



**VENLAFAKSİNİN VE MİRTAZAPİNİN ERKEK REPRODUKTİF SİSTEM
HÜCRE DİZİLERİNDE TOKSİSİTESİNİN İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Recep Kadir YÜCE

Eskişehir 2025

**VENLAFAKSİNİN VE MİRTAZAPİNİN ERKEK REPRODUKTİF SİSTEM
HÜCRE DİZİLERİNDE TOKSİSİTESİNİN İNCELENMESİ**

Recep Kadir YÜCE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Programı

Danışman: Prof. Dr. Sinem ILGIN

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ocak 2025

Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Koordinatörlüğü tarafından TYL-2024-2588 proje numarası ile desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Recep Kadir YÜCE'nin "Venlafaksin ve Mirtazapinin Erkek Reprodüktif Sistem Hücre Dizilerinde Toksisitesinin İncelenmesi" başlıklı tezi .../.../20... tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Yeterlik Tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Danışman)	Prof. Dr. Sinem ILGIN Anadolu Üniversitesi	
Üye	Prof. Dr. Özlem ATLI EKİÖĞLU Anadolu Üniversitesi	
Üye	Prof. Dr. Gözde AYDOĞAN KILIÇ Eskişehir Teknik Üniversitesi	

Prof. Dr. Saime ÖNCE
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

VENLAFAKSİNİN VE MİRTAZAPİNİN ERKEK REPRODUKTİF SİSTEM HÜCRE DİZİLERİNDE TOKSİSİTESİNİN İNCELENMESİ

Recep Kadir YÜCE

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Programı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Ocak 2025

Danışman: Prof. Dr. Sinem ILGIN

İlaçların tedavide kullanıldıkları etkilerine sekonder farklı sistemler üzerinde indükledikleri toksik/advers etkilerinin belirlenmesi ilaç güvenilirliği açısından büyük önem taşımaktadır. Birçok sistemde istenmeyen etkilere neden olabilen ilaçlar hem kadınlarda hem de erkeklerde fertilitiyi etkileyebilmektedir. Özellikle reproduktif yaşlarda tekrarlayan dozlarda kullanılan ilaçların fertilitiyi etkilemesi kaçınılmazdır. Serotonin-noradrenalin geri alım inhibitörü antidepresan ilaç venlafaksin ve atipik antidepresan ilaç mirtazepinin erkek reproduktif sistem üzerindeki istenmeyen etkilerini değerlendiren az sayıdaki çalışmaya ek olarak reproduktif sistemde hücresel düzeyde etkilerini gösteren herhangi bir çalışma bulunmadığı belirlenmiştir. Bu noktadan hareketle, bu tez çalışmasında venlafaksin ve mirtazepinin TM3 (fare testis Leydig hücre dizisi) hücre dizilerinde *in vitro* reproduktif toksisitesinin araştırılması ve olası toksisitenin mekanizmasının aydınlatılması amaçlanmıştır. Çalışmada, TM3 Leydig hücreleri üzerinde doza bağımlı hücre canlılığı MTT deneyi ile test edilerek inhibitör konsantrasyon 50 değeri belirlenmiştir. Bu konsantrasyondan hareketle apoptozun belirlenmesi için Annexin V/Propidyum İyodür apoptoz testi gerçekleştirilmiş, reaktif oksijen türleri üretiminin belirlenmesi için Diklorofloresin-diasetat yöntemi uygulanmıştır. TM3 Leydig hücrelerinin 24 ve 48 saat süre ile venlafaksin yüksek konsantrasyonlarına maruziyeti belirgin bir sitotoksik etkiye neden olmazken, mirtazepinin sitotoksik etkiye neden olduğu belirlenmiştir. Mirtazepinin TM3 Leydig hücrelerinde apoptotik hücre ölümünü tetiklediği ve reaktif oksijen türleri üretimini indüklediği belirlenmiştir. Sonuç olarak, venlafaksin ile olmasa da mirtazepin ile reproduktif toksisiteyi işaret eden temel bulgular elde edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Venlafaksin, Mirtazepin, TM3 Leydig hücreleri, Apoptoz, Reaktif oksijen türleri.

ABSTRACT

EVALUATION OF VENLAFAXINE AND MIRTAZAPINE TOXICITY IN MALE REPRODUCTIVE CELL LINES

Recep Kadir YÜCE

Department of Pharmaceutical Toxicology

Programme in Master

Graduate School of Anadolu University, January 2025

Supervisor: Prof. Dr. Sinem ILGIN

Determining the toxic/adverse effects that drugs induce on different systems secondary to the impact of their use in treatment is of great importance in terms of drug safety. Drugs that can cause undesirable effects on many systems can affect fertility in both women and men. It is inevitable that medications used in repeated doses, especially during reproductive ages, will affect fertility. In addition to a small number of studies evaluating the undesirable effects of the serotonin-noradrenaline reuptake inhibitor antidepressant drug venlafaxine and the atypical antidepressant drug mirtazapine on the male reproductive system, it was determined that there were no studies demonstrating their effects on the reproductive system at the cellular level. From this point of view, this thesis aimed to investigate the *in vitro* reproductive toxicity of venlafaxine and mirtazapine in TM3 (mouse testis Leydig cell line) cell lines and to elucidate the mechanism of possible toxicity. In this study, dose-dependent cell viability on TM3 Leydig cells was tested by MTT assay and inhibitory concentration 50 was determined. Based on this concentration, Annexin V/Propidium Iodide apoptosis assay was performed to determine apoptosis and Dichlorofluorescein-diacetate method was applied to determine reactive oxygen species production. Exposure of TM3 Leydig cells to high concentrations of venlafaxine for 24 and 48 hours did not cause a significant cytotoxic effect, whereas mirtazapine caused a cytotoxic effect. Mirtazapine triggered apoptotic cell death and induced reactive oxygen species production in TM3 Leydig cells. In conclusion, basic findings indicating reproductive toxicity were obtained with mirtazapine but not with venlafaxine.

Keywords: Venlafaxine, Mirtazapine, TM3 Leydig cells, Apoptosis, Reactive oxygen species.

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitim sürecim boyunca her zaman yanımda olan, hiçbir konuda desteklerini esirgemeyen, engin bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, değerli danışman hocam Prof. Dr. Sinem **ILGIN**'a;

Lisans ve lisansüstü eğitimim ve meslek hayatımda yol göstericim olan, kıymetli tecrübelerini her daim bana aktaran saygıdeğer hocam Karadeniz Teknik Üniversitesi Farmasötik Toksikoloji Abd. Başkanı Doç. Dr. Can Özgür **YALÇIN**'a;

Anadolu Üniversitesi Farmasötik Toksikoloji Abd. Başkanı değerli hocam Prof. Dr. Bülent **ERGUN**'a, sayın hocam Prof. Dr. Özlem **ATLI EKLİOĞLU**'na ve sayın hocam Dr. Öğr. Üyesi Merve **BAYSAL**'a;

Lisansüstü eğitim sürecim boyunca bilgilerini ve deneyimlerini paylaşan hocam Arş. Gör. Abdullah Burak **KARADUMAN**'a; tez sürecimde üzerimde emeklerini esirgemeyen, her ihtiyaç duyduğumda yardımlarını aldığım değerli hocam Öğr. Gör. Büşra **KORKUT ÇELİKATEŞ**'e; deney sürecimde ve araştırmalarımda desteğini esirgemeyen Arş. Gör. Merve **GÜVEN**'e, desteklerinden dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Parçası olmaktan gurur duyduğum Karadeniz Teknik Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ndeki hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Lisansüstü eğitimimde TÜBİTAK Bilim İnsanı Destek Programları Başkanlığı (BİDEB) 2210-A Yurt İçi Lisansüstü Burs Programı kapsamında destek aldığım TÜBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Her şeyimi borçlu olduğum canım babam Neşat **YÜCE**'ye, canım annem Pervin **YÜCE**'ye, her zaman destekçilerim, ablalarım Selvi **ERKAN** ve Seda **AKPINAR**'a, değerli eşim, yoldaşım Şeymanur **YÜCE**'ye ve dostlarım Furkan **KARAMAN** ve Furkan **VAHAPOĞLU**'na sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Recep Kadir YÜCE

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

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

Ecz. Recep Kadir YÜCE

30.12.2024

ETİK KURUL BELGESİ BEYANNAMESİ

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında, yürütülmesinde, verilerin analizinde Etik Kurul İzni'ne gerek yoktur.

Recep Kadir YÜCE

30.12.2024

ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI

Bu tez çalışmasının hazırlanması, yürütülmesi, verilerin analizi vb. aşamalarının herhangi birinde üretken yapay zekâ programlarından yararlanmadığımı beyan ederim.

Recep Kadir YÜCE

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
ETİK KURUL BELGESİ BEYANNAMESİ.....	vii
ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
1 GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2 GENEL BİLGİLER.....	3
2.1 Reprodüktif Endokrinolojinin Genel İlkeleri.....	3
2.2 Erkek Reprodüktif Sistemi.....	3
2.2.1 Gametogenez.....	6
2.2.2 Spermatogenez.....	7
2.2.3 Hipotalamus-Hipofiz-Gonadal eksenini.....	9
2.3 Reprodüktif Advers Etkiler.....	10
2.3.1 Reprodüktif advers etkilerin belirlenmesinde kullanılan belirteçler.....	11
2.3.1.1 Spermatogenez ve hormonal düzenleme.....	11
2.3.1.2 Testisin histopatolojik incelenmesi.....	12
2.3.1.3 Testiste oksidatif stresin belirlenmesi.....	12

2.3.1.4 Hormonal parametreler.....	12
2.3.2 Reprodüktif advers etkilere neden olan ilaç örnekleri.....	13
2.4 Antidepresan İlaçların Neden Olduğu Reprodüktif Advers Etkiler.....	14
2.4.1 Venlafaksin ve reprodüktif advers etkileri.....	17
2.4.2 Mirtazapin ve reprodüktif advers etkileri.....	18
3 GEREÇLER.....	20
3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	20
3.2 Kullanılan Araç ve Gereçler.....	20
3.3 Kullanılan Hücre Hatları.....	21
4 YÖNTEMLER.....	22
4.1 Hücre Hatlarının Çoğaltılması.....	22
4.2 MTT Hücre Canlılığı Testi.....	22
4.2.1 MTT sitotoksosite testinin uygulanması.....	23
4.3 Apoptoz Belirleme Yöntemleri.....	23
4.3.1 Annexin V/Propidyum iyodür ile apoptozun belirlenmesi.....	24
4.3.2 Annexin V/Propidyum iyodür apoptoz belirleme deneyinin uygulanması.....	24
4.4 Hücre İçi Reaktif Oksijen Türleri Üretiminin Belirlenmesi.....	25
4.4.1 DCFDA/H2DCFDA testi ile reaktif oksijen türleri üretiminin belirlenmesi.....	26
5 BULGULAR.....	28
5.1 MTT Hücre Canlılığı Testi Sonuçları.....	28
5.1.1 Venlafaksin MTT sitotoksosite testi sonuçları.....	28
5.1.2 Mirtazepinin MTT sitotoksosite testi sonuçları.....	29
5.2 Annexin V/Propidyum İyodür Apoptoz Testi Sonuçları.....	30
5.3 DCFDA/H2DCFDA Testi Sonuçları.....	31
6 SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	33

6.1 Sonuç.....	33
6.2 Tartışma.....	33
6.3 Öneriler.....	35
KAYNAKÇA.....	37
ÖZGEÇMİŞ	



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 Erkek Reprodüktif Sistem ve Testisin Yapısı.....	4
Şekil 2.2 Seminifer Tübül Yapısı.....	5
Şekil 2.3 Spermatogenez Aşamaları.....	8
Şekil 2.4 Hipotalamus-Hipofiz-Gonadal Eksen.....	10
Şekil 4.1 Apoptozun Mekanizması.....	24
Şekil 5.1 Venlafaksinın TM3 Leydig Hücrelerinde Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri (24 Saat).....	28
Şekil 5.2 Venlafaksinın TM3 Leydig Hücrelerinde Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri (48 Saat).....	29
Şekil 5.3 Mirtazepinin TM3 Leydig Hücrelerinde Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri (24 Saat).....	29
Şekil 5.4 Mirtazepinin TM3 Leydig Hücrelerinde Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri (48 Saat).....	30
Şekil 5.5 Mirtazepinin TM3 Hücrelerinde Akış Sitometrik Analiz Diyagramı.....	31
Şekil 5.6 Mirtazepinin TM3 Leydig Hücrelerinde ROT Üretimi Üzerine Etkileri.....	32

KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ATCC	: American Type Culture Collection
CYP450	: Sitokrom P450
DCF	: Diklorofloresin
DCFDA	: 2',7'-Diklorofloresin Diasetat
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
FDA	: Food and Drug Administration (Gıda ve İlaç Dairesi)
FITC	: Fluorescein Isothiocyanate
FSH	: Folikül Stimüle Edici Hormon
GnRH	: Gonadotropin Salıverici Hormon
HHG	: Hipotalamus-Hipofiz-Gonadal
İK50	: İnhibitör Konsantasyon 50
LDH	: Laktat Dehidrojenaz
LH	: Lüteinleştirici Hormon
MAO	: Monoamin Oksidaz
MAO-A	: Monoamin Oksidaz-A
MAO-B	: Monoamin Oksidaz-B

MTT	: 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difenil Tetrazolyum Bromür
NADH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NMDA	: N-Metil-D-Aspartat
NSAİİ	: Non-steroidal Antiinflatuar İlaçlar
PBS	: Fosfat Tamponlu Salin
PI	: Propidium Iodide
PPI	: Proton Pompa İnhibitörleri
RNT	: Reaktif Nitrojen Türleri
ROT	: Reaktif Oksijen Türleri
SNRI	: Serotonin Noradrenalin Geri Alım İnhibitörleri
SSRI	: Selektif Serotonin Geri Alım İnhibitörleri
TBHP	: Tert-Butilhidroperoksit
TM3	: Leydig Hücreleri
5-HT1A	: 5-hidroksitriptamin-1A
5-HT2	: 5-hidroksitriptamin-2
5-HT3	: 5-hidroksitriptamin-3

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Reprodüktif sağlık bireylerin yaşam kalitesini etkileyen bir durum olması yanında gebelik süresince hem maternal hem fetal sağlığı gebelik sonrasında infant, bebek ve çocuk sağlığını etkilemektedir. Bu anlamda son yıllarda reprodüktif sağlık önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir (Mascarenhas vd., 2012; EPA, 1996). İnfertilite ise ne kadar ihmal edilse de reprodüktif sağlığın kritik bir komponentidir. Dünya genelinde bir sağlık problemi olarak kabul edilse de büyüklüğünü, prevalansını ve etiyolojisini aydınlatmaya yönelik çok az çalışma bulunmaktadır (Agarwal vd., 2014; Inhorn ve Patrizio, 2015). Özellikle toplumsal baskılar bunun temelini oluşturmaktadır. Erkek infertilitesini tespit etmek toplumsal baskılardan dolayı çok daha zordur (Agarwal vd., 2014). Özellikle tekrarlayan dozlarda maruz kalan ilaçların erkek reprodüktif sistem üzerine toksisitesinin değerlendirilmesi önemli araştırma alanı olarak ön plana çıkmaktadır (McPhee, 2000; Pasqualotto vd., 2004).

In vivo çalışmalara alternatif *in vitro* çalışmalar ksenobiyotiklerin toksisitesinin taranmasında hem zaman hem de maliyet açısından avantajlar sağlamaktadır. Hücre kültürü düzeyinde dokuları oluşturan farklı hücrelerin fonksiyonlarına yönelik yapılan çalışmalar da toksisitenin mekanizmasının aydınlatılmasına önemli katkı sağlamaktadır (Parks Saldutti vd, 2013; Reis vd., 2015). Bilindiği gibi erkek reprodüktif sistem üzerine toksik etkilerde spermatogenez sürecinin değerlendirilmesi büyük önem taşımaktadır. Spermatogenez sürecinin devamlılığı ise spermatogonium hücrelerinin olgunlaşmasını içermektedir. Ancak bu süreçte testiküler yapının diğer bileşenleri olarak Sertoli ve Leydig hücreleri önemli rol oynamaktadır (Chang vd., 2017). Sertoli hücreleri spermatogenik hücrelerin gelişmesi için nutrisyonel destek sağlamaktadır. Bu kapsamda folikül stimüle edici hormonun (FSH) etkisi altında androjen bağlayıcı proteini salgıvermektedir. Ayrıca hipofizden FSH salgıverilmesini baskılayan inhibin B hormonunu da salgıvermektedir. Spermatogenezin parakrin ve endokrin kontrolünde rol oynamakta, yani spermatogenez doğrudan veya dolaylı olarak kontrol etmektedir. Yapısal olarak Sertoli hücrelerinin bir diğer önemli görevi de kan-testis bariyerini korumaktır. Bu bariyer, hepsi seminifer tübüllerin bazal membranında bulunan bitişik Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılardan oluşmaktadır (Wong ve Khan, 2024). Leydig hücreleri ise erkeklerde testosteron veya androjenlerin birincil kaynağıdır. Bu fizyoloji, sperm üretimi veya spermatogenez, seksüel gelişimi kontrol etme ve ikincil cinsiyet özelliklerini ve

davranışlarını sürdürme dahil olmak üzere erkeklerde birçok hayati fizyolojik süreçte önemli bir rol oynamalarına olanak tanımaktadır (Aladamat ve Tadi, 2024). Erkek reproduksiyonu, Leydig hücre fonksiyonunun düzenlenmesi yoluyla yetersiz veya aşırı steroid hormon üretiminin kontrolüyle doğrudan ilişkilidir. Steroidogenez, testosteron üretimini sağlamak için çeşitli genlerin ifadesini kontrol eden farklı sinyal yolları aracılığıyla esas olarak LH tarafından düzenlenen karmaşık bir süreçtir. Leydig hücreleri ayrıca sitokrom P450 aromataz aktivitesi yoluyla testosteronun östrojene irreversibl dönüşümü yoluyla östrojen de üretmektedir. Östrojen seviyelerine ve testis hücre tipine bağlı olarak, bu steroid hormon bir hayatta kalma veya pro-apoptotik faktör olarak hareket edebilmektedir. Suprafizyolojik östrojen seviyeleri Leydig hücre hipertrofisi ile ilişkilendirilmiştir ve östrojenik bileşikler germ hücrelerinin ölümüne neden olmaktadır ve germ hücrelerinin mitozunu/mayozunu bozmaktadır (De Santi vd., 2022).

