivitesini arttırdığı kanıtlanmış olan, organizma için önemli bir eser elementtir. İskemi Reperfüzyon (İR) hasarı, doku ve organ düzeyinde geri dönüşü olmayan ciddi sağlık sorunlarına neden olabilir. Bu çalışmanın amacı, agomelatinin tek başına ve selenyumla birlikte testiküler İR hasarına karşı olası etkilerini araştırmaktır.

40 adet erkek rat randomize 5 gruba ayrılmıştır (n=8): Sham Operasyon (ShamOp), Agomelatin Kontrol (AgoK), İskemi Reperfüzyon (İR), Agomelatin + İskemi Reperfüzyon (AgoİR), Agomelatin + Selenyum + İskemi Reperfüzyon (AgoSeİR). ShamOp, sağlıklı grup; İR, hasar grubu; AgoK, proflaktik tedavi grubu; AgoİR ve AgoSeİR ise proflaktik tedavi + hasar grubudur. Agomelatin (20 mg/kg) ve selenyum (1,5 mg/kg), 1 mililitre (ml) distile su içerisinde vortekste karıştırılarak çözündürülmüş ve tedavi içeren tüm gruplara arka arkaya 14 gün boyunca intraperitoneal (i.p.) enjeksiyonla verilmiştir. İR hasarı, intramüsküler ketamin-xylazin (75 mg/kg-8 mg/kg) anestezisi altında, 720° cerrahi torsiyon (4 saat) / detorsiyon (24 saat) uygulamasıyla indüklenmiştir. Histopatolojik incelemeler sol taraf testisler kullanılarak, Modifiye Johnsen Skorlaması ile yapılmıştır. Fizyolojik incelemeler ise sağ taraf testisler kullanılarak izole organ banyosu sisteminde gerçekleştirilmiştir.

Histopatolojik verilerimizin istatistiksel analizine göre gruplarımız arasında anlamlı farklılıklar bulunmaktadır. Modifiye Johnsen skorları, AgoİR ve AgoSeİR gruplarında İR grubuna göre anlamlı düzeyde yükselmişti (p<0.001). Bunun yanında, AgoSeİR grubu, AgoİR grubundan da anlamlı ölçüde daha yüksek Johnsensokruna sahipti (p<0.05). AgoK grubu AgoİR grubundan istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksek Johnsen skoruna sahipti (p<0.05). Benzer şekilde, AgoK grubu AgoSeİR grubundan da yüksek Johnsen skoruna sahipti ancak aradaki fark anlamlı değildi (p>0.05). Johnsen skoru ShamOp grubunda, AgoİR ve AgoSeİR gruplarından daha yüksekti. Ancak aradaki farklılık AgoİR grubunda anlamlıyken (p<0.05) AgoSeİR grubunda değildi (p>0.05). Bununla birlikte, ShamOp grubu, AgoK grubuyla anlamlı bir farklılık göstermedi (p>0.05). Son olarak AgoK ve ShamOp grubları İR grubuna göre anlamlı düzeyde Johnsen skorlarına sahipti (p<0.001). İzole organ banyosu verilerimizin istatistiksel analizine göre gruplarımız arasında anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (p>0.05). Ancak genlik parametrelerini grup içi zaman değerleri üzerinden analiz ettiğimizde AgoK, İR ve AgoİR gruplarında anlamlı azalmalar olduğunu belirledik (p<0.05). ShamOp grubu, anlamlı düzeyde olmasa da AgoK, İR ve AgoİR gruplarından daha iyi bir kasılma gücüne sahipti (p>0.05).

Agomelatin cerrahi torsiyon/detorsiyonla indüklenmiş testiküler İR hasarına karşı, olasılıkla oksidatif stresi azaltarak, anlamlı düzeyde iyileştirici etki göstermiştir (p<0.001). Selenyum agomelatin ile beraber uygulandığında bu iyileştirici etkiyi anlamlı düzeyde arttırmaktadır (p<0.05). Bununla birlikte; ulaştığımız verilerin güvenilirliği açısından, sonuçlarımızın biyokimyasal parametreler üzerinden elde edilecek ilave kanıtlarla güçlendirilmesi gerektiğine inanıyoruz. Testis kapsülünün düz kas içeren tunica albuginea tabakasındaki kontraktilitenin spermi seminer tübüllerden epididimise ileten güçlerden biri olduğu ve kapsülün kasılabilirliğindeki bir azalmanın inferiliteti tetikleyebileceği bildirilmektedir. Deneysel verilerimizin analizine göre, agomelatinin testis kapsülü üzerindeki kısmi inhibitör etkisi ilacın doz bağımlı çalışmalarıyla desteklenmeye ihtiyaç duymaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Agomelatin, Selenyum, Testis, İskemi, Reperfüzyon

## ABSTRACT

Necmettin Erbakan University, Graduate School of Health Sciences  
Department of Physiology  
Physiology

### HOW DO AGOMELATINE AND SELENIUM AFFECT THE EXPERIMENTAL ISCHEMIA REPERFUSION INJURED RAT TESTICULAR MODEL?

Ahmet Talha İNAL

KONYA-2023

Agomelatine is a melatonergic receptor analog that has been shown to be antioxidative, anti-inflammatory and anti-apoptotic in the literature, and myorelaxant effects on smooth muscles, although there are few studies demonstrating. Selenium is an important trace element for our organism, which has been proven to increase antioxidant enzyme activity for a very long time. Ischemia-Reperfusion (IR) injury can cause serious irreversible health problems at the tissue and organ level. The aim of this study is to investigate the possible effects of agomelatine alone and in combination with selenium against testicular IR injury.

40 male rats were randomly divided into 5 groups (n=8): Sham Operation (ShamOp), Agomelatine Control (AgoC), Ischemia-Reperfusion (IR), Agomelatine + Ischemia-Reperfusion (AgoIR), Agomelatine + Selenium + Ischemia-Reperfusion (AgoSeIR). ShamOp is healthy group; IR is injury group; AgoC is prophylactic treatment group; AgoIR and AgoSeIR are prophylactic treatment + injury groups. Agomelatine (20 mg/kg) and selenium (1.5 mg/kg) were dissolved in 1 milliliter (ml) of distilled water by mixing in the vortex and given to all treatment-containing groups by intraperitoneal (i.p.) injection for 14 consecutive days. IR injury was induced by intramuscular ketamine-xylazine (75 mg/kg-8 mg/kg) anesthesia under 720° surgical torsion (4 hours)/detorsion (24 hours). Histopathological examinations were performed with the Modified Johnsen Score using single-sided testicles. Physiological examinations were performed in an isolated organ bath system using right-sided testicles.

According to the statistical analysis of our histopathological data, our groups have significant differences. Modified Johnsen scores were significantly higher in the AgoIR and AgoSeIR groups compared to the IR group ( $p < 0.001$ ). In addition, the AgoSeIR group had a significantly higher Johnsen score than the AgoIR group ( $p < 0.05$ ). The AgoC group had a statistically significantly higher Johnsen score than the AgoIR group ( $p < 0.05$ ). Similarly, the AgoC group had higher Johnsen scores than the AgoSeIR group, but the difference was not significant ( $p > 0.05$ ). The Johnsen score was higher in the ShamOp group than in the AgoIR and AgoSeIR groups. However, the difference was significant in the AgoIR group ( $p < 0.05$ ) but not in the AgoSeIR group ( $p > 0.05$ ). However, the ShamOp group did not differ significantly from the AgoC group ( $p > 0.05$ ). Finally, the AgoC and ShamOp groups had significant Johnsen scores compared to the IR group ( $p < 0.001$ ). No significant difference was found between our groups ( $p > 0.05$ ) based on the statistical analysis of our isolated organ bath data. However, when we analyzed the amplitude parameters over the within-group time values, we determined that there were significant decreases in the AgoC, IR and AgoIR groups ( $p < 0.05$ ). The ShamOp group had better contractile strength than the AgoC, IR and AgoIR groups, although not significantly ( $p > 0.05$ ).

Agomelatine showed a significant therapeutic effect against surgical torsion/detorsion-induced testicular IR injury, possibly by reducing oxidative stress ( $p < 0.001$ ). When selenium is applied together with agomelatine, this curative effect increases significantly ( $p < 0.05$ ). Beyond that, we believe that our results should be strengthened with additional evidence from biochemical parameters in terms of the reliability of the data we have reached. It has been reported that the contractility in the smooth muscle-containing tunica albuginea layer of the testis capsule is one of the forces that transmit the sperm from the seminiferous tubules to the epididymis, and a decrease in the contractility of the capsule may trigger infertility. The partial inhibitory effect of agomelatine on the testicular capsule needs to be supported by dose-dependent studies of the drug based on the analysis of our experimental data.

**Keywords:** Agomelatine, Selenium, Testes, Ischemia, Reperfusion

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Testisler; tunika albuginea isimli bağ dokusundan yapılmış kapsül ile çevrili, seminifer tübül halkalarından oluşmuş, skrotum içerisinde spermatik kordlara asılı olarak konumlanmış, erkek üreme sisteminin fonksiyonel birimi olarak işlev gören bir çift organı temsil eder. Testisin temel görevleri, spermatogenez ve testosteron hormonunu sentezleyip salgılamaktır. Böylelikle spermin gelişimi ve transportu ile erkeğe özgü fenotipik özelliklerin (kıl yapısı, kalın ses, büyük kas ve kemik kütlesi vb.) açığa çıkması sağlanmış olur (Rhoades ve Bell, 2017). Ancak bazı durumlarda testisler infertiliteye kadar uzanan çok sayıda patofizyolojik süreçle karşı karşıya kalabilmektedir. Bu patolojilerin en sık rastlananlarından biri testis torsiyonudur. Testis torsiyonu (spermatik kordun kıvrılması), saat yönünde veya saatin tersi yönde (intravajinal-ekstravajinal); 180°'den 720°'ye kadar dönerek şiddeti değişebilen bir iskemik hasar tablosudur. Az sayıdaki ürolojik acil vakadan biri olarak kabul edilmektedir. Organın sağ kalımı için testisler ilk 6 saat içerisinde detorsiyone edilmelidir. Detorsiyon ile kan akımının yeniden kazanılması (reperfüzyon) hedeflenmektedir. Fakat, beklenenin aksine reperfüzyon dokuya iskemik hasardan daha fazla zarar verebilir (Robbins, 2014; Macnicol, 1974).

İskemi reperfüzyon (İR) hasarı olarak tanımlanan bu fenomenin gelişiminden, serbest radikal üretimi sorumlu tutulmaktadır. Reperfüzyon ile gelen oksijen ve besince zengin kan, karmaşık birtakım biyokimyasal reaksiyonlar aracılığıyla çok sayıda reaktif oksijen türlerinin (ROS) sentezlenmesine neden olur. Testisin premordiyalgerm hücreleri serbest radikal etkileşimlerine karşı çok hassastır. Organizmanın intrinsek antioksidan kapasitesi serbest radikallerin verdiği zararı tolere edemezse, devamında infertiliteye kadar ilerleyebilecek, oksidatif stres hasarı meydana gelebilir (Akgur ve ark., 1993). İR hasarını engellemek için özellikle antioksidan sistemin iyileştirilmesi ve güçlendirilmesi amaçlanmıştır. Günümüze kadar İR hasarını önlemeye yönelik, antioksidan etkisi olduğu düşünülen çok sayıda ajanın tedavi edici yönü gösterilmiştir. Bunlardan biri olan agomelatin, melatonerjik bir agonist olarak Fransa'da geliştirilmiş, antidepresan bir ilaçtır (Uzbay, 2012). Ancak bir melatonin analogu olduğu ve melatoninin de çok güçlü antioksidan etkileri bulunduğu için, yıllar içerisinde agomelatinin de antioksidan yönü pek çok doku ve organ patolojilerinde deneysel olarak keşfedilmek üzere araştırmacıların dikkatini çekmiştir. Bu duruma böbrek (Aykora, 2020), mesane (Vidin, 2019; Al-Bayati, 2021), ovaryum (Yapca ve ark., 2014), serebrum (Chumboatong ve ark., 2017) gibi organlar üzerinde yapılan ve agomelatinin antioksidan etkisini görmeyi amaçlayan çalışmalar örnek olarak verilebilir. Bir başka antioksidan etkili

ajan olan selenyum ise, 1817 yılında Brezelius ve Gahn tarafından keşfedilişinden günümüze kadar(Santi ve Bagnoli, 2017)çok yönlü bir şekilde yararlı etkileri ortaya konmuş, organizma için gerekli esansiyel bir elementtir.Selenyum, gastrocnemius kası (Gholami ve ark., 2015), retina(Yazici ve ark., 2015), miyokard (Venardos ve ark., 2007) periferik sinir (Zendedel ve ark., 2015) ve testis dokusunda (Kara ve ark., 2016) İR hasarına karşı tedavi edici etkileri açısından incelenmiştir. Bununla birlikte, literatürde agomelatin ve selenyum kombinasyonunun testiste İR hasarına karşı göstereceği etkileri doğrudan inceleyen bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Bu tez projesinin amacı bilateral torsiyon/detorsiyon modellenerek İR hasarı oluşturulmuş rat testisinde agomelatinin tek başına ve selenyumla birlikte göstereceği antioksidan etkiyi histopatolojikve fizyolojik açıdan incelemektir. Deney aşamasında Wistar albino cinsi erkek ratlardan alınan doku örnekleri ile histopatolojik olarak spermatogenez, seminifer tubül çapları ve epitel uzunluklarının hesaplanması (Johnsen skorlaması, 1970) gerçekleştirilmiştir. Ayrıca İR hasarı oluşturulan hayvan modelinde agomelatin ve selenyum kombinasyonu ile testis kapsüllerinin(tunika albuginea) kasılma gücünde meydana gelen değişiklikler genlik parametreleri olarak incelenmiştir.

## 2.GENEL BİLGİLER

### 2.1.Düz Kas Fizyolojisi

Organizmamızda onlarca çeşit hücre bulunmasına rağmen bunların pek azı uyarılabilir türdedir. Bu az sayıda hücre türünden biri de kaslardır.Düz kaslar; genellikle 1-5 mikrometre çapında ve 20-500 mikrometre uzunluğunda liflerden oluşur. İskelet kasındaki birçok kasılma prensibi düz kas için de geçerlidir. Örneğin, düz kasta da aktin-miyozin iplikçikleri arasındaki çekici güçler kasılmaya neden olur. Ancak düz kas liflerinin fiziksel ve kimyasal iç düzeni birtakım farklılıklar gösterir (Guyton ve Hall, 2017). Çeşitli organlardaki düz kasların kasılma etkinliğinin çok çeşitli etmenlerden etkilenebilmesi düz kas liflerinin sınıflandırılmasını güçleştirmiştir. Düz kaslar, tek-birimli düz kaslar ve çok-birimli düz kaslar olmak üzere plazma zarının elektriksel niteliklerine göre iki gruba ayrılmıştır (Vander, 2018).

#### 2.1.1. Çok birimli düz kaslar

Çok birimli düz kaslarda hücreler arasında oluklu bağlantı geçitleri (gapjunction) ya hiç bulunmaz ya da çok azdır (Vander, 2018;Costanzo, 2018). Birbirinden ayrılmış ve her biri diğerinden bağımsız iş gören kas liflerinden oluşurlar (Guyton ve Hall, 2017). Tüm kas dokusunun kasılma yanıtı, etkinleştirilen kas hücrelerinin sayısı ile sinir uyarılmasının frekansına bağlıdır. Kas dokusunun nöronlar tarafından uyarılması bir ölçüde depolarizasyona ve bir kasılma yanıtına yol açsa da bu tip düz kasların çoğunda aksiyon potansiyelleri görünmez. Ayrıca dolaşımdaki hormonlar, bu tip düz kastaki kasılma etkinliğini arttırıp azaltabilir. Ancak gerilme bu tip düz kasta kasılmayı uyarmaz (Vander, 2018). Bu tip liflerin en önemli özelliği, her lifin diğerlerinden bağımsız kasılabilmesi ve ağırlıklı olarak sinir sinyalleri ile kontrol edilmeleridir (Guyton ve Hall, 2017). Her hücre bağımsız olarak yanıt verir ve kas dokusu, çok birimli olarak davranır (Vander, 2018). Kısacası her bir kas lifi, iskelet kasına benzer şekilde ayrı bir motor birim gibi işlev görmektedir (Costanzo, 2018). Bu tip düz kas hücreleri, otonom (parasempatik ve sempatik) sinir sisteminin postgangliyonik lifleri tarafından zengin şekilde inerve edilirler. İşlevi düzenleyen bu inervasyondur (Costanzo, 2018;Vander, 2018). Gözün silyer kası ve iris kası, sempatik uyarıyla aktive olan piloerektör kaslar (Aktümsek, 2001;Guyton ve Hall, 2017), akciğerin geniş havayollarında bulunan kaslar, kalın arterlerde yer alan kaslar (Vander, 2018) çok birimlidir. Ayrıca çok birimli düz kas, vasdeferente de bulunur (Costanzo, 2018).

### **2.1.2. Tek birimli düz kaslar**

Tek birimli (üniter, viseral) düz kas hücreleri hem elektriksel hem de mekanik olarak senkronize etkinlik gösterir. Bu hücreler uyarıldıklarında kasın tamamı tek bir birim gibi yanıt verir. Çünkü her bir kas hücresinin, bitişiğindeki liflere, aksiyon potansiyellerinin yerel akımlarla diğer hücrelere yayılmasına izin veren bağlantı geçitleri (gapjunction) vardır. Dolayısıyla, bir grup tek birimli düz kas hücre kümesinin herhangi bir yerinde görülen elektriksel etkinlik, bağlantılı hücrelerin tümüne iletilebilir (Vander, 2018). Bu kaslar karakteristik olarak, kendi uyarısını kendi üretebilir (spontanpacemaker) veya yavaş dalgalar oluşturabilir. Bir organdaki yavaş dalgaların sıklığı, aksiyon potansiyellerinin karakteristik şekillerini ayarlar ve buna bağlı olarak kasılmaların sıklığını belirler (Costanzo, 2018). Sinirler, hormonlar ve lokal faktörler, tek birimli düz kasların kasılma etkinliklerini değiştirebilir. Bu hücrelerin inervasyon dereceleri farklı organlarda önemli derecede değişiklik gösterir. Tüm kasın etkinliği, uyarı odağı hücrelerin aksiyon potansiyel frekansını düzenleyerek denetlenebilir. Bu kas tipinin diğer bir özelliği, kas dokusundaki gerilmenin çoğu kez bir kasılma yanıtını uyarabilmesidir. Örneğin mide gibi pek çok içi boş organda, lümendeki materyal hacminin artmasıyla organın duvarlarındaki düz kasın gerilmesi bir kasılma cevabını başlatır (Vander, 2018). İnce çaplı kan damarları, gastrointestinal kanal, mesane, uterus, üreter ve safra kanalları gibi çok sayıda iç organın duvarında bulunurlar (Guyton ve Hall, 2017; Costanzo, 2018; Vander, 2018).

### **2.1.3. İskelet kası ve düz kas fizyolojisinin karşılaştırılması**

İskelet kası ve düz kasın fiziksel organizasyonu, uyarılma-kasılma eşleşmesi, kasılmanın kalsiyum iyonlarınca düzenlenmesi, kasılma süresi ve kasılma için gerekli enerji miktarı arasında birtakım benzerlik ve farklılıklar vardır. Düz kaslar, iskelet kasındaki gibi çizgili yerleşim göstermeseler de aktin-miyozin miyofilamentlerini içerirler. Ayrıca, kasılma süreci kalsiyum iyonları ile aktiflenir ve kasılma için gerekli enerji Adenozin Trifosfat (ATP)'ın yıkımından elde edilir. Aktin filamentleri yoğun cisimlere (dens body) bağlanır. Yoğun cisimlerin bazıları hücre içinde dağılmıştır ve yoğun bir cisim diğerine bağlayan yapısal bir protein iskelesi tarafından yerinde tutulmaktadır. Diğerleri hücre zarına bağlanır ve bitişik hücrelerin yoğun gövdeleriyle bağlar oluşturarak kasılma kuvvetinin bir hücreden diğerine iletilmesine izin verir. Miyozin filamentleri ise, aktin filamentlerinin arasına serpiştirilmiştir. Miyozin filamentleri, aktin filamentlerinin iki katından daha büyük bir çapa sahiptir. Düz kas hücrelerinin kontraktıl üniteleri, iki yoğun cisim arasından ışınal

tarzda karşılıklı olarak uzanan aktin filamentlerinden oluşur; bu filamentler, yoğun cisimlerin ortasında yer alan tek bir miyozin filamentinin üstüne binerek örtüşür. Böylelikle, aynı yapısal düzenliliğe sahip olmasa da düz kasın yoğun cisimleri iskelet kasındaki Z diskleri ile aynı işlevi yerine getirmiş olur (Guyton ve Hall, 2017). Düz kas miyozin filamentlerinin çoğu “yan kutup” adlı çapraz köprüler şeklinde düzenlenmiştir. Bir taraftaki köprüler bir yöne kayarken, karşı taraftaki köprüler aksi yöne kaymaktadır (Guyton ve Hall, 2017). Bu organizasyonda, miyozin filamentleri her iki uçtan da çekilebildiğinden iskelet kasında kasılmayla kasın boyu %30'dan az oranda kısalırken, düz kasta bu oran %80'e çıkar (Pınar, 2016).

İskelet kaslarının çoğu hızlı kasılıp gevşerken düz kas kasılmalarının çoğu bazen saatler hatta günler süren tonik kasılmalardır. Çünkü düz kastaki miyozin çapraz köprü döngüsünün hızı, iskelet kasındakinden çok daha düşüktür. Bu durum, çapraz köprülerin aktin iplikçiklerine bağlı kaldığı sürenin çokça arttığı varsayımı ve çapraz köprü başlarının iskelet kasındakinden çok daha az Adenozin Trifosfataz (ATPaz) aktivitesine sahip olması ile ilişkilendirilmiştir. Düz kasta bir kasılmayı sürdürmek için iskelet kasında gerekli olan enerjinin sadece 1/10 - 1/300'ü kadar enerji gerekir. Bu durumun çapraz köprülerin bağlanma-ayrılma döngüsünün yavaşlığından kaynaklandığına inanılır. Bağırsaklar, mesane, safra kesesi ve diğer iç organlar tonik kasılmasını devamlı olarak sürdürdüğünden düz kasın enerji kullanımındaki bu tutumluluk, organizmanın enerji metabolizmasına büyük katkı sağlar. Tipik bir düz kas dokusu uyarıldıktan 50-100 milisaniye sonra kasılmaya başlar ve ortalama bir iskelet kasının 30 katı olan toplam kasılma süresi 1- 3 saniye arasındadır (Guyton ve Hall, 2017). Düz kasın yavaş başlangıçlı kasılma-gevşeme karakteristiği miyozin ATPaz'ının çizgili kasa göre daha yavaş aktivite göstermesi nedeniyledir (Yeğen, 2014).

Düz kasın maksimum kasılma kuvveti genellikle iskelet kasından daha fazladır. Bu artan çekim kuvvetinin, miyozin çapraz köprülerinin aktin filamentlerine uzun süreli bağlanma periyodundan kaynaklandığı varsayılmaktadır. Düz kas bir kez tam kasıldıktan sonra, kasın aktivasyon derecesi başlangıç seviyesinin çok altına düşse de, kas daha az enerji tüketerek tam kasılma gücünü korur. “Mandal mekanizması” adı verilen bu olgunun önemi, uzun süreli tonik kasılmayı çok az enerjiyle saatlerce sürdürebilmesidir. Böylelikle, az miktarda sinirsel ya da hormonal uyarıcı sinyalin devamlılığına gereksinim duyulur. Birçok içi boşluklu organdaki viseral üniter tip düz kaslar, uzatılma veya kısaltılmalarından sonraki saniyeler içinde neredeyse orijinal kasılma gücüne dönebilme yeteneğine sahiptir. İçi boşluklu bir organın büyük hacim değişikliklerine rağmen lümenindeki basıncı uzun süre sabit tutmasına izin veren bu önemli fenomene “düz kasın stres gevşemesi” denir. İskelet kası,

gerilmiş uzunluğunun yaklaşık 1/4 - 1/3'ü kadar yararlı bir kasılma mesafesine sahipken düz kas gerilmiş uzunluğunun 2/3'ünden fazlasını kasabilir (Guyton ve Hall, 2017).

#### **2.1.4.Düz kas kasılması ve gevşemesi**

Sitozolik kalsiyum derişimindeki değişiklikler, düz kas liflerindeki kasılma etkinliğini çizgili kaslarda olduğu gibi denetler (Vander, 2018). Bu değişiklikler düz kas lifinin sinirsel ya da hormonal yolla uyarılması, lifin gerilmesi veya kimyasal çevresindeki değişikliklerle meydana gelebilir (Guyton ve Hall, 2017). Öte yandan, düz kasın uyarılma-kasılma eşleşmesindeki mekanizmalar iskelet kasından oldukça farklıdır. İskelet kasında kalsiyumtroponin C'ye bağlanması aktin ile miyozinin bağlanmasına izin verir (Costanzo, 2018). Fakat düz kasta troponin bulunmaz (Koz, 2010). Aktin miyozin etkileşimi, kalsiyumun kalmodulin adlı proteine bağlanmasıyla kontrol edilir (Costanzo, 2018). Kalmodulintroponine benzese de kasılmayı başlatma biçimi farklıdır. Kalmodulin miyozin çapraz köprülerini aktive ederek kasılmayı başlatır (Guyton ve Hall, 2017). Düz kasta uyarılma kasılma eşleşmesi şu sırayla gerçekleşir:

(I) Düz kasın depolarizasyonu sarkolemmadaki voltaj kapılı kalsiyum kanallarını açar ve kalsiyum elektrokimyasal gradiyent doğrultusunda hücre içine akar. Böylece hücre içinde kalsiyum konsantrasyonu artar. Bununla birlikte, voltaj kapılı kalsiyum kanallarıyla içeri giren kalsiyum, sarkoplazmik retikulum (SR)'dan ilave kalsiyum salınımına (kalsiyum ile uyarılan kalsiyum salınımı) da neden olur. Dolayısıyla hücre içi kalsiyumun artışı kısmen sarkolemmadan kalsiyum girişi ve kısmen de hücre içi SR depolarından kalsiyum salınmasına bağlıdır.

(II) Hücre içi kalsiyum konsantrasyonundaki artış kalsiyumun kalmoduline geri dönüşümlü olarak bağlanmasına neden olur. İskelet kasındaki troponin C'ye benzer şekilde, kalmodulin de dört kalsiyum iyonunu kooperatif tarzda bağlar. Kalsiyum kalmodulin kompleksi, miyozin hafif zincir kinaza bağlanır ve enzimi aktifleştirir.

(III) Aktive miyozin hafif zincir kinaz, miyozin hafif zincirini fosforiller. Fosforilasyon, miyozin başının konformasyonel olarak şekil değiştirmesine ve ATPaz aktivitesinin büyük ölçüde artmasına neden olur. Bu da miyozinin aktine bağlanmasına ve böylece çapraz köprü döngüsüyle gerim üretilmesine izin verir. Gerim miktarı hücre içi kalsiyum konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (Costanzo, 2018).

Kasılmış düz kasın gevşeyebilmesi için kalsiyum iyonlarının sitozolden uzaklaştırılması (hücre zarından dışarıya veya SR içine) ve bunun sonucunda da kalsiyumun kalmodulinle oluşturduğu kompleksin bozulması gereklidir. ATP harcanmasını gerektiren pompalarla kalsiyum iyon konsantrasyonu kritik seviyenin altına düştüğünde, miyozin başının fosforilasyonu sona erer. Bunu, düzenleyici hafif zincirden fosfatı ayıran miyozin fosfataz enzimi gerçekleştirilir. Ardından çapraz döngüler inaktive olur ve kasılma sonlanır (Guyton ve Hall, 2017). Bu mekanizmanın yanı sıra hücre içi kalsiyum konsantrasyonu, voltaj kapılı kalsiyum kanallarını kapatan hiperpolarizasyon da dâhil olmak üzere birkaç farklı şekilde daha düşürülebilir. Örneğin, siklik adenosin monofosfat (cAMP) ve siklik guanozin monofosfat (cGMP) gibi ligandlar ile kalsiyum kanalları doğrudan inhibe edilebilir, inozitol trifosfat (IP<sub>3</sub>) üretimi inhibe edilerek SR'den kalsiyum salınımı durdurulabilir, SR membranında bulunan enerji bağımlı kalsiyum pompalarının aktivitesinde artış sağlanarak retikulum içine pompalanan kalsiyum miktarı arttırılabilir (Costanzo, 2018). Ayrıca kan hücrelerini içinde bulunduran damar endotel hücrelerinden düz kası gevşeten endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) serbestlendiği ve etkisini cGMP üzerinden gösterdiği bilinmektedir. EDRF'nin nitrik oksit (NO<sup>-</sup>) olduğu daha sonradan keşfedilmiştir (Köylü, 2019).

### **2.1.5. Düz kasta kasılmaya neden olan kalsiyum iyonlarının kaynakları**

Düz kasta kalsiyum iyon kaynakları iskelet kasından farklıdır. İskelet kasında, kasılma için gerekli kalsiyum iyonlarının neredeyse tamamı SR kaynaklıyken, düz kasların pek çoğunda bu organelin total niceliği daha düşüktür (Guyton ve Hall, 2017). Bundan dolayıdır ki, hücre dışı sıvıdaki kalsiyum derişimi sitozoldekinden 10<sup>4</sup> kat daha büyüktür. Böylelikle, plazma zarındaki kalsiyum kanallarının açılması hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun artışı ile sonuçlanır (Vander, 2018). Sonuç olarak, düz kas kasılmasının gücü genellikle ekstraselüler kalsiyum düzeyine belirgin olarak bağımlıdır (Guyton ve Hall, 2017). Düz kas kasılmasını başlatmak üzere sitozolik kalsiyum düzeyindeki artışa genelde SR ve sarkolemmadaki kanallar aracılığıyla içeri giren ekstraselüler kalsiyum iyonları katkıda bulunur (Vander, 2018). Bununla birlikte sitozolik kalsiyum düzeylerinin artmasına da ligand kapılı kalsiyum kanalları ve IP<sub>3</sub> kapılı kalsiyum salınım kanalları katkıda bulunabilir. Kas hücresinin membranında bulunan ligand kapılı kalsiyum kanalları çeşitli hormonlar ve nörotransmitterler aracılığıyla açılabilir ve hücre dışı sıvıdan ilave kalsiyum girişine izin verebilir. SR zarındaki IP<sub>3</sub> kapılı kalsiyum salınım kanalları ise hormonlar ve nörotransmitterler tarafından açılabilir. Her iki mekanizma da depolarizasyonun neden olduğu sitozolik kalsiyum düzeyindeki artışı güçlendirir (Costanzo, 2018).

