



**COVID-19 TEDAVİSİNDE KULLANILAN AJANLARIN ERKEK GENİTAL
SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Asiye Ash EMNİYET SERT

**DOKTORA TEZİ
HİSTOLOJİ - EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

TEMMUZ 2024

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Asiye Aslı EMNİYET SERT

01/07/2024

COVID-19 TEDAVİSİNDE KULLANILAN AJANLARIN ERKEK GENİTAL SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

(Doktora Tezi)

Asiye Aslı EMNİYET SERT

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2024

ÖZET

COVID-19 ilk olarak Çin'in Vuhan Eyaleti'nde solunum yolu belirtileri (nefes darlığı, öksürük, ateş) gelişen bir grup hastada yapılan araştırmalar sonucunda 13 Ocak 2020'de tanımlanan pandemik bir virüs hastalığıdır. Şiddetli olgularda makrofaj aktivasyon sendromu (MAS) tablosunu meydana getirir. Kronik tıbbi rahatsızlıkları olanlar, kalp hastaları, kanser hastaları, 60 yaş üstü bireyler ve sağlık çalışanları hastalıktan en çok etkilenen kişilerdir. Çalışmamızda COVID-19 tedavisinde kullanılan ilaçlarda bulunan asiklovir, hidrokliklorin sülfat, anakinra ve favipiravir etken maddelerinin erkek genital sistem üzerine etkilerinin incelenmesi ve erkek fertilitesi üzerindeki etkilerinin aydınlatılması amaçlanmıştır. Bu amaçla denekler (kontrol grupları için n=3, ilaç grupları için=6); sham kontrol-1(gavaj stresi), sham kontrol-2 (intravenöz [i.v.] enjeksiyon stresi), sham kontrol-3 (subkutan [s.c.] enjeksiyon stresi), asiklovir, hidrokliklorokin, anakinra ve favipiravir grupları olmak üzere yedi gruba ayrıldı. Alınan testis doku örnekleri %10'luk tamponlu formaldehitte tespit edilerek takip edildi. Kesitler immünohistokimyasal olarak anti-IL-1beta, anti-IL-6 ve anti-TNF-alfa antikoru ile işaretlendi. Histomorfolojik inceleme için ikili (H&E) boyama yapıldı. Johnsen' Skorlaması ile testis kesitlerinin değerlendirilmesi, Makler sayım kamerası kullanılarak sperm sayımı, Kruger yöntemi ile sperm morfolojisi değerlendirilmesi, testis dokusu düzeyinde TOS, TAS Analizi ve OSİ indeksinin belirlenmesi analizleri yapıldı. Çalışmamızdan elde edilen bulgular doğrultusunda COVID-19 tedavisinde kullanılan ajanların hem testis dokusu hem de sperm parametreleri üzerinde değişen düzeyde olumsuz etkilere sahip olduğu sonucuna ulaşıldı.

Bilim Kodu : 1033
Anahtar Kelimeler : COVID-19, Testis, IL-1beta, IL-6, TNF-alfa, sperm anomalisi
Sayfa Adedi : 109
Danışman : Prof. Dr. Gülnur TAKE KAPLANOĞLU
Eş Danışman : Doç. Dr. Cemile Merve SEYMEN

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF THE AGENTS USED IN THE TREATMENT OF COVID-19 ON THE MALE GENITAL SYSTEM

(Ph. D. Thesis)

Asiye Aslı EMNİYET SERT

GAZI UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL HEALTH SCIENCES

July 2024

ABSTRACT

COVID-19 is a pandemic virus disease that was first identified in Wuhan Province, China as a result of research conducted in a group of patients who developed respiratory symptoms (shortness of breath, cough, fever) on January 13, 2020. In severe cases, causes Macrophage Activation Syndrome (MAS). Individuals who suffer from chronic disease, heart diseases, cancer, over the age of 60 and healthcare workers are most affected by the disease. Our study aimed to examine the effects of the active ingredients Acyclovir, hydroxychlorine sulfate, anakinra and favipiravir, which are found in the drugs used in the treatment of COVID-19, on the male genital system and to elucidate their effects on male infertility. Experimental animals were divided into 7 groups (n=3 for control & n=6 for drug groups); sham control-1,2,3 (gavage-intravenous injection-subcutaneous injection stress respectively), acyclovir, hydroxychloroquine, anakinra, favipiravir group. Tissue samples were fixed with 10% formaldehyde and followed by light microscopy. Sections were immunohistochemically labeled with anti-IL-1 β , anti-IL-6 and anti-TNF- α antibody. H&E staining was performed for histomorphological examination. Johnson's Scoring, was performed to evaluate the damage of testicular sections. Sperm count was performed using a Makler counting chamber. Sperm morphology was evaluated by the Kruger method. TOS, TAS and OSI Index determination analyzes were performed in testes. It was concluded that the agents used in the treatment of COVID-19 have varying negative effects on both testicular tissue and sperm parameters.

Science Code : 1033
Key Words : COVID-19, testes, IL-1 β , IL-6, TNF- α , sperm anomaly
Page Number : 109
Danışman : Prof. Dr. Gülnur TAKE KAPLANOĞLU
İkinci Danışman : Doç. Dr. Cemile Merve SEYMEN

TEŞEKKÜR

Doktora öğrenimim süresince her türlü bilgi ve tecrübesini benden esirgemeyen, yetişmemde emekleri çok büyük olan, doktora eğitimim boyunca her ne olumsuzluk yaşarsam yaşayayım bana inanıp varlıklarını hissettiren, sadece bilimsel anlamda değil insani olarak da benden desteklerini esirgemeyen danışman hocalarım Doç. Dr. Cemile Merve SEYMEN ve Prof. Dr. Gülnur TAKE KAPLANOĞLU hocalarıma minnettarım. Doktora eğitimim sırasında kendilerinden çeşitli dersler aldığım, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Çiğdem ELMAS ve Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. Suna ÖMEROĞLU hocalarıma, birlikte çalışmaktan mutlu olduğum Dr. Öğr. Üyesi Duygu DAYANIR hocama ve Dr. Öğr. Ü. Esra SAVARİ ÖZKOÇER'e çok teşekkür ederim. Uzun yıllar boyunca birlikte çalıştığım Arş. Gör. mesai arkadaşlarım Deniz İrem BULUT, Gökçe Nur ARIK EROL, Pınar KAÇAMAK ve Müşerref Şeyma CEYHAN arkadaşlarıma ve bana ruhen iyi gelen canım arkadaşım Dr. Öğr. Üyesi Pakize Nur AKKAYA'ya çok teşekkür ederim. Ayrıca tezime farklı noktalarda destek olan Sayın Uzm. Dr. İskender KAPLANOĞLU ve Dr. Öğr. Üyesi Ercan AYAZ hocalarıma da teşekkürü borç bilirim.

Yaşamama imkan veren, doğduğum günden bugüne daima emeklerini esirgemedi beni bugüne getiren, okutan, bana ve potansiyelime her daim inanan annem Öğretmen Nilüfer Mehtap BİÇMEN'e, benden sevgi ve emeklerini esirgemeyen sevgi dolu kalbiyle yanımda olan saygıdeğer dayım Faysal BİÇMEN'e, sonsuzlukta bir yerde olduklarını düşündüğüm ve ruhen yanımda olduklarını hissettiğim ani ve erken kaybettiğim babam Atilla EMNİYET'e, bana daima inanan rahmetli anneannem Fazilet BİÇMEN ve rahmetli teyzem Emine SERT'e çok teşekkür ederim. Varlıkları ile güç bulduğum, bana daima sevgi ve saygı duyan kardeşlerim Nihat Egemen'e, Atilla Samed'e, en yakın arkadaşım olarak bildiğim ve hayatımın sonuna kadar öyle olacak olan biricik kız kardeşim Derya Gülenay'a ve uzak yol vardiya zabiti sevgili eşim Kadir SERT'e çok teşekkür ederim. Bana bu eğitimi alma ve bilim doktoru olma imkanını sunan ülkeme vatanıma ve devletime sonsuz saygı ve teşekkürü borç bilirim. En büyük teşekkürü de en zor ve ıssız hissettiğim anlarda küçücük bedeni ama kocaman kalbi ve kara kara bakan gözleri ile bakarak içimi ısıtan, her an yanımda olan, yaşadığım zorluklara rağmen pes etmeden devam etme nedenim olan canım oğlum Edis Mete SERT'e ve yakında kucağıma almayı umut ettiğim küçük oğlum Teoman Bora SERT'e borçluyum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
EŞİTLİKLERİN LİSTESİ	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xviii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Testisin Gelişimi.....	3
2.1.1. Testislerin inişi	4
2.2. Testis Anatomisi	5
2.2.1. Testis'in damarları.....	7
2.2.2. Testis'in lenf drenajı.....	8
2.2.3. Testis'in sinirleri	8
2.3. Testis'in Histolojisi.....	8
2.3.1. Seminifer tübüller.....	9
2.3.2. İntersitisyel doku	12
2.3.3. Kan-testis bariyeri	12
2.4. Testis Fizyolojisi.....	13
2.5. Yeni Koronavirüs Hastalığı (COVID-19)	14
2.6. COVID-19 Salgınında Sitokin Fırtınası ve Etkili Sitokinler	16

	Sayfa
2.6.1. İnterlökin-1Beta	17
2.6.2. İnterlökin-6.....	17
2.6.3. Tümör nekrozis faktörü-alfa.....	18
2.7. Sitokin Fırtınası Sonrası Oksidatif Stres	19
2.7.1. Serum total oksidan kapasite (TOS).....	20
2.7.2. Serum total antioksidan kapasite (TAS).....	20
2.7.3. Oksidatif stres tanımı ve oksidatif stres indeksi (OSİ).....	20
2.8. COVID -19 Salgını Tedavisinde Kullanılan Ajanlar	20
2.8.1. Favipiravir	21
2.8.2. Hidroksiklorokin	22
2.8.3. Asiklovir.....	23
2.8.4. Anakinra.....	24
3. YÖNTEM.....	25
3.1. Deney Hayvanları	25
3.2. Laboratuvar Koşulları.....	25
3.2.1. Deneyde kullanılan ajanlar.....	25
3.3. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Deneyin Uygulanması	26
3.4. Deneyin Sonlandırılması	27
3.5. Histokimyasal Yöntem	27
3.5.1. Hematoksilen-eozin boyama yöntemi.....	28
3.6. İmmünohistokimyasal Yöntem.....	29
3.7. Makler Sayım Kamarası Kullanılarak Sperm Sayımı	30
3.8. Kruger Yöntemi ile Sperm Morfolojisi Değerlendirilmesi	31
3.9. Testis Kesitlerinin Johnsen's Skorlaması ile Değerlendirilmesi	32
3.10.TOS, TAS Analizi ve OSİ İndeksinin Belirlenmesi	32
3.10.1.Total oksidan kapasite (TOS) analizi	32

	Sayfa
3.10.2.Total antioksidan kapasite (TAS) analizi	33
3.10.3.Oksidatif stres indeksi (OSI) hesaplama	35
3.11.İstatistiksel Yöntem.....	35
4. BULGULAR	37
4.1. Hematoksilen-Eozin Boyama Bulguları.....	37
4.2. TNF-ALFA İmmünohistokimya Boyama Bulguları	47
4.3. IL-1 ALFA İmmünohistokimya Boyama Bulguları	53
4.4. IL-6 İmmünohistokimya Boyama Bulguları	57
4.5. SPERMAC Boyama Bulguları	62
4.6. İstatistiksel Değerlendirme	66
5. TARTIŞMA.....	73
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	89
KAYNAKLAR	91
EKLER.....	103
EK-1. Etik Kurul Onay Yazısı	104
EK-2. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu Sertifikası.....	106
ÖZGEÇMİŞ	107

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Deney gruplarının düzenlenişı, denek sayısı ve deneyde kullanılan ilaçların dozları ile uygulama süreleri.....	26

EŞİTLİKLERİN LİSTESİ

Eşitlik	Sayfa
Eşitlik 3.10.1. Total oksidan kapasite ölçümleinin hesaplanması formülü.....	33
Eşitlik 3.10.2. Total antioksidan kapasite ölçümleinin hesaplanması formülü.....	34
Eşitlik 3.10.3.Oksidatif stres indeksi hesaplanması formülü.....	35

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. Tüm deney grupları için yapılan Johnsen Skor verilerine ait karşılaştırmalı istatistiksel grafik (*İstatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar) ..	67
Şekil 4.2. Tüm deney grupları için yapılan spermiogram verilerine ait karşılaştırmalı istatistiksel grafik (*İstatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar) ..	68
Şekil 4.3. Tüm deney grupları için yapılan Kruger analizi verilerine ait karşılaştırmalı istatistiksel grafik (*İstatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar) ..	69
Şekil 4.4. Tüm deney grupları için yapılan H-Skor analizi verilerine ait karşılaştırmalı istatistiksel grafik (*İstatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar) ..	70
Şekil 4.5. Tüm deney grupları için yapılan TAS/TOS/OSI analizi verilerine ait karşılaştırmalı istatistiksel grafik (*İstatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar)	71

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Makler kamarası.....	31
Resim 4.1. Gavaj Stresi Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunda küçük büyütmede seminifer tübül enine kesiti St: Seminifer Tübül, Kd: kan damarı, Tv: Tunika vasküloza (H&E, 10x büyütme).....	37
Resim 4.2. Gavaj Stresi Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunda büyük büyütmede seminifer tübül enine kesiti. Ge: Germinal epitel, Ser: Sertoli hücresi, Sg: Spermatogonyum, Ps: Primer spermatosit, S: Spermatit, L: Leydig hücresi, Mh: Miyoid Hücreler, (*): Spermatozoa (H&E, 40x büyütme)	38
Resim 4.3. İntravenöz Enjeksiyon Stresi Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunda küçük büyütmede seminifer tübül enine kesiti St: Seminifer Tübül, Tv: Tunika vasküloza, Ö: ödem (H&E, 10x büyütme)	39
Resim 4.4. İntravenöz Enjeksiyon Stresi Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunda büyük büyütmede seminifer tübül enine kesiti, Ser: Sertoli hücresi, Sg: Spermatogonyum, Ps: Primer spermatosit, S: Spermatit, L: Leydig hücresi, Mh: Miyoid Hücreler, (*): Spermatozoa (H&E, 40x büyütme).	39
Resim 4.5. Subkutan Enjeksiyon Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunda küçük büyütmede seminifer tübül enine kesiti St: Seminifer Tübül, Tv: Tunika vasküloza (H&E, 10x büyütme).....	40
Resim 4.6. Subkutan Enjeksiyon Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunda büyük büyütmede seminifer tübül enine kesiti, Ge: germinal epitel, İBd: intersitisyel bağ doku, (*): Spermatozoa (H&E, 40x büyütme).....	40
Resim 4.7. Asiklovir Grubuna ait testis dokusunda küçük büyütmede seminifer tübül enine kesiti, Tv: tunika vasküloza normal yapıda, Ö: germinal epitelde ödem, *: lümendeki spermatozoa sayısında azalma, İBd: interstisyel bağ dokusu yoğunluğunda azalma, Kd: dilatasyon ve konjesyon gözlelenen kan damarı. (H&E, 10x büyütme).....	41
Resim 4.8. Asiklovir Grubuna ait testis dokusunda büyük büyütmede seminifer tübül enine kesiti, Ll: lamina limitans bütünlüğünde bozulma, Ge: Germinal epitelin bazalinde bağlantı kaybı, H: seminifer tübül lümeninde hyalinizasyon, (*): Spermatozoa sayısında azalma, İBd: intersitisyel bağ dokuda kayıp, L: Leydig hücrelerinde vakualizasyon, (H&E, 40x büyütme)	42
Resim 4.9. Hidroksiklorokin grubuna ait testis dokusunda küçük büyütmede seminifer tübül enine kesiti, Tv: Tunica vaskülozada fibrosis, Kd: Kan damarında konjesyon ve dilatasyon, İBd: intersitisyel bağ dokuda vakuolizasyon, H: Hiyalinizasyon, Ge: Germinal epitelin bazalinde ayrılma, (*): Spermatozoa sayısında azalma (H&E, 10x büyütme).....	43

Resim	Sayfa
Resim 4.10. Hidroksiklorokin Grubuna ait testis dokusunda büyük büyütmede seminifer tübül enine kesiti V: intersitisyel bağ dokuda vakuolizasyon, H: intersitisyel bağ dokuda hiyalinizasyon, A: Germinal epitelin bazalinde ayrılma, Ö: spermatogenik serii hücreleri arasındaki ödem, (*): Spermatozoa sayısında azalma (H&E, 40x büyütme).....	43
Resim 4.11. Anakinra Grubuna ait testis dokusunda uygulanan grupta testis dokusunda küçük büyütmede seminifer tübül enine kesiti. Tv: tunica vaskülozada fibrosis, Kd: kan damarında konjesyon ve dilatasyon, V: intersitisyel bağ dokuda vakuolizasyon, A: germinal epitelin bazalinde ayrılma, Ö: germinal epiteldeki ödem, (*): spermatozoa bulunması gereken lümende hücresel atıklar (H&E, 10x büyütme).....	45
Resim 4.12. Anakinra Grubuna ait testis dokusunda uygulanan grupta testis dokusunda küçük büyütmede seminifer tübül enine kesiti. V: intersitisyel bağ dokuda vakuolizasyon, Ö: germinal epiteldeki ödem, Ser: Sertoli Hücreleri, S: spermatogonyum hücreleri, (*): spermatozoa kaybı (H&E, 40x büyütme)	45
Resim 4.13. Favipiravir Grubuna ait testis dokusunda uygulanan grupta testis dokusunda küçük büyütmede seminifer tübül enine kesiti. Tv: kolajen lif miktarı artmış tunica vasküloza, Kd: kan damarında konjesyon ve dilatasyon, V: intersitisyel bağ dokuda vakuolizasyon, A: germinal epitelin bazalinde ayrılma, Ö: germinal epiteldeki ödem, H: intersitisyel bağ dokuda hiyalinizasyon, (H&E, 10x büyütme).....	46
Resim 4.14. Favipiravir Grubuna ait testis dokusunda uygulanan grupta testis dokusunda büyük büyütmede seminifer tübül enine kesiti. V: intersitisyel bağ dokuda vakuolizasyon, A: germinal epitelin bazalinde ayrılma, S: spermatogonyum hücreleri, Ser: Sertoli hücreleri, (*): spermatozoa bulunması gereken lümende spermatozoa bulunmaması (H&E, 40x büyütme)	47
Resim 4.15. Gavaj Stresi Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde TNF-alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: zayıf sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri, S: tutulum göstermeyen spermatogenik serii hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset).....	48
Resim 4.16. İntravenöz Enjeksiyon Sham Kontrol grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde TNF-alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: zayıf sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri, S: tutulum göstermeyen spermatogonyum hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset).....	48

Resim	Sayfa
Resim 4.17. Subkutan Enjeksiyon Sham Kontrol grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde TNF-alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: zayıf sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri, S: tutulum göstermeyen spermatogonyum hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset).....	49
Resim 4.18. Asiklovir Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde TNF-alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: zayıftan ortaya değişen sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri, S: zayıf sitoplazmik tutulum gösteren spermatogenik seri hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset)....	50
Resim 4.19. Hidroksiklorokin Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde TNF-alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: zayıf sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri, S: zayıf sitoplazmik tutulum gösteren spermatogonyum hücreleri, Ser: orta şiddette sitoplazmik tutulum gösteren Sertoli hücreleri, Sp: orta şiddette sitoplazmik tutulum gösteren spermatosit hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset).....	51
Resim 4.20. Anakinra Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde TNF-alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: şiddetli sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri, } : orta şiddetli sitoplazmik tutulum gösteren spermatogenik seri hücreleri, *: şiddetli tutulum gösteren spermatozoa hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset).....	52
Resim 4.21. Favipiravir Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde TNF-alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: şiddetli sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri, } : şiddetli sitoplazmik tutulum gösteren spermatogenik serii hücreleri, Sg: görece orta şiddette tutulum gösteren spermatogonyum hücreleri *: şiddetli tutulum gösteren spermatozoa hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset).....	53
Resim 4.22. Gavaj Stresi Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-1alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: az sayıda hücrede olmakla birlikte zayıf sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset).....	54
Resim 4.23. İntravenöz Enjeksiyon Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-1alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: az sayıda hücrede olmakla birlikte zayıf sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset).....	54

Resim	Sayfa
Resim 4.24. Subkutan Enjeksiyon Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-1alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: az sayıda hücrede olmakla birlikte zayıf sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset).....	55
Resim 4.25. Asiklovir Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-1alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: doku genelinde az sayıda olmakla birlikte orta şiddette sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset).....	55
Resim 4.26. Hidroksiklorokin Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-1alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: doku genelinde çok sayıda şiddetli sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset)....	56
Resim 4.27. Anakinra Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-1alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: doku genelinde çok sayıda şiddetli sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset)....	56
Resim 4.28. Favipiravir Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-1alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: doku genelinde çok sayıda çok şiddetli sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset)....	57
Resim 4.29. Gavaj Stresi Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-6 antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. Doku genelinde immüntutulum izlenmedi (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset).....	58
Resim 4.30. İntravenöz Enjeksiyon Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-6 antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. Doku genelinde immüntutulum izlenmedi (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset)	58
Resim 4.31. Subkutan Enjeksiyon Stresi Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-6 antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. Doku genelinde immüntutulum izlenmedi (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset).....	59
Resim 4.32. Asiklovir Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-6 antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. Mh: şiddetli pozitif tutulum gösteren peritübüler miyoid hücreler, (*): şiddetli tutulum gösteren spermatozoa hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset).....	59

Resim	Sayfa
Resim 4.33. Hidroksiklorokin Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-6 antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. Mh: şiddetli pozitif tutulum gösteren peritübüler miyoid hücreler, Sg: doku genelinde az sayıda olmakla birlikte şiddetli pozitif tutulum gösteren spermatogonyum (*): şiddetli tutulum gösteren spermatozoa hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikrograf -20x inset).....	60
Resim 4.34. Anakinra Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-6 antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. Sg: doku genelinde neredeyse tüm spermatogonyum hücreleri şiddetli pozitif tutulum göstermektedir, (*): şiddetli tutulum gösteren spermatozoa hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikrograf -20x inset).....	61
Resim 4.35. Favipiravir Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-6 antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. Mh: şiddetli pozitif tutulum gösteren peritübüler miyoid hücreler, Sg: doku genelinde şiddetli pozitif tutulum gösteren spermatogonyum hücreleri, L: doku genelinde çok sayıda zayıf sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikrograf -20x inset)....	61
Resim 4.36. Normal morfolojiye sahip rat spermiyumları (→): baş, (➔): akrozom, (↪): boyun, (↯): kuyruk (Spemac x100).....	62
Resim 4.37. Rat spermiyumlarında gözlemlenen pin head ya da kanca formundaki baş anomalileri (→): baş anomalileri (Spemac x100)	63
Resim 4.38. Rat spermiyumlarında akrozom yapısında silinme (➔): akrozom anomalisi (Spemac x100).....	63
Resim 4.39. Rat spermiyumlarında boyun anomalisi örnekleri, boyuna kalınlaşma ya da normalden fazla kıvrık boyun morfolojisi (↪): boyun anomalisi (Spemac x100)	64
Resim 4.40. Rat spermiyumlarında kuyruk anomalisi örnekleri, boyuna kalınlaşma ya da normalden fazla kıvrık boyun morfolojisi (↯): kuyruk anomalisi (Spemac x100)	64
Resim 4.41. Rat spermiyumlarında kuyruk anomalisi örnekleri, kuyrukta sitoplazmik droplet (➤): sitoplazmik droplet (Spemac x100)	65
Resim 4.42. Rat spermiyumlarında çoklu sperm anomalisi örnekleri (→): baş anomalisi, (➔): akrozom anomalisi, (↪): boyun anomalisi, (↯): kuyruk anomalisi, (➤): sitoplazmik droplet (Spemac x100).....	65
Resim 4.43. Rat spermiyumlarında aglütinasyon (Spemac x100)	66

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
cm	santimetre
°C	Celcius Derece, Santigrad Derece
Dk	dakika
dl	desilitre
gr	gram
kDa	kiloDalton
lt	litre
mg	miligram
nm	nanometre
ngr	nanogram
P	istatistiksel olarak anlamlılık değeri
pH	bir maddenin hidrojen gücü (power of hydrogen)
rpm	dakikadaki devir sayısı (revolution per minute)
Δ Abs	absorbans değerleri farkı
μ L	mikrolitre
μ m	mikrometre, mikron
μ mol	mikromol
%	1/100, yüzde
2n	diploit kromozom takımı
cc	cubic centimetre(s), santimetre küp
kda	kiloDalton
kg	kilogram
M	Molarite
ml	mililitre

Kısaltmalar**Açıklamalar**

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ABTS	2,2'azinobis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonat
ACE	Anjiyotensin dönüştürücü enzim (angiyotensin converting enzyme)
AIDS	edinilmiş bağışıklık yetersizliği sendromu (acquired immunodeficiency syndrome)
ALP	Alanin amino transferaz
AMH	Anti Müllerian Hormon
ANOVA	Varyans analizi (Analysis of variance)
ARSD	Akut solunum sıkıntısı sendromu hastalığı (Acute respiratory distress syndrome disease)
BSF2	B hücresi uyarıcı faktör - 2
cAMP	Siklik adenosin monofosfat
CAPS	Juvenil idiyopatik artrit ve cryopyrin ilişkili periyodik sendromlar
CASP1/ICE	kaspaz 1 / interlekin 1 dönüştürücü enzim
CAT	Katalaz
CDF	Kolinerjik gelişme faktörü
COVID-19	Koronavirüs hastalığı-19 (Coronavirus Disease – 19)
COX	Siklooksijenaz enzimi
CRP	C reaktif protein
CTL	Sitotoksik T lenfosit farklılaşma faktörü
DIS	Serum disülfid seviyesi
DNA	Deoksiribonükleik asit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
ELISA	Enzime bağlı immünosorbent assay (enzyme-linked immunosorbent assay)
FSH	Folikül uyarıcı hormon (follicle stimulating hormone)
GIN	Ginkgo biloba yaprağı ekstresi
GPX	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Total redükte edilen glutasyon

Kısaltmalar**Açıklamalar****GÜDAM**Gazi Üniversitesi Labaratuvar Hayvanları Yetiştirme
ve Deneysel Araştırmalar Merkezi**H&E**

Hematoksilen ve eozin ikili boyaması

H₂O

dihidrojen monoksit (su)

H₂O₂

Hidrojen peroksit

HIVİnsan immünyetmezlik virüsü (Human
immunodeficiency virüs)**HPV**

İnsan papilloma virüsü (human papilloma virüs)

HSV

Herpes simpleks virüsü

HX-Fe⁺

Miyoglobin

ICAM-1

İnterselüler hücre adezyon molekülü – 1

IFN- γ

İnterferon-gama

IFN

İnterferon

IFN- α İnterferon- α **IFN β** İnterferon β **IFN β -2**İnterferon β - 2**IL-10**

interlökin-10

IL-12

interlökin-12

IL-15

interlökin-15

IL-18

interlökin-18

IL1F2

İnterlökin 1 gen ailesi proteini 2

IL1- β

interlökin 1-beta

IL-23

interlökin-23

IL-28

interlökin-28

IL-6

interlökin-6

IVIG

İntravenöz immünoglobulin

İ/R

İskemi/reperfüzyon

im

intramüsküler

iNOS

İndüklenebilir nitrik oksit sentaz enzimi

iv

İntravenöz

JAK

Janus kinaz enzimi

LH

Lüteinleştirici hormon

Kısaltmalar**Açıklamalar****MAS**

Makrofaj aktivasyon sendromu

MDA

Malondialdehit

MERS-COV2

Ortadoğu solunum sendromu koranovirüsü (Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus)

MIS

Müllerien inhibe edici madde (Müllerian inhibiting substance)

MPO

Miyeloperoksidaz

mRNA

mesajcı RNA

MTX

Metotreksat

NF-κB

Nükleer fakör-kappa beta

NK

Doğal öldürücü hücreler

NO

Nitrik oksit

NT

Nativ tiol

OS

Oksidatif stres

OSI

Oksidatif stres indeksi

PBS

Fosfat tuzlu tamponu (phosphate buffered saline)

PTGS2/COX2

Prostaglandin endoperoksidaz sentaz 2 enzimi / siklooksijenaz 2

RAAS

Renin-anjiotensin-aldestron-sistemi

RdRp

RNA'ya bağlı RNA polimeraz

RNA

Reoksi ribonükleik asit

RNS

Reaktif nitrojen türleri

ROS

Reaktif oksijen türleri

RT-qPCR

Gerçek zamanlı kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (real time – quantitative polimerase chain reaction)

S proteini

Yüzey proteini (surface protein)

SARS

Şiddetli akut solunum yolu sendromu (severe acute respiratory syndrome)

sc

subkutan

SCoV

Şiddetli akut solunum yolu sendromu virüsü (severe acute respiratory syndrome virus)

SF

Serum fizyolojik

Kısaltmalar**Açıklamalar**

sHLH	sekonder hemofagositik histiyosis
SOD	süperoksid dismutaz enzimi
SPSS	Sosyal bilimler için istatistik programı (Statistical package for social sciences)
TACE	Tümör nekrosis faktörü dönüştürücü enzim
TAS	Total antioksidan kapasite
TBARS	Tiobarbutirik asit reaktif substans
TEM	Geçirimli elektron mikroskobu (transmission electron microscopy)
TİEK	Türkiye İlaç ve Ecza Kurumu
TİTCK	Türkiye ilaç ve tıbbi cihaz kurumu
TMPRS2	Transmembran Protein serin proteaz 2
TNF	Tümör nekroz faktörü
TNFSF2	Tümör nekroz faktörü süperailesi – 2
TNF-α	Tümör nekroz faktörü- α
TOS	Total oksidan kapasite
TT	Total tiol
VCAM-1	Vasküler adezyon molekülü-1
VOC	Endişe verici varyant (variant of concern)
WHO	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation)
XY	Erkek cinsiyeti belirten gonozom
Y	Erkek gamet kromozomu
γ-GTP	gama-glutamil transferaz

1. GİRİŞ

Koronavirüsler; Coronaviridae ailesine ait, tek iplikli pozitif polariteli RNA içeren, 120-160 nanometre büyüklüğünde zarfları bulunan ve heliksel nükleokapsitli virüslerdir. Zarf üzerinde 20 nm uzunluğunda ve virüse taç görünüşü veren peplomerler bulunması nedeniyle bu ailede bulunan virüsler Latince taç anlamına gelen “Coronaviridae” ailesindendir. Pozitif polariteli olmaları nedeniyle sahip oldukları nükleik asit mRNA gibi davranır ve doğrudan sitoplazmada replike olup sitoplazmik veziküllerden tomurcuklanırlar. Bu aile virüsleri hayvanlardan insanlara kadar oldukça geniş bir konak spektrumuna sahiptir ve yüksek patojenite göstermektedir. İlk tanımlandıklarında insanlarda sadece hafif üst solunum yolu enfeksiyonuna neden oldukları düşünülen bu virüslerden, 2003 yılında tanımlanan SARS Koronavirüsün (SCoV), yüksek mortalite oranına sahip akut solunum yolu enfeksiyonuna neden olduğu gözlemlendi (Ustaçelebi ve Us, 2008). Koronavirüs (COVID-19) tüm dünyayı etkisine alan bir pandemi olarak gün geçtikçe yayılan ve henüz etkin bir antiviral ajanın tedavi için belirlenemediği bir virüstür.

Bir hastalığın veya enfeksiyon etkeninin ülkelerde, kıtalarda, hatta tüm dünya gibi çok geniş bir alanda yayılım göstermesi durumuna pandemi adı verilmektedir (Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı-1).

Yeni Koronavirüs Hastalığı (COVID-19) ilk olarak Çin’in Vuhan Eyaleti’nde solunum yolu belirtileri (nefes darlığı, öksürük, ateş) gelişen bir grup hastada yapılan araştırmalar sonucunda 13 Ocak 2020’de tanımlanan bir virüs hastalığıdır. Salgın ilk olarak Çin’in Vuhan Eyaleti’ndeki deniz ürünleri ve hayvan pazarında bulunan bireylerde tespit edilmiştir. Daha sonra insandan insana bulaşarak Vuhan başta olmak üzere sırasıyla Hubei eyaletindeki diğer şehirlere, Çin Halk Cumhuriyeti’nin diğer eyaletlerine ve tüm dünya ülkelerine yayılmıştır (Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı-2).

Kronik tıbbi rahatsızlıkları olan insanlar (hipertansiyon, diyabet, kronik solunum yolu hastalığı), kalp hastaları, kanser hastaları, 60 yaş üstü bireyler ve sağlık çalışanları hastalıktan en çok etkilenen kişilerdir. Klinikte COVID-19 destek tedavileri immün (konvelesan) plazma, intravenöz immünglobulin (IVIG), interlökin-6 (IL-6) antagonistleri, janus kinaz (JAK) inhibitörleri anakinra, sitokin uzaklaştırma, plazmaferez uygulamaları yapılmaktadır. COVID-19 hastalığında ilk 5-7 gün içinde en sık gözlenen yakınmalar ateş, öksürük ve solunum zorluğudur. İlk olarak antiviral içerikli tedaviler verilir ve hastaların

önemli bir kısmı iyileşir. Genellikle sonraki beş-on gün içinde hastaların %15'inde yakınmalar artabilir ve ilerleyen süreçte hastalığın şiddeti artar. SARS-CoV-2 enfeksiyonuna vücudun verdiği yanıt kandaki proinflatuvar sitokinlerde artış, immün disregülasyon ve sonuçta doku hasarlanmaları şeklinde gelişen Makrofaj Aktivasyon Sendromu (MAS) veya sekonder Hemofagositik Lenfositik Lenfositik Lenfositik (sHLH) olarak da adlandırılan sitokin fırtınası şeklinde gelişebilir (Atalay ve Ersan, 2020).

COVID-19 tüm dünyayı etkisine alan bir pandemi olarak gün geçtikçe yayılan ve henüz etkin bir antiviral ajanın tedavi için belirlenemediği bir virüstür. Günümüzde kullanılan tedavi protokollerinde mevcut antiviral ajanlar ile sitokin fırtına blokörlerinden yararlanıldığı bilinmektedir. Ancak bu ajanların erkek üremesindeki olası etkilerine ait hiçbir kanıt bulunmamaktadır. Tedavide ülkemizde ilk dönemde klinikte acil durum önlemi olarak pek çok ilaç denemesi yapılmıştır. Bunlar arasında nükleotid analogu olan remdesivir, virüs – konak hücre füzyonunu pH değişiklikleri sağlayarak engelleyen hidroksiklorokin, selektif olarak RNA'ya bağlı RNA polimeraz inhibitörü olan favipiravir, makrolid bir antibiyotik grubu olan ve immünmodülatör etki göstereceği beklentisiyle uygulanan azitromisin, HIV/AIDS tedavisinde kullanılan bir proteaz inhibitörü olarak kullanılan lopinavir/ritonavir gibi pek çok ajan denenmiştir. Yine destek tedavi amacıyla immün (konvelesan) plazma, intravenöz immünoglobulin uygulaması, IL-6 antagonistleri uygulamak, sitokin uzaklaştırma ve plazmaferez denemeleri de yapılmıştır (Atalay ve Ersan, 2020).

Bu mevcut ve sınırlı bilgilerden yola çıkarak bu çalışmada özellikle COVID-19 tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilaçlarda bulunan asiklovir, hidroksiklorin sülfat, anakinra ve favipiravir etken maddelerinin erkek genital sistem üzerine etkilerinin incelenmesi ve erkek fertilitesi üzerindeki etkilerinin aydınlatılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testisin Gelişimi

İnsanda gelişimin 7. haftasına kadar gonadal gelişim erkek ve dişi bireylerde aynıdır. Bu nedenle bu ilk 7 haftalık süre, embriyonun farklanmamış gonadal evresi olarak adlandırılır. Farklanmamış gonadal evrede gonadlar mezonefrik kanalın üzerinde mezenşimin yoğunlaşması ile uzunlamasına seyreden bir kabartı şeklinde gonadal sırtı oluşturur. Gelişimin 6. haftasına kadar bu gonadal kabartıda germ hücreleri bulunmazlar. 5. haftanın sonunda primordiyal germ hücreleri vitellüs (yolk) kesesinin allantoyise yakın olan duvarından hareket ederek primitif son bağırsağın endodermi içinden ameboid hareketlerle ilerler ve son bağırsağın mezenterinden dorsale geçerek primitif genital kabarıklığa göç etmeye başlarlar. Gelişimin 6. haftası tamamlandığında genital kabartının içi germ hücreleri ile işgal edilmiş olur ki primordial germ hücreleri şayet genital kabarıklığa erişememişse gelişemezler. Öte yandan primordiyal germ hücreleri genital kabarıklığa göç ederken genital kabarıklık epitelinin hücreleri de eş zamanlı olarak proliferasyona uğrayarak mezenşim içine parmak gibi uzanır ve primitif cinsiyet kordonlarını oluşturur. Primitif cinsiyet kordonları hem erkek ve hem de dişi bireylerde yüzey epiteli ile bağlantılıdır. Bu haldeki gonad farklanmamış gonaddır. Eğer embriyo genetik olarak XY kromozomlarına sahipse bu erkek birey olduğu anlamına gelir ve sahip olduğu Y kromozomu nedeniyle süreç bir miktar farklı işler. Çünkü Y kromozomu üzerinde testis belirleyici faktör adı verilen bir transkripsiyon faktörü cinsiyet kordonlarının çoğalmasını tetikler. Bu cinsiyet kordonları testisi veya medullar kordonları geliştirmek üzere medullanın iç kesimlerine doğru ilerler. Testis gelişiminde iki önemli noktaya dikkat etmek gerekmektedir. Bunlardan ilki; primordiyal germ hücrelerinden oluşan ve ileride spermatositleri oluşturacak olan spermatogonyumlardır ve vitellüs kesesinin endoderminden köken alırlar. İkinci olarak da seminifer tübüldeki ikincil tip hücreler olan ve pek çok önemli görevi olan Sertoli hücreleridir ve bunlar da mezoderm kökenlidir. 7. haftada medullar kordonlar seminifer tübül kordonlarına dönüşürken tunika albuginea gelişir. Seminifer tübüller arasında Leydig hücreleri belirir. 8. haftada testosteron dihidrotestosterona dönüştürülür ve bu sayede mezonefrik kanal ve dış genital yapılar maskülen yapıda gelişme gösterir. Testosteron salınımı en yüksek düzeyde 8-12. haftalarda gerçekleştirilir. Bu sırada Sertoli hücreleri de Anti-Müllerian Hormon (AMH-Müllerian Inhibiting Substance = MIS) salgılayarak paramezonefrik kanal gelişimini puberte zamanına kadar baskılar. İlerleyen süreçte testis kordonları at nalı şeklini alarak uç kısımları

rete testis olarak adlandırılan kısımlarla birleştirilir. Bu testis kordonları destek hücreleri olan Sertoli hücreleri ve primitif germ hücrelerinden oluşan kordonlar lümeni kapalı bir tüp şeklindedir. Kordonlar arasında ise intersitisyel Leydig hücreleri yer alır. Puberteye kadar lümeni kapalı solid bir şekilde olan kordonlar pubertede lümeni açık bir hale gelerek seminifer tübülleri oluşturur. Seminifer tübüllerden sonra sırasıyla önce rete testis sonra da duktuli eferentes kanalı açık bir kanal haline gelir. Erkek testisin kraniyalindeki mezonefroz tüpçükler atrofiye olurlar. İşte bu kraniyaldeki epigenital tübül olarak adlandırılan kanallar rete testis ile bağlantı kurarak duktuli efferentesleri meydana getirir. Testisin kaudal ucundaki paragenital tübüller rete testis ile birleşmeyerek topluca paradidimis olarak adlandırılır. Mezonefrik kanallar en kraniyaldeki kısımları hariç kıvrımlı bir yapı olarak epididimisi oluşturur. Mezonefrik kanalın vezikula seminalisin tomurcuğuna kadar uzanan kısmının etrafı kas katmanı ile sarılır ve duktus deferensi oluşturur. Bu kanalın seminal vezikülden sonraki kısmı ise ejakülatuar kanalı meydana getirir (Larsen, 2005) (Moore ve Persaud, 2002) (Sadler ve Langman, 2005).

Dış genital organların gelişimi şu şekildedir. Erkek fetüste testisten salgılanan androjenlerin etkisiyle genital tüberkül hızla gelişerek fallus yapısını meydana getirir. Fallus gelişirken üretral oluğun yan duvarlarını da oluşturur. Üretral oluk fallusun ventral yüzü boyunca uzansa da glans penise kadar ulaşmaz, oluğun epiteli endodermden köken alır. Gebeliğin 3. ayı bittiğinde karşılıklı her iki üretral plak kaynaşır ve penil üretrasını şekillendirir. 4. aydan itibaren glansın dip kısmına kadar ulaşır. Glans penisi baş kısmında deler ve eş zamanlı olarak glans penisin başında epitelyal bir çöküntü olan orificium üretra eksternayı yapar (Larsen, 2005) (Moore ve Persaud, 2002) (Sadler ve Langman, 2005).