Bu tez kapsamında venlafaksin ve mirtazepinin Leydig hücrelerinde toksisitesinin değerlendirilmesi ve olası toksisitenin mekanizmasının aydınlatılması amaçlanmaktadır. Leydig hücrelerinde venlafaksin ve mirtazepinin hücre canlılığına etkisi MTT testi ile 24 ve 48 saatlik maruziyet süreleri ile belirlenecektir. Devamında apoptotik/nekrotik hücre ölümünden hangisinin venlafaksin ve mirtazepin ile tetiklendiği FITC-Annexin V yöntemiyle akış sitometri analizi ile belirlenecektir. Bunlara ek olarak reproduktif toksik etkilerin patogenezinde önemli rol oynayan oksidatif stres ise hücrelerde reaktif oksijen türlerinin seviyesi diklorodihidrofloresein diasetat (DCFH-DA) yöntemiyle akış sitometri analizi ile ölçülerek değerlendirilecektir.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Reprodüktif Endokrinolojinin Genel İlkeleri

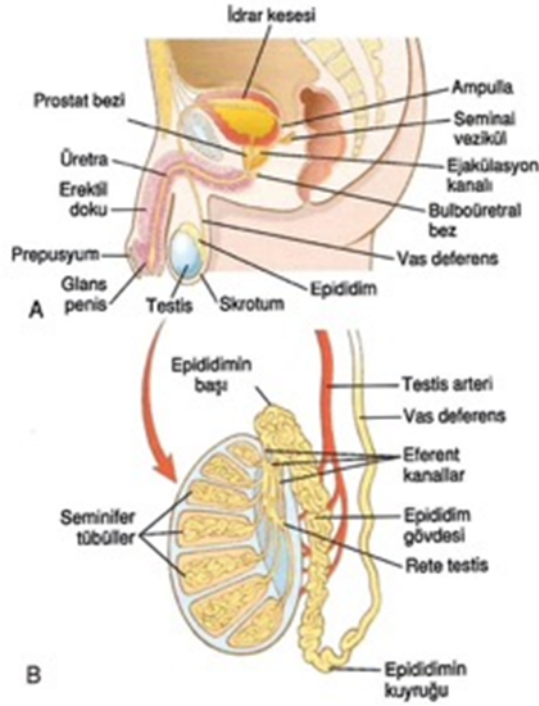
İnsanlarda germ hücrelerinin oluşumu embriyogenez sırasında, ilk trimesterin 4. haftasında başlamaktadır. Bazı hücreler gelişimin erken dönemlerinde gametlerin atası olarak seçilmektedir. Bu ilkel germ hücreleri, erkeklerde testisleri, dişilerde yumurtalıkları oluşturacak olan ve gelişmekte olan gonadlara farklılaşmaktadır. Her iki cinsiyette de gonadların ikili fonksiyonu bulunmaktadır. Bu fonksiyonlardan birincisi gametogenezdır, böylece reprodüktif sistem hücreleri ve gametler üretilmektedir. Bunlar erkekte spermatozoon (çoğulu spermatozoa, kısaca sperm ifadesi kullanılmaktadır) ve dişide ovumdur (yumurta). İkincil fonksiyon olarak gonadlar, çoğu kez cinsiyet hormonları ya da gonadal steroidler denilen steroid hormonları salıvermektedir. Cinsiyet hormonlarının iki ana sınıfı androjenler ve östrojenlerdir. Kadınlarda dolaşımdaki östrojen seviyeleri daha yüksekken, erkeklerin dolaşımdaki androjen seviyeleri daha yüksektir. Östrojenler östradiol ve progesteron, androjenler testosteron ve dihidrotestosterondur (Kocer vd., 2009).

2.2 Erkek Reprodüktif Sistemi

İnsan erkek reprodüktif sistemi, erkeğin pelvik bölgesi çevresinde yer alan, reprodüktif sürece katkıda bulunan organlar topluluğudur. Erkek reprodüktif sisteminin temel ve doğrudan fonksiyonu, döllenme için gamet veya spermatozoayı üretmektir. Erkek reprodüktif sistemi testis, aksesuar kanallar, yardımcı bezler ve skrotum ve penisten oluşmaktadır (Gunes vd., 2016).

Şekil 2.1

Erkek Reprodüktif Sistem ve Testisin Yapısı



Kaynak: Hall ve Hall, 2021

Testislerin spermatogenez ve steroidogenez olmak üzere iki temel fonksiyonu bulunmaktadır. Testisin seminifer tübülleri içerisinde spermatogenez ile spermatozoa gelişimi ve interstisyel kompartmanda steroidogenez veya testosteron sentezi gerçekleşmektedir. Spermatogenez seminifer tübüllerdeki tabakalı epitel içerisinde gerçekleşirken, testosteron üretimi seminifer tübüller arasında yayılmış olan Leydig hücreleri içinde gerçekleşmektedir. Ayrıca erkeklerde ikincil cinsiyet özelliklerinin, sperm gelişiminin ve fertilitenin belirlenmesinde testosteron önemli bir rol oynamaktadır (James vd., 2020).

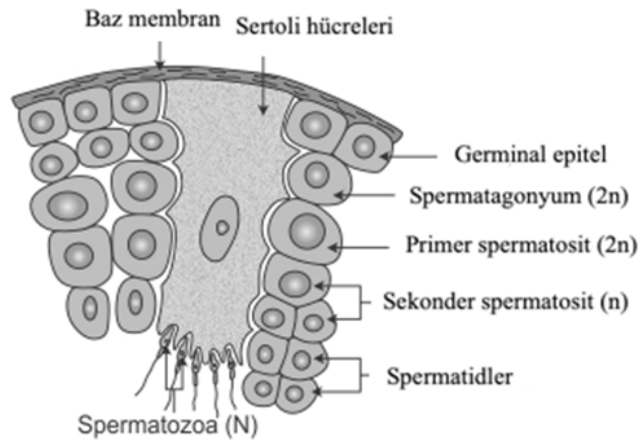
Aksesuar kanallar; epididimis, seminifer tübüller, rete testis, efferent kanallar, vas deferens, ejakülatör kanal ve üretrayı içermektedir. Epididimis kıvrımlı, hilal şeklinde; vas deferensi testiküler efferent kanallara bağlayan hilal şeklinde bir yapıdır, insanlarda yaklaşık 3,8 cm uzunluğundadır ve tüm erkek sürüngenlerde, kuşlarda ve memelilerde bulunmaktadır. Epididimisin fonksiyonları arasında, spermatozoanın taşınması, depolanması ve olgunlaştırılması yer almaktadır. Kauda epididimis, ejakülasyondan önce fonksiyonel olarak olgun sperm hücreleri için bir depolama yeri olarak fonksiyon görmektedir. Kauda epitel hücreleri, depolama sırasında spermleri pasif bir durumda tutmak için tasarlanmış bir lümen ortamının korunmasına yardımcı olan faktörler

salıvermektedir. Ayrıca epididimal geçiş sırasında sperm olgunlaşması meydana gelmektedir. Spermiler epididimiste hareketlilik ve bir oositin başarılı bir şekilde döllenmesi için gerekli özellikleri kazanmaktadır (James vd., 2020).

Seminifer tübüller, testislerin iç yapısında yer almakta ve spermatogoniumdan spermatozoaya kadar olan tüm spermatogenik aşamaların gerçekleştiği yer olarak ifade edilmektedir. Seminifer tübüller bu süreçte Sertoli hücreleri ve Leydig hücreleri gibi diğer hücrelerle de etkileşim halindedir. Seminifer tübüllerde, sperm hücrelerinin gelişim süreci tübüllerde bulunan Sertoli hücrelerinin gerekli besin maddelerinin salıverilmesi ile gerçekleşmektedir. Ayrıca seminifer tübüllerde testislerin savunmasında önemli bir rolü olan kan-testis bariyeri de bulunmaktadır (Rato vd., 2010).

şekil 2.2

Seminifer Tübül Yapısı



Kaynak: Hall ve Hall, 2021

Testislerin seminifer tübülleri, rete testis adı verilen yassılaşmış kanallardan oluşan bir odaya açılmaktadır. Rete testis, yeni salıverilen spermatozoa ve testiküler seminifer tübüllerde üretilen seminifer sıvılar için bir kanal ve çıkış noktası görevi görmektedir. Olgun rete testis, sperm taşınması için bir kanal olmasının yanı sıra, sıvı rezorpsiyonunda da önemli bir rol oynamaktadır. Rete testis ve seminifer tübüller arasında sıvı bileşimi önemli bir ölçüde değişmektedir ve bu değişim süreci rete testis boyunca protein emilimini içermektedir. Bu nedenle rete sistemi, testisi terk ederken seminar sıvı bileşimini düzenlemede önemli rol oynamaktadır (Grisswold, 1998; Rato vd., 2010).

Efferent kanallar, erkek reprodüktif sisteminde spermin testislerden epididimise taşınmasında kilit rol oynamaktadır. Efferent kanallar, silyalı ve silyasız epitel hücrelerinin bulunduğu çok katmanlı bir yapıdan oluşmaktadır. Bu hücreler seminifer sıvısının yoğunlaştırılmasında ve spermin epididimise doğru hareket etmesinde etkin rol oynamaktadır. Ayrıca efferent kanallardaki silyasız hücreler, suyun geri emilimini sağlayan aquaporin gibi su kanallarına sahiptir. Bu geri emilim fonksiyonu, seminifer sıvıyı yoğunlaştırarak spermin epididimise daha konsantre bir şekilde ulaşmasını sağlamaktadır. Efferent kanallar, silyalı hücreleriyle de spermin hareketini sağlamaktadır (Joseph vd., 2011).

Vas deferens, epididimisin kuyruğu ile devamlılık gösteren ve prostatik üretraya kadar uzanan kalın duvarlı, kıvrımlı bir tüptür. Vas deferens, epididimiste depolanan spermleri üretraya aktarmaktadır. Kanalı çevreleyen kalın fibromüsküler tabaka, sempatik sinir sistemi tarafından innerve edilmektedir ve uyarıldığında, ejakülasyon sırasında spermin kanal boyunca hızlı bir şekilde ilerlemesini sağlamak için kasılmaktadır (Creasy ve Foster, 2002).

Ejak lat r kanallar, ejakülasyon sırasında sperm ve seminal sıvının taşınmasında görev almaktadır. Ayrıca testislerde üretilen sperm ile seminal veziküllerde üretilen seminal sıvının birleşerek üretraya iletilmesinden ejakülatör kanallar sorumludur (Modgil vd., 2016)

Üretranın fonksiyonu genel olarak idrar ve meni geçişini sağlamaktır. Üretra, idrar kesesi gibi üriner sistemin distal kısımlarını dış ortama bağlamakta ve idrarın vücuttan atılmasını sağlamaktadır (Creasy ve Foster, 2002).

2.2.1 Gametogenez

Olgun reprodüktif hücrelerin oluşum süreci gametogenez olarak adlandırılmaktadır.  nc  hücreler olarak da adlandırılan primordial germ hücreleri, mitotik ve mayotik bir dizi hücre bölünmesinin ardından hücre farklılaşması geçirerek gamet haline gelmektedir. Gametogenez süreci erkeklerde spermatogenez olarak adlandırılıp, bu sürecin sonucunda olgun spermatozoa oluşurken, kadınlarda bu süreç oogenez olarak adlandırılmakta ve oosit (yumurta) gelişimiyle sonuçlanmaktadır. Mitoz sırasında bir hücre genetik materyalinin tam bir kopyasını oluşturmakta ve hücre bölünmesinden sonra her iki yavru hücre de ana hücrenin genetik bilgisinin tam bir kopyasını almaktadır. Mayoz bölünme ise iki aşamalı bir bölünme sürecidir, ilk adım DNA replikasyonunu içermektedir (mayoz

I, M1). Mayoz I sırasında homolog kromozomlar eşleşmekte ve genetik bilgi homolog kromozomlar arasında aktarılmaktadır (kromozomal çaprazlama). Mayoz II sırasında kardeş kromatitlerin ayrılması gerçekleşerek; sperm ya da yumurta haline gelen haploid hücreler oluşmaktadır (Larose vd., 2019).

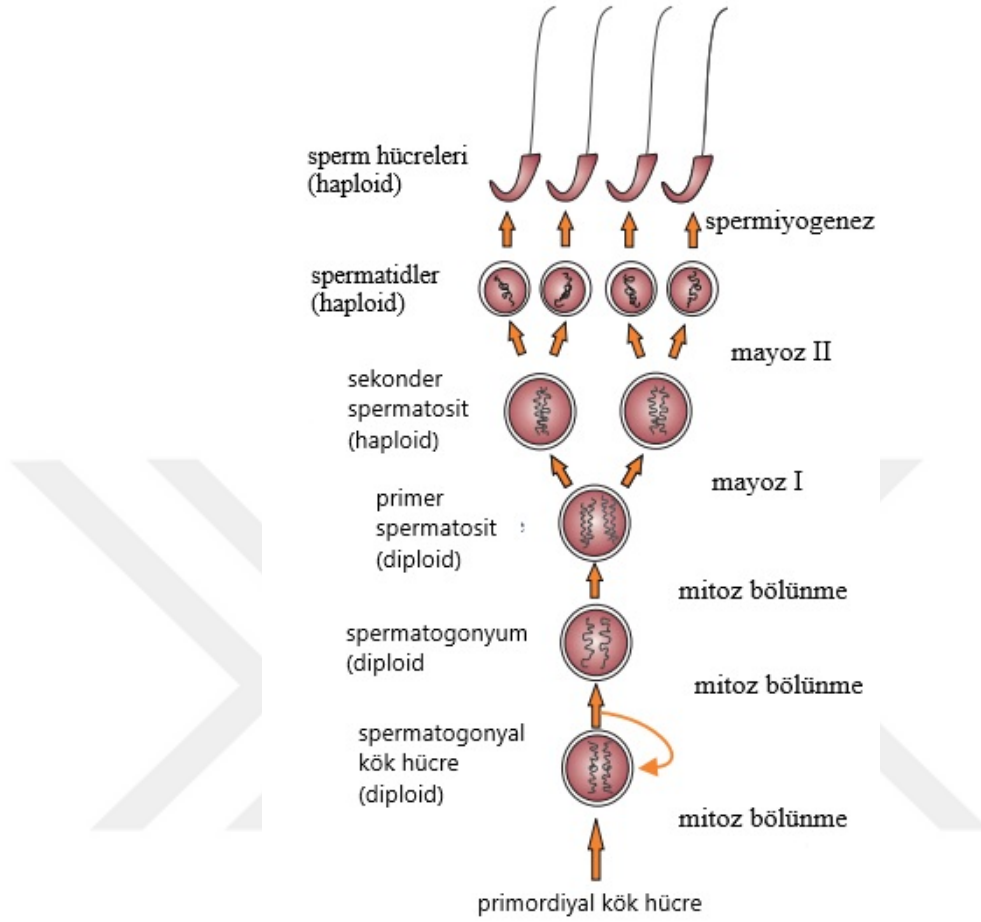
2.2.2 Spermatogenez

Primordiyal germ hücreleri, embriyonun gelişimi sırasında testise göç etmekte ve seminifer tübüllerde spermatogonyum adı verilen olgunlaşmamış germ hücrelerine dönüşmektedir. Sertoli hücrelerinin yapısal ve besinsel desteği; endokrin faktörlerin hassas düzenlemesi altında, seminifer tübüller içerisinde spermatogoninin olgun spermlere dönüşümü spermatogenez olarak adlandırılmaktadır. Spermatogenez puberte ile birlikte başlamakta ve yaşlanma ile azalsa da devam edebilmektedir (Mruk ve Cheng, 2015).

Spermatogenez, ön hipofiz hormonlarının impulsları sonucunda, testiste seminifer tübüllerde meydana gelmektedir. İlk evrede, spermatogoniumlar seminifer tübülün merkezine doğru Sertoli hücreleri arasına yerleşmektedir. Spermatogoniumlar büyük bir primer spermatosit oluşturmak üzere büyümektedir. Ardından mayoz bölünme sonucu her primer spermatosit 2 sekonder spermatosit oluşmaktadır. Birkaç gün sonra ise sekonder spermatositler de bölünerek spermatidleri oluşturmaktadır. Son olarak spermatidler spermatozoaya (sperm) dönüşmektedir (Hall ve Hall, 2021).

Şekil 2.3

Spermatogenez Aşamaları



Kaynak: Hall ve Hall, 2021

Spermatogenik süreç adım adım meydana gelmekte ve parakrin, otokrin ve hormonal uyarıların etkileşimi ile düzenlenmektedir. Ayrıca spermatogenezin başlangıcı ve devamlılığı; ön hipofiz hormonları olan FSH ve LH kontrolü altındadır. FSH, normal ve fonksiyonel bir Sertoli hücre popülasyonu oluşturmak için, LH ise testosteron üretimini teşvik etmek için özellikle önemlidir. Sertoli hücreleri, spermatogenez için gerekli olan testis somatik hücreleridir. Sertoli hücreleri, doğrudan temas yoluyla ve seminifer tübüller içindeki çevre ortamını kontrol ederek, germ hücrelerinin spermatozoaya dönüşümünü kolaylaştırmaktadır (Doğantekin ve Özcan, 2016). Erkeklerde Leydig hücreleri, hipotalamustan gonadotropin salıverici hormonun (GnRH) pulsatil salıverilmesine yanıt olarak ön hipofiz bezinden salıverilen LH tarafından uyarıldıktan sonra; testosteron üretiminden ve salıverilmesinden sorumludur. Testosteron, spermatogenezin başlatılması ve sürdürülmesi için gerekli olan androjendir ve olgun sperm üretimi testisteki androjen etkisi ile ilişkilidir. Spermatogenezde kan-testis bariyerinin korunması, mayoz bölünme,

Sertoli-spermatit adezyonu ve sperm salgısı için testosteron gereklidir (Grisswold, 1998; Mruk ve Cheng, 2015).