### **2.1.6.Düz kas kasılmasının sinirsel kontrolü**

İskelet kasındaki, sinir lifiyle kas hücresi arasında özelleşmiş düzenli sinir-kas kavşakları düz kasta yoktur (Köylü, 2019). Otonom sinir lifleri, çoğu durumda, transmitter maddelerini düz kasın matriks kaplamasına salgılayan diffüz kavşaklar oluşturur ve transmitter madde daha sonra hücrelere yayılır (Guyton ve Hall, 2017).

Düz kas liflerini inerve eden aksonlar, iskelet kas liflerinin motor son plaktaki tipik dallanan ayakuçlarına da sahip değildir. Bunun yerine, ince terminal aksonların çoğu, eksenleri boyunca dağılmış birden fazla varikoziteye sahiptir. Varikoziteler, transmitter madde yüklü veziküller içerir (Guyton ve Hall, 2017). Daima asetilkolin (ACh) içeren iskelet kas kavşağındaki veziküllerin aksine, düz kası inerve eden otonom sinir lifi sonlanmalarındaki veziküller bazı liflerde ACh bazılarında ise norepinefrin içerir (Köylü, 2019). Bazı nadir durumlarda, özellikle çok üniteli düz kaslarda, varikoziteler doğrudan kas lifi zarı üzerinde bulunur. Bunlara temas kavşakları denir ve iskelet kası sinir-kas kavşaklarına benzer bir işleve sahiptir. Bu tarz düz kas liflerinin kasılma hızı difüz bağlantılarla uyarılan liflere göre oldukça yüksektir (Guyton ve Hall, 2017).

ACh ve norepinefrin düz kas nöromüsküler kavşağında uyarıcı veya inhibe edici etkilere sahip en önemli transmitter maddelerdir (Guyton ve Hall, 2017). Düz kasları inerve eden otonom sinirler tarafından salgılanan bu transmitter maddeler hiçbir zaman aynı sinir lifleri tarafından salgılanmazlar. ACh bazı organlarda düz kas lifleri için eksitator, bazılarında ise inhibitördür. ACh bir kas lifini uyarıyorsa norepinefrin onu inhibe ediyordur ve bunun tam tersi de geçerli olabilir (Köylü, 2019).

#### ***Düz Kasta Membran ve Aksiyon Potansiyelleri***

Düz kas hücrelerinin kararlı bir dinlenme zar potansiyeli yoktur. Kasın durumuna göre yaklaşık -50/-60 milivolt (mV) civarındadır (Pınar, 2016). Bu değer iskelet kasındakinden ortalama 30 mV daha pozitifdir. Aksiyon potansiyelleri ise, viseral kas gibi tek birimli düz kasta, iskelet kasında olduğu gibi meydana gelirken, çok üniteli düz kasların çoğunda oluşmaz (Guyton ve Hall, 2017). Viseral düz kasın aksiyon potansiyelleri sivri (spike) veya platolu olmak üzere iki şekildedir (Pınar, 2016). Dikensi potansiyellerin çoğu tek üniteli düz kas tipinde meydana gelir. Elektriksel stimülasyon, gerilme veya hormonların, transmitter maddelerin etkisi ile ortaya çıkabilir ya da kas lifinde kendi kendine de oluşabilirler. Platolu aksiyon potansiyellerinin ise başlangıcı tipik dikensi potansiyele benzer. Ancak,

repolarizasyon birkaç yüz milisaniye gecikir. Plato; üreterde, bazı koşullar altında uterus ve bazı vasküler düz kas tiplerinde meydana gelen uzun süreli kasılma dönemlerini açıklamaktadır (Guyton ve Hall, 2017).

Düz kas uyarılmasında sodyumdan ziyade voltaj kapılı yavaş kalsiyum kanallarının rolü vardır (Pınar, 2016). Sodyum, çoğu düz kasta aksiyon potansiyelinin oluşumuna çok az katılır. Bunun yerine, lifin içine kalsiyum iyonlarının akışı, aksiyon potansiyelinden esas olarak sorumludur (Guyton ve Hall, 2017).

Tek birimli düz kastaki yavaş dalga potansiyelleri, aksiyon potansiyellerinin spontan üretimine neden olur. Yavaş dalganın kendisi bir aksiyon potansiyeli değildir, zar potansiyelindeki yavaş salınımlardır. Yavaş dalgalar; sodyum pompası aktivitesinde sodyum hızlı pompalandığında zar potansiyelinin daha negatif olmasına ve sodyum yavaş pompalandığında daha az negatif olmasına neden olan salınımlar veya ritmik olarak artıp azalan iyon kanallarının iletkenliği nedeniyle oluşmaktadır (Guyton ve Hall, 2017). Yavaş dalganın potansiyeli eşiğin üzerine çıktığında (yaklaşık  $-35$  mV) aksiyon potansiyeli doğar, kas kitlesinde yayılır ve kasılma meydana gelir (Köylü, 2019).

Spontan aksiyon potansiyelleri genellikle viseral (tek üniteli) düz kas gerildiğinde üretilir. Spontan aksiyon potansiyelleri, gerilmenin kendisinin neden olduğu zar potansiyelinin negatifliğinde bir azalmaya ek olarak normal yavaş dalga potansiyellerinin bir kombinasyonundan kaynaklanır. Bu gerilme tepkisi, aşırı arttığında bağırsak duvarının otomatik olarak kasılmasına ve gerilmeye direnmesine izin verir (Guyton ve Hall, 2017).

### **2.1.7. Lokal doku faktörleri ve hormonların düz kas kasılması üzerine etkisi**

Tüm düz kas kasılmasının neredeyse yarısı, düz kasın kasılabilir birimlerine doğrudan etki eden uyarıcı faktörlerle ve aksiyon potansiyelleri olmadan başlatılmaktadır. Sinirsel olmayan ve aksiyon potansiyeli doğurmeyen uyarıcı faktörlerin iki tipi sıklıkla, lokal kimyasal doku faktörleri ve çeşitli hormonlardır. Küçük kan damarlarına doğrudan ulaşan bir sinir yoktur veya az miktardadır. Ancak kan damarlarının düz kasları kasılmaya çok yatkındır. Kendisini çevreleyen intersitisyel sıvıdaki lokal kimyasal şartlar ile kan basıncındaki değişimler nedeniyle oluşan gerilmelere hızla yanıt verirler. Normal dinlenme durumunda bu küçük kan damarlarının pek çoğu kasılı haldedir. Fakat dokuya fazladan kan akımı gerektiğinde pek çok faktör damar duvarını gevşetebilir, böylelikle akımda artış sağlanır. Bu yolla, güçlü bir yerel geribildirim kontrol sistemi doku alanına doğru bölgesel kan akımını düzenler. Örneğin; aşırı karbondioksit, hidrojen iyon konsantrasyonunun artması, dokularda

yerel oksijen eksikliği düz kasta gevşemeye ve dolayısıyla vazodilatasyona neden olur. Ayrıca; adenozin, laktik asit, potasyum iyonlarının artması, kalsiyum iyon konsantrasyonunun azalması ve vücut sıcaklığının artması da lokal vazodilatasyona neden olabilir. Vasküler düz kas geriminin azalması ile kan basıncının düşmesi de bu küçük kan damarlarını dilate eder. Dolaşımdaki hormonların ise birçoğu, düz kasın kasılmasını bir dereceye kadar etkiler ve bazılarının etkileri belirgindir. Norepinefrin, epinefrin, anjiyotensin II, endotelin, vazopresin, oksitosin, serotonin ve histamin bunların en önemlileri arasındadır. Düz kaslar farklı hormonlara, nörotransmitterlere ve diğer maddelere yanıt olarak kasılma veya gevşemenin başlatılması açısından önemli farklılıklar gösterirler (Guyton ve Hall, 2017). Bazı nörotransmitterler farklı düz kas dokularında zıt etkiler meydana getirebilir. Örneğin noradrenalin, damar düz kaslarının çoğunda,  $\alpha$ -adrenerjik reseptörleri etkileyerek kasılmayı arttırırken, bronş düz kaslarında  $\beta$ -2 reseptörlere etki yaparak gevşeme oluşturur (Vander, 2018).

## **2.2. Testisin Fizyolojik Yapısı ve İşlevleri**

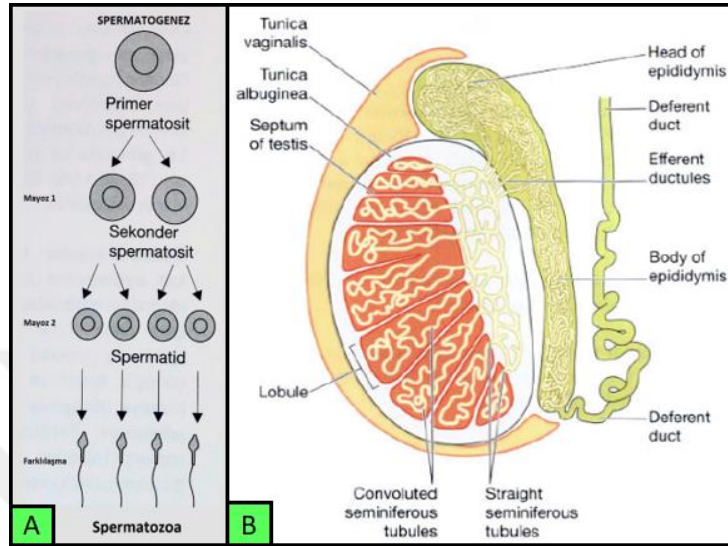
İki adet testis (erkek gonadları), genital kanallar, aksesuar bezler ve penisten oluşan erkek üreme sistemi (Köylü, 2019); sperm (spermatozoon) yapımı, erkek seks hormonlarının üretimi ve erkek gamet hücrelerinin dişi üreme sistemine iletilmesi işlevlerini yerine getirir (Gartner, 2009). Testisler vücut dışında skrotum içinde bulunan, oval şekilli organlardır (Koz, 2010). Bir çift testisin her biri yaklaşık 10-15 gram ağırlığında, yaklaşık 4,5 - 5 cm boyunda ve 2,5 cm çapındadır (Aktümsek, 2001).

### **2.2.1. Seminifer tübüller ve testiste sperm üretimi: spermatogenez**

Testisi çevreleyen zarlardan tunika albuginea, mediastinum testis bölümünde kalınlaşır ve buradan çıkan septumlar testisi 250 kadar lobuli testise böler. Her lobülde 1-4 adet, kıvrımlı yapıda, ana işlevi sperm üretimi olan seminifer tübül bulunur (Şekil 2.1.). Seminifer tübüllerin duvarı birkaç hücre tabakası kalınlığında epitelle döşelidir. Bu epitelin bazal hücreleri sertoli ve germ hücrelerinden (spermatogonyum) oluşmaktadır (Gartner, 2009).

Spermatogonyumlar kendilerini çoğaltmak ve primer spermatositleri oluşturmak üzere mitoz aktivitesiyle bölünürler. Diploid yapıdaki primer spermatositler 1. mayoz bölünme sonrasında sekonder spermatositleri meydana getirirler. Bu bölünmenin ardından 2. mayoz bölünmeyi tamamlayan hücreler haploidspermatidler halini almışlardır. Bu sürecin ardından,

spermatidler sitoplazmalarının çoğunu kaybederler, organelleri yeniden organize olur ve erkek gamet hücresi olan spermilere (spermatozoalara) dönüşürler (Şekil 2.1.). Sperm farklılaşması sertoli hücrelerinin fiziksel ve besleyici desteği ile gerçekleşir (Gartner, 2009).



Şekil 2.1. A)Spermatogenez ve hücre bölünmeleri (Köylü, 2019), B)Testisin longitudinal kesiti ve ductusdeferens (Ross and Wilson, 2001)

### 2.2.2. Testiste sertolihücreleri ve işlevleri

Sertoli hücreleri seminifer tübüllerin bazal membranını meydana getirir, germ hücrelerinin farklılaşma ve olgunlaşması için ortam sağlar. Bu hücreler, spermatogenezde oldukça önemli fonksiyonları yerine getirir. Sperm üretimi sırasında germ hücreleri seminifer tübüllerin iç boşluğuna doğru,sertoli hücreleri boyunca geç eder. Sertoli hücreleri sitoplazmik uzantılarıyla iç boşluğuna doğru giden spermatogonyum hücre serilerini kuşatarak gelişim süreçleri boyunca fiziksel ve metabolik olarak onlara destek olur (Köylü, 2019). Sertoli hücreleri spermiyogenezis sırasında oluşan sitoplazma artıkları (Gartner, 2009) ve hatalı üretilen sperm hücrelerini fagosite eder (Köylü, 2019). Ayrıca, spermeleri destekleyen ve bu hücrelerin seminifer tübüllerde ve genital kanallarda taşınmaları için gerekli akışkan ortamı sağlayan fruktozdan zengin bir sıvı salgırlarlar (Gartner, 2009).

Sertoli hücreleri germ hücreleri ile özel bağlantı kompleksleri oluşturur. İki sertoli hücresi yanlara doğru yaptıkları sitoplazmik uzantılarıyla birbirine tutunur. Bu uzantıların arasında, spermatogenetik seriye ait germ hücrelerini kuşatarak onları hapsederler. Böylece germ hücrelerinin çevreyle irtibatı kesilir. Beslenme, hormonal etkileşim gibi fonksiyonları

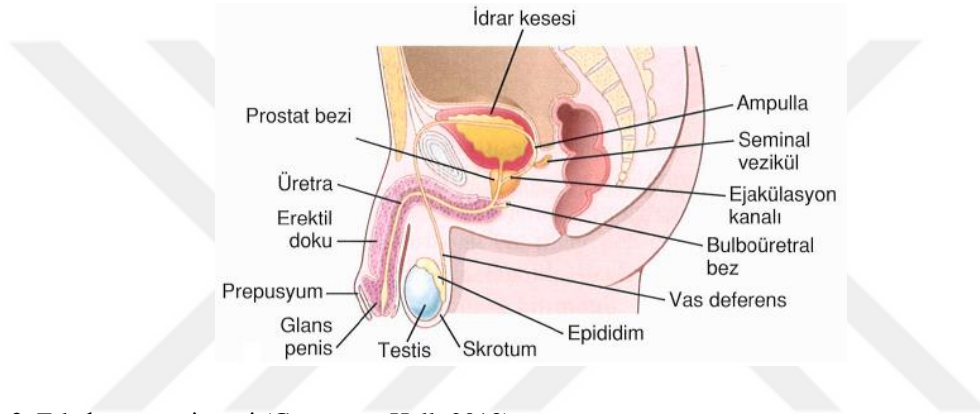
sertoli hücreleri aracılığıyla gerçekleştirilir. Spermatogonyumlar bazal membran üzerine oturdukları için sadece üst kutuplarından sertoli hücrelerinin yaptıkları bu bağlantı ile kuşatılırlar. Oysa daha ileri evrelerde bulunan spermatositler ve spermatidler tüm çevreleri boyunca kuşatılarak tamamen dış ortamdan izole edilirler. Sertoli hücrelerinin birbirleriyle yaptıkları sıkı bağlantılarla (zonulaoccludens türü bağlantılar) oluşan bu bariyere kan-testis bariyeri adı verilir (Köylü, 2019). Bu durum gelişmekte olan spermleri immün sistemin saldırgan ve yok edici etkisinden korur (Gartner, 2009). Böylelikle seminifer tübüllerin hücreleriyle döşeli duvarı, kan testis bariyeri sayesinde bazal ve luminal kompartman olarak ikiye ayrılmış olur. Bazal kompartman içinde spermatogonyumlar ve genç spermatositler, luminal kompartmanda ise olgun spermatositler, spermatitler ve spermatozoa bulunur (Köylü, 2019).

Adenohipofizden salgılanan folikül stimüle edici hormonun (FSH) etkisiyle, Sertoli hücreleri androjen bağlayıcı protein (ABP) salgılar. ABP testesteronla bağlanır ve testesteronu seminifer tübüllerin lümeninde serbest bırakarak spermatogenezin gerçekleşmesi için gerekli eşik düzeyin üzerinde etkin olmasını sağlar (Gartner, 2009). Kısacası ABP, tübül sıvısındaki testosteron düzeyini yüksek ve sabit tutar (Köylü, 2019). Sertoli hücreleri aynı zamanda, FSH salınımını geri besleme (feedback) mekanizmasıyla önleyen inhibin hormonunu da salgılar. Sertoli hücreleri embriyonik gelişim esnasında Müller kanalının gelişimini engelleyen anti-müllerian hormonu üretirler. Böylece embriyonun erkek olarak gelişmesi kesinleşmiş olur (Gartner, 2009; Köylü, 2019).

### **2.2.3.Seminal sıvısının testisten ejakülatuvar kanala iletimi**

Ejakülatör (genital) kanallar, semineal veziküllerden, prostat bezi ve bulboüretal bezlerden gelen salgıları alır ve sperm ile karıştırır (Koz, 2010). Oluşan semenin sıvı ve sperm içeriğinin vücut dışına çıkışını sağlar (Gartner, 2009). Seminifer tübüllerde biçimlenen spermatozoa (Rhoades ve Bell, 2017), seminifer tübüllerintubulirekti adlı kısa ve düz tübüllerle birleşerek mediastinumda oluşturduğu (Gartner, 2009) rete testise taşınır (Köylü, 2019). Spermler buradan, epididimisin ilk parçası (baş) olan ve duktus epididimise (gövde ve kuyruk) açılan 15-20 adet duktuliefferentes'e (efferentduktus) geçerek testisi terk etmiş olur (Gartner, 2009; Köylü, 2019). Sperm hücrelerinin depolanması, korunması, taşınması ve olgunlaşması epididimisin fonksiyonlarıdır. Buradaki olgunlaşma spermin epididimis boyunca kendi hareketini sağlayan fonksiyonel kapasitede bir değişikliği kapsar. Spermler epididimis gövdesi boyunca göçü sırasında ileri doğru hareket yeteneği kazanır. Spermler

kuyrukta (kauda) depolanırken, sperm olgunlaşmasının önemli bir bölümü baş (kaput) kısmında meydana gelir (Rhoades ve Bell, 2017). Epididim, 30-35 cm uzunluğundaki vasdeferens (duktusdeferens) ile devam eder (Köylü, 2019). Kauda epididimis, prostata girmeden önce genişlemiş bir tüp şeklindeki ampullayı oluşturan duktusdeferense bağlanmıştır. Ampulla da sperm depolandığı bir yer olarak işlev görür (Rhoades ve Bell, 2017). Kalın, kaslı bir yapıya sahip olan vasdeferens, inguinal kanaldan spermatik kordonun bir parçası olarak geçerek karın (abdomen) boşluğuna ulaşır ve buradan prostat bezine girer (Şekil 2.2.). Prostat bezine giren duktusdeferensin devamı ejakülatuar kanal (duktusejakulatoriyus) adını alır. Sağ ve sol ejakülatuar kanallar son olarak idrar ve semeni dışarıya taşıyan üretrayla birleşir (Gartner, 2009).



Şekil 2.2. Erkek üreme sistemi (Guyton ve Hall, 2013)

#### 2.2.4.Seminal sıvı içeriğini zenginleştiren aksesuar bezler

Erkek üreme sisteminde semenin sıvı bileşimini oluşturan üç adet aksesuar bez bulunur. Bunlar; prostat bezi, iki adet seminal vezikül ve bir çift küçük bulboüretral (Cowper) bezdir (Gartner, 2009).

Cowper bezleri, prostatın altında yer alan, şekil ve büyüklük olarak bezelyeye benzeyen oluşumlardır (Aktümsek, 2001). Testislerden vücut dışına açılan zincirin son bölümü üretradır ve bu bezler üretranın başlangıç bölgesine çok yakın yerleşimlidirler (Guyton ve Hall, 2013). Muköz ve alkali karakterdeki salgılarını testosteronun kontrolü altında seksüel uyarı ile kavernoöz (spongiyöz) üretraya boşaltırlar (Aktümsek, 2001). Bulboüretral bezlerin epitel hücrelerinden salgılanan bu mukus benzeri sıvı, penisin lubrikasyonuna (kayganlaşmasına) yardımcı olarak cinsel birleşmeye hazırlar (Yeğen, 2014). Ayrıca üretrada kalmış olan idrarın asitliğini nötralize eder (Koz, 2010). Testosteron yokluğunda bu bezler atrofiye olur (Aktümsek, 2001).

Seminal veziküller túbüler bir yapıya sahiptirler ve epitel hücrelerinden bol miktarda fruktoz, sitrik asit ve diğer besin maddeleriyle birlikte çok miktarda prostoglandinler ve fibrinojen içeren mukoid bir sıvı salgırlar. Vasdeferensin spermi boşaltmasından kısa bir süre sonra her bir vezikül içeriğini ejakülatör kanala verir. Böylelikle semene büyük bir hacim eklendiği gibi, seminal sıvıda fruktoz ve diğer besleyici maddelerin artması ile ejakülatındaki spermin ovumu döllemesine kadar geçen süreç içinde beslenmesi sağlanır. Prostoglandinler; hem servikal mukusla reaksiyona girerek sperm hareketleri için daha uygun bir ortam oluşturur hem de ejaküle spermin overlere doğru hareketi için uterus ve fallop tüplerinde zıt yönde peristaltik kasılmalara neden olurlar (Guyton ve Hall, 2013). Semene karakteristik sarı rengi veren de bu bezin besleyici salgısıdır (Gartner, 2009) ve ejakülatın %60-70'ini meydana getirir (Aktümsek, 2001).

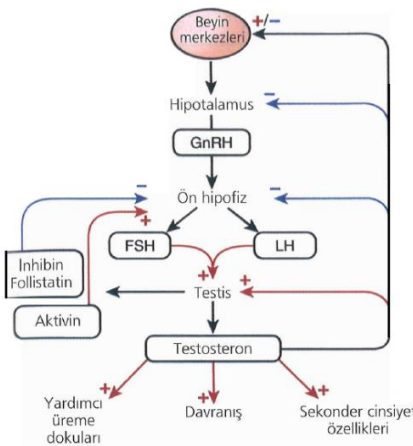
Prostat bezi mesanenin hemen altında bulunur. Ortasından prostatik üretra geçer (Köylü, 2019). Bezin salgısı boşaltıcı kanllar ile prostatik üretraya akıtılır (Gartner, 2009). Prostat, semene süt görüntüsünü veren ve içeriğinde kalsiyum, sitrat, fosfat, çinko, pıhtılaşma enzimi, fibrinolizin ve PSA (Prostat Spesifik Antijen) içeren akışkan alkali sıvıyı salgılar. Prostat sıvısının bu alkali karakteriovumun döllemede önemlidir. Çünkü kadının vajinal salgıları gibivasdeferens sıvısı da asidiktir ve bundan dolayı spermin fertilité özelliği baskılanır. Sperm, ortam pH'ı 6-6,5 düzeyine ulaşana kadar hareketsizdir. Prostat salgısı diğer sıvıların asiditesini nötralize eder ve semende ortalama pH düzeyinin 7,5-8 düzeyinde olmasını sağlar. Böylece spermin hareket ve fertilizasyon yeteneği artırılmış olur (Köylü, 2019).

### **2.2.5. Testisin endokrin fonksiyonu**

Testislerin iki ana işlevi olan spermatogenez ve testosteron salgısı, hipotalamus-hipofiz eksenini tarafından feedback mekanizmasıyla kontrol edilir (Şekil 2.3.). Hipotalamik hormon gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) iken, ön hipofiz hormonları gonadotropinler olarak da bilinen FSH ve lüteinize edici hormon (LH)'dur (Costanzo, 2018). FSH ve LH, testisleri uyararak spermatogenez ve endokrin işlevler üzerinden testiküler fonksiyonu düzenler (Rhoades ve Bell, 2017). Seminifer túbüllerde bulunan germ hücreleri (spermatogonyum) ve seminifer túbüllerin bazal membranını oluşturan sertoli hücrelerine ek olarak testiste görülen üçüncü spesifik hücre tipi Leydig hücreleridir. İntersitisyel hücreler olarak da adlandırılan bu endokrin hücre kümeleri, seminifer túbüller arasındaki bağ dokusuna yayılmışlardır ve görevleri LH hormona yanıt olarak erkek cinsiyet hormonu olan

testosteronu üretmektir. Leydig hücreleri seminifer tübül hacminin yaklaşık %20'sini oluşturur ve vücuttaki testosteronun %95'i testislerde bu hücrelerden sentezlenir (Köylü, 2019). Puberteden önce testosteron üretilmez. Pubertenin başlamasıyla, hipofiz bezi LH ve FSH salgılar (Gartner,2009). FSH ise spermatogenezi ve sertoli hücre işlevini uyarır (Costanzo, 2018). GnRH, LH ve FSH salgısı ise testosteron tarafından negatif geri bildirimle düzenlenir. Testosteron salgısının artması GnRH'nin atım frekansını ve salgısını azaltır. Bu da adenohipofizden LH ve FSH salgısını azaltır. LH'nin azalması da testislerden testosteron salgısını azaltır. Böylelikle testosteron salgısının artması negatif geri bildirimle hipotalamus ve hipofiz salgısını azaltarak testosteron düzeyi normale getirilir. FSH salgısı, ek olarak sertoli hücrelerinden salgılanan inhibin ile de azaltılır. Öyle ki, FSH salgısı esas olarak inhibinin negatif feedback inhibisyonu altındadır. İnhibin sertoli hücrelerinin FSH ile uyarılmasıyla salgılanan bir hormondur. Adenohipofizi doğrudan etkileyerek FSH salgısını inhibe eder. Tüm bunların tersine testosteron salgısı azaldığında ise GnRH salgısı artar, adenohipofizden LH ve FSH salgısı artar ve tekrar testosteron düzeyi yükselir (Köylü, 2019).

Testosteron, fetal gelişim sırasında mezonefrik kanalın olgunlaşmasından, dolayısıyla iç genital organların (epididim, ductusdeferens, ductusejekülatoryus, seminal veziküller) gelişiminden sorumludur. Testislerin inmesinde rol oynar (Guyton ve Hall, 2013). Puberte ve sonrasında ise erkek sekonder cinsiyet karakterlerinin oluşmasını sağlar. FSH ile birlikte spermatogenezi sürdürür. Protein metabolizmasındaki anabolizan etkisiyle büyümeyi destekler. Kemik büyümesini ve kalsiyum depolanmasını artırır. Bazal metabolizmayı artırır. Eritrosit sayısını artırır (Yeğen, 2014). Deri kalınlığını artırır. Orta düzeyde sodyum, potasyum, su, kalsiyum, sülfat ve fosfat tutulumuna neden olur (Guyton ve Hall, 2013).

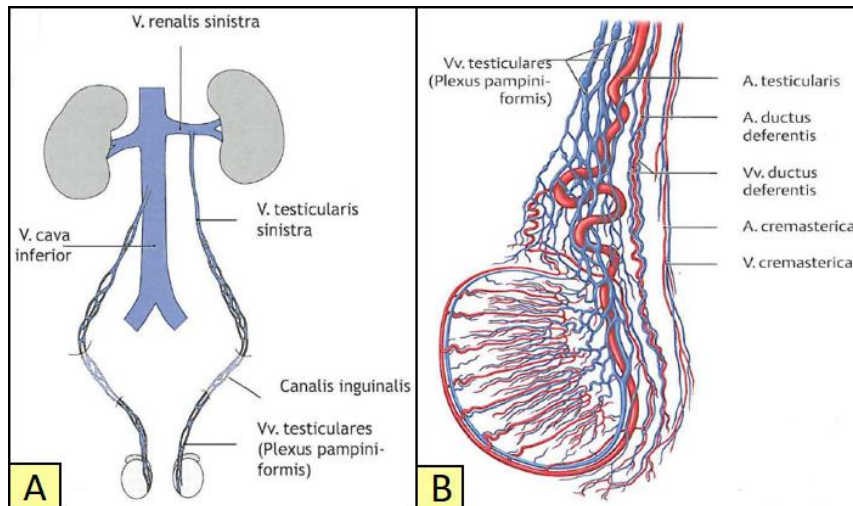


**Şekil 2.3.** Testosteron salgısının geri bildirimle düzenlenmesi (Rhoades ve Bell, 2017)

## 2.2.6. Testisin kanlanması: arteriyel beslenme - venöz boşaltım

Testisler skrotum içerisinde pampiniformpleksusun zıt akımlı ısı değiştirme mekanizması sayesinde vücut sıcaklığından 3-4° daha düşük sıcaklıkta tutulmaktadır (Köylü, 2019). Testisler, epididimis ve testis kılıfları; aortadan direkt olarak gelen A. testicularis, A.iliacainterna'dan gelen A. ductusdeferentis ve A. epigastricainferior'dan gelen A.cremasterica olmak üzere birbirleri ile anastomoz yapan üç farklı arter tarafından beslenirler (Şekil 2.4.). Skrotumu besleyen damarlar ise A.pudentainterna'dan gelir (Prometheus, 2009).

Testis ve epididimisten toplanan venöz kan ise Vv. testicularis'e akar. Ven, A.testicularisin dallarını sarar ve arterle beraber kasık kanalından geçerek retroperitoneal alanda yoluna devam eder. Bu noktada sağ taraftaki V. testicularis V.cavainferiora, sol taraftaki ise V. renalisinistraya dökülür (Şekil 2.4.). Farklı venöz drenaj klinik açıdan önemlidir: sol ven, V.renalisinistraya dik açı ile döküldüğünden burada fizyolojik bir dar boğaz oluşur. Dolayısıyla burada venöz kanın akmasında zorluklar ortaya çıkabilir. Bu da sol V.testicularis'de ve bununla beraber plexuspampiniformis'te varis şeklinde genişlemeler (varikozel) oluşturabilir. Pleksuspampiniformis, bundan dolayı özel fonksiyonu olan "sıcaklığı ayarlama" (A.testicularis'ten gelip geriye dönen venöz kanın soğutulması) işlevini tam olarak yerine getiremeyebilir. Bunun sonucu lokal bir sıcaklık artması ve buna bağlı olarak da sol testiste fertilité azalması ortaya çıkar (Prometheus, 2009).



