



**KARVEDİLOLÜN ERKEK REPRODUKTİF
SİSTEM HÜCRE DİZİLERİNDE
TOKSİSİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**
Yüksek Lisans Tezi

LUBANA HALAWANI

Eskişehir 2024

**KARVEDİLOLÜN ERKEK REPRODUKTİF SİSTEM HÜCRE
DİZİLERİNDE TOKSİSİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

LUBANA HALAWANI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Bülent ERGUN

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Mayıs 2024

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Lubana HALAWANI'nın “**Karvedilolün erkek reproduktif sistem hücre dizilerinde toksisitesinin değerlendirilmesi**” başlıklı tezi 30/05/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği”nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Bülent ERGUN	
Üye	: Prof. Dr. Sinem ILGIN	
Üye	: Doç. Dr. Volkan KILIÇ	

Prof. Dr. Saime ÖNCE
Enstitü Müdürü

ÖZET

KARVEDİLOLÜN ERKEK REPRODUKTİF SİSTEM HÜCRE DİZİLERİNDE TOKSİSİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Lubana HALAWANI

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Mayıs 2024

Danışman: Prof. Dr. Bülent ERGUN

Reproduktif sağlık ile ilişkili problemler günümüzde insanların yaşam kalitesini etkilemektedir. Epidemiyolojik çalışmalar son yıllarda insanlarda sperm kalitesinin azaldığını işaret etmektedir. Bu durum ilaçlar dahil artan çevresel maruziyetler ile ilişkilendirilmiştir. Tekrarlayan dozlarda maruz kalınan ilaçların da insanlarda sperm kalitesini etkileyebileceği düşünülmektedir. Bu tez çalışmasında, tekrarlayan dozlarda kardiyavasküler hastalıkların tedavisinde sıklıkla kullanılan karvedilolün *in vitro* olarak TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerinin değerlendirilmesi ve olası toksisitenin altında yatan bir mekanizma olarak hücre dizilerinde reaktif oksijen türlerinin miktarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Sonuçlarımız karvedilolün hem TM3 Leydig hem TM4 Sertoli hücrelerinde doza bağımlı olarak sitotoksik etkili olduğunu göstermiştir. Diğer taraftan TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücrelerinde karvedilol ile reaktif oksijen türlerinin üretiminin indüklenmediği tespit edilmiştir. Buna göre karvedilolün testiküler yapının hücresel bileşenleri olan Leydig ve Sertoli hücreleri üzerinde direkt toksik etkilerinin olduğu söylenebilir. Oksidatif stresin bu ajan ile indüklenip indüklenmediğini anlamak için hücresel antioksidanların da seviyelerinin belirlenmesinin gerekliliği vurgulanabilir.

Anahtar Sözcükler: Karvedilol, Reprodüktif toksisite, Oksidatif stres.

ABSTRACT

ASSESSMENT OF THE TOXICITY OF CARVEDILOL ON MALE REPRODUCTIVE SYSTEM CELLS

Lubana HALAWANI

Department of Pharmaceutical Toxicology

Anadolu University, Institution of Graduate Schools, Mayıs 2024

Supervisor: Prof. Dr. Bülent ERGUN

Reproductive health-related problems are currently affecting people's quality of life. Epidemiological studies in recent years have indicated a decline in sperm quality among humans. This condition has been associated with increased environmental exposures, including medications. It is hypothesized that repeated exposure to certain drugs can also impact sperm quality in humans. This thesis aims to evaluate the cytotoxic effects of carvedilol, which is a drug that is commonly used in the treatment of cardiovascular diseases, on TM3 Leydig and TM4 Sertoli cells *in vitro*, and to determine the amount of reactive oxygen species in the cell lines as an underlying mechanism of potential toxicity. Our findings indicate that carvedilol exhibits dose-dependent cytotoxic effects on TM3 Leydig and TM4 Sertoli cells. However, it was observed that carvedilol did not induce the production of reactive oxygen species in these cell lines. Accordingly, it can be concluded that carvedilol has direct toxic effects on Leydig and Sertoli cells, which are cellular components of the testicular structure. The necessity of determining the levels of cellular antioxidants to understand whether this agent induces oxidative stress is emphasized.

Keywords: Carvedilol, Reproductive toxicity, Oxidative stress.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi yazımında desteklerini esirgemeyen bilgi ve donanımları ile yön gösterici olarak yanımda her daim bulunan Prof. Dr. Bülent ERGUN ve Prof. Dr. Sinem ILGIN'ye minnetlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Aynı zamanda bu süreç boyunca Dr. Öğretim Üyesi Merve BAYSAL, Araş. Gör. Ab. Burak KARADUMAN ve Öğr. Gör. Büşra KORKUT ÇELİKATEŞ'e yardım ve destekleri için ayrıca teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca desteklerini, sevgilerini hiç esirgemeyen sevgili annem, babam, kardeşlerim ve tüm sevgili ailem ve arkadaşlarım'ya sonsuz teşekkür ederim.



ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmamın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

LUBANA HALAWANI

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
KISALTMALAR DİZİNİ	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	2
2.1. Karvedilol	2
2.1.1. Karvedilolün farmakokinetik özellikleri	3
2.1.2. Karvedilolün endikasyonu ve etki mekanizması	3
2.1.2.1. Hipertansif ve vasküler hastalıklar	3
2.1.2.2. Kalp hastalıkları	4
2.1.3. Karvedilolün kontrendikasyonları	4
2.1.4. Karvedilolün ilaç-ilaç etkileşimleri	4
2.1.5. Karvedilolün advers etkileri	5
2.2. Erkek Reprodüktif Fizyolojisi ve Spermatogenezi	5
2.2.1. Erkek fertilitate problemleri	7
2.2.2. İlaçların erkek fertilitesi üzerindeki etkileri	8
2.3. Karvedilol ile İndüklenen Erkek Reprodüktif Sistem Advers Etkileri	14
3. GEREÇLER	17
3.1. Kullanılan Maddeler ve Sarf Malzemeler	17

3.2. Kullanılan Cihazlar	17
3.3. Kullanılan Hücre Hatları	18
4. YÖNTEMLER	18
4.1. TM3 Leydig ve TM4 Sertoli Hücrelerinde Hücre Canlılığının Belirlenmesi ...	18
4.1.1. TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücrelerinin çoğaltılması	18
4.1.2. TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücrelerinin plakaya ekilmesi	19
4.1.3. TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücrelerine MTT sitotoksosite testinin uygulanması.....	19
4.2. TM3 Leydig ve TM4 Sertoli Hücrelerinde ROT Üretiminin Belirlenmesi	20
4.2.1. TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücrelerinin plakaya ekilmesi	20
4.2.2. TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücrelerine DCFDA/H2DCFDA testinin uygulanması	20
5. BULGULAR.....	21
5.1. TM3 Leydig ve TM4 Sertoli Hücrelerinde MTT Sitotoksosite Testi Sonuçları.....	21
5.2. TM3 Leydig ve TM4 Sertoli Hücrelerinde DCFDA/H2DCFDA Testi Sonuçları.....	22
6. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER	23
KAYNAKÇA	26
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Karvedilolün kimyasal yapısı	3
Şekil 5.1. Karvedilolün TM3 Leydig hücrelerinde hücre canlılığı üzerine etkileri (%)	22
Şekil 5.2. Karvedilolün TM4 Sertoli hücrelerinde hücre canlılığı üzerine etkileri (%)	22
Şekil 5.3. Karvedilolün TM3 Leydig hücrelerinde ROT üretimi üzerine etkisi	23
Şekil 5.4. Karvedilolün TM4 Sertoli hücrelerinde ROT üretimi üzerine etkisi	24



KISALTMALAR DİZİNİ

α -adrenerjik Blokerler	: Alfa adrenerjik blockerler
5 α -Reductase	: 5 alfa redüktaz enzimi
ATCC	: American Type Culture Collection
ACEIs	: Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri
AV	: Atriyoventriküler
β -blockerler	: Beta blockerler
¹³ C-NMR	: Karbon nükleer manyetik rezonans
CYP450 AROMATASE	: Aromataz sitokrom P450 enzimi
CYP2D6	: Sitokrom P450 2D6
DCFDA/ H ₂ DCFDA	: 2',7'-Diklorofluorescein diasetat / 2',7'-Diklorodihidrofluoresein diasetat
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DHT	: Dihidrotestesteron
DMEM-F12	: Dulbecco's Modified Eagle's Medyum ve Ham's F-12 Nutrient karışımı
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ELISA	: Enzyme-linked immunosorbent assay
FBS	: Fetal Bovine Serum
FSH	: Folikül uyarıcı hormon
GnRH	: Gonadotropin salgılatıcı hormon
H ₂	: Histamin-2
HAART	: Yüksek Aktif Antiretroviral Tedavi
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü

HMG-CoA Reductase	: 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim-A redüktaz
¹ H-NMR	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans
HPG eksenı	: Hipotalamik-hipofiz-gonadal eksenı
HRMS	: Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi
IC ₅₀	: %50 İnhibitör konsantrasyon
IK ₅₀	: %50 İnhibitör konsantrasyon
KKB	: Kalsiyum kanal blokerleri
KKY	: Konjestif Kalp Yetmezliği
KOAH	: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
LH	: Luteinize edici hormon
LVEF	: Sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu
MAOI _s	: Monoamin oksidaz inhibitörleri
µL	: Microliter
µM	: Micromolar
MTT	: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür
nm	: Nanometer
NO	: Nitrik oksit
NSAID _s	: Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar
NYHA	: New York Kalp Birliği
PBS	: Fosfat tampon tuz çözeltisi (Phosphate Buffer Saline)
PPAR-α	: Peroksizom proliferatör aktive reseptör alfa
PPIs	: Proton pompası inhibitörü
RNA	: Ribonükleik asit
ROT	: Reaktif oksijen türleri

SHBG	: Seks hormonu bağlayıcı globulin
SSRI _s	: Selektif serotonin geri alım inhibitörleri
StAR	: Steroidojenik akut düzenleyici protein
TBHP	: tert-Butil hidroperoksit
TCA _s	: Trisiklik antidepresanlar
Trepsin-EDTA	: Trepsin-Etilendiamin tetraasetik asit
VO ₂	: Oksijen tüketimi hacmi
1X	: tripsin-EDTA çözeltisi

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Hipertansiyon özellikle kalp, böbrek, beyin ve gözleri etkileyen uç organ hasarına yol açan en yaygın hastalıklardan biridir. Hem erkeklerde hem de kadınlarda hipertansiyon ile seksüel disfonksiyon arasındaki ilişkiyi değerlendiren çok sayıda çalışma bulunmaktadır [1, 2]. Mevcut veriler hipertansiyon ile azalmış semen kalitesinde arasında bir ilişki olduğunu düşündürmektedir. Hipertansiyon tanısı alan erkeklerde, hipertansiyon tanısı almayan erkeklere göre daha düşük semen hacmi, sperm motilitesi, toplam sperm sayısı ve motil sperm sayısı tespit edilmiştir [2, 3].

Beta bloker bir ilaç olarak karvedilol hipertansiyonun tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır. Hem beta bloker hem de alfa bloker özelliklerine sahip olan bir non-selektif beta blokerdir. Bu özellikleri sayesinde hem kalp hızını düşürmekte hem de kan damarlarını genişleterek kan basıncını düşürmektedir [4]. Ayrıca antioksidan etkileriyle bilinen bir ilaç olan karvedilol, bu özelliği nedeniyle farklı patolojilerde kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Testiküler toksisitenin indüklendiği farklı modellerde karvedilolün koruyucu etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda karvedilol antioksidan ve antiinflamatuvar etkileriyle steroidogenezi ve spermatogenezi artırarak ve apoptozu inhibe ederek testiküler yapıda koruyucu bir etkiye sahip olabileceği gösterilmiştir [5, 6, 7]. Diğer taraftan farklı beta-blokerlerin spermatogenez süreci üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışma, karvedilol dahil olmak üzere beta-adrenerjik reseptör blokerlerinin spermatogenez üzerinde olumsuz etkileri olduğunu göstermiştir [8]. Dolayısıyla karvedilolün erkek reproduktif fonksiyonları üzerine etkilerine dair çalışmaların sonuçları çelişkilidir.

