

**NAPROKSEN SODYUM VE
MELOKSİKAMIN ERKEK SIÇANLARDA
REPRODÜKTİF TOKSİK ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Burcu Uzun

Yüksek Lisans Tezi

**NAPROKSEN SODYUM VE
MELOKSİKAMIN ERKEK SIÇANLARDA
REPRODÜKTİF TOKSİK ETKİSİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Burcu Uzun

Yüksek Lisans Tezi

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

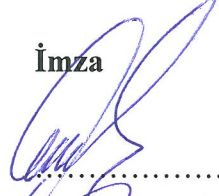
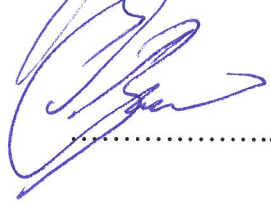
Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Eskişehir, Haziran 2013

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Sinem Ilgın

Jüri ve Enstitü Onayı

Burcu UZUN' un Naproksen Sodyum ve Meloksikam'ın Erkek Sıçanlarda Reprodüktif Toksik Etkisinin Değerlendirilmesi başlıklı Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'ndaki Yüksek Lisans Tezi, 20.06.2013 tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

	Adı-Soyadı	İmza
Üye	Prof. Dr. Başar SIRMAGÜL Eskişehir Osmangazi Üni.	
Üye	Doç. Dr. Bülent ERGUN Anadolu Üniversitesi	
Üye (Tez Danışmanı)	Yard. Doç. Dr. Sinem ILGIN Anadolu Üniversitesi	

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
..... tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı ve soyadı : Burcu UZUN
Doğum tarihi ve yeri : 1983, Afyonkarahisar
Uyruğu : T.C.
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresleri : Eskibağlar Mah. Sakman Sok.
No: 63/2 Tepebaşı/Eskişehir
Tel : 0 507 312 3773
e-posta : ecz_brc@hotmail.com

Eğitim Durumu

İlkokul : Atatürk İlkokulu, Çay/Afyonkarahisar, 06/1994
Ortaokul : Afyon Kocatepe Anadolu Lisesi, Afyonkarahisar,
06/1998
Lise : Afyon Süleyman Demirel Fen Lisesi,
Afyonkarahisar, 06/2001
Üniversite : Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi,
Ankara, 06/2005
Yabancı dil : İngilizce

Mesleki Deneyim

Kurum : Hastane
Birim : Bartın Devlet Hastanesi (09/2006 – 11/2009)
Kurum : Hastane
Birim : Eskişehir Devlet Hastanesi (12/2009 - halen)

ÖNSÖZ

Uygar bir toplumun temellerini atarak, yolumuzu her koşulda aydınlatan ulu önder Mustafa Kemal ATATÜRK'e tüm şükran ve teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin her aşamasında bilgi, deneyim, yardım ve desteğini esirgemeyerek tezimin şekillenmesinde yardımcı olan, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum tez danışman hocam Yard. Doç. Dr. Sinem ILGIN'a, çalışmalarım sırasındaki destek ve yardımlarından dolayı sevgili hocam Yard. Doç. Dr. Özlem ATLI'ya, bölüm başkanımız sayın hocam Doç. Dr. Bülent ERGUN'a, görüş ve önerileriyle desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Başar SIRMAGÜL'e, bugünlere gelmemde büyük emeği olan ve haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim sevgili AİLEM'e, yüksek lisans dönemim boyunca göstermiş olduğu anlayış ve desteğinden dolayı Eyüp SALACAK'a, tez heyecanımın her aşamasını benle paylaşan arkadaşım Dilek KULLUK'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

NAPROKSEN SODYUM VE MELOKSİKAM'IN ERKEK SIÇANLARDA REPRODÜKTİF TOKSİK ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

ÖZET

Siklooksijenaz (COX) enzim inhibitörleri olan non-steroidal antiinflamatuar ilaçlar genellikle kısa süreli ağrıların giderilmesi dışında inflamasyona bağlı durumlarda uzun süreli olarak kullanılmaktadır. COX enzimi ve prostaglandinlerin dişilerde reproduktif fonksiyonların düzenlenmesinde önemli role sahip olduğu bilinmektedir. Ancak erkek üreme sistemi ile ilgili az sayıda çalışma olmakla birlikte, çalışma sonuçları birbiri ile çelişki göstermektedir. Bu çalışmada erkek sıçanlara naproksen sodyum ve meloksikam uygulamasını takiben gruplarda sperm sayısı ve motilitesi gibi sperm parametreleri, testis dokusunda COX-1 ve COX-2 enzim aktiviteleri ve prostaglandin E₁ (PGE₁), prostaglandin E₂ (PGE₂) ve prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) seviyeleri, kan FSH, LH ve testosteron seviyeleri ve testis dokusu histopatolojik değerlendirilmektedir. Ayrıca bu ajanlar ile indüklenen prostaglandin sentez inhibisyonuna sekonder olarak oksidatif durumun değerlendirilmesi için testis dokusunda süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon (GSH) seviyeleri araştırılmaktadır. Sonuçlarımıza göre uygulama gruplarımızda kontrol grubuna göre sperm sayısı ve motilitesinin azaldığı belirlendi. Testis dokusunda COX-1, PGE₂ ve PGF_{2α} naproksen sodyum ve meloksikam uygulaması ile anlamlı derece azalırken, COX-2 ve PGE₁ seviyesindeki azalmalar anlamlı olarak değerlendirilmedi. Uygulama gruplarında plazma FSH, LH ve testosteron seviyesinin kontrol grubuna oranla anlamlı olarak değişmediği gözlemlendi. Testis SOD, katalaz, GPx ve GSH seviyeleri ise naproksen sodyum ve meloksikam uygulaması ile anlamlı olarak azaldığı tespit edildi. Histopatolojik inceleme sonuçlarına göre ise uygulama gruplarında spermatogenezin gerçekleştiği seminifer tübüllerde hasar dikkat çekmektedir. Sonuç olarak çalışmamızda erkek üreme sisteminde prostaglandinlerin spermatogenez sürecinde hormon plazma seviyelerini değiştirmeden direkt etkileri ile sperm motilitesi ve sayısını azalttığı ve testislerin morfolojik incelemesinde spermatogenezin gerçekleştiği seminifer tübüllerde hasarı indüklediği gösterilmektedir. Ayrıca bu ajanlar ile indüklenen reproduktif toksik etkilerin mekanizmasının temelini prostaglandin sentezinin azalması oluştursa da sekonder olarak bu ajanlar ile indüklenen oksidatif stresin varlığı da vurgulanmaktadır.

Anahtar kelimeler: Siklooksijenaz enzimi, prostaglandin, naproksen sodyum, meloksikam, oksidatif stres

THE EVALUATION OF THE REPRODUCTIVE TOXICITY OF NAPROXEN SODIUM AND MELOXICAM IN MALE RATS

ABSTRACT

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs which are cyclooxygenase (COX) enzyme inhibitors have generally been used in short-term pain management and also to treat inflammation chronically. It is known that COX enzyme and prostaglandins had important roles in the regulation of reproductive functions in females. However, there are relatively few studies for male reproductive system and results of these studies are contradictory. In this study, sperm parameters like sperm count and motility, COX-1, COX-2 enzyme activities, prostaglandin E₁ (PGE₁), prostaglandin E₂ (PGE₂) and prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) levels in testis tissue, plasma FSH, LH and testosterone levels and histopathological examination of testis tissue were evaluated after naproxen sodium and meloxicam administration in male rats. Also, superoxide dismutase (SOD), catalase, glutathione peroxidase (GPx) and glutathione (GSH) levels were measured to investigate the oxidative status induced secondarily to the inhibition of prostaglandin synthesis. According to our results, sperm count and motility were significantly decreased in treatment groups compared to control group. In testis tissue, COX-1, PGE₂ and PGF_{2α} levels were significantly decreased after naproxen sodium and meloxicam administration, while the decreases of COX-2 and PGE₁ levels did not show significance statistically. In treatment groups, plasma FSH, LH and testosterone levels did not show any significant difference compared to control group. Testis SOD, catalase, GPx and GSH levels were decreased significantly after naproxen sodium and meloxicam administration. According to the results of histopathological examination, damage in seminiferous tubules, where spermatogenesis developed, was observed. In conclusion, it was showed that prostaglandins decreased sperm count and motility and also induced the damage of seminiferous tubules as a direct effect without affecting plasma hormone levels in our study. Furthermore, although the mechanism of the reproductive toxicity induced by these agents is based on the inhibition of prostaglandin synthesis, the induction of oxidative stress as a secondary factor was emphasized.

Key words: Cyclooxygenase enzyme, prostaglandin, naproxen sodium, meloxicam, oxidative stress

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖZGEÇMİŞ	i
ÖNSÖZ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER	v
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
SİMGE ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
GİRİŞ ve AMAÇ	1
KAYNAK BİLGİSİ	3
Erkek Üreme Sistemi	3
<i>Erkek üreme sistemi fizyolojisi</i>	3
<i>Testisler</i>	3
<i>Yardımcı kanallar</i>	4
<i>Yardımcı bezler</i>	4
<i>Penis</i>	5
<i>Semen</i>	5
<i>Spermatogenez</i>	5
<i>Sperm Parametreleri</i>	6
<i>Erkek üreme sisteminin hormonal düzenlenmesi</i>	7
<i>Testosteron</i>	7
<i>FSH</i>	7
<i>LH</i>	8
<i>Erkek Üreme Sistemi Toksikolojik Patolojisi</i>	9
COX Enzimi ve Prostaglandinler	9
COX enzimi	9
<i>COX-1 ve COX-2 enzimlerinin sorumlu olduğu biyolojik süreçler</i>	10
Prostaglandinler	11
<i>Prostaglandinlerin sentezi</i>	11
<i>Erkek ve Dişi Üreme Sisteminde Prostaglandinlerin Fonksiyonları</i>	13

İÇİNDEKİLER (devamı)

	SAYFA
<i>Dişi üreme sistemi</i>	13
<i>Erkek üreme sistemi</i>	14
NSAİ İlaçlar	16
<i>NSAİ ilaçların etki mekanizması</i>	17
<i>Naproksen sodyum</i>	18
<i>Meloksikam</i>	19
Oksidatif Stres, Antioksidan Savunma ve Erkek Üreme Sisteminde	19
Oksidatif Stres	
<i>Oksidatif stres, serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri</i>	19
<i>Antioksidan savunma sistemi</i>	20
<i>Erkek üreme sisteminde oksidatif stres</i>	21
GEREÇLER	23
Kullanılan Hayvanlar	23
Kullanılan Cihazlar	23
Kullanılan Kimyasal Madde ve Kitler	23
YÖNTEMLER	25
<i>Deney protokolü</i>	25
<i>Sperm Sayımı</i>	26
<i>Sperm motilite değerlendirilmesi</i>	26
İstatistiksel Analiz	27
BULGULAR ve TARTIŞMA	28
Bulgular	28
<i>Sperm Parametreleri</i>	28
<i>Sperm sayısı</i>	28
<i>Sperm motilitesi</i>	28
<i>Plazma Hormon Seviyeleri</i>	29
<i>Plazma FSH seviyesi</i>	29
<i>Plazma LH seviyesi</i>	30
<i>Plazma testosteron seviyesi</i>	30
<i>Testis dokusunda COX enzim seviyeler</i>	31

İÇİNDEKİLER (devamı)

	SAYFA
<i>Testis dokusunda COX-1 enzim seviyesi</i>	31
<i>Testis dokusunda COX-2 enzim seviyesi</i>	32
<i>Testis dokusunda prostaglandin seviyeleri</i>	33
<i>Testis dokusunda PGE₁ seviyesi</i>	33
<i>Testis dokusunda PGE₂ seviyesi</i>	33
<i>Testis dokusunda PGE_{F2α} seviyesi</i>	34
<i>Testis dokusunda antioksidan enzim seviyeleri</i>	35
<i>Testis dokusunda GSH seviyesi</i>	35
<i>Testis dokusunda katalaz seviyesi</i>	36
<i>Testis dokusunda SOD seviyesi</i>	36
<i>Testis dokusunda GPx seviyesi</i>	37
<i>Testis dokusu histopatolojik analiz sonuçları</i>	38
<i>Kontrol grubuna ait testis dokusu histopatolojik analiz sonucu</i>	38
<i>Naproksen sodyum grubuna ait testis dokusu histopatolojik analiz sonucu</i>	39
<i>Meloksikam grubuna ait testis dokusu histopatolojik analiz sonucu</i>	39
Tartışma	40
SONUÇ ve ÖNERİLER	48
KAYNAKLAR	49

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE NO ve ADI

SAYFA

Çizelge 1.	Semen Analizi Referans Değerleri	6
Çizelge 2.	Siklooksijenaz Ürünlerinin Biyolojik Etkileri	12
Çizelge 3.	Gruplara Ait FSH, LH ve Testosteron Değerleri	31
Çizelge 4.	Gruplara Ait COX-1 ve COX-2 Değerleri	32
Çizelge 5.	Gruplara Ait PGE ₁ , PGE ₂ ve PGF _{2α} Değerleri	35
Çizelge 6.	Gruplara Ait GSH, Katalaz, SOD ve GPx Aktivite Sonuçları	38

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL NO ve ADI	SAYFA
Şekil 1. Erkek Üreme Sistemi	3
Şekil 2. Erkekde Hormonal Sistem	8
Şekil 3. Prostaglandinlerin Sentezi	12
Şekil 4. Gruplara Ait Sperm Sayısı	28
Şekil 5. Gruplara Ait % Sperm Motilitesi	29
Şekil 6. Gruplara Ait Plazma FSH Seviyesi	29
Şekil 7. Gruplara Ait Plazma LH Seviyesi	30
Şekil 8. Gruplara Ait Plazma Testosteron Seviyesi	30
Şekil 9. Gruplara Ait Testis Dokusunda COX-1 Seviyeleri	31
Şekil 10. Gruplara Ait Testis Dokusunda COX-2 Seviyeleri	32
Şekil 11. Gruplara Ait Testis Dokusunda PGE ₁ Seviyeleri	33
Şekil 12. Gruplara Ait Testis Dokusunda PGE ₂ Seviyeleri	34
Şekil 13. Gruplara Ait Testis Dokusunda PGF _{2α} Seviyeleri	34
Şekil 14. Gruplara Ait Testis Dokusunda GSH Seviyeleri	35
Şekil 15. Gruplara Ait Testis Dokusunda Katalaz Seviyeleri	36
Şekil 16. Gruplara Ait Testis Dokusunda SOD Seviyeleri	37
Şekil 17. Gruplara Ait Testis Dokusunda GPx Seviyeleri	37
Şekil 18. Kontrol Grubuna Ait Testis Histopatolojik Analizi	38
Şekil 19. Naproksen Sodyum Grubuna Ait Testis Histopatolojik Analizi	39
Şekil 20. Meloksikam Grubuna Ait Testis Histopatolojik Analizi	40

SİMGE ve KISALTMALAR

ABP	: Androjen bağlayıcı protein
ATP	: Adenozin trifosfat
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
COX	: Siklooksijenaz
DNA	: Deoksirübönükleik asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
FSH	: Folikül Stimüle Edici Hormon
GnRH	: Gonadotropin salgılatıcı hormon
GPX	: Glutasyon peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
GSH	: Glutasyon
GSSG	: Glutasyonun okside formu
GST	: Glutasyon-S-transferaz
İK50	: İnhibitör konsantrasyon 50
LH	: Luteinleştirici hormon
MDA	: Malondialdehid
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit
NO	: Nitrik oksit
NOS	: Nitrik oksit sentaz
NSAİ	: Non-steroidal antiinflamatuvar
PGD ₂	: Prostaglandin D ₂
PGE ₁	: Prostaglandin E ₁
PGE ₂	: Prostaglandin E ₂
PGF _{2α}	: Prostaglandin F _{2α}
PGG ₂	: Prostaglandin G ₂
PGH ₂	: Prostaglandin H ₂
PGI ₂	: Prostatiklin
RNT	: Reaktif nitrojen türleri
ROT	: Reaktif oksijen türleri
SOD	: Süperoksit dismutaz
SSS	: Santral sinir sistemi
StAR	: Steroidojenik akut regülatör
TNF-α	: Tümör nekroz faktörü

SİMGE ve KISALTMALAR (devamı)

TSH : Tiroid stimule edici hormonun

TXA₂ : Tromboksan

GİRİŞ ve AMAÇ

Prostaglandinler hem erkek hem dişi üreme sisteminde önemli rol oynayan eikozanoid hormonlardır. Prostaglandinlerin erkek üreme sisteminde sentezlendiği ve farklı fizyolojik süreçlere aracılık ettiği bilinmektedir. Prostaglandin E ve F sperm metabolizmasında ve fonksiyonlarında önemli role sahiptir ve ayrıca epididimal tübülün düz kas tabakasının kontraktilitesini arttırmaktadır. Buna ek olarak prostaglandinlerin sistemik uygulamaları dolaşımdaki prolaktin, folikül stimüle edici hormon (FSH) ve luteinleştirici hormon (LH) seviyelerini azaltmaktadır (Fuchs ve Chantharaksri, 1981). Seminal prostaglandinlerin sperm motilitesi ve transportu üzerine etkilerinin yanı sıra erkek üreme sistemi düz kasları üzerine etkileriyle ejakulasyon olayına da katkıda bulunabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Löscher ve Blazaki, 1986).

Prostaglandinlerin oluşumunda araşidonik asidin siklooksijenaz (COX) enzimi ile siklik endoperoksitlere dönüşümü ve ardından siklik endoperoksitlerin prostaglandin izomeraz ile prostaglandinlere dönüşümü yer almaktadır. Memeli dokularındaki ekspresyon patternleri ile ayırt edilen birden fazla COX enzim tipi bulunmaktadır. COX-1 enzimi yapısal olarak sentezlenmekte ve gastrointestinal ve renal sistem ile platelet fonksiyonu gibi normal fizyolojik olayları düzenlemektedir. COX-2 enzimi ise hormonlar, büyüme faktörleri ve sitokinler gibi faktörlerle indüklenmekte ve inflamatuvar olaylarda rol alan prostaglandinlerin üretim sürecinde rol oynamaktadır. Non-steroidal antiinflamatuvar (NSAİ) ilaçların antiinflamatuvar ve analjezik etkilerinin COX inhibisyonuna bağlı olduğu bilinmektedir. Bazı çalışmalarda NSAİ ilaçlar gibi prostaglandin metabolizmasını etkileyen ilaçların erkek üreme fonksiyonunu etkileyebileceği gösterilmektedir (Saeed ve ark., 2009).

COX enzim inhibitörleri olan NSAİ ilaçlar bugün analjezik ve antiinflamatuvar etkileri nedeni ile akut ve tekrarlayan dozlarda romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Clària, 2003). Günümüzde COX enzimi ve prostaglandinlerin dişi üreme sistemi üzerine etkilerini inceleyen çalışmalara göre COX-2 eksikliği olan dişi farelerde, düşük ovülasyon, fertilizasyon, implantasyon ve desidualizasyon oranlarını içeren çeşitli reproduktif yetersizlikler gözlenmektedir (Lim ve ark., 1997; Kubota ve ark., 2011). Ancak erkek üreme sistemi ile ilgili az sayıda çalışma olmakla birlikte, çalışma sonuçları birbiri ile çelişki göstermektedir.

Oksidatif stres vücuttaki serbest radikaller ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşmaktadır (Doshi ve ark., 2012). Yapılan çalışmalarda oksidatif stres infertil erkeklerin yaklaşık olarak yarısında görülen yaygın bir patoloji olarak belirlenmektedir (Tremellen, 2008). Oksidatif stresin hem spermatozoa hem testis üzerine zararlı etkileri çalışmalarda gösterilmektedir

Bu bilgiler ışığında romatoid artrit gibi inflamatuvar hastalıkların rutin tedavisinde tekrarlayan dozlarda kullanılan seçici olmayan COX inhibitörü naproksen sodyum ve seçici COX-2 inhibitörü meloksikamın erkek üreme sistemi üzerine toksik etkilerinin araştırılması ve seçici/seçici olmayan COX inhibisyonun olası toksik etkiye etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmaktadır. Bu amaçla erkek sıçanlara naproksen sodyum ve meloksikam uygulamasını takiben gruplarda

sperm sayısı ve motilitesi gibi sperm parametreleri, testis dokusunda COX-1 ve COX-2 enzim aktiviteleri ve prostaglandin E₁ (PGE₁), prostaglandin E₂ (PGE₂) ve prostaglandin F₂ α (PGF₂ α) seviyeleri, kan FSH, LH ve testosteron seviyeleri ve testis dokusu histopatolojik değerlendirilmektedir. Ayrıca bu ajanlar ile indüklenen prostaglandin sentez inhibisyonuna sekonder olarak oksidatif durumun değerlendirilmesi için testis dokusunda süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon (GSH) seviyeleri araştırılmaktadır.

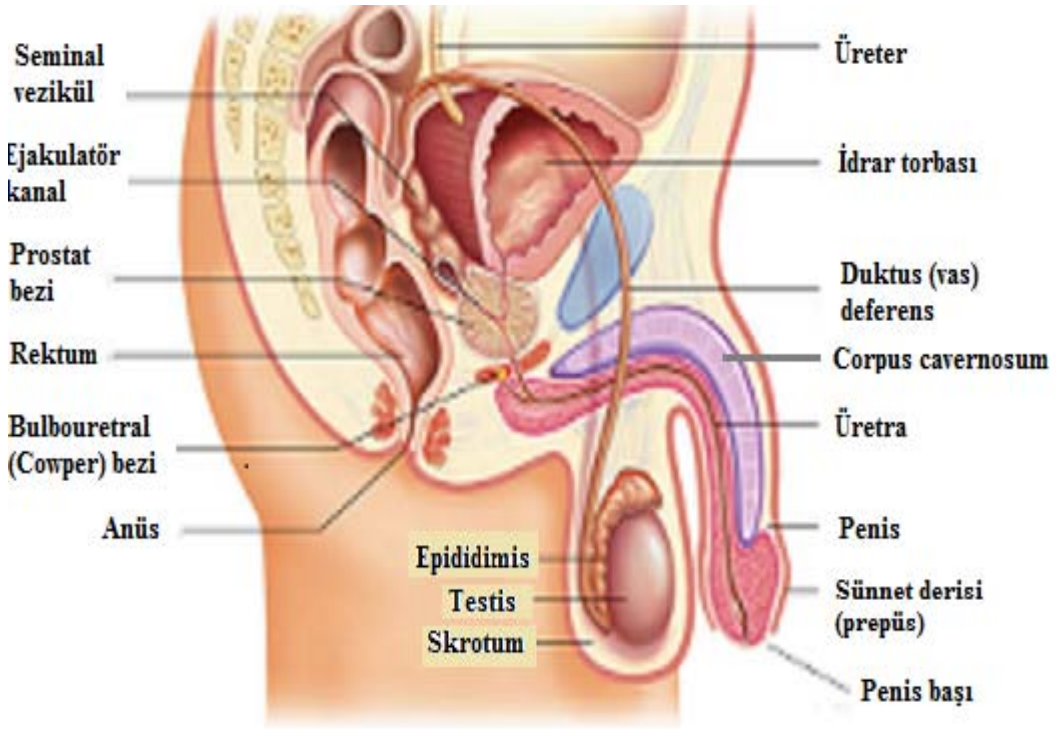
KAYNAK BİLGİSİ

Erkek Üreme Sistemi

Üreme, tüm canlılarda genetik devamlılığı sağlayan fizyolojik bir süreçtir (Bozdoğan, 2000). Erkek üreme sisteminin esas fonksiyonu sperm üretimi, spermın dişiye aktarılması ve hormon üretimidir (Bozdoğan, 2000; Wangikar ve ark., 2011).

Erkek üreme sistemi fizyolojisi

Erkek üreme sistemi spermi ve testosteronu üreten testisler, spermın olgunlaşmasına yardımcı olan, depolayan ve taşıyan kanallar, spermın sıvı kısmının çoğunluğunu oluşturan yardımcı bezler ve penis olmak üzere dört farklı yapı altında incelenmektedir (Aktümsek, 2006). (şekil 1)



Şekil 1: Erkek Üreme Sistemi (http-1)

Testisler

Testis, fertilité sağlanması için testosteron sentezlenmesi ve salgılanması ile yeterli miktarda spermatozoa üretimi şeklinde iki önemli fonksiyona sahip kompleks bir organdır. Tübüler kısım ve interstisyum olmak üzere iki bölgeden oluşmaktadır. Tübüler kısım sertoli hücreleri, germinal hücreler ve tübülleri çevreleyen peritübüler miyoid hücrelerden oluşmaktadır. İnterstisyum ise leydig hücreleri, makrofajlar, fibroblastlar ve kan damarlarından oluşmaktadır (Gnessi ve ark., 1997). Testisler bir bağ doku kapsülü ile çevrilmiştir ve vücudun dışında skrotum denilen bir kese içerisinde. Bunun sebebi spermi üreten testisler için sıcaklığın vücut sıcaklığından 2-3 °C daha düşük olmasıdır (Bozdoğan, 2000; Aktümsek, 2006). Skrotum sıcakta gevşeyerek sarkmakta ve vücuttan uzaklaşmaktadır. Soğukta ise büzüşerek toplanmakta ve vücuda yaklaşıarak testislerin optimum sıcaklıkta tutulmasını sağlamaktadır (Aktümsek, 2006).

Testisler çok sayıda seminifer tübül denen kıvrımlar içermekte ve bu seminifer tübüller sperm yapım yeri olarak görev yapmaktadır (Bozdoğan, 2000; Aktümsek, 2006). Seminifer tübüllerin duvarları germinal doku ile kaplıdır. Bu germinal dokuda spermatojenik hücreler (spermatogonia, spermatosit ve spermatit) ve destek hücreleri (sertoli hücreleri) olmak üzere farklı hücreler bulunmaktadır. Sertoli hücreleri germinal spermin olgunlaşmasını sağlayan besleyici hücrelerdir aynı zamanda androjen bağlayıcı protein (ABP) ve inhibin hormonu salgılamaktadır (Aktümsek, 2006). Sertoli hücreleri aynı zamanda testisin seminifer tübülleri içinde üreme hücresi gelişimi için özelleşmiş, korumalı bir çevre sağlamaktadır. Komşu sertoli hücreleri birbirleriyle 1000 daltondan daha büyük hiçbir şeyin içine geçemeyeceği şekilde sıkı bağlar oluşturmaktadır. Sertoli hücrelerinin bu karakteristiği, kan-testis bariyeri olarak bilinen yapıyı oluşturmaktadır (Kretser ve ark., 1998; Walker ve Cheng, 2005).

Seminifer tübüllerin arasında intertisyel endokrinositler veya leydig hücreleri adı verilen testosteron salgılayan hücreler bulunmaktadır (Aktümsek, 2006; Bozdoğan, 2000).

Yardımcı kanallar

Testislerde üretilen spermi ejakulasyon için penise taşıyan kanallardır (Aktümsek, 2006).