Tuberkulum genitalisin mezenşiminden korpus kavernozum, korpus spongiosum ve tunika albuginea gelişir. Erkek inguinal bölgedeki genital kabarıklıklara skrotal kabarıklıklar denmektedir ve bu skrotal kabarıklıklar birleşerek skrotumun her bir yarımını oluşturmaktadır. Ortadaki birleşme çizgisine ise septum skroti denir (Larsen, 2005) (Moore ve Persaud, 2002) (Sadler ve Langman, 2005).

2.1.1. Testislerin inişi

Testislerin normal fizyolojik süreçlerini sağlıklı bir şekilde vücut sıcaklığından birkaç derece düşük sıcaklıklarda gerçekleştiriyor olması nedeniyle gelişimsel olarak intra abdominal

alandan inguinal bölgedeki ekstra abdominal kese içine inmelerine testis inmesi denir. Başlangıçta testisler mezonefronlar ile birlikte karın duvarına ürogenital mesenterium adı verilen kordonlar ile asılıdır. Mezonefronlar bir süre sonra dejenere olur ve geride sadece testisi asan bağlar kalır. Testisi kaudalden asan bu ligamente ligamentum genitalis caudalis denir. Ligamentin kaudalinde biriken mezenşim kaynaklı yoğun matriks dokusuna ise gibernakulum adı verilir. Testis ilk olarak gebeliğin 2. ayında inmeye başladığında, ligamentum genitalis caudalis, testisi karın yan duvarının kas üçlüsünün en dışta olanı musculus obliquus externus abdominis internus ve eksternusunun çaprazlaştığı yerde canalis inguinalisin abdominal kısmına getirir. 3. ayda peritoneal bir invajinasyonla skrotum içine getirilir, yani inguinal kanaldan gibernakulum yoluyla karın kaslarının dışına çıkarılarak skrotum içine indirilir. Bu sırada tunika vaginalis de oluşmaya başlar. İnsan fetusunda gebeliğin 7. ayında testis normal anatomik pozisyonundaki yerine inmiş olur (Larsen, 2005) (Moore ve Persaud, 2002) (Sadler ve Langman, 2005).

2.2. Testis Anatomisi

Erkek üreme organları testis, epididimis, duktus deferens, duktus ejakulatoryus, penis ile yardımcı genital bezler olan veziküla seminalis, prostat ve glandula bulbouretralisden oluşur. Genital organlar iç ve dış genital organlar (organo genitalia masculina interna ve eksterna) olarak iki gruba ayrılır (Çimen, 1987) (Çoşgun ve Aras, 1998) (Ozan ve Ozan, 2004) (Hatipoğlu 2005).

Organo genitalia masculina interna; testis, epididimis, duktus deferens, veziküla seminalis, ve duktus ejakulatoryus bu grupta yer alır.

Testis (orchis); Erkek üreme bezleri olan testisler ve funiculus spermaticusu oluşturan oluşumlar skrotumda asılıdırlar. Sağ testis 1 cm kadar yukarıdadır (Çimen, 1987) (Çoşgun ve Aras, 1998) (Ozan ve Ozan, 2004) (Hatipoğlu 2005).

Boyutları ve ağırlığı: Ortalama 4-5 cm yüksekliğinde, 2,5 cm genişliğinde ve anterioposterior kalınlığı 3 cm'dir. Ağırlığı 10,5 – 14 gr olan oval şekilli yanlardan basık bir organdır. Testisin dış yüzü facies medialis, iç yüzü facies lateralis, ön iki kenarı margo anterior arka iki kenarı margo posterior, üst ucu ekstremitas superior, alt ucu ekstremitas inferior olarak adlandırılır. Üst uç öne dışa ve yukarıya, alt uç arkaya içe ve aşağıya doğru

konumlanmış şekilde skrotum içinde eğik pozisyonundadır. Margo posterior (arka kenar) düz şekillidir ve funiculus spermaticus bu kenara tutunmuştur. Epididimis, margo posteriorun dışında testisin arka dış yüzündedir.

Testisin örtüleri sırasıyla aşağıda belirtildiği gibidir.

- 1) Deri (skrotum)
- 2) Tunika dartos
- 3) Fascia spermatica externa
- 4) Fascia cremasterica ve musculus cremaster
- 5) Fascia spermatica interna
- 6) Tunika vaginalis testis; a) Lamina parietalis (periorchium) ve
b) Lamina visceralis (epiorchium)
- 7) Tunika albuginea
- 8) Tunika vasculosa

Yukarıda belirtilen tabakalardan tunika vaginalis, tunika albuginea ve tunika vasculosa testisi sarar. Testisi saran tunika vaginalisin iki yaprağı olan parietal yaprak (periorchium) ve visseral yaprak (epiorchium) arasında kapiller bir aralık bulunmaktadır. Tunika vaginalisin visseral yaprağı (periorchium), tunika albuginea ve tunika vasculosa yapılarının üçü birden capsula testicularis (testis kapsülü) olarak isimlendirilir. Testis kapsülü kolinerjik ve adrenerjik uyarılara yanıt verebilir ve bu sayede spontan kasılmalar gelişir. Tunika albugineada kan damarları yakınında çok sayıda otonom sinir uçları bulunurken, tunika albugineada ve epididimisin testise bitişik olan arka kısımda ise kas lifleri yerleşim gösterir. Hem kas liflerinin bulunuşu ve hem de sinir ağının yoğunluğu testis kapsülünün kontraktıl olmasını sağlar. Bu sayede spermatozoonların iletimi kolaylaşır (Çimen, 1987) (Çoşgun ve Aras, 1998) (Ozan ve Ozan, 2004) (Hatipoğlu 2005).

Tunika vaginalis testis: Peritoneumun uzantısı olan processus vaginalisin uzantısıdır. Processus vaginalis fetal dönemde testisin karın boşluğundan skrotum içine inişini sağlayan yapıdır. Testis skrotum içine ulaştığında processus vaginalisin üst parçası büzülür ve tıkanır. Alt parçası ise testisi saran kapalı bir kese olan tunika vaginalis olarak kalır. Uzantı, skortum içinde kıvrılarak visseral (epiorchium) ve parietal (periorchium) yaprağı oluşturur (Çimen, 1987) (Çoşgun ve Aras, 1998) (Ozan ve Ozan, 2004) (Hatipoğlu 2005).

Lamina visceralis (Epiorchium): Testisin ön kenarını ve iki yüzünü saran, arkadan ise iç tarafta öne doğru kıvrılarak lamina paryetalis (periorchium) ile devam eden tunika vaginalis yaprağıdır. Margo posteriorun dış tarafında epididimisin içi yüzünü, testisin üst kısmı ile epididimis arasında yer alan sinüs epididimisi ve epididimisin arka kenarında da epididimisin dış kısmını örterek lamina paryetalis ile devam eder. Testisin alt ve üst ucunda lamina paryetalis ile visseralis devam eder ancak üst uçta kaput edidimisin üstünü örter. Bununla birlikte epiorchium (lamina viseralis) kanalların testisten çıkış yerindeki arka kenarını örtmez. Ligamentum epididimis superius ve inferius testisin arka kenarında lamina viseralisin lamina pariyetalise geçiş yerinde testisi skrotuma bağlayan ligamenttir (Çimen, 1987) (Çoşgun ve Aras, 1998) (Ozan ve Ozan, 2004) (Hatipoğlu 2005).

Tunica albuginea: Testisin arka kenarında mavimsi beyaz renkte testis içi basınç oluşumunu sağlayan fibröz örtüdür. Çok miktarda kollajen içeren bu kapsül testisin üst ucundan alt ucuna kadar uzanır ve üstte daha geniş ve altta dardır. Bu örtü önden ve yanlardan testis yüzeyine doğru ışınal septalar uzatır ve bu sayede testis tabanı testis yüzeyine apeksi mediastinumuna doğru olan çok sayıda koni biçiminde lopçuklara bölünür (Çimen, 1987) (Çoşgun ve Aras, 1998) (Ozan ve Ozan, 2004) (Hatipoğlu 2005).

Tunica vasculosa : Tunica albuginea'nın iç yüzünde uzanan septulaların üstünü örten damar ağından oluşan tabakadır (Çimen, 1987) (Çoşgun ve Aras, 1998) (Ozan ve Ozan, 2004) (Hatipoğlu 2005).

2.2.1. Testis'in damarları

Damarlar; margo posteriordan testisin içine girerler (Çimen, 1987) (Çoşgun ve Aras, 1998) (Ozan ve Ozan, 2004) (Hatipoğlu 2005).

Arterler; aortanın bir dalı olan arteria testicularis testisin arka kenarından girer, kıvrımlar yaparak iç kısma doğru seyreder, septalar üzerinde dallar vererek her lopçuğun etrafına dağılır (Çimen, 1987) (Çoşgun ve Aras, 1998) (Ozan ve Ozan, 2004) (Hatipoğlu 2005).

Venler; ductus deferens çevresinde plexus pampiniformis adı verilen ven ağını yaparlar. Plexus ağından önce iki sonra birer vena ayrılır. Vena cava dextra, vena cava inferior'a,

vena testicularis sinistra ise vena renalis sinistra'ya dökülür (Çimen, 1987) (Çoşgun ve Aras, 1998) (Ozan ve Ozan, 2004) (Hatipoğlu 2005).

2.2.2. Testis'in lenf drenajı

Lenf damarları; funiculus spermaticus içinde 4-8 tane toplayan trunkus şeklinde ilerler. Nodi lymphatici preaortici ve nodi lymphatici aortici laterales ile birleşir (Çimen, 1987) (Çoşgun ve Aras, 1998) (Ozan ve Ozan, 2004) (Hatipoğlu 2005).

2.2.3. Testis'in sinirleri

Testisin sinir innervasyonu 9-12. göğüs spinal segmentlerinden çıkan sinirler tarafından sağlanır. Bu sinir lifleri plexus aorticus ve plexus renalis'ten ayrılarak arteria testicularis çevresinde plexus testicularis sinir lifini oluşturur (Çimen, 1987) (Çoşgun ve Aras, 1998) (Ozan ve Ozan, 2004) (Hatipoğlu 2005).

2.3. Testis'in Histolojisi

Erkek genital sistem bir çift testis, genital boşaltma kanalları olan tubuli rekti, rete testis, duktuli efferentes, epididimis, duktus deferens, duktus ejakulatorystan ve prostat bezi ile glandula bulbouretralis adı verilen aksesuar bezlerden oluşur (Bloom ve Fawcett, 1994).

Testisle erkek gamet hücreleri olan spermatozoa ya da spermin üretilmesi ve steroidogenezis işleminden sorumlu organlardır. Her bir testis dışta tunika vaginalis ile sarılıdır ancak arka yüzünde tunika vaginalis yoktur. Kan damarları, sinirler, lenfatik damarlar işte bu arka kısımdan testise girerler ve organı buradan terk ederler. En dışta fibromusküler bağ dokusu yapısında tunika albuginea bulunur. İç kısımda tunika vasküloza damardan zengin olan bölümdür. Arkada tunika albugineanın kalınlaşması ile oluşan mediastinum testis kısmında kapsül kalınlaşır ve mediastinum testisten testisi 250 kadar lobüle bölen septalar çıkar. Mediastinum testisten çıkan septaların bölmesi ile oluşan her bir lobülde bağ doku stroma içine gömülü halde seminifer tübül bulunmaktadır (Erdoğan ve diğerleri., 2008).

2.3.1. Seminifer tübüller

Seminifer tübüller, 150-250 mikrometre çapında, uzunlukları 30-80 cm arasında değişen oldukça kıvrımlı yapıdadır ve tübül dıŐtan fibromüsküler tunika propria adı verilen kasılabilir bir bağ doku ile çevrilidir. Bu bağ dokusu fibroblastlar ve miyoid hücreler içeren gevşek bağ dokusudur. Seminifer tübül içinde bir bazal membran üzerine oturmuŐ seminifer epitel bulunmaktadır. Spermiler seminifer tübüllerde üretilmektedir. Seminifer epitel, erkek gamet hücrelerinin farklı mayotik hücrelerinden oluşan spermatogenik seri hücrelerinden ve Sertoli hücrelerinden oluŐmaktadır (Erkoçak, 1982).

Sertoli hücreleri (destek hücreleri); diğer adıyla sustentak ler hücreler bazal membrandan lümene kadar uzanan prizmatik Şekilli hücrelerdir. Çoğalma özelliği göstermeyen bu hücreler, gelişmekte olan spermatogenik seri hücrelerine mekanik desteklik sağlar, hücrelerin beslenmelerine yardımcı olur, kan yoluyla gelen zararlı materyallerin engellenmesini ve oluşan hücre artığı materyalin fagosite edilmesini sağlar. Salgıladıkları androjen tutucu protein (androgen binding protein) ile genital kanal ve testisteki testosteronun salınımını düzenler. Sertoli hücreleri birbirleri ile sıkı bağlatılar kurarak kan testis bariyerini oluştururlar (Henrikson ve diğerleri., 1997).

Spermatogenik seri hücreleri diğer adıyla germinal epitel; bazal membrana yakın tarafı bazal kompartman, lümene yakın tarafı da adluminal kompartman olarak adlandırılan bölgelerde yerleşim gösterirler. Bazal kompartmanda soluk ve koyu tipteki spermatogonyum A hücreleri ile spermatogonyum B hücreleri bulunur. Adluminal kompartmanda ise primer spermatositler, sekonder spermatositler, spermatidler ve spermiler ile Sertoli hücrelerinin apikal kısımları yer almaktadır. Embriyonik ve f tal gelişim dönemlerinde seminifer tübülde baskın hücre tipi Sertoli hücreleridir ve lümen kapalıdır. Puberte ile birlikte seminifer tübül lümeni açık hale gelir ve spermatogenik seri hücreleri daha fazla sayıda izlenir (Kierszenbaum, 2006) (Ross ve Pawlina 2006).

Spermatogenezis; $2n$ kromozomlu diploid spermatogenetik hücreden, n kromozomlu (haploid) spermatozoonların geliştiği sürece verilen isimdir. Spermatogenezis;

- 1- Spermatogonyal evre (spermatogenezis)
- 2- Mayoz bölünme evresi

3- Spermatid evresi (spermiyogenezis) olmak üzere 3 evrede tamamlanır.

Spermatogonyal evre (Spermatogenezis) evresinde spermatogonyumlar bazal membran üzerinde bulunan ve sayıları mitoz bölünme ile artan spermatogenik seri hücreleridir. Spermatogonyumlar kendi içinde A tipi spermatogonyum ve B tipi spermatogonyum olarak ikiye; A tipi spermatogonyumlar da kendi arasında koyu tip ve açık tip olmak üzere ikiye ayrılır. Koyu tip spermatogonyumlar rezerv hücrelerdir ve ihtiyaç olması halinde mitoz bölünme ile sayılarını arttırırlar. Açık tip spermatogonyumlar ise mitoz bölünme geçirerek B tipi spermatogonyumları verirler. B tipi spermatogonyumlar ise mitoz bölünme geçirerek spermatositleri verir ve spermatositler de mayoz bölünmeye girer. Her 3 hücre de bazal membran üzerinde oturan bol sitoplazmalı iri hücrelerdir (Kierszenbaum, 2006) (Ross ve Pawlina 2006).

Mayoz bölünme evresinde bazal membrana daha yakın konumda preleptoten evresindeki spermatositler bulunur. Bu preleptoten evresindeki spermatositler spermatogonyumlara benzerler ve komşu Sertoli hücrelerinin oluşturduğu kompartmanlarda yer alarak lümene doğru ilerlemeye başlarlar. Bu ilerleme esnasında hücrenin hacmi artar, çekirdek yapısı sırasıyla leptoten, zigoten, pakiten ve diploten aşamalarını geçirerek profazını sürdürür. İşte bu profaz aşamasındaki spermatosite primer spermatosit denir. Profaz-1'deki pakiten evresi 16 gün boyunca sürer. Mayoz bölünme tamamlanması 24 gün içinde olur ve sonuçta sekonder spermatosit oluşur. Sekonder spermatosit 8 saatlik çok kısa bir ömre sahiptir ve bu nedenle histolojik kesitlerde çoğunlukla ayırt edilemezler. Sekonder spermatositler ekvatoryal bölünme olarak da bilinen 2. Mayoz bölünmelerini tamamlayarak spermatidleri oluştururlar. Ardından spermiyogenezis evresi başlar (Kierszenbaum, 2006) (Ross ve Pawlina 2006).

Spermiyogenezis evresinde spermatidler, Sertoli hücreleri arasındaki kompartmanda lümene en yakın yerleşim gösteren hücrelerdir. Erken spermatid olarak da adlandırılan ve başlangıçta yuvarlak şekilli olan bu hücreler Sertoli hücrelerinin apikal sitoplazmasına göç ederek bir takım yapısal değişiklikler gösterir. Erkek spermatidler sırasıyla akrozom oluşumu, flagellum şekillenmesi, kromatin kondensasyonu ve fazla sitoplazmanın atılması şeklinde devam eden yapısal değişiklikler gösterir. Bu değişiklikler tamamlandığında artık geç spermatid olarak adlandırılır (Kierszenbaum, 2006) (Ross ve Pawlina 2006).

Spermiyogenezis başladığında ilk olarak Golgi kompleksinden vakuoller ayrılarak nükleusun ön kısmına doğru göç eder. Çekirdeğin ön kısmında birleşen akrozomal veziküller burada birleşerek akrozomal kepi oluşturur. Akrozomal kep karbonhidrattan zengindir ve hiyalüronidaz, nörominidaz, asit fosfotaz, aril sülfataz, triptofan benzeri fosfotaz gibi enzimler içerir. Bu enzimler hidrolitik aktivite göstererek fertilizasyon sırasında akrozom reaksiyonunun gerçekleşmesini ve oositin etrafındaki yapıların aşılmasını sağlar (Kierszenbaum, 2006) (Ross ve Pawlina 2006).

Golgi kompleksinden akrozomal kep yapısı geliştiği sırada sentriyol çifti de hücrenin karşı kutbuna göç ederek hücre zarına yakın bir yere konumlanır. Distal sentriyolden bir çift santral tübülüs ve bunun etrafında dokuz çift periferik tübülüsten meydana gelen ve ileride flagellumun merkezini oluşturacak olan aksonem yapısı oluşturulur. Tüm bu işlemler ile eş zamanlı olarak akrozomal kep çekirdeğin her iki yanında incelenerek uzayıp son konumunu alır. Çekirdeğin kaudal kısmında yer alan girintiye de proksimal sentriyol yerleşir. Sitoplazmik mikrotübüller akrozomal kepin her iki ucundan hücrenin kaudaline doğru uzanarak manşet yapısını oluştururlar. Çekirdek uzayıp yassılaşıp fusiform bir şekil alır. Sitoplazma da çekirdeğin şekline uygun olarak hücrenin kaudaline doğru birikerek hücrenin spermiyum şekli alması sağlanır (Kierszenbaum, 2006) (Ross ve Pawlina 2006).

Flagellum uzamasında ise birbirini takip eden şu olaylar gerçekleşir: 1) Aksoneme dış yoğun fibriller adı verilen 9 adet dış kolonun yoğun fibrilleri eklenir. 2) Çekirdek ile spermiyumun kuyruğunu birleştiren birleştirici parça oluşur. 3) Uzunlamasına iki kolon şeklinde seyreden fibröz tabaka gelişir (Kierszenbaum, 2006) (Ross ve Pawlina 2006).

Hücre zarı flagellum boyunca uzanır ve manşet yapısı bu sırada kaybolur. Spermin mitokondriyonları flagellumun proksimal kısmına heliks biçiminde yerleşir. Sitoplazmanın fazlalık olan kısmı atılır ve Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir (Kierszenbaum, 2006) (Ross ve Pawlina 2006).

Olgun spermde total uzunluk 60 mikrometre civarındadır ve yapısı baş, boyun ve kuyruk olarak incelenir. Oval ve yassı şekilli baş kısmında nükleus ve nükleusun önünde akrozomal kep bulunur. Spermde postekvatoryal bölgedeki hücre membranı fertilizasyon sırasında oosit membranı ile kaynaşma noktası olması itibarıyla özel bir bölgedir. Boyun kısmı kısadır ve bağlantı noktasıdır. Kuyruk kısmı orta parça, esas parça ve son kısım olmak üzere üç

kısımdan oluşur ve kabaca 50-55 mikrometre uzunluktadır. Orta parça en içte aksonem onun dışında dış yoğun fibriller ve en dışta heliks şeklinde düzenlenerek konumlanan mitokondrilerden oluşur. Esas parça, orta parçaya göre daha dardır ve iki uzunlamasına kolon ve bunların bağlantılarından meydana gelir. Son parça ise sadece aksonem ve aksonemin etrafındaki küçük miktardaki sitoplazmadan oluşur. Spermiler testiste üretilir ve gelişimlerini epididimiste tamamlar (Kierszenbaum, 2006) (Ross ve Pawlina 2006).

Seminifer tübüller tubuli rekti adı verilen kısa düz tübüller ile rete testise bağlanır. Tubuli rektinin başlangıç kısımları Sertoli benzeri hücrelerle, son bölümleri ise tek katlı kübik epitel ile döşelidir. Rete testis ise labirent benzeri boşluklardan oluşan mediastinum testis içindeki yapıdır (Kierszenbaum, 2006) (Ross ve Pawlina 2006).

2.3.2. İntersitisyel doku

Seminifer tübülün etrafında gevşek, bol damarlı bağ dokusu yapısında stroma yer alır. Stroma içinde intersitisyel alanda normalden daha büyük boyutta vakuollü görünümdeki endokrin hücreler olan Leydig hücreleri, fibroblastlar, ince kollajen ve retiküler lifler ile makrofajlar ve mast hücrelerini de barındıran bir bağ dokulusu yer alır (Jungueira ve Carneiro, 2006) (Ross ve Pawlina 2006).

Leydig hücreleri intersitisyel bağ dokuda yer alan 5- α redüktaz enzimi sayesinde testosteron hormonu üretiminden sorumlu olan, bir ya da iki çekirdekçik içeren ökromatik yuvarlak bir nükleusa sahip, poligonal şekilli hücrelerdir. İntersitisyel hücreler olarak da adlandırılır. Sitoplazmalarında Reinke kristalleri adı verilen protein tabiatında kristal yapılar barındırır. Yaşla birlikte miktarı artış gösteren lipofuskin pigmenti içeren bu hücreler sitoplazmalarında düz endoplazmik retikulum, tübüler kristal mitokondri ve bol miktarda lipid damlacıkları da bulunur (Ovalle ve Nahirney, 2009) (Ross ve Pawlina 2006).

2.3.3. Kan-testis bariyeri

Prepubertal dönemde Sertoli hücrelerinin birbirlerine komşu olan yüzlerinde hücre zarlarının birbirlerine parmaksı uzantılar yaparak birleştikleri ve bu sayede adherens tipi bağlantılar ve oluklu bağlantılarla sıkı bağlantılar kurdukları hücrenin daha bazaline yakın konumlanan lateral bölgeye kan testis bariyeri denmektedir. Bu bariyer puberte ile birlikte

işlev kazanmaktadır. Kan testis bariyeri sayesinde seminifer tübül epitelinin lümeninde yer alan gelişmekte olan germ hücreleri intersitisyel alandaki antijenik koruma molekülleri, ilaçlar ve metabolitler gibi zararlı etkilere korunur (Ross ve Pawlina 2006) (Young ve Heath, 2000).

2.4. Testis Fizyolojisi

Testis, cinsiyet hormonlarının üretimi ile hem iç salgı ve hem de erkek gamet hücreleri olan spermiyumların üretimi nedeniyle dış salgı yapan birleşik tübüler bir bezdir. Hipofiz bezi ve hipotalamus ile birlikte erkek genital sistemin aktivitesinin düzenmesinde görev alır. Adenohipofizden salgılanan follikül stimüle edici hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH) erkek üreme sistemindeki testisler üzerinde etkili olarak burada hormon sentezini uyarır. Testiste Leydig hücreleri ile Sertoli hücreleri hormon üreten hücrelerdir. Erkeklik hormonu olarak tanımladığımız testosteron Leydig hücreleri tarafından üretilir. Testosteron benzeri etki gösteren steroid hormonlara androjenler denir ve androjenler böbrek üstü bezinin korteks kısmında üretilir.

Sağlıklı bir üreme ve fertilité için yeterli düzeyde testosteron üretilmesi gerekir. Şayet bireyde yeterli düzeyde testosteron üretimi gerçekleşmezse bu infertiliteye neden olabilmektedir. İntersitisyel bağ dokudaki Leydig hücrelerince salınan testosteron diffüzyonla spermatogonyumlara ulaşır. Testosteron kolesterolden sentezlenen steroid yapıda ve yapısında 19 adet karbon atomu barındıran bir hormondur. Lüteinizan hormonun (LH'ın) siklik Adenozin Monofosfat (cAMP) düzeyinin arttırıcı etkisi ile Leydig hücrelerinde uyarım başlar. Hücrede cAMP kolesterol esterlerinden kolesterol üretimini sağlar. Protein kinazın aktivasyonu kolesterolün mitokondriyonda pregnenolona dönüşümüne neden olur. Mitokondriyonda üretilen pregnenolon mitokondri dışına çıkarılır ve mikrozomal enzimlerin aktivitesi ile progesterona dönüştürülür. Ardından Leydig hücresinin endoplazmik retikülümüne gelen progesteron molekülü önce androstenedion molekülüne ve son olarak da testosteron molekülüne çevrilir.

Testosteron, reseptörü sitoplazmada yer alan bir hormondur ve her steroid hormonda olduğu gibi hücre zarından oldukça kolay bir şekilde geçiş yapar. Sitoplazmadaki reseptörü ile birleşen testosteron, hormon-reseptör kompleksi şeklinde hücrenin çekirdeğine transfer olur ve çekirdekte belirli genlerin mRNA sentezini başlatır. Bu yolla hormonun hedefi olan

proteinlerin önce transkripsiyonu sonra da translasyonu gerçekleştirilir (Bozdoğan, 2004) (Bullock ve diğerleri, 1994) (Ganong, 2002) (Guyton, 2007) (Noyan 2005) (Yaman 1999).

Genital kanallarda hormonal denetime baktığımızda Sertoli ve Leydig hücreleri FSH ve LH hormonları tarafından kontrol edilmektedir. FSH'ın Sertoli hücrelerini uyarması ile bu hücrelerden erişkinde aktivin ve inhibin hormonları ile androjen bağlayıcı protein sentezlenmeye başlar. Aktivin, hipotalamus ve hipofizden FSH salınımı üzerinde etkilidir. İnhibin ise aktivine antagonistik etki yaparak negatif geri bildirim yapar. FSH, Sertoli hücrelerini uyarak burada androjen bağlayıcı proteinin (ABP) sentez ve üretimini başlatır. ABP, testosteron ve dihidrotestosteron gibi androjenleri bağlar. Bu bağlanma sonucu oluşan ABP-androjen kompleksi spermatogenik seri hücrelerinin etrafında ve epididimiste androjen düzeyinin yükselmesini sağlar. FSH etkisi ile fetal Sertoli hücrelerinde ise Müllerian inhibe edici faktör salgılanması gerçekleşir. LH ise Leydig hücrelerinden testosteron sentezini uyarır. Kanda yeterince testosteron varlığına ulaşıldıktan sonra fazla miktara eriştiğinde, hipofiz bezi ön lobundan LH salınımı negatif geri bildirim mekanizması ile engellenir (Guyton, 2007) (Noyan 2005).

Testisteki Sertoli hücrelerinde ve Leydig hücrelerinde androjenlerin aromatisasyonu ile östradiol de üretilir ve venöz kana verilir. Yetişkin bir erkekte plazma östradiol düzeyi 2 nanogram/desilitredir (Bozdoğan, 2004) (Bullock ve diğerleri, 1994) (Ganong, 2002) (Guyton, 2007) (Noyan 2005) (Yaman 1999).

2.5. Yeni Koronavirüs Hastalığı (COVID-19)

Koronavirüsler; Coronaviridae ailesine ait, tek iplikli pozitif polariteli RNA içeren, 120-160 nm büyüklüğünde zarfları bulunan ve heliksel nükleokapsitli virüslerdir. Zarf üzerinde 20 nm uzunluğunda ve virüse taç görünümü veren peplomerler bulunması nedeni ile bu ailede bulunan virüsler Latince taç anlamına gelen “Coronaviridae” ailesine ait olarak sınıflandırılırlar. Pozitif polariteli olmaları nedeniyle sahip oldukları nükleik asit mRNA gibi davranır ve doğrudan sitoplazmada replike olup, sitoplazmik veziküllerden tomurcuklanırlar. Bu aile virüsleri hayvanlardan insanlara kadar oldukça geniş bir konak spektrumuna sahiptir ve yüksek patojenite göstermektedir. İlk tanımlandıklarında insanlarda sadece hafif üst solunum yolu enfeksiyonuna neden oldukları düşünülürken; 2003 yılında tanımlanan SARS Coronavirus'ün (SCoV), yüksek mortalite oranına sahip akut solunum

yolu enfeksiyonuna neden olduğu gözlemlenmiştir (Ustaçelebi ve Us, 2008). Coronavirüs (COVID-19) tüm dünyayı etkisine alan bir pandemi olarak gün geçtikçe yayılan ve henüz etkin bir antiviral ajanın tedavi için belirlenemediği ve bu virüsün sebep olduğu bir hastalık olarak bilim dünyasındaki yerini almıştır (Atalay ve Ersan, 2020).

Yeni Koronavirüs Hastalığı (COVID-19) ilk olarak Çin'in Vuhan Eyaleti'nde solunum yolu belirtileri (nefes darlığı, öksürük, ateş) gelişen bir grup hastada yapılan araştırmalar sonucunda 13 Ocak 2020'de tanımlanmış bir virüs hastalığıdır. Salgın ilk olarak Çin'in Vuhan Eyaleti'ndeki deniz ürünleri ve hayvan pazarında bulunan bireylerde tespit edilmiştir. Daha sonra insandan insana bulaşarak Vuhan başta olmak üzere sırasıyla Hubei eyaletindeki diğer şehirlere, Çin Halk Cumhuriyeti'nin diğer eyaletlerine ve tüm dünya ülkelerine yayılmıştır (Sağlık bakanlığı-2).

Kronik tıbbi rahatsızlıkları olan insanlar (hipertansiyon, diyabet, kronik solunum yolu hastalığı), kalp hastaları, kanser hastaları, 60 yaş üstü bireyler ve sağlık çalışanları hastalıktan en çok etkilenen kişilerdir. Akut solunum yolu enfeksiyonlarının genel bulaşma riskini azaltmak için önerilen temel ilkeler COVID-19 için de geçerli sayılmış; bu kapsamda el ve kişisel temizliğe dikkat edilmesi, öksürme veya hapşırma sırasında burun ve ağızın tek kullanımlık kağıt mendil ile örtülmesi, mümkünse kalabalık yerlere girilmemesi, eğer girmek zorunda kalınıyorsa ağız ve burun tıbbi maske kullanılarak kapatılması gerektiği belirtilmiştir.

COVID-19 hastalığında ilk 5-7 gün içinde en sık gözlenen yakınmalar ateş, öksürük ve solunum zorluğudur. İlk olarak antiviral içerikli tedaviler verilir ve hastaların önemli bir kısmı iyileşir. Genellikle sonraki 5-10 gün içinde hastaların %15'inde yakınmalar artabilir hastalığın şiddeti yükselir. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) enfeksiyonuna vücudun verdiği yanıt kandaki proinflatuvar sitokinlerde artış, immün disregülasyon ve sonuçta doku hasarlanmaları şeklinde gelişen Makrofaj Aktivasyon Sendromu (MAS) veya sekonder Hemofagositik Lenfositik Lenfositik Lenfositik (sHLH) olarak da adlandırılan sitokin fırtınası şeklinde gelişebilir (Atalay ve Ersan, 2020).

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ); COVID-19 türü virüsleri, patojeniteleri açısından değerlendirmek ve hastalığın yönetimini daha kolay hale getirebilmek için nükleik asit mutasyonlarını baz alarak varyant tiplendirmesi gerçekleştirmiş ve buna göre mutasyonları

içeren gen bölgelerine göre virüs varyantlarının 4 tanesini "endişe verici", 8 tanesini "izlenmesi gereken" varyant olarak belirtmiştir. "Endişe Verici Varyant" (VOC : variant of concern) olarak tanımlanan mutasyonların alınan önlemleri etkisiz kılmak ve hastalığın yönetimini sınırlandırıp mortalite oranını arttırıcı etkiye sahip olmak gibi sonuçlar doğurduğu belirtilmektedir. Varyantlar DSÖ'nün kararıyla ilk kez ortaya çıktıkları ülkenin adıyla anılması yerine Yunan alfabesindeki harfler ile isimlendirilir. "Endişe Verici Varyant"lar sırasıyla Alfa, Beta, Gamma ve Delta, "İzlenmesi Gereken Varyant" gurubu ise Epsilon (2 varyant), Zeta, Eta, Teta, Iota, Kappa ve Lambda harfleri ile adlandırılır. Bu bağlamda ilk kez İngiltere'de tanımlanan varyant "Alfa", Güney Afrika'daki varyanta "Beta", Brezilya'daki varyanta "Gamma" ve Hindistan'da tespit edilen varyanta ise "Delta" varyantı denmiştir (internet kaynağı : <https://tr.euronews.com/2021/06/30/alfa-beta-delta-gamma-koronavirus-varyantlar-neler-hangi-varyant-ne-kadar-etkili>). Omicron varyantı ise ilk olarak Güney Afrika'da görülmüştür (internet kaynağı: <https://www.memorial.com.tr/saglik-rehberi/omicron-varyanti-nedir-omicron-varyantinin-belirtileri-nelerdir>).

2.6. COVID-19 Salgınında Sitokin Fırtınası ve Etkili Sitokinler

Sitokinler bağışıklık hücreleri tarafından salınan, hem kendi (otokrin) hem de başka hücreler üzerinde (yakın hücrelere parakrin etki ve sistemik etkili endokrin etki) etkili olarak hücre-hücre etkileşimini sağlayan, bir uyarana karşı salınan küçük molekül ağırlıklı çözünebilir proteinlerdir. Genel olarak bağışıklık sisteminde etkene özgü yanıtta, inflamasyona karşı verilen cevapta ve doku onarımında sitokinler anahtar rol alır (Nairn ve Helbert, 2007). Sitokin fırtınası apoptozise bağlı olarak gelişen bağışıklığın baskılanması nedeniyle oldukça önemlidir. Bireyde yüksek ateş, C reaktif protein serum seviyesinin yükselişi, interlökin-6 (IL-6) ve serum ferritin yüksekliği ile birlikte ilerleyici nefes alma zorluğu tablosuyla gelişir ve SARS-CoV-2 için spesifik bir tedavisi yoktur (Huang ve diğerleri, 2020) (Kang ve diğerleri, 2019) (Atak Yücel ve diğerleri, 2020).

Sitokin fırtınasının başlatılmasında proinflamatuvar sitokinler etkin görev alır ve farklı hücrelerden farklı sitokinler salınır. Monosit, makrofaj ve dendritik hücreler gibi doğal bağışıklık sistemi hücrelerinden; tip1 interferonlar (IFN- α , IFN- β), IL-1, IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, IL-23, IL-27, tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α) ve kemokinler (hücrelerin yönsel hareketine sebep olan kimyasal sitokinler) gibi sitokinler, kazanılmış/edinilmiş

(adaptif) bağışıklık sistemi hücrelerinden ise (özellikle T lenfositlerden) IL-2, IL-5, IL-17, IFN- γ , TNF- α gibi sitokinler salgılanırlar (Atak Yücel ve diğerleri, 2020).

2.6.1. İnterlökin-1Beta

İnterlökin-1, makrofajlarca inflamasyon durumunda üretilen bir sitokindir ve T hücrelerinin aktive olmasını sağlar. Akut solunum sıkıntısı olan hastalarda (ARSD) bronkoalveolar lavaj sıvılarında antagonistine göre 10 kat daha yüksek oranda saptanabilen proinflamatuvar bir sitokindir. Akciğer hasarına aracılık eden, güçlendiren ve devam ettiren karmaşık sitokin ağının bir parçasıdır. Astım gibi alt solunum yollarını etkileyen solunum yolu hastalıklarında hava yolunun yeniden şekillendirilmesinde ve epitel ile endotel hücrelerinin hasarında etkilidir. (Stylianou ve diğerleri, 2006). Bu protein IL-1 sitokin ailesinin gen bölgesinden kodlanır. İnterselüler adezyon molekülü (ICAM-1) ve vasküler adezyon molekülü (VCAM-1) gibi adezyon moleküllerinin lökositlerden salınımını sağlar. Bu sitokin yani IL-1 β aktive edilmiş makrofajlar tarafından üretilen bir proproteindir, Kaspaz-1 (CASP1/ICE) tarafından aktif formuna proteolitik olarak işlenir. İnflamatuvar cevabın önemli bir aracısıdır ve proliferasyon, diferansiasyon ve apoptozis gibi çeşitli hücrel aktiviter için gereklidir. Siklooksijenaz -2'nin indüksiyonu (PTGS2/COX2) ile bu sitokin merkezi sinir sisteminde inflamasyon ile gelişen hipersensivite ağrısını sağlar. IL-1 β ve diğer sekiz IL-1 gen ailesine ait alt tür, sitokine ait II. kromozom üzerinde bulunan sitokin geni tarafından kodlanır. Katabolin ve IL-1F2 ise IL-1 β 'nın sinonimleridir. Molekül ağırlığı 35-40 kDa ağırlığındadır. (NCBI-2024).

2.6.2. İnterlökin-6

Bir diğer sitokin olan IL-6 hem proinflamatuvar ve hem de antiinflamatuvar aktivite gösterir. IL-6, T-hücreleri ve makrofajlar gibi çeşitli hücreler tarafından fosforillenmiş olarak ve değişen derecede glikozillenmiş bir molekül olarak salgılanır. IL-6, B hücrelerinin lenfosit ve monosit farklanmasında gerekli olan immüloglobulini salgılayabilen hücelere farklanmasında son farklanma aşamasında hayati rol oynar. Miyelom ve plazmasitoma büyümesini ve sinir hücrelerinin farklılaşmasını indükler. B hücreleri, T hücreleri, hepatositler, hematopoietik progenitör hücreler ve merkezi sinir sistemi hücreleri üzerinde etki gösterir. IL-6 ayrıca kastan üretilen bir sitokin olan bir miyokin olarak kabul edilir ve kas kasılmasına yanıt olarak yükselir. IL-6'nın IL-6 reseptörü ve glikoprotein 130 ile

etkileşime girdiği gösterilmiştir. Ek olarak, IL-6'nın hematopoez, kemik metabolizması ve kanserin ilerlemesinde ve doğuştan gelen bağışıklığa geçişin yönlendirilmesinde önemli bir rol aldığı bildirilmektedir (Jenkins, 2022).

IL-6'nın sinonimleri sırasıyla B hücresi uyarıcı faktör-2 (BSF-2), kolinerjik geliştirme faktörü (CDF), sitotoksik T lenfosit farklılaşma faktörü (CTL), hibridoma büyüme faktörü ve interferon- beta 2 (IFN- β 2)'dir. Molekül ağırlığı 24 kDa ağırlığındadır.

2.6.3. Tümör nekrozis faktörü-alfa

Tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α), kaşektin olarak da adlandırılır. TNF süper ailesine ait olan TNF- α , multifonksiyonel proinflamatuvar bir sitokindir ve temel olarak makrofajlar tarafından sentezlenir ancak gereklilik durumunda; mast hücresi, nötrofil, endotel hücreleri, fibroblast ve T-lenfositler tarafından da üretilebilir bir glikoproteindir. Stres ve doku hasarında kanda ilk saptanabilir belirteçlerdir (Çayakar, 2018). TNF- α , 26 kDa molekül ağırlığında membrana bağlı bir protein olarak sentezlenir. TNF- α dönüştürücü enzim (TACE) tarafından membrandan ayrılarak, 17 kDa ağırlığında ve dolaşımda homotrimerler oluşturan çözünebilir monomerler şeklinde serbest bırakılır (Aggarwal ve diğerleri, 2012).

CD4⁺ lenfositler, doğal öldürücü hücreler (NK), nötrofiller, mast hücreleri, eozinofiller ve nöronlar gibi pek çok diğer hücre tipi tarafından üretiliyor olmasına rağmen esas olarak aktive olmuş makrofajlar tarafından üretilir. TNF- α bağlanabilir özelliktedir ve böylece TNFRSF1A/TNFR1 ve TNFRSF1B/TNFR2 reseptörler üzerinden işlev gösterir (Chen ve Goeddel, 2002). Bu sitokin hücre proliferasyonu, farklılaşma, apoptozis, lipid metabolizması ve koagülasyon gibi geniş spektrumlu çok sayıda biyolojik sürecin düzenlenmesi için gereklidir ve ayrıca otoimmün hastalıklar, insülin direnci ve kanser gibi çok çeşitli hastalık ile de ilişkilidir (Bradley, 2008). Kaşektin, Tümör nekroz faktörü (Tumor necrosis factor =TNF), Tümör necrosis factor -alpha (TNF-a ya da TNF-A), Tümör Nekroz Faktörü Süperailisi 2 proteini (Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily 2 = TNFSF2) ise TNF- α 'nın sinonimleridir; 22 kDa ağırlığındadır (Çayakar, 2018).