Var olan bilgiler doğrultusunda hipertansiyonun erkeklerde reproduktif sağlığı olumsuz etkileyebileceği aşıkardır. Bu nedenle hipertansiyon tedavisinde özellikle de reproduktif yaşlarda sıklıkla kullanılan bir ilaç olarak karvedilolün salt reproduktif toksisitesinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Bu noktadan hareketle, bu tez çalışmasında; karvedilolün erkek reproduktif toksisitesinin *in vitro* değerlendirilmesi ve olası toksisitede rol alabilecek bir mekanizma olarak reaktif oksijen türleri (ROT) üretiminin belirlenmesi amaçlanmıştır. Karvedilolün Sertoli ve Leydig hücrelerinde hücre canlılığına etkisinin 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difenil tetrazolyum bromür (MTT) testi ile belirlenmesi ve ROT üretiminin ise 2',7'-diklorofloresin diasetat (DCFDA) yöntemi ile değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

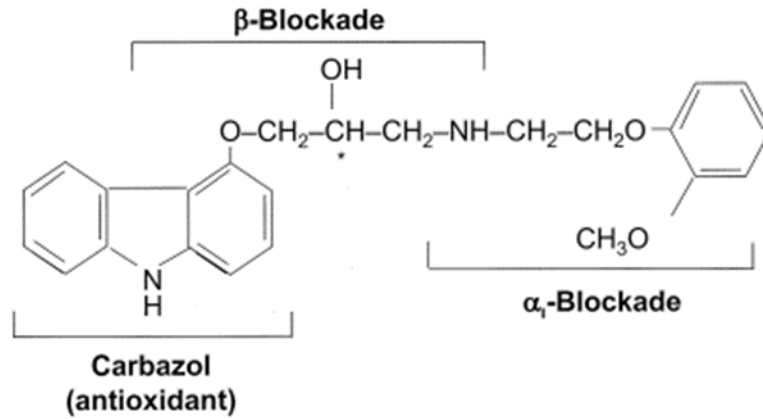
2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Karvedilol

Karvedilol, α adrenerjik bloke edici ajan içeren üçüncü nesil, seçici olmayan bir β blokerdir. Ek aktiviteleri, anti- inflamatuvar, antioksidan, anti- apoptotik ve calsium antagonist özelliklerine sahiptir. Karvedilol, miyokard, bronşiyal ve vasküler düz kastaki beta- adrenerjik reseptörlerin ve daha az ölçüde vasküler düz kastaki α_1 adrenerjik reseptörlerin kompetitif bir antagonistidir. Ayrıca periferik vazodilatör etki göstermektedir. Konjestif kalp yetmezliği, hipertansiyon, miyokard enfarktüsü ve miyokard enfarktüsü sonrası sol ventrikül disfonksiyonu için tek başına veya diğer ilaçlarla birlikte kullanılır [9, 10].

β_1 için β_2 adrenoseptörlerinden daha seçicidir (6 -39 kat). β_1 adrenoseptör bloke aktivitesi S enantiyomerlerine atfedilir; tersine, hem (S) hem de (R) enantiyomerleri α - adrenoseptör bloke aktivitesine sahiptir, bu da rasemik karışımın farmakolojik etkiler üretmek için klinik olarak kullanılmasını sağlar. α -bloker enantiyomerinin antioksidan özellikleri, karbazol bileşenine bağlıdır (Şekil 2.1) [9, 10].

Karvedilol, günde iki kez hızlı salımlı formda veya günde bir kez kontrollü salımlı formda tedavi için kullanılan oral bir ilaçtır. Dozaj, kan basıncına ve kalp atış hızı yanıtına göre ayarlanır, ayrıca tek başına veya diğer β - blokerler veya digoksin gibi kombinasyon ilaçları olarak kullanılabilir, bu duruma bağlı olabilir, doz günde iki kez 3.125 mg ile günde iki kez 25 mg arasında değişir. Tedavi izlenebilir; düşük dozlarda başlanacak ve kademeli olarak hasta toleransına bağlı olarak etkili ve istenen bir doza titre edilecektir [11-13].



Şekil 2.1. Karvedilolün kimyasal yapısı [10]

2.1.1. Karvedilolün farmakokinetik özellikleri

Karvedilol oral uygulama ile iyi emilir; 1 -2 saat sonra pik plazma konsantrasyonuna ulaşılır; gıda emilim hızını etkiler ancak ilacın etkinliğini etkilemez; karvedilolün eliminasyon yarı ömrü genellikle 6-7 saattir; karaciğer onu yoğun bir şekilde metabolize eder, metabolitler safra yoluyla dışkıya atılır [9-13].

Non-selektif β bloker ve α_1 bloker olan ve intrinsik sempatomimetik aktivite üzerine etkisi olmayan karvedilol, konjestif kalp yetmezliği, anjina, hipertansiyon ve miyokard enfarktüsü sonrası sol ventrikül disfonksiyonu gibi diğer β blokerlere göre daha fazla avantaja sahiptir ve daha fazla hastalık ve vakayı tedavi edebilir. Antioksidan, antiapoptotik, antiinflamatuvar ve kalsiyum antagonisti özelliklere sahiptir [10].

2.1.2. Karvedilolün endikasyonu ve etki mekanizması

Non-selektif β bloker ve α_1 bloker olan ve intrinsik sempatomimetik aktivite üzerine etkisi olmayan karvedilol, konjestif kalp yetmezliği, anjina, hipertansiyon ve miyokard enfarktüsü sonrası sol ventrikül disfonksiyonu gibi diğer β blokerlere göre daha fazla avantaja sahiptir ve daha fazla hastalık ve vakayı tedavi edebilir. Antioksidan, antiapoptotik, antiinflamatuvar ve kalsiyum antagonisti özelliklere sahiptir [10].

Hem koroner sinüs norepinefrin hem de trans- miyokardiyal norepinefrin karvedilol ile azaltılır. Ayrıca karvedilol, New York Kalp Birliği (NYHA), sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonu (LVEF), inme hacmi ve inme çalışma indeksinde daha önemli bir iyileşmeye neden olmaktadır. β_1 , β_2 ve α_1 blokajı kardiyak adrenerjik aktiviteyi azalttığından ve aşağı regüle β_1 adrenerjik yolun hassaslaşmasını önlediğinden, karvedilol diğer β blokerlere kıyasla kalbi adrenerjik stimülasyona karşı daha iyi koruyabilmiştir [10].

2.1.2.1. Hipertansif ve vasküler hastalıklar

Tersine çevrilebilir bir β_2 bloker olan ve aynı zamanda α_1 'i inhibe eden karvedilol, periferik vazodilatasyon özelliklerine sahiptir; α_1 bloke edici etkisine göre periferik vasküler direnci azaltır, kardiyak debiyi artırır, kan basıncını düşürür (negatif inotropik ve kronotropik etkiler) ve renin salınımını inhibe eder. Periferik vazokonstriksiyona neden olan diğer β_2 blokerlerin aksine, periferik vasküler direncin artmasının istenmediği hipertansiyon hastalarının tedavisinde faydalıdır. Kan şekeri veya serum lipid seviyeleri

etkilenmez. Ayrıca, kalp yetmezliğinde avantajlı olan arteriyel duvar kalınlaşmasını ve lipid peroksidasyonunu azaltır [12].

2.1.2.2. Kalp hastalıkları

Karvedilol, sol ventrikül performansını artırdığı, ilerleyici sol ventrikül genişlemesini önlediği veya kısmen tersine çevirdiği, apoptozu önlediği, pulmoner kapiller kama basıncını ve kalp hızını düşürdüğü, sol ventrikül ejeksiyon fraksiyonunu (LVEF) iyileştirdiği, VO₂ 'yi artırdığı, diğer nörohormonal vazokonstriktör sistemlerin uyarılmasını azalttığı ve ventriküler aritmileri ve ani ölümü önlediği için hafif ila şiddetli konjestif kalp yetmezliği (KKY) olan hastalarda standart bir tedavi seçeneği olarak düşünülmelidir. Kalp yetmezliğini zamanla kötüleştirebilen sempatik stimülasyonun kalp üzerindeki etkilerini bloke eder, mortalite ve morbiditeyi azaltır, ayrıca kalbi kardiyotoksik etkilere neden olan artmış katekolaminlerden koruyarak kalp fonksiyonunu artırır. Miyokardiyal beta-1 adrenoseptörlerin yukarı regülasyonuna neden olur, hücre içi kalsiyum dağılımındaki anormallikleri düzeltir, sürekli nitrogliserin tedavisi alan KKY hastalarında karvedilol nitrat toleransının gelişmesini önleyebilir [9, 10, 13].

2.1.3. Karvedilolün kontrendikasyonları

Şiddetli hipotansiyon, ikinci veya üçüncü derece AV blok, sinüs düğümü yetmezliği sendromu, fonksiyonel kalp pili yokluğunda şiddetli bradikardi, inotropik ajan ile tedavi gerektiren ciddi dekompanse kalp yetmezliği, metabolik asidoz ve feokromositoma (α blokajı ile yeterince kontrol edilmedikçe), aşırı duyarlılık reaksiyonu öyküsü olan hastalar, astım, Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı (KOAH), bronkospazm veya reaktif hava yolu hastalığı öyküsü olan hastalar; ayrıca beta - bloker özellikleri nedeniyle aktif hırıltılı hastalarda kullanımdan kaçınır ve şiddetli karaciğer yetmezliği olan hastalarda kontrendikedir. Karvedilolün hamile veya emziren kadınlarda kontrendike olduğuna dair bir kanıt yoktur, ancak diğer ilaçları kullanmak daha güvenlidir [9, 11, 13].

2.1.4. Karvedilolün ilaç-ilaç etkileşimleri

Antidepresanlar (fluoksetin, duloksetin, paroksetin ve bupropiyon) CYP2D6 'nın güçlü inhibitörleridir; hipotansiyon, bradikardi gibi olumsuz etki riskini artıran plazma karvedilol seviyesini artırabilir [11].

Klonidin, karvedilolün etkilerini azaltabilir ve kan basıncını ve kalp atış hızını artırabilir. Kalsiyum kanal blokerleri (diltiazem veya verapamil) ile karvedilol uygulandığında iletim bozuklukları oluşabilir. Reserpin ve monoamin oksidaz inhibitörleri, karvedilol ile birlikte verildiğinde, hipotansiyona ve/veya ciddi bradikardiye neden olabilir. Rifampin ile birlikte uygulandığında karvedilol plazma seviyesi düşebilirken, simetidin ile birlikte uygulandığında artabilir [9].

Karvedilol kan şekeri artırabilir, bu da insülin ve oral hipoglisemiklerin etkisini azaltabilir. Karvedilol, siklosporinin plazma seviyelerini artırabilir [9].

Karvedilol ile uygulandığında digoksin plazma seviyesi artabilir, yavaş AV iletimine neden olabilir; öte yandan, hem karvedilol hem de digoksin AV iletimini yavaşlatabilir ve kalp atış hızını düşürebilir, bu nedenle kombinasyon bradikardi riskini artırabilir [9, 11].

2.1.5. Karvedilolün advers etkileri

Diğer β -blokerlerle karşılaştırıldığında, karvedilolün doza bağlı daha az yaygın yan etkisi vardır. İyi tolere edilen bir ilaçtır. α -blokerleri ve vazodilatör etkileri nedeniyle, en sık görülen yan etkiler şiddetli hipotansiyondur; semptomlar arasında baş ağrısı, yorgunluk ve baş dönmesi bulunur. β -blokaj özelliklerinin dispne, bronkospazm, bradikardi, halsizlik ve asteni gibi başka olumsuz etkileri de vardır. Diğer advers reaksiyonlar arasında iktidarsızlık, depresyon, hafıza kaybı, kilo alımı, asteni, ödem, bradikardi, hipotansiyon, senkop, anjina, ishal, bulantı, kusma, hiperglisemi, anormal görme, AV blok, hiperestezi, parestezi, somnolans, dispne, anemi, postüral hipotansiyon ve trombositopeni bulunur. İlacın aniden kesilmesi rebound hipertansiyona yol açabilir. Karvedilol hepatotoksitesi nadirdir; aminotransferaz seviyelerinde hafif ila orta dereceli yükselmeler meydana gelebilse de asemptomatiktir, karvedilole veya metabolitlerine kendine özgü bir yanıtla ilişkili olabilir ve tedaviye devam edilse bile iyileşebilir [9, 11].

