

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA STREPTOZOSİN İLE OLUŞTURULMUŞ
DİYABETES MELLİTUS MODELİNDE VAS DEFERENS
KASILMA YANITLARINA KRONİK HİDROJEN SÜLFÜR
TEDAVİSİNİN ETKİSİ

UZMANLIK TEZİ
DR. CELİL İLKER AŞKIN

TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. GÖKÇE SEVİM ÖZTÜRK FİNCAN

ANKARA
HAZİRAN 2024

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇANLARDA STREPTOZOSİN İLE OLUŞTURULMUŞ
DİYABETES MELLİTUS MODELİNDE VAS DEFERENS
KASILMA YANITLARINA KRONİK HİDROJEN SÜLFÜR
TEDAVİSİNİN ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
DR. CELİL İLKER AŞKIN**

**TEZ DANIŞMANI
DOÇ. DR. GÖKÇE SEVİM ÖZTÜRK FİNCAN**

Bu tez Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TTU-2023-8591 proje numarası ile desteklenmiştir.

**ANKARA
HAZİRAN 2024**

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bana çok emeği geçen, yol gösteren, her zaman her konuda desteğini gördüğüm, bu tezin gerçekleşmesini sağlayan, asistanı olmaktan gurur duyduğum değerli hocam Doç.Dr. Gökçe Sevim ÖZTÜRK FİNCAN,

Her birinden çok kıymetli bilgiler öğrendiğim ve bizi iyi bir farmakoloji uzmanı olarak yetiştiren diye emek harcayan anabilim dalımızın tüm Öğretim Üyelerine,

Daima yanımda olan ve desteklerini sakınmayan, bütün uzmanlık, tez süreci ve zorluklarını birlikte atlattığımız, iş arkadaşı olmaktan çok daha öteye giden Dr.Ayşe Kübra KİBAR GÜZİN ve desteğiyle ve neşesiyle iş ortamının enerjisi olan Dr.Tilbenur AKYEL'e

Benden bilgisini hiçbir zaman esirgemeyen ve tez sürecimde büyük yardımları olan Prof.Dr. Atiye Seda YAR SAĞLAM'a

Hem asistanlık hem de tez sürecimde uzakta olsalarda her durumda yanımda ve yardımcı olan Uzm.Dr. Derya Sebile KOÇ, Ecz. Yağmur OKÇAY, Dr.Ecz.Ayşegül KOÇ'a

Bölümde dört yıl boyunca bana arkadaşlık eden tüm asistan arkadaşlarıma,

Beni bugün olduğum yere getiren ve her zaman arkamda olduklarını bildiğim, üzerimde en çok emeğe sahip olan insanlar olan sevgili babam Ahmet AŞKIN ve annem Çiğdem AŞKIN'a

Varlığı daima neşe ve huzur veren çocukluğumdan beri bir abladan daha fazlası olan canım ablam Doç.Dr. İlkay AŞKIN TEKKOL'a

Her konuda desteğini ve sevgisini eksik etmeyen, çok sevdiğim eşim Ayşe ŞAHİN AŞKIN'a

Bu çalışma Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinasyon Birimi tarafından TTU-2023-8591 nolu proje kapsamında desteklenmiştir.

Teşekkür ederim.

Dr. Celil İlker AŞKIN

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİL VE GRAFİK DİZİNİ.....	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	a
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Diyabetes Mellitus	6
2.2. Diyabetes Mellitus Gelişimi, Risk Faktörleri ve Tanısı.....	6
2.3. Diyabetes Mellitus Tedavisi	8
2.4. Diyabetes Mellitus Komplikasyonları.....	10
2.4.1. Diyabetes Mellitusun Akut Komplikasyonları.....	10
2.4.2. Diyabetes Mellitusun Kronik Komplikasyonları	11
2.5. Vas Deferens, Ejakülasyon Fizyolojisi ve Diyabetes Mellitusta Ejakülasyon Disfonksiyonu.....	16
2.5.1. Vas Deferens.....	16
2.5.2. Ejakülasyon Fizyolojisi	17
2.5.3. Ejakülasyon Disfonksiyonu	19
2.5.4. Diyabetes Mellitusta Ejakülasyon Disfonksiyonu	20
2.6. Diyabetes Mellitusta Ejakülasyon Disfonksiyonu Tedavisi.....	23
2.7. Deneysel Diyabetik Hayvan Modelleri	26
2.7.1. Genetik Modeller	26
2.7.2. Kalorijenik Modeller.....	26
2.7.3. Kimyasal Modeller	26
2.8. Hidrojen Sülfür	27
2.8.1. Hidrojen Sülfürün Etkileri	28
2.8.2. Genitoüriner Sistemde Hidrojen Sülfürün Etkileri	29
2.8.3. İnflamasyon Üzerinde Hidrojen Sülfürün Etkileri	29
2.8.4. Kalsifikasyon Üzerinde Hidrojen Sülfürün Etkileri	30
2.8.5. Fibrozis Üzerinde Hidrojen Sülfürün Etkileri	31
2.8.6. Hidrojen Sülfür ve Nitrik Oksit Etkileşimi	31