Epididimis, her bir testisin orta-arka bölümünde bulunan, genelde 4 cm kadar boyda olan kaput (baş), korpus (gövde) ve kauda (kuyruk) olmak üzere üç temel bölgeden oluşmuş tüp şeklinde katlanmış yapıdır (Lasserre ve ark., 2001; Aktümsek, 2006). Epididimis, spermatozoayı epididimal olgunlaşma olarak bilinen bir süreç yoluyla fertilizasyona yetenekli hücrelere dönüştüren morfolojik, biyokimyasal, fizyolojik ve fonksiyonel değişiklikleri gerçekleştirmektedir (Arrotéia ve ark., 2012). Androjen kontrolü altında spermleri olgunlaşmaya ve dışarı verilecekleri ana kadar depolamakta, spermin testisten vas deferense iletilmesini sağlamakta, hasarlı spermatozoaları uzaklaştırıp spermlerin olgunlaşmasına (spermin hareket ve dölleme yeteneği kazanması) yardımcı olmaktadır (Turner, 1995; Guyton ve Hall, 2001; Lasserre ve ark., 2001; Aktümsek, 2006). Spermler 18 ila 24 saat epididimiste kaldıktan sonra hareket yeteneklerini kazanmaktadır, ancak ejakulasyona kadar epididim sıvısında bulunan inhibitör proteinlerle hareketleri engellenmektedir (Guyton ve Hall, 2001). Memeli epididimisleri sekretuar proteinleri ile fertil ejakulat oluşmasında önemli katkıda bulunmaktadır. Testisten ayrılan spermatozoa hareketsiz, olgunlaşmamış ve oositi dölleme yeteneğinden yoksundur ve eğer burada hiç kalmadan spermler boşaltılırsa dölleme gerçekleşmemektedir (Turner, 1995; Bozdoğan, 2000; Lasserre ve ark., 2001; Arrotéia ve ark., 2012).

Duktus deferens veya vas deferens olarak da adlandırılan sperm kanalı, epididimisten sonra 40-50 cm uzunluğunda kaslı bir kanal olup sperm iletimi ile görevlidir. Spermatozaları birkaç ay depo edebilmektedir (Aktümsek, 2006).

Yardımcı bezler

Spermatozoanın beslenmesi ve motilitesinin artmasını sağlayan salgıları oluşturan bezlerdir. Semen hacminin yaklaşık %95'ini bu bezlerin salgıları oluşturmaktadır.

Bu bezler aynı zamanda ejakulatın sulanmasını ve üretra ile vajinanın asiditesinin nötralizasyonunu sağlamaktadır (Aktümsek, 2006).

Vesicula seminalis (seminal vezikül); kıvrımlı, bölümlü tübüler bir yapıya sahip 5-7 cm uzunluğunda bir bezdir (Guyton ve Hall, 2001, Aktümsek, 2006). Salgısını bir kanalla ejakulatör kanala boşaltmakta ve ejakulatın %60-70'ini meydana getirmektedir (Aktümsek, 2006). Bu salgının görevi spermin ovumu döllemesine kadar geçen süre içerisinde spermin beslenmesini sağlamaktadır (Guyton ve Hall, 2001; Aktümsek, 2006).

Prostat bezi, mesanenin altında ve prostatik üretranın etrafında yer almaktadır. Semen yaklaşık %20-30'unu oluşturan prostat sıvısı süt gibi ve asidik (pH: 6.5) yapıdadır ve spermlerin adenozin trifosfat (ATP) üretiminde kullandıkları sitrat, asit fosfataz ve bazı proteolitik enzimleri (prostat spesifik antijen, pepsinojen, lizozim, amilaz ve hiyaluronidaz) içermektedir. Prostatın en önemli fonksiyonu spermin motilitesine ve canlı kalmasına yardımcı olmaktır (Aktümsek, 2006).

Bulbouretral bezler; cowper bezleri olarak da adlandırılan bir çift bez olup prostatın altında yer almaktadır. Bu bezin salgısı üretrada kalmış olan idrarın asitliğini nötralize etmekte ve birleşme esnasında penis başının rahatça girebilmesi için lubrikasyonu sağlamaktadır (Aktümsek, 2006).

Penis

Hem cinsel birleşme hem de idrar boşaltma organıdır. Penis ucunda sonlanan üretra yolu ile aynı zamanda spermler dışıye iletilmektedir. Uyarıldığında dikleşip sertleşebilen (ereksiyon) özelliğe sahiptir. Penis bu özelliğini *corpus cavernosum* adı verilen bir çift venöz sinüzoidleri ihtiva eden yapı sayesinde kazanmaktadır (Aktümsek, 2006).

Semen

Cinsel birleşme sırasında ejakülasyonla atılan, 2-5 ml kadar olan ve sperm ihtiva eden beyaz-sarımsı, süte benzeyen hafif kıvamlı sıvıdır. Spermin yanı sıra vas deferensten (yaklaşık %10 kadar), seminal vezikülden (yaklaşık %60) ve prostat bezinden (yaklaşık %30) gelen sıvıları; ayrıca küçük miktarda mukus bezlerinden ve bulboüretral bezlerden gelen sıvıları da içermektedir (Guyton ve Hall, 2001; Aktümsek, 2006).

Ejakülasyon, semenin üreme kanalları vasıtasıyla boşaltılması olarak tanımlanabilmektedir ve ejakülasyonla dışarıya atılan sıvıya ejakulat adı verilmektedir (Bozdoğan, 2000).

Spermatogenez

Spermatogenez, mitotik hücre bölünmesini, mayozu ve spermiyogenez prosesini kapsayan kompleks bir işlemdir (Kretser ve ark., 1998). Spermatogenez; germ hücreleri, intertisyel makrofajlar ve kan damarlarının koordine çalışmasına ve etkileşmesine dayanmaktadır. Olayın tamamı hipotalamik-hipofizer-testis endokrin aksı ile düzenlenmekte ve parakrin ve otokrin faktörler de bu sürecin düzenlenmesinde rol almaktadır (Kretser ve ark., 1998; Walker ve Cheng, 2005; Wangikar ve ark., 2011). Sperm üretimi aktif seksüel yaşam dönemi boyunca önhipofiz gonadotropik hormonların uyarısı sonucunda, testislerin seminifer

tübüllerinde gerçekleşmektedir ve günde ortalama 120 milyon spermatozoa üretilmektedir (Guyton ve Hall, 2001; Günel ve Yücel, 2006).

Spermatogenez 3 ana evreye ayrılmaktadır:

(i) Mitoz prosesi ile spermatogoninin çoğaltılması evresidir (Kretser ve ark., 1998).

(ii) Kromozom sayısını diploiddan haploide düşüren mayoz evresidir. Primer spermatositler olarak adlandırılan bu hücreler, sekonder spermatositleri oluşturmak üzere bölünmektedirler ve sonrasında yuvarlak spermatidleri oluşturmak üzere tekrar bölünmektedirler (Kretser ve ark., 1998). Spermatosit döneminden spermatid dönemine geçiş sırasında, spermatositteki 46 adet kromozom (23 çift) bölünmektedir ve 23 kromozom bir spermatide diğer 23 kromozom da ikinci spermatide gitmektedir. Bu dağılım kromozomal genlerde de dağılıma neden olarak, fetusun genetik özelliklerinin yarısı babadan, diğer yarısının da annenin oositinden gelmesini sağlamaktadır (Kretser ve ark., 1998; Guyton ve Hall, 2001).

(iii) İkinci mayotik bölünmeden meydana gelen yuvarlak spermatidlerin kompleks spermatozoon yapılarına başarılı dönüşümü evresidir, bu faz spermiyogenez olarak adlandırılmaktadır (Kretser ve ark., 1998). Spermatidlerin, motilite ve fertilizasyon yeteneğine sahip spermatozoaya dönüşme süreci olan spermiyogenez, hücre bölünmesi olmaksızın önemli morfolojik ve fonksiyonel değişiklikleri içermektedir. Spermiyogenezde oluşan major değişiklikler; kuyruk gelişimi, akrozom olarak bilinen hücre membranı ile birleşmede nükleus yüzeyine bağlanan modifiye lizozimin oluşumu, kromozomların ve nükleoproteinlerin kondensasyonu, sitoplazma artığının ortadan kaldırılması ve spermatozoanın seminifer tübül lümenine bırakılmasıdır (spermiasyon) (Kretser ve ark., 1998; Günel ve Yücel, 2006).

Spermatogenez sürecinin tamamı yani germinal hücrenin sperme dönüşümü yaklaşık 64 gün sürmektedir (Guyton ve Hall, 2001). Bu aşamaların her biri spermatogenik süreçte temel bir unsur teşkil etmektedir. Bunların herhangi birinde gerçekleşen bozulmalar tüm sürecin başarısızlığıyla sonuçlanmakta ve kusurlu spermatozoa üretimi ile sperm üretiminde düşüşe veya yokluğa yol açmaktadır (Kretser ve ark., 1998). Reprodüktif yaştaki erkeklerin yaklaşık %6'sında infertilite problemi ortaya çıkmaktadır. Bu olguların yaklaşık %90'ında da bozulmuş bir spermatogenez vardır (Günel ve Yücel, 2006).

Sperm Parametreleri

Spermin fertilizasyon yeteneği sperm sayısı, motilitesi ve morfolojisi gibi parametrelerle belirlenmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) göre semenin ml'sinde en az 15 milyon sperm olması gerekmektedir ve spermilerin en az % 40'ı hareketli olmalıdır. DSÖ tarafından semen parametrelerinin referans değerleri **çizelge 1**'de görüldüğü şekilde yayınlanmıştır (WHO, 2010).

Çizelge 1. Semen Analizi Referans Değerleri (WHO, 2010)

Parametre	En Düşük Referans Değer
Semen miktarı (ejakulat hacmi)	1.5 ml

Çizelge 1 (Devam). Semen Analizi Referans Değerleri (WHO, 2010)

pH	≥ 7.2
Sperm konsantrasyonu	15 milyon/ml
Total sperm sayısı	39 milyon/ejakulat
Motilite yüzdesi	% 40
Morfoloji (normal spermilerin %'si)	% 4
Canlılık (canlı spermatozoa %'si)	% 58

Erkek üreme sisteminin hormonal düzenlenmesi

Testosteron

Testisler; testosteron, dihidrotestosteron, androstenedion gibi genelde androjenler adıyla tanımlanan pek çok seks hormonu salgılamaktadır (Guyton ve Hall, 2001).

Testosteron, testislerde interstisyumda yerleşim gösteren leydig hücrelerin tarafından ön hipofiz gonadotropik hormonların uyarısıyla salgılanmaktadır (Bozdoğan, 2000; Guyton ve Hall, 2001). Fetal ve postnatal yaşam süresince normal testiküler gelişimi ve spermatogenezisin sürdürülebilmesi testosteron, LH ve FSH'nin kontrolü altında bulunmaktadır ve infertilite testosteronun geri dönüşümsüz olarak ortadan kalkması sonucunda oluşmaktadır (Gnessi ve ark., 1997; Bozdoğan, 2000). Testosteron erkek aksesuar cinsiyet bezlerinin yapısını ve fonksiyonunu korumaya yardımcı olmaktadır (Wangikar ve ark., 2011). Testosteron; spermatogenezde normal spermatogonial mitoz ve mayozun başarılı şekilde tamamlanması üzerinde etkilidir. Ayrıca erkekte sekonder seks karakterlerinin gelişmesini sağlamaktadır (Kretser ve ark., 1998; Guyton ve Hall, 2001; Çalışkan ve ark., 2012). İnsanlarda normal seksüel dürtü ve davranışın sürdürülmesi ve gelişimi testostereona bağlıdır ve kastrasyonla (testisin alınması) bu beklenen davranışlar ciddi şekilde bozulmaktadır (Bozdoğan, 2000).

FSH

Hipotalamus, hipofizer LH ve FSH hormonlarının üretimini ve salıverilmesini düzenleyen bir decapeptid hormon olan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) sentezlemekte ve salıvermektedir (Wangikar ve ark., 2011; Walker ve Cheng, 2005). Erkek ve kadın her iki cinsten seksüel fonksiyonların kontrolü GnRH sekresyonu ile başlamaktadır. GnRH, ön hipofiz bezini uyararak gonadotropik hormonlar adı verilen LH ve FSH salgılanmasına neden olmaktadır (Guyton ve Hall, 2001; Tilbrook ve Clarke, 2001; Babu ve ark., 2004). Hipofiz bezindeki bozulma FSH ve LH noksanlığıyla infertiliteye neden olan testiküler fonksiyonda aksamayla sonuçlanmaktadır (Babu ve ark., 2004).

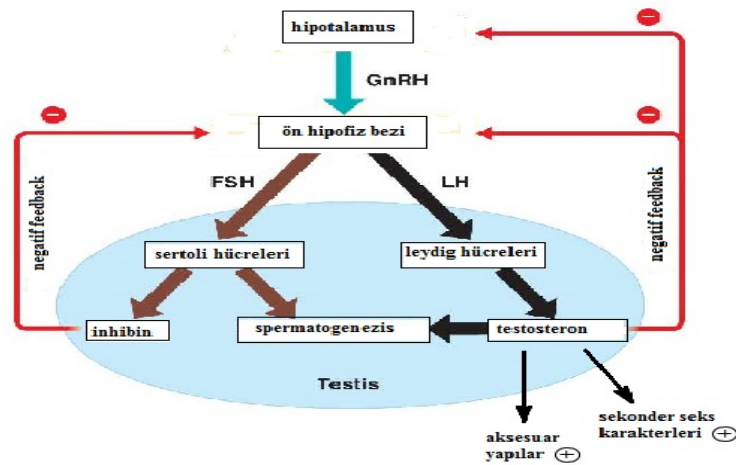
FSH; özgül FSH reseptörleriyle sertoli hücrelerine bağlanarak ABP sentezini uyarmaktadır ve spermatogenezini stimüle etmektedir (Wangikar ve ark., 2011; Babu ve ark., 2004; Guyton ve Hall, 2001). Spermatogenezin başlaması ve spermatozoanın olgunlaşması için FSH gerekmekte ve FSH spermatogoniadaki mitotik ve mayotik deoksiribonükleik asit (DNA) sentezinin stimülasyonunda

anahtar rol oynamaktadır (Babu ve ark., 2004). Seminifer tübüller sperm yapımını azalttığında, ön hipofiz bezinden FSH salgısı belirgin olarak artmaktadır. Tersine spermatogenezin hızlanması FSH salgısını azaltmaktadır. Ön hipofiz bezi üzerindeki bu feed back etkinin sebebi, *in vivo* ve *in vitro* deneylerin sonuçlarına göre sertoli hücrelerinden salgılanan inhibin adı verilen bir hormondur. Bu hormon doğrudan ön hipofiz bezi üzerinde, FSH salgısını baskılayan kuvvetli bir etkiye sahiptir ve testiküler inhibin aktivitesinin de kısmen testisin lokal kontrolü altında olduğu savunulmaktadır (Weinbauer ve ark., 1989; Guyton ve Hall, 2001; Tilbrook ve Clarke, 2001; Wangikar ve ark., 2011).

LH

LH, testisteki leydig hücre yüzeylerindeki reseptörlere bağlanarak, seminifer tübül içinde difüze olmuş steroid bir hormon olan testosteron üretimini uyarmaktadır (Walker ve Cheng, 2005; Wangikar ve ark., 2011). FSH seminifer tübüllere direkt etki ederken, LH testosteron aracılığıyla spermatogenez uyarmaktadır (Babu ve ark., 2004).

Hipofiz bezi hormonlarının sentezi ve saliverilmeleri, gonadal hormonların feed back kontrolü altında olmaktadır (Weinbauer ve ark., 1989). Testosteronun hipotalamus ve hipofiz üzerine etki ederek FSH ve LH saliverilmesinin negatif feed back kontrolünü sağladığı bilinmektedir (Wangikar ve ark., 2011; Weinbauer ve ark., 1989). LH uyarısı ile testislerden salgılanan testosteron hormonu, karşıt olarak hipofizden LH sekresyonunu etkilemektedir. Bu inhibisyonun büyük kısmı olasılıkla testosteronun doğrudan hipotalamusa etkisi sonucu, GnRH salgısının azalmasına bağlıdır. Bu da ön hipofizden LH ve FSH salgısını azaltmaktadır ve LH'nin azalması da testislerden testosteron salgısının azalmasına neden olmaktadır. Böylece, testosteron salgısının çok fazla olması halinde, otomatik olarak feed back etkisiyle hipotalamus ve ön hipofiz bezi salgıları azaltılarak testosteron salgılanması baskılanmaktadır ve hormon düzeyi regüle edilmektedir (Guyton ve Hall, 2001) (şekil 2). FSH sekresyonu hem testosteron hem de inhibin hormonunun etkisi altında olmakla birlikte, LH'nin feed back düzenlenmesinden FSH'nin feed back düzenlenmesinde inhibinin testosterondan daha önemli olduğu savunulmaktadır (Weinbauer ve ark., 1989).



Şekil 2: Erkekte Hormonal Sistem (<http-2>)

Erkek Üreme Sistemi Toksikolojik Patolojisi

İnsanlardaki üreme organları çevresel kirleticiler, ilaçlar (küçük moleküller ve biyolojikler), kozmetikler, kimyasal tarım maddeleri ve patojenler (virüs, bakteri, parazit) gibi çeşitli çevresel ajanlara bağlı toksik travmalara maruz kalmaktadır. Bu ajanların kadın ve erkek üreme sistemi üzerine olumsuz etkilerinin birçok ülkedeki infertilite artışının ana nedeni olduğu düşünülmektedir (Wangikar ve ark., 2011).

Üreme toksisitesi, bir ajanın her iki cinsiyette de üreme siklusunun bir yönü üzerinde olumsuz etkileri anlamına gelmektedir. Bunlar; üreme fonksiyonun kaybı (infertilite), embriyoda büyüme geriliği (teratojenite), malformasyon ve ölüm gibi olumsuz etkiler ve çocukta olumsuz postnatal etkilerdir (Wangikar ve ark., 2011).

Üreme toksisitesinin değerlendirilmesinde, ilaçların ve kimyasalların üreme ve fertilite üzerinde olumsuz etkilerini belirlemek için spesifik son noktalar tanımlanmaktadır. Tekrarlanan doz toksisite çalışmalarında üreme organlarına hasar açısından hormonal değişiklikler saptanabilmektedir. Toksikolojik Patoloji Derneği'nin önerilerine göre; testiküler ağırlıklar toksisite çalışmalarında önemli kabul edilmektedir, çünkü testis ağırlığındaki değişiklikler seminifer tübül değişikliklerini ve intertisyal ödemi yansıtmaktadır. Epididimal ağırlık değişimi azalmış sperm üretiminin hassas bir göstergesi olabilmektedir ve ödem veya inflamasyonu gösterebilmektedir. Prostat ağırlıkları ise androjenik veya östrojenik sinyallerdeki yükselmeye ilişkilendirilmektedir. Testislerin histopatolojik incelenmesinin amacı ise toksik etkileri saptamak ve eğer hasar görülürse lezyonları karakterize etmektir (Wangikar ve ark., 2011; Sellers ve ark., 2007).

COX Enzimi ve Prostaglandinler

COX enzimi

Araşidonik asit, hücre membranının fosfolipitlerinin hidrolizi sonucunda serbest hale geçen 20 karbonlu çoklu doymamış bir yağ asitidir. Çeşitli faktörlerin etkisiyle aktive olan fosfolipaz A₂, membran fosfolipitlerini hidroliz ederek araşidonik asit salınımını sağlamaktadır. Araşidonik asit ve diğer prekürsör yağ asitlerinden siklooksijenaz (prostaglandin endoperoksit sentaz, prostaglandin G/H sentaz, PGH sentaz) ve lipooksijenaz enzimleriyle sırasıyla prostanoidler ve lökotrienler meydana gelmektedir (Clària, 2003; Morita ve ark., 1995; Gökşen ve Kelekçi, 2010). COX, siklooksijenasyon ve peroksidasyon olarak adlandırılan, prostanoidlerin ve tromboksanların (TXA₂) oluşumunu sağlayan yolakta, ilişkili ilk iki basamağı katalizleyen, membran bağlı çift fonksiyonlu bir enzimdir (Clària, 2003).

1971 yılında ilk olarak tanımlanan COX enziminin, 1990'ların başında farklı genler tarafından kodlanan konstitütif (yapısal) ve indüklenbilir tip olmak üzere iki izoformunun olduğu kanıtlanmıştır. Farklı yapılarda ve farklı işlevlerde olan iki izoformdan konstitütif siklooksijenaz COX-1 ve indüklenbilir siklooksijenaz ise COX-2 olarak adlandırılmaktadır (Morita ve ark., 1995; Dubois ve ark., 1998; Clària, 2003; Robich ve ark., 2011). COX-1 ve COX-2 aynı hücrede eksprese edildiklerinde bunların aktiviteleri araşidonik asidin ve

preoksidasyona duyarlı lipidlerin intrasellüler konsantrasyonlarının düzenlenmesi yoluyla kontrol edilmektedir (Frungeri ve ark., 2007).

Son yıllarda asetaminofenin uzun kullanım süresi ve popüleritesine rağmen; antiinflamatuvar etki göstermeksizin antipiretik ve analjezik etkiler göstermesi ve terapötik konsantrasyonlarda COX-1 ve COX-2'yi sadece zayıf bir şekilde inhibe etmesi nedeniyle COX izoenziminin yeni bir izoformunun olduğu önerilmiştir. Dan Simmons grubu özellikle asetaminofen ve ilişkili bileşiklere duyarlı yeni bir COX varlığı göstermişlerdir. COX-1 enziminin bir varyantı olan ve COX-3 olarak isimlendirilen bu yeni COX, köpek serebral korteksinde ve insan dokularında ise en fazla serebral korteks ve kalpte bulunmaktadır (Chandrasekharan ve ark., 2002; Kennedy ve ark., 2003; Clària, 2003; Rao ve Knaus, 2008).

COX-1 ve COX-2 enzimlerinin sorumlu olduğu biyolojik süreçler

COX-1 enzimi, neredeyse tüm memeli dokularında normal koşullarda sürekli sentez edilen yapısal bir enzimdir. Hücre fizyolojisinin düzgün çalışmasının sürdürmesinde ve doku hemostazının sağlanmasında önemli rol oynamaktadır. Mide-barsak kanalının epitelyum hücrelerinde, trombositlerde, damar endotelinde, böbrek glomerül ve tubulus hücrelerinde ve vezikula seminaliste fazla miktarda bulunmakta ve gastrik mukozanın hücrel korunması, renal kan akımının düzenlenmesi, platelet agregasyonunun kontrolü gibi fizyolojik olaylarda görevli prostaglandinlerin yapımında sentezinde yer almaktadır (Morita ve ark., 1995; Smith ve ark., 1996; Engelhardt, 1996; Dubois ve ark., 1998; Clària, 2003; Kayaalp, 2005; Rao ve Knaus, 2008; Brzozowski ve ark., 2001).

İndüklenebilir form olan COX-2 ise fibroblastlar, makrofajlar, kondrositler ve uterusu bulunmakta ve sitokinler, bakteriyel endotoksinler, interlekinler, tümör nekroz ajanlar gibi proinflamatuvar ve mitojenik faktörlere cevap olarak ekspresyede edilmekte, inflamatuvar olaylarda rol oynayan prostaglandinlerin sentezinde görev almaktadır (Frungeri ve ark., 2007; Brzozowski ve ark., 2001; Smith ve ark., 1996; Kennedy ve ark., 2003; Dökmeci, 2000; Rao ve Knaus, 2008; Hattori ve ark., 2006; Suzuki ve ark., 2006). COX-2 ekspresyonu inflamatuvar olaylar yanında; alzheimer, anjiogenezis, kemik adsorpsiyonu, gastrik ülserler, kolon kanseri, mesane kanseri, böbrek hastalıkları, beyin hastalıkları ve kadın genital yolları hastalıkları gibi fizyolojik ve patolojik olaylarda tanımlanmaktadır (Brzozowski ve ark., 2001; Kayaalp, 2005; Hattori ve ark., 2005; Frungeri ve ark., 2007).

Ancak COX-2'nin patolojik olaylara ve COX-1'in ise üretildiği hücrelerde sürekli sentez edilerek yararlı fizyolojik olaylara katkısı olan izoformlar olduğu görüşünün tam olarak doğru olmayabileceği yönünde çalışmalar bulunmaktadır. COX-1 ve COX-2 eksikliği geliştirilmiş farelerle yapılan çalışmalarda sadece bir izoformun özgün bir şekilde yer aldığı fizyolojik süreçlerin (COX-1 için platelet agregasyonu, COX-2 içinse ovulasyon) bulunmasının yanında; COX-2 aracılı prostanooidlerin sorumlu olduğu düşünülen ama her iki izoformun koordine çalıştığı (örneğin karsinogenez, inflamasyon, gastrik ülser oluşumu) süreçlerin bulunduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca genelde bir izoformun yer aldığı ama o yoksa diğerinin bunun yerini doldurabildiği fizyolojik süreçler (örneğin doğum ve ductus arteriosusun yeniden yapılanması) tanımlanmaktadır (Smith ve Langenbach, 2001; Brzozowski ve ark., 2001). Bununla birlikte, COX-2'nin beyin

ve böbrekler gibi organlarda temel olarak ekprese edildiği gösterilmektedir (Clària, 2003; Tegeder ve ark., 2000). COX-2 eksik farelerin böbrek gelişimlerinde şiddetli bozulmalar gözlenmektedir (Dubois ve ark., 1998). Antitrombotik bir prostaglandin olan prostasiklinin oluşması ve ovulasyon, implantasyon, neonatal gelişim gibi süreçlerden COX-2 sorumlu olduğundan bu ayrım tam olarak doğru kabul edilmemektedir (Clària, 2003; Smith ve Langenbach, 2001; Kayaalp, 2005).

Prostaglandinler

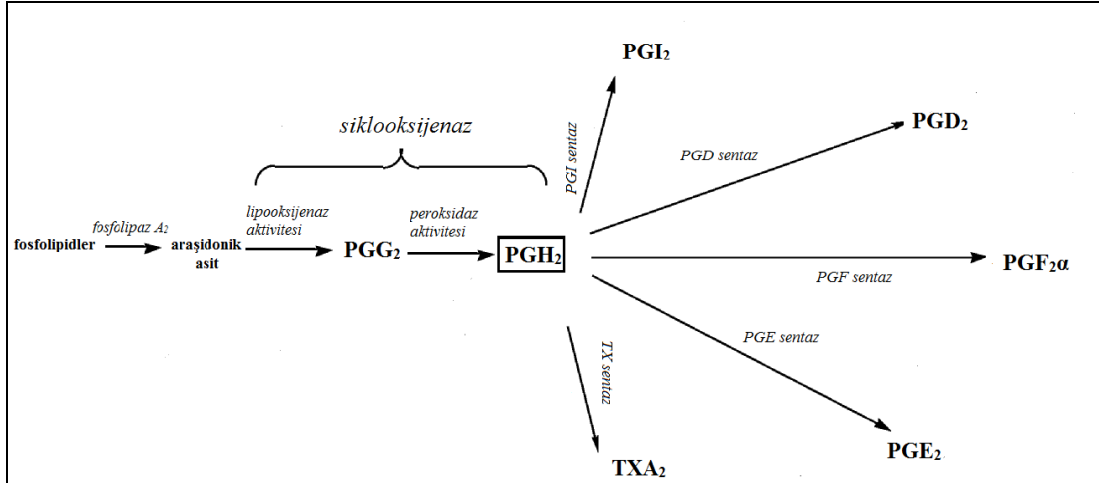
Prostaglandinler pek çok fizyolojik aktivitede görev alan lipid benzeri moleküllerdir. Bu moleküller normal ve patolojik koşullarda hücre işleyişini düzenleyen lokal hormonlar gibi işlev görmektedirler (http-3; Gökşen ve Kelekçi; 2010).