2.2. Erkek Reprodüktif Fizyolojisi ve Spermatogenezi

Spermatogenez, hücresel süreçleri ve nükleer dönüşümleri içeren birçok adımı olan çok karmaşık bir biyolojik mekanizmadır. Mitotik ve mayotik hücresel çoğalmayı ve sonuçta bir ovumu dölleyebilen ve yavru üretebilen genetik olarak benzersiz bir erkek gamet üreten önemli hücre yeniden şekillenmesini içerir. Birçok intrinsik ve ekstrinsik etki bunu sürdürür ve endokrin, parakrin ve otokrin faktörler arasındaki karmaşık bir

etkileşim spermatogeneze neden olabilir. Spermatogenez, kan-testis bariyeri tarafından oluşturulan bir mikro çevrede gerçekleşir; testis Leydig, Sertoli ve germ hücrelerinden oluşan önemli bağışıklık bölgeleridir; sperm seminifer tübüllerde üretilir. Bu süreç hipotalamik-hipofiz-gonad (HPG) eksenini tarafından başlatılır; hipotalamus, spermatogenez için önemli olan luteinize edici hormon (LH), folikül uyarıcı hormon (FSH), adrenokortikotropik hormon, prolaktin, büyüme hormonu ve tiroid uyarıcı hormonun salgılanmasını düzenleyen gonadotropin salgılayan hormonu (GnRH) salgılar. LH, testosteron sentezlemek için Leydig hücreleri ile etkileşime girerken, FSH olgun sperm üretmek için Sertoli hücreleri ile etkileşime girer. Geri bildirim mekanizmaları spermatogenezi etkiler [14-16].

Testosteron, optimum spermatogenezi etkileyen bir bileşendir. LH kolesterolü testosterona dönüştürür ve Leydig hücreleri tarafından salgılanan testis içindeki testosteron konsantrasyonu yeterli olduğunda, negatif bir geri bildirim mekanizması FSH ve LH'nin hipofizden salınımında bir azalmaya neden olur, ayrıca GnRH salınımında bir azalma olur, bu da testosteron seviyelerini düşürür. FSH, siklik adenosin monofosfat bağımlı protein kinazı uyaran siklik adenosin monofosfat seviyelerini artırır; sonuç olarak, androjen bağlayıcı proteinin (seks hormonu bağlayıcı globülin [SHBG]) ve testosteronu östradiole dönüştüren aromataz enzimi CYP19'un üretiminde bir artış vardır. Östrojen kemik metabolizması, vücut yağ regülasyonu ve erkek cinsel fonksiyonunda hayati öneme sahiptir. Ayrıca, testosteron 5 α -redüktaz ile dihidrotestosterona (DHT) indirgenir; bu metabolit oldukça güçlüdür ve testosteronun kritik biyolojik aktivitelerinin çoğunu oluşturur. Sertoli hücreleri tarafından üretilen inhibin ve aktivin, en olumsuz geri besleme FSH yanıtlarıdır; inhibin, FSH sekresyonunu inhibe eder, böylece aktivin tarafından FSH stimülasyonunu etkiler. Hipofiz bezinde sentezlenen follistatin, aktivine bağlanır ve fonksiyonunu inhibe eder. Androjen reseptör mutasyonları, testislerde testosteron ve DHT'nin etkisini etkileyerek veya gonadotropin üretimini etkileyerek fertilitiyi etkileyebilir [17].

Spermatogenez sona erdikten ve olgun bir sperm ürettikten sonra üreme süreci ejakülasyon ve ereksiyon yoluyla devam eder. Parasempatik sinir sistemi erektile fonksiyonu kontrol ederken, sempatik sinir sistemi emisyon ve ejakülasyondan sorumludur. Seminifer tübüller, olgun spermatozoaya sahip seminal sıvıyı epididime, vas

deferens üzerinden ejakülasyon kanallarına ve üretraya yükler. Seminal sıvı, periüretral kasın kasılmasıyla üretradan dışarı ve dışı üreme kanalına püskürür [15].

2.2.1. Erkek fertilité problemleri

Erkek fertilitenin yeterliliği, spermatogenezin etkinliği, steroid hormon üretimi ve sperm özelliklerinin kalitesi (sperm sayısı, motilite, morfoloji ve sperm DNA fragmantasyonu, apoptoz gibi) ile belirlenir; spermatogenezin hassas süreçlerinde meydana gelen herhangi bir bozukluk, hormonların etkisi veya sperm taşınması (erektil disfonksiyon, empotans veya ejakülasyon bozuklukları gibi) infertilitéye yol açabilir. Çevresel faktörler, fiziksel aktivite, beslenme, terapötik ilaçlar, uyuşturucu bağımlılığı, radyasyon, toksik maddeler, hormonlar ve bunların metabolitleri ve bazı hastalıklar (edinsel, konjenital veya genetik hastalıklar) spermatogenezi azaltabilir veya tamamen inhibe edebilir ve çeşitli mekanizmalarla infertilitéye neden olabilir [14-16].

İnfertilité nedenleri aşağıda listelenmiştir.

- ✓ HPG eksenini etkileyen ve hormon bozukluklarına neden olan testis öncesi.
- ✓ Testis hücresi hasarı olan testis. Edinilmiş testis yetmezliği (testis torsiyonu, orşit, varikozel veya testisin vasküler yapısına zarar veren ameliyatlar) veya konjenital yetmezlik (testis disgenezi, kriptorşidizm veya genetik anormallikler) olabilir.
- ✓ Testis sonrası, ejakülasyon yetmezliği veya sperm verme kısıtlamasıdır.
- ✓ İdiyopatik infertilitenin bu durumda bilinmeyen bir nedeni vardır, ancak sperm parametresi zayıftır; buna oligoastenik-teratozoospermi denir.
- ✓ Klinefelter sendromu veya azospermi faktöründeki mikrolezyonlar gibi genetik anormallikler.
- ✓ Oksidatif stres aşırı ROT oluşumundan kaynaklanır. Akrozom reaksiyonu ve dölleme için ROT gereklidir; bununla birlikte, düşük klirens ve geniş nesil, sperm hücrelerinde DNA hasarına ve membran bütünlüğünün bozulmasına neden olarak üreme potansiyelinin azalmasına neden olabilir [14-16].

İlaçlar gibi ksenobiyotiklerin fertilité üzerinde önemli bir etkisi olduğu ifade edilmiştir. Bu etki histolojik değışiklikler, değışmiş androjen üretimi ve spermatozoa kalitesinde bir düşüş ile karakterizedir. Daha da önemlisi, bu etkiler kalıcıdır [18].

2.2.2. İlaçların erkek fertilitesi üzerindeki etkileri

İnsülin sperm olgunlaşması için gereklidir ve insülin replasman tedavisi testosteron biyoyararlanımını artırabilir ve sperm kalitesini ve reproduktif indeksini iyileştirebilir. Oral hipoglisemik ajanlar da üreme sistemi üzerinde aynı etkiye sahiptir. Örneğin, bir biguanid olan metformin, bir sülfonil üre olan glimepirid ve bir tiazolidinedion olan pioglitazon, hepsi oksidatif stresi azaltabilir ve testis fonksiyonlarını ve sperm kalitesini çeşitli mekanizmalarla iyileştirebilir [17].

Non-spesifik fosfodiesteraz inhibitörlerinin, özellikle kafein, pentoksifilin ve teofilin gibi metilksantinlerin, in vitro olarak sperm motilitesini arttırdığı gösterilmiştir ve yapay döllemede önce spermi tedavi etmek için kullanılır, ancak yüksek seviyelerde kafein laboratuvar hayvanlarında üreme işlevini bozar; sperm DNA fragmentasyonu ve anöploidiye neden olabilir. Sildenafil ve tadalafil gibi spesifik fosfodiesteraz-5 inhibitörleri erektil disfonksiyon tedavisinde faydalıdır. Sildenafil serum testosteron, dihidrotestosteron ve östradiol seviyelerini yükseltir; testis üzerinde doğrudan bir etki bunu ve belki de adrenal steroidogenezi gerçekleştirir [17-20].

Digoksin, testosteron serum konsantrasyonunu azaltarak erektil fonksiyonu etkiler; antikolinerjik özellikleri ile düz kas gevşemesini engelleyebilir [17, 18].

Erektil bozukluklar, Peroksizom proliferatör aktive reseptörünü α (PPAR- α) aktive ederek ortaya çıkabilir; fibratlar testosteron esterleşmesini indükler. Statin, kolesterol sentezinde yer alan ve steroid hormonlarının öncüsü olan β -Hidroksi β -metilglutaril-CoA (HMG-CoA) redüktazı inhibe ederek erektil disfonksiyona neden olur ve testosteron seviyelerini düşürür. Atorvastatine bağlı yan etki bildirilmemiştir [18].

Parasetamol sperm anormalliklerine, sperm DNA hasarına ve seminifer tübül yıkımına neden olabilir [17]. Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçlar (NSAID'ler), asetilsalisilat, diğer NSAID'ler gibi geri dönüşümlü ve doza bağımlıdır; testiküler steroidogeneze ve spermatogenezin düzenlenmesinde ve spermatozoanın sperm akrozomal reaksiyonlarında gerekli olabilecek hasarlı prostaglandin sentezine yol açarak siklooksijenaz enzimini inhibe ederler ve sperm sayısını, motilitesini, canlılığını ve morfolojisini azaltarak sperm kalitesini etkilerler [17, 18].

İnflamatuvar vakalarda immünsüpresan olarak kullanılan sülfasalazin, HPG eksenini etkileyerek serum testosteron seviyesini düşürebilir, sperm sayısını, motilitesini ve morfolojisini azaltabilir, sülfasalazinin bir metaboliti olan sülfapiridin, sperm kalitesini

etkileyen oksidatif strese neden olabilir; kesin mekanizma açıklanamamıştır, ancak bu etkiler geri dönüşümlü olabilir [17, 18].

Psikotrop ilaçlar, birçok etki mekanizması yoluyla erkek infertilitesine neden olabilir. Başta erektil, ejakülatör fonksiyonu ve libido olmak üzere cinsel işlev üzerinde olumsuz etkileri vardır; bu ilaçların çoğu antikolinerjik, α -bloker veya dopaminerjik özelliklere sahiptir. Selektif serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI'lar) ve trisiklik antidepresanlar (TCA'lar), dopamin seviyelerini artırarak, dopamin reseptörlerini bloke ederek, dopamin alımını inhibe ederek ve merkezi olarak dopamin ve prolaktin salgılayan faktörleri artırarak hiperprolaktinemiye neden olabilir. Bu durum HPG eksenini baskılar ve sonuç olarak testosteron seviyelerini ve FSH hormonlarını azaltır ve luteinize edici hormonun Leydig hücrelerine bağlanmasını bozar, bu da hormon bağlayıcı proteinlerin seviyelerini değiştirerek seks steroid seviyelerinin biyoyararlanımını etkiler. Ayrıca sperm parametrelerini etkileyerek sperm sayısını, motilitesini ve morfolojisini değiştirerek sperm DNA fragmantasyonuna neden olmuşlardır. SSRI'lar ayrıca diğer mekanizmalarla erektil disfonksiyona neden olabilir; NO üretimini inhibe eder ve norepinefrin seviyelerini artırır [17, 19]. Lityum uygulaması sperm konsantrasyonunu, motilitesini ve morfolojisini azaltarak sperm canlılığını azaltır. Monoamin oksidaz inhibitörleri (MAOI'ler) daha az hiperprolaktinemi üretir, bu nedenle nadiren erektil bozukluklara neden olurlar [19].

Tipik antipsikotik ilaçlar, santral dopamin salınımını inhibe ederek, hiperprolaktinemi üreterek ve dolaylı olarak hipogonadizme neden olarak trisiklik antidepresanlar ve SSRI'lar gibi tam mekanizma ile libido, ejakülasyon ve ereksiyon bozukluklarının azalmasına neden olabilir. Olumsuz etki, antikolinerjik ve α -adrenerjik iletim özelliklerinin bloke edilmesinden kaynaklanır; spermatogenezi ve sperm kalitesini etkilerler. Atipik antipsikotik ilaçlar, eğer varsa, prolaktin seviyelerini dar bir şekilde yükseltebilir, bu nedenle daha az olumsuz etkiye sahiptirler [18].