Şekil 2.4. A) Testisin venöz boşaltımı (Prometheus, 2007), B) Testisin arteriyel beslenmesi (Prometheus, 2007)

## 2.2.7. Testis kapsülünün kontraktilesi ve fizyofarmakolojikinnervasyonu

Fetal gelişim sırasında testisler skrotuma göç ederken peritonun prosessusvajinalis adlı uzantısını da inguinal kanal aracılığıyla beraberlerinde taşırlar. Zamanla bu uzantı oblitere olur ve periton boşluğundan ayrılarak testislerin çevresinde tunikavajinalis denen seröz üst katmanı meydana getirir. Tunikavajinalis, dışta parietal içte viseral tabakadan oluşur. Viseral tabaka, testisin ön ve yan kısımlarında tunika albuginea adlı alt katmanı örter (Prometheus, 2007). Fibromusküler bağ dokusu yapısında bir kapsül olan tunika albuginea ise (Gartner, 2009); iç kısmında, kan damarlarınca zengin gevşek bağ dokusu yapısındaki tunikavasküloza ile birlikte her bir testisi sarar (Ross ve Pawlina, 2014).

Testis kapsülü, testis parankimi için koruyucu bir dokudan daha fazlasıdır. Testis kapsülünün farklı uyarılara karşı kasılma/gevşeme yeteneği göstermesi, testis işlevi üzerinde daha ayrıntılı bir rol oynadığına işaret etmektedir (Jurkiewicz ve ark., 2020). Tunica albuginea, testis kapsülünün ana bileşenidir ve kontraktil düz kas içerdiği ilk defa 1960'ların sonlarında gösterilmiştir (Sneddon ve Westfall, 1983). İnsan da dâhil, farklı memeli türlerinin testis kapsülleri kendiliğinden motor aktivite sergiler. Ayrıca, kasılmalara nöronal stimülasyon veya ekzojen ilaç uygulaması da aracılık edebilir. Bununla birlikte; testiküler kapsül motor aktivitesinin, fizyolojik işlevi ve erkek üreme sisteminin doğurganlık üzerindeki fizyolojik rolü henüz tam anlamıyla netlik kazanmamıştır. Fakat bu aktivitenin spermatozoanın seminifer tübüllerden kaput epididimise taşınmasında, interstisyel/intratestiküler basıncın korunmasında ve testiküler kan akışının kontrolünde rolleri olduğuna dair kanıta dayalı çalışmalar vardır (Jurkiewicz ve ark., 2020).

Kapsülotomi uygulanmış rat testisinin seminifer geçiş segmentinde sperm retansiyonu göstermesi, testis kapsülü kasılmalarının sperm hücrelerinin seminifer tübüllerdenrete testise taşınması için gerekli olduğunu göstermektedir (Jurkiewicz ve ark., 2020). Spermin testisten epididime hareketinde, testis kapsülünün kasılması önemli bir rol oynayabilmektedir (Banks ve ark., 2006). Öyle ki;tunikaalbugineanın kasılmasının spermi seminifer tübüllerdenepididimin başına iten mekanizmalardan biri olduğu varsayıldığından (Hargrove ve ark., 1977), testis kapsülünün kasılma aktivitesinde meydana gelebilecek disfonksiyonun erkek fertilesinde bir azalmayı tetikleyebileceği ön görülmektedir (Dantas da SilvaJunior ve ark., 2014).

Tunica albuginea; fibroblastlar, miyofibroblastlar, kollajen lifler, düz kas, ektopik Leydig hücreleri, sinir uçları ve kan damarlarından oluşur. İnsan testis kapsülünde,

tunicaalbuginea'nın dış bölgesinde miyofibroblastlar, iç bölgelerinde ise düz kas hücreleri baskındır. Öte yandan, ratların testis kapsülü, tunicaalbugineada sadece düz kas hücrelerini içerir. Kemirgen ve insan testis kapsülündeki kontraktıl aktivite, sinir uyarımı veya eksojen ilaç uygulaması ile de ortaya çıkarılabilir. Örneğin; adrenerjik sinirlerin esas olarak rat testis kapsülünü innerve ettiği (superior-inferior spermatik sinirler), kolinerjik liflerin ise bu dokuda seyrek olarak dağıldığı bildirilmiştir. İnsan testis kapsülünde de adrenerjik sinir uçlarının varlığı gösterilmiştir. Testis kapsülü uzun süre inert bir doku olarak kabul edilmiş ve sadece testis parankimi için koruma sağladığı düşünülmüştür. Ancak çalışmalar, izole edilmiş rat testis kapsülünün, eksojen olarak eklenen otonomik ilaçlarla in vitro inkübasyona yanıt olarak kasılabileceğini göstermiş ve ilk kez testis kapsülünün daha önemli fizyolojik işlevlere sahip olabileceği fikri ortaya çıkmıştır. Araştırmacılar, izole edilmiş rat testis kapsülünün eksojen olarak uygulanan noradrenalin veya adrenaline yanıt olarak kasıldığını ve bunun dokuda adreseptörlerin varlığını düşündürebileceğini belirtmiştir (Jurkiewicz ve ark., 2020).

Daha sonraki çalışmalar, rat testis kapsülünün elektrik stimülasyonu ile uyarılan kasılmalarına ağırlıklı olarak adrenerjik sinir uçlarından salınan noradrenalinin aracılık ettiğini göstermiştir. İzole rat testis kapsülü kullanılarak yapılan organ banyosu çalışmaları, noradrenalinle (nöronal olarak aracılık edilen veya eksojen olarak uygulanan) indüklenen rat testis kapsülü kasılmalarında  $\alpha 2$ -adreseptörlerin katılımını işaret etmektedir. Bununla birlikte insandan alınan testis kapsülünün de (henüz adreseptör tipi tanımlanmamış olsa da) nöronal stimülasyonla veya eksojen olarak uygulanan noradrenaline yanıt olarak kasıldığı bildirilmiştir. İmmünohistokimyasal çalışmalarla, kemirgen ve insan testis kapsülünün düz kası üzerinde ATP'nin de bir yardımcı iletici olarak rolüncelenmiş ve eksojen olarak uygulanan ATP'nin, rat, insan ve fare testis kapsülü kasılmalarını indüklediği bildirilmiştir. Testiküler kapsül motor aktivitesini modüle etmek için hangi hücrelerin ATP salıverdiği, henüz cevaplanmamış bir soru olsa da, elde edilen veriler ATP'nin testis kapsülünü kasabildiğini göstermektedir. Histaminin de farklı dokularda adrenerjik nörotransmisyonun önemli bir modülatör ajanı olabileceğini düşündüren güçlü kanıtlar vardır. Histamin reseptörleri, insanlardan ve kemirgenlerden alınan testis kapsülü ve parankiminde tanımlanmıştır. Çalışmalar yüksek konsantrasyonlarda ( $>10^{-4}$ M) histaminin (prostaglandin sentezi yoluyla) rat testis kapsülünü kasabildiğini göstermiştir (Jurkiewicz ve ark., 2020).

ACh, ratlardan alınan testis kapsülünde kasılmaları indükleyebilmektedir. Çalışmalar, kolinerjik ilaçlar tarafından indüklenen rat testis kapsülünün kasılmalarını muskarinik 3 (M3) reseptörlerinin aracılık ettiğini göstermiştir. Rat testis kapsülündeki bu muskarinik reseptör alt

tipinin aktivasyonu, L tipi voltaj kapılı kalsiyum kanallarından ve hücre içi depolardan (SR ve mitokondri) kalsiyum salınımına yol açar. Ancak çok ilginç bir şekilde, rat testiküler parankiminin kolinerjik innervasyondan yoksun olduğu bildirilmiştir. Bu durum da rat testisinde nöronal olmayan bir kolinerjik sisteme işaret etmektedir. Melatonin de rat ve insan testisinde lokal olarak sentezleniyor gibi görünmektedir. İnsan testisinde koruyucu bir rol oynamasına rağmen melatoninin testis kapsülü üzerindeki etkileri henüz tam olarak değerlendirilmemiştir (Jurkiewicz ve ark., 2020).

### **2.2.8. Testis torsiyonu**

Testis torsiyonu, spermatik kordun ve içeriğinin bükülmesidir (Sharp ve ark., 2013). Her yıl 25 yaşından küçük 4.000 erkekte birini etkilediği düşünülmektedir (Ringdahl ve Teague, 2006). Testis torsiyonunun yaş dağılımı bimodal olup, ilk zirve yenidoğan döneminde ve ikinci zirve puberte civarındadır. Yenidoğanlarda, prosesusvajinalis de dâhil olmak üzere tüm kordun bükülmesiyle ekstravajinal torsiyon baskındır. Ekstravajinal torsiyon antenatal veya erken postnatal dönemde ortaya çıkabilir. Tipik olarak akut inflamasyonla birlikte veya akut inflamasyon olmaksızın ağrısız skrotal şişlik olarak ortaya çıkar. Daha büyük çocuklarda ve yetişkinlerde testis torsiyonu genellikle intravajinaldir (Sharp ve ark., 2013). Prosesusvajinalis'in konjenital bir malformasyonunun neden olduğu intravajinal torsiyon, vakaların %90'ını oluşturur (Candocia ve Solomon, 2003). Bu malformasyonda tunikavajinalis sadece testis ve epididimi değil aynı zamanda spermatik kordu da kapsar. Bu, testisin tunikavajinalis içinde serbestçe dönmesine izin veren bir "çan tokmağı deformitesi" yaratır (Ringdahl ve Teague, 2006).

Hastaları travma dışında testis torsiyonuna yatkın hale getiren faktörler arasında testis hacminde artış (genellikle ergenlikle ilişkili), anormal horizontal eğilim, testis tümörü, kriptorşidizm öyküsü ve uzun intraskrotal kısmı olan spermatik kord bulunmaktadır (Arce ve ark., 2002). Kalıcı hasar oluşmadan önce tipik olarak 4-8 saatlik bir zaman aralığı vardır (Sharp ve ark., 2013). Detorsiyon semptomların başlangıcından 6 saatten daha kısa bir süre sonra meydana gelirse testis kurtarma oranı %90'dır, ancak 12 saat sonra %50'ye ve 24 saat sonra %10'un altına düşer (Ringdahl ve Teague, 2006).

Testis torsiyonu ani başlayan şiddetli tek taraflı testis ağrısı ile kendini belli eder (Sharp ve ark., 2013). Testis torsiyonunda en hassas fiziki bulgu kremasterik refleksin olmamasıdır (Caesar ve Kaplan, 1994). Ayrıca spermatik kord büküldükçe kısalır, bu nedenle testis etkilenen skrotumda daha yüksek görünmesi de çok spesifik bir bulgudur. Venöz

tıkanıklık nedeniyle, etkilenen testis etkilenmeyen testisten daha büyük görünebilir (Ringdahl ve Teague, 2006).Teşhis için görüntüleme yalnızca torsiyon ihtimalinin düşük olduğu şüpheli durumlarda yapılmalıdır. Öyküsü ve fizik muayenesinde torsiyon şüphesi olan her hasta hemen ameliyat edilmelidir (Galejs, 1999). En sık kullanılan tanı yöntemleri Doppler ultrasonografi, radyonüklid görüntüleme ve cerrahi eksplorasyondur(Ringdahl ve Teague, 2006).

Testis torsiyonu ister intravajinal ister ektravajinal olsun (Nguyen ve ark., 1999), torsiyon ilk olarak venöz dönüşü engeller (Davenport, 1996). Bunun sonucunda venöz ve arteriyal basınçların eşitlenmesi ile arteriyal kan akışı engellenerek testiküler iskemi meydana gelir. İskeminin derecesi, torsiyonun süresine ve spermatik kordun rotasyon derecesine bağlıdır (Davenport, 1996).Testis torsiyonu, hızlı tanı ve müdahale gerektiren cerrahi bir acil durumdur. Dolayısıyla testisin fonksiyon kaybını önlemek için derhal cerrahi detorsiyon yapılmalıdır. Ancak testisin detorsiyonu (reperfüzyonu) beklenmedik şekilde daha fazla hasara neden olabilir (Erol ve ark., 2009). Çünkü oksijenli kanın restorasyonu, iskemiden daha fazla hasara neden olan bir reaksiyon dizisini başlatır (Tanrıverdi ve ark., 2020). Kısacası testis torsiyonunda birincil patofizyolojik olay iskemi ve ardından reperfüzyondur. Bu nedenle, testis torsiyonu-detorsiyonu, testis için bir İR hasarıdır (Filho ve ark., 2004). İR hasarı, ROS ve reaktif nitrojen türleri (RNS)'nin aşırı üretimi ile ilişkilidir (Mogilner ve ark., 2006).

Radikaller, testis germ hücrelerinde deoksiribonükleik asit (DNA) hasarına ve apoptoza neden olurken; buna karşılık dokularda da antioksidan savunma mekanizmaları gelişmiştir (Tanrıverdi ve ark., 2020). Antioksidan sistem, serbest radikal oluşumunu engeller, ancak ciddi hasar dönemlerinde yetersiz kalabilir (Bast ve ark., 1991). Denge oksidanlar lehine bozulursa oksidatif doku hasarı meydana gelebilir (Çay ve ark., 2006). Memeli testisleri oksidatif strese karşı oldukça hassastır. Oksidatif stresin erkek infertilitesinin başlıca nedeni olduğu gösterilmiştir ve infertil erkeklerin büyük bir kısmında seminal ROS seviyeleri yükselmiştir (Dökmeci ve ark., 2007).

İR hasarının, endotel hücrelerinin aktivasyonu ve ardından etkilenen bölgeye lökositlerin toplanması ile sonuçlanması nedeniyle inflamatuvar bir yanıtı benzediği de bildirilmiştir (Yoshida ve ark., 1999). Aerobik koşullar altında yaşayan tüm hücreler gibi, spermatozoa da çoğunlukla normal metabolik aktiviteden kaynaklanan ROS üretir. Ancak yüksek ROS konsantrasyonları spermatozoada oluşan hasarın patofizyolojisinde önemli bir rol oynar (Dökmeci ve ark., 2007).

Testisi İR hasarından kurtarmak için terapötik uygulamaların belirlenmesi ve testisin diğer oksidatif stres formlarından korunması potansiyel olarak yararlıdır (Erol ve ark., 2009). Testiste İR hasarını önlemek için çeşitli anti-inflamatuar ilaçlar (Mogilner ve ark., 2006), antioksidanlar ve serbest radikal süpürücüler (Ünsal ve ark., 2006) kullanılmıştır. Bugüne kadar, hayvan testis torsiyonu modellerinde İR hasarını azaltmak için oksijen radikal süpürücüler gibi bir dizi kimyasal ve ilaç başarıyla kullanılmıştır, ancak bu kimyasallardan veya ilaçlardan çok azı klinik kullanımdadır (Erol ve ark., 2009). Süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, allopurinol, melatonin, selenyum, N-asetilsistein, sarımsak, ve L-karnitin gibi antioksidanların ve ROS süpürücülerin ön tedavisinin, testis torsiyonuna bağlı erkek kısırlığında İR hasarını önlediği gösterilmiştir. (Dökmeçi ve ark., 2007).

## **2.3. İskemi Reperfüzyon Hasarı**

### **2.3.1. İskemi - iskemik hasar**

Kalp ve damarlar aracılığıyla hücre, doku ve organların kan ile beslenmesi ve oksijenizasyonu perfüzyon olarak tanımlanır (Amaç, 2020). Organ veya dokulara giden bu kanın herhangi bir nedene bağlı olarak belirgin şekilde azalması sonucunda perfüzyonun bozulmasına ise iskemi adı verilir (Özcan, 2015). Hipoksi ise, iskemiye uğrayan doku ve organların, ihtiyacı olan oksijenin temininde gerekli fizyolojik düzeylere ulaşamaması durumudur. Hipoksi, iskemiden ayırt edilmelidir. Hipoksinin en sık görülen nedeni iskemi olsa da oksijen eksikliği, kanın yetersiz oksijenlenmesinden veya kanın oksijen taşıma kapasitesinin azalmasından da kaynaklanabilir (Robbins, 2014).

İskemi ve onun doğal bir sonucu olan hipoksi, başta hücresel düzeyde olmak üzere bazı hasar mekanizmalarını tetikler. Hücrelerin enerji deposu olan ATP, mitokondrilerin elektron transport sisteminde oksijenin indirgenmesi sırasında, adenzin difosfat (ADP)'ın oksidatif fosforilasyonu ile üretilir. Ayrıca oksijen yokluğunda glikolitik yolak, dolaşımdan ya da hücre içi glikojenin hidrolizinden sağlanan glukozu kullanarak da ATP üretebilir (Robbins, 2014). İskemik süreçte, eşlik eden hipoksi ve besin tedariğinin sağlanamaması, hücre içi enerji üretiminin anaerob tarafa kaymasına ve glikojen depolarının hızla tüketilmesine neden olur. Sonuçta hücre, enerji üretimini kompanse edemez ve belirgin ATP kaybı gerçekleşir. Bu durumdan tüm enerji bağımlı iyon pompaları ve aktif transport sistemleri olumsuz yönde etkilenir. Hücrede ATP kaybından ilk etkilenen yapı sodyum-potasyum ATPaz ( $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ ATPaz) pompalarıdır (Mis ve Yeltekin, 2014). Pompanın çalışmasında bir yavaşlama, hücre içinde sodyum, hücre dışında ise potasyum iyonlarının birikmesine neden olur

(Robbins, 2014). İkinci sırada ise kalsiyum-ATPaz ( $\text{Ca}^{++}$ -ATPaz) pompaları hasar görür (Lehotsky ve ark., 2002). İskemik süreçte, sitozoldeki kalsiyum düzeyleri, başlangıçta mitokondri ve düz endoplazmik retikulum (ER) gibi hücre içerisindeki depolardan, daha sonra da plazma membranından kalsiyum girişine bağlı olarak yükselir. Ancak hem  $\text{Ca}^{++}$ -ATPaz pompalarının hem de  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ ATPaz pompası ve onunla antiport çalışan sodyum-kalsiyum değiştiricilerinin aktif olarak çalışmak için gereksinim duyduğu ATP enerjisi yeteri kadar üretilmediğinden pompaların çalışması yavaşlar ve hücre içerisinde sodyum iyonlarına ek olarak kalsiyum iyonları da belirgin olarak birikmeye başlar (Robbins, 2014).

Hücre içerisindeki metabolik artıkların aktif olarak uzaklaştırılmayışı, çözülmüş madde artışı vesitozolde biriken sodyum-kalsiyum iyonların varlığı hücrede osmotik basıncın artmasına ve hücrenin su alarak belirgin şekilde şişmesine neden olur. Meydana gelen izo-osmotik tutulumER'nin genişlemesine de neden olur (Robbins, 2014). Normal şartlar altında, hücre hacminin kontrolünde görevli yapıların en önemlilerinden biri  $\text{Na}^{+}$ - $\text{K}^{+}$ ATPaz pompasıdır. Herhangi bir nedenden dolayı hücre şişmeye başlarsa, pompa otomatik olarak aktifleşir ve suyla birlikte fazla iyonları hücre dışına taşır. Böylece normal hücre hacminin sürdürülmesinde sürekli bir denetim görevi yapar (Guyton ve Hall 2017).

İskemik hasar döneminde ATP kaybının uzun sürmesi veya şiddetlenmesi, protein sentez düzeneğinin yapısal bozukluğuna yol açar. Bu bozulma ribozomların kaba ER'den ayrılmasına ve polizomlarınmonozomlara ayrışmasına, sonuç olarak da protein sentezinin azalmasına yol açar (Robbins, 2014). Ayrıca, bu süreçte azalmış olan hücre içi potasyum konsantrasyonu da protein sentezinde azalmayı tetikler (Rhoades ve Bell, 2017).

İskemik süreçte, enerji kaybını kompanse etmek amacıyla anaerob glikoliz baskın hale gelir. Ancak bunun sonucunda laktik asit üretiminde de artış olur. Laktik asit birikimi, hücre içi pH değerini düşürür. Meydana gelen asidoz hücredeki birçok enzimin aktivitesinin azalmasına neden olur. Ayrıca bu dönemde hipoksi nedeniyle hasar gören mitokondri membranında “mitokondriyal geçirgenlik geçiş gözenegi” (MPTP) adı verilen yüksek iletkenlikte kanal oluşumu gerçekleşir. Bu kanalın açılması da, mitokondrilerdeki membran potansiyelinin azalmasına ve pH değişikliklerine yol açar (Robbins, 2014).

İskemik dönemde hücrede iyon konsantrasyonunun değişimi ile proinflamatuvar sitokinlerin ve lökosit adezyon moleküllerini yapımında artış olurken antioksidan enzimlerin oluşumunda bir azalma meydana gelir. Bu durum hücreyi reperfüzyon dönemindeki hasara karşı dayanıksız kılar (Parks, 1988).Sitozoldeki kalsiyum iyonlarının artması, hücre üzerinde

tehlikeli etkilere sahip olabilecek çok sayıda enzimi aktive eder. Bunlardan fosfolipazlar membran hasarına neden olur, endonükleazlar DNA'nın ve kromatinin zarar görmesine ve ATPaz'lar da ATP kaybının hızlanmasına sebep olur. Proteazlar ise gerek membrandaki, gerekse de hücre iskeletindeki proteinleri yıkma eğilimindedir (Robbins, 2014).

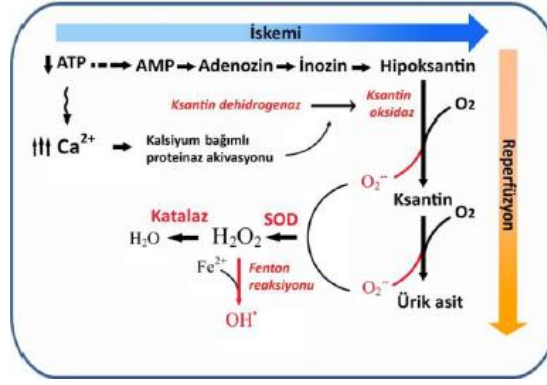
İskemi döneminde ATP üretimi belirgin olarak azaldığı halde kullanımı devam eder (Parks, 1988). Ve hücre içerisinde bulunan mevcut ATP katabolize olarak sırasıyla: ADP, adenosin monofosfat (AMP), adenosin, inozin ve son basamakta da hipoksantin açığa çıkarır (Baines, 2009). Normal şartlarda hipoksantinürik asite metabolize olur. Bu reaksiyonu, ksantin dehidrojenaz enzimi, nikotinamidadenindinükleotidin okside formunu ( $\text{NAD}^+$ ) son elektron alıcı olarak kullanarak katalizler (Parks, 1988). Ancak intraselüler kalsiyum artışı, kalsiyum bağımlı sitozolik proteazları aktive eder (De Martino, 1981). Aktivasyonu artan proteazlar, hücre içi ksantindehidrojenazksantin oksidaz enzimine dönüştürür (Schaffer, 1983). Ksantin oksidaz ise, hipoksantini ürik asite dönüştürmek için elektron alıcı olarak reperfüzyon döneminde gelen moleküler oksijeni kullanır (Valko, 2005). Bu durum "reperfüzyon hasarı" olarak adlandırılan ve beklenmedik bir şekilde iskemik dönemdeki hücrel hasarı daha da arttıran sürecin önemli komponentlerinden birini oluşturur.

### **2.3.2.Reperfüzyon - reperfüzyon hasarı**

Reperfüzyon, kısaca iskemik dokunun yeniden kanlanmasıdır. Ancak paradoksal olarak hücre ve dokulara iskemik hasardan daha fazla zarar verir. Beklenmeyen bu cevabın oluşumundan,postiskemik dokuya reperfüzyonla taşınan oksijenin dönüştüğü reaktif metabolitler sorumlu tutulur. Serbest radikal etkinliği gösteren bu metabolitlerin üretiminden sorumlu bazı mekanizmalar önerilmiştir.

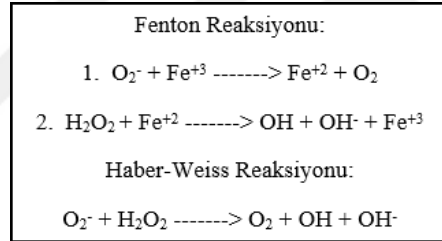
#### ***Ksantin Oksidaz Aracılı Radikal Üretimi***

İskemik süreçte oluşan ksantin oksidaz, dehidrojenaz formundan farklı olarak, hipoksantini ürik asite dönüştürmek için  $\text{NAD}^+$  yerine elektron alıcı olarak reperfüzyon döneminde gelen moleküler oksijeni kullanır ve hipoksantini önce ksantine ve sonra da ürik asitedönüştürür (Şekil 2.5.). Ancak son iki basamakta ürün olarak reaktif oksijen türlerinden süperoksit anyonu oluşur (Valko, 2005).



Şekil 2.5. İR hasarında ksantin oksidaz aracılı ROS oluşumu (Özcan, 2015)

Normal fizyolojik koşullarda; oluşan süperoksit, SOD ile önce hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )'e sonra da katalaz etkisi ile suya dönüşür. Fakat reperfüzyonda ksantin oksidaz etkisine bağlı olarak artan süperoksit radikali ve  $H_2O_2$ , antioksidan kapasiteyi aşar ve ortamdan etkin bir şekilde temizlenemez.  $H_2O_2$  daha sonra  $Fe^{+2}$  gibi geçiş metalleri veya süperoksit radikalleri ile reaksiyona girer (Şekil 2.6.) ve en güçlü radikal olarak bilinen hidroksil radikalini oluşturur (Valko, 2005).

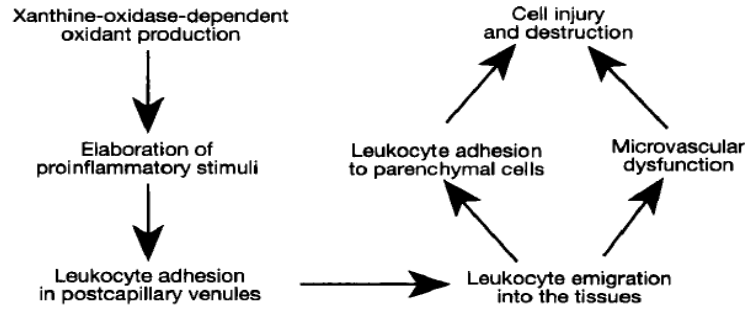


Şekil 2.6.Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları (Yöntem ve Ünalı, 2018)

### ***Nötrofil - Endotel Etkileşimine Bağlı Radikal Üretimi***

Postiskemik hücresel disfonksiyonun oluşumunda reaktif oksijen metabolitleri ve aktive granülositlerin rolüne işaret eden çok sayıda kanıt vardır. Aşağıdaki şekilde, granülosit infiltrasyonu ve postiskemik dokularda meydana gelen mikrovasküler ve parankimal hücre işlev bozukluğu etkileşimini açıklamak için önerilen bir hipotez özetlenmiştir (Şekil 2.7.). Buna göre, reperfüzyonda üretilen ksantin oksidazdan türetilen oksidanlar, daha sonra granülositleri çeken ve aktive eden proinflamatuvar ajanların oluşumunu ve salınımını başlatır. Aktive nötrofiller mikrovasküler endotelyuma yapışır, ekstrasvazasyonla damar dışına çıkar ve doku disfonksiyonuna katkıda bulunan sitotoksik oksidanları ve proteazları serbest bırakmak üzere dokulara göç eder. Extravaze lökositler, sitotoksik cephaneliklerini yapıştırdıkları

parankimal hücelere karşı odaklayabilirler ve böylece hücelesel hasara neden olurlar (Korthuis ve Granger, 1993).



**Şekil 2.7.** Postiskemik dokularda ksantin oksidaz türevi oksidanlar ve granülosit infiltrasyonuna bağlı hücelesel işlev bozukluğu (Korthuis ve Granger, 1993)

Polimorfonükleer lökositler (PMNL) postiskemik dokularda birikip aktifleştiklerinde çok miktarda reaktif oksijen metaboliti meydana getirdiğinden, bu hüceler reperfüzyon sırasında önemli miktarda oksidan üretiminden sorumludur. Özellikle nötrofiller, oksidan aracılı İR hasarının patogenezinde belirgin bir rol oynar. Bu fagositik hüceler reperfüze dokularda önemli bir reaktif oksijen metaboliti kaynağıdır. Mikrovasküler endotelyuma nötrofillerin yapışması, granülositlerin iskeminin neden olduğu hücelesel işlev bozukluğunu şiddetlendirecek şekilde hareket ettikleri postiskemik dokularda toplanması ve birikmesi için bir ön koşuldur (Korthuis ve Granger, 1993).

Postiskemik dokularda sitotoksik oksidanların önemli bir başka potansiyel kaynağı ise, nötrofilik NADPH (indirgenmiş NADP) oksidaz (NOX)'dır. Fagositik lökositler, sitoplazmik NADPH'yi NADP<sup>+</sup>'ya (nikotinamidadenin dinükleotit fosfat) oksitleyen, zara bağlı NOX enzimini içerir. Tıpkı ksantin oksidaz gibi, NOX da süperoksit ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretebilir (Grisham, 1989; Weiss, 1989). Buna ek olarak, nötrofil türevi süperoksit ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin düşük moleküler ağırlıklı demir ile etkileşime girerek hidroksil radikalleri oluşturduğu da öne sürülmüş olmakla birlikte, son veriler granülositlerin in vivo olarak çok az miktarda hidroksil radikali ürettiğini göstermektedir (Winterbourne, 1986). Bu durum; aktive edilmiş granülositler tarafından salınan ve granüler bir enzim olan miyeloperoksidaz (MPO)'ın, neredeyse tüm H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi tüketme, dolayısıyla bu oksidanın süperoksit ve demir ile etkileşimini sınırlandırma yeteneği ile ilişkilendirilmiştir (Korthuis ve Granger, 1993).

