BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

2025

FARMAKOLOJİ

MERVE CİNGÖZ

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DAPAGLİFLOZİNİN YAŞLI ERKEK SIÇANLARDA REPRODÜKTİF SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Merve CİNGÖZ

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Farmakoloji Programı İçin Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

KOCAELİ
2025

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DAPAGLİFLOZİNİN YAŞLI ERKEK SIÇANLARDA REPRODÜKTİF SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Merve CİNGÖZ

Kocaeli Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin
Farmakoloji Programı İçin Öngördüğü
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ
Olarak Hazırlanmıştır.

DANIŞMAN: PROF. DR. Tijen UTKAN

Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
Proje No: 3765
KOÜ HADYEK 2023/27

KOCAELİ
2025

ÖZET

Dapagliflozinin Yaşlı Erkek Sıçanlarda Reprodüktif Sistem Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Yaşlanma, organizmada zamanla biriken hücresel ve sistemik hasarların sonucu olarak ortaya çıkan, fizyolojik bütünlüğün bozulduğu doğal ve geri dönüşü olmayan bir süreçtir. Erkek üreme sistemi, yaşlanmanın etkilerinden önemli ölçüde etkilenen sistemlerden biridir. Testosteron üretiminde azalma, sperm sayısı ve canlılığında düşüş, artan inflamasyon ve endotel disfonksiyonu bu sürecin temel yansımaları arasında yer almaktadır. Özellikle ileri yaşta çocuk sahibi olma eğilimlerinin artması, yaşa bağlı reprodüktif değişikliklerin daha iyi anlaşılmasını ve bu sürece yönelik koruyucu stratejilerin geliştirilmesini gerekli kılmaktadır. Dapagliflozin, selektif ve geri dönüşümlü bir SGLT2 inhibitörü olarak tip 2 diyabet tedavisinde yaygın biçimde kullanılan bir oral antihiperglisemik ajandır. Son yıllarda yapılan çalışmalar, dapagliflozinin yalnızca glisemik kontrol ile sınırlı kalmayıp; anti-inflamatuvar etkiler, oksidatif stresin azaltılması, endotel fonksiyonlarının desteklenmesi ve sistemik dolaşımın iyileştirilmesi gibi pek çok ek fizyolojik etkiye sahip olabileceğini ortaya koymuştur. Bu etkiler, doğrudan erkek üreme sistemi üzerinde de olumlu sonuçlar doğurabilir. Nitrik oksit (NO) üzerinden etkili olan eNOS ve nNOS ekspresyonunun artışı, vasküler fonksiyonların korunmasında ve erektil yanıtın sürdürülebilirliğinde kritik öneme sahiptir. Dapagliflozinin bu yolaklar üzerindeki etkileri henüz yeterince aydınlatılmamıştır. Dolayısıyla, bu çalışma dapagliflozinin yaşlanmaya bağlı olarak erkek üreme sisteminde meydana gelen değişiklikler üzerindeki potansiyel koruyucu etkilerini test etmeyi ve bu etkileri tip 2 diyabet tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılan metformin ile karşılaştırarak bilimsel literatüre katkı sağlamayı amaçlamaktadır.

Yöntem: Çalışmada 4 aylık (genç) ve 12 aylık (yaşlı) erkek Wistar albino sıçanlar, her biri 10 hayvandan oluşan altı gruba ayrıldı: Genç Kontrol, Genç + Dapagliflozin, Genç + Metformin, Yaşlı Kontrol, Yaşlı + Dapagliflozin ve Yaşlı + Metformin. Dapagliflozin 1 mg/kg/gün, metformin ise 100 mg/kg/gün dozunda, 30 gün süreyle oral yolla verildi. Sakrifiye edilen hayvanlardan testis, vas deferens ve penis dokuları izole edildi; sağ dokular RT-qPCR analizleri için -80°C'de saklandı, sol dokular ise %10'luk formalinle fikse edilerek

immünohistokimyasal boyamalara hazırlandı. Serum testosteron ve TNF-α düzeyleri ölçüldü, sperm canlılığı Eozin-Nigrosin boyama yöntemi ile değerlendirildi.

Bulgular: Genç kontrol, metformin ve dapagliflozin gruplarında immünohistokimyasal analizlerde penis dokusunda eNOS ve nNOS ekspresyonları genç gruplarda yaşlı kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Yaşlı hayvanlarda her iki ilaç tedavisi bu ekspresyonları artırmıştır. Sperm canlılığı genç gruplarda yüksek, yaşlı kontrol grubunda belirgin şekilde düşük saptandı; yaşlı metformin ve dapagliflozin gruplarında ise canlı sperm oranlarında artış görüldü. Dapagliflozin genç hayvanlarda testosteron düzeyini artırmış, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Yaşlı grupta ise anlamlı artış sağlanmıştır. Serum TNF-α düzeyleri yaşla birlikte artarken, dapagliflozin ve özellikle metformin tedavileri bu düzeyleri anlamlı şekilde azaltmıştır. Ancak bazı doku düzeylerinde (örneğin testis) TNF-α gen ekspresyonu artış göstermiştir.

Sonuç: Dapagliflozin, yaşlanmaya bağlı erkek üreme sistemi bozulmalarına karşı çok yönlü koruyucu etkiler göstermiştir. Endotel fonksiyonunu destekleyici etkisiyle eNOS ve nNOS ekspresyonlarını artırmış, TNF-α düzeylerini düşürerek inflamasyonu baskılamış ve testosteron düzeylerini yükselterek hormonal dengeyi iyileştirmiştir. Ayrıca sperm canlılığı üzerindeki olumlu etkileriyle spermatogenezi desteklediği gösterilmiştir. Dapagliflozinin bu etkileri, glisemik kontrol dışında reprodüktif sistemde de potansiyel terapötik faydalar sağlayabileceğini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Yaşlılık, Dapagliflozin, Penis, Testis, Vas Deferens, Metformin

ABSTRACT

Investigation of the Effects of Dapagliflozin on the Reproductive System in Aged Male Rats

Objective: Aging is a natural and irreversible process that arises as a result of cumulative cellular and systemic damage over time, leading to a decline in physiological integrity. The male reproductive system is among the systems most significantly affected by aging. Decreases in testosterone production, reductions in sperm count and viability, increased inflammation, and endothelial dysfunction are among the primary consequences of this process. With the growing trend of fatherhood at advanced ages, a better understanding of age-related reproductive changes and the development of protective strategies targeting these alterations have become essential.
Dapagliflozin, a selective and reversible SGLT2 inhibitor, is widely used as an oral antihyperglycemic agent in the treatment of type 2 diabetes. Recent studies have demonstrated that the effects of dapagliflozin are not limited to glycemic control but also include anti-inflammatory properties, reduction of oxidative stress, improvement of endothelial functions, and enhancement of systemic circulation. These pleiotropic effects may exert direct beneficial outcomes on the male reproductive system.
The increase in eNOS and nNOS expression via nitric oxide (NO)-mediated pathways plays a critical role in the maintenance of vascular function and the sustainability of erectile response. However, the influence of dapagliflozin on these pathways has not yet been fully elucidated. Therefore, this study aims to investigate the potential protective effects of dapagliflozin on age-related alterations in the male reproductive system and to contribute to the scientific literature by comparing these effects with those of metformin, another widely used agent in the treatment of type 2 diabetes.

Methods: Male Wistar albino rats aged 4 months (young) and 12 months (aged) were randomly assigned into six groups, with 10 animals per group: Young Control, Young + Dapagliflozin, Young + Metformin, Aged Control, Aged + Dapagliflozin, and Aged + Metformin. Dapagliflozin (1 mg/kg/day) and metformin (100 mg/kg/day) were administered orally for 30 days. Following sacrifice, testis, vas deferens, and penile tissues were isolated. Right-side tissues were stored at -80°C for RT-qPCR analyses, while left-side tissues were

fixed in 10% formalin for immunohistochemical staining. Serum testosterone and TNF-α levels were measured, and sperm viability was assessed using the Eosin-Nigrosin staining method.

Results: Immunohistochemical analysis showed that eNOS and nNOS expression levels in penile tissues were significantly higher in the young control, metformin, and dapagliflozin groups compared to the aged control group. In aged animals, both drug treatments enhanced these expression levels. Sperm viability was high in young groups and markedly reduced in the aged control group; however, increased viability was observed in the aged metformin and dapagliflozin groups. Dapagliflozin elevated testosterone levels in young animals, though this increase was not statistically significant. In aged animals, a statistically significant increase was observed. Serum TNF-α levels rose with aging, whereas both dapagliflozin and particularly metformin treatments significantly reduced these levels. Nonetheless, TNF-α gene expression showed increased levels in certain tissues (e.g., testis).

Conclusion: Dapagliflozin exhibited multifaceted protective effects against age-related impairments in the male reproductive system. It enhanced eNOS and nNOS expression, thereby supporting endothelial function, suppressed inflammation through the reduction of TNF-α levels, and improved hormonal balance by increasing testosterone concentrations. Moreover, its positive effects on sperm viability suggest that it supports spermatogenesis. These findings indicate that dapagliflozin may offer potential therapeutic benefits for the male reproductive system beyond its role in glycemic control.

Keywords: Aging, Dapagliflozin, Penis, Testis, Vas deferens, Metformin

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli ve sevgili danışmanım Prof. Dr. Tijen Utkan'a,

Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Bekir Faruk Erden'e,

Bilgi ve desteğini esirgemeyen Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Semil Selcen Göçmez, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Yusufhan Yazır, Doç. Dr. Gökhan Duruksu ve Dr. Öğr. Üyesi Selenay Furat Rençber'e,

Deneysel çalışmalarım sırasında destek olan Arş. Gör. Gülşen Çelebi, Dok. Öğr. Gözde Buğutekin Tüfekçi, Yük. Li. Öğr. Kimyanur Yüce'ye

Hayvanların temini, bakımı ve uygulamalar sırasında yardımcı olan Kocaeli Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi öğretim üye ve yardımcılarına,

Her zaman desteklerini gösteren, fikirlerini paylaşan, eğitimime destek olan, hayatıma iyilikler katan Ecz. Aykut Aydın'a,

Hayatım boyunca ihtiyaç duyduğum desteği ve sevgiyi sağlayan canım annem ve bi'tanecik babama

Teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Bu çalışma, Kocaeli Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 3765.

ORİJİNALLİK BİLDİRİMİ

Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum **'**Dapagliflozinin Yaşlı Erkek Sıçanlarda Reprodüktif Sistem Üzerine Etkilerinin Araştırılması' başlıklı tezimde başka kaynaklardan yararlanılarak kullanılan yazı, bilgi, şekil, tablo ve diğer malzemeler kaynakları gösterilerek verilmiştir. Tezimde yer alan deneysel çalışmalar/araştırmalar bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yapılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususlar bir intihal programı (Turnitin vb.) kullanılarak test edilmiş olup, doğruluğunu beyan ederim.

03/ 06 / 2025

Merve CİNGÖZ

İÇİNDEKİLER

ÖZET iv
ABSTRACT vi
TEŞEKKÜR viii
ORİJİNALLİK BİLDİRİMİ ix
İÇİNDEKİLER x
SİMGELER ve KISALTMALAR xii
ŞEKİLLER xiv
TABLOLAR xv
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. Yaşlanma ile Meydana Gelen Fizyolojik Değişiklikler 3
2.2. Erkek Üreme Sistemi ve Fizyolojisi 4
2.2.1. Testis 5
2.2.2. Vas Deferens 11
2.2.3. Penis 11
2.3. Yaşlanmanın Erkek Üreme Sistemine Etkileri 12
2.4. Diabetes Mellitus ve Tedavi Yöntemleri 14
2.4.1. Sodyum-glukoz co-transporter-2 (SGLT-2) inhibitörleri 16
2.4.2. Biguanidler 17
2.5. Dapagliflozinin Erkek Üreme Sistemi Üzerine Etkileri 18
2.6. Metforminin Erkek Üreme Sistemi Üzerine Etkileri 20
3. AMAÇ 22
4. YÖNTEM 23
4.1. Deneylere Hazırlık 23
4.1.1. Deney Gruplarının Oluşturulması ve İlaç Uygulamansı 23
4.1.2. Deneyin Sonlandırılması Kan ve Doku Örneklerinin Alınması 24
4.2. Testosteron Miktarının Tayini (ELİSA) 25
4.3. Tümör Nekrotik Faktör α (TNF-α) Tayini (ELİSA) 25
4.4. RT-qPCR ile Gen Ekspresyon Analizi 26
4.5. İmmünohistokimyal boyama 27

4.6. Eozin-Nigrosin ile Sperm Canlılığının Belirlenmesi 28
4.7. Hematoksilen-Eozin ile Testis ve Vas Deferens Morfolojisi 29
4.8. Araştırma Sonuçlarının İstatiksel Analizi 29
5. BULGULAR 29
5.1. Testosteron Seviyesine Dapagliflozin ve Metforminin Etkileri 29
5.2. Serum TNF-α Seviyesine Dapagliflozin ve Metforminin Etkileri 31
5.3. Penis Dokusundaki eNOS, nNOS ve TNF-α Gen Ekspresyon Seviyelerine Dapagliflozin ve Metforminin Etkileri 32
5.4. Vas Deferens Dokusundaki eNOS, nNOS ve TNF-α Gen Ekspresyon Seviyelerine Dapagliflozin ve Metforminin Etkileri 34
5.5. Testis Dokusundaki eNOS, nNOS ve TNF-α Gen Ekspresyon Seviyelerine Dapagliflozin ve Metforminin Etkileri 36
5.6. İmmünohistokimyasal Analiz ile Penis Dokusu eNOS ve nNOS Ekspresyonu 38
5.7. Eozin-Nigrosin ile Sperm Canlılığının Belirlenmesi 42
5.8. Hematoksilen-Eozin ile Testis ve Vas Deferens Morfolojisi 45

5. TARTIŞMA 52
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 59
7. KAYNAKLAR 61
8. ÖZGEÇMİŞ 70
EKLER

SİMGELER ve KISALTMALAR

ABP : Androjen Bağlayıcı Protein
AMPK : Adenozin Monofosfat ile Aktifleştirilen Protein Kinaz
APG : Açlık Plazma Glukozu
AR : Androjen Reseptörü
ATP : Adenozin Trifosfat
BAG : Bozulmuş Açlık Glukozu
BCL2 : B-Hücreli Lenfoma 2
BGT : Bozulmuş Glukoz Toleransı
cGMP : 3'-5'-Siklik Guanozin Monofosfat
DHT : Dihidrotestosteron
DM : Diabetes Mellitus
DPP-4 İ : Dipeptidil Peptidaz 4 İnhibitörleri
ED : Erektil Disfonksiyon
eNOS : Endoteltal Nitrik Oksit Sentaz
FDA : Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FSH : Folikül Stimüle Edici Hormon
GAD65 : 65 kDa Glutamik Asit Dekarboksilaz
GLP-1 : Glukagon Benzeri Peptid-1
GLP-1 RA : Glukagon Benzeri Peptid 1 Reseptör Analogları
GLUT : Glukoz Taşıyıcıları
GnRH : Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
GPx : Glutatyon Peroksidaz
HPG : Hipotalamik-Pitütuar-Gonadal eksen
IA-2 : İnsülinoma İle İlişkili Protein 2
IIEF-5 : Uluslararası Erektil Fonksiyon İndeksi
LH : Luteinize Edici Hormon
MAPK : Mitojenle Etkinleşen Protein Kinaz
MCT4 : Monokarboksilat Taşıyıcı
MDA : Malondialdehit
NADH/NAD^+ : Nikotinamid Adenin Dinükleotid

nNOS : Nöronal Nitrik Oksit Sentaz

NO : Nitrik Oksit

OGTT : Oral Glukoz Tolerans Testi

PCNA : Proliferatif Hücre Nükleer Antijeni

PFK1 : Fosfofruktokinaz

PG : Rastgele Plazma Glukozu

PKA : Protein Kinaz A

RhoA : Ras Homolog Aile Üyesi A

ROCK : Rho-Kinaz Enzim

ROS : Reaktif Oksijen Türleri

SGLT2 : Sodyum Glukoz Ko-Transporter-2

SHBG : Sex Hormon Bağlayıcı Globulin

SOD : Süperoksit Dismutaz

T1DM : Tip 1 Diabetes Mllitus

T2DM : Tip 2 Diabetes Mellitus

TZD : Tiazolidindion

UGT1A9 : Uridin Difosfat Glukuronosiltransferaz

WHO : Dünya Sağlık Örgütü

XIAP : X Bağlantılı Apoptoz İnhibitörü

ZNT8 : Çinko Taşıyıcı 8

4-HNE : 4-Hidroksinonenal

ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Erkek üreme sistemi……...……5
Şekil 2.2. Testis (üstte) ve seminifer tübül (altta solda) yapısı ile seminifer tübülde sıralanmış germ hücreleri (altta sağda)…….…… 6
Şekil 2.3. Spermatogenez...……8
Şekil 2.4. Spermiyogenez sırasında meydana gelen değişiklikler...……8
Şekil 2.5. Hipotalamus-Hipofiz -Gonad Ekseni……10
Şekil 5.1. Dapagliflozin (Dapa) ve Metforminin (Met) Genç (4 aylık) ve Yaşlı (12 aylık) sıçanlardaki testosteron seviyeleri üzerindeki etkisi……30
Şekil 5.2. Serum örneklerinde TNF- α düzeyleri.……31
Şekil 5.3. Genç ve yaşlı hayvanlardan alınan penis dokusunda nNOS, eNOS ve TNFα gen ekspresyonlarının karşılaştırılması..……...……33
Şekil 5.4. Genç ve yaşlı hayvanlardan alınan vas deferens dokusunda nNOS, eNOS ve TNFα gen ekspresyonlarının karşılaştırılması…….……..35
Şekil 5.5. Genç ve yaşlı hayvanlardan alınan testis dokusunda nNOS, eNOS ve TNFα gen ekspresyonlarının karşılaştırılması...……. ……37
Şekil 5.6. Genç Kontrol (A-B), Genç Metformin (C-D) ve Genç Dapagliflozin (E-F) gruplarına ait eNOS ekspresyonunu gösteren fotomikrograf…...……39
Şekil 5.7. Yaşlı Kontrol (A-B), Yaşlı Metformin (C-D) ve Yaşlı Dapagliflozin (E-F) gruplarına ait eNOS ekspresyonunu gösteren fotomikrograf……...……41
Şekil 5.8. Genç Kontrol (A-B), Genç Metformin (C-D) ve Genç Dapagliflozin (E-F) gruplarına ait nNOS ekspresyonunu gösteren fotomikrograf..……42
Şekil 5.9. Yaşlı Kontrol (A-B), Yaşlı Metformin (C-D) ve Yaşlı Dapagliflozin (E-F) gruplarına ait nNOS ekspresyonunu gösteren fotomikrograf..……43
Şekil 5.10. Genç Kontrol (A-B), Genç Metformin (C-D) ve Genç Dapagliflozin (E-F) gruplarına ait sperm canlılığını gösteren fotomikrograf.……44
Şekil 5.11. Yaşlı Kontrol (A-B), Yaşlı Metformin (C-D) ve Yaşlı Dapagliflozin (E-F) gruplarına ait sperm canlılığını gösteren fotomikrograf..……45
Şekil 5.12. Genç kontrol (GK), Genç metformin (GM) ve Genç dapagliflozin (GD) gruplarına ait testiküler doku kesitleri……...…46
Şekil 5.13. Yaşlı kontrol grubuna ait testiküler doku kesitleri ……47

Şekil 5.14. Genç ve yaşlı gruplarda metformin ve dapagliflozin uygulamasının seminifer epitel kalınlığına etkisi…….47
Şekil 5.15. Yaşlı metformin grubuna ait testiküler doku kesitleri……48
Şekil 5.16. Yaşlı dapagliflozin grubuna ait testiküler doku kesitleri……...49
Şekil 5.17. Genç kontrol (A-B), Genç dapagliflozin (C-D) ve Genç metformin (E-F) gruplarına ait vas deferens doku kesitleri…….50
Şekil 5.18. Yaşlı kontrol (A-B), Yaşlı dapagliflozin (C-D) ve Yaşlı metformin (E-F) gruplarına ait vas deferens doku kesitleri…….51

TABLOLAR

Tablo 1. Primer Listesi (Gen Ekspresyon Analizi)……27

1. GİRİŞ

Fizyolojik yaşlanma sürecinde erkek üreme sisteminde gerçekleşen hormonal, histolojik ve biyokimyasal değişiklikler çeşitli klinik ve preklinik çalışmalarla ortaya konulmuştur. Bu çalışmalar erektil disfonksiyon (ED), ejakulasyon bozuklukları ve infertilite üzerinedir (Feldman ve ark. 1994, Kubin ve ark. 2003). Yaşlanmaya bağlı olarak gelişen ED'da nNOS ve eNOS ekspresyonunun azalmasının belirgin bir rol oynadığı öne sürülmüştür (Yazır ve ark. 2012). Yaşlanmayla ilişkili ED'nin etiyolojisi, artmış oksijen serbest radikal seviyeleri (Bivalacqua ve ark. 2003), bozulmuş NO üretimi, azalmış NO biyoyararlanımı (Numao ve ark. 2007), NO'ya bağlı seçici nitrerjik sinir dejenerasyonu (Carrier ve ark. 1997) ve testosteron miktarlarının azalması (Aversa ve ark. 2010) dahil olmak üzere çok faktörlüdür. Yaşlanma aynı zamanda ED için önemli bir risk faktörüdür. Farklı yaşlardaki deneklerden yapılan klinik gözlemler ve kesitsel veri analizi, hem cinsel ilginin hem de performansın yaşla birlikte giderek azaldığını göstermiştir. Bu durumdan bir dizi patofizyolojik faktör sorumlu tutulmuştur ve seks hormonu bağlayıcı globülin (SHBG) ve plazma serbest testosteron düzeyinde kademeli bir düşüş gibi değişikliklerin olduğu gösterilmiştir (Kaufman ve ark. 2019). Sağlıklı testiküler yaşlanma sürecinde erkek fertilitesi için kritik önemi olan normal spermatojenez ve sperm fonsiyonu hasar görmekte, buna bağlı olarak spermatojenez prosesi bozulmakta, sperm anomalileri ortaya çıkmaktadır. Yaşa bağlı bu değişikliklere oksidatif stres ve artan inflamasyon katkıda bulunmaktadır (Dong ve ark. 2022; Mattzkinn ve ark. 2021).

Yeni nesil antidiyabetik ilaçlar arasında olan dapagliflozin, SGLT-2 enzim baskılayıcı etkisiyle diyabet tedavisinde kullanılmaktadır. Dapagliflozinin antidiyabetik etkilerinin yanısıra diyabette gerileyen diyabetik erkek infertilitesi üzerindeki etkisinin çalışıldığı bir hayvan çalışmasında dapagliflozinin kan glukoz seviyelerini düşürmesi ile beraber, seminifer tübül hasarını hafiflettiği, sperm kalitesini ve hareketliliğinini artırdığı, böylece testiküler yapıyı koruduğu gösterilmiştir (Luo ve ark. 2022). Diyabetik erkek sıçanların üreme sistemi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı diğer bir çalışmada diyabetin seminifer tubullerde apoptosise neden olduğu, testis ve sperm morfolojisini oksidatif hasara yol açarak değiştirdiği gösterilmiştir. Dapagliflozin tedavisi alan sıçanlarda ise diyabetin neden olduğu histolojik, hormonal ve proliferatif parametrelerdeki değişikliklerin önlendiği ortaya konulmuştur (Karaca ve ark. 2022).

Metformin, tip 2 diabetes mellitus tedavisi için birinci basamak tedavi olarak kabul edilir. İnsülin duyarlılığını artırarak ve plazma açlık insülinini azaltarak etki gösteren oral insülin duyarlılaştırıcı bir ilaçtır. Metforminin ana metabolik etkisi karaciğeri hedef alır. Bununla birlikte, metforminin erkek üreme sistemi de dahil olmak üzere vücudun birçok organı üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir. Metforminin erkek üreme sistemi üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada metforminin testis dokusunda Malondialdehit (MDA) ve kaspaz-3 seviyelerini azaltarak ve antioksidan enzim aktivitelerini normalleştirerek oksidatif stres ve apoptozu önlediği ortaya konulmuştur (Ghasemnejad-Berenji ve ark. 2018). Metforminin obez erkek sıçanlarda erkek üreme sistemi üzerine etkisinin incelendiği başka bir çalışmada obezitenin azalmış nNOS ve eNOS ekspresyonunun azalmasına bağlı olarak ED'da rol oynadığı gözlemlenmiştir. Metformin tedavisi alan sıçanlarda ise nNOS ve eNOS seviyelerinin normale döndüğü orta konulmuştur (Kim ve ark. 2007).

Bu bilgilere dayanılarak, bu çalışmada doğal yaşlanma sürecinin değişen erkek üreme sistemi fonksiyonuna etkilerini ve bu yaşa bağlı değişiklikler üzerine dapagliflozinin etkilerini araştırmak amaçlanmıştır. Dapagliflozinin uzun süredir kullanımda olan ve çok yaygın bir şekilde reçetelenen metforminin erkek üreme sistemi üzerine olan etkileri ile kıyaslamak da diğer bir amaç olmuştur. Normal yaşlanma sürecinin, sıçanlardan alınan testis, penis ve vas deferens dokularında nNOS, eNOS, TNF-alfa gibi inflamasyon belirteçleri üzerindeki etkileri, serum testesteron ve TNF-alfa düzeyleri ve epididimden alınan sperm örneklerinden sperm canlılığı araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yaşlanma ile Meydana Gelen Fizyolojik Değişiklikler

İnsan yaşlanması, genetik programlamadan çevresel etkiler ve hücresel hasarlara kadar birçok faktörün birleşimiyle oluşan kaçınılmaz ve karmaşık bir süreçtir. Yaşla birlikte hücre sayısında azalma, metabolizma hızında düşüş, kas gücü kaybı (sarkopeni), kemik yoğunluğu azalması (osteoporoz), bağışıklık zayıflaması ve organ fonksiyonlarında bozulmalar meydana gelir. Yaşlanamanın ana teorileri arasında genetik programlama, serbest radikal hasarı, DNA zararları, telomer kısalması ve mitokondriyal bozulmalar yer alır. Yaşam tarzı faktörleri (beslenme, egzersiz, stres) yaşlanmanın hızını etkileyebilir; özellikle düzenli fiziksel aktivite, sağlıklı beslenme ve kalori kısıtlaması yaşlanmanın etkilerini geciktirebilir. Sonuç olarak, yaşlanmanın biyolojik mekanizmalarını anlamak, hem yaşam kalitesini artırmak hem de yaşlılığa bağlı hastalıkları önlemek için kritik önemdedir (Park ve Yeo, 2013; Sieck, 2003).

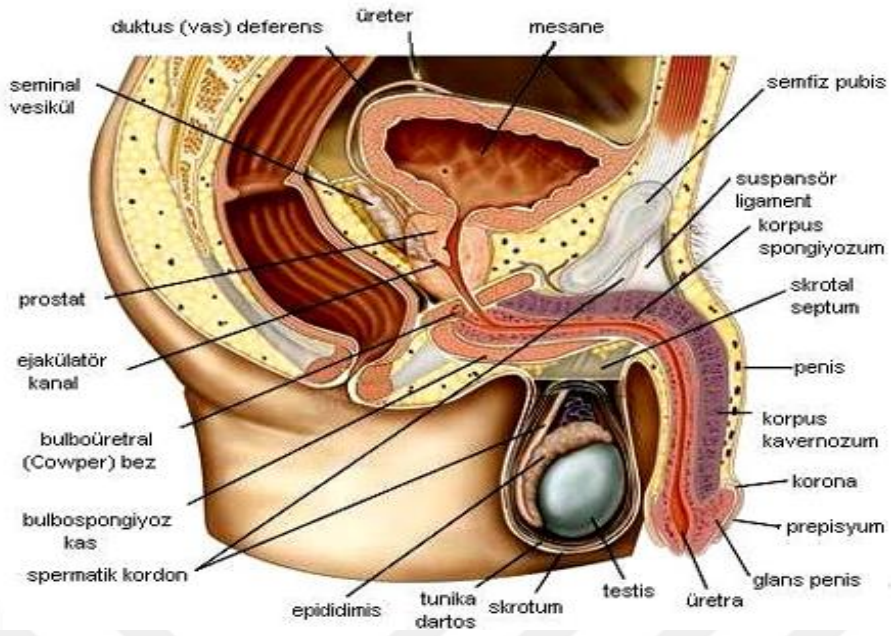
Yaşlanma, vücuttaki tüm organ ve sistemleri etkileyerek işlevsel kapasitenin genel olarak azalmasına yol açar. Örneğin; solunum sisteminde azalan akciğer elastikiyeti ve artan alveoler kapanma oksijenlenmeyi azaltırken, kardiyovasküler sistemde damar sertliği, düşen kalp debisi ve azalan adrenerjik yanıt dolaşım dengesini zorlaştırır. Sinir sisteminde nöron kaybı, bilişsel gerileme ve nörodejeneratif hastalıklar yaygınlaşır; bağışıklık sistemi ise kronik inflamasyon ve savunma hücrelerinin fonksiyon kaybıyla zayıflar. Kas-iskelet sisteminde sarkopeni ve osteoporoz hareket kısıtlılığına yol açarken, böbrek ve karaciğer fonksiyonları azalır (Herndon ve ark., 2002; Liu ve ark., 2024; Sharma ve Purohit, 2023).

Yaşlanma, erkek üreme sisteminde de hem hormonal hem de yapısal düzeyde kademeli bozulmalara yol açar. İleri yaşla birlikte serum testosteron düzeylerinde hafif fakat istikrarlı bir azalma görülürken, özellikle serbest testosteron düzeyindeki düşüş daha belirgindir. Bu durum, yaşla artış gösteren sex hormon bağlayıcı globulin (SHBG) seviyeleriyle ilişkilidir. Aynı zamanda sperm motilitesi, morfolojisi ve semen hacmi gibi temel semen parametrelerinde bozulmalar meydana gelirken, sperm konsantrasyonu çoğu zaman korunmaktadır. Testis hacmi yaşla birlikte azalmakta, Sertoli ve Leydig hücre sayısında azalma gözlemlenmektedir; bu da hem spermatogenezi hem de testiküler hormon üretimini olumsuz etkileyebilir. Yapılan çeşitli çalışmalar, ileri yaş erkeklerde üreme kapasitesinin

azaldığını, yardımcı üreme tekniklerinde başarı oranlarının düştüğünü ve yaşla birlikte genetik materyaldeki bozulmaların artarak bazı fetal riskleri beraberinde getirebildiğini ortaya koymuştur. Tüm bu bulgular, erkeklerde yaşlanma sürecinin üreme sağlığı üzerinde doğrudan etkili olduğunu ve bu değişimlerin hem doğal yolla hem de tıbbi destekle gerçekleşen gebelikler açısından dikkate alınması gerektiğini göstermektedir (Kaufman ve ark., 2019; Süer ve ark., 2012).