2.2.3 Hipotalamus-Hipofiz-Gonadal eksen

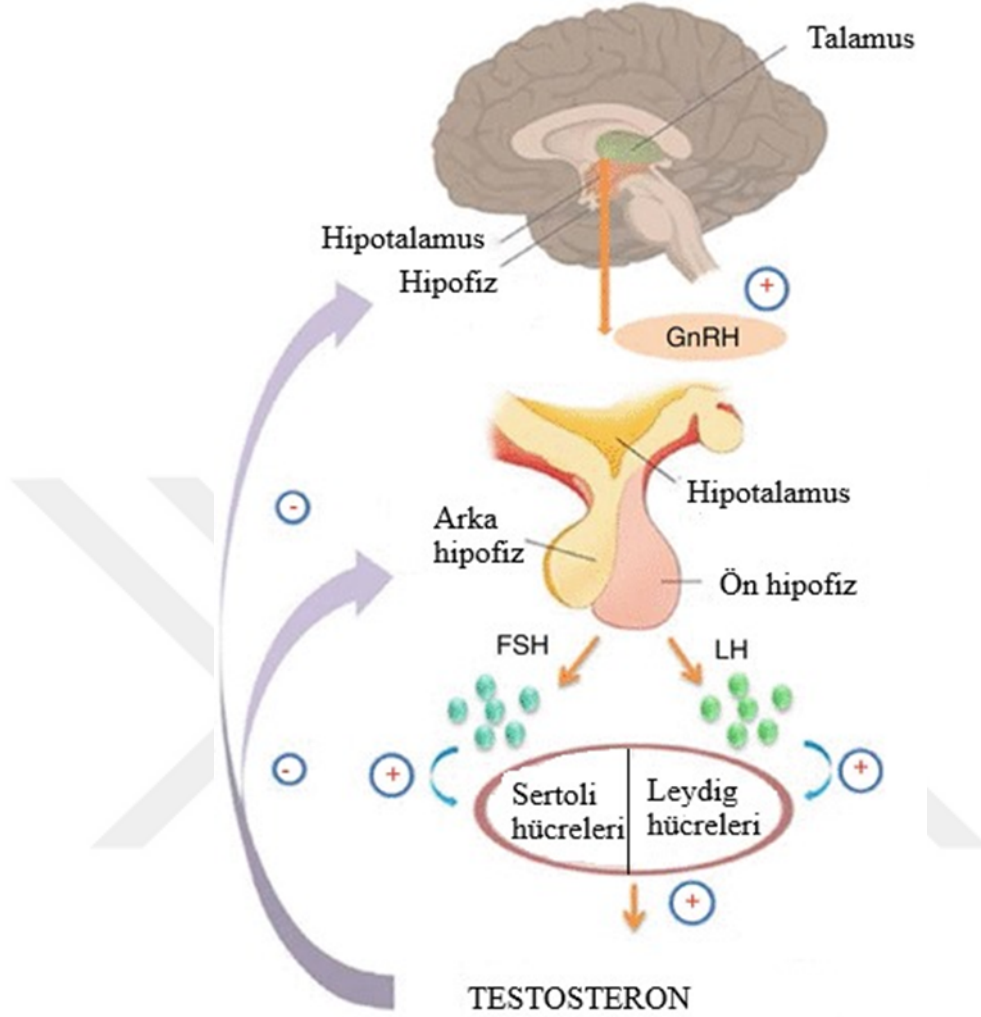
Hipotalamus-hipofiz-gonadal (HHG) eksen hormonları, fertilitenin düzenlenmesinden sorumlu başlıca hormonlardır. Hipotalamustan pulsatil olarak GnRH salıverilmesi HHG'nin aktivitesini başlatmaktadır. GnRH, ön hipofizden LH ve FSH salıverilmesini sağlamaktadır. Erkeklerde LH, Leydig hücrelerinden testosteron salıverilmesini uyarmaktadır. Buna karşılık FSH, Sertoli hücreleri üzerindeki etkisiyle, seminifer tübül ve spermatogenezin düzenlenmesinde rol oynamaktadır (Meethal ve Atwood, 2005; Dwyer ve Quinton, 2019).

HHG eksen, GnRH, LH ve FSH hormonlarının nöroendokrin kontrolü altındadır. GnRH, gonadotropinlerin ön hipofizden periferik dolaşıma salıverilmesi için uyarıcıdır. LH ve FSH, testislerde steroidler ve peptitlerin (özellikle inhibin B) üretimini indüklemektedir. Bu gonadal ürünler de HHG ekseninin nöroendokrin aktivitesini düzenleyen negatif geri bildirim sağlamaktadır. Gonadotropinlerin salıverilmesi, GnRH salıverilme sıklığının veya miktarının azalmasıyla düzenlenebilmektedir. İnterstisyel Leydig hücreleri tarafından üretilen testosteron, hipotalamus seviyesinde GnRH etkisini azaltmaktadır, dolayısıyla hipofizden LH salıverilmesi azalmaktadır. FSH salıverilmesinin kontrolü ağırlıklı olarak testiküler Sertoli hücreleri tarafından salıverilen inhibin B ve çok daha az oranda östradiol ve testosteron tarafından düzenlenmektedir (Vadakkadath ve Atwood, 2005; Dwyer ve Quinton, 2019).

LH ve FSH, spesifik transmembran reseptörleri aracılığıyla etkilerini göstermektedir. FSH taşıyıcı reseptör ekspresyonu ağırlıklı olarak Sertoli hücrelerinde görülmektedir. Ancak LH taşıyıcı reseptörler Leydig hücreleri tarafından eksprese edilmektedir. Hipofizden gelen gonadotropin yanıtı, Leydig hücrelerinden testosteron üretimi ve Sertoli hücrelerinden non-steroidal inhibin üretimi olmak üzere iki ana endokrin sinyal üretmektedir. Spermatogenezin klasik olarak belirlenmiş endokrin düzenlenmesi LH ve FSH aracılığıyla gerçekleşse de parakrin düzenleme inhibinler, aktivinler, follistatin hormonlarının koordineli etkisiyle gerçekleşmektedir (Singh vd., 2017). Şekil 2.4.'te hipotalamus-hipofiz-gonadal eksenin mekanizmaları gösterilmektedir.

Şekil 2.4

Hipotalamus-Hipofiz-Gonadal Eksen



Kaynak: Singh vd., 2017

2.3 Reprodüktif Advers Etkiler

İlaçlar, gıda katkı maddeleri ya da çevresel kimyasallar gibi ksenobiyotiklerin toksik etkileri, insan ve toplum sağlığı açısından önemli bir risk kaynağıdır. İnsanlarda genel sağlık durumunu direkt olarak etkileyebilen toksik etkilere ek olarak, yavru sağlığı ve fertilite üzerindeki olumsuz sonuçlar da önemli olumsuz sağlık etkileri arasında kabul edilmektedir. Dünya çapında artan infertilite oranları ksenobiyotik maruziyetlerinin reprodüktif sağlık açısından güvenliliğinin değerlendirilmesini önemli kılmaktadır. İnfertilite vakalarının yaklaşık %30-50'si erkek infertilitesinden kaynaklanmaktadır. Erkek reprodüktif sisteminde seminifer epitel ve/veya spermatogenezi destekleyen Leydig ve Sertoli hücreleri, epididimal sperm olgunlaşma süreci ve reprodüktif endokrin sistem ksenobiyotikler için hedeftir (Mantovani ve Maranghi, 2005).

2.3.1 Reprodüktif advers etkilerin belirlenmesinde kullanılan belirteçler

Erkek reprodüktif sistem toksisitesi sperm parametrelerinin ve reprodüktif sistem morfolojisinin bir bütün olarak değerlendirilmesini gerektirmektedir (de Santi vd., 2021).

2.3.1.1 Spermatogenez ve hormonal düzenleme

Spermiyogenez, olgun spermatidin seminifer tübüllere salındığı ve özellikle androjenler ve östrojenler olmak üzere endokrin ve parakrin faktörler tarafından düzenlenen çok aşamalı ve karmaşık bir süreçtir. Spermiyogenez ve spermatogenezin değerlendirilmesi reprodüktif advers etkilerin belirlenmesinde önemlidir (de Santi vd., 2021).

Testislerde sırasıyla spermatogenez ve steroidogenez olarak adlandırılan, oldukça organize ve kontrollü iki olay gerçekleşmektedir. Testiste spermatogenez, somatik Sertoli hücrelerinin yapısal ve besleyici desteği altında seminifer tübüllerde meydana gelen oldukça karmaşık, dinamik ve senkronize bir germ hücresi çoğalması ve farklılaşması sürecidir. Sertoli hücreleri öncelikle kan testis bariyerinin oluşumunda, testiküler sıvının salgılanmasında, anormal germ hücrelerinin fagozitozunda ve çeşitli bağlayıcı proteinlerin (androjen bağlayıcı protein, transferrin, seruloplazmin), hormonların ve büyüme faktörlerinin çoğunun üretiminde rol oynamaktadır (Gupta ve Verma, 2018; Suede vd., 2023).

Testisin interstisyel kompartmanındaki Leydig hücreleri ise testosteron üretiminden sorumludur. Testiste spermatogenez, HHG ekseninden salıverilen hormonların kontrolü altındadır. Ön hipofizden LH ve FSH gibi gonadotropinlerin biyosentezi ve salıverilmesi ise hipotalamustan salıverilen GnRH'nin kontrolü altındadır. FSH, seminifer tübüllerde spermatogenezini desteklemek için doğrudan Sertoli hücrelerine etki ederken, LH, testosteronun biyosentezini ve salıverilmesini uyarmak için interstisyel Leydig hücrelerine etki etmektedir. Leydig hücreleri tarafından üretilen testosteron, bazal membran yoluyla interstisyel boşluğa ve seminifer tübüllere yayılmakta ve burada dihidrotestosterona dönüştürülmek üzere Sertoli hücrelerine giriş yapmaktadır. Hem testosteron hem dihidrotestosteron Sertoli hücrelerini terk ederek bölünen germ hücreleri etrafında birikmektedir. Hem FSH hem de intratestiküler testosteron, sinerjik olarak spermatogenezde çok önemli bir rol oynamaktadır (Gupta ve Verma, 2018).

2.3.1.2 Testisin histopatolojik incelenmesi

Seminifer tübüllerde meydana gelen değişikliklerin histopatolojik olarak incelenmesi, kabul görmüş, hassas bir belirteç olarak kabul edilmektedir. Testisin histopatolojik incelenmesi hem kalitatif hem de kantitatif prosedürleri içermektedir. Kalitatif analizler için, testisteki seminifer tübüller, değişikliklerin ciddiyetine bağlı olarak dejenere ve atrofik olarak gruplandırılmaktadır. Testiküler toksisitede başlangıçta gözlenen en yaygın histolojik değişiklikler germinal epitelin gevşemesi, germ hücrelerinin dökülmesi, intraepitelyal vakuolasyon, çok çekirdekli dev hücrelerin oluşumu,  ekirdeksiz dev yuvarlak spermatidlerin ortaya çıkması, aynı tübülde spermatogenik döngünün farklı aşamalarında ( zellikle IX, X ve XI aşamalarında) spermatidlerin bulunması, spermiyogenezin başarısız olması, anormal spermilerin Sertoli hücresi tarafından fagositozu, germinal epitelde fokal hasar ve yuvarlak spermatidlerde kromatin materyalinin yoğunlaşmasını içermektedir (Gupta ve Verma, 2018).

2.3.1.3 Testiste oksidatif stresin belirlenmesi

Oksidatif stres, testiküler toksisitesinin ve erkek infertilitesinin başlıca nedenidir. Testiste reaktif oksijen türleri oluşumunu tetikleyen pek çok faktör (kriptorşidizm, testis torsiyonu, varikosel, hipertiroidizm, enfeksiyon, fiziksel efor, hormonal dengesizlik, ksenobiyotiklerin etkisi) bulunmaktadır. Reaktif oksijen türleri, özellikle laktat üretimi ve laktat dehidrojenaz (LDH) aktivitesinin modülasyonu bakımından, testiste apoptozun ve glukoz homeostazındaki değişikliğin temel nedenlerinden biridir. Oksidatif stresin şiddeti, testiste laktoperoksidaz seviyesinin ve süperoksit dismutaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesinin ölçülmesi ile belirlenmektedir (Gupta ve Verma, 2018; Roychoudhury vd., 2019).

2.3.1.4 Hormonal parametreler

Spermatogenezin başarılı bir şekilde ilerlemesi için yüksek intratestiküler testosteron seviyesi gereklidir. Bu bağlamda, intratestiküler ve serum testosteron seviyelerinin ölçümü, sırasıyla testisteki steroidojenik aktiviteyi ve cinsel organlardaki sekresyon aktivitelerini belirlemek için etkili bir yöntemdir. Testisteki  strojen fazlalığı, gonadotropinlerin ve steroidojenik enzimlerin down-regülasyonu nedeniyle germ hücre apoptozunu indükleyerek spermatogenezde bozulmaya yol açmaktadır. Testosteron ve estradiol seviyelerinden başka LH ve FSH seviyeleri ile sitokrom P450 (CYP450)

aromataz enziminin ekspresyonu da reproduktif toksisitede belirteç olarak kullanılmaktadır (Gupta ve Verma, 2018).

2.3.2 Reprodüktif advers etkilere neden olan ilaç örnekleri

Yüksek tansiyon, psikiyatrik hastalıklar ve ağrı yönetimi gibi kronik rahatsızlıklar için ilaç alan yetişkin erkeklerin sayısı her geçen gün artmaktadır. Elbette, bu ilaçların kullanım sıklığı sadece yaşla birlikte artmaktadır. Ancak, bu tedavilerin uzun vadeli endikasyonlarına rağmen, fertilité üzerindeki olumsuz etkisi iyi bilinmemektedir. Çeşitli ilaçların kemirgenlerde spermatogenez üzerindeki etkilerini inceleyen çok sayıda çalışma bulunmakla birlikte hayvan modelleri potansiyel insan advers etkilerine tam olarak yansımamaktadır (Gomesi vd., 2023).

Proton pompa inhibitörü ilaçların (PPI) etkilerine ilişkin insan verileri oldukça azdır; ancak, mevcut literatür PPI'ların sperm parametreleri üzerinde potansiyel olarak zararlı bir etkisi olduğunu öne sürmektedir. Popülasyona dayalı bir vaka kontrol çalışmasında uzun süreli PPI kullanımı motil sperm sayısının azalmasıyla ilişkilendirilmiştir (Huijgen vd., 2016). Farklı bir çalışmada, omeprazol tedavisinin sağlıklı erkeklerde gonadal fonksiyonu değiştirmediği, testosteron, FSH, LH ve prolaktin seviyelerinin bazal ölçümlerden farklı olmadığı bulunmuştur (Mokshagundam ve Minocha, 1997). Sıçanlarda esomeprazol uygulaması normal morfolojili sperm yüzdesini ve sperm hareketliliğini azaltmıştır (Mumtaz vd., 2022). Lansoprazol de sıçanlarda sperm hareketliliğini azaltırken, sperm canlılığını etkilememiştir (Banihani ve Khasawneh, 2018).

Opioidler, HHG eksenindeki opioid reseptörlerine bağlanmakta ve cinsiyet hormonlarının fonksiyonlarını etkileyebilmektedir. GnRH'ın pulsatil salıverilmesinin inhibisyonu ve buna bağlı olarak ön hipofizden FSH ve LH hormonlarının salıverilmesindeki azalma, opioidlerin reproduktif sistem üzerinde bilinen advsers etkileridir (Ghasemi-Esmailabad vd., 2022). Opioid maruziyeti ile ilişkili olarak sıçanlarda seminifer tübüllerin düzensizleştiği, spermatojenik hücre sayısının azaldığı ve fertilitenin neredeyse yok olduğu gözlenmiştir (Takzare vd., 2016). Kodein, fertilité indeksinde belirgin bir azalmaya neden olabilmektedir. Kronik kodein kullanımının, vasküler konjesyon, germ hücre kaybı ve germ hücre olgunlaşmasının durmasının yanı sıra dolaşımdaki testosteron seviyesinin azalmasına, ayrıca testiküler dejenerasyona neden olduğu gösterilmiştir. Ek olarak, kodeinin sperm kalitesini azalttığı, sperm DNA

hasarını ve apoptozunu indüklediği belirtilmiştir (Hamed vd., 2023). Non-steroidal antiinflamatuar ilaçları (NSAİİ) kullanan hastalarda sperm hacminin ve sperm hareketliliğinin azaldığı tespit edilmiştir (Martini vd., 2003). Benzer şekilde, aspirin tüketimi de hastalarda sperm hareketliliğinde azalmaya neden olmuştur (Stutz vd., 2004).

Kalsiyum kanal blokerlerinin, sperm canlılığını ve hareketliliğini azalttığı, ayrıca spermatozoa-oosit etkileşimini etkileyebilmekle spermin dölleme kapasitesini azalttığı belirtilmektedir (Semet vd., 2017). Ayrıca nifedipin, verapamil veya diltiazem uygulanan sıçanlarda sperm sayısının ve sperm hareketliliğinin azaldığı tespit edilmiştir (Morakinyo vd., 2009).

Beta-laktam grubu antibiyotikler, penisilin G ve seftriakson'un sıçan ve farelere uygulanması sperm kalitesinin azalmasına neden olmuştur (Hou vd., 2024). Kinolon grubu antibiyotik siprofloksasin, ofloksasin ve perfloksasin uygulamasının sperm parametrelerini etkilediği, sperm sayısı, sperm hareketliliği ve normal sperm morfolojisini azalttığı gösterilmiştir (Khaki, 2015). Nitrofurantoinin sağlıklı yetişkinlerde hafif ila orta derecede spermatojenik duraklamaya neden olduğu tespit edilmiştir (Popoola vd., 2023). Gentamisin uygulaması ise sperm sayısı ve hareketliliğini azaltmıştır. Ayrıca gentamisin uygulaması serum LH seviyesinin de düşmesine neden olmuştur (Khaki, 2015).

2.4 Antidepresan İlaçların Neden Olduğu Reprodüktif Advers Etkiler

Antidepresan ilaçlar depresyonun, obsesif-kompulsif bozukluğun, sosyal fobinin, panik bozukluğun, yaygın anksiyete bozukluğunun ve travma sonrası stres bozukluğunun tedavisinde kullanılmaktadır. Antidepresan ilaçlar selektif serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI), serotonin/noradrenalin geri alım inhibitörleri (SNRI) (venlafaksin), atipik antidepresanlar (mirtazepin), serotonin modülatörleri, trisiklik antidepresanlar, monoaminoksidaz inhibitörleri, N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör agonistleri olarak sınıflandırılmaktadır (Sheffler vd., 2023). Tüm antidepresan sınıflarının hem erkeklerde hem de kadınlarda cinsel fonksiyon bozukluğuyla ilişkili olduğu bilinmektedir. Erkeklerde en belirgin cinsel advers etkiler arasında libido bozukluğu, erektil disfonksiyon, gecikmiş ejakülasyon veya ejakülasyonun olmaması yer almaktadır. Bazı antidepresan ilaçların semen parametreleri üzerindeki etkilerine dair veriler mevcuttur (Beeder ve Samplaski, 2020).

Sitalopram, esitalopram, fluvoksamin, paroksetin, fluoksetin, sertralin ve dapoksetin gibi SSRI'lar uzun yıllardır kullanılmaktadır. SSRI'lar, serotoninin presinaptik hücrelere geri emilimini sınırlayabilmekte, bu da sinaptik boşluktaki serotonin seviyelerini arttırmakta ve hücre dışı serotonin aktivitesini güçlendirmektedir (Sheffler vd., 2023). SSRI'ların semen kalitesini etkileyip etkilemediğini değerlendirmek için yürütülen bir meta-analizde SSRI'ların sperm konsantrasyonu, sperm morfolojisi, sperm hareketliliği ve sperm DNA fragmentasyon indeksi gibi semen kalitesi üzerinde istatistiksel olarak anlamlı advers etkilerinin olduğunu ancak semen hacmi üzerinde herhangi bir advers etkisinin olmadığını göstermiştir (Xu vd., 2022).