Antiepileptik ilaçlar çeşitli şekillerde erkek infertilitesine neden olabilir. Nöroendokrin bozukluklarla ilişkilidirler, bu nedenle erkek üreme fonksiyonlarını değiştirirler, sperm parametrelerini etkilerler ve spermatogenezi etkilerler. Bazı antikonvülsanlar (hepatik enzim indükleyicileri), testosteron taşınmasında yer alan seks hormonu bağlayıcı globülin (SHBG) protein sentezini artırır; toplam testosteron konsantrasyonunu artırır, ancak kullanıldığında gözlenen biyoaktif serum testosteron

seviyesini düşürür. Karbamazepin doğrudan germ hücre nekrozuna neden olur. Valproat, testis boyutunu azaltır, spermatogenezi bozar, artan serum androjen seviyelerine göre negatif geri bildirim ile LH seviyelerini düşürür ve ayrıca L-karnitin/T-karnitin oranında bir azalma ile ilişkilendirilmiştir [18, 19].

Sedatif olarak benzodiazepinler, merkezi dopaminerjik yolu inhibe ederek erektil bozukluklara neden olabilir. Serum gonadotropinlerini ve testosteron seviyelerini düşürür, bu da sperm anormalliklerinin artmasına, sperm motilitesinin hasar görmesine, sperm sayılarının azalmasına ve canlılığın azalmasına katkıda bulunabilir [17, 18].

Kortikosteroidlerin erkek reproduktif üzerindeki etkilerinin sperm kalitesi ve fertiliti açısından yetersiz sonuçlar verdiği gösterilmiştir; çeşitli çalışmalar kortikosteroidlerin anti-sperm antikorlarını kontrol etmek ve dolayısıyla erkek infertilitesini iyileştirmek için kullanılabileceğini göstermiştir; ayrıca, kortikosteroidlerle nakil reddinin tedavisinde testosteronda bir azalma görülmüştür. Birkaç çalışma, kronik enflamatuvar hastalıklar için uzun süreli prednizon tedavisinden sonra testosteron seviyelerinin azaldığını bulmuştur. Deksmetazon endokrin bozulmasına neden olabilir ve testosteronu azaltabilir [17]. Genellikle organ implant reddini önlemek için kullanılan Sirolimus, seminifer tübül distrofisine neden olabilir ve sperm parametrelerini değiştirebilir, StAR ekspresyonunu azaltabilir, kolesterol sentezini ve sonuç olarak testosteron seviyesini etkileyebilir, spermatogoni aşamasında spermatogenezi inhibe edebilir, KISS sistemine zarar verebilir ve böylece hipotalamustan pulsatil salımlı GnRH'ye neden olabilir [17, 18, 21].

Kanser tedavisinin erkek infertilitesine neden olduğu; spermatogenezi etkilediği, antineoplastik ilaçların hem germ hücrelerini hem de Sertoli hücrelerini yok edebildiği ve çoğu kemoterapi tedavisinin hemen ardından şiddetli oligozoospermi veya azoospermi ile sonuçlandığı; alkilleyici antineoplastik ilaçların çoğunun kök hücreler için sitotoksik olduğu ve DNA'yı çapraz bağlama potansiyelleri nedeniyle uzun süreli azoospermiye neden olduğu bildirilmektedir. Metotreksat ile tedavi edildiğinde düşük sperm sayısı gözlenmiştir. Ayrıca siklofosamid spermde oksidatif strese ve DNA hasarına neden olur. Gonad toksisitesi hidroksiüre ile tedaviden sonra ortaya çıkmış, testis atrofisi, spermatogenezde hasar ve düşük sperm kalitesi ile sonuçlanmıştır [17, 18, 21]. 5 α -redüktaz inhibitörleri benign prostat hiperplazisini tedavi etmek için kullanılır. Testosteronun dihidrotestosterona dönüşümünü engeller. En önemli iki ilaç olan

finasterid ve dutasterid semen hacmini etkiler, sperm DNA'sına zarar verir ve sperm sayısını, konsantrasyonunu, motilitesini ve morfolojisini değiştirir. Ayrıca ejakölasyon disfonksiyonu, erektil bozukluk ve jinekomastiye neden olurlar [17-19]. Siproteron, prostat kanseri için yatıştırıcı bir tedavi olarak kullanılır. Merkezi olarak antigonadotropik etki testiste testosteron sentezini bloke eder ve güçlü antiandrojen, 5 α -dihidrotestosteronun hedef hücrelerdeki sistolik reseptörüne bağlanmasını kompetitif olarak inhibe eder. Sperm konsantrasyonunu, motilitesini ve morfolojisini azaltarak sperm parametrelerini etkiler; azospermi de görölabilir. Bu ilacın yan etkileri olarak erektil disfonksiyon ve libido bozukluğu da ortaya çıkabilir. Non-steroidal antiandrojenler herhangi bir antigonadotropik etkiye sahip olmadığından, cinsel bozulma görülmemiştir; aslında, bu ilaçlar prostatı hedef almaktadır [17, 18].

Simetidin, histamin-2 (H₂) reseptörlerini bloke eden bir antihistamindir; antiandrojen özellikleri dihidrotestosteron reseptörlerini kompetitif bir şekilde inhibe eder; spermatogenez anormalliklerine neden olur, semen kalitesini etkiler ve testis hasarına neden olur. Proton pompası inhibitörlerinin (PPI'lar) üreme güvenliği belirgin değildir; motil sperm sayılarını azaltabilirler [18, 20].

Ekzojen testosteron veya diğer androjenler uygulamasının HPG ekseninin negatif geri bildirimi ile spermatogenezini önlediği düşünölmemektedir; Sertoli hücreleri FSH ve testosteron reseptörleri içerdiğinden Leydig hücrelerini testosteron sentezlemek için uyaran LH'yi azaltarak endojen testosteron sentezini etkiler, hormonlar da Sertoli hücre aktivitesini değiştirerek germ hücrelerini değiştirebilir. Erkek hormonlarını veya bunların türevlerini içeren herhangi bir ilaç, sperm proliferasyonunu ve olgunlaşmasını bozma, anormal sperm motilitesine ve morfolojisine neden olma, spermatogenezini azaltma ve testis fonksiyonunu bozma potansiyeline sahiptir, bu da oligozoospermi veya azospermi ile sonuçlanabilir [20, 21].

α -adrenerjik blokerler, benign prostat hiperplazisinde alt idrar yolu semptomlarını tedavi etmek için kullanılır; distal üreterin düz kasının, mesanenin intrinsik sfinkterinin, boyun ve erkek üreme yolunun ve prostatın sempatik innervasyonunu bloke eder. Ejakölasyon disfonksiyonu ile ilişkilidirler: retrograd ejakölasyon ve anejakölasyon. Retrograd ejakölasyon, mesane boynunda düz kas tonusu azalması meydana geldiğinde ortaya çıkabilir. Anejakölasyona neden olan bir ilacın en yaygın örneği tamsulosindir. Merkezi yerleşimli serotonin ve dopamin reseptörleri ile etkileşim mekanizmasından,

mesane boynu kapanma bozukluğundan, seminal vezikül ve bulbospongiosus kasının kasılmalarından ve vaz deferenslerin kasılmalarındaki değişikliklerden kaynaklanabilir. Ayrıca sperm kalitesini düşürürler ve sperm sayısını, motilitesini, morfolojisini ve viskozitesini etkilerler. Erektile disfonksiyona neden olduklarına dair bir rapor yoktur [17-19].

Nitrofurantoin, primer spermatositler ve spermatidler düzeyinde gonadotoksik bir etkiye sahiptir ve spermatogeneze zarar verir. Yüksek dozlarda oksijen ve karbonhidrat alımını inhibe ederek germ hücre olgunlaşmasını durdurur ve sperm kalitesini etkiler. Amoksisilin-klavulanik asit, kan damarı tıkanıklığının azalmasına ve spermatozoa ve piknotik hücrelerin sayısında bir azalmaya neden olabilir; bu, bazı seminifer tübüllerin atrofisinin yanı sıra seminifer tübüllerde spermatojenik hücrelerin düzensiz ve dejeneratif değişiklikleri ile ilgilidir; ayrıca anormal sperm morfolojisi ortaya çıkacaktır. Tetrasiklin, üreme organı ağırlıklarını ve histoarşitektonin etkileyen sperm anormalliklerine ve oksidatif strese neden olabilir. Eritromisin sperm motilitesini etkilemiştir. Aminoglikozitler spermatogenezi etkiler; birincil aşamada mayoz duracak ve anormal morfoloji artacak, oksidatif stresi artıracak ve semen kalitesini, sperm sayısını ve motiliteyi etkileyecektir. Sülfasalazin antiinflamatuvar ve antibiyotik özelliklere sahiptir; spermatotoksik etkiye sahiptir, kötü sperm kalitesine, testosteron seviyesinde azalmaya, testiste oksidatif strese neden olur ve sperm membran olgunlaşmasını etkileyebilir. Sefalosporinler daha düşük sperm konsantrasyonuna yol açabilir. Metronidazol kısırlığa neden olarak spermatogenezi ve seks hormonlarını baskılamakta; sperm anormallikleri meydana gelmekte, DNA'ya zarar vermekte, morfolojiyi etkilemekte, sperm konsantrasyonunu ve sperm motilitesi azalmaktadır. Ayrıca HPG eksenini bozar ve gonadotropinleri ve testosteron seviyelerini azaltır [17-20].

Ketokonazol, steroidogenez için gerekli olan sitokrom P450 enzimlerinin etkisini inhibe eder; 17 α -hidroksilaz ve 17-20 desmolaz enzim komplekslerini bloke ederek androjen ve intratestiküler testosteron sentezini azaltır; ayrıca sperm parametresini etkiler ve Leydig hücreleri tarafından testosteron üretimini azaltır [17-19].

Antiretroviral ilaçlar sperm parametrelerini, özellikle motiliteyi etkiler. Ribavirin, kronik hepatit C'yi tedavi etmek için kullanılır, sperm motilitesini ve morfolojisini geri dönüşümlü olarak etkiler, DNA ve RNA'da guanozin trifosfatın biyosentezinde önemli olan bir enzim olan inozin monofosfat dehidrojenazı inhibe ederek hücre büyümesini

bozulur; bu, seminal epitelin germ hücrelerinde apoptoz, kusurlu çoğalma ve hücresel farklılaşmaya neden olacaktır. Yüksek aktif antiretroviral tedavi (HAART), insan immün yetmezlik virüsünü (HIV) yönetmek ve tedavi etmek için kullanılan bir ilaç rejimidir; ölümcül bulaşıcı hastalığın kendisinin fertilitiyi etkilerken, HAART kullanımının fertilitiyi daha da kötüleştirdiği düşünülmektedir. HAART (lamivudin, stavudin ve nevirapin) kombinasyonu histo -arşitektinin paternlerde yaygın seminifer tübüler atrofi, nekroz ve hiposelüleriteye neden olur, HAART testislerde tübüler atrofiye neden olan yıkıcı histopatolojik değişikliklere yol açar ve morfometrik indeksleri değiştirir, çalışmalar farklı HAART kombinasyonlarının (tenofovir + lamivudin, atazanavir + ritonavir, zidovudin + lamivudin + nevirapin ve tenofovir + lamivudin + efavirenz) üreme sistemini olumsuz yönde değiştirdiği, testis ve epididim ağırlığının azalmasına, sperm sayısının ve motilitesinin azalmasına, sperm DNA'sının parçalaması artmasına, LH, FSH ve testosteron seviyesinin azalmasına neden olabileceği sonucuna varmıştır [18].