2.7. Sitokin Fırtınası Sonrası Oksidatif Stres

Enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar ya da immünoterapi gibi tedavilerde komplikasyon durumu şeklinde bağışıklık sisteminin aşırı tepkisi olarak ortaya çıkan, bireyde kan basıncında düşme, yüksek ateş, nefes darlığı, şiddetli halsizlik ve ilerleyen durumda da çoklu organ yetmezliği gibi semptomlara neden olan kontrolsüz yanıtı sitokin fırtınası adı verilir. Bu durumu kontrol altına almak adına çeşitli destek tedaviler, bağışıklık baskılayıcı ya da düzenleyici ajanlar, steroid içerikli preparatlar kullanılabilir. COVID-19 hastalarında tedavinin kötüleşmesi ve hatta hastalar üzerindeki morbidite oranının artmasına neden olan bir sitokin fırtınası durumu meydana gelir. Bu tabloda hastalarda sitokin fırtınasına neden olan başlıca sitokinler interlökin 1-Beta (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6) ve Tümör Nekroz Faktörü-alfa (TNF- α)'dır (Felsenstein, 2020). Bu sitokinlerin artan ekspresyonları nedeniyle doğuştan gelen immün sistem hızlı bir şekilde aktive edilerek endotelial ve vasküler hücre hasarı meydana getirilir. Nekroz ve piropitoz gelişir. Monosit ve makrofajların indüksiyonu ile dokuda nötrofil infiltrasyonu artar ve sistemik enflamasyon tablosu meydana gelerek çoklu organ hasarı oluşur (Atkin-Smith, 2018) (Zang ve diğerleri, 2019). Antikor bağımlı hızlandırıcı (ADE) gibi, virüse karşı erken dönem üretilen nötrolizan antikorlar viral parçaların Fc-gama hücre yüzey reseptörlerine bağlanmasını kolaylaştırarak virüsle enfekte olmuş bağışıklık hücrelerini antijen sunan hücreler şeklinde kesintisiz bir şekilde çalışmasına neden olur ki bu durumda akut solunum distres sendromu (ARDS) olaylanır (Fu ve diğerleri, 2020) (Ji ve diğerleri, 2020). Hastada özellikle damarlar ve damarların etrafındaki dokuda infiltratif alanlar, doku kalınlaşması, vaskülit gibi semptomatik tablo dikkati çeker (Xu ve diğerleri, 2020) (Schnabel ve Hedrich, 2018) (Kurtuluş ve Pirim, 2020). Hastalarda görülen şiddetli inflamasyon nedeniyle hücrelerde oksidatif stres meydana gelir. Zaten kümülatif olarak antiviral bir etkinin maruziyetine ek olarak doku iltihabı, oksidatif hasar ve DNA hasarında aşırı bir artışa neden olur (Beltrán-García ve diğerleri, 2020) (Laforge ve diğerleri, 2020). Yapılan çalışmalar COVID-19 hastalarında kontrol grubuna göre serum Total Oksidan Statüsü (TOS), Total Antioksidan Statüsü (TAS), serum Miyeloperoksidaz (MPO), serum disülfid miktarı (DIS), oksidatif Stres İndeksi (OSI) ile interlökin 1-Beta (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6) ve Tümör Nekroz Faktörü-alfa (TNF- α) seviyeleri ölçülmüş, inflamasyon biyobelirteçleri ve DNA hasarı istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı ($p<0,001$) bildirilmiştir. Hasta bireylerde TAS ve total tiol (TT) ve nativ tiol (ysni hücrelerin içindeki tiol) (NT) seviyelerinin ise istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı da belirtilmiştir ($p<0,001$) (Bektemur ve diğerleri, 2023).

2.7.1. Serum total oksidan kapasite (TOS)

Plazma örneklerinin toplam antioksidan seviyeleri Erel tarafından geliştirilen yöntem temel alınarak incelenir. Toplam oksidan kapasite seviyesi ölçümü testi, çeşitli oksidan türlerinin mevcudiyetinde ferrik iyonun demir iyonuna oksidasyonuna bağlıdır. Oksidanlar demir-a-dianisidin kompleksini oksitler. Üretilen ferrik iyon, ksilenol turuncu ferrik iyonunun renkli bir kompleksini oluşturur. Bir numunede oksidan miktarı rengin yoğunluğuyla ilişkilendirilir. Bu renk değişimi spektrofotometrik olarak 530 nm dalga boyunda ölçülür. TOS hesaplamasında standart olarak H_2O_2 kullanılır (Erel, 2004).

2.7.2. Serum total antioksidan kapasite (TAS)

Plazma örneklerinin toplam antioksidan seviyeleri Erel tarafından geliştirilen yöntem temel alınarak incelenir. Test, 2,2'-azinobis-3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonat (ABTS) radikalini oluşturduğu mavi-yeşil rengin numunedeki antioksidanlarla bozulmasına dayanmaktadır. ABTS, $ABTS^+$ radikalini oluşturmak için miyogloblin ($HX-Fe^+$) ve H_2O_2 içeren bir peroksidaz ile inkübe edilir. Ortaya çıkan ferrik miyoglobin ABTS ile reaksiyona girerek mavi-yeşil renkteki $ABTS^+$ radikalini oluşturur. Oluşan bu renk, numunedeki antioksidanların oranına göre inhibe edilir ve Varioskan Multimode ile ölçülür (Erel, 2004).

2.7.3. Oksidatif stres tanımı ve oksidatif stres indeksi (OSİ)

Oksidasyon sonucu oluşan serbest radikaller ile antioksidanlar miktarı arasında bir dengesizlik olduğunda oksidatif stres dediğimiz süreç ortaya çıkar. Şayet denge sağlanmışsa vücut fonksiyonları normal seyrinde devam eder, patojenlere karşı korunur ve oksidatif hasar oluşmadan yani yapısal proteinler lipitler gibi yapılar bozulmadan sağlıklı olan durumu stabil şekilde devam eder. Bu dengenin korunması bakımından antioksidanlar önemlidir. Denge korunamadığında oksidatif stres oluşur ve bu da oksidatif stres indeksi (OSİ) ile niceliksel olarak hesaplanabilir. OSİ, TOS/TAS olarak hesaplanır (Erel, 2004).

2.8. COVID -19 Salgını Tedavisinde Kullanılan Ajanlar

COVID -19 salgını ilk olarak pandemi halinde kendini gösterdiğinde ne yazık ki etkene özgü doğrudan bir tedavi ajanı ya da aşı bulunmamaktaydı. Hastalığın ilk döneminde tedavinin temel dayanağı destekleyici bakım olarak ilerledi. Bu destek tedavi hastalığın şiddetine bağlı

olarak yapılan destekleyici tedavi, ARDS'li hastalar için semptomatik tedaviden ventilatör desteğine kadar farklı yollarla yapıldı. Viral enfeksiyon üzerine eklenmesi muhtemel koenfeksiyon ajanlarını bertaraf etmek için bakteriyel enfeksiyonların ve/veya sepsisin ile tedavi edilmesini de içerdi. Yine hastalık sırasında oluşan sitokin fırtınasını kontrol altına almak için IL-1 β ya da IL-6 antagonisti ajanlar da uygulandı. Özellikle aşının bulunmasından önce, daha evvel SARS-CoV ve MERS-CoV'i tedavi etmek için kullanılan ajanlar üzerinden ilerlendi. Bu süreçte dünya çapında genel olarak klorokin/hiroksiklorokin, azitromisin, favipiravir, konvelesan plazma, bir çeşit proteaz inhibitörü olan lopinavir/ritonavir, IL-6 yolağı inhibitörleri, bir çeşit parazit ilacı olan ivermektin, ARSD kaynaklı inflamasyonları durdurmak ve bağışıklık tepkimelerini baskılamak için kortikosteroid, koagülasyon kaynaklı patolojileri engellemek için heparin, antiinflamatuvar ve antioksidan aktivitesi nedeniyle vitamin C, viral nükleik asit replikasyonunu önleyici ve hücrel onarımı artırıcı etkisi nedeniyle çinko takviyeleri, oksidatif stresi baskılayıcı etkisi ve antiinflamatuvar etkisi nedeniyle montelukast gibi tedavi edici ajanlar denendi (Chams ve diğerleri, 2020). Bu kısımda ülkemizde aşı uygulamasından önceki dönemde uygulanan tedavi ajanları ele alınacak ve bu ajanlar hakkında bilgi verilecektir.

2.8.1. Favipiravir

Favipiravir, ilk kez Çin'de grip tedavisinde kullanılan bir RNA polimeraz inhibitörüdür. Favipiravir, RNA'ya bağımlı RNA polimeraz (RdRp) enzimini bloke ederek RNA virüslerinin replikasyonunu bloke edebilir. Bu nedenle favipiravir, aynı zamanda bir RNA virüsü olan SARS-CoV-2'ye karşı antiviral aktiviteye sahip olabilmesi nedeniyle COVID-19 hastalığının tedavisinde kullanılmıştır (Dong ve diğerleri, 2019). Bu ilacın SARS-CoV-2 enfeksiyonunun tedavisinde kullanımını içeren klinik araştırmalar yapılmış ve bazı yan etkilerinin bulunması ihtimali nedeniyle bir süre sonra kullanımı durdurulmuştur ve son tedavi rehberlerinde bu ajana yer verilmemektedir (T.C. Sağlık bakanlığı, 2022).

Favipiravir, tedavi protokolünde guanozin nükleotit analogu olarak görev RdRp inhibitörü olarak kullanıldı. Hastalara 1. gün: sabah 1600 mg (8 tablet) ve akşam 1600 mg (8 tablet) olmak üzere günde iki kez 1.600 mg 2x1 şeklinde yükleme dozu oral olarak; 2-5. günler: sabah 600 mg (3 tablet) ve akşam 600 mg (3 tablet) olmak üzere günde iki kez ikame dozlar şeklinde verildi (T.C. Sağlık bakanlığı klavuzu, 2020). Kullanım süresi 5 gündür. Favipiravir etken maddesi içeren ilaçlar temelde influenza tipi virüslerin neden olduğu enfeksiyonlarda,

diğer influenza virüs enfeksiyonlarına karşı kullanılan ilaçların yetersiz veya etkisiz kaldığı durumlarda kullanılan bir ilaçtır. Gebelik şüphesi bulunan kadınlarda kullanımı önerilmemektedir. Semen içerisine dağıldığı bildirildiğinden erkek hastalar tarafından tedavi sırasında veya tedavi bittikten sonraki 7 gün süresince en etkili doğum kontrol yöntemi ile korunulması gerekmektedir. Kızarıklık, yüksek ateşin eşlik ettiği iltihaplı sivilceler ve güneşe karşı daha hassas olma gibi ciddi cilt reaksiyonları, alerjik reaksiyon, göz, ağız, dudak, burun ve genital bölgede cildin kabarması ve soyulması, grip benzeri belirtiler ve ateş (Stevens-Johnson sendromu) şeklinde yan etkileri görülebilir. Ayrıca kanda nötrofil ve beyaz kan hücresi sayısında azalma, kan ürik asitlerinde ve kan trigliseritlerinde artış, alanin amino transferaz (ALT) ve gama-Glutamil Transferaz (γ -GTP) enzimlerinin seviyelerinde artış gibi yaygın yan etkileri de söz konusudur (Neutec İlaç San. Tic. A.Ş., favimol ilaç prospektüsü).

2.8.2. Hidroksiklorokin

Hidroksiklorokin ya da klorokin yaygın olarak aslında bir tek hücreli parazit olan *Plasmodium malaria* etkeninin bulaşmasıyla oluşan sıtma hastalığının tedavisinde kullanılan ilaçlardır. Hidroksiklorokin, daha az ilaç-ilac etkileşimi ve daha iyi güvenlik profiline sahip bir klorokin analogudur. İlk olarak bu ilacın SARS-CoV-2 etkeni virüsün *in vitro* ortamda çoğalmasını inhibe ettiği ve konsantrasyona bağlı bir şekilde viral replikasyonu azalttığı gösterilmesi üzerine ilacın COVID-19 hastalarında tedavi amacıyla uygulanmasına başlanmıştır. Viral replikasyonu durdurma aktivitesini, hücre zarının yüzeyindeki pH'ı değiştirerek, böylece virüsün konak hücreye füzyonunu engelleyerek ve ayrıca nükleik asit replikasyonunu, glikozilasyonu ve viral toplanma ile salınmayı engelleyerek yapabildiği belirlenmiştir (Yao ve diğerleri, 2020). Çin'de yapılan çok merkezli klinik araştırmalar bu durumu destekler nitelikte pozitif sonuçlar vermiştir (Gao ve diğerleri, 2020). Amerika'da ise SARS-CoV-2 enfeksiyonu olan hastaların tedavisi ve ayrıca maruziyet öncesi ve maruziyet sonrası profilaksi amacıyla uygulanmış ancak anlamlı derecede etkinliği için kesin yargılarda bulunulmamıştır (Rosenberg ve diğerleri, 2020).

Ülkemizde aşının uygulanmasından önce olağanüstü kullanım izni ile ayaktan tedavi alan hastalarda 5 gün süreyle 2x200 mg, yatan hastalarda 1. gün 200 mg 2x2 (yükleme dozu) ve takip eden 2-5. günlerde ise 2x1 dozajda reçete edilmiştir. Hem immünmodülatör etki göstermesi ve hem de çok sayıda virüse karşı *in vitro* non-spesifik antiviral etki göstermesi nedeniyle dengue, chikungunya, influenza, insan immünyetmezlik virüsü (Human

Immunodeficiency Virus = HIV), Ebola, hepatit-C, Ciddi Akut Solunum Yolu Sendromu Koronavisüsü (Severe Acute Respiratory Syndrome- Coronaviruses)SARS-CoV, Orta Doğu Solunum Sendromu Virüsü (Middle East Respiratory Syndrome Virus = MERS) ve COVID-19 etkeni virüslere karşı antiviral tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Uzun süre ve birikimli doza maruz kalan kişilerde retinopati veya kardiyomyopati beklenen yan etkileridir. Sıtma ve otoimmün hastalıkların tedavisinde ve bazı ülkelerde profilaksi amacıyla endikasyon dışı olarak sağlıklı bireylerde de kullanılan bu ilacın enfeksiyonu tedavi edici etkinliği ile ilgili bir kanıt bulunmamaktadır. İmmünomodülatör etkisi nedeniyle olası sitokin fırtınasını durdurucu etkisi nedeniyle kullanılması söz konusu olmuştur (Olukman M, Ülker Göksel, 2020).

2.8.3. Asiklovir

Asiklovir, *Herpes simpleks* virüs enfeksiyonları, viral menenjit, kırım kongo kanamalı ateşi, viral deri enfeksiyonu, viral pnömoni gibi yaygın viral enfeksiyon tedavisinde kullanılmaktadır (Atalay ve Ersan, 2020). Biyokimyasal olarak “9-2 hidroksi etoksimetilguanin” olarak isimlendirilen asiklovir, enfekte hücrelerde viral timidin kinaz ile trifosfat formuna dönüştürülür. Bu şekilde fosforile olmuş asiklovir, viral DNA sentezi sırasında DNA polimeraz fonksiyonu için kompetitif inhibitör şeklinde etki eder ve DNA sentezinde zincir terminasyonu yaparak sentezi bloke eder (Kara, 2007; Arvin, 2002; Breuer ve Whitley, 2007; Keating, 1999). İntravenöz uygulama için 8 saat ara ile 10 mg/kg/gün (3 x 10mg/kg/g IV) 10 mg/kg dozda verilmelidir. Oral yolla uygulanırken ilacın verilen dozunun sadece %20’si biyoyararlanım sağladığı için daha yüksek dozda verilmelidir. İlacın oral kullanım dozu 400 mg/kg şeklinde ve 8 saatte bir (yani 3 x 400 mg/kg/gün) ya da günde 5 kez 200 mg/kg şeklinde uygulanmalıdır. Tedavi süresi intravenöz uygulamada 14-21 gün, oral tedavide ise 5-7 gündür (Büke, 2014). Çok yüksek dozlarda ve uzun süreli kullanımda dahi güvenli bir ilaç olduğu farz edilmesine karşın nadir olmakla birlikte bulantı, kusma, ishal ve karın ağrısı ile alerjik deri döküntüleri, böbrek yetmezliği görülen kişilerde konfüzyon, konvülsiyon, ajitasyon, tremor, dalgınlık ve halisinasyonlar gibi yan etkileri mevcuttur (Kara, 2007). Erişkinlerde intravenöz tedavi genellikle 5 gün sürer ancak bu durum hastanın durumuna ve tedaviye verdiği yanıtı göre değişebilir. Herpes ensefaliti tedavisi genellikle 10 gün sürer. Yenidoğan herpes tedavisi ise genellikle 14-21 gün boyunca devam ettirilir (Türkiye İlaç ve Tıbbi ilaç kurumu-TİTCK, Kısa Ürün Bilgisi, Zoviraks ilaç prospektüsü).

2.8.4. Anakinra

Anakinra doğal bir molekül olan IL-1 reseptörü antagonistinin rekombinant hali olup, ailesel akdeniz ateşinin tedavisinde kolşisin tedavisine cevapsız kalınırsa, sistemik juvenil idiopatik artrit ve cryopyrin ile ilişkili periyodik sendromlar (CAPS) gibi oto-enflamatuvar sendromlarda, enflamasyon sürecini engellemek amacıyla kullanılır (Önder ve Onat, 2015). Anakinra, IL-6 blokörü olması nedeniyle COVID-19 tedavisinde de kullanılmaktadır. Özellikle makrofaj aktivasyonu sendromu (MAS) bulguları gelişen hastalarda günde 3 kez 200 mg intravenöz uygulamaya kadar doz ayarlaması yapılabilmektedir. İlacın yarılanma ömrünün 4-6 saat olması nedeniyle gün içerisinde hastalığın şiddetine göre doz tekrarı gerekebilmektedir (100 mg deri altına enjeksiyondan dirençli hastalarda 6 saatte bir 200 mg dozuna çıkılabilir) (T.C. Sağlık bakanlığı, 2020).

3. YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Gerçekleştirilen bu doktora tezi çalışmamızda 8-10 haftalık 200-250 gr ağırlığında 36 adet Wistar Albino cinsi erkek sıçan kullanıldı. Denekler, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)’nden sağlandı ve tüm hayvan deneyleri bu merkezde gerçekleştirildi. Deney hayvanları ile ilgili uygulanacak her türlü işlem için yerel etik kurul izni alındı (T.C. Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı 04.04.2022 tarihli ve E-66332047-604.01.02-331481 sayılı Değerlendirme ve Onay yazısı ekler bölümünde belirtilmektedir).

3.2. Laboratuvar Koşulları

Deney süresince deneklere nisbi nemi ortalama % 50±5, ortalama ısı 22 ± 2°C ve 12 saat aydınlık ile 12 saat karanlık olacak şekilde olarak ayarlanan fotoperiyottaki laboratuvar koşullarında bakıldı. Denekler ad libitum oranda yem ile sınırsız beslendi ve sınırsız içme suyu verildi.

3.2.1. Deneyde kullanılan ajanlar

Deneyde kullanılan ilaç ajanları yerel eczanelerden elde edilmiştir. İlaçların etken maddeleri içeren ticari preparat formları kullanılmıştır. Tablet şeklindeki ilaçlar öğütülerek belirlenen dozlarda olacak şekilde serum fizyolojik içinde çözünmüştür. Kullanılan ilaçlar ve temin edilen ticari formlarının bilgileri aşağıda belirtildiği şekildedir.

- Favifiravir (Favimol® 200 mg Tablet, Markası - Neutec İlaç San. Tic. A.Ş. Esenler / İstanbul-Türkiye)
- Hidroksiklorokin (Plaquenil® 200 mg Tablet, Markası - Sanofi Sağlık Ürünleri Ltd. Şti. Büyükdere Cad. No:193 Levent 34394 Şişli-İstanbul-Türkiye)
- Asiklovir (Asiviral® 200 mg Tablet, Markası - Terra İlaç ve Kimya Sanayi ve Ticaret A.Ş. Ümraniye/İstanbul- Türkiye)

- Anakinra (Kineret® Kineret 100 mg solution for injection in a pre-filled syringe, Swedish Orphan Biovitrum Ltd. ATC code: L04AC03, Suite 2, Riverside 3, Granta Park, Great Abington,, Cambridgeshire, CB21 6AD, UK)

3.3. Deney Hayvanlarının Hazırlanması ve Deneyin Uygulanması

Sıçanlardan randomize 7 grup oluşturuldu. Her bir gruba uygulanan işlem ve ilaç doz aralıkları aşağıdaki tabloda belirtilen şekildedir. İlaç doz aralıkları, aşı öncesi dönemde insanda tedavi amacıyla uygulanan doz aralıkları ile aynı olacak şekilde tercih edilmiştir:

Çizelge 3.1. Deney gruplarının düzenlenişi, denek sayısı ve deneyde kullanılan ilaçların dozları ile uygulama süreleri

DENEY GRUPLARI	DENEK SAYISI	DOZ ve UYGULAMA	DENEY SÜRESİ
SHAM KONTROL-1 (GAVAJ STRESİ)	n=3	0.5 cc 0.09% Serum Fizyolojik (SF) (Gavaj)	5 Gün
SHAM KONTROL-2 (İNTRAVENÖZ [i.v.] ENJEKSİYON STRESİ)	n=3	0.5 cc 0.09% Serum Fizyolojik (SF) (i.v.)	7 Gün
SHAM KONTROL-3 (SUBKUTAN [s.c.] ENJEKSİYON STRESİ)	n=3	0.5 cc 0.09% Serum Fizyolojik (SF) (s.c.)	7 Gün
ASİKLOVİR	n=6	2x10 mg/kg Asiklovir (0.09% SF İçerisinde Çözünmüş) (Günde 2 Defa, 12 Saat Arayla) (i.v.)	7 Gün
HİDROKSİKLOROKİN	n=6	2x400 mg/kg Hidroksiklorokin (0.09% SF İçerisinde Çözünmüş) (1.Gün: Günde 2 Defa, 12 Saat Arayla) 2x200 mg/kg Hidroksiklorokin (0.09% SF İçerisinde Çözünmüş) (2-5.Gün: Günde 2 Defa, 12 Saat Arayla) (Gavaj)	5 Gün
ANAKİNRA	n=6	4x100 mg/kg Anakinra (0.09% SF İçerisinde Çözünmüş) (Günde 4 Defa, 6 Saat Arayla) (s.c.)	7 Gün
FAVİPİRAVİR	n=6	2x1600 mg/kg Favipiravir (0.09% SF İçerisinde Çözünmüş) (1.Gün: Günde 2 Defa, 12 Saat Arayla) 2x600 mg/kg Favipiravir (0.09% SF İçerisinde Çözünmüş) (2-5.Gün: Günde 2 Defa, 12 Saat Arayla) (Gavaj)	5 Gün

Deney başlangıcında Sham Kontrol grupları için denek sayısı 6 adet olacak şekilde planlanmış, ancak Etik Komite'nin önerisi doğrultusunda 3'er denek olarak azaltılmıştır. Bu doğrultuda; tüm istatistiksel analizler için; her Sham Kontrol Grubundan rastgele 2'şer denek seçilerek, 6 denek içeren tek bir Sham Kontrol Grubu oluşturulmuştur.

3.4. Deneyin Sonlandırılması

İlaçlar ve kontrol grubuna uygulanan stresler tamamlandıktan sonra tüm denekler deney bitiminde ketamin (45 mg/ kg i.m) ve xylazine (5 mg/kg i.m) ile anestezi uygulanarak sırtüstü pozisyonda yatırıldı ve etik kurallar çerçevesinde derin anestezi altında intrakardiyak kan alınması ile bilime feda edildi. Sıçanların testis dokuları alınarak %10'luk tamponlu nötral formaldehite alındı. Fiksateye alınan doku örnekleri histokimyasal ve immünohistokimyasal olarak değerlendirilebilmek için ışık mikroskopik doku takibine alındı.

Sıçanların sol kaudal epididimis ve duktus deferens dokuları alınarak, 24 saat süresince 37°C' de tutulan saf sperm yıkama (Sperm Rinse-Vitrolife) solüsyonuna alındı ve steril iğne uçları ile ayrıştırılarak spermiyumların solüsyona geçmesi sağlandı. Spermiyumlar, Makler Counting Chamber ile sayılarak hareketlilikleri değerlendirildi ve yapısal inceleme için Spermac Boyası (FertiPro) ile boyanmak üzere lamlara froti tekniği kullanılarak yayıldı ve %4 paraformaldehit ile bu lamlar tespit edildi.

3.5. Histokimyasal Yöntem

Deneklerin diseksiyonu sonrasında çıkarılan testis dokuları %10'luk formaldehitte 72 saat süresince tespit edildi. Fiksasyonun tamamlanmasının ardından gazlı bezden yapılan keseler içinde etiketlenen dokular 24 saat boyunca akar suda tutularak tespit materyalinin uzaklaştırılması amacıyla yıkandı. Yıkama işleminin tamamlanmasının ardından dokudaki suyun uzaklaştırılıp ksilol ile yer değiştirilebilmesini sağlayan bir materyal olan etil alkol ile artan alkol serlerinden (sırasıyla %50-%70-%80-%96-%100 etil alkol) her birinde 1'er saat kalacak şekilde geçirildi. Ardından dokunun şeffaflaştırılması amacıyla her birinde 1'er saat kalacak şekilde iki ayrı ksilol solüsyonunda dokular bekletildi. Şeffaflaştırma aşamasının tamamlanması sonrasında 60°C derecelik sıcaklıktaki etüvde sıvı hale gelen parafin I'de (1 saat) ve Parafin II'de (1 saat) bekletilerek dokunun içerisine parafinin nüfuz etmesi sağlandı.

Dokular 2x2 cm³ ebatta parafin kalıplar yardımı ile parafin bloklar halinde gömülerek ışık mikroskopik takip tamamlanmış oldu. Parafin bloklardan, Leica markalı 2245 model mikrotom ile 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler hem histokimyasal hem de immünohistokimyasal boyamalarda kullanıldı.

3.5.1. Hematoksilen-eozin boyama yöntemi

Lamlar cam zembillere dizildi. Parafin bloklardan lama alınan kesitler içerdikleri parafinin erimesi için süre uygunluğuna göre etüvde 70 °C’de 20 dakika ya da 60 °C’de bir gece boyunca bekletilerek deparafinize edildi. Bu şekilde ısı etkisi ile deparafinize edilen dokuların içerisinde geriye kalan parafinin de uzaklaştırılması amacıyla lamlar 2 kez 15’şer dakika ksilende bekletildi. Bu şekilde deparafinizasyonu tamamlanmış olan lamlar azalan etil alkol/su karışımı serilerinden (sırasıyla %100, %96, %90, %80, %70 ve %50’lik etanol/su karışımı) 10’ar dakika geçirildi. %50 lik etil alkol/su karışımından çıkarılan doku kesitleri önce havada içerdikleri alkol uçuncaya kadar kurutuldu. Ardından boyanma işlemine geçilmeden önce rehidrasyonu sağlamak amacıyla 10 dakika akarsuda yıkandı. Ardından Harris hematoksilen’de 10-15 dakika bekletilerek hematoksilen boyaması yapıldı. Kesitler hematoksilendeki süreleri tamamlanınca 10 dakika akar suda yıkanadı. Yıkama sonrası kesitler asit alkol karışımına (%70 alkol + 2-3 damla glasiyal asetik asit içeren solüsyon) 2-3 dip batırılarak tekrardan 10 dakika akar suda yıkamaya alındı. Sonrasında Eozin’de 5-10 dakika bekletilip tekrar 10 dakika akar suda yıkandı. Yıkama sonrası 2’şer dakika artan alkol serileriden (sırasıyla % 50-70-80-96-100 etil alkol) geçirildi. %100 alkolden çıkarılan preparatlar havada alkolü uçuncaya kadar kurutulup 2 kez 15’er dakika ksilolde bekletildi ve entellan ile kapatılarak daimi hale getirildi. Dokuda bulunan hücrelerin nükleusu Harris hematoksilen ile mor, sitoplazmik kısımları eozin ile pembe boyandı. Kesitler Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, LAS programında fotoğrafları çekilerek değerlendirildi. Değerlendirmeler sonunda meydana gelen histopatolojik parametreler incelenerek doku hasarı hem histopatolojik değişimler açısından hem de Johnsen’s skorumla ile değerlendirmeye alındı. İncelemeler sonrası ulaşılan veriler incelenerek gruplar arası istatistiksel olarak değerlendirildi.

3.6. İmmünohistokimyasal Yöntem

İmmünohistokimyasal işaretlemeler için polilizinli lamlara (IsoTherm – Germany) alınan testis doku örnekleri, 62°C’deki etüvde (IsoLab- germany ya da ElectroMag M420 BP) 1 saat bekletildi. Deparafinizasyonu tamamlamak için lamalar 2 kez 15’şer dakika ksilolde (Tekkim) bekletildi. Daha sonra 10’ar dakika sırasıyla %100, %96, %90, %80 ve %70’lik alkol (etil alkol- Tekkim) serilerinden geçirildi. Boyama işlemine hazırlamak için dehidrate edilen dokuları alkolden arındırmak için kesitler 2 kez 5’er dakika distile sudan geçirildi. Daha sonra doku içerisinde formaldehitin (Tekkim) kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlamak amacıyla, dokulara sitrat tamponu (ChemBio marka CB6535) (pH6.0) ile mikrodalga fırın (Arçelik MD-574) ile retriver işlemi uygulanandı. Bu işlem süresinin 15 dakikadan uzun olmamasına özen gösterildi. Mikrodalgadan çıkan sitrat tamponundaki dokular 20 dakika oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Dokuların sitrattan arındırılması için 2 kez 5’er dakika distile suda yıkaması yapıldı. Yıkanan dokular sudan çıkarılıp çırpıldı fazla suyu uzaklaştıktan sonra dokuların etrafı Pap-Pen hidrofobik kalem (PathoLab) ile çevrilerek nemli ortam olan immünohistokimya barına dizilip 3 defa 3’er dakika PBS (Phosphate Buffer Saline) (Ph:7,4) (Merck) ile yıkandı. Dokular PBS ile yıkandıktan sonra, 15 dakika %3’lük hidrojen peroksit (Thermo Scientific TA-125-H2O2Q) ile etkin bırakılarak dokulardan endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. Endojen peroksidaz aktivitesi sonlandırıldıktan sonra PBS ile 3 kez 3’er dakika camlar yıkandı. Ardından 5 dakika UltraVblock (Thermo Scientific-TA-125-UB) uygulanarak, özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlandı. Bu aşama tamamlanınca dokular yıkanmadan primer antikor aşaması başlatıldı. İşaretleyici olarak kullandığımız ajanın endojen preoksidazlara bağlanmasını engellemek amacıyla yaptığımız bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan, primer antikorda 4°C’ de 1 gece inkübe edildi. Tezimizde primer antikor olarak aşağıda maddeler halinde belirtilen antikorlar kullanıldı. Tüm dilüsyonlar Thermo Scientific marka Antikor diluenti (TA-125-HD) ile seyreltildi.

- İnterlökin 1-Beta (FineTest, Cat No: FNab04209, Wuhan Fine Biotech Co. Hubei, China) 1/150 dilüsyonda +4 °C derece de 1 gece inkübe edilerek uygulandı.
- İnterlökin-6 (FineTest, Cat No: FNab04282, Wuhan Fine Biotech Co. Hubei, China) 1/150 dilüsyonda +4 °C derece de 1 gece inkübe edilerek uygulandı.
- TNF-Alfa (FineTest, Cat No: FNab08815 Wuhan Fine Biotech Co. Hubei, China) 1/200 dilüsyonda +4 °C derece de 1 gece inkübe edilerek uygulandı.

Primer antikorlar ile inkübasyonu tamamlanan dokular +4 °C derece sıcaklıktaki dolaptan çıkarılarak oda sıcaklığına getirildi. Oda sıcaklığına geldiklerinde lamalar 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandı ve sonra 10 dakika antijen-primer antikor kompleksini görünür hale getirmek için biyotinli sekonder antikor (Thermo Scientific- TA-125-HL) uygulanarak sekonder antikorun primer antikora bağlanması sağlandı. Ardından dokular tekrar 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkayıp biyotin ile yüksek oranda bağlanma özelliğinde olan streptavidin (Thermo Scientific-TA-125-HL) ile 10 dakika inkübe edildi. İşlem sonunda dokular 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandı. Son olarak dokulara diaminobenzedin (DAB) (Thermo Scientific- DAB substrate system- TA-125-HD) substratı içeren DAB kromojeni damlatılarak gözle görülebilir immün tepkimenin ortaya çıkması sağlandı.

2 kez 5'er dakika distile su ile yıkanan dokularda zemin boyası olarak Harris Hematoksilen'i kullanıldı. Hematoksilen boyamasının ardından preparatlar distile su ile tekrar yıkayıp azalan alkol serilerinden geçirildi. Sonrasında 20 dakika ksilolde bekletilen lamlara entellan damlatılıp lamel ile kapatıldı. Kesitler Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, LAS programında fotoğrafları çekilerek değerlendirildi.

Tüm antikorlar için immünohistokimyasal tutulumlar her grup ve her denekte birbirinden bağımsız iki körv gözlemci tarafından değerlendirilerek, gruplar arasında tutulum yoğunlukları arasında anlamlı bir farklılık olup olmadığının tespiti H-Skor analizleri yapılarak sağlandı. Uygulanan primer antikor için “ 0=Hiç Yok, 1=Zayıf Tutulum, 2=Azdan Ortaya Değişen Tutulum, 3=Orta Dereceli Tutulum, 4=Ortadan Yoğuna Değişen Tutulum, 5=Yoğun Tutulum” sayısal veriler olarak kabul edildi. H-Skor değeri $H-Skor = \sum P_i (i + 1)$ formülü kullanılarak hesaplanırken, tutulum değerleri 0-5 arasında belirlendi ve P_i ise tutulum gösteren hücrelerin yüzde değeri olarak kabul edildi.

3.7. Makler Sayım Kamarası Kullanılarak Sperm Sayımı

Deney bitiminde sıçanların sol kaudal epididimis ve duktus deferens dokuları 24 saat süresince 37°C' de tutulan saf sperm yıkama (Sperm Rinse-Vitrolife) solüsyonuna alındı ve steril iğne uçları ile ayrıştırılarak ve minik hareketlerle doku içeriğinin yıkama solüsyonuna karışması sağlanarak hassas bir şekilde parçalandı. Bu sayede; spermiyumların yıkanmış peletten ayrılıp, taze kültür mediumuna yüzmesi sağlandı. Spermiyumlar Makler Counting

Chamber ile 20x objektif altında seri bir şekilde sayılarak hareketlilikleri; ileri hareketli, yerinde hareketli ve immotil sınıflandırması baz alınarak değerlendirildi.



Resim 3.1. Makler kamarası

3.8. Kruger Yöntemi ile Sperm Morfolojisi Değerlendirilmesi

Yapısal inceleme için Kruger tekniği ile sperm morfolojisi değerlendirilmek üzere temiz bir lam üzerinde froti tekniği ile sol kaudal epididimis ve ductus deferensten sperm yıkama solüsyonuna alınan sperm içerikli sıvı yayılarak Spermac Boyası (FertiPro) ile boyandı.

Spermac boyama (FertiPro) yöntemi için ; deneklerden elde edilen spermiler ile morfolojik değerlendirme yapıldı. Spermac Boyama (FertiPro) Yöntemi ile Kruger sayımı için spermiler lamlara fiks edilerek boyandı. Sperm yayma boyası için FertiPro Spermac boya kiti kullanıldı (Lot: FP12S05, Referans No: SPS050). Lama yayılan semen örneği 5 dakika havada kurutuldu. Sonrasında 5 dakika süresince formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Tespit işlemi tamamlandıktan sonra 7×1 distile suya batırılarak fazla tespit maddesinin uzaklaştırılması sağlandı. Boyama için öncelikle A solüsyonuna 7 kez daldırılan lamlar, 1 dk boya içinde bekletildi. Süre bitiminde 7×2 kez distile suda yıkama yapıldı. Daha sonra aynı işlemler B ve C solüsyonları için de gerçekleştirildi. Boyama bitiminde lamlar immersiyon yağı yardımı ile ışık mikroskopunda ×100 objektifi ile değerlendirilerek uygun alanlardan resimlendirildi. Ayrıca her bir denekten alınarak yukarıda belirtilen şekilde boyanarak hazırlanan preparatlar morfoloji anomalileri açısından ışık mikroskop altında incelendi. Her bir preparatta rastgele seçimle 100 adet sperm morfolojik olarak incelenerek normal sperm sayımı ve anomalili sperm sayımı yapıldı. Her bir anomaliden kaçar tane bulunduğu kaydedildi. İnceleme normal sperm, baş anomalisi, akrozom anomlisi, boyun

anomalisi, kuyruk anomalisi, sitoplazmik droplet varlığı ve çoklu anomali bulundurması açısından sınıflandırılarak yapıldı.

3.9. Testis Kesitlerinin Johnsen's Skoruması ile Değerlendirilmesi

Bu skorumama tekniği erkek inferilitesi tanısının konmasında spermatogenezisin kantitatif analizi amacıyla kullanılan bir tekniktir. Buna göre alınan testis kesitleri seminifer tübül morfolojisi skorumlanması için hematoksilen-eozin rutin boyaması yapılarak incelendi. Her bir preparatta 50 tübül incelenerek skorumlandı. Skorumlamada sırasıyla aşağıdaki özellikler dikkate alınarak puan verildi (Johnsen, 1970).

- 1 puan: Seminifer tübül içinde hiç hücre bulunmuyor (oblitere tübül).
- 2 puan: Germ hücresi yok sadece Sertoli hücreleri var.
- 3 puan: Germ hücresi olarak sadece spermatogonyum var.
- 4 puan: Spermatozoa ve spermatid yok, 5 taneden az sayıda spermatosit var.
- 5 puan: Spermatozoa ve spermatid yok, 5 taneden fazla sayıda spermatosit var.
- 6 puan: Az sayıda spermatid var, spermatozoa yok.
- 7 puan: Çok sayıda spermatid var, spermatozoa yok.
- 8 puan: Germinal epitel kalın ancak spermatozoa sayıca 10 taneden az.
- 9 puan: Spermatogenez tam ancak epitelde disorganizasyon ve lümene dökülme var.
- 10 puan: Komplet spermatogenez, germinal epitel kalın ve çok sayıda spermatozoa izleniyor (Johnsen, 1970).

3.10. TOS, TAS Analizi ve OSI İndeksinin Belirlenmesi

3.10.1. Total oksidan kapasite (TOS) analizi

Tez çalışmamızdaki testis doku örneklerinde Total Oksidan Kapasite (TOS), Total Oxidant Status (TOS) kiti (Baran Medikal- Türkiye) ile ELISA cihazında ölçüm yapılarak çalışılmıştır (<https://www.baranmedikal.com.tr/urundetay-total-oxidant-status-assay-kit.html>).

Kit kutu içeriğinde çıkan hacimler:

- Reaktif-1 (R-1): 300 µl

- Numune veya Standart veya H₂O: 45 µl
- Reaktif- 2 (R-2): 15 µl

Deney sonucundaki tüm absorbans ölçümleri 530 nm dalga boyunda ya da bu dalga boyuna en yakın dalga boyunda ölçülmesine özen gösterilmiştir.

Test çalışma adımları:

1. Seçili kuyucuğa R-1 ile numune pipetlendi ve karışım sağlandı (karışım vortex ile veya kullanılan otomatik pipet ile en az 3 kez çekildi ve tekrar pipetlendi).
2. R-1 ile numune karıştırıldıktan sonra ilk okuma alındı (ilk okuma A1).
3. R-1 ile numune karışımına R-2 pipetlendi ve karışım sağlandı.
4. R-2 karıştırıldığı andan itibaren zaman başlatıldı. 5 Dk süresince inkübatörde veya oda ısında 10 Dk beklendi.
5. İnkübasyon süresi sonunda ikinci okuma alındı (ikinci okuma A2).
6. $A2-A1 = \text{Numune Sonucu (ham sonuç)}$.

TOS Sonucu = $[\Delta\text{Abs Numune} / \Delta\text{Abs Standart}] \times 10$ (Eşitlik, 3.10.1)

Elde edilen sonuç birimi µmol/L'dir.

3.10.2. Total antioksidan kapasite (TAS) analizi

Tez çalışmamızdaki testis doku örneklerinde Total Antioksidan Kapasite (TAS), Total Antioxidant Status (TAS) kiti (Baran Medikal- Türkiye) ile ELISA cihazında ölçüm yapılarak çalışılmıştır (<https://www.baranmedikal.com.tr/urundetay-total-antioxidant-status-assay-kit.html>).

Kit kutu içeriğinde çıkan hacimler:

- Reaktif-1 (R-1): 300 µl
- Numune veya Standart veya H₂O: 18 µl
- Reaktif- 2 (R-2): 45 µl

Deney sonucundaki tüm absorbans ölçümleri 660 nm dalga boyunda ya da bu dalga boyuna en yakın dalga boyunda ölçüldü.