Prostaglandinlerin geçmişi, Goldblatt ve Von Euler' in birbirlerinden bağımsız şekilde, insan seminal sıvısında, tavşanlarda ve kobaylarda etkili vazodilatör özelliklere sahip olan bir yağ asidini keşfettikleri 1930'ların başına dayanmaktadır. Von Euler bu bileşiğe prostat bezinden köken aldığını sandığı için prostaglandin adını vermiştir; ancak şu an seminal veziküllerden köken aldığı bilinmektedir (Clària, 2003).

Prostaglandinlerin sentezi

Prostaglandinler COX enzimi aracılığıyla araşidonik asit veya benzeri prekürsör yağ asitlerinden elde edilmektedir. Sentezleri üç basamaklıdır;

- a) İlk basamakta, membran fosfolipitlerinin hidrolizi ile serbest yağ asitleri oluşmaktadır.
- b) İkinci basamakta araşidonik asit veya diğer serbest yağ asitleri COX enzimleriyle siklik endoperoksitler olarak adlandırılan prostaglandin G₂ (PGG₂) ve prostaglandin H₂ (PGH₂)' ye dönüşmektedir. COX, prostanoid kaskadının hız belirleyici adımını katalizleyen enzimdir. Araşidonik aside COX enziminin siklooksijenaz aktivitesi ile moleküler oksijen eklenerek kararsız bir molekül olan PGG₂ oluşmaktadır. PGG₂ ise COX enziminin peroksidaz aktivitesi ile PGH₂'ye dönüşmektedir. Siklik endoperoksitler stabil değildirler ve yarılanma ömürleri çok kısa maddelerdir.
- c) PGH₂'den spesifik sentazlarla prostanoidler olarak adlandırılan prostaglandinler (prostaglandin D₂ (PGD₂), prostaglandin E₂ (PGE₂), prostaglandin E₁ (PGE₁), prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α})), prostasiklinler (PGI₂) ve TXA₂ oluşmaktadır (Frungeri ve ark., 2007; Walch ve Morris, 2002; Clària, 2003; Dubois ve ark., 1998; Rao ve Knaus, 2008) (**şekil 3**). Prostaglandinlerin sentezi tüm dokularda aynı şekilde olmamaktadır. Örneğin TXA₂ sentezi trombositlerde olduğu halde PGI₂ sentezi vasküler endoteliumda olmaktadır (Dökmeci, 2000). PGI₂'ler yapıca prostaglandinlere çok benzerler ve bazı kaynaklarda prostaglandin olarak kabul edilmektedirler (Kayaalp, 2005).



Şekil 3: Prostaglandinlerin Sentezi (Frungeri ve ark., 2007; Walch ve Morris, 2002; Clària, 2003; Dubois ve ark., 1998; Rao ve Knaus, 2008)

Prostaglandinlerin farklı sistemler üzerine biyolojik etkileri çizelge 2’ de sunulmaktadır.

Çizelge 2. Siklooksijenaz Ürünlerinin Biyolojik Etkileri (Clària, 2003; Smith ve Langenbach, 2001; Mycek ve ark, 2001; Dubois ve ark., 1998; Trevor ve ark., 2010; Dökmeci, 2000; Engelhardt, 1996)

Hücre/organ	Mediyatör	Etkileri
Kardiyovasküler Sistem	PGI ₂ , PGE ₂ , PGD ₂	Vazodilatasyon, trombosit agregasyonunun inhibisyonu
	TXA ₂	Vazokonstriksiyon, trombosit agregasyonunun stimülasyonu
Solunum Sistemi	PGE ₂ PGF ₂ α, TXA ₂	Brokodilatasyon Bronkokonstriksiyon
Sinir Sistemi	PGE ₂ PGD ₂ PGE ₂ , PGI ₂	Ateş Uyku Ağrı
Renal Sistem	PGE ₂ , PGI ₂	Vazodilatasyon, renin salgılanması ve idrar oluşumu stimülasyonu, renal kan akımının ve glomerüler filtrasyon hızının düzenlenmesi
Gastrointestinal Sistem	PGE ₂ , PGI ₂	Sitoprotektör
İmmun Sistem	PGE ₂ , PGI ₂	T ve B lenfositlerinin inhibisyonu

Çizelge 2 (Devam). Siklooksijenaz Ürünlerinin Biyolojik Etkileri (Clària, 2003; Smith ve Langenbach, 2001; Mycek ve ark, 2001; Dubois ve ark., 1998; Trevor ve ark., 2010; Dökmeci, 2000; Engelhardt, 1996)

Dişi Üreme Sistemi	PGE ₂ , PGF ₂ α	Uterus düz kasının kasılması, oksitosik etki, ovülasyon, embriyonun implantasyonu, luteoliz
Erkek Üreme Sistemi	PGE ₂ , PGF ₂ α	Fertilizasyon

Erkek ve dişi üreme sisteminde COX ve prostaglandinlerin fonksiyonları

Dişi üreme sistemi

Prostaglandinlerin başlıca etkileri doğumun indüklemeleridir (Dubois ve ark., 1998). PGE₂ ve PGF₂α uterus düz kası üzerinde sahip oldukları konstriktör etkiyle oksitosik etki meydana getirmektedirler. Gebelik esnasında verilmeleri abortusa, gebelik sonunda verilmeleri ise doğum eyleminin başlamasına neden olmaktadır (Clària, 2003; Kayaalp, 2005). PGE₂ (dinoprostion olarak) doğum sırasında doğumun oksitosin ile indüklenmesinden önce serviksin olgunlaşmasının sağlanması için onaylanmıştır (Trevor ve ark., 2010). Doğum indüksiyonu, gebeliğin devamının anne ve fetus için tehlikeli olduğu veya olası yararın doğum yönünde olması durumlarında önerilmektedir (Uğurel, 2007). Hem PGE₂ hem de PGF₂α hamileliğin ikinci trimenstrinde düşük yapıtıcı ajanlar olarak kullanılmaktadır (Trevor ve ark., 2010). PGF₂α dölleme olmadığı durumlarda corpus luteum gerilemesine (luteoliz) yol açmaktadır (Dökmeci, 2000).

Primer dismenore endometriyal prostaglandin sentezi sonucu gelişen herhangi bir organik patolojinin eşlik etmediği menstruel ağrı olarak tanımlanmaktadır. Menstrüasyon öncesi progesteron çekilmesinin başlamasıyla birlikte açığa çıkan arazidonik asitten sentezlenen prostalandinlere bağılı olarak ortaya çıkan inflamatuvar cevap hem kramplara hem de bulantı, kusma, şişkinlik hissi ve baş ağrısı gibi semptomlara neden olmaktadır. Yapılan çalışmalarda bu bayanların serumlarında ve adet kanlarında PGE₂ ve PGF₂α düzeylerinin arttığı tespit edilmektedir (Trevor ve ark., 2010; Gezginc ve Dalkılıç, 2011; Salman ve ark., 2004).

Ovulasyon, fertilizasyon, embriyonun implantasyonu gibi üreme fonksiyonlarında COX-2 aracılı prostaglandinler rol oynamaktadır (Dubois ve ark., 1998; Smith ve Langenbach, 2001; Dubois ve ark., 1998). COX-2 eksikliği olan dişi farelerde, düşük ovülasyon, fertilizasyon, implantasyon ve desidualizasyon oranlarını içeren çeşitli reproduktif yetersizlikler gözlenmektedir (Lim ve ark., 1997; Kubota ve ark., 2011). COX-2 eksikliği olan farelerdeki ovulasyon PGE₂ verilmesi ile düzelebildiği için, COX-2 aracılığıyla oluşan PGE₂'nin ovulasyondan sorumlu ürün olduğuna inanılmaktadır (Smith ve Langenbach, 2001). Bu nedenle reproduktif çağdaki kadınlarda COX-2 inhibitörlerinin (ve selektif olmayan COX inhibitörlerinin) tercihen hiç kullanılmaması, bu mümkün değilse en azından

dozunun azaltılması önemli bir nokta olarak kabul edilmektedir (Salman ve ark., 2004).

Erkek üreme sistemi

Prostaglandinler hem dişi hem de erkek üreme fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Erkek üreme sisteminin çeşitli kısımlarında bol miktarda prostaglandin bulunmaktadır (Saeed ve ark., 2009). İnsanda sperma sıvısı içinde toplam prostaglandin konsantrasyonu, ml'de birkaç yüz µg'dır ve bu değer diğer vücut sıvılarındaki konsantrasyonun yaklaşık 1 milyon katıdır (Kayaalp, 2005). Prostaglandin içeriği sıçan semeninde 1-5 ng/ml, tavşan semeninde 50 ng/ml, koç semeninde 40 µg/ml iken insan semeninde yaklaşık 400 µg/ml'dir (Löscher ve Blazaki, 1986). Prostaglandinlerin semende yüksek miktarda bulunmaları birçok araştırmacıya bunların fertilite üzerinde önemli rolleri olabileceğini düşündürmektedir (Yıldız, 1988). Memelilerde seminal prostaglandinler temel olarak üreme sisteminin aksesuar bezlerinde üretilmekte ve prostaglandinlerin *in vitro* olarak sperm motilitesini, kapasitasyonunu ve akrozom reaksiyonunu etkilediği gösterilmektedir (Kennedy ve ark., 2003). Prostaglandinler; etki bölgesine bağlı olmak üzere erkek fertilitasını arttırabilmekte veya azaltabilmektedir (Löscher ve Blazaki, 1986).

Prostaglandin üretiminin inhibitörü olan steroidal olmayan antiinflamatuvar ilaçların etkilerini veya prostaglandinlerin kendilerinin erkek fertilitesi ve spermatogenez üzerindeki etkilerini inceleyen sayısız çalışma çelişkili veriler ortaya koymaktadır. Testiküler fonksiyonun çeşitli yönlerini kontrol etmede bu moleküllerin olası karmaşıklığını vurgular şekilde, spermatogenezin tamamında prostaglandinlerin hem stimülatör hem de inhibitör etkileri olduğu ileri sürülmektedir (Winnall ve ark., 2007). Genel olarak, E serisinden prostaglandinler sperm motilitesini uyarırken; PGF_{2α} motiliteyi inhibe etmektedir (Kennedy ve ark., 2003).

Klinik verilere göre bazı prostaglandinler fertilite açısından önemli olarak kabul edilmektedir. Yapılan çalışmalarda infertil erkeklerde tüm prostaglandinlerde genel bir azalma tespit edilmekte ve prostaglandin düzeylerinin sperm dansitesi ile doğru orantılı olduğu bildirilmektedir. Prostaglandinler erkek gametinin epididimis ve vas deferensten geçerken olgunlaşma olayında fonksiyonel bir role sahiptir (Johnson ve Ellis, 1977). Erkeklerde seminal prostaglandinlerin (özellikle PGE'ler) düşüklüğü ile açıklanamayan infertilite arasında bir korelasyon bulunduğu dair çalışmalar bulunmaktadır. Aynı şekilde idiyopatik erkek infertilitesi üzerinde PGE'nin olumlu etkisi olduğu da ileri sürülmektedir (Löscher ve Blazaki, 1986).

Akrozom, spermatozoon nükleusunun ön-uç kısmını örten, membran bağımlı, golgi cisimciğinden köken alan ve fertilizasyonda gerekli güçlü enzimler içeren yapıdır (Uçar, 2004). Sperm kapasitasyon yeteneğini kazandıktan sonra zona pellucida penetrasyonunu gerçekleştirmesi için öncelikle akrozom reaksiyonunun indüklenmesi gerekmektedir. Akrozom reaksiyonunun indüklenmesi için kalsiyum iyonu içeri akışının önemli olduğu ve kalsiyum iyonoforlarının reaksiyonu güçlendirdiği bilinmektedir. Üç farklı COX inhibitörü ile yapılan çalışmada prostaglandinlerin akrozom reaksiyon oranını arttırdığı gösterilmektedir. Bu sonuçlar doğrultusunda prostaglandinlerin akrozom

reaksiyonu için şart olan kalsiyum iyonunun içeri akışını sağlayan mekanizma ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (Joyce ve ark., 1986). Benzer olarak diğer çalışmalarda PGE serisinden prostaglandinlerin memeli sperminde kalsiyum içe akışını sağladığı, internal olarak depolanmış kalsiyumun salıverilmesine yol açtığı veya siklik adenosin monofosfat (cAMP) düzeylerini arttırdığı gösterilmektedir (Shimizu ve ark., 1998; Joyce ve ark., 1986; Johnson ve Ellis, 1977; Kennedy ve ark., 2003).

Erişkin sıçan testislerinde yapılan çalışmada lipopolisakkarit ile indüklenen inflamasyon sırasında hem yapısal COX-1, hem de indüklenebilen COX-2 enzimlerinin mesajcı ribonükleik asitleri (mRNA) birçok testiküler hücre tipinde belirlendiği bildirilmektedir. Aynı çalışmada testiküler COX-2 ekspresyonu, COX-1'e oranla daha fazla miktarda bulunduğu gösterilmektedir. Diğer taraftan PGE₂'nin *in vitro* testiküler üretimi spesifik COX-2 inhibitörü tarafından baskılanırken COX-1 inhibitörü tarafından baskılanmadığı saptanmaktadır. Prostaglandin üretimi özellikle inflamasyon sırasında diğer dokularda vasküler permeabiliteyi ve kan akışındaki değişiklikleri regüle ettiğinden, testis tarafından endojen prostaglandin üretiminin sıvı dengesi ve vasküler fonksiyonun korunmasında rol oynayabildiği düşünülmektedir (Winnall ve ark., 2007).

Kriptorşidizm pritoneal boşluktaki yüksek sıcaklıktan dolayı bozulmuş spermatogenezle erkek infertilitesine sebep olan yaygın bir hastalık olarak tanımlanmaktadır. Deneysel kriptorşidizm modeli oluşturularak farelerle yapılan çalışmada kullanılan selektif COX-1 inhibitörünün spermatogenez üzerine etki göstermediği; COX-2 inhibitörünün ise germ hücresinde apoptozisi indükleyerek testiküler hasarı arttırdığı gösterilmektedir. COX-2 enziminin kriptorşidizm modeli oluşturulmuş testislerde germ hücresi apoptozisini azaltmak için indüklendiği çalışma sonuçlarına göre öne sürülmektedir (Kubota ve ark., 2011).

Plasebo kontrollü bir çalışmada indometazin ve oksaprozin genç sağlıklı erkeklerde seminal prostaglandin düzeylerini düşürmekte ama sperm hareket özelliklerini ve serum hormonlarını etkilememektedir. Seminal prostaglandin düzeylerinde gözlenen azalma COX inhibitörlerinin esas etkisi gibi görünmektedir. Seminal prostaglandin düzeylerinin azalması *in vitro* olarak sperm motilitesinde azalmaya yol açarken *in vivo* olarak böyle bir etkinin görülmemiş olması *in vivo* kompanzatuvar mekanizmaların aktif rol oynadığını göstermektedir (Knuth ve ark., 1989).

Prostanoidlerin organizmada yaygın olarak fizyolojik ve patolojik bazı olgulardan sorumlu olmaları klinikte kullanımlarını sağlamaktadır. PGE₁ içeren alprostadil vazodilatör etkisi nedeniyle intrakavernöz yolla iktidarsız erkeklere uygulanmaktadır (Dökmeci, 2000).

Öte yandan COX ve prostaglandinlerin testiküler fizyopatolojide rol oynayabileceğiyle ilgili çalışmalar da bulunmaktadır. Normal insan testisinde COX enzim ekspresyonu gerçekleşmediği, ama insan testiküler kanserinde COX-1 ve COX-2 ekspresyonunun indüklendiği gösterilmektedir (Hase ve ark., 2003; Frungieri ve ark., 2007). COX enzim inhibitörlerinin testiküler kanser büyümesini inhibe ettiği bildirilmektedir (Hase ve ark., 2003). Normal morfolojiye sahip insan testis biyopsilerinde COX-2 enzimi tanımlanmazken sadece sertoli hücresi sendromu olan infertil hastalarda, germinal arrest ve hipospermatogenezisi olan

testis biyopsilerinde COX-2 enzimin eksprese edildiği dikkat çekmektedir. Morfoloji değişikliği bulunan patolojik insan testisleri prostaglandinleri sentezleme yeteneğine sahip tek testisler gibi görünmektedir (Frungeri ve ark., 2007).

Testosteron, testiküler leydig hücrelerinde üretilerek kana salıverilmektedir ve kan testosteron konsantrasyonunun erkek yaşlanması sürecinde azaldığı bilinmektedir (Wang ve ark., 2005; Walch ve Morris; 2002). Spermatogenez için yeterli miktarda testosteron varlığının gerekliliği bilinmektedir. LH ise, leydig hücrelerini etkileyerek testosteron salınımını uyaran bir hormon olarak görev yapmaktadır (Bozdağın, 2000). Kan testosteronundaki yaşla ilgili düşüşte esas bölge yaşlanmış leydig hücrelerindeki testosteron biyosentezi gibi görünmektedir. Testosteron biyosentezindeki hız belirleyici basamak, substrat kolesterolün mitokondriyal iç membrana transfer olarak steroidojenik süreci başlatması olarak kabul edilmektedir. Steroidojenik akut regülatör (StAR) proteini, mitokondriyal iç membrana kolesterol transferini gerçekleştirerek bu basamakta kritik bir rol oynamaktadır. Bununla birlikte StAR proteini, leydig hücresi yaşlanması sırasında da düşmektedir. StAR gen ekspresyonu ve testosteron biyosentezi, hipofiz bezinden salıverilen LH tarafından regüle edilmektedir (Wang ve ark., 2005).

COX-2'nin leydig hücrelerinde StAR gen ekspresyonu ve steroidojenezde tonik bir inhibisyon oluşturduğu ileri sürülmektedir (Wang ve ark., 2003). Yapılan çalışmalarda; leydig hücrelerinde yaşla ilişkili bir COX-2 artışı ortaya konulmaktadır ve yaşlanma sırasında ortaya çıkan testiküler testosteron üretiminin azalmasında COX-2'un rol oynayabileceği düşünülmektedir (Wang ve ark., 2005). Bu noktada, MA-10 fare leydig hücrelerinde COX-2 inhibisyonu, steroidojenezi ve StAR gen ekspresyonunu arttırdığı gösterilmektedir. Diğer taraftan COX-2 enzimi aşırı ekspresyonu tam tersine yol açmaktadır (Wang ve ark., 2005). Benzer olarak Fuchs ve Chantharaksri (1981)'nin yaptığı bir çalışmada $PGF_{2\alpha}$ 'nın Leydig hücrelerinde LH ile uyarılan testosteron üretimini inhibe ettiği gösterilmektedir.

Erkek sıçanlarla yapılan başka bir çalışmanın sonuçlarına göre COX enzim inhibitörü indometazinle kronik tedavi sonrasında plazma LH ve testosteron seviyelerinin düştüğü, plazma FSH düzeylerinde ise anlamlı bir değişiklik gözlenmediği ve fertilitenin indometazin uygulaması ile etkilenmediği gösterilmektedir. Çalışma sonuçlarına göre prostaglandinlerin LH salıverilmesinin regülasyonunda rol oynayabileceği ve indometazinle tedavi edilen sıçanlarda plazma LH düzeyinin azalmasının prostaglandin sentezinde bir azalmaya bağlı olduğunu ileri sürülmektedir (Saksena ve ark., 1975).

NSAİ ilaçlar

NSAİ ilaçlar; antiinflamatuvar, antipiretik ve analjezik etkilerinden dolayı ateşin; romatoid artrit, osteoartrit gibi inflamatuvar durumların; hafif-orta şiddette ağrıların, kronik ağrının ve kemik ağrısının (özellikle kemik metastazları olan) tedavisinde geniş klinik faydalara sahip tüm dünyada en yaygın reçetelendirilen farmakolojik ajan sınıfları arasında kabul edilmektedir (Clària, 2003; Edirne, 2007). Türkiye'de 2007 yılında yaklaşık 130 milyon kutu NSAİ ilaçların kullanıldığı bildirilmektedir (Korkut ve ark., 2008). Amerika'da ağustos 2000'de

yılda yaklaşık 4 milyon dolar tutarında 111 milyon NSAİ ilaç reçetesi hazırlandığı rapor edilmektedir (Laine, 2001).

NSAİ ilaçların etki mekanizması

Ağrı, doku zedelenmesi (yanık, batma, sıkışma, bazı kimyasal ve toksik maddeler) uyarılarına periferik serbest sinir uçları tepki verdiğinde başlayan kompleks fizyolojik bir olaydır (Dökmeci, 2000). İki tip ağrı mediyatöründen; aljezik mediyatörler duyuşal sinir uçlarındaki nosiseptörleri (ağrı reseptörleri) stimüle etmektedir. Hiperalezik ağrı mediyatörleri ise nosiseptörlerin duyarlılaşmasına neden olup ağrı yapıcı etkiyi güçlendirmektedir (Bökesoy ve ark., 2000). PGI₂ ve prostaglandinler (özellikle PGE₂) duyuşal ve sinir uçlarının aljezik etkenlere karşı duyarlılığını ve onların ağrı yapıcı etkilerini arttıran hiperalezik ağrı mediyatörleridir. NSAİ ilaçlar, COX enzimini bloke etmek yoluyla bu maddelerin sentezini inhibe ederek ağrı kesici etki yapmaktadır (Kayaalp, 2005; Laine, 2001; Bökesoy ve ark., 2000). Son yıllarda NSAİ ilaçların santral sinir sisteminde (SSS) de değişik bölgelere etkileri ortaya konmaktadır. Kan-beyin bariyerini geçebilmekte ve SSS’de ağrı inhibisyonu ile ilgili opioid ilişkili noradrenerjik yollarda prostaglandin oluşumunu engellemektedirler (Duman, 2007).

Vücut sıcaklığının immünolojik sataşmaya bağlı olarak yükselmesi olarak tanımlanan ateş (pirezis), infeksiyon hastalıklarının önemli bir belirtisidir. İnfeksiyöz olmayan iltihap olayları, kanser, graft reaksiyonu ve benzeri durumlar da ateşe yol açmaktadır (Kayaalp, 2005). Vücut sıcaklığı hipotalamusta bulunan termoregülatör merkez tarafından düzenlenmektedir ve bu bölge 37°C’ye ayarlanmış bir termostat gibi görev yapmaktadır (Bökesoy ve ark., 2000; Kayaalp, 2005). Ateş oluşturan bileşiklere pirojenler denilmektedir. Bunlar ekzojen ve endojen olarak ikiye ayrılmaktadır (Bökesoy ve ark., 2000). Endojen pirojenler (interlökin- 1 β , tümör nekroz faktörü (TNF- α), interlökin-6, interferon-beta ve interferon-gama), prostaglandinlerin (özellikle PGE₂) salıverilmesini arttırmaktadır. Prostaglandinler termoregülatör merkezi, ateş reaksiyonuna katılan hipotalamik otonomik merkezleri ve vazopresin salgılayan nöronları etkilemekte ve termoreseptörlerin duyarlılığını azaltmaktadır. NSAİ ilaçlar prostaglandinlerin sentezini inhibe ederek, düşmüş olan duyarlılığı normal düzeye yükseltmektedirler (Dökmeci, 2000; Kayaalp, 2005; Dugowson ve Gnanashanmugam, 2006;).

İnflamasyon aşırı ya da anormal bir uyarı ya da lezyona karşı canlı varlıkların gösterdiği bir savunma reaksiyonudur. Bu durum travma, yanık sonucu, dış patojen ajanların (virüs, bakteri, parazit, antijenler) ya da otoantijenlerin organizmaya girmesiyle oluşabilmektedir (Dökmeci, 2000). İltihaplı sinovyal dokuda PGE₂ sentezinin arttığı ve PGE₂’nin orada baskılatıcı T lenfositleri üzerinde tonik bir inhibisyon yaptığı bilinmektedir. PGE₂ doğal öldürücü hücreleri de baskılamaktadır. Antiinflamatuvar ilaçlar PGE₂ sentezini inhibe etmekte ve sonuçta lokal iltihapta rol oynayan ve bir otoantikör olan romatoid faktör üretimini azaltmakta ve iltihap belirtileri hafifletmektedir (Dökmeci, 2000; Bökesoy ve ark., 2000; Kayaalp, 2005). İnflamasyon sürecinde, COX-1 mRNA ve protein aktivitesi değişmezken; proinflamatuvar prostaglandinlerin oluşumunu başlatan COX-2 seviyelerinde artış olmaktadır (Rao ve Knaus, 2008)

Kardiyovasküler sistemde, normal ve hasta kalplerde COX-2 eksprese edilmektedir. Aynı zamanda inflamasyon akut miyokarditin gerekli patolojik bir özelliği olarak kabul edilmektedir. Sıçanlarda deneysel otoimmün miyokardit modeli oluşturularak yapılan çalışmanın sonucuna göre, meloksikam deneysel otoimmün miyokardit gelişimini baskılamaktadır (Suzuki ve ark., 2006).

NSAİ ilaçların TXA₂ sentezini inhibe edici etkileri aslında bir yan etki olmasına rağmen tedavide, kalp ve beyin damar hastalıklarının profilaksisinde aspirinin yer almasına neden olmaktadır (Capone ve ark., 2004). 1996'da Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi tarafından, ilacın akut kalp krizi kuşkusu içindeki kişilerde kullanımı tavsiye edilmektedir (Demirel ve Kılçıksız, 2011). COX-1 inhibitörleri (80-120 mg, düşük doz aspirin gibi) TXA₂ sentezini durdurup, PGI₂ sentezini etkilemeden trombosit agregasyonunu azaltmaktadırlar (Gençbay, 2004). Aspirin TXA₂ inhibisyonunu geri dönüşümsüz yapmaktadır, böylece platelet fonksiyonu üzerindeki etkisi, etkilenmiş plateletlerin ömrü kadar devam etmektedir (7-10 gün). Diğer NSAİ ilaçlar ise geri dönüşümlü bir şekilde COX-1 inhibisyonu yapmaktadırlar, platelet fonksiyonları ilacın yarı ömrüne karşılık gelmektedir (Dugowson ve Gnanashanmugam, 2006; Rao ve Knaus, 2008).