Aktive nötrofiller tarafından da salgılanan MPO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve klorür iyonlarından hipokloröz asit (HOCl) oluşumunu katalize eder. HOCl, güçlü bir oksitleyici ve klorlayıcı maddedir (Grisham, 1989; Weiss, 1989). Nötrofil türevli HOCl ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>de nötrofilik

proteazlar tarafından katalize edilen hidrolitik reaksiyonları başlatabilir (Weiss, 1989). Örneğin HOCl; doku proteazları ve antiproteazlar arasındaki dengeyi, ya birkaç plazma proteaz inhibitörünün oksidatif inaktivasyonu ya da latent proteazların (kollajenaz, jelatinaz gibi) ve yahut da her ikisinin aktivasyonu ile değiştirebilir. Birkaç rapor, nötrofil türevli proteazların, İR'nin neden olduğu hücresel işlev bozukluğunda önemli bir rol oynayabileceğini göstermektedir (Inauen, 1989). Bu nedenle; nötrofilin, granülositin yıkıcı potansiyelini kolaylaştırmak için NOXenzim sistemini ve granüler bileşenleri koordineli bir şekilde kullandığı açıktır (Korthuis ve Granger, 1993).

### ***Mitokondriyal Elektron Transport Zincirinin Aracılık Ettiği Radikal Üretimi***

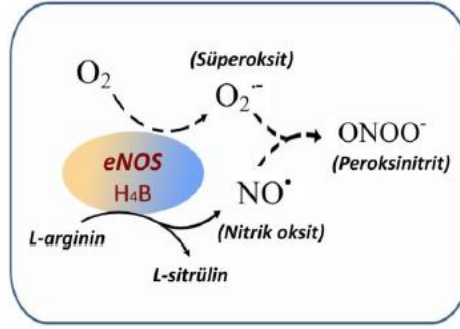
Mitokondriyal elektron transport zinciri (ETZ), organizmadaki en önemli serbest radikal kaynaklarından biridir. Mitokondriyum ise, normal fizyolojik koşullarda hücre içi oluşan süperoksitin başlıca kaynağıdır (Solaini, 2005). Hücrelere giren oksijen, mitokondri tarafından tüketilirken bunun yaklaşık %98'i suya indirgenir. Ancak bu sistemdeki elektron taşıyıcılar, zincirden nikotinamidadeninükleotidhidrid (NADH) dehidrojenaz basamağı (kompleks 1) ve Ubikinon (Koenzim Q) basamağı olmak üzere iki yeden oksijene elektron sızdırır (Yöntem ve Ünalı, 2018). Kalan %1-2'lik kısım (Solaini, 2005), sistemin son komponenti olan sitokrom oksidaz enziminden, elektron kaçağı nedeniyle indirgenemeyerek süperoksit ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> radikallerine dönüşür (Yöntem ve Ünalı, 2018). Normalde oluşan bu süperoksitler, SOD enzimi tarafından hızlıca dismutasyona uğratılır. Ancak iskemi durumunda ETZ'de moleküler oksijen yokluğuna bağlı olarak elektron akışı durduğundan bu kompleksler (özellikle kompleks 1) indirgenmiş düzeyde kalır. Reperfüzyonda ise yüksek yoğunlukta moleküler oksijenin geri gelişi ile ETZ'den elektron sızıntısı artar ve patolojik süreç süperoksit üretiminin artışı ile devam eder (Solaini, 2005). Ayrıca serbest radikallerin mitokondriyal membran yapılarında oluşturduğu hasar sonucunda mitokondrilerden ortama daha fazla serbest radikal salınır (Özcan, 2015). Mitokondriyal ROS üretiminden sorumlu diğer bir önemli mekanizma; özellikle kardiyak İR hasarında oksidatif stres oluşumunda önemli bir rol oynadığı gösterilmiş olan monoaminoksidaz (MAO) enzimi ile şekillenir (Kvietys, 2012). Mitokondriyum dışı zarında bulunan MAO, normal şartlarda nörotransmitterdeaminasyonundan sorumludur ancak reaksiyon sırasında yan ürün olarak pro-oksidan bir molekül olan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi de üretir (Di Lisa, 2009).

## ***Nitrik oksit-Süperoksit Dengesindeki Bozulmanın Aracılık Ettiği Radikal Üretimi***

Nitrik oksit (NO<sup>•</sup>), reaktif bir radikal olup başlıca nitrik oksit sentaz (NOS) ailesinin endotelial (eNOS), indüklenebilir (iNOS) ve nöronal (nNOS) izoformları tarafından sentezlenir (Szocs, 2004). Reaksiyon dokularda; oksijen varlığında, tetrahidrobiopterininkofaktörlüğünde, arginininsitrülline okside olmasıyla gerçekleşir (Hein,2003). Normal fizyolojik koşullarda, eNOS tarafından endotelial hücrelerde oldukça az miktarda üretilen NO<sup>•</sup>'nun; vazodilatasyon, düz kaslarda relaksasyon, lökosit adhezyonunu engelleme, trombosit fonksiyonları ve hücre içi sinyal iletimini düzenleme gibi çeşitli görevleri vardır (Esmé, 2006). Oldukça kompleks etki mekanizmalarına sahip olan NO<sup>•</sup>'nun, bu etkilerinin üretim hızı ve miktarına göre değişkenlik gösteriyor olması reperfüzyon hasarında kritik rol oynar (Hein, 2003).

Normal şartlar altında NO<sup>•</sup> üretim hızı süperoksitin oldukça üzerindedir. Bu durum, hücre içi düşük süperoksit seviyelerinin etkili bir biçimde temizlenmesine, düz kasta guanilatsiklaz aracılığıyla arteriyol tonusun düşmesine, trombosit agregasyonu ve trombüs oluşumunun önlenmesine ve lökositler ile endotel hücre yüzeyi arasındaki adeziv etkileşimlerin en aza indirgenmesine olanak tanır. Reperfüzyon hasarında ise, endotel hücrelerinde NO<sup>•</sup> ile süperoksit arasındaki denge değişir ve hem arteriyollerde endotel bağımlı vazodilatasyonda bozulma, hem de venüllerde akut inflamatuvar yanıt oluşumu meydana gelir. Öyle ki, iskemik dokularda reperfüzyondan dakikalar sonra NO<sup>•</sup> ile süperoksit arasındaki denge süperoksit yönüne kayar. Dengedeki bu farklılaşma, hem endotel hücreleri ve yapışık lökositler tarafından üretilen süperoksit miktarında büyük bir artışa hem de eNOS aracılı NO<sup>•</sup> sentezinde bir azalmaya neden olur (Teke, 2008).

Bununla birlikte, endotel hücrelerince üretilen çok düşük seviyelerdeki NO<sup>•</sup>, bol miktardaki süperoksit ile reaksiyon verme eğilimindedir (Teke, 2008). Reperfüzyonda oluşumu oldukça artan süperoksit radikalleri, ortamda endojen olarak bulunan NO<sup>•</sup> ile reaksiyona girerek (Şekil 2.8.) oldukça reaktif ve potansiyel olarak toksik bir bileşik olan peroksinitrit (ONOO<sup>•</sup>)'in oluşumuna sebep olur (Szocs, 2004).



**Şekil 2.8.** İskemi-reperfüzyonda oluşumu artan süperoksit, nitrik oksitle birleşerek peroksinitrit üretimine yol açar (Özcan, 2015)

Endojen olarak üretilen NO<sup>•</sup> miktarının belirgin olarak azalması, hemNO<sup>•</sup>'nun koruyucu etkilerinin kısıtlanmasına hem de oksidatif stresin artmasına neden olur (Vaghasiya, 2010). Üstelik endotelial ortamda NO<sup>•</sup> kalmadığı için endotel bağımlı, NO<sup>•</sup> aracılı vazodilatasyon da gelişemez. Ayrıca, NO<sup>•</sup> yokluğunda meydana gelen süperoksit birikimi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretiminde artış meydana getirir. Bu iki reaktif oksijen metaboliti (süperoksit ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) venüllerde 1) fosfolipaz aktivasyonu aracılığıyla trombosit aktive edici faktörün üretimine yol açarak; 2) depolanmış P-selectin havuzunu lökosit yuvarlanmasına aracılık edecek şekilde endotel hücre yüzeyine göndererek; 3) komplemanın aktivasyonuna ve endotel hücre yüzeyinde birikimine yardımcı olarak reperfüzyon hasarına katkıda bulunur (Teke, 2008).

### ***Kompleman Sistemin Aracılık Ettiği Radikal Üretimi***

Kompleman sistem, doğuştan gelen bağışıklık savunması ve inflamasyonun önemli bir aracısı olarak uzun süredir tanınmaktadır (Arumugam ve ark., 2004). Ancak İR hasarındaki rolü tam olarak açıklığa kavuşmuş değildir (Thrane, 2007). İR hasarı, bir dizi enflamatuar mediatörün üretimi ile sonuçlanacak olan lokal kompleman aktivasyonunu da indüklemektedir. Aktivasyon, kompleman faktörler C3a, C5a ve membran atak kompleksi (MAC)'nin üretimine yol açmaktadır (Arumugam ve ark., 2004)

Endotel hücrelerinde bulunanlar da dahil olmak üzere hücre zarları, kompleman saldırılarına karşı koruma sağlayan proteinler içerir. Bu koruyucu proteinlerin hasar görmesi, İR hasarı sırasında kompleman aktivasyonunun ilerlemesine izin veren olası mekanizmalardan biridir. Kompleman sistem; antikora bağımlı klasik yol, alternatif yol veya mannoz bağlayıcı lektin (MBL) / MBL ilişkili serin proteaz (MASP) yolu (MBL/MASP) olmak üzere üç yoldan herhangi biri tarafından etkinleştirilebilir. Klasik yol tipik olarak, immünoglobulin M (IgM) veyaimmünoglobulin G(IgG) antijen/antikor kompleksleri, komplemanın birinci bileşeni olan C1'e bağlandığında başlatılır. Alternatif yol, çeşitli

kompleks polisakkaritlerin yanı sıra mikrobiyal hücre yüzeyleri tarafından tetiklenir ve C3'ün yavaş üretimi ile karakterize edilir. MBL/MASP yolu ise, C4 ve C2 bölünmesine ve ardından C3'ün aktivasyonuna neden olur. C3a, eozinofillerin ve mast hücrelerinin göçüne aracılık eder. C5, C5a ve C5b'yi üretmek için C5 dönüştürücü tarafından bölünür. C3a, C5a'dan daha düşük potansiyelle ve daha az biyolojik etkiye sahiptir (Arumugam ve ark., 2004).

PMNL'ler, monositler ve makrofajlar üzerindeki C5a reseptörüne yüksek afiniteyle bağlanarak nötrofil yapışkanlığını artırır ve agregasyonu uyarır. C5a ise, oksidatif metabolizmayı ve nötrofillerde ROS üretimini uyarır. Ayrıca makrofajlardan ve PMNL'lerden lizozomal enzimlerin; monositlerden ve makrofajlardan ise proinflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını indükler. C5b ise, C5b-C8'i oluşturmak için C6, C7 ve C8'e sırayla bağlanır; bu durum da, MAC oluşturmak için C9'un polimerizasyonunu katalize eder. C3a, C4a ve C5a, anafilatoksinler olarak adlandırılmaktadır. Mast hücrelerinden ve fagositlerden çeşitli araçların salınmasını indüklerler ve bu da inflamatuvar yanıtları artırır (Arumugam ve ark., 2004).

### **2.3.3. İskemi reperfüzyon hasarında serbest radikaller ve organizmaya etkileri**

Serbest radikaller dış orbitalinde bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren, yüksek enerjili atom veya moleküllerdir (Nawar, 1996). Ortaklanmamış elektronları nedeniyle radikaller, radikal olmayanlara göre daha kararsız, daha kısa ömürlü ve daha az stabildirler. Yapılarındaki dengesizlik nedeniyle, çok aktif yapıları olan serbest radikaller, tüm hücre bileşenleriyle etkileşebilme özelliğine sahiptir. Eşlenmemiş elektron, bu molekülleri oldukça reaktif hale getirir. Etkileşime girdikleri moleküllerden bir elektron alarak veya vererek molekülün yapısını bozarlar. Böylece radikal olmayan bir yapı da radikale dönüşmüş olur (Yöntem ve Ünalı, 2018). Günümüzde insan hastalıklarında serbest radikallerin rolünün araştırılması hız kazanmıştır (Karabulut ve Gülay, 2016). Başta kanser olmak üzere kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, romatoid artrit gibi pek çok hastalıkta ve yaşlanma olayında radikallerin etkileri ortaya konmuştur (Yöntem ve Ünalı, 2018).

Aerobik metabolizması olan memelilerde, başlıca serbest radikal kaynaklarının moleküler oksijenden türediği kabul edildiğinden; biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan serbest radikallerdir. ROS ifadesi; oksijenin metabolik reaksiyonlarda son ürün olarak suya indirgenmesi sırasındaki basamaklarda açığa çıkan çok sayıda yüksek derecede reaktif ara ürünleri tanımlamak için kullanılır. Bu ara ürünlerin hepsi

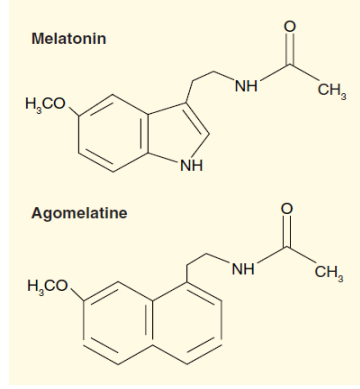
radikal olmamakla birlikte; hücrenin çeşitli fraksiyonlarında hidrojen, azot, karbon, kükürt gibi atomlarla etkileşebilmektedirler (Yöntem ve Ünalı, 2018).

#### **2.4. Agomelatin**

Depresyon yaşam kalitesini ve iş gücünü olumsuz yönde etkileyen önemli bir mental hastalıktır. Dr. Jozeph Schildkraut'un "monoamin hipotezi" depresyon farmakoterapisinde bir dönüm noktası olarak kabul edilir (Schildkraut, 1965). Diğer monoaminler olan serotonin ve dopaminin de katılımı ile monoamin hipotezinin kapsamı ve önemi giderek artmıştır. Ancak depresyon farmakoterapisinin bazı dirençli olgularda yetersiz kalması, ilaçların çoğunda antidepresan etki için birkaç haftalık süreye ihtiyaç duyulması, bazı antidepresanların başlangıçta belirtileri daha da kötüleştirebilmesi, antidepresanların büyük bir kısmında gözlenen cinsel işlev bozuklukları gibi yan etkiler, yaşlılarda ve kardiyovasküler sorunu olanlarda bazı antidepresanların kullanım güçlüğü gibi nedenler her zaman yeni ve daha etkili antidepresan ilaçların geliştirilmesi konusunu gündemde tutmuştur. Son zamanlarda depresyon farmakoterapisine yönelik ilaç geliştirme çalışmalarında melatonin sistemi gibi monoaminlerin dışındaki başka hedeflere yönelim olmuştur (Catena-Dell'Osso ve ark., 2012).

Deney hayvanlarında gerçekleştirilen çalışmalarda eksojen olarak verilen melatonin antidepresan benzeri etkiler oluşturduğu (Raghavendra ve ark., 2000) ve kronik stresin neden olduğu olumsuz etkileri tersine çevirdiği (Kopp ve ark., 1999) gösterilmiştir. Bununla beraber, klinik kullanımda elde edilen veriler bu gözlemleri çok fazla desteklememiştir. Klinik çalışmaların sonuçları melatoninin depresyon hastalarında uyku-uyanıklık düzenini yeniden oluşturma ve uyku süresini artırma dışında önemli bir etkisinin olmadığına işaret etmektedir (Hickie ve Rogers, 2011). Bu sebeple yeni antidepresan geliştirme çalışmaları, melatoninin kendisinden çok depresyonun tüm klinik semptomlarına etkili olması beklenen analoglarını geliştirmeye yönelmiştir. Bu çalışmalar sırasında geliştirilen birçok melatonin analogundan biri de agomelatin'dir (Uzbay, 2012).

Agomelatinin (N-[2-(7-metoksinaftalen-1-yl)etil]acetamid) molekül formülü  $C_{15}H_{17}NO_2$  şeklindedir (Şekil 2.9.). Pineal bezde sentezlenip salıverilen melatonin hormonunun sentetik analogudur. Melatoninden kimyasal yapısında indol grubu yerine bir naftalenbioestere grubu ve NH grubu olan yerde HC=CH grubu içermesi ile ayrılır (Uzbay, 2012).



**Şekil 2.9.** Melatonin ve agomelatinin yapısal olarak karşılaştırılması (Kennedy, 2007)

DeneySEL çalışmalar agomelatinin beyin melatonin sistemini modüle ettiğini ve özellikle MT1 ve MT2 melatonergic reseptörler ile etkileştiğini göstermektedir. Agomelatin melatonin MT1 ve MT2 reseptörleri üzerine güçlü bir agonist aktiviteye sahip olmakla beraber, monoamin kaynaklı serotonin 5-HT<sub>2C</sub> reseptörü üzerinde antagonize edici etki gösterir (Uzbay, 2012). Serotonin 5-HT<sub>2C</sub> reseptörlerini seçici olarak bloke etmesi sekonder olarak frontokortikal yollarda noradrenalin ve dopamin aktivitesinde artışlara neden olur. Agomelatinin bu özelliği, antidepresan etkinliğine katkıda bulunur (Millan ve ark., 2003; Stahl, 2007).

Melatonin MT1 ve MT2 reseptörleri hipotalamusun suprakiazmatik nükleus (SCN)'unda, hipokampusta, nükleus akumbens ve frontal kortekste bulunmaktadır. 5-HT<sub>2C</sub> reseptörleri ise SCN'nin yanı sıra ventraltegmental alan (VTA)'da, frontal korteks, lokus seruleus, amigdala ve hipokampus gibi depresyon ve anksiyete ile ilişkili limbik yapılarda yaygın olarak bulunur (de Bodinat ve ark., 2010). Agomelatinin yapısal nöroplastisite üzerine hücreSEL düzeyde olumlu etkileri vardır. Bu olumlu etkilerinin ilacın melatonergic MT1 ve MT2 reseptörleri uyarıcı ve serotonergic 5-HT<sub>2C</sub> reseptörleri bloke edici etkilerinin aynı anda ve birlikte çalışması ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür (Racagni ve ark., 2011).

Agomelatin serotonin düzeylerini arttırmadığından cinsel işlev bozukluğu, psikomotor ajitasyon, vücut ağırlığında artış ve serotonin sendromu gibi serotonin temelli etki düzeneğine sahip diğer antidepresanlarda gözlenen pek çok yan etki açısından avantajlı bir konumdadır (Hickie ve Rogers, 2011). Agomelatin ile kronik tedavinin ani kesilmesi sonrası kesilme semptomları görülmez ve ilacın bağımlılık yapma potansiyeli yoktur (Uzbay, 2012). Monoamin gerilimini inhibe ederek etkili olan antidepresanların aksine agomelatin "rapideyemovement" (REM) uykusunu ne depresyonlu hastalarda ne de sağlıklı kişilerde değiştirmez (de Bodinat ve ark., 2010). Agomelatının cinsel işlevler üzerine etkilerini

inceleyen çalışmaların sonuçları genellikle olumludur. İlaç cinsel işlevler üzerine etkileri bakımından bupropion, nefazadon, trazodon, mirtazapin ve tianeptin gibi zararsız antidepresanlar arasında değerlendirilmektedir (Montejo ve ark., 2011).

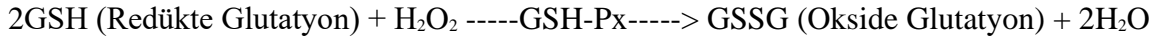
Melatoninin işlevsel mekanizmalarından biri de antioksidan etkilerle kendini gösterir. Melatoninin antioksidan etkileri Iană ve arkadaşları tarafından 1991 yılında ortaya konmuş ve sonrasında yapılan çalışmalarla da desteklenmiştir (Iană ve ark., 1991). Agomelatinin diğer melatonin agonistleri arasında her yönüyle melatonine daha fazla yakın özellik göstermesi ve birçok açıdan daha üstün olması, çok güçlü bir antioksidan olan melatoninin bu yönünün agomelatin için de araştırılması fikrini gündeme getirmiştir (Aykora, 2020). Antidepresan özellikte olduğu kadar antioksidan sistemlerdeki işlevi ve etkilerinin de melatonin kadar güçlü olabileceği düşüncesi bilimsel çalışmalarda önemle yerini almıştır. Bu amaçla; böbrek (Aykora, 2020; Kartal, 2019), ovaryum (Yapca ve ark., 2014), serebrum (Chumboatong ve ark., 2017), miyokard (Jia ve ark., 2018) vb. pek çok doku ve organda agomelatinin antioksidan etkilerinin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur. Ayrıca kontraksiyon işlevi açısından fonksiyonel önem taşıyan doku ve organlar için de agomelatinin kasılma cevabına etkileri araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Günümüzde mesane, uterus, ince bağırsak vb. kasılabilir yapıların agomelatin ile olan etkileşimini inceleyen çalışmalarla karşılaşmak mümkündür.

## **2.5.Selenyum**

Selenyum son yıllarda üzerinde en çok araştırma yapılan minerallerden biridir (Mehmetoğlu,2004). Memeli hücreleri için önemli bir eser elementtir (Nazıroğlu, 2009). Selenyum organik ve inorganik bileşikler halinde bulunur ve vücuttaki birçok metabolik olayda, birçok biyokimyasal tepkimede görevi olduğu bilinmektedir. Bitkilerde genellikle selenometiyonin ve selenosistein halinde bulunan, vücut için esansiyel bir elementtir. Bu özelliği, glutatyon peroksidaz (GSH-Px) enziminin yapısına katılması ile ilgilidir (Yarsan, 1998).

Selenyum, GSH-Px enzim aktivitesini artıran, iyi bilinen bir antioksidandır (Gamain ve ark., 1996). Peroksitlerin indirgenmesini katalize eden ve böylece hücreleri oksidatif hasardan koruyan GSH-Px enziminin aktif bölgesinin bir bileşenidir (Yarsan, 1998). Dolayısıyla selenyum, GSH-Px antioksidan enziminin bir kofaktörüdür (Nazıroğlu, 2009).

Selenyumun vücuttaki en önemli fonksiyonu, GSH-Px'in yapısında yer almasıdır (Mehmetoğlu, 2004; Yarsan, 1998). Bu enzim glutatyonun oksidasyonunu katalize eder. Böylece indirgenmiş glutatyon haline çevirir. Reaksiyon şöyledir:



Bu reaksiyonla birlikte; GSH-Px, redükte glutatyonu okside ederken H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ve yağ asidi hidroperoksitleri yok edilerek eritrositler korunmuş olur (Mehmetoğlu, 2004).

Antioksidan bir etkiye sahip olan E vitamini (alfa tokoferol) ile selenyum metabolizması birbirleri ile yakın ilişkilidir (Mehmetoğlu, 2004). Bunun doğal bir sonucu olarak, GSH-Px, selenyum ve E vitamini arasında da kuvvetli bir ilişki vardır. E vitamini ve selenyum eksikliği sonucunda, GSH-Px enzim aktivitesinde bir azalma meydana gelir. Selenyum ve E vitamini sinerjik davranarak, birbirlerinin organizma için gerekli miktarlarını ayarlarlar. Selenyum E vitamininin lipoproteinlerde tutulmasını sağlarken, E vitamini de selenyum kaybını önler ve onu organizmada aktif halde tutar (Yöntem ve Ünalı, 2018).

C Vitamini (Askorbik Asit), E Vitamini, beta karoten ve selenyum kombinasyonunun verilmesinin plazma lipit peroksitlerinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (Yöntem ve Ünalı, 2018). Lipit peroksidasyonunun önlenmesinde E vitamini ve selenyumun etkin bir rolü bulunmaktadır (Burton ve Traber, 1990). Lipid peroksidasyonundan koruyucu rolü açısından iki tip GSH-Px enzimi vardır. Bunlardan birincisi, selenyum bağımlı ikincisi ise selenyum bağımsız GSH-Px'dir. Selenyum bağımlı tip GSH-Px çevresel baskı altındadır ve selenyum eksikliğinde etkinliği azalır. Selenyum bağımlı GSH-Px in-vivo olarak etkinlik gösterir, bu etkiyi H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin indirgenmesi şeklinde gerçekleştirir. Ayrıca Fenton tepkimesinde hidroksil grubunun etkisine karşı doymamış yağ asitlerini korur. Selenyum bağımlı GSH-Px, selenyum bağımsız olandan daha etkilidir. Selenyum bağımlı olmayan GSH-Px organik hidroperoksitleri indirgemesine karşın H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi parçalayamaz (Yarsan, 1998).

Oksijen varlığında, doymamış yağ asitlerinin çift bağlarını kıran zincirleme reaksiyonlar meydana gelir. Bu reaksiyonlar, oluşmuş kimyasal radikaller ortadan kalkıncaya kadar sürer. Özellikle GSH-Px enziminin kofaktörü olan selenyum, bu radikallerin ortadan kaldırılmasında önemlidir. (Yöntem ve Ünalı, 2018). Lipid peroksidasyon olayını teşvik eden bir madde olan monensinin bu yöndeki etkilerinin önlenmesine yönelik olarak yapılan bir çalışmada, etlik piliçlerde vitamin E ve selenyumun koruyucu yöndeki etkileri ayrı ayrı ve birlikte verilerek değerlendirilmiştir. Bu çalışma sonucunda, özellikle vitamin E ve selenyumun bir arada verilmesinin bu olayın belirleyici unsurlarından olan malondialdehit (MDA)'in karaciğerdeki miktarında önemli oranda azalmalara neden olduğu gösterilmiştir (Wills, 1987).

Son araştırmalar selenyumun immün mekanizmalar ve mitokondriyal ATP sentezi gibi olaylarda da rol oynayabileceğini düşündürmektedir. Selenyum eksikliğinde kalpte dilatasyon (büyüme) ve bunun sonucunda kalp yetmezliği meydana gelir (Mehmetoğlu, 2004). Selenyum, tiroid hormon sentezinin düzenlenmesi, fagositoz ve mitokondriyal fonksiyon gibi çeşitli fizyolojik düzenleyici fonksiyonlara da sahiptir (Nazıroğlu, 2009). Selenyumun apoptoz seviyesi ve kaspaz aktivasyonu üzerinde hücreye özgü etkilerinin olduğunu gösteren kanıtlar vardır. Selenyum, normal hücreleri apoptozundown regülasyonu yoluyla apoptoza karşı korurken, kanser hücrelerinde oksidatif stresin up regülasyonu yoluyla apoptozu indükler (Simsek ve ark., 2016).

Selenyumun İR hasarı üzerinde yararlı etkileri olduğu da gösterilmiştir. Selenyumun antioksidan aktivitesi, deneysel çalışmalarda gösterildiği gibi kalp, akciğer, beyin, böbrek ve karaciğerdeki İR hasarına karşı koruma sağlamaktadır (Kara ve ark., 2016). Selenyum, 1990'ların başından beri bildirildiği üzere, vücutta oksidatif stresi azaltan eser bir elementtir (Poltronieeri ve ark., 1992). Selenyum üzerine yapılan birçok çalışma, selenyumun oksidatif stres ve İR hasarını azalttığını ortaya koymuştur (Guo ve ark., 2012).

Selenyumun ratlarda testiküler İR hasarının neden olduğu oksidatif stresi ve apoptozu azalttığı da bildirilmiştir. Selenyumun bu koruyucu özelliklerine, antiapoptotik ve antioksidatif etkileri aracılık ediyor gibi görünmektedir (Kara ve ark., 2016). Erken dönem deneysel hayvan çalışmalarında, selenyumun sadece sperm gelişimi ve hareketliliği için değil, aynı zamanda testosteronun biyosentezi ve salgılanması için de önemli olduğu gösterilmiştir (Behneve ark., 1982). Selenyum eksikliğinin vimentinimmünoreaktivitesinin yoğunluğunu hafifçe azalttığı ve germ hücre apoptozunu önemli ölçüde artırdığı da ortaya konmuştur (Erkekoğlu ve ark., 2012). Çalışmalar, detorsiyondan önce tek bir sodyum selenit dozunun, lipid peroksidasyonunu azaltarak ve antioksidatif kapasiteyi artırarak testisedoku hasarının biyokimyasal belirteçlerini değiştirdiğini göstermektedir (Avlan ve ark., 2005).

### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

Tez projesi, Konya Necmettin Erbakan Üniversitesi (NEÜ) Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi (KONÜDAM) Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'nun (HADYEK) 2021-031 numaralı kararı ile onaylanmış, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi tarafından 211318007 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.

#### 3.1. Deneysel Hayvanlarının Genel Özellikleri ve Barınma Koşulları

Çalışma kapsamında kullanılan 40 adet Wistar albino ırkı yetişkin erkek rat KONÜDAM tarafından temin edilmiş olup; süreç boyunca hayvanların beslenme ve barınmaları, tüm cerrahi uygulamalar, ilaç enjeksiyonları ve dokularının alınması bu merkezde gerçekleştirilmiştir. Ratlar, kolayca hareket edebilecekleri, sınırsız olarak erişebilecekleri su kapları ve yem bulunan, konvansiyonel plastik kafeslerde barındırılmış, kafeslerin temizliği haftalık olarak yapılmış ve altlık olarak talaş kullanılmıştır. Standart laboratuvar şartlarında 12 saat gece/gündüz periyoduna uygun olarak, %45-55 nemli ortamda ve 21-23°C oda sıcaklığında yaşamlarını sürdüren ratların, dekapite edilecekleri güne kadar ortam şartları değiştirilmemiştir.

#### 3.2. Deneysel Gruplarının Belirlenmesi

Randomize olarak 5 gruba ayrılan (n=8) ve ağırlıkları 301-443 gram arasında değişen ratlar; günlük ilaç dozu belirlenirken bir standart oluşturabilmek adına: (I) 300-350 gram aralığında bulunanlar, (II) 350-400 gram aralığında bulunanlar ve (III) 400-450 gram aralığında bulunanlar olmak üzere 3 farklı ağırlık kategorisine dâhil edildiler. Buna göre, ilk kategoride yer alan tüm ratların ağırlıkları ortalama değer olan 325 gram, ikinci kategoride yer alanlar 375 gram ve son kategoride yer alanlar 425 gram olarak kabul edildi. Böylelikle deney süresince yaşanacak kısmi kilo alımı veya kayıplarının, ilaç dozunu etkilemesinin önüne geçilmiş oldu.