Test çalışma adımları:

1. Seçili kuyucuğa R-1 ile numune pipetlendi ve karışım sağlandı (karışım vortex ile veya kullanılan otomatik pipet ile en az 3 kez çekildi ve tekrar pipetlendi).
2. R-1 ile numune karıştırıldıktan sonra ilk okuma alındı (ilk okuma A1).
3. R-1 ile numune karışımına R-2 pipetlendi ve karışım sağlandı.
4. R-2 karıştırıldığı andan itibaren zaman başlatıldı. 5 Dk inkübatörde veya oda ısında 10 Dk beklendi.
5. İnkübasyon süresi sonunda ikinci okuma alındı (ikinci okuma A2).
6. $A2-A1$ = Numune Sonucu (ham sonuç).

Yukarıdaki 6 adım sonucunda elde edilen ham sonuçlar ile test sonucuna ulaşabilmek için aşağıdaki formül kullanıldı. Formülün hesaplama yapabilmesi için numune, standart ve su sonuçlarına ihtiyaç vardır. Formül için gerekli olan numune, standart ve su test çalışma prosedürüne tabi kalınarak ayrı ayrı yapıldı.

R-2 pipetlendikten sonra reaksiyon başladığından cihazın programı ayarlanarak pipetleme yapıldı, 12 sütun arasına 1 Dk konuldu ve cihaza okutma yaparken bu 12 sütunu 1'er Dk ara ile okunması komutu verildi. Bu, tüm sonuçlarımızın aynı reaksiyon süresine tabi olması açısından önemlidir. Taze numune veya dondurulmuş numune çalışmaya başlanmadan önce vortex yardımı ile karıştırılmasına özen gösterildi ve ardından 3000 rpm de 3 dk santrifüj işlemine tabi tutuldu.

Çalışma öncesi numune ve tüm reaktifler oda ısısına getirildi.

TAS Sonucu = $[\Delta\text{Abs H}_2\text{O} - \Delta\text{Abs Numune}] / [\Delta\text{Abs H}_2\text{O} - \Delta\text{Abs Standart}]$ (Eşitlik, 3.10.2)

Sonuçta elde edilen değerin birimi mmol/L'dir.

3.10.3. Oksidatif stres indeksi (OSI) hesaplama

TAS ve TOS testlerinden elde edilen sonuçlar aşağıdaki oksidatif stres indeksi (OSI) formülüne işlendi. OSİ, TOS değerinin TAS değerine bölünmesi ile çıkan sonucun 100 ile çarpılması ile hesaplanır. TAS ve TOS ile elde edilen sonuçların birimleri aynı olmalıdır.

$$\text{OSİ} = [(\text{TOS}, \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equivalent} / \text{Lt}) / (\text{TAS}, \mu\text{mol Trolox Equivalent} / \text{Lt})] \times 100$$

(Eşitlik, 3.10.3)

3.11. İstatistiksel Yöntem

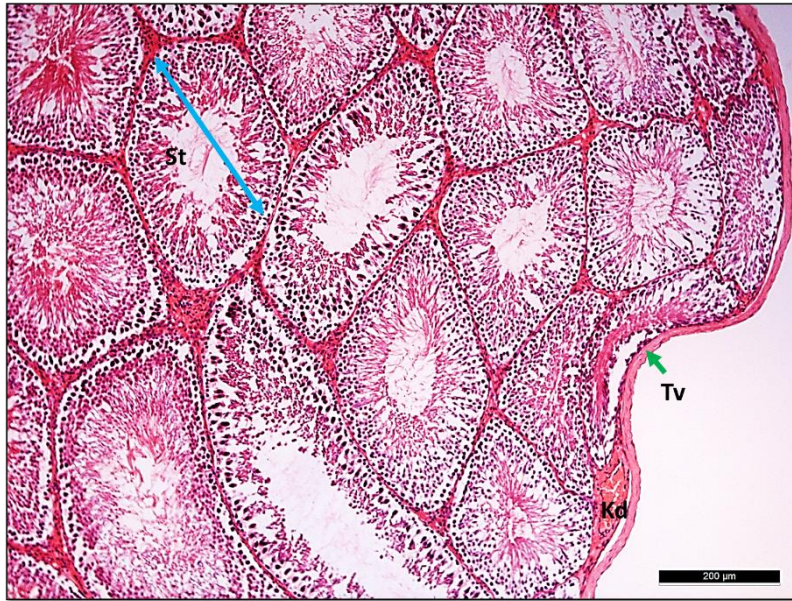
Deneklerin TNF- α , IL-1 β ve IL-6 immünohistokimya boyamaları doğrultusunda oluşturulan H-Skor verileri ile spermiyogram, Kruger sayımı, Johnsen skor ve TOS-TAS-OSİ sonuçlarına ait tüm istatistiksel veriler Statistical Package for Social Sciences (SPSS) versiyon 20.0 Software (SPSS Inc., Chicago, IL) programı kullanılarak analiz edildi.

Deneklerin H-Skor istatistiksel verilerine ait gruplar arasındaki farklılıklar ANOVA ve Tukey post hoc testleri ile analiz edildi. Deneklerin spermiyogram ve Kruger sayımlarına ait istatistiksel veriler ANOVA ve Tukey ile Tamhane post hoc testleri ile analiz edildi. Johnsen skor ve TOS-TAS-OSİ sonuçlarına ait istatistiksel veriler ise ANOVA ve Tukey post hoc testleri ile analiz edildi. Tüm veriler ortalama şeklinde sunuldu. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

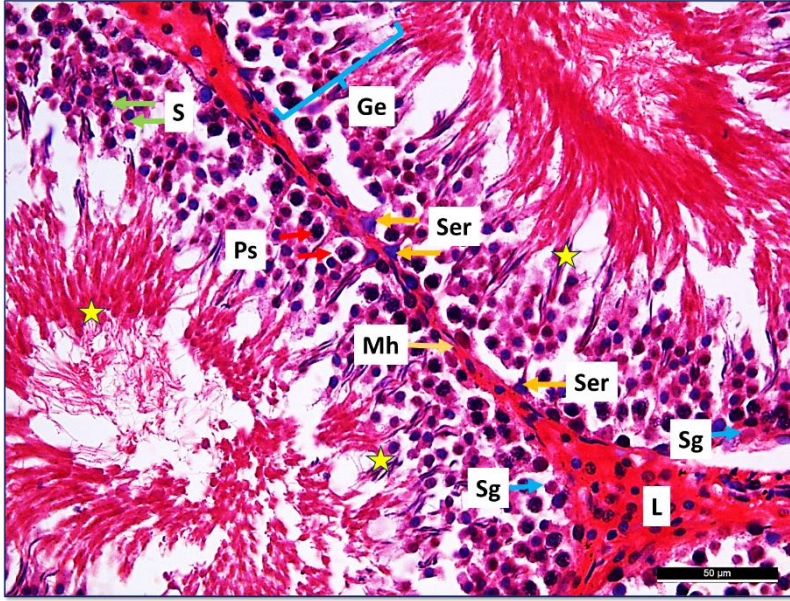
4. BULGULAR

4.1. Hematoksilen-Eozin Boyama Bulguları

Gavaj stresi, intravenöz enjeksiyon stresi ve subkutan enjeksiyon stresi uygulanan Sham Kontrol gruplarında Hematoksilen-Eozin boyama sonrası yapılan küçük ve büyük büyültmeli incelemelerde; testis dokusundan alınan enine kesitlerde, kan damarından zengin gevşek bağ dokusu özelliğindeki tunika vasküloza tabakası testis çevresinde normal yapıları ile ayırt edildi. Seminifer tübülleri çevreleyen myoid hücrelerin komşuluğundaki fibröz bağ dokusu özelliğindeki lamina limitans kılıfları normal yapılarındaydı. Seminifer tübüllerin duvarlarında yerleşim gösteren germinal epitel, farklı gelişim aşamalarındaki spermatogenik seri hücreleri ve Sertoli hücreleri ile normal histolojik görüntülerinde izlendi. Spermatogenik seri hücrelerinin tübül bazalinden apikaline doğru sırası ile heterokromatik spermatogonyumlar, iri primer spermatositler, spermatidler ve kuyrukları lümene doğru serbestleşmek üzere uzanmış elonge başlı spermatozoa ile normal düzenlenimlerinde sıralandıkları tespit edildi. Seminifer tübüllerin arasını dolduran interstisyel bağ doku alanı, kan damarları ve bu yapılar arasında tek tek ya da gruplar halinde yerleşim gösteren poligonal morfolojili eozinofilik Leydig hücreleri ile normal izlenimlerinde ayırt edildi (Resim 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6).

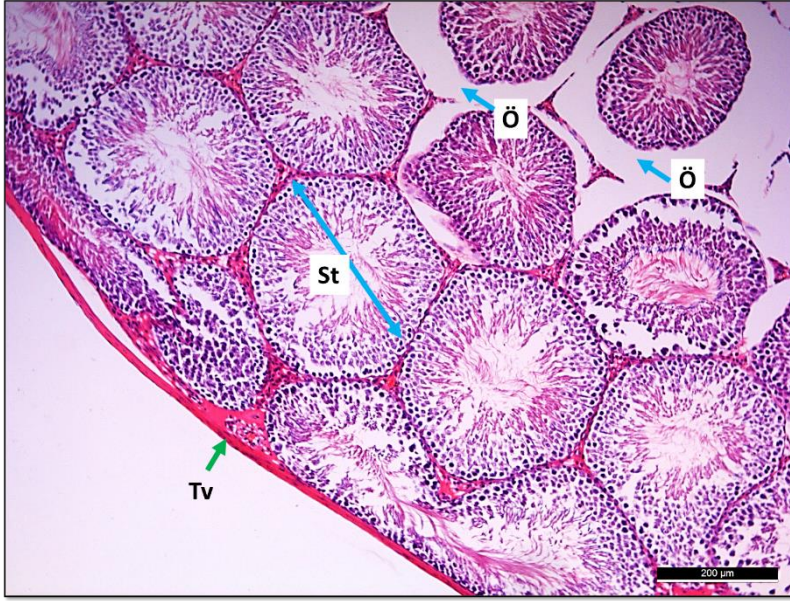


Resim 4.1. Gavaj Stresi Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunda küçük büyütmede seminifer tübül enine kesiti St: Seminifer Tübül, Kd: kan damarı, Tv: Tunika vasküloza (H&E, 10x büyütme)

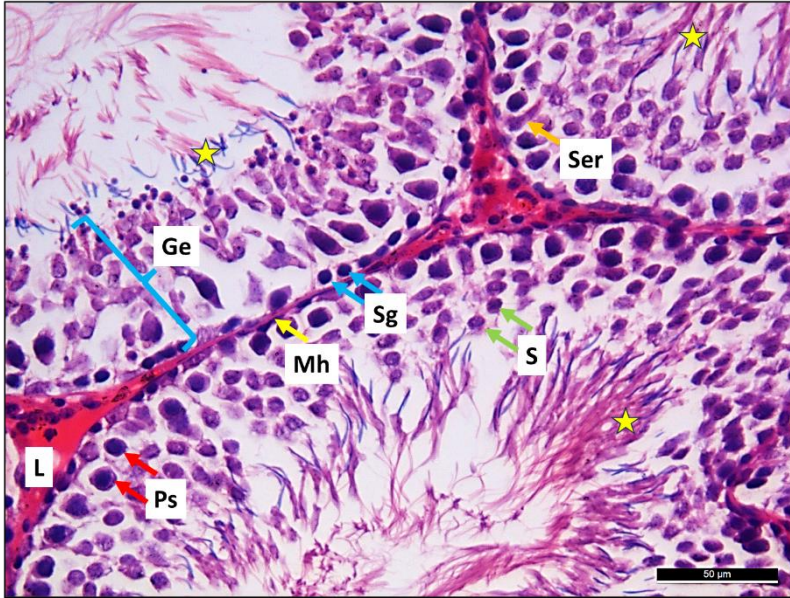


Resim 4.2. Gavaj Stresi Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunda büyük büyütmede seminifer tübül enine kesiti. Ge: Germinal epitel, Ser: Sertoli hücresi, Sg: Spermatogonyum, Ps: Primer spermatosit, S: Spermatit, L: Leydig hücresi, Mh: Miyoid Hücreler, (*): Spermatozoa (H&E, 40x büyütme)

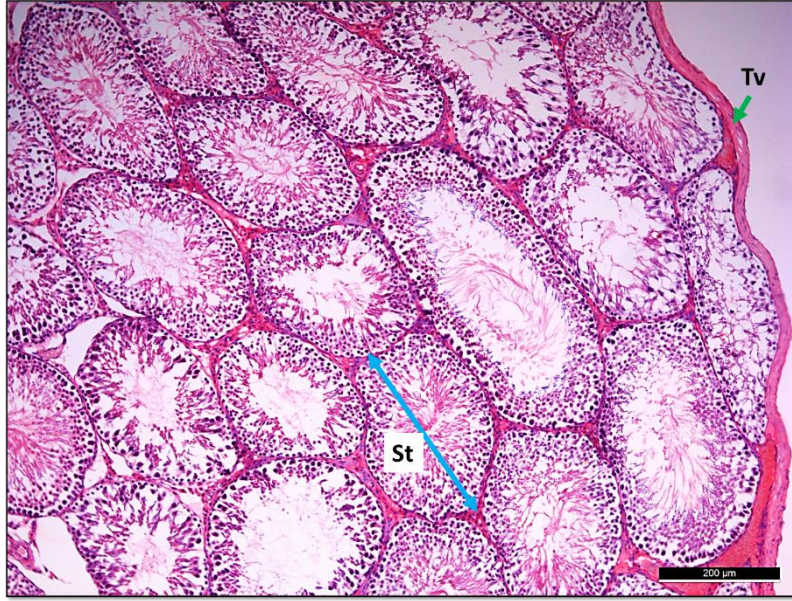
Stres uygulanan tüm Sham Kontrol grupları histolojik olarak kendi içerisinde değerlendirildiğinde, tüm deneklerde görülmemek ile birlikte bazı deneklerde testis dokusunun özellikle merkezi bölgesine yakın alanlarında intersitisyel bağ dokuda ödem ayırt edildiği için intravenöz enjeksiyon stresi grubunun diğer sham kontrol gruplarına kıyasla deneklerde testiküler açıdan daha etkin strese yol açtığı tespit edildi. Ancak bu izlenim tüm deneklerde görülmediğinden ve spermiogram testleri sonucunda da dejenerasyonu destekleyecek bir veriye rastlanılmadığından, denek-spesifik olabileceği de göz önünde bulundurularak bir dejenerasyon kriteri olarak kabul edilmedi (Resim 4.3, 4.4).



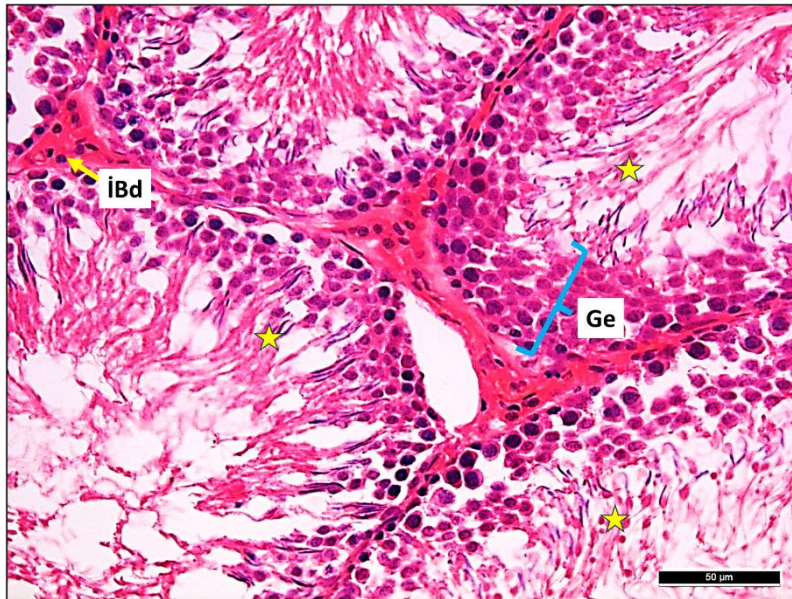
Resim 4.3. İntravenöz Enjeksiyon Stresi Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunda küçük büyütmede seminifer tübül enine kesiti St: Seminifer Tübül, Tv: Tunika vasküloza, Ö: ödem (H&E, 10x büyütme)



Resim 4.4. İntravenöz Enjeksiyon Stresi Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunda büyük büyütmede seminifer tübül enine kesiti, Ser: Sertoli hücresi, Sg: Spermatogonyum, Ps: Primer spermatozoid, S: Spermatid, L: Leydig hücresi, Mh: Miyoid Hücreler, (*): Spermatozoa (H&E, 40x büyütme)



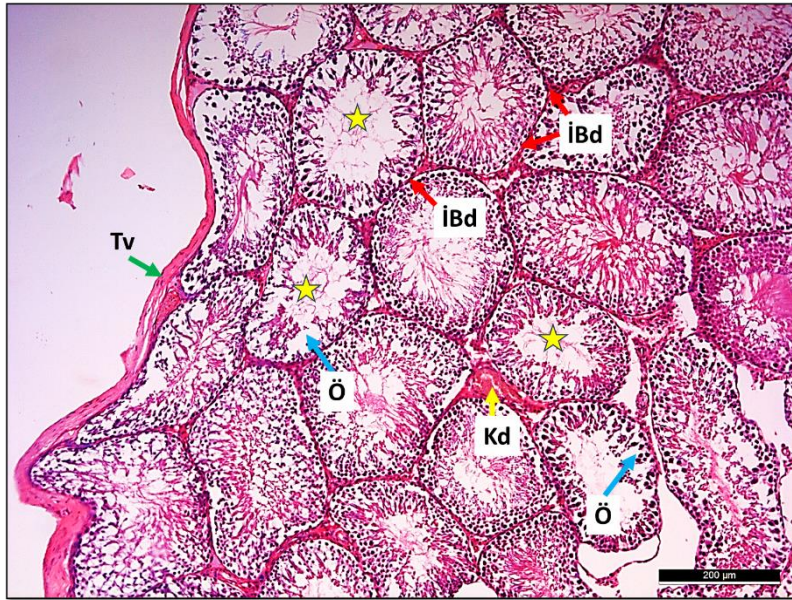
Resim 4.5. Subkutan Enjeksiyon Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunda küçük büyütmede seminifer tübül enine kesiti St: Seminifer Tübül, Tv: Tunika vasküloza (H&E, 10x büyütme)



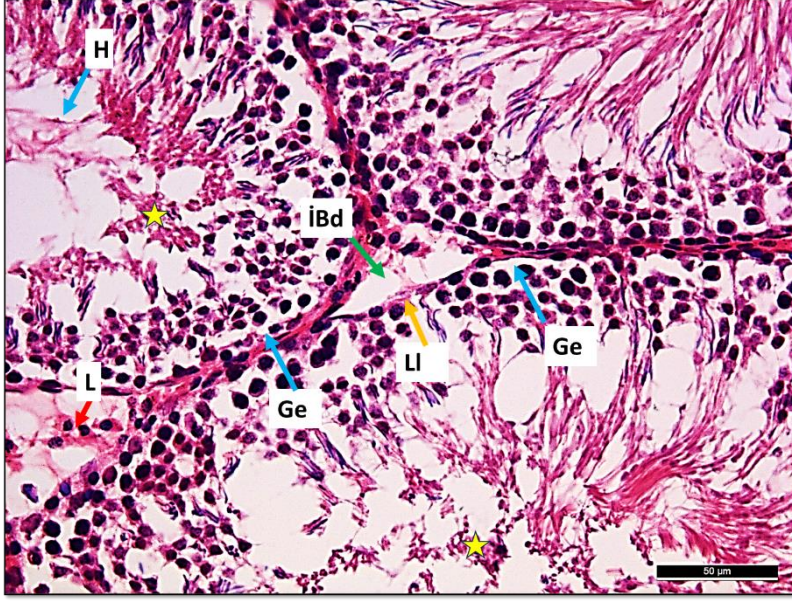
Resim 4.6. Subkutan Enjeksiyon Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunda büyük büyütmede seminifer tübül enine kesiti, Ge: germinal epitel, İBd: intersitisyel bağ doku, (*): Spermatozoa (H&E, 40x büyütme)

Asiklovir uygulanan deney grubuna ait testis kesitlerinde yapılan küçük büyültmeli incelemelerde; testisi çevreleyen tunika vasküloza'nın normal yapısında seyrettiği izlendi. Seminifer tübüllere ait germinal epitelde ödem ve çoğu tübül lümeninde görece spermatozoa azalması belirgindi. İnterstitiyel bağ doku yoğunluğunda yine bazı alanlarda kayıp dikkati

çaktı. İnterstisyel bağ doku içerisinde yerleşim gösteren kan damarlarında dilatasyon ve konjesyon izlendi (Resim 4.7). Bu grupta yapılan büyük büyültmeli incelemelerde; seminifer tübülleri çevreleyen lamina limitans bütünlüğünün bazı alanlarda bozulduğu dikkati çekti. Seminifer tübül bazalinde, germinal epitelin ayrıldığı bölgeler ayırt edildi. Germinal epitelde, küçük büyültmede de ayırt edilen ödem, bu büyültmede de belirgin olarak izlendi. Bu tip alanlarda spermatogenik seri hücreleri arasında bağlantı kaybı olduğu görüldü. Seminifer tübül lümeninde hyalinizasyon ayırt edildi, hyalinizasyon izlenen bu tip tübüllerde, tübül lümenindeki spermatozoa yoğunluğunun da görece azaldığı dikkati çekti. İnterstisyel alanda bağ doku yoğunluğunda azalma ve Leydig hücre popülasyonunu kesintiye uğratabilecek şiddette vakuolizasyon ayırt edildi (Resim 4.8).

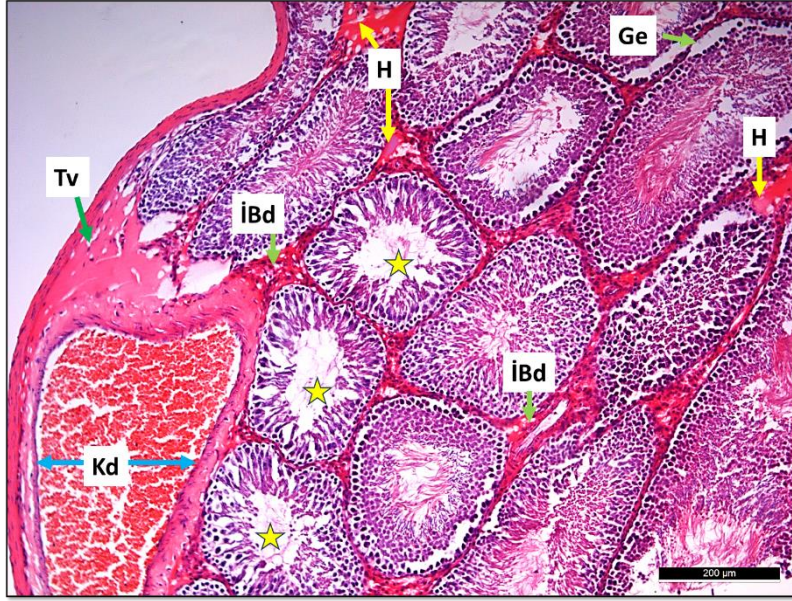


Resim 4.7. Asiklovir Grubuna ait testis dokusunda küçük büyütmede seminifer tübül enine kesiti, Tv: tunika vaskuloza normal yapıda, Ö: germinal epitelde ödem, *: lümendeki spermatozoa sayısında azalma, İBd: interstisyel bağ dokusu yoğunluğunda azalma, Kd: dilatasyon ve konjesyon gözlemlenen kan damarı. (H&E, 10x büyütme)

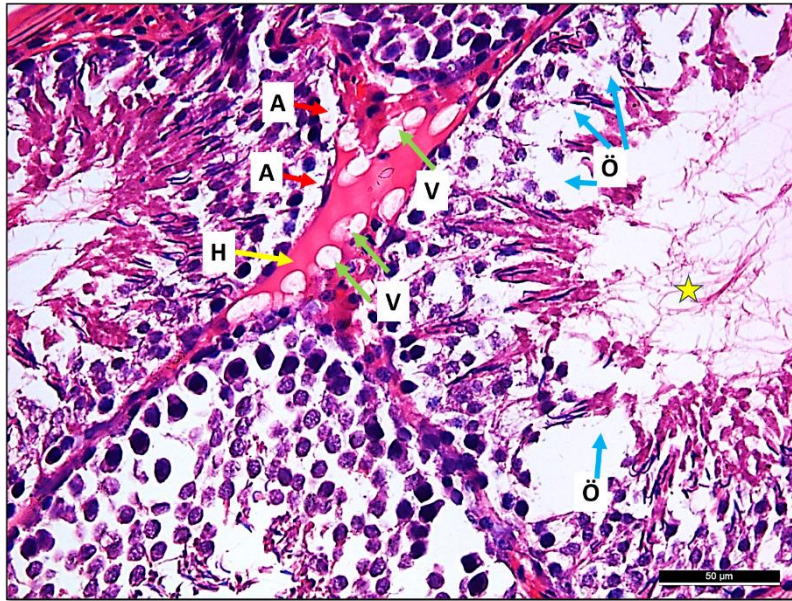


Resim 4.8. Asiklovir Grubuna ait testis dokusunda büyük büyütmede seminifer tübül enine kesiti, Ll: lamina limitans bütünlüğünde bozulma, Ge: Germinal epitelin bazalinde bağlantı kaybı, H: seminifer tübül lümeninde hyalinizasyon, (*): Spermatozoa sayısında azalma, İBd: interstisyel bağ dokuda kayıp, L: Leydig hücrelerinde vakualizasyon, (H&E, 40x büyütme)

Hidroksiklorokin uygulanan deney grubuna ait testis kesitlerinde yapılan küçük büyültmeli incelemelerde; testisi çevreleyen tunika vasküloza tabakasında fibrozis ve bu tabakada görülen kan damarlarında belirgin dilatasyon ve konjesyon dikkati çekti. İnterstisyel bağ dokuda vakuolizasyon gösteren alanlar ve bu alanlarda hyalinize görüntü izlendi. Bu gruba ait küçük büyültmeli incelemelerde en dikkat çekici özelliğin, germinal epitelin hemen her tübülde seminifer tübül bazalinden ayrılması olduğu tespit edildi. Bazı tübüllerin lümeninde, spermatozoa kaybı görece belirgin olarak izlendi (Resim 4.9). Yapılan büyük büyültmeli incelemelerde, interstisyel alanda Leydig hücre bütünlüğünü bozacak şiddette vakuolize ve hyalinize alanlar dikkati çekti. Seminifer tübüle ait germinal epitelde spermatogenik hücre serilerinin bağlantılarını kaybetmelerine sebep olacak şiddette ödem tespit edildi. Bu tip tübüllerin lümeninde, spermatozoa kaybı ise görece belirgin olarak izlendi (Resim 4.10).

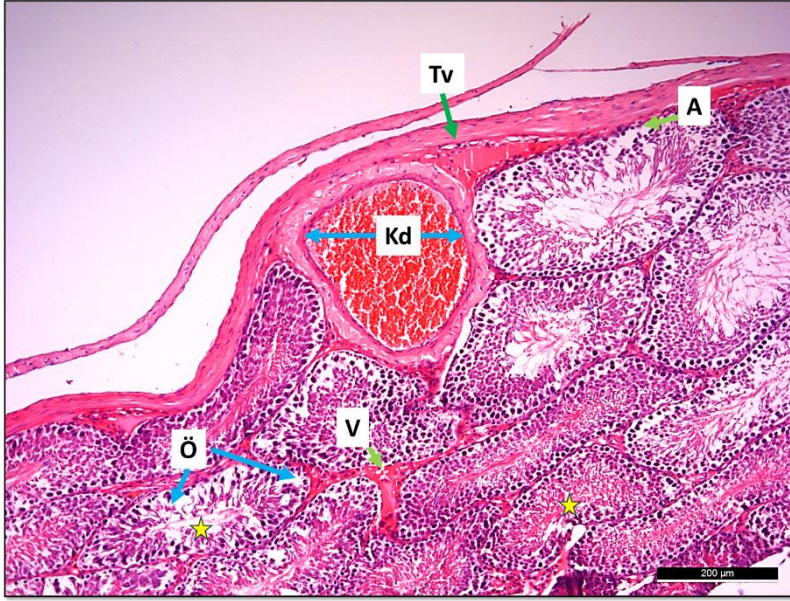


Resim 4.9. Hidroksiklorokin grubuna ait testis dokusunda küçük büyütmede seminifer tübül enine kesiti, Tv: Tunica vaskülozada fibrosis, Kd: Kan damarında konjesyon ve dilatasyon, İBd: intersitisyel bağ dokuda vakuolizasyon, H: Hyalinizasyon, Ge: Germinal epitelin bazalinde ayrılma, (*): Spermatozoa sayısında azalma (H&E, 10x büyütme)

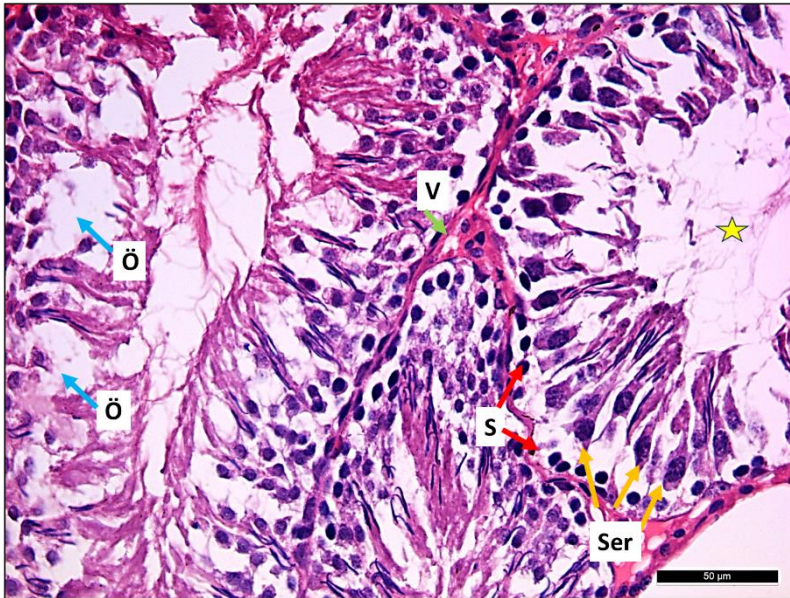


Resim 4.10. Hidroksiklorokin Grubuna ait testis dokusunda büyük büyütmede seminifer tübül enine kesiti V: intersitisyel bağ dokuda vakuolizasyon, H: intersitisyel bağ dokuda hyalinizasyon, A: Germinal epitelin bazalinde ayrılma, Ö: spermatogenik serii hücreleri arasındaki ödem, (*): Spermatozoa sayısında azalma (H&E, 40x büyütme)

Anakinra uygulanan deney grubuna ait testis kesitlerinde yapılan küçük büyültmeli incelemelerde; testisi çevreleyen tunika vasküloza tabakasında fibrozis ve bu tabakada görülen kan damarlarında belirgin dilatasyon ve konjesyon ayırt edildi. İnterstisyel bağ dokuya ait kan damarlarında dilatasyon ve bu alandaki hücrelerde vakuolizasyon dikkati çekti. Germinal epitelin seminifer tübül bazalinden ayrıldığı alanlar ile germinal epitelde ödem gösteren bölgeler ayırt edilirken; bazı tübüllerde lümende kuyrukları ve elonge başları ile izlenmesi gereken spermatozoa yerine lümenin hücre artıkları ile dolduğu tespit edildi. Lümeni bu tip görüntü sergileyen tübüllerin germinal epitelleri incelendiğinde, bu hücre artıklarının germinal epitelin organizasyonunu bozacak şekilde epitel içerisine de yayılım gösterdiği tespit edildi. Bu görüntü, bu tip tübüllerde spermatogeneziste arrest olaylandığı şeklinde yorumlandı (Resim 4.11). Bu gruba ait kesitlerde yapılan büyük büyültmeli incelemelerde, interstisyel alanda izlenen Leydig hücrelerinde vakuolizasyon görüldüğü tespit edildi. Seminifer tübüllere ait germinal epitelde ödem ve buna bağlı spermatogenik hücre serileri arasındaki bağlantı kaybı belirgindi. Hücrelerin, bazı tübüllerde bazal membran ile bağlantısını kaybettiği izlendi. Tübül lümenlerinde görece spermatozoa kaybı belirgin şekilde ayırt edildi. Bazı tübüllerde, diğer deney gruplarında görülmeyen, Sertoli hücrelerinin çok baskın hale geçtiği ve spermatogenik seri hücre sayılarının diğer tübüllere göre görece oldukça azaldığı bu grubun en dikkat çekici bulgusu olarak nitelendirildi. Bu tübüllere ait germinal epitelde spermatogenik seriye ait yalnızca heterokromatik spermatogonyumların izlendiği, diğer seri hücrelerine rastlanılmadığı ve dolayısı ile bu tübüllerde spermatogenezis arresti olaylandığı tespit edildi (Resim 4.12).



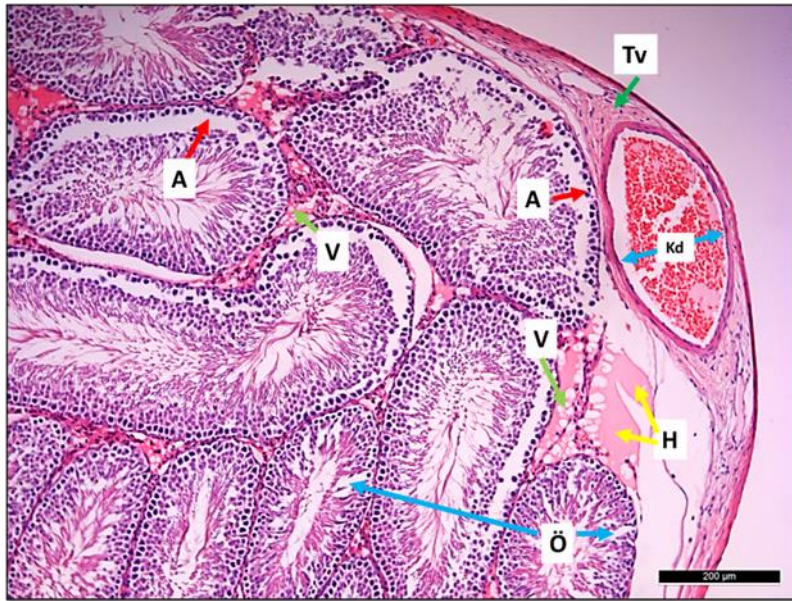
Resim 4.11. Anakinra Grubuna ait testis dokusunda uygulanan grupta testis dokusunda küçük büyütmede seminifer tübül enine kesiti. Tv: tunica vaskülozada fibrosis, Kd: kan damarında konjesyon ve dilatasyon, V: intersitisyel bağ dokuda vakuolizasyon, A: germinal epitelin bazalinde ayrılma, Ö: germinal epiteldeki ödem, (*): spermatozoa bulunması gereken lümende hücresel atıklar (H&E, 10x büyütme)



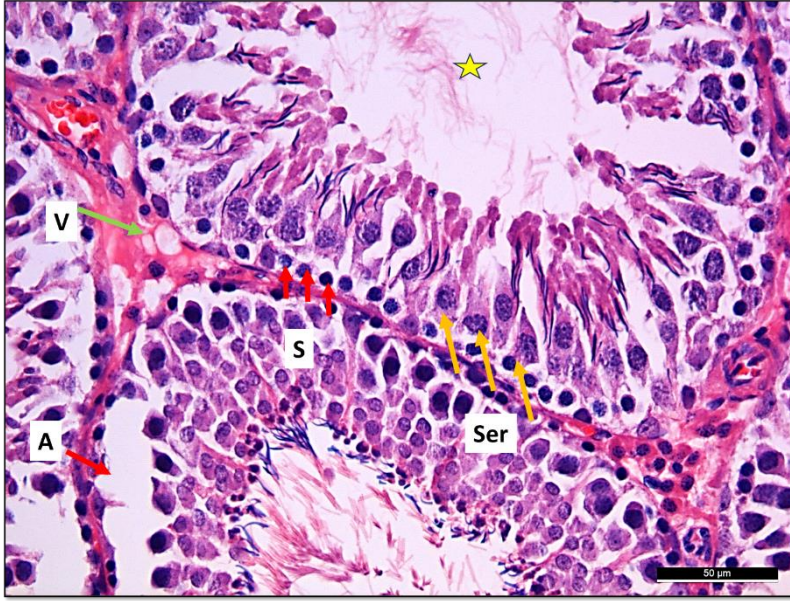
Resim 4.12. Anakinra Grubuna ait testis dokusunda uygulanan grupta testis dokusunda küçük büyütmede seminifer tübül enine kesiti. V: intersitisyel bağ dokuda vakuolizasyon, Ö: germinal epiteldeki ödem, Ser: Sertoli Hücreleri, S: spermatogonyum hücreleri, (*): spermatozoa kaybı (H&E, 40x büyütme)

Favipiravir uygulanan deney grubuna ait testis kesitlerinde yapılan küçük büyültmeli incelemelerde; tunika vasküloza'nın gevşek bağ dokusu özelliğini kaybederek kollajen lif

miktarının arttığı ve bu tabakaya ait kan damarlarında dilatasyon ve konjesyon izlendiği ayırt edildi. Tunika vasküloza ile seminifer tübüller arasında, diğer gruplarda görülmeyen ve bu iki yapının bağlantısını bozacak şiddette hyalinizasyon ve ödem ayırt edildi. İnterstisyel alanda diğer tüm deney gruplarına kıyasla görece çok daha fazla vakuolizasyon izlendi. Hemen her seminifer tübülde germinal epitelin bazal membrandan ayrılmış olduğu tespit edildi (Resim 4.13). Bu gruba ait yapılan büyük büyültmeli incelemelerde, interstisyel alanda küçük büyültmede gözlemlenen vakuolizasyonun bu büyültmede de diğer deney gruplarına karşın daha yaygın olarak görüldüğü dikkati çekti. Seminifer tübüle ait germinal epitelde bazal membran bağlantısını kaybedildiği alanlar izlenirken, germinal epitelde ödem oldukça belirgin olarak ayırt edildi. Bu grubun en dikkat çekici bulgusu, anakinra uygulanan grupta yalnızca birkaç tübülde görülen Sertoli hücre baskınlığının ve buna karşılık spermatogenik hücre serisi azalmasının bu grupta çok daha fazla ve yaygın tübülde görülmesi olarak tespit edildi. Bu tip tübüllerde yine Sertoli hücreleri haricinde spermatogenik hücre serisine ait yalnızca heterokromatik spermatogonyumların görüldüğü ve lümende spermatozoa ayırt edilmediği dikkati çekti (Resim 4.14).