3.GEREÇ ve YÖNTEM	33
3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması	33
3.2. Diyabet Modelinin Oluşturulması.....	34
3.3. Deney Grupları	34
3.4. Vas Deferens Dokusunun Hazırlanması	38
3.5. Deney Protokolü.....	39
3.5.1. EAU Aracılı Kasılma Yanıtlarının Alınması.....	39
3.5.2. EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine NO'nun Etkisinin Araştırılması	40
3.5.3. Noradrenalin Aracılı Kasılma Yanıtlarının Alınması	40
3.5.4. α,β -Metilen ATP Aracılı Kasılma Yanıtlarının Alınması	40
3.5.5. Western Blot Yöntemi ile Protein Analizi	40
3.5.5.1. Sıçan Vas Deferens Doku Örneklerinden Total Protein Ekstraksiyonu ve Protein Miktarı Tayini	41
3.5.5.2. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid (SDS-PAGE) Jelin Hazırlanması, Protein Yüklmesi ve Elektroforez İşlemi.....	41
3.5.5.3. Transfer İşlemi	42
3.5.5.4. Bloklama ve Membran Üzerindeki Proteinlerin İmmünolojik Gösterilmesi.....	43
3.5.5.5. Görüntüleme ve Analiz.....	43
3.6. Deneylerde Kullanılan Madde ve Solüsyonlar.....	44
3.7. İstatistiksel Analiz	46
4.BULGULAR	48
4.1. Hayvanların Kilo ve Kan Şekeri Ölçüm Sonuçları	48
4.2. İzole Organ Banyosunda Prostatik Uçta Elde Edilen Kasılma Yanıtları	49
4.2.1. Prostatik Uçta Elde Edilen EAU Aracılı Kasılma Yanıtları	49
4.2.2. Prostatik Uçta L-NAME Varlığında Elde Edilen EAU Aracılı Kasılma Yanıtları	52
4.2.3. Prostatik Uçta EAU Yanıtları Üzerine Nitrik Oksitin Etkisi	53
4.2.4. Prostatik Uçta Elde Edilen Noradrenalin Aracılı Kasılma Yanıtları	55
4.2.5. Prostatik Uçta Elde Edilen ATP Aracılı Kasılma Yanıtları	57
4.3. İzole Organ Banyosunda Epididimal Uçta Elde Edilen Kasılma Yanıtları	59
4.3.1. Epididimal Uçta Elde Edilen EAU Aracılı Kasılma Yanıtları	59
4.3.2. Epididimal Uçta L-NAME Varlığında Elde Edilen EAU Aracılı Kasılma Yanıtları.....	62
4.3.3. Epididimal Uçta EAU Yanıtları Üzerine NO'nun Etkisi	63
4.3.4. Epididimal Uçta Elde Edilen Noradrenalin Aracılı Kasılma Yanıtları.....	65

4.3.5. Epididimal Uçta Elde Edilen ATP Aracılı Kasılma Yanıtları	67
4.4. Western Blot Analizi Sonuçları	69
5.TARTIŞMA	72
6.SONUÇLAR	89
7.KAYNAKLAR.....	91
8.ÖZET	105
9.SUMMARY	107
10.ÖZGEÇMİŞ.....	Error! Bookmark not defined.

ŞEKİL VE GRAFİK DİZİNİ

TABLolar

Tablo 1. Deney Grupları.....	34
Tablo 2. Deney Gruplarına Ait Hayvan Ağırlığı Ölçüm Sonuçları.....	49
Tablo 3. Deney Gruplarına Ait Kan Şekeri Ölçüm Sonuçları	49
Tablo 4. Prostatik Uçta Elde Edilen KCl ve EAU Aracılı Kasılma Yanıtları.....	50
Tablo 5. Epididimal Uçta Elde Edilen KCl ve EAU Aracılı Kasılma Yanıtları	60

ŞEKİLLER

Şekil 1. 1. Gruba ait günlere göre deney akışı.....	35
Şekil 2. 2. Gruba ait günlere göre deney akışı.....	36
Şekil 3. 3. Gruba ait günlere göre deney akışı.....	37
Şekil 4. 4. Gruba ait günlere göre deney akışı.....	38
Şekil 5. Vas deferens dokusunun çıkartılması.....	38
Şekil 6. Prostatik uçta EAU aracılı kasılma yanıtları	50
Şekil 7. Prostatik uçta L-NAME varlığında EAU aracılı kasılma yanıtları	52
Şekil 8. Prostatik uçta Noradrenalin aracılı kasılma yanıtı.....	56
Şekil 9. Prostatik uçta ATP aracılı kasılma yanıtı	57
Şekil 10. Epididimal uçta EAU aracılı kasılma yanıtı	60
Şekil 11. Epididimal uçta L-NAME varlığında EAU aracılı kasılma yanıtları.....	62
Şekil 12. Vaz deferens dokularında CBS, CSE, IL-1 β , NF- κ B ve TGF- β protein seviyelerinin temsili Western blot görüntüleri	69

GRAFİKLER

Grafik 1. Prostatik uçta EAU aracılı kasılma yanıtları.	51
Grafik 2. Prostatik uçta L-NAME varlığında EAU aracılı kasılma yanıtları.	53
Grafik 3. Prostatik uçta EAU yanıtları üzerine NO'nun etkisi.....	55
Grafik 4. Prostatik uçta artan Noradrenalin ile elde edilen kasılma yanıtları	57
Grafik 5. Prostatik uçta α , β -metilen ATP ile elde edilen kasılma yanıtları	59
Grafik 6. Epididimal uçta EAU aracılı kasılma yanıtları	61
Grafik 7. Epididimal uçta L-NAME varlığında elde edilen EAU aracılı kasılma yanıtları	63
Grafik 8. Epididimal uçta EAU yanıtları üzerine NO'nun etkisi	65
Grafik 9. Epididimal uçta artan Noradrenalin ile elde edilen kasılma yanıtları	67
Grafik 10. Epididimal uçta ATP ile elde edilen kasılma yanıtları	68
Grafik 11. Vas deferens dokularındaki göreceli protein ifade düzeyleri	70

Grafik 12. Diyabet ve diyabet+NaHS grupları göreceli protein ifade düzeyleri.	71
--	----