2.2. Erkek Üreme Sistemi ve Fizyolojisi

Erkek üreme sistemi, üreme fonksiyonlarının sürekliliğini sağlayan kompleks bir anatomik ve fizyolojik bütünlükten oluşur. Bu sistem, sperm üretimi, olgunlaştırılması, depolanması ve taşınması ile erkek seks hormonlarının salgılanması gibi yaşamsal görevleri üstlenir. Skrotum içinde bulunan testisler, spermatogenez (sperm hücresi üretimi) ve steroidogenez (testosteron üretimi) işlevlerini yürütür. Testislerde yer alan seminifer tübüller, germ hücrelerinin gelişim alanı olurken; interstisyel bölgede bulunan Leydig hücreleri testosteron sentezinden sorumludur. Seminal veziküller, spermlerin enerji ihtiyacını karşılamak amacıyla fruktoz açısından zengin salgılar üretirken; prostat bezi, ejakülatın hacmini artırarak sperm hareketliliğini destekleyen alkali özellikte bir sıvı salgılar. Bulboüretral bezler, üretrayı kayganlaştıran ve idrardan kalan asidik kalıntıları nötralize eden mukus benzeri bir salgı üretir. Penis, semen ve idrarın dış ortama iletilmesini sağlayan bir organ olup, cinsel ilişki sırasında ereksiyon yeteneği kazanır (Şekil 2.1). Ayrıca skrotum, testislerin vücut sıcaklığından 2–4°C daha serin bir ortamda bulunmasını sağlayarak spermatogenezi optimize eder. Bütün bu yapılar, hipotalamus-hipofiz-testis aksı tarafından hormonal olarak düzenlenmekte ve erkek üreme fonksiyonlarının bütüncül bir şekilde yürütülmesini mümkün kılmaktadır. Sonuç olarak, erkek üreme sistemi; yapısal bütünlüğü, fonksiyonel organizasyonu ve hormonal kontrol mekanizmaları ile insan neslinin devamı için kritik bir rol oynamaktadır (Obukohwo, 2021; Pola, 2015).

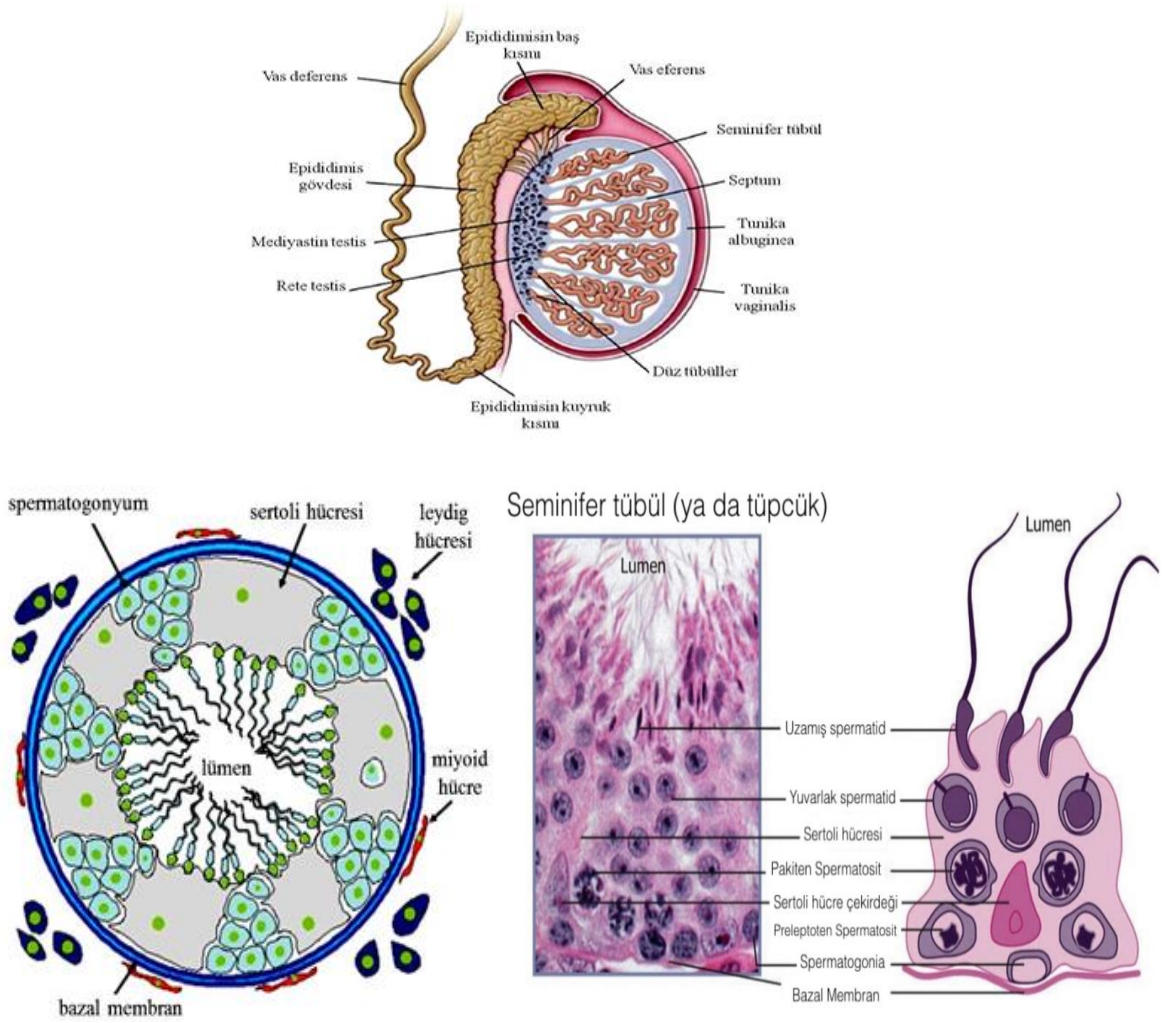


Şekil 2.1. Erkek üreme sistemi (Gümüşel, 2013).

2.2.1. Testis

Testisler, erkek üreme sisteminin hem gamet üretiminden hem de steroid hormon sentezinden sorumlu ana organlarıdır (Aire, 2024; Yadav ve Mali, 2024; Nagahama ve Canakis, 2023). Embriyonik gelişim sırasında karın boşluğunda oluşan testisler, doğumdan önce skrotuma inerek optimal sıcaklık koşullarında işlev görmeye başlar. Her testis, dış çevresini saran tunica vaginalis, tunica albuginea ve tunica vasculosa katmanları ile yapılandırılmıştır (Nagahama ve Canakis, 2023).

Testis içerisinde, spermatogenez süreci sırasında üretilen spermler, seminifer tübüllerden geçerek rete testise yönlendirilir; rete testis bu süreçte hem sperm taşınmasını düzenler hem de testiküler sıvı dinamiğinde önemli rol oynar (Aire, 2024) (Şekil2.2). Bununla birlikte, interstisyel bölgede bulunan leydig hücreleri, hipofizden salgılanan luteinize edici hormon (LH) etkisiyle testosteron üretir. (Yadav ve Mali, 2024; Nagahama ve Canakis, 2023). Testislerin işlevselliği, skrotumun sağladığı düşük sıcaklık ortamı sayesinde korunur; bu sıcaklık regülasyonu dartos ve kremaster kaslarının refleks kasılmaları ile sağlanarak spermatogenez için ideal koşullar oluşturulur (Nagahama ve Canakis, 2023). Sonuç olarak, testisler hem erkek fertilitesinin devamlılığı hem de hormonal homeostazın korunması açısından hayati bir merkez işlevi görmektedir.



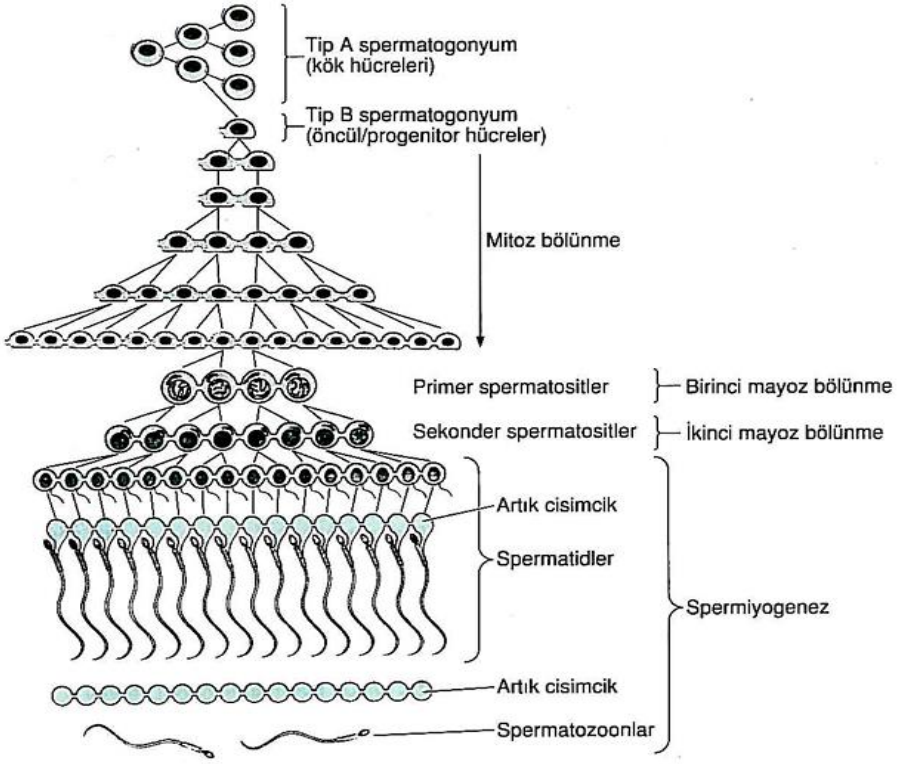
Şekil 2.2. Testis (üstte) ve seminifer tübül (altta solda) yapısı ile seminifer tübülde sıralanmış germ hücreleri (altta sağda) (Borg ve ark., 2010; Ross ve ark., 2015; Histology Guide, 2015).

Sertoli hücreleri: Seminifer tübüllerin temel somatik elemanları olup, erkek üreme fonksiyonlarının sürdürülmesinde merkezi bir rol üstlenmektedir. Embriyonik dönemde genital kret üzerinde farklılaşan Sertoli hücreleri, testiküler kordonların oluşumunu ve fetal leydig hücrelerinin gelişimini yönlendirmekte, böylece erkek gonadının organizasyonunda belirleyici bir işlev görmektedir (Creasy ve Chapin, 2013). Postnatal dönemde ise bu hücreler, bazal membrandan seminifer tübül lümenine kadar uzanarak hem yapısal destek sağlamakta hem de germ hücrelerinin farklılaşması için gerekli mikroçevreyi oluşturmaktadır. Sertoli hücreleri, spermatozoaların olgunlaşması için gerekli olan besinlerin taşınmasından, rezidüel cisimlerin fagositik yolla uzaklaştırılmasına kadar pek

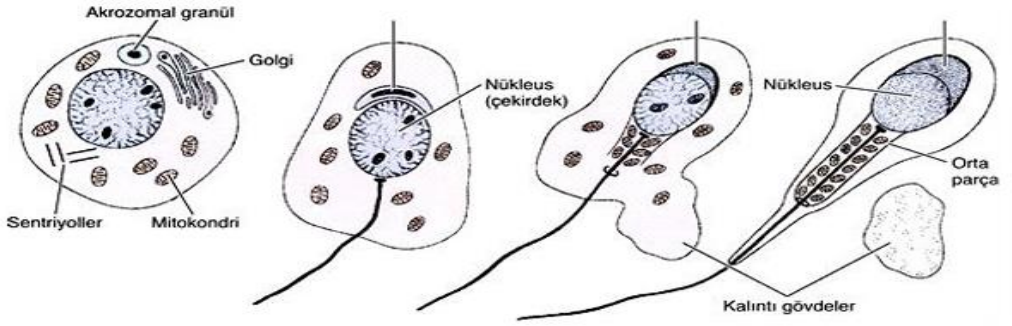
çok temel işlevi üstlenmektedir (Akunna ve ark., 2024). Ayrıca, folikül stimüle edici hormon (FSH) reseptörlerine sahip olmaları sayesinde, androgen bağlayıcı protein (ABP) ve inhibin gibi moleküllerin salgılanması yoluyla hem lokal hormonal mikroçevreyi düzenlemekte hem de hipofiz düzeyinde FSH sekresyonunu inhibe ederek spermatogenezi dolaylı biçimde kontrol etmektedir (Griswold ve ark., 1988). Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılarla oluşan kan-testis bariyeri, spermatogenezin immünolojik korunmasını sağlamanın yanı sıra tübüler kompartmanlar arasında seçici madde geçişini düzenlemekte, böylece germ hücrelerinin evrimsel döngüsüne uygun bir biyokimyasal ortam sunmaktadır (Akunna ve ark., 2024). Hücresel düzeyde yüksek düzeyde organize bir sitoskeleton ağına sahip olan Sertoli hücreleri, dinamik plazmatik uzantıları sayesinde farklı gelişim evrelerindeki germ hücreleriyle doğrudan temas kurarak onların yapısal ve metabolik gereksinimlerini karşılamakta, bu da onları testiküler fonksiyonun sürdürülmesinde vazgeçilmez bir unsur haline getirmektedir. Sertoli hücrelerinin işlevlerinde meydana gelen herhangi bir aksaklık, spermatogenez sürecinin ciddi şekilde bozulmasına ve erkek infertilitesine neden olabilmektedir (Creasy ve Chapin, 2013; Akunna ve ark., 2024).

Spermatogenez ve spermatogenik hücreler: Spermatogenez erkek germ hücrelerinin olgun spermatozoonlara dönüşümünü sağlayan, oldukça organize ve evreli bir biyolojik süreçtir. Bu süreç, bazal lamina üzerinde yerleşmiş diploid spermatogonyum hücrelerinin mitotik bölünmeleri ile başlamakta ve sonuçta haploid spermatozoonların oluşumu ile tamamlanmaktadır (Creasy ve Chapin, 2013). Spermatogonyum, Tip A ve Tip B olmak üzere iki ana tipe ayrılmakta; Tip A spermatogonyum kök hücre havuzunu korurken, Tip B spermatogonyum mitozu takiben birincil spermatositlere dönüşmektedir (Creasy ve Chapin, 2013). Birincil spermatositler, ilk mayoz bölünmeyi geçirerek ikincil spermatositleri oluşturmakta, ardından ikinci mayoz bölünme ile haploid spermatidlere farklılaşmaktadır (Akunna ve ark., 2024) (Şekil2.3). Spermatidler, spermiyogenez adı verilen farklılaşma süreciyle çekirdek yoğunlaşması, akrozom oluşumu ve flagellum gelişimi gibi morfolojik değişiklikler geçirerek olgun spermatozoonlara dönüşmektedir (Creasy ve Chapin, 2013) (Şekil 2.4). Tüm bu aşamalar, sertoli hücreleri tarafından fiziksel destek ve besinsel regülasyonla yönlendirilmekte, ayrıca hormonlar ve lokal parakrin faktörlerle ince bir biçimde koordine edilmektedir (Griswold ve ark., 1988; Akunna ve ark., 2024). Spermatogenez süreci, kan-testis bariyeri tarafından oluşturulan bazal ve adlüminal kompartmanlar arasında dinamik bir geçiş gerektirmekte olup, her aşamadaki germ hücresi

spesifik bir mikroçevrede gelişimini sürdürmektedir (Akunna ve ark., 2024). Bu sürecin herhangi bir aşamasında meydana gelen aksaklıklar, germ hücre apoptozu, sperm sayısında azalma ve sonuç olarak fertilite kaybı ile sonuçlanabilmektedir (Creasy ve Chapin, 2013).



Şekil 2.3. Spermatogenez (Mescher, 2013).

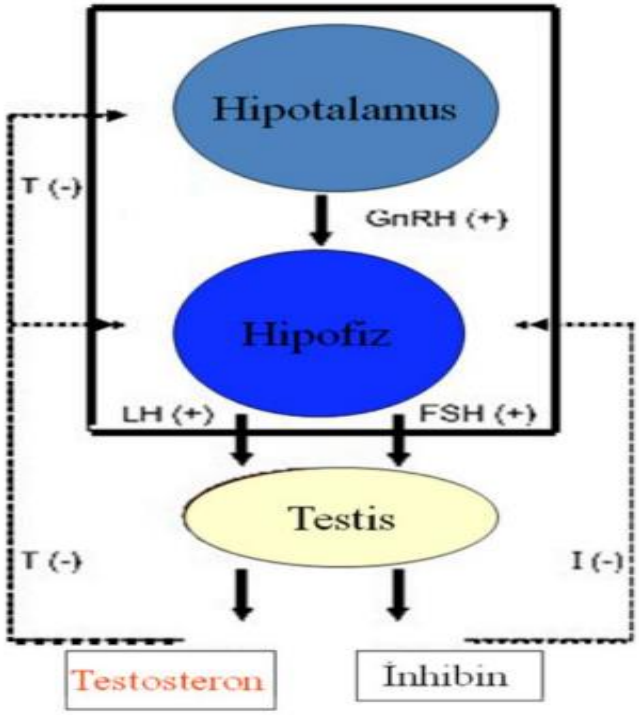


Şekil 2.4. Spermiyogenez sırasında meydana gelen değişiklikler (Gümüşel A., 2013).

Leydig hücreleri: Testisin interstisyel dokusunda lokalize olmuş, testosteron sentezinden sorumlu steroidojenik hücrelerdir. Embriyonal dönemde mezenkimal kökenli prekürsörlerden farklılaşan fetal leydig hücreleri, prenatal androjen üretimini sağlayarak erkek üreme organlarının gelişiminde kritik bir rol üstlenir (Creasy ve Chapin, 2013).

Doğumu takiben bu hücreler gerileyerek yerlerini puberte ile birlikte aktive olan erişkin leydig hücrelerine bırakır. Erişkin leydig hücreleri, luteinize edici hormon (LH) tarafından uyarılarak testosteron biyosentezini sürdürmekte, böylece spermatogenezin ilerlemesi ve ikincil seks karakterlerinin korunması için gerekli hormonal çevreyi sağlamaktadır. Mikroskobik düzeyde, geniş eozinofilik sitoplazmaları, yoğun düz endoplazmik retikulum, mitokondri ve lipid damlacıkları ile karakterize edilen bu hücreler, steroid hormon sentezi için özelleşmiş morfolojik bir organizasyona sahiptir. Fonksiyonel veya sayısal yetersizlikleri, testosteron düzeylerinde düşüşe, spermatogenezin bozulmasına ve sonuçta erkek fertilitesinde azalmaya yol açabilmektedir (Creasy ve Chapin, 2013).

Hipotalamik-Pitütuar-Gonadal eksen: Erkek üreme sisteminde hipotalamik pitütuar-gonadal eksen (Hypothalamic-Pituitary-Gonadal axis, HPG), hormonal denge ve gamet üretiminin nöroendokrin kontrolünü sağlayan temel bir fizyolojik sistemdir. Bu eksenin başlangıcı, hipotalamustan salınan gonadotropin salgılatıcı hormonun (GnRH) portal dolaşıma geçerek ön hipofizdeki gonadotrop hücreleri uyarmasıyla gerçekleşir. Bu uyarım, folikül stimüle edici hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH) salınımına yol açar (Tammasse ve Tamrin, 2023). Erkekte LH, testisteki leydig hücrelerine bağlanarak testosteron sentezini indüklerken, FSH ise seminifer tübüllerde bulunan sertoli hücrelerini uyararak spermatogenezin düzenlenmesinde rol oynar. Sertoli hücrelerinden salınan inhibin B, negatif geri bildirim mekanizması ile hipofizden FSH salınımını baskılayarak aksın homeostazını sağlar. Testosteron ise hem hipotalamusa hem de hipofize geri bildirimde bulunarak GnRH ve LH üretimini düzenler. Testosteronun biyolojik etkileri, serbest ve albumine bağlı fraksiyonları üzerinden gerçekleşirken, SHBG'ye bağlı fraksiyon hormonal olarak inaktif formda dolaşır. Aynı zamanda testosteronun dihidrotestosteron (DHT) ve östradiole dönüşümü, androjenik ve östrojenik etkilerin çeşitlenmesini sağlar. HPG ekseni bu yönüyle hem hormonal üretim hem de gametogenezin sürekliliğini sağlayarak erkek fertilitesinin nöroendokrin temelini oluşturur (Goldblatt ve ark., 2025; Tammasse ve Tamrin, 2023).



Şekil 2.5. Hipotalamus-Hipofiz -Gonad Ekseni (Clement ve Giuliano, 2014)

Androjenin etkileri: Erkek üreme sisteminde androjenler, özellikle testosteron ve dihidrotestosteron (DHT), hem gelişimsel hem de işlevsel düzeyde temel düzenleyici hormonlardır. Testosteronun biyolojik etkileri büyük ölçüde androjen reseptörü (AR) aracılığıyla gerçekleşir. AR, ligand-bağımlı bir transkripsiyon faktörü olarak, hedef hücrelerde gen ekspresyonunu modüle eder. Bu reseptörün testis ve epididimis gibi erkek üreme organlarında gösterdiği dokuya özgü ekspresyon paterni, farklılaşma ve fonksiyonla yakından ilişkilidir. Gelişimsel olarak AR, fetal dönemde leydig hücrelerinde belirgin biçimde eksprese olurken, sertoli hücrelerindeki ekspresyon doğum sonrası döneme ertelenir. Testosteronun Wolff kanalı stabilizasyonu, epididim ve vas deferens gibi iç genital yapıların farklılaşması üzerindeki etkisi, hem dolaşımsal hem de testiküler sıvı (lumicrine) yollarla gerçekleşir. Yetişkin dönemde ise AR, sertoli, peritübüler myoid ve Leydig hücreleri başta olmak üzere birçok testiküler hücrede bulunur; ayrıca epididim epitelinde de yaygın olarak ifade edilir. Androjenlerin klasik genoma bağlı etkilerinin yanı sıra, son yıllarda hızlı non-genomik etkileri de tanımlanmıştır; bunlar hücre içi kalsiyum düzeylerini ve mitojenle etkinleşen protein kinaz/protein kinaz A (MAPK/PKA) gibi sinyal yollarını modüle ederek özellikle sertoli hücreleri ve spermatozoa üzerinde etkili olur. Ayrıca, AR ekspresyonu

androjen düzeyleriyle homolojik olarak regüle edilmekte; bu durum erkek fertilitesinin devamlılığı için dinamik bir hormonal geri bildirim döngüsünün varlığını ortaya koymaktadır (Patrao ve ark., 2009).

Sinir sistemi: Erkek üreme sistemi, merkezi ve periferik otonom sinir sisteminin koordineli işleyişiyle düzenlenir. Hipotalamus-pitütuar -gonad (HPG) ekseninin yanı sıra, beyin korteksi, limbik sistem, omurilik ve pelvik sinir ağları; cinsel istek, ereksiyon, ejakülasyon ve spermatogenez süreçlerinde rol oynar. Otonom sinir sistemi bozuklukları örneğin; diyabet, multipl skleroz, spinal kord yaralanmaları veya ilaçlara bağlı disfonksiyonlar bu süreçleri bozarak erkek infertilitesine neden olabilir. Bu durum, hormonal dengenin bozulması, sperm kalitesinde düşüş ve cinsel işlev bozukluklarıyla kendini gösterebilir (Qiu ve ark., 2023).

2.2.2. Vas Deferens

Vas deferens, epididimden başlayarak üretraya kadar uzanan yaklaşık 30–45 cm uzunluğunda, kalın duvarlı ve dar lümenli bir tüptür ve spermatozoaların ejakülasyon sırasında taşınmasında merkezi bir rol oynar Dıştan içe doğru adventisya, belirgin kas tabakası ve mukozadan oluşur. Kas tabakası iç ve dış longitudinal ile orta sirküler kas liflerinden meydana gelir ve ejakülasyon sırasında güçlü peristaltik hareketleri sağlar. Mukozada silli kolumnar epitel yer alırken, submukozada damar ve sinir ağları bulunur. Kanlanması inferior vezikal arterden sağlanırken, innervasyonu esas olarak sempatik liflerle gerçekleşir (Koslov ve Andersson, 2013; Lohiya ve ark., 2001).

Fizyolojik olarak vas deferens, ejakülasyonun emisyon fazında aktive olur. Sempatik sinir uçlarından salınan noradrenalin ve adenozin trifosfat (ATP), sırasıyla α_1-adrenerjik ve $P2X_1$ purinerjik reseptörleri uyararak düz kas kasılmasını başlatır. Bu uyarı iki fazlı bir kasılma oluşturur: önce ATP aracılığıyla hızlı bir “twitch” yanıtı, ardından noradrenalin aracılığıyla daha uzun süren tonik bir kasılma meydana gelir. Bu kasılma sırasında hem hücre dışından L-tipi kalsiyum kanalları aracılığıyla hem de hücre içinden inositol trifosfat (IP_3) yolu üzerinden kalsiyum mobilizasyonu gerçekleşir. Böylece aktin-miyozin etkileşimi sağlanarak spermlerin peristaltik dalgalarla üretraya iletimi tamamlanır (Koslov ve Andersson, 2013).

2.2.3. Penis

Penisin yapısı ve ereksiyon mekanizması, erkek cinsel işlevlerinin gerçekleştirilmesinde temel rol oynayan, kompleks bir nörovasküler ve mekanik organizasyonu temsil eder. İnsan penisinde diğer bazı memelilerin aksine kemiksi bir yapı olan *os penis* bulunmaz; bunun yerine *distal ligament* adı verilen, tunika albuginea'nın dış longitudinal katmanından türeyen ve glans penisin yapısal bütünlüğünü sağlayan bir ligamentöz yapı yer alır. Bu yapı, glans bölgesinde uretranın açıklığını korumak ve ejakülasyon basıncını yönlendirmek için kritik öneme sahiptir (Hsu ve Lu, 2018).

Ereksiyon, temel olarak bir hidrolik mekanizma ile sağlanır ve altı aşamada incelenebilir: Flasid, latent, tümesans, tam ereksiyon, rijid ereksiyon ve detümesans. Bu süreçte kavernozal arterlerin helisin dalları genişleyerek sinüzoidleri doldurur ve venöz çıkışı kısıtlayarak intrakavernozal basıncı artırır. Tunika albuginea'nın çift katmanlı yapısı venleri sıkıştırarak venöz drenajı sınırlar ve rijidite sağlar. Özellikle dış longitudinal katman, veno-oklüzif mekanizmanın fizyolojik temelini oluşturur (Hsu ve Lu, 2018).

Ereksiyon sürecinin nörolojik kontrolü, hem santral hem de periferik sistemin etkileşimini içerir. Parasempatik aktivite, NO salınımını artırarak düz kas gevşemesine ve arteriyel dilatasyona yol açar; bu durum, cGMP yolakları üzerinden kalsiyum içeriğinin azalmasıyla sağlanır. NO, hem endotel hücrelerinden hem de non-adrenerjik, non-kolinerjik sinir uçlarından salınır. Buna karşılık, sempatik aktivite noradrenalin aracılığıyla düz kas kontraksiyonunu uyararak flasid durumu sürdürür. Ejakülasyon ise sempatik sistemin baskın olduğu, noradrenalin salınımıyla tetiklenen bir reflekstir ve detümesans fazını başlatır (Hsu ve Lu, 2018).

Penisin rijiditesi için gerekli olan yapılar arasında sağlıklı sinüzoid yapılar, fonksiyonel tunika albuginea, bütün intrakavernozal sütunlar, sağlam distal ligament ve iskiokavernosus ile bulbospongiosus kasları sayılabilir. Bu yapıların birlikte ve senkronize çalışması, ereksiyonun fizyolojik olarak sürdürülebilirliğini sağlar. Özellikle penis venlerinin işlevselliği, yeterli erektil rijidite için vazgeçilmezdir. Klinik olarak, venöz kaçak veya tunika hasarı gibi durumlar erektil disfonksiyonun temel nedenleri arasında yer almakta; bu yapılar üzerinde yapılan anatomik ve deneysel çalışmalar, insan penisinin erektil yeteneğinin mekanik temellerini daha iyi anlamamıza katkı sağlamaktadır (Hsu ve Lu, 2018).

2.3. Yaşlanmanın Erkek Üreme Sistemine Etkileri

Modern toplumlarda yaşam süresinin artması ve çocuk sahibi olma yaşının ileri dönemlere ötelenmesi, erkek yaşlanmasının üreme sağlığı üzerindeki etkilerini hem klinik hem de bilimsel açıdan önemli bir araştırma konusu haline getirmiştir. Erkeklerde spermatogenez süreci yaşam boyu devam etmesine rağmen, ilerleyen yaşla birlikte sperm üretim kapasitesinde, hormonal dengede ve cinsel fonksiyonlarda belirgin değişiklikler gözlenmektedir. Kadınlardaki "biyolojik saat" kavramı uzun süredir tanımlanmış olsa da, erkeklerde de yaşa bağlı üreme kısıtlılıklarının hem fertilite hem de nesil sağlığı üzerindeki etkileri yeni yeni anlaşılmaktadır (Nguyen-Powanda ve Robaire, 2020). Bu bağlamda yaşlanma, erkek üreme sistemini hücresel, hormonal ve nörovasküler düzeylerde etkileyen çok yönlü bir süreç olarak ele alınmalıdır.

İleri yaşla birlikte erkek üreme sistemi bir dizi yapısal ve fonksiyonel değişikliğe uğrar. Testis dokusunda, seminifer tübül çaplarında daralma, germ hücre sayısında azalma, sertoli hücrelerinde vakuolizasyon ve leydig hücrelerinde lipofuscin birikimi gibi histolojik değişiklikler gözlemlenir. Bu yapısal bozulmalar spermatogenezin kalitesini düşürürken, aynı zamanda hormonal dengenin de bozulmasına neden olur. Leydig hücre fonksiyonlarının yaşla azalması, serum testosteron düzeylerinde düşüşe yol açar. Özellikle serbest testosteron düzeyleri azalırken, sex hormon bağlayıcı globulin (SHBG) düzeylerinde artış gözlenir ve bu durum biyoyararlanabilir testosteron miktarını daha da azaltır (Kaufman ve ark., 2019; Ajayi ve ark., 2023). Hipotalammus-pitituar-gonadal eksenin yaşla birlikte yavaşlaması sonucu LH ve FSH sekresyonu dalgalanır; bu durum başlangıçta kompanse hipogonadizm tablosuna yol açarken, ilerleyen evrelerde primer hipogonadizm gelişmesine yol açabilir (Tajar ve ark., 2010).