**Sham Operasyon Grubu (ShamOp):** Bu gruptaki ratlara 14 gün boyunca herhangi bir medikal ya da cerrahi uygulama yapılmadı. 15. gün ketamin-xylazin (75 mg/kg-8 mg/kg) anestezisi altında perineal bölge insize edildi; testislere herhangi bir müdahalede bulunulmadan insizyon bölgesinesütür atıldı. Bu işlemden 24 saat sonra, yine anestezi altında, bilateral orşiektomi işlemleri yapılan ratlar servikal dislokasyonla sakrifiye edildi. Orşiektomi sonrası sağ taraf testisler, kapsüller kontraksiyon amplitüddeğerleri incelenmek üzere krebs çözeltisi içerisinde izole organ banyosuna alındı; sol taraf testisler ise

histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehit çözeltisi içerisinde ilgili anabilim dalı laboratuvarına gönderildi.

**İskemi Reperfüzyon Hasar Grubu (İR):** Bu gruptaki ratlara 14 gün boyunca herhangi bir medikal ya da cerrahi uygulama yapılmadı. 15. gün ketamin-xylazin (75 mg/kg-8 mg/kg) anestezisi altında cerrahi olarak izole edilen testislere, medial yönde 720° bilateral torsiyon uygulandı. Torsiyone halde skrotal boşluğa fikse edilip kapatılan testisler, 4 saat süreyle iskemik hasara maruz bırakılmış oldu. 4. saatin sonunda testisler, anestezi altında detorsiyone edildi ve tekrar skrotal boşluğa yerleştirilip kapatıldı. 24 saatlik reperfüzyonun devamında, ratlara anestezi altındabilateral orşiektomi işlemleri yapıldı, ardından ratlar servikal dislokasyonla sakrifiye edildiler. Orşiektomi sonrası sağ taraf testisler, kapsüler kontraksiyon amplitüddeğerleri incelenmek üzere krebs çözeltisi içerisinde izole organ banyosuna alındı; sol taraf testisler ise histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehit çözeltisi içerisinde ilgili anabilim dalı laboratuvarına gönderildi.

**Agomelatin Kontrol Grubu (AgoK):** Bu gruptaki ratlara 14 gün boyunca, her gün aynı saat aralığında (13.50-14.10) olmasına dikkat edilerek ve intraperitoneal olarak, 1 cc distile su içerisinde çözdürülmüş, tek doz (20 mg/kg) agomelatin verildi. 15. gün ketamin-xylazin (75 mg/kg-8 mg/kg) anestezisi altındabilateral orşiektomi işlemi yapıp ratlar servikal dislokasyonla sakrifiye edildi. Orşiektomi sonrası sağ taraf testisler, kapsüler kontraksiyon amplitüddeğerleri incelenmek üzere krebs çözeltisi içerisinde izole organ banyosuna alındı; sol taraf testisler ise histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehit çözeltisi içerisinde ilgili anabilim dalı laboratuvarına gönderildi.

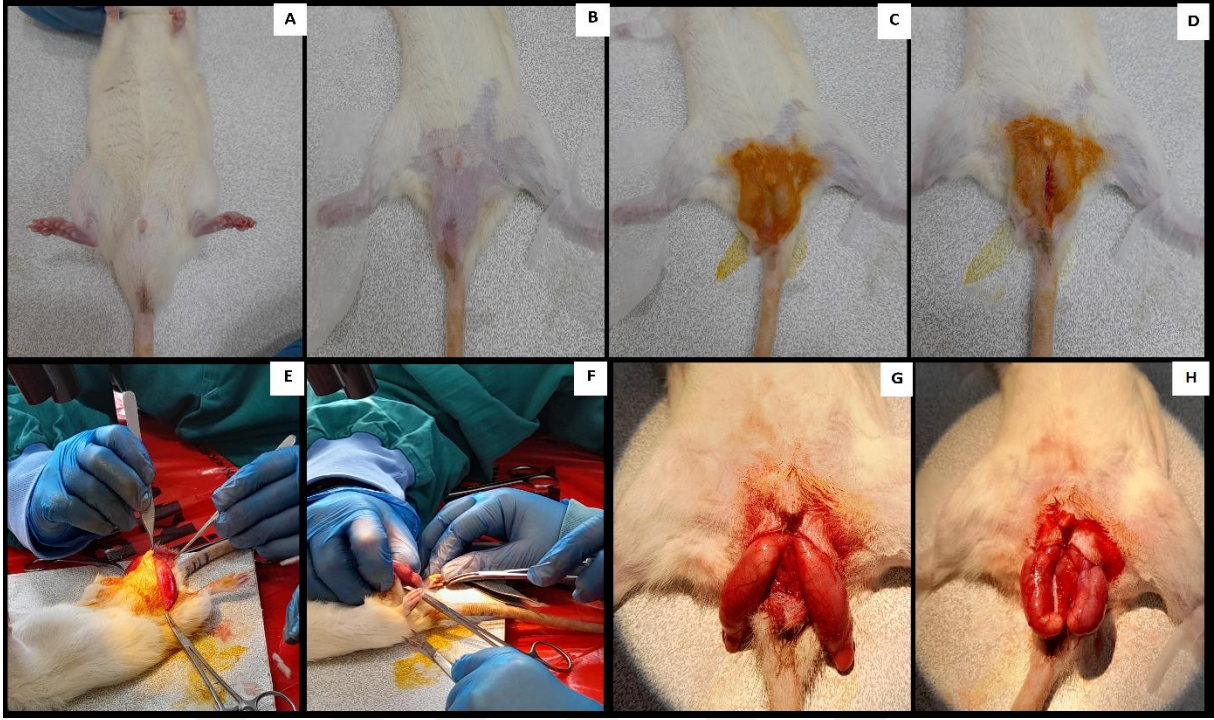
**Agomelatin + İskemi Reperfüzyon Hasar Grubu (AgoİR):** Bu gruptaki ratlara 14 gün boyunca, her gün aynı saat aralığında (13.50-14.10) olmasına dikkat edilerek ve intraperitoneal olarak, 1 cc distile su içerisinde çözdürülmüş, tek doz 20 mg/kg agomelatin verildi. 15. gün ketamin-xylazin (75 mg/kg-8 mg/kg) anestezisi altında cerrahi olarak izole edilen testislere, medial yönde 720° bilateral torsiyon uygulandı. Torsiyone halde skrotal boşluğa fikse edilip kapatılan testisler, 4 saat süreyle iskemik hasara maruz bırakılmış oldu. 4. saatin sonunda testisler, anestezi altında detorsiyone edildi ve tekrar skrotal boşluğa yerleştirilip kapatıldı. 24 saatlik reperfüzyonun devamında, ratlara anestezi altındabilateral orşiektomi işlemi yapıldı, ardından ratlar servikal dislokasyonla sakrifiye edildiler. Orşiektomi sonrası sağ taraf testisler, kapsüler kontraksiyon amplitüddeğerleri incelenmek üzere krebs çözeltisi içerisinde izole organ banyosuna alındı; sol taraf testisler ise

histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehit çözeltisi içerisinde ilgili anabilim dalı laboratuvarına gönderildi.

**Agomelatin + Selenyum + İskemi Reperfüzyon Hasar Grubu (AgoSeİR):** Bu gruptaki ratlara 14 gün boyunca, her gün aynı saat aralığında (13.50-14.10) olmasına dikkat edilerek ve intraperitoneal olarak, 1 cc distile su içerisinde çözdürülmüş, tek doz 20 mg/kg agomelatin ve tek doz 1,5 mg/kg selenyum sırasıyla verildi. 15. gün ketamin-xylazin (75 mg/kg-8 mg/kg) anestezisi altında cerrahi olarak izole edilen testislere, medial yönde 720° bilateral torsiyon uygulandı. Torsiyone halde skrotal boşluğa fikse edilip kapatılan testisler, 4 saat süreyle iskemik hasara maruz bırakılmış oldu. 4. saatin sonunda testisler, anestezi altında detorsiyone edildi ve tekrar skrotal boşluğa yerleştirilip kapatıldı. 24 saatlik reperfüzyonun devamında, ratlara anestezi altındabilateral orşiektomi işlemi yapıldı, ardından ratlar servikal dislokasyonla sakrifiye edildiler. Orşiektomi sonrası sağ taraf testisler, kapsüler kontraksiyon amplitüddeğerleri incelenmek üzere krebs çözeltisi içerisinde izole organ banyosuna alındı; sol taraf testisler ise histopatolojik inceleme için %10'luk formaldehit çözeltisi içerisinde ilgili anabilim dalı laboratuvarına gönderildi.

### **3.3. İskemi-Reperfüzyon Hasarı Modelinin Oluşturulması**

Cerrahi işlem uygulanan gruptardaki ratlar, öncelikle intramüsküler ketamin-xylazin (75 mg/kg-8 mg/kg) uygulanarak anestezi altına alındı. Devamında insize edilecek hat olan perine bölgesi tespit edildi. Penis kökü ile anüs arasında kalan saha ve çevresi tüylerden arındırıldı. Batikon yardımıyla dezenfekte edildi. Ardından yapılan insizyonla beraber yüzeyfasyalar geçilmeye başlandı. Testisler gubernakulum ve derin fasyalardan da arındırıldı. İzolasyonları tamamlanan testisler, bilateral olarak medial yönde 720°torsiyone edildi ve süturlanarak fikse edildi. Böylelikle 4 saat sürecek olan iskemik hasar süreci başlatılmış oldu (Şekil 3.1).



**Şekil 3.1.**Ratlarda 4 saatlik 720°medial cerrahi torsiyon ile iskemik hasarın indüklenmesi

Belirgin renk değişiminin de gözlemlenmesiyle birlikte testisler skrotalkeseye yerleştirildi. Devamında perinal insizyon hattı da suturelanarak kapatıldı. 4. saatin sonunda ratlar yine anestezi altında uyutuldu, insizyon hattı tekrar açıldı, testisler bilateral olarak lateral yönde 720°detorsiyone edildi, böylelikle 24 saat sürecek olan reperfüzyon hasarı süreci başlatılmış oldu. Ardından testisler serbestçe skrotal boşluğa tekrar yerleştirildi, perineal insizyon hattı tekrar suturelanarak kapatıldı. 24. saatin tamamlanmasıyla birlikte rat testislerinde torsiyon-detorsiyon uygulanarak iskemi-reperfüzyon hasarı modellenmiş oldu (Şekil 3.2.).



**Şekil 3.2.** Rat testisinde 4 saatlik 720°medial torsiyonu takiben 24 saatlik detorsiyon ile İR hasarı modellenmesi

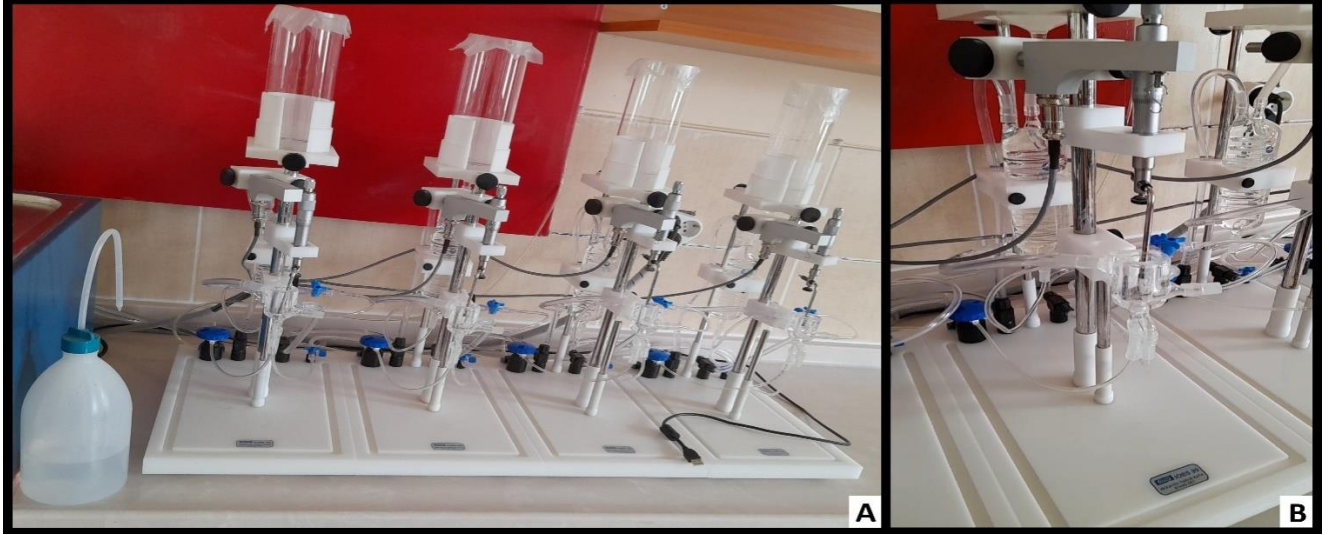
### 3.4. İzole Organ Banyosu Analizleri

Testisin kapsüler yapısında önemli bir komponent olan ve kontraksiyonunun spermi seminifer tübüllerden epididim başına iten mekanizmalardan biri olduğu varsayılan Tunica Albuginea tabakasının kasılma gücündeki değişiklikler izole organ banyosu sistemi ile araştırıldı. Bu amaçla, orşiektomi sonrası ratların sağ taraf testisleri kullanıldı. Cerrahi işlem sonrası ivedilikle krebs çözeltisi içerisine alınan testisler, skrotal kılıf ve yağ tabakası gibi çevre dokulardan izole edildikten sonra, şeritlere ayrılmadan, bir bütün olarak izole organ banyosu sistemine yerleştirildi (Şekil 3.3.).

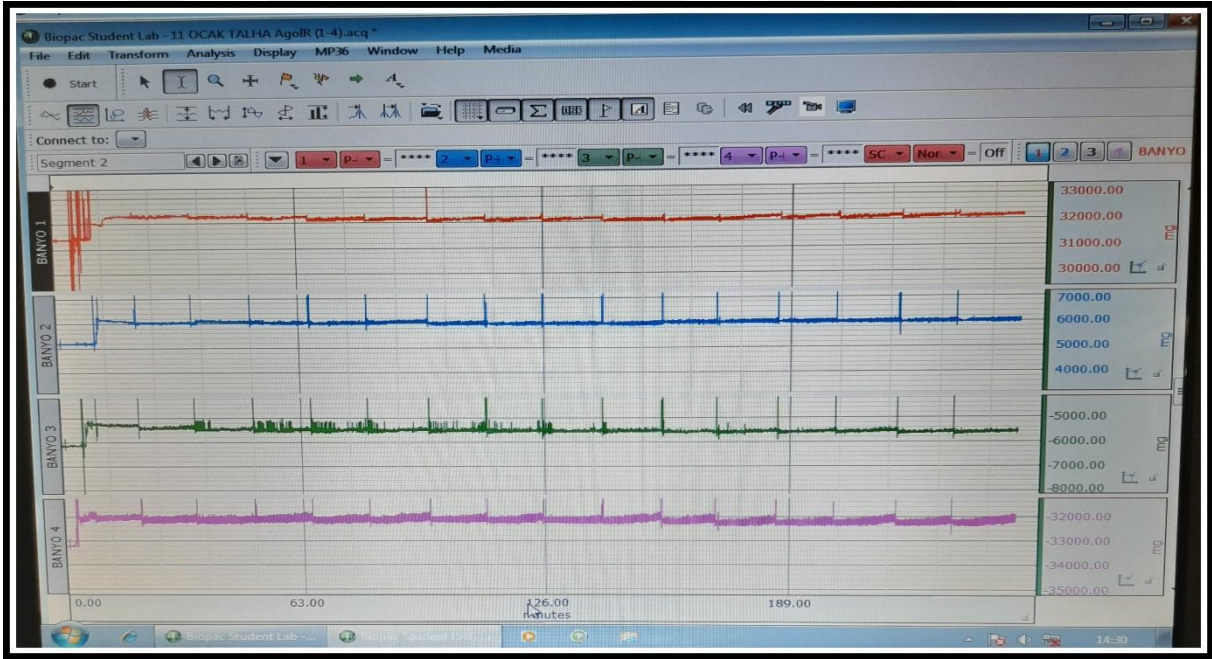


Şekil 3.3. İzole organ banyosunda 1 gr. gerim altından kasılma cevabı oluşturulan rat testisi

4 adet doku yerleştirme haznesi (Şekil 3.4.), termostatlı (36,5-37°C) dolaşım pompası, O<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub> karışım tüpü (HABAS) ve amplifikatörden oluşan izole organ banyosu sistemi, sahip olduğu yazılım programı sayesinde, 1 gram gerim altında kasılma cevabı oluşturulmuş testislerden amplifiye ettiği verileri bilgisayara aktardı (Şekil 3.5.). Ardından kayıt altına alınan veriler, genlik değerleri araştırılmak üzere istatistiksel incelemeye tabi tutuldu.



Şekil 3.4. İzole organ banyosu sistemi



Şekil 3.5. İzole organ banyosu tarafından oluşturulan kasılma cevabını amplifiye eden yazılım programı

1 litre distile su içerisine, sırasıyla eklenerek ve vortekstekarıştırılarak hazırlanan Krebs-Henseleit çözeltisinin kimyasal bileşenleri ve bunların miktarları aşağıdaki gibidir (Tablo 3.1.).

**Tablo 3.1.**Krebs-Henseleit çözeltisinin kimyasal bileşenleri ve miktarları

Bileşimin Molekül Formülü	Miktarı (gr)
CaCl <sub>2</sub> (Kalsiyum Klorür)	0,31
C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> (Glukoz)	2,07
NaHCO <sub>3</sub> (Sodyum Bikarbonat)	1,33
KCl (Potasyum Klorür)	0,35
NaCl (Tuz)	6,88
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (Potasyum Fosfat)	0,16
C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub> (EDTA)	0,005
MgSO <sub>4</sub> (Magnezyum Sülfat)	0,3

### 3.5. Histopatolojik Analizler

Histopatolojik incelemeler NEÜ Meram Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında, gruplardaki ratların sol taraf testisleri kullanılarak gerçekleştirildi. Spermatogenez ve seminifer tübül değişikliğini kıyaslamak için modifiye Johnsen Skorlama Sistemi (Johnsen, 1970) kullanıldı ve elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi. Tüm gruplardan alınan testis doku örnekleri %10'luk formaldehid solüsyonunda 48 saat fikse edildi. Rutin histolojik taktip tenon rayaklaşık 5µ kalınlığındaki kesitler alındı. Kesitler, Hematoksilen-Eozin ve Masson Trikrom boyaları ile boyanıp kapatıldı. Daha sonra boyanmış preparatları ışık mikroskobunda incelendi, fotoğraflandı. Seminifer tübüllerin olgunlaşmasını ve kalitesini araştırmak için boyanmış slaytlar 400x büyütmede değerlendirildi (her grup için ayrı ayrı 10 tübül) ve epitel olgunlaşmasına göre her bir tübüle 1-10 arası bir puan verildi (Tablo 3.2.).

#### 3.5.1. Hematoksilen-eozin (HE) boya protokolü

Alınan kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüvde tutuldu. Ardından ilki 20 dakika (etüvde) diğer ikisi 10'ar dakikalık üç farklı ksilene tabi tutuldu. Daha sonra dehidratasyon işlemi için 5 değişim azalan alkol serilerinden geçirildi, kesitler distile su ile çalkalandıktan sonra 10 dakika Hematoksilen (BS-001 LOT 022022.021 Harris Hematoksilen

BES LAB) ile boyandı. Boyamanın ardından, boyanın fazlasının dokudan uzaklaştırılması için 10 dakika akarsuda yıkanan kesitler, 2 dakika Eozin (Eosin Y Solüsyonu, Beslab ) boyası ile boyandı. Boyamadan sonra sırasıyla %70, %80, %96 ve 2 seri Absolüt alkolden geçirilen kesitler şeffaflaştırma amacıyla 20'şer dakika üç değişim ksilende tutulduktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı.

### 3.5.2. Masson-trikrom (MT)boya protokolü

Deparafinizasyon için 1 gece 60°C'lik etüvde bekletilen kesitler üç farklı ksilende tutuldu. Daha sonra azalan alkol serilerinden geçirdi. Distile suda çalkalandıktan sonra MassonTrikrom boyama seti (MassonTricchrome 100 testlik, Beslab) içerisindeki boya kitleri sırasıyla damlatıldı. Boyamanın ardından akarsu altında yıkanan kesitler artan alkol serilerinden geçirildi. Ksilan ile şeffaflaştırma yapıldıktan sonra entellan ile kapatıldı.

**Tablo 3.2.**Johnsen Skorlama Sistemi

Skor 1	Seminifer tübülde hiç hücre yok
Skor 2	Birkaç sertoli hücresi var, germ hücresi hiç yok
Skor 3	Sadece birkaç spermatogonyum var
Skor 4	Spermatozoon ve spermatid hiç yok, spermatosit sayısı <5
Skor 5	Birkaç tane spermatosit var, spermatid veya spermatozoon yok,
Skor 6	Hiç spermatozoon yok, spermatid sayısı <10
Skor 7	Çok miktarda spermatid var, ancak hiç spermatozoon yok
Skor 8	Germ epiteli çok tabakalı, lümeninde spermatozoon sayısı <10
Skor 9	Germ epiteli çok tabakalı ancak disorganize, lümendeki epitel hücreleri spermatozoonlarla karışmış,
Skor 10	Germ epiteli çok tabakalı, açık santral lümen, çok miktarda spermatozoon

### 3.6. İstatistiksel Analizler

Sayısal değişkenler için ortalama ve standart sapma istatistikleri verildi. Sayısal değişkenlerin analizinde karma etki modellerinden faydalanıldı. Posthoc karşılaştırmalarda en küçük kareler ortalamaları kullanıldı. Analizler R 4.2.2 programı ile yapıldı.  $p < 0.05$  anlamlı kabul edildi.

## 4.BULGULAR

### 4.1. İzole Organ Banyosu Verileri

1 gram gerim altında, izole organ banyosu aracılığıyla elde edilen kasılma cevapları (tunicaalbuginea), genlik parametreleri cinsinden değerlendirildi(Tablo 4.1.). Her grup ve rat için, genlik değerleri 30 dakikalık periyotlarda, toplam 3 saat boyunca kaydedildi. Böylece, istatistiksel olarak anlamlı olup olmama açısından, hem grup değerlerini kendi aralarında karşılaştırdık, hem de gruplardaki ratların kasılma gücündeki değişikliklerin zamanla ne şekilde değiştiğini gözlemlemiş olduk. Başlangıçta tüm gruplar “gereç ve yöntem” başlığında belirtildiği şekliyle (n=8)deneyisel aşamalara tabi tutulmuş olsalar da, bazı dokular öngöremediğimiz nedenlerden dolayı izole organ banyosunda sağlıklı bir kasılma cevabı üretilemediler ve genlik parametreleri açısından değerlendirmeye alınmadılar.

**Tablo 4.1.** İzole organ banyosu genlik ortalamaları (\*Mean±SD)

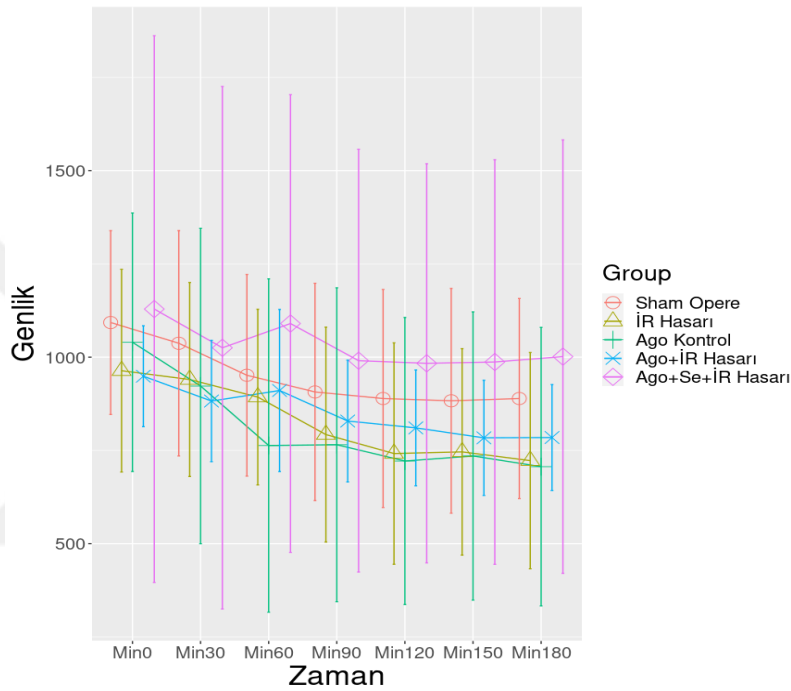
Dakika	Değişken	AgoK n=7*	AgoİR n=8*	AgoSeİR n=6*	İR n=7*	ShamOp n=7*
Min 0	Genlik	1,040.00±374.71	948.88±161.76	1,129.00±698.41	963.71±293.68	1,092.86±266.57
Min 30	Genlik	922.57±457.07	882.38±194.58	1,025.17±667.47	940.00±281.14	1,037.29±326.68
Min 60	Genlik	763.14±483.19	910.62±260.01	1,090.17±584.76	893.00±254.65	951.43±292.27
Min 90	Genlik	765.14±455.06	828.75±195.25	990.50±539.94	792.43±311.45	906.71±315.04
Min 120	Genlik	721.57±416.14	810.38±185.72	983.50±509.88	741.57±320.98	889.14±315.98
Min 150	Genlik	735.00±417.75	783.62±184.65	987.00±516.91	746.00±299.24	883.00±325.89
Min 180	Genlik	706.43±403.71	784.50±169.75	1,001.50±553.69	722.57±313.35	889.14±289.93

#### 4.1.1. İzole organ banyosu verilerinin istatistiksel analizi

İzole organ banyosu verilerinin istatistiksel analizine göre, gruplarımız arasında fizyolojik olarak anlamlı bir farklılık ( $p<0.05$ ) bulunamadı (Şekil 4.1., Tablo 4.2.). Çalışmamız, deneysel dizayn itibariyle profilaktik bir kurguya sahipti ve kullandığımız ajanlar (Agomelatin 20mg/kg, Selenyum 1,5mg/kg) doz bağımlı değildi. Başta cerrahi metod olmak üzere farklı nedenler ileri sürülebilse de, gruplar arası farklılığın anlamlı olmayışını esas olarak bu durumla ilişkilendiriyoruz.

**Tablo 4.2.** Genlik değerlerinin grup zaman etkileşim değerleri

	NumDF	DenDF	F value	Pr(>F)
zaman	6	180.000	42.381	0.000
grup	4	30.000	0.424	0.790
zaman:grup	24	180.000	2.034	0.005



**Şekil 4.1.** 30 dakikalık periyotlarla, 3 saat süreyle kaydedilen genlik değerlerinin karşılaştırılması

Öte yandan; genlik parametrelerini grup içi zaman değerleri üzerinden analiz ettiğimizde, AgoK, İR ve AgoİR gruplarında, zaman içerisinde anlamlı azalmalar olduğunu tespit ettik (Tablo 4.2. ve 4.3.). ShamOp grubu, anlamlı düzeyde olmasa da, grafikten de görüleceği üzere (Şekil 4.1.) AgoK, İR ve AgoİR gruplarından daha iyi bir kasılma gücüne sahipti.

AgoSeİR grubu şaşırtıcı ise bir şekilde, yine anlamlı olmasa da, diğer gruplardan daha yüksek genlik parametrelerine sahipti (Şekil 4.1.). Ancak bu etkinin nasıl oluştuğuna dair net bir fikir üretilmedi. Şöyle ki: İR hasarı hücrede serbest radikal üretimine yol açacağından, kasın (tunika albuginea) kontraksiyon gücünü olumsuz yönde etkilemelidir. Benzer şekilde agomelatinin düz kası inhibe ettiğini bildiren çalışmalar da vardır. Ancak selenyum bir antioksidan olduğundan, radikal süpürücü olarak işlev görmesi beklenir. Bununla birlikte;

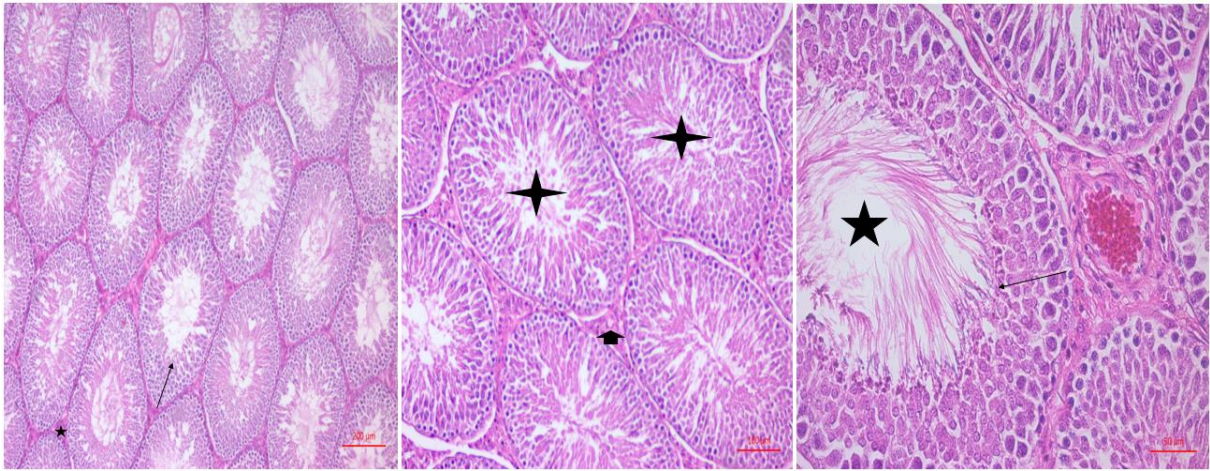
aynışlevi antioksidan yönü pek çok defa kanıtlanmış olan melatonin hormonundan sentezlenen agomelatinin de yerine getirmesini beklemek mantıklıdır. Dolayısıyla AgoSeİR grubunda agomelatinin zıt yönlü olası iki etkiye sahip olması, net etkisinin hangi yönde olduğunu anlamamızı güçleştirmektedir.