SİMGELER VE KISALTMALAR

DM	Diyabetes Mellitus
mg	Miligram
dl	Desilitre
GLP-1	Glukagon benzeri peptid-1
DKA	Diyabetik Ketoasidoz
HHD	Hiperozmolar hiperglisemik durum
KAH	Koroner arter hastalığı
PAH	Periferik arter hastalığı
NA	Noradrenalin
ATP	Adenozin trifosfat
NF- $\kappa\beta$	Nükleer Faktör- $\kappa\beta$
IL-1 β	İnterlökin-1 beta
TNF- α	Tümör nekroz faktörü- α
TGF- β	Dönüştürücü büyüme faktörü β
SSRI	Selektif serotonin geri alım inhibitörü
STZ	Streptozotosin
CBS	Sistasyonin- β sentaz
CSE	Sistasyonin- γ liyaz
3-MST	3-Merkaptopirüvat sülfürtransferaz
H ₂ S	Hidrojen Sülfür
NO	Nitrik oksit
ADA	Amerikan Diyabet Derneği

OGTT	Oral glukoz tolerans testi
HbA1c	Hemoglobulin A1c
MGDP	Mitokondriyal gliserofosfat dehidrogenaz
MAPK	5'-adenozin monofosfat-aktive protein kinaz
SGLT-2	Sodyum glukoz kotransporter 2
PPAR- γ	Peroksizom proliferatör aktive reseptör- γ
DPP-4	Dipeptidil peptidaz 4
NPH	Nötral protamin hagedorn
AGE	İleri glikasyon son ürünleri
IGF-1	İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
MI	Miyokard infarktüsü
SVO	Serebrovasküler olay
GFR	Glomerüler filtrasyon hızı
CTGF	Bağ dokusu büyüme faktörü
ROS	Reaktif oksijen türleri
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
IL-6	İnterlökin-6
IL-18	İnterlökin-18
ED	Eretil disfonksiyon
NANK	Nonadrenerjik-nonkolinerjik
nNOS	Nöronal nitrik oksit sentaz
cm	Santimetre
SEG	Spinal ejakülatuvar jeneratör

5-HT	5-Hidroksitriptamin
Ca ⁺²	Kalsiyum
PDE-5	Fosfodiesteraz-5
ZDF	Zucker diyabetik fatty
BB	Biobreeding
NOD	Nonobez diyabetik
DNA	Deoksiribonükleik asit
i.p.	İntraperitoneal
i.v.	İntravenöz
kg	Kilogram
CO	Karbonmonoksit
RNS	Reaktif nitrojen türleri
K _{ATP}	ATP bağımlı potasyum kanalları
K ⁺	Potasyum
BK _{Ca}	Kalsiyum aktive büyük iletken potasyum kanalları
Na ⁺	Sodyum
Cl ⁻	Klor
NaHS	Sodyum hidrojen sülfür
eNOS	Endotelyal nitrik oksit sentaz
g	Gram
M	Molar
EAU	Elektriksel alan uyarısı
mM	Milimolar

KCl	Potasyum Klorür
V	Volt
ms	Milisaniye
Hz	Hertz
L-NAME	N-nitro-L-arjinin metil ester
μ l	Mikrolitre
μ g	Mikrogram
rpm	Dakikadaki devir sayısı
BCA	Bikoninik asit
BSA	Bovin serum albumin
dk	Dakika
nm	Nanometre
SDS-PAGE	Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi
ml	Mililitre
SDS	Sodyum dodesil sülfat
APS	Amonyum persülfat
PVDF	Poliviniliden florür
TBST	Tris-tamponlu tuz çözeltisi
IgG	İmmünglobülin G

1. GİRİŞ

Diyabetes Mellitus (DM) kronik hiperglisemiye bağı olarak çeşitli organ ya da sistemlerde komplikasyona neden olan bir sağlık sorunudur. Başlıca tip 1 (insülin salgılayan pankreas β hücrelerinin otoimmün tahribatı) ve tip 2 (insülin direnci ve metabolik sendrom ile gelişen) formları görülmektedir (1, 2). Açlık plazma kan şekeri düzeyi ölçümünde plazma glukozunun 126 mg/dl ve daha yüksek çıkması ile tanı konulmaktadır (3). Tedavisinde metformin, insülin salgılatıcı ilaçlar, Glukagon Benzeri Peptid-1 (GLP-1) Reseptör analogları ve insülin gibi ilaçlar kullanılmaktadır (4). DM'nin komplikasyonları temel olarak akut ve kronik olarak ikiye ayrılmaktadır. Akut komplikasyonları arasında hipoglisemi, diyabetik ketoasidoz (DKA), hiperozmolar hiperglisemik durum (HHD) ve laktik asidemi bulunmaktadır (4). DM'de komplikasyonların gelişmesinin temel nedeni organ ve dokuların kronik hiperglisemiye maruz kalmalarıdır. Kronik komplikasyonlar vasküler ve nonvasküler olarak ikiye ayrılıp, vasküler komplikasyonlar ise makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar olarak ikiye ayrılmaktadır. Makrovasküler komplikasyonlar koroner arter hastalığı (KAH), serebrovasküler hastalık ve periferik arter hastalığı (PAH) şeklinde görülmektedir (5). Mikrovasküler komplikasyonlar başlıca diyabetik nefropati, retinopati, nöropatidir (6). Diyabetik nöropati; periferik nöropati ya da otonomik nöropati şeklinde görülmektedir (7) ve diyabetik nöropatinin patogenezinde bozulmuş glisemik kontrol ile birlikte etken olarak inflamasyon varlığı öne sürülmektedir (8). Diyabetik otonomik nöropati hem sempatik hem de parasempatik sinir sistemini etkileyebilen ve kardiyovasküler, gastrointestinal ve genitoüriner sistem gibi