Epidemiyolojik, deneysel ve klinik çalışmalarda NSAİ ilaçlar ve özellikle COX-2 inhibitörü ilaçların bazı tümör tiplerine sağaltıcı ve koruyucu özelliklere sahip olduğuna dair bilgiler artmaktadır (Hattori ve ark., 2006; Satılmış ve Bilgili, 2013). COX-2 izoformunun keşfinden sonra çalışmalar kolon, göğüs, prostat, mesane, akciğer, özofajiyal, deri ve pankreas gibi pek çok kanser türünde COX-2'nin eksprese edildiğini göstermektedir. Selektif COX-2 inhibitörleri ile çeşitli kanserlerin tedavi ve önleminde geniş ölçüde çalışılmaktadır (Rao ve Knasus, 2008; Brown ve ark., 2001; Hattori ve ark., 2006; Dubois ve ark., 1998; Hase ve ark., 2003). Ancak sergilenen antikanser aktivite COX bağımlı veya bağımsız yollarla olabilmektedir (Rao ve Knasus, 2008; Dubois ve ark., 1998). Non-selektif, selektif ve spesifik COX-2 inhibitörü ilaçlarla farelerde kolorektal kanser modeliyle yapılan bir çalışmanın sonuçlarına göre; NSAİ ilaçların kemoprotektif özellikleri ile COX inhibisyon özelliklerinden bağımsız olduğu, muhtemel mekanizmanın apoptozisin indüklenmesi ve proliferasyonun inhibisyonu olduğu savunulmaktadır (Brown ve ark., 2001).

Naproksen sodyum

Propiyonik türevi bir non-steroidal ajan olan naproksen, aspirinden 20 kat daha etkindir. Yan etkiler açısından en iyi tolere edilen ajanlardan biri olarak kabul edilmektedir. Analjezik ve antiinflamatuvar etkileri yüksektir. Ağrılı ve enflamasyonlu durumların hemen hepsinde kullanılabilir. Absorbsiyonu besinler tarafından yavaşlılmakta; ancak yine de tam olarak absorbe edilmektedir (Edirne, 2007; Duman, 2007; Akıncı ve ark., 2010). Diğer NSAİ ilaçlara göre daha az sıklıkla doz verilmesini mümkün kılan uzun yarılanma ömrü nedeniyle (12-24 saat) dikkate değer ilaçlardandır (Trevor ve ark., 2010). Hem COX-1 hem de COX-2'yi benzer inhibitör konsantrasyon 50 (İK₅₀) oranında inhibe eden non-selektif bir NSAİ ilaçtır. (Duggan ve ark., 2010).

Meloksikam

Meloksikam, romatoid artrit, ankilozan spondilit ve osteoartrit tedavisinde kullanılan enolik asit türevi oksikam grubu bir NSAİ ilaçtır (Yocum ve ark., 2000; Villegas ve ark., 2000). İnflamatuvar acı üzerinde uzun süreli anti inflamatuvar ve analjezik etki göstermekte ve pirojen indüklü ateşi azaltmaktadır fakat merkezi sinir sistemine etkisi bulunmamaktadır (Engelhardt, 1996).

Meloksikamın araşidonik asit metabolizması üzerine etkisi diğer selektif olmayan NSAİ ilaçlar ile *in vitro* ve *in vivo* olarak çeşitli modellerde karşılaştırılmaktadır (Engelhardt, 1996). Kobay makrofaj intakt hayvan hücre sistemlerinde, sığır seminal veziküllerinde, sığır beyni ya da koyun plesantasından izole edilen preparasyonlarda *in vitro* olarak COX-1'den daha fazla COX-2'yi selektif olarak inhibe ettiği gösterilmektedir. *In vivo* yapılan çalışmalara göre; inflamasyonlu dokularda prostaglandin sentezini diğer NSAİ ilaçlara göre daha güçlü inhibe ederken; gastrik mukoza ve böbreklerde COX-1 aracılı PGE₂ üretimi üzerine etkisinin daha düşük olduğu bildirilmektedir (Engelhardt, 1996; Yocum ve ark., 2000; Hashmi ve ark., 2010). İlacın diğer selektif olmayan geleneksel NSAİ ilaçlara göre sahip olduğu üstün risk-fayda profilinin temeli COX-2'yi tercihli olarak inhibe etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Engelhardt, 1996; Hashmi ve ark., 2010).

Oksidatif Stres, Antioksidan Savunma ve Erkek Üreme Sisteminde Oksidatif Stres

Oksidatif stres, serbest radikaller ve reaktif oksijen türleri

Tüm hücreler normal hücresel metabolizma ürünlerinden oluşan, kimyasallardan ortaya çıkan, solunan havada ve yiyeceklerde bulunan serbest radikaller tarafından her dakika zarar görmektedirler (Mruk ve ark., 2002). Serbest radikaller bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanmaktadır (Silva ve ark., 2010; Pham-Huy ve ark., 2008; Valko ve ark., 2007; Tremellen, 2008; Doshi ve ark., 2012). Başlıca serbest radikaller olarak reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif nitrojen türleri (RNT) kabul edilmektedir. ROT, serbest radikalın dış orbitalinde eşleşmemiş bir elektron ile bir oksijen atomu bulunmasıyla karakterizedir (Silva ve ark., 2010; Pham-Huy ve ark., 2008). ROT arasında hidroksil, süperoksit, hidrojen peroksit ve lipid peroksit radikalleri sayılmaktadır (Silva ve ark., 2010; Doshi ve ark., 2012). RNT ise, yapısında oksijen ve azot bulundurmaktadır (Çaylak, 2011). Biyolojik sistemde oluşan RNT'lerin en önemlisi olan ve eşleşmemiş elektronuyla oldukça reaktif bir serbest radikal olan nitrik oksit (NO), nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla L-arjinin'den L-sitrülin oluşumu sırasında sentezlenmekte ve hücresel hasarı indükleyebilmektedir (Doshi ve ark., 2012; Silva ve ark., 2010; Valko ve ark., 2007).

Düşük seviyelerde ROT ve RNT hücresel cevap ve sinyalizasyon ve immün fonksiyonlarda yaralı etkiler ortaya koyarken, yüksek konsantrasyonlarda hücresel yapılara zarar veren oksidatif stresi oluşturmaktadırlar (Pham-Huy ve ark., 2008; Valko ve ark., 2007). Serbest radikaller, kendilerini eşleşmemiş elektronlarından kurtaracak kimyasal reaksiyonlara katılmaya çalışarak hücrelerde DNA, protein ve lipitlere zarar vermektedirler (Valko ve ark., 2007; Tremellen, 2008; Pham-

Huy ve ark., 2008; Tekcan, 2009). Serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için hücreler bunları etkisizleştiren antioksidanlar üretmektedir. Serbest radikallerin oluşum hızı ve bunların antioksidanlar tarafından etkisizleştirilme hızı arasında bir denge olması beklenmektedir. Böylece hücre serbest radikallerin olumsuz etkilerinden korunmaktadır. Eğer bu denge serbest radikaller lehine bozulursa, yani radikallerin oluşum hızında artma ya da etkisizleştirilme hızında azalma meydana gelirse hücrede serbest radikal seviyesi artmaktadır. Serbest radikallerin hücrede artarak hücre fonksiyonları üzerinde yaptıkları olumsuz etki oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır (Pham-Huy ve ark., 2008; Tekcan, 2009). Hücre doku ve organlarda artan oksidatif stres; yaşlanma, kalp hastalıkları, diyabet ve diyabet komplikasyonları, ateroskleroz, karaciğer hasarı, iskemik hasar, romatoid artrit, inflamasyon, otoimmün bozukluklar, astım ve kronik obstruktif pulmoner rahatsızlık gibi pulmoner hastalıklar, renal ve oküler hastalıklar, fetus üzerinde olumsuz etkiler, alzheimer ve parkinson gibi nörodejeneratif hastalıklar, infertilite ve hücre DNA'sına hasar vererek kanseri indükleyebilmektedir (Valko ve ark., 2007; Silva ve ark., 2010; Mruk ve ark., 2002; Pham-Huy ve ark., 2008; Doshi ve ark., 2012; Ianiski ve ark., 2012; Gupta ve ark., 2009).

Antioksidan savunma sistemi

Canlı hücrelerde bulunan protein, lipit, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya geciktirebilen maddelere antioksidanlar ve bu olay antioksidan savunma sistemi olarak tanımlanmaktadır (Çavdar ve ark. 1997). Tüm organizmalar kendilerini serbest radikaller tarafından yapılan hücre hasarı ve ölümünden koruyabilmek için antioksidan sistemler geliştirmektedirler (Mruk ve ark., 2002).

Antioksidan savunma sistemi enzimatik ve non-enzimatik olarak sınıflandırılmaktadır (Pham-Huy ve ark., 2008; Valko ve ark., 2007; Silva ve ark., 2010). Enzimatik antioksidanlar aynı zamanda doğal antioksidanlar olarak da bilinmektedir ve aşırı ROT'u etkisizleştirerek ve hücre yapılara zarar vermesini önleyerek etki göstermektedirler. Enzimatik antioksidanlar arasında katalaz, glutatyon redüktaz (GR), GPx ve SOD sayılmaktadır (Silva ve ark., 2010; Pham-Huy ve ark., 2008). Non-enzimatik antioksidanlar ise sentetik antioksidanlar veya diyet takviyeleri olarak da bilinmektedir ve başlıca GSH, β -karoten (vitamin A), askorbat (vitamin C), α -tokferol (vitamin E), keratin, ksantofil, flavonoidler, omega-3 ve omega-6 yağ asitleri, melatonin, albümin, bilirubin, ürik asit, selenyum, çinko, taurin ve hipotaurin bu gruba örnek olarak verilmektedir (Mruk ve ark., 2002; Silva ve ark., 2010; Pham-Huy ve ark., 2008; Çaylak, 2011; Kayış, 2010; Şener ve Yeğen, 2009).

SOD, endojen olarak üretilen süperoksit radikallerinin katalitik olarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalizleyen, antioksidatif reaksiyonların tam ortasında yer alan ve lipit peroksidasyonunu inhibe eden bir metalloenzimdir. (Mruk ve ark., 2002; Karadağlı, 2006; Pham-Huy ve ark., 2008; Aitken ve Roman, 2008; Pham-Huy ve ark., 2008). SOD aracılığıyla oluşan H_2O_2 bir radikal olmamasına rağmen, Fenton ve Haber Weiss reaksiyonlarıyla hidroksil radikalini meydana getirmektedir (Çaylak, 2011; Kayış, 2010). Ağırlıklı olarak peroksizomlarda ve iç mitokondriyal membranda bulunan katalaz, SOD

aracılığıyla oluşan H_2O_2 ile reaksiyona girerek onu su ve moleküler oksijene indirgemektedir (Mruk ve ark., 2002; Pham-Huy ve ark., 2008). GPX, elektron kaynağı olarak GSH kullanarak H_2O_2 'yi, GSH'ın okside formu (GSSG) ve suya indirgemektedir (Pham-Huy ve ark., 2008; Aitken ve Roman, 2008; Çaylak, 2011; Tremellen, 2008). GSH, vücutta karaciğer başta olmak üzere pek çok dokuda glutamik asit, sistein ve glisinden sentezlenen düşük molekül ağırlıklı bir tripeptiddir ve hücrede en fazla sitozol, mitokondri ve nükleusta bulunmaktadır. GSH redoks döngüsünün bir substratı olarak, hidroksil radikali ve eşleşmemiş oksijenin direkt temizleyicisidir (Çaylak, 2011; Kayış, 2010; Şener ve Yeğen, 2009; Karadağlı, 2006; Agha ve ark., 1999). Glutasyon-S-Transferaz (GST) ise çeşitli endojen ve eksojen bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu katalize etmektedir (Storey, 1996; Şener ve Yeğen, 2009).

Erkek üreme sisteminde oksidatif stres

Yapılan araştırmalarda oksidatif stres infertil erkeklerin yaklaşık olarak yarısında görülen yaygın bir patoloji olarak belirlenmektedir (Tremellen, 2008). Fertil ve infertil erkeklerde yapılan bir çalışmada; infertil hastalarda antioksidan yanıtta azalma dikkat çekmektedir (Yiğitbaşı ve ark., 2011). Yine infertil 25 hasta ile yapılan bir çalışmada; lipit peroksidasyonunun son ürünlerinden biri olan ve dolaylı olarak serbest oksijen radikallerinin yarattığı hasarın bir göstergesi olarak kabul edilen malondialdehid (MDA) düzeyi normal spermatogenez grubuna göre yüksek tespit edilmektedir (Kadıoğlu ve ark., 1998).

Spermatogenez testislerdeki semifer tubüllerde meydana gelen, saniyede 1000 sperm üretebilme kapasitesine sahip ve aktif olarak sürekli tekrarlanan bir süreçtir (Aitken ve Roman, 2008; Aktümsek, 2006). Bu süreçte meydana gelen hücre bölünmesi germinal epitelyum tarafından yüksek oranda mitokondriyal oksijen tüketimini gerektirmektedir. Ayrıca testisteki zayıf vaskülarizasyon bu dokuda oksijen miktarının düşük olmasına neden olmaktadır. Testis, fazla miktarda doymamış yağ asitlerinin ve ROT oluşturan sistemlerin varlığı nedeniyle oksidatif strese karşı duyarlıdır (Aitken ve Roman, 2008; Tekcan, 2009).

ROT'un sinyal molekülü gibi fonksiyon gösterebildiği bilinmektedir. Semende sperm ve seminal lökositler tarafından üretilmekte ve düşük seviyedeki ROT (özellikle O_2 ve H_2O_2); döllenme için hazırlık süreci (kapasitasyon), fertilizasyon, hiperaktivasyon ve akrozom reaksiyonuna NO gibi aracılık etmektedir. Düşük ROT ve NO konsantrasyonlarından doğan kabul edilebilir oksidatif koşullar spermin zona pellucida'ya bağlanmasını stimüle edebilmektedir (Tremellen, 2008; Aitken ve Roman, 2008; Yiğitbaşı ve ark., 2011; Silva ve ark., 2010; Doshi ve ark., 2012).

Diğer taraftan aşırı ROT oluşumu azalmış akrozin aktivitesine, sperm membranında doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna ve DNA kırılmalarına neden olarak normal sperm fonksiyonlarını bozabilmekte ve bozulmuş sperm-oosit füzyonuna yol açabilmektedir (Agarwal ve ark., 2006; Aitken ve Roman, 2008; Tremellen, 2008). Son dönemlerde RNT'nin sperm fonksiyonlarını ve spermin fertilizasyon yeteneğini zayıflattığı bildirilmektedir. Aşırı RNT; testiküler disfonksiyon, gonadotropik sekresyonda azalma ve anormal sperm parametrelerine sebep olarak üreme potansiyelini olumsuz olarak etkilemektedir (Doshi ve ark., 2012). Spermatozoa plazma membranının geniş çeşitlilikte çoklu

doymamış yağ asitleri içermesi ve sitoplazmasının düşük konsantrasyonda süpürücü enzim içeriğinden dolayı ROT ile indüklenmiş hasara özellikle duyalı hale gelmektedir (Agarwal ve ark., 2006). ROT, sperm membranına zarar vererek sperm hareketliliğini ve oositle birleşme yeteneğini düşürerek ve spermde DNA hatalarını indükleyerek konseptusa kusurlu paternal DNA'nın geçişine neden olarak infertiliteyi indüklemektedir (Tremellen, 2008). Oksidatif stres testisler düzeyinde ise germinal epitelyumun normal spermatozoaya farklılaşma kapasitesinin yanında leydig hücrelerinin spermatojenik kapasitesini de bozabilmektedir (Aitken ve Roman, 2008).

Erkek üreme sistemi hem enzimatik hem de non-enzimatik öğelerden oluşan antioksidanlar içermektedirler. Testislerdeki antioksidan savunma sisteminin enzimatik bileşenleri SOD, GPx, GST ve katalazdır. SOD'un testislerde sitozolik (CuZn-SOD), mitokondriyal (Mn-SOD) türlerinin yanında, germ ve özellikle sertoli hücrelerinde üretilen ekstrasellüler (EC-SOD) olmak üzere üç izoenzimi bulunmaktadır (Aitken ve Roman, 2008; Tekcan, 2009; Mruk ve ark., 2002). Bununla birlikte SOD hem spermde hem de seminal plazmada bulunmaktadır (Tremellen, 2008). Ayrıca testiste GSH'ı elektron kaynağı olarak kullanarak H₂O₂'yi suya indirgeyen çeşitli GPx izoformları da bulunmaktadır (Aitken ve Roman, 2008). GPx testiste, prostatta, seminal veziküllerde, vas deferenste, epididimiste, seminal plazmada ve spermatozoada lokalizedir (Tremellen, 2008).

Testislerin oksidatif hasara karşı korunmasında antioksidan enzimlerle birlikte küçük molekül ağırlıklı antioksidan faktörler de rol oynamaktadır. Çinkonun, SOD gibi serbest radikal süpürücü enzimlerin esas bileşeni ve sülfidril gruplarının bilinen koruyucusu olmasının yanı sıra, katalitik bölgelerden demir ve bakır gibi geçiş metallerini çıkararak lipid peroksidasyonunu azalttığı düşünülmektedir. E vitamini peroksit radikallerini yok ederek çoklu doymamış yağ asitlerini oksidasyona karşı korumaktadır ve sertoli hücrelerinde ve pakiten spermatositlerde özellikle yüksek miktarlarda ve yuvarlak spermatidlerde ise daha az miktarlarda bulunmaktadır. C vitamini sulu fazda ROT'un en önemli süpürücülerindendir ve alfa-tokoferolü indirgeyerek bu antioksidanı aktif durumda tutabilmesi ile spermatogenezin desteklenmesine katkı sağlamaktadır. C ve E vitamini eksiklikleri, testislerde hem spermatogenezi hem testosteron üretimini aksatan bir oksidatif stres durumuna öncülük etmektedir. Pineal bezden salıverilen melatonin testislerin oksidatif strese karşı korunmasında önemli rol oynamaktadır. Sitokrom c'nin testislere özgü izoformu ise H₂O₂'nin indirgenmesinde önemli rol oynamasının yanında apoptozun indükleyerek hasarlı germ hücrelerinin yok edilmesini sağlayarak testislere ilave koruma sağlamaktadır (Aitken ve Roman, 2008; Tekcan, 2009).

Testislerdeki spermatogenezi ve sperm üretimini desteklemek üzere sağlanan antioksidan korumaya karşın, geniş çeşitlilikte endojen ve ekzojen faktörün bu savunmayı aşarak oksidatif stres oluşturdıkları bilinmektedir. Bu faktörler arasında kriptorşidizm, testiküler torsiyon, varikosel, hipertiroidi, diyabet gibi kronik hastalıklar, infeksiyon, aşırı egzersiz, üreme hormonlarının dengesizliği, restinoidler, ksenebiyotikler, sigara, aşırı alkol, beslenme bozuklukları, psikolojik stres, kurşun, kadmiyum, uranyum gibi ağır metallerle endüstriyel ve çevresel toksik maddeler sayılabilmektedir (Aitken ve Roman, 2008; Tremellen, 2008).

GEREÇLER

Kullanılan Hayvanlar

Deneylerde yaklaşık 300-350 g ağırlığında yetişkin erkek Wistar sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar, çalışma ortamına uyum sağlamaları için deney başlangıcından bir hafta önce laboratuvara alınarak 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünde, 24 ± 1 °C sıcaklıktaki iyi havalandırılan odalarda barındırıldı, standart hayvan yemi ve çeşme suyu ile beslenmeleri sağlandı. Tez çalışması süresince gerçekleştirilen tüm deneyler, Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik Komisyonu'ndan onay alındıktan sonra yapıldı (Dosya Kayıt No. 2012-14).

Kullanılan Cihazlar

Elisa okuyucu	Biotek Power Wave XS
Hassas Terazi	Ohaus
Homojenizatör	Heidolp SilentCrusher M
İnkübatör	Lab. Companion S1-600
Inverted mikroskop	Lecia DMIL
Makler kamerası	Sefi-Medical Instruments,
pH metre	İno Lab
Soğutmalı santrifüj	Eppendorf (5810R)
Su Banyosu	Bamdelin Sonorex
Vorteks	Heidolp REAX control

Kullanılan Kimyasal Madde ve Kitler

COX-1 Kiti (Rat için)	Cusabio, Çin
COX-2 Kiti (Rat için)	Cusabio, Çin
FSH Kiti (Rat için)	Cusabio, Çin
Glutasyon Kiti (Rat için)	Cayman, ABD
Katalaz Kiti (Rat için)	Cayman, ABD
Ketamin (Ketalar®)	Pfizer, Türkiye
Ksilazin (Rompun®)	Bayer, Türkiye
LH Kiti (Rat için)	Cusabio, Çin
Meloksikam	Sun Pharmaceutical Industries, Hindistan
Naproksen sodium	Zhejiang Charioteer Pharmaceutical, Çin
PGE ₁ Kiti (Rat için)	Cusabio, Çin
PGE ₂ Kiti (Rat için)	Enzo, ABD

PGF2 α Kiti (Rat için)	Cusabio, Çin
Potasyum bifosfat (KH ₂ PO ₄) (100gr'lık)	Merck, Almanya
Potasyum klorür (KCl)	Sigma-Aldrich, ABD
SOD Kiti (Rat için)	Cayman, ABD
Sodyum bifosfat (Na ₂ HPO ₄) (100gr'lık)	Merck, Almanya
Sodyum klorür (NaCl)	Sigma-Aldrich, ABD
Testeosteron Kiti (Rat için)	Cusabio, Çin

YÖNTEMLER

Deney grupları 10'ar adet erkek sıçandan oluşturuldu. Naproksen sodyum ve meloksikam uygulanan gruplara ajanların distile su içinde hazırlanan çözeltileri, naproksen sodyum için 10 mg/kg dozda ve meloksikam için 1 mg/kg dozda 1 ml/100 g hacim olacak şekilde 35 gün süre ile oral olarak uygulandı. Kontrol grubuna ise eşit hacimde (1 ml/100 g) 35 gün süre ile distile su oral olarak uygulandı. Meloksikam (Bertaim ve ark., 2013) ve naproksen sodyumun (Pina ve ark., 2007) dozları yapılan diğer çalışmalara uygun olarak belirlendi.

Grup 1: 35 gün süre ile oral olarak 1 ml/100 g hacimde distile su uygulanan kontrol grubu sıçanlar (10 adet) (K)

Grup 2: 35 gün süre ile oral olarak 10 mg/kg dozda naproksen sodyum uygulanan sıçanlar (10 adet) (N)

Grup 3: 35 gün süre ile oral olarak 1 mg/kg dozda meloksikam uygulanan sıçanlar (10 adet) (M)

35 günlük uygulama süresini takip eden 6-18 saatlik sürede deney gruplarına aşağıda belirtilen deney protokolü uygulandı.

Deney protokolü

1. Deney gruplarını oluşturan sıçanlara 35 günlük uygulama süresi sonunda intraperitoneal olarak 60 mg/kg ketamin ve 5 mg/kg ksilazin anestezisi uygulandı.
2. Anestezi altında sıçanların kalp sağ ventrikül dokusundan enjektör yardımıyla hormonal analizler (FSH, LH ve testosteron) için kan örnekleri toplandı.
3. Jelli tüplere toplanan kan örnekleri 2-8°C'de 1000 $\times$ g' de 15 dk santrifüj edilerek plazma örnekleri hazırlandı. Plazmada hormonal analiz ticari kitler ile belirtilen deney protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi.

Testosteron (Cusabio Biotech Rat Testosterone (T) ELISA Kit, Çin), LH (Cusabio Biotech Rat Luteotropic Hormone (LH) ELISA Kit, Çin) ve FSH (Cusabio Biotech Rat Folicle-stimulating Hormone (FSH) ELISA Kit, Çin) seviyeleri ilgili kitlerin üreticisi tarafından belirlenen deney prosedürüne göre tespit edildi.

4. Sıçanların testis dokuları çıkarılıp fosfat tamponu çözeltisinde (NaCl: 8 g, KCl: 0.2 g, KH₂PO₄: 0.2 g, Na₂HPO₄: 1.14 g tartılarak 1L distile su içinde çözündürüldü ve pH' sı 7.4' e ayarlandı) kan ve diğer kirliliklerden temizlenmesi sağlandıktan sonra eşit parçalara ayrılarak sıvı azotta dondurulup -20°C'de saklandı. Testis dokularında COX-1, COX-2, PGE₁, PGE₂, PGF_{2 α} , katalaz, SOD, GPx ve GSH analizleri, ticari kitler ile belirlenen deney protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi.

Katalaz (Cayman Chemical Company Catalase Assay Kit, ABD), glutatyon (Cayman Chemical Company Glutathione Assay Kit, ABD), GST (Cayman Chemical Company Glutathione S-Transferase Assay Kit, ABD), SOD (Cayman Chemical Company Superoxide Dismutase Assay Kit, ABD), COX-1 (Cusabio Biotech Rat Cyclooxygenase-1 (COX-1) ELISA Kit, Çin), COX-2 (Cusabio Biotech Rat Cyclooxygenase-2 (COX-2) ELISA Kit, Çin), PGE₁ (Cusabio Biotech Rat Prostaglandin E1 (PG-E1) ELISA Kit, Çin), PGE₂ (Enzo PGE₂ EIA

Kit, ABD) ve PGF_{2α} (Cusabio Biotech Rat Prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) ELISA Kit, Çin) seviyeleri ilgili kitlerin üreticisi tarafından belirlenen deney prosedürüne göre tespit edildi.

5. Histopatolojik inceleme için gruplara ait testis örneklerinin % 10'luk formalin fiksatifinde 48 saat süre ile fiksasyonları sağlandı. Fiksasyonları sağlanan örnekler fiksatifin çökmesini engellemek amacıyla 3-4 saat çeşme suyunda yıkandı. Çeşme suyuyla yıkanan doku parçaları daha sonra sırasıyla kademeli olarak % 70'lik, % 80'lik, % 90'lık ve % 96'lık alkol serilerinde 45'er dk bekletilerek dehidratasyonları sağlandı. Dehidratasyonlarının ardından örnekler şeffaflandırılmak üzere 2 kez 20'er dk ksilolde bekletildi. Örnekler şeffaflandırılmasının ardından etüv içinde 65 °C'de eritilmiş parafinlere alınarak 60 dk süreyle üç ayrı parafinde bekletildi. Parafinize edilen dokular ayrı ayrı parafin içeren kasetlere gömülerek bloklandı ve kesit alınmaya hazır duruma getirildi. Parafin bloklardan kesitlerin alınmasında kullanılacak mikrotom bıçağı buzdolabında soğutularak, mikrotom aracılığı ile her bir örnekten 5'er µm kalınlığında doku kesitleri alındı. Kesitlerin 45°C'de su banyosunda açılmaları sağlanarak temiz lamalar üzerine alınmasından sonra etüv içinde 1 saat süre ile bekletilmeleri sağlandı. Preparatlar 1'er saat süre ile iki ayrı ksilolde tutulup deparafinizasyonları sağlandıktan sonra boyama aşamasına geçildi. Kesitlerin boyanmasında hematoksilin-eosin ikili boyası kullanıldı. Deparafinizasyonu yapılmış olan doku kesitleri 5'er dk süreyle % 96, % 90, % 80, % 70'lik alkollerde ve distile suda bekletildi. Kesitler hematoksilin ile 2 dk ve eosin ile 10 dk boyandı. Çeşme suyu ile fazla boyası alınan kesitler hızla alkol serilerinden geçirilip dehidratasyonları sağlandı. Dokular iki ayrı ksilolde 30'ar dk tutularak şeffaflandırıldı ve şeffaflanan dokular daha sonra entellan ile kapatılarak ışık mikroskopik düzeyde Olympus BH-2 mikroskop ile değerlendirmeleri yapıp doku örnekleri içeren tüm preparatların Olympus DP-70 digital kamera ile fotoğrafları çekildi.