SSRI'ları ve insan spermini araştıran tek bir *in vitro* çalışma bulunmaktadır. Kumar ve arkadaşları bu çalışmada insan semenini *in vitro* olarak değişen konsantrasyonlarda paroksetin, fluoksetin, sertralin, sitalopram ve fluvoksamin ile inkübe etmişlerdir. Tüm SSRI'ların spermisidal aktivite gösterdiği, ancak sperm sayıları üzerinde hiçbir olumsuz etki göstermediği tespit edilmiştir (Kumar vd., 2006).

Hayvan modellerinde yürütülen birden fazla çalışma, SSRI'ların erkek fertilitesi üzerindeki olumsuz etkilerini göstermiştir. SSRI'lar üzerine yapılan çalışmaların çoğu fluoksetin ile ilgilidir ve çoğu bir dereceye kadar gonadotoksik etki göstermektedir (Bataineh ve Daradka, 2007; Alzahrani, 2012; Sakr vd., 2015).

Bir çalışmada sıçanlara sertralin uygulaması sperm DNA hasarı, testis dejenerasyonu, anormal sperm morfolojisi ve azalan sperm sayısı ile sonuçlanmıştır (Atli vd., 2017). Benzer şekilde sitalopram uygulanan sıçanlarda sperm sayısında azalma, anormal sperm morfolojisinde artış ve DNA hasarında artış tespit edilmiştir (Attia ve Bakheet, 2013; Ilgin vd., 2017). İnsan verileri de erkek infertilitesi ile SSRI kullanımı arasında ilişkiyi SSRI tedavisi altındaki hastalarda azalan semen kalitesi ve artan sperm DNA fragmentasyonu ile desteklemektedir (Tanrikut ve Schlegel, 2007; Safarinejad, 2008; Tanrikut vd., 2010; Elnazer ve Baldwin, 2014; Akasheh vd., 2014; Drobnis ve Nangia, 2017).

Amitriptilin, nortriptilin, imipramin, desipramin gibi trisiklik antidepresanlar, beyindeki belirli nörotransmitterlerin, özellikle de serotonin ve noradrenalin seviyelerini artırarak etki göstermektedir (Behnia, 2024). Trisiklik antidepresanları kullanan erkek ve kadınlarda cinsel fonksiyon bozukluklarının meydana gelme insidansı %30'dur. Trisiklik antidepresanların semen kalitesi üzerindeki etkilerine ilişkin kanıtlar yetersizdir.

Desipramin ve amitriptilin hakkında az sayıda çalışma bulunmaktadır, ancak nortriptilin, amoksapin, doksepin, imipramin, protriptilin veya trimipramin hakkında hiçbir çalışma bulunmamaktadır (Beeder, 2020). Amitriptilin uygulanan sıçanlarda sperm konsantrasyonunun ve canlılığının azaldığı tespit edilmiştir (Bandegi vd., 2018). Ayrıca amitriptilin uygulaması farelerin germ hücrelerinde mutajenik etkilere neden olmuştur (Chowdary ve Rao, 1987; Hassanane vd., 2012).

İnsanlarda monoamin oksidaz-A (MAO-A) ve monoamin oksidaz-B (MAO-B) olmak üzere iki tip monoamin oksidaz bulunmaktadır. Serotonin, melatonin, noradrenalin ve adrenalin öncelikle monoamin oksidaz-A ile deamine edilirken, fenetilamin ve benzilamin ise monoamin oksidaz-B ile deamine edilmektedir. Her iki form da dopamin, tiramin ve triptamini eşit oranda deamine etmektedir (Shulman vd., 2013). Monoamin oksidazın inhibisyonu, substratlarının seviyelerinin artmasına neden olmakta ve böylece noradrenalin, serotonin ve dopamin dinamiğini değiştirmektedir (Yamada ve Yasuhara, 2004). Bu sınıfa ait ilaçlar arasında selegilin, izokarboksazid, fenelzin ve tranilsipromin bulunmaktadır. Monoamin oksidaz enzim inhibitörü kullanan erkek ve kadın hastaların yaklaşık %40'ında cinsel fonksiyon bozukluğu gözlenmektedir (Beeder ve Samplaski, 2020). Ancak selegilinin, erkek fertilitesi üzerinde olumlu bir etkiye sahip olduğu bir sıçan çalışması ile gösterilmiştir. Sıçanlarda selegilin uygulaması testis kütlelerinde, sperm sayısında ve canlılığında artışa neden olmuştur (Mihalik vd., 2015).

SNRI'ler hem serotonin hem de noradrenalinin sinaptik aralıktaki taşıyıcılarına bağlanarak bu nörotransmitterlerin geri alımını seçici olarak inhibe etmekte ve bu nedenle santral sinir sisteminde serotonin ve noradrenalinin etkinliğini artırmaktadır (Dell'Osso vd., 2010). Bu ilaç sınıfı desvenlafaksin, duloksetin, levomilnasipran ve venlafaksini içermektedir. SNRI'ler ile tedavi edilen hastalarda cinsel fonksiyon bozukluğunun insidansı %58-70'tir ve genel olarak SSRI'lar ile tedavi edilen hastalara oran daha seyrek (Beeder ve Samplaski, 2020).

Bir çalışmada SNRI reproduktif advers etkileri ile ilişkili risklerini değerlendirmek için Amerika Birleşik Devletleri (ABD) Gıda ve İlaç Dairesi Olumsuz Olay Bildirim Sistemi veritabanını sistematik olarak incelenmiştir. Venlafaksinin, özellikle erektil disfonksiyon ve ejakülasyon bozukluklarında duloksetinden daha yüksek reproduktif hasar riskine sahip olduğu ve etkilenen bireylerin daha genç olduğu tespit edilmiştir (Xi vd., 2024). Diğer taraftan venlafaksinin uygulanan farelerde sperm parametreleri açısından herhangi

bir advers etki tespit edilmemiştir (Bandegi vd., 2018). İnsanlarda duloksetin tedavisinin cinsel fonksiyonlar ve sperm parametreleri açısından herhangi bir olumsuz etkiye neden olmadığı belirlenmiştir (Punjani vd., 2021).

2.4.1 Venlafaksin ve reproduktif advers etkileri

SNRI olarak sınıflandırılan venlafaksin, ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından majör depresif bozukluğu, sosyal anksiyete bozukluğu ve panik bozukluğu tedavi etmek için onaylanmıştır. Ayrıca, venlafaksin dikkat eksikliği bozukluğu, fibromiyalji, diyabetik nöropati, kompleks ağrı sendromları, ateş basması, migreni önleme, travma sonrası stres bozukluğu, obsesif-kompulsif bozukluk ve adet öncesi disforik bozukluk gibi durumlar için de genellikle etiket dışı kullanılmaktadır. Venlafaksin, tek başına veya diğer ilaçlarla kombinasyon halinde tedavide kullanılabilir (Singh ve Saadabadi, 2024).

Venlafaksin, taşıyıcı proteinleri bloke ederek ve presinaptik terminalde geri alımlarını engelleyerek santral sinir sisteminde serotonin ve noradrenalin seviyelerini arttırmaktadır. Bu durum nihayetinde postsinaptik reseptörlerin uyarılmasının artırmasına yol açmaktadır. SNRI'ler öncelikle serotoninergik ve noradrenergik nöronları etkilemektedir, kolinerjik veya histaminergik reseptörler üzerinde çok az veya hiç etkisi yoktur. Venlafaksin, noradrenalin geri alımından daha güçlü bir serotonin geri alım inhibitörüdür. Venlafaksin, düşük dozlarda serotonin geri alımını inhibe etmekte ancak daha yüksek dozlarda hem noradrenalin hem de serotonin geri alımını etkilemektedir (Suwala vd., 2019; Coutens vd., 2022)

Venlafaksin esas olarak karaciğer tarafından, özellikle CYP2D6 enzimi olmak üzere sitokrom P450 sistemi aracılığıyla metabolize edilmektedir. O-desmetil venlafaksin primer metabolitidir ve değişmeden ve glukuronit konjugatları halinde vücuttan elimine edilmektedir (Ereshefsky ve Dugan, 2000; Sangkuhl vd., 2014).

Sıçanlara 40 ve 150 mg/kg dozlarda 70 gün süre ile venlafaksin uygulaması sperm konsantrasyonunu ve normal morfolojiye sahip sperm yüzdesini azaltmıştır. Ayrıca venlafaksin uygulanan sıçanlarda serum FSH ve LH seviyeleri azalırken, testosteron seviyesi artmıştır (Saleem vd., 2020). Diğer bir çalışmada da 30 mg/kg dozda venlafaksin 35 ve 65 gün süre ile sıçanlara uygulanmıştır. 35 gün süre ile venlafaksin maruziyeti normal sperm morfolojisini, sperm konsantrasyonunu ve sperm hareketliliğini azaltmıştır. Diğer taraftan 65 gün süre ile venlafaksin maruziyeti ile sadece sperm hareketliliğinde azalma gözlenmiştir. Ayrıca 35 gün süre ile venlafaksin uygulanan

sıçanlarda intratestiküler testosteron ve östrojen seviyeleri artarken, 65 gün süre ile venlafaksin uygulanan sıçanlarda intratestiküler testosteron ve östrojen seviyeleri kontrol grubundan farksız değerlere ulaşmıştır (de Santi vd., 2021). Farelere 60 mg/kg dozlarda 70 gün süre ile venlafaksin uygulaması sperm konsantrasyonunu ve sperm hareketliliğini azaltmıştır. Eş zamanlı venlafaksin ve selenyum uygulanan farelerde ise sperm parametrelerinde anlamlı iyileşmeler tespit edilmiştir (Kaur vd., 2021).

Majör depresif bozukluk, travma sonrası stres bozukluğu ve panik bozukluk öyküleri olan ve 14 ay boyunca venlafaksin tedavisi alan bir hastada, venlafaksin tedavisinden sonra testosteron seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir. Venlafaksin tedavisi kesilen hastada 3 hafta süre ile sertralin tedavisine başlanmış, hastada testosteron seviyesinin normal seviyelere ulaştığı gözlenmiştir. Bu noktada venlafaksin testosteron seviyesinde azalmaya neden olabileceği vurgulanmıştır (Shebak ve Varma, 2014).

Laktasyonel dönemde venlafaksine maruz bırakılan erkek sıçanlarda sperm hareketliliğinde azalma belirlenmiştir. Erkek sıçanlarda seksüel davranışlarda bir farklılık gözlenmezken, hipotalamik androjen reseptör ekspresyonunun azaldığı tespit edilmiştir (da Silva Moreira vd., 2023).

2.4.2 Mirtazapin ve reproduktif advers etkileri

Atipik bir antidepresan olan mirtazapin majör depresif bozukluğun tedavisinde kullanılmaktadır. 1996 yılında ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından orta ve şiddetli depresyonu tedavi etmek için onaylanmıştır (Ottman vd., 2018). Mirtazepinin sedatif, antiemetik, anksiyolitik ve iştah açıcı etkileri de bulunmaktadır. Bu nedenle insomni, panik bozukluk, travma sonrası stres bozukluğu, obsesif-kompulsif bozukluk, yaygın anksiyete bozukluğu, sosyal anksiyete bozukluğu, baş ağrıları ve migren gibi endikasyon dışı kullanımı da söz konusudur (Nutt, 2002).

Tetrasiklik bir antidepresan ilaç olan mirtazapinin farmakolojik etkisi presinaptik alfa-2 adrenerjik reseptörleri bloke ederek noradrenalin ve serotoninin nörotransmisyonu artırması ile meydana gelmektedir. Bu ilaç, noradrenerjik ve spesifik serotonerjik antidepresan olarak sınıflandırılmaktadır. Aynı zamanda spesifik olarak 5-hidroksitriptamin-2 (5-HT₂) ve 5-hidroksitriptamin-3 (5-HT₃) reseptörlerini antagonize etmektedir. Bu durum, serotonin aktivitesini 5-hidroksitriptamin-1A (5-HT_{1A}) reseptörlerine yönlendirerek antidepresan ve anksiyolitik etkiler sağlamaktadır. Mirtazepin histamin H1 reseptörlerini bloke ederek sedasyona da neden olmaktadır. Bu

durum, uykusuzluk çeken depresyon hastalarında fayda sağlamaktadır (Schwasinger-Schmidt ve Macaluso, 2019).

Ayrıca periferik alfa-1-adrenerjik ve muskarinik reseptörlerini orta ila zayıf düzeyde antagonize etmektedir. Diğer birçok antidepresanın aksine, mirtazapin serotonin, dopamin veya noradrenalin geri alımını inhibe etmemektedir. Çoğu trisiklik antidepresanın aksine, sodyum veya kalsiyum kanallarını bloke edici veya antikolinerjik aktivite göstermemektedir (Gorman, 1999). Mirtazapin, karaciğerde demetilasyon, hidroksilasyon, konjugasyon ve sitokrom P450 enzimleri (CYP1A2, CYP2D6 ve CYP3A4) tarafından metabolize edilmektedir. Başlıca metabolitlerinden biri desmetilmirtazapindir (Timmer vd., 2000).

Nitrofurazon ile sıçanlarda testis hasarının indüklenmesinden 1 hafta önce proflaktik mirtazapin uygulaması nitrofurazona kıyasla sperm sayısında ve canlılığında artışa neden olmuştur (El-Sisi vd., 2017). Diğer taraftan sisplatin ile sıçanlarda indüklenen testis hasarında mirtazapinin proflaktik etkisi değerlendirilmiş ve mikroskopik olarak mirtazapinin sitoprotektif etkinliği gösterilmiştir (Fekry vd., 2019). Fenilhidrazin ile farelere indüklenen testiküler hasarda fenilhidrazin ile eş zamanlı 30 mg/kg dozda 35 gün süre ile mirtazapin uygulaması sperm konsantrasyonu, sperm hareketliliği ve normal morfolojili sperm yüzdesi açısından koruyucu etki göstermiştir (Mohammadi, 2024).

3 GEREÇLER

3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil)	: Serva, Almanya
DMEM/Ham's F-12	: Capricorn, Almanya
Tripan Mavisi	: Bio-Rad, ABD
Penisilin-Streptomisin çözeltisi	: WisentBioProducts, Kanada
Fosfat tamponu çözeltisi (PBS) tableti	: Bioshop, Kanada
Tripsin-EDTA çözeltisi	: Capricorn, Almanya
Dimetilsülfoksit (DMSO)	: Carlo Erba, İtalya
Fötal sıgır serumu	: Capricorn, Almanya
Absolü etanol	: Sigma Aldrich, Almanya
Mirtazapin	: Bilim İlaç San. ve Tic. Aş., Türkiye
Annexin V Apoptoz Belirleme Kiti	: BD Biosciences, ABD
Reaktif Oksijen Türleri Belirleme Kiti	: Abcam, Birleşik Krallık

3.2 Kullanılan Araç ve Gereçler

Güç kaynağı	: Thermo Scientific, ABD
Hassas terazi	: Ohaus, ABD
Steril rezervuar	: Axygen, ABD
Hücre sayım cihazı	: Bio-Rad, ABD
İnkübatör (CO ₂ dönüşümlü)	: Lab Companion, ABD
Mikroplaka okuyucu	: Biotek, ABD
Hücre sayım slaytı	: Bio-Rad, ABD
Biyogüvenlik kabini	: Heal Force, Çin
Soğutmalı santrifüj	: Eppendorf, ABD

Otoklav	: Hirayama, Japonya
Vorteks	: Heildolph, Almanya
Floresan ışık mikroskobu	: Leica, Almanya
Hücre kültür kabı (25 ve 75 cm ²)	: Nest, İsviçre
Otomatik pipetler	: Eppendorf, Almanya
Hücre plağı (96 kuyucuklu)	: Nest, İsviçre
Hücre plağı (6 kuyucuklu)	: CPL, ABD
Pipet uçları	: Vertex, ABD
Lam	: Menzel, Almanya
Steril serolojik pipet	: LP, İtalya
Polipropilen tüp	: Isolab, Almanya
Akış sitometri analiz yazılımı	: BD FACSDiva Software, ABD

3.3 Kullanılan Hücre Hatları

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

4 YÖNTEMLER

Hücreler, %5 horse serumu, %5 fetal sıgır serumu ve %1 penisilin-streptomisin çözeltisi içeren DMEM-F12 (1:1) besiyerinde, 37 °C ve %5 CO₂ içeren inkübatörde inkübe edildi.

4.1 Hücre Hatlarının Çoğaltılması

Deneylerde kullanılan TM3 Leydig hücreleri, 2-3 günde bir rutin pasajlama yapılarak çoğaltıldı ve deneylere hazırlandı. Hücreler iki-üç gün aralıklarla incelendiğinde flastaktaki konfluens oranının %70-80 düzeyinde olduğu görüldüğünde hücelere pasajlama işlemi yapıldı. Sıcak su banyosunda hücelere uygun DMEM-F12 besiyeri ve tripsin enzimi 37 °C'ye getirildi. Flast %70 etanolle silinerek laminar akış kabine alındı. Besi yeri dikkatle uzaklaştırıldı ve 5 ml PBS ile flast zemini yıkandı. Optimum sıcaklığa ulaşan tripsinden 2 ml flastka alındı. Tripsin enziminin, flast zemininin her yerine ulaşması için; flast ileri ve geri hareket ettirildi. İnkübatöre alınan flast üç dakika sonra ters faz mikroskop altında yeniden incelendi. Görünen hücelerin karakteristik mekik şekli aldığı görülünce tripsinizasyonun sonlandırılması için flast yeniden kabine alındı. 12 ml besiyeri eklendi ve birkaç kere pipetlenerek zeminden henüz kopmamış hücelerin toplanması sağlandı. Flastlara bölünüp inkübatöre alındı.

4.2 MTT Hücre Canlılığı Testi

MTT reaktifi (3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5-difenil-2H-tetrazolyum bromür), iki fenil parçası ve bir tiyazolil halkası içeren üç aromatik halka ile çevrili dört azot atomu içeren pozitif yüklü kuaterner tetrazol halka çekirdeğinden oluşan bir mono-tetrazolyum tuzudur. MTT'nin indirgenmesi, tetrazol halkasının bozulmasına ve formazan adı verilen menekşe rengi suda çözünmeyen kristalleri oluşturmaktadır. MTT reaktifi, pozitif yükü ve lipofilik yapısı sayesinde hücre zarının yanı sıra canlı hücelerin mitokondriyal iç zarından da geçebilmekte ve metabolik olarak aktif hüceler tarafından formazana indirgenmektedir. Bu reaksiyonun kromojenitesi sayesinde, hücre içi formazan üretimi kolorimetrik olarak ölçülebilmektedir. MTT deneyi tipik olarak hücelerin MTT ile birkaç saatlik inkübasyonundan sonra gerçekleştirilmektedir. Ortaya çıkan suda çözünmeyen formazan daha sonra dimetil sülfoksit (DMSO) gibi bir çözücü ile çözündürülmektedir. Hücre canlılığı ile oluşan formazan kristallerinin yoğunluğu doğru orantılıdır. Absorbans ölçümü yapılarak % inhibisyon değeri hesaplanmaktadır (Ghasemi vd., 2021).