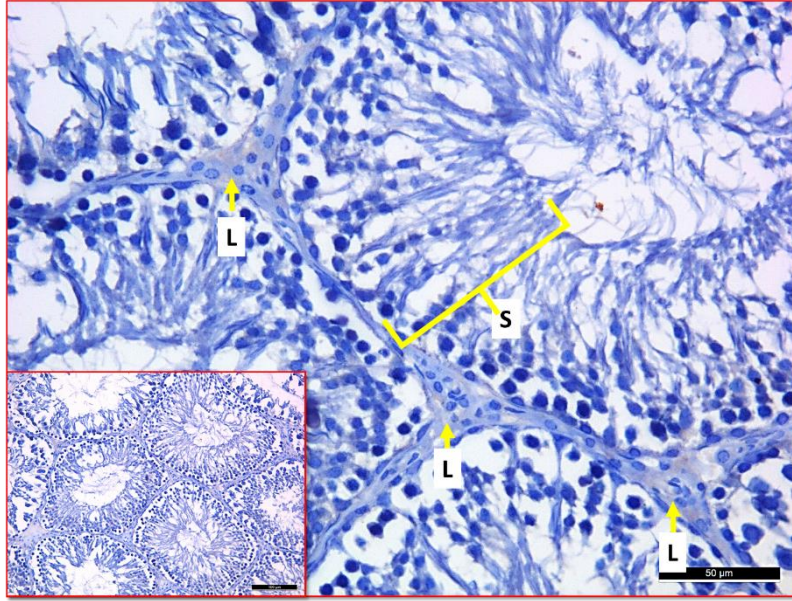
Resim 4.13. Favipiravir Grubuna ait testis dokusunda uygulanan grupta testis dokusunda küçük büyütmede seminifer tübül enine kesiti. Tv:kolajen lif miktarı artmış tunika vasküloza, Kd: kan damarında konjesyon ve dilatasyon, V:intersitisyel bağ dokuda vakuolizasyon, A: germinal epitelin bazalinde ayrılma, Ö: germinal epiteldeki ödem, H: intersitisyel bağ dokuda hyalinizasyon, (H&E, 10x büyütme)



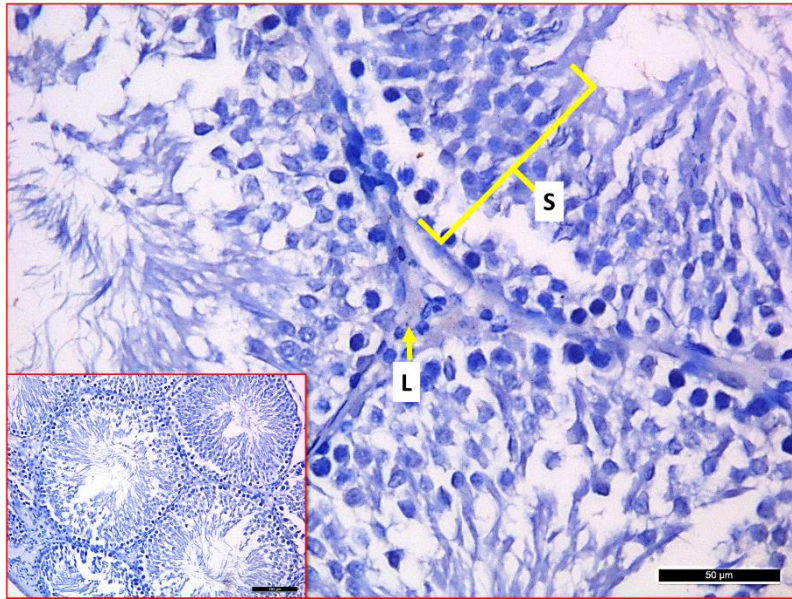
Resim 4.14. Favipiravir Grubuna ait testis dokusunda uygulanan grupta testis dokusunda büyük büyütmede seminifer tübül enine kesiti. V: intersitisyel bağ dokuda vakuolizasyon, A: germinal epitelin bazalinde ayrılma, S: spermatogonyum hücreleri, Ser: Sertoli hücreleri, (*): spermatozoa bulunması gereken lümende spermatozoa bulunmaması (H&E, 40x büyütme)

4.2. TNF-ALFA İmmünohistokimya Boyama Bulguları

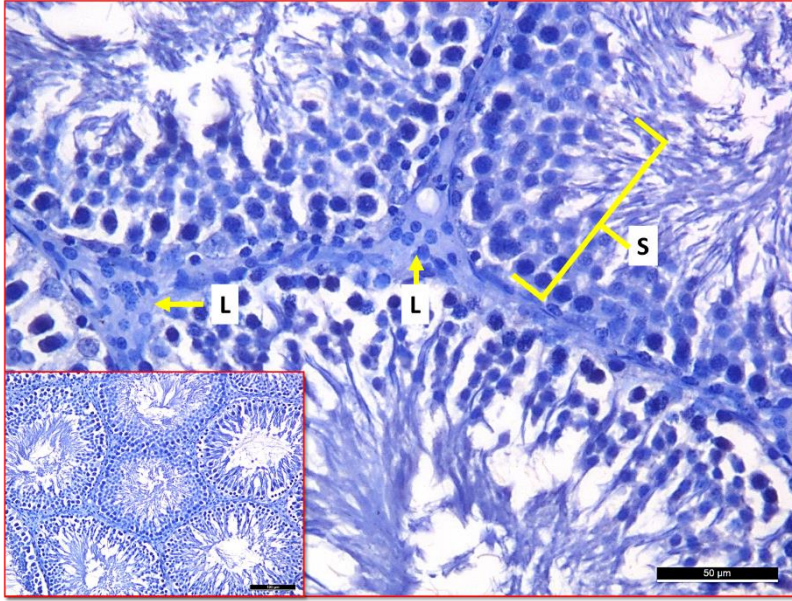
Gavaj stresi, intravenöz enjeksiyon stresi ve subkutan enjeksiyon stresi uygulanan Sham Kontrol gruplarında TNF- α immünohistokimya boyaması sonrası yapılan incelemelerde; interstisyel alanda yerleşim gösteren Leydig hücrelerinde sitoplazmik düzeyde zayıf immünreaktivite izlenirken, germinal epitele ait spermatogenik seri hücrelerinde immünreaktiviteye rastlanılmadı (Resim 4.15 ve inset, Resim 4.16 ve inset, Resim 4.17 ve inset).



Resim 4.15. Gavaj Stresi Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde TNF-alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: zayıf sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri, S: tutulum göstermeyen spermatogenik serii hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset)

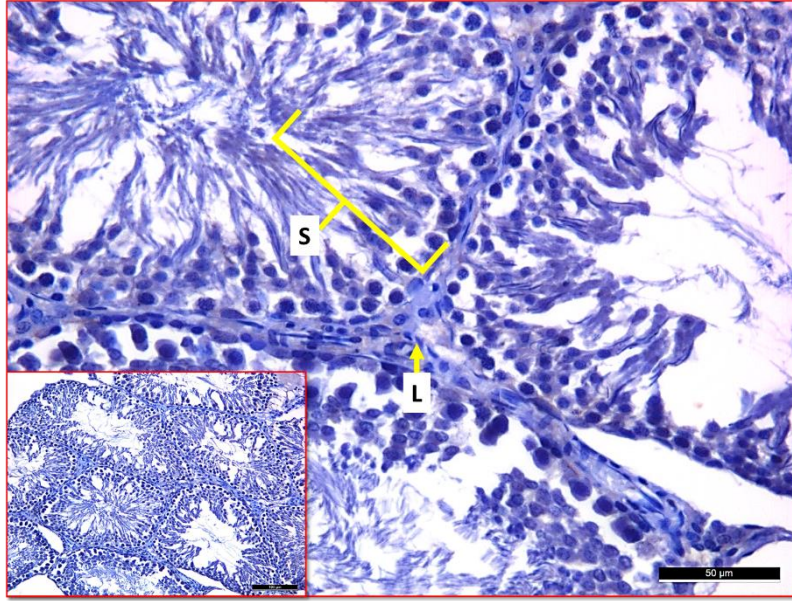


Resim 4.16. İntravenöz Enjeksiyon Sham Kontrol grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde TNF-alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: zayıf sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri, S: tutulum göstermeyen spermatogonyum hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset)



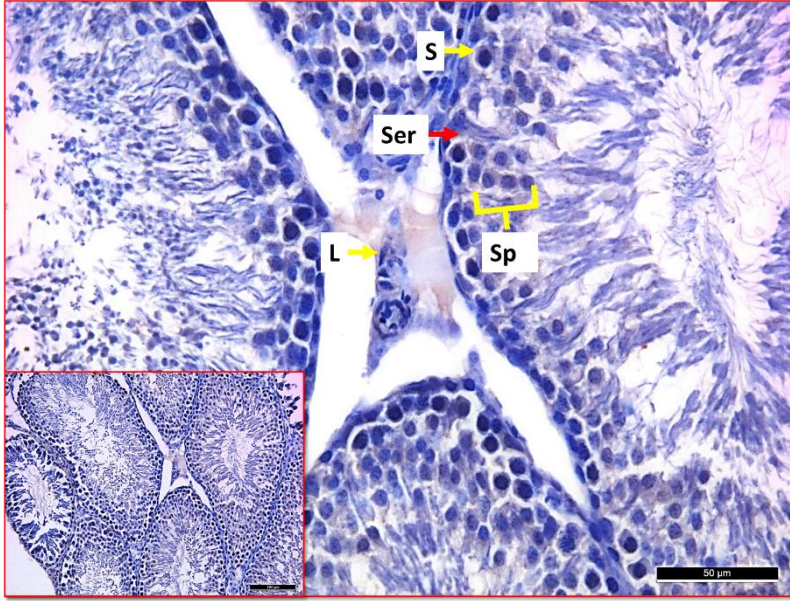
Resim 4.17. Subkutan Enjeksiyon Sham Kontrol grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde TNF-alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: zayıf sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri, S: tutulum göstermeyen spermatogonyum hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikrograf -20x inset)

Asiklovir uygulanan deney grubuna ait testis kesitlerinde uygulanan immünohistokimyasal boyamalar sonucunda; interstisyel alanda yerleşim gösteren Leydig hücrelerinde sitoplazmik düzeyde zayıf ve zayıftan ortaya değişen şiddette TNF- α immünreaktivitesi izlenirken, sham kontrol gruplarından farklı olarak bu grupta seminifer tübüle ait germinal epitelde de immünreaktivite ayırt edildi. Germinal epitelde yapılan incelemelerde; spermatogenik seri hücrelerinin tamamında zayıf şiddette immünreaktivite izlendi (Resim 4.18 ve inset).



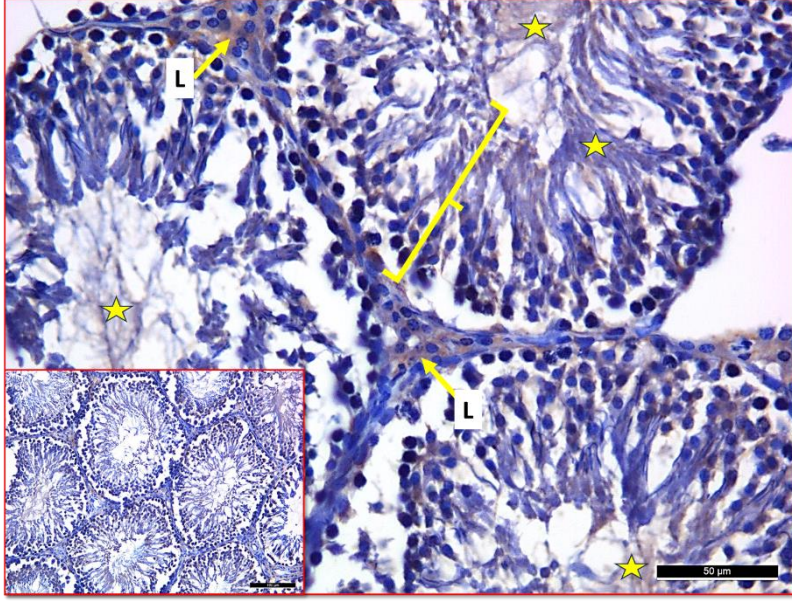
Resim 4.18. Asiklovir Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde TNF-alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: zayıftan ortaya değişen sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri, S: zayıf sitoplazmik tutulum gösteren spermatogenik seri hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikrogram -20x inset)

Hidroksiklorokin uygulanan deney grubuna ait testis kesitlerinde TNF- α immünohistokimya boyaması sonrası yapılan incelemelerde, interstisyel alanda yerleşim gösteren Leydig hücrelerinde sitoplazmik düzeyde zayıf immünreaktivite ayırt edildi. Seminifer tübüllere ait germinal epitelde yapılan incelemelerde; az sayıda spermatogonyumda sitoplazmik düzeyde zayıf immünreaktivite görülürken, özellikle spermatositlerde ve Sertoli hücrelerinde sitoplazmik düzeyde orta şiddetli TNF- α immünreaktivitesi görüldü (Resim 4.19 ve inset).



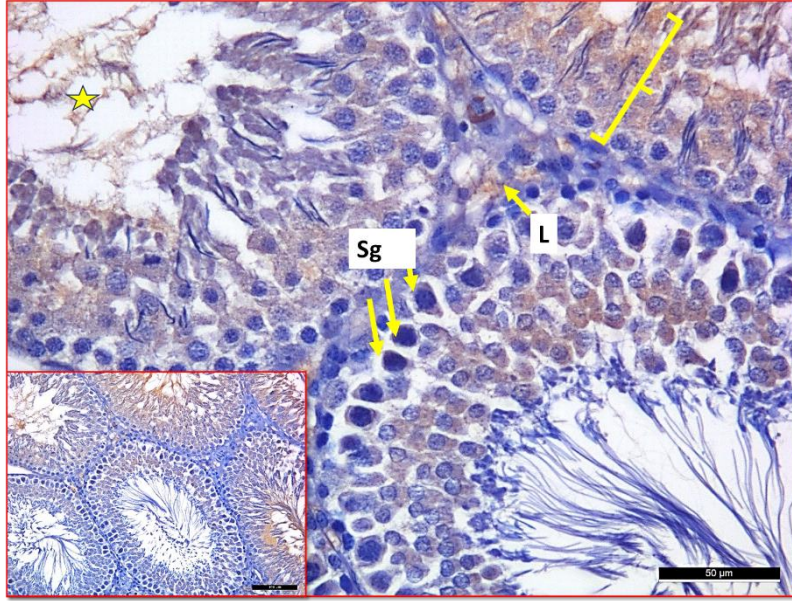
Resim 4.19. Hidroksiklorokin Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde TNF-alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: zayıf sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri, S: zayıf sitoplazmik tutulum gösteren spermatogonyum hücreleri, Ser: orta şiddette sitoplazmik tutulum gösteren Sertoli hücreleri, Sp: orta şiddette sitoplazmik tutulum gösteren spermatosit hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset)

Anakinra uygulanan deney grubuna ait testis kesitlerinde uygulanan immünohistokimyasal boyamalar sonucunda; Leydig hücrelerinde sitoplazmik düzeyde şiddetli TNF- α immünreaktivitesi izlendi. Hematoksilen-Eozin boyamalara ait bulguların da desteklediği şekilde, spermatogenik olarak dejenerasyona uğramış bu tübüllerin epitelinde, bu bozulma dolayısı ile net olarak faz ayrımı yapılamayan seri hücrelerinde genel olarak orta şiddetli ve orta şiddetliden şiddetliye değişen seviyelerde sitoplazmik immünreaktivite ayırt edildi. Lümeneye doğru kuyrukları uzanan spermatozoa bazında değerlendirildiğinde ise, diğer tüm gruplardan ayrıcalık olarak, bu hücrelerde de orta şiddetli immünreaktivite tespit edildi (Resim 4.20 ve inset).



Resim 4.20. Anakinra Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde TNF-alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: şiddetli sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri, }: orta şiddetli sitoplazmik tutulum gösteren spermatogenik seri hücreleri, *: şiddetli tutulum gösteren spermatozoa hücreleri (İmmünoperoxidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikrogram -20x inset)

Favipiravir uygulanan deney grubuna ait testis kesitlerinde TNF- α immünohistokimya boyaması sonrası yapılan incelemelerde, tüm gruplar arasında en şiddetli ve yaygın immünreaktivite görülen grubun bu grup olduğu tespit edildi. Buna göre; vakuolize olduğu için sitoplazmik sınırları net olarak ayırt edilemeyen Leydig hücrelerinde şiddetli sitoplazmik immünreaktivite ayırt edilirken, germinal epitele ait primer spermatositler, spermatidler ve kuyrukları lümene doğru serbestleşmek üzere uzanmış elonge başlı spermatozoa'da şiddetli ve yaygın immünreaktivite izlendi. Tübül bazalinde yerleşim gösteren heterokromatik spermatogonyumlarda ise görece daha az hücrede zayıf TNF- α immünreaktivitesi tespit edildi (Resim 4.21 ve inset).

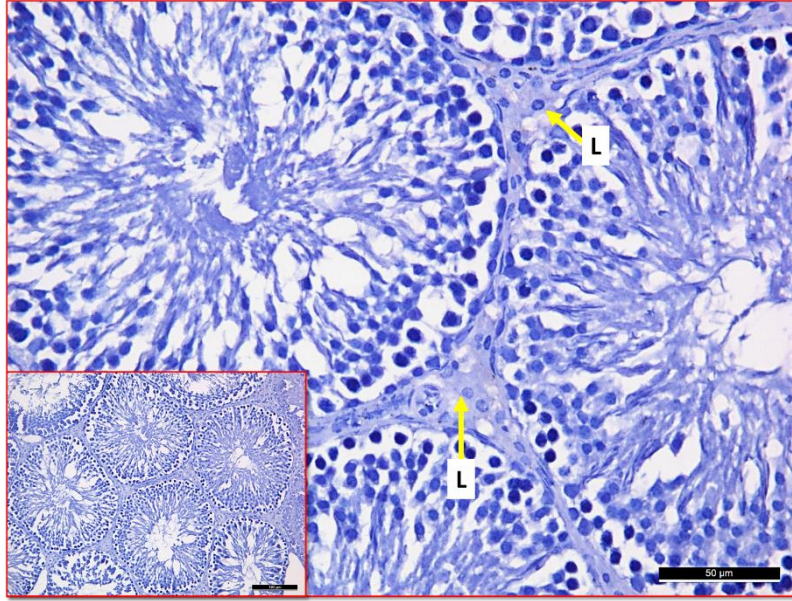


Resim 4.21. Favipiravir Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde TNF-alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: şiddetli sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri, } : şiddetli sitoplazmik tutulum gösteren spermatogenik serii hücreleri, Sg: görece orta şiddette tutulum gösteren spermatogonyum hücreleri *: şiddetli tutulum gösteren spermatozoa hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikrograf -20x inset)

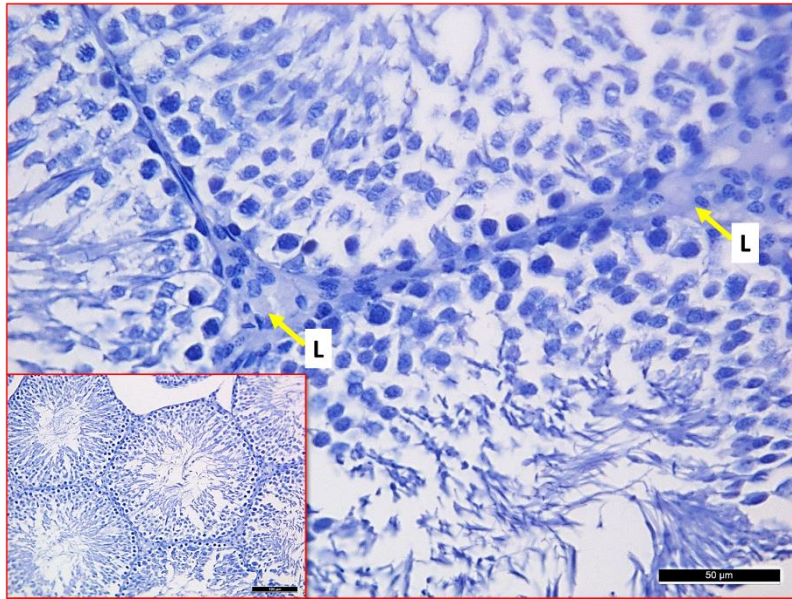
4.3. IL-1 ALFA İmmünohistokimya Boyama Bulguları

IL-1 α immünohistokimya boyamaları sonucunda yapılan incelemelerde genel olarak tüm gruplardaki tutulumların yalnızca sitoplazmik düzeyde ve Leydig hücrelerinde olduğu ayırt edildi. Gruplar üzerinde yapılan incelemelerde; seminifer tübül duvarında herhangi bir immünreaktiviteye rastlanılmadı.

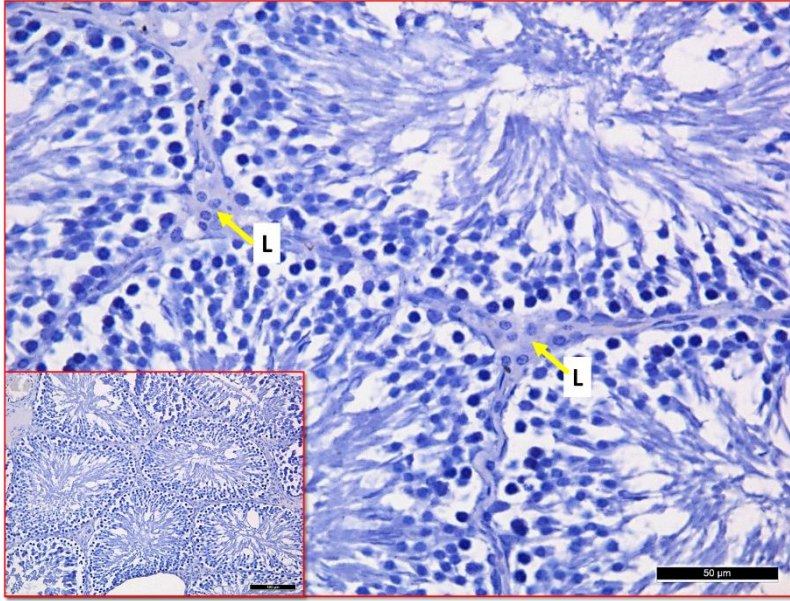
Gavaj stresi, intravenöz enjeksiyon stresi ve subkutan enjeksiyon stresi uygulanan Sham Kontrol gruplarında oldukça zayıf immünreaktivite izlenirken (Resim 4.22 ve inset, Resim 4.23 ve inset, Resim 4.24 ve inset), asiklovir grubunda görece az sayıda Leydig hücrelerinde orta şiddetli (Resim 4.25 ve inset), hidroksiklorokin ve anakinra gruplarında görece çok daha yaygın sayıda Leydig hücrelerinde şiddetli (Resim 4.26 ve inset, Resim 4.27 ve inset) ve son olarak favipiravir grubunda ise hemen hemen tüm Leydig hücrelerinde çok şiddetli IL-1 α immünreaktivitesi ayırt edildi (Resim 4.28 ve inset).



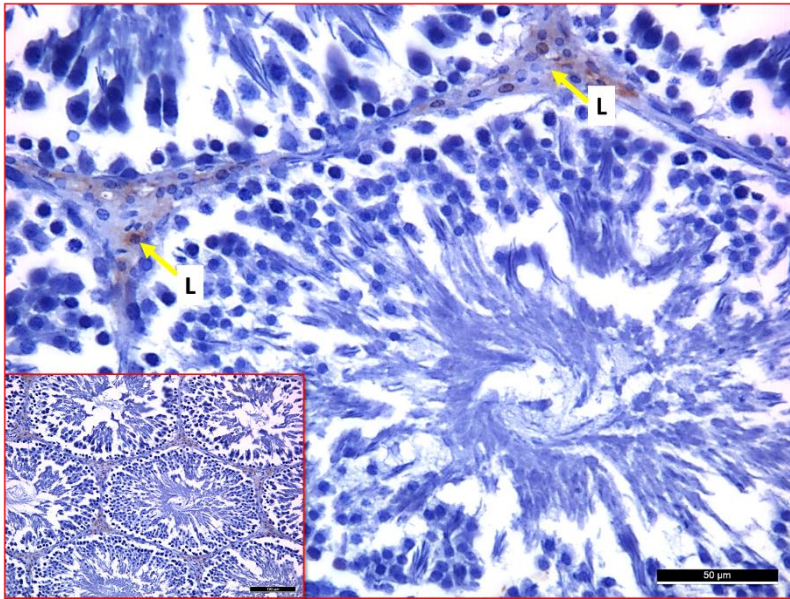
Resim 4.22. Gavaj Stresi Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-1alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: az sayıda hücrede olmakla birlikte zayıf sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikrogram -20x inset)



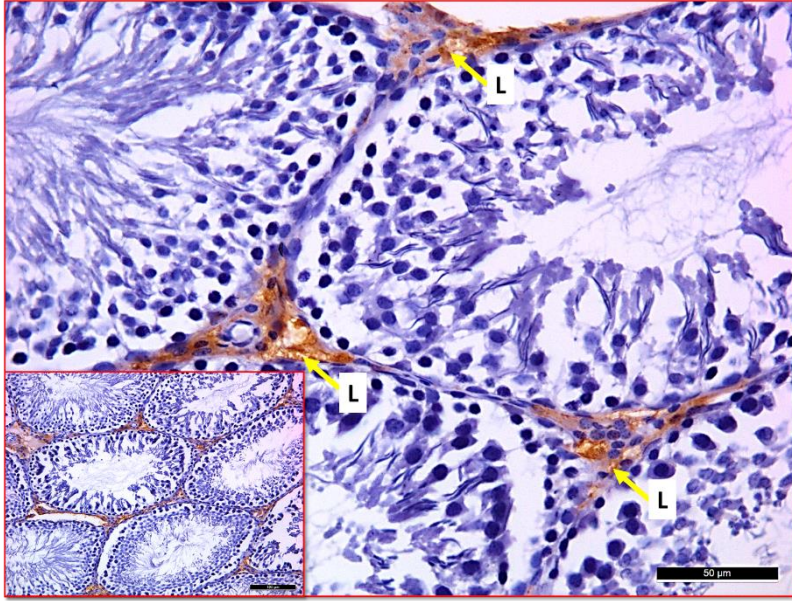
Resim 4.23. İntravenöz Enjeskiyon Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-1alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: az sayıda hücrede olmakla birlikte zayıf sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikrogram -20x inset)



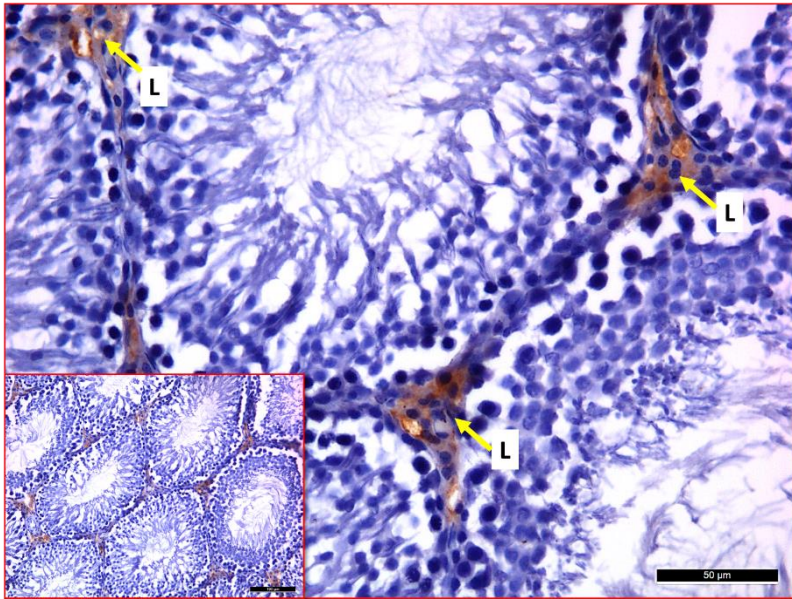
Resim 4.24. Subkutan Enjeksiyon Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-1alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: az sayıda hücrede olmakla birlikte zayıf sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset)



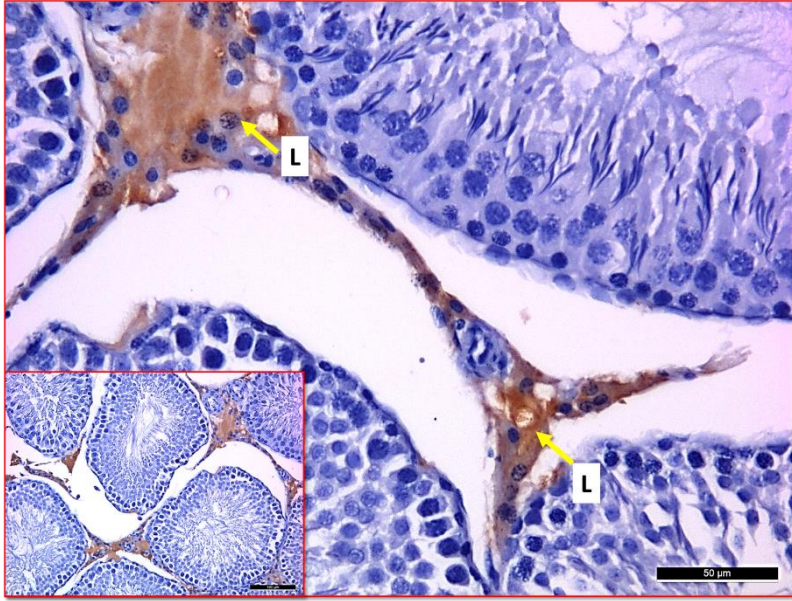
Resim 4.25. Asiklovir Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-1alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: doku genelinde az sayıda olmakla birlikte orta şiddette sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset)



Resim 4.26. Hidroksiklorokin Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-1alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: doku genelinde çok sayıda şiddetli sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikrogram -20x inset)



Resim 4.27. Anakinra Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-1alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: doku genelinde çok sayıda şiddetli sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikrogram -20x inset)

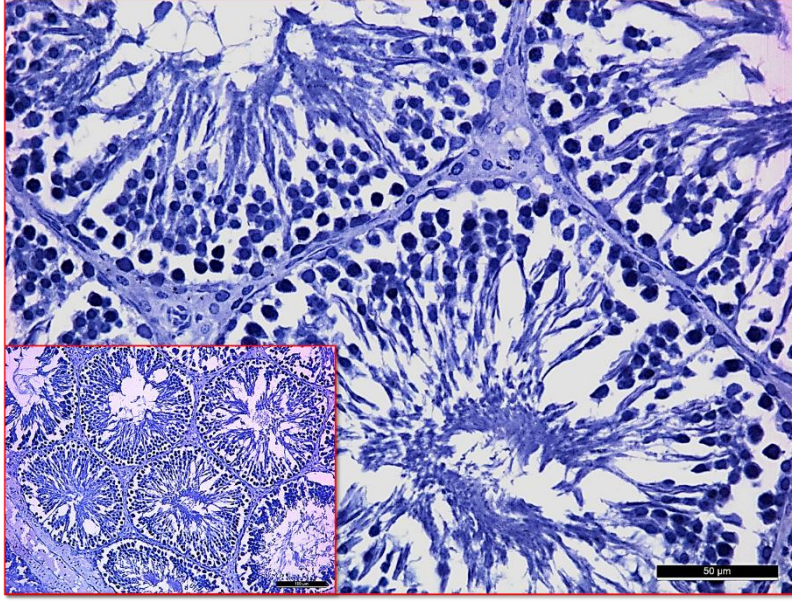


Resim 4.28. Favipiravir Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-1alfa antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. L: doku genelinde çok sayıda çok şiddetli sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset)

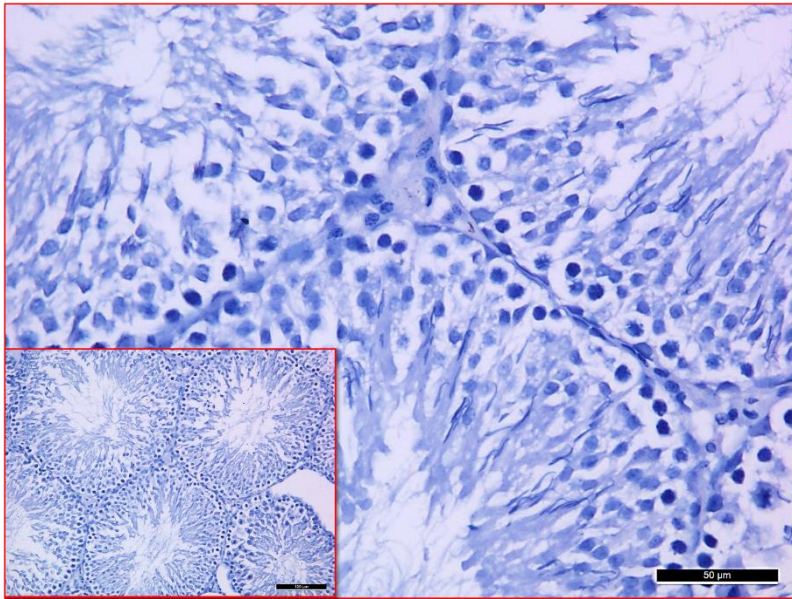
4.4. IL-6 İmmünohistokimya Boyama Bulguları

IL-6 immünohistokimya boyaması sonucu görülen tutulumların genel olarak seminifer tübüllere ait myoid hücrelerde, spermatogonyumlarda ve spermatidlerde sitoplazmik düzeyde olduğu tespit edildi.

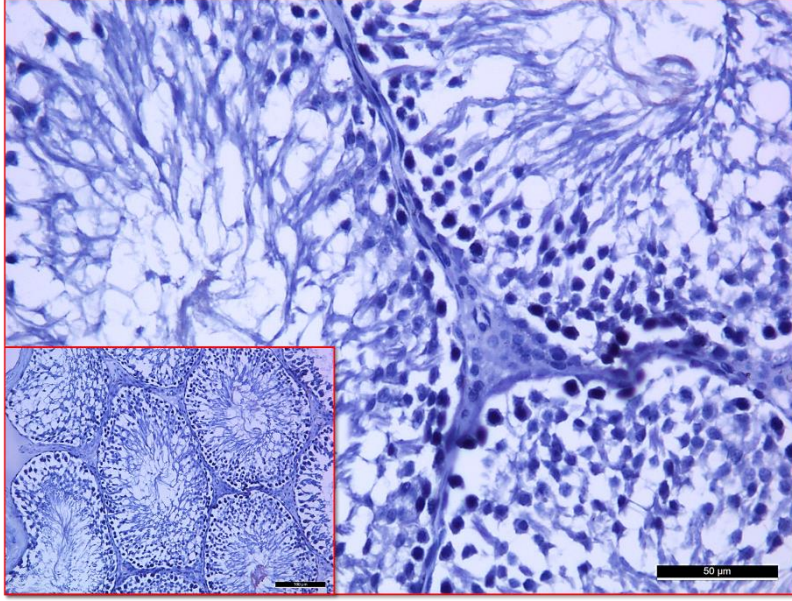
Gavaj stresi, intravenöz enjeksiyon stresi ve subkutan enjeksiyon stresi uygulanan Sham Kontrol gruplarında hiç immünreaktivite izlenmezken (Resim 4.29 ve inset, Resim 4.30 ve inset, Resim 4.31 ve inset), asiklovir grubunda myoid hücreler ve spermatozoa düzeyinde şiddetli immünreaktivite izlendi (Resim 4.32 ve inset).



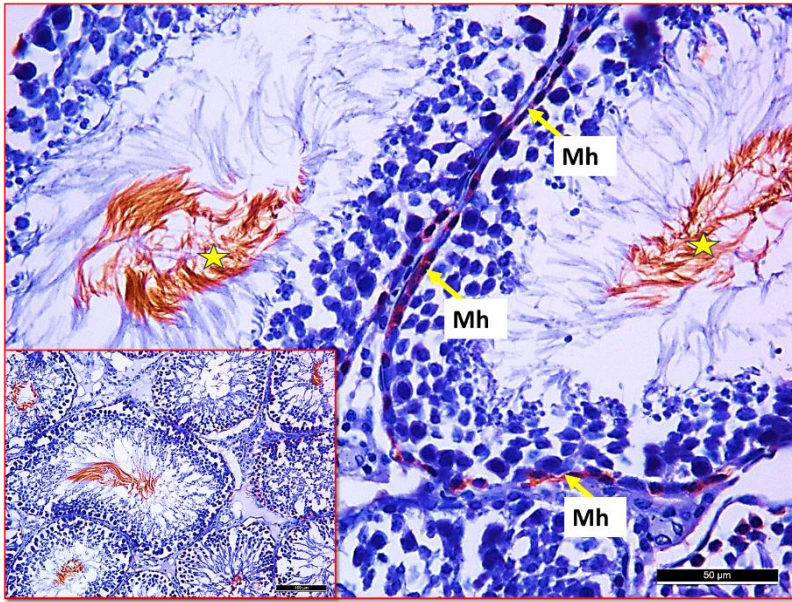
Resim 4.29. Gavaj Stresi Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-6 antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. Doku genelinde immüntutulum izlenmedi (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikrograf -20x inset)



Resim 4.30. İntravenöz Enjeksiyon Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-6 antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. Doku genelinde immüntutulum izlenmedi (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikrograf -20x inset)



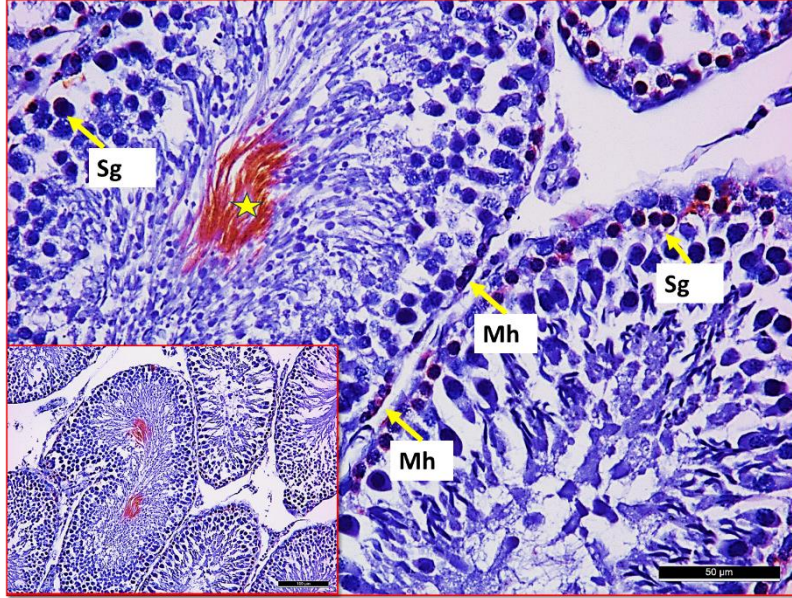
Resim 4.31. Subkutan Enjeksiyon Stresi Sham Kontrol Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-6 antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. Doku genelinde immüntutulum izlenmedi (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset)



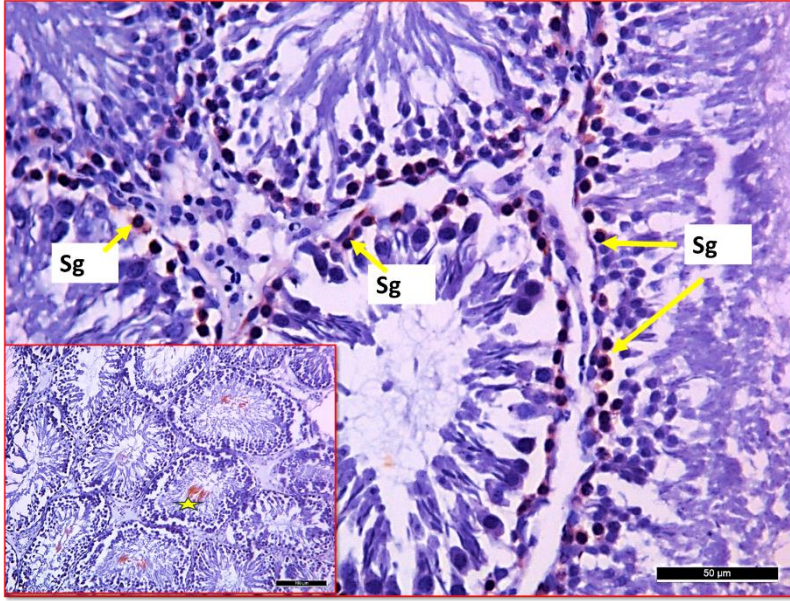
Resim 4.32. Asiklovir Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-6 antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. Mh: şiddetli pozitif tutulum gösteren peritübüler miyoid hücreler, (*): şiddetli tutulum gösteren spermatozoa hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikroskop -20x inset)

Hidroksiklorokin grubunda myoid hücelere ilaveten görece az sayıda spermatogonyum ve spermatozoa düzeyinde şiddetli tutulum ayırt edildi (Resim 4.33 ve inset). Anakinra grubunda myoid hücelere ilaveten hemen hemen tüm spermatogonyumlarda ve

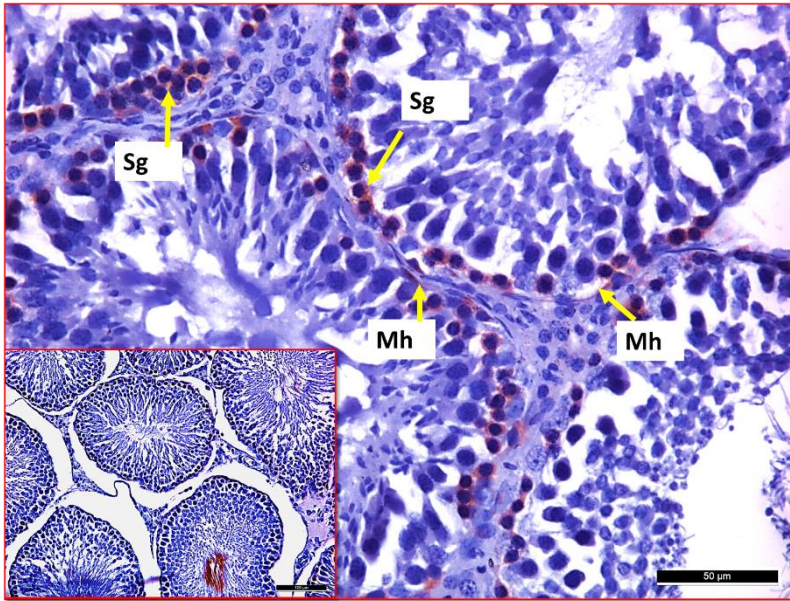
spermatozoa'da şiddetli (Resim 4.34 ve inset) ve son olarak favipiravir grubunda ise myoid hücrelere ek olarak yine hemen hemen tüm spermatogonyumlarda ve spermatozoa'da çok şiddetli immünreaktivite izlendi. Favipiravir grubunda diğer tüm gruplardan ayrıcalığı olarak Leydig hücrelerinde de oldukça zayıf tutulum belirgindi (Resim 4.35 ve inset).