sistemlerde komplikasyonlara neden olabilen bir durumdur. Genital sistem DM’li hastalarda etkilenip, hem kadın hem de erkeklerde bozulmuş seksüel fonksiyon bozukluğu yaygın bir komplikasyon olarak görülmektedir (9). Vas deferens ve beraberindeki epididimis, seminal vezikül, ejakülatuar kanallar, mesane boynu gibi ejakülasyonda görev alan yapıların etkilenmesi ile DM’lu erkek hastaların yaklaşık %40’ında ejakülasyon bozukluğu görülmektedir (10). Vas deferensin esas görevi epididimiste depolanan spermin ejakülasyon sırasında ejakülatuar kanala aktarılmasını sağlamaktır. Prostatik ve epididimal kısım olarak iki kısımdan oluşmaktadır. Vas deferenste otonom sinir sisteminin hem sempatik hem de parasempatik kısmına ait sinirler bulunmaktadır ancak baskın olan komponent sempatik sinir sistemidir ve uyarılması ile peristaltik hareketlere neden olur (11, 12). Vas deferens ejakülasyon sırasında endojen olarak uyarıldığı zaman α_{1A} reseptörleri ile noradrenalin (NA) aracılı ve pürinerjik P2X reseptörleri ile adenosin trifosfat (ATP) aracılı kasılma görülmektedir (13). Vas deferens üzerindeki sempatik uyarıların sağlıklı bir şekilde sürdürülmesi, ejakülasyonun fizyolojik olarak gerçekleşmesi açısından önem taşımaktadır. Ejakülasyon penis ve pelvik kas yapılarının hem otonom hem de somatik sinir sistemi tarafından koordine bir şekilde uyarılarak, eksternal üretral meatustan semenin atılması olarak tanımlanmaktadır (14). Ejakülasyon disfonksiyonu ise fizyolojik bir şekilde ejakülasyonun sağlanamadığı durumlar olan prematür ejakülasyon, gecikmiş ejakülasyon, anejakülasyon, retrograd ejakülasyon, ejakülasyon kuvvetinin azalması gibi durumlar için kullanılan ortak tanımdır (15). DM vas deferensin de dahil olduğu internal genital yolak yapıları ve bu bölgeyi uyaran sinirleri

etkileyerek ejakülasyon disfonksiyonuna neden olmaktadır. DM hastalarında ejakülasyon problemleri prematür ejakülasyon, retrograd ejakülasyon, anejakülasyon ya da gecikmiş ejakülasyon olarak görülmektedir. Literatürde sıçanlarda altı aydan uzun süren DM’de nöropatinin vaz deferens üzerinde sempatik uyarıyı azaltarak ejakülasyonda görülen kasılmayı bozduğu gösterilmiştir (16). Sıçanlarda streptozotosin ile indüklenen DM çalışmalarında vaz deferens, epididimis, seminal vezikül nöronlarında noradrenerjik uyarıya karşı yanıtın azaldığı ancak ekzojen olarak noradrenalin, ATP, fenilefrin uygulandığı zaman hipersensitif yanıtlar alındığı literatürde yer almaktadır (17, 18). Görülen aşırı duyarlılık yanıtında kasılma yanıtları yüksek gibi görünse de bu kasılmalar fizyolojik olmadığından toplam kasılma gücünün arttığı anlamına gelmemektedir (19). DM’de ejakülasyon disfonksiyonuna neden olan başka bir neden ise genital yapılarda görülen yapısal değişikliklerdir. Hiperglisemiden kaynaklı sağlıklı dokularda görülen inflamasyon, kalsifikasyon ve fibrozis ejakülasyonun fizyolojik olarak gerçekleştirilmesine engel olmaktadır (20). Bir çalışmada DM’nin kronik inflamatuvar etkisi ve dokular üzerinde kalsifikasyon yapıcı etkisini NF- κ B, IL1- β , TNF- α ve Runx2 yollarının iletişimi üzerinden gerçekleştirdiği ve DM’de bu proteinlerin ekspresyonlarının arttığı kanıtlanmıştır (21). Ayrıca DM çeşitli dokularda kronik hiperglisemi nedeniyle TGF- β miktarını arttırarak TGF- β /Smad-3 gibi yollar üzerinden fibrozise neden olmaktadır (22). DM’de ejakülasyon disfonksiyonu tedavisinde selektif serotonin geri alım inhibitörü (SSRI), lidokain, prilokain, efedrin, psödoefedrin gibi ilaçlar kullanılsa da DM’de görülen periferik nöropati, fibrozis, kalsifikasyon gibi yapı bozuklukları durumlarında farmakolojik

tedavi seçeneklerinin başarı oranı düşüktür. Deneysel diyabetik hayvan modeli oluşturmak için genetik modeller, kalorijenik ya da kimyasal modeller (alloksan, streptozotosin/STZ) kullanılmaktadır. Bütün modeller içinde deneysel diyabet çalışmalarında en sık STZ kullanıldığı görülmektedir (23). Diyabetin vas deferens üzerindeki etkisini incelemek amacıyla STZ modeli kullanan çalışmalar literatürde mevcuttur (24, 25). H_2S vücutta çeşitli dokularda sistatyonin- β -sentaz (CBS), sistatyonin- γ -liyaz (CSE) ve 3-merkaptopirüvat sülfürtransferaz (3-MST) enzimleri tarafından sentezlenmektedir (26). H_2S bir gazotransmitterdir ve pek çok fizyolojik ve patolojik olayda rol almaktadır. H_2S vücutta düz kaslar, vasküler homeostaz, anjiyenez, hücre proliferasyonu, metabolik fonksiyonlar, inflamasyon, apoptoz, oksidatif stres, endokrin fonksiyonlar, immün sistem fonksiyonları üzerinde etki göstermektedir (26-29). İnsanda penis dokusu, prostat, vas deferens, penil arterlerde CBS ve CSE, genitoüriner bölgedeki periferik sinirlerde ise CSE'nin varlığı gösterilmiştir. H_2S 'nin vas deferens dokusunda endojen olarak üretilip düz kasların tonusunun ayarlanmasında görev aldığı kanıtlanmıştır (30). İnflamasyon üzerinde H_2S 'nin çift yönlü etkisi olduğu öne sürülmüştür. Günümüzde hidrojen sülfürün konsantrasyon bağımlı olarak çift etkisi olsa da başlıca anti-inflamatuvar olduğu kabul edilmiştir. H_2S 'in patolojik durumlarda kalsifikasyonu engellediği kabul edilmiş olup, çeşitli patolojik nedenlerden kaynaklanan kalsifikasyonu engellemek için alternatif bir tedavi yöntemi olabileceği öne sürülmektedir (31). Ek olarak fibrozise karşı da H_2S tedavisinin etkili olabileceği öne sürülmektedir (32). H_2S bu etkileri tek başına gerçekleştirmemekte ve nitrik oksit (NO) gibi kendisine benzeyen diğer gazotransmitterler ile etkileşime girerek etki etmektedir. Kronik