4.2.1 MTT sitotoksisite testinin uygulanması

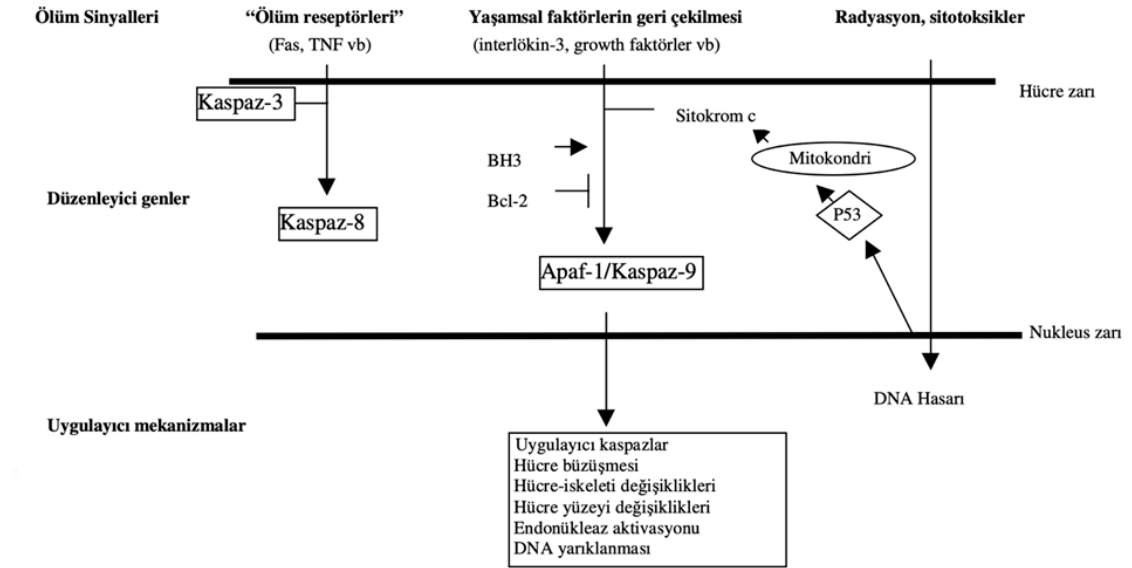
1. Hücre hatları çoğaltılarak 1×10^4 / 100 µl olacak şekilde hücre süspansiyonu hazırlandı ve hücreler 96 kuyucuklu plakaya ekildi ve 24 saat inkübasyona bırakıldı (37°C, %5 CO₂).
2. Venlafaksin 100 – 250 – 500 – 1000 – 1500 – 2000 – 2500 – 3000 nM olmak üzere 8 farklı konsantrasyonu ve mirtazepinin 10 – 31,6 – 100 – 316 – 1000 nM olmak üzere 5 farklı konsantrasyonu ile birlikte büyüme kontrol (besiyeri) ve çözücü kontrol (%1 DMSO) plakalara uygulandı, 24 ve 48 saat inkübasyona bırakıldı (37°C, %5 CO₂).
3. 24 ya da 48 saatlik inkübasyon sonrasında plakanın üst kısmı ters çevrilerek uzaklaştırıldı. Hücreler fosfat tamponu ile yıkandı ve yıkama çözeltisi ortamdan uzaklaştırıldı.
4. MTT çözeltisi (5mg/ml) ve tam besiyeri 1:10 olacak şekilde dikkatlice karıştırıldı ve 96 kuyucuklu hücre plakasına 100 µl/kuyucuk olacak şekilde ilave edildi ve 3 saat inkübasyona bırakıldı (37°C, %5 CO₂).
5. İnkübasyondan sonra plakaların üst kısmı uzaklaştırıldı ve DMSO çözeltisi 100 µl/kuyucuk olarak ilave edildi. 540 nm’de absorbans değerleri okundu.
6. Venlafaksin ve mirtazepinin her bir konsantrasyonu için % inhibisyon değerleri hesaplandı. Non-lineer regresyon analizi ile maddelerin inhibitör konsantrasyon 50 değerleri hesaplandı.

4.3 Apoptoz Belirleme Yöntemleri

Apoptoz yani programlı hücre ölümü, normal hücre döngüsü, bağışıklık sisteminin düzgün gelişimi ve işleyişi, hormona bağlı atrofi, embriyonik ve beyin gelişimi gibi birçok biyolojik süreçten sorumlu olan bir süreçtir. Apoptoz, bir organizmanın seçici hücre uzaklaştırma yöntemidir. Apoptoz için kritik olan proteinlerin çoğu tanımlanmıştır, ancak apoptotik indüksiyon ve inhibisyonun moleküler mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır, bu nedenle bu konu devam eden araştırmaların odak noktası olmaya devam etmektedir (Huerta vd., 2007; Martinez vd., 2010).

Şekil 4.1

Apoptozun Mekanizması



Kaynak: Tomatır, 2003

Apoptozun belirlenmesinde, hematoksilin-eozin boyama yöntemi, giemsa boyama yöntemi, floresan mikroskopi yöntemi, elektron mikroskopi yöntemi, faz kontrast mikroskopi, aneksin V yöntemi, TUNEL yöntemi, M30 yöntemi, Kaspaz-3 yöntemi, Agaroz jel elektroforezi ve Western blot yöntemi ve akım sitometri yöntemi kullanılmaktadır (Güleş ve Eren, 2008).

4.3.1 Annexin V/Propidyum iyodür ile apoptozun belirlenmesi

Bu test apoptoz geçiren hücrelerin sayısını belirlemek için kullanılmaktadır. Apoptoz, hücrelerin önce annexin V ve propidyum iyodür çözeltileri ile boyanması ve ardından akış sitometrisi analizi ile tespit edilmektedir. Normal hücreler iç membranının sitoplazmaya bakan tarafında fosfatidil serin eksprese etmektedir. Ancak apoptoz durumunda fosfatidil serin dış membranda açığa çıkmaktadır. Açığa çıkan fosfatidil serin, annexin V tarafından tespit edilmekte ve propidyum iyodür, sızmış DNA içeriğine sahip nekrotik hücreleri boyayarak apoptotik ve nekrotik hücrelerin ayırt edilebilmesini sağlamaktadır (Miller, 2004).

4.3.2 Annexin V/Propidyum iyodür apoptoz belirleme deneyinin uygulanması

1. Hücre süspansiyonu 2×10^5 / kuyucuk olacak şekilde 6 kuyucuklu hücre kültür plakasına dağıtılarak 24 saat inkübasyona bırakıldı (%5 CO₂, %95 nem ve 37°C).

2. Mirtazepinin 100 ve 250 mM olmak üzere 2 farklı konsantrasyonu ile birlikte üyüme kontrol (besiyeri) ve çözücü kontrol (%1 DMSO) hücre dizilerinin ekildiği plakalara 2 tekrarlı olacak şekilde uygulandı ve 24 saat inkübasyona bırakıldı (%5 CO₂, %95 nem ve 37°C).
3. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda hücre kültür plakalarının üst kısmı atılmadan santrifüj tüplerine toplandı.
4. Plakalara 500 µl tripsin-EDTA çözeltisi ilave edilerek 3 dakika inkübe edildi (%5 CO₂, %95 nem ve 37°C).
5. İnkübatörden alınan plakaların içine besiyeri ilave edilerek pipet yardımıyla santrifüj tüpüne alındı ve +4°C, 1200 g'de 5 dakika santrifüj edildi.
6. Santrifüj tüpündeki besiyeri uzaklaştırıldıktan sonra hücre pelleti 1ml fosfat tamponu ile süspanse edildi ve sonra tekrar +4°C, 1200 g'de 5 dakika santrifüj edildi.
7. Fosfat tamponu uzaklaştırıldıktan sonra hücre pelleti 1X Annexin V Binding Buffer ile 1×10^6 hücre/ml olacak şekilde süspanse edildi.
8. Farklı bir tüpte birbirine karışmayacak şekilde 5 µl Annexin V ve 5 µl PI ilave edildi ve sonrasında 100 µl hücre süspansiyonu ilave edildi.
9. Tüpler 15 dakika oda ısısında ışıktan korunarak bekletildikten sonra 400 µl 1X Annexin V Binding Buffer ilave edilerek akış sitometri cihazında analiz edildi.

4.4 Hücre İçi Reaktif Oksijen Türleri Üretiminin Belirlenmesi

Oksidasyon-redüksiyon (redoks) homeostazı, yaşamsal fonksiyonlar için önemlidir. Hücre içi ve hücre dışında, fizyolojik veya patofizyolojik durumlar, eş zamanlı olarak aktif olan redoks sistemlerinin farklı kontrol noktaları ile karakterize edilmektedir. Kontrol noktaları için bir örnek indirgenmiş nikotinamid adenin dinükleotid (NADH) sistemidir. Reaksiyonlar arasında akış olduğu sürece termodinamik dengeden bir sapma olmakta ve bu sapmanın akışın büyüklüğü ile doğru orantılı olduğu belirtilmektedir. Termodinamik dengeden belirgin sapmalar biyomoleküllere zarar verebilmekte ve fizyolojik redoks sinyalleri üzerinde olumsuz etkilere neden olabilmektedir (Sies vd., 2017).

Genel olarak prooksidanlar ve oksidanlar reaktif oksijen türleri ve reaktif nitrojen türleri (ROS/RNS) olarak adlandırılırlar. Metabolik reaksiyonlar sırasında üretilen en önemli

serbest radikaller oksijenden türetilen radikallerdir. Serbest radikaller, atom çekirdeğinin etrafında en dış orbitalinde en az bir eşlenmemiş elektron içeren ve bağımsız olarak var olabilen türlerdir. Serbest radikallere örnek olarak süperoksit, hidroksil, alkoksi radikali, peroksil radikali, nitrik oksit ve nitrojen dioksit verilmektedir (Phaniendra vd., 2014).

Oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasında oksidanlar lehine olan, redoks sinyalizasyonunun ve kontrolünün bozulmasına yol açan; moleküler hasara yol açabilen bir dengesizlik durumu olarak tanımlanmaktadır. Çok sayıda çalışma, oksidatif stresin kardiyovasküler bozukluklardan kansere kadar çeşitli patolojilerin başlamasına ve ilerlemesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Oksidatif stres ayrıca DNA yapısında baz lezyonları, DNA-protein çapraz bağlanmaları, DNA iplik kırılmaları gibi çeşitli mutasyon ve modifikasyonlara neden olabilmektedir (Sies, 2020).

ROT'ların hücresel seviyelerinin tahmin edilmesinde florojenik problemler kullanılmaktadır. Hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri ve peroksil radikalleri DCFDA (5-(ve -6)-karboksi-2',7'-diklorodihidrofloresein diasetat) ile boyamanın ardından ölçülmektedir. DCFDA hücre içine difüze olmakta ve burada hücre içi esterazlar tarafından hidrolize edilmektedir. Bu hidroliz ürünü hidrojen peroksit ile reaksiyona girerek floresan DCF (2',7'-diklorofloresein) üretmektedir. Hücreler tarafından üretilen ROT miktarı, akış sitometri veya floresan plaka okuyucu kullanılarak, DCF'nin floresan yoğunluğu ile hesaplanmaktadır (Katerji vd., 2019).

4.4.1 DCFDA/H2DCFDA testi ile reaktif oksijen türleri üretiminin belirlenmesi

1. Hücre süspansiyonu $2,5 \times 10^4$ / kuyucuk olacak şekilde 24 kuyucuklu hücre kültür plakasına dağıtılarak 24 saat inkübasyona bırakıldı (%5 CO₂, %95 nem ve 37°C).
2. 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda hücre plakasının üst kısmı ters çevrilerek uzaklaştırıldı.
3. 1X Tampon çözeltisi 100 µL/kuyucuk olacak şekilde eklendi, ortamdan uzaklaştırıldı.
4. 25 µM DCFDA çözeltisi (taze hazırlanmalı – 10 µL 20 mM DCFDA stok çözelti + 10 ml 1X Tampon çözeltisi) 100 µL/kuyucuk olacak şekilde eklendi ve 45 dakika karanlıkta inkübe edildi (%5 CO₂, %95 nem ve 37°C).
5. İnkübasyon süresi sonunda DCFDA çözeltisi ortamdan uzaklaştırıldı.
6. 1X Tampon çözeltisi 100 µL/kuyucuk olacak şekilde eklendi, ortamdan uzaklaştırıldı.

7. Mirtazepinin 100 ve 250 nM olmak üzere 2 farklı konsantrasyonu ile birlikte çözücü kontrol (%1 DMSO) ve pozitif kontrol [tert-Butilhidroperoksit (TBHP), 100 µM] 100 µL/kuyucuk olacak şekilde plakalara uygulandı ve 4 saat inkübasyona bırakıldı (%5 CO₂, %95 nem ve 37°C).

8. İnkübasyon süresi sonunda kuyucukların floresan intensitesi, floresan plaka okuyucusu kullanılarak ölçüldü (Eksitasyon: 488 nm / emisyon: 530 nm).



5 BULGULAR

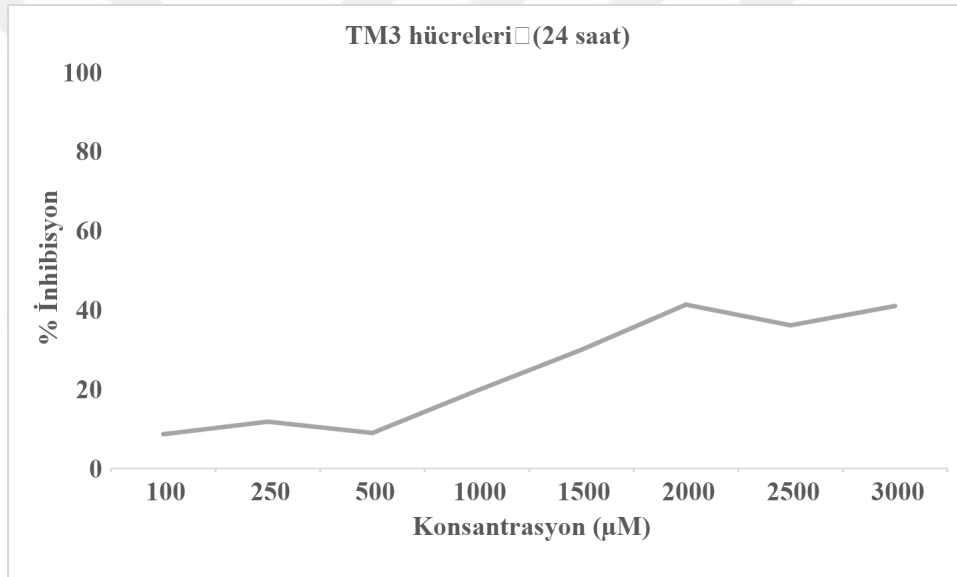
5.1 MTT Hücre Canlılığı Testi Sonuçları

5.1.1 Venlafaksinın MTT sitotoksisite testi sonuçları

TM3 Leydig hücreleri 100 – 3000 μ M aralığında olmak üzere venlafaksinın 8 farklı konsantrasyonuna 24 saat süre ile maruz bırakılmıştır. Süre sonunda venlafaksinın hücre canlılığını azalttığı ancak en yüksek konsantrasyon olan 3000 μ M konsantrasyonda bile hücre canlılığını %40,95 oranında azalttığı tespit edilmiştir (**şekil 5.1**). Bu nedenle venlafaksinın İK50 değeri TM3 Leydig hücrelerinde hesaplanamamıştır.

şekil 5.1

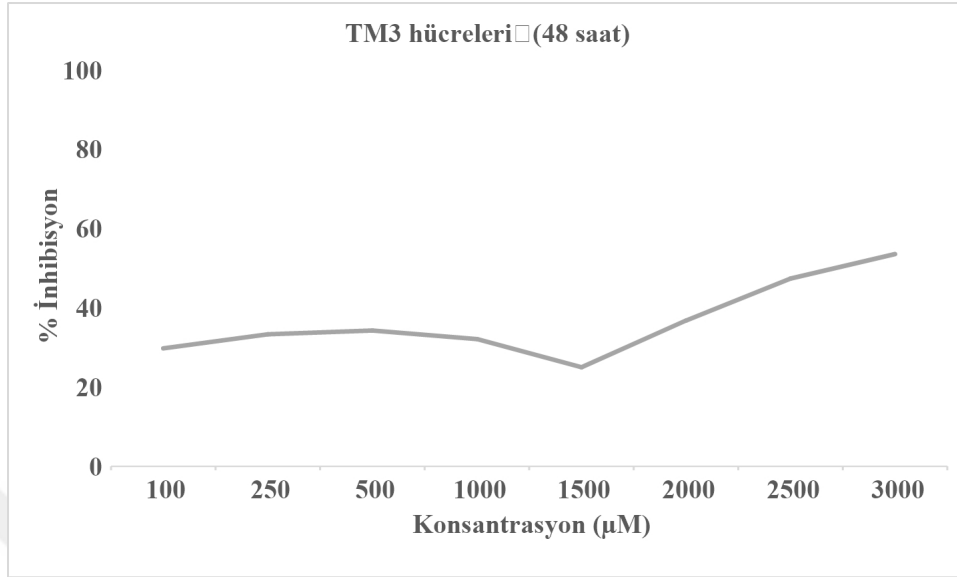
Venlafaksinın TM3 Leydig Hücrelerinde Hücre Canlılığı  zerine Etkileri (24 Saat)



TM3 Leydig hücreleri 100 – 3000 μ M aralığında olmak üzere venlafaksinın 8 farklı konsantrasyonuna 48 saat süre ile maruz bırakılmıştır. Süre sonunda venlafaksinın hücre canlılığını azalttığı ancak en yüksek konsantrasyon olan 3000 μ M konsantrasyonda bile hücre canlılığını %53,56 oranında azalttığı tespit edilmiştir (**şekil 5.2**). Buna göre 48 saatlik maruziyet süresi sonunda venlafaksinın İK50 değeri TM3 Leydig hücrelerinde 2728,60 μ M olarak hesaplanmıştır.