Moleküler düzeyde yaşlanma, spermatogenezi ve sperm hücre kalitesini bozan çok sayıda biyokimyasal süreci tetikler. Bunlar arasında telomer kısalması, DNA hasarının birikimi (özellikle 8-oxodG oluşumu), epigenetik regülasyon bozuklukları ve en önemlisi oksidatif stres yer alır. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) sperm hücre zarında lipid peroksidasyonuna ve DNA kırılmalarına neden olduğu bilinmektedir. Sperm plazma zarındaki çoklu doymamış yağ asitleri ROS'lara karşı yüksek duyarlılık gösterir. Bunun sonucunda sperm motilitesi, morfolojisi ve döllenme yeteneği belirgin şekilde azalır (Nguyen-Powanda ve Robaire, 2020). Ayrıca yaşlanmayla birlikte testis dokusunda antioksidan enzim düzeyleri azalırken, serbest radikal üretimi artar ve redoks dengesi bozulur (Ajayi ve ark., 2023).

Bu süreçte NO, hem spermatogenez hem de erektil fonksiyon üzerinde kritik rol oynayan moleküllerden biridir. NO, fizyolojik düzeylerde sperm kapasitasyonu, hareketliliği ve akrozom reaksiyonunu kolaylaştırır. Testis ve epididimis dokularında bulunan nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleri sayesinde üretilen NO, spermatozoa fonksiyonlarını düzenlerken, aynı zamanda testiküler kan akışını da optimize eder (Nguyen-Powanda ve Robaire, 2020). Ancak yaşlanmayla birlikte eNOS aktivitesinde azalma, NO üretiminde düşüş ve NO/ 3'-5'-siklik guanozin monofosfat (cGMP) sinyal iletiminde aksama görülür. Özellikle erektil dokularda, NO'nun düz kas gevşetici etkisinin azalması, penil vasküler gevşemenin yetersizliğine ve dolayısıyla erektil disfonksiyon (ED) gelişimine yol açar. Ayrıca ras homolog aile üyesi A (RhoA) / Rho-kinaz enzim (ROCK) yolunun yaşla artması, NO aracılı gevşemeyi baskılayarak korpus kavernozum düz kaslarının tonusunu artırır. Peniste elastik liflerin azalması ve venöz kaçakların oluşması da bu patolojiye eşlik eder (Zhuang ve ark., 2024).

Bunun yanında yaşa bağlı erektil disfonksiyon, sadece vasküler mekanizmalarla değil, nörolojik dejenerasyonla da ilişkilidir. Santral sinir sisteminde gri ve beyaz cevher hacminde azalma, periferik sinirlerde demiyelinizasyon ve aksonal hasar gibi nörolojik değişiklikler, cinsel uyarı iletiminde bozulmalara neden olur. Ayrıca beyindeki dopamin düzeylerinin azalması, libido ve erektil reflekslerde gerilemeye yol açabilir (Zhuang ve ark., 2024). Bu değişikliklerin tamamı, yaşlı bireylerde NO'nun biyoeşdeğerliğini daha da düşüren bir ortam yaratır.

Erkek yaşlanması, üreme sistemini hücresel, hormonal ve sinirsel düzeyde etkileyen çok yönlü bir süreçtir. Testiküler yapının bozulması, germ hücre kaybı, leydig ve sertoli hücrelerinin dejenerasyonu ve hormonal regülasyonda görülen sapmalar, spermatogenezin verimliliğini ve sperm kalitesini önemli ölçüde düşürmektedir. Moleküler düzeyde artan oksidatif stres ve NO biyoyararlanımındaki azalma, hem fertiliteyi hem de erektil fonksiyonu olumsuz etkilemektedir. NO'nun hem testiküler fonksiyon hem de vasküler sistem üzerindeki yaşa bağlı etkilerinin daha iyi anlaşılması, yaşlanmaya bağlı infertilite ve cinsel disfonksiyonların erken tanı ve tedavisinde önemli bir anahtar olabilir. Bu nedenle, yaşa bağlı üreme sağlığı değişikliklerinin çok boyutlu mekanizmalarla değerlendirilmesi, daha etkin ve kişiselleştirilmiş tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.

2.4. Diabetes Mellitus ve Tedavi Yöntemleri

Diabetes mellitus (DM) karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması bozuklukları sonucunda ortaya çıkan insülin salgılanmasında, insülin hormon duyarlılığında veya her ikisindeki değişikliklerden kaynaklanan kronik hiperglisemi ile karakterize bir metabolik hastalık grubudur (Nathan, 2015). Diyabet, özellikle gözler, böbrekler, sinirler, kalp ve kan damarları gibi farklı organlarda uzun süreli hasar, işlev bozukluğu ve fonksiyon kaybına neden olabilir. Diyabet uzun dönemde retinopati, görme kaybı riski; nefropati, böbrek yetmezliğine yol açabilir; periferik nöropati, ayak ülserleri, gastrointestinal, genitoüriner ve kardiyovasküler semptomlara ve cinsel işlev bozukluklarına neden olabilir (American Diabetes Association, 2023). Diyabetli hastalarda aterosklerotik kardiyovasküler, periferik arteriyel ve serebrovasküler hastalıkların riski artmıştır. Hipertansiyon ve lipoprotein metabolizması anormallikleri, diyabetli bireylerde sıkça görülmektedir.

Diabetes mellitus tanısı, açlık plazma glukozu (APG), rastgele plazma glukozu (PG), 75 gr oral glukoz tolerans testi sırasındaki (OGTT) 2. saat plazma glukoz (2. st PG) düzeyi ve/veya A1C tetkiki yapılarak konulabilir. Bu tetkik sonuçlarından elde edilenlere göre normalden yüksek olan ancak diyabet tanısı konulacak kadar yüksek olmayan düzeylerde bozulmuş açlık glukozu (BAG), bozulmuş glukoz toleransı (BGT) gibi glukoz metabolizmasının diğer bozukluklarının saptanması ve prediyabetik bireylerin belirlenmesi mümkün olmaktadır (American Diabetes Association, 2023).

Diyabet 1985 yılında Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından pankreasın beta hücrelerinin tahribatı sonucu insülin üretiminin yetersiz olması ile karakterize olan Tip 1 Diabetes Mellitus (T1DM) ve daha yaygın bir form olan genellikle insülin direnci ve insülin salgılama bozuklukları sonucu oluşan Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM) olarak iki ana grupta toplandı. Bunun dışında gestasyonel diyabet dahil olmak üzere diğer diyabet türleri de tanımlanmıştır (Goodpaster, 2010).

Tip 1 Diabetes Mellitus (T1DM): Pankreas adacıklarında insülin üreten beta hücrelerinin otoimmün hasarından kaynaklanan bir durumdur ve genellikle şiddetli endojen insülin eksikliğine yol açar. T1DM, tüm diyabet vakalarının yaklaşık %5-10'unu oluşturur. T1DM'li çoğu hasta, hayatta kalmak için insüline bağımlıdır; insülin olmadan ketoasidoz ve koma gibi ciddi metabolik komplikasyonlar gelişebilir (Pickup, 2005).

Tip 2 Diabetes Mellitus (T2DM): Diyabet vakalarının %90'ı, insülin direncine yol açan T2DM hastalığından kaynaklanmaktadır. T2DM, hiperglisemi, insülin direnci ve göreli insülin eksikliği ile karakterize edilen en yaygın DM türüdür. T2DM, genetik, çevresel ve

davranışsal risk faktörlerinin etkileşiminden kaynaklanmaktadır. T2DM ile yaşayan insanlar, hem kısa hem de uzun vadeli çeşitli komplikasyonlara daha yatkındır; bu komplikasyonlar sıklıkla erken ölüme yol açar. T2DM'li hastalarda artan morbidite ve mortalite eğilimi, bu tür diyabetin yaygınlığı, sinsi başlangıcı ve özellikle kaynakları kısıtlı gelişmekte olan ülkelerde geç tanınması nedeniyle görülmektedir (Hu ve ark.; 2001; Ripsin ve ark., 2009).

Ülkemizde bulunan Tip 2 diyabette glisemik kontrolü sağlamak üzere kullanılan antidiyabetik ilaçlar:

1. Biguanidler
2. İnsülin salgılatıcılar (Sekretogoglar)
3. Tiazolidindionlar (TZD)
4. İnkretin bazlı ilaçlar [Dipeptidil peptidaz 4 inhibitörleri (DPP-4 İ)]
5. Glukagon benzeri peptid 1 reseptör analogları (GLP-1 RA)]
6. Alfa glukozidaz inhibitörleri
7. Sodyum glukoz ko-transporter 2 (SGLT2) inhibitörleri
8. İnsülin tedavisi (Turan ve Kulaksızoğlu, 2015)

2.4.1. Sodyum-glukoz co-transporter-2 (SGLT-2) inhibitörleri

Sodyum-glukoz kotransportörü-2 (SGLT-2) inhibitörleri, proksimal kıvrımlı tübüllerde ifade edilen SGLT-2 proteinleri üzerinde etkili olan antihiperglisemik ajanlardır. Bu ilaçlar, tübüler lümenden filtre edilen glukozun geri emilimini engelleyerek etkilerini gösterirler. Günümüzde, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış dört SGLT-2 inhibitörü bulunmaktadır: kanagliflozin, dapagliflozin, empagliflozin ve ertugliflozin. Kullanım endikasyonları her bir ajan için değişiklik göstermekle birlikte, bu dört ilaç da T2DM olan yetişkinlerde kan şekeri kontrolünü diyet ve egzersize ek olarak iyileştirmek amacıyla onaylanmıştır (Turan ve Kulaksızoğlu, 2015)

Dapagliflozin: Sodyum-glukoz kotransporter 2 (SGLT2) inhibitörleri sınıfına ait, tip 2 diyabet mellitus (T2DM) tedavisinde kullanılan oral bir antihiperglisemik ajandır. Bu ajan, renal proksimal tübüllerde yer alan SGLT2 taşıyıcılarını selektif ve geri dönüşümlü biçimde inhibe ederek glukozun geri emilimini engeller ve böylece glukozüriyi indükleyerek plazma glukoz düzeylerini insülin bağımsız mekanizmalarla düşürür (Filippatos ve ark., 2015; Cada ve ark., 2014). Bu özelliği, pankreatik β hücrelerinden bağımsız etki göstermesini sağlar ve hipoglisemi riskini minimalize eder. Ayrıca dapagliflozin, glukoz ile birlikte kalori kaybına

yol açarak vücut ağırlığında azalma sağlamakta ve osmotik diürez yoluyla kan basıncını düşürücü etkiler göstermektedir (Maksud ve ark., 2024).

Farmakokinetik olarak, dapagliflozin oral yoldan hızla emilir ve biyoyararlanımı yaklaşık %78 düzeyindedir. Etkin maddesi, başta karaciğerde uridin difosfat glukuronosiltransferaz (UGT1A9) enzimi ile metabolize edilerek inaktif dapagliflozin 3-O-glukuronid türevine dönüştürülür. Böbrek fonksiyon bozukluğu olan bireylerde ilacın farmakodinamik etkisi azalmakta, bu nedenle orta ve ileri derecede böbrek yetmezliği olan hastalarda kullanımı önerilmemektedir (Cada ve ark., 2014; Filippatos ve ark., 2015). Dapagliflozin'in dozajı genellikle 5–10 mg/gün olup tek doz kullanımı yeterli glisemik kontrol sağlayabilmektedir (Maksud ve ark., 2024).

Klinik çalışmalarda dapagliflozin monoterapi ve kombinasyon tedavisinde anlamlı HbA1c düşüşleri, açlık plazma glukozunda azalma ve vücut ağırlığında kayıplar ile ilişkilendirilmiştir (Ferrannini ve ark., 2010). Dapagliflozin, genel olarak iyi tolere edilmekle birlikte genital ve üriner enfeksiyonlarda artış gibi yan etkilerle ilişkilidir. Bu enfeksiyonlar genellikle hafif-orta şiddette seyretmekte ve standart tedavilere iyi yanıt vermektedir (Filippatos ve ark., 2015). Glisemik kontrol, kilo kaybı, kan basıncında azalma ve kardiyorenal koruyucu etkiler dikkate alındığında, dapagliflozin özellikle metformin intoleransı olan veya kombinasyon tedavisine ihtiyaç duyan T2DM hastaları için etkili ve güvenilir bir seçenek olarak öne çıkmaktadır (Maksud ve ark., 2024; Jhund ve ark., 2022).

Günümüzde piyasada bulunan dapagliflozin etken maddesi içeren müstahzarlar; Forziga (Astra Zeneca), Calira (Sanovel), Daplig (Saba), Dapgeon (Genveon), Dapadap (Sandoz).

2.4.2. Biguanidler

Oral antidiyabetik ilaçlar arasında yer alan ikinci büyük sınıf biguanidlerdir ve bu grup ajanlar ilk kez 1950'li yıllarda klinik kullanıma sunulmuştur. Günümüzde bu sınıfın en sık tercih edilen temsilcisi metformindir. Sülfonilürelerden farklı olarak, biguanidler hipoglisemi riskini minimal düzeyde taşıyarak kan şekeri üzerinde daha güvenli bir etki profili sunar. Etki mekanizmaları arasında anaerobik glikolizi doğrudan aktive ederek glukoz kullanımını artırmak, böylece kan dolaşımındaki glukoz seviyesini düşürmek yer alır. Ayrıca, karaciğerdeki glukoneogenez sürecini baskılamakta, ince bağırsaktan glukoz emilimini azaltmakta ve plazma glukagon düzeylerini düşürmektedirler. Bu etkileriyle

birlikte, insülin reseptörlerine insülin bağlanmasını artırarak dolaylı yoldan insülin duyarlılığını da iyileştirirler. Metformin ve fenformin bu farmakolojik grubun başlıca örnekleridir (Çubuk ve İnce, 2015).

Metformin: Metformin (dimetil-biguanid), günümüzde tip 2 diyabet mellitus (T2DM) tedavisinde en sık reçete edilen oral antidiyabetik ajandır ve ilk tercih olarak ulusal ve uluslararası kılavuzlarda önerilmektedir. Bitkisel kökenli *Galega officinalis* bitkisinden türetilen bu bileşik, guanidin yapısına dayalı olup, 1950'lerden itibaren diyabet tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (Bailey, 2024).

Etki mekanizması çok yönlüdür: Başlıca hepatik glukoneogenezi baskılayarak bazal glisemi düzeylerini düşürür; buna ek olarak periferik dokularda glukoz alımını artırır, intestinal glukoz emilimini azaltır ve glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) düzeylerini yükseltir (Papanas ve Maltezos, 2009; Ghosal ve Ghosal, 2019). Bu mekanizmalar, adenozin monofosfat ile aktifleştirilen protein kinaz (AMPK) aktivasyonu ve mitokondriyal kompleks I inhibisyonu gibi moleküler düzeyde etkilerle bütünleşir. Metformin, plazma proteinlerine bağlanmadan yayılır, metabolize edilmeden böbrek yoluyla atılır ve vücutta özellikle bağırsak mukozası, karaciğer ve böbreklerde yoğunlaşır (Bailey, 2024).

Genellikle iyi tolere edilen metforminin en yaygın yan etkileri gastrointestinal rahatsızlıklar olup, bu etkiler genellikle tedavinin ilk haftalarında görülmekte ve doz titrasyonu ile azaltılabilmektedir. Uzun süreli kullanımda B12 vitamini eksikliği, nadiren ise laktik asidoz gibi ciddi ancak çok düşük sıklıkta komplikasyonlar gelişebilir; bu nedenle özellikle renal fonksiyonu bozulmuş bireylerde dikkatli kullanılmalıdır (Bailey, 2024; Ghosal ve Ghosal, 2019).

Hipoglisemi riski minimal olan metformin, kilo artışı yapmaması ve hatta kilo kaybına neden olması sayesinde obez bireylerde avantajlı bir tedavi seçeneği sunar. Etkinliği, güvenilirliği, maliyet etkinliği ve metabolik sendromla ilişkili parametreler üzerindeki çok yönlü olumlu etkileri, metformini T2DM tedavisinde vazgeçilmez bir ajan haline getirmiştir.

Günümüzde piyasada bulunan metformin etken maddesi içeren müstahzarlar; Diormin (Advance), Diaformin (Aris), Dropia-Met (Sanovel), Galvus Met (Novartis), Diabest (Abdi İbrahim), Glifix Plus (Bilim), Glifor (Bilim), Glucophage (Merck) Linazep Plus (Bilim), Linatin Met (Nobel) Taglin Met (Nobel), Diyatix Plus (Sanovel)

2.5. Dapagliflozinin Erkek Üreme Sistemi Üzerine Etkileri

Dapagliflozin, öncelikle glisemik kontrol amacıyla geliştirilen bir SGLT2 inhibitörü olmakla birlikte, son yıllarda erkek üreme sağlığı üzerindeki etkileriyle de dikkat çekmektedir. Preklinik hayvan modellerinde yapılan çok sayıda çalışma, dapagliflozinin testiküler yapı, spermatogenez ve sperm kalitesi üzerinde doğrudan koruyucu etkiler sağladığını ortaya koymuştur (Luo ve ark., 2022; Jin ve ark., 2024). Histolojik olarak dapagliflozin, seminifer tübüllerdeki hücre organizasyonunu korumakta, germ hücrelerinin sayısını artırmakta ve testis hacminde meydana gelen diyabetik küçülmeyi sınırlamaktadır (Luo ve ark., 2022).

Dapagliflozinin sperm parametreleri üzerindeki etkileri de oldukça çarpıcıdır. Yapılan analizlerde, ilaç uygulanan gruplarda sperm konsantrasyonunun ve total motilitenin arttığı, hızlı ileri hareketlilik oranlarında anlamlı iyileşmeler olduğu gösterilmiştir (Alshamrani ve ark., 2023; Jin ve ark., 2024). Aynı zamanda sperm morfolojisinde düzelmeler, DNA bütünlüğünde artış ve kromozomal stabilitede gelişme bildirilmiştir (Alshamrani ve ark., 2023). Bu olumlu etkiler, dapagliflozinin antioksidan savunma sistemini aktive etmesi ve apoptoz mekanizmalarını baskılamasıyla ilişkilidir. Moleküler olarak dapagliflozin, testis dokusunda total antioksidan kapasiteyi artırmakta, süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi savunma enzimlerini aktive etmekte ve lipid peroksidasyon ürünlerinden 4-hidroksinonenal (4-HNE) düzeyini düşürmektedir (Luo ve ark., 2022). Ayrıca, B-hücreli lenfoma 2 (BCL2) ve X Bağlantılı Apoptoz İnhibitörü (XIAP) gibi antiapoptotik proteinlerin ekspresyonunu artırarak germ hücrelerini hücre ölümüne karşı korumakta; caspase-8 ve caspase-9 gibi proapoptotik faktörlerin aktivasyonunu baskılamaktadır (Jin ve ark., 2024).

Bu biyokimyasal ve hücresel etkilerin temelinde GLP-1 reseptörü (GLP-1R)/PI3K/Akt sinyal yolunun aktivasyonu yer almaktadır. Dapagliflozin, plazma GLP-1 düzeylerini artırarak testiküler GLP-1R ekspresyonunu yükseltmekte; bu reseptör üzerinden Akt fosforilasyonunu tetikleyerek hücresel sağkalımı, proliferasyonu ve metabolik stabiliteyi desteklemektedir (Luo ve ark, 2022). Sinyal yolunun baskılandığı deneysel modellerde dapagliflozinin koruyucu etkilerinin azaldığı görülmüş, bu da mekanizmanın işlevselliğini doğrulamıştır. Ayrıca dapagliflozin, proteom düzeyinde testis dokusundaki protein dengesizliklerini azaltarak homeostatik bir yapı oluşturmakta ve fertilite ile ilişkili biyolojik işlevleri normalleştirmektedir (Alshamrani ve ark., 2023).

Dapagliflozinin yalnızca lokal testiküler düzeyde değil, sistemik eksenlerde de etki gösterdiği anlaşılmaktadır. Özellikle gut mikrobiyota-testis aksı üzerinden, faydalı bakterilerin (örneğin *Lachnospiraceae*) oranını artırmakta; bunun sonucunda cAMP, adenosin ve 2′-deoxyinosine gibi metabolitlerin testis, plazma ve bağırsak düzeylerinde düzene girmesini sağlamaktadır (Jin ve ark., 2024). Bu metabolitlerin hem enerji üretiminde hem de hücre içi sinyal iletiminde görev aldığı, bu sayede spermatogenezin doğrudan desteklendiği bildirilmiştir.

Dapagliflozinin insanlarda da üreme sağlığı üzerindeki etkileri ortaya konmuştur. Klinik bir çalışmada, ilacın erektil disfonksiyonu olan erkeklerde üç aylık kullanım sonrasında Uluslararası Erektil Fonksiyon İndeksi (IIEF-5) skorlarında anlamlı artış sağladığı; penis hemodinamisinde düzelme, özellikle sistolik hızda artış ve akselerasyon süresinde azalma gözlemlenmiştir (Cannarella ve ark., 2024). Bu etkiler, dapagliflozinin endotel fonksiyonu, nitrik oksit üretimi ve damar geçirgenliği üzerindeki olumlu etkileriyle ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, GLP-1'in hipotalamus üzerindeki etkileri nedeniyle dapagliflozinin hipotalamus-pitituar-gonadal eksenini dolaylı olarak etkileyebileceği düşünülmektedir (Pelusi, 2022). GLP-1R ekspresyonunun hipotalamusta, hipofizde ve testiste saptanmış olması bu görüşü desteklemektedir (Pelusi, 2022).

Bu bütünsel veriler ışığında dapagliflozin, yalnızca diyabetik kontrol aracı değil; aynı zamanda testiküler yapının korunması, spermatogenezin sürdürülmesi, oksidatif stresin baskılanması, hücresel yaşamsal fonksiyonların desteklenmesi ve hormon-mikrobiyota ekseninde denge kurulması açısından erkek fertilitesini koruyucu ve geliştirici bir ajan niteliği taşımaktadır.

2.6. Metforminin Erkek Üreme Sistemi Üzerine Etkileri

Metformin, tip 2 diyabet tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir biguanid türevi olup, insülin duyarlılığını artırarak glukoz metabolizmasını düzenlerken, aynı zamanda erkek üreme sağlığı üzerinde de doğrudan ve dolaylı etkiler göstermektedir. Yapılan çeşitli deneysel ve klinik çalışmalar, metforminin spermatogenez, steroidogenez, erektil fonksiyon ve Sertoli hücre metabolizması üzerinde farklı düzeylerde etkili olduğunu ortaya koymuştur. Sertoli hücreleri, spermatogenezin düzenlenmesinde enerji ve besin desteği sağlamakla sorumlu hücrelerdir ve metforminin bu hücrelerde glukoz taşıyıcıları (GLUT1, GLUT3), fosfofruktokinaz (PFK1) ve monokarboksilat taşıyıcı (MCT4) düzeylerini düşürdüğü; buna

karşın laktat ve alanin üretimini artırarak hücre içi enerji dengesini ve nikotinamid adenin dinükleotid **(**NADH/NAD^+) oranını dengelediği gösterilmiştir (Alves ve ark., 2014). Bu durum, gelişmekte olan germ hücrelerine antiapoptotik destek sağlamakta ve spermatogenezin sürdürülmesini kolaylaştırmaktadır.

Metforminin hipotalamus-pitituar-gonadal (HPG) eksen üzerindeki etkileri ise karmaşıktır. Bazı çalışmalar, metforminin testosteron sentezini ve LH salınımını artırabileceğini öne sürerken, diğer çalışmalar, özellikle tip 2 diyabetli erkeklerde testosteron düzeylerinde düşüş, cinsel istek kaybı ve erektil disfonksiyon ile ilişkili olabileceğini göstermiştir (Tseng, 2022). Bu çelişkili sonuçlar, hasta popülasyonlarının heterojenliği, metformine eşlik eden komorbiditeler ve doz-farklılıkları gibi faktörlerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Nitekim metformin, AMPK aktivasyonu yoluyla hücresel enerji dengesini düzenlemekte ve steroidogenez üzerinde hem inhibe edici hem de uyarıcı etkiler yaratabilmektedir (Alzain ve ark., 2020).

Spermatogenez açısından metforminin etkileri genellikle koruyucu yöndedir. Metformin tedavisi, diyabetik hayvan modellerinde sperm sayısı, motilitesi ve morfolojisinde iyileşme sağlamış; testiküler doku düzeyinde oksidatif stresin baskılanması, inflamasyonun azaltılması ve apoptotik sinyallemenin inhibisyonu ile ilişkilendirilmiştir (Ferreira ve ark., 2015). Ayrıca metforminin, proliferatif hücre nükleer antijeni (PCNA) ekspresyonunu artırarak spermatogonial hücre çoğalmasını desteklediği ve testiküler yapı üzerinde onarıcı etki gösterdiği tespit edilmiştir (Tseng, 2022). Bu etkiler, hem hiperglisemik hasarı sınırlamakta hem de spermatogenezin sürdürülebilirliğini artırmaktadır.

Klinik düzeyde, metformin tedavisinin erektil disfonksiyon (ED) üzerinde sınırlı ama umut verici etkiler yarattığı görülmüştür. Özellikle insülin direnci olan erkeklerde, metformin kullanımı vazoaktif mediatörler üzerinde pozitif etkiler göstererek endotel kaynaklı nitrik oksit üretimini artırmakta ve penis vasküler yanıtlarını iyileştirmektedir (Tseng, 2022). Bununla birlikte, metforminin testosteron düzeyleri üzerindeki etkisi bireyden bireye değişebilmekte; bazı çalışmalarda serum testosteronunda düşüş bildirilmiştir (Alzain ve ark., 2020). Bu nedenle, metforminin üreme sistemi üzerindeki etkileri hasta profili, eşlik eden hastalıklar, tedavi süresi ve doza bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir.

Sonuç olarak, metformin erkek üreme sistemi üzerinde hücresel metabolizma, antioksidatif savunma, hormonal denge ve vasküler fonksiyonlar aracılığıyla çok katmanlı etkiler göstermektedir. Özellikle sertoli hücre fonksiyonlarının desteklenmesi ve

spermatogenezin korunması yoluyla erkek fertilitesine katkı sağladığı görülmekte; ancak hormon düzeyleri üzerindeki etkileri halen tartışmalı olup daha fazla randomize kontrollü çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

3. AMAÇ

Yaşlanma, tüm organ ve sistemler düzeyinde çok sayıda endojen ve çevresel faktöre bağlı olarak geri dönüşü olmayan değişikliklerden oluşan doğal bir süreçtir. Modern yaşamda, çeşitli sosyoekonomik nedenlerden dolayı giderek daha fazla çiftin çocuk sahibi olmayı ertelemeyi tercih etmesiyle, yaşlanmanın üreme sistemi üzerindeki etkilerini anlamaya yönelik araştırmalar giderek önem kazanmıştır. Yaşlanmanın erkek üreme sistemi üzerinde önemli etkileri vardır. Yaşlanan testislerdeki morfolojik ve fonksiyonel değişikliklerle birlikte endokrin değişiklikler testosteron üretiminin azalmasına neden olur. Ayrıca, yaşlanmanın sperm motilitesi, morfolojisi ve konsantrasyonu üzerindeki olumsuz etkileri ve yaşlanmanın spermatozoa kalitesinin zamanla azaldığını ortaya koyan çalışmalar vardır.

Dapagliflozin, potent, selektif ve geri dönüşümlü olarak SGLT2 inhibisyonu yapan oral antidiyabetik ilaçtır. Dapagliflozinin bilinen antihiperglisemik etkisi dışında reprodüktif sistem üzerindeki etkisini diyabetten bağımsız gösterip göstermediğini, hangi yolaklar üzerinden etki ettiğini ifade eden ayrıntılı çalışmalar azdır. Planlanan ve özgün olan bu çalışma ile yaşlanmaya bağlı olarak erkek üreme sisteminde meydana gelen olumsuz sürece dair dapagliflozinin önleyici etkisini incelemek ve literatürde yaşlanma karşıtı çalışmalara yeni bir katkı sağlamak amaçlanmıştır. Tip 2 diyabet tedavisinde antidiyabetik etkisiyle kullanılan dapagliflozinin doğal yaşlanma sürecinde görülen erkek üreme sistemi değişikliklerindeki etkilerinin araştırılmasının amaçlandığı çalışmada dapagliflozinin etkileri ve bu değişiklikler üzerine olası etkilerinde rol oynayan olası mekanizmalarını araştırmak amaçlandı. Bu amaçla dapagliflozin tedavisi sonunda deney gruplarından testis, penis ve vas deferens dokuları izole edilerek moleküler ve immünohistokimyasal analizlerle değişiklikler gösterildi. Aynı zamanda tedavide uzun süredir yaygın bir şekilde kullanılan antidiyabetik diğer bir ilaç olan metforminin doğal yaşlanma sürecinde görülen erkek üreme sistemi değişiklikleri üzerine olası etkileri ve bu etkilerin olası mekanizmalarını inceleyerek, dapagliflozin ve metforminin reproduktif sistem üzerindeki olası etkilerinin benzerlik ve

farklılıklarını ortaya koyarak literatürde yaşlanma karşıtı çalışmalara yeni bir katkı sağlamak amaçlanmıştır.

4. YÖNTEM

4.1. Deneylere Hazırlık

Çalışma için Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 25.10.2023 tarih ve 2013/27 sayılı kararı ile etik kurul onayı alınmış ve bütün çalışma etik kurul ilkelerine uygun olarak gerçekleştirildi. Tez çalışması Farmakoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında yapılmış olup deney hayvanlarının sakrifikasyonu, örneklerin toplanması, dokuların takibi ve histolojik incelemeler Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Dapagilflozin ve Metformin AstraZeneca ve Bilim İlaç'tan bağış olarak temin edilmiştir. Çalışmada Kocaeli Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi hayvan laboratuvarlarında üretilen 250-300 g ağırlığındaki sağlıklı 30 adet 4 aylık erkek (genç) ve 30 adet 12 aylık erkek (yaşlı) Wistar Albino sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları paslanmaz çelik ve ayrı kafeslerde, 12 saat aydınlık/karanlık döngüsü saat 07:00 başlayacak şekilde, 22 ±3ºC sıcaklık ve %50 ±10 nem kontrollü odada düzenli olarak temizlenen kafeslerde bakıldı. Çalışma süresince deney hayvanları ad libitum standart besin ve musluk suyu ile beslendi.