inflamasyon modellerinde ekzojen H₂S verilmesinin NO miktarını azalttığı, benzer şekilde aynı koşullarda ekzojen NO verilmesinin H₂S miktarını azalttığı gösterilmiştir (33, 34). Ayrıca pek çok sistemde birlikte etki gösterebilmektedirler.

Bütün bu bilgiler ışığında diyabetin erkek genitoüriner sistem dokularında kronik hiperglisemi ve inflamasyona bağlı, nöropati, kalsifikasyon, fibrozis gibi komplikasyonlara neden olduğu görülmektedir. Bu sinirsel iletim ya da yapısal değişikliklerin sonucu olarak genitoüriner sistem fizyolojik görevini yerine getiremeyip, erkek hastalarda ejakülasyon disfonksiyonu dahil seksüel disfonksiyona neden olmaktadır. Ejakülasyon disfonksiyonu gelişiminden sonra kullanılan mevcut tedaviler hem çok etkin tedavi sağlamayıp hem de hayat kalitesini oldukça düşürmektedir. Sunulan çalışmada diyabetes mellitusun, vas deferens fonksiyonunda bozulmaya neden olup olmadığı ve olası tedavi hedefi kronik hidrojen sülfür tedavisinin diyabete karşı koruyucu, anti-inflamatuvar, anti-fibrotik ve anti-kalsifiye özelliklerinden dolayı STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda oluşabilecek bozukluğu önleyebileceği/düzeltebileceği hipotezini test etmek amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diyabetes Mellitus

Diyabetes Mellitus (DM) kronik hiperglisemi ile seyreden, çeşitli organ ya da sistemlerde akut ve kronik komplikasyonlara neden olabilen bir sağlık sorunudur. Başlıca tip 1 (insülin salgılayan pankreas β hücrelerinin otoimmün tahribatı) ve tip 2 (insülin direnci ve metabolik sendrom ile gelişen) formları yaygın olarak görülen, bunların dışında gestasyonel diyabet, ve diğer spesifik diyabet tipleri bulunan günümüzdeki en büyük halk sağlığı problemlerinden biridir (1, 2). Tip 2 DM en yaygın formu olup, Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF) verilerine göre 2021 yılında dünya genelinde 537 milyon kişiyi etkilemektedir ve bu rakamın 2030 yılında 643 milyon civarına ulaşacağı öngörülmektedir (35). Ülkemizde de diyabet prevalansı 2013 yılında yayımlanan Türkiye Diyabet Epidemiyoloji (TURDEP-II) çalışmasına göre %13.7 olarak hesaplanmıştır (36).

2.2. Diyabetes Mellitus Gelişimi, Risk Faktörleri ve Tanısı

Tip 1 diyabetes mellitus, insülin salgılayan pankreas β hücrelerinin genellikle otoimmün olarak daha az sıklıkta ise nonimmün tahribatına bağlı olarak gelişen yetersiz insülin seviyesiyle ortaya çıkmaktadır. Gelişiminde sıklıkla çevresel, otoimmün ve genetik faktörler rol oynamaktadır.

Tip 2 diyabetes mellitus, pankreas β hücrelerinden kusurlu insülin salgılanması ya da insülinin hedefi olan dokularda uygun yanıtın verilmemesinden kaynaklanır (37). Bu durum insülin direncine, düzensiz olarak insülin salgılanmasına ve kan şekeri kontrolünün bozulup hiperglisemi görülmesi ile sonuçlanmaktadır (38). Hedef dokularda reseptör yanıtsızlığından dolayı glukozun hücre içine

alınamamasına ek olarak karaciğerde glukoz yapım artışı hiperglisemiye katkıda bulunur. Tip 2 DM genellikle ileri yaşlarda ortaya çıkar ve Tip 1 DM'ye kıyasla hiperglisemi seviyesi daha düşük seyreder. Hastalığın ortaya çıkmasında genetik yatkınlık görülür ve hastalar sıklıkla obez ya da kiloludur. Tip 1 DM'ye göre daha yavaş başlangıçlıdır ve uzun süre semptom vermeden seyredebilir (4). Tip 2 DM gelişimi ile ilişkili risk faktörleri: genetik faktörler, vücut kitle indeksi, vücut yağ oranının yüksek olması, kahverengi adipoz doku seviyesinin düşük olması, metabolik sendrom, sosyoekonomik düzey, psikolojik stres, sedanter yaşam tarzı, şekerli gıdalarla aşırı beslenme, alkol ve sigara tüketimi şeklinde sıralanabilir (39).