Resim 4.33. Hidroksiklorokin Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-6 antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. Mh: şiddetli pozitif tutulum gösteren peritübüler miyoid hücreler, Sg: doku genelinde az sayıda olmakla birlikte şiddetli pozitif tutulum gösteren spermatogonyum (*): şiddetli tutulum gösteren spermatozoa hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikrogaf -20x inset)



Resim 4.34. Anakinra Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-6 antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. Sg: doku genelinde neredeyse tüm spermatogonyum hücreleri şiddetli pozitif tutulum göstermektedir, (*): şiddetli tutulum gösteren spermatozoa hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikrogram -20x inset)

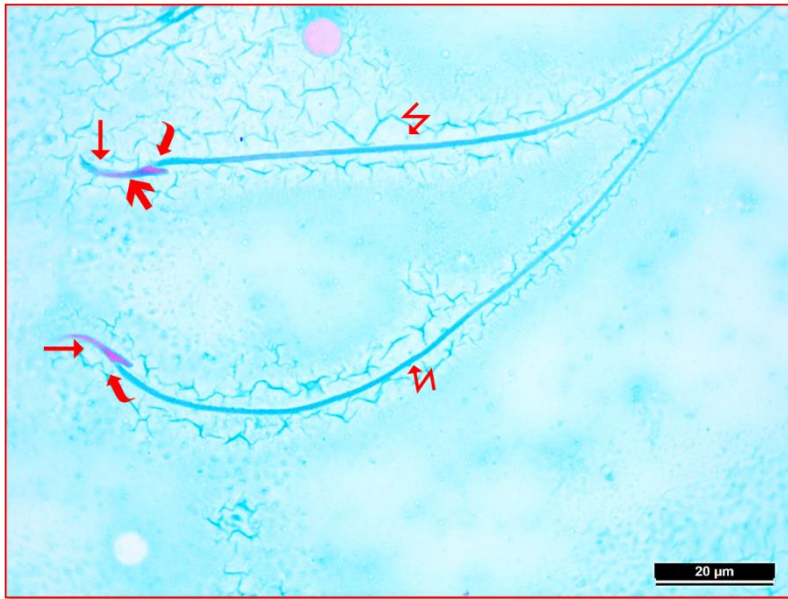


Resim 4.35. Favipiravir Grubuna ait testis dokusunun enine kesitinde IL-6 antikorunun immünohistokimyasal işaretlenmesi. Mh: şiddetli pozitif tutulum gösteren peritübüler miyoid hücreler, Sg: doku genelinde şiddetli pozitif tutulum gösteren spermatogonyum hücreleri, L: doku genelinde çok sayıda zayıf sitoplazmik tutulum gösteren Leydig hücreleri (İmmünoperoksidaz-Hematoksilen) (40x büyük mikrogram -20x inset)

Hematoksilen-Eozin boyamalar sonucunda gözlenen spermatogenik arrest bulgusu dolayısı ile özellikle hidroksiklorokin, anakinra ve favipiravir gruplarında izlenen spermatozoa düzeyindeki immünreaktivitelerin, bu arrest sonucunda olgun sperm üretiminin bozulmasına paralel olarak tüm tübül lümenlerinde görülmediği dikkati çekti.

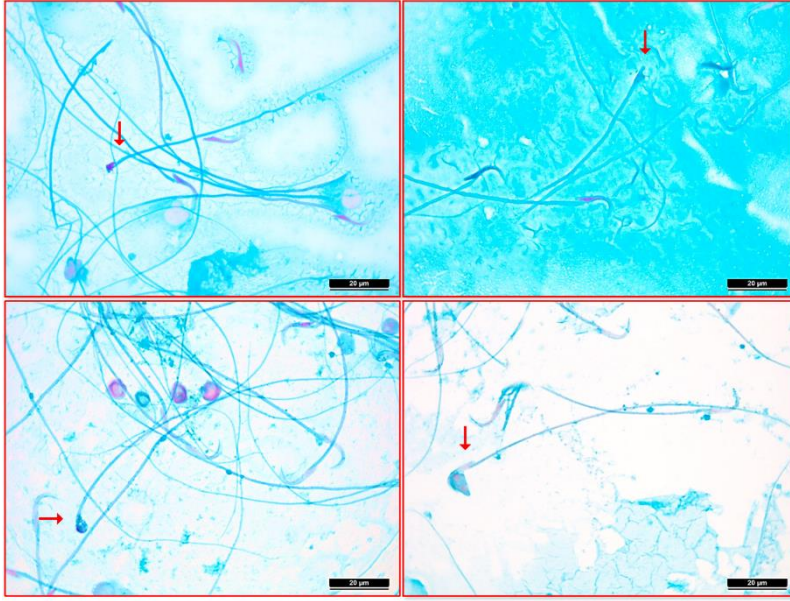
4.5. SPERMAC Boyama Bulguları

Tüm deney grupları için deneklerin kaudal epididimis ve vas (duktus) deferens bileşkesinden sağılarak elde edilen sperm yayma örneklerinde yapılan Spermac boyama sonuçlarına göre, normal morfolojiye sahip spermiyumlar; kanca şeklindeki baş bölgeleri, baş bölgesinin dış bükey yüzeyinde yerleşmiş akrozomları ile merkezde yerleşim gösteren çekirdekleri, boyun ve kuyruk bölgeleri ile izlendi (Resim 4.36).



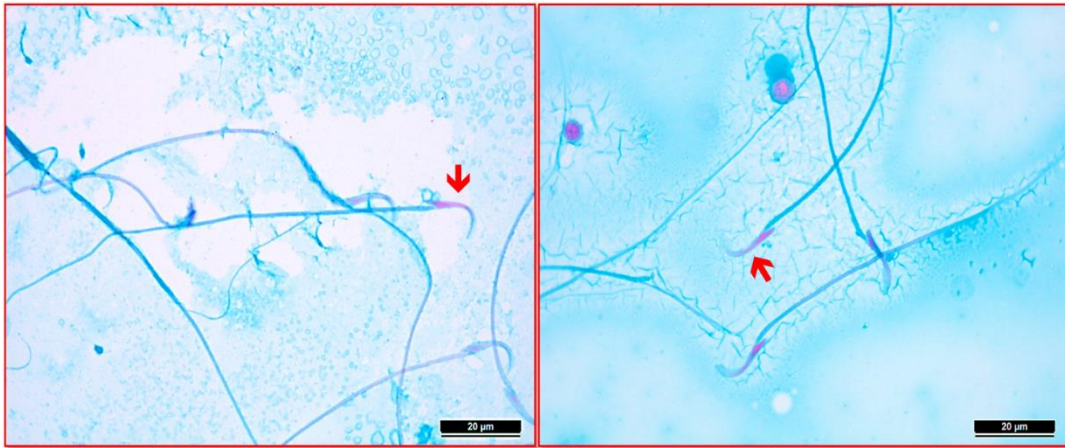
Resim 4.36. Normal morfolojiye sahip rat spermiyumları (→): baş, (⇨): akrozom, (↗): boyun, (↘): kuyruk (Spemac x100)

Baş, akrozom, boyun, kuyruk anomalileri ile sitoplazmik droplet, çoklu anomaliler ve spermiyumlarda gözlenen aglutinasyonlar ise spermiyumlara ait anomaliler olarak değerlendirildi. Baş bölgesinde görülen anomalilerin genel olarak pinhead ya da kanca formundan tamamen ayrılmış morfolojiye sahip spermiyumlar tarafından olduğu tespit edildi (Resim 4.37).

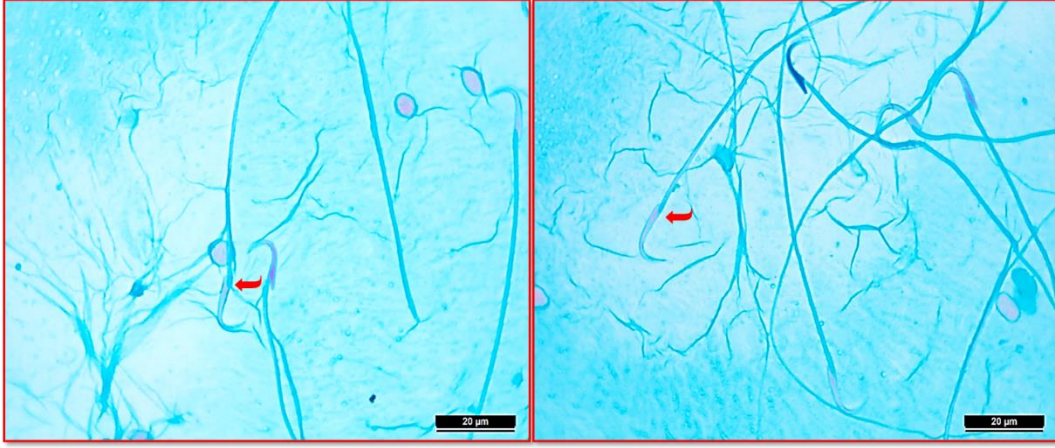


Resim 4.37. Rat spermiyumlarında gözlemlenen pin head ya da kanca formundaki baş anomalileri (→): baş anomalileri (Spemac x100)

Akrozom yapısında silinme görülen spermiyumlar ayırt edilirken (Resim 4.38), boyun bölgesinde ekstra kıvrılma ya da normal morfolojili spermiyumlardan farklı olarak görece kalınlaşma, bu klasifikasyona ait spermiyum anomalileri olarak izlendi (Resim 4.39).

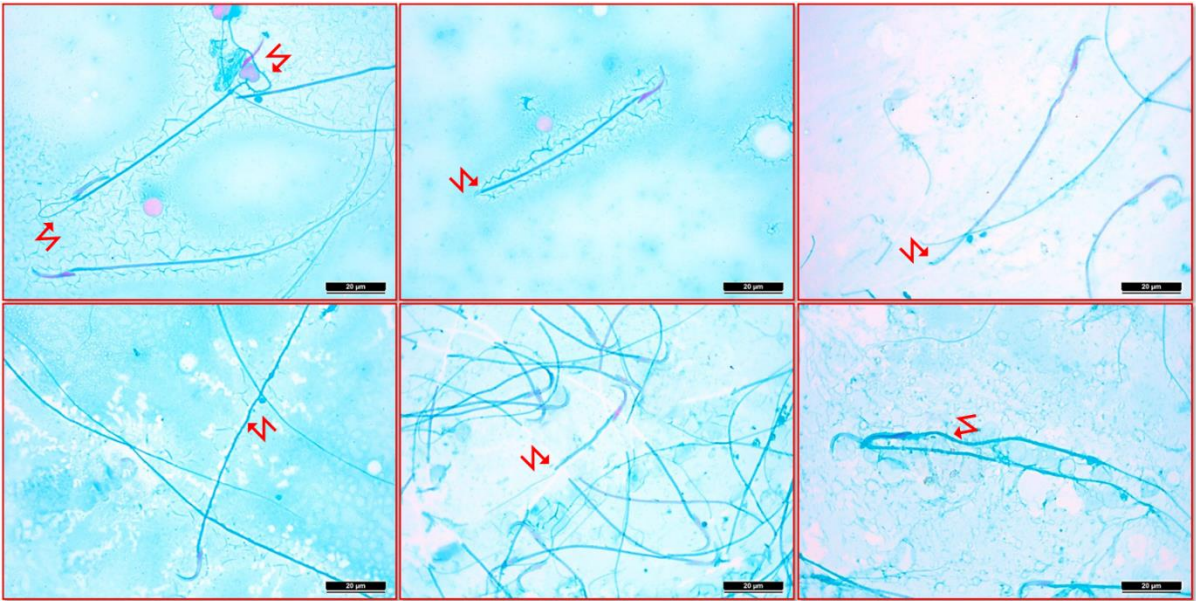


Resim 4.38. Rat spermiyumlarında akrozom yapısında silinme (→): akrozom anomalisi (Spemac x100)



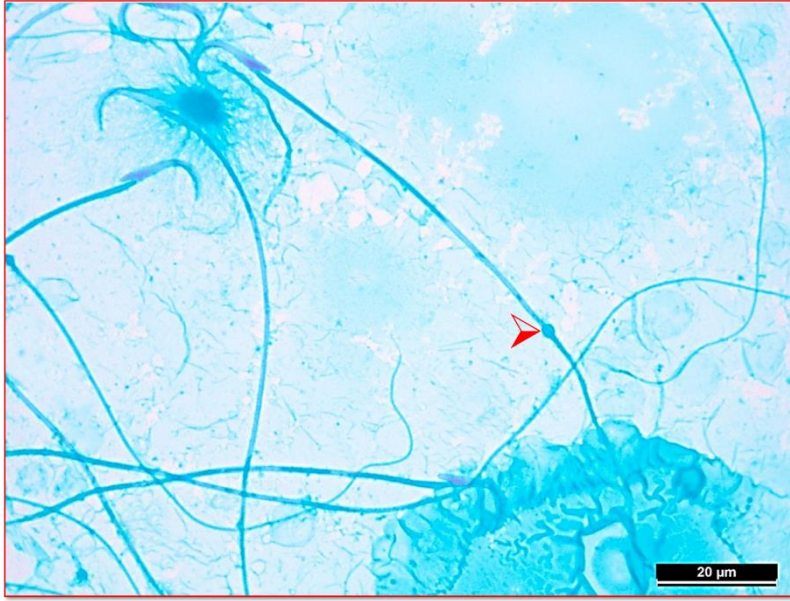
Resim 4.39. Rat spermiyumlarında boyun anomalisi örnekleri, boyuna kalınlaşma ya da normalden fazla kıvrık boyun morfolojisi (↷): boyun anomalisi (Spemac x100)

Kuyruk anomalileri kendi içerisinde değerlendirildiğinde; kuyruğun distal parçasının koptuğu, kuyruğun belirli segmentlerde ondülasyon gösterdiği ya da yine belirli segmentlerde incelerek yalnızca hücre zarından ibaret bir hal aldığı ayırt edildi (Resim 4.40).



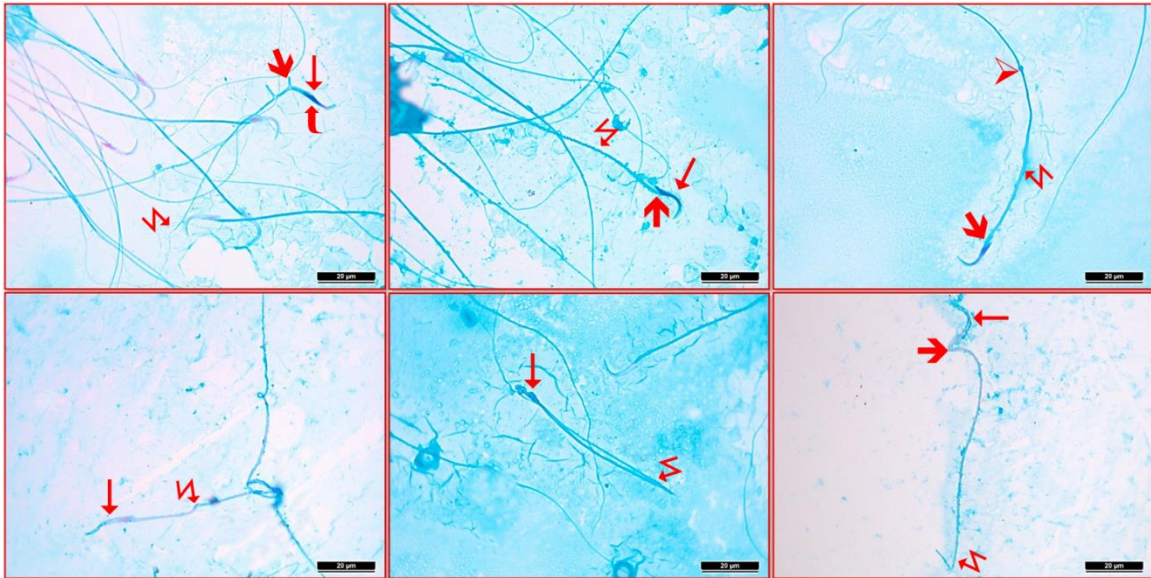
Resim 4.40. Rat spermiyumlarında kuyruk anomalisi örnekleri, boyuna kalınlaşma ya da normalden fazla kıvrık boyun morfolojisi (↷): kuyruk anomalisi (Spemac x100)

Bazı spermiyumlara ait kuyruk bölgelerinde, spermiyogenez sırasındaki fagositik aktivite bozulmasına bağlı olduğu düşünülen sitoplazmik artıklar (dropletler) izlendi (Resim 4.41).



Resim 4.41. Rat spermiyumlarında kuyruk anomalisi örnekleri, kuyrukta sitoplazmik droplet (➤): sitoplazmik droplet (Spemac x100)

Tüm morfolojik anomalilerin tamamının ya da bir kaçının bir arada görüldüğü spermiyumlar, çoklu anomali gösteren spermiyumlar olarak belirlendi (Resim 4.42).



Resim 4.42. Rat spermiyumlarında çoklu sperm anomalisi örnekleri (→): baş anomalisi, (↪): akrozom anomalisi, (↩): boyun anomalisi, (⌘): kuyruk anomalisi, (➤): sitoplazmik droplet (Spemac x100)

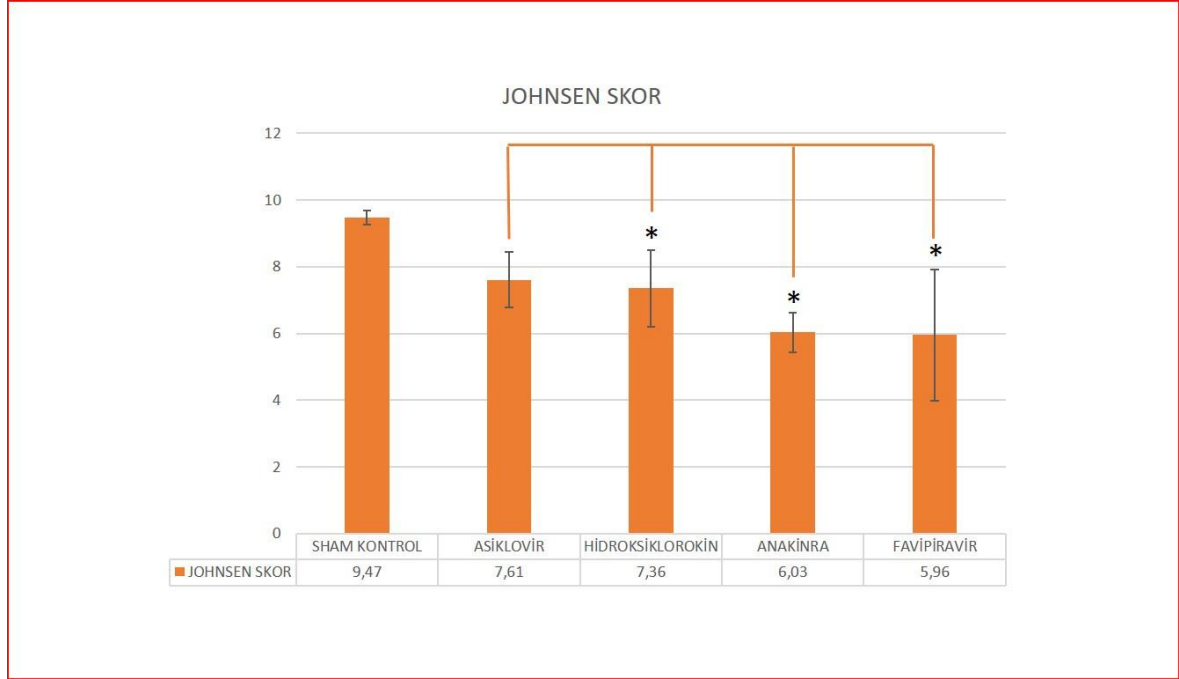
Hidroksiklorokin, anakinra ve favipiravir uygulanan deney gruplarında ise 6 denekten ortalama 3'er tanesinde şiddetli agglutinasyon tespit edildi (Resim 4.43).



Resim 4.43. Rat spermiyumlarında aglütinasyon (Spemac x100)

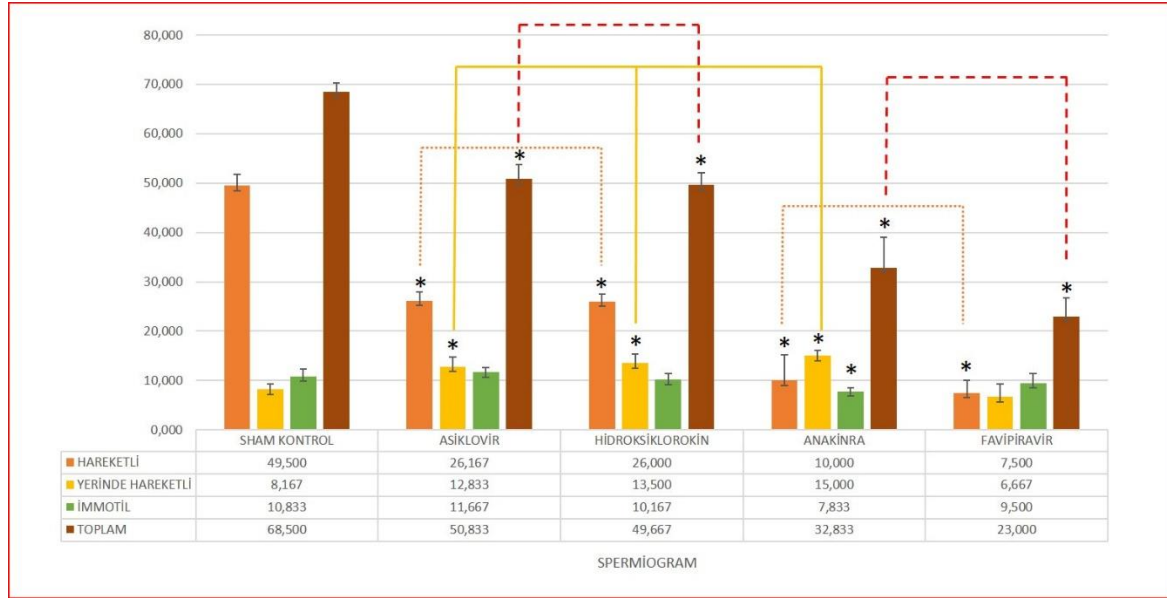
4.6. İstatistiksel Değerlendirme

Hematoksilen-Eozin boyamaları üzerinde yapılan Johnsen Skorlama analizleri sonucunda; Sham Kontrol Grupları haricindeki tüm grupların skorlama değerleri, Sham Kontrol Grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0.05$). Asiklovir ve Hidroksiklorokin Grupları arasında skorlama yönünden anlamlı bir farklılık görülmezken, Anakinra ve Favipiravir Grupları da kendi arasında anlamlı bir farklılık göstermedi ($p>0.05$). Anakinra ve Favipiravir Gruplarının skorlama dereceleri ise, Asiklovir ve Hidroksiklorokin Gruplarına göre anlamlı derecede düşük olarak tespit edildi ($p<0.05$) (Grafik 4.6.1).



Şekil 4.1. Tüm deney grupları için yapılan Johnsen Skor verilerine ait karşılaştırmalı istatistiksel grafik (*İstatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar)

Deneklerin sperm örnekleri üzerinde yapılan spermioqram analizleri sonucunda; (ileri) hareketli sperm sayısının Sham Kontrol Gruplarına karşılık tüm gruplarda istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu, diğer tüm bulguların ise Johnsen Skor bulguları ile eşdeş olduğu izlendi ($p < 0.05$). Yerde hareketli sperm sayısının Sham Kontrol ve Favipiravir Gruplarında birbirleri arasında ve Asiklovir, Hidroksiklorokin ile Anakinra Gruplarında birbirleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundurmadığı ($p > 0.05$), ancak buna karşılık bu son üç deney grubunun anlamlı derecede daha yüksek yerinde hareketli sperm sayısına sahip olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). İmmotil sperm sayısı bakımından Anakinra Grubu haricinde diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık görülmezken ($p > 0.05$), Anakinra Grubunun diğer gruplara karşın anlamlı derecede daha düşük immotil sperm sayısına sahip olduğu izlendi ($p < 0.05$). Toplam sperm sayısının ise (ileri) hareketli sperm sayısına ait istatistiksel bulgular ile eşdeş olduğu izlendi ($p < 0.05$) (Grafik 4.6.2).



Şekil 4.2. Tüm deney grupları için yapılan spermioqram verilerine ait karşılaştırmalı istatistiksel grafik (*İstatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar)

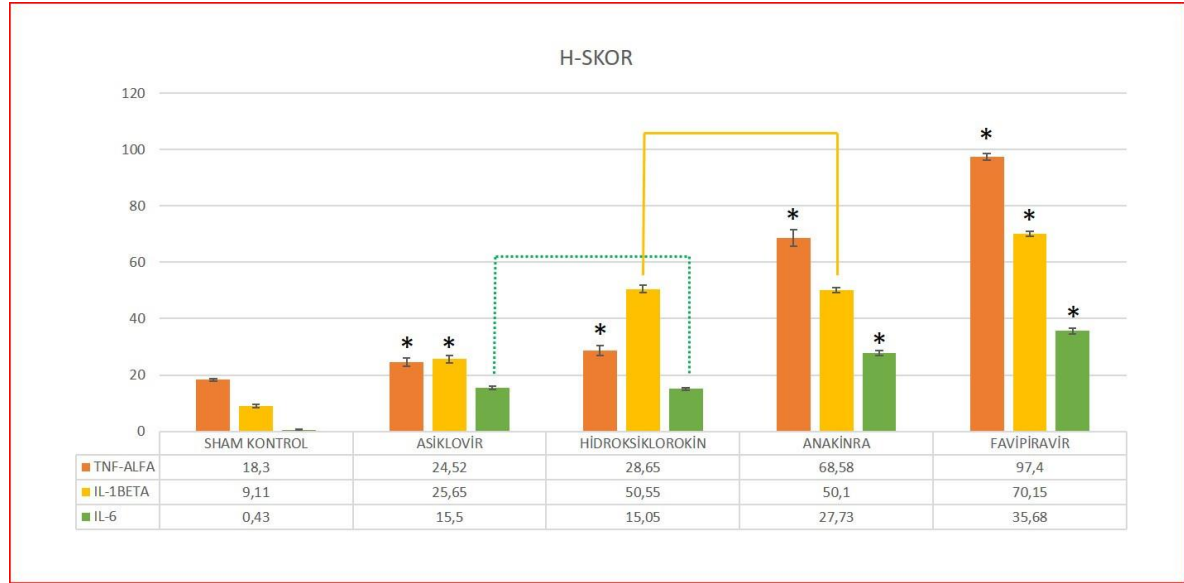
Spermac boyamaları üzerinde yapılan Kruger analizleri sonucunda; normal morfolojiye sahip sperm sayısına ait istatistiksel verilerin Johnsen skor ve (ileri) hareketli ile toplam sperm sayısına ait istatistiksel veriler ile eşdeğer olduğu izlendi ($p < 0.05$). Baş anomali gösteren sperm sayısının Sham Kontrol, Asiklovir ve Hidroksiklorokin Gruplarında eşdeğer olduğu ($p > 0.05$), ancak Anakinra ve Favipiravir Gruplarında ise bu gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edildi ($p < 0.05$), Anakinra ve Favipiravir Grupları ise kendi aralarında anlamlı bir farklılık bulundurmamaktaydı ($p > 0.05$). Akrozom anomali gösteren sperm sayısı Sham Kontrol Gruplarına karşı diğer tüm gruplarda anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.05$), ancak bu gruplar kendi aralarında anlamlı bir farklılık bulundurmamaktaydı ($p > 0.05$). Boyun anomali gösteren sperm sayısı bakımından hiçbir grup arasında anlamlı farklılık izlenmedi ($p > 0.05$). Kuyruk anomali gösteren sperm sayısı üzerinde yapılan incelemelerde; Asiklovir, Hidroksiklorokin ve Anakinra Gruplarının Sham Kontrol ve Favipiravir Gruplarına karşı anlamlı derecede daha yüksek sperm sayısına sahip olduğu ($p < 0.05$), Asiklovir ve Anakinra Gruplarının ise Hidroksiklorokin Grubuna kıyasla anlamlı derecede daha yüksek anomalili sperm içerdiği izlendi ($p < 0.05$), Asiklovir ve Anakinra Grupları kendi arasında anlamlı bir farklılık bulundurmamaktaydı ($p > 0.05$). Stoplazmik droplet içeren sperm değerlendirildiğinde; Asiklovir, Hidroksiklorokin ve Anakinra Gruplarında Sham Kontrol ve Favipiravir Gruplarına kıyasla anlamlı derecede daha fazla sperm bulundurduğu ($p < 0.05$), ancak bu grupların kendi aralarında anlamlı farklılık içermediği tespit edildi ($p > 0.05$). Çoklu anomali gösteren sperm sayısına ait yapılan

İstatistiksel analizler sonucunda; tüm deney gruplarına ait sperm sayısının Sham Kontrol Gruplarına kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğu ($p<0.05$), Asiklovir, Hidroksiklorokin ve Anakinra Grupları arasında anlamlı farklılık olmadığı ($p>0.05$) ancak Favipiravir Grubunun tüm gruplara kıyasla anlamlı derecede en yüksek çoklu anomali gösteren grup olduğu izlendi ($p<0.05$) (Grafik 4.6.3).



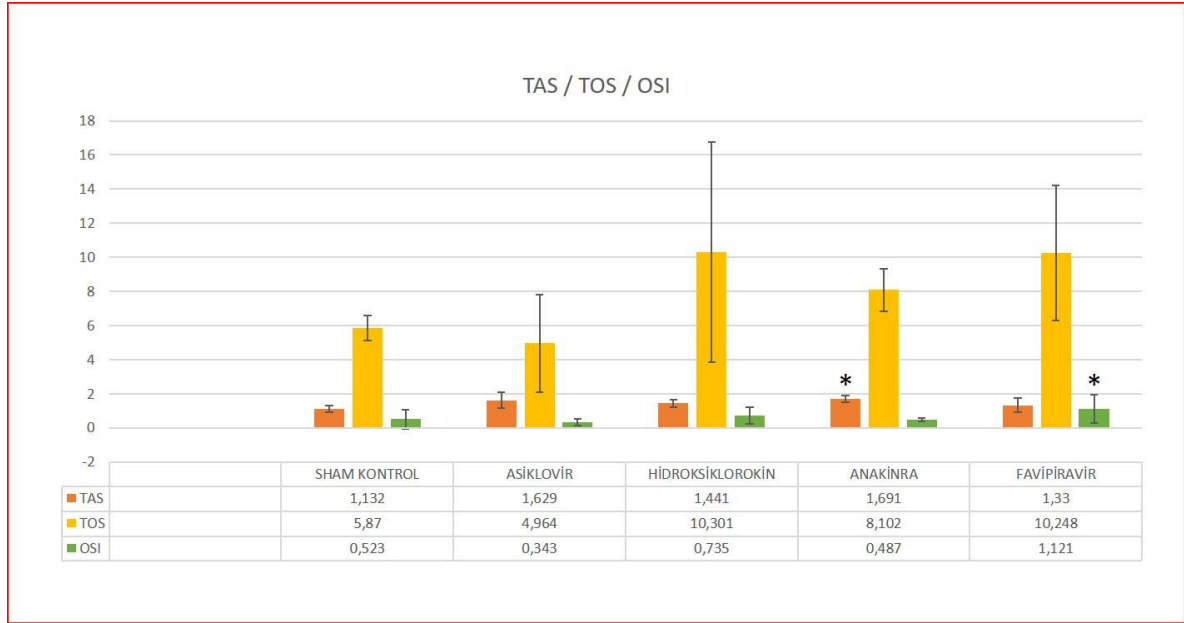
Şekil 4.3. Tüm deney grupları için yapılan Kruger analizi verilerine ait karşılaştırmalı istatistiksel grafik (*İstatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar)

İmmünohistokimyasal analizler sonucu elde edilen H-Skor verileri doğrultusunda yapılan istatistiksel analizler sonucunda; TNF- α immünreaktivitesinin Sham Kontrol Gruplarına kıyasla diğer tüm gruplarda anlamlı derecede yüksek olduğu izlendi ($p<0.05$), bu gruplar kendi arasında değerlendirildiğinde, grup sırası ile aynı şekilde git gide artan immünreaktivite gösterdikleri ve her grubun istatistiksel olarak anlamlı derecede birbirinden farklı immünreaktiviteye sahip olduğu tespit edildi ($p<0.05$). IL-1 β immünreaktivitesinin Sham Kontrol Gruplarına kıyasla diğer tüm gruplarda anlamlı derecede yüksek olduğu izlendi ($p<0.05$), Hidroksiklorokin ve Anakinra Gruplarının birbirleri ile eşdeğer olduğu ($p>0.05$), anlamlı derecede en yüksek immünreaktivitenin ise tüm gruplara kıyasla Favipiravir Grubunda görüldüğü ($p<0.05$) izlendi. IL-6 immünreaktivitesinin Sham Kontrol Gruplarına kıyasla diğer tüm gruplarda anlamlı derecede yüksek olduğu izlendi ($p<0.05$), Asiklovir ve Hidroksiklorokin Gruplarının birbirleri ile eşdeğer olduğu ($p>0.05$), anlamlı derecede en yüksek immünreaktivitenin ise tüm gruplara kıyasla Favipiravir Grubunda görüldüğü ($p<0.05$) tespit edildi (Grafik 4.6.4).



Şekil 4.4. Tüm deney grupları için yapılan H-Skor analizi verilerine ait karşılaştırmalı istatistiksel grafik (*İstatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar)

Testis doku lizatlarında yapılan TOS, TAS ve OSI analizlerine ait veriler üzerinde yapılan istatistiksel analizler sonucunda; Anakinra Grubunun tüm gruplara kıyasla anlamlı derecede en yüksek TAS'a sahip olduğu tespit edildi ($p < 0.05$). TOS değerlerinin standart çıktıları da baz alındığında gruplar arasında hiçbir farklılık göstermediği ($p > 0.05$), buna karşılık OSI değerleri incelendiğinde; anlamlı derecede en yüksek değerin Favipiravir Grubunda görüldüğü ($p < 0.05$) tespit edildi (Grafik 4.5).



Şekil 4.5. Tüm deney grupları için yapılan TAS/TOS/OSI analizi verilerine ait karşılaştırmalı istatistiksel grafik (*İstatistiksel olarak anlamlı farklılık gösteren gruplar)

5. TARTIŞMA

COVID-19 pandemisi ilk olarak Çin'in Wuhan eyaletinde Kasım 2019'da ortaya çıkmış ve hızlı bir şekilde tüm dünyada etkisini hissettiren bir pandemi haline gelmiştir. *Coronaviridea* ailesine ait yeni bir virüsün neden olduğu bu pandemik hastalığa, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından Koronavirüs Hastalığı-2019 (COVID-19) adı verilmiş ve hastalık etkeni olan virüs Şiddetli Akut Solunum Sendromu Corona Virüs-2 (SARS-CoV-2) olarak adlandırılmıştır (WHO, 2020) (Zhou ve diğerleri, 2020). Hastalık etkeni bireylere ağız, göz ve burundan damlacık enfeksiyonu yoluyla bulaşır. Hücre içerisine hücre zarında bulunan transmembran protein serin proteaz 2 (TMPRSS2) proteini aracılığı ile anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) reseptörünün S proteinine bağlanarak giriş yapar. Genomik RNA molekülünü hedef hücre sitoplazmasına salarak hedef hücrenin sitoplazmasındaki serbest ribozomlar tarafından RNA'ya bağlı RNA polimeraz enzimleri aracılığı ile translasyona uğrar. Bu sırada oluşan yeni viral genomik RNA molekülleri konak hücrenin düz endoplazmik retikulumuna giderek burada virüse ait yapısal proteinlerin translasyonu gerçekleştirilir. Ardından konak hücrenin Golgi cisimciğinde bu yapısal proteinler birleştirilerek yeni virüsün bileşenleri olan nükleokapsit, membran, viral zarf ve spike proteini bir araya getirilerek olgun viron egzozitozisle hücre dışına salınır (Hoffmann ve diğerleri, 2020). Virüs pek çok patolojik etkiye sahiptir ve hastalığın ağırlaştığı sitokin fırtınası tablosunda çoklu organ yetmezliği tablosu gelişmektedir (Mokhtari ve diğerleri, 2020).

Viral hastalıklar ferilite üzerinde olumsuz etkilere sahiptir. Şimdiye kadar yapılan pek çok çalışmada insan papilloma virüsü (HPV), herpes simpleks virüsleri (HSV) ve insan bağışıklık yetersizliği virüsleri (HIV) dahil olmak üzere bazı viral enfeksiyonların infertilite ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Bu etkilerini astenospermi, sperm morfolojilerinde bozulma, seminal volüm azalması, sperm DNA'sında fragmantasyon indeksi artışı gibi belirteçler ile göstermektedirler. Bu viral etkenlere benzer şekilde SARS-CoV-2 virüsünün de infertilite ve üreme sağlığı üzerine olumsuz etkileri araştırılmaktadır (Bahita ve diğerleri, 2020). Hastalığın ele alındığı Çin, İtalya ve İngiltere gibi ülkelerdeki hastaların verilerinin incelendiği kohort çalışmalarında erkek bireylerin kadınlara göre daha duyarlı oldukları bildirilmektedir (Guan ve diğerleri, 2020) (Livinstone ve Bucher, 2020) (Serge ve diğerleri 2020). Yapılan çalışmalar SARS-CoV-2 ile erkek infertilitesi arasında ilişki olduğunu fakat bu ilişkinin moleküler mekanizmasının tam olarak aydınlatılmadığını belirtmektedir. SARS-

CoV-2 ile enfekte bireylerde sperm üretiminde azalma olduğu bildirilmiştir. Bu ilişkinin nedenine yönelik çeşitli yaklaşımlar mevcuttur. İlk olarak tıpkı influenza enfeksiyonlarında olduğu gibi yüksek ateşin olumsuz etkisidir. Yüksek ateş nedeniyle erkek üreme sisteminde total sperm sayısı düşer, sperm hareketliliği azalır, semen parametreleri olumsuz etkilenir ve DNA fragmentasyon indeksi artar (Sergeri ve diğerleri 2006) (Evenson ve diğerleri, 2000). İkinci olarak da testis dokusunda başka organlara kıyasla ACE reseptörü ekspresyonu yüksektir ve bu da testis hasarı ile ilişkili olabilir (Fan ve diğerleri, 2020). COVID-19 hastalarında ACE reseptörü ekspresyonlarının en yüksek olduğu hücreler spermatogonyumlar, Leydig ve Sertoli hücreleridir (Xu ve diğerleri, 2020). COVID-19 hastalığı taşıyan erkek bireylerin daha duyarlı oluklarını açıklayan bir diğer yolak ise hastalardaki serum hormon seviyelerindeki değişimdir. Ma ve diğerlerine göre sağlıklı kontrol grubuna kıyasla COVID-19 hastalarında testosteron/LH oranı ile FSH/LH oranı düşüşü gözlemlenmiştir. Bu da sperm sayım ve hareketliliğinde azalma ile morfolojik bozulmalar ile ilişkilendirilmiştir (Ma ve diğerleri, 2020).

Bu çalışmada COVID-19 tedavisinde kullanılan ilaçların testiküler dejenerasyon üzerine olası etkilerini belirlemek amacıyla deneklerden elde edilen testis dokuları Johnsen skorlaması yapılarak analiz edilmiş ve tüm gruplar içerisinde en düşük skorlamaya sahip grupların anakinra ve favipiravir gruplarında olduğu tespit edildi.

Costa ve arkadaşları, virüsün aşılınmamış bireylerin testis dokularındaki konumunu inceledikleri araştırmalarında COVID-19 nedeniyle hayatını kaybeden hastaların kadavralarından alınan testis örnekleri üzerinde çalışmışlardır. Çalışmada önceden de belirtildiği gibi ACE reseptörlerinin en fazla eksprese edildiği organ olan testis dokusunda, nanosensörleri kullanarak RT-qPCR tekniği ile virüsün testise yöneliminin yüksek olduğunu belirlediklerini bildirmişlerdir. Testis hücrelerinin transmisyon elektron mikroskobu (TEM) incelemelerinde hücresel yapılar olarak spermatogonyumlarda ve makrofajlarda virüse ait nükleik asitin ve bütün halinde viral partikülün varlığının en fazla olarak gözlemlendiğini bildirmişlerdir. Ayrıca yüksek anjiyotensin-2 seviyesinin testis dokusunun immün hücrelerce istila edilmesini tetiklediğini gözlemlediklerini belirtmişlerdir. Enfekte bireylerde tunika propriya'nın kalınlaştığı, germ hücrelerinde apoptozisin gözlemlendiği, Sertoli hücre bariyerinin bozulduğu, dokuda belirgin hemoraji, anjiyogenez, Leydig hücre inhibisyonu, inflamasyon ve fibrozis gelişimi izlendiğini kaydetmişlerdir (Costa ve diğerleri, 2023).

Makale verilerine benzer şekilde çalışmamızda; tüm deney gruplarından alınan testis doku örneklerinin Hematoksilen-Eozin boyaması ile yapılan histomorfolojik değerlendirme sonuçlarında, tüm ajaların dokuda hem germinal epitelde ve hem de intersitisyel bağ dokuda dejeneratif değişimlere neden olduğu sonucuna ulaşıldı. Seminifer tübül epitelinde dökülme ve spermatozoa sayısında azalma izlendiği, intersitisyel dokuda hiyalizasyon, Leydig hücrelerinde vakuolizasyon ve damar yapılarında konjesyon ile dilatasyon gibi dejeneratif kriter ile karşılaşıldı.