4.1.1. Deney Gruplarının Oluşturulması ve İlaç Uygulamaları

30 adet 4 aylık sıçanlar rastgele belirlenip her grupta 10'ar adet sıçan olacak şekilde genç kontrol, genç + dapagliflozin ve genç+ metformin gruplarına ayrıldı. Yaşlı hayvan gruplarının oluşturulması için 30 adet rastgele seçilen sıçanlardan 12 ay boyunca normal koşullarda yaşlanmış hayvanlar alınmıştır ve her grupta 10'ar adet sıçan olacak şekilde yaşlı kontrol, yaşlı + dapagliflozin ve yaşlı+ metformin gruplarına ayrıldı. Diyabetik sıçanlarda dapagliflozinin kardiyovasküler etkilerinin incelendiği çalışmada 1mg/kg/gün dozunda dapagliflozin kronik uygulaması yapılmıştır (Hodrea ve ark., 2022). Deney gruplarından genç + dapagliflozin ve yaşlı + dapagliflozin gruplarına 30 gün boyunca 1 mg/kg/gün dozunda dapagliflozin oral yoldan uygulandı. Özellikle metforminin erkek sıçanların üreme

sistemi üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, 100 mg/kg/gün dozunda metformin uygulaması yapılmıştır (Vieira ve ark. 2021). Bu literatürlerden yararlanarak genç + metformin ve yaşlı + metformin gruplarına 30 gün boyunca 100 mg/kg/gün dozunda metformin oral yoldan uygulandı. Deney hayvanlarının vücut ağırlıkları (g) bir dijital terazi kullanılarak deney başlangıcında ve devamında her gün ölçüldü. İlaç uygulamaları her gün aynı saatte yapıldı.

Toplam 60 adet sıçan 6 gruba ayrıldı (n=10):

1. Genç Kontrol grubu (n=10),
2. Yaşlı Kontrol grubu (n=10),
3. Genç + Dapagliflozin (1 mg/kg/gün, po., n=10),
4. Yaşlı + Dapagliflozin (1 mg/kg/gün, po., n=10),
5. Genç + Metformin (100 mg/kg/gün, po., n=10),
6. Yaşlı + Metformin (100 mg/kg/gün, po., n=10).

4.1.2. Deneyin Sonlandırılması Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

Otuz günlük ilaç uygulamasının ardından tüm deney gruplarındaki sıçanlar, derin anestezi sağlamak amacıyla 90 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin intraperitoneal yolla uygulanarak sakrifiye edildi. Anestezi düzeyi; cilt ya da parmak kıstırma yanıtları ile birlikte palpebral ve korneal reflekslerin izlenmesiyle titizlikle değerlendirildi. Derin anestezi sağlandıktan sonra toraks açılarak kalpten 3–4 mL kan örneği alındı ve biyokimyasal analizlerde kullanılmak üzere jel içeren serum ayırıcı tüplere aktarıldı. Elde edilen serum örnekleri, testosteron ve TNF-α düzeylerinin biyokimyasal ve moleküler yöntemlerle tayini amacıyla -80 °C'de saklandı.

Cerrahi girişim için abdominal kaviteye umbilikal hat üzerinden vertebraya paralel yapılan insizyon ile ulaşılmış ve testis, vas deferens ile penis dokuları dikkatlice izole edildi. İzole edilen dokular, yüzeysel kontaminantların uzaklaştırılması amacıyla %0.9'luk steril serum fizyolojik ile yıkandı. Sağ testis, vas deferens ve penis dokuları, eNOS, nNOS ve TNF-α gen ekspresyon düzeylerinin kantitatif olarak belirlenmesi amacıyla RT-qPCR analizlerine yönelik olarak -80 °C'de muhafaza edildi. Sol testis, vas deferens ve penis dokuları ise histolojik değerlendirme için %10'luk nötral tamponlanmış formalin içerisinde fikse edildi. Formalinle fikse edilen penis dokularında, eNOS ve nNOS protein ekspresyon düzeylerinin belirlenmesi amacıyla immünohistokimyasal boyama yöntemleri uygulandı.

Ayrıca tüm gruplardan elde edilen semen örneklerine Eozin-Nigrosin boyama tekniği uygulanarak sperm canlılık oranları mikroskobik olarak değerlendirildi.

4.2. Testosteron Miktarının Tayini (ELİSA)

Testosteron seviyeleri, üreticinin talimatlarına uygun olarak enzim bağlantılı immünosorbent deney (ELISA) kiti (Elabscience, Wuhan, Çin; SunRed, Şanghay, Çin) kullanılarak serumda ölçüldü. Hayvanlardan toplanan kanlardan serum elde edilebilmesi için örnekler oda sıcaklığında 1 saat pıhtılaşmaya bırakıldı ve ardından 4°C'de 1000g'de 20 dakika santrifüjlendi. Absorbans konsantrasyon standart eğri oluşturmak amacıyla, kit ile temin edilen testosteron standardının seri dilüsyonları 20 ng/mL, 10 ng/mL, 5 ng/mL, 2,5 ng/mL, 1,25 ng/mL, 0,62 ng/mL, 0,31 ng/mL ve 0 (blank) ng/mL konsantrasyonlarında hazırlandı. Gradyan seyreltilmiş standart çalışma çözeltisi kullanımdan hemen önce taze olarak hazırlandı. Her bir standart dilüsyonundan, blank ve numune kuyucuklarına 50 µL eklendi. Hemen ardından her bir kuyucuğa 50 µL biyotinlenmiş antikor içeren çalışma çözeltisi ilave edildi. Plakanın üzeri bir kapatıcı ile kapatılarak 37°C'de 45 dakika inkübe edildi. İnkübasyonun ardından, her bir kuyucuktaki çözelti boşaltılarak kuyucuklar 350 µL yıkama tamponu ile üç kez yıkandı. Daha sonra, her bir kuyucuğa 100 µL HRP konjugat çalışma çözeltisi eklenerek yeni bir kapatıcı ile kapatıldı ve 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Çözelti dekantasyonunu ve yıkama tamponu ile beş kez yıkamayı takiben, 90 µL HRP substrat reaktif eklendi. Işıktan korunarak 37°C'de yaklaşık 15 dakika süren inkübasyonun ardından, substrat çözeltisi ile aynı sırada her bir kuyucuğa 50 µL durdurma (stop) çözeltisi eklendi. Absorbans 450 nm'de ölçüldü.

4.3. Tümör Nekrotik Faktör α (TNF-α) Tayini (ELİSA):

Çalışma için Rat TNF-α(Tumor Necrosis Factor Alpha) ELISA Kit (Elabscience) kullanıldı. Analiz için kan örnekleri alınarak kanlar toplama aşamasında oda sıcaklığında 1 saat süreyle pıhtılaşmaya bırakıldı ve serumlar elde edildi. Ardından, örnekler 4°C'de 1000g'de 15 dakika santrifüjlendi. Elde edilen süpernatanlar, test için ayrıldı. Deney prosedürüne göre, her bir standart dilüsyonundan, blank ve numune kuyucuklarına 100 µL eklendi. Plaka bir kapatıcı plastik folyo ile örtülerek 37°C'de 90 dakika inkübe edildi. Bu inkübasyonun ardından, kuyucuklardaki sıvı yıkama yapılmadan boşaltıldı. Hemen sonrasında her bir kuyucuğa 100 µL biyotinlenmiş antikor içeren çalışma çözeltisi eklendi,

üzeri kapatıldı ve 37°C'de 1 saat inkübe edildi. Sonrasında kuyucuklar 350 µL yıkama tamponu ile üç kez yıkandı. Devamında, her bir kuyucuğa 100 µL HRP konjugatı içeren çalışma çözeltisi eklendi ve 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Süreç sonunda, çözelti döküldü ve kuyucuklar yıkama tamponu ile beş kez yıkandı. Son olarak, 90 µL substrat çözeltisi eklendi, ışıktan korunarak 37°C'de yaklaşık 15 dakika inkübe edildi. Reaksiyonu durdurmak amacıyla, substrat çözeltisi ile aynı sıra takip edilerek her bir kuyucuğa 50 µL durdurma çözeltisi eklendi. Her bir kuyucuğun optik soğurma (OD) değeri, 450 nm'ye ayarlanmış mikroplaka okuyucu (VersaMax, Molecular Devices, ABD) kullanılarak ölçüldü. Absorbans-konsantrasyon standart eğrisini oluşturmak üzere 1000 ila 0 pg/mL aralığında seri dilüsyonlar hazırlandı.

4.4. RT-qPCR ile Gen Ekspresyon Analizi:

Moleküler analizler için toplanan dokular (testis, vaz deferens, penis) temizlenerek sıvı azotta donduruldu ve sonra dokular kullanılıncaya kadar -80°C'de saklandı. Dokularda eksprese edilen nNOS, eNOS ve TNF-α gibi moleküler belirteçlerin analizleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (RT-qPCR) yöntemiyle gerçekleştirildi. Dokulardan öncelikle toplam RNA izole edildi ve örnekler komplimentar DNA'ya (cDNA) çevrildi. Sonrasında Real Time PCR ile ifadeleri belirlendi.

RNA izolasyonu için izole edilen dokular, fosfat tamponlu salin çözeltisi (PBS) ile yıkanarak kan ve pıhtılardan arındırıldıktan sonra, RNA izolasyon kitinin (QIAGEN RNeasy Mini kiti, Qiagen, Hilden, Almanya) protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi. Dokulara ağırlıklarına göre liziz tamponu eklendi ve homojenize edildi. Doku ve hücre artıklarını uzaklaştırmak amacıyla 1500g 'de 5 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra elde edilen sıvı kısım, RNA saflaştırma kolonlarına yüklendi. Yıkama çözeltileriyle protokolde belirtilen aşamalar takip edilerek RNA örnekleri saflaştırıldı. RNA örneklerinin kolondan elüsyonu için elüsyon çözeltisi (Tris-HCL, 10 mM) eklenerek total RNA örnekleri toplandı. Elde edilen RNA örneklerinin saflığı (260/280 nm) ve miktarı (260 nm) Picodrop cihazıyla ölçüldü.

cDNA sentezi, temin edilen kitin (iScript cDNA Synthesis Kit, Biorad) protokollerine uygun şekilde gerçekleştirildi. 1 ug RNA örneği alınarak protokole uygun şekilde oligo-dT primerleri, RNase inhibitörü ve reverse transkriptaz enzimi kullanılarak konvansiyonel PCR

cihazında cDNA'ya dönüştürüldü. İşlem sonrasında alınan cDNA havuzları gen ekspresyon analizinde kullanıldı.

Gen ekspresyon analiz yöntemi olarak SYBR floresan boya temelli ölçüm yaklaşımı tercih edildi. Master karışımı için Sso Advanced Universal SYBR Green Supermix (BioRad) kullanıldı. Sentezlenen cDNA örnekleri, hedeflenen genlere özgü primerlerle birlikte hazırlanan master karışımı içinde Real Time PCR cihazında çoğaltıldı. ActB geni referans gen olarak kullanıldı. Cihaz okuması ve Cp değerlerinin belirlenmesinin ardından, ΔΔCp değeri referans genine göre normalize edildi ve kontrol grubuna göre hesaplandı.

Tablo 1. Primer Listesi (Gen Ekspresyon Analizi)

nNOS	5'- gatgaggcaccccaactct -3' 5'- cctttacggggaaagaaacg -3'
eNOS	5'- tgaccctcaccgatacaaca -3' 5'- cgggtgtctagatccatgc -3'
TNF-α	5'- tcgtagcaaaccaccaagca -3' 5'- cccttgaagagaacctgggagta -3'
ActB	5'- agagaagctgtgctatgttg -3' 5'- gtactcctgcttgctgatcc -3'

4.5. İmmünohistokimyasal Analiz ile Penis Dokusundaki eNOS ve nNOS Ekspresyonu

Histolojik doku takibi ve kesitlerin alınması: Sakrifiye edilen sıçanların penis dokuları çıkarıldıktan sonra %10'luk nötral tamponlanmış formalin solüsyonu içerisine alınarak 48 saat boyunca immersiyon yöntemiyle fiksasyonu sağlandı. Akan çeşme suyunda yıkama işleminin ardından dokular, kademeli olarak artan etil alkol serilerinden (sırasıyla

%70, %90, %96, %100) geçirilerek dehidrasyon işlemi gerçekleştirildi. 30 dk toluen ile şeffaflandırma işlemini takiben dokular, 58°C'lik etüvde 30 dk boyunca 1:1 oranında hazırlanmış toluen-parafin karışımında bekletildi. Ardından saf parafin içerisinde 2 saat kadar tutulan dokular, oda sıcaklığında parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom (Leica SM 2000R) ile 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Penil eNOS ve nNOS ekspresyonu immünohistokimyasal yöntemlerle analiz edildi. Boyanan tüm kesitler Leica DM 1000 model (kamera ataçmanlı) ışık mikroskobunda incelendi.

İmmünohistokimyal boyama: Parafin bloklardan polilizinli lamlar üzerine alınan 4 µm'lik kesitler 1 gece 56 °C'lik etüvde tutularak deparafinize edildi ve toluende 3'er kez 5 dakika bekletilerek parafinden iyice arındırıldı. Ardından örnekler, sırasıyla 2x5 dakika 100^{o} alkolde, 1x5 dakika 96^{o} alkolde, 1x5 dakika 90^{o} alkolde, 1x5 dakika 70^{o} alkolde ve son olarak 2x5 dakika distile su içinde bekletildi. Fosfat tamponlu serum fizyolojik (PBS)-Tx solüsyonu içerisinde 5 dakika bekletilen kesitler antigen retrieval işlemi için sitrik asit solüsyonuna alınarak mikrodalgada 10 dakika kaynatılmış ve soğuması için 20 dakika bekletildi. Hidrofobik bir havuz oluşturmak amacıyla Pap-pen ile çevrelenen kesitlere endojen peroksidaz aktivitesini bloke etmek için H_2O_2 solüsyonu damlatılarak 10 dakika bekletildi. Ardından PBS'de yıkanan kesitlere, özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloklamak üzere protein blok solüsyonu (ab236466, Abcam) 10 dakika süre ile uygulandı. Tekrar PBS ile yıkamanın ardından; doku kesitlerine ayrı ayrı anti-eNOS ve anti-nNOS primer antikorları damlatıldı ve +4°C'de 1 gece/overnight bekletildi. PBS ile yıkanan doku kesitleri goat anti-rabbit HRP konjugatı (ab236466, Abcam) ile 15 dakika inkübe edildikten sonra tekrar PBS ile yıkandı ve ardından kesitlere diaminobenzidin (DAB) kromojen solüsyonu damlatıldı. İlgili proteinlerin ekspresyonunun olduğu bölgeler DAB ile kahverengi renkte gözlemlendi. Mayer hematoksilen (ab128990, Abcam) ile zıt boyama yapılan dokular dehidrasyon işleminin ardından (artan alkol serilerinden geçirilerek) toluen içerisine alındı ve Entellan (Merck) ile lamel yardımıyla kapatıldı.

4.6. Eozin-Nigrosin ile Sperm Canlılığının Belirlenmesi

Sakrifikasyonu takiben sağ ve sol epididimler dikkatlice çıkartıldı ve sağ epididim spermlerin izolasyonu için %20 fetal bovin serumu (FBS) eklentili DMEM-F12 besiyeri içeren temiz bir cam petri kabı içinde bistüri yardımıyla küçük parçalara ayrıldı. 37 °C'de 30–45 dk inkübasyonun ardından epididimisten medyum içerisine geçen sperm örnekleri,

10.000 g'de 5 dakika santrifüj edildi. Süpernatant kısmından bir damla (pastör pipeti ile) lam üzerine yayılacak ve Eozin Y-nigrosin ile boyanarak sperm morfolojisi ve canlılığı değerlendirildi. Sperm Canlılığı ve Morfolojisi Sperm örneği içeren hücre süspansiyonuna (20 µL), %0,05 Eozin Y-nigrosin (1:2) eklendi; lam üzerinde yayma işleminin ardından oda sıcaklığında kurumaya bırakılan örnekler daha sonra ışık mikroskobunda 200X, 400X'lik objektifle değerlendirildi.

4.7. Henatoksilen-Eozin ile Testis ve Vas Deferens Morfolojisi

Tüm gruplara ait sıçanlarda sakrifikasyonu takiben alınan testiküler ve vas deferens doku örnekleri % 10' luk nötral tamponlanmış formalin çözeltisiyle fikse edilmiş, ardından çeşme suyunda yıkanarak fiksatif dokudan uzaklaştırılmıştır. Örnekler dehidrasyon aşaması için dereceli olarak artan alkol serilerinden geçirildikten sonra toluen içerisine alınarak şeffaflandırılmış ardından 1:1 oranında hazırlanmış toluen:parafin karışımına koyulmuştur. Bu işlemin ardından etüvde saf parafin içerisinde impregnasyon için bekletilen dokular parafin bloklara gömülmüştür. Mikrotom aracılığıyla 5 µm kalınlığında kesitler alınmış ve Hematoksilen & Eozin (H&E) ile boyanarak testis ve vas deferens histopatolojisi değerlendirilmiştir.

4.8. Araştırma Sonuçlarının İstatiksel Analizi

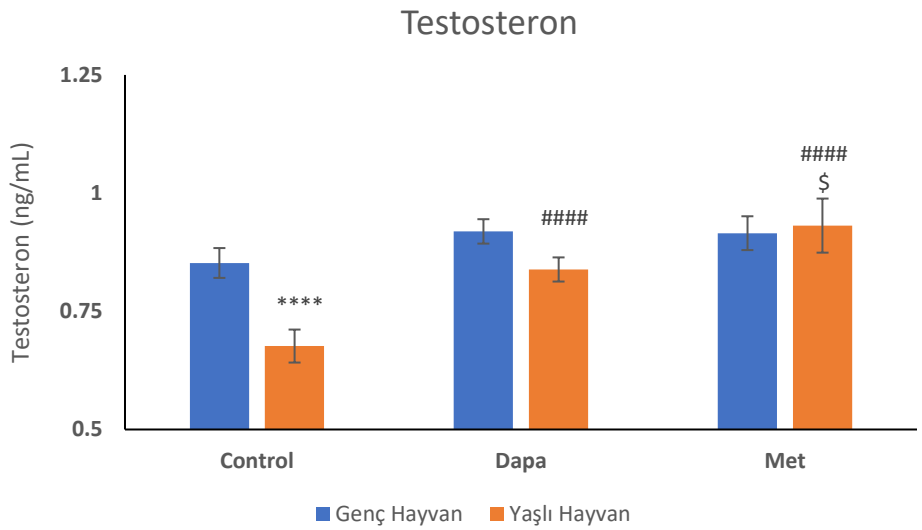
Veriler, ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. Verilerin değerlendirilmesi ve istatiksel analizi, grafiklerin çiziminde Microsoft Office Excel programı kullanılmıştır. Grupların karşılaştırılması tek yönlü varyans analizi post hoc-Tukey testi ile yapılmıştır. $p<0,05$ olduğunda istatiksel anlamlı kabul edilmiştir.

5. BULGULAR

Çalışmada Wistar albino türü 4 aylık ve 12 aylık erkek sıçanlar olmak üzere iki farklı fizyolojik grup (genç ve yaşlı hayvanlar) karşılaştırıldı. Çalışma için Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 25.10.2023 tarih ve KOÜ HADYEK 2023/27 numaralı onayı alındı.

5.1. Testosteron Seviyesine Dapagliflozin ve Metforminin Etkileri

Elde edilen ve toplanan verilere göre, yaşlı kontrol grubunun testosteron değerleri genç kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.0001$). Kontrol grupları kendi arasında değerlendirildiğinde hayvanlar yaşlandıkça testosteron seviyelerinde beklendiği gibi düşme gözlemlendi. Hem dapagliflozinin hem de metformin verilmesinden sonra yaşlı hayvanlarda testosteron düzeylerinin anlamlı olarak arttığı saptanmıştır ($p<0.0001$). Genç hayvanlarda ortalama testosteron düzeyleri; kontrol grubu için 0.85225 ±0.031532 ng/mL, dapagliflozin grubu için 0.919 ±0.02582 ng/mL ve metformin grubu için 0.91525 ±0.035781 ng/mL olarak bulundu. Yaşlı hayvanlar için bu değerler; kontrol grubu için 0.6765 ±0.034895 ng/mL, dapagliflozin grubu için 0.8385 ±0.025528 ng/mL ve metformin grubu için 0.93125 ±0.057174 ng/mL olarak tespit edildi (Şekil 5.1).



Şekil 5.1. Dapagliflozin ve Metforminin Genç (4 aylık) ve Yaşlı (12 aylık) sıçanlardaki testosteron seviyeleri üzerindeki etkisi.
****p<0,0001 genç kontrol grubuna göre, ####p<0,0001 yaşlı kontrol grubuna göre, $ p<0,05 yaşlı dapagliflozin grubuna göre

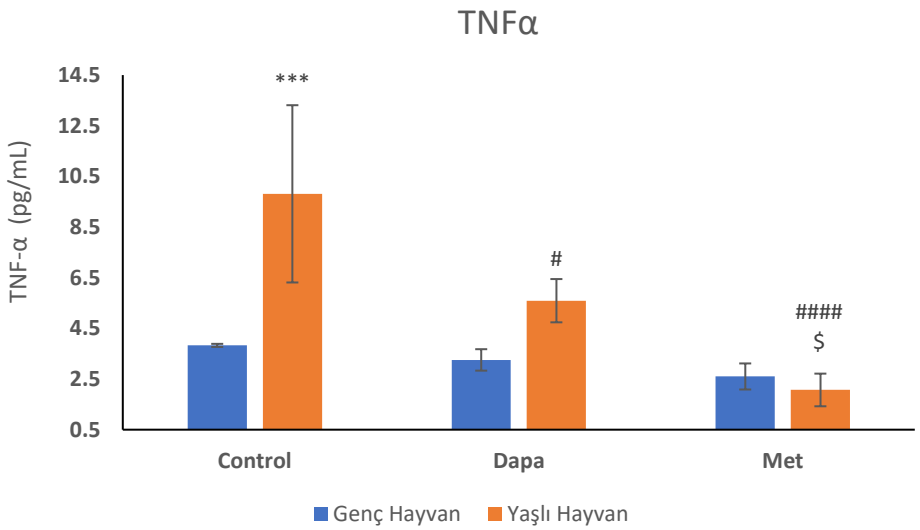
Genç hayvanlar için testosteron düzeyleri değerlendirildiğinde, Dapagliflozin ve metformin ile tedavi edilen grubun, kontrol grubuna kıyasla daha yüksek ortalama testosteron düzeyleri ile ilişkili olduğu görülmektedir, ancak bu artış istatiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Benzer şekilde, dapagliflozinin yaşlı hayvanlarda da kontrol grubuna kıyasla daha yüksek ortalama testosteron düzeyleri ile ilişkili olduğu görülmektedir ($p<0,0001$). Ancak, yaşlı hayvanlarda metformin grubunun dapagliflozin grubundan daha yüksek bir ortalama testosteron düzeyi gösterdiği belirtilmiştir ($p<0,05$). Bu durum, dapagliflozinin yaşlı hayvanlarda testosteronu artırmasına rağmen, bu spesifik veri setinde metforminin bu yaş grubunda daha belirgin bir etkiye sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Genel olarak, dapagliflozin hem genç hem de yaşlı hayvanlarda kontrol grubuna kıyasla testosteron düzeylerini artırmaktadır. Genç hayvanlarda ortalama testosteron düzeyleri üzerindeki etkisi metformine benzerdir. Yaşlı hayvanlarda ise kontrol grubuna kıyasla testosteronu artırmasına rağmen, metformin bu özel veri setinde ortalama testosteron düzeylerini artırmada daha güçlü bir etkiye sahip gibi görülmektedir. Elde edilen verilere göre, dapagliflozinin testosteron düzeyleri üzerindeki etkisi hem genç hem de yaşlı hayvanlarda kontrol gruplarına kıyasla istatiksel olarak belirgin bir artış yönündedir ($p<0.05$).

5.2. Serum TNF-α Seviyesine Dapagliflozin ve Metforminin Etkileri

Dapagliflozinin TNF-α düzeyleri üzerindeki etkisi hem genç hem de yaşlı hayvanlarda karşılaştırıldığında, genç hayvanlarda kontrol grubunun ortalama TNF-α düzeyi 3,8275 ±0,060622 pg/mL, dapagliflozin grubunun 3,254 ±0,423631 pg/mL ve metformin grubunun 2,60025 ±0,51437 pg/mL olarak belirlendi (Şekil 5.2). Genç sıçanlara hem dapagliflozin hem de metformin verilmesinden sonra genç kontrol grubuna göre istatiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.



Şekil 5.2. Serum örneklerinde TNF- α düzeyleri.
***p<0,001 genç kontrol grubuna göre, # p<0,05 ve #### p<0,0001 yaşlı kontrol grubuna göre, $ p<0,05 yaşlı dapagliflozin grubuna göre

Yaşlı hayvanlarda TNF-α düzeyleri kontrol grubunda 9,81125 ±3,499532 pg/mL, dapagliflozin grubunda 5,5925 ±0,854039 pg/mL ve metformin grubunda 2,0685 ±0,644618 pg/mL olarak hesaplandı (Şekil 5.2). Yaşlı sıçanlarda dapagliflozin grubunun kontrol yaşlı grubuna kıyasla TNF-α düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma sağladığını göstermektedir ($p < 0.05$). Metformin ise yaşlı hayvanlarda kontrol grubuna göre daha düşük TNF-α düzeylerini göstererek, dapagliflozinden daha üstün, oldukça güçlü bir anti-enflamatuvar etki sergilemiştir ($p<0.05$).

Kontrol grubunda, genç hayvanlardan yaşlı hayvanlara geçişte TNF-α düzeylerinde belirgin bir artış gözlenmesi, yaşlanmayla birlikte enflamatuvar belirteçlerdeki doğal yükselişi doğrulamaktadır. Dapagliflozin hem genç hem de yaşlı hayvanlarda kendi kontrol gruplarına kıyasla TNF-α düzeylerini tutarlı bir şekilde düşürmüştür. Bu azalma, başlangıç TNF-α düzeylerinin çok daha yüksek olduğu yaşlı hayvanlarda özellikle dikkat çekicidir. Metformin hem genç hem de yaşlı hayvanlarda dapagliflozinden daha güçlü bir TNF-α baskılayıcı etkiye sahip görünmekte ve her iki yaş grubunda da en düşük TNF-α değerlerine yol açmaktadır.

5.3. Penis Dokusundaki eNOS, nNOS ve TNF-α Gen Ekspresyon Seviyelerine Dapagliflozin ve Metforminin Etkileri

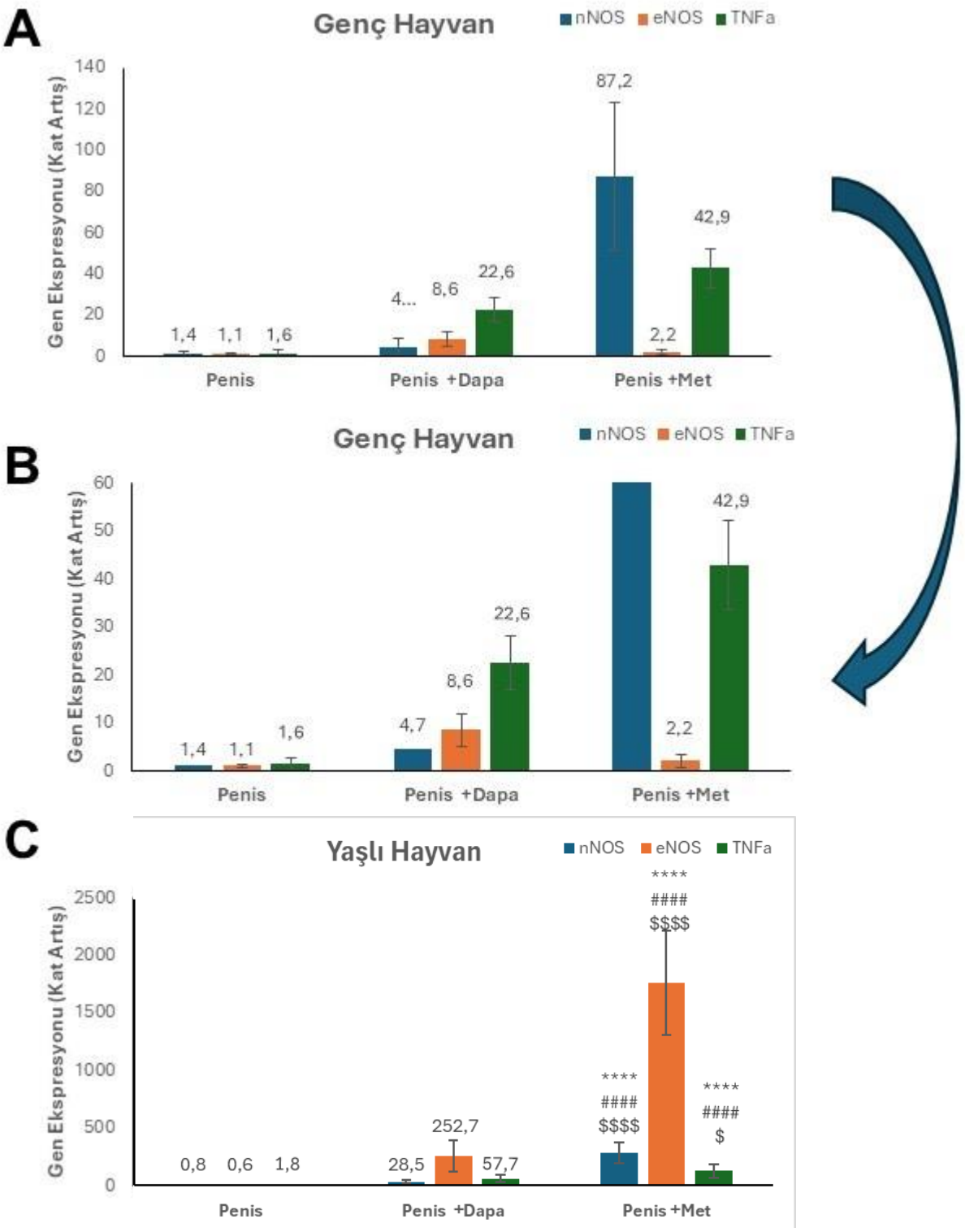
Penis dokusunda kontrol, dapagliflozin ve metformin ile tedavi edilen genç ve yaşlı hayvan gruplarındaki her bir genin (eNOS, nNOS ve TNF-α) ortalama ekspresyon düzeyleri değerlendirildi. Gen ekspresyonuna ait tüm veriler, genç hayvanların kontrol dokusuna göre kat değişim (fold-change) olarak normalize edildi (Şekil 5.3). Böylelikle yaşlı hayvanların dokularındaki değişimler de genç olanlarla karşılaştırılabilmektedir.