Şekil 5.2

Venlafaksinin TM3 Leydig Hücrelerinde Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri (48 Saat)

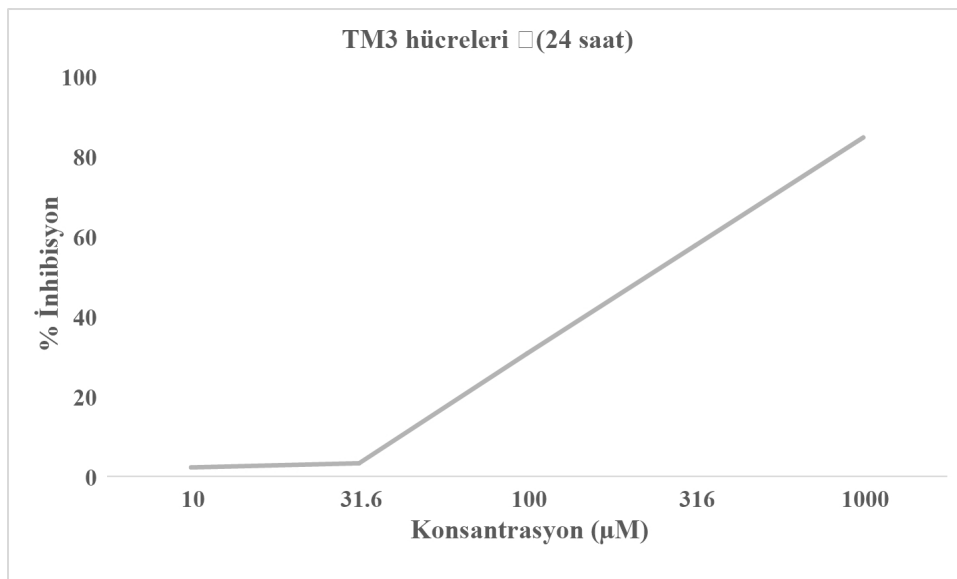


5.1.2 Mirtazepinin MTT sitotoksisite testi sonuçları

TM3 Leydig hücreleri 10 – 1000 µM aralığında olmak üzere mirtazepinin 5 farklı konsantrasyonuna 24 saat süre ile maruz bırakılmıştır. Süre sonunda mirtazepinin hücre canlılığını doza bağımlı olarak azalttığı tespit edilmiştir (Şekil 5.3). Mirtazepinin İK50 değeri TM3 Leydig hücrelerinde 228,11 µM olarak hesaplanmıştır.

Şekil 5.3

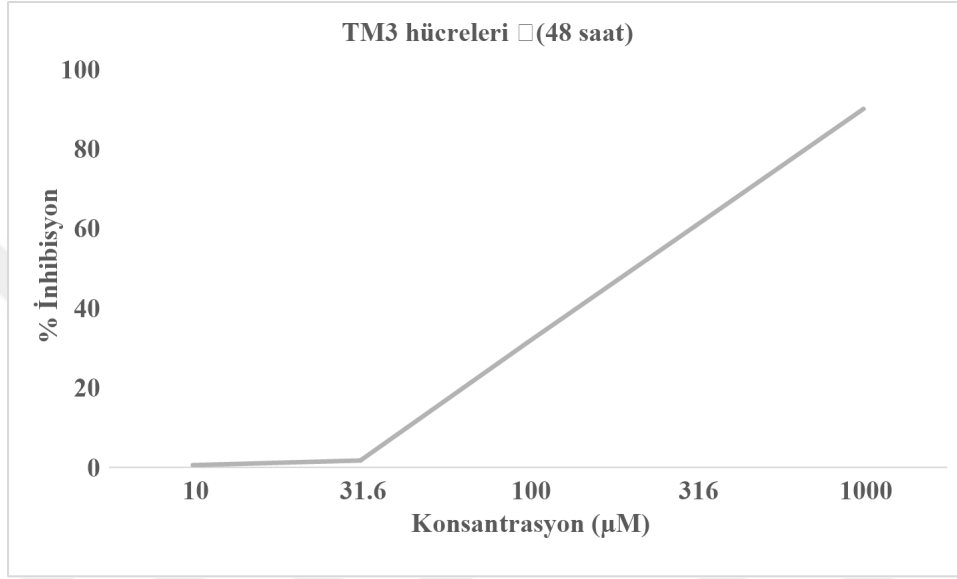
Mirtazepinin TM3 Leydig Hücrelerinde Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri (24 Saat)



TM3 Leydig hücreleri 10 – 1000 μ M aralığında olmak üzere mirtazepinin 5 farklı konsantrasyonuna 48 saat süre ile maruz bırakılmıştır. Süre sonunda mirtazepinin hücre canlılığını doza bağımlı olarak azalttığı tespit edilmiştir (**Şekil 5.4**). Mirtazepinin İK50 değeri TM3 Leydig hücrelerinde 207,55 μ M olarak hesaplanmıştır.

Şekil 5.4

Mirtazepinin TM3 Leydig Hücrelerinde Hücre Canlılığı Üzerine Etkileri (48 Saat)



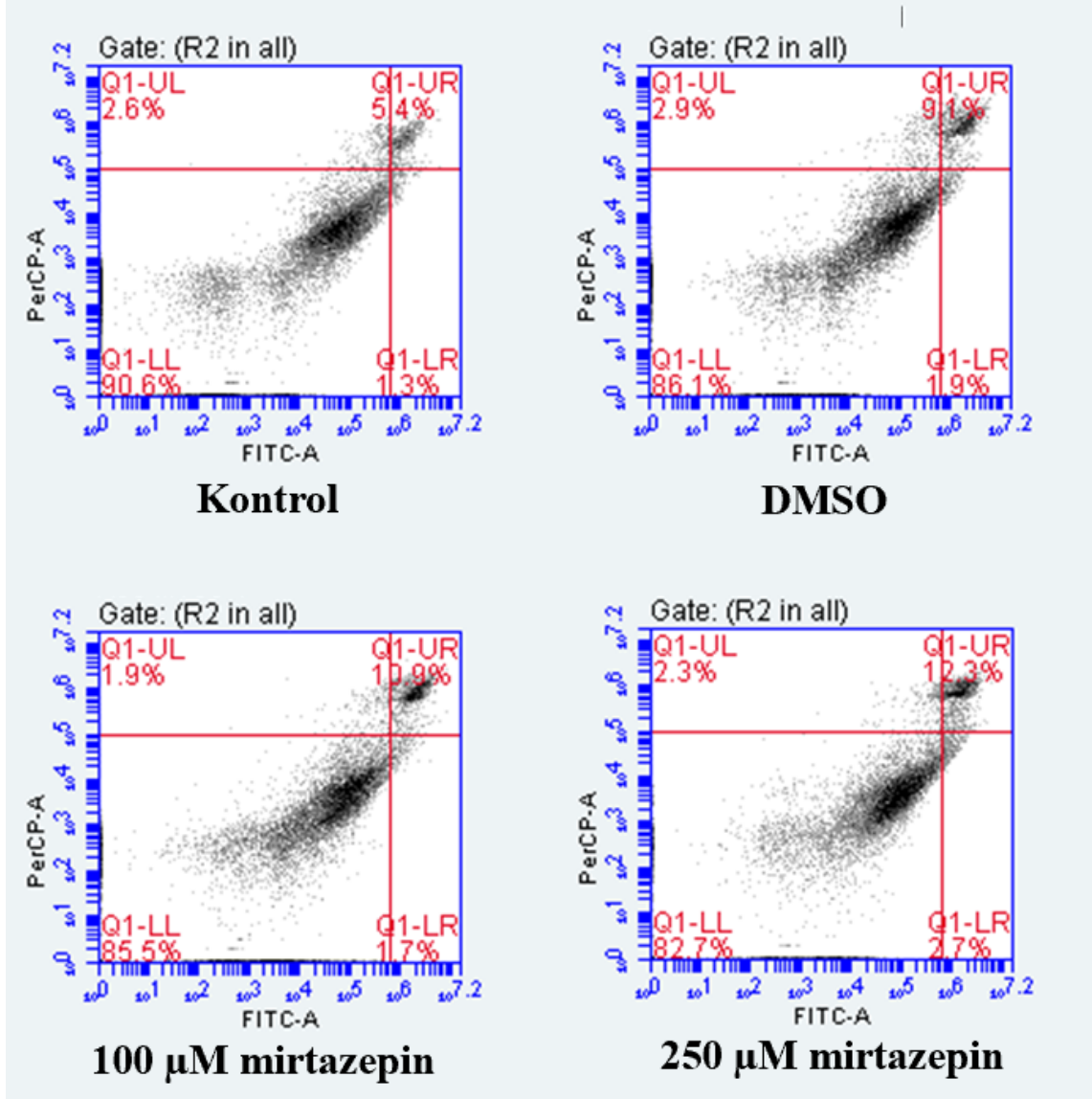
5.2 Annexin V/Propidyum İyodür Apoptoz Testi Sonuçları

Annexin V/propidyum iyodür apoptoz testi mirtazepinin 100 ve 250 nM konsantrasyonları ile uygulanmıştır.

Venlafaksinin 100 nM'ı için nekrotik hücre %2,3, geç apoptotik hücre %12,3, canlı hücre %82,7 ve apoptotik hücre %2,7'dir. Venlafaksinin 250 nM'ı için nekrotik hücre %1,9, geç apoptotik hücre %10,9, canlı hücre %85,5 ve apoptotik hücre %1,7'dir.

Şekil 5.5

Mirtazepinin TM3 Hücrelerinde Akış Sitometrik Analiz Diyagramı



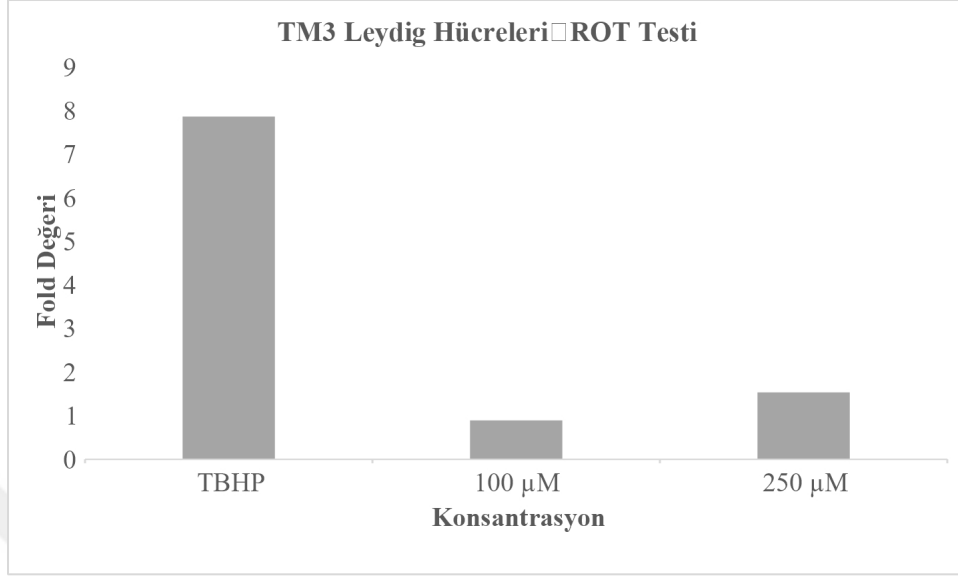
Üst Sol Kadran Nekrotik (Q1-UL; Anneksin V-negatif/PI-pozitif); Üst Sağ Kadran Geç Apoptotik Hücreler (Q1-UR; Anneksin V-pozitif/PI-pozitif); Alt Sol Kadran Canlı Hücreler (Q1-LL; Anneksin V-negatif/PI-negatif) ve Alt Sağ Kadran Apoptotik Hücreler (Q1-LR; Anneksin V-pozitif/PI-negatif)

5.3 DCFDA/H2DCFDA Testi Sonuçları

TM3 Leydig hücrelerinde ROT testi için mirtazepin konsantrasyonları 100 ve 250 nM olarak seçilmiştir. Buna göre mirtazepinin TM3 Leydig hücrelerinde konsantrasyon bağımlı olarak ROT üretimini indüklemiştir. Mirtazepinin 250 nM konsantrasyonunda 100 nM konsantrasyonuna oranla TM3 hücrelerinde daha fazla ROT üretimini indüklemiştir.

Şekil 5.6

Mirtazepinin TM3 Leydig Hücrelerinde ROT Üretimi Üzerine Etkileri



6 SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

6.1 Sonuç

MTT testi ile TM3 Leydig hücrelerinin 24 ve 48 saat süre ile venlafaksin yüksek konsantrasyonlarına maruziyeti belirgin bir sitotoksik etkiye neden olmadığı belirlenmiştir. Diğer taraftan MTT testi ile TM3 Leydig hücrelerinin 24 ve 48 saat süre ile mirtazepinin 5 farklı konsantrasyonlarına maruziyeti sitotoksik etkiye neden olduğu gözlenmiştir. Bu noktada annexin V/propidyum iyodür apoptoz testi mirtazepinin 100 ve 250 nM konsantrasyonlarının TM3 Leydig hücrelerinde apoptotik hücre ölümünü tetiklediği belirlenmiştir. Mirtazepinin 100 ve 250 nM olan çalışma konsantrasyonları TM3 Leydig hücrelerinde ROT üretimini indüklemiştir.

6.2 Tartışma

Dünya çapında yapılan birçok çalışmada insan sperm kalitesinde bir düşüş yaşandığına dikkat çekilmektedir. Sperm kalitesindeki azalmanın erkek fertilitasını olumsuz etkilemesi kaçınılmazdır (Xio vd., 2019). Zaten erkek fertilitasının değerlendirilmesinde semen kalitesi analiz edilmektedir, yani çeşitli semen parametreleri saptanmaktadır (Crafa vd., 2022). Gözlemlenen anormal semen parametreleri arasında azalmış sperm sayısı, sperm hareketliliği ve normal sperm morfolojisi, azalmış ejakülat hacmi ve uzamış sperm sıvılaşırma süresi yer almaktadır (Levine vd., 2023). Azalmış, baskılanmış veya tamamen eksik spermatogenez, erkek fertilitası ile ilişkili en önemli etkendir (Samplaski ve Nangia, 2015). Sigara ve alkol tüketimi gibi sağlıksız yaşam tarzı ve pestisidler ve radyasyon gibi çevresel faktörler azalmış, baskılanmış veya tamamen eksik spermatogenez neden olmakta ve erkeklerde fertilitayı etkilemektedir (Ding vd., 2017; Huang vd., 2023). Tedavide kullanılan birçok ilacın da spermatogenezini olumsuz etkileyerek ve geçici veya kalıcı infertiliteye yol açtığı ifade edilmektedir (Amory, 2007; Samplaski ve Nangia, 2015). Klinik pratikte, reproduktif yaştaki birçok erkek, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, hiperlipemi, depresif bozukluk gibi çeşitli hastalıkların uzun süreli tedavisi için ilaç kullanımına ihtiyaç duymaktadır. Ancak, ilaç tedavisinin erkek fertilitası üzerindeki etkileri genellikle iyi değerlendirilmemektedir. İlaçlar, doğrudan gonadal toksisiteye, HHG ekseninde dengesizliğe, cinsel fonksiyon bozukluğuna ve libido üzerinde olumsuz etkilere neden olarak erkek fertilitasını etkileyebilmektedir (Mo vd., 2023). Spermatogonyumlara, Sertoli hücrelerine veya Leydig hücrelerine zarar veren herhangi bir ilaç, spermatogenez ve sperm olgunlaşma

süreçlerini etkileyebilmektedir. Testislerin veya epididimisin mikro çevresinde zararlı değişikliklere neden olan ilaçlar, spermatogenezi ve sperm olgunlaşmasını da etkileyerek fertilité üzerinde olumsuz etkilere yol açabilmektedir (Ding vd., 2017).

Bu noktadan hareketle bu tez çalışması kapsamında reproduktif yaşlarda depresyon tedavisinde tekrarlayan dozlarda kullanılan venlafaksin ve mirtazepinin TM3 Leydig hücrelerinde *in vitro* reproduktif toksisitesinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. TM3 Leydig hücre dizileri BALB/c fare testisinden elde edilmekte ve yerinde Leydig hücreleriyle morfolojik ve hormonal özellikleri açısından benzerlik göstermektedir (Uchida vd., 2001).

Çalışmamızda MTT testi sonuçlarına göre TM3 Leydig hücrelerinde venlafaksin hücre canlılığını anlamlı şekilde etkilemezken, mirtazepin hücre canlılığını doz bağımlı olarak önemli ölçüde azaltmıştır. Somatik testis Leydig hücreleri erkek reproduktif organlarının gelişimi ve erkek fertilitesinde önemli rol oynamaktadır. Bu hücreler dış genital organların gelişimi ve spermatogenezin başlangıcı için gerekli olan testosteronu üretmektedir (Jambor vd., 2014). Dolayısıyla Leydig hücrelerine zarar veren ksenobiyotiklerin spermatogenez ve steroidogenezi olumsuz olarak etkileyebileceği aşıkardır. Bu noktada venlafaksin CYP2D6 tarafından aktif O-desmetilvenlafaksine metabolize edildiği vurgulanmalıdır (Dean, 2015). Dolayısıyla TM3 Leydig hücrelerinde bu aktif metabolitin oluşmadığı ifade edilebilir. TM3 Leydig hücrelerinin CYP2D6 enzimini ekspresyonunu değerlendiren herhangi bir çalışma olmadığı vurgulanmalıdır. Kaldı ki bu enzimi ekspre etse bile deney koşullarında herhangi bir toksik etkiyi indükleyebilecek seviyede O-desmetilvenlafaksin oluşmamış olabilir. Bu sonuçlar doğrultusunda venlafaksin TM3 Leydig hücrelerinde herhangi bir toksik etkisinin olmadığı ifade etmek çok da doğru değildir. Ancak çalışmamızda MTT test sonuçlarına göre mirtazepinin TM3 Leydig hücrelerinde sitotoksik etkisi olduğu belirlenmiştir. Farklı çalışmalarda da mirtazepin uygulamasının farklı hücre dizilerinde sitotoksositeye neden olduğu gösterilmiştir. İnsan periferik kan lenfositlerinin 24 ve 48 saat süre ile remeronun (mirtazepin) farklı konsantrasyonlarına maruz bırakıldığı bir çalışmada, remeronun (mirtazepin) konsantrasyona bağılı bir şekilde hücrelerde mitotik indeks ve çekirdek bölünme indeksinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre remeronun (mirtazepin) insan periferik kan lenfositleri üzerinde sitotoksik etkilerinin olduğu ifade edilmiştir (Norizadeh-Tazehkand ve Topaktas, 2015). İnsan osteosarkom

hücrelerinin mirtazapine maruziyeti hücrel depolardan Ca^{2+} salıverilmesine ve ekstraselüler alandan Ca^{2+} akışına neden olarak hücrelerde Ca^{2+} artışına neden olmuştur. Ayrıca mirtazapinin yüksek konsantrasyonlarda osteosarkom hücrelerinde sitotoksik etkiye neden olduğu gözlenmiştir (Pan vd., 2006).