6. Sperm sayısını belirlemek amacı ile gruplara ait tüm epididimis dokusu ve sperm motilitesini belirlemek için epididimisin kauda kısmı çıkarıldı.

Sperm sayımı

Epididimisler oda ısısında tartılarak fosfat tampon çözeltisinde (NaCl: 8 g, KCl: 0.2 g, KH₂PO₄: 0.2 g, Na₂HPO₄: 1.14 g tartılarak 1L distile su içinde çözündürüldü ve pH' sı 7.4' e ayarlandı) anatomik makasla parçalandı. 10 dk vortekslelendikten sonra oda ısısında 2 dk bekletildi. 50 µl' si alınıp makler kamerasında sperm sayımları yapıldı.

Sperm motilite değerlendirilmesi

Motilite değerlendirilmesinin tüm aşaması 37 °C'de gerçekleştirildi. Kauda % 1 oranında bovin albumin içeren fosfat tamponu (NaCl: 8 g, KCl: 0.2 g, KH₂PO₄: 0.2 g, Na₂HPO₄: 1.14 g tartılarak 1L distile su içinde çözündürüldü ve pH' sı 7.4' e ayarlandı, 1L için 10g bovin albümin ilave edildi) içerisinde spermilerin açığa çıkması için parçalandı. 10 µl' si alınıp hemositometre ile hareketli ve toplam sperm sayıları belirlendi. Değerler % motilitenin hesaplanması için kullanıldı.

İstatistiksel Analiz

Değerlendirilen tüm parametreler ortalama $\pm$ standart sapma şeklinde sunuldu. Kontrol ve deney gruplarındaki tüm verilerin istatistiksel değerlendirmesi SigmaPlot v.10 paket programı ile One-way ANOVA kullanılarak gerçekleştirildi. Post-hoc testi olarak Tukey testi kullanıldı ve $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

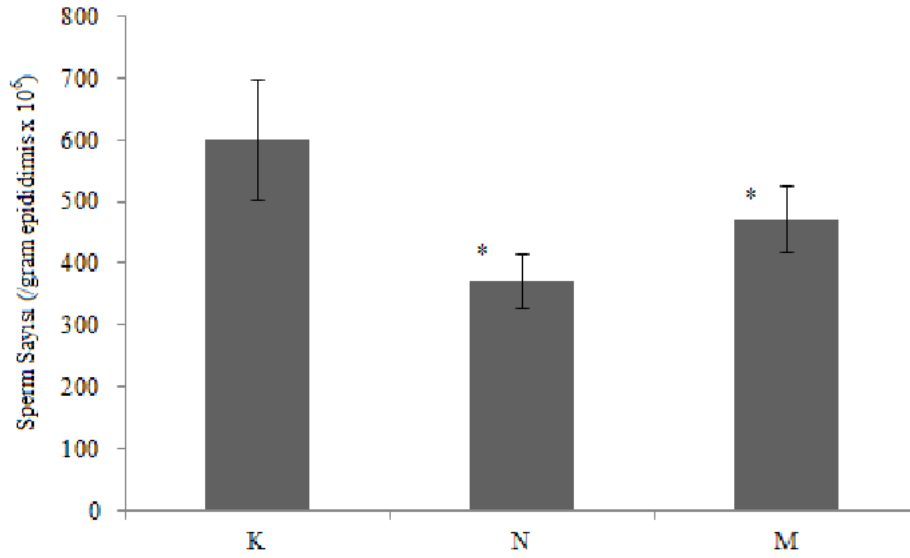
BULGULAR ve TARTIŞMA

Bulgular

Sperm Parametreleri

Sperm sayısı

Sperm sayıları açısından gruplar karşılaştırıldığında, naproksen sodyum ve meloksikam uygulanan gruplarda sperm sayılarının kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı gözlemlendi. Uygulama grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi (**Şekil 4**).



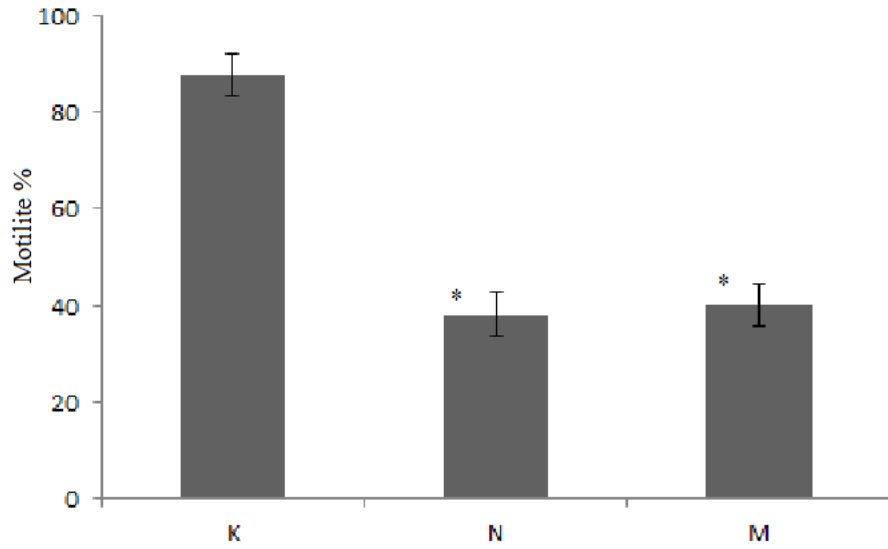
Şekil 4. Gruplara Ait Sperm Sayısı

Kısaltmalar: K: 35 gün süre ile eşit hacimde distile su uygulanan grup; N: 35 gün süre ile 10 mg/kg naproksen sodyum uygulanan grup; M: 35 gün süre ile 1 mg/kg meloksikam uygulanan grup.

Sonuçlar ortalama ±standart sapma olarak verilmiştir. (*) Kontrolde farklı ($p \leq 0.05$)

1.2. Sperm motilitesi

Sperm motilitesi açısından gruplar karşılaştırıldığında, naproksen sodyum ve meloksikam uygulanan gruplarda sperm motilitelerinin yüzde (%) olarak ifadesinin kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı gözlemlendi. Uygulama grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi (**Şekil 5**).



Şekil 5. Gruplara Ait % Sperm Motilitesi

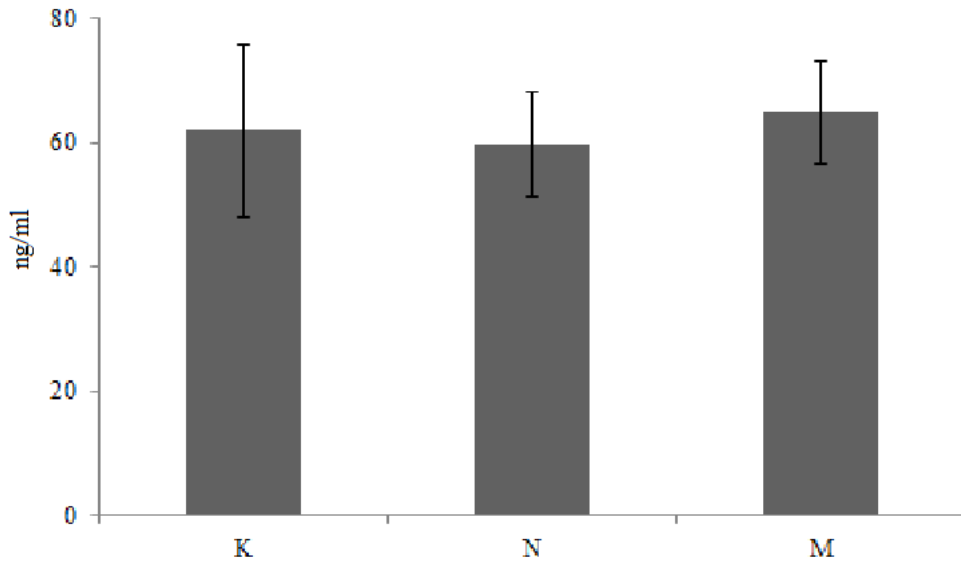
Kısaltmalar: K: 35 gün süre ile eşit hacimde distile su uygulanan grup; N: 35 gün süre ile 10 mg/kg naproksen sodyum uygulanan grup; M: 35 gün süre ile 1 mg/kg meloksikam uygulanan grup.

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. (*) Kontrolde farklı ($p \leq 0.05$)

Plazma Hormon Seviyeleri

Plazma FSH seviyesi

Plazma FSH seviyeleri açısından naproksen sodyum ve meloksikam uygulanan gruplarda uygulama sonrasında kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı plazma FSH değerleri elde edildi. Uygulama grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 6).

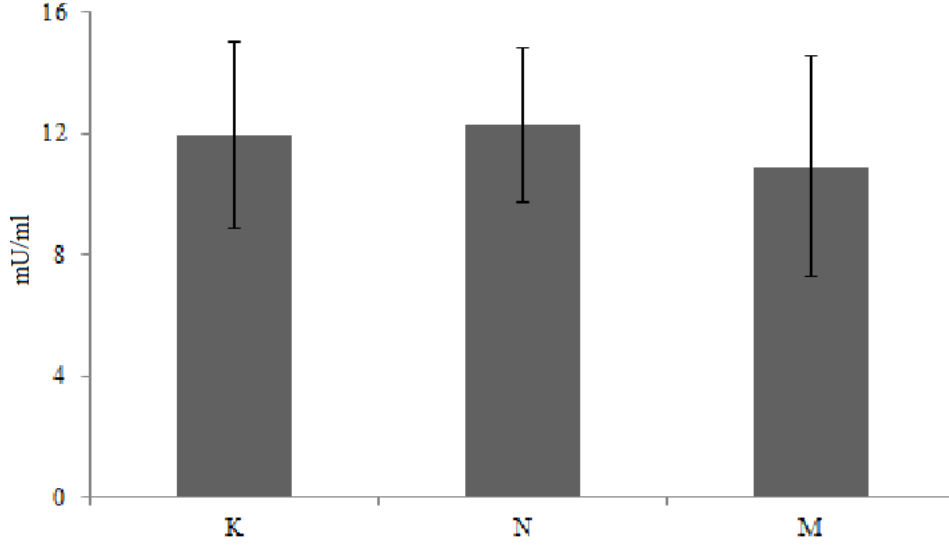


Şekil 6. Gruplara Ait Plazma FSH Seviyesi

Kısaltmalar: K: 35 gün süre ile eşit hacimde distile su uygulanan grup; N: 35 gün süre ile 10 mg/kg naproksen sodyum uygulanan grup; M: 35 gün süre ile 1 mg/kg meloksikam uygulanan grup.

Plazma LH seviyesi

Plazma LH seviyeleri açısından naproksen sodyum ve meloksikam uygulanan gruplarda uygulama sonrasında kontrol grubundan istatistiksel olarak farksız plazma LH değerleri elde edildi. Uygulama grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 7).

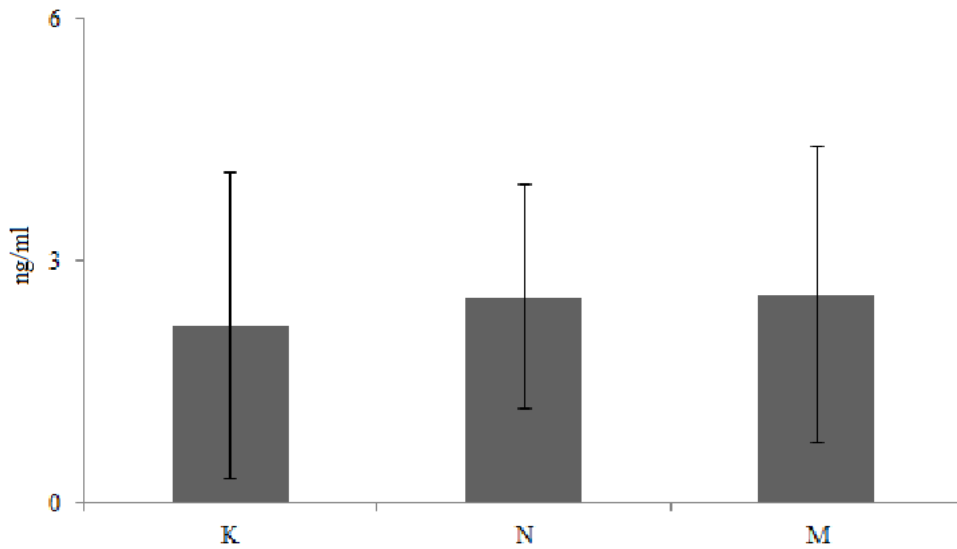


Şekil 7. Gruplara Ait Plazma LH Seviyesi

Kısaltmalar: K: 35 gün süre ile eşit hacimde distile su uygulanan grup; N: 35 gün süre ile 10 mg/kg naproksen sodyum uygulanan grup; M: 35 gün süre ile 1 mg/kg meloksikam uygulanan grup.

Plazma testosteron seviyesi

Plazma testosteron seviyeleri açısından naproksen sodyum ve meloksikam uygulanan gruplarda uygulama sonrasında kontrol grubundan istatistiksel olarak farksız testosteron değerleri elde edildi. Uygulama grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 8).



Şekil 8. Gruplara Ait Plazma Testosteron Seviyesi

Kısaltmalar: K: 35 gün süre ile eşit hacimde distile su uygulanan grup; N: 35 gün süre ile 10 mg/kg naproksen sodyum uygulanan grup; M: 35 gün süre ile 1 mg/kg meloksikam uygulanan grup.

Gruplara ait plazma FSH, LH ve testosteron seviyeleri **çizelge 3’de** sunulmaktadır.

Çizelge 3. Gruplara Ait FSH, LH ve Testosteron Değerleri

	Kontrol	Naproksen	Meloksikam
FSH (ng/ml)	61.94 ±13.92	59.80 ±8.44	64.89 ±8.35
LH (mU/ml)	11.96 ±3.06	12.28 ±2.53	10.92 ±3.66
Testosteron (ng/ml)	2.20 ±1.91	2.56 ±1.39	2.58 ±1.84

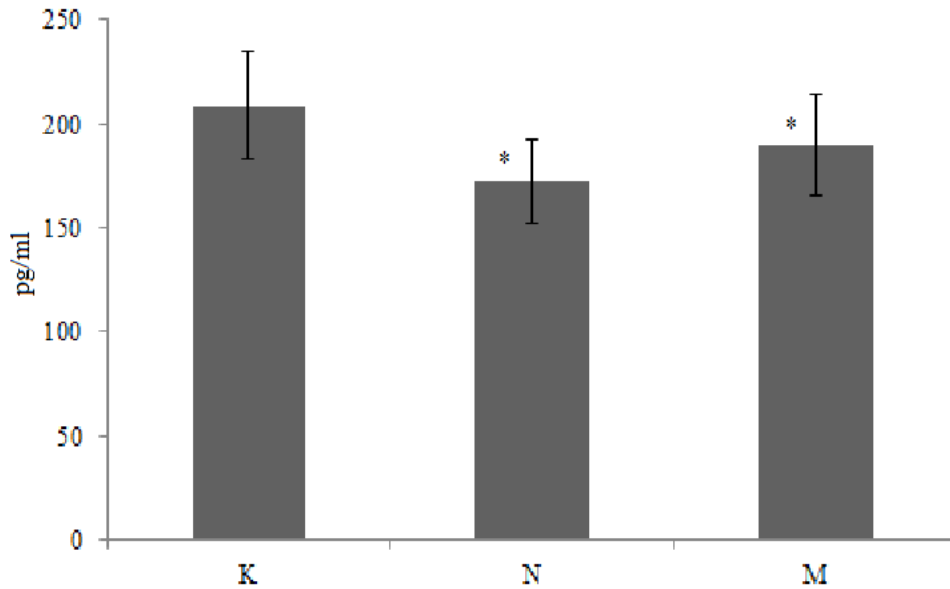
Kısaltmalar: FSH: Folikül stimüle edici hormon; LH: Luteinleştirici hormon

Sonuçlar ortalama ±standart sapma olarak verilmiştir.

Testis dokusunda COX enzim seviyeleri

Testis dokusunda COX-1 enzim seviyesi

COX-1 enzim seviyeleri açısından gruplar karşılaştırıldığında, naproksen sodyum ve meloksikam uygulaması ile testis dokularında COX-1 seviyesinin kontrol grubuna oranla anlamlı olarak azaldığı belirlendi. Uygulama grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (**Şekil 9**).



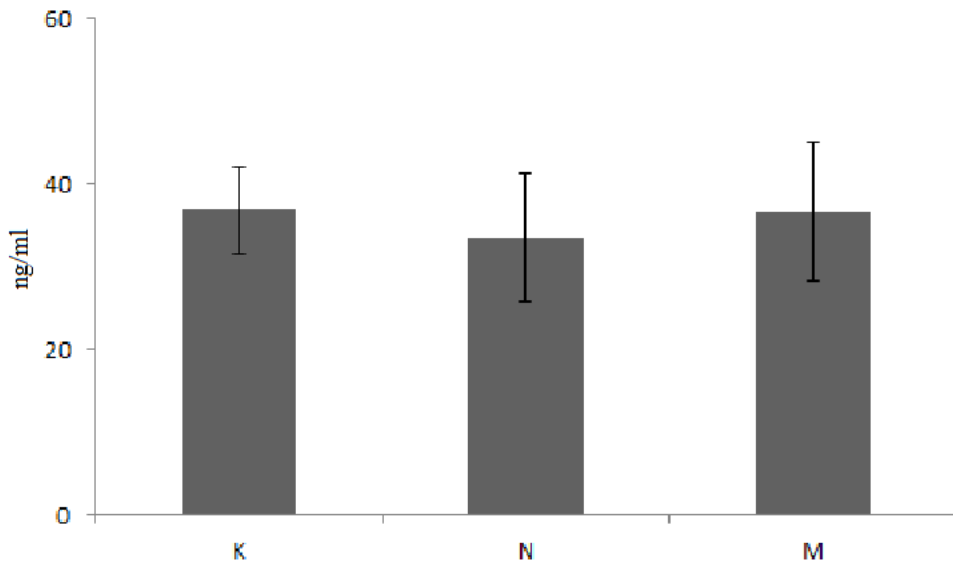
Şekil 9. Gruplara Ait Testis Dokusunda COX-1 Seviyeleri

Kısaltmalar: K: 35 gün süre ile eşit hacimde distile su uygulanan grup; N: 35 gün süre ile 10 mg/kg naproksen sodyum uygulanan grup; M: 35 gün süre ile 1 mg/kg meloksikam uygulanan grup.

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. (*) Kontrolten farklı ($p \leq 0.05$)

Testis dokusunda COX-2 enzim seviyesi

COX-2 enzim seviyeleri açısından gruplar karşılaştırıldığında, naproksen sodyum uygulanan grupta testis dokusunda kontrol grubuna oranla azalan COX-2 seviyeleri elde edildi ancak bu farklılık istatistiksel açıdan anlamlı olarak değerlendirilmedi. Meloksikam uygulanan grupta ise testis dokusunda kontrol grubundan istatistiksel olarak farksız COX-2 seviyesi gözlemlendi. Uygulama grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi (Şekil 10).



Şekil 10. Gruplara Ait Testis Dokusunda COX-2 Seviyeleri

Kısaltmalar: K: 35 gün süre ile eşit hacimde distile su uygulanan grup; N: 35 gün süre ile 10 mg/kg naproksen sodyum uygulanan grup; M: 35 gün süre ile 1 mg/kg meloksikam uygulanan grup.

Gruplara ait testis dokusundaki COX-1 ve COX-2 seviyeleri çizelge 4'te sunulmaktadır.

Çizelge 4. Gruplara Ait COX-1 ve COX-2 Değerleri

	Kontrol	Naproksen	Meloksikam
COX-1	208.69 $\pm$ 26.11	171.95 $\pm$ 18.01 (*)	189.56 $\pm$ 21.23 (*)
COX-2	36.81 $\pm$ 5.16	33.48 $\pm$ 7.72	36.71 $\pm$ 8.42

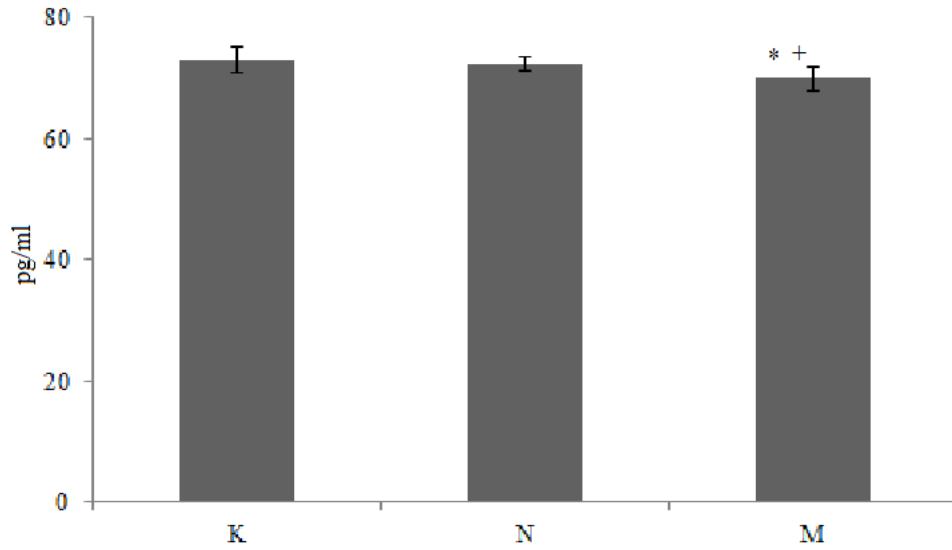
Kısaltmalar: COX-1: Siklooksijenaz-1 enzimi; COX-2: Siklooksijenaz-2 enzimi

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. (*) Kontrolten farklı $p \leq 0.05$

Testis dokusunda prostaglandin seviyeleri

Testis dokusunda PGE₁ seviyesi

Kontrol grubuna göre testis dokusunda PGE₁ seviyesi naproksen sodyum ve meloksikam uygulaması ile azaldı ancak bu farklılık sadece meloksikam grubunda istatistiksel açıdan anlamlı olarak değerlendirildi. Uygulama grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise meloksikam uygulanan grupta naproksen sodyum uygulanan gruba oranla anlamlı derecede azalan PGE₁ seviyesi elde edildi (Şekil 11).



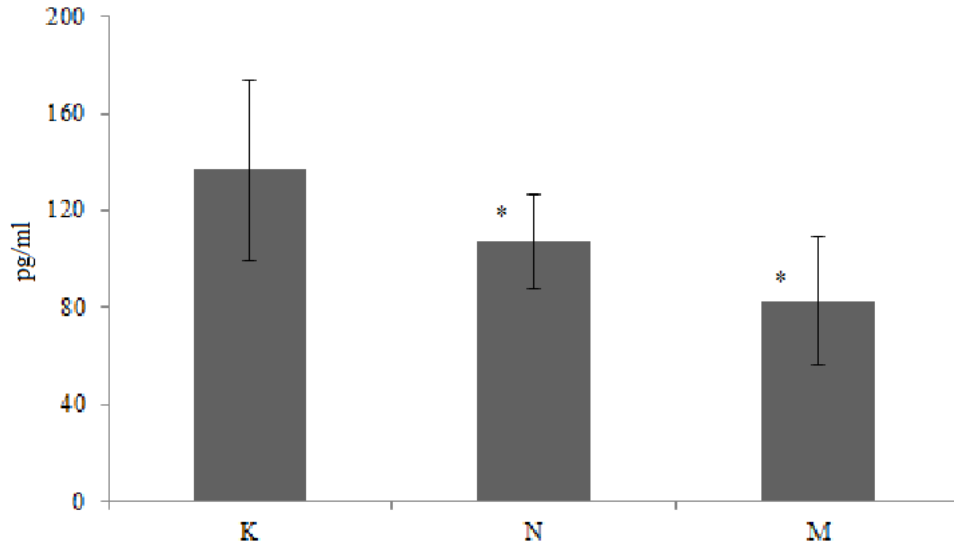
Şekil 11. Gruplara Ait Testis Dokusunda PGE₁ Seviyeleri

Kısaltmalar: K: 35 gün süre ile eşit hacimde distile su uygulanan grup; N: 35 gün süre ile 10 mg/kg naproksen sodyum uygulanan grup; M: 35 gün süre ile 1 mg/kg meloksikam uygulanan grup.

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. (*) Kontrollden farklı; (+) Naproksen sodyumdan farklı ($p \leq 0.05$)

Testis dokusunda PGE₂ seviyesi

Testis dokusunda PGE₂ seviyesi açısından gruplar karşılaştırıldığında kontrol grubuna oranla naproksen sodyum ve meloksikam uygulaması ile PGE₂ seviyesinin azaldığı gözlemlendi. Uygulama grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 12).



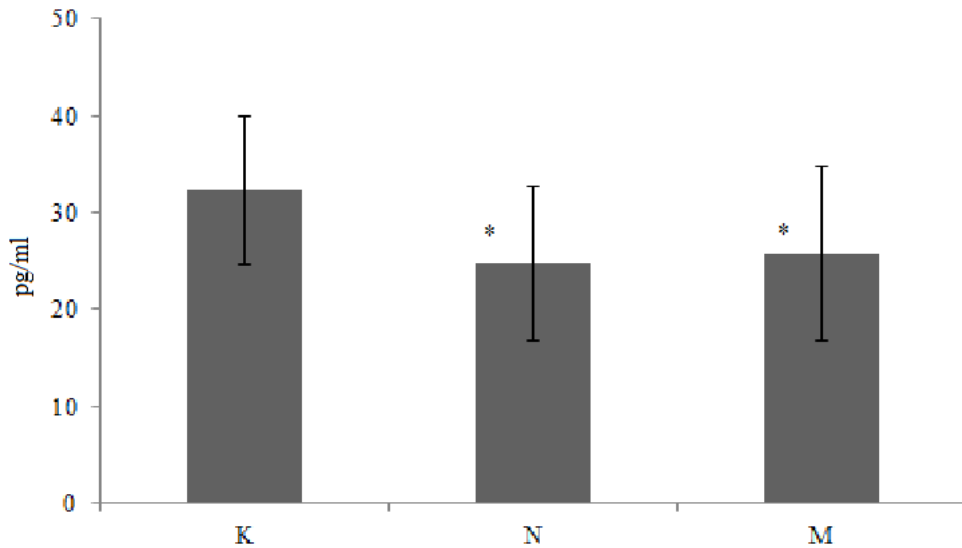
Şekil 12. Gruplara Ait Testis Dokusunda PGE₂ Seviyeleri

Kısaltmalar: K: 35 gün süre ile eşit hacimde distile su uygulanan grup; N: 35 gün süre ile 10 mg/kg naproksen sodyum uygulanan grup; M: 35 gün süre ile 1 mg/kg meloksikam uygulanan grup.

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. (*) Kontrolde farklı ($p \leq 0.05$)

Testis dokusunda PGF_{2 α} seviyesi

Testis dokusundaki PGF_{2 α} seviyesi açısından gruplar karşılaştırıldığında kontrol grubuna oranla naproksen sodyum ve meloksikam uygulaması ile PGE_{F2 α} seviyesinin azaldığı gözlemlendi. Uygulama grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 13).