Genç sıçanlarda dapagliflozin, metformin uygulanması nNOS, eNOS ve TNF-α gen ekspresyonlarını artırmıştır. Fakat bu artışlar, istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Yaşlı hayvanlarda ise dapagliflozin uygulaması, nNOS, eNOS ve TNF-α gen ekspresyonlarınında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Metformin uygulanan yaşlı grupta ise eNOS ve nNOS ekspresyonu belirgin şekilde artmış, bu artış genç kontrol ($p<0,0001$), yaşlı kontrol ($p<0,0001$) ve yaşlı dapagliflozin grubuna ($p<0,0001$) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. TNF-α ekspresyonu ise yaşlı metformin grubunda genç kontrol ($p<0,0001$), yaşlı kontrol ($p<0,0001$) ve yaşlı dapagliflozin grubuna ($p<0,05$) göre anlamlı şekilde azaldığı saptanmıştır.

Bu sonuçlar, genç hayvanlarda uygulanan tedavilerin gen ekspresyon düzeylerinde artışa yol açsa da istatistiksel anlamlılık taşımadığını; buna karşılık yaşlı hayvanlarda, özellikle metformin uygulamasının nNOS, eNOS ve TNF-α üzerinden olumlu bir etki oluşturduğunu ortaya koymaktadır.

.



Şekil 5.3. Genç ve yaşlı hayvanlardan alınan penis dokusunda nNOS, eNOS ve TNFα gen ekspresyonlarının karşılaştırılması. Genç hayvanlardan alınan dokular incelendiğinde nNOS ekspresyonu çok yüksek olduğundan Panel A gösterilen veriler büyültülerek Panel B'de de gösterilmiştir.

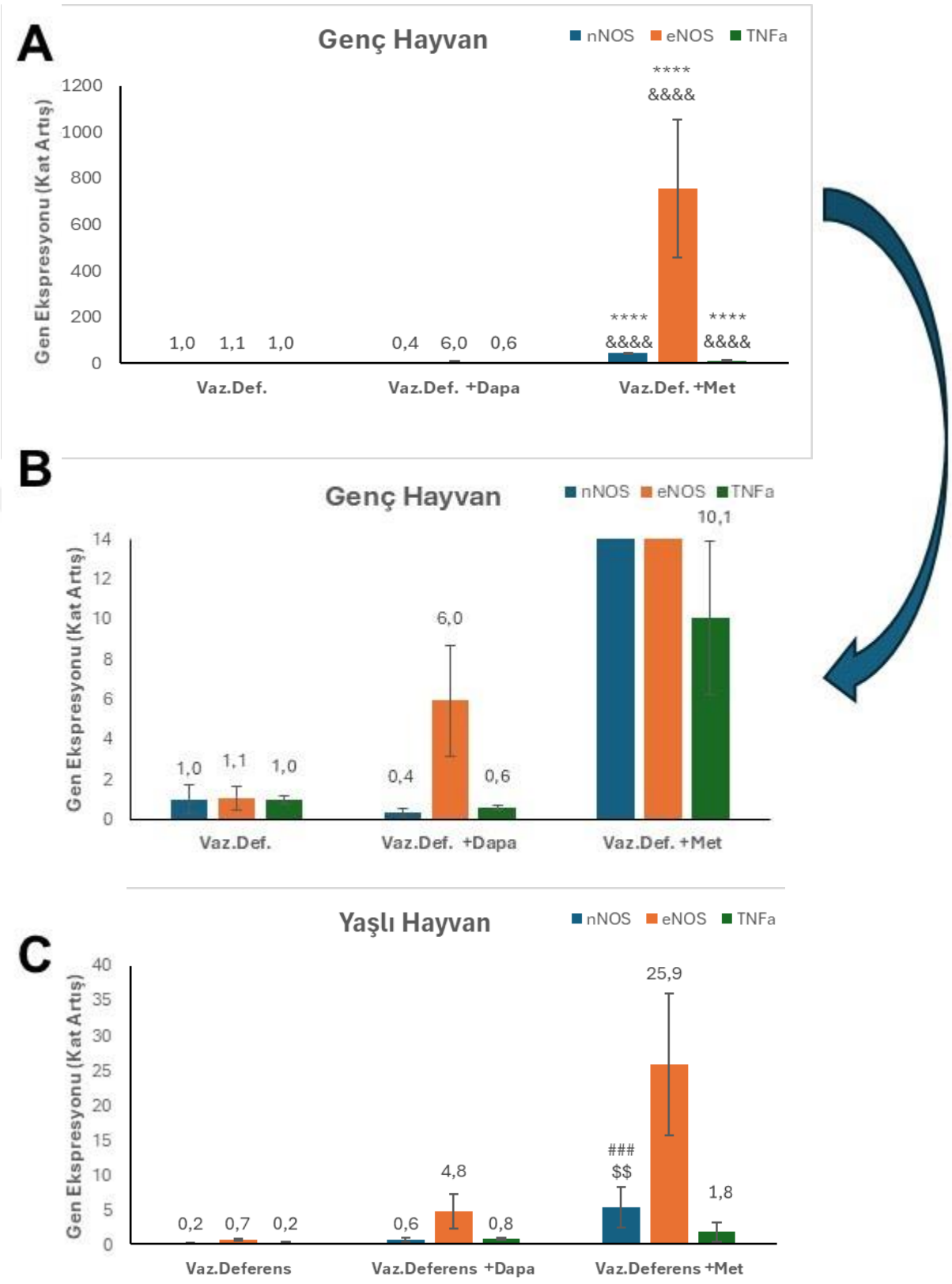
****p<0,0001 genç kontrol grubuna göre, #### p<0,001 yaşlı kontrol grubuna göre, $ p<0,05 ve $$$$ p<0,0001 yaşlı dapagliflozin grubuna göre

5.4. Vas Deferens Dokusundaki eNOS, nNOS ve TNF-α Gen Ekspresyon Seviyelerine Dapagliflozin ve Metforminin Etkileri

Vas deferens dokusunda kontrol, dapagliflozin ve metformin ile tedavi edilen genç ve yaşlı hayvan gruplarındaki her bir genin (eNOS, nNOS ve TNF-α) ortalama ekspresyon düzeyleri değerlendirildi. Gen ekspresyonuna ait tüm veriler, genç hayvanların kontrol dokusuna göre kat değişim (fold-change) olarak normalize edildi (Şekil 5.4). Böylelikle yaşlı hayvanların dokularındaki değişimler de genç olanlarla karşılaştırılabilmektedir. Kontrol grupları kendi arasında değerlendirildiğinde eNOS, nNOS ve TNF-α gen ekspresyonları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Yaşlı sıçanlarda, dapagliflozin uygulanan grupta eNOS, nNOS ve TNF-α gen ekspresyon düzeylerinde kontrol grubuna göre hafif artışlar görülse de, bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu durum, dapagliflozinin yaşlı hayvanlarda vas deferens düzeyinde gen ekspresyonları üzerinde sınırlı bir etkisi olduğunu göstermektedir. Metformin uygulanan yaşlı sıçan grubunda ise nNOS ekspresyonu, hem yaşlı kontrol ($p<0,001$) hem de yaşlı dapagliflozin grubuna ($p<0,01$) kıyasla anlamlı düzeyde artış göstermiştir; ancak eNOS ekspresyonundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. TNF-α ekspresyonu da kontrol ve dapagliflozin grubuna kıyasla artış göstermiştir, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Genç hayvan grubunda, kontrol ve dapagliflozin uygulanan sıçanlarda nNOS, eNOS ve TNF-α gen ekspresyonları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Metformin uygulanan sıçanlarda ise kontrol ve dapagliflozin uygulanan sıçanlara göre eNOS, nNOS ve TNF-α gen ekspresyonları anlamlı olarak artmıştır ($p<0,0001$).



Şekil 5.4. Genç ve yaşlı hayvanlardan alınan vas deferens dokusunda nNOS, eNOS ve TNFα gen ekspresyonlarının karşılaştırılması. Genç hayvanlardan alınan dokular incelendiğinde

nNOS ve eNOS ekspresyonları çok yüksek olduğundan Panel A gösterilen veriler büyültülerek Panel B'de de gösterilmiştir.
****p<0,0001 genç kontrol grubuna göre, ### p<0,001 yaşlı kontrol grubuna göre, $$ p<0,01 yaşlı dapagliflozin grubuna göre, &&&& p<0,0001 genç dapagliflozin grubuna göre

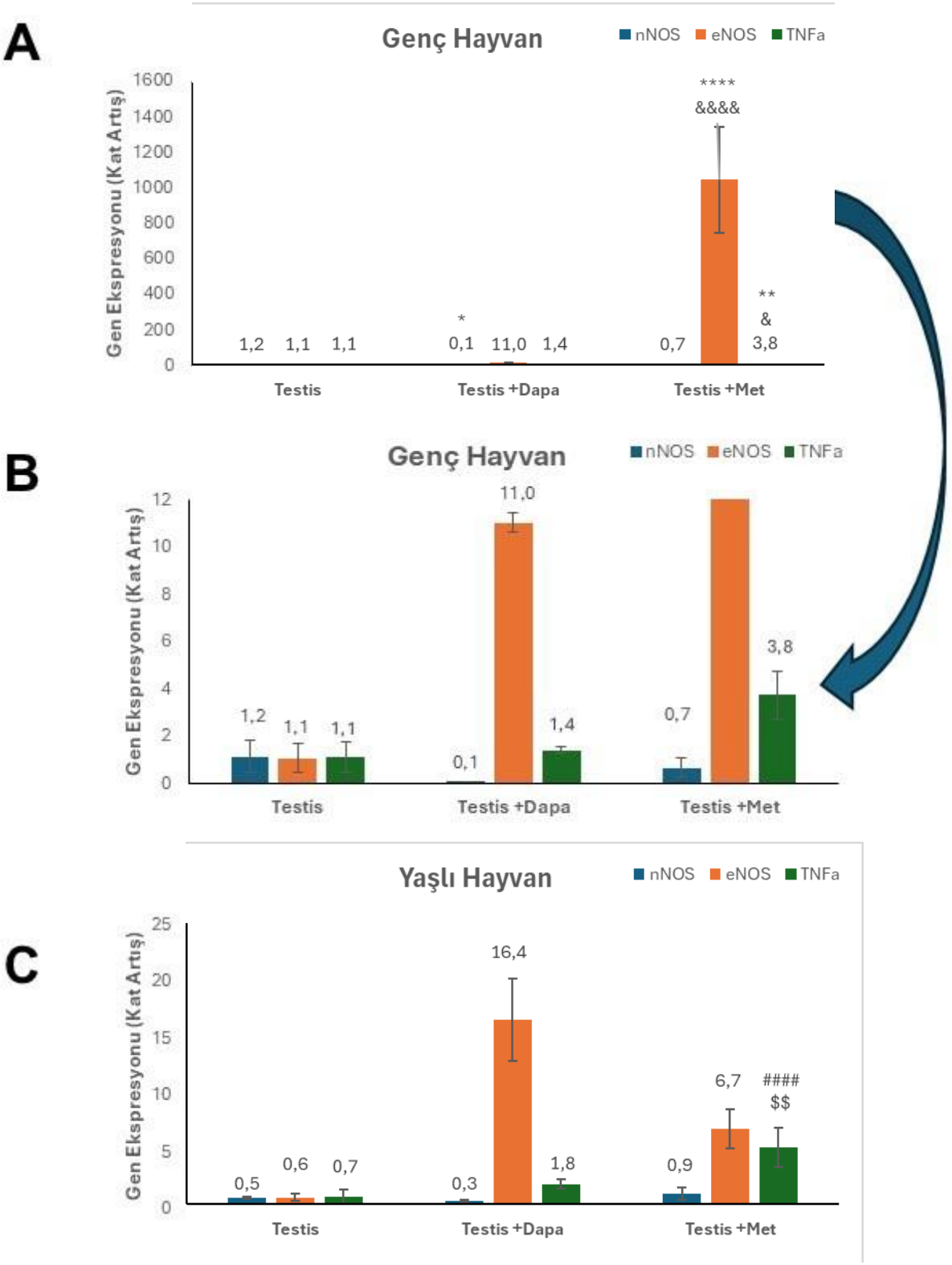
5.5. Testis Dokusundaki eNOS, nNOS ve TNF-α Gen Ekspresyon Seviyelerine Dapagliflozin ve Metforminin Etkileri

Testis dokusunda kontrol, dapagliflozin ve metformin ile tedavi edilen genç ve yaşlı hayvan gruplarındaki her bir genin (eNOS, nNOS ve TNF-α) ortalama ekspresyon düzeyleri değerlendirildi. Gen ekspresyonuna ait tüm veriler, genç hayvanların kontrol dokusuna göre kat değişim (fold-change) olarak normalize edildi (Şekil 5.5). Böylelikle yaşlı hayvanların dokularındaki değişimler de genç olanlarla karşılaştırılabilmektedir.

Kontrol grupları kendi arasında değerlendirildiğinde yaşlı sıçanlarda genç sıçanlara göre eNOS, nNOS ve TNF-α gen ekspresyonlarında azalma olmasına rağmen anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Yaşlı sıçanlarda, dapagliflozin grubunda kontrol grubuna göre nNOS gen ekspresyonunda azalma, eNOS ve TNF-α gen ekspresyonlarında artış görülmektedir; metformin grubuna göre ise eNOS gen ekspresyonunda artma, nNOS gen ekspresyonlarında azalma görülmektedir, ancak bu farklılıklar istatiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. TNF-α gen ekspresyonunda yaşlı dapagliflozin grubunda yaşlı metformin grubuna göre anlamlı bir azalma saptanmıştır (p<0,01). Yaşlı metformin ve kontrol grupları karşılaştırıldığında ise eNOS, nNOS gen ekspresyonları arasında anlamlı bir fark yokken TNF-α gen ekspresyonunun yaşlı metformin grubunda anlamlı olarak arttığı bulunmuştur (p<0,0001).

Genç sıçanlarda, metformin grubunda kontrol ve dapagliflozin grubuna göre nNOS düzeylerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır. Fakat eNOS ve TNF-α gen ekspresyonunu anlamlı şekilde artırmıştır (p<0,0001 ve p<0,01). Dapagliflozin uygulanan sıçanlarda ise kontrol grubuna göre nNOS düzeyinde anlamlı bir azalma meydana gelmiştir (p<0,05). Bununla birlikte, bu grupta gözlenen eNOS ve TNF-α artışları istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

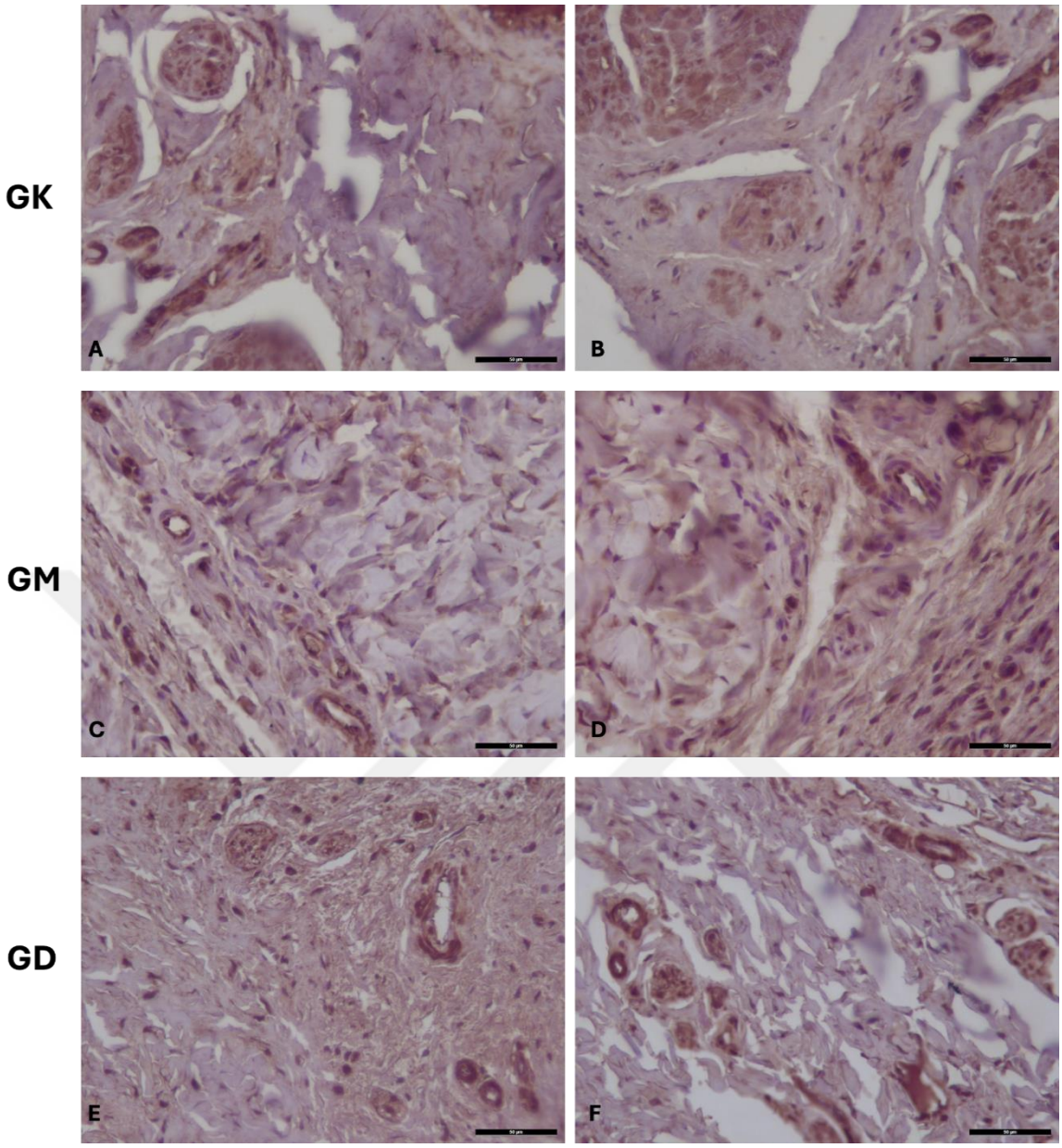


Şekil 5.5. Genç ve yaşlı hayvanlardan alınan testis dokusunda nNOS, eNOS ve TNFα gen ekspresyonlarının karşılaştırılması. Genç hayvanlardan alınan dokular incelendiğinde e

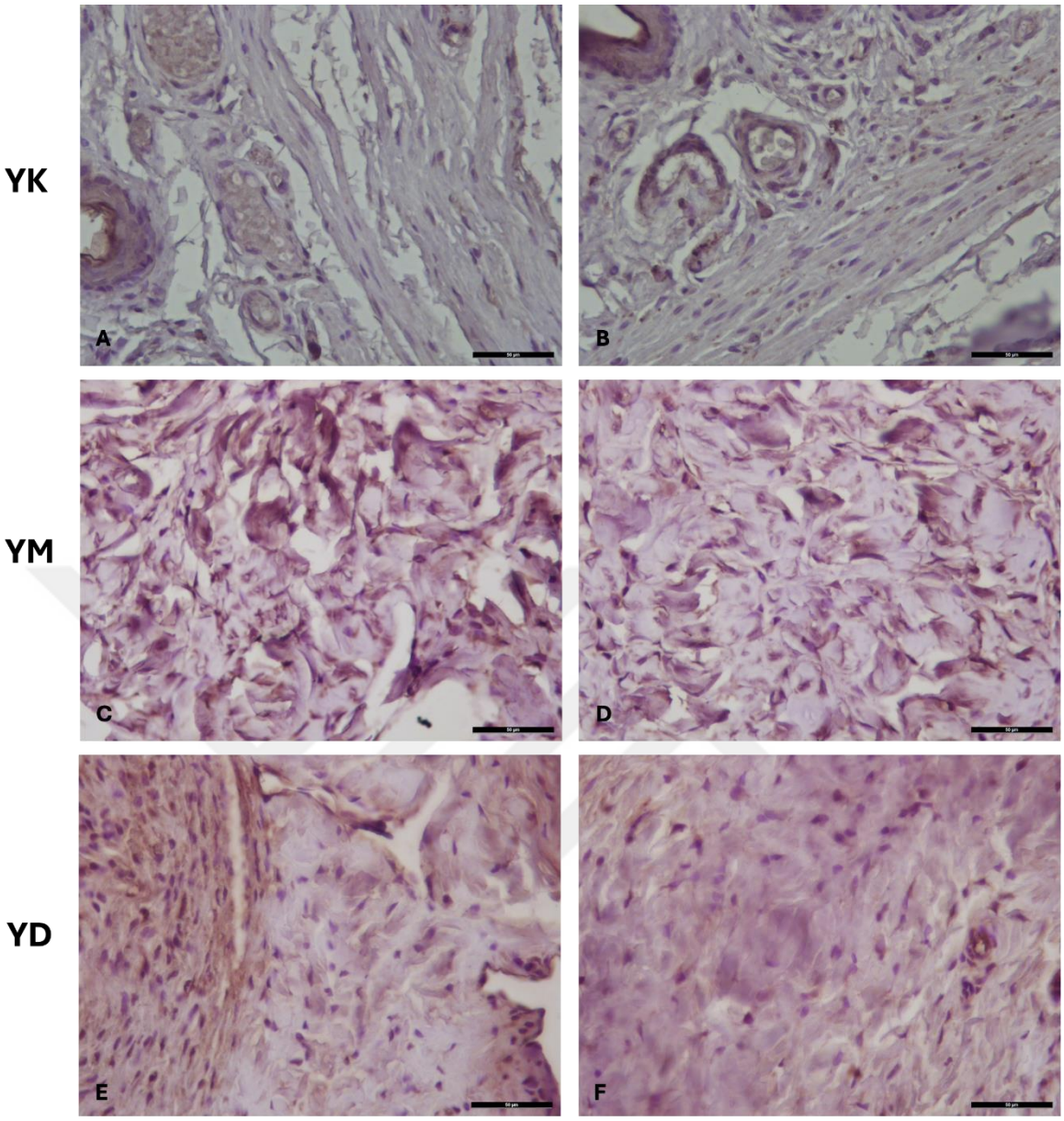
eNOS ekspresyonu çok yüksek olduğundan Panel A gösterilen veriler büyültülerek Panel B'de de gösterilmiştir.
* p <0,05, **p<0,01 ve ****p<0,0001 genç kontrol grubuna göre, #### p<0,0001 yaşlı kontrol grubuna göre, $$ p<0,01 yaşlı dapagliflozin grubuna göre, & p< 0,05 ve &&&& p<0,0001 genç dapagliflozin grubuna göre

5.6. İmmünohistokimyasal Analiz ile Penis Dokusundaki eNOS ve nNOS Ekspresyonu

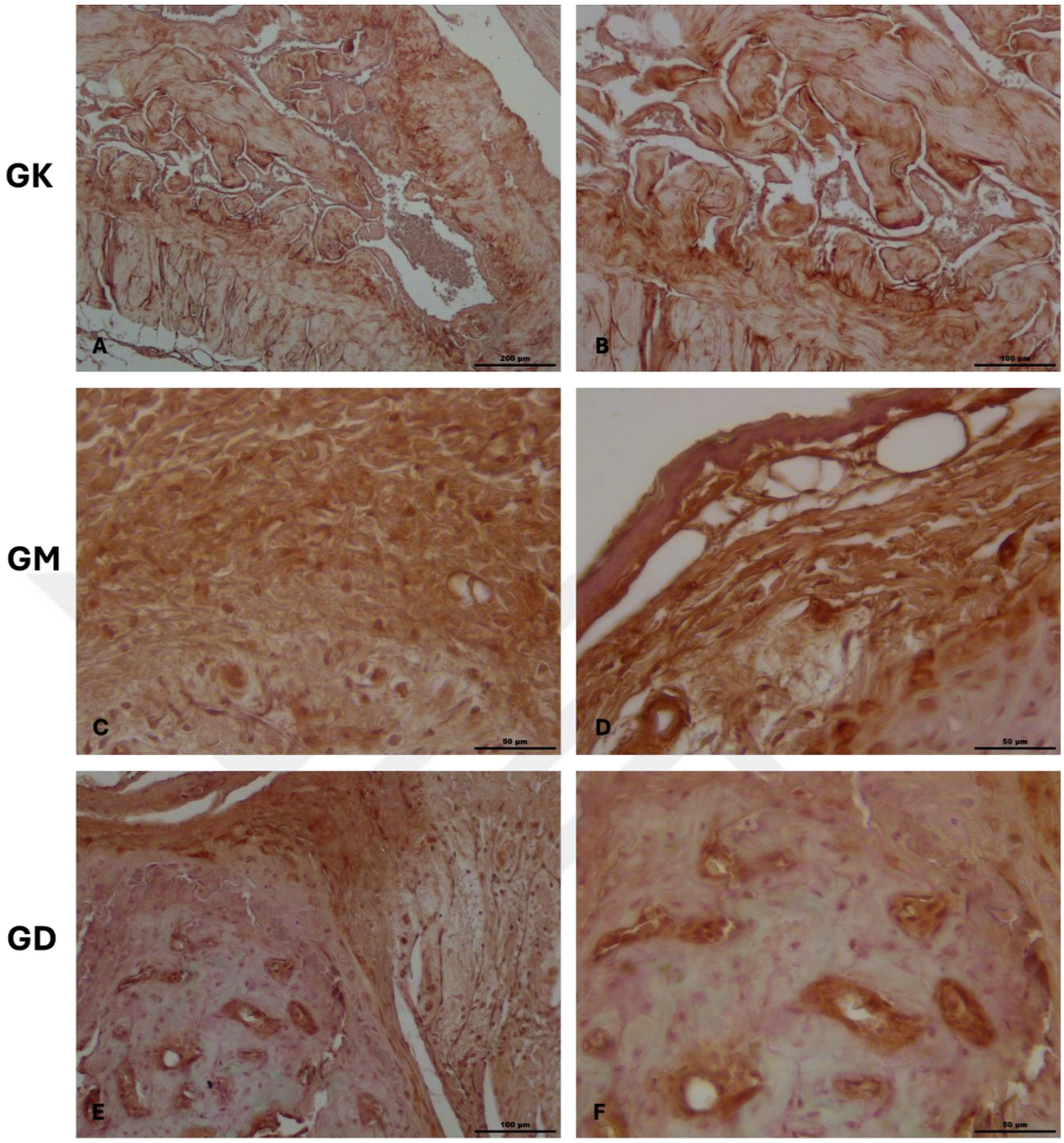
Tüm gruplara ait doku kesitleri incelendiğinde; Genç Kontrol, Genç Metformin ve Genç Dapagliflozin uygulanan gruplarda eNOS ve nNOS ekspresyonunun Yaşlı Kontrol grubuna göre anlamlı yüksek olduğu görüldü (Şekil 5.6) (Şekil5.7) (Şekil 5.8) (Şekil 5.9). Yaşlı sıçanlarda Metformin ve Dapagliflozin uygulaması eNOS ve nNOS ekspresyonunu arttırdı (Şekil 5.7) (Şekil 5.9).



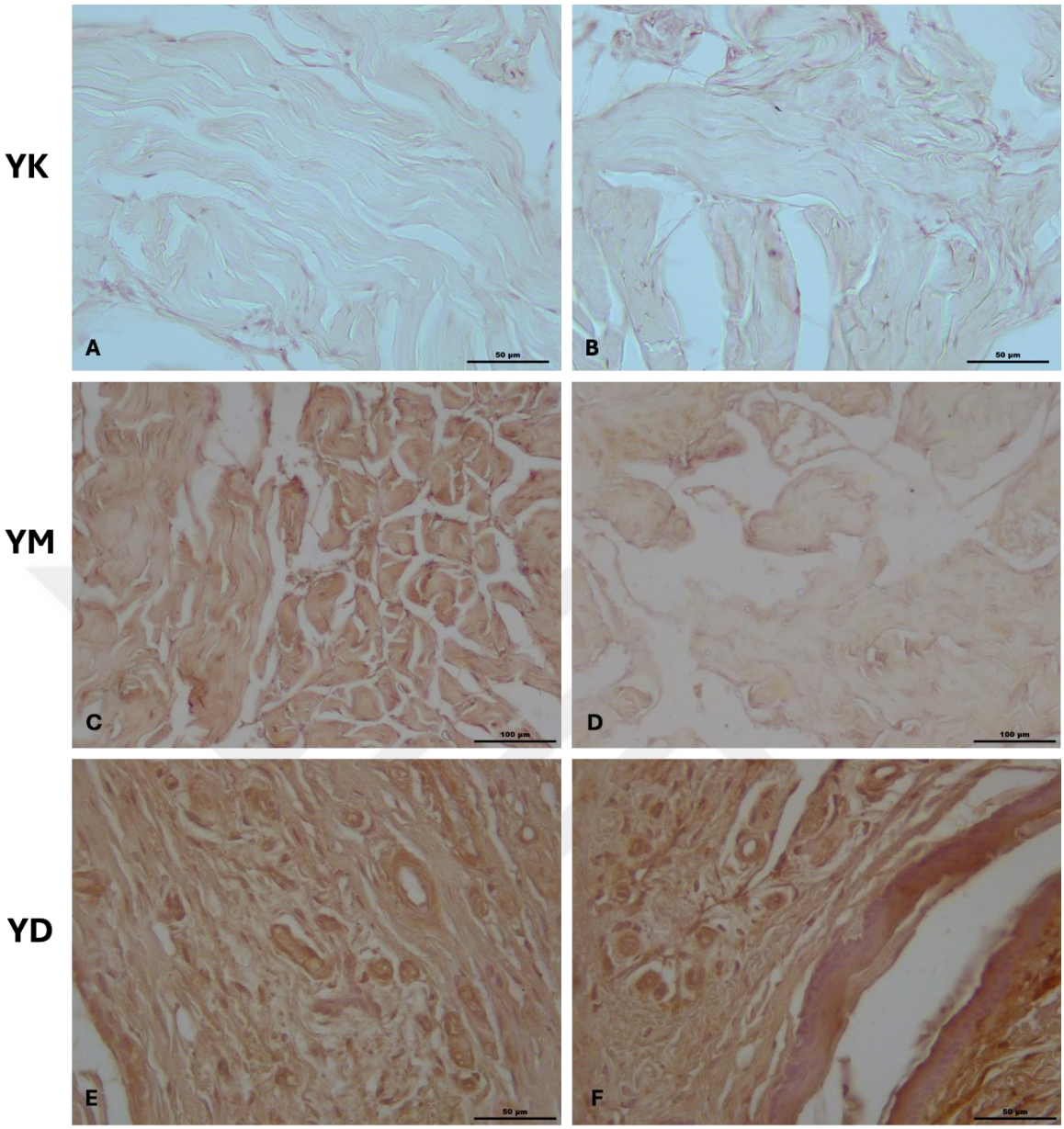
Şekil 5.6. Genç Kontrol (A-B), Genç Metformin (C-D) ve Genç Dapagliflozin (E-F) gruplarına ait eNOS ekspresyonunu gösteren fotomikrograf. 400X magnifikasyon.