Tüm canlı organizmalar hücrel metabolizmanın bir sonucu olarak ROT üretilmektedir. Mitokondri ve NADPH oksidazlar hücre içi ROT'un başlıca kaynakları olarak ifade edilmektedir (Holmström vd., 2014). İlginç bir şekilde, her iki kaynak arasında oksidatif stresin kademeli ilerlemesine katkıda bulunan etkileşimler bulunmaktadır (Daiber vd., 2017). Diğer ROT kaynakları arasında uncoupled nitrik oksit sentaz, sitokrom p450, ksantin oksidaz, endoplazmik retikulum, peroksidazlar ve siklooksijenazlar sayılmaktadır (Cervantes Gracia vd., 2017; Förstermann vd., 2017). ROT'un hücre proliferasyonu, inflamasyonu, metabolizması ve hücre ölümü gibi çeşitli hücre içi yollara aracılık ettiği bilinmektedir (de Almeida vd., 2022; Sies vd., 2022). Çalışma sonuçlarımız, mirtazepine maruz bırakılan TM3 Leydig hücrelerinde ROT üretiminin arttığını işaret etmektedir. Yapılan bir çalışmada *Daphnia magna*'nın mirtazepin ile maruziyeti oksidatif stresi indüklediği gösterilmiştir (Duan vd., 2022). Ancak oksidatif stresin indüklendiği farklı patolojilerde mirtazepinin oksidatif stres parametreleri açısından koruyucu etkisi olduğu gözlenmiştir (Bilici vd., 2009; Gulec vd., 2013; Wang vd., 2024).

Kimyasal maddeler ile indüklenen hücre ölümünün birden fazla moduyla ilişkili olabileceği artık kanıtlanmış olsa da başlangıçta toksik hücre ölümünün nekrotik tipte olduğu düşünülmekteydi. Ancak çok sayıda kimyasal maddenin apoptozu indükleyerek de toksisiteye neden olmaktadır. Hücre içi Ca^{2+} homeostazının bozulması veya hafif oksidatif stresin başlatılması kimyasal maddelerin apoptozu indükleyici etkilerine aracılık etmektedir (Orrenius vd., 2011). Apoptoz, çok hücreli organizmaların gelişimi ve hayatta kalması için gerekli olan oldukça düzenlenmiş bir süreçtir (Redza-Dutordoir ve Averill-Bates, 2016; An vd., 2024). Çalışmamızda mirtazepin maruziyeti ile TM3 Leydig hücrelerinde apoptotik hücre ölümünün tetiklendiği gözlenmiştir. Bu noktada mirtazepin ile indüklenen apoptotik hücre ölümünün TM3 hücrelerinde indüklenen hafif artmış ROT seviyeleri ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

6.3 Öneriler

Tez çalışması kapsamında venlafaksin ile olmasa da mirtazepin ile reproduktif toksisiteyi işaret eden temel bulgular elde edilmiştir. Reproduktif yaşlarda tekrarlayan dozlarda

depresyon tedavisinde sıklıkla kullanılan ilaçlar olarak hem venlafaksin hem mirtazepinin deney hayvanlarında insan dozlarına eş değer maruziyetlerde reproduktif advers etkilerinin tanımlanması gerekmektedir. Bu noktada bu ilaçların sadece testiküler düzeydeki etkilerinin değil aynı zaman hipotalamus-hipofiz eksenindeki etkilerinin de yani pretestiküler advers etkilerinin de aydınlatılması gerekmektedir. Ayrıca venlafaksin ve mirtazepin tedavisi altındaki depresyon hastalarının fertilite potansiyelleri, sperm parametreleri ve reproduktif hormon seviyeleri epidemiyolojik çalışmalar ile değerlendirilmelidir.



KAYNAKÇA

- Agarwal, A., Tvrda, E. And Sharma, R. (2014). Relationship amongst teratozoospermia, seminal oxidative stress and male infertility. *Reproductive biology and endocrinology*, 12, 45. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-12-45>
- Akashah, G., Sirati, L., Noshad Kamran, A. R., and Sepehrmanesh, Z. (2014). Comparison of the effect of sertraline with behavioral therapy on semen parameters in men with primary premature ejaculation. *Urology*, 83(4), 800–804. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2013.12.004>
- Aladamat, N. and Tadi, P. (2022). Histology, Leydig Cells. In *StatPearls. StatPearls Publishing*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32310467/>
- Alzahrani, H. A. (2012). Sister chromatid exchanges and sperm abnormalities produced by antidepressant drug fluoxetine in mouse treated in vivo. *European review for medical and pharmacological sciences*, 16(15), 2154–2161.
- Amory J. K. (2007). Drug effects on spermatogenesis. *Drugs of today*, 43(10), 717–724. <https://doi.org/10.1358/dot.2007.43.10.1131829>
- An, X., Yu, W., Liu, J., Tang, D., Yang, L. and Chen, X. (2024). Oxidative cell death in cancer: mechanisms and therapeutic opportunities. *Cell death and disease*, 15(8), 556. <https://doi.org/10.1038/s41419-024-06939-5>
- Atli, O., Baysal, M., Aydogan-Kilic, G., Kilic, V., Ucarcan, S., Karaduman, B., Ilgin, S. (2017). Sertraline-induced reproductive toxicity in male rats: evaluation of possible underlying mechanisms. *Asian journal of andrology*, 19(6), 672–679. <https://doi.org/10.4103/1008-682X.192637>
- Attia, S. M., and Bakheet, S. A. (2013). Citalopram at the recommended human doses after long-term treatment is genotoxic for male germ cell. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 53, 281–285. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.11.051>
- Bandegi, L., Anvari, M., Vakili, M., Khoradmehr, A., Mirjalili, A., and Talebi, A. R. (2018). Effects of antidepressants on parameters, melondiadehyde, and diphenyl-

- 2-picryl-hydrazyl levels in mice spermatozoa. *International journal of reproductive biomedicine*, 16(6), 365–372.
- Banihani, S. A., and Khasawneh, F. H. (2018). Effect of lansoprazole on human sperm motility, sperm viability, seminal nitric oxide production, and seminal calcium chelation. *Research in pharmaceutical sciences*, 13(5), 460–468. <https://doi.org/10.4103/1735-5362.236839>
- Bataineh, H. N., and Daradka, T. (2007). Effects of long-term use of fluoxetine on fertility parameters in adult male rats. *Neuro endocrinology letters*, 28(3), 321–325.
- Beeder, L. A. and Samplaski, M. K. (2020). Effect of antidepressant medications on semen parameters and male fertility. *International journal of urology : official journal of the Japanese Urological Association*, 27(1), 39–46. <https://doi.org/10.1111/iju.14111>
- Behnia, A. (2024). A Comprehensive Review on the Pharmacology of Tricyclic Antidepressants and their Analytical Methods. *International Journal of New Chemistry*, 12(1), 87-96. doi: 10.22034/ijnc.2024.715835
- Bilici, M., Ozturk, C., Dursun, H., Albayrak, F., Saglam, M. B., Uyanik, A., Gulaboglu, M., and Tekin, S. B. (2009). Protective effect of mirtazapine on indomethacin-induced ulcer in rats and its relationship with oxidant and antioxidant parameters. *Digestive diseases and sciences*, 54(9), 1868–1875. <https://doi.org/10.1007/s10620-008-0560-z>
- Cervantes Gracia, K., Llanas-Cornejo, D. and Husi, H. (2017). CVD and Oxidative Stress. *Journal of clinical medicine*, 6(2), 22. <https://doi.org/10.3390/jcm6020022>
- Chang, L., Wang, J., She, R., Ma, L. And Wu, Q. (2017). In vitro toxicity evaluation of melamine on mouse TM4 Sertoli cells. *Environmental toxicology and pharmacology*, 50, 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2017.01.009>
- Chowdary, P. S. and Rao, M. S. (1987). Cytogenetic effects of amitriptyline hydrochloride in somatic and germ cells of mice. *Toxicology letters*, 39(2-3), 199–204. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(87\)90233-5](https://doi.org/10.1016/0378-4274(87)90233-5)
- Coutens, B., Yroni, A., Rampon, C. and Guiard, B. P. (2022). Psychopharmacological properties and therapeutic profile of the antidepressant venlafaxine.

Psychopharmacology, 239(9), 2735–2752. <https://doi.org/10.1007/s00213-022-06203-8>

Crafa, A., Cannarella, R., LA Vignera, S., Barbagallo, F., Condorelli, R. A. and Calogero, A. E. (2022). Semen analysis: a workflow for an appropriate assessment of the male fertility status. *Minerva endocrinology*, 47(1), 77–88. <https://doi.org/10.23736/S2724-6507.21.03650-2>

Creasy, D. ve Foster, P. (2002). Male Reproductive System. In W. M. Haschek, G., C. G. Rousseaux and M. A. Wallig, *Handbook of Toxicologic Pathology* (Second edition, 785-846). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012330215-1/50043-0>

Da Silva Moreira, S., de Matos Manoel, B., Inácio, J. P. G., de Souza, C. G., Reis, A. C. C., Jorge, B. C., de Aquino, A. M., Scarano, W. R., Cardoso, C. A. L., & Arena, A. C. (2023). Lactational exposure to venlafaxine provokes late repercussions on reproductive parameters in male rat offspring. *Journal of applied toxicology*, 43(3), 387–401. <https://doi.org/10.1002/jat.4389>

Daiber, A., Di Lisa, F., Oelze, M., Kröller-Schön, S., Steven, S., Schulz, E. And Münzel, T. (2017). Crosstalk of mitochondria with NADPH oxidase via reactive oxygen and nitrogen species signalling and its role for vascular function. *British journal of pharmacology*, 174(12), 1670–1689. <https://doi.org/10.1111/bph.13403>

De Almeida, A. J. P. O., de Oliveira, J. C. P. L., da Silva Pontes, L. V., de Souza Júnior, J. F., Gonçalves, T. A. F., Dantas, S. H., de Almeida Feitosa, M. S., Silva, A. O., and de Medeiros, I. A. (2022). ROS: Basic Concepts, Sources, Cellular Signaling, and its Implications in Aging Pathways. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2022, 1225578. <https://doi.org/10.1155/2022/1225578>

De Santi, F., Beltrame, F. L., Rodrigues, B. M., Junior, M. J. V. P., Scaramale, N. F., Lopes, F. L., Cerri, P. S., and Sasso-Cerri, E. (2021). Venlafaxine-induced damage to seminiferous epithelium, spermiation, and sperm parameters in rats: A correlation with high estrogen levels. *Andrology*, 9(1), 297–311. <https://doi.org/10.1111/andr.12852>

De Santi, F., Beltrame, F. L., Rodrigues, B. M., Scaramale, N. F., Lopes, F. L., Cerri, P. S. and Sasso-Cerri, E. (2022). Venlafaxine-induced adrenergic signaling

- stimulates Leydig cells steroidogenesis via Nur77 overexpression: A possible role of EGF. *Life sciences*, 289, 120069. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.120069>
- Dean, L. (2015). Venlafaxine Therapy and CYP2D6 Genotype. In V. M. Pratt (Eds.) et. al., *Medical Genetics Summaries*. National Center for Biotechnology Information.
- Dell'Osso, B., Buoli, M., Baldwin, D. S. and Altamura, A. C. (2010). Serotonin norepinephrine reuptake inhibitors (SNRIs) in anxiety disorders: a comprehensive review of their clinical efficacy. *Human psychopharmacology*, 25(1), 17–29. <https://doi.org/10.1002/hup.1074>
- Ding, J., Shang, X., Zhang, Z., Jing, H., Shao, J., Fei, Q., Rayburn, E. R. and Li, H. (2017). FDA-approved medications that impair human spermatogenesis. *Oncotarget*, 8(6), 10714–10725. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12956>
- Doğantekin E ve Özcan S. (2016). Çevresel etkenler ve spermatogenez. *Androloji Bülteni*, 18(66): 183–7.
- Drobnis, E. Z. and Nangia, A. K. (2017). Psychotropics and Male Reproduction. *Advances in experimental medicine and biology*, (1034), 63–101. https://doi.org/10.1007/978-3-319-69535-8_8
- Duan, S., Fu, Y., Dong, S., Ma, Y., Meng, H., Guo, R., Chen, J., Liu, Y. and Li, Y. (2022). Psychoactive drugs citalopram and mirtazapine caused oxidative stress and damage of feeding behavior in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 230, 113147. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.113147>
- Dwyer, A.A. and Quinton, R. (2019). Anatomy and Physiology of the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal (HPG) Axis. In: Llahana, S., Follin, C., Yedinak, C., Grossman, A. (eds) *Advanced Practice in Endocrinology Nursing*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-99817-6_43
- El-Sisi, A. E., El-Sayad, M. E. And Abdelsalam, N. M. (2017). Protective effects of mirtazapine and chrysin on experimentally induced testicular damage in rats. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, (95), 1059–1066. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.09.022>

- Elnazer, H. Y. and Baldwin, D. S. (2014). Treatment with citalopram, but not with agomelatine, adversely affects sperm parameters: a case report and translational review. *Acta neuropsychiatrica*, 26(2), 125–129. <https://doi.org/10.1017/neu.2013.60>
- Ereshefsky, L. and Dugan, D. (2000). Review of the pharmacokinetics, pharmacogenetics, and drug interaction potential of antidepressants: focus on venlafaxine. *Depression and anxiety*, (12)1, 30–44. [https://doi.org/10.1002/1520-6394\(2000\)12:1<30::aid-da4>3.0.co;2-g](https://doi.org/10.1002/1520-6394(2000)12:1<30::aid-da4>3.0.co;2-g)
- Fekry, E., Rahman, A. A., Awany, M. M. And Makary, S. (2019). Protective effect of mirtazapine versus ginger against cisplatin-induced testicular damage in adult male albino rats. *Ultrastructural pathology*, 43(1), 66–79. <https://doi.org/10.1080/01913123.2019.1592269>
- Förstermann, U., Xia, N. and Li, H. (2017). Roles of Vascular Oxidative Stress and Nitric Oxide in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Circulation research*, 120(4), 713–735. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.309326>
- Ghasemi-Esmailabad, S., Talebi, A. H., Talebi, A. R., Amiri, S., Moshrefi, M. and Pourentezari, M. (2022). The effects of morphine abuse on sperm parameters, chromatin integrity and apoptosis in men. *Jornal Brasileiro de Reproducao Assistida*, 26(3), 444–449. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20210110>
- Ghasemi, M., Turnbull, T., Sebastian, S. and Kempson, I. (2021). The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. *International journal of molecular sciences*, 22(23), 12827. <https://doi.org/10.3390/ijms222312827>
- Gomesi, B.S., Yang, B., Masterson, T.A. (2023). The adverse effects of commonly used medications on male fertility: a comprehensive review. *F&S Reviews*, 4(3);176-186.
- Gorman J. M. (1999). Mirtazapine: clinical overview. *The Journal of clinical psychiatry*, (60)17, 9–48.
- Griswold M. D. (1998). The central role of Sertoli cells in spermatogenesis. *Seminars in cell and developmental biology*, 9(4), 411–416. <https://doi.org/10.1006/scdb.1998.0203>

- Gulec, M., Oral, E., Dursun, O. B., Yucel, A., Hacimuftuoglu, A., Akcay, F. and Suleyman, H. (2013). Mirtazapine protects against cisplatin-induced oxidative stress and DNA damage in the rat brain. *Psychiatry and clinical neurosciences*, 67(1), 50–58. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1819.2012.02395.x>
- Gunes, S., Hekim, G. N. T., Arslan, M. A. And Asci, R. (2016). Effects of aging on the male reproductive system. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 33(4), 441–454. <https://doi.org/10.1007/s10815-016-0663-y>
- Gupta, PC., Verma A. (2018). Potential Parameters in Assessment of Testicular Toxicity. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research* (3). <https://doi.org/10.26717/BJSTR.2018.07.001504>
- Güleş, Ö. and Eren, Ü. (2008). Apoptozun Belirlenmesinde Kullanılan Yöntemler. *Yüüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(2), 73-78.
- Hall, J. ve Hall, M. (2021). *Tıbbi Fizyoloji* (B. Ç. Yeğen; 14). Elsevier Limited. (2021)
- Hamed, M. A., Ekundina, V. O. And Akhigbe, R. E. (2023). Psychoactive drugs and male fertility: impacts and mechanisms. *Reproductive biology and endocrinology*, 21(1), 69. <https://doi.org/10.1186/s12958-023-01098-2>
- Hassanane, M. S., Hafiz, N., Radwan, W. And El-Ghor, A. A. (2012). Genotoxic evaluation for the tricyclic antidepressant drug, amitriptyline. *Drug and chemical toxicology*, 35(4), 450–455. <https://doi.org/10.3109/01480545.2011.642382>
- Holmström, K. M. and Finkel, T. (2014). Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nature reviews molecular cell biology*, 15(6), 411–421. <https://doi.org/10.1038/nrm3801>
- Hou, L., Fu, Y., Zhao, C., Fan, L., Hu, H. And Yin, S. (2024). The research progress on the impact of antibiotics on the male reproductive system. *Environment international*, (187), 108-670. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2024.108670>
- Huang, B., Wang, Z., Kong, Y., Jin, M. and Ma, L. (2023). Global, regional and national burden of male infertility in 204 countries and territories between 1990 and 2019: an analysis of global burden of disease study. *BMC public health*, 23(1), 2195. <https://doi.org/10.1186/s12889-023-16793-3>

- Huerta, S., Goulet, E. J., Huerta-Yepez, S. and Livingston, E. H. (2007). Screening and detection of apoptosis. *The Journal of surgical research*, 139(1), 143–156. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2006.07.034>
- Huijgen, N. A., de Ridder, M. A., Verhamme, K. M., Dohle, G. R., Vanrolleghem, A. M., Sturkenboom, M. C., Laven, J. S. And Steegers-Theunissen, R. P. (2016). Are proton-pump inhibitors harmful for the semen quality of men in couples who are planning pregnancy?. *Fertility and sterility*, 106(7), 1666–1672.e2. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.09.010>
- Ilgin, S., Kilic, G., Baysal, M., Kilic, V., Korkut, B., Ucarcan, S. And Atli, O. (2017). Citalopram Induces Reproductive Toxicity in Male Rats. *Birth defects research*, 109(7), 475–485. <https://doi.org/10.1002/bdr2.1010>
- Inhorn, M. C. And Patrizio, P. (2015). Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. *Human reproduction update*, 21(4), 411–426. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmv016>
- Jambor T, Tvrdá E, Lukáčová J, Lukáč N. (2014). Leydig cells as a model of male reproductive system. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 3(2), 93-96.
- James, E. R., Carrell, D. T., Aston, K. I., Jenkins, T. G., Yeste, M., & Salas-Huetos, A. (2020). The Role of the Epididymis and the Contribution of Epididymosomes to Mammalian Reproduction. *International journal of molecular sciences*, 21(15), 5377. <https://doi.org/10.3390/ijms21155377>
- Joseph, A., Shur, B. D., & Hess, R. A. (2011). Estrogen, efferent ductules, and the epididymis. *Biology of reproduction*, 84(2), 207–217. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.110.087353>
- Katerji, M., Filippova, M., & Duerksen-Hughes, P. (2019). Approaches and Methods to Measure Oxidative Stress in Clinical Samples: Research Applications in the Cancer Field. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2019, 1279250. <https://doi.org/10.1155/2019/1279250>