**Tablo 4.3.** İzole organ banyosu verilerine göre zaman-grup değerleri anlamlı çıkan sonuçlar

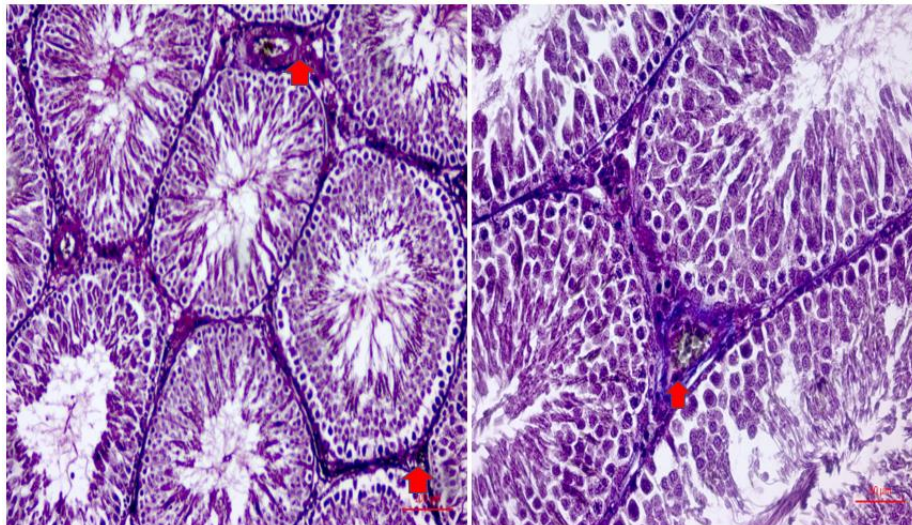
Contrast	grup	Estimate	SE	df	t.ratio	p.value
Min 0-90	İR	171.286	39.793	180.000	4.304	0.001
Min 0-120	İR	222.143	39.793	180.000	5.582	0.000
Min 0-150	İR	217.714	39.793	180.000	5.471	0.000
Min 0-180	İR	241.143	39.793	180.000	6.060	0.000
Min 30-90	İR	147.571	39.793	180.000	3.708	0.005
Min 30-120	İR	198.429	39.793	180.000	4.986	0.000
Min 30-150	İR	194.000	39.793	180.000	4.875	0.000
Min 30-180	İR	217.429	39.793	180.000	5.464	0.000
Min 60-120	İR	151.429	39.793	180.000	3.805	0.004
Min 60-150	İR	147.000	39.793	180.000	3.694	0.005
Min 60-180	İR	170.429	39.793	180.000	4.283	0.001
Min 0-60	AgoK	276.857	39.793	180.000	6.957	0.000
Min 0-90	AgoK	274.857	39.793	180.000	6.907	0.000
Min 0-120	AgoK	318.429	39.793	180.000	8.002	0.000
Min 0-150	AgoK	305.000	39.793	180.000	7.665	0.000
Min 0-180	AgoK	333.571	39.793	180.000	8.383	0.000
Min 30-60	AgoK	159.429	39.793	180.000	4.006	0.002
Min 30-90	AgoK	157.429	39.793	180.000	3.956	0.002
Min 30-120	AgoK	201.000	39.793	180.000	5.051	0.000
Min 30-150	AgoK	187.571	39.793	180.000	4.714	0.000
Min 30-180	AgoK	216.143	39.793	180.000	5.432	0.000
Min 0-90	AgoİR	120.125	37.223	180.000	3.227	0.025
Min 0-120	AgoİR	138.500	37.223	180.000	3.721	0.005
Min 0-150	AgoİR	165.250	37.223	180.000	4.439	0.000
Min 0-180	AgoİR	164.375	37.223	180.000	4.416	0.000
Min 60-150	AgoİR	127.000	37.223	180.000	3.412	0.014
Min 60-180	AgoİR	126.125	37.223	180.000	3.388	0.015

## 4.2. Histopatolojik Bulgular ve Modifiye Johnsen Skorları

ShamOp grubunun testis kesitlerinin mikroskopik olarak incelenmesi sonucunda; testis dokusunun parankimasını seminifer tübüller, interstisyel bağ dokusu ve interstisyel alandaki Leydig hücrelerinin oluşturduğu, gevşek bağ dokusu, normal bağ dokusu hücreleri, damarlar etrafında kümelenmiş normal yapıda Leydig hücrelerinin bulunduğu, yine normal yapıda seminifer tübüller ve seminifer tübüllerin bazal membranı üzerine oturmuş spermatogonyumlar, yer yer Sertoli hücreleri ve bunların üzerinde olgunlaşmakta olan spermatogenik seriye ait hücrelerin (spermatidler, spermiyumlar) bulunduğu düzenli germinal hücre dizilimi saptandı. Bu veriler normal testis dokusu bulgularıyla uyumlu bulundu (Tablo 4.4., Şekil 4.2. ve 4.3.).



**Şekil 4.2.**Yıldız işareti: normal görünümlü interstisyel alan, ok: normal seminifer tübül ve spermatogenik seri hücreleri (HE 5X büyütme, sol);yıldızlar: normal seminifer tübül ve spermatogenik seri hücreleri, ok: normal görünümlü interstisyel alan (HE 10X büyütme, orta);yıldız işareti: normal seminifer tübül, ok: spermatogenik seri hücreleri, (HE 20X büyütme, sağ).

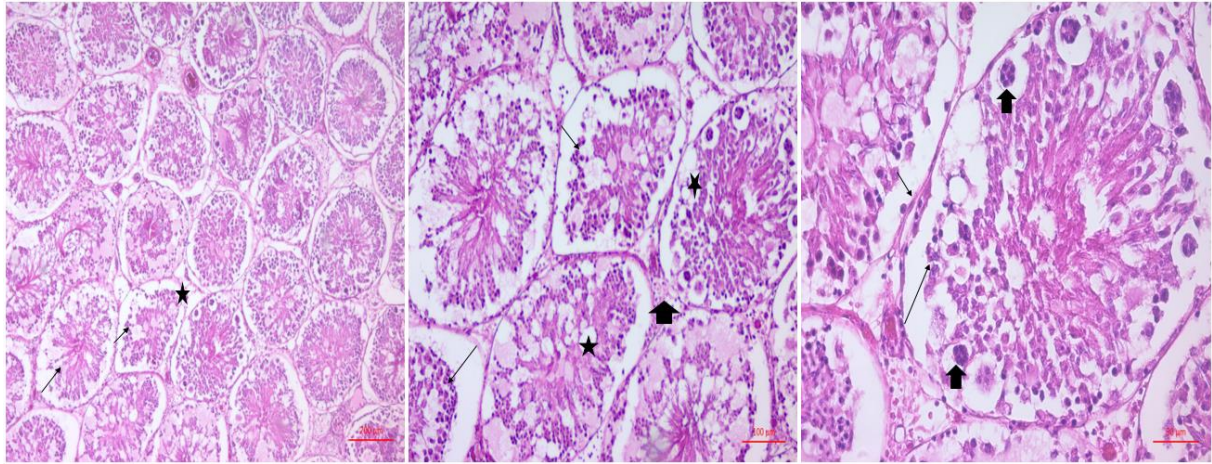


Şekil 4.3. Oklar: interstisyel alan (MT 10X, sol), ok işareti: interstisyel alan (MT 20X, sağ).

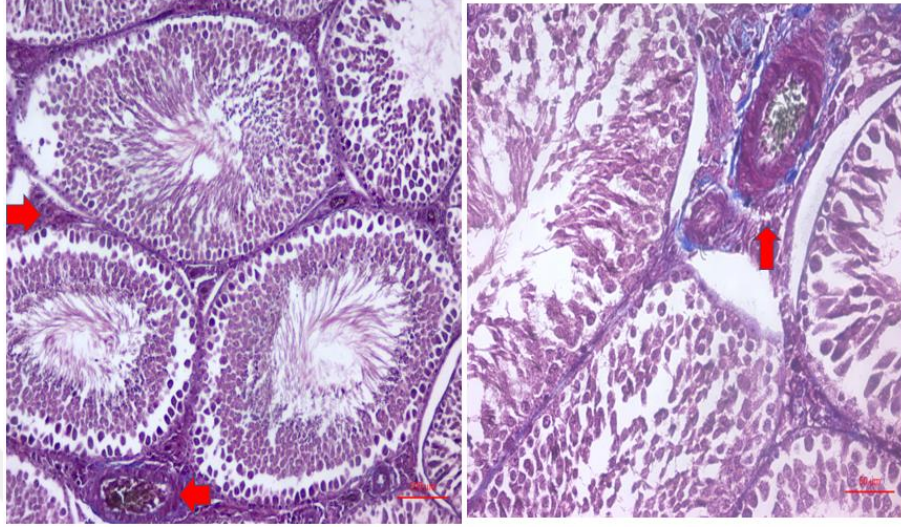
**Tablo 4.4.** Mikroskopik inceleme sonucu ShamOp grubu için verilen Johnsen skorları

	Tübül 1	Tübül2	Tübül3	Tübül4	Tübül5	Tübül6	Tübül7	Tübül8	Tübül9	Tübül10
n=1	9	9	10	10	10	9	9	9	9	7
n=2	10	9	8	8	8	8	9	9	10	9
n=3	8	8	7	8	8	9	9	8	9	9
n=4	9	9	10	10	9	9	8	9	9	9
n=5	10	10	9	9	8	9	9	8	9	9
n=6	9	9	8	10	9	9	9	10	10	9
n=7	8	8	8	9	9	10	10	9	9	10

İR grubunun testiküler doku kesitlerinde; germinal epitelde hücrelerarası bağlantı komplekslerinin kaybolduğu, hücrelerin birbirinden ayrıldığı, interstisyel alanda kan damarları çevresinde hemoraji, ödem, ve konjesyonun varlığı, tübüllerdevakuolizasyon, lümeneye dökülmüş halde spermatogenik hücre kümeleri ve çok çekirdekli dev hücreler gözlemlendi. Bu veriler testis dokusunda ileri derecede hasarlanma olduğu şeklinde yorumlandı. MassonTrikrom ile boyanmış kesitlerde interstisyel alanda bağ doku artışı gözlemlendi(Tablo 4.5., Şekil 4.4. ve 4.5.).



**Şekil 4.4.** Oklar: sertoli ve spermatogenik hücrelerde kayıp, yıldız işareti: interstisyel alanda ödem (HE 5X büyütme, sol); ince oklar: sertoli ve spermatogenik hücrelerde kayıp, yıldızlar: tübüllerdevakuolizasyon, kalın ok: interstisyel alanda ödem (H.E 10X büyütme, orta); ince oklar: sertoli ve spermatogenik hücrelerde kayıp, kalın oklar: çok çekirdekli dev hücreler (HE 20X büyütme, sağ).

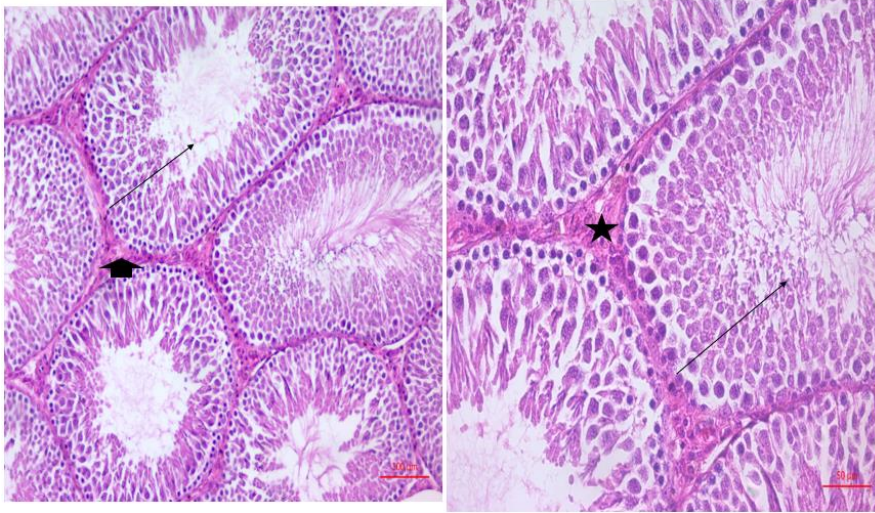


**Şekil 4.5.** Kırmızı oklar: interstisyel alanda bağ doku artışı (MT 10X büyütme, sol); kırmızı ok: interstisyel alanda bağ doku artışı (MT 20X büyütme, sağ).

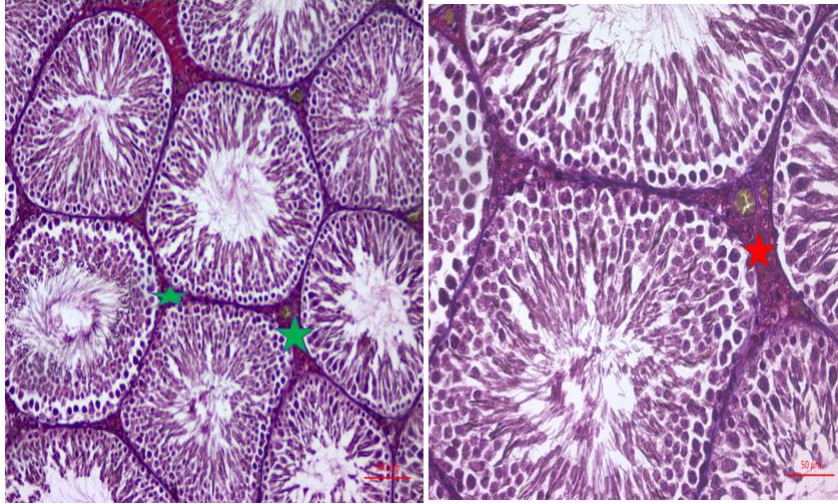
**Tablo 4.5.** Mikroskopik inceleme sonucu İR grubu için verilen Johnsen skorları

	Tübül1	Tübül2	Tübül3	Tübül4	Tübül5	Tübül6	Tübül7	Tübül8	Tübül9	Tübül10
n=1	6	5	5	4	6	4	6	5	5	4
n=2	4	4	4	5	5	5	4	6	4	5
n=3	5	5	5	6	5	4	6	6	4	5
n=4	4	4	5	6	4	4	6	5	4	5
n=5	5	5	5	5	4	6	6	4	4	4
n=6	6	6	4	6	4	5	5	5	5	6
n=7	4	4	4	5	4	6	4	4	5	5

AgoK grubunun testiküler doku kesitlerinde; normal seminifer tübül yapısı, normal interstisyel alan ve Leydigh hücreleri gözlemlendi. Germinal epitel ve hücre morfolojisinin Sham grubu ile benzer özellikte olduğu şeklinde yorumlandı (Tablo 4.6., Şekil 4.6. ve 4.7.).



**Şekil 4.6.** İnce ok: normal seminifer tübül yapısı, kalın ok: normal interstisyel alan (HE 10X büyütme, sol); ince ok: normal seminifer tübül yapısı, yıldız: normal interstisyel alan (HE 20X büyütme, sağ).

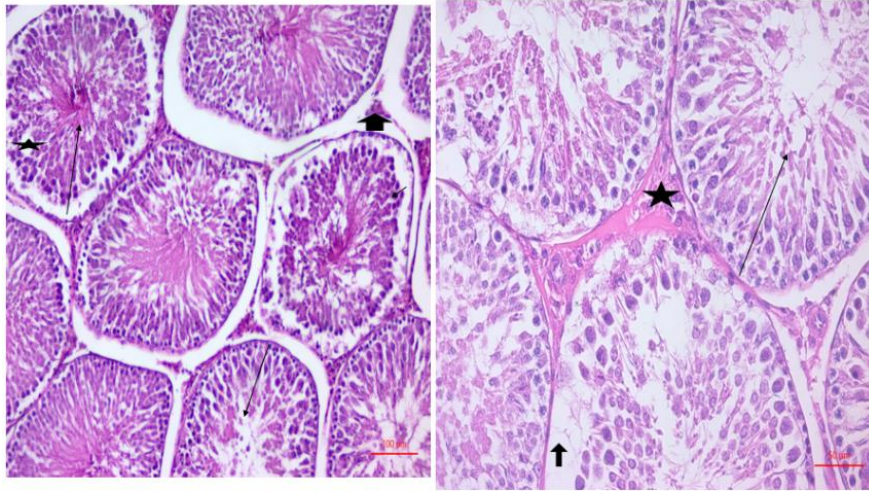


**Şekil 4.7.** Yıldız işaretleri: interstisyel alan (MT 10X büyütme, sol); yıldız: normal interstisyel alan (MT 20X büyütme, sağ)

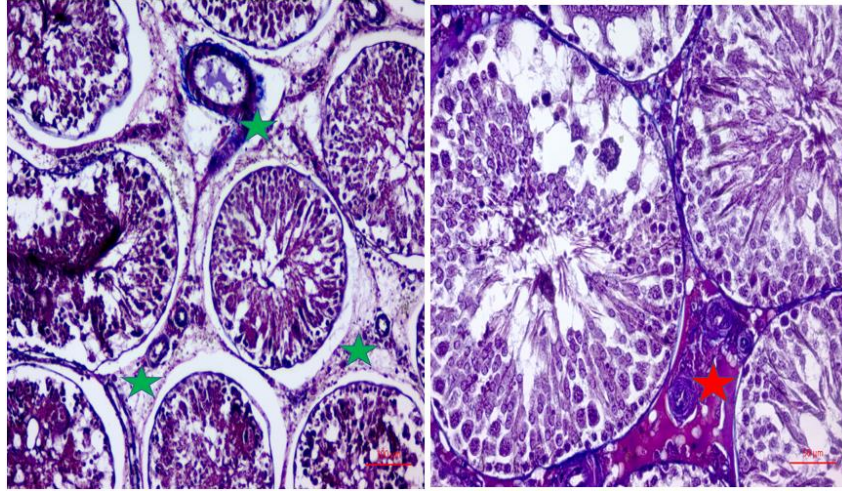
**Tablo 4.6.** Mikroskopik inceleme sonucu AgoK grubu için verilen Johnsen skorları

	Tübül1	Tübül2	Tübül3	Tübül4	Tübül5	Tübül6	Tübül7	Tübül8	Tübül9	Tübül10
n=1	10	10	9	9	8	9	10	9	8	9
n=2	9	9	9	8	10	10	10	9	8	9
n=3	9	10	10	10	9	9	9	9	10	10
n=4	8	8	9	9	9	10	10	10	9	9
n=5	10	9	8	9	9	10	10	9	9	10
n=6	9	9	9	9	10	10	10	10	9	9
n=7	10	9	9	8	9	9	9	9	10	10

AgoİR grubunun testis dokusu kesitlerinde; düzenli germinal epitele sahip seminifer tübüllerin, germinal epitelde hücrelerarası ayrılmalar ve bazal membrandan kopmaları da içeren tübüllerin bir arada olduğu yine tübüllerdevakuolizasyon devam ettiği görüldü. Nadir alanlarda interstisyel hemoraji varlığı görüldü. Ayrıca seminifer tübüllerin düzenli hücre dizilimine sahip olduğu, Leydig hücrelerinin normal hücresel özellikte olduğu saptandı. Bu veriler testis dokusundaki hasarlanmanın İR grubundan daha az olmadığı şeklinde yorumlandı (Tablo 4.7., Şekil 4.8. ve 4.9.).



**Şekil 4.8.** İnce oklar: seminifer tübüldekispermatogenik hücreler, yıldız işareti: tübüldekivakuolizasyon, kalın ok: interstisyel alan (HE 10X büyütme, sol); ince ok: seminifer tübüldekispermatogenik hücreler, kalın ok: tübüldekivakuolizasyon, yıldız: interstisyel alan (HE 20X büyütme, sağ).

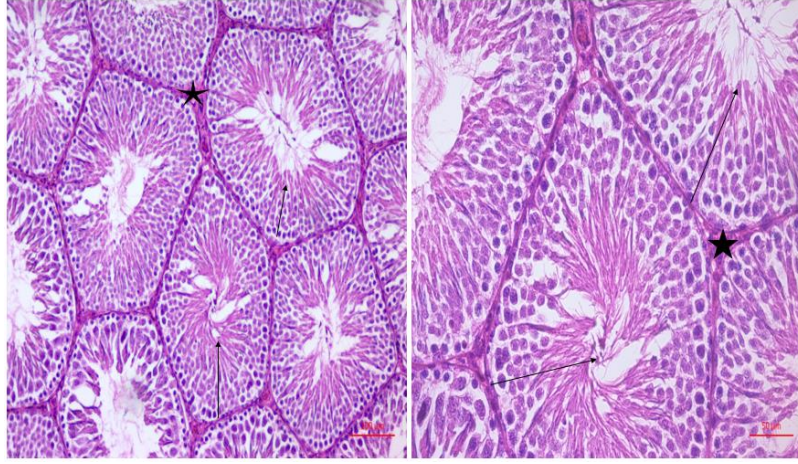


**Şekil 4.9.** Yıldız işaretleri: interstisyel alanda bağ doku artışı (MT 10X büyütme, sol); yıldız: interstisyel alanda bağ doku artışı (MT 20X büyütme, sağ).

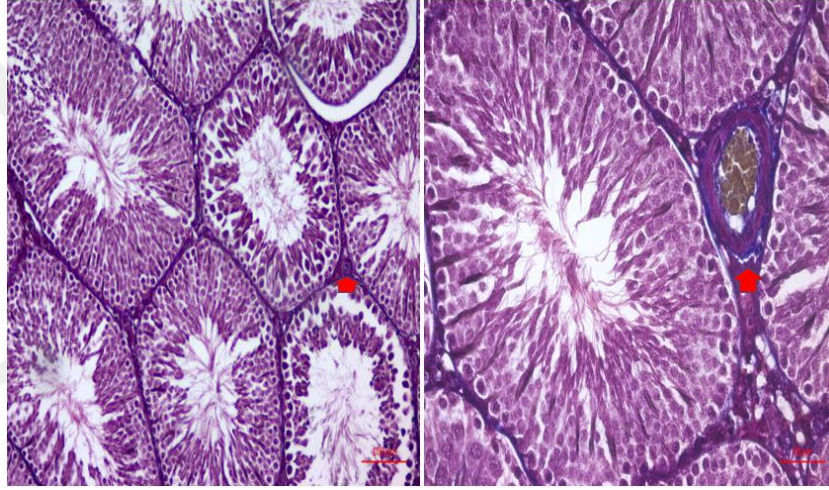
**Tablo 4.7.** Mikroskopik inceleme sonucu AgoİR grubu için verilen Johnsen skorları

	Tübül1	Tübül2	Tübül3	Tübül4	Tübül5	Tübül6	Tübül7	Tübül8	Tübül9	Tübül10
n=1	8	9	8	6	8	7	6	8	8	8
n=2	6	8	9	7	8	8	6	8	9	8
n=3	8	8	8	9	9	8	8	7	7	8
n=4	9	7	7	8	6	7	7	8	8	7
n=5	8	8	8	8	9	9	9	8	9	8
n=6	7	7	6	7	7	8	8	7	8	8
n=7	9	7	7	6	8	6	8	7	7	8

AgoSeİR grubunun testis dokusu kesitlerinde; germinal epitel hücreleri düzenli yerleşmiş olduğu ve Leydigh hücrelerinin interstisyel alanda kan damarları çevresinde kümeleştiği, morfolojisinin normal olduğu görüldü. Ayrıca seminifer tübül lümeninde spermiyumlar tespit edildi. Düzenli germinal epitele sahip tübülüslerin, Sham grubu ile benzer özellikte olduğu saptandı. (Tablo 4.8., Şekil 4.10. ve 4.11.).



**Şekil 4.10.** İnce oklar: normal seminifer tübül yapısı, yıldız: normal interstisyel alan (HE 10X büyütme, sol); ince oklar: normal seminifer tübül ve spermatogenik hücre serisi, yıldız işareti: normal interstisyel alan (HE 20X büyütme).



**Şekil 4.11.** Ok: normal interstisyel alan (MT 10X büyütme, sol); ok: interstisyel alan (MT 20X büyütme, sağ)

**Tablo 4.8.** Mikroskopik inceleme sonucu AgoSeİR grubu için verilen Johnsen skorları

	Tübül1	Tübül2	Tübül3	Tübül4	Tübül5	Tübül6	Tübül7	Tübül8	Tübül9	Tübül10
n=1	8	9	8	6	8	7	6	8	8	8
n=2	6	8	9	7	8	8	6	8	9	8
n=3	8	8	8	9	9	8	8	7	7	8
n=4	9	7	7	8	6	7	7	8	8	7
n=5	8	8	8	8	9	9	9	8	9	8
n=6	7	7	6	7	7	8	8	7	8	8
n=7	9	7	7	6	8	6	8	7	7	8

**Tablo 4.9.**Johnsen Skor Ortalamaları (\*Mean±SD)

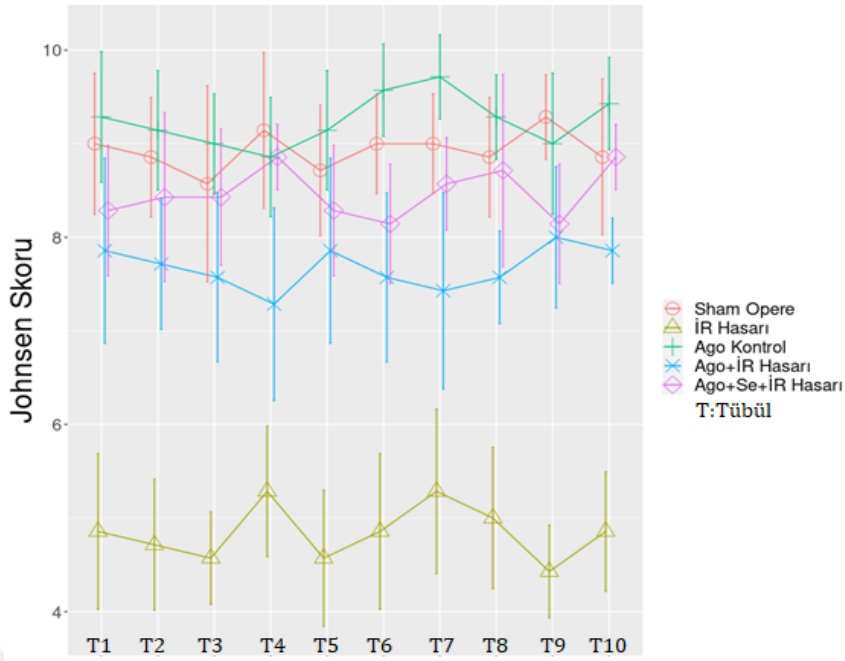
	Değişken	AgoK n=7*	AgoİR n=7*	AgoSeİR n=7*	İR n=7*	ShamOp n=7*
<b>Tübül 1</b>	Skor	9.29±0.76	7.86±1.07	8.29±0.76	4.86±0.90	9.00±0.82
<b>Tübül 2</b>	Skor	9.14±0.69	7.71±0.76	8.43±0.98	4.71±0.76	8.86±0.69
<b>Tübül 3</b>	skor	9.00±0.58	7.57±0.98	8.43±0.79	4.57±0.53	8.57±1.13
<b>Tübül 4</b>	Skor	8.86±0.69	7.29±1.11	8.86±0.38	5.29±0.76	9.14±0.90
<b>Tübül 5</b>	Skor	9.14±0.69	7.86±1.07	8.29±0.76	4.57±0.79	8.71±0.76
<b>Tübül 6</b>	Skor	9.57±0.53	7.57±0.98	8.14±0.69	4.86±0.90	9.00±0.58
<b>Tübül 7</b>	Skor	9.71±0.49	7.43±1.13	8.57±0.53	5.29±0.95	9.00±0.58
<b>Tübül 8</b>	Skor	9.29±0.49	7.57±0.53	8.71±1.11	5.00±0.82	8.86±0.69
<b>Tübül 9</b>	Skor	9.00±0.82	8.00±0.82	8.14±0.69	4.43±0.53	9.29±0.49
<b>Tübül 10</b>	Skor	9.43±0.53	7.86±0.38	8.86±0.38	4.86±0.69	8.86±0.90

#### 4.2.1. Histopatolojik verilerin istatistiksel analizi

Mikroskopik incelemeler üzerinden elde ettiğimiz Johnsen skorlamalarının istatistiksel analizine göre, gruplarımız arasında anlamlı farklılıklar tespit ettik (Tablo 4.10. ve Şekil 4.12.).

**Tablo 4.10.**Johnsen skorlarının grup tübül etkileşim değerleri

etki	NumDF	DenDF	F value	Pr(>F)
tübül	9	270.000	0.789	0.627
group	4	30.000	272.858	0.000
tübül:group	36	270.000	0.781	0.813



Şekil 4.12. Modifiye Johnson skorlarının karşılaştırılma grafiği

Buna göre; İR grubudiger tüm gruplara göre anlamlı ölçüde düşük Johnsen skorlarına sahipti. Özellikle AgoİR ve AgoSeİR gruplarındaki anlamlı yükselişin ( $p<0.01$ ), agomelatin ve selenyumun antioksidan özelliklerinden ileri geldiğini güçlü bir şekilde savunuyoruz (Tablo 4.11.). Ayrıca, AgoSeİR grubu, AgoİR grubundan anlamlı ölçüde ( $p<0.05$ ) daha yüksek Johnsensokruna sahipti. Aradaki farkı selenyumun ilave antioksidan etkisiyle ilişkilendiriyoruz.

AgoK grubu AgoİR grubundan istatistiksel olarak anlamlı ölçüde ( $p<0.01$ ) yüksek Johnsen skoruna sahipti. Aradaki farklılığı İR hasarının ürettiği serbest radikallerin hücrel zararlı etkileriyle ilişkilendiriyoruz (Tablo 4.12.). Diğer taraftan, AgoK grubu anlamlı olmasa da AgoSeİR grubundan da daha yüksek Johnsen skoruna sahipti. Aradaki farkın AgoİR grubundakine benzer şekilde anlamlı olmayışını, selenyumun ilave antioksidan etkisiyle ilişkilendiriyoruz. Selenyum olasılıkla daha fazla serbest radikalın süpürülmesine aracılık etti ve fark anlamlı olmaktan çıktı.

ShamOp grubu, AgoİR ve AgoSeİR gruplarından daha yüksek Johnsen skoruna sahipti. Ancak aradaki farklılık AgoİR grubunda anlamlıyken ( $p<0.05$ ) (Tablo 4.12.), AgoSeİR grubunda anlamlı değildi. Bunun anlamlı olmayışın nedenini selenyumun ilave antioksidan etkisiyle açıklıyoruz. Bununla birlikte, ShamOp grubu, AgoK grubuyla anlamlı bir farklılık göstermedi (Şekil 4.12.).