Diyabetes mellitus tanısı Amerikan Diyabet Derneği (ADA)'nin yayımladığı bilgilere göre (3):

- Su haricindeki sekiz saat açlık sonrası yapılan plazma kan şekeri düzeyi ölçümünde plazma glukozunun 100-125 mg/dl çıkması prediyabet, 126 mg/dl ve daha yüksek çıkması diyabetes mellitus olarak tanımlanmaktadır.
- Oral glukoz tolerans testinin (OGTT) 2. Saatinde yapılan plazma kan şekeri düzeyi ölçümünde plazma glukozunun 140-199 mg/dl çıkması prediyabet, 200 mg/dl ve daha yüksek çıkması diyabetes mellitus olarak tanımlanmaktadır.
- Diyabet semptomları bulunan bir hastada herhangi bir zamanda yapılan plazma kan şekeri düzeyi ölçümünde plazma glukozunun 200 mg/dl ve daha yüksek çıkması diyabetes mellitus olarak tanımlanmaktadır.

- Son 2-3 aylık ortalama kan şekeri düzeyi hakkında bilgi veren HbA1C ölçümünün % 5.7-6.4 çıkması prediyabet, % 6.5 ve daha yüksek çıkması diyabetes mellitus olarak tanımlanmaktadır.

2.3. Diyabetes Mellitus Tedavisi

Diyabetes Mellitus hastalarda seyri sırasında poliüri, polidipsi, polifaji ya da iştahsızlık, halsizlik, nokturi, kilo kaybı, tekrarlayan enfeksiyonlar ya da kaşıntı gibi semptomlara yol açabilir. Prediyabet ya da diyabetes mellitus tanısından sonra hastalığın şiddetine bağlı olarak uygulanan ilk tedavi tıbbi beslenme tedavisi, fiziksel aktivite ve egzersiz gibi ilaç dışı tedavilerdir. Bu yaşam tarzı değişiklikleri kilo kaybı ve daha iyi glisemik kontrol sağlamaktadır (4).

Diyabetes mellitus tedavisinde kullanılan farmakolojik tedaviler ise (4):

- Metformin: Biguanid grubu bir ilaç olan metformin, hücrelerde mitokondriyal gliserofosfat dehidrogenaz (MGDP) enzimini inhibe ederek ve 5'-adenozin monofosfat- aktive protein kinaz (MAPK) enzimini aktive ederek etkisini gösterir. Bunun dışında barsaklardan glukoz emilimini azaltır ve karaciğerde glukoneogenezi baskılar.
- İnsülin Salgılatıcı İlaçlar: Bu ilaçlar sülfonilüre grubu (glipizid, gliklazid) ve glinid grubu (repaglinid, nateglinid) ilaçlardır. Pankreas β hücrelerindeki K_{ATP} kanallarını kapatarak insülin salgılanmasını arttıırırlar ve tokluk kan şekerini düşürücü etki gösterirler.
- Glukagon Benzeri Peptid-1 (GLP-1) Reseptör Agonistleri ve Analogları: Eksenatid, liraglutid gibi ilaçlar bu grupta yer alırlar. Bu ilaçlar GLP-1

reseptörlerini uyararak pankreas β hücrelerinin glukoz duyarlılığını arttırmaları ve α hücrelerinde glukagon salgılanmasını baskırlar. Bunun dışında kilo verdirici ve doyma hissini arttırıcı etkileri bulunmaktadır.

- Sodyum Glukoz Kotransporter 2 (SGLT-2) İnhibitörleri: Kanagliflozin, dapagliflozin gibi ilaçlar bu grupta bulunurlar. Böbrekte proksimal tübülde bulunan SGLT-2 inhibisyonu yaparak glukozun böbreklerden geri emilmesini engelleyerek glisemik kontrol sağlar.
- Alfa Glukozidaz İnhibitörleri: Akarboz, miglitol bu grupta yer alır. Barsaklarda karbonhidratların enzimatik yıkımını inhibe etmek suretiyle emilimini azaltarak glisemik kontrol sağlarlar.
- Tiazolidindion (Glitazon) Grubu İlaçlar: Pioglitazon, rosiglitazon gibi ilaçlar bu grupta yer alır. Etkilerini hücrelerde PPAR- γ (peroksizom proliferatör aktive reseptör- γ)'yı aktive ederek gösterirler. Yağ, karaciğer ve kas dokusunda insülin duyarlılığını arttırlar.
- Dipeptidil Peptidaz 4 İnhibitörleri (DPP-4): Sitagliptin, vildagliptin gibi ilaçlar bu grupta yer alır. DPP-4 ü inhibe etmek suretiyle salgılanan inkretinlerin yıkımını geciktirirler, insülin salgılanmasını arttırıp yemek sonrası glisemik kontrol sağlarlar.
- İnsülin Tedavisi (40): İnsülin tedavisinde bazal insülin ihtiyacını karşılamak amacıyla uzun etkili, yemek sonrası insülin ihtiyacını karşılamak amacıyla ise kısa etkili insülinler kullanılır. Hızlı etkili insülin analogları (lispro, aspart), orta etkili insülin (NPH), uzun etkili insülin analogları (detemir,

glarjin), ultra uzun etkili insülin analogu (degludec) tedavide kullanılan insülin analoglarıdır.

2.4. Diyabetes Mellitus Komplikasyonları

Diyabetes mellitusun komplikasyonları temel olarak akut ve kronik olarak ikiye ayrılmaktadır. Bunun dışında komplikasyonlar vasküler ve nonvasküler (enfeksiyon, cilt hastalıkları) olarak da ayrılmaktadır. Vasküler komplikasyonlar ise mikrovasküler (retinopati, nöropati, nefropati) ve makrovasküler (koroner arter hastalığı, serebrovasküler hastalık, periferik arter hastalığı) olarak gruplandırılmaktadır (41).

2.4.1. Diyabetes Mellitusun Akut Komplikasyonları

Diyabetes mellitusun akut komplikasyonları arasında hipoglisemi, diyabetik ketoasidoz (DKA), hiperozmolar hiperglisemik durum (HHD) ve laktik asidemi bulunmaktadır (4).