- Kaur, S., Kaur, A., Jaswal, N., Anika, A., Sadwal, S. And Bharati, S. (2021). Selenium attenuates venlafaxine hydrochloride-induced testicular damage in mice via modulating oxidative stress and apoptosis. *Andrologia*, 53(6), e14050. <https://doi.org/10.1111/and.14050>
- Khaki A. (2015). Assessment on the adverse effects of Aminoglycosides and Flouroquinolone on sperm parameters and male reproductive tissue: A systematic review. *Iranian journal of reproductive medicine*, 13(3), 125–134.
- Kocer, A., Reichmann, J., Best, D. and Adams, I. R. (2009). Germ cell sex determination in mammals. *Molecular human reproduction*, 15(4), 205–213. <https://doi.org/10.1093/molehr/gap008>
- Kumar, V. S., Sharma, V. L., Tiwari, P., Singh, D., Maikhuri, J. P., Gupta, G. And Singh, M. M. (2006). The spermicidal and antitrichomonas activities of SSRI antidepressants. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 16(9), 2509–2512. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.01.078>
- Larose, H., Shami, A. N., Abbott, H., Manske, G., Lei, L., & Hammoud, S. S. (2019). Gametogenesis: A journey from inception to conception. *Current topics in developmental biology*, 132, 257–310. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2018.12.006>
- Levine, H., Jørgensen, N., Martino-Andrade, A., Mendiola, J., Weksler-Derri, D., Jolles, M., Pinotti, R., & Swan, S. H. (2023). Temporal trends in sperm count: a systematic review and meta-regression analysis of samples collected globally in the 20th and 21st centuries. *Human reproduction update*, 29(2), 157–176. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmac035>
- Mantovani, A., and Maranghi, F. (2005). Risk assessment of chemicals potentially affecting male fertility. *Contraception*, 72(4), 308–313. <https://doi.org/10.1016/j.contraception.2005.04.014>
- Martinez, M.M., Reif, R.D. and Pappas, D. (2010). Detection of apoptosis: A review of conventional and novel techniques. *Analytical Methods*, 2, 996-1004.

- Martini, A. C., Molina, R. I., Tissera, A. D., Ruiz, R. D. and Fiol de Cuneo, M. (2003). Analysis of semen from patients chronically treated with low or moderate doses of aspirin-like drugs. *Fertility and sterility*, 80(1), 221–222. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(03\)00550-8](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(03)00550-8)
- Mascarenhas, M. N., Flaxman, S. R., Boerma, T., Vanderpoel, S. And Stevens, G. A. (2012). National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS medicine*, 9(12), e1001356. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001356>
- McPhee, S. J. (2000). Disorders of the Male Reproductive Tract, *Pathophysiology of disease: an introduction to clinical medicine* (3rd ed). Lange Medical Books/McGraw-Hill, Health Professions Division. https://archive.org/details/isbn_9780838581605
- Mihalik, J., Mašlanková, J., Solár, P., Horváthová, F., Hubková, B., Almášiová, V., Šoltés, J., Švaňa, M., Rybárová, S., & Hodorová, I. (2015). The effect of R-(-)-deprenyl administration on reproductive parameters of rat males. *European journal of pharmacology*, 754, 148–152. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2015.02.030>
- Miller E. (2004). Apoptosis measurement by annexin v staining. *Methods in molecular medicine*, 88, 191–202. <https://doi.org/10.1385/1-59259-406-9:191>
- Mo, P., Zhao, Z., Ke, X., Fan, Y. and Li, C. (2023). Effects of clinical medications on male fertility and prospects for stem cell therapy. *Frontiers in cell and developmental biology*, 11, 1258574. <https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1258574>
- Modgil, V., Rai, S., Ralph, D. J., and Muneer, A. (2016). An update on the diagnosis and management of ejaculatory duct obstruction. *Nature reviews. Urology*, 13(1), 13–20. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2015.276>
- Mohammadi T. (2024). Effect of quercetin and mirtazapine on spermatogenesis and testis structure in phenylhydrazine-induced hemolytic anemia mice: An experimental study. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 189, 114732. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2024.114732>

- Mokshagundam, S. L. And Minocha, A. (1997). Does concurrent acute ethanol ingestion during omeprazole therapy affect pituitary gonadal axis in male subjects?. *Journal of toxicology. Clinical toxicology*, 35(1), 55–61. <https://doi.org/10.3109/15563659709001166>
- Morakinyo, A. O., Iranloye, B. O. And Adegoke, O. A. (2009). Antireproductive effect of calcium channel blockers on male rats. *Reproductive medicine and biology*, 8(3), 97–102. <https://doi.org/10.1007/s12522-009-0018-9>
- Mruk, D. D., and Cheng, C. Y. (2015). The Mammalian Blood-Testis Barrier: Its Biology and Regulation. *Endocrine reviews*, 36(5), 564–591. <https://doi.org/10.1210/er.2014-1101> (Retraction published *Endocr Rev.* 2016 Feb;2016(1):43. doi: 10.1210/er.2015-1127.2016.1.test)
- Mumtaz, N., Akhtar, M. F., Saleem, A. And Riaz, A. (2022). Harmful Consequences of Proton Pump Inhibitors on Male Fertility: An Evidence from Subchronic Toxicity Study of Esomeprazole and Lansoprazole in Wistar Rats. *International journal of endocrinology*, 2022, 4479261. <https://doi.org/10.1155/2022/4479261>
- Norizadeh Tazehkand, M. and Topaktas, M. (2015). The in vitro genotoxic and cytotoxic effects of remeron on human peripheral blood lymphocytes. *Drug and chemical toxicology*, 38(3), 266–271. <https://doi.org/10.3109/01480545.2014.947425>
- Orrenius, S., Nicotera, P., Zhivotovsky, B. (2011). Cell death mechanisms and their implications in toxicology. *Toxicol Sci*, 119(1), 3–19. <https://10.1093/toxsci/kfq268>
- Ottman, A. A., Warner, C. B. And Brown, J. N. (2018). The role of mirtazapine in patients with fibromyalgia: a systematic review. *Rheumatology international*, 38(12), 2217–2224. <https://doi.org/10.1007/s00296-018-4068-3>
- Pan, C. C., Cheng, H. H., Huang, C. J., Lu, Y. C., Chen, I. S., Liu, S. I., Hsu, S. S., Chang, H. T., Huang, J. K., Chen, J. S. and Jan, C. R. (2006). The antidepressant mirtazapine-induced cytosolic Ca²⁺ elevation and cytotoxicity in human osteosarcoma cells. *The Chinese journal of physiology*, 49(6), 290–297.
- Parks Saldutti, L., Beyer, B. K., Breslin, W., Brown, T. R., Chapin, R. E., Champion, S., Enright, B., Faustman, E., Foster, P. M., Hartung, T., Kelce, W., Kim, J. H., Loba, E. G., Piersma, A. H., Seyler, D., Turner, K. J., Yu, H., Yu, X. and Sasaki,

- J. C. (2013). In vitro testicular toxicity models: opportunities for advancement via biomedical engineering techniques. *ALTEX*, 30(3), 353–377. <https://doi.org/10.14573/altex.2013.3.353>
- Pasqualotto, F. F., Lucon, A. M., Sobreiro, B. P., Pasqualotto, E. B., & Arap, S. (2004). Effects of medical therapy, alcohol, smoking, and endocrine disruptors on male infertility. *Revista do Hospital das Clinicas*, 59(6), 375–382. <https://doi.org/10.1590/s0041-87812004000600011>
- Phaniendra, A., Jestadi, D. B. And Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry*, 30(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
- Popoola, P., Oniyangi, R., Ogunleye, O., Ojediran O., Agyei-Acheampong C., Olaniran T., Okafor C., Opatye M. (2023), Research Advances on the Adverse Effects of Antibiotics on Male Fertility. *African Journal of Biology and Medical Research* 6(3), 1-28. <https://doi.org/10.52589/AJBMR-FI8HVFMN>
- Punjani, N., Kang, C., Flannigan, R., Bach, P., Altemus, M., Kocsis, J. H., Wu, A., Pierce, H., and Schlegel, P. N. (2021). Impact of duloxetine on male fertility: A randomised controlled clinical trial. *Andrologia*, 53(10), e14207. <https://doi.org/10.1111/and.14207>
- Rato, L., Socorro, S., Cavaco, J. E., and Oliveira, P. F. (2010). Tubular fluid secretion in the seminiferous epithelium: ion transporters and aquaporins in Sertoli cells. *The Journal of membrane biology*, 236(2), 215–224. <https://doi.org/10.1007/s00232-010-9294-x>
- Redza-Dutordoir, M., & Averill-Bates, D. A. (2016). Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochimica et biophysica acta*, 1863(12), 2977–2992. <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2016.09.012>
- Reis, M. M., Moreira, A. C., Sousa, M., Mathur, P. P., Oliveira, P. F. and Alves, M. G. (2015). Sertoli cell as a model in male reproductive toxicology: Advantages and disadvantages. *Journal of applied toxicology*, 35(8), 870–883. <https://doi.org/10.1002/jat.3122>
- Roychoudhury, S., Saha, M.R., Saha, M.M. (2019). Environmental Toxicants and Male Reproductive Toxicity: Oxidation-Reduction Potential as a New Marker of

- Oxidative Stress in Infertile Men. In: Kesari, K. (eds) *Networking of Mutagens in Environmental Toxicology*. Environmental Science and Engineering, Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-96511-6_5
- Safarinejad M. R. (2008). Sperm DNA damage and semen quality impairment after treatment with selective serotonin reuptake inhibitors detected using semen analysis and sperm chromatin structure assay. *The Journal of urology*, 180(5), 2124–2128. <https://doi.org/10.1016/j.juro.2008.07.034>
- Sakr, H. F., Abbas, A. M., Elsamanoudy, A. Z., & Ghoneim, F. M. (2015). Effect of fluoxetine and resveratrol on testicular functions and oxidative stress in a rat model of chronic mild stress-induced depression. *Journal of physiology and pharmacology : an official journal of the Polish Physiological Society*, 66(4), 515–527.
- Saleem, U., Zubair, S., Riaz, A., Anwar, F. And Ahmad, B. (2020). Effect of Venlafaxine, Pramipexole, and Valsartan on Spermatogenesis in Male Rats. *ACS Omega*, 5(32), 20481–20490. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c02587>
- Samplaski, M. K. and Nangia, A. K. (2015). Adverse effects of common medications on male fertility. *Nature reviews, Urology*, 12(7), 401–413. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2015.145>
- Sanguhl, K., Stingl, J. C., Turpeinen, M., Altman, R. B. And Klein, T. E. (2014). PharmGKB summary: venlafaxine pathway. *Pharmacogenetics and genomics*, 24(1), 62–72. <https://doi.org/10.1097/FPC.000000000000003>
- Schwasinger-Schmidt, T. E. and Macaluso, M. (2019). Other Antidepressants. *Handbook of experimental pharmacology*, 250, 325–355. https://doi.org/10.1007/164_2018_167
- Semet, M., Paci, M., Saïas-Magnan, J., Metzler-Guillemain, C., Boissier, R., Lejeune, H. and Perrin, J. (2017). The impact of drugs on male fertility: a review. *Andrology*, 5(4), 640–663. <https://doi.org/10.1111/andr.12366>
- Shebak, S. S. And Varma, A. (2014). Low testosterone levels associated with venlafaxine use: a case report. *The primary care companion for CNS disorders*, 16(5), 10.4088/PCC.14l01646. <https://doi.org/10.4088/PCC.14l01646>

- Sheffler, Z. M., Patel, P. And Abdijadid, S. (2023). Antidepressants. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30844209/>
- Shulman, K. I., Herrmann, N., Walker, S. E. (2013). Current place of monoamine oxidase inhibitors in the treatment of depression. *CNS Drugs*, 27(10), 789–797. <https://doi.org/10.1007/s40263-013-0097-3>
- Sies H. (2020). Oxidative Stress: Concept and Some Practical Aspects. *Antioxidants*, 9(9), 852. <https://doi.org/10.3390/antiox9090852>
- Sies, H., Belousov, V. V., Chandel, N. S., Davies, M. J., Jones, D. P., Mann, G. E., Murphy, M. P., Yamamoto, M., and Winterbourn, C. (2022). Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 23(7), 499–515. <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00456-z>
- Sies, H., Berndt, C. and Jones, D. P. (2017). Oxidative Stress. *Annual review of biochemistry*, 86, 715–748. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-061516-045037>
- Singh, D. and Saadabadi, A. (2024). Venlafaxine. *StatPearls Publishing*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30570984/>
- Singh, V., Agrawal, N.K., Verma, R., Singh, K. (2017). HPG Axis: The Central Regulator of Spermatogenesis and Male Fertility. In: SINGH, R., Singh, K. (eds) *Male Infertility: Understanding, Causes and Treatment*. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-10-4017-7_3
- Stutz, G., Zamudio, J., Santillán, M. E., Vincenti, L., de Cuneo, M. F. And Ruiz, R. D. (2004). The effect of alcohol, tobacco, and aspirin consumption on seminal quality among healthy young men. *Archives of environmental health*, 59(11), 548–552. <https://doi.org/10.1080/00039890409603432>
- Suede, S. H., Malik, A., and Sapra, A. (2023). Histology, Spermatogenesis. *StatPearls Publishing*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31985935/>
- Suwała, J., Machowska, M. and Wiela-Hojeńska, A. (2019). Venlafaxine pharmacogenetics: a comprehensive review. *Pharmacogenomics*, 20(11), 829–845. <https://doi.org/10.2217/pgs-2019-0031>

- Takzare, N., Samizadeh, E., Shoar, S., Majidi Zolbin, M., Naderan, M., Lashkari, A., and Bakhtiarian, A. (2016). Impacts of morphine addiction on spermatogenesis in rats. *International journal of reproductive biomedicine*, 14(5), 303–308.
- Tanrikut, C., Feldman, A. S., Altemus, M., Paduch, D. A., & Schlegel, P. N. (2010). Adverse effect of paroxetine on sperm. *Fertility and sterility*, 94(3), 1021–1026. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2009.04.039>
- Tanrikut, C., Schlegel, P. N. (2007). Antidepressant-associated changes in semen parameters. *Urology*, 69(1). <https://doi.org/10.1016/j.urology.2006.10.034>
- Timmer, C. J., Sitsen, J. M., & Delbressine, L. P. (2000). Clinical pharmacokinetics of mirtazapine. *Clinical pharmacokinetics*, 38(6), 461–474. <https://doi.org/10.2165/00003088-200038060-00001>
- Tomatır, A.G., (2003). Apoptoz: Programlı Hücre Ölümü, *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri*, 23(6), 499-508.
- Uchida, T., Ohashi, Y., Morikawa, E., Tsugita, A. and Takeda, K. (2001). Proteome Analysis of the Effects of 2,3,7,8- Tetrachlorodibenzo-p-dioxin on Murine Testicular Leydig and Sertoli Cells. *Journal of Health Science*, 47(2), 136–144.
- United States Environmental Protection Agency. (1996, October). *Guidelines for Reproductive Toxicity Risk Assessment*. <https://www.epa.gov/risk/guidelines-reproductive-toxicity-risk-assessment>
- Vadakkadath Meethal, S. and Atwood, C. S. (2005). The role of hypothalamic-pituitary-gonadal hormones in the normal structure and functioning of the brain. *Cellular and molecular life sciences*, 62(3), 257–270. <https://doi.org/10.1007/s00018-004-4381-3>
- Wang, Q., Ma, M., Yu, H., Yu, H., Zhang, S., and Li, R. (2022). Mirtazapine prevents cell activation, inflammation, and oxidative stress against isoflurane exposure in microglia. *Bioengineered*, 13(1), 521–530. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.2009971> (Retraction published *Bioengineered*, 2024 Dec; 15(1): 2299564. doi: 10.1080/21655979.2024.2299564)

- Wong W.J., and Khan Y.S. (2024). Histology, Sertoli Cell. In: StatPearls. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560631/>
- Xi, Y., Bao, Z., Guo, Q., Wang, J., Jing, Z., Di, J. And Yang, K. (2024). Reproductive Toxicity Induced by Serotonin-Norepinephrine Reuptake Inhibitors: A Pharmacovigilance Analysis From 2004 to 2023 Based on the FAERS Database. *CNS Neuroscience and Therapeutics*, 30(12), e70176. <https://doi.org/10.1111/cns.70176>
- Xiao, L., Wang, Q., Ni, H., Xu, T., Cai, X., Dai, T., Wang, L., Song, C., Li, Y., Li, F., Meng, T., Sheng, H., Yu, X., Zeng, Q., Guo, P. And Zhang, X. (2024). Effects of temperature anomaly on sperm quality: A multi-center study of 33,234 men. *Heliyon*, 10(5), e26765. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e26765>
- Xu, J., He, K., Zhou, Y., Zhao, L., Lin, Y., Huang, Z., Xie, N., Yue, J., & Tang, Y. (2022). The effect of SSRIs on Semen quality: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in pharmacology*, 13, 911489. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.911489>
- Yamada, M., & Yasuhara, H. (2004). Clinical pharmacology of MAO inhibitors: safety and future. *Neurotoxicology*, 25(1-2), 215–221. [https://doi.org/10.1016/S0161-813X\(03\)00097-4](https://doi.org/10.1016/S0161-813X(03)00097-4)

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Recep Kadir YÜCE

Yabancı Diller : İngilizce

Eğitim Bilgileri:

2022-2025, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Toksikoloji
Abd. Tezli Yüksek Lisans Programı

2014-2019, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi

Mesleki Deneyimi:

2023, Araştırma Görevlisi, KTÜ Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Abd.

Sertifikalar:

Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, Trabzon Karadeniz Teknik Üniversitesi Sürekli
Eğitim Merkezi, 2024

Mesleki Kuruluş Üyelikleri

2019, Trabzon Eczacı Odası, Trabzon.

2019, Türk Eczacılar Birliği, Ankara.