Şekil 13. Gruplara Ait Testis Dokusunda PGF_{2 α} Seviyeleri

Kısaltmalar: K: 35 gün süre ile eşit hacimde distile su uygulanan grup; N: 35 gün süre ile 10 mg/kg naproksen sodyum uygulanan grup; M: 35 gün süre ile 1 mg/kg meloksikam uygulanan grup.

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. (*) Kontrolde farklı ($p \leq 0.05$)

Gruplara ait PGE₁, PGE₂ ve PGF_{2 α} seviyeleri **çizelge 5**'te sunulmaktadır.

Çizelge 5. Gruplara Ait PGE₁, PGE₂ ve PGF_{2 α} Değerleri

	Kontrol	Naproksen	Meloksikam
PGE₁ (pg/ml)	73.01 ± 2.09	72.32 ± 1.06	69.83 ± 1.89 (* +)
PGE₂ (pg/ml)	136.67 ± 32.82	107.18 ± 18.61 (*)	82.59 ± 23.31 (*)
PGF_{2α} (pg/ml)	32.96 ± 6.14	24.32 ± 3.76 (*)	25.76 ± 4.97 (*)

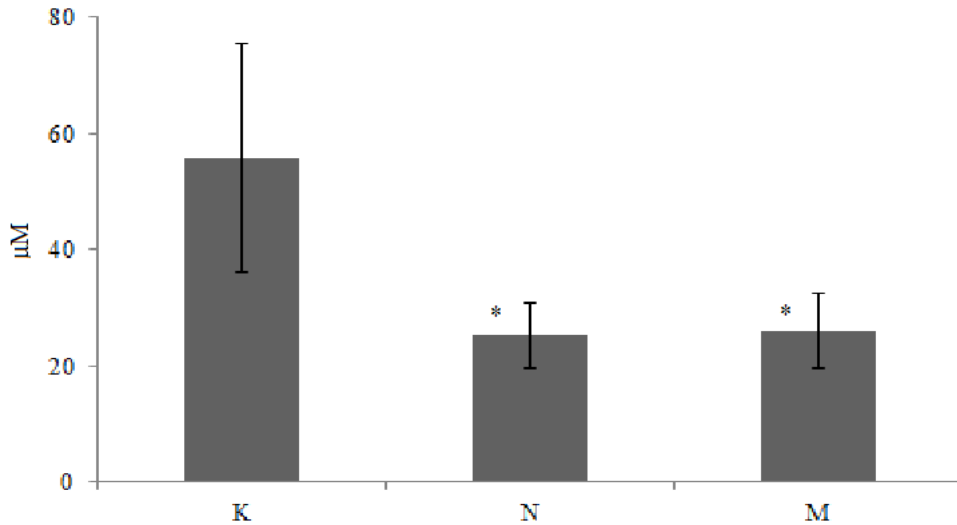
Kısaltmalar: PGE₁: Prostaglandin E₁; PGE₂: Prostaglandin E₂; PGF_{2 α} : Prostaglandin F_{2 α}

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. (*) Kontrolde farklı ($p \leq 0.05$); (+) Naproksen sodyumdan farklı ($p \leq 0.05$)

Testis dokusunda antioksidan enzim seviyeleri

Testis dokusunda GSH seviyesi

Gruplar, testis dokusu GSH seviyesi açısından karşılaştırıldığında naproksen sodyum ve meloksikam uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak azalan GSH seviyeleri elde edildi. Uygulama grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (**Şekil 14**).



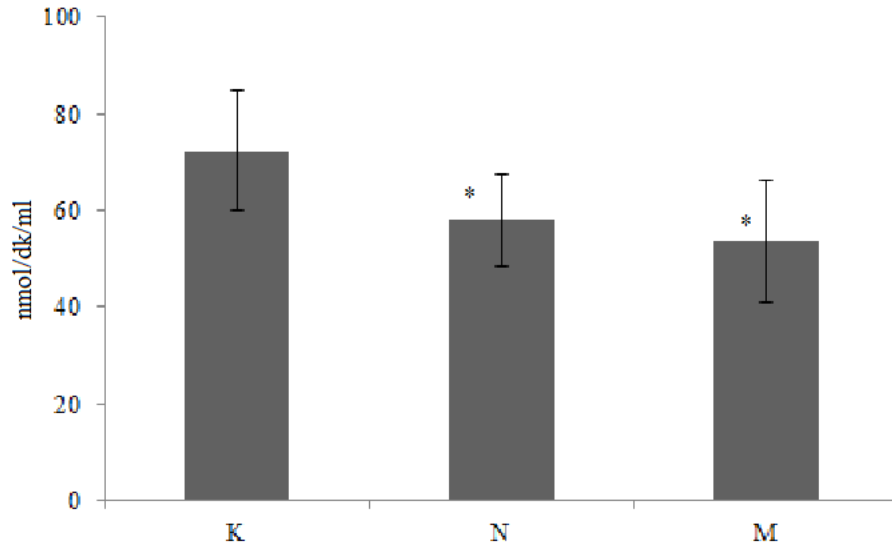
Şekil 14. Gruplara Ait Testis Dokusunda GSH Seviyeleri

Kısaltmalar: K: 35 gün süre ile eşit hacimde distile su uygulanan grup; N: 35 gün süre ile 10 mg/kg naproksen sodyum uygulanan grup; M: 35 gün süre ile 1 mg/kg meloksikam uygulanan grup.

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. (*) Kontrolde farklı ($p \leq 0.05$)

Testis dokusunda katalaz seviyesi

Gruplar, testis dokusu katalaz seviyesi açısından karşılaştırıldığında naproksen sodyum ve meloksikam uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak azalan katalaz seviyeleri elde edildi. Uygulama grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 15).



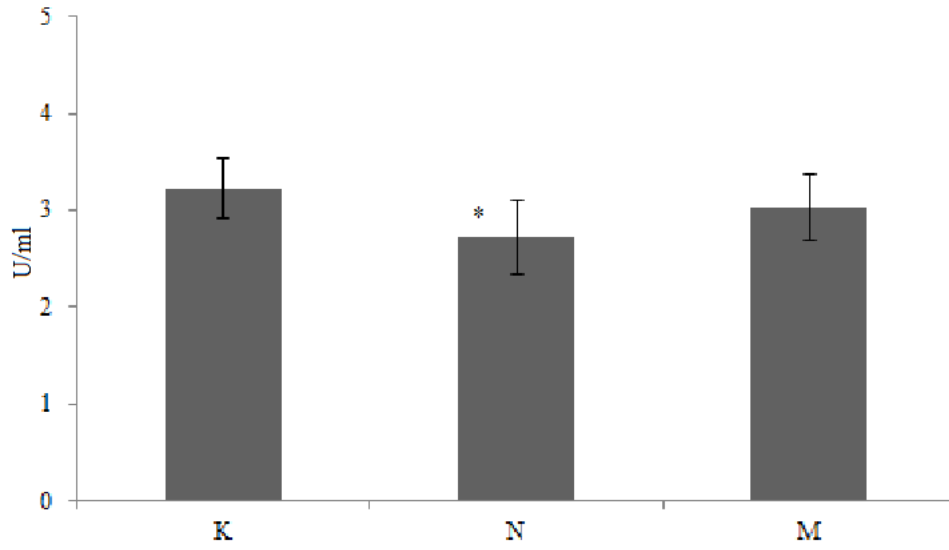
Şekil 15. Gruplara Ait Testis Dokusunda Katalaz Seviyeleri

Kısaltmalar: K: 35 gün süre ile eşit hacimde distile su uygulanan grup; N: 35 gün süre ile 10 mg/kg naproksen sodyum uygulanan grup; M: 35 gün süre ile 1 mg/kg meloksikam uygulanan grup.

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. (*) Kontrolde farklı ($p \leq 0.05$)

Testis dokusunda SOD seviyesi

Gruplar, testis dokusundaki SOD seviyesi açısından karşılaştırıldığında naproksen sodyum uygulanan grupta kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak azalan süperoksit dismutaz seviyeleri elde edildi. Uygulama grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 16).



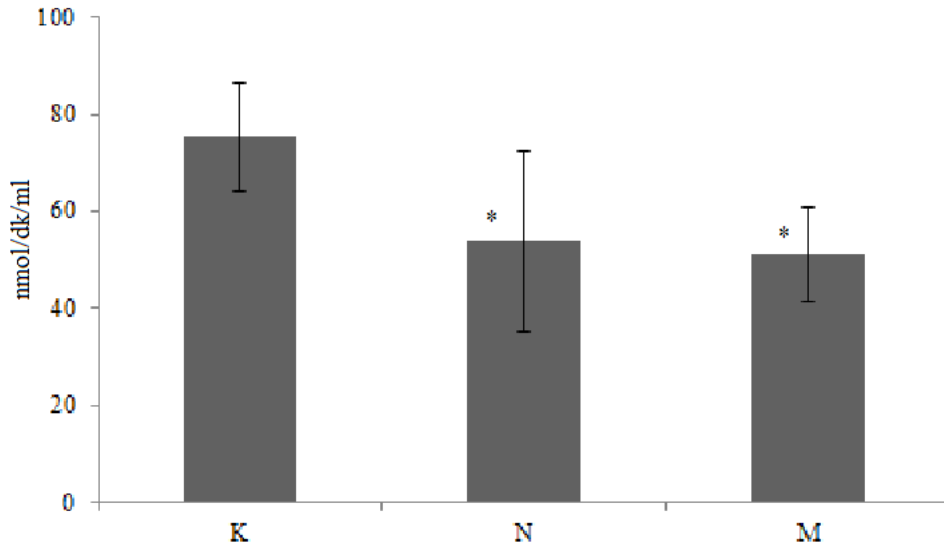
Şekil 16. Gruplara Ait Testis Dokusunda SOD Seviyeleri

Kısaltmalar: K: 35 gün süre ile eşit hacimde distile su uygulanan grup; N: 35 gün süre ile 10 mg/kg naproksen sodyum uygulanan grup; M: 35 gün süre ile 1 mg/kg meloksikam uygulanan grup.

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. (*) Kontrolde farklı ($p \leq 0.05$)

Testis dokusunda GPx seviyesi

Gruplar, testis dokusundaki GPx seviyesi açısından karşılaştırıldığında naproksen sodyum ve meloksikam uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre istatistiksel açıdan anlamlı olarak azalan GPx seviyeleri elde edildi. Uygulama grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi (Şekil 17).



Şekil 17. Gruplara Ait Testis Dokusunda GPx Seviyeleri

Kısaltmalar: K: 35 gün süre ile eşit hacimde distile su uygulanan grup; N: 35 gün süre ile 10 mg/kg naproksen sodyum uygulanan grup; M: 35 gün süre ile 1 mg/kg meloksikam uygulanan grup.

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. (*) Kontrolde farklı ($p \leq 0.05$)

Gruplara ait GSH, katalaz, SOD ve GPx seviyeleri **çizelge 6'**da sunulmaktadır.

Çizelge 6. Gruplara Ait GSH, katalaz, SOD ve GPx Aktivite Sonuçları

	Kontrol	Naproksen	Meloksikam
GSH (μ M)	55.67 ± 19.75	25.22 ± 5.69 (*)	25.96 ± 6.51 (*)
Katalaz (nmol/dk/ml)	72.33 ± 12.52	58.02 ± 8.4 (*)	53.70 ± 11.9 (*)
SOD (U/ml)	3.22 ± 0.31	2.72 ± 0.37 (*)	3.03 ± 0.28
GPx (nmol/dk/ml)	75.32 ± 10.3	53.85 ± 17.24 (*)	50.94 ± 9.72 (*)

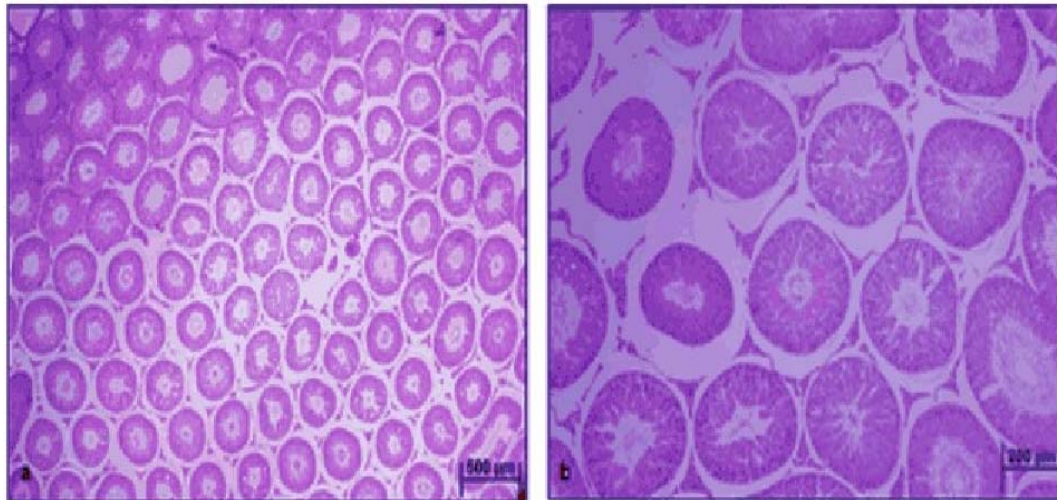
Kısaltmalar: GSH: Glutasyon; SOD: Süperoksit dismutaz; GPx: Glutasyon peroksidaz

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. (*) Kontrolde farklı $p \leq 0.05$

Testis dokusu histopatolojik analiz sonuçları

Kontrol grubuna ait testis dokusu histopatolojik analiz sonucu

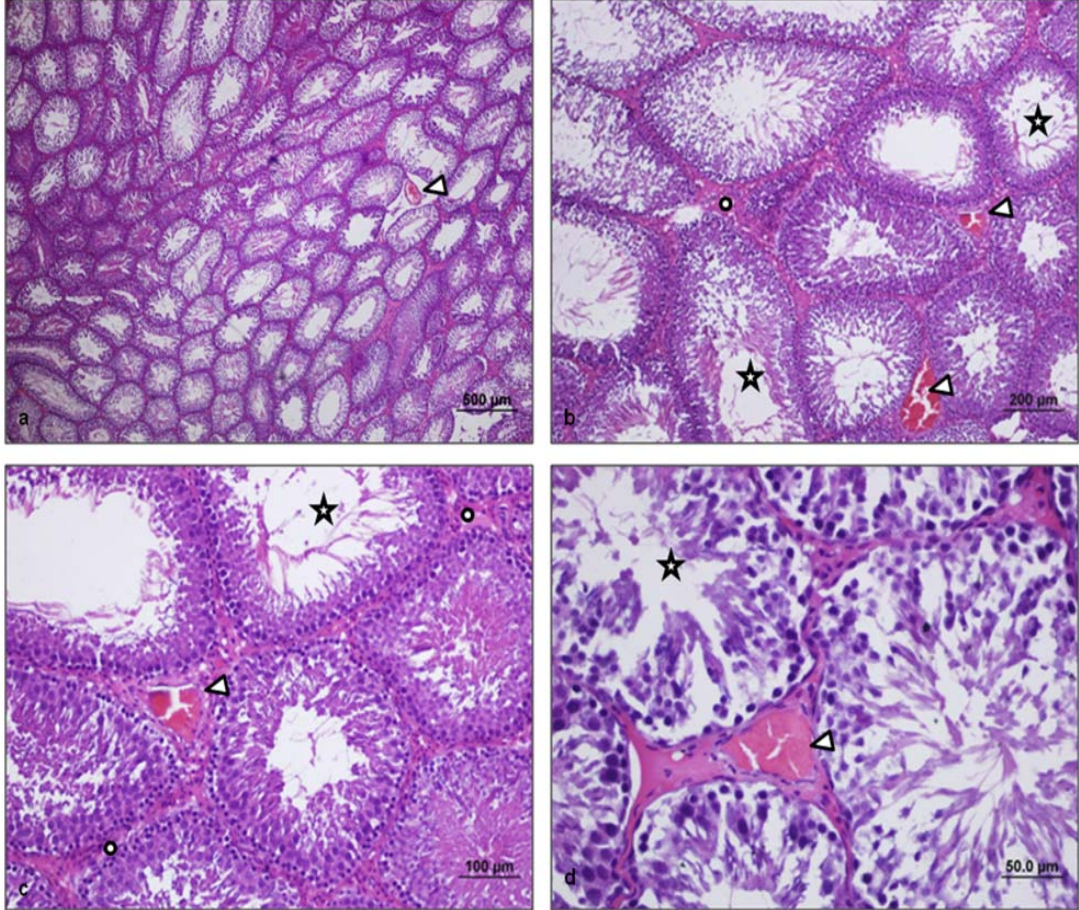
Kontrol grubuna ait sıçan testislerinin ışık mikroskopik incelemesinde; normal seminifer tübül yapıları izlenmektedir (**Şekil 18**).



Şekil 18. Kontrol Grubuna Ait Testis Histopatolojik Analizi

Naproxen sodyum grubuna ait testis dokusu histopatolojik analiz sonucu

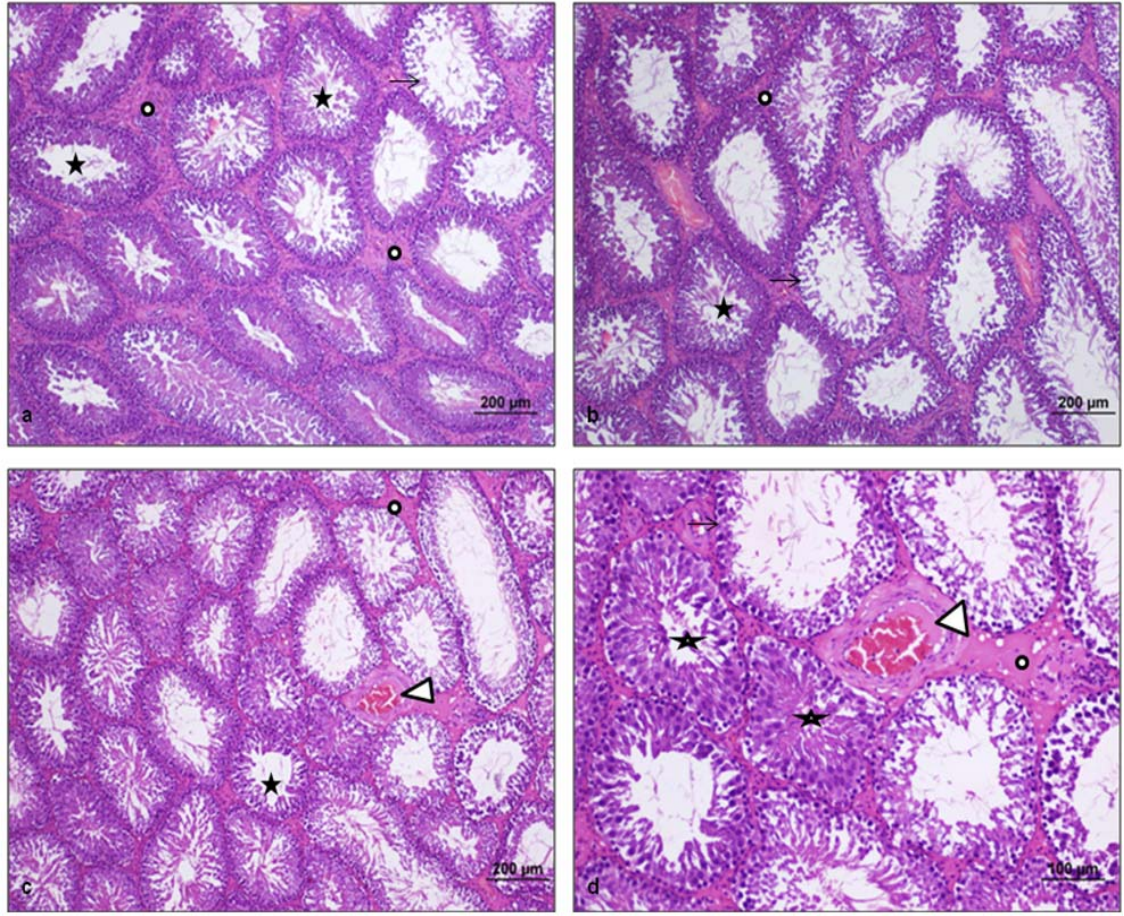
Naproxen sodyum uygulanan sıçan testislerinin ışık mikroskopik incelemesinde; seminifer tübüllerde tübül duvarındaki germinal hücrelerde yoğun hasar (*), intersitisyel alanda damar kongesyonu (►) ve bağ dokusunda yoğunlaşma (o) görülmektedir (Şekil 19).



Şekil 19. Naproxen Sodyum Grubuna Ait Testis Histopatolojik Analizi

Meloksikam grubuna ait testis dokusu histopatolojik analiz sonucu

Meloksikam uygulanan sıçan testislerinin ışık mikroskopik incelemesinde; bazı tübüllerde normale yakın spermatogenetik hücrelerden oluşan ve spermatogenezin devam ettiği seminifer tübül yapıları (*) izlenmekle birlikte birçok tübülde hasar gözlenmekte (→), intersitisyel alanda ise damar kongesyonu (►) ve bağ dokusunda yoğunlaşma (o) dikkat çekmektedir (Şekil 20).



Şekil 20. Meloksikam Grubuna Ait Testis Histopatolojik Analizi

Tartışma

COX enzimi, araşidonik asitten prostaglandinlerin oluşumuna aracılık eden enzimdir. Bu enzimin COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki izoformu bulunmaktadır. COX-1 yapısal olarak dokuların çoğunda bulunurken COX-2 seviyelerinin dokularda inflamatuvar süreçlerde arttığı bilinmektedir (Balaji ve ark., 2007). COX-1 enzimi TXA₂ üretimi, böbreklerde PGE₂ üretimi ve gastrik mukozada hücre koruyucu etki yapan PGI₂ üretimi gibi süreçlere katılmaktadır (Engelhardt, 1996). COX-2 enzimi ise sitokinler, bakteriyel endotoksinler, interlökinler, tümör nekroz faktör gibi proinflamatuvar ve mitojenik faktörlere cevap olarak sentezlenmekte, inflamatuvar olaylarda rol oynayan prostaglandinlerin sentezinde görev almaktadır (Frungeri ve ark., 2007; Brzozowski ve ark., 2001).

Yapılan araştırmalar prostaglandinler ve COX enziminin reproduksiyonda önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir. Prostaglandinler ve COX enziminin dişi üreme sisteminde ovülasyon, fertilizasyon ve doğum dahil olmak üzere üremeyle ilgili birçok anahtar süreci düzenlediği bilinmekle birlikte erkek üreme sistemindeki rolleri hakkında açıklamalar yetersiz ve çelişkilidir (Lim ve ark., 1997; Winnall ve ark., 2007; Kubota ve ark., 2011). COX-1 ve PGF_{2α}'dan yoksun dişi farelerde doğum eylemi zor olsa da fertilizasyonun gerçekleştiği, COX-2' den yoksun dişi farelerin ise infertil olduğu gözlenmektedir. Dolayısıyla dişilerde ovülasyonun COX-2 enzimine bağlı olduğu öne sürülmektedir (Lim ve ark., 1997;

Frungeri ve ark., 2006). Buna karşılık COX-1 veya COX-2 enzimlerinde mutasyona sahip erkek farelerde fertilitenin değişmemesi erkek farelerde normal testis fonksiyonlarının düzenlenmesinde prostaglandinlerin önemli etkilerinin olmadığına işaret etmektedir (Langenbach ve ark., 1999; Frungueri ve ark. 2006). Benzer şekilde COX-2 enziminin sağlıklı testislerde eksprese edilmediği, spermatogenezin bozulduğu, morfolojik değişimlerin gözlemlendiği testislerde ise eksprese edildiği gösterilmektedir (Kubota ve ark., 2011; Hase ve ark., 2003; Frungieri ve ark., 2007). Ayrıca Hase ve ark.'nın (2003) yaptığı bir çalışmada insan testiküler kanserinde COX-2 yanında COX-1'in de sentezlendiği belirtilmektedir. Bu çalışmalardan farklı olarak erişkin sıçan testislerinde yapılan bir çalışmada hem COX-1, hem de COX-2 enzimlerinin mRNA'ları birçok testiküler hücre tipinde gösterilmektedir (Winnall ve ark, 2007; Saeed ve ark., 2009). Ancak testiküler COX-2 ekspresyonunun, COX-1'e oranla daha fazla olduğu ve yapısal olarak eksprese edildiği de çalışmalarda gösterilmektedir (Balaji ve ark., 2007; Winnall ve ark, 2007). Bu noktada COX-1 enziminin doku homeostazının düzenlenmesine ve COX-2 enziminin ise steroid hormon biyosentezi ve spermatogenezin düzenlenmesine aracılık ettiği vurgulanmaktadır (Balaji ve ark., 2007). Dahası prostaglandinlerin insan ve diğer türlerin semeninde yüksek miktarda bulunması bu endojen peptidlerin fertilite üzerinde önemli rolleri olabileceğinin bir kanıtı olarak yorumlanmaktadır (Johnson ve Ellis, 1977; Löscher ve Blazaki, 1986; Yıldız, 1988; Shimizu ve ark., 1998). Bundan başka yetişkin sıçan testisinde, PGE₂ ve PGF_{2α}'nın yüksek seviyelerde ve PGD₂, PGE₁ ve PGF₁'in ise düşük seviyelerde bulunduğu gösterilmektedir (Winnall ve ark., 2007; Saeed ve ark., 2009). Seminal prostaglandinler sperm motilitesi ve transportu üzerine etkilerinin dışında erkek üreme sistemi düz kaslarına olan etkileri ile de ejakülasyon olayına katkıda bulunabilmektedir (Löscher ve Blazaki, 1986).

Erkek fertilitesi ve spermatogenez üzerine prostaglandinlerin ve prostaglandin sentez inhibitörü olan ajanların etkilerini inceleyen çalışmalarda çelişkili sonuçlar dikkat çekmektedir. Bu sonuçlar doğrultusunda testiküler fonksiyonların düzenlenmesinde bu moleküllerin rollerinin olası karmaşıklığı vurgulanmakta ve spermatogenezin tamamında prostaglandinlerin hem stimülatör hem de inhibitör etkinliklerinin olabileceği ifade edilmektedir (Winnall ve ark., 2007). Bu noktadan hareketle bu tez çalışması kapsamında prostaglandinlerin spermatogenez sürecine olası etkinliklerinin aydınlatılması amaçlanmaktadır. Bu amaçla ağrı ve inflamatuvar hastalıkların tedavisinde akut ya da kronik olarak sıklıkla kullanılan seçici olmayan COX enzim inhibitörü naproksen sodyum ve seçici COX-2 enzim inhibitörü meloksikam ile sperm sayısı ve motilitesinin belirlenmesi ve spermatogenez sürecinde etkin hormonlar olan LH, FSH ve testosteron plazma seviyelerinin belirlenmesi amaçlanmaktadır. Bu noktada olası reproduktif toksik etkide selektif ve seçici COX inhibisyonunun katkısı da aydınlatılmaktadır. Diğer taraftan deney gruplarında testis COX-1, COX-2, PGE₁, PGE₂ ve PGF_{2α} seviyelerinin gösterilmesi erkek reproduktif sistemde bu endojen mediyoterlerin varlığına dikkat çekmektedir.