Hipertansiyon ve erkek infertilitesi arasında bir ilişki vardır; bozulmuş spermatogenez, zayıf semen kalitesi, azalmış cinsel davranışlar ve azalmış testosteron; ayrıca, bazı antihipertansif ilaçlar erkek infertilitesi ile ilişkilidir. Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri (ACEI'ler), fertilité üzerinde minimum olumsuz etkiye sahip, hipertansiyon için birinci basamak tedavi olarak kabul edilir. Bazı çalışmalarda sperm konsantrasyonunun tedavi edilmeyen gruba göre daha yüksek olduğu, tedavi edilen grupta seminifer epitelin hacimsel yoğunluğunun tedavi edilmeyen gruba göre daha yüksek olduğu, sperm motilite yüzdesinin daha yüksek olduğu ve anormal morfolojide azalma olduğu görülmüştür. Vaskülojenik erektil disfonksiyon tedavisinde kullanıldı. Bazı istatistikler hacim ve motilitede azalma olduğu sonucuna varmaktadır [18, 22, 23]. Kalsiyumun fertilizasyonda önemli bir rol oynadığı gerçeğine göre, olgun spermatidlerin ve Sertoli hücrelerinin sayısını azaltması, kalsiyum transmembran hareketini etkileyerek spermatozoa - oosit etkileşimini inhibe etmesi, azospermi ve oligozoospermiye neden olan spermatogenezi etkilemesi, sperm konsantrasyonunu, canlılığı ve motiliteyi azaltması nedeniyle kalsiyum kanal blokerlerinin (KKB'ler) erkek infertilitesi ile ilişkili olduğu açıktır; bunlar testosteron, LH ve FSH'nin azalmasından kaynaklanabilir. Ayrıca, sperm plazma zarının lipid çift katmanını değiştirerek spermatozoonun ovuma bağlanmasını engelleyebilir. KKB'ler erektil disfonksiyona neden olmaz, ancak retrograd ejakülasyona neden olabilir [17, 18, 20, 22, 23].

Spironolakton, adrenal ve testiküler sitokromlar P450 'yi inhibe ederek testosteron sentezini etkileyen antiandrojen özelliklere sahip potasyum tutucu bir diüretiktir; aynı zamanda hedef reseptördeki androjenlerin kompetitif bir inhibitörüdür. Antiandrojen özelliklerine göre libidonun azalmasına, erektil disfonksiyona ve arzusun azalmasına neden olabilir; ayrıca sperm motilitesini azaltabilir. Tiyazid diüretikler de erektil disfonksiyona neden olur, ancak daha sıkıntılıdır. Genç erkeklerde, bu bozuklukların oluşumunu sınırlamak için farklı bir antihipertansif sınıfı kullanmak daha güvenlidir [17, 18]. Metildopa gibi merkezi etkili antihipertansif ilaçlar, hiperprolaktinemi üretme sürecinde HPG eksenini inhibe ederek; erektil disfonksiyon, pre- sinaptik α_2 - adrenerjik reseptörleri uyararak, böylece merkezi sempatik tonusu azaltarak veya periferik α -adrenerjik reseptörlerin uyarılmasını ortaya çıkararak ortaya çıkabilir [17, 18]. α -blokerleri semen hacminde bir azalmaya neden olabilir ve en çok gözlenen olumsuz etki retrograd ejakülasyondur [23].

β -blokerler sempatik vaskülatür üzerindeki etkilerine göre cinsel disfonksiyon üretir ve düz kas gevşemesini bloke ederek corpora cavernosa'nın vazodilatasyonunu önler. Ayrıca spermatotoksik etkileri ve bozulmuş gonadal gelişimleri vardır; semen hacmini, konsantrasyonunu ve motilitesini azaltarak sperm kalitesini bozarlar, toplam sperm sayısını ve motilitesini azaltırlar ve merkezi sinir sisteminin etkilerini etkileyerek testosteron salgılanmasını azaltırlar, toksik etki seçiciliklerine göre farklılaşır, non-selektif bir beta-bloker olan propranolol, epididimal, prostat ve seminal vezikül ağırlıklarının azalmasına neden olabilir, libidoya neden olabilir ve testosteron, FSH ve luteinize edici hormon seviyelerinin azalmasına neden olabilir. β -blokerler erektil disfonksiyona neden olabilir; non-selektif karvedilol, diğer β -blokerlere kıyasla erektil disfonksiyona daha sık neden olur, ancak kardiyoselektivite β -blokerlerin erektil fonksiyon üzerinde daha az etkisi vardır veya hiç etkisi yoktur [17-19, 23].

2.3. Karvedilol ile İndüklenen Erkek Reprodüktif Sistem Advers Etkileri

Karvedilolün erkek üreme sistemini etkilediği kanıtlanmıştır; bu toksik etki β -reseptör bloke edici aktivitesi ile ilişkili olabilir. Karvedilolün erkek üreme sistemi

üzerindeki toksik etkileri hakkında çok az araştırma olduğu için toksik etkileri ve mekanizmaları iyi anlayamamıştır [24, 25].

Karvedilolün erkek üreme sistemini etkileyebileceği; sperm sayısını ve motilitesini azaltarak sperm hücrelerini etkileyen spermatotoksik ve anti-spermatojenik bir ajan olabileceği gösterilmiştir [24]. Ayrıca hormon seviyelerini etkileyebilir, testosteron, LH ve prolaktin seviyelerini azaltabilir ve FSH ve östradiol seviyelerini artırabilir. Bilindiği gibi bu hormon seviyelerindeki herhangi bir değişiklik spermatogenez sürecini bozabilir [26-28]. Ayrıca vücut ağırlığının azalmasına neden olabilir [24].

Bazı araştırmalar karvedilolün testis ağırlığında azalmaya neden olduğunu tespit etmiştir; bu toksik etkinin β -reseptörleri üzerindeki etkilerine atfedildiğini düşünmektedir [25].

Karvedilolün canlılık yüzdelerinde veya morfolojik olarak anormal sperm hücrelerinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı tespit edilmiştir. Bu durum ilacın seminifer tübüller ve epididimal fonksiyonlardaki spermatojenik süreçlere müdahale edemeyeceği ve bunun da spermatogenez üzerine etkilerinin olmamasına yol açtığı düşüncesinden kaynaklanıyor olabilir [24].

Sperm motilitesi ve sperm sayısı spermatogenezde en kritik faktörler olduğundan, bunları etkileyebilecek herhangi bir değişiklik veya kimyasal madde spermatogenez bozabilir. Sperm hareketliliği karvedilol ile önemli ölçüde azalmıştır; sperm hareketliliğindeki bu önemli azalma sperm DNA fragmentasyonu ile ilişkili olabilir. Ayrıca, bu, ilacın kan-testis bariyerine nüfuz edebileceğini ve seminifer tübüllerin mikro ortamında bir değişikliğe neden olabileceğini göstermektedir. Bu öneri, bazı kimyasal ajanların kan-testis bariyerine nüfuz ederek seminifer tübüllerin duvarının iç kısmında sperm motilitesini azaltan dış kısımdan farklı bir mikro ortam oluşturmamasından kaynaklanmıştır. Karvedilol sperm sayısında azalmaya neden olur. Bilindiği gibi spermatogenez, gonadotropin salgılatıcı hormon, luteinize edici hormon ve androjen ile ilgili hipotalamik-hipofiz-Leydig hücre eksenini tarafından kontrol edilir. Bu nedenle, karvedilol tarafından indüklenen sperm sayısında önemli bir değişiklik veya azalma, karvedilolün hipotalamik-hipofiz-Leydig hücre eksenini etkileyebileceğini göstermektedir [24].

Bazı araştırmalar testosteron seviyelerinde önemli bir değişiklik olmadığını belirtmiş ve belki de karvedilolün Leydig hücrelerinde hormon üretim yolunu düzenleyen

mekanizmayı inhibe etmediğini söyleyerek bunu açıklamışlardır [24]. Diğer araştırma sonuçları, testosteron seviyelerinde spermatogenezi etkileyebilecek bir değişiklik olduğunu göstermektedir [26-28].

Karvedilol, erektil disfonksiyona, empotansa ve cinsel aktivitenin azalmasına neden olabilir [28, 29].



3. GEREÇLER

3.1. Kullanılan Maddeler ve Sarf Malzemeler

Karvedilol	: Bilim İlaç San. ve Tic. A.Ş.
DCFDA/ H ₂ DCFDA Cellular ROT Assay Kit	: Abcam
Dimetilsülfoksit (DMSO)	: Carlo Erba
DMEM-F12 Medium	: Wisent BioProducts
Fötal sığır serum	: Capricorn Scientific
Horse serum	: Capricorn Scientific
Penisilin-streptomisin çözeltisi	: Wisent BioProducts
Fosfat tamponu çözeltisi (PBS) tableti	: Bioshop
MTT(3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür)	: Serva
Tripan mavisi	: Bio-Rad
Tripsin-EDTA solüsyonu	: Capricorn Scientific
Hücre kültür şişesi	: Nest
96 kuyucuklu hücre kültür plakası	: Nest
Steril rezervuar	: Axygen
Otomatik pipetler	: Eppendorf
Steril polipropilen santrifüj tüpü	: Nest
Hücre sayım slaytı	: Bio-Rad
Pipet uçları	: Vertex
Polipropilen tüp	: Isolab
Steril serolojik pipet	: LP
Şırınga ucu filtre (0,22 µM)	: Aisimo Corporation

3.2. Kullanılan Cihazlar

Hassas terazi	: Ohaus
Mikroplaka okuyucusu	: Biotek
Hücre sayım cihazı	: Bio-Rad
Floresan ışık mikroskobu	: Leica
İnkübatör (CO ₂ dönüşümlü)	: Thermo Fisher Scientific

Biyogüvenlik kabini	: Heal Force
Otoklav	: Hirayama
Soğutmalı santrifüj	: Eppendorf
Vorteks	: Scilogex

3.3. Kullanılan Hücre Hatları

TM3 (CRL-1714™) fare Leydig hücreleri ve TM4 (CRL-1715™) fare Sertoli hücreleri American Type Culture Collection (ATCC) kuruluşundan temin edildi.

4. YÖNTEMLER

TM3 (CRL-1714™) fare Leydig hücreleri ve TM4 (CRL-1715™) fare Sertoli hücreleri, ATCC, ABD'den elde edildi. Hücreler, %5 horse serumu, %2,5 fetal bovine serumu (FBS) ve %1 penisilin-streptomisin çözeltisi içeren DMEM-F12 (1:1) besiyerinde inkübe edildi (37 °C, %5 CO₂). Deneylerde pasaj numaraları 4-12 olan hücreler kullanıldı.

4.1. TM3 Leydig ve TM4 Sertoli Hücrelerinde Hücre Canlılığının Belirlenmesi

4.1.1. TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücrelerinin çoğaltılması

Deneylerde kullanılan TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücrelerinin çoğaltılması ve deneye hazırlanması için 2 – 3 günde bir rutin olarak pasajlama işlemi yapıldı.

1. İnkübatörden alınan hücre kültür şişesi, ölü hücrelerin besiyeri çözeltisine geçmesini sağlamak için hafifçe çalkalandı ve sonra steril bir pipetle kültür şişesi içindeki besiyeri alınarak atıldı.
2. Hücrelerin yıkanması için kültür şişesine 5 ml fosfat tamponu ilave edilerek yıkandı ve yıkama çözeltisi ortamdan uzaklaştırıldı.
3. Kültür şişesine tripsin EDTA çözeltisi (1X) (75 cm²' lik kültür şişelerine 3-5 ml, 25 cm²' lik 1–3 ml) konularak hafifçe çalkalandıktan sonra inkübatörde yaklaşık 5 dk. bekletildi (37 °C, %5 CO₂).
4. İnkübatörden alınan kültür şişelerinin üzerine 20–25 ml besiyeri ilave edilerek hücreler süspanse edildi ve 1:2, 1:3 bölünerek yeni kültür şişelerine alındı.
5. Kültür şişeleri inkübatöre konularak inkübasyona bırakıldı (37 °C, %5 CO₂).