Yang ve arkadaşları COVID-19 nedeniyle hayatını kaybeden 12 erkek hastanın testislerinden alınan örneklerin incelendiği çalışmalarında, testis dokusunda meydana gelen histomorfolojik değişimleri incelemişlerdir. Yapılan histopatolojik değerlendirmede Sertoli hücrelerinde vakuolasyon ve sitoplazmik dilüsyonun yanı sıra bazal membran ile seminifer tübülleri arasında ayrılma, seminifer tübüllerin lümeninde hücre kaybı ve hücre debris gözlemlendiği bildirilmiştir. Ayrıca hasta bireylerden alınan dokuda Leydig hücre sayısının kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu, interstisyel dokuda T-lenfosit ve histiyositlerden oluşan infiltrasyon varlığı ve doku genelinde ödem varlığı görüldüğü; COVID-19 hastalarının testislerinde önemli derecede seminifer tübül hasarı varlığı izlendiği belirtilmiştir (Yang ve diğerleri, 2020) (Seymen, 2020).

Belirtilen bulgulara benzer şekilde çalışmamızda; seminifer tübül epitelinde asiklovir, hidroksiklorokin, anakinra ve favifiravir uygulanan deney gruplarında ödem varlığı gözlemlendi.

Naraya ve diğerleri, Wistar albino erkek ratlar üzerinde yaptıkları deneysel çalışmada antiviral tedavinin sperm parametreleri üzerinde bazı toksik yan etkilere sahip olabileceğini önerdikleri çalışmada ribavirin etken maddesini değişen dozlarda (20, 100 ve 200 mg/kg/gün dozda 24 saat aralıklarla) 11-13 haftalık deneklere intraperitoneal olarak enjekte ederek uygulamışlardır. İlaç maruziyetinden sonraki 14, 35, 70 ve 105. günlerde testis dokusunda meydana gelen histopatolojik değişimi inceledikleri çalışmada vücut ağırlığı, testis, epididimis, seminal vezikül ve prostat ağırlıkları ile seminifer tübül çapı, epitel yüksekliği, epitelyal dökülme, sperm anomaliği ve toplam serum testosteron seviyesi gibi parametrelerin ölçümleri yapılmıştır. Yüksek doz ilaç uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla testis, epididimis ve vücut ağırlığı ile organ ağırlıklarında azalma olduğu, seminifer epitelde dökülme görüldüğü, Sertoli hücrelerinde vakuollerin oluşmasına neden olduğu ve

spermelerde ribavirin etkisiyle mikrosefali ve sefalokaudal bileşke kusurları meydana geldiği bildirilmiştir. Çalışma ayrıca ilacın uzun dönem etkisini de ele alarak ilacın gonadotoksik olduğunun fakat bu gonadotoksitenin uzun dönemde geri dönüşümlü olduğunu bildirmiş fakat yine de testosteron seviyeleri göz önünde bulundurulduğunda antiviral ajanların endokrin bozucu etkileri olabileceğini de vurgulamışlardır (Naraya ve diğerleri, 2005).

Bu çalışmada da kullanılan asiklovir etken maddesinin testis dokusunda yol açtığı dejeneratif değişimler bizim çalışmamızdaki bulgular ile de desteklendi. Bir çeşit pürin analogu olan asiklovirin özellikle DNA replikasyonu sırasında replikasyon stratejisini bozucu etkisi nedeni ile bu şekilde etkilere yol açtığı öngörülmektedir. Benzer şekilde RNA'ya bağlı DNA polimeraz enzimini inhibe etme stratejisi üzerinden çalışarak, aktivite gösteren favipiravirin de hastalık etkeni olmadan dahi testis dokusu üzerinde hücrelerin bölünmesi sırasında nükleik asitler ile ilgili süreçler üzerinde olumsuz etkilere neden olması üzerinden, dejeneratif etkilere neden olabileceği düşünülmüştür.

COVID-19 enfeksiyonu erkek genital sistem üzerinde erkek infertilitesi tablosunun meydana gelmesi açısından doğrudan ya da dolaylı olarak etkili olabilmektedir. SARS-COV-2 virüsü, ACE2 reseptörünü bağlayarak testis dokusu hücrelerini doğrudan istila eder. Dolaylı olarak, hiperinflamasyon (sitokin düzeylerinde artış), renin–anjiotensin–aldosteron sistemi (RAAS) bozulması, hipoksi, yüksek ateş, beyin fonksiyonlarında bozulma ve hipofiziyal aksın çalışmasında düzensizliklerin gelişimi, testosteronun düzensizliği, sperm üretiminde bozulma, TGF dönüştürücü büyüme faktörü, serum ve doku tümör nekroz faktörü (TNF), interferon (IFN) ve interlökin seviyeleri ile reaktif oksijen türleri ve oksidatif stres seviyesinde artış ile histopatolojik olarak germinal epitel hasarı, Leydig hücreleri hasarı, Sertoli hücresi hasarı gelişimi olarak sıralanmaktadır (Ardestani Zadeh ve Arab, 2021) (Yao ve diğerleri, 2021).

Hastalık nedeni ile oluşan sitokin fırtınası dışında, sadece tedavi ajanları ile oluşturulan oksidatif stres parametrelerini değerlendirdiğimiz çalışmamızda COVID-19 tedavisinde kullanılan asiklovir, hidroksiklorokin, anakinra ve favipiravirin de oksidatif strese neden olarak dokuda hasara yol açtığı sonucuna ulaşıldı.

Palloti ve diğerleri, yayınladıkları bir makalede COVID-19 hastalarında meydana gelen testis hasarının dolaylı olarak ateş inflamasyon ve IL-1, IL-6, TNF- α stokinlerinin artışının

akabinde gelişen sitokin fırtınası nedeniyle ya da ilaç tedavisinin oluşturduğu oksidatif hasar nedeniyle gelişmiş olabileceğini önermişlerdir (Palloti ve diğerleri, 2023).

Çalışmamızdan elde edilen immünohistokimyasal veriler ışığında biz de özellikle IL-6 antikorunun hastalık olmaksızın sadece ilaç uygulaması nedeni ile doku düzeyinde yüksek ifade edilebildiği verisine ulaştık.

Anakinra insan IL-1 reseptörünün rekombinant antagonistidir (Giampietro ve Fautrel, 2012). Yapılan çalışmalar bu ajanın ratlarda streptozotosin ile oluşturulan diabetes mellitus kaynaklı mikrodamar disfonksiyonunu, damar duvarındaki prooksidan ve proinflamatuvar mekanizmalara müdahale ederek tedavi ettiğini göstermiştir (Donath ve Mandrup-apaoulsen, 2008). Avrupa ülkelerinde ve dünyada pek çok ülkede 100 mg/kg/gün dozda hastalara reçete edilmektedir (Nordström ve diğerleri, 2012) (Cavalli ve diğerleri, 2015) (Giampietro ve diğerleri, 2013) (Laskari ve diğerleri, 2011). Yayınlarda ilacın kullanımından sonra deri döküntüsü ve ürtiker gibi yan etkilere sahip olabildiği de bildirilmektedir (Hong ve diğerleri, 2014).

Anakinra romatoid artrit hastalığının ve birçok otoimmün hastalığın tedavisinde kullanılan IL-1b antagonisti olan anti inflamatuvar bir proteindir ve IL-1 reseptörünün inhibitörüdür. Vallaje ve arkadaşları diyabetik ratlarla yaptıkları araştırmada diyabet sonucunda artan oksidatif stresin vasküler duvarda proinflamatuvar belirteçlerden IL-1 β 'yı arttırdığını ve anakinra tedavisinin bu vaskülopati üzerindeki aktivitesini değerlendirdikleri çalışmada tedavi grubunda 100 ve 160 mg/kg/gün dozlarda sırasıyla 3 ve 7 gün tedavi uyguladıklarında, IL-1 β ve TNF- α serum seviyelerinin anakinra tedavisi uygulanan grupta daha düşük olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmada vasküler inflamasyonla ilişkili olan nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz ve NF- κ B'nin IL-1 reseptörü aracılığı ile aktive olduğu belirtilirken, diyabetik hayvanlardaki endotel disfonksiyonu, proinflamatuvar enzimler, siklooksijenaz (COX) ve indüklenebilir nitrik oksit sentaz izoformunun (iNOS) daha yüksek aktiviteleriyle de ilişkilendirildiği; bunların serum seviyelerinin anakinra tedavisinden sonra belirgin şekilde azaldığı ve anakinra tedavisi sayesinde bir miktar vasküler iyileşme durumunun geliştiğini bildirmişlerdir (Vallaje ve diğerleri, 2014).

Ülkemizde 7 Kasım 2020’de T.C. Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü COVID-19 (SARS-CoV-2 Enfeksiyonu) Antisitokin-Antiinflamatuvar Tedaviler, Koagülopati Yönetimi Bilimsel Danışma Kurulu Çalışması Rehberine göre bu ilaç (ticari formu Kineret 100 mg, rekombinan IL-1 reseptör antagonisti, hazır enjektör) makrofaj aktivasyon sendromu (MAS) hastalarında kullanımının güvenli bir uygulama olduğu önerilmiştir. İlacın yarılanma ömrü kısa sürelidir ve 2-10 mg/kg dozda deri altı ya da intravenöz uygulama yoluyla başlanabileceği, hastalığın şiddetine göre hafif olgularda günde bir ya da iki kez 100 mg, şiddetli olgularda günde 3 kez 200 mg intra venöz ya da 6 saatte bir 200 mg dozda uygulamaya kadar değişen doz ayarlamalarının yapılabilir olduğu bildirilmiştir. İlacın CRP sentezini engellemediği ve bu nedenle akut faz yanıt izlenmesi bakımından güvenli olduğu bildirilmiştir (T.C. Sağlık bakanlığı, 2020).

New York’da hastaneye yatırılan 1.438 hastayı içeren retrospektif bir kohort çalışmasında; hidroksiklorokin, azitromisin veya her ikisi ile tedavinin, her iki tedaviye kıyasla anlamlı derecede daha düşük hastane içi mortalite ile ilişkili olmadığı bildirilmiştir (Rosenberg ve diğerleri, 2020). ABD'deki başka bir randomize (COVID-19'u doğrulanmış) 821 asemptomatik katılımcı üzerinde yapılan, plasebo kontrollü çift-kör çalışmada ise maruziyetten 4 gün sonra plasebo veya hidroksiklorokin arasında anlamlı bir tedavi etkinliği ya da enfeksiyonu önleme aktivitesi bulunmadığı bildirilmiştir (Boulware ve diğerleri, 2020). Amerika Gıda ve İlaç İdaresi 15 Haziran 2020’de ilacın profilaktik olarak kullanıldığında COVID-19 ile ilişkili hastalıkları veya doğrulanmış enfeksiyonu önlemediğini bildirmiş ve 28 Mart 2020’de ciddi kardiyak yan etki kayıtları ve diğer olası ciddi yan etkilerden dolayı verilen acil kullanım iznini iptal etmiştir (U.S. FDA, 2020) (Boulware ve diğerleri, 2020).

Takçı ve diğerleri, sistemik lupus eritematozus, romatoid artrit gibi romatizmal hastalıkların tedavisi amacıyla ve antimalaryal ajan olarak da kullanılan hidroksiklorokininin dermatolojik tedavi amacıyla kullanıldığı bir hastada reçete edilen hidroksiklorokin kütanöz hiperpigmentasyona neden olduğunu bildirilmiştir (Takçı ve diğerleri, 2015).

Ülkemizde Kamu Hastaneleri Genel Müdürlüğü Tedarik Planlama, Stok ve Lojistik Yönetimi Daire Başkanlığı Hastane Eczacılığı Yönetim Birimi (14.04.2020) tarihinde yayınlanan klavuza göre COVID-19 (SARS-CoV2 Enfeksiyonu) Tedavisinde Kullanılacak İlaçlara İlişkin Bilgilendirme Favipiravir 200 Mg Tablet hakkında oral yoldan bir miktar sıvı

ile alınması gerektiği bildirilmektedir. İlacın ilk defa 15 Şubat 2020’de yeni grip tedavisi için onaylanmış olduğu, RNA virüslerinin replikasyonunu bloke ederek etki ettiği, ilacın istenen kan seviyesine ulaşması için ilk alımda oral yükleme gerekli olduğu, karaciğer fonksiyon bozukluğu olan bireylerde karaciğer fonksiyon testleri ile takip edilmesi gerektiği, metabolitlerinin semen ve anne sütüne kadar ulaştığı bildirilmektedir (Kamu Hastaneleri G.M. Rehberi, 2020) Sağlık bakanlığı favipiravir kullanım rehberine göre ise ilacın detaylı kullanımı için önerilen doz düzenlenmesi ise şu şekildedir: İlacın toplam kullanım süresi 5 gün olacak şekilde oral yoldan kullanılması önerilmektedir. 1. gün yükleme dozu olarak 2x600 mg/kg favipiravir, 2-5.günler ikame dozu olarak günde 2 defa 200mg/kg, 12 saat arayla alınması önerilmiştir (T.C. Sağlık Bakanlığı, 2020).

Asiklovirin; HSV1 ve HSV2 virüslerinin neden olduğu Herpes simpleks enfeksiyonlarında, Herpes Simpleks ensefalitinde, Varicella zooster enfeksiyonlarının tedavisinde, intravenöz olarak 5 gün, oral olarak 14-21 gün boyunca antiviral ajan olarak kullanılabildiği bildirilmektedir. Viral lezyonlara haricen krem şeklinde de uygulanmaktadır. Yaşlılarda, böbrek fonksiyon testleri düzensizliği olan bireylerde, hamile ve emziren hastalarda kullanılması önerilmemektedir. Vasküler yapılarda flebit, solunum yollarında dispne, gastrointestinal sistemde bulantı, kusma, diyare, abdominal ağrı, hepatobiliyer olarak karaciğer ile ilişkili enzimlerde geçici artışlar, deri ve deri altı dokuda kaşıntı, ürtiker, döküntü ve anjiyoödem gibi yan etkilere neden olabilmektedir (TİEK, kısa ürün bilgisi, 2020).

Bağıışıklığı baskılanmış hastalarda gelişen sitomegalovirüs enfeksiyonunda hem profilaktik olarak hem de antiviral tedavinin bir parçası olarak bu ilaç uygulanmaktadır (Türkmen ve diğerleri, 1998).

Movahed ve diğerleri (2013), sentetik pürin nükleozit analogu olarak işlev gören ve germ hücreleri için gonotoksik ajan olduğu bilinen asiklovirin erkek ratlarda testis dokusundaki histopatolojik değişiklikleri değerlendirmek ve serum testosteron ve lipit peroksidaz enzimi seviyelerini nasıl etkilediğini aydınlatmak amacıyla yaptıkları çalışmada 18 gün boyunca deneklere düşük ve yüksek dozda (16 ve 48 mg/kg) asiklovir uygulaması yapmışlardır. Asiklovir maruziyetinin hem düşük hem de yüksek doz asiklovir uygulanan deney gruplarında serum testosteron seviyesinde düşüşe neden olduğu, serum lipit peroksidaz enzimi seviyesinde yükselişe neden olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca araştırmacılar testiste

özellikle peritübüler intersitisyel bağ dokuda mast hücrelerinin infiltrasyonunu arttırdığı, germ hücrelerinde kromozomal bozukluklara neden olduğu ve doku genelinde histopatolojik tabloyu tetiklediğini kaydetmişlerdir (Movahed ve diğerleri, 2013).

Asiklovir ile belirtilen bu yayınlar ışığında çalışmamızda; asiklovirin testiste tunika vasküloza yapısında bozulmalara neden olduğu, damar yapısında konjesyon ve dilatasyon ile ilişkilendirildiği, germinal epitelde ödem ve çoğu tübül lümeninde görece spermatozoa azalmasına, spermatogenik seri hücreleri arasında bağlantı kaybı olmasına ve germinal epitelde ödem oluşumuna neden olduğu bulgularına ulaşıldı. Özellikle intersitisyel bağ dokudaki Leydig hücrelerinde oluşturduğu vakualizasyon endokrin bozucu etkisinin en bariz histomorfolojik göstergesidir. Bu durum asiklovirin pürin analoğu olması nedeniyle metabolik olarak aktif olan hücrelerde yüksek düzeyde DNA hasarı oluşturulması ile ilişkilendirilebilir.

Toghiani ve diğerleri (2018)'nın Wistar albino erkek ratlar üzerinde DNA hasarını önleyici araştırdıkları deneysel çalışmada antiviral tedavide kullanılan asikloviri özellikle genital sistemde apoptozu tetikleyici ve DNA hasarı oluşturucu ajan olarak kullanmışlardır. Araştırmacılar asiklovirin özellikle yetişkinliğe ulaşmadan önceki dönemde germ hücreleri üzerinde sitotoksik etkiye sahip olduğunu, germ hücrelerinde apoptozu tetiklediğini, germ hücrelerinde kalıcı genetik hasara neden olabildiğini bildirmişlerdir. Ayrıca erkek genital sistem üzerindeki etkiyi değerlendirdikleri bu çalışmada kontrol grubuna kıyasla asiklovir verilen denek grubunda total sperm sayısının düştüğünü, sperm hareketliliğinin anlamlı derecede azaldığını ve anormal sperm morfolojisi görülme oranının artış gösterdiğini göstermişlerdir (Toghiani ve diğerleri 2018).

Çalışmamızdaki spermiyogram sonuçlarını ele aldığımızda, (ileri) hareketli ve toplam sperm sayısını en fazla düşüren uygulamaların anakinra ve favipiravir olduğu izlendi.

Alruwaili ve diğerleri (2023)'nın hidrosiklorokin toksisitesini değerlendirmek amacıyla karaciğer, böbrek, kalp, dalak ve testis ile kan örnekleri üzerinde yaptıkları deneysel araştırma çalışmasında hidrosiklorokin ile tedavi edilen sıçanların testis dokularında spermatogenik hücre serisinin bütünlüğünün bozulduğu, germinal epitelde ayrılmalar izlendiği, spermatosit dejenerasyonu, testiküler interstisyel ödem ve ara ara spermatogenik

tduraksamayı da içeren histopatolojik değişikliklerin gözlemlendiğini belirtmişlerdir. (Alruwaili ve diğerleri, 2023).

Çalışma ile benzer şekilde biz de çalışmamızda COVID-19 hastalık etkeni olmaksızın sadece hidroksiklorokin uygulaması yapılan deney gurubundan alınan testis örneklerinin histomorfolojik değerlendirmesinde seminifer tübülde epitel bütünlüğünün bozulduğu, lümende spermatozoa miktarının azaldığı, intersitisyel alanda Leydig hücrelerinde bozulma, vakuolizasyon ve intersitisyel bağ dokuda hyalinizasyon izlendiği tespit edildi.

Hirik ve diğerleri (2018)'nin Wistar albino erkek ratlar üzerinde gerçekleştirdikleri deneysel iskemi reperfüzyon çalışmasında deney modeli oluşturulan hayvanlara 100mg/kg dozda IL-1beta antagonisti olan anakinra uygulamasının hem antioksidan enzimlerin serum seviyelerini arttırıcı, hem de testiküler iskemi/reperfüzyonhasarını hafifletici bir etkisi olabileceğini bildirmişlerdir. (Hirik ve diğerleri, 2018).

Favifiravirin literatüre bakıldığında genital sistem üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmalar oldukça sınırlıdır. Balcı ve diğerleri, (2022) overde histopatolojik ve biyokimyasal etkilerini dişi ratlar üzerinde değerlendirdikleri çalışmada favifiravirin düşük ve yüksek doz (100 mg/kg ve 400 mg/kg) uygulaması bir hafta boyunca yapılmıştır. Oksidatif ve antioksidan parametreler over doku lizatı üzerinde ölçülmüş, histopatolojik değerlendirmeler overden alınan kesitler üzerinde yapılmıştır. Deney sonucunda ilaç uygulaması yapılan grupta rat overlerinin oksidatif içeriği artmış, antioksidan aktivitenin azaldığı, overin histopatolojik olarak hasara uğradığı, infertiliteye ve gebelik gerçekleşmesini geciktirici etkisi olduğu belirtilmiştir (Balcı ve diğerleri 2022).

Literatürdeki bu verileri destekler şekilde çalışmamız sonuçları favipiravir uygulamasının tıpkı yukarıdaki araştırmacıların over dokusu üzerinde bulunduğu etkilere benzer şekilde testis dokusu üzerinde de, uygulanan diğer tedavi ajanlarına kıyasla en yüksek oksidatif stres indeksine yol açtığı sonucuna ulaşılmıştır.

Ebola nedeniyle tedavi gören erkek bireylerin viral enfeksiyon sonrası sağ kurtulan erkek hastalarda yüksek doz favipiravirin toleransını ve aktivitesini değerlendirmeyi amaçladıkları çalışmada bireylere 14 gün boyunca yüksek dozda (1. Gün yükleme dozu: 2400 mg/kg geriye kalan 13 gün boyunca: 1800 mg/kg) favipiravir tedavisi uygulanmış bireylerde 3.

derece hipkalsemi oluştuğu ancak yine de bireylerde ilacın iyi tolere edildiği bildirilmiştir (Eloy ve diğerleri, 2022).

İlaç maruziyetinin hem deney hayvanlarında hem de çeşitli hayvanlarda etkisi kalıcı olan ya da geçici olan kan üre nitrojeni, kreatinin ve plazma proteinlerinde de anlamlı olmayan değişiklikler meydana getirdiği, çeşitli oksidatif stres süreçlerini aktive ettiği pek çok yayın ile bildirilmiştir (Khan ve diğerleri, 2013).

Ally ve Hassan'ın 2018 yılında yaptıkları çalışmada gram-negatif bakterilere karşı yaygın olarak kullanılan bir aminoglikozid antibiyotik olan gentamisin testis dokusundaki toksisitesine bakılmıştır. Çalışmada 170 ± 10 gr lık Wistar albino ratlara 10 gün boyunca 0, 60, 80 veya 100 mg/kg/gün dozlarında ilaç uygulaması yapılmıştır. Araştırmacılar yaptıkları incelemede deneklerin sperm sayısı ve hareketliliği ile günlük sperm üretiminin doza bağlı olarak azaldığını, yine gentamisin tedavisinden sonra serum testosteron düzeyinin anlamlı derecede azaldığını ve serumda hücre hasarı belirteci olan laktat dehidrogenaz-X, kaspaz-3 ve 9'un aktivitelerinin doza bağlı olarak (dozun artması ile birlikte) artış gösterdiği bildirilmiştir. Çalışmada serum H_2O_2 üretimi ve lipid peroksidasyonu anlamlı düzeyde artarken, süper oksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPX) ve glutatyon redüktaz (GR) aktivitelerinin yanı sıra enzimatik olmayan total redükte edilen glutatyon (GSH) düzeyinin de anlamlı düzeyde azalması, gentamisin kaynaklı oksidatif stres oluştuğunu göstermiştir. Yaptıkları histopatolojik incelemede testis kesitlerinde atrofi, dejenerasyon ve spermatogenez kaybı gözlendiğini bildirmişlerdir (Aly ve Hassan, 2018).

Sherif ve diğerleri, yaptıkları bir araştırmada Çin tıbbında yaygın olarak kullanılan bir bitkisel ilaç olan *Ginkgo biloba* yaprağı ekstresinin (GIN) kemoterapötik ajan olan metotreksatın (MTX) neden olduğu testis hasarına karşı protektif etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışmada ELISA yöntemi ile MTX'in, doku düzeyinde malondialdehit (MDA) içeriği, dokudaki inflamasyon belirteci olan IL-6 ve IL-1 β protein seviyelerinin deney grubunda kontrol grubuna kıyasla yüksek bulunduğu bildirilmiştir (Sherif ve diğerleri, 2020).

Erkek genital sistem histolojisi değerlendirilen çalışmalarda genel olarak seminifer tübül epitelinin yüksekliği, hücre kompozisyonunun koruup korunmadığı, tübüldeki hücre kaybı,

Leydig hücrelerindeki dejenerasyon, peritübüler miyoid hücrelerde disorganizasyon gibi kriterler histopatolojik olarak değerlendirilmiştir (Nna ve ark, 2018).

Literatürde histopatolojik testis hasarı değerlendirilmesinde Johnsen skorlaması yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Sherif ve arkadaşlarının *Ginkgo biloba* yaprağı ekstresinin kemoterapötik ajan olan metotreksatın (MTX) neden olduğu testis hasarına karşı protektif etkisini değerlendirdikleri çalışmada deneklerden alınan testis dokuları bouin fiksatif ile tespit edilmiş ve ışık mikroskopik takibin ardından 5 mikron kalınlıkta alınan kesitler hematoxilen-eozin boyası ile boyanarak histomorfolojik olarak incelenmiş ve Johnsen skorlaması ile spermatogenezisin olmadığı seminifer tübülün 0 (sıfır) ile ve spermatogenezisin sorunsuz izlendiği seminifer tübülün 10 (on) puan verilmesi ile skorlandırılmıştır. MTX uygulanan grupta Johnsen skorunda kayda değer bir azalma ile birlikte testis hasarında anlamlı bir artış gözlemlendiği bildirilmiştir. Hasarlı dokudaki histopatolojik değişim kriterleri olarak intersitisyel alandaki damarlarda konjesyon varlığı, interstisyel ödem, lökosit hücre infiltrasyonu, spermatositlerde belirgin vakuolizasyon, nekrotik spermatidler ve spermatogenezis sürecindeki hücrelerde bozulma dikkate alınmıştır (Sherif ve diğerleri 2020).

Yapılan Johnsen skorlaması verileri analiz edildiğinde kontrol grubunun 9,47 olarak izlendiği deneyde en düşük Johnsen skorunun 5.96 ile favipiravir uygulanan grupta olduğu, onu 6.03 ile anakinra, 7.36 ile hidrosiklorokin, 7.61 ile asiklovirin takip ettiği verisine ulaşıldı. Bu durum hem literatürdeki verilerle ve hem de yapılan çalışmanın diğer deneylerinin verileri ile uyumlu olarak tespit edildi. Sadece ilaç tedavisi vermenin COVID-19 hastalığı tablosu olmadan da testiküler hasar ve spermiyogenezis bozulması açısından olumsuz etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Şeker ve arkadaşları, testis dokusu üzerinde antioksidan maddeler olan troloks ve allopunolün iskemi-reperfüzyon (İ/R) hasarına etkisini değerlendirdikleri çalışmalarında seminifer tübül epitelini, bazal membranı, Sertoli hücrelerini, interstisyel kılcal damarları ve Leydig hücreleri ile spermatogenezisin aşamalarını kontrol grubunda normal olarak izlediklerini bildirmişlerdir. İ/R grubunda şiddetli epitel dökülmesi (deskuamasyon), nekrotik hücrelerin varlığı ve hatta seminifer tübüllerin epitelinin dökülerek boş olarak gözlemlendiği dejenerasyonlar ile dokuda çok çekirdekli dev hücreler içeren infiltrasyon alanları gözlemlediklerini, bazal mambranda dalgalanma ile interstisyumda kanama, ödem

ve damarlarda konjesyon ile piknotik Leydig hücreleri varlığını kaydetmişlerdir. Kontrol grubunun Johnsen skoru ($8,63 \pm 0,11$) ve I/R grupları ($3,14 \pm 0,14$) anlamlı derecede farklı olduğu ($p < 0,01$), ancak trolox grubu ($8,27 \pm 0,13$) kontrol grubuyla benzer sonuçlar gösterdiklerini ($p Z = 0,25$), Allopurinol grubunun Johnsen skoru ($4,19 \pm 0,16$) diğer gruplardan anlamlı derecede farklı olduğu ($p < 0,01$) bildirilmiştir (Şeker ve diğerleri, 2020).

Erkek gonadlarında sitokinler ana kaynak olarak testis makrofajlarından, ek olarak da Leydig hücreleri (Diemer ve diğerleri, 2003) ve Sertoli hücreleri (Cudicini ve diğerleri, 1997) tarafından fizyolojik olarak üretilir ve belli bir seviyede düzenleyici etkileri de bulunmaktadır (Hales ve diğerleri, 1999). Testis kaynaklı sitokinlerden başlıcaları seminal plazmada da doğal olarak bulunan IL-1 ve IL-6 ve TNF- α 'dır (Maegawa ve diğerleri, 2002). Bunlardan interlökinler proinflatuvar sitokinlerdir. TNF- α ise ağırlıklı olarak makrofajlar ve diğer mononükleer fagositler tarafından üretilerek, inflamasyonda lökositlerin aktivasyonunda rol oynayan, endotel üzerinde yapışma moleküllerini ve kemokinleri indükleyen, hücrelerde apoptozise neden olan bir proteindir (Cudicini ve diğerleri, 1997).

Hassani-Baffrani ve diğerleri tarafından 50 adet erkek Wistar albino sıçanı üzerinde bir antioksidan ve antiinflamatuvar ajan olan berberinin deneysel varikosel kaynaklı moleküler ve histolojik hasarlara iyileştirici etkisini araştırılmıştır. Histopatolojik olarak hematoksilin-eozin boyaması yapılan çalışmada varikosel modeli oluşturan grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede spermatogenik dejenerasyon ve spermiyogenezis baskılanması gördüklerini ancak berberin uygulanan grupta seminifer tübül epitelinin dozla ilişkili olarak korunduğu ve spermatogenezis sürecinin daha olumlu ilerlediği bildirilmiştir. Araştırmacılar testis dokusunda IL-6, TNF- α ve nitrik oksit (NO) antikorları ile immünohistokimyasal işaretlemeler yapmışlardır. Hem IL-6 hem de TNF- α ile yapılan işaretlemelerde varikosel modelinde intersitisyel dokudaki Leydig hücrelerinin sitoplazmalarında tutulum görülürken, kontrol grubunda tutulum olmadığı, düşük doz berberin uygulanan grupta orta şiddette tutulum olduğu, yüksek doz berberin uygulanan grupta ise hafif tutulum olduğu bildirilmiştir (Hassani-Baffrani ve diğerleri, 2019).

COVID-19 tedavisinde uygulanan ajanların testis dokusu üzerindeki IL-6 immünreaktivitesini değerlendirdiğimiz çalışmamızda; en az oranda asiklovir uygulanan grupta, en şiddetli olarak ise favipiravir uygulanan grupta tutulum gözlemlendi. Bu veri

favipiravir tedavisinin sitokin fırtınasını yönetme açısından COVID-19 tedavisinde risk içerdiğini destekler niteliktedir.

Oksidatif stresin erkek genital sistem organlarındaki doku üzerinde bıraktığı etki pek çok hastalık modelinde immünohistokimyasal olarak hem antioksidan enzimlerin ve hem de sitokinlerin işaretlenmesi ile araştırılmıştır. Stresptozotosin indüksiyonu ile Sprague Dawley erkek ratlarda oluşturulan diyabet modelinde bir antioksidan olan propolisin etkisini araştırdıkları bir çalışmada, IL-1 β ve TNF- α antikorı ile işaretleme yapılmıştır. IL-1 β antikor; hastalık modelinde Leydig hücreleri, Sertoli hücreleri ve tüm spermatogenik seri hücrelerinde en yüksek tutulum sergilerken, tedavi edilen gruplarda gittikçe azalan bir tutulum göstermiştir. TNF- α antikorunun ise hastalık modeli olan grupta özellikle Leydig hücrelerinde, Sertoli hücrelerinde ve spermatogonyumlarda yüksek tutulum sergilediği tespit edilmiştir (Nna ve diğerleri, 2019).

Çalışmamızdaki IL-1 β ve TNF- α antikorları ile yapılan immünohistokimyasal işaretlemelelerde kontrol grubuna kıyasla en yüksek tutulum favipiravir uygulanan grupta izlendi. En az tutulum ise asiklovir uygulanan grupta görüldü. Bu veriler favipiravirin proinflatuvar süreçleri ve dokudaki sitokin faaliyeti diğer ajanlara kıyasla daha çabuk tetkiklediğini düşündürmektedir.

Oksidatif stres, serbest radikallerin miktarındaki artış ve antioksidan miktarındaki düşüş nedeni ile ortaya çıkan ve dokuda hasara yol açan bir süreçtir. Bu süreç, deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda doku ve serum düzeyinde çeşitli antioksidan enzimlerin seviyelerinin ölçümü ile araştırılabilmektedir (Baba ve diğerleri, 2013) (Nisar ve diğerleri, 2013). Çalışmamızda testis dokusu üzerindeki oksidatif süreç ELISA yöntemi ile doku lizatları üzerinden gerçekleştirilmiştir. Literatürde de oksidatif stresin erkek genital sistem üzerindeki etkisini değerlendirmek için hem testis ve hem de epididimis dokuları ile oksidatif hasar belirteci olan enzimlerin miktarı tayin edilerek yapılan çalışmalar mevcuttur. Nna ve diğerlerinin yaptıkları çalışmada testis doku lizatlarında oksidatif hasar belirteci olan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon S transferaz (GSH), tiobarbutirik asit reaktif substans (TBARS) ve NO seviyelerini ELISA yöntemiyle belirlemeyi amaçlamışlardır. Çalışmada hastalık modeli olan grupta sağlıklı kontrol grubuna göre NO haricindeki diğer antioksidan enzimlerin seviyelerinin azaldığı, bu

enzimlerin seviyelerinin oksidatif hasarın az olduğu tedavi grubunda ise sağlıklı kontrol grubuna benzer şekilde olduğu belirtilmiştir (Nna ve diğerleri, 2019).

Bektemur ve arkadaşları COVID-19 tanısı alan hastalarda oksidatif stres, DNA hasarı ve inflamasyon biyobelirteçlerini araştırdıkları çalışmalarında, polimeraz zincir reaksiyonu tanısı alan 150 adet COVID-19 (+) hastanın ve aynı demografik özelliklere sahip 150 sağlıklı gönüllünün kan örneklerinden elde edilen serum örneklerinde toplam oksidan statü (TOS), toplam antioksidan statü (TAS), toplam tiyol (TT), doğal tiyol ve miyeloperoksidaz (MPO) aktivitelerini fotometrik yöntemlerle ölçmüşlerdir. Araştırmacılar, COVID-19 hastalarında oksidatif stres biyobelirteçlerinden disülfid, TAS, TOS, MPO, oksidatif stres indeksi ve IL-1 β , IL-6 ve TNF- α düzeyleri gibi inflamasyon biyobelirteçleri ile DNA hasarı düzeylerinde artış ($p<0,001$) gördüklerini fakat buna karşın TT ve doğal tiyol seviyelerinin COVID-19 hastalarında azaldığını ($p<0,001$) bildirmişlerdir (Bektemur ve diğerleri, 2013).

Enflamasyon nedeniyle, erkek üreme kanalındaki proinflatuvar mediyatörlerin seviyeleri normalden daha yüksek seyrederek ve bu da erkek infertilitesinin temel nedenleri arasındadır. Genellikle semptomsuz olarak ortaya çıkan genitoüriner sistemin akut veya kronik inflamasyondan sonra ya da genel bir inflamatuvar tablo sonrasında erkek genital sistemindeki inflamatuvar yanıtlar sonrasında izlenen oksidatif stres (OS), oksidatif hasara neden olduğundan erkek fertilité parametrelerinin olumsuz olarak etkilenmesine neden olur (Dutta ve diğerleri, 2021). Erkek genital sistemde oluşan bir inflamasyon, oksidatif stres oluşumuna ve inflamasyon alanında bağışıklık hücrelerinin infiltrasyonunu tetikler (Cotran, 1999). Öte yandan, belirli ROS ve/veya reaktif nitrojen türleri (RNS) proinflatuvar genlerin aktivasyonunu indükleyerek hücre içi sinyalleşmeyi aktive eder (Anderson ve diğerleri, 1994) (Flohé ve diğerleri, 1997).

Serbest radikaller ROS, hücresel faaliyetlerin sürdürülmesi için gerekli olan oksidatif reaksiyonların yan ürünüdür. Memeli hücreleri toksik ROS/serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı koyan kapsamlı antioksidan savunma mekanizmalarına sahiptir. Toksik maddelerin artan dozu nedeniyle serbest radikallerin aşırı üretimi, enzimatik ve yapısal proteinin sülfidril (-SH) grubuna veya lipit zarının çoklu doymamış yağ asitlerine saldırarak, lipidlerin peroksidasyonuna yol açmakta ve farklı organlar üzerinde zararlı etkiler yaratmaktadır. Süperoksit radikalleri, mitokondri ve endoplazmik retikulumda elektron taşıma sistemi bileşenlerinin oto-oksidasyonu ve canlı dokulardaki oksijen moleküllerinin

tek değerkli indirgenmesi sırasında da üretilir. SOD; süperoksit ve peroksit radikallerinin, H_2O_2 ve H_2O 'ya dönüşümünü katalizleyen enzimdir ve oksijenli solunum yan ürünü olarak üretilir. Ancak süperoksitin ortamda birikmesi, hücrel proteinleri denatüre ederek ve DNA kırıklıklarına neden olarak, hücrel fonksiyonları bozmakta ve biyolojik sistemler için toksik etki yaratmaktadır (Ahmad ve diğerkleri, 2014).

Yapılan TAS, TOS ölçümleri ve bunların sonuçları baz alınarak hesaplanan OSI indeksi verilerimiz COVID-19 tedavisinde kullanılan ajanlar olan asiklovir, hidroksiklorokin, anakinra ve favifiravirin deneklerde oksidatif stres süreçlerini tetiklediğı yönündedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamız sonucunda elde edilen tüm veriler birbirleri ile karşılaştırmalı olarak değerlendirildiğinde; COVID-19 tedavisi sırasında kullanılan ajanların, hastalık koşulları olmasa dahi, tek başlarına kullanımlarının testis dokusu ve sperm parametreleri üzerinde farklı derecelerde hasara neden olduğu izlendi. Bu hasar; testis dokusunda histomorfolojik düzeyde yapılan analizler, testiküler oksidatif stres ölçümleri, testis dokusunda izlenen proinflatuvar ve inflamatuvar sitokin immünreaktivite ile sperm sayım ve morfoloji analizleri yapılarak belirlendi.

Yapılan analizler sonucunda, tüm tedavi ajanları kendi arasında değerlendirildiğinde, anakinra ve favipiravirin testiküler doku ve sperm parametrelerine en fazla hasar veren ajanlar olduğu tespit edildi. Bu ajanların özellikle spermatogenezisin normal fizyolojisini sekteye uğratarak, testisleri puberte öncesindeki Sertoli hücresi-baskın haline getirdiği önemli bir bulgu olarak nitelendirildi. Dokudaki OSI verileri ve immünreakivite sonuçları da baz alındığında, bu ajanların testiküler ve spermatogenetik hasara özellikle oksidatif stres üzerinden yol açtığı düşünüldü. Anakinra ve favipiravirin yol açtığı dejeneratif değişimler kendi içerisinde değerlendirildiğinde ise, favipiravirin daha baskın yıkıcı etkiye sahip olduğu kanısına varıldı.

Çalışmamızın zayıf ya da ileri analizler ile tamamlanmasını öngördüğümüz çıktıların ise, ajanların kullanımlarının kesilmesinden sonraki süreçte bu analizlerin tekrarlanması ve doku ile spermatogenezis hasarının geri dönüşümlü olup olmadığının tespiti ile oluşturulması gerektiği görüşündeyiz.

KAYNAKLAR

- Abdel-Moneim, A. (2021). COVID-19 Pandemic and Male Fertility: Clinical Manifestations and Pathogenic Mechanisms. *Biochemistry*. 86(4), 389-396. doi: 10.1134/S0006297921040015. PMID: 33941061; PMCID: PMC7978437.
- Aggarwal, B. B., Gupta, S. C., Kim, J. H. (2012). Historical perspectives on tumor necrosis factor and its superfamily: 25 years later, a golden journey. *Blood*. 119(3), 651-65.
- Ahmad, I., Raina, R., Verma, P. K., Ahmad, M., Sultana, M. (2014). Lipid Peroxidative Damage And Alterations in Antioxidant Status in Rat Erythrocytes On Repeated Exposure Of Λ -Cyhalothrin and Fluoride Alone and in Combination. *World Journal of Pharmaceutical Research*. 3(9), 1112-1120.
- Aliyu, M., Zohora, F. T., Anka, A. U., Ali, K., Maleknia, S., Saffarioun, M., Azizi G. (2022). Interleukin-6 cytokine: An overview of the immune regulation, immune dysregulation, and therapeutic approach. *International Immunopharmacology*. 111, 109130.
- Aly, H. A. A., Hassan, M. H. (2018). Potential testicular toxicity of gentamicin in adult rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 497(1), 362-367.
- Anderson, M. T., Staal, F., Gitler, C., Herzenberg, L. A., (1994). Separation of oxidant-initiated and redox-regulated steps in the Nuclear Factor-kappa B signal transduction pathway. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 91, 11527–11531.
- Ardestani Zadeh, A., Arab, D. (2021). COVID-19 and male reproductive system: pathogenic features and possible mechanisms. *Journal of Molecular Histology*. 52(5), 869-878.
- Arvin, A. M., (2002). Antiviral therapy for varicella and herpes zoster. *Seminars in Pediatric Infectious Diseases*. 13, 12-21.
- Atak Yücel, A., (2020). *İmmünoloji ve Yeni Koranovirüs Hastalığı-19* (1. Baskı). Ankara: Türkiye Klinikleri. 15-21.
- Atalay, S., Ersan. G. (2020). COVID-19 Tedavisi. *Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Dergisi*. 30 (0), 126-134.
- Atkin-Smith, G. K., Duan, M., Chen, W., Poon, I. K. H. (2018). The induction and consequences of Influenza A virus-induced cell death. *Cell Death and Diseases*. 9(10), 1002. doi.org/10.1038/s41419-018-1035-6
- Baba, N. A., Raina, R., Verma, P. K., Sultana, M., Prawez, S., Nisar, N. A. (2013). Toxic Effects Of Fluoride And Chlorpyrifos On Antioxidant Parameters in Rats: Protective Effects Of Vitamins C And E, *Research report Fluoride*. 46(2), 73–79.
- Balcı, S., Çöllüoğlu, Ç., Yavuzer, B., Bulut, S., Altındağ, F., Akbaş, N., Süleyman, H. (2022). Effect of low and high dose of favipiravir on ovarian and reproductive function in female rats: Biochemical and histopathological evaluation. *General Physiology and Biophysics*. 41(5), 457-463.