Şekil 5.7. Yaşlı Kontrol (A-B), Yaşlı Metformin (C-D) ve Yaşlı Dapagliflozin (E-F) gruplarına ait eNOS ekspresyonunu gösteren fotomikrograf. 400X magnifikasyon.



Şekil 5.8. Genç Kontrol (A-B), Genç Metformin (C-D) ve Genç Dapagliflozin (E-F) gruplarına ait nNOS ekspresyonunu gösteren fotomikrograf. 400X magnifikasyon.

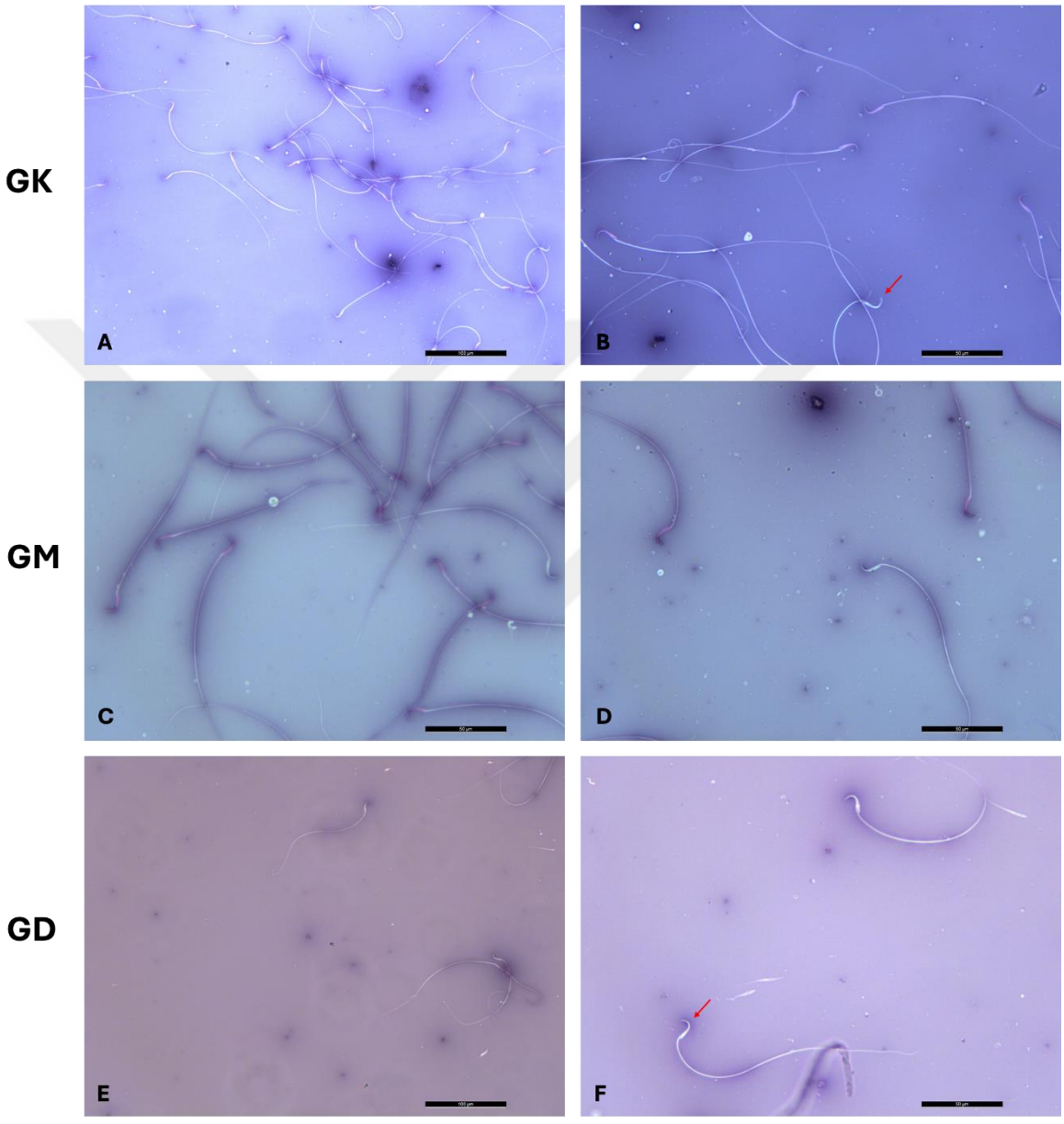


Şekil 5.9. Yaşlı Kontrol (A-B), Yaşlı Metformin (C-D) ve Yaşlı Dapagliflozin (E-F) gruplarına ait nNOS ekspresyonunu gösteren fotomikrograf. A, B, E, F: 400X; C-D: 200X magnifikasyon.

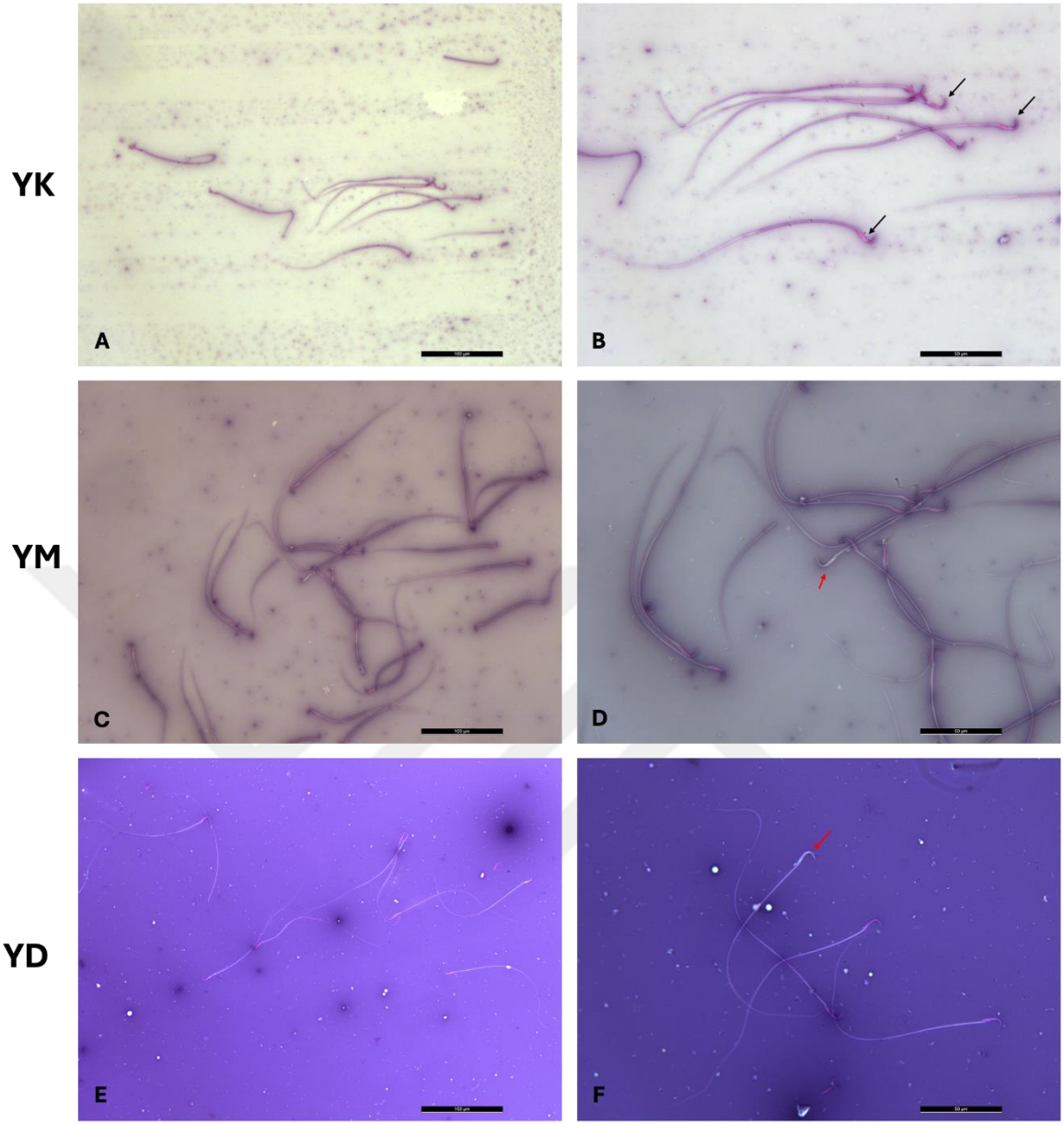
5.7. Eozin-Nigrosin ile Sperm Canlılığının Belirlenmesi

Tüm gruplara ait sıçanlardan alınan semen örnekleri Eozin-Nigrosin ile boyanarak lama yayılmış ve hücre canlılığı değerlendirildi. Eozin ile pembe boyanan spermler membran bütünlüğünün bozulduğu ölü hücreleri ifade etmektedir. Canlı hücreler boyayı hücre içerisine almadığından beyaz renkte/renksiz görülmektedir. Genç kontrol, genç metformin ve genç dapagliflozin gruplarında sperm canlılığının yüksek olduğu tespit edildi

(Şekil 5.10). Ancak yaşlı kontrol grubunda hem sperm sayısının azaldığı hem de varolan hücrelerin çoğunun ölü olduğu/membran bütünlüğünün bozulduğu belirlendi. Yaşlı metformin ve yaşlı dapagliflozin grubunda, yaşlı kontrol grubuna göre canlı hücre sayısında artış olduğu tespit edildi (Şekil 5.11).



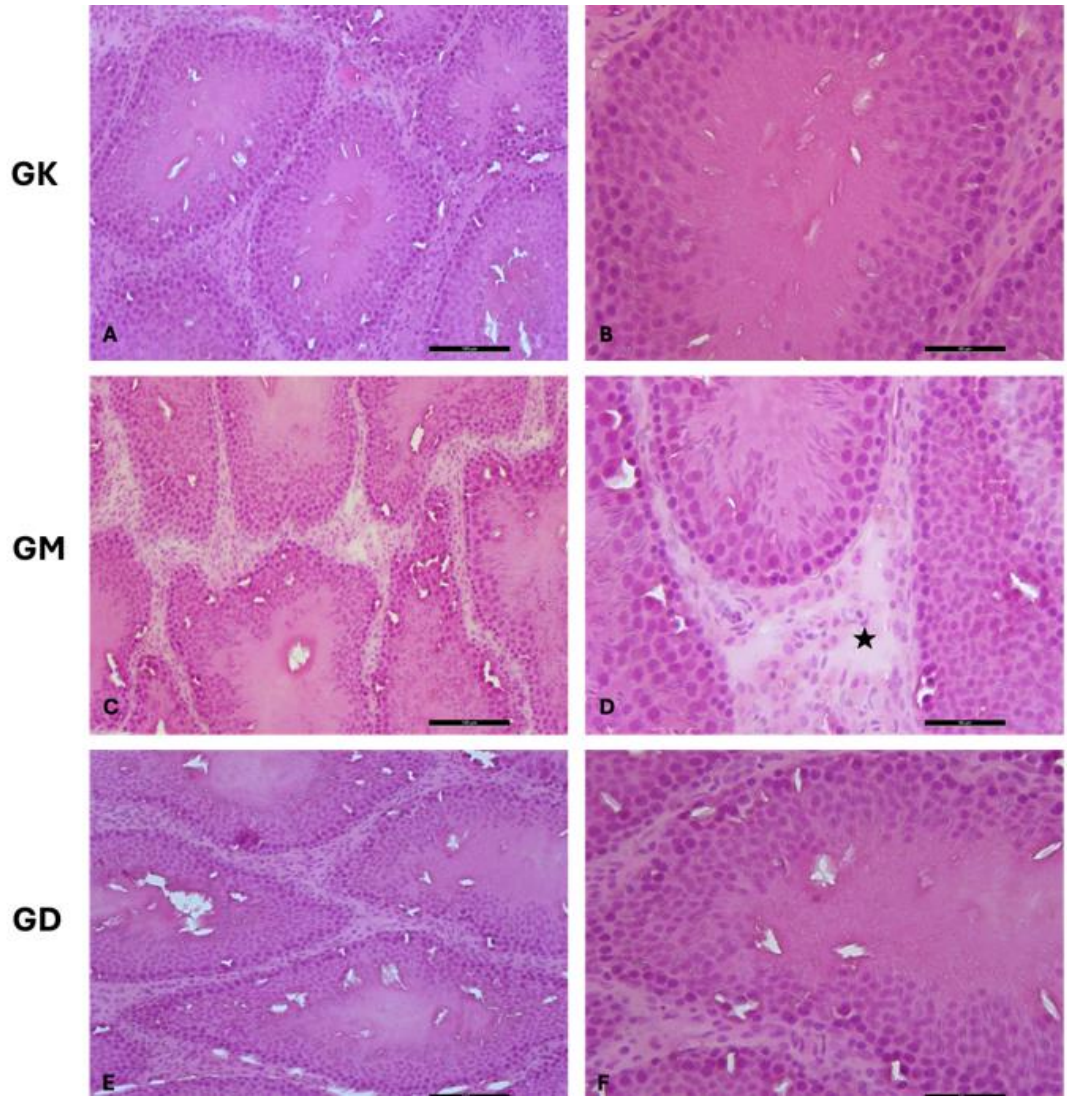
Şekil 5.10. Genç Kontrol (A-B), Genç Metformin (C-D) ve Genç Dapagliflozin (E-F) gruplarına ait sperm canlılığını gösteren fotomikrograf. A, C, E: 200X; B, D, F: 400X magnifikasyon. Eozin-nigrozin boyaması. Kırmızı ok: canlı hücre



Şekil 5.11. Yaşlı Kontrol (A-B), Yaşlı Metformin (C-D) ve Yaşlı Dapagliflozin (E-F) gruplarına ait sperm canlılığını gösteren fotomikrograf. A, C, E: 200X; B, D, F: 400X magnifikasyon. Eozin-nigrozin boyaması. Kırmızı ok: canlı hücre; Siyah ok: Ölü hücre.

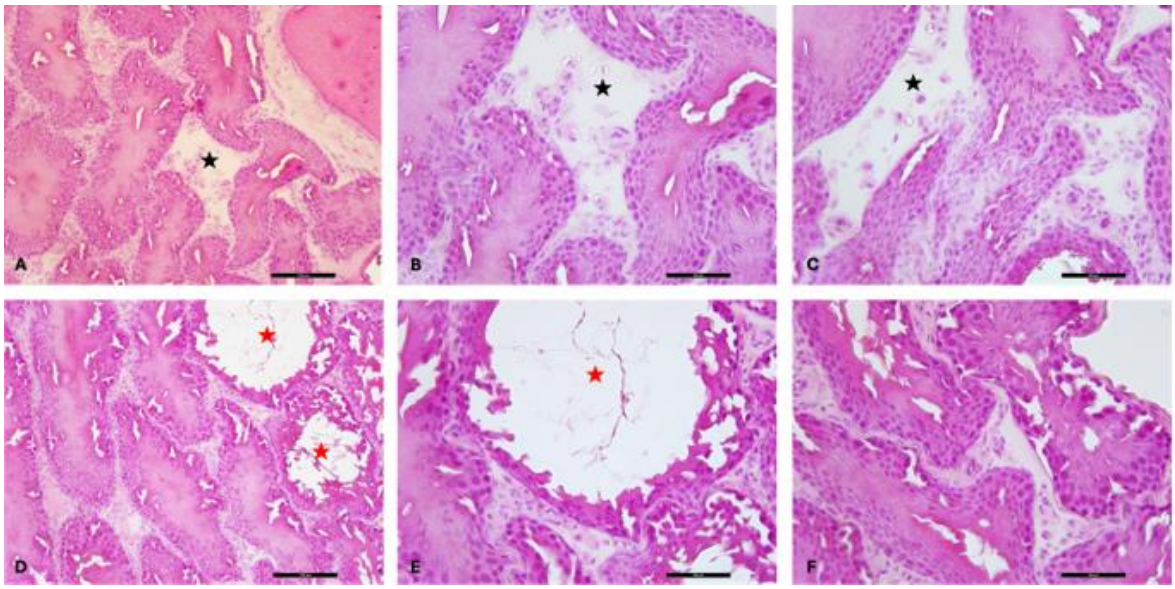
5.8. Hematoksilen-Eozin ile Testis ve Vas Deferens Morfolojisi

Testis Morfolojisi: Genç kontrol, genç metformin ve genç dapagliflozin gruplarına ait testis doku kesitleri incelendiğinde; seminifer tübüllerin sağlıklı morfoloji gösterdiği, tübül lümeninde spermiumların varlığı ile spermatogenezin devam ettiği tespit edilmiştir. Leydig hücreleri ve kan damarlarının yer aldığı İnterstisyel alan normal görünümde olmakla birlikte genç metformin grubunda interstisyel alanda artış gözlemlenmiştir.

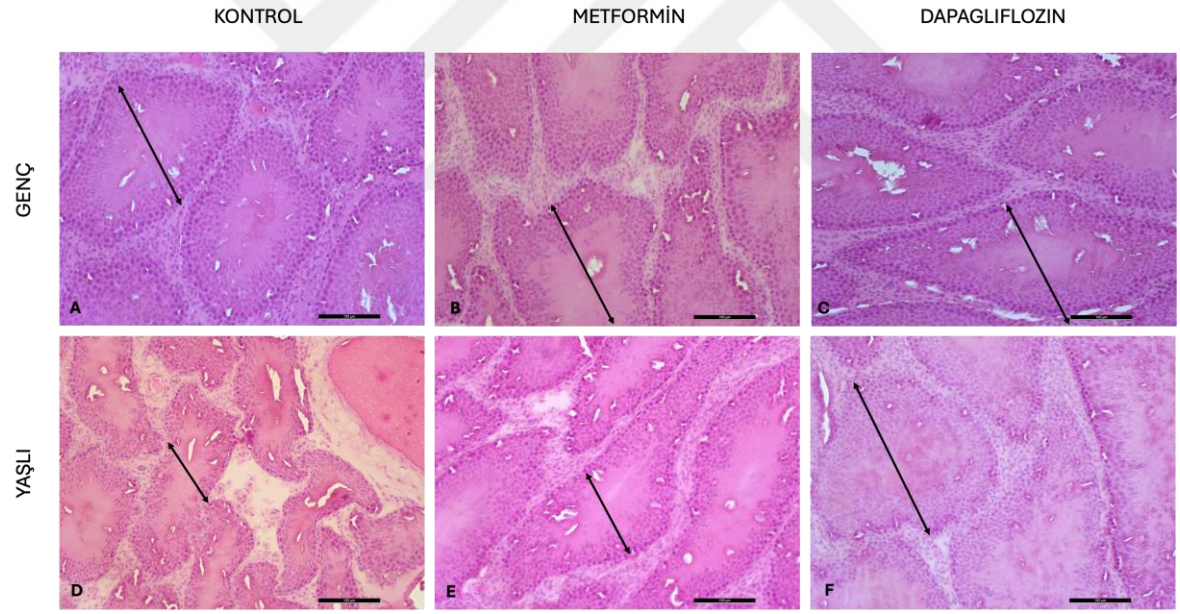


Şekil 5.12. Genç kontrol (GK), Genç metformin (GM) ve Genç dapagliflozin (GD) gruplarına ait testiküler doku kesitleri. H&E. A,C,E: 200X; B,D,F:400X magnifikasyon. Siyah yıldız: interstisyel alanda artış.

Yaşlı kontrol grubuna ait doku kesitleri incelendiğinde seminifer tübül çapında azalma, atrofik tübüller, interstisyel alanda artışla birlikte dev hücrelerin varlığı dikkati çekmektedir.

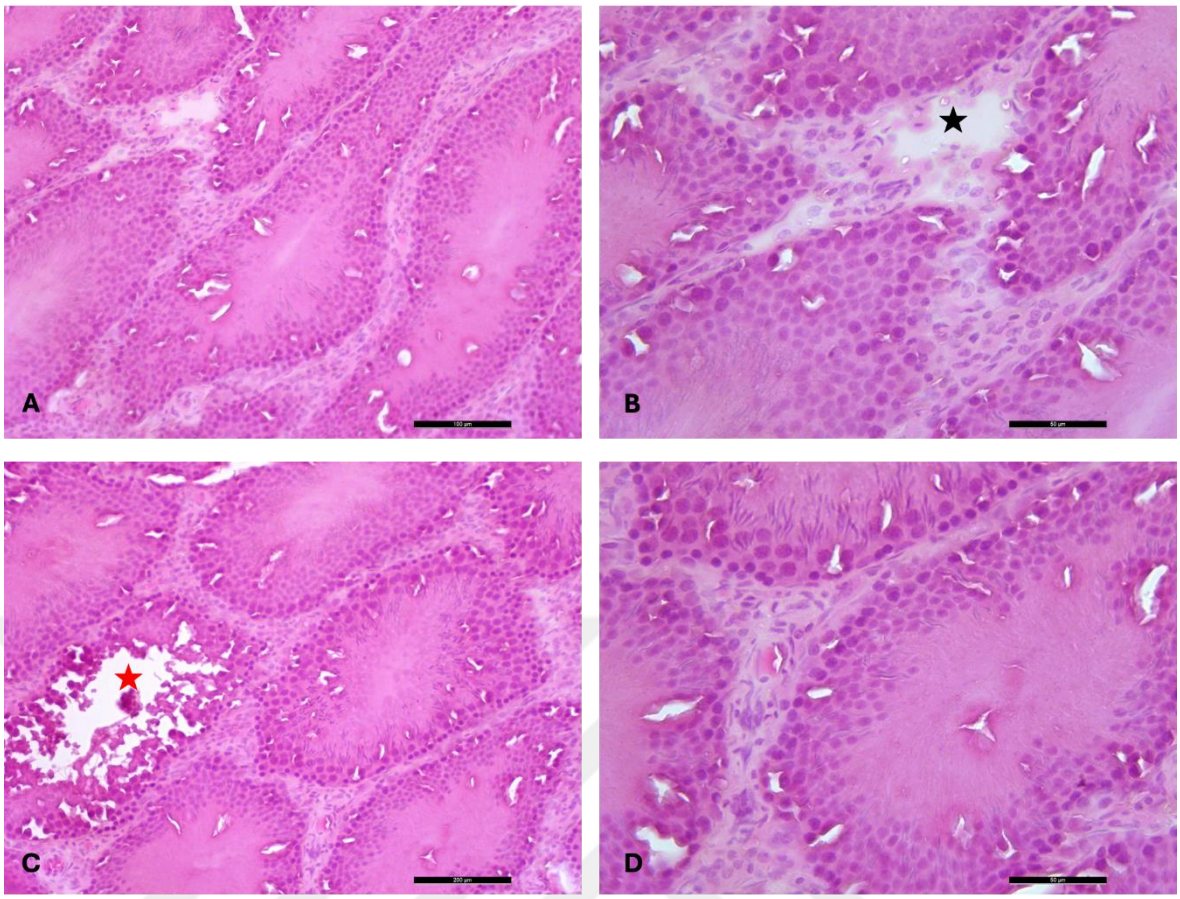


Şekil 5.13. Yaşlı kontrol grubuna ait testiküler doku kesitleri. H&E. A-D:200X; B,C,E,F:400X magnifikasyon. Siyah yıldız: interstisyel alanda artış; kırmızı yıldız: atrofik seminifer tübüller



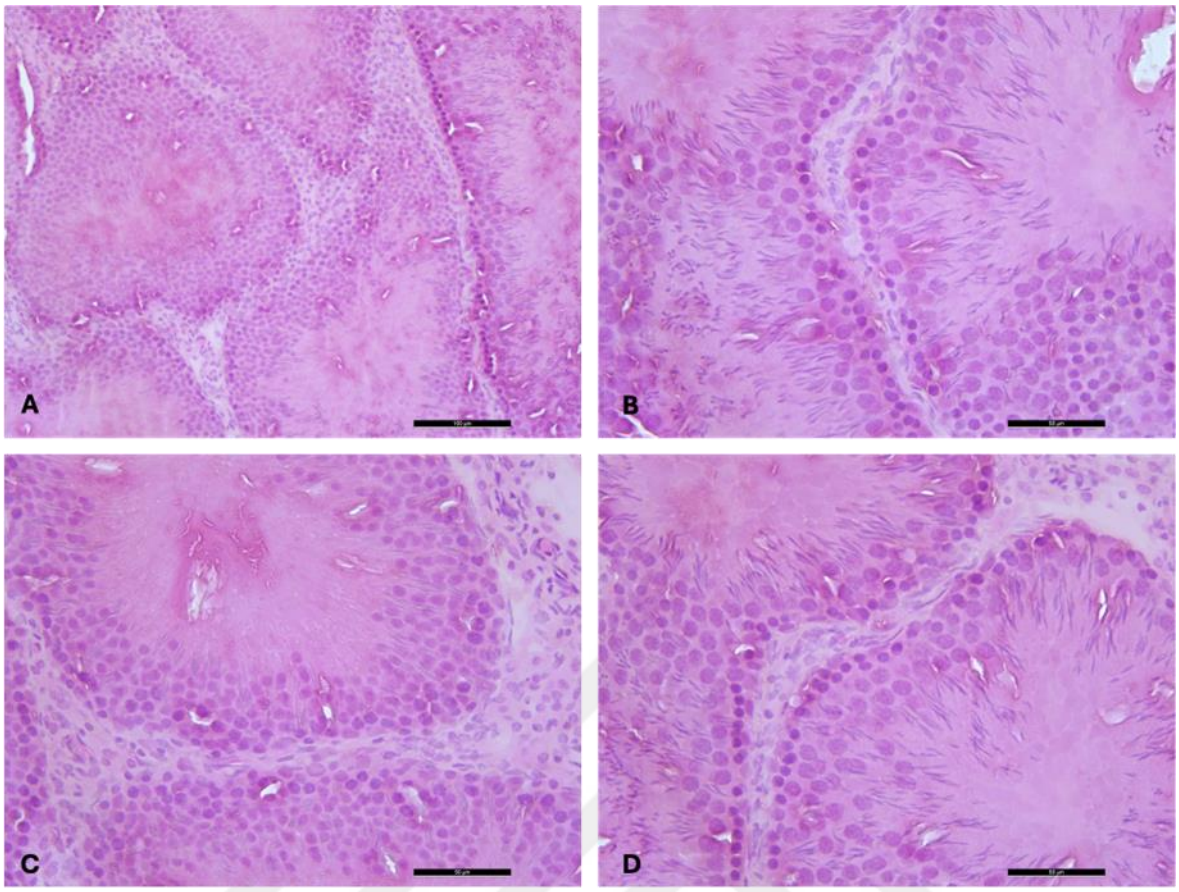
Şekil 5.14. Genç ve yaşlı gruplarda metformin ve dapagliflozin uygulamasının seminifer epitel kalınlığına etkisi. H&E, 200X magnifikasyon.

Yaşlı metformin grubunda atrofik tübüller yaşlı kontrol grubuna göre azalmakla birlikte yer yer görülmektedir. İnterstisyel alanda yaşlı kontrol grubu ile benzerlik göstermektedir. Ancak seminifer tübüller intaktlık ve epitel kalınlığı açısından yaşlı kontrol grubuna göre daha sağlıklı bir morfoloji sergilemektedir.



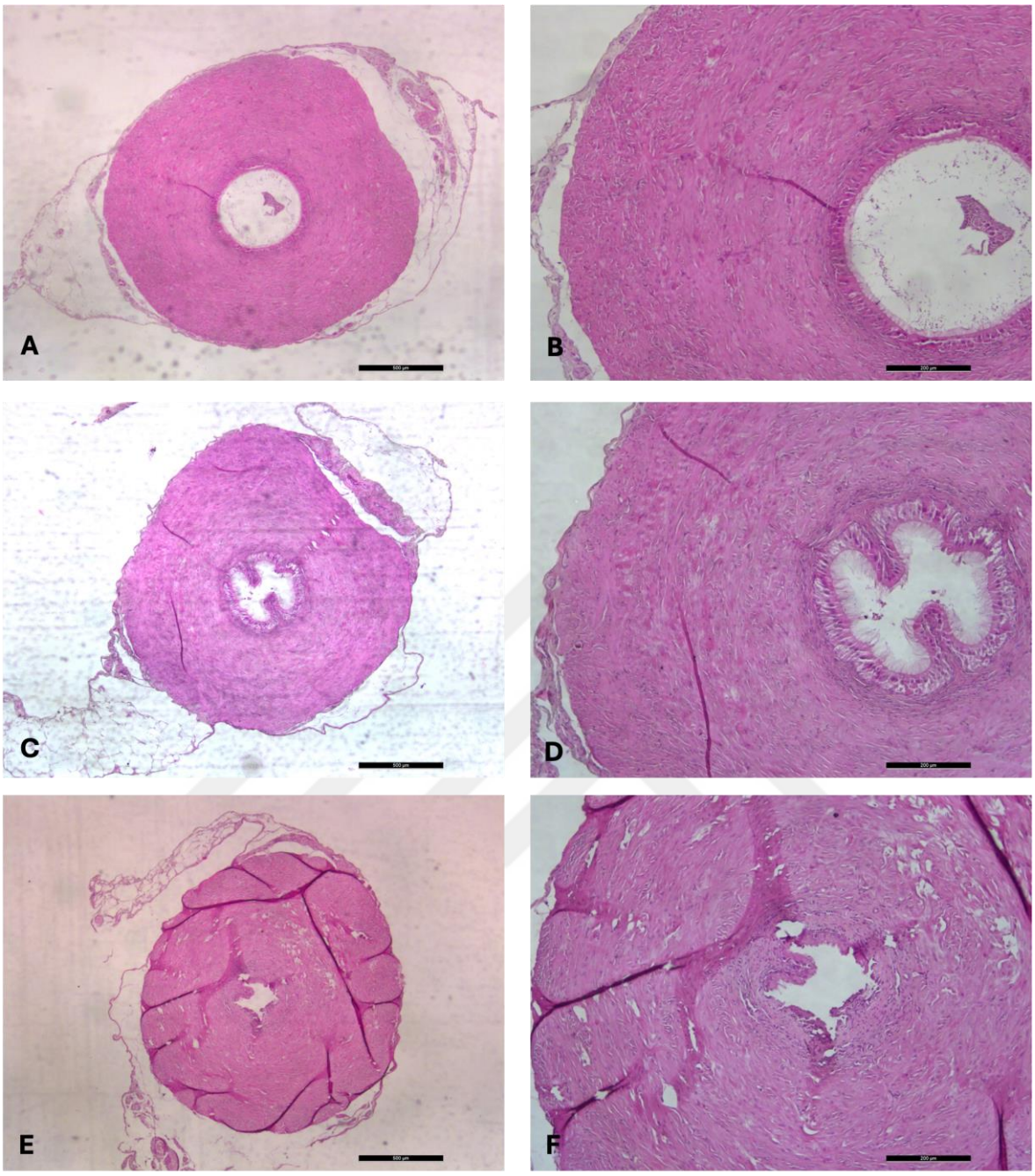
Şekil 5.15. Yaşlı metformin grubuna ait testiküler doku kesitleri. H&E. A:200X, C:100X, B-D:400X magnifiasyon. Siyah yıldız: interstisyel alanda artış; kırmızı yıldız: atrofik seminifer tübül.