**Tablo 4.11.**İR grubu modifiye Johnsen skorlarının diğer gruplarla istatistiksel olarak karşılaştırılması (T\*: T

Contrast	T*	Estimate	SE	df	t.ratio	p.value	Contrast	T*	Estimate	SE	df	t.ratio	p.value
<b>ShamOp-</b>													
<b>İR</b>	1	4.143	0.413	296.036	10.022	0.000	<b>ShamOp-İR</b>	6	4.143	0.413	296.036	10.022	0.000
<b>İR-AgoK</b>	1	-4.429	0.413	296.036	-10.713	0.000	<b>İR-AgoK</b>	6	-4.714	0.413	296.036	-11.404	0.000
<b>İR-AgoİR</b>	1	-3.000	0.413	296.036	-7.257	0.000	<b>İR-AgoİR</b>	6	-2.714	0.413	296.036	-6.566	0.000
<b>İR-</b>													
<b>AgoSeİR</b>	1	-3.429	0.413	296.036	-8.294	0.000	<b>İR-AgoSeİR</b>	6	-3.286	0.413	296.036	-7.948	0.000
<b>ShamOp-</b>													
<b>İR</b>	2	4.143	0.413	296.036	10.022	0.000	<b>ShamOp-İR</b>	7	3.714	0.413	296.036	8.985	0.000
<b>İR-AgoK</b>	2	-4.429	0.413	296.036	-10.713	0.000	<b>İR-AgoK</b>	7	-4.429	0.413	296.036	-10.713	0.000
<b>İR-AgoİR</b>	2	-3.000	0.413	296.036	-7.257	0.000	<b>İR-AgoİR</b>	7	-2.143	0.413	296.036	-5.184	0.000
<b>İR-</b>													
<b>AgoSeİR</b>	2	-3.714	0.413	296.036	-8.985	0.000	<b>İR-AgoSeİR</b>	7	-3.286	0.413	296.036	-7.948	0.000
<b>ShamOp-</b>													
<b>İR</b>	3	4.000	0.413	296.036	9.676	0.000	<b>ShamOp-İR</b>	8	3.857	0.413	296.036	9.331	0.000
<b>İR-AgoK</b>	3	-4.429	0.413	296.036	-10.713	0.000	<b>İR-AgoK</b>	8	-4.286	0.413	296.036	-10.367	0.000
<b>İR-AgoİR</b>	3	-3.000	0.413	296.036	-7.257	0.000	<b>İR-AgoİR</b>	8	-2.571	0.413	296.036	-6.220	0.000
<b>İR-</b>													
<b>AgoSeİR</b>	3	-3.857	0.413	296.036	-9.331	0.000	<b>İR-AgoSeİR</b>	8	-3.714	0.413	296.036	-8.985	0.000
<b>ShamOp-</b>													
<b>İR</b>	4	3.857	0.413	296.036	9.331	0.000	<b>ShamOp-İR</b>	9	4.857	0.413	296.036	11.750	0.000
<b>İR-AgoK</b>	4	-3.571	0.413	296.036	-8.640	0.000	<b>İR-AgoK</b>	9	-4.571	0.413	296.036	-11.059	0.000
<b>İR-AgoİR</b>	4	-2.000	0.413	296.036	-4.838	0.000	<b>İR-AgoİR</b>	9	-3.571	0.413	296.036	-8.640	0.000
<b>İR-</b>													
<b>AgoSeİR</b>	4	-3.571	0.413	296.036	-8.640	0.000	<b>İR-AgoSeİR</b>	9	-3.714	0.413	296.036	-8.985	0.000
<b>ShamOp-</b>													
<b>İR</b>	5	4.143	0.413	296.036	10.022	0.000	<b>ShamOp-İR</b>	10	4.000	0.413	296.036	9.676	0.000
<b>İR-AgoK</b>	5	-4.571	0.413	296.036	-11.059	0.000	<b>İR-AgoK</b>	10	-4.571	0.413	296.036	-11.059	0.000
<b>İR-AgoİR</b>	5	-3.286	0.413	296.036	-7.948	0.000	<b>İR-AgoİR</b>	10	-3.000	0.413	296.036	-7.257	0.000
<b>İR-</b>													
<b>AgoSeİR</b>	5	-3.714	0.413	296.036	-8.985	0.000	<b>İR-AgoSeİR</b>	10	-4.000	0.413	296.036	-9.676	0.000

**Tablo 4.12.** İR grubu dışında kendi arasında anlamlı farklılıklar olan gruplar

Contrast	Tübül	Estimate	SE	df	t.ratio	p.value
ShamOp-AgoİR	1	1.143	0.413	296.036	2.765	0.047
AgoK-AgoİR	1	1.429	0.413	296.036	3.456	0.006
AgoK-AgoİR	2	1.429	0.413	296.036	3.456	0.006
AgoK-AgoİR	3	1.429	0.413	296.036	3.456	0.006
ShamOp-AgoİR	4	1.857	0.413	296.036	4.493	0.000
AgoK-AgoİR	4	1.571	0.413	296.036	3.801	0.002
AgoİR-AgoSeİR	4	-1.571	0.413	296.036	-3.801	0.002
AgoK-AgoİR	5	1.286	0.413	296.036	3.110	0.017
ShamOp-AgoİR	6	1.429	0.413	296.036	3.456	0.006
AgoK-AgoİR	6	2.000	0.413	296.036	4.838	0.000
AgoK-AgoSeİR	6	1.429	0.413	296.036	3.456	0.006
ShamOp-AgoİR	7	1.571	0.413	296.036	3.801	0.002
AgoK-AgoİR	7	2.286	0.413	296.036	5.529	0.000
AgoK-AgoSeİR	7	1.143	0.413	296.036	2.765	0.047
AgoİR-AgoSeİR	7	-1.143	0.413	296.036	-2.765	0.047
ShamOp-AgoİR	8	1.286	0.413	296.036	3.110	0.017
AgoK-AgoİR	8	1.714	0.413	296.036	4.147	0.000
AgoİR-AgoSeİR	8	-1.143	0.413	296.036	-2.765	0.047
ShamOp- AgoİR	9	1.286	0.413	296.036	3.110	0.017
AgoK-AgoİR	10	1.571	0.413	296.036	3.801	0.002

## 5. TARTIŞMA

Pineal bezde sentezlenip salgılanan ve sirkadiyen ritmin düzenlenmesini sağlayan melatonin hormonu, merkezi sinir sistemindeki etkilerini kendine spesifik ve G protein kenetli MT1-MT2 membran reseptörleri üzerinden oluşturur. Sentetik olarak alınması antidepresan etkilidir. Ancak klinik raporlar melatoninin depresyonda yalnızca uyku-uyanıklık düzenlenmesinde etkili olabileceğini belirtmektedir. Bundan dolayı melatonin agonisti antidepresan ilaçların keşfine ihtiyaç duyulmuş ve birçok melatonin analogu geliştirilmiştir. Agomelatin, bu doğrultuda üretilmiş, melatoninerjik reseptör MT1- MT2 agonisti ve 5-HT2C reseptör antagonisti ilk antidepresan ilaçtır (Tekin, 2017).

Melatoninin mevcut yüksek antioksidan kapasitesi, zamanla agomelatinin de antidepresan dışı etkilerinin araştırılabileceği fikrine zemin hazırlamıştır. Günümüzde bu düşünceyle yola çıkan araştırmaların sayısı artmaktadır. (Tekin, 2017). Selenyum ise bir eser elementtir ve radikal süpürücü olarak hareket etmektedir. Oksidatif hasara karşı koruma sağlamada çok önemli rolü olan GSH-Px enziminin yapısal bileşenidir. Selenyumun bu enzimin aktivitesini arttırdığı kanıtlanmıştır. GSH-Px, reaktif moleküllere ve serbest radikallere karşı hücresele antioksidan savunma sisteminin bir parçasını oluşturur. Selenyumun kalp, akciğer, karaciğer ve böbrek İR hasarını önlemede antioksidan etkilere aracılık ettiği gösterilmiştir (Avlan ve ark., 2005).

Bu çalışmada agomelatin ve selenyumun, testiküler cerrahi torsiyon-detorsiyon modeliyle indüklenmiş İR hasarı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Mevcut bilgilerimize göre, bu çalışma agomelatinin tek başına ve selenyumla birlikte testiküler İR hasarına karşı antioksidan etkilerini araştıran ilk çalışmadır.

Mikroskopik görüntüleme teknikleriyle analiz edilen veriler (Modifiye Johnsen Skorlamaları), İR hasarının testis dokusu seminifer tübül hücrelerini sağlıklı gruplara kıyasla (ShamOp ve AgoK) anlamlı şekilde olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir ( $p<0,001$ ). Agomelatin ve selenyum alan gruplarda ise (AgoİR ve AgoSeİR) bu etkilerin anlamlı şekilde tersine çevrildiği görülmüştür ( $p<0,05$ ).

Avlan ve ark. (2005), testiküler İR hasarında selenyumun (0,2 mg/kg) ipsilateral ve kontralateral testisleri koruyucu etkisini araştırdılar. İR hasarını 4 saat süreyle, saat yönünde 720° torsiyon uygulayıp 4 saat süreyle detorsiyone ederek modellediler. Sonuç olarak, kurguladıkları modelin her iki testis dokusunda biyokimyasal ve histolojik değişikliklerle kanıtlanan testis hasarına neden olduğunu ve selenyum ön tedavisinin ipsilateral testis İR

hasarından sonra kontralateral testislerde de biyokimyasal değişiklikleri önlediğini ve morfolojiyi koruduğunu gösterdiler.

Başka bir çalışmada Kara ve ark. (2016) saat yönünde 720° torsiyon uyguladıktan 3 saat sonra detorsiyone ederek indükledikleri testiküler İR hasarına karşı selenyumun (0,5 mg/kg) antioksidan etkilerini biyokimyasal ve histopatolojik açıdan değerlendirdiler. Selenyumun ratlarda testiküler İR hasarının neden olduğu oksidatif stresi azalttığını ortaya koydular. Araştırmacılar mevcut çalışmalarında, selenyumun testisi koruyucu yönüne antioksidatif etkilerinin aracılık ettiğini vurgulamaktadırlar.

Mevcut çalışmada AgoİR ve AgoSeİR gruplarını kıyasladığımızda ise, AgoSeİR grubunun anlamlı düzeyde daha yüksek Johnsen skorlarına sahip olduğunu tespit ettik ( $p<0.05$ ). Aradaki bu farklılığın selenyumun göstermiş olduğu antioksidan etkilerden ileri geldiğini anlıyoruz. Dolayısıyla mevcut çalışmanın sonuçları, Avlan ve ark. (2005) ile Kara ve ark. (2016) tarafından yürütölen çalışmaların bulgularıyla örtüşmektedir.

Ayrıca Baş ve Nazıroğlu (2019) tarafından gerçekleştirilen çalışma da, selenyumun testiste oksidatif hasarı azalttığı yönündeki bulgularımızı destekler niteliktedir. Docetaksel, uzun zamandır kanser tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Ancak bazı dokularda aşırı ROS üreterek apoptotik etkilere neden olur. Baş ve Nazıroğlu (2019) fare böbrek ve testisinde docetaksel kaynaklı apoptoz ve oksidatif hasara karşı melatonin (10 mg/kg) ve selenyum (1.5 mg/kg) tedavisinin glutasyon ve E vitamininin up-regölasyonu ile kaspaz yollarının down-regölasyonu yoluyla modölator görevi görebileceğini rapor etmişlerdir. Bu sonuçlar; bizim çalışmamızın güncel verileriyle de örüşecek şekilde, selenyum tedavisinin testis dokusunda antioksidan mekanizmalar üzerinden oksidatif hasarı azaltıcı etkiler gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Agomelatin ile yapılan araştırmalarda da antioksidan özelliklerinin olduğu bildirilmektedir (Tekin, 2017). Yapca ve ark. (2014), 3 gruptan (n=10) oluşan çalışmalarında, sağ ovaryumun uterusla birleştiği bölgeyi arteryel klip kullanarak 3 saat süreyle iskemiye maruz bıraktılar. 2 saatin ardından kliplerin kaldırılmasıyla sağlanan reperfüzyonun devamında ratlarsakrifiye edildiler. Ardından araştırmacılar sham operasyon grubu ve İR hasarı oluşturun gruplardan (İR, Agomelatin+İR) ovaryum dokularını alıp biyokimyasal olarak incelediklerinde, deneysel sonuçlara göre agomelatin tedavisinin (25 mg/kg) İR hasarlı rat yumurtalıklarında meydana gelen oksidatif hasarı önemli ölçüde engellediğini göstermişlerdir.

Aykora (2020), farklı dozlarını (20 mg/kg ve 40 mg/kg) kısa ve uzun süreli (1 gün/7 gün) kullanarak agomelatinin böbrek İR hasarındaki olası koruyucu rolünü araştırmıştır. Renal arterin 45 dakika klemplenip 24 saat reperfüze edilmesiyle İR hasarının modellenendiği bu deneysel çalışmada, böbrek dokusu ve kan serumundan elde edilen veriler incelenmiştir. Anioksidan enzim aktiviteleri ve lipid peroksidasyon ürünleri biyokimyasal ve histopatolojik açıdan değerlendirilmiş ve sonuçta İR hasarına bağlı olarak azalan antioksidan enzim aktivite düzeylerinin agomelatin uygulamasıyla anlamlı olarak arttığı, lipid peroksidasyon ürünlerinin ise azaldığı belirlenmiştir ( $p<0.05$ ). Histopatolojik veriler ise; kontrol grubuna göre İR grubunun korteksinde intertübüler alanda belirgin infiltrasyon, hemoraji ve intratübüler cast oluştuğunu, agomelatin verilen gruplarda ise histopatolojik hasarın (özellikle uzun süreli gruplarda) belirgin olarak azaldığını göstermiştir. Bu çalışmadaki histopatolojik veriler, mevcut çalışma ile uyumludur.

Tez projemizde İR ve AgoİR grupları kıyasladığı zaman, AgoİR grubunda istatistiksel olarak anlamlı ölçüde daha yüksek Johnsen skorları olduğu tespit edildi ( $p<0.001$ ). Aradaki bu farklılığa, agomelatinin göstermiş olduğu antioksidan etkilerin aracılık ettiği düşünüldü. Dolayısıyla mevcut çalışmanın sonuçları, Yapca ve ark. (2005) ile Aykora (2020) tarafından yürütülen çalışmaların bulgularıyla örtüşmektedir.

Mevcut projede histopatolojik verilerinin analizine göre agomelatin testis dokusunda oksidatif hasara karşı antioksidan mekanizmalar aracılığıyla koruyucu ve iyileştirici etkiler göstermektedir. Elde edilen verilerle benzerlik gösteren başka bir çalışmada Yiğittürk ve ark. (2017) streptozosin (55 mg/kg) ile indüklenmiş Tip 1 Diyabetik ratların testis dokularında agomelatinin (20 mg/kg) oksidatif stres üzerindeki antioksidan rolünü araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre; agomelatin tedavisinin rat testislerinde, biyokimyasal parametreler ve histopatolojik görünümde iyileşme gösterdiğini, ayrıca agomelatinin oksidatif stres seviyesini düşürerek testis hasarını azaltmada potansiyel olarak faydalı bir ajan olduğunu ve testiküler doku hasarını iyileştirdiğini rapor etmişlerdir.

Farklı bir çalışmada ise tek seferlik streptozosin enjeksiyonu ile (50 mg/kg) oluşturulan deneysel tip 1 diyabet modelinde, agomelatinin (16 mg/kg) rat epididimislerindeki oksidatif stres üzerine histolojik etkileri araştırılmıştır (Uğur, 2014). Elde edilen bulgulara göre intersitisyel alanda, Diyabet grubu duktus epiteli apikal yüzeyinde stereosilyalarda kayıp, fibrozis ve kapsülde kalınlaşma olurken; Agomelatin+Diyabet grubu incelendiğinde stereosilyalarda daha az dökülme görülmüş ve kapsülde kalınlaşma

izlenmemiştir. Ayrıca Diyabet grubu epididimislerinde yoğun gözlenen fibrozis, Agomelatin+Diyabet uygulanan grupta azalmıştır.

Sonuç olarak, diyabetin testis (Yiğittürk ve ark. 2017) ve epididimis (Uğur, 2014) dokusunda oluşturduğu yapısal dejenerasyona karşı agomelatinin koruyucu etkiler gösterdiğini ifade eden bu 2 çalışmanın histopatolojik verileri, mevcut çalışmanın bulgularıyla paralellik göstermektedir. Ayrıca, Yalçın ve ark. (2022) tarafından gerçekleştirilen çalışma da agomelatinin testiste oksidatif hasarı azalttığı yönündeki bulgularımızı destekler niteliktedir. Ratlarda lipopolisakkaridin (LPS) neden olduğu sepsis nedenli testiküler doku hasarına karşı agomelatinin rolünü araştıran bu deneysel çalışmada; 3 gruba ayrılan (Kontrol, LPS, LPS+Agomelatin / n=8) ratların, testis ve epididimis dokuları biyokimyasal ve histopatolojik açıdan incelenmiştir. Testiküler dokuda katalaz ve SOD enzim aktivitelerinin LPS (5 mg/kg)+Agomelatin (20 mg/kg) grubunda, LPS grubuna göre anlamlı dercede yüksek olduğu, epididimal dokuda ise bu farkın anlamlı olmadığı görülmüştür. Histopatolojik veriler ise, LPS grubundaki ratların testis ve epididimislerinde belirgin hiperemi mevcutken, LPS+Agomelatin grubunda testis ve epididimislerin normal olduğunu göstermiştir. Ayrıca LPS grubunda seminifer tübüllerde spermatid yoğunluğu LPS+Agomelatin grubuna göre belirgin şekilde azalmıştır. Sonuç olarak araştırmacılar çalışmalarında agomelatin ile tedavinin LPS ile indüklenen testislerde histopatolojiyi açıkça iyileştirdiğini belirtmektedir. Bu veriler, agomelatinin tez projesindeki histopatolojik sonuçlara olan katkısıyla tutarlılık göstermektedir.

Agomelatinin antioksidan etkilerini araştıran başka bir çalışmada, Kartal (2019) ilacın farklı dozlarının (20 ve 40 mg/kg), yüksek doz parasetamolle (2 g/kg) indüklenen akut böbrek toksisitesi üzerine etkilerini biyokimyasal parametreler üzerinden değerlendirmiştir. Buna göre; nefrotoksisite oluşturulmuş grupta serum üre ve kreatinin değerleri anlamlı şekilde yükselirken, agomelatin ile tedavi edilen gruplarda bu değerler anlamlı şekilde azalmıştır. Fakat bu durumun agomelatinin farklı dozlarında değişiklik göstermediği tespit edilmiştir. Doku düzeyinde yapılan değerlendirmelerde ise nefrotoksisite oluşturulmuş grupta antioksidan enzim aktivite seviyelerinin anlamlı olarak düştüğü ve lipid peroksidasyon ürünlerinin anlamlı şekilde yükseldiği görülürken, agomelatin ile tedavi edilen gruplarda bu değerler anlamlı şekilde tersine dönmüştür. Bu bulgular da çalışmamızın sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir.

Kanser ilaçları üreme sisteminde toksik yan etkiler gösterebilmektedir. Metotreksat (MTX) kemoterapötik bir ilaçtır. Aslançoç ve ark. (2020) agomelatinin (40

mg/kg)ratlardaMTX'in (20 mg/kg) neden olduğu testiküler ve epididimal hasara karşı olası profektik etkilerini araştırdıkları deneysel çalışmada (3 grup: Kontrol, MTX ve MTX+Agomelatin), sağ taraf testis ve epididimisi histopatolojik ve immunohistokimyasal parametreler; alınan kan örneklri ile sol taraf testis ve epididimisi ise biyokimyasal parametreler üzerinden değerlendirmişlerdir. Buna göre; MTX grubunda, sperm sayısında azalma, hiperemi, ödem, inflamatuvar reaksiyon, dejenere ve nekrotik hücreler gözlenmiştir. Ayrıca, antioksidan enzimler olan katalaz, SOD veGSH-Pxenzim aktiviteleri de kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde azalmıştır. Ancak araştırmacılar agomelatin grubunda adı geçen antioksidan enzim aktivitelerinin anlamlı derecede arttığını, MTX'in testislerde ve epididimislerde neden olduğu yapısal patolojik koşulları tersine çevirdiğini görmüşlerdir. Bu çalışmanın bulgularına göre, agomelatinin MTX'in testislerde ve epididimislerde neden olduğu oksidatif hasarı ve inflamasyonu önleyebileceği sonucuna varılmıştır. Agomelatin mevcut projede de testiste oksidatif hasarı önleyici etkiler göstermiştir

Bortezomib de kemoterapötik bir ilaçtır ve toksik yan etkileriyle testiküler hasara neden olabilmektedir. Akaras ve ark. (2017) agomelatinin (25 mg/kg) bu hasara karşı olası koruyucu etkilerini, lipid peroksidasyon (LPO) seviyeleri ve SOD enzim aktivitesi üzerinden araştırmışlardır. Elde ettikleri sonuçlara göre, sadece Bortezomib (0,2 mg/kg) ile tedavi edilen gruplarda LPO seviyesi yükselirken SOD aktivitesinin azalmıştır. Yine bu gruplarda, bazal membran kalınlaşması, inflamatuvar hücrelerde ve bağ dokusunda artış ile germ hücreleri arasında ödem oluştuğu tespit edilmiştir. Buna karşılık, Bortezomib + Agomelatin gruplarında normal bazal membran, daha az ödem ve daha normal olgunlaşma görülürken, LPO seviyeleri ve SOD aktiviteleri denormalleşmiştir. Akaras ve ark. (2017), agomelatin uygulamasının antioksidan etkilere katkıda bulunduğunu ve agomelatin tedavisinin, bortezomib kemoterapisi sırasında kullanım için koruyucu bir ajan potansiyeline sahip olabileceğini belirtmektedirler. Aslankoç ve ark. (2020) tarafından yürütölen çalışma ile birlikte ele alındığında bu sonuçlar, bizim çalışmamızda da olduğu gibi, agomelatinin oksidatif stresi azaltıcı etkiler ortaya koyduğun göstermektedir

Aslankoç ve ark. (2020) ile Akaras ve ark. (2017) tarafından ulaşılan sonuçlarla tutarlılık gösteren başka bir incelemede, insan ovaryum ve prostat kanseri hücre canlılığı üzerine agomelatinin etkileri araştırılmıştır. Kanser hücre canlılığında meydana gelen değişimlerin 3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-difenil-tetrazolyum bromür testi ile belirlendiğiçalışmada, agomelatinin tüm konsantrasyonlarının (0.1 mM, 1 mM, 5 mM ve 10 mM) kanser hücre canlılığı yüzdesini azalttığı bildirilmiştir (p<0.05). Agomelatinin insan

prostat ve over kanseri hücre hatlarına karşı güçlü sitotoksik ve antitümör etkilerinin olduğu bildirilen bu çalışmada, agomelatinin de kanser hücreleri üzerinde melatonin kadar etkili olabileceği belirtilmektedir (Tekin, 2017). .

Agomelatinin başta İR hasarı olmak üzere antioksidan etkilerini inceleyen çalışmalar ürogenital sistem ile sınırlı değildir. Miyokardiyal İR hasarının MPTP açılmasıyla yakından ilişkili olduğunu öngören bir çalışmada; Jia ve ark. (2018), miyokardiyal İR hasarına karşı agomelatinin MPTP açılmasını engelleyerek kalbi koruyucu etkiler gösterdiğini bildirmiştir. Buna göre; izole edilen rat kalpleri 30 dakika iskemi ve ardından 120 dakika reperfüzyona tabi tutulmuş ve izolasyonun 1 saat öncesinde agomelatin (10 mg/kg, 20 mg/kg ve 40 mg/kg) intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir. Sonuç olarak, agomelatin tedavisinin (20 mg/kg ve 40 mg/kg) İR hasarından sonra kardiyak fonksiyonun iyileşmesini arttırdığı ve miyokardiyal İR hasarını doz bağımlı bir şekilde zayıflattığı tespit edilmiştir ( $p < 0,05$ ).

Chumboatong ve ark. (2017) ise agomelatinin ratlarda antiapoptotik bir yolak üzerinden serebral İR hasarına karşı nörokoruma sağladığını gösteren bulgulara ulaşmışlardır. Orta serebral artere 2 saatlik oklüzyonu takip eden 24 saat reperfüzyonla oluşturdukları modelde, agomelatin (20 mg/kg, 40 mg/kg ve 80 mg/kg) 1 saat öncesinden intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Alınan beyin dokuları ile yapılan incelemelerde, agomelatinin apoptozu baskıladığı, ROS ve lipid peroksidasyonunu azalttığı tespit edilmiştir. Araştırmacılar sonuç itibarıyla, agomelatinin fokal İR hasarı üzerinde nöroprotektif etkilere sahip olduğunu ve bu etkilerin agomelatinin antioksidan ve anti-apoptotik etkisiyle ilişkili olduğunu savunmaktadırlar. Mevcut projede antioksidan özellikleriyle İR hasarını iyileştirici etkiler gösteren agomelatin, Jia ve ark. (2018) ile Chumboatong ve ark. (2017) tarafından yürütülen çalışmaların sonuçlarını da benzer şekilde etkilemiştir.

Melatoninin düz kas kontraksiyonlarını azalttığı gösterilmiştir (Ercan ve ark., 2017). Bu bağlamda, reseptör analogu olan agomelatinin de düz kaslarda gevşetici etkilerinin olabileceği düşüncesi ilgi çekicidir. Çünkü bu etki, kontraksiyonun beklenenin dışında artış gösterdiği durumların kontrol edilmesinde kullanılabilir. Bununla birlikte; düz kas kontraksiyonunun inhibisyonuyla meydana gelebilecek fizyopatolojilerde agomelatinin potansiyel inhibitör etkisi hakkında fikir sahibi olmak da önemli olabilir. Antidepresan tedavilerin uzun süreli olduğu ve pek çok defa cinsel işlev bozukluğuyla ilişkilendirildiği göz önünde bulundurulduğunda bu önem artacaktır.

Yapılan literatür taramasına göre, çalışmamız kontraksiyonel açıdan agomelatinin testis kapsülü düz kas tabakasına (tunica albuginea) etkilerini inceleyen ilk çalışmadır. İzole organ banyosu verilerinin istatistiksel analizine göre, testis kapsülü kasılmasının inhibisyonu açısından gruplar arasında fizyolojik olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ( $p>0.05$ ). Öte yandan; genlik parametrelerimiz grup içi zaman değerleri üzerinden analiz edildiğinde AgoK, İR ve AgoİR gruplarında zaman içerisinde anlamlı azalmalar olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.05$ ). Kısıtlı sayıda da olsa, özellikle ürogenital eksende ele alındığında, inhibisyona dair bulgularımızı destekleyen başka çalışmalar da bulunmaktadır.

Al-Bayati (2021), agomelatinin mesane kasılma-gevşeme mekanizması üzerindeki etkilerini erkek ratlar üzerinde araştırmıştır. Çalışmasında, haznesinde krebs çözeltisi bulunan izole organ banyosuna mesane şeritlerini yerleştirmiş ve kasılmaları ACh ile indüklemiştir. Ardından agomelatinin 100  $\mu$ M, 200  $\mu$ M ve 1000  $\mu$ M dozlarını mesane şeritlerine uygulamıştır. Buna göre; agomelatin düşük ve yüksek konsantrasyonlarda mesane düz kaslarının kasılma aktivitesini azaltırken, orta düzeydeki konsantrasyonlarda kasların kasılmasını arttırmıştır. Sonuç itibarıyla, agomelatinin rat mesane düz kasında konsantrasyona bağımlı bir şekilde gevşemeye aracılık ettiği ifade edilen çalışmada, agomelatinin aşırı aktif çalışan mesane fizyopatolojilerinde potansiyel terapötik etkileri olabileceği belirtilmiştir.

Yapılan başka bir çalışmada, yine ratlar kullanılarak elde edilen mesane şeritleri (2x10 mm) içerisinde krebs çözeltisi bulunan izole organ banyosuna yerleştirilmiştir. 1. protokolde  $10^{-5}$  M ACh ile indüklenen kasılmalar üzerine herhangi bir ilave işlem uygulanmazken, 2. protokolde ise  $10^{-5}$ M ACh ile indüklenen kasılmalar üzerinde agomelatinin kümülatif doz bağımlı etkileri gözlemlenmiştir. Kaslara 10 dakika arayla ve sırasıyla  $10^{-8}$ M,  $10^{-7}$ M,  $10^{-6}$ M,  $10^{-5}$ M,  $10^{-4}$ M,  $10^{-3}$  M agomelatinin arka arkaya uygulanmış ve kasılmalarındaki inhibisyonun  $10^{-4}$ M ve  $10^{-3}$ M dozlarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $p<0.001$ ). Ancak şaşırtıcı bir şekilde, en yüksek dozdan sonra kasılmaların tekrar artışa geçtiği görülmüştür. Çalışmanın sonuçlarına göre, bu durum ilacın doza bağımlı güvenilirliğinin düşük olduğu şeklinde yorumlanırken, agomelatinin kümülatif dozlarının ACh ile indüklenen in vitro rat mesane düz kası kasılma cevaplarını azalttığı belirtilmiştir (Vidin, 2019).

Al-Bayati (2021) ve Vidin (2019) tarafından yürütülen çalışmaların sonuçları birlikte ele alındığına, mevcut tez projesinin bulgularını destekler nitelikte olduklarını açıkça ifade edebiliriz. Ancak her iki araştırmacı da, agomelatin tedavisinin aşırı aktif mesane sendromunda yararlı etkileri olabileceğini vurgulasa da, ilacın doz bağımlı güvenilirliğindeki düşüklüğün mekanizması hakkında açıklayıcı bilgilere yer vermemiştir.

Agomelatinin, gebe ratların uterus kontraksiyonlarına etkilerini inceleyen bir çalışmada, izole organ banyosuna yerleştirilen ve kasılmaları oksitosin ile indüklenen miyometriyum kesitlerine 3 ayrı protokolda (50µM, 100µM ve 200µM) agomelatin uygulanmıştır. Sonuçta doz bağımlı olarak frekans, genlik ve alan değerleri belirgin olarak azalmış ve uterusun kontraksiyonları üzerinde agomelatinin tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı inhibitör etkiye sahip olduğu ifade edilmiştir. Özellikle gebelik döneminde agomelatinin daha düşük dozlarda inhibisyona neden olması, bu dönemde artan melatonin reseptör sayısı ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca mevcut inhibitör etkinin luzindol ile (bir melatonin reseptör antagonisti) geri dönmesi, agomelatinin inhibitör etkisini MT1 ve MT2 reseptörleri üzerinden yaptığı şeklinde değerlendirilmiştir (Tan, 2018).