Hipoglisemi plazma glukoz konsantrasyonunun 70 mg/dl'nin altına düştüğü durumlarda görülür. Tip 1 DM'de daha sık görülmektedir. Daha çok diyabetes mellitus tedavisinde kullanılan ilaçlardan kaynaklanır.

Diyabetik ketoasidoz genellikle insülin yetersizliği ve insülin karışıtı hormonların (kortizol, glukagon) fazla salgılanmasından kaynaklanır. Temelinde karaciğerde keton üretim artışı yer alır. Plazma glukoz düzeyi 250-600 mg/dl olduğu durumlarda görülür. Tip 1 DM hastalarında daha sık görülmektedir.

Hiperglisemik hiperozmolar durum genellikle insülin yetersizliği, hiperglisemi, hiperglisemiye bağlı gelişen ozmotik diürez ve yetersiz sıvı alımıyla birlikte gelişen hipotansiyon tablosundan oluşur. Plazma glukoz düzeyi 600-1200 mg/dl olduğu durumlarda görülür. Tip 2 DM hastalarında daha sık görülmektedir.

2.4.2. Diyabetes Mellitusun Kronik Komplikasyonları

DM'de komplikasyonların gelişmesinin temel nedeni organ ve dokuların kronik hiperglisemiye maruz kalmalarıdır ancak çeşitli doku ve organlarda fonksiyon bozukluğuna hangi mekanizmayla neden olduğu tamamen açıklanamamaktadır. Öne sürülen temel mekanizmalar arasında:

- İleri glikozilasyon son ürünlerinin oluşarak (AGE- advanced glycosylation end products) hücre içi ve hücre dışı proteinleri glikozile ederek ateroskleroza hızlandığı
- Endotel bozukluğuna neden olduğu
- Glomerüler fonksiyon bozukluğuna neden olduğu
- Ekstraselüler matriks yapısında değişikliğe neden olduğu,
- Hücrelerde genetik ifadelenmeyi etkilemesi
- Sorbitol yolağı ile metabolize olan glukoz ürünlerinin dokuları etkilemesi,
- Heksozamin yolak aktivitesini arttırarak fruktoz-6-fosfat miktarını arttırması ve bu maddenin endotelial nitrik oksit sentaz gibi proteinleri glikozilleyerek fonksiyonunu değiştirmesi
- Diaçilgliserol üretimini arttırarak nöronlarda ve endotelial hücrelerde ekstraselüler matriks proteinlerinin birikimine neden olması

- Büyüme faktörlerini arttırarak yeni damar üretimine neden olması
- İnterlökin-1, insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1), tümör nekrozis faktörü alfa (TNF- α) ve dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF- β) miktarını arttırarak inflamasyon ve kalsifikasyona neden olması yer almaktadır (41, 42).

Kronik komplikasyonlar vasküler ve nonvasküler olarak ikiye ayrılıp morbidite ve mortalite ile daha sık ilişkili olan vasküler komplikasyonlardır. Vasküler komplikasyonlar ise makrovasküler ve mikrovasküler komplikasyonlar olarak ikiye ayrılmaktadır.

2.4.2.1. Makrovasküler Komplikasyonlar

Makrovasküler komplikasyonlar koroner arter hastalığı (KAH), serebrovasküler hastalık ve periferik arter hastalığı (PAH) şeklinde görülmektedir (5). Koroner arter hastalığı DM hastalarında belirgin bir şekilde artmaktadır. Daha önceden geçirilmiş miyokard infarktüsü (MI) öyküsü bulunmayan hastalarda yedi yıl içinde MI gelişim riski % 3,5 iken, DM'li hastalarda bu rakam %20,2'ye yükselmektedir (43). DM'ye eşlik edebilen dislipidemi ve hipertansiyon bu riski daha da arttırmaktadır (41). DM hastalarında serebrovasküler olay (SVO) görülme riskinin sağlıklı popülasyona göre % 35 arttığı gösterilmiştir (44). DM hastalarında SVO görüldüğü durumlarda da nondiyabetik hastalara kıyasla daha kötü prognozla seyrettiği ve ölüm sayısının arttığı bilinmektedir (45). Periferik arter hastalığı DM hastalarında sık görülen makrovasküler komplikasyonların diğeridir. Yapılan bir çalışmada DM hastalarında PAH gelişme sıklığının iki kat arttığı saptanmıştır (46).

2.4.2.2. Mikrovasküler Komplikasyonlar

Diyabetes Mellitusa bağlı gelişen mikrovasküler komplikasyonlar başlıca diyabetik nefropati, retinopati, nöropati ve bununla ilişkili durumlardır (6).

Diyabetik nefropati diyabetli hastaların yaklaşık % 20-40'ında görölmektedir ve artmış albüminüri, glomerüler filtrasyon hızı (GFR)'de azalma ve böbrekte fonksiyonel ya da yapısal hasarların 3 aydan uzun sürmesi ile tanımlanmaktadır (7, 47). Ortaya çıkmasında renin-anjiyotensin-aldosteron sisteminin aktivitesinin artışı, TGF- β 1 aktivasyonu, bağ dokusu büyüme faktörü (CTGF) artışı, reaktif oksijen türleri (ROS) ve ileri glikozilasyon son ürünlerinin artışının rolü olduğu öne sürölmektedir (48).

Diyabetik retinopati tip 1 ve tip 2 DM'de görölen ve bu hastalık için spesifik sayılan bir komplikasyondur. Görölme oranı diyabetin süresine ve kan şekeri kontrolünün sağlanıp sağlanamamasına bağlı olarak değişmektedir ve gelişmiş ölkelerde 20-74 yaşı arası hastalarda görölen körlüğün en sık sebebidir (7). Ortaya çıkmasında vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF)'nün artışı ve durumdan kaynaklanan neovaskülarizasyon rol oynamaktadır (6).