4.1.2. TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücrelerinin plakaya ekilmesi

1. İnkübatörden alınan hücre kültür şişesi, ölü hücrelerin besiyeri çözeltisine geçmesi sağlanmak için hafifçe çalkalandı ve sonra steril bir pipetle kültür şişesi içindeki besiyeri alınarak atıldı.
2. Kültür şişesine tripsin-EDTA çözeltisi (1X) (75 cm²' lik kültür şişelerine 3-5 ml, 25 cm²' lik 1-3 ml) konularak hafifçe çalkalandıktan sonra inkübatörde yaklaşık 5 dk. bekletildi (37 °C, %5 CO₂).
3. İnkübatörden alınan kültür şişelerinin içine besiyeri ilave edilerek (ilave edilen tripsin-EDTA çözeltisinin en az iki katı kadar besiyeri ilave edildi) pipet yardımıyla santrifüj tüpüne alındı.
4. Santrifüj tüpü içindeki hücre süspansiyonu çalkalandıktan sonra 10 µL alınarak otomatik hücre sayma cihazında sayıldı.
5. Hücre süspansiyonu küvetlere alındı ve 200 µL/kuyucuk olacak şekilde hücre kültür plakasına dağıtılarak (5x10³ hücre/100 µL/kuyucuk) 24 saat inkübasyona bırakıldı (37 °C, %5 CO₂).

4.1.3. TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücrelerine MTT sitotoksikite testinin uygulanması

1. Karvedilolün 0.1 µM-200 µM 8 seri konsantrasyonu (çözeltiler DMSO içinde hazırlandı) büyüme (besiyeri) kontrol ve çözücü kontrol ile birlikte plakalara uygulandı. 24 saat inkübasyona bırakıldı (37 °C, %5 CO₂).
2. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda hücre kültür plakasının üst kısmı ters çevrilerek atıldı.
3. Hücreler fosfat tamponu ile yıkandı ve yıkama çözeltisi ortamdan uzaklaştırıldı.
4. MTT çözeltisi (5 mg/ml) ve besiyeri 1:10 oranında karıştırıldı. Hücre kültür plakasına 100 µL/kuyucuk olacak şekilde bu çözelti karışımından ilave edildi. 3 saat inkübasyona bırakıldı (37 °C, %5 CO₂).
5. 3 saatlik inkübasyon süresi sonunda plakalar ters çevrilerek üst kısmı atıldı.
6. Hücre kültür plakasına DMSO çözeltisi µL/kuyucuk olacak ilave edildi ve kuyucukların ELISA'da 540 nm' de OD değerleri okundu.

7. Karvedilolün her bir konsantrasyonu için inhibisyon değerleri hesaplandı. Non-lineer regresyon analizi ile maddelerin inhibitör konsantrasyon %50 (IK50) değerleri hesaplandı.

4.2. TM3 Leydig ve TM4 Sertoli Hücrelerinde ROT Üretiminin Belirlenmesi

4.2.1. TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücrelerinin plakaya ekilmesi

1. Yukarıda belirtildiği gibi TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücrelerinin hücre süspansiyonları hazırlandı.
2. Hücre süspansiyonu küvetlere alındı ve 100 µL/kuyucuk olacak şekilde hücre kültür plakasına dağıtılarak (2.5×10^4 hücre/100 µL/kuyucuk) 24 saat inkübasyona bırakıldı (37 °C, %5 CO₂).

4.2.2. TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücrelerine DCFDA/H2DCFDA testinin uygulanması

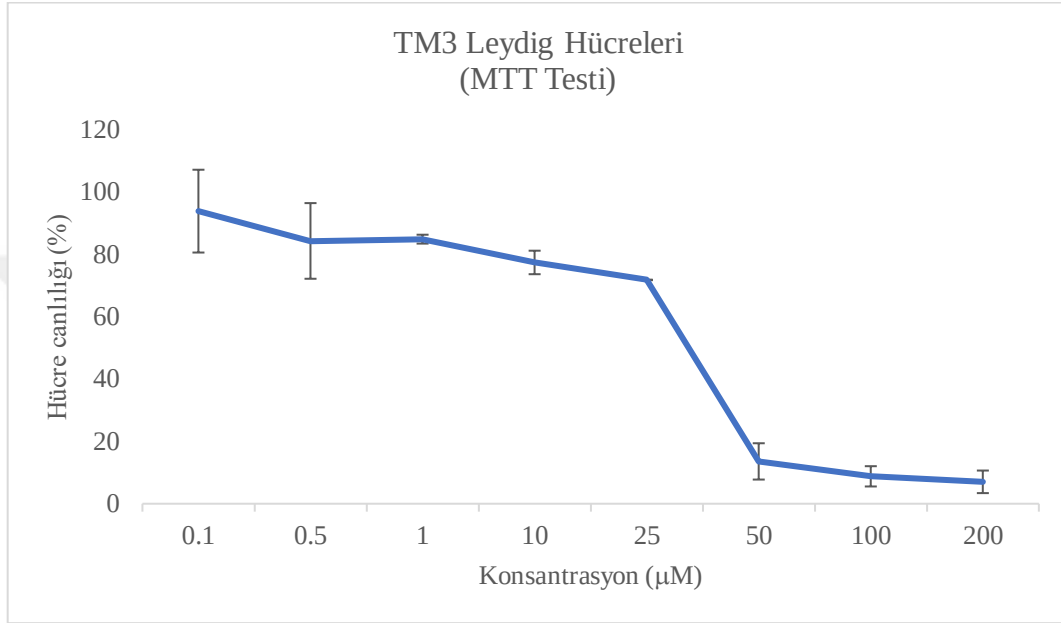
Deneyler DCFDA / H2DCFDA- Cellular ROT Assay Kit belirtilen prosedüre uygun olarak gerçekleştirildi.

1. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda hücre kültür plakasının üst kısmı ters çevrilerek atıldı.
2. 1X Tampon çözeltisi 100 µL/kuyucuk olacak şekilde eklendi.
3. 1X Tampon çözeltisi ortamdan uzaklaştırıldı ve seyreltilmiş DCFDA çözeltisi 100 µL/kuyucuk olacak şekilde eklendi ve karanlıkta 37°C'de 45 dakika inkübe edildi.
4. İnkübasyon süresi sonunda DCFDA çözeltisi ortamdan uzaklaştırıldı. 1X Tampon çözeltisi 100 µL/kuyucuk olacak şekilde eklendi.
5. Karvedilolün IC₅₀/2 – IC₅₀ – IC₅₀*2 konsantrasyonları ile deneyler gerçekleştirildi. TM3 hücreleri için sırasıyla 28,40 µM – 56,80 µM – 113,60 µM karvedilol konsantrasyonları ve TM4 hücreleri için ise sırasıyla 25,26 µM – 50,52 µM – 101,03 µM karvedilol konsantrasyonları ile birlikte çözücü kontrol ve pozitif kontrol [tert-Butilhidroperoksit (TBHP), 100 µM] plakalara uygulandı. 4 saat inkübasyona bırakıldı (37 °C, %5 CO₂).
6. İnkübasyon süresi sonunda kuyucukların floresan intensitesi, floresan plaka okuyucusu kullanılarak ölçüldü (eksitasyon: 485 nm/ emisyon: 535 nm).

7. Tüm ölçümlerden blank okumalar çıkarıldı ve assay kontrolünden fold change belirlendi.

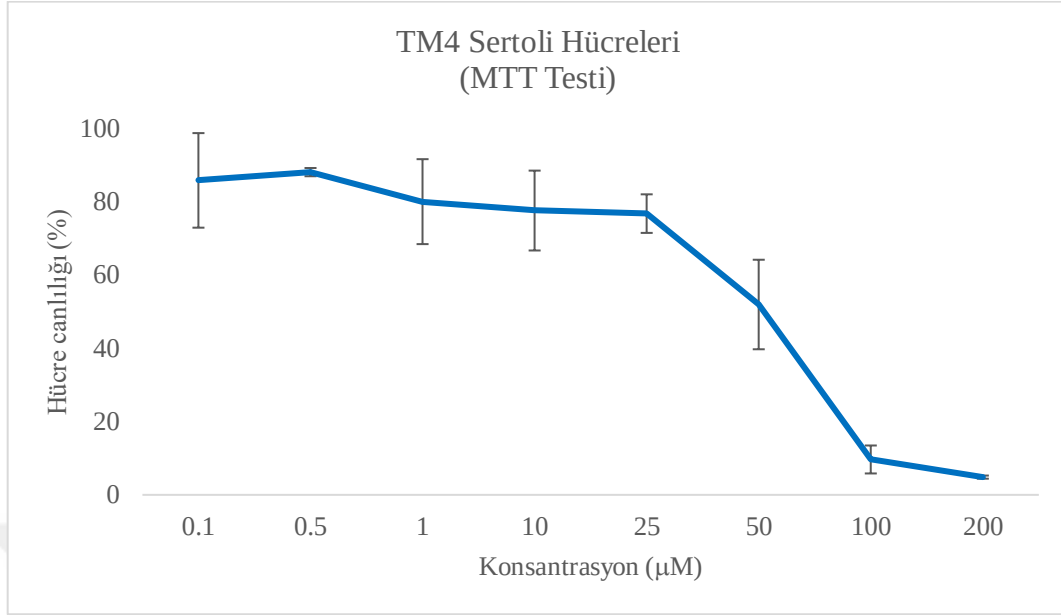
5. BULGULAR

5.1. TM3 Leydig ve TM4 Sertoli Hücrelerinde MTT Sitotoksosite Testi Sonuçları



Şekil 5.1. Karvedilolün TM3 Leydig hücrelerinde hücre canlılığı üzerine etkileri (%)

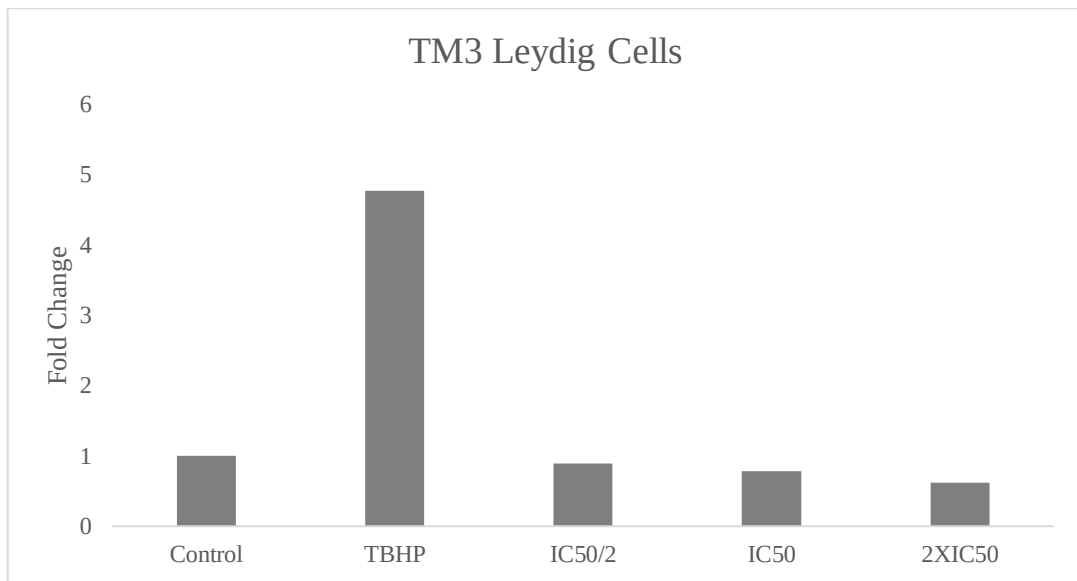
0,1 – 200 µM olmak üzere 8 farklı konsantrasyonda TM3 Leydig hücrelerine uygulanan karvedilol konsantrasyon bağımlı olarak hücre canlılığını anlamlı olarak azaltmıştır. Bu grafiğe göre karvedilolün İK50 değeri TM3 Leydig hücrelerinde 56,80 µM olarak hesaplanmıştır.