Yaşlı dapagliflozin grubuna ait testis doku kesitleri incelendiğinde seminifer epitel kalınlığının genç kontrol grubuna yakın morfoloji gösterdiği, bazal membran yapısının intakt olduğu, interstisyel alanda yaşlı kontrol grubuna göre belirgin azalmanın olduğu gözlemlenmiştir. Lümende spermiumların varlığı tespit edilmiştir.

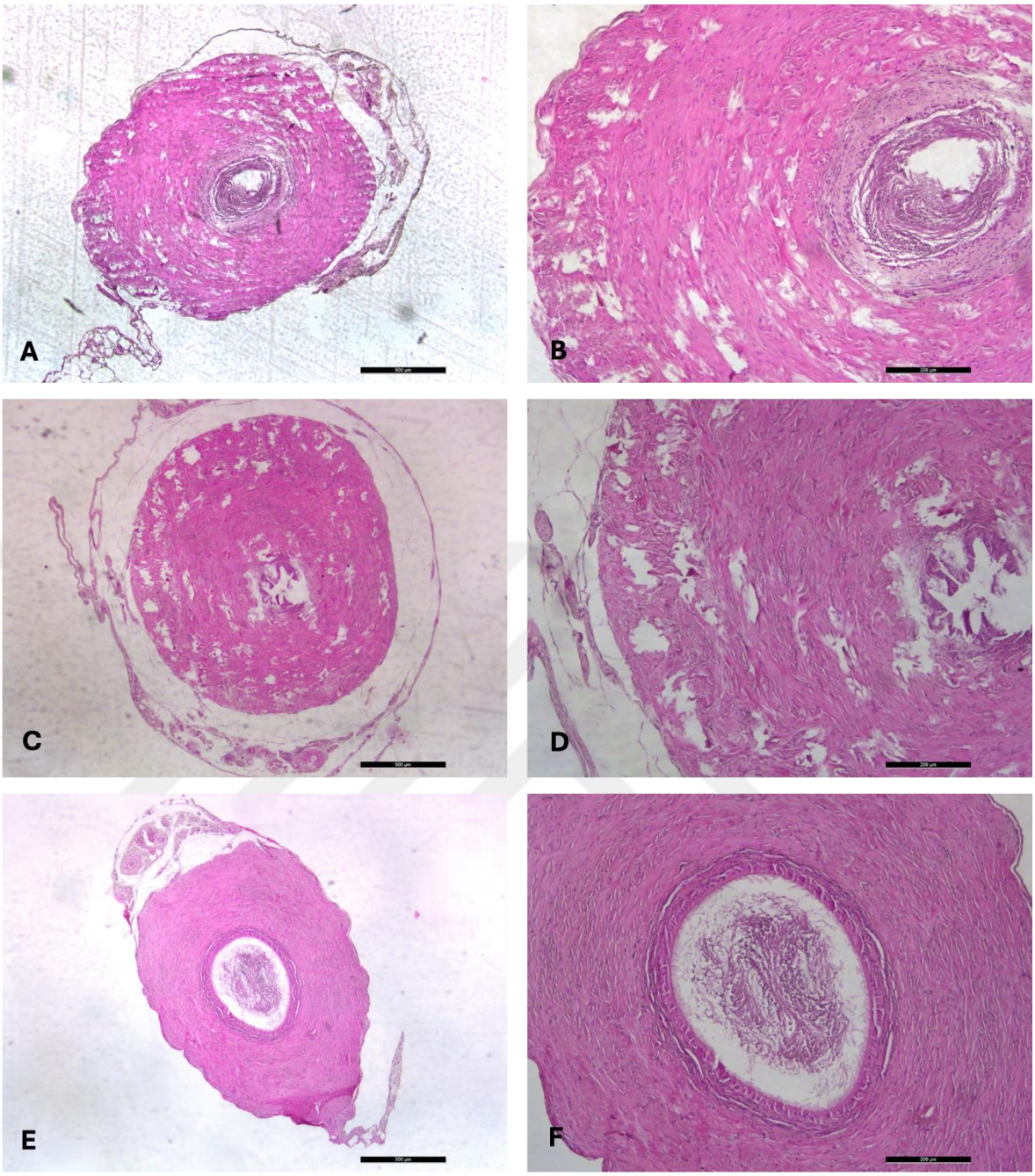


Şekil 5.16. Yaşlı dapagliflozin grubuna ait testiküler doku kesitleri. H&E. A:200X; B,C,D:400X magnifikasyon.

Vas Deferens Morfolojisi: Tüm gruplara ait vas deferens doku kesitleri incelendiğinde genç gruplarda tunika mukoza ve muskuler tabakanın sağlıklı morfoloji gösterdiği tespit edilmiştir. Yaşlı kontrol ve yaşlı dapagliflozin grubunda ise tunika mukoza epitelinin bütünlüğünde bozulma; özellikle longitudinal muskular tabakada hücreler arası mesafede artış gözlemlenmiştir. Yaşlı metformin grubunda ise vas deferens çapı azalmakla birlikte tüm tabakalarda sağlıklı morfoloji gözlemlenmiştir.



Şekil 5.17. Genç kontrol (A-B), Genç dapagliflozin (C-D) ve Genç metformin (E-F) gruplarına ait vas deferens doku kesitleri. H&E. A,C,E: 200X; B,D,F:400X magnifikasyon.



Şekil 5.18. Yaşlı kontrol (A-B), Yaşlı dapagliflozin (C-D) ve Yaşlı metformin (E-F) gruplarına ait vas deferens doku kesitleri. H&E. A,C,E: 200X; B,D,F:400X magnifikasyon.

5. TARTIŞMA

Bu çalışma ile dapagliflozinin yaşlanmaya bağlı olarak erkek üreme sisteminde meydana gelen değişiklikler üzerindeki potansiyel koruyucu etkilerini araştırmak ve bu etkileri metformin ile karşılaştırarak bilimsel literatüre katkı sağlamak amaçlandı. Dapagliflozin ve metformin, antidiabetik etkileri ile bilinen ve erkek üreme sağlığı üzerindeki potansiyel etkileri araştırılan ilaçlar olarak bu çalışmada kullanıldı. Yaşlanmaya bağlı erkek üreme sisteminde gerçekleşecek değişikliklere karşı kronik dapagliflozin ve metformin uygulamasının koruyucu etkilerini araştırmak amacıyla, 30 günlük ilaç uygulamasının ardından toplanan penis, vas deferens ve testis dokularında eNOS, nNOS ve TNF-α düzeyleri incelendi, sperm canlılığı değerlendirildi. Ayrıca serum testosteron ve TNF-α düzeyleri saptandı. Dapagliflozinin yaşlı hayvanlarda Endotel fonksiyonunu destekleyici etkisiyle eNOS, nNOS ekspresyonlarını artırdığı, serum TNF-α düzeylerini düşürerek inflamasyonu baskıladığı ve yaşlanma ile azalan testosteron düzeylerini yükselterek hormonal dengeyi koruduğu gösterildi. Diğer yandan dapagliflozin, sperm canlılığı üzerindeki olumlu etkileriyle yaşlanma sürecinde hasar gören spermatogenezi desteklediği gözlendi. Bu çalışma dapagliflozinin antidiyabetik etkisinin yanısıra, erkek reprodüktif sisteminde de potansiyel terapötik faydalar sağlayabileceğini ortaya koymaktadır.

Dapagliflozin, SGLT2 inhibitörleri sınıfında yer alan bir ilaç olup kan şekeri kontrolünün yanı sıra, testiküler hasarı azaltıcı etkileriyle de dikkat çekmektedir. Çalışmamızda kronik dapagliflozin tedavisinin ardından testosteron seviyeleri ölçüldüğünde, dapagliflozinin testosteron düzeyleri üzerindeki etkisi hem genç hem de yaşlı hayvanlarda kontrol gruplarına kıyasla belirgin bir artış yönünde olduğu görülmektedir. Elde edilen bulguların literatürle genel olarak bazı paralellikler bulunmaktadır. Literatürde, SGLT2 inhibitörlerinin (dapagliflozin) özellikle diyabet gibi metabolik bozukluklarla ilişkili durumlarda testosteron düzeylerini iyileştirici etkileri olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır. Luo ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada diyabetik sıçanlarda dapagliflozinin plazma ve doku testosteron düzeylerini yükselttiği belirtilmiştir (2023). Başka bir tip 2 diyabet modeli oluşturulmuş erkek fare modelinde ise dapagliflozinin diyabetin neden olduğu testiküler anormallikleri ve düşük testosteron seviyelerini düzelttiği

gösterilmiştir (Jin ve ark., 2024). Bu bulgular dapagliflozin ile tedavi edilen gruplarda kontrol grubuna kıyasla görülen testosteron artışıyla uyumludur.

Metformin, uzun süredir tip 2 diyabet tedavisinde kullanılan biguanid yapılı bir ilaçtır. Son dönem çalışmalar, metforminin sperm parametreleri üzerindeki olumlu etkilerini ortaya koymuştur. Metformin de insülin direncini ve metabolik sağlığı iyileştiren bir ilaçtır ve bazı çalışmalarda testosteron düzeylerini özellikle de diyabetli erkeklerde artırdığı gösterilmiştir, (Cai ve ark., 2021). Kontrol gruplarda genç ve yaşlı hayvanlar için gözlemlenen testosteron seviyesindeki düşüş, memelilerde yaşlanmayla birlikte görülen doğal testosteron azalmasını (androjen yetmezliğini) göstermektedir. Yaşlı hayvanlarda metforminin dapagliflozinden daha belirgin bir testosteron artışı sağladığı görülmüştür. Literatürde dapagliflozin ve metforminin testosteron düzeyleri bakımından karşılaştırmalarına dair sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu nedenle toplanan veriler bu alandaki genel bilgi boşluğunu doldurmaya yardımcı olabileceği düşünülmektedir. Verilerimiz, dapagliflozinin hem genç hem de yaşlı hayvanlarda testosteron düzeylerini artırma eğiliminde olduğunu göstermektedir ve bu durum genel olarak literatürdeki SGLT2 inhibitörlerinin metabolik iyileşmeler yoluyla hormon dengesini olumlu etkileyebileceği bulgularıyla uyumlu olduğu görülmektedir.

Çalışmamızdan elde edilen diğer bir bulgu ise, genç kontrol grubuna kıyasla yaşlı kontrol grubunda TNF-α düzeylerinde belirgin bir artış olduğunu ortaya konmuş olmasıdır. Bu durum, yaşlanmayla birlikte enflamatuvar belirteçlerdeki doğal yükselişi geçmiş çalışmalarda da vurgulandığı gibi göstermektedir. Genç kontrol hayvanları ile yaşlı kontrol hayvanları arasında ortalama TNF-α düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanması, mevcut literatürdeki bilgilerle uyumludur. Yaşlanmanın, genellikle 'enflamatuvar yaşlanma' (inflammaging) olarak adlandırılan, TNF-α, IL-6 ve IL-1β gibi proinflamatuar sitokinlerin dolaşımdaki düzeylerinde artışla karakterize kronik, düşük dereceli bir inflamasyon durumuyla ilişkili olduğu iyi bilinmektedir. Birçok çalışma, ilerleyen yaşla birlikte TNF-α düzeylerinin yükseldiğini doğrulamaktadır (Ferrucci ve Fabbri, 2018).

Dapagliflozin tedavisi hem genç hem de yaşlı hayvanlarda kontrol grubuna kıyasla daha düşük serum TNF-α düzeyleriyle sonuçlandığı görülmektedir. Dapagliflozin de dahil olmak üzere SGLT2 inhibitörleri, glisemik kontrolün ötesindeki pleiotropik etkileri, özellikle de anti-enflamatuvar özellikleri nedeniyle giderek daha fazla ilgi görmektedir. Çok sayıda deneysel ve klinik çalışma, SGLT2 inhibitörlerinin, enflamatuvar yolları ve immün

hücre fonksiyonlarını modüle ederek TNF-α, IL-1β ve IL-6 gibi çeşitli proinflamatuar sitokinlerin düzeylerini azalttığını göstermektedir. Dapagliflozinin TNF-α üzerindeki bu azaltıcı etkisi, çeşitli in vivo hayvan modellerinde ve in vitro hücre kültürü çalışmalarında da gözlemlenmiştir (Scisciola ve ark., 2022; Lee ve Riella, 2024; Xiong ve ark., 2025).

Metformin, glikoz düşürücü etkilerinden bağımsız olarak önemli anti-enflamatuvar özelliklere sahip, iyi bilinen bir ilaçtır. NF-κB aktivasyonunun baskılanması ve makrofaj fonksiyonunun modülasyonu gibi çeşitli mekanizmalar aracılığıyla TNF-α gibi proinflamatuar sitokinlerin üretimini ve salgılanmasını azalttığı gösterilmiştir (Xiong ve ark., 2025; Cameron ve ark., 2016). Çalışmamızda kronik metformin tedavisi hem genç hem de yaşlı hayvanlarda en düşük serum TNF-α düzeylerini sağlayarak güçlü bir anti-enflamatuvar etkiye yol açmıştır. Elde edilen sonuçlar metforminin dapagliflozine kıyasla serum TNF-α düzeylerinde daha belirgin bir düşüşe neden olduğunu ortaya koymuştur. Dapagliflozin ve metforminin özellikle TNF-α düzeyleri üzerindeki doğrudan karşılaştırmalarına dair çalışmalar, her bir ilacın ayrı ayrı incelendiği çalışmalara göre sınırlıdır ve sonuçlar, kullanılan model, hastalık durumu (örn. diyabet, kalp yetmezliği vb.) ve dozaj gibi faktörlere bağlı olarak farklılık gösterebilir (Packer, 2020; Yaribeygi ve ark., 2019). Genel olarak, elde edilen serum TNF-α sonuçları, yaşlanmadaki inflamasyon ve dapagliflozin ile metforminin anti-enflamatuvar etkilerine dair mevcut bilimsel anlayışla büyük ölçüde uyumludur ve sonuçlar, her iki ilacın da enflamatuvar belirteçleri azaltmada faydalı etkilere sahip olduğunu, metforminin bu deneysel kurulumda TNF-α üzerinde potansiyel olarak daha belirgin bir etki gösterdiğini pekiştirmektedir.

Dapagliflozin ve metformin ile tedavi edilen hem genç hem de yaşlı hayvanların penis dokularındaki eNOS ekspresyon düzeylerinde kontrol gruplarına kıyasla bir artış gözlenmiştir ve bu bulgu literatürle güçlü bir uyum içerisindedir. Dapagliflozin ile ilgili olarak, çalışmalar dapagliflozinin eNOS üzerinde pozitif bir etkiye sahip olduğunu tutarlı bir şekilde göstermektedir. Bu ajanın diyabetik modellerde azalmış eNOS ekspresyonunu normalleştirdiği (Tai ve ark., 2023) ve bazı bağlamlarda doğrudan total ekspresyon değişikliklerinden ziyade fosforilasyon yoluyla eNOS aktivitesini restore ettiği (Xiong ve ark., 2023), ayrıca eNOS yoluyla anjiyogenezi iyileştirdiği belirlenmiştir. Literatür, metforminin eNOS ekspresyonunu ve/veya aktivitesini artırdığını güçlü bir şekilde desteklemektedir. Metformin, insülin dirençli endotel hücre fonksiyonunu eNOS protein ekspresyonunu teşvik ederek iyileştirir ve AMPK/eNOS yolunu aktive ederek eNOS

fosforilasyonunda ve nitrik oksit üretiminde artışa yol açar (Chen ve ark., 2015; Yu ve ark., 2016).

Dapagliflozin ve metformin ile tedavi edilen hayvanlarda kontrollere kıyasla nNOS ekspresyonunda gözlenen artış, literatürle kısmi bir paralellik taşımaktadır. Dapagliflozin için mevcut literatür , dapagliflozinin nNOS ekspresyonu üzerindeki doğrudan ve spesifik etkisine dair daha sınırlı bilgi sunmaktadır. nNOS, böbrek fonksiyonu ve hiperfiltrasyon bağlamında bahsedilse de (Kidokoro ve ark., 2019; Roy ve ark., 2023), dapagliflozinin ekspresyonu üzerindeki doğrudan düzenleyici bir etkisi net olarak aydınlatılmamıştır. Metforminin ise önceki bir çalışmada obez sıçanlarda penis dokusunda nNOS ekspresyonunu restore ettiği gösterilmiştir (Kim ve ark., 2007). Başka bir çalışmada ise, normal farelerde NOS ekspresyonunu uyardığını ancak ob/ob farelerde inhibe ettiğini göstermiştir (Kumar ve ark., 2001). Bu nedenle, metformin ile nNOS düzeyindeki artış, özellikle metabolik disfonksiyon modellerinde destek bulmaktadır.

Dapagliflozin ve metformin ile tedavi edilen hem genç hem de yaşlı hayvanlarda, kendi yaş gruplarına ait kontrol gruplarına kıyasla penis dokusunda TNF-α gen ekspresyon düzeylerinde bir artış gözlenmiştir. Ancak bu bulgu, literatürde her iki ilacın da TNF-α düzeylerini baskıladığına dair güçlü verilerle çelişmektedir. Nitekim birçok çalışma, dapagliflozinin TNF-α düzeylerini ve gen ekspresyonunu anlamlı şekilde azalttığını göstermektedir; hipertiroidili sıçan modellerinde dapagliflozinin TNF-α gen ekspresyonunu düşürdüğü, kalp yetmezliği modellerinde ise serum TNF-α düzeylerini azalttığı bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2025; Lee ve ark., 2022; Eldesoqui ve ark., 2022). Benzer şekilde, metforminin de TNF-α ekspresyonunu ve salgılanmasını azalttığı, bu etkisini NF-κB translokasyonunu aşağı regüle ederek gerçekleştirdiği ve birçok hücre-hayvan modelinde proinflamatuar sitokin düzeylerini baskıladığı gösterilmiştir (Hyun ve ark., 2013; Wang ve ark., 2020; Hattori ve ark., 2006).

Bununla birlikte, çalışmada TNF-α'nın doku düzeyindeki gen ekspresyonu ile protein (ELISA) düzeyleri arasında beklenen korelasyonun görülmemesi dikkat çekicidir. Bu uyumsuzluk, ilacın fizyolojik dozlarda bile sağlıklı hücreler üzerinde stres yanıtı oluşturabilmesiyle açıklanabilir. Sağlıklı dokuda, TNF-α gibi sitokinlerin bazal düzeyleri sıkı şekilde regüle edilirken, ilaç uygulaması hücreler tarafından potansiyel bir stresör olarak algılanabilir ve bu durum transkripsiyonel düzeyde TNF-α üretimini artırabilir. Ancak aynı hücreler, bu savunma tepkisini dengelemek adına post-transkripsiyonel düzeyde TNF-α

mRNA'sının stabilitesini düşürerek ya da protein sentezini baskılayarak bu artışı sınırlayabilir. Öte yandan, inflamatuvar bozuklukların bulunduğu hastalık modellerinde bu düzenleyici mekanizmalar bozulmuş olduğu için metformin ya da dapagliflozin gibi ilaçlar, hem TNF-α gen ekspresyonunda hem de protein düzeyinde daha tutarlı bir azalma sağlayabilir. Dolayısıyla genç ve sağlıklı penis dokusunda gözlenen TNF-α gen ekspresyonundaki artış, ilaca karşı oluşan fizyolojik bir yanıtı ve stres adaptasyon sürecini yansıtırken; protein düzeylerinin düşük kalması, post-transkripsiyonel düzenlemelerin devreye girmesiyle açıklanabilir.

Penil dokunun genel değerlendirmesi, ekspresyon düzeylerindeki değişikliklerin yaşlanmayla ilişkili yaygın fizyolojik değişikliklerle (örn. yaşa bağlı endotel disfonksiyonu, artan inflamasyon ve oksidatif stres) tutarlı olduğunu göstermektedir. Bu durum, bazal eNOS/nNOS düzeylerinde değişikliklere (genellikle işlevsellik veya ekspresyonunda azalma) ve TNF-α gibi proinflamatuar belirteçlerde artışa yol açabilir. Arama sonuçları dapagliflozin ve metforminin yaşlanma karşıtı özelliklerini tartışsa da (Zhang ve ark., 2025; Zheng ve ark., 2025), bu ilaçların eNOS, nNOS veya TNF-α gen ekspresyonu üzerindeki farklı etkilerini genç ve yaşlı hayvanlar karşılaştırmasında spesifik olarak detaylandırmamaktadır.

Elde edilen deneysel eğilimler ile mevcut literatür arasında iyi bir paralellik bulunmaktadır; özellikle eNOS gen ekspresyonu ve serum TNF-α için, hem dapagliflozin hem de metformin eNOS'u (veya aktivitesini) artıran ya da serum TNF-α'yı azaltan etkiler göstermektedir. nNOS için ise, dapagliflozin için kanıtlar daha az doğrudan olmakla birlikte metformin için destekleyicidir. Gözlemlenen genel yaşa bağlı bazal farklılıklar da yaşlanma fizyolojisinin daha geniş anlayışıyla tutarlıdır.

Vas deferens dokusundaki eNOS ve nNOS ekspresyonlarının mevcut literatürle karşılaştırılması sonucunda verilerle literatür arasında paralellik göze çarpmaktadır. Hem dapagliflozin hem de metformin, genellikle eNOS ekspresyonunu ve aktivitesini artırdığı, sıklıkla endotel fonksiyonu ve vazodilatasyonu iyileştirdiği rapor edilmektedir (Cheang ve ark., 2014). Dapagliflozinin nNOS ekspresyonu üzerindeki doğrudan etkisi hakkında genel literatürde daha az spesifik kanıt bulunmaktadır; literatürde daha çok eNOS veya daha geniş renal/metabolik etkilere odaklanılmaktadır. Bununla birlikte, bazı çalışmalar metforminin, özellikle metabolik disfonksiyon veya belirli dokular, örneğin penis dokusu, gibi spesifik bağlamlarda nNOS ekspresyonunu artırabildiğini belirtmektedir (Kim ve ark., 2007). Genel

olarak, yaşlanma, nitrik oksit (NO) biyoyararlanımında azalma ve sıklıkla eNOS ve nNOS aktivitesinde veya ekspresyonunda düşüşle ilişkilidir; bu durum, yaşa bağlı endotel disfonksiyonuna katkıda bulunur (Matsushita ve ark., 2001). Genç kontrol hayvanları, vas deferenslerinde yaşlı kontrol hayvanlarına kıyasla daha yüksek eNOS ve nNOS ekspresyonu göstermektedir. Bu gözlem, yaşlanmanın sıklıkla nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesi ve ekspresyonunda bir düşüşe yol açtığı ve yaşa bağlı fizyolojik değişikliklere katkıda bulunduğu genel anlayışla paralellik taşımaktadır. Genç hayvanlarda daha yüksek bazal NOS seviyeleri fizyolojik olarak beklenen bir durumdur (Cau ve ark., 2012). Dapagliflozin tedavisi hem yaşlı hem de genç vas deferenslerde kendi kontrol gruplarına kıyasla eNOS ekspresyonunda bir artışa yol açmıştır ki bu durum, dapagliflozinin eNOS fonksiyonunu ve/veya ekspresyonunu iyileştirdiğini ve kardiyovasküler faydalarına katkıda bulunduğunu tutarlı bir şekilde bildiren literatürle uyumludur (Tai ve ark., 2023). Ancak, dapagliflozin yaşlılarda nNOS ekspresyonunda bir artışa yol açarken, genç hayvanlarda nNOS ekspresyonunda bir azalmaya neden olmuştur. Genel literatürde dapagliflozinin nNOS ekspresyonunu doğrudan düzenlemesine dair daha az kanıt bulunsa da yaşlı hayvanlarda gözlemlenen artış, yaşlanmış bir bağlamda potansiyel bir faydalı etkiyle uyumludur. Bununla birlikte, genç hayvanlarda nNOS ekspresyonundaki azalma, vas deferens dokusu için dokuya ya da deney tasarımına özgü bir bulgu olabilir.

Metformin tedavisi hem yaşlı hem de genç vas deferenslerde kendi kontrol gruplarına kıyasla eNOS ekspresyonunda çok önemli bir artışla sonuçlanmıştır. Artışın büyüklüğü, özellikle genç hayvanlarda çarpıcıdır. Bu bulgu, metforminin eNOS ekspresyonunu ve aktivitesini yukarı regüle etmedeki rolünü yaygın olarak destekleyen ve vasküler koruyucu etkilerine katkıda bulunan literatürle güçlü bir paralellik taşımaktadır. Metformin tedavisi hem yaşlı hem de genç vas deferenslerde nNOS ekspresyonunda anlamlı bir artışa yol açmıştır.

Yapılan çalışma, vas deferens yanında testis dokusundaki eNOS ve nNOS ekspresyonlarının da mevcut literatürle paralellik gösterdiğini ortaya koymuştur. Genel olarak hem dapagliflozin hem de metformin, eNOS ekspresyonunu ve/veya aktivitesini artırarak endotel fonksiyonunda ve vazodilatasyonda iyileşmeye yol açtığı rapor edilmektedir (Cheang ve ark., 2014). Yaşlanma süreci, nitrik oksit (NO) biyoyararlanımında azalma ve sıklıkla eNOS ve nNOS aktivitesi veya ekspresyonunda düşüşle ilişkilidir; bu durum yaşa bağlı endotel disfonksiyonuna katkıda bulunur (Matsushita ve ark., 2001).

Nitekim, vas deferens dokusunda genç kontrol hayvanlarının yaşlı kontrol hayvanlarına kıyasla daha yüksek eNOS ve nNOS ekspresyonu sergilemesi, yaşlanmayla birlikte nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesi ve ekspresyonunda görülen düşüşle uyumludur. Genç hayvanlarda daha yüksek bazal NOS seviyeleri fizyolojik olarak beklenen bir durumdur (Cau ve ark., 2012).

Testis dokusunda ise yaşlı hayvanlarda hem dapagliflozin hem de metformin tedavilerinin eNOS ekspresyonunu artırdığı gözlenmiştir; bu noktada dapagliflozinin metforminden daha büyük bir artış sergilemesi dikkat çekicidir. Ancak, yaşlı testislerde dapagliflozin nNOS ekspresyonunda beklenmedik bir azalmaya yol açarken, metformin bir artışa neden olmuştur. Genç hayvanların testislerinde de hem dapagliflozin hem de metformin eNOS ekspresyonunu anlamlı ölçüde artırmış, ancak metformin dapagliflozinden dramatik olarak daha büyük bir etki göstermiştir. nNOS ekspresyonunda genç testislerde hem dapagliflozin hem de metformin azalmaya neden olmuş, dapagliflozin daha belirgin bir düşüş sağlamıştır. Genel olarak, her iki ilacın da testis dokusunda eNOS ekspresyonunu artırma eğiliminde olduğu, ancak nNOS üzerindeki etkilerinin yaşa ve ilaca bağlı olarak farklılık gösterebildiği görülmüştür.

Çalışmamızda kronik dapagliflozin ve metformin uygulamasının sperm canlılığı üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Bu konuda yapılan Luo ve arkadaşlarının yaptığı önceki bir çalışmada (2023), dapagliflozinin sperm konsantrasyonu ve motilitesini artırdığını, seminifer tübül yapısını koruduğunu ve testiküler apoptozu baskıladığını göstermiştir. Ayrıca oksidatif stres belirteçlerinde iyileşme ve GLP-1R/PI3K/Akt yolaklarının aktivasyonu gözlemlenmiştir. Benzer şekilde Albekairi ve ark. (2023), dapagliflozinin disomik ve diploid sperm oranlarını azalttığını ve DNA tamir genlerinin (Ogg1, Parp1, P53) ifadesini düzelttiğini bildirmiştir. Jin ve ark. (2024) ise, bağırsak-testis aksında adenosin metabolizmasını düzenleyerek dapagliflozinin spermatogenezi desteklediğini göstermiştir.

Metformin ile yapılan bir çalışmada ise Banihani (2016), metforminin oksidatif stresi azalttığını, lipid peroksidasyonunu baskıladığını ve AMPK yolunu aktive ederek sperm kalitesini artırdığını bildirmiştir. Ribeiro ve arkadaşları (2019) ise, metforminin testiküler enerji metabolizması ve hormonal dengeyi iyileştirme potansiyelini vurgulamıştır. Önceki çalışmalarla uyumlu bir şekilde bizim çalışmamızda da dapagliflozin ve metforminin, sperm canlılığı üzerindeki olumlu etkileriyle yaşlanma sürecinde hasar gören spermatogenezi desteklediği gösterildi.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, yaşlanmanın erkek üreme sistemi üzerinde meydana getirdiği hormonal, genetik ve hücresel değişiklikler deneysel olarak ortaya konmuş ve bu bozulmalar üzerine genç ve yaşlı hayvanlarda dapagliflozin ile metformin tedavilerinin kandaki testosteron ve TNF-α seviyeleri ile vas deferens, penis ve testis dokularındaki TNF-α, eNOS, nNOS gen ekspresyonları düzeyleri, aynı zamanda immünohistokimyasal analiz ile penis dokusundaki eNOS, nNOS ekspresyon düzeyleri ve sperm canlılığı üzerindeki etkileri değerlendirildi.

Elde edilen verilere göre, yaşlanma ile birlikte serum testosteron düzeylerinde belirgin bir düşüş, inflamatuvar belirteçlerde artış ve penis, testis ile vas deferens dokularında eNOS ve nNOS gibi nitrik oksit sentezleyen enzimlerin ekspresyon seviyelerinde azalma gözlemlendi. Ayrıca sperm canlılığı açısından değerlendirildiğinde, yaşlı kontrol grubunda canlı sperm oranının ciddi şekilde azaldığı, bununla birlikte Dapagliflozin ve Metformin uygulamalarıyla bu oranın anlamlı biçimde artırıldığı görüldü. Bu durum, yaşlanmanın sperm fizyolojisi üzerinde hem hormonal hem de mikrovasküler düzeyde baskılayıcı etkiler oluşturduğunu; ancak söz konusu ajanların bu süreci kısmen geri çevirebildiğini düşündürmektedir.