- Batiha, O., Al-Deeb, T., Al-Zoubi, E., Alsharu, E. (2020). Impact of Coronavirus Disease-19 and other viruses on reproductive health. *Andrologia*. 52(9), 13791.
- Bektemur, G., Bozali, K., Colak, Ş., Aktas, S., Guler, E. M. (2023). Yeni Koronavirüs Hastalığı-19 hastalarında oksidatif Stres, Deoksiribonükleik asit hasarı ve enflamasyon, *Northern Clinics Of Istanbul*. 10(3), 335-340.
- Beltrán-García, J, Osca-Verdegal, R., Pallardó, F. V., Ferreres, J., Rodriguez, M., Mulet, S. (2020). Oxidative stress and inflammation in Coronavirus Disease-19 -associated sepsis: the potential role of antioxidant therapy in avoiding disease progression. *Antioxidants*. 9:936.
- Bloom, E. R., Fawcett, D. W. (1994). A Text Book of Histology; Twelfth Edition, Chapman&Hall, London. 315.
- Bozdoğan Ö. (2004). Fizyoloji (2. Baskı). Ankara, Palme Yayıncılık. 261.
- Boulware, D. R., Pullen, M. F., Bangdiwala, A. S., Pastick, K. A., Lofgren, S. M., Okafor, E. C. (2020). A randomized trial of hydroxychloroquine as postexposure prophylaxis for Coronavirus Disease-19. *The New England Journal of Medicine*. 383:517-525.
- Bradley, J. R. (2008). Tumor Necrosis Factor-mediated inflammatory disease, *Journal of Pathology*, 214, 149–160.
- Breuer, J., Whitley, R. (2007). Varicella zoster virus: natural history and current therapies of varicella and herpes zoster. *Herpes*. 2: 25-29.
- Bullock, J., Boyle, J., Wang, M., (1994). *Fizyoloji* (2. Baskı). (Çeviri editörleri Hairi, N.) İzmir, Saray Tıp Kitabevi, 375.
- Cavalli, G., Franchini, S., Aiello, P., Guglielmi, B., Berti, A., Campochiaro, C., Sabbadini, M. G., Baldissera, E., Dagna, L. (2015). Efficacy and safety of biological agents in adult-onset Still's disease. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 44(4), 309-14.
- Chen, G., Goeddel, D.V. (2002). Tumor Necrosis Factor-Receptor 1 signaling: a beautiful pathway. *Science*. 296 (5573), 1634-1635.
- Chams, N., Chams, S., Badran, R., Shams, A., Araj, A., Raad, M., Mukhopadhyay, S., Stroberg, E., Duval, E. J., Barton, L. M., Hajj Hussein, I. (2020). Coronavirus Disease-19: A Multidisciplinary Review. *Frontiers in Public Health*. 29 (8), 383.
- Coşgun, A., Aras, D., (1998). *Anatomi Histoloji Embriyoloji*. Nobel Tıp Kitabevi. 288.

- Costa, G. M. J., Lacerda, S. M. S. N., Figueiredo, A. F. A., Wnuk, N. T., Brener, M. R. G., Andrade, L. M., Campolina-Silva, G. H., Kauffmann-Zeh, A., Pacifico, L. G. G., Versiani, A. F., Antunes, M. M., Souza, F. R., Cassali, G. D., Caldeira-Brant, A. L., Chiarini-Garcia, H., de Souza, F. G., Costa, V. V., da Fonseca, F. G., Nogueira, M. L., Campos, G. R. F., Kangussu, L. M., Martins, E. M. N., Antonio, L. M., Bittar, C., Rahal, P., Aguiar, R. S., Mendes, B. P., Procópio, M. S., Furtado, T. P., Guimaraes, Y. L., Menezes, G. B., Martinez-Marchal, A., Orwig, K. E., Brieño-Enríquez, M., Furtado, M. H. (2023). High Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus -2 tropism and activation of immune cells in the testes of non- vaccinated deceased Coronavirus -19 patients. *Biomedcentral Biology*. 21(1), 36.
- Cotran, R.S. (1999). *Acute and chronic inflammation. In Robbins Pathological Basis of Disease*; Philadelphia, United States of America: Elsevier Health Sciences: 50–88.
- Cudicini, C., Lejeune, H., Gomez, E., Bosmans, E., Ballet, F., Saez, J., Jégou, B. (1997). Human Leydig cells and Sertoli cells are producers of interleukins-1 and -6. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 82, 1426–1433.
- Çayakar A. (2018). Nedir Bu Tümör Nekrozis Faktör Alfa? *Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medicine*. 3(2), 67-76.
- Çimen A. (1987). *Anatomi*, Uludağ Üniversitesi Basımevi. 396-413.
- Diemer, T., Hales, D. B., Weidner, W. (2003). Immune-endocrine interactions and Leydig cell function: The role of cytokines. *Andrologia*. 35, 55–63.
- Donath, M. Y., Mandrup-Poulsen, T. (2008). The use of interleukin-1-receptor antagonists in the treatment of diabetes mellitus. *Nature Clinical Practice Endocrinology and Metabolism*. 4, 240-241.
- Dong, L., Hu, S., Gao, J. (2020). Discovering drugs to treat coronavirus disease 2019 . *Drug Discoveries and Therapeutics*. 14, 58–60.
- Dutta, S., Sengupta, P., Slama, P., Roychoudhury, S. (2021). Oxidative Stress, Testicular Inflammatory Pathways, and Male Reproduction, *International Journal of Molecular Science*. 22, 10043.
- Eloy, P., Laouénan, C., Beavogui, A. H., Keita, S., Manchon, P., Etard, J. F., Sissoko, D., Mentré, F., Malvy, D. (2022). High doses of favipiravir in two men survivors of Ebola virus disease carrying Ebola virus in semen in Guinea. *Infectious diseases Cases*. 27, e01412.
- Er, O. (2023). COVID-19, varyantlar ve güncellenen aşılar. *Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Türk Dünyası Uygulama ve Araştırma Merkezi Halk Sağlığı Dergisi*. 8(3), 393-9.
- Erel, O. (2004). A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable 2,2'-azinobis-3-ethylbenzotiazolin-6-sülfonat radical cation. *Clinical Biochemistry*. 37, 277–85.
- Erdoğan, D., Hatipoğlu, M. T., Görgün, M., Ilgaz, C. (2008). *Genel Histoloji*. 3.Baskı. Ankara: Hatiboğlu Yayınevi. 85.

- Erkoçak A. (1982). *Özel Histoloji*. 4. Baskı. Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Basımevi. 72.
- Evenson, D. P., Jost, L. K., Corzett, M., & Balhorn, R. (2000). Characteristics of human sperm chromatin structure following an episode of influenza and high fever: A case study. *Journal of Andrology*. 21(5), 739–746.
- Fan, C., Li, K., Ding, Y., Lu, W. L., & Wang, J. (2020). Angiotensin Converting Enzyme-2 expression in kidney and testis may cause kidney and testis damage after new Coronavirus Disease-19 infection. *Medrxiv*, 2020.02.12, 20022418.
- Felsenstein, S., Herbert, J. A., McNamara, P. S., Hedrich, C. M. (2020). COVID-19: Immunology and treatment options, *Clinical Immunology*. 215:108448.
- Flohé, L., Brigelius-Flohé, R., Saliou, C., Traber, M.G., Packer, L. (1997). Redox regulation of NF-kappa B activation. *Free Radical Biology and Medicine*. 22, 1115–1126.
- Fu, Y., Cheng, Y., Wu, Y. (2020). Understanding Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2- Mediated Inflammatory Responses: From Mechanisms to Potential Therapeutic Tools, *Virologica Sinica*. 12250-020-00207-4.
- Ganong, W. F. (2002). *Tıbbi Fizyoloji*. Türk Fizyoloji Bilimler Derneği (Çev). 20. Baskı. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri. 432.
- Gao, J., Tian, Z., Yang, X. (2020). Breakthrough: chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of Coronavirus Disease-19 associated pneumonia in clinical studies. *BioScience Trends*. 14, 72–3.
- Giampietro, C., Fautrel, B. (2012). Anti-interleukin-1 agents in adult onset Still's disease. *International Journal of Inflammation*. 317820.
- Giampietro, C., Ridene, M., Lequerre, T., Costedoat Chalumeau, N., Amoura, Z., Sellam, J., Sibilia, J., Bourgeois, P., Fautrel, B. (2013). Club Rhumatismes et Inflammation. Anakinra in adult-onset Still's disease: long-term treatment in patients resistant to conventional therapy. *Arthritis Care and Research Journal*. 65(5), 822-6.
- Guan, W.-J., Ni, Z.-Y., Hu, Y. U., Liang, W.-H., Ou, C.-Q., He, J.-X., Zhong, N.-S. (2020). Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *The New England Journal of Medicine*. 382(18), 1708–1720.
- Guyton, A. C., Hall, J. E. (2007). *Tıbbi Fizyoloji*. (11. Baskı) (Çeviri editörleri: Çavuşoğlu, H., Çağlayan Yeğen, B.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 227-228.
- Hales, D. B., Diemer, T., Hales, K. H. (1999). Role of cytokines in testicular function. *Endocrine*. 10, 201–217.
- Hasanzade, T., Sağlam, M. (2020). Hidroksiklorokin sülfat kaynaklı plazma hücreli gingivitis: Olgu sunumu, *Selcuk Dental Journal*. 7, 334-337.
- Hassani-Bafrani, H., Najaran, H., Razi, M., Rashtbari, H. (2019). Berberine ameliorates experimental varicocele-induced damages at testis and sperm levels; evidences for oxidative stress and inflammation. *Andrologia*. 51, e13179.

- Hatipoğlu, M. T., Hatipoğlu, H. G. (2006). *Yüksekokullar Anatomi Ders Kitabı*. (1. Baskı). Ankara: Selvi Yayınevi. 96.
- Hatipoğlu, M. T. (2005). *Anatomi Sözlüğü*. (6. Baskı). Ankara: Hatipoğlu Yayınevi. 43.
- Henrikson, R. C., Kaye, G., Mazurkiewicz, J. E. (1997). *National Medical Series for Independent Study Histology*. (1. Baskı). Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. 245-256
- Hirik, E., Suleyman, B., Mammadov, R., Yapanoglu, T., Keskin Cimen, F., Cetin, N., Kurt N. (2018). Effect of anakinra, an interleukin one beta antagonist, on oxidative testicular damage induced in rats with ischemia reperfusion, *Revista Internacional de Andrologia*. 16, 3, 87-94.
- Hoffmann, M., Kleine-Weber, H., Schroeder, S., Krüger, N., Herrler, T., Erichsen, S., Pöhlmann, S. (2020). evere acute respiratory syndrome coronavirus 2 cell entry depends on Angiotensin-converting enzyme 2 and Transmembrane protease, serine 2 enzyme and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*, 181(2), 271–280.e8.
- Hong, D., Yang, Z., Han, S., Liang, X., Ma, K., Zhang, X. (2014). Interleukin 1 inhibition with anakinra in adult-onset Still disease: a meta-analysis of its efficacy and safety, *Drug Design, Development and Therapy*, 8, 2345–2357.
- Huang, C., Wang, Y., Li, X. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 395:497-506.
- Hsue, P. Y., Li, D., Ma, Y., Ishai, A., Manion, M., Nahrendorf, M., Ganz, P., Ridker, P.M., Deeks, S. G., Tawakol, A. (2018). Interleukine-1 β Inhibition Reduces Atherosclerotic Inflammation in HIV Infection, *Journal of the American College of Cardiology*. 72, 22, 2809-2811.
- İnternet: Amerika ulusal tıp kütüphanesi ulusal biyoteknoloji bilgi merkezi veri tabanı (2024, Ocak). Web: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/3553> 06 Mayıs 2024 tarihinde alınmıştır.
- İnternet: Amerika ulusal tıp kütüphanesi ulusal biyoteknoloji bilgi merkezi veri tabanı Yeni Koranovirüs Hastalığı-19 Klorokin ve Hidroksiklorokin için Yetkilendirme Kullanımı (2020). Web: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fdarevokes-emergency-use-authorization-chloroquine-and> 9 Mayıs 2024 tarihinde alınmıştır.
- İnternet: Büke, A. Ç. (2021). Olgularla Antiviraller, Türkiye Klinik Mikrobiyoloji ve Enfeksiyon Hastalıkları Derneği Bahar Okulu Yeterlilik Sınavına Hazırlık ders notları. (2014, Nisan). Web: <https://www.klimik.org.tr/wp-content/uploads/2014/04/Olgularla-Antiviraller.pdf>. 25 Mayıs 2021 tarihinde alınmıştır.
- İnternet: Neutec İlaç Sanayi Ticaret Anonim Şirketi favimol ilaç prospektüsü (2020) Web: https://titck.gov.tr/storage/Archive/2020/kubKtAttachments/Favimolkt_0f4b85df-7eef-4dc4-a25f-fe987d92e778.pdf. 15 Ocak 2021 tarihinde alınmıştır.

- İnternet: Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı (1) Yeni Koranovirüs Hastalığı-19 bilgilendirme platformu Yeni Koranovirüs Hastalığı-19 Sözlüğü- (2020) Web: <https://covid19.saglik.gov.tr/TR-66494/pandemi.html> 15 Aralık 2023 tarihinde alınmıştır.
- İnternet: Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı (2); Yeni Koranovirüs Hastalığı-19 bilgilendirme platformu Yeni Koranovirüs Hastalığı-19 Nedir? (2020, Kasım) Web: <https://covid19.saglik.gov.tr/TR-66301/covid-19-rehberi.html> 12 Ocak 2024 tarihinde alınmıştır.
- İnternet: Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı (3); Yeni Koranovirüs Hastalığı-19 Antisitokin - Antiinflamatuvar Tedaviler, Koagülopati Yönetimi Bilimsel Danışma Kurulu Çalışması, (2020, Kasım) Web: <https://covid19.saglik.gov.tr/TR-66301/covid-19-rehberi.html>
- İnternet: Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Yeni Koranovirüs Hastalığı-19 Antisitokin-Antiinflamatuvar Tedaviler, Koagülopati Yönetimi Bilimsel Danışma Kurulu Çalışması, (2020, Kasım) Web: <https://covid19.saglik.gov.tr/TR-66301/covid-19-rehberi.html> 12 Ocak 2024 tarihinde alınmıştır.
- İnternet : Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, Kısa Ürün Bilgisi, Zoviraks ilaç prospektüsü, Web: <https://titck.gov.tr/storage/kubKtAttachments/RWY3niWOBW9Qt.pdf> 06 Haziran 2024 tarihinde alınmıştır.
- Jenkins, B. J. (2022). Interleukine-6 family cytokines: An updated perspective on their broad pathophysiology, *Cytokine*.152, 155822.
- Jin, Y., Yang, H., Ji, W., Wu, W., Chen, S., Zhang, W. (2020). Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of Coronavirus-19. *Viruses*. 12(4).
- Jones, S. A., Hunter, C. A. (2021). Is Interleukine-6 a key cytokine target for therapy in COVID-19?. *Nature Reviews Immunology*. 21, 337–339.
- Jungueira, L. C., Carneiro, J. (2006). *Temel Histoloji*. (10. Baskıdan Çeviri) (Çeviri editörleri Aytekin, Y., Solakoğlu, S.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 185-190.
- Kang, S., Tanaka, T., Narazaki, M. (2019). Targeting interleukin-6 signaling in clinic. *Immunity*. 50, 1007-23.
- Kara, A., (2007). Varisella Zoster Virüs Enfeksiyonlarında Asiklovir Kullanımı, *Çocuk Enfeksiyonları Dergisi (Journal of Pediatric Infections)*. 1, 162-6.
- Keating, M. R. (1999). Antiviral agents for non-human immunodeficiency virüs infections. *Mayo Clinic Proceedings*. 74, 1266-1283.
- Khan, A. M., Sultana, M., Raina, R., Dubey, N., Verma, P. K. (2006). Effect of Sub-Acute Oral Exposure of Bifenthrin on Biochemical Parameters in Crossbred Goats, *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section Biological Sciences*, 3(3):323–328.

- Kierszenbaum, A. L. (2006). *Histoloji ve Hücre Biyolojisi-Patolojiye Giriş*. (Çeviri editörü: Demir, R.). Ankara: Palme Yayıncılık. 296-315.
- Kurtuluş, M., Pirim, İ. (2020). Coronavirüs-19 ve sitokin fırtınası. *Forbes Journal of Medicine*. 1(3), 55-60.
- Kuyrukluıldız, U., Küpeli, İ., Bedir, Z., Özmen, Ö., Onk, D., Süleyman, B., Mammadov, R., Süleyman, H. (2016). The Effect of Anakinra on Paclitaxel-Induced Peripheral Neuropathic Pain in Rats. *Turkish Journal of Anaesthesiology and Reanimation*. 44(6), 287-294.
- Laforge, M., Elbim, C., Frère, C., Hémadi, M., Massaad, C., Nuss, P. (2020). Tissue damage from neutrophil-induced oxidative stress in Coronavirus Disease-19. *Nature Reviews Immunology*. 9, 515–6.
- Larsen, W. J. (1993). *Human Embryology*. (First Edition). Singapore;Churchill Livingstone Incorporation. 378.
- Laskari, K., Tzioufas, A. G., Moutsopoulos, H. M. (2011). Efficacy and long-term follow-up of Interleukine-1Receptor inhibitor anakinra in adults with Still's disease: a case-series study. *Arthritis Research and Therapy*. 13(3), 91.
- Li, Y., de Haar, C., Chen, M., Deuring, J., Gerrits, M. M., Smits, R., Xia, B., Kuipers, E. J., van der Woude, C. J. (2010). Disease-related expression of the Interleukine-6/ signal transducer and activator of transcription protein-3 /Suppressor of cytokine signaling 3 signalling pathway in ulcerative colitis and ulcerative colitis-related carcinogenesis, *Gut*. 59, 227e235.
- Libby, P. (2017). Interleukin-1 Beta as a Target for Atherosclerosis Therapy: Biological Basis of CANTOS and Beyond, *Journal of the American College of Cardiology*. 70, 18, 2278-2289.
- Livingston, E., & Bucher, K. (2020). Coronavirus disease 2019 in Italy. *Journal of the American Medical Association*, 323(14), 1335.
- Ma, L., Xie, W., Li, D., Shi, L., Mao, Y., Xiong, Y., Zhang, M. (2020). Effect of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 infection upon male gonadal function: A single center-based study. *Medrxiv*. e12234
- Maegawa, M., Kamada, M., Irahara, M., Yamamoto, S., Yoshikawa, S., Kasai, Y., Ohmoto, Y., Gima, H., Thaler, C.J., Aono, T. A. (2002). Repertoire Of Cytokines in Human Seminal Plasma. *Journal of Reproductive Immunology*. 54, 33–42.
- Alruwaili, M., Jarrar, B., Jarrar, Q., Alruwaili, M., Wen Goh, K., Moshawih, S., Ardianto, C., Ming L. C. (2023). Hydroxychloroquine Toxicity in the Vital Organs of the Body: In Vivo Study. *Frontiers in Bioscience-Landmark*.28(7), 137.
- Mokhtari, T., Hassani, F., Ghaffari, N., Ebrahimi, B., Yarahmadi, A., Hassanzadeh, G. (2020). COVID-19 and multiorgan failure: A narrative review on potential mechanisms. *Journal of Molecular Histology*. 51(6), 613-628.

- Moore, K. L., Persaud, T. V. N. (2002). *İnsan Embriyolojisi*. (6.Baskıdan Çeviri) (Çeviri editörleri: Yıldırım, M., Okar, İ., Dalçık, H.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 288
- Movahed, E., Nejati, V., Sadrkhanlou, R., Ahmadi, A. (2013). Toxic effect of acyclovir on testicular tissue in rats. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*. 11(2), 111-8.
- Nairn, R., Helbert, M. (2007). *In: Immunology for Medical Students*. Chapter 23: Cytokines in the immune system. (second edition). Philadelphia: Mosby- Elsevier. 180-2.
- Narayana, K., D'Souza, U. J., Narayan, P., Kumar, G. (2005). The antiviral drug ribavirin reversibly affects the reproductive parameters in the male Wistar rat. *Folia Morphologica*. 64(2), 65-71.
- Nisar, N. A., Sultana, M., Waiz, H. A., Para, P. A., Baba, N. A., Zargar, F. A., Raja, W. H. (2013). Experimental study on the effect of vitamin C administration on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activity in rats exposed to chlorpyrifos and lead acetate, *www.veterinary wordl.org*. 461-466.
- Nna, V.U., Bakar, A. B. A., Ahmad, A., Mohamed, M. (2018). Diabetes-induced testicular oxidative stress, inflammation, and caspase-dependent apoptosis: The protective role of metformin. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 126(5):377-388.
- Nna, V. U., Abu Bakar, A. B., Ahmad, A., Eleazu, C. O., Mohamed, M., *Oxidative Stress, NF-κB-Mediated Inflammation and Apoptosis in the Testes of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats: Combined Protective Effects of Malaysian Propolis and Metformin, *Antioxidants*. 8, 465.
- Nordström, D., Knight, A., Luukkainen, R., van Vollenhoven, R., Rantalaiho, V., Kajalainen, A., Brun, J. G., Proven, A., Ljung, L., Kautiainen, H., Pettersson, T. (2012). Beneficial effect of interleukin 1 inhibition with anakinra in adult-onset Still's disease. An open, randomized, multicenter study. *The Journal of Rheumatology*. 39(10), 2008-11.
- Noyan A. (2005). *Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji*. (15. Baskı). Ankara: Meteksan. 566.
- Olukman, M., Ülker Göksel, S. (2020). *COVID-19 tedavisinde denenen ilaçlar*. Göğüs Hastalıkları ve COVID-19. (1. Baskı) (Özlü T, editör). Ankara: Türkiye Klinikleri: 37-47.
- Ovalle, W. K., Nahirney, P.C. (2009). *Netter's essential histology*. (Çeviri editörleri: Müftüoğlu, S., Kaymaz, F., Atilla, P.). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri. 223.
- Ozan, H., Ozan, A. (2004). *Anatomi*. Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri: 304-309.
- Önder, M. E., Onat, A. M. (2015). IL-1 İnhibitörleri: Anakinra, Kanakinumab, *Türkiye Klinikleri Romatoloji - Özel Konular, Romatolojik Hastalılarda Akılcı İlaç Kullanımı Özel Sayısı*, 8(3), 40-6.
- Pallotti, F., Esteves, S. C., Faja, F., Buonacquisti, A., Conflitti, A. C., Hirsch, M. N., Lenzi, A., Paoli, D., Lombardo, F. (2022). Coronavirus Disease-19 and its treatments: lights and shadows on testicular function. *Endocrine*. 79(2), 243-251.

- Ross, M. H., Pawlina, W. (2006). *Histology- A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology*. (5. Baskı). Philadelphia: Lippincott W&W. 343.
- Ross, M. H., Romrell, L. J., Kaye, G. I. (1995). *Histology-A Text and Atlas*. Third Edition, Baltimore: Williams&Wilkins Company. 339.
- Rosenberg, E. S., Dufort, E. M., Udo, T., Wilberschied, L. A., Kumar, J., Tesoriero, J. (2020). Association of treatment with hydroxychloroquine or azithromycin with in-hospital mortality in patients with COVID-19 in New York state. *Journal of the American Medical Association*. 323:2493–502.
- Sadler, T. W. (2007). *Langman Medikal Emriyoloji*. (9. Baskı). (Çev. A. C. Başaklar). Ankara: Palme Yayıncılık. (Eserin orijinali 2004’de yayımlandı). 85-89,437-454.
- Schnabel, A., Hedrich, C. M. (2018). Childhood Vasculitis. *Frontiers in Pediatrics*. 6(421), 1-11.
- Seker, U., Nergiz, Y., Aktas, A., Akkus, M., Ozmen M. F., Uyar E., Soker S., (2020). Trolox is more successful than allopurinol to reduce degenerative effects of testicular ischemia/reperfusion injury in rats. *Journal of Urology of Pediatrics*, 16(4), 465.E1-E8.
- Serge, R., Vandromme, J., Charlotte, M. (2020). Are we equal in adversity? Does Coronavirus disease-19 affect women and men differently?. *Maturitas*. 138, 62–68.
- Sergerie, M., Mieusset, R., Croute, F., Daudin, M., Bujan, L. (2007). High risk of temporary alteration of semen parameters after recent acute febrile illness. *Fertility and Sterility*, 88(4), 970.
- Seymen, C. M. (2021) The other side of Coronavirus disease-19 pandemic: Effects on male fertility. *Journal of Medical Virology*. 93(3), 1396-1402.
- Sherif, I. O., Al-Mutabagani, L. A., Sarhan, O. M. (2020). Ginkgo biloba Extract Attenuates Methotrexate-Induced Testicular Injury in Rats: Cross-talk Between Oxidative Stress, Inflammation, Apoptosis, and mitochondrial RiboNucleicAcid-29a Expression, *Integrative Cancer Therapies*. 19, 1–11.
- Stylianou, E. (2006). Interleukins, Interleukine-1 and Interleukine-18, *Encyclopedia of Respiratory Medicine, Chapters and Articles*. 350-354.
- Şahbudak, B., İnal, Emiroğlu, N. (2020). Yeni Coronavirus hastalığı-19 ve Duygudurum Bozuklukları, *Turkish Journal of Children and Adolesce Mental Health*. 27(2), 59-63.
- Takcı, Z., Özdemir, Yılmaz, Z., Güler, Şimşek, G., (2015). Hidroksiklorokin Neden Olduğu Deri Pigmentasyonu Cutaneous Hyperpigmentation During Therapy with Hydroxychloroquine, *Turkish Journal of Dermatology*. 3, 158-9
- Toghiani, S., Hayati Roudbari, N., Dashti, G. R., Rouzbehani, S. (2018). The effects of vitamin C and menthone on acyclovir induced DeoxiriboNucleicAcid damage in rat spermatozoa: An experimental study. *International Journal of Reproductive BioMedicine*. 16(11):703-710.

- Türkmen, A., Yıldız, A., Ecder, T., Aydın, A. E., Erkoç R., Türk, S., Palanduz, Ş., Eldegez U., Sever, M. Ş. (1998). Posttransplant Sıtomegalovirus Hastalığı Posttransplant Cytomegalovirus Disease, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi/Office Journal of the Turkish Nephrology Association*. 1,35-39.
- Vallejo, S., Palacios, E., Romacho, T. (2014). The interleukin-1 receptor antagonist anakinra improves endothelial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cardiovascular Diabetology*. 13, 158
- Xu, J., Qi, L., Chi, X., Yang, J., Wei, X., Gong, E., Gu, J. (2006). Orchitis: A complication of Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS)1. *Biology of Reproduction*, 74(2), 410–416. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.105.044776>
- Xu, Z., Shi, L., Wang, Y., Zhang, J., Huang, L., Zhang, C. (2020). Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *The Lancet Respiratory Medicine*. 8(4), 420-2. doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30076-X
- Yaman K. (1999). *Fizyoloji*. 3. Baskı. Bursa: Vipaş. 98
- Yang, M., Chen, S., Huang, B., Zhong, J. M., Su, H., Chen, Y. J., Cao, Q., Ma, L., He, J., Li, X. F., Li, X., Zhou, J. J., Fan, J., Luo, D. J., Chang, X. N., Arkun, K., Zhou, M., Nie, X. (2020). Pathological Findings in the Testes of Coronavirus disease-19 Patients: Clinical Implications. *European Urology Focus*. 6(5), 1124-1129. doi: 10.1016/j.euf.2020.05.009. Epub 2020 May 31. PMID: 32563676; PMCID: PMC7261470.
- Yang, M., Chen, S., Huang, B., Zhong, J. M., Su, H., Chen, Y. J., Cao, Q., Ma, L., He, J., Li, X. F., Li, X., Yao, X. H., Luo, T., Shi, Y., He, Z. C., Tang, R., Zhang, P. P., Cai, J., Zhou, X. D., Jiang, D. P., Fei, X. C., Huang, X. Q., Zhao, L., Zhang, H., Wu, H. B., Ren, Y., Liu, Z. H., Zhang, H. R., Chen, C., Fu, W. J., Li, H., Xia, X. Y., Chen, R., Wang, Y., Liu, X. D., Yin, C. L., Yan, Z. X., Wang, J., Jing, R., Li, T. S., Li, W. Q., Wang, C. F., Ding, Y. Q., Mao, Q., Zhang, D. Y., Zhang, S. Y., Ping, Y. F., Bian, X. W., (2021). A cohort autopsy study defines Coronavirus Disease-19 systemic pathogenesis. *Cell Research*. (8), 836-846. doi: 10.1038/s41422-021-00523-8. Epub 2021 Jun 16. PMID: 34135479; PMCID: PMC8208380.
- Yao, X., Ye, F., Zhang, M., Cui, C., Huang, B., Niu, P. (2020). In vitro antiviral activity and projection of optimized dosing design of hydroxychloroquine for the treatment of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clinical Infectious Disease*. 71(15),732-739. doi: 10.1093/cid/ciaa237. PMID: 32150618; PMCID: PMC7108130.
- Yao, Y., Yuan, X., Wu, L., Guo, N., Yin, L., Li, Y., (2021). Coronavirus disease-19 and male reproduction: Current research and unknown factors. *Andrology*. 9(4), 1027-1037. doi: 10.1111/andr.12970. Epub 2021 Feb 1. PMID: 33427404; PMCID: PMC8013647.

- Yao, X. H., Luo, T., Shi, Y., He, Z. C., Tang, R., Zhang, P. P., Cai, J., Zhou, X. D., Jiang, D. P., Fei, X. C., Huang, X.Q., Zhao, L., Zhang, H., Wu, H. B., Ren, Y., Liu, Z. H., Zhang, H. R., Chen, C., Fu, W. J., Li, H., Xia, X.Y., Chen, R., Wang, Y., Liu, X.D., Yin, C.L., Yan, Z.X., Wang, J., Jing, R., Li, T.S., Li, W.Q., Wang, C.F., Ding, Y.Q., Mao Q., Zhang, D.Y., Zhang, S.Y., Ping, Y.F., Bian, X.W., (2021). A cohort autopsy study defines COVID-19 systemic pathogenesis. *Cell Research*. 31(8), 836-846. doi: 10.1038/s41422-021-00523-8. Epub Jun 16. PMID: 34135479; PMCID: PMC8208380.
- Young, B., Heath, J.W. (2000). *Wheater's functional histology*. (4. Baskı). Edinburg: Churchill Livingstone, 215.
- Zhang, W., Zhao, Y., Zhang, F., Wang, Q., Li, T., Liu, Z. (2020). The use of anti-inflammatory drugs in the treatment of people with severe corona virus disease 2019 (COVID-19): The Perspectives of clinical immunologists from China. *Clinical Immunology*, 214, 108393. doi.org/10.1016/j.clim.2020.108393
- Zhou, P., Yang, X.-L., Wang, X.-G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., Shi, Z.-L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579(7798), 270–273. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>
- Zhou., J. J., Fan, J., Luo D. J., Chang, X. N., Arkun, K., Zhou, M., Nie, X., (2020). Pathological Findings in the Testes of Coronavirud Disease-19 Patients: Clinical Implications. *European Urology Focus*. 15, 6(5), 1124-1129. doi: 10.1016/j.euf.2020.05.009. Epub May 31. PMID: 32563676; PMCID: PMC7261470.

EKLER

EK-1. Etik Kurul Onay Yazısı

Evrak Tarih ve Sayısı:



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı :
 Konu : Değerlendirme ve Onay

04.04.2022

Sayın Prof. Dr. Gülnur KAPLANOĞLU (TAKE)
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Gülnur TAKE KAPLANOĞLU, Cemile Merve SEYMEN Asiye Aşlı Emniyet SERT'ten oluşan, G.Ü.ET-22.038 kod numaralı ve **"COVID-19 Tedavisinde Kullanılan Ajanların Erkek Genital Sistem Üzerine Etkilerinin İncelenmesi"** başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-22.038 and entitled **"InvestigationThe Effects of Agents Used in COVID-19 Treatment on The Male Genital System"** is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

Hayvan Türü : Rat Wistar Albino
 Hayvan Sayısı :33

Ek:1 Liste

.dov
 Windows'

Evrak Tarih ve Sayısı: 04/04.2022-E.331400

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU TOPLANTI KATILIM
LİSTESİ

TOPLANTI TARİHİ : 31/03/2022		TOPLANTI SAYISI : 03	
ADI-SOYADI		İMZA	
Prof.Dr.Mustafa ARSLAN (Başkan)			
Doç.Dr.Mürşide Aysel DEMİREL (Başkan Yrd.)			
Prof.Dr.Sana ÖMEROĞLU			
Prof.Dr.İlker ŞEN			
Prof.Dr.Mustafa KAYUTCU			
Prof.Dr.Emin Ümit BAĞRIÇIK			
Prof.Dr.Mecit Orhan ULUBAĞ			
Prof.Dr.İpek SÜNTAR			
Prof.Dr.Serkan YAVUZ			
Prof.Dr.Şule COŞKUN CEVHER			
Doç.Dr.Elvan ANADOL			
Doç.Dr.Yeliz KILINÇ			
Öğr.Gör.Dr.Burcu EKİM			
Öğr.Gör.Dr.Şerki Mustafa DEMİRÖZ			
Öğr.Gör.Dr.Zeliha Aycan ÖZDEMİRKAN			
Vet.Hek.Burcu AVCI			
Osman İÇ			

EK-2. Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu Sertifikası



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : EMNİYET SERT, Asiye Aslı
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri :
 Medeni hali :
 Telefon :
 e-mail :

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı	Devam ediyor
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı	2018
Lisans	Hitit Üniversitesi, Biyoloji Bölümü	2012
Lise	Çorum Eti Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı)	2008

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2015-devam ediyor	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri Bölümü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim dalı	ÖYP Araştırma Görevlisi
2009-2015	Hitit Üniversitesi Biyoloji / Moleküler Biyoloji ve Genetik bölümü	Yardımcı Araştırmacı

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

A. Uluslararası hakemli dergilerde yayınlanan makaleler:

A.1. Gulcin Alp Avci, Emre Avci, **Asiye Ash Emniyet**, Burcin Ozcelik. Determination of fundamental probiotic properties of Lactobacillus strains isolated from Turkish local yogurt. Hittite J Sci Eng Vol 2, No 2 (2015)

A.2. Kazım Köse, Kadir Erol, **Asiye Ash Emniyet**, Dursun Ali Köse, Gülçin Alp Avci, Lokman Uzun. Fe(II)-Co(II) Double Salt Incorporated Magnetic Hydrophobic Microparticles for Invertase Adsorption. Appl Biochem Biotechnol DOI 10.1007/s12010-015-1794-9 (2015)

A.3. Avci E., Alp Avci G., Kose DA., **Emniyet AA.**, Suicmez M. In vitro Antimicrobial and Antioxidant Activities and GC/MS analysis of the Essential Oils of Rumex crispus and Rumex cristatus. Hacettepe J. Biol. & Chem., 2014, 42(1), 197-203.

A.4. **Emniyet AA**, Avci E, Ozcelik B, Alp Avci G, Kose DA. "Antioxidant and antimicrobial activities with GC/MS Analysis of the Morus alba L. Leaves" Hittite journal of science and engineering, 2014,37-41

B. Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler:

B.1. **Emniyet A. A.**, Özoğul C., Sarıbaş G. S., Akarca Dizakar S. Ö. , Kaçamak P., Adolesan Dişi Ratlarda İzotretinoinin Follikül Aktivasyonundaki Etkilerinin İncelenmesi, 1st International Health Science And Life Congress (IHSLC-2018) 02-05 May 2018.

B.2. Kaçamak P., Özoğul C., Sarıbaş G. S., Akarca Dizakar S. Ö. , **Emniyet A. A.**, Adolesan Dişi Sıçanlarda İzotretinoinin Oosit Maturasyonu Üzerine Etkisi, 1st International Health Science And Life Congress (IHSLC-2018) 02-05 May 2018.

B.3. Özoğul C., Başer Demircan İ., Barun S., Kavutçu M., İlhan M., Akyol SN., Hirfanoğlu İM., Bilge M., Sarıbaş GS., Kaçamak P., **Emniyet AA.**, Immunohistochemical study of Osteopontin and Bcl-2 gene expression in kidney tissue in histidine-tryptophan-ketoglutarate (HTK) solution prepared with N-acetyl-L-carnitine, 15th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry (IHC 2017), Antalya, Turkey, 18-21 May, 2017.

B.4. G. Alp Avci, **A. A. Emniyet**, B. Ozcelik, E. Avci. Determination of exopolysaccharide production in lactic acid bacteria isolated from Turkish local yogurt. FEBS Journal 282 (Suppl. 1) (2015) 279 [PDF]

B.5. Alp Avci G., Ozcelik B., **Emniyet A. A.**, Avci E., Suicmez M. Determination of human rotavirus genotypes among children under 5 years of age. 25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID 2015). 25 - 28 April 2015 / Denmark, Copenhagen

B.6. A.A. Emniyet, E. Avcı, G. Alp Avcı, D.A. Köse. Antioxidant And Antimicrobial Activities With Gc/Ms Analysis Of The Morus Alba L. Leaves. Clin Chem Lab Med 2014; 52, Special Suppl, pp S1 – S1760,(IFCC 2014 CONGRESS) 2014.

B.7. Emniyet AA, AVCI E, ALP AVCI G. “Antioxidant And Antimicrobial Activity Of Herbal Extract From Hermal (Peganum harmala L.)” International conference on biochemistry and molecular biology(ICBMB 2014), Vienna,2014.

C. Yazılan ulusal ve uluslararası kitaplar veya kitaplarda bölümler:

D. Ulusal hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

D.1. Emniyet Sert AA, Seymen CM, Take Kaplanoglu G., Antiviral Drugs Used to treat COVID-19 Are Not Liver Safe: A Comparative Experimental Study, Gazi Medical Journal, 2024 (Kabul aldı)

E. Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitaplarında basılan bildiriler:

E.1. Özoğul C., Başer Demircan İ., Barun S., Kavutçu M., İlhan M., Akyol SN., Hirfanoğlu İM., Bilge M., Sarıbaş GS., Kaçamak P., **Emniyet AA.**, Immunohistochemical study of Osteopontin and Bcl-2 gene expression in kidney tissue in histidine-tryptophan-ketoglutarate (HTK) solution prepared with N-acetyl-L-carnitine, 15th International Congress of Histochemistry and Cytochemistry (IHC 2017), Antalya, Turkey, 18-21 May, 2017.

E.2. Avcı E, **Emniyet AA**, Avcı G, Suiçmez M., Determination of DNA Damage Marker (8-OHdG) in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD). Türkiye Moleküler Biyoloji Derneği III. Uluslararası Kongresi, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü, 10-12 Eylül 2014. P77 [PDF]

E.3. Emniyet A., Avcı E., Alp Avcı G. “Antioxidant And Antimicrobial Activity Of Leaf Extract From Quince (*Cydonia vulgaris* Pers.)” Turkish Journal Of Biochemistry, 38, 2013

E.4. Avcı E., Alp G., **Emniyet AA.**, “*Rumex crispus* ve *Rumex cristatus* Türlerinin Antimikrobiyal ve Antioksidan Aktiviteleri” Turkish Journal of Biochemistry, 36, 2011

E.5. Emniyet A.A., Özlük A., The Variation of the neurosecretory materials in the corpus allatum of *Pimpla truonelle* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae) During Oocyte Maturation, 20. Ulusal Biyoloji Kongresi, 21-25 Haziran 2010

F. Diğer Yayınlar

F.1. Emniyet A.A., Ceviz (*Juglans regia* L.) Bitkisinin Yapraklarının Antioksidan ve Antimikrobiyal Özelliklerinin belirlenmesi, 18. Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi, 4-9 Temmuz 2011, (Marmara Üniversitesi – İstanbul)

F.2. Emniyet A.A., Prebiyotikler ve Probiyotikler, (Sözlü Bildiri), 17. Ulusal Biyoloji Öğrenci Kongresi, 14-17 Temmuz 2010 (Gazi Üniversitesi- Ankara)



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..