Şekil 5.2. Karvedilolün TM4 Sertoli hücrelerinde hücre canlılığı üzerine etkileri (%)

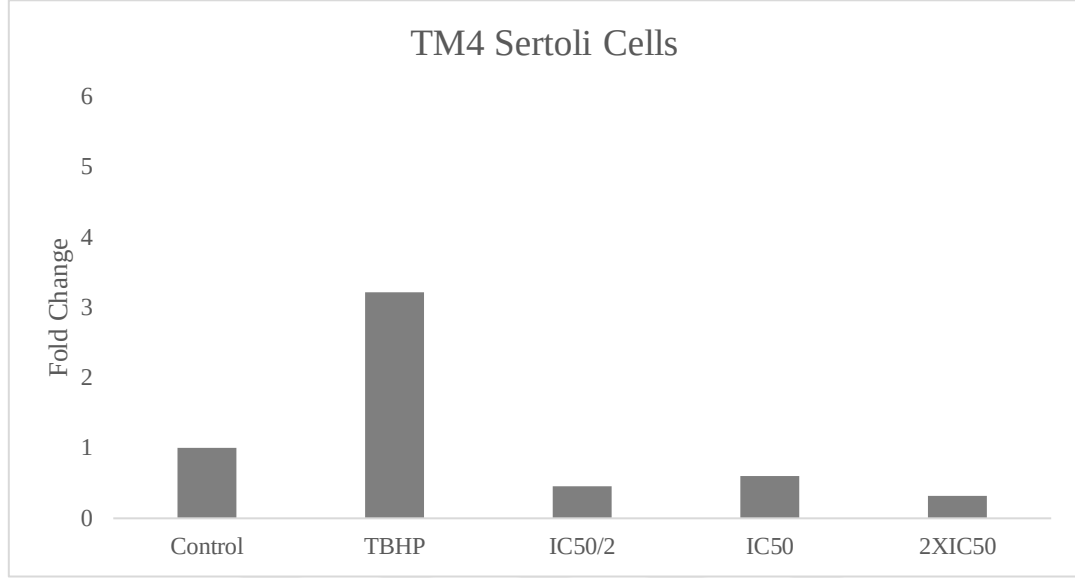
0,1 – 200 μM olmak üzere 8 farklı konsantrasyonda TM4 Sertoli hücrelerine uygulanan karvedilol konsantrasyon bağımlı olarak hücre canlılığını anlamlı olarak azaltmıştır. TM3 Leydig hücrelerinden farklı olarak karvedilol daha düşük konsantrasyonlarında TM4 Sertoli hücrelerinde hücre canlılığı azalmıştır. Bu grafiğe göre karvedilolün İK_{50} değeri TM4 Sertoli hücrelerinde 50,52 μM olarak hesaplanmıştır.

5.2. TM3 Leydig ve TM4 Sertoli Hücrelerinde DCFDA/H2DCFDA Testi Sonuçları



Şekil 5.3. Karvedilolün TM3 Leydig hücrelerinde ROS üretimi üzerine etkisi.

TM3 Leydig hücrelerinde ROT testi için konsantrasyonlar $İK50/2$, $İK50$ ve $2*İK50$ olarak seçilmiştir. Buna göre karvedilol ile TM3 Leydig hücrelerinde kontrol grubuna göre ROT üretimi indüklenmemiştir.



Şekil 5.4. Karvedilolün TM4 Sertoli hücrelerinde ROT üretimi üzerine etkisi

TM4 Sertoli hücrelerinde ROT testi için konsantrasyonlar $İK50/2$, $İK50$ ve $2*İK50$ olarak seçilmiştir. Buna göre karvedilol ile TM4 Sertoli hücrelerinde kontrol grubuna göre ROT üretimi indüklenmemiştir.

6. SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

6.1. Sonuç

Karvedilol MTT sitotoksikite testinde TM3 Leydig hücrelerinde ve TM4 Sertoli hücrelerinde anlamlı hücre canlılığını azaltmış, sitotoksik etki göstermiştir. Karvedilolün hem TM3 Leydig hücrelerinde hem de TM4 Sertoli hücrelerinde ROT üretimi üzerine herhangi bir anlamlı etkisi gözlenmemiştir.

6.2. Tartışma

Son yıllarda yapılan araştırmalar, erkeklerde reproduktif sağlık düzeyinde olumsuz değişikliklerin dünya çapında artış gösterdiğini ortaya koymaktadır. Sperm kalitesindeki düşüş, özellikle endüstrileşme, çevresel kirlilik, düzensiz beslenme alışkanlıkları, obezite, stres ve kimyasal maruziyet gibi çeşitli faktörlerle ilişkilendirilmiştir. Bu konudaki araştırmalar, erkeklerde sperm sayısının, konsantrasyonunun, motilitesinin ve normal morfolojisinin azaldığını göstermektedir. Bu durum, fertilité sorunlarıyla ve dolayısıyla

da toplumun genel sağılığıyla ilgili ciddi endişeler doğurabilmektedir [30-34]. Bu noktada sperm kalitesinin erkek fertilitésinin ana belirleyicisi olduğı vurgulanmalı [35], dolayısıyla erkek infertilitésinin de dünya çapında yaygınlaştığı ifade edilmelidir. Sperm kalitesindeki azalmanın önemli nedenleri arasında pestisidler, ağır metaller, hava kirleticileri ve endokrin bozucular gibi çevresel kirleticilere maruziyet, obezite, sigara içimi ve alkol tüketimi gibi yaşam tarzı ile ilişkili faktörler ve genetik yatkınlık sayılmaktadır [35-37]. Diğer taraftan tedavide kullanılan birçok ilacın da sperm kalitesini olumsuz etkilediğı rapor edilmiştir [38]. Reprodüktif yaştaki birçok erkek klinik uygulamada kardiyovasküler hastalıklar, depresif bozukluklar gibi çeşitli hastalıklar için uzun süreli ilaç tedavisine ihtiyaç duymaktadır. Ancak ilaç tedavisinin erkek fertilitésini üzerindeki etkileri çoğı zaman yeterli değeriendirilmemektedir [39]. İlaçlar erkeklerde fertilitéyi doğrudan gonadotoksik etkiler, HPG eksenindeki değışiklikler, ejakülasyon ve erektil fonksiyonlardaki bozukluklar ve libido üzerindeki olumsuz etkiler olmak üzere dört temel mekanizma ile etkileyebilmektedir [39, 40]. İlaçlar gonadotoksik etkileri ile testisteki germ hücrelerine doğrudan zarar vererek veya destekleyici Sertoli hücrelerinin fonksiyonunu inhibe ederek spermatogenezi etkileyebilmektedir [40, 41]. Ayrıca hipotalamus-hipofiz eksenini veya Leydig hücreleri aracılığıyla testisin endokrin fonksiyonunu bozarak testosteron seviyesindeki değışiklikler ile de spermatogenezi etkileyebilmektedir. Son olarak intratestiküler vaskülarizasyonu veya epididimal fonksiyonu değıştirerek de sperm parametrelerini etkileyebilmektedir [41]. Bu etkiler sıklıkla sperm üretiminin baskılanmasına veya optimal olmayan sperm olgunlaşmasına, hareketliliğıne veya morfolojisine neden olmaktadır [40].

Çalışmamızda MTT testi sonuçlarına göre karvedilolün TM3 Leydig hücrelerinde ve TM4 Sertoli hücrelerinde hücre canlılığını önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Seminifer tübüllerin bazal bölümünde yer alan Sertoli hücreleri testis gelişiminde ve spermatogenezde önemli rol oynamaktadır [42-44]. Sertoli hücreleri sadece spermatogonia proliferasyonu ve farklılaşmasının düzenlenmesi için fonksiyonel proteinleri salıvermekte kalmaz, aynı zamanda inhibin B ve anti-Müllerian hormonu gibi hormonları da salıvermektedir. Aslında laktatlar ve lipitler de dahil olmak üzere spermatogenez için gerekli besinlerin çoğunluğu Sertoli hücreleri tarafından sağlanmaktadır [43]. Ayrıca Sertoli hücreleri, spermatogenez için ayrı bir mikro ortam sağlamak üzere bir kan-testis bariyeri oluşturmak veya gelişimlerini düzenlemek üzere

germ hücrelerine bağlanmak için kendi aralarında veya germ hücreleriyle hücre bağlantıları oluşturmaktadır [42, 43]. Bu nedenle Sertoli hücrelerinin sayısı, spermatogenezin ve dolayısıyla erkek fertilitésinin sürdürülmesi için gerekli olan germ hücrelerinin popülasyon büyüklüğünü tanımlamaktadır [43]. Diğer taraftan Leydig hücreleri erkek reproduktif sisteminin gelişimi ve sağlığı için gerekli olan androjeni sentezlemekte ve salıvermektedir. Androjen sentezi ve salıverilmesinde birçok mekanizma rol oynamasına rağmen Leydig hücrelerinin canlılığı testosteron üretimini belirleyen en önemli faktördür [45]. Leydig hücreleri, testosteron üretimiyle testis gelişimine, spermatogeneze ve erkek fertilitésine katkıda bulunmaktadır [44]. Dolayısıyla Leydig ve Sertoli hücrelerine zarar veren ksenobiyotiklerin spermatogenez ve steroidogenezi olumsuz olarak etkileyebileceği aşıkardır. Çalışmamızda karvedilolün TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücrelerindeki sitotoksik etkisi ilacın reproduktif toksisitenin bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

Hücrel ROT üretimi hücre ölümüne ve DNA hasarına katkıda bulunan bir etken olarak ifade edilmektedir [46, 47]. Çalışma sonuçlarımız, karvedilole maruz bırakılan TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücrelerinde ROT üretiminin indüklenmediğini göstermiştir.

6.3. Öneriler

Tez çalışması kapsamında karvedilolün reproduktif toksisitesini işaret eden temel bulgular elde edilmiştir. Ancak reproduktif yaşlarda tekrarlayan dozlarda hipertansiyonun tedavisinde sıklıkla kullanılan bir ilaç olarak karvedilolün deney hayvanlarında insan dozlarına eş değer maruziyetlerde reproduktif advers etkilerinin tanımlanması gerekmektedir. Bu noktada sadece testiküler düzeydeki etkilerinin değil aynı zaman HPG eksenini üzerindeki etkilerinin de yani pretestiküler advers etkilerinin de aydınlatılması gerekmektedir. Ayrıca karvedilol tedavisi altındaki hipertansiyon hastalarının fertilité potansiyelleri, sperm parametreleri ve reproduktif hormon seviyeleri epidemiyolojik çalışmalar ile değerlendirilmelidir. Elbette hipertansiyon da erkeklerde reproduktif patolojiler için bir risk faktörüdür. Hipertansiyon ek olarak karvedilol tedavisi ile ilişkilendirilebilecek reproduktif advers etkiler hastaların fertilité açısından takip edilmesinin gerekliliğine dikkat çekecektir. Dahası hastalarda olası fertilité problemleri için alternatif tedavi protokolleri ya da fertilitéyi potansiyelize edebilecek stratejilerin geliştirilmesine odaklanılacaktır.

KAYNAKÇA

- [1] Lewis, C., Duncan, L.E. & Balance, D.I. (1998). Pearson TA Is sexual dysfunction in hypertensive women uncommon or understudied? *Am. J. Hypertens* 11, 733–735.
- [2] Navaneethabalakrishnan, S., Goodlett, B. L., Lopez, A. H., Rutkowski, J. M., & Mitchell, B. M. (2020). Hypertension and reproductive dysfunction: a possible role of inflammation and inflammation-associated lymphangiogenesis in gonads. *Clinical Science* (London, England : 1979), 134(24), 3237–3257.
- [3] Guo, D., Li, S., Behr, B., & Eisenberg, M. L. (2017). Hypertension and Male Fertility. *The World Journal of Men's Health*, 35(2), 59–64.
- [4] Bañares, R., Moitinho, E., Piqueras, B., Casado, M., García-Pagán, J. C., de Diego, A., & Bosch, J. (1999). Carvedilol, a new nonselective beta-blocker with intrinsic anti- Alpha1-adrenergic activity, has a greater portal hypotensive effect than propranolol in patients with cirrhosis. *Hepatology* (Baltimore, Md.), 30(1), 79–83.
- [5] Ramzy, M. M., El-Sheikh, A. A., Kamel, M. Y., Abdelwahab, S. A., & Morsy, M. A. (2014). Mechanism of testicular protection of carvedilol in streptozotocin-induced diabetic rats. *Indian Journal of Pharmacology*, 46(2), 161–165.
- [6] Kabel, A. M., Salama, S. A., Alghorabi, A. A., & Estfanous, R. S. (2020). Amelioration of cyclosporine-induced testicular toxicity by carvedilol and/or alpha-lipoic acid: Role of TGF- β 1, the proinflammatory cytokines, Nrf2/HO-1 pathway and apoptosis. *Clinical and Experimental Pharmacology & Physiology*, 47(7), 1169–1181.
- [7] Eid, A.H., Abdelkader, N.F., Abd El-Raouf, O.M., Fawzy, H.M. and El-Denshary, E.S. (2016). Carvedilol alleviates testicular and spermatological damage induced by cisplatin in rats via modulation of oxidative stress and inflammation. *Archives of Pharmacal Research*, 39, 1693-1702.
- [8] Eren, H., Sivrikaya, A., Cobanoglu, U., Kalyoncu, N. İ., Karaguzel, E., Topbaş, M., Kazaz I. O., Horsanali, M. O., & Kutlu, O. (2018). Investigation the effect of propranolol, metoprolol and carvedilol on spermatogenesis in rat testis. *F Int J Res Med Sci*, 6(4), 1082-1087.