Öncelikle çalışmamızda non-selektif COX enzim inhibitörü olarak uyguladığımız naproksen sodyum ve seçici COX-2 enzim inhibitörü olarak uyguladığımız meloksikam ile testis COX-1 enzim seviyesinin kontrol grubumuza oranla anlamlı

olarak azaldığı gözlenmektedir. Ancak testis COX-2 enzim seviyesinde hem naproksen sodyum hem de meloksikam ile kontrol grubuna oranla belirgin olmayan azalmalar gösterilmektedir. Tanaka ve ark.'nın (2001; 2002) yaptığı çalışmalarda seçici olmayan COX-1 inhibitörü indometazin ile intestinal ve gastrik dokuda COX-1 enzim inhibisyonu gösterilmekte ancak COX-2 enzim sentezinin arttığı gözlenmektedir. Bu sonuç COX-1 inhibisyonuna bağlı prostaglandin seviyesinin azalmasını kompanse etmek için COX-2 enzim sentezinin artması ile ilişkilendirilmektedir. Çalışmamızda testis PGE₁, PGE₂ ve PGF_{2α} seviyeleri açısından gruplar karşılaştırıldığında ise naproksen sodyum ve meloksikam uygulaması ile COX enzim inhibisyonuna bağlı olarak prostaglandin seviyesinin, özellikle PGE₂ ve PGF_{2α}'da belirgin olmak üzere, istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı dikkat çekmektedir. Farklı dokularda naproksen uygulamasının PGE₁ (Ninagawa ve ark., 1981), PGE₂ (Izumi ve ark., 1985; Oh ve ark., 1997) ve PGF_{2α} (Powell ve Chan, 1984) sentezini azalttığı gösterilmektedir. Benzer şekilde meloksikam uygulaması ile de PGE₁ (Agnello ve ark., 2005), PGE₂ (Agnello ve ark., 2005) ve PGF_{2α} (Dorniak ve ark., 2011) seviyelerinin azaldığı gözlenmektedir. Çalışmamızda COX enzim aktivitesinin son ürünü olarak değerlendirilen prostaglandinlerin testiste naproksen sodyum ve meloksikam uygulaması ile kontrol grubuna oranla anlamlı olarak azalması bu ajanlara bağlı enzim inhibisyonunun yansıması olarak kabul edilmektedir.

Diğer taraftan çalışma sonuçlarımız naproksen sodyum ve meloksikam uygulaması ile kontrol grubuna oranla anlamlı olarak azalan sperm sayısına ve motilitesine ek olarak testis histolojik görüntülerinde spermatogenezin gerçekleştiği seminifer tübüllerde hasara dikkat çekmektedir. Naproksen sodyum ve meloksikamın tekrarlayan dozlarda uygulanması ile sperm parametrelerinde tespit edilen azalmayı bu ajanlar ile indüklenen enzim inhibisyonuna bağlı azalan prostaglandin seviyesi ile ilişkilendirmek mümkündür. Zaten spermatogenez sürecinde prostaglandin E ve F serisinin önemli rol oynadığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Winnall ve ark., 2007; Saeed ve ark., 2009). Prostaglandinlerin erkek üreme sisteminde sperm motilitesi ve sayısı, kapasitasyon yeteneği ve akrozom reaksiyonu dahil pek çok süreçte etkileri olduğu da belirtilmektedir (Johnson ve Ellis, 1977; Yıldız, 1988; Kennedy ve ark., 2003). Diğer taraftan yapılan bir çalışmada infertil erkeklerde prostaglandin seviyelerinde azalma tespit edilmektedir (Johnson ve Ellis, 1977). Schlegel ve ark.'nın (1981) yaptığı bir çalışmada PGF_{2α}'nın insan sperm motilitesi ile ters korelasyon gösterdiği, ancak prostaglandinlerin yıkılmasının da motilitede önemli bir azalmaya yol açtığı belirtilmektedir. İnsan semen örneklerine PGE₂ eklenmesi ile spermatozoanın motilite ve fertilizasyon kapasitesinin arttığı gösterilmektedir (Löscher ve Blazaki; 1986). Kennedy ve ark. (2003) yaptığı bir çalışmada semenin *in vitro* ortamda diklofenak, indometazin, selektif COX-1 inhibitörü (resveratrol) ve selektif COX-2 inhibitörü (NS-398) ile inkübasyonunun sperm motilitesinin azalmasına neden olduğu gösterilmektedir. Asetil salisilik asit kullanan hastalarda prostaglandin sentezinin azaldığı ve buna bağlı olarak fertilitenin bozulduğu ileri sürülmektedir. 7 gün süre ile yüksek doz indometazin uygulanan farelerde de prostaglandin seviyesinin azalmasına bağlı olarak fertilitenin bozulduğu gösterilmektedir. İnsan ve tavşan semeninin prostaglandin inhibitörü 15-hidroksidehidrogenaz ile inkübasyonu sonucunda prostaglandin sentezinin ve sperm motilitesinin azaldığı

gözlenmektedir (Löschner ve Blazaki, 1986). Çalışmalarda PGE₁ ve PGE₂'nin memeli sperm motilitesi için gerekli olan kalsiyumun influksunu arttırarak ve internal olarak depolanmış kalsiyumun salıverilmesine neden olarak motiliteyi düzenlediği belirtilmektedir (Shimizu ve ark., 1998; Kennedy ve ark., 2003).

Non-selektif COX inhibitörü indometazin ile sperm motilitesi ve sayısının azaldığı ve indometazin tedavisinin kesilmesi ile bu parametrelerin düzeldiği gösterilmektedir. Diğer çalışmalardan farklı olarak bu etki indometazinin plazma, testis ve testiküler interstisyel sıvıda testosteron seviyesini azaltması ile ilişkilendirilmektedir (Saeed ve ark., 2009). Fetal ve postnatal yaşam süresince normal testiküler gelişim ve spermatogenez testosteron, LH ve FSH'nin kontrolü altında düzenlenmektedir (Gnessi ve ark., 1997; Bozdağın, 2000). Sonuçlarımıza göre plazma testosteron, LH ve FSH seviyeleri açısından naproksen sodyum ve meloksikam tedavisi sonrasında kontrol grubundan istatistiksel olarak farksız değerler dikkat çekmektedir. Gates ve ark.'nın (2012) yaptığı NSAİ ilaç kullanımı ve insan steroid hormon seviyeleri arasındaki ilişkiyi inceleyen bir çalışmada ilaç kullanımının hormon seviyeleri üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı gösterilmektedir. Diğer taraftan prostaglandinlerin sistemik olarak uygulanması plazma prolaktin, testosteron, FSH ve LH seviyelerini arttırdığı öne sürülmektedir (Saeed ve ark., 2009). *In vitro* olarak sıçan Leyding hücrelerinde COX-2 enzim ekspresyonu ile testosteron biyosentezi arasındaki ilişkinin incelendiği başka bir çalışmada COX-2 ekspresyonunun arttığı durumlarda testosteron biyosentezinin azaldığı; COX-2 inhibisyonunun ise testosteron biyosentezini arttığı gösterilmektedir (Wang ve ark., 2005). Frugier ve ark.'nın (2006) hamster Leyding hücrelerinde *in vitro* olarak yaptığı bir çalışmada PGF_{2α} uygulaması ile testosteron üretiminin azaldığı gözlenmektedir. Prostaglandinlerin yüksek dozda uygulanması fare, sıçan ve hamsterlarda plazma testosteron seviyesini ve sıçanlarda spermatogenezini azalttığı gösterilmektedir (Saksena ve ark., 1975). Benzer şekilde sağlıklı erkek sıçanlarda PGF_{2α} uygulaması ile plazma testosteron seviyesinin azaldığı ve eş zamanlı olarak LH uygulaması ile bu azalmanın önlediği gösterilmektedir. PGE₂ verilen grupta ise plazma testosteron seviyelerinde anlamlı bir değişiklik gösterilmemektedir. Prostaglandin sentaz inhibitörü indometazin uygulaması ile, *in vivo* olarak plazma testosteron artışı gözlenmektedir (Fuchs ve Chantharaksri, 1981). StAR gen ekspresyonu ve testosteron biyosentezi hipofiz bezinden LH salıverilmesinin aracılık ettiği iki yolak ile düzenlenmektedir. İlk olarak, LH araşidonik asit salıverilmesinin artmasına neden olmakta ve buna bağlı olarak araşidonik asit metabolitleri artmakta ve bu metabolitler StAR gen ekspresyonunu düzenlemektedir. İkinci olarak LH protein kinaz A aracılığı ile StAR gen ekspresyonunu ve steroidojenezi düzenlemektedir. Bu iki yolda meydana gelebilecek değişimler hormon düzeylerini etkileyecektir. Çalışmalarda lipoksijenaz ve epoksijenaz aracılıklı araşidonik asit metabolitlerinin steroid hormon sentezini arttırdığı COX-2 aracılıklı metabolitlerin ise StAR gen ekspresyonunu ve steroidojenezini inhibe ettiği belirtilmektedir (Wang ve ark., 2003; Wang ve ark., 2005). Sonuçlarımızda gruplar arasında LH, FSH ve testosteron seviyeleri açısından anlamlı bir fark gözlenmemektedir. COX enzim inhibisyonu ile testosteron seviyesinin arttığı ya da COX aktivasyonuna bağlı testosteron sentezinin azaldığını gösteren çalışmalarla çelişki gösteren sonuçlarımızı çalışmalarda kullanılan deneysel model, tür, doz ve uygulama süresi gibi toksisiteyi etkileyen temel faktörlerdeki

farklılıklardan kaynaklandığını düşünmekteyiz. Sonuçlarımıza göre meloksikam ve naproksen sodyum tedavisi ile sperm parametrelerinde azalma yönünde gözlenen etkiyi spermatogenez sürecinde etkin hormonlar olan FSH, LH ve testosteron seviyesindeki değişme ile ilişkilendirmek pek mümkün değildir.

Bazı çalışmalarda erkek sıçanların yüksek dozlarda parasetamol ve fenasetin gibi NSAİ ilaçlar ile kronik tedavisinin testiküler atrofiye ve spermatogenezin inhibisyonuna yol açtığı bilinmekle birlikte bu durum prostaglandin sentezi üzerine etkisi olmayan bir çok ilaç veya kimyasaldan kaynaklanan toksisite sendromunun spesifik olmayan bir parçası olarak yorumlanmaktadır (Löscher ve Blazaki; 1986). Löscher ve Blazaki'nin (1986) yaptığı bir çalışmada indometazin, naproksen, asetilsalisilik asit ve fenilbutazon ile sıçan seminal sıvısında PGE₂ seviyelerinin azaldığı ancak sadece indometazin ile fertilitenin azaldığı gösterilmektedir. Bu çalışmada indometazin ile fertilitenin azalması indometazinin sekonder toksik etkisi ile ilişkilendirilmektedir (Löscher ve Blazaki; 1986). Meloksikam (Villegas ve ark., 2000; Villegas ve ark., 2001) ve naproksen sodyum (Kim ve ark., 2005; Yokoyama ve ark., 2006; Akıncı ve ark., 2010) ile indüklenen gastrik mukozal hasar, hepatik hasar, pankreatit gibi farklı toksisite modellerinde toksik etkiler bu ajanlar ile prostaglandin sentezinin azalmasının yanında sekonder olarak indüklenen serbest radikal oluşumu ve azalan antioksidan savunma ile ilişkilendirilmektedir.

Oksidatif stres vücuttaki serbest radikaller (ROT ve RNT) ile antioksidanlar arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşmaktadır (Doshi ve ark., 2012). Hücreler oksidatif strese karşı katalaz, SOD ve GPx gibi enzimatik ve GSH gibi enzimatik olmayan kompleks antioksidan sistemlerin koruması altındadır (Villegas ve ark., 2000; Antwerpen ve Neve, 2004). Hücre, doku ve organlarda artan oksidatif stresin fetus anomalilerine ve infertiliteye neden olabileceği bilinmektedir (Valko ve ark., 2007; Silva ve ark., 2010; Mruk ve ark., 2002; Pham-Huy ve ark., 2008; Doshi ve ark., 2012; Ianiski ve ark., 2012; Gupta ve ark., 2009). Oksidatif stres özellikle erkek infertilitesinin etiyolojisinde en önemli faktör olarak kabul edilmektedir (Aitken ve Roma, 2008). Yapılan araştırmalarda infertil erkeklerin %25-40'nın semeninde ROT seviyelerinin yüksek olduğu ve bunun da spermatozoanın morfoloji ve motilitesini olumsuz yönde etkilediği gösterilmektedir. Spermatozoada ROT toksisite mekanizması lipid peroksidasyonu ile başlamakta, motilitenin bozulması ile devam etmekte, DNA hasarı oluşturmakta ve normal embriyojenik gelişmeyi destekleyen yeteneğin bozulması ile sonlanmaktadır (Saleh ve Agarwal, 2002; Sikka, 2004; Agarwal ve ark., 2006; Aitken ve Roma, 2008; Tremellen, 2008). Ayrıca ROT testis dokusunda; leyding hücrelerinin steroidojenik kapasitesinin bozulmasına neden olmaktadır (Aitken ve Roma, 2008). Testislerde oksidatif stresli tetikleyebilecek birçok faktörün varlığı bu dokunun hem spermatogenez için yüksek ölçüde oksijene bağımlı olan hem de reaktif oksijen metabolitlerinin toksik etkilerine duyarlı olan hassas bir doku

haline getirmekte ve bu bağlamda beyine çok benzediği ifade edilmektedir (Aitken ve Roma, 2008).

Çalışmamızda, testis dokusunda naproksen sodyum ve meloksikam uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı şekilde azalmış GSH, katalaz, SOD ve GPx seviyeleri dikkat çekmektedir. Yapılan bir çalışmada gastrik mukozada meloksikam ile radikal oluşumunu katalize eden miyeloperoksidaz ve ksantin oksidaz enzim aktivitesinin arttığı ve antioksidan enzimlerden SOD ve GSH seviyelerinin ise azaldığı gösterilmektedir. Bu çalışmada meloksikam ile indüklenen gastrik mukozal hasarın prostaglandin sentez inhibisyonu ve serbest radikal oluşumuna bağlı olduğu ve bu patogeneze azalan GSH ve SOD seviyesinin katkı sağladığı öne sürülmektedir (Villegas ve ark., 2000). Villegas ve ark.'nın (2001) yaptığı bir çalışmada seçici olmayan COX inhibitörü piroksikam ve seçici COX-2 inhibitörü meloksikam ile indüklenen gastrik mukozal hasarda, mukozal lipid peroksidasyonun arttığı ve SOD, GSH ve GR seviyelerinin azaldığı gösterilmektedir. Naproksen ile gastrik antral ülserasyonun indüklendiği bir çalışmada gastrik mukozada lipid peroksidasyonun göstergesi olan MDA seviyesinin arttığı, SOD, katalaz ve GPx seviyelerinin ise azaldığı gözlenmektedir (Kim ve ark., 2005). Yapılan diğer bir çalışmada indometazin ile indüklenen gastrik mukozal hasarın patogenezi artan mukozal lipid peroksidasyon ve azalan GSH ve GPx seviyeleri ile ilişkilendirilmektedir (Yoshikawa ve ark., 1993). Naproksen ile serbest oksijen radikalleri ve lipid pereoksidasyonu üretiminde artma ve GST depolarının tükenmesine bağlı olarak artan oksidatif stres akut pankreatit gelişiminin patofizyolojisinde önemli bir etken olarak kabul edilmektedir (Akıncı ve ark., 2010). İzole perfüze rat karaciğerinde naproksen uygulaması ile lipid peroksidasyonun arttığı ve GSH depolarının tükenmesine bağlı olarak oksidatif stresin indüklendiği gösterilmektedir (Yokoyama ve ark., 2006).

Seçici olmayan COX inhibitörleri diklofenak ve naproksen ile seçici COX-2 inhibitörleri rofekoksib ve selekoksib hipertansif sıçanlara ait kardiyak vasküler yapıda (aort ve kalp) serbest radikal oluşumunu arttırarak oksidatif stresi indüklemektedir (Li ve ark., 2008). Doksorubisin ile indüklenen kardiyak toksisite naproksen uygulaması ile miyokardiyal lipid peroksidasyonun artmasına ve GSH, katalaz ve SOD seviyelerinin azalmasına bağlı olarak kötüleşmektedir (Pathan ve ark., 2010). *Helicobacter pylori* ile infekte edilmiş sıçanlarda naproksen uygulaması ile gastrik dokuda MDA seviyesinin artmasına ve GSH seviyesinin azalmasına bağlı olarak gastrik ülserasyonun kötüleştiği vurgulanmaktadır (Kumar ve ark., 2010). Bu çalışmalardan farklı olarak Freund's adjuvant ile indüklenen sıçan artrit modelinde (Agha ve ark., 1999), amiloid- β -peptid ile indüklenen fare alzheimer modelinde (Ianiski ve ark., 2012) ve skopolamin ile indüklenen fare kognitif disfonksiyon modelinde (Goverdhan ve ark., 2012) meloksikam dokularda lipid peroksidasyonunu azaltarak bu patolojilerde antioksidan aktivite ile koruyucu etkinlik göstermektedir. Benzer şekilde

naproksen ile sıçan immobilizasyon stres modelinde (Dhir ve ark., 2006; Kumari ve ark., 2007), etanol ile indüklenen oksidatif strese (Piña ve ark., 2007) ve kolşisin ile indüklenen kongnitif disfonksiyon modelinde (Kumar ve ark., 2006) dokularda lipit peroksidasyonunun azalmasına bağlı olarak koruyucu etkinlik gözlenmektedir. Çalışmalarda naproksen ve meloksikamın lipit peroksidasyonuna karşı koruyucu etkilerinin sahip oldukları antiinflamatuvar etkileri ile ilişkili olduğu ve inflamasyonun oksidatif stresi tetiklediği gösterilmektedir. Patogenezinde inflamatuvar süreçlerin rol oynadığı bilinen bu deneysel modellerde naproksen ve meloksikamın antioksidan etkisini sahip oldukları antiinflamatuvar etki ile ilişkilendirmek mümkündür (Agha ve ark., 1999; Kumar ve ark., 2006; Ianiski ve ark., 2012; Goverdhan ve ark., 2012). Serbest radikaller ile indüklenen lipit peroksidasyonunun membran bütünlüğünü bozması yanında oluşan lipit peroksidlerin inflamatuvar hücrelere karşı kemotaktik etkileri ile bu hücreleri dokulara çekerek inflamatuvar reaksiyonu başlattıkları bilinmektedir (Kayaalp, 2005). Diğer taraftan COX'un peroksidaz aktivitesinin de ROT üretiminin artmasına neden olduğu bilinmektedir (Kumar ve ark., 2006). Oksidatif stresin indüklendiği hastalık modellerinde meloksikam ve naproksen ile elde edilen koruyucu etkiler testis dokusunda rölatif NSAİ ajan etkisine baktığımız çalışma sonuçlarımız ile çelişmesi şaşırtıcı olarak değerlendirilmemektedir. Belirtildiği gibi patogenezinde inflamatuvar süreçlerin rol oynadığı bilinen modellerde antiinflamatuvar ajanlar ile oksidatif stres azalmaktadır. Burada belirtilmesi gereken diğer önemli bir nokta da, son zamanlarda NSAİ ajanların öne sürülen antikanser etkilerinin mekanizmasının apoptozisi de kapsayan pek çok sinyal yolağı ile ilgili oksidatif stres indüksiyonu ile ilişkilendirilmesidir (Adachi ve ark., 2007). Rölatif olarak naproksen sodyum ve meloksikamın testis dokusunda oksidatif parametrelere etkisini araştırdığımız çalışmamızın sonuçları bu ajanlar ile oksidan/antioksidan ortamın oksidan lehinde arttığını göstermektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda erkek üreme sisteminde prostaglandinlerin spermatogenez sürecinde hormon plazma seviyelerini değiştirmeden direkt etkileri ile sperm motilitesi ve sayısı üzerine etkili olduğu gösterilmektedir. Bu endojen mediyatörlerin sentezlerinin naproksen sodyum ve meloksikam gibi NSAİ ilaçlar ile inhibisyonunun plazma hormon seviyelerinden bağımsız olarak sperm motilitesi ve sayısını azalttığı ve testislerin morfolojik incelemesinde spermatogenezin gerçekleştiği seminifer tübüllerde hasarı indüklediği dikkat çekmektedir. Diğer taraftan seçici olmayan COX enzim inhibitörü naproksen sodyuma ve seçici COX-2 enzim inhibitörü meloksikama bağlı sperm parametrelerinde benzer inhibitör etkinlik erkek reproduktif sisteminin düzenlenmesinde hem COX-1 hem de COX-2 aracılıklı prostaglandinlerin yapısal olarak rol oynadığını düşündürmektedir. Sonuçlarımıza göre bu ajanlar ile indüklenen reproduktif toksik etkilerin mekanizmasının temelini prostaglandin sentezinin azalması oluştursa da sekonder olarak bu ajanlar ile indüklenen oksidatif stresin varlığını da vurgulamak gerekmektedir. Oksidatif stresin

spermatogenez sürecindeki toksik etkisinin erkek fertilitatesini olumsuz yönde etkilemesi kaçınılmaz bir sonuç olarak karşımıza çıkmaktadır.

SONUÇ VE ÖNERİLER

NSAİ ilaçlar antibiyotiklerden sonra ülkemizde en sık reçete edilen ilaçlar olarak bilinmektedir. Genellikle kısa süreli ağrıların giderilmesi dışında inflamasyona bağlı durumlarda uzun süreli olarak (özellikle artrit, osteoartrit ve benzeri romatizmal hastalıklar) kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalar non-steroidal antiinflamatuvar ilaçların bilinen gastrointestinal, hepatik ve renal advers etkilerinin yanında hem dişi hem de erkeklerde üreme fonksiyonları üzerine de advers etkilerinin olabileceğini akla getirmektedir. COX enzim inhibitörü olan bu ilaçlar ile prostaglandin sentezinin azalmasının, erkek reproduktif sistemde bu mediyatörler ile ilişkili süreçleri etkilemesi kaçınılmazdır. Ancak reproduktif sistemde süreçlerin karmaşıklığı endojen proteinlerin bu süreçlerdeki rollerinin tanımlanmasını ve bu yollarda farmakolojik etkinlik gösteren ajanların bu sistem üzerine etkilerinin aydınlatılmasını zorlaştıracak niteliktedir. Çalışma sonuçlarımıza göre naproksen sodyum ve meloksikam tedavisine bağlı olarak prostaglandin sentezinin azaldığı ve buna bağlı olarak sperm motilite ve sayısının azaldığını ve testis seminifer tübül yapısının bozulduğunu söyleyebiliriz. Bu ajanlar ile prostaglandin sentezinin azalmasına ek olarak testis dokusunda oksidatif stresin indüklemesi de bu toksik etkide oksidatif stresin sekonder olarak rol oynayabileceğine işaret etmektedir.

Fertil ve infertil erkek bireylerde ölçülecek prostaglandin seviyeleri ve sperm motilitesi ve sayısı gibi sperm parametreleri bu endojen peptidlerin erkek üreme sistemi fizyolojisindeki önemini daha net ortaya koyacaktır. Kronik NSAİ ilaç tedavisi altında olan hastalarda sperm parametreleri ve hormon düzeylerinin belirlenmesi de karmaşık ve belirsiz olan bu noktayı aydınlatacak niteliktedir. Dahası tekrarlayan dozlarda NSAİ ilaç kullanımına bağlı oksidatif parametrelerdeki değişimlerin belirlenmesi de önemli bir nokta olarak karşımıza çıkmaktadır. İnfertilite patogeneğinde önemli bir yer tutan oksidatif stresin NSAİ ajanlar ile indüklenmesi, bu ajanlar ile tedavide tedaviye eksojen antioksidanların eklenmesi ile önlenilebileceği düşünülebilir.

KAYNAKLAR

- Adachi, M., Sakamoto, H., Kawamura, R., Wang, W., Imai, K., Shinomura, Y., Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and oxidative stres in cancer cells, *Histol. Histopathol.*, 22, 437-442 (2007).
- Agarwal, A., Gupta, S., Sikka, S., The role of free radicals and antioxidants in reproduction, *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*, 18, 325-332 (2006).
- Agha, A.M., El-Khatib, A.S., Al-Zuhair, H., Modulation of oxidant status by meloxicam in experimentally induced arthritis, *Pharmacol. Res.*, 40 (4), 385-392 (1999).
- Agnello, K.A., Reynolds, L.R., Budsberg, S.C., In vivo effects of tepoxalin, an inhibitor of cyclooxygenase and lipoxigenase, on prostanoid and leukotriene production in dogs with chronic osteoarthritis., *Am. J. Vet. Res.*, 66 (6), 966-972 (2005).
- Aitken, R.J., Roman, S.D., Antioxidant systems and oxidative stress in the testes, *Oxid. Med. Cell. Long.*, 1 (1), 15-24 (2008).
- Akıncı, E., Kocaşaban, D.Ü., Coşkun, F., Yüksek doz naproksen alımına bağlı akut pankreatit olgusu, *T. Acil Tıp D.*, 10 (4), 191-193 (2010).
- Aktümsek, A., *Anatomi ve Fizyoloji İnsan Biyolojisi*, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 433-444, 2006.
- Antwerpen, P.V., Néve, J., In vitro comparative assesment of the scavenging activity against three reactive oxygen species of non-steroidal anti-inflammatory drugs from the oxicam and sulfoanilide families, *Europ. J. Pharmacol.*, 496, 55-61 (2004).
- Arrotéia, K.F., Garcia, P.V., Barbieri, M.F., Justino, M.L., Pereira, L.A.V., The epididimis: embryology, structure, function and its role in fertilization and infertility, *Embryology-Updates and Highlights on Classic Topics*, L.A.V. Pereira, In Tech, Rijeka, 41-66 (2012).
- Babu, S.R., Sadhnani, M.D., Swarna, M., Padmavathi, P., Reddy, P.P., Evaluation of FSH, LH and testosterone levels in different subgroups of infertile males, *Indian J. Clin. Biochem.*, 19 (1), 45-46 (2004).
- Balaji, T., Ramanathan, M., Menon, V.P., Localization of cyclooxygenase-2 in mice testis and assessment of its possible role through suppressing its expression using nimesulide: a preferential cyclooxygenase-2 inhibitor, *Prost. Leukot. Essent. Fatty Acids*, 76, 341-348 (2007).
- Bertaim, T., Chapuy, E., Caussade, F., Ardid, D., Dose and administration Schedule effect of tiludronate on joint damage in the model of complete freund adjuvant induced monoarthritis in rats, *Open J. Rheumat. Autoim. Dis.*, 3 (1), 18-25 (2013).
- Bozdağan, Ö., *Fizyoloji*, Palme Yayın Dağıtım Pazarlama İç ve Dış Ticaret Ltd. Şti., Ankara, 439-452, 2000.
- Bökesoy, T.A., Çakıcı, İ., Melli, M., *Farmakoloji Ders Kitabı*, Gazi Kitapevi Tic. Ltd. Şti., Ankara, 473-492, 2000.