Dapagliflozin uygulaması, yaşlı hayvanlarda testosteron düzeylerini anlamlı biçimde artırmış; genç hayvanlarda ise bu artış istatistiksel anlamlılık taşımamıştır, aynı zamanda serum düzeylerinde TNF-α baskılanırken, dokularda özellikle penis ve testis dokusunda dapagliflozin ve metforminle TNF-α gen ekspresyonu artış eğilimi göstermiştir. Bu durum, dokuya özgü düzenleyici mekanizmaların farklılaşabileceğini düşündürmektedir.

Bununla birlikte, metformin tedavisi yaşlı grupta dapagliflozine kıyasla daha yüksek testosteron düzeyleri sağlandı ve daha belirgin bir TNF-α inhibisyonu gösterdi. Bu etki, yaşlanmaya bağlı kronik inflamasyonun kontrol altına alınmasında metforminin daha etkili olabileceğini göstermektedir. Ayrıca penis ve vas deferens dokusunda eNOS ve nNOS ekspresyonlarının metformin ile özellikle yaşlı hayvanlarda dramatik bir şekilde artması, NO-aracılı vazodilatasyon mekanizmalarının güçlendiğini ve buna bağlı olarak erektil fonksiyonların desteklenmiş olabileceğini ortaya koymaktadır.

Testis dokusuna ait gen ekspresyon verileri ise daha karmaşık bir tablo sunmaktadır. Her iki ajan da testislerde eNOS ekspresyonunu artırmış, fakat nNOS düzeyleri dapagliflozin ile düşerken metformin ile artmıştır. TNF-α gen ekspresyonu, testis dokusunda özellikle

metformin grubunda artış göstermiş olsa da, serum düzeylerindeki belirgin azalma genel olarak anti-inflamatuvar etkiyi desteklemektedir. Bu da doku düzeyi ile sistemik düzey arasında farklılıklar olabileceğini ortaya koymaktadır. Bu sonuçlar, testis dokusunun tedavilere verdiği yanıtın diğer genital dokulardan farklı olduğunu ve bu bölgeye özgü mikroçevresel etkenlerin daha karmaşık olabileceğini göstermektedir.

İmmünohistokimyasal analizlerde, eNOS ve nNOS protein ekspresyonlarının hem genç hem yaşlı hayvanlarda farmakolojik tedavilerle anlamlı düzeyde arttığı tespit edilmiştir. Bu bulgu, gen düzeyindeki artışların protein düzeyine de yansıdığını ve tedaviye verilen biyolojik yanıtın fonksiyonel olabileceğini desteklemektedir. Ayrıca, Eozin-Nigrosin boyama ile yapılan sperm canlılığı analizleri, özellikle yaşlı gruplarda tedaviler sonrası belirgin bir iyileşme ortaya koymuştur. Bu, tedavilerin spermatogenezi veya testiküler mikrosirkülasyonu olumlu yönde etkilediğini düşündürmektedir.

Erektil disfonksiyon prevalansının yaşla birlikte arttığı bilimsel çalışmalarda yaygın bir şekilde gösterilmiştir. Bu durum genellikle yaşa bağlı vasküler sağlık, endotel fonksiyonu ve hormonal profillerdeki değişikliklerle ilişkilidir. Metformin ve dapagliflozinin etkilerini karşılaştıran çalışmalar bulunmakla birlikte, bu çalışmalar çoğunlukla glisemik kontrol bağlamındadır. Diyabetik hayvan modellerinde yapılan çalışmalar, dapagliflozinin plazma ve doku testosteron düzeylerini artırabildiğini göstermiştir. Bu bulgu, düşük testosteron seviyelerinin (hipogonadizm) yaşlanma ve diyabetle birlikte sık görülmesi ve erektil disfonksiyona katkıda bulunması nedeniyle önem taşımaktadır. Bu çalışmada ise dapagliflozinin glisemik kontrolün ötesinde de ek faydalar sağlayabileceği vurgulandı.

KAYNAKLAR

Aire, T. A. (2024). Anatomy of the testis and male reproductive tract. *ResearchGate*. Retrieved from https://www.researchgate.net/publication/384256589.

Ajayi, A. F., Onaolapo, M. C., Omole, A. I., Adeyemi, W. J., & Oluwole, D. T. (2023). Mechanism associated with changes in male reproductive functions during ageing process. *Experimental Gerontology, 179*, 112232. https://doi.org/10.1016/j.exger.2023.112232.

Akunna, G. G., Abah, E. D., & Saalu, L. C. (2024). Sertoli cells: Architects of male reproductive function and clinical impacts. *Acta Scientific Anatomy, 2*(12), 7–21.

Albekairi, N. A., Al-Jarallah, A., Alenzi, N. M., Alruwaili, M. K., Alomair, M. K., Alharbi, M. M., & Alotaibi, M. R. (2023). Dapagliflozin mitigated elevated disomic and diploid sperm in a mouse model of diabetes and recovered disrupted Ogg1, Parp1, and P53 gene expression. *Biomedicines, 11*(11), 2980. https://doi.org/10.3390/biomedicines11112980.

Alshamrani, A. A., Al-Hamamah, M. A., Albekairi, N. A., Attia, M. S. M., Ahmad, S. F., Assiri, M. A., Ansari, M. A., Nadeem, A., Bakheet, S. A., Alanazi, W. A., & Attia, S. M. (2023). Impacts of the DPP-4 inhibitor saxagliptin and SGLT-2 inhibitor dapagliflozin on the gonads of diabetic mice. *Biomedicines, 11*(2674). https://doi.org/10.3390/biomedicines11102674.

Alves, M. G., Martins, A. D., Vaz, C. V., Correia, S., Moreira, P. I., Oliveira, P. F., & Socorro, S. (2014). Metformin and male reproduction: Effects on Sertoli cell metabolism.

Alzain, S. D., Mudawi, M. M. E., & Mohamed, A. W. H. (2020). Review on metformin effect on male reproductive system. *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences,* 9(2), 158–167.British Journal of Pharmacology, 171(4), 1033–1042. https://doi.org/10.1111/bph.12522.

American Diabetes Association. (2005). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care, 28*(Suppl 1), S37–S42.

Aversa, A., Bruzziches, R., Francomano, D., Natali, M., Gareri, P., and Spera, G. 2010. Endothelial dysfunction and erectile dysfunction in the aging man. *Int. J. Urol. 17(1*), 38–47. doi:10.1111/j.1442-2042.2009.02426.x. PMID:20002226.

Bailey, C. J. (2024). Metformin: Therapeutic profile in the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism, 26*(Suppl. 3), 3–19. https://doi.org/10.1111/dom.15663.

Bivalacqua, T.J., Armstrong, J.S., Biggerstaff, J., Abdel-Mageed, A.B., Kadowitz, P.J., Hellstrom, W.J.G., and Champion, H.C. 2003. Gene transfer of extracellular SOD to the penis reduces and improves erectile function in aged rats. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. 284*(4), H1408–H1421. doi:10.1152/ ajpheart.00770.2002. PMID:12505874.

Banihani, S. A. (2016). Effect of metformin on semen quality. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 52(4)*, 591–596. https://doi.org/10.1590/S1984-82502016000400002.

Borg, C. L., Wolski, K. M., Gibbs, G. M., & O'Bryan, M. K. (2009). Phenotyping male infertility in the mouse: How to get the most out of a 'non-performer'. *Human Reproduction Update*, dmp032.

Cada, D. J., Levien, T. L., & Baker, D. E. (2014). Dapagliflozin. *Hospital Pharmacy, 49*(7), 647–662. https://doi.org/10.1310/hpj4907-647.

Cai, T., Hu, Y., Ding, B., Yan, R., Liu, B., Cai, L., Jing, T., Jiang, L., Xie, X., Wang, Y., Wang, H., Zhou, Y., He, K., Xu, L., Chen, L., Cheng, C., Ma, J. (2021). Effect of Metformin on Testosterone Levels in Male Patients With Type 2 Diabetes Mellitus Treated With Insulin. Frontiers in endocrinology, 12, 813067.

Cameron, A. R., Morrison, V. L., Levin, D., Mohan, M., Forteath, C., Beall, C., McNeilly, A. D., Balfour, D. J., Savinko, T., Wong, A. K., Viollet, B., Sakamoto, K., Fagerholm, S. C., Foretz, M., Lang, C. C., Rena, G. (2016). Anti-Inflammatory Effects of Metformin Irrespective of Diabetes Status. *Circulation research, 119(5)*, 652–665.

Cannarella, R., Condorelli, R. A., Leanza, C., Garofalo, V., Aversa, A., Papa, G., Calogero, A. E., & La Vignera, S. (2024). Dapagliflozin improves erectile dysfunction in patients with type 2 diabetes mellitus: An open-label, non-randomized pilot study. *Diabetic Medicine, 41*, e15217. https://doi.org/10.1111/dme.15217.

Carrier, S., Nagaraju, P., Morgan, D.M., Baba, K., Nunes, L., and Lue, T.F. 1997. Age decreases nitric oxide containing nerve fibers in the rat penis. *J. Urol. 157(3*), 1088–1092. doi:10.1016/S0022-5347(01)65147-4. PMID:9072549.

Cau, S. B., Carneiro, F. S., & Tostes, R. C. (2012). Differential modulation of nitric oxide synthases in aging: therapeutic opportunities. *Frontiers in physiology, (3)*, 218

Cheang, W. S., Tian, X. Y., Wong, W. T., Lau, C. W., Lee, S. S., Chen, Z. Y., Yao, X., Wang, N., & Huang, Y. (2014). Metformin protects endothelial function in diet-induced obese mice by inhibition of endoplasmic reticulum stress through 5' adenosine monophosphate-activated protein kinase-peroxisome proliferator-activated receptor δ pathway. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 34(4)*, 830–836.

Chen, H., Li, J., Yang, O., Kong, J., & Lin, G. (2015). Effect of metformin on insulin-resistant endothelial cell function. *Oncology Letters, 9,* 1149-1153.

Clement, P., & Giuliano, F. (2014). Anatomy and physiology of genital organs men. In *of Clinical Neurology* (130), 19–37.

Creasy, D. M., & Chapin, R. E. (2013). Male reproductive system. In Haschek and Rousseaux's *Handbook of Toxicologic Pathology* (3), 2493–2594.

Çubuk, G., & İnce, S. (2015). Oral antidiyabetik ilaçlar. *Kocatepe Veteriner Dergisi, 8*(1), 95–102. https://doi.org/10.5578/kvj.9120.

Dong, S., Chen, C., Zhang, J., Gao, Y., Zeng, X., & Zhang, X. (2022). Testicular aging, male fertility and beyond. *Frontiers in Endocrinology, 13*, 1012119. https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1012119.

Eldesoqui, M., Eldken, Z. H., Mostafa, S. A., Al-Serwi, R. H., El-Sherbiny, M., Elsherbiny, N., Mohammedsaleh, Z. M., & Sakr, N. H. (2022). Exercise Augments the Effect of SGLT2 Inhibitor Dapagliflozin on Experimentally Induced Diabetic Cardiomyopathy, *Possible Underlying Mechanisms. Metabolites, 12(7*), 635.

Feldman, H.A., Goldstein, I., Hatzichristou, D.G., Krane, R.J., and McKinlay, J.B. 1994. Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts male aging study. *J. Urol. 151(1),* 54–61. PMID:8254833.

Ferrannini, E., Ramos, S. J., Salsali, A., Tang, W., & List, J. F. (2010). Dapagliflozin monotherapy in type 2 diabetic patients with inadequate glycemic control by diet and exercise: a randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III trial. *Diabetes Care, 33*(10), 2217–2224. https://doi.org/10.2337/dc10-0612

Ferreira, C., Sousa, M., Rabaça, A., Oliveira, P. F., Alves, M. G., & Sá, R. (2015). Impact of metformin on male reproduction. *Current Pharmaceutical Design, 21*(25), 3621–3633. https://doi.org/10.2174/1381612821666150710150041.

Ferrucci, L., Fabbri, E. (2018). Inflammageing: chronic inflammation in ageing, cardiovascular disease, and frailty. *Nature reviews. Cardiology, 15(9*), 505–522.

Filippatos, T. D., Liberopoulos, E. N., & Elisaf, M. S. (2015). Dapagliflozin in patients with type 2 diabetes mellitus. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism, 6*(1), 29–41. https://doi.org/10.1177/2042018814558243.

Ghasemnejad-Berenji, M., Ghazi-Khansari, M., & Yazdani, I. (2018). Metformin protects against testicular ischemia/reperfusion injury in rats. *Andrologia, 50*(3), e12939. https://doi.org/10.1111/and.12939

Ghosal, S., & Ghosal, S. (2019). The side effects of metformin – A review. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders, 6*, 030. https://doi.org/10.24966/DMD-201X/100030.

Goldblatt, J., Dalloul, M., & Muneyyirci-Delale, O. (2025). The hypothalamus–pituitary–testicular axis in a healthy aging male. *Endocrinology Research and Practice*. https://doi.org/10.5152/erp.2025.24603.

Goodpaster, B. H., Delany, J. P., Otto, A. D., Kuller, L., Vockley, J., South-Paul, J. E., ... Jakicic, J. M. (2010). Effect of diet and physical activity interventions in severely obese adults: A randomized trial. *JAMA, 304*(16), 1795–1802. doi:10.1001/jama.2010.1505.

Griswold, M., Morales, C. R., & Sylvester, S. (1988). Molecular biology of Sertoli cell. *Oxford Reviews of Reproductive Biology*.

Gümüşel, A. (2013). Adolesan çağdaki sıçanların epididiminden alınan spermlere ve testis Leydig hücrelerine sigara dumanının ve kurkumin antioksidanının etkilerinin mikroskobik incelenmesi. (Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı). İstanbul.

Hattori, Y., Suzuki, K., Hattori, S., & Kasai, K. (2006). Metformin inhibits cytokine-induced nuclear factor kappaB activation via AMP-activated protein kinase activation in vascular endothelial cells. *Hypertension (Dallas, Tex. : 1979), 47(6),* 1183–1188.

Herndon, L. A., Schmeissner, P. J., Dudaronek, J. M., Brown, P. A., Listner, K. M., Sakano, Y., ... & Driscoll, M. (2002). Stochastic and genetic factors influence tissue-specific decline in ageing C. elegans. *Nature, 419*(6909), 808–814.

Histology Guide. (2025). Sertoli cells. *Faculty of Biological Sciences, University of Leeds*. Retrieved from http://www.histology.leeds.ac.uk/male/sertoli_cells.php.

Hodrea, J., Saeed, A., Molnár, A., Fintha, A., Barczi, A., Wagner, L. J., … & Varga, Z. V. (2022). SGLT2 inhibitor dapagliflozin prevents atherosclerotic and cardiac complications in experimental type 1 diabetes. *PLoS ONE, 17*(2), e0263285. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0263285

Hsu, G.-L., & Lu, H.-C. (2018). Male reproductive tract: Penis structure—Erection. In M. Skinner (Ed.), *Encyclopedia of Reproduction* (2nd ed., pp. 1–9). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.64603-2.

Hu, F. B., Manson, J. E., Stampfer, M. J., Colditz, G., Liu, S., Solomon, C. G., et al. (2001). Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women. *New England Journal of Medicine, 345*(11), 790–797.

Hyun, B., Shin, S., Lee, A., Lee, S., Song, Y., Ha, N. J., Cho, K. H., & Kim, K. (2013). Metformin Down-regulates TNF-α Secretion via Suppression of Scavenger Receptors in Macrophages. *Immune network, 13(4*), 123–132.

Jin, Z., Cao, Y., Wen, Q., Zhang, H., Fang, Z., Zhao, Q., Xi, Y., Luo, Z., Jiang, H., Zhang, Z., & Hang, J. (2024). Dapagliflozin ameliorates diabetes-induced spermatogenic dysfunction by modulating the adenosine metabolism along the gut microbiota–testis axis. *Scientific Reports, 14*(641). https://doi.org/10.1038/s41598-024-51224-2.

Jhund, P. S., Kondo, T., Butt, J. H., Docherty, K. F., Claggett, B. L., et al. (2022). Dapagliflozin across the range of ejection fraction in patients with heart failure: A patient-level, pooled meta-analysis of DAPA-HF and DELIVER. *Nature Medicine, 28*, 1956–1964. https://doi.org/10.1038/s41591-022-01971-4.

Karaca, B.U., Boran, T., Köroğlu, A.K., Ercan, F., Özhan, G. 2022. Evaluation of toxic effects of dapagliflozin on reproductive system in diabetic rats. *Turk J Med Sci (2022*) 52: 1362-137.

Kaufman, J.-M., Lapauw, B., Mahmoud, A., T'Sjoen, G., & Huhtaniemi, I. T. (2019). Aging and the male reproductive system. *Endocrine Reviews, 40*(4), 906–972. https://doi.org/10.1210/er.2018-00178.

Kidokoro, K., Cherney, D. Z. I., Bozovic, A., Nagasu, H., Satoh, M., Kanda, E., Sasaki, T., & Kashihara, N. (2019). Evaluation of Glomerular Hemodynamic Function by Empagliflozin in Diabetic Mice Using In Vivo Imaging. *Circulation, 140(4*), 303–315.

Kim YW, Park SY, Kim JY, et al. 2007. Metformin restores the penile expression of nitric oxide synthase in high-fat-fed obese rats. *J Androl. 2007; 28(4*): 555-560. doi: 10.2164/jandrol.106.001602.

Koslov, D. S., & Andersson, K.-E. (2013). Physiological and pharmacological aspects of the vas deferens—An update. *Frontiers in Pharmacology, 4*, 101. https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00101.

Kubin, M., Wagner, G., and Fugl-Meyer, A.R. 2003. Epidemiology of erectile dysfunction. *Int. J. Impot. Res.* 15(1): 63–71. doi:10.1038/sj.ijir.3900949. PMID:12605242.

Kumar, V. B., Bernardo, A. E., Vyas, K., Franko, M., Farr, S., Lakshmanan, L., Buddhiraju, C., & Morley, J. E. (2001). Effect of metformin on nitric oxide synthase in genetically obese (ob/ob) mice. *Life sciences, 69(23*), 2789–2799.

Lee, S. G., Kim, D., Lee, J. J., Lee, H. J., Moon, R. K., Lee, Y. J., Lee, S. J., Lee, O. H., Kim, C., Oh, J., Lee, C. J., Lee, Y. H., Park, S., Jeon, O. H., Choi, D., Hong, G. R., & Kim, J. S. (2022). Dapagliflozin attenuates diabetes-induced diastolic dysfunction and cardiac fibrosis by regulating SGK1 signaling. *BMC medicine, 20(1)*, 309.

Lee, S. A. ve Riella, L. V. (2024). Narrative Review of Immunomodulatory and Anti-inflammatory Effects of Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitors: Unveiling Novel Therapeutic Frontiers. *Kidney international reports, 9(6)*, 1601–1613.

Liu, M.-N., Lan, Q., Wu, H., & Qiu, C.-W. (2024). Rejuvenation of young blood on aging organs: Effects, circulating factors, and mechanisms. *Heliyon, 10*, e32652. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e32652.

Lohiya, N. K., Manivannan, B., Mishra, P. K., & Pathak, N. (2001). Vas deferens, a site of male contraception: An overview. *Asian Journal of Andrology, 3*(2), 87–95.

Luo, Z.-C., Jin, Z.-R., Jiang, Y.-F., Wei, T.-J., Cao, Y.-L., Zhang, Z., … & Jiang, H. (2022). The protective effects and underlying mechanisms of dapagliflozin on diabetes-induced testicular dysfunction. *Asian Journal of Andrology, 24*, 1–8. https://doi.org/10.4103/aja202242

Maksud, N., Bera, S., Naim, M. J., & Alam, O. (2024). Dapagliflozin: A new hope for the therapeutic treatment of type 2 diabetes mellitus. *European Journal of Medicinal Chemistry Reports, 11*, 100167. https://doi.org/10.1016/j.ejmcr.2024.100167.

Matsushita, H., Chang, E., Glassford, A. J., Cooke, J. P., Chiu, C. P., & Tsao, P. S. (2001). eNOS activity is reduced in senescent human endothelial cells: Preservation by hTERT immortalization. *Circulation research, 89(9*), 793–798.

Matzkin, M.E., Calandra, R.S., Rossi, S.P., Bartke, A., Frungieri, M.B. 2021. Hallmarks of Testicular Aging: The Challenge of Anti-Inflammatory and Antioxidant Therapies Using Natural and/or Pharmacological Compounds to Improve the Physiopathological Status of the Aged Male Gonad. *Cells. Nov 10;10(11)*:3114. doi: 10.3390/cells10113114. PMID: 34831334.

Mescher, A. L. (2013). Chapter 21. The male reproductive system. In *Junqueira's Basic Histology* (13th ed.). New York: McGraw-Hill.

Nagahama, Y., & Canakis, A. (2023). Physiology, male reproductive system. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. Retrieved from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538429/

Nathan, D. M. (2015). Diabetes: Advances in diagnosis and treatment. *JAMA, 314*(10), 1052–1062. doi:10.1001/jama.2015.9536.

Nguyen-Powanda, P., & Robaire, B. (2020). Oxidative stress and reproductive function in the aging male. *Biology, 9*(9), 282. https://doi.org/10.3390/biology9090282.

Numao, N., Masuda, H., Sakai, Y., Okada, Y., Kihara, K., and Azuma, H. 2007. Roles of attenuated neuronal nitric-oxide synthase protein expression and accelerated arginase activity in impairing neurogenic relaxation of corpus cavernosum in aged rats. *BJU Int. 99(6),* 1495–1499. doi:10.1111/j.1464-410X.2007.06860.x. PMID:17428245.

Obukohwo, O. M., Kingsley, N. E., Rume, R. A., & Victor, E. (2021). The concept of male reproductive anatomy. *IntechOpen*. https://doi.org/10.5772/intechopen.99742.

Packer, M. (2020). SGLT2 inhibitors and the reduction of interleukin-6 and TNF-α: A rationale for benefit in heart failure and beyond. *Circulation, 141*(10), 830–833. https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.119.044813

Papanas, N., & Maltezos, E. (2009). Metformin: A review of its use in the treatment of type 2 diabetes. *Clinical Medicine: Therapeutics, 1*, 1367–1381. https://doi.org/10.4137/CMT.S1308.

Park, D. C., & Yeo, S. G. (2013). Aging. *Korean Journal of Audiology, 17*(2), 39–44. https://doi.org/10.7874/kja.2013.17.2.39.

Patrão, M. T. C. C., Silva, E. J. R., & Avellar, M. C. W. (2009). Androgens and the male reproductive tract: An overview of classical roles and current perspectives. *Arquivos*

Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia, 53(8), 934–945. https://doi.org/10.1590/S0004-27302009000800012.

Pelusi, C. (2022). The effects of the new therapeutic treatments for diabetes mellitus on the male reproductive axis. *Frontiers in Endocrinology, 13*, 821113. https://doi.org/10.3389/fendo.2022.821113.

Pickup, J. C., & Williams, G. (2003). *Diabetes* (Vol. 1, 3rd ed.). Oxford, London: Blackwell Scientific Publications.

Pola, G. (2015). *Anatomy of reproductive system*.

Qiu, Q., Chen, J., Xu, N., Zhou, X., Ye, C., Liu, M., & Liu, Z. (2023). Effects of autonomic nervous system disorders on male infertility. *Frontiers in Neurology, 14*, 1277795. https://doi.org/10.3389/fneur.2023.1277795.

Ribeiro, J. C., et al. (2019). The antidiabetic drug metformin and male fertility: An update. *Int J Diabetol Vasc Dis Res, 7(1e*), 1–3. https://doi.org/10.19070/2328-353X-1900014e

Ripsin, C. M., Kang, H., & Urban, R. J. (2009). Management of blood glucose in type 2 diabetes mellitus. *American Family Physician, 79*(1), 29–36.

Ross, M. H., Kaye, G. I., & Pawlina, W. (2015). *Histology: A text and atlas: With cell and molecular biology* (7th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.

Roy, R., Wilcox, J., Webb, A. J., & O'Gallagher, K. (2023). Dysfunctional and Dysregulated Nitric Oxide Synthases in Cardiovascular Disease: Mechanisms and Therapeutic Potential. *International journal of molecular sciences, 24(20*), 15200.

Scisciola, L., Cataldo, V., Taktaz, F., Fontanella, R. A., Pesapane, A., Ghosh, P., Franzese, M., Puocci, A., De Angelis, A., Sportiello, L., Marfella, R., Barbieri, M. (2022). Anti-inflammatory role of SGLT2 inhibitors as part of their anti-atherosclerotic activity: Data from basic science and clinical trials. *Frontiers in cardiovascular medicine, 9*, 1008922.

Sharma, A., & Purohit, G. (2023). Physiological consequences of immune aging at organs level. *Indian Journal of Experimental Biology, 61*(9), 667–672.

Sieck, G. C. (2003). Physiology of aging. *Journal of Applied Physiology, 95*(4), 1333–1334. https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00718.2003.

Süer, E., Gülpınar, Ö., & Yaman, Ö. (2012). The effects of aging on fertility in men. *Turkish Journal of Urology, 38*(1), 40–43. https://doi.org/10.5152/tud.2012.009.

Tai, S., Zhou, Y., Fu, L., Ding, H., Zhou, Y., Yin, Z., Yang, R., Liu, Z., & Zhou, S. (2023). Dapagliflozin impedes endothelial cell senescence by activating the SIRT1 signaling pathway in type 2 diabetes. *Heliyon, 9(8*), e19152.

Tajar, A., Forti, G., O'Neill, T. W., Lee, D. M., Silman, A. J., Finn, J. D., … Wu, F. C. W. (2010). *Characteristics of secondary, primary, and compensated hypogonadism in aging men: Evidence from the European Male Ageing Study*. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 95(4), 1810–1818. https://doi.org/10.1210/jc.2009-1796

Tammasse, I. F. U., & Tamrin, F. (2023). Different of hypothalamic-pituitary-gonadal axis in male and female. *Reproductive Medicine International, 6*(1), 023. https://doi.org/10.23937/2643-4555/1710023.

Tseng, C.-H. (2022). The effect of metformin on male reproductive function and prostate: An updated review. *World Journal of Men's Health, 40*(1), 11–29. https://doi.org/10.5534/wjmh.210001.

Turan, E., & Kulaksızoğlu, M. (2015). Tip 2 diyabet tedavisinde güncel yaklaşımlar. *Okmeydanı Tıp Dergisi, 31*(Ek sayı), 86–94. https://doi.org/10.5222/otd.2015.08687.

Vieira, M. O., Silva, N. C. A., & Souza, M. H. L. P. (2021). Neonatal metformin short exposure inhibits male reproductive dysfunction caused by a high-fat diet in adult rats. *Reproductive Toxicology, 100,* 198–207. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2020.12.005

Wang, M., Liu, X., Chen, Z., Chen, H., & Tan, Y. (2020). Metformin suppressed tumor necrosis factor-α-induced epithelial-mesenchymal transition in prostate cancer by inactivating the NF-κB signaling pathway. *Translational cancer research, 9(10*), 6086–6095.

Xiong, S., Mo, D., Wu, Y., Wu, P., Hu, Y., & Gong, F. (2023). The effect of dapagliflozin on myocardial ischemia-reperfusion injury in diabetic rats. *Canadian journal of physiology and pharmacology, 101(2)*, 80–89.

Xiong, S. X., Huang, L. J., Liu, H. S., Zhang, X. X., Li, M., Cui, Y. B., Shao, C., Hu, X. L. (2025). Dapagliflozin exerts anti-apoptotic effects by mitigating macrophage polarization via modulation of the phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B signaling pathway. *World journal of diabetes, 16(2),* 97287.7

Yadav, P., & Mali, P. C. (2024). Testicular inflammation in male reproductive system. *Exploration of Immunology, 4,* 446–464. https://doi.org/10.37349/ei.2024.00151.

Yaribeygi, H., Butler, A. E., Sahebkar, A. (2019). Anti-inflammatory effects of metformin: A mechanistic and therapeutic insight. *Biomedicine & Pharmacotherapy, 112,* 108731. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108731

Yazir, Y., Gocmez, S.S., Utkan, T., Komsuoglu-Celikyurt, I., Gacar, N., and Sarioglu, Y. 2012. Effects of chronic low- and high-dose ethanol intake on the nitrergic relaxations of corpus cavernosum and penile nitric oxide syntase in the rabbit. *Int. J. Impot. Res. 24(5*), 185–190. doi:10.1038/ijir.2012.14. PMID: 22573232.

Yu, J. W., Deng, Y. P., Han, X., Ren, G. F., Cai, J., & Jiang, G. J. (2016). Metformin improves the angiogenic functions of endothelial progenitor cells via activating AMPK/eNOS pathway in diabetic mice. *Cardiovascular diabetology, (15)*, 88.

Zhang, T., Zhou, L., Makarczyk, M. J., Feng, P., & Zhang, J. (2025). The Anti-Aging Mechanism of Metformin: From Molecular Insights to Clinical Applications. *Molecules (Basel, Switzerland), 30(4*), 816.

Zhang, J., Chen, X., Lv, S., & Hao, Q. (2025). Dapagliflozin inhibits ferroptosis to improve chronic heart failure by regulating Nrf2/HO-1/GPX4 signaling pathway. *PloS one, 20(1*), e0317295.

Zheng, H., Wang, Q., & Si, M. (2025). Dapagliflozin combined with metformin improves blood glucose, bone metabolism and bone mineral density in elderly patients with type 2 diabetes mellitus complicated with osteoporosis. *The Kaohsiung journal of medical sciences, 41(3*), e12937.

Zhuang, B., et al. (2024). Mechanisms of erectile dysfunction induced by aging: A comprehensive review. *Andrology*. https://doi.org/10.1111/andr.13778

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	MERVE CİNGÖZ
Doğum Yeri ve Tarihi	
Telefon	
E-posta	
Eğitim Bilgileri (Tarih Sırasına Göre)	
Mesleki Deneyim/İşyeri Bilgileri	
Yabancı Dil Bilgileri	
Bildiriler	G. Çelebi, G. Bugutekin, S.S. Gocmez, K Kavram Sarıhan, S Furat Rencber , F. Ö. Halis, M Cingöz, Ö Barış, T Utkan, (2023) "Bempedoic acid attenuates cognitive impairment and depression-like behavior in middle-aged rats" ECNP 2023