Kacar ve ark. (2022) tarafından gerçekleştirilen ve agomelatinin bağırsak düz kası kontraktilesine etkisini ilk kez araştıran bir başka güncel çalışmada ise, dişi rattan elde edilen ince bağırsak kesitleri kullanılmıştır. Hazırlanan duodenum, jejunum, ileum ve kolon stripleri izole organ banyosuna yerleştirilmiş ve 80 mM potasyum klorür ile indüklenen kas şeritlerine 100 µM, 200 µM ve 1000 µM dozlarında agomelatin uygulanmıştır. Sonuçta, kasılmaların doz bağımlı bir şekilde inhibe olduğu; frekans, eğri altında kalan alan ve P-P değerlerinin ise istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı bulunmuştur ( $p < 0,05$ ). Bu çalışmada da luzindol uygulaması agomelatinin etkisini anlamlı düzeyde azaltmıştır ( $p < 0,05$ ) ve bu durum agomelatinin melatonin reseptörleri aracılığıyla bağırsak düz kaslarını etkilediği ifade edilmiştir.

Diöstrus dönemindeki ratların miyometriyum şeritleri ile izole organ banyosunda yapılan başka bir çalışmada (Ercan ve ark., 2017), spontan ve oksitosin ile indüklenmiş kasılmalara 50 µM, 100 µM ve 200 µM konsantrasyonlarda agomelatin uygulanmış ve kontraksiyonların frekans, amplitüd ve alan değerlerinin anlamlı düzeyde azaldığı tespit edilmiştir. ( $p < 0,05$ ). Ayrıca 200µM dozundaki azalmalar diğer konsantrasyonlardan daha anlamlı olmuştur ( $p < 0,001$ ). Yazarlar, agomelatinin doz ile orantılı bu inhibitör etkisinin, düşük riski taşıyan gebelerde uterus kasılmalarını inhibe etmek amacıyla kullanılabileceği önermektedir. Öte yandan, bu çalışmada luzindol inhibisyonu geriye döndürmemiştir ve bu durum agomelatinin melatonin reseptörlerine bağlanmadığı şeklinde değerlendirilmiştir. Başta bizim araştırma sonuçlarımız olmak üzere; agomelatinin doz bağımlı inhibitör etkisi üzerine daha önce tartıştığımız çalışmalar birbirleriyle uyumlu olsalar da, bu çalışma, ilacın melatonin reseptörlerine bağlanıp bağlanmaması noktasında Tan (2018) ile ve Kacar ve ark. (2022) tarafından elde edilen bulgu ve yorumlarla çelişmektedir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Agomelatin testiste cerrahi torsiyon-detorsiyon modeliyle indüklenmiş İR hasarına karşı belirgin antioksidan etkiler göstermiştir. Histopatolojik analizlerle (Johnsen Skorlaması) ortaya koyduğumuz bu bulgu, büyük olasılıkla agomelatinin serbest radikal süpürücü etkisiyle oksidatif hasarı geriletmiş olmasından kaynaklanmaktadır. Selenyum, agomelatinin testiste İR hasarına karşı göstermiş olduğu antioksidan etkilere anlamlı düzeyde katkıda bulunmuştur. Selenyum bu etkisini muhtemelen yapısına katıldığı ve kofaktörü olduğu GSH-Px enziminin aktivitesini artırarak gerçekleştirmiştir. Bununla birlikte, agomelatin ve selenyumun testiste İR hasarına karşı göstermiş oldukları bu antioksidan etkilerin ilerleyen çalışmalarda biyokimyasal parametrelerle desteklenebileceğine inanıyoruz.

Agomelatin testis kapsülü düz kas tabakasında (tunica albuginea) grup içi zaman değerlerine göre anlamlı düzeyde inhibitör etkiler göstermiştir. İzole organ banyosu analizlerine dayandırdığımız bu bulgu, literatür ile paralellik göstermektedir. Agomelatinin miyorelaksan etkisinin gruplar arasında anlamlılık göstermemesinin ise deneysel kurgumuzda ilacın doz bağımlı olmamasından ileri geldiğini düşünüyoruz.

Testis kapsülündeki kasılma aktivitesinin, spermi seminifer tübüllerden epididimise iten faktörlerden biri olduğu savunulmaktadır. Dolayısıyla agomelatin ilişkili inhibisyon, tunica albuginea'da kasılma aktivitesini azaltabilir ve infertilite için predispozan bir faktör olabilir. Agomelatinin, elde edilen verilere göre, testis kapsülü tunica albuginea tabakasındaki kısmi inhibitör etkisi, ileride doz bağımlı izole organ banyosu çalışmalarıyla desteklenebilir ve bu etkinin doz bağımlı güvenilirliği tartışılarak daha net hale gelmesi sağlanabilir. Ayrıca, luzindol gibi melatonin antagonisti ilaçlar kullanılarak, agomelatinin testis kapsülündeki inhibitör etkisinin MT1-MT2 reseptörleri üzerinden olup olmadığı da sorgulanabilir.



## 7. KAYNAKLAR

- Akaras, N., Bal, T., Atilay, H., Selli, J., & Halici, M. B. (2017). Protective effects of agomelatine on testicular damage caused by bortezomib. *Biotech Histochem*, 92(8), 552-559.
- Akgur, F. M., Kılınc, K., & Aktug, T. (1993). Reperfusion injury after detorsion of unilateral testicular torsion. *Urol Res*, 21, 395-399.
- Aktümsek, A. (2001). *Anatomi ve Fizyoloji İnsan Biyolojisi*. (1. Baskı). Nobel Yayın Dağıtım.
- Al-Bayati, M. K. S. (2021). *Agomelatine mesane kasılma-gevşeme mekanizması üzerine etkilerinin araştırılması* (Tez No. 658367) [Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi]. Ulusal Tez Merkezi.
- Amaç, B. (2020). Perfüzyonist: geleceğin mesleği olabilir. *MedRecords*, 2(2), 34-38.
- Arce, J. D., Cortes, M., & Vargas, J. C. (2002). Sonographic diagnosis of acute spermatic cord torsion. Rotation of the cord: a key to the diagnosis. *Pediatr Radiol*, 32, 485-491.
- Arumugam, T. V., Shiels, I. A., Woodruff, T. M., Granger, D. N., & Taylor, S. M. (2004). The role of the complement system in ischemia-reperfusion injury. *SHOCK*, 21(5), 401-409.
- Aslankoc, R., Ozmen, O., & Ellidag, H. Y. (2020). Ameliorating effects of agomelatine on testicular and epididymal damage induced by methotrexate in rats. *J Biochem Mol Toxicol*, 34(3), 1-10.
- Avlan, D., Erdogan, K., Cimen, B., Apa, D. D., Cinel, I., et al. (2005). The protective effect of selenium on ipsilateral and contralateral testes in testicular reperfusion injury. *Pediatr Surg Int*, 21, 274-278.
- Aykora, D. (2020). *DeneySEL böbrek iskemi/reperfüzyon hasarında Agomelatine'in etkilerinin araştırılması* (Tez No. 624253) [Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi]. Ulusal Tez Merkezi.
- Baines, C. P. (2009). The mitochondrial permeability transition pore and ischemia-reperfusion injury. *Basic Res Cardiol*, 104, 181-188.
- Banks, F. C. L., Knight, G. E., Calvert, R. C., Turmaine, M., Thompson, C. S., et al. (2006). Smooth muscle and purinergic contraction of the human, rabbit, rat, and mouse testicular capsule. *Biol Reprod*, 74(3), 473-480.
- Bas, E., & Nazıroglu, M. (2019). Treatment with melatonin and selenium attenuates docetaxel-induced apoptosis and oxidative injury in kidney and testes of mice. *Andrologia*, 51(8), 1-9.
- Bast, A., Haenen, G. R., & Doelman, C. J. (1991). Oxidants and antioxidants: state of the art. *Am J Med*, 91, 2S-13S.
- Behne, D., Hofer, T., von Berswordt-Wallrabe, R., & Elger, W. (1982). Selenium in the testis of the rat: studies on its regulation and its importance for the organism. *J Nutr*, 112, 1682-1687.
- Burton, G. W., & Traber, M. G. (1990). Vitamin E: Antioxidant activity, biokinetics and bioavailability. *Annu Rev Nutr*, 10, 357-382.
- Caesar, R. E., & Kaplan, G. W. (1994). The incidence of the cremasteric reflex in normal boys. *J Urol*, 152, 779-780.
- Candocia, F. J., & Sack-Solomon, K. (2003). An infant with testicular torsion in the inguinal canal. *Pediatr Radiol*, 33, 722-724.
- Catena-Dell'Osso, M., Marazziti, D., Rotella, F., & Bellantuono, C. (2012). Emerging targets for the pharmacological treatment of depression: focus on melatonergic system. *Curr Med Chem*, 19, 428-437.
- Cay, A., Alver, A., Kucuk, M., Isik, O., Eminagaoglu, M. S., et al. (2006). The effects of N-acetylcysteine on antioxidant enzyme activities in experimental testicular torsion. *J Surg Res*, 131, 199-203.
- Chumboatong, W., Thummayot, S., Gavitrpong, P., Tocharus, C., Jittiwat, J., et al. (2017). Neuroprotection of agomelatine against cerebral ischemia/reperfusion injury through an antiapoptotic pathway in rat. *Neurochem Int*, 102, 114-122.
- Costanzo, L. S. (Ed.). (2018). *Fizyoloji*. Hipokrat Kitabevi.
- Dantas da Silva Junior, E., Palmieri de Souza, B., Rodrigues, J. Q., Caricati-Neto, A., Jurkiewicz, A., et al. (2014). Effects of clonidine in the isolated rat testicular capsule. *Eur J Pharmacol*, 726, 16-26.

- Davenport, M. (1996). ABC of general surgery in children. Acute problems of the scrotum. *BMJ*, 312(7028), 435-437.
- de Bodinat, C., Guardiola-Lemaitre, B., Mocaer, E., Renard, P., Munoz, C., et al. (2010). Agomelatine, the first melatoninergic antidepressant: discovery, characterization and development. *Nature Rev Drug Discov*, 9, 628-642.
- De Martino, G. N. (1981). Calcium-dependent proteolytic activity in rat liver: identification of two proteases with different calcium requirements. *Arch Biochem Biophys*, 211, 253-257.
- Di Lisa, F., Kaludercic, N., Carpi, A., Menabó, R., & Giorgio, M. (2009). Mitochondrial pathways for ROS formation and myocardial injury: the relevance of p66 (Shc) and monoamine oxidase. *Basic Res Cardiol*, 104, 131-139.
- Dokmeci, D., Kanter, M., Inan, M., Aydogdu, N., Basaran, U. N., et al. (2007). Protective effects of ibuprofen on testicular torsion/detorsion-induced ischemia/reperfusion injury in rats. *Arch Toxicol*, 81, 655-663.
- Ercan, Z., Kaçar, E., & Serhatlıoğlu, İ. (2017). Bir Antidepresan Olan Agomelatine'nin Sıçan Miyometriyum Kontraksiyonları Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. *F.Ü.Sağ.Bil.Tıp.Derg.*, 31(2), 89-92.
- Erkekoglu, P., Zeybek, N.D., Giray, B., Asan, E., & Hincal, F. (2012). The effects of di(2-ethylhexyl)phthalate exposure and selenium nutrition on sertolice llvimentin structure and germ-cell apoptosis in rat testis. *Arch Environ Contam Toxicol*, 62, 539-547.
- Erol, B., Tokgoz, H., Hanci, V., Bektas, S., Akduman, B., et al. (2009). Vardenafil reduces testicular damage following ischemia/reperfusion injury in rats. *Kaohsiung J Med Sci*, 25, 374-380.
- Esme, H., Fidan, H., Koken, T., & Solak, O. (2006). Effect of lung ischemia-reperfusion on oxidative stress parameters of remote tissues. *Eur J Cardiothorac Surg*, 29, 294-298.
- Filho, D. W., Torres, M. A., Bordin, A. L., Crezcyński-Pasa, T. B., & Boveris, A. (2004). Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia/reperfusion injury. *Mol Aspect Med*, 25, 199-210.
- Galejs, L. E. (1999). Diagnosis and treatment of the acute scrotum. *Am Fam Physician*, 59, 817-824.
- Gamain, B., Arnaud, J., Favier, A., Camus, D., Dive, D., et al. (1996). Increase in glutathione peroxidase activity in malaria parasite after selenium supplementation. *Free Radic Biol Med*, 21, 559-565.
- Gartner, L. P., & Hiatt, J. L. (Eds.). (2009). *Renkli Histoloji Atlası*. Güneş Tıp Kitabevleri.
- Gholami, M., Zendedel, A., Khayat, Z. K., Ghanad, K., Nazari, A., et al. (2015). Selenium effect on ischemia-reperfusion injury of gastrocnemius muscle in adult rats. *Biol Trace Elem Res*, 164(2), 205-211.
- Grisham, M. B., & Granger, D. N. (1989). Metabolic sources of reactive oxygen metabolites during oxidant stress and ischemia and reperfusion. *Clin Chest Med*, 10, 71-81.
- Guo, F., Monsefi, N., Moritz, A., & Beiras-Fernandez, A. (2012). Selenium and cardiovascular surgery: an overview. *Curr Drug Saf*, 7, 321-327.
- Hall, J. E. (Ed.). (2017). *Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji*. Güneş Tıp Kitabevleri.
- Hall, J. E. (Ed.). (2013). *Guyton ve Hall Tıbbi Fizyoloji*. Nobel Tıp Kitabevleri.
- Hargrove, J. L., Macindoe, J. H., & Ellis, L. C. (1977). Testicular contractile cells and sperm transport. *Fertil Steril*, 28, 1146-1157.
- Hein, T. W., Zhang, C., Wang, W., Chang, C.I., Thengchaisri, N., et al. (2003). Ischemia-reperfusion selectively impairs nitric oxide-mediated dilation in coronary arterioles: counteracting role of arginase. *FASEB J*, 17, 2328-2330.
- Hickie, I. B., & Rogers, N. L. (2011). Novel melatonin-based therapies: potential advances in the treatment of major depression. *Lancet*, 378, 621-631.
- Iană, O., Olinescu, R., & Bădescu, I. (1991). Melatonin involvement in oxidative processes. *Endocrinologie*, 29(3-4), 147-153.
- Inauen, W., Suzuki, M., & Granger, D. N. (1989). Mechanisms of cellular injury: potential sources of oxygen free radicals in ischemia/reperfusion. *Microcirc Endo Lymph*, 5, 143-155.

- Jia, P., Liu, C., Wu, N., Jia, D., & Sun, Y. (2018). Agomelatine protects against myocardial ischemia reperfusion injury by inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening. *Am J Transl Res*, 10(5), 1310-1323.
- Johnsen, S. G. (1970). Testicular biopsy score count a method for registration of spermatogenesis in human testes. Normal values and results of 335 hypogonadal males. *Hormones*, 1(1), 2-25.
- Jurkiewicz, N. H., Jurkiewicz, A., & Dantas da Silva Junior, E. (2020). Physiopharmacological properties of the testicular capsule: A concise review. *Eur J Pharmacol*, 883, 173345.
- Kacar, E., Sahinturk, S., Yardimci, A., Ulker, N., Tan, F., et al. (2022). Effect of agomelatine on intestinal smooth muscle contractility in rats. *Ann Med Res*, 29(11), 1258-1262.
- Kara, O., Sari, E., Aksit, H., Yay, A., Aksit, D., et al. (2016). Effects of selenium on ischaemia-reperfusion injury in a rat testis model. *Andrologia*, 48(10), 1267-1273.
- Karabulut, H., & Gülay, M. Ş. (2016). Serbest radikaller. *MAKÜ Sag Bil Enst Derg*, 4(1), 50-59.
- Kartal, N. T., Ozbek-Bilgin, A., Palabiyik-Yucelik, S. S., Halici, Z., & Cadirci, E. (2019). Protective Effects of Agomelatine, A Melatonin Receptor Agonist, on Paracetamol Induced Nephrotoxicity. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, 39(2), 81-89.
- Kennedy, S. H. (2007). Agomelatine: an antidepressant with a novel mechanism of action. *Future Neurol*, 2(2), 145-151.
- Kopp, C., Vogel, E., Rettori, M. C., Delagrang, P., & Misslin, R. (1999). The effects of melatonin on the behavioral disturbances induced by chronic mild stress in C3H/He mice. *Behav Pharmacol*, 10, 73-83.
- Korthuis, R. J., & Granger, D. N. (1993). Reactive oxygen metabolites, neutrophils, and the pathogenesis of ischemic-tissue reperfusion. *Clin Cardiol*, 16(1), 19-26.
- Koz, M., Gelir, E., & Ersöz, G. (2010). *Fizyoloji Ders Kitabı*. (2. Baskı). Nobel Yayın Dağıtım.
- Köylü, H. (2019). *Klinik Anlatımlı Tıbbi Fizyoloji*. (3. Baskı). İstanbul Tıp Kitabevleri.
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (Eds.). (2014). *Robbins Temel Patoloji*. Nobel Tıp Kitabevleri.
- Kvietys, P. R., & Granger, D. N. (2012). Role of reactive oxygen and nitrogen species in the vascular response to inflammation. *Free Radic Biol Med*, 52, 556-592.
- Lehotsky, J., Kaplan, P., Matejovicova, M., Murin, R., Racay, P., et al. (2002). Ion transport systems as targets of free radicals in ischemia reperfusion injury. *Gen Physiol Biophys*, 21(1), 31-37.
- Macnicol, M. P. (1974). Torsion of the testis in childhood. *Brit J Surg*, 61, 905-908.
- Mehmetoğlu, İ. (2004). *Öğrenciler, Teknisyenler ve Doktorlar İçin Klinik Biyokimya Laboratuvarı Kitabı (Hematoloji ve Seroloji İlaveli)*. (3. Baskı). Yelken Basım Yayın Dağıtım.
- Millan, M. J., Gobert, A., Lejeune, F., Dekeyne, A., Newman-Tancredi, A., et al. (2003). The novel melatonin agonist agomelatine (S20098) is an antagonist at 5-hydroxytryptamine<sub>2C</sub> receptors, blockade of which enhances the activity of frontocortical dopaminergic and adrenergic pathways. *J Pharmacol Exp Ther*, 306, 954-964.
- Mis, L., & Yeltekin, A. Ç. (2014). Apoptosis. *BEÜ Fen Bilimleri Dergisi*, 3(1), 102-112.
- Mogilner, J. G., Lurie, M., Coran, A. G., Nativ, O., Shiloni, E., et al. (2006). Effect of diclofenac on germ cell apoptosis following testicular ischemia-reperfusion injury in a rat. *Pediatr Surg Int*, 22, 99-105.
- Montejo, A., Majadas, S., Rizvi, S. J., & Kennedy, S. H. (2011). The effects of agomelatine on sexual function in depressed patients and healthy volunteers. *Hum Psychopharmacol*, 26, 537-542.
- Nguyen, L., Lievano, G., Ghosh, L., Radhakrishnan, J., Fornell, L., et al. (1999). Effect of unilateral testicular torsion on blood flow and histology of contralateral testes. *J Pediatr Surg*, 34(5), 680-683.
- Fennema, O. R. (Ed.). (1996). *Food Chemistry*. Marcel Dekker.
- Nazıroğlu, M. (2009). Role of selenium on calcium signaling and oxidative stress-induced molecular pathways in epilepsy. *Neurochemical Research*, 34(12), 2181-2191.
- Ozcan, O., Erdal, H., & Yonden, Z. (2015). İskemi-reperfüzyon hasarı ve oksidatif stres ilişkisine biyokimyasal bakış. *Mustafa Kemal Üniv Tıp Derg*, 6(23), 27-33.

- Parks, D.A., Williams, T. K., & Beckman, J. S. (1988). Conversion of xanthine dehydrogenase to oxidase in ischemic rat intestine: a reevaluation. *Am J Physiol*, 254(5 Pt 1), G768-774.
- Pınar, L. (2016). *Sinir ve Kas Fizyolojisi Temel Bilgileri*. (4. Baskı). Akademisyen Tıp Kitabevi.
- Poltronieri, R., Cevese, A., & Sbarbati, A. (1992). Protective effect of selenium in cardiac ischemia and reperfusion. *Cardioscience*, 3, 155-160.
- Racagni, G., Riva, M. A., Molteni, R., Musazzi, L., Calabrese, F., et al. (2011). Mode of action of agomelatine: synergy between melatonergic and 5-HT<sub>2C</sub> receptors. *World J Biol Psychiatry*, 12, 574-587.
- Raghavendra, R., Kaur, G., & Kulkarni, S. K. (2000). Anti-depressant action of melatonin in chronic forced swimming-induced behavioral despair in mice, role of peripheral benzodiazepine receptor modulation. *Eur Neuropsychopharmacol*, 10, 473-481.
- Rhoades, R. A., & Bell, D. R. (Eds.). (2017). *Tıbbi Fizyoloji Klinik Tıbbın Temelleri*. İstanbul Tıp Kitabevleri.
- Ringdahl, E., & Teague, L. (2006). Testicular torsion. *Am Fam Physician*, 74(10), 1739-1743.
- Ross, M. H., & Pawlina, W. (Eds.). (2014). *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas*. Palme Yayıncılık.
- Waugh, A., & Grant, A. (Eds.). (2001). *Ross and Wilson Anatomy and Physiology in Health and Illness*. Churchill Livingstone.
- Santi, C., & Bagnoli, L. (2017). Celebrating Two Centuries of Research in Selenium Chemistry: State of the Art and New Prospective. *Molecules*, 22(12), 21-24.
- Schaffer, S. W., Roy, R. S., & McCord, J. M. (1983). Possible role for calmodulin in calcium paradox-induced heart failure. *Eur Heart J*, 4, 81-87.
- Schildkraut, J. S. (1965). The catecholamine hypothesis of affective disorders: A review of supporting evidence. *Am J Psychiatry*, 122, 509-522.
- Schünke, M., Schulte, E., & Schumacher, U. (Eds.). (2007). *Prometheus Anatomi Atlası Cilt 1*. Nobel Tıp Kitabevleri.
- Schünke, M., Schulte, E., & Schumacher, U. (Eds.). (2009). *Prometheus Anatomi Atlası Cilt 2*. Nobel Tıp Kitabevleri.
- Sharp, V. J., Kieran, K., & Arlen, A. M. (2013). Testicular torsion: diagnosis, evaluation, and management. *Am Fam Physician*, 88(12), 835-840.
- Simsek, N., Koc, A., Karadeniz, A., Yildirim, M. E., Celik, H. T., et al. (2016). Ameliorative effect of selenium in cisplatin-induced testicular damage in rats. *Acta Histochemica*, 118(3), 263-270.
- Sneddon, P., & Westfall, D. P. (1983). Pharmacological evidence that adenosine triphosphate and noradrenaline are co-transmitters in the guinea pig vas deferens. *J Physiol* 347, 561-580.
- Solaini, G., & Harris, D. A. (2005). Biochemical dysfunction in heart mitochondria exposed to ischemia and reperfusion. *Biochem J*, 390, 377-394.
- Stahl, S. M. (2007). Novel mechanism of antidepressant action: norepinephrine and dopamine disinhibition (NDDI) plus melatonergic agonism. *Int J Neuropsychopharmacol*, 10, 575-578.
- Szocs, K. (2004). Endothelial dysfunction and reactive oxygen species production in ischemia/reperfusion and nitrate tolerance. *Gen Physiol Biophys*, 23, 265-295.
- Tan, F. (2018). *Sıçanlarda agomelatine uygulamasının uterus kontraksiyonları ve gebelik süresi üzerine etkisi* (Tez No. 525408) [Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi]. Ulusal Tez Merkezi.
- Tanrıverdi, H. I., Senel, U., Gevrek, F., & Akbas, A. (2020). Protective effect of famotidine on ischemia-reperfusion injury following testicular torsion in rats. *Jpurol*, 17(2), 1.e1-7.
- Teke, Z., Kabay, B., & Özden, A. (2008). İskemi-reperfüzyon hasarının patofizyolojisi. *Pamukkale Tıp Dergisi*, 1, 65-72.
- Tekin, S. (2017). İnsan Over ve Prostat Kanseri Hücre Canlılığı Üzerine Etkili Yeni Bir İlaç: Agomelatine. *F.Ü.Sağ.Bil.Tıp.Derg.*, 31(3), 131-135.
- Thrane, A. S., Skehan, J. D., & Thrane, P. S. (2007). A novel interpretation of immunoredundancy and duality in reperfusion injury with important implications for intervention in ischaemic disease. *Med Hypotheses*, 68, 1363-1370.

- Uğur, H. (2014). *Agomelatin ve gallikasid'in streptozotosin (STZ) ile indüklenmiş diyabetik sıçan epididimisinde oksidatif stres üzerine antioksidan etkisi* (Tez No. 399043) [Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi]. Ulusal Tez Merkezi.
- Unsal, A., Eroglu, M., Avci, A., Cimentepe, E., Guven, C., et al. (2006). Protective role of natural antioxidant supplementation on testicular tissue after testicular torsion and detorsion. *Scand J Urol Nephrol*, 40, 17-22.
- Uzbay, İ. T. (2012). Agomelatin: genel bilgiler, farmakolojisi ve kullanım güvenliği. *Klinik Psikiyatri*, 15(Ek 1), 9-19.
- Vaghasiya, J. D., Sheth, N. R., Bhalodia, Y. S., & Jivani, N. P. (2010). Exaggerated liver injury produced by renal ischemia reperfusion in diabetes: effect of exenatide. *Saudi J Gastroenterol*, 16, 174-180.
- Valko, M., Morris, H., & Cronin, M. T. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Curr Med Chem*, 12, 1161-1208.
- Venardos, K. M., Perkins, A., Headrick, J., & Kaye, D. M. (2007). Myocardial ischemia-reperfusion injury, antioxidant enzyme systems, and selenium: a review. *Curr Med Chem*, 14(14), 1539-1549.
- Vidin, T. (2019). *Agomelatin, fluoksetin ve sertralinin sıçan mesane kasılmasına etkilerinin gözlemlenmesi: In vitro model* (Tez No. 585466) [Yüksek Lisans Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi]. Ulusal Tez Merkezi.
- Weiss, S. J. (1989). Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med*, 320, 365-376.
- Widmaier, E. P., Raff, H., & Strang, K. T. (Eds.). (2018). *Vander İnsan Fizyolojisi Vücut Fonksiyon Mekanizmaları*. Güneş Tıp Kitabevleri.
- Snell, K., & Mullock, B. (Eds.). (1987). *Wills ED Biochemical Toxicology*. IRL Press Limited.
- Winterbourne, C. C. (1986). Myeloperoxidase as an effective inhibitor of hydroxyl radical production. Implications for the oxidative reactions of neutrophils. *J Clin Invest*, 78, 545-550.
- Yalcin, A., Kavruk, O., Tunca, U., Saygin, M., & Ozmen, O. (2022). The Role of Agomelatin against Testicular Tissue Damage Due to Lipopolysaccharide-Induced Sepsis in Rats. *J Res Med Dent Sci*, 10(8), 74-82.
- Yapca, O. E., Borekci, B., Turan, M. I., & Gulapoğlu, M. (2014). The Effect of agomelatin on oxidative stress induced with ischemia/reperfusion in rat ovaries. *Adv Clin Exp Med*, 23(5), 715-721.
- Yarsan, E. (1998). Lipid peroxidasyon olayı ve önlenmesine yönelik uygulamalar. *YYU Vet Fak Derg*, 9(1-2), 89-95.
- Yazici, A., Aksit, H., Sari, E. S., Yay, A., Erken, H. A., et al. (2015). Comparison of pre-treatment and post-treatment use of selenium in retinal ischemia reperfusion injury. *Int J Ophthalmol*, 8(2), 263-268.
- Yeğen, B. Ç. (2014). *Yüksekokullar İçin Fizyoloji*. (2. Baskı). Nobel Tıp Kitabevleri.
- Yigitturk, G., Acara, A. C., Erbas, O., Oltulu, F., Yavasoglu, N. U. K., et al. (2017). The antioxidant role of agomelatin and gallic acid on oxidative stress in STZ induced type I diabetic rat testes. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 87, 240-246.
- Yoshida, K., Mizukami, Y., & Kitakaze, M. (1999). Nitric oxide mediates protein kinase C isoform translocation in rat heart during postischemic reperfusion. *Biochim Biophys Acta*, 1453, 230-238.
- Yöntem, M., & Ünalı, M. (2018). *Biyokimya*. (1. Baskı). İstanbul Tıp Kitabevleri.
- Zendedel, A., Gharibi, Z., Anbari, K., Abbaszadeh, A., Khayat, Z. K., et al. (2017). Selenium ameliorates peripheral nerve ischemic-reperfusion injury via decreased TNF- $\alpha$ . *Biol Trace Elem Res*, 176(2), 328-337.



## 8. EKLER

### 8.1. Etik Kurul Onay Belgesi



T.C.  
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ  
KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve  
Araştırma Merkezi Müdürlüğü



Karar Sayısı: 2021 – 031

Karar Tarihi: 02.07.2021

#### Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Kararı

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Fizyoloji ABD'den Doç. Dr. Z. Işık SOLAK GÖRMÜŞ, ve Ahmet Talha İNAL' ın "**Agomelatin ve Selenyum Deneysel İskemi Reperfüzyon Hasarlı Rat Testis Modelini Nasıl Etkiler?**" başlıklı tez projesi 11 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Projede 5 grupta toplam 40 adet sıçan kullanılacağı ve anestezi altında servikal dislokasyon ile sakrifiye edileceği bildirilmiştir.

Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesindeki ilgili maddelerde belirtilen başvuru sahibinin sorumlulukları ve hayvan deneyleri ile ilgili etik ilkeler saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında yönerge ilkelerine uyulduğu ve çalışmanın deneysel kısmını gerçekleştirecek araştırmacıların deney hayvanları kullanım sertifikasına sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından "**Uygun**" olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr Mehmet Tuğrul YILMAZ  
Başkan