- Brown, W.A., Skinner, S.A., Malcontenti-Wilson, C., Vogliagis, D., O'Brien, P.E., Non-steroidal anti-inflammatory drugs with activity against either cyclooxygenase 1 or cyclooxygenase 2 inhibit colorectal cancer in a DMH rodent model by inducing apoptosis and inhibiting cell proliferation, *Gut J.*, 48, 660-666 (2001).
- Brzozowski, T., Konturek, P.C., Konturek, S.J., Sliwowski, Z., Pajdo, R., Drozdowicz, D., Ptak, A., Hahn, E.G., Classic NSAID and selective cyclooxygenase (COX)-1 and COX-2 inhibitors in healing chronic gastric ulcers, *Micros. Res. Tech.*, 53, 343-353 (2001).
- Capone, M.L., Tacconelli, S., Sciulli, M.G., Grana, M., Ricciotti, E., Minuz, P., Gregorio, P.D., Merciaro, G., Patrono, C., Patrignani, P., Clinical pharmacology of platelet, monocyte, and vascular cyclooxygenase inhibition by naproxen and low-dose aspirin in healthy subjects, *J. Americ. Heart Assoc.*, 109, 1468-1471 (2004).
- Chandrasekharan, N.V., Dai H., Roos, K.L.T., Evanson, N.K., Tomsik, J., Elton, T.S., Simmons, D.L., COX-3, a cyclooxygenase-1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic/antipyretic drugs: cloning, structure, and expression, *PNAS*, 99 (21), 13926-13931 (2002).
- Clària, J., Cyclooxygenase-2 biology, *Curr. Pharm. Design*, 9 (27), 2177-2190 (2003).
- Çalışkan, S., Koca, O., Öztürk, M., Akyüz, M., Karaman, M.İ., Hormonal evaluation in erectile dysfunction, *Turish. J. Urolog.*, 38 (1), 19-22 (2012).
- Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T., Reactive oxygen particles and antioxidant defence, *Türk Nef. Diy. Transp. D.*, 6 (3-4), 92-95 (1997).
- Çaylak, E., Hayvan ve bitkilerde oksidatif stres ile antioksidanlar, *Tıp Araş. D.*, 9 (1), 73-83 (2011).
- Demirel, C., Kılçaksız, S., Asetil salisilik asit'in radyokoruyucu etkisi, *Türk Onkol. D.*, 26 (1), 45-53 (2011).
- Dhir, A., Padi, S.S.V., Naidu, P.S., Kulkarni, S.K., Protective effect of naproxen (non-selective COX inhibitor) on immobilization stress-induced behavioral and biochemical alternations in mice, *Europ. J. Pharmacol.*, 535, 192-198 (2006).
- Dorniak, P., Bazer, F.W., Spencer, T.E., Prostaglandins regulate conceptus elongation and mediate effects of interferon tau on the ovine uterine endometrium, *Biol. Reprod.*, 84 (6), 1119-1127 (2011).
- Doshi, S.B., Khullar, K., Sharma, R.K., Agarwal, A., Role of reactive nitrogen species in male infertility, *Rep. Biol. Endoc.*, 10 (109), 1-11 (2012).
- Dökmeci, İ., Farmakoloji Temel Kavramlar, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti., İstanbul, 379-409, 2000.
- Dubois, R.N., Abramson, S.B., Crofford, L., Gupta, R.A., Simon, L.S., Van De Putte, L.B.A., Lipsky, P.E., Cyclooxygenase in biology and disease, *FASEB J.*, 12, 1063-1073 (1998).

Duggan, K.C., Walters, M.J., Musee, J., Harp, J.M., Kiefer, J.R., Oates, J.A., Marnett, L.J., Molecular basis for cyclooxygenase inhibition by the non-steroidal anti-inflammatory drug, naproxen, *J. Biol. Chem.*, 285, 34950-34959 (2010).

Dugowson, C.E., Gnanashanmugam, P., Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, *Phys. Med. Rehabil. Clin. N. Am. J.*, 17, 347-354 (2006).

Duman, E.N., NSAİ ilaçların kronik ağrı tedavisindeki yeri, *Klin. Gel.*, 20 (3), 145-149 (2007).

Edirne, S., Ağrı ve Analjezikler, TEB Yayınları, Ankara, 79-91, 2007.

Engelhardt, G., Pharmacology of meloxicam, a new non-steroidal anti-inflammatory drug with an improved safety profile through preferential inhibition of COX-2, *British J. Rheum.*, 35, 4-12 (1996).

Frungieri, M.B., Gonzalez-Calvar, S.I., Matzkin, M.E., Mayerhofer, A., Calandra, R.S., Sources and functions of prostaglandins in the testis: evidence for their relevance in male (in)fertility, *Anim. Reprod.*, 4 (3/4), 63-69 (2007).

Frungieri, M.B., Gonzalez-Calvar, S.I., Parborell, F., Albrecht, M., Mayerhofer, A., Calandra, R.S., Cyclooxygenase-2 and prostaglandin F_{2α} in syrian hamster leydig cells: Inhibitory role on luteinizing hormone/human chorionic gonadotropin-stimulated testosterone production, *Endocrinology*, 147 (9), 4476-4485 (2006).

Fuchs, A., Chantharaksri, U., Prostaglandin F_{2α} regulation of LH-stimulated testosterone production in rat testis, *Biol. Rep. J.*, 25, 492-501 (1981).

Gates, M.A., Araujo, A.B., Hall, Wittert, G.A., McKinlay, J.B., Non steroidal anti-inflammatory drug use and levels of oestrogens and androgens in men, *Clin. Endoc.*, 76, 272-280 (2012).

Gençbay, M., Siklooksijenaz-2 inhibitörleri koroner olay riskini artırıyorlar mı?, *Türk Kardiyol. Dern. Arş.*, 32, 371-375 (2004).

Gezginç, K., Dalkılıç, E.U., Jinekolojik Acillere Yaklaşım, *Akademik Acil T. D.*, 10, 171-173 (2011).

Gnessi, L., Fabbri, A., Spera, G., Gonadal peptides as mediators of development and functional control of the testis: an integrated system with hormones and local environment, *Endocrine R.*, 18 (4), 541-609 (1997).

Goverdhan, P., Sravanthi, A., Mamatha, T., Neuroprotective effects of meloxicam and selegiline in scopolamine-induced cognitive impairment and oxidative stress, *Inter. J. Alzhem. Dis.*, 2012 (2012).

Gökşen, U.S., Kelekçi, N.G., Antiinflatuvar tedavide yeni bir yaklaşım: siklooksijenaz ve 5-lipooksijenazın dual inhibitörleri, *Haccett. Üniv. Ecz. Fak. D.*, 30 (1), 81-118 (2010).

Gupta, A., Dhir, A., Kumar, A., Kulkarni, S.K., Protective effect of cyclooxygenase (COX)-inhibitors against drug-induced catatonia and MPTP-induced striatal lesions in rats, *Pharmacol. Biochem. Behav.*, 94, 219-226 (2009).

Guyton, A.C., Hall, J.E., Tıbbi Fizyoloji, Yüce Yayınları & Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti., İstanbul, 916-928, 2001.

Güenalp, S., Yücel, A., Erkek infertilitesi tanı ve tedavi, Reprodüktif Endokrinoloji ve İnfertilite, U. Çolgar, İstanbul Medikal Yayıncılık Ltd. Şti., İstanbul, 91-108 (2006).

Hase, T., Yoshimura, R., Matsuyama, M., Kawahito, Y., Wada, S., Tsuchida, K., Sano, H., Nakatani, T., Cyclooxygenase-1 and -2 in human testicular tumors, Europ. J. Cancer, 39, 2043-2049 (2003).

Hashmi, J.A., Yashpal, K., Holdsworth, D.W., Henry, J.L., Sensory and vascular changes in a rat monoarthritis model: prophylactic and therapeutic effects of meloxicam, Inflamm. Res., 59, 667-678 (2010).

Hattori, K., Iida, K., Joraku, A., Tsukamoto, S., Akaza, H., Oyasu, R., Chemopreventive effects of cyclooxygenase-2 inhibitor and epidermal growth factor-receptor kinase inhibitor on rat urinary bladder carcinogenesis, BJU Intern., 97, 640-643 (2006).

http-1 Male reproductive system, <http://www.studyblue.com/notes/note/n/male-reproductive-system/deck/5804795> (20.04.2013).

http-2 An introduction to the hormones in the male reproductive system, <https://malereprobio12.wikispaces.com/> (20.04.2013).

http-3 Non Steroid Anti İnflamatuar İlaçlar (NSAİİ), <http://www.drdenizdogan.com/2012/05/non-steroid-anti-inflamatuar-ilaclar.html> (17.05.2013).

Ianiski, F.R., Alves, C.B., Souza, A.C.G., Pinton, S., Roman, S.S., Rhoden, C.R.B., Alves, M.P., Luchese, C., Protective effect of meloxicam-loaded nanocapsules against amyloid- β peptide-induced damage in mice, Behav. Brain Res., 230, 100-107 (2012).

Izumi, Y., Franco-Saenz, R., Mulrow, P.J., Effects of prostaglandin synthesis inhibitors on the renin-angiotensin system and renal function, Hypertension., 7 (5), 791-796 (1985).

Johnson, J.M., Ellis, L.C., The histochemical localization of prostaglandin synthetase activity in reproductive tract of the male rats, J. Reprod. Fert., 51, 17-22 (1977).

Joyce, C.L., Nuzzo, N.A., Wilson, L., Zaneveld, L.J.D., Evidence for a role of cyclooxygenase (prostaglandin synthetase) and prostaglandins in the sperm acrosome reaction and fertilization, J. Androl., 8, 74-82 (1987).

Kadioğlu, A., Köksal, İ.T., Abbasoğlu, S., Orhan, İ., Uysal, M., Farklı testiküler patolojilerde lipid peroksidasyon düzeyi, Türk Ürol. D., 24 (3), 250-254 (1998).

Karadağlı, L.S.S., Gelişim Aşamasındaki Sıçanlarda COX-2 İnhibitörü İlaç Kullanımının Toksisite Açısından Değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Ege Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İzmir, Türkiye (2006).

Kayaalp, O., Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti., Ankara, 837-870, 1279-1298, 2005.

- Kennedy, J.H., Korn, N., Thurston, R.J., Prostaglandin levels in seminal plasma and sperm extracts of the domestic turkey, and the effects of cyclooxygenase inhibitors on sperm mobility, *Reprod. Biol. Endoc. J.*, 1 (74) (2003).
- Kim, J.H., Kim, Y.S., Song, G.G., Park, J.J., Chang, H.I., Protective effect of astaxanthin on naproxen-induced gastric antral ulceration in rats, *Europ. J. Pharmacol.*, 514 (1), 53-59 (2005).
- Knuth, U.A., Kühne, J., Crosby, J., Bals-Pratsch, M., Kelly, R.W., Nieschlag, E., Indomethacin and oxaprin lower seminal prostaglandin levels but do not influence sperm motion characteristics and serum hormones of young healthy men in a placebo-controlled double-blind trial, *J. Androl.*, 10 (2), 108-119 (1989).
- Korkut, E., Aytuğ, N., Özden, A., Nonsteroid anti-inflamatuvar ilaçlar ve gastro-intestinal sistem, *Güncel Gast.*, 12 (1), 10-18 (2008).
- Kretser, D.M., Loveland, K.L., Meinhardt, A., Simorangkir, D., Wreford, N., Spermatogenesis, *Hum. Reprod.*, 13, 1-8 (1998).
- Kubota, H., Sasaki, S., Kubota, Y., Umemoto, Y., Yanai, Y., Tozawa, K., Hayashi, Y., Kohri, K., Cyclooxygenase-2 protects germ cells against spermatogenesis disturbance in experimental cryptorchidism model mice, *J. Androl.*, 32 (1), 77-85 (2011).
- Kumar, A., Seghal, N., Padi, S.V., Naidu, P.S., Differential effects of cyclooxygenase inhibitors on intracerebroventricular colchicine-induced dysfunction and oxidative stres in rats, *Europ. J. Pharmacol.*, 551, 58-66 (2006).
- Kumar, B.S., Tiwari, S.K., Saikant, R., Manoj, G., Kunwar, A., Sivaram, G., Abid, Z., Ahmad, A., Priyadarsini, K.I., Khan, A.A., Antibacterial and ulcer healing effects of organoselenium compounds in naproxen induced and *helicobacter pylori* infected wistar rat model, *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 24, 263-270 (2010).
- Kumari, B., Kumar, A., Dhir, A., Protective effect of non-selective and selective COX-2-inhibitors in acute immobilization stres-induced behavioral and biochemical alternations, *Pharmacol. Reports*, 59, 699-707 (2007).
- Laine, L., Approaches to nonsteroidal anti-inflammatory drug use in the high risk patient, *Gastroent. J.*, 120, 594-606 (2001).
- Lasserre, A., Barrozo, R., Tezón, J.G., Miranda, P.V., Vazquez-Levin, M.H., Human epididymal proteins and sperm function during fertilization: un uptade, *Biol. Res.*, 34 (3-4), 165-178 (2001).
- Li, H., Hortmann, M., Daiber, A., Oelze, M., Ostad, M.A., Schwarz, P.M., Xu, H., Xia, N., Kleschyov, A.L., Mang, C., Warnholtz, A., Münzel, T., Förstermann, U., Cyclooxygenase 2-selective and nonselective nonsteroidal anti-inflammatory drugs induce oxidative stres by up-regulating vascular NADPH oxidases, *J. Pharm. Experim. Therap.*, 326 (3), 745-753 (2008).
- Lim, H., Paria, B.C., Das, S.K., Dinchuk, J.E., Langenbach, R., Trzaskos, J.M., Dey, S.K., Multiple female reproductive failures in cyclooxygenase 2-deficient mice, *Cell*, 91, 197-208 (1997).

- Löscher, W., Blazaki, D., Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on fertility of male rats, *J. Reprod. Fert.*, 76, 65-73 (1986).
- Mahaprabhu, R., Bhandarkar, A.G., Jangir, B.L., Rahangadale, S.P., Kurkure, N.V., Ameliorative effects of *ocimum sanctum* on meloxicam induced toxicity in wistar rats, *Toxicol. Int.*, 18 (2), 130-136 (2011).
- Morita, I., Schindler, M., Regier, M.K., Otto, J.C., Hori, T., DeWitt, D.L., Smith, W.L., Different intracellular locations for prostaglandin endoperoxide H synthase-1 and -2, *J. Biol. Chem.*, 270 (18), 10902-10908 (1995).
- Mruk, D.D., Silvestrini, B., Mo, M., Cheng, C.Y., Antioxidant superoxide dismutase - a review: its function, regulation in the testis, and role in male fertility, *Contraception*, 65, 305-311 (2002).
- Mycek, M.J., Harvey, R.A., Champe, P.C., Lipincott's Illustrated Reviews, Güneş Kitapevi Ltd. Şti., Ankara, 401-417, 2001.
- Ninagawa, T., Matsukawa, R., Yoshio, T., Kan, S., Ito, K., Prostaglandins and dysmenorrhea effect of naproxen on prostaglandin concentrations in menstrual blood (author's transl), *Acta Obstet. Gynaecol. Jpn.*, 33 (4), 449-454 (1981).
- Oh, T.Y., Ryu, B.K., Ko, J.I., Ahn, B.O., Kim, S.H., Kim, W.B., Lee, E.B., Jin, J.H., Hahm, K.B. Protective effect of DA-9601, an extract of *Artemisiae Herba*, against naproxen-induced gastric damage in arthritic rats, *Arch. Pharm. Res.*, 20 (5), 414-419 (1997).
- Oregon Health & Science University web site, Final Report Update 3, Oregon, Portland, 1-43 (2006).
- Pathan, R.A., Singh, B.K., Pillai, K.K., Dubey, K., Naproxen aggravates doxorubicin-induced cardiomyopathy in rats, *Indian J. Pharmacol.*, 42 (1), 44-49 (2010).
- Pham-Huy, L.A., He, H., Pham-Huy, C., Free radicals, antioxidants in disease and health, *Int. J. Biomed. Sci.*, 4 (2), 89-96 (2008).
- Piña, M.Z., Sandoval-Montiel, A., Serrano-Alessandri, L., Montalvo-Jave, E., Zentella-Dehesa, A., Piña, E., Ethanol-mediated oxidative changes in blood lipids and proteins are reversed by aspirin-like drugs, *Archives Med. Res.*, 38, 269-275 (2007).
- Powell, A.M., Chan, W.Y., Differential effects of ibuprofen and naproxen sodium on menstrual prostaglandin release and on prostaglandin production in the rat uterine homogenate, *Prostaglandins Leukot. Med.*, 13 (2), 129-137 (1984).
- Rao, P.N.P., Knaus, E.E., Evolution of nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs): Cyclooxygenase (COX) inhibition and beyond, *J. Pharm. Pharm. Sci.*, 11 (2), 81-110 (2008).
- Robich, M.P., Chu, L.M., Burgess, T.A., Feng, J., Bianchi, C., Sellke, F.W., Effects of selective cyclooxygenase-2 and non-selective COX inhibition on myocardial function and perfusion, *J. Cardiovasc. Pharmacol.*, 57 (1), 122-130 (2011).

- Robich, M.P., Chu, L.M., Feng, J., Burgess, T.A., Laham, R.J., Bianchi, C., Sellke, F.W., Effects of selective cyclooxygenase-2 and non-selective COX inhibition on ischemic myocardium, *J. Thorac Cardiovasc. Surg.*, 140 (5), 1143-1152 (2010).
- Saeed, S.A., Anwar, N., Khan, K.M., Sarfraz, N., Effects of chronic treatment with a cyclooxygenase inhibitor on reproductive parameters in male rat, *J. Ayub Med. Coll Abbottabad*, 21 (3), 66-71 (2009).
- Saksena, S.K., Lau, I.F., Bartke, A., Chang, M.C., Effects of indomethacin on blood plasma levels of LH and testosterone in male rats, *J. Reprod. Fert.*, 42, 311-317 (1975).
- Saleh, R.A., Agarwal, A., Oxidative stres and male infertility: from research bench to clinical practice, *J. Androl.*, 23 (6), 737-752 (2002).
- Salman, M.C., Özyüncü, Ö., Aksu, T., Günalp, S., Jinekolojide COX-2 inhibitörlerinin kullanımı, *Hacettepe T. D.*, 35 (2), 65-68 (2004).
- Satılmış, M., Bilgili, A., Nonsteroidal antiinflamatuvar ilaçların yeni kullanım seçenekleri, *Erciyes Üniv. Vet. Fak. D.*, 10 (1), 63-71 (2013).
- Sellers, R.S., Morton, D., Michael, B., Roome, N., Johnson, J.K., Yano, B.L., Perry, R., Schafer, K., Society of toxicologic pathology position paper: organ weight recommendations for toxicology studies, *Toxicol. Pathol.* 35, 751-755 (2007).
- Shimizu, Y., Yorimitsu, A., Maruyama, Y., Kubota, T., Aso, T., Bronson, R.A., Prostaglandins induce calcium influx in human spermatozoa, *Mol. Human Reprod. J.*, 4 (6), 555-561 (1998).
- Sikka, S.C., Role of oxidative stres and antioxidants in andrology and assisted reproductive technology, *J. Androl.*, 25 (1), 5-18 (2004).
- Silva, F.M., Marques, A., Chaveiro, A., Reactive oxygen species: a double-edged sword in reproduction, *The Open Vet. Sci. J.*, 4, 127-133 (2010).
- Smith, W.L., Garavito, R.M., DeWitt, D.L., Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenases)-1 and -2, *J. Biol. Chem.*, 271 (52), 33157-33160 (1996).
- Smith, W.L., Langenbach, R., Why there are two cyclooxygenase isozymes, *J. Clin. Invest.*, 107 (12), 1491-1495 (2001).
- Storey, K.B., Oxidative stress: animal adaptations in nature, *Brazilian J. Med. Biolog. Res.*, 29, 1715-1733 (1996).
- Suzuki, J., Ogawa, M., Futamatsu, H., Kosuge, H., Tanaka, H., Isobe, M., A cyclooxygenase-2 inhibitor alters Th1/Th2 cytokine balance and suppresses autoimmune myocarditis in rats, *J. Molec. Cell. Card.*, 40, 688-695 (2006).
- Şener, G., Yeğen, B.Ç., İskemi reperfüzyon hasarı, *Klin. Gel.*, 22 (3), 5-13 (2009).
- Tanaka, A., Araki, H., Komoike, Y., Hase, S., Takeuchi, K., Inhibition of both COX-1 and COX-2 is required for development of gastric damage in response to nonsteroidal antiinflammatory drugs, *J. Physiol. Paris*, 95 (1-6), 21-27 (2001).

- Tanaka, A., Hase, S., Miyazawa, T., Ohno, R., Takeuchi, K., Role of cyclooxygenase (COX)-1 and COX-2 inhibition in nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced intestinal damage in rats: relation to various pathogenic events., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 303 (3), 1248-1254 (2002).
- Tegeder, I., Neupert, W., Gühring, H., Geisslinger, G., Effects of selective and unselective cyclooxygenase inhibitors on prostanoid release from various rat organs, *J. Pharm. Experimen. Therap.*, 292 (3), 1161-1168 (2000).
- Tekcan, M., Oksidatif stres-antioksidan sistemler ve testis, *Türk Androl. Dern. D.*, 37, 131-136 (2009).
- Tilbrook, A.J., Clarke, I.J., Negative feedback regulation of the secretion and actions of gonadotropin-releasing hormone in males, *Biol. Rep.* 64, 735-742 (2001).
- Tremellen, K., Oxidative stress and male infertility - a clinical perspective, *Human Repr. Up.*, 14 (3), 243-258 (2008).
- Trevor, A.J., Katzung, B.G., Masters, S.B., *Farmakoloji Sınav ve Gözden Geçirme*, Güneş Tıp Yayınevleri, Ankara, 157-160, 2010.
- Turner, T.T., On the epididymis and its role in the development of the fertile ejakulate, *J. Androl.*, 16 (4), 292-298 (1995).
- Uçar, Ö., Akrozom reaksiyonunun sperma kalitesi, muhafazası ve suni tohumlama başarısındaki rolü, *Kafkas Üniv. Vet. Fak. D.*, 10 (1), 117-124 (2004).
- Uğurel, V., 41 Hafta ve Üzeri Gebeliklerde Servikal Olgunlaşma ve Doğum İndüksiyonu Amacıyla Dinoproston Vajinal Ovül ve Dinoproston Vajinal Ovüle Düşük Doz Oksitosin İlavesinin Karşılaştırılması, Uzmanlık Tezi, T.C. Sağlık Bakanlığı Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2. Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, İstanbul, Türkiye (2007).
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T.D., Mazur, M., Telser, J., Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, *The Int. J. Biochem. & Cell Biol.*, 39, 44-84 (2007).
- Villegas, I., La Casa, C., Lastra, C.A., Motilva, V., Herrerías, J.M., Martín, M.J., Mucosal damage induced by preferential COX-1 and COX-2 inhibitors: role of prostaglandins and inflammatory response, *Life Scie.*, 74, 873-884 (2004).
- Villegas, I., Lastra, C.A., La Casa, C., Motilva, V., Martín, J., Effects of food intake and oxidative stress on intestinal lesions caused by meloxicam and piroxicam in rats, *Europ. J. Pharmacol.*, 414, 79-86 (2001).
- Villegas, I., Martín, M.J., La Casa, C., Motilva, V., Lastra, C.A., Effects of meloxicam on oxygen radical generation in rat gastric mucosa, *Inflamm. Res.*, 49, 361-366 (2000).
- Walch, L., Morris, P.L., Cyclooxygenase 2 pathway mediates IL-1 β regulation of IL-1 α , -1 β and IL-6 mRNA levels in leydig cell progenitors, *Endocrinology*, 143 (9), 3276-3283 (2002).

Walker, W.H., Cheng, J., FSH and testosterone signaling in sertoli cells, *Reprod.*, 130, 15-28 (2005).

Wang, J., Cheng, H., Harris, R.C., Cyclooxygenase-2 inhibition decreases renin content and lowers blood pressure in a model of renovascular hypertension, *J. Americ. Heart Assoc.*, 34 (1), 96-101 (1999).

Wang, X., Dyson, M.T., Jo, Y., Stocco, D.M., Inhibition of cyclooxygenase-2 activity enhances steroidogenesis and steroidogenic acute regulatory gene expression in MA-10 mouse leydig cells, *Endocrinology*, 144 (8), 3368-3375 (2003).

Wang, X., Shen, C., Dyson, M.T., Eirmerl, S., Orly, J., Hutson, J.C., Stocco, D.M., Cyclooxygenase-2 regulation of the age-related decline in testosterone biosynthesis, *Endocrinology*, 146 (10), 4202-4208 (2005).

Wangikar, P., Ahmed, T., Vangala, S., Toxicologic pathology of the reproductive system, *Reproductive and Developmental Toxicology*, R.C. Gupta, Elsevier Inc., Londra, İngiltere, 1003-1026 (2011).

Weinbauert, G.F., Bartlett, J.M.S., Fingscheidt, U., Tsonis, C.G., Kretser, D.M., Nieschlag, E., Evidence for a major role of inhibin in the feedback control of FSH in the male rat, *J. Reprod. Fert.*, 85, 355-362 (1989).

Winnall, W.R., Ali, U., O'Bryan, M.K., Hirst, J.J., Whiley, P.A.F., Muir, J.A., Hedger, M.P., Constitutive expression of prostaglandin-endoperoxide synthase 2 by somatic and spermatogenic cells is responsible for prostaglandin E₂ production in the adult rat testis, *Biol. Reprod. J.*, 76, 759-768 (2007).

Wolfe, M.M., Lichtenstein, D.R., Singh, G., Gastrointestinal toxicity of nonsteroidal antiinflammatory drugs, *New Engl. J. Med.*, 340 (24), 1888-1899 (1999).

World Health Organization laboratory manual for the examination of human semen fifth edition, WHO official web site, Geneva, Switzerland, 224 (2010).

Yıldız, S., Erkek infertilitesinde spermogram bulgularıyla semen ve kan prostaglandin düzeyleri arasındaki ilişkiler, *Türk Ürol. D.*, 14 (4), 429-435 (1988).

Yiğitbaşı, T., Baskın, Y., Çelik, H., Karaarslan, F., Taheri, C., Afacan, G., Aslan, D., Erel, Ö., The evaluation of total antioxidant and oxidant response in seminal plasma in fertile and infertile men using a novel automated method, *T. Klin. J. Med. Sci.*, 31(1), 61-67 (2011).

Yocum, D., Fleischmann, R., Dalgin, P., Caldwell, J., Hall, D., Roszko, P., Safety and efficacy of meloxicam in the treatment of osteoarthritis, *Arch. Intern. Med.*, 160, 2947-2954 (2000).

Yokoyama, H., Horie, T., Awazu, S., Naproxen-induced oxidative stress in the isolated perfused rat liver, *Chemico-Biolog. Interac.*, 160, 150-158 (2006).

Yoshikawa, T., Naito, Y., Kishi, A., Tomii, T., Kaneko, T., Iinuma, S., Ichikawa, H., Yasuda, M., Takahashi, S., Kondo, M., Role of active oxygen, lipid

peroxidation, and antioxidants in the pathogenesis of gastric mucosal injury induced by indomethacin in rats, *Gut*, 34, 732-737 (1993).