- [9] Wagner, L. and Kenreigh, C. (2007). Carvedilol. Enna, S.J. Bylund, D.B. (Ed.), *xPharm, The Comprehensive Pharmacology Reference* içinde (s. 1-5). United State, United Kingdom: Elsevier.
- [10] Dulin, B. and Abraham, W.T. (2004). Pharmacology of carvedilol, *The American Journal of Cardiology*, 93(9) (Suppl 1), 3-6.
- [11] Singh, S., & Preuss, C. V. (2018). Carvedilol. *StatPearls* içinde. Bookshelf ID: NBK534868, PMID: 30521289. United State: StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- [12] Finkel, R., Cubeddu, L.X., Clark, M.A., Harvey, R.A. and Champe, P.C. (2009). 7.Adrenergic antagonist, 16.Heart failure. *Lippincott's Illustrated Reviews, Pharmacology 4th edition* içinde (s. 90-91, 190). United States: Wolter Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins.
- [13] Keating, G.M. and Jarvis, B. (2003). Carvedilol A Review of its Use in Chronic Heart Failure, *Drugs*, 63(16), 1697-1741.
- [14] Sharma, R. And Agarwal, A. (2011). 19.Spermatogenesis: An Overview. Zini, A. and Agarwal, A. (Ed.), *Sperm Chromatin, Biolodical and Clinical Application in Male Infertility Assister Reproduction* içinde (s. 19-44). New York, NY: Springer.
- [15] Friedman, S.K. and Dull, R.B. (2012). Male Infertility: An Overview of the Causes and Treatments, *US Pharmacist*, 37(6), 39-42.
- [16] Sansone, A., Dato, C.D., Angelis, C.D., Menafra, D., Pozza, C., Pivonello, R., Isidori, A. and Gianfrilli, D. (2018) Smoke, alcohol and drug addiction and male fertility, *Reproductive Biology and Endocrinology*, 16(1), 1-11.
- [17] Ajayi, A.F., Akhigbe, R.E. (2020). The physiology of male reproduction: Impact of drugs and their abuse on male fertility, *Andrologia*, 52(9), e13672.
- [18] Semet, M., Paci, M., Saias-Magnan, J., Metzler-Guillemain, C., Boissier, R., Lejeune, H. And Perrin, J. (2017). The impact of drugs on male fertility: a review, *Andrology*, 5(4), 607-844.
- [19] Samplaski, M.K. and Nangia, A.K. (2015). Adverse effects of common medications on male fertility, *Nature Reviews Urology*, 12(7), 401–413.
- [20] Aubuchon, M. and Drobnis, E.Z. (2018). 14.Adverse Effects of Drugs on Male Reproduction. Sikka, S.C. and Wayne J.G. Hellstrom, W.J.G. (Ed.),

- Bienviromental Issues Affecting Men's Reproductive and Sexual Health* içinde (s. 221-241). United Kingdom, United States: Elsevier-Academic Press.
- [21] Ding, J., Shang, X., Zhang, Z., Jing, H., Shao, J., Fei, Q., Rayburn, E.R. and Li, H. (2017). FDA-approved medications that impair human spermatogenesis, *Oncotarget*, 8(6), 10714–10725.
 - [22] Laganà, A.S., Vitale, S.G., Iaconianni, P., Gatti, S. and Padula, F. (2016). Male Infertility during Antihypertensive Therapy: Are We Addressing Correctly The Problem?, *Royan Institute International Journal of Fertility & Sterility*, 10(3), 267-269.
 - [23] Guo, D., Li, S., Behr, B. and Eisenberg, M.L. (2017). Hypertension and Male Fertility, *The World Journal of Mens Health*, 35(2), 59–64.
 - [24] Oyedepi, K.O., Abidoye, A.O., Shallangwa, M.M. and Zachariah R. (2019). Effect of Carvedilol on Reproductive Parameter in Male Wistar Rats, *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(12), 3749-3753.
 - [25] Eren, H., Sivrikaya, A., Cobanoglu, U., Kalyoncu, N.I., Karaguzel, E., Topbaş, M., Kazaz, I.O., Horsanali, M.O. and Kutlu, O. (2018). Investigation the effect of propranolol, metoprolol and carvedilol on spermatogenesis in rat testis, *International Journal of Research in Medical Sciences*, 6(4), 1082-1087.
 - [26] Nur-Mammadova, G. and Mustafayev, I. (2011). Hemodynamic in penile arteries and dynamic of sexual hormones in men with essential hypertension in short-term monotherapy by Bisoprolol, Nebivolol, Carvedilol: PP.43.385, *Journal of hypertension*, 29, 549.
 - [27] Nur-Mammadova, G. and Mustafayev, I. (2010). State of hemodynamic of penile arteries, pituitary-honadal system and sexual function in men with essential hypertension in short-term monotherapy with modern Beta-blockers: PP.27.92, *Journal of Hypertension*, 28, 475.
 - [28] Fogari, R., Zoppi, A., Poletti, L., Marasi, G., Mugellini, A. and Corradi, A. (2001). Sexual Activity in Hypertensive Men Treated With Valsartan or Carvedilol: A Crossover Study, *American Journal of Hypertension*, 14(1), 27–31.
 - [29] Sulastri, R.A., Hadi, A.R. and Pintaningrum, Y. (2022). 44 Beta- blocker treatment options and risk of erectile dysfunction: A systematic review and meta-analysis, *Journal of Hypertension*, 40(Suppl 2), 11.

- [30] Mendiola, J., Jørgensen, N., Mínguez-Alarcón, L., Sarabia-Cos, L., López-Espín, J. J., Vivero-Salmerón, G., Ruiz-Ruiz, K. J., Fernández, M. F., Olea, N., Swan, S. H., & Torres-Cantero, A. M. (2013). Sperm counts may have declined in young university students in Southern Spain. *Andrology*, 1(3), 408–413.
- [31] Levine, H., Jørgensen, N., Martino-Andrade, A., Mendiola, J., Weksler-Derri, D., Mindlis, I., Pinotti, R., & Swan, S. H. (2017). Temporal trends in sperm count: a systematic review and meta-regression analysis. *Human Reproduction update*, 23(6), 646–659.
- [32] Jørgensen, N., Joensen, U. N., Jensen, T. K., Jensen, M. B., Almstrup, K., Olesen, I. A., Juul, A., Andersson, A. M., Carlsen, E., Petersen, J. H., Toppari, J., & Skakkebaek, N. E. (2012). Human semen quality in the new millennium: a prospective cross-sectional population-based study of 4867 men. *BMJ Open*, 2(4), e000990.
- [33] Virtanen, H., Sadoy, S., Vierula, M., & Toppari, J. (2013). Finland is following the trend—sperm quality in finnish men. *Asian Journal of Andrology*, 15(2), 162-164.
- [34] Huang, C., Li, B., Xu, K., Liu, D., Hu, J., Yang, Y., Nie, H., Fan, L., & Zhu, W. (2017). Decline in semen quality among 30,636 young Chinese men from 2001 to 2015. *Fertility and sterility*, 107(1), 83–88.e2.
- [35] Kumar, N., Singh, A.K. (2022). Impact of environmental factors on human semen quality and male fertility: a narrative review. *Environ Sci Eur*, 34, 6.
- [36] Mendiola, J., Torres-Cantero A.M., Agarwal, A. (2009). Lifestyle factors and male infertility: an evidence-based review. *Arch Med Sci*, 5 (1A), 3–12.
- [37] Krzastek, S. C., Farhi, J., Gray, M., & Smith, R. P. (2020). Impact of environmental toxin exposure on male fertility potential. *Translational Andrology and Urology*, 9(6), 2797–2813.
- [38] Ding, J., Shang, X., Zhang, Z., Jing, H., Shao, J., Fei, Q., Rayburn, E. R., & Li, H. (2017). FDA-approved medications that impair human spermatogenesis. *Oncotarget*, 8(6), 10714–10725.
- [39] Mo, P., Zhao, Z., Ke, X., Fan, Y., & Li, C. (2023). Effects of clinical medications on male fertility and prospects for stem cell therapy. *Front Cell Dev Biol*, 11, 1258574.

- [40] Nudell, D. M., Monoski, M. M., & Lipshultz, L. I. (2002). Common medications and drugs: how they affect male fertility. *The Urologic Clinics of North America*, 29(4), 965–973.
- [41] Semet, M., Paci, M., Saïas-Magnan, J., Metzler-Guillemain, C., Boissier, R., Lejeune, H., & Perrin, J. (2017). The impact of drugs on male fertility: a review. *Andrology*, 5(4), 640–663.
- [42] Chang, L., Wang, J., She, R., Ma, L., & Wu, Q. (2017). In vitro toxicity evaluation of melamine on mouse TM4 Sertoli cells. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 50, 111–118.
- [43] Ge, X., Pan, P., Jing, J., Hu, X., Chen, L., Qiu, X., Ma, R., Jueraitetibaïke, K., Huang, X., & Yao, B. (2018). Rosiglitazone ameliorates palmitic acid-induced cytotoxicity in TM4 Sertoli cells. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 16(1), 98.
- [44] Park, H., Park, H. S., Lim, W., & Song, G. (2020). Ochratoxin A suppresses proliferation of Sertoli and Leydig cells in mice. *Medical Mycology*, 58(1), 71–82.
- [45] Liu, X., Xu, L., Shen, J., Wang, J., Ruan, W., Yu, M., & Chen, J. (2016). Involvement of oxidative stress in tri-ortho-cresyl phosphate-induced autophagy of mouse Leydig TM3 cells *in vitro*. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 14(1), 30.
- [46] Lee, Y.H., Cheng, F.Y., Chiu, H.W., Tsai, J.C., Fang, C.Y., Chen, C.W., Wang, Y.J., 2014. Cytotoxicity, oxidative stress, apoptosis and the autophagic effects of silver nanoparticles in mouse embryonic fibroblasts. *Biomaterials*, 35, 4706-4715.
- [47] Gong, Y., & Han, X. D. (2006). Nonylphenol-induced oxidative stress and cytotoxicity in testicular Sertoli cells. *Reproductive Toxicology*, 22(4), 623–630.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Lubana HALAWANI
Yabancı Dil : Arabça, İngilizce, Türkçe

Eğitim Durumu:

Lisans: Eczacılık, Arab International Üniversite, Şam, Suriye (2005-2010).

Lise: Fen bilimleri, Al Abrar Lise, Medine, Suudi Arabistan.

İlk ve Orta Öğretim: Al Manhal Al İlmi İlk Okulu, Şam, Suriye. On Dokuzncu Orta Okulu, Medine, Suudi Arabistan.

Mesleki Deneyimi:

Çocuk ve Doğum Hastanesi, Medine, Suudi Arabistan (2015).

Suudi Kalp Derneğinden Kardiyopulmoner Resüsitasyon Sertifikası, Medine, Suudi Arabistan (2015).

AlZahraa Hastanesi Sağlık Sigortası Eğitimi, Medine, Suudi Arabistan (2013).

Saudi German Hastanesi, Farmasötik Kalite İlaç Konferansı Katılım Sertifikası, Medine, Suudi Arabistan (2013).

Suudi Sağlık Uzmanlıkları Komisyonu'ndan Profesyonel Akreditasyon Sertifikası, Medine, Suudi Arabistan (2012).

Serbest Eczacı, Hiba Issa Eczanesi, Şam, Suriye (2011).

Stajer Eczacı, Davut, Şam, Suriye (2008).