Diyabetik nöropati; periferik nöropati ya da otonomik nöropati şeklinde görölmektedir (7). Diyabetik nöropatinin patogenezinde bozulmuş glisemik kontrol ile birlikte etken olarak inflamasyon varlığı öne sürölmektedir (8). Yapılan çalışmalarda tip 1 ve tip 2 DM'de nöronlarda makrofaj infiltrasyonu ve proliferasyonunun arttığı gösterilmiş, bu durum myelinli ve myelinsiz sinirlerde kayıp ve aksonal hasarla ilişkilendirilmiştir (49, 50). Diyabetli hastalarda

İnterlökin-6 (IL-6), IL-18 ve TNF- α gibi inflamatuvar belirteçlerin seviyesi artmaktadır ve tip 2 DM'li hastalarda inflamatuvar belirteçler otonomik disfonksiyon ile ilişkilendirilmiştir (51-55).

Diyabetik periferik nöropati en sık diyabetik simetrik polinöropati şeklinde gelişip tip 2 DM'li hastaların %50'sinde, tip 1 DM'li hastaların yaklaşık %20'sinde ortaya çıkmaktadır (56).

Diyabetik otonomik nöropati ise hem sempatik hem de parasempatik sinir sistemini etkileyebilen ve kardiyovasküler, gastrointestinal ve genitoüriner sistem gibi pek çok sistemde komplikasyonlara neden olabilen bir durumdur. Kardiyak otonomik nöropati, hem tip 1 hem de tip 2 DM'de görülebilmektedir ve görülme sıklığı hastalığın süresi ile korelasyon göstermektedir (56). Gastrointestinal nöropatiler özofagus motilite bozuklukları, gastroparezi (mide boşalmasında gecikme), ishal ya da kabızlık olarak ortaya çıkmaktadır (7). Genitoüriner nöropati, üriner sistemde miksiyon bozukluklarına neden olabilmektedir. Miksiyon bozuklukları miksiyon sıklığında değişim, nokturi, idrar tutulumu ya da inkontinans şeklinde görülebilmektedir (57). Bu durum duyusal nöron fonksiyon bozukluğu, mesane düz kas fonksiyon bozukluğu ile afferent ve efferent otonomik sinir fonksiyon bozukluğundan kaynaklanmaktadır (58).

Genital sistem DM'li hastalarda etkilenip, bu duruma bağlı olarak hem kadın hem de erkeklerde bozulmuş seksüel fonksiyon bozukluğu yaygın bir komplikasyon olarak görülmektedir (9). Erkeklerde DM'ye bağlı seksüel fonksiyon bozukluğu çalışmaları erektil disfonksiyona odaklansa da, vas

deferansteki değişikliklere bağlı olarak görülen ejakülasyon bozuklukları ile birlikte duygu durum değişikliklerinin eşlik ettiği libido ya da orgazmda görülen problemler de DM seyrinde yaygın olarak izlenmektedir (59). Erektile disfonksiyon (ED) seksüel aktivite sırasında tutarlı ve tekrarlı bir şekilde penil ereksiyona ulaşamaması veya koruyamaması olarak tanımlanmaktadır. DM’li erkeklerin yaklaşık %75’inde ED görülmektedir (Tip 1 DM için %37.5, Tip 2 DM için %57.7) ve DM’li erkeklerde bu durum normal popülasyona kıyasla hem daha erken ortaya çıkmakta hem de konvansiyonel ED tedavisine (oral fosfodiesteraz-5 enzimi inhibitörleri, sildenafil, tadalafil...) daha az yanıt vermektedir (60, 61). Diyabetik otonomik nöropati ED gelişmesindeki en büyük faktör olmakla birlikte vaskülopati, duygu durum bozuklukları, non-adrenerjik-non-kolinerjik (NANK) sinirlerdeki fonksiyon bozuklukları, lokal nöronal nitrik oksit sentaz (nNOS) aktivasyon bozuklukları ve bundan kaynaklanan nitrik oksit seviyesinde azalma, korpus kavernozumda görülen fibrozis gibi etkenlerden dolayı korpus kavernozumun gevşeme fonksiyonun bozulmasından kaynaklandığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (9, 61-64).

Vas deferens ve beraberindeki epididimis, seminal vezikül, ejakülatuar kanallar, mesane boynu gibi ejakülasyonda görev alan yapıların etkilenmesi ile DM’li erkek hastaların yaklaşık %40’ında ejakülasyon bozukluğu görülmektedir (10).

2.5. Vas Deferens, Ejakülasyon Fizyolojisi ve Diyabetes Mellitusta Ejakülasyon Disfonksiyonu

2.5.1. Vas Deferens

Vas deferens 30-45 cm uzunluğunda olup testisin temel boşaltım kanalı olarak görev görmektedir (65). Epididimal ve prostatik kısım olarak ikiye ayrılmaktadır. Epididimal kısım kauda epididimisten başlamaktadır ve diğer spermatik kord yapılarıyla birlikte inguinal kanaldan geçerek mesanenin posteriorunda genişleyerek ampulla kısmını oluştur (prostatik kısım), daha sonra ampulla prostatın üst kısmında seminal vezikül ile birleşerek ejakülatuar kanalı oluşturur (65, 66). Vas deferensin esas görevi epididimiste depolanan spermin ejakülasyon sırasında ejakülatuar kanala aktarılmasını sağlamaktır. En iç ve en dışta longitudinal, orta katmanda ise diğerlerine kıyasla daha kalın sirküler kaslardan oluşan üç katlı bir kas tabakasından oluşmaktadır ve elastik liflerden oluşan lamina propria yapıya esneklik kazandırır (65). Vas deferenste otonom sinir sisteminin hem sempatik hem de parasempatik kısmına ait sinirler bulunmaktadır ancak baskın olan komponent sempatik sinir sistemidir ve uyarılması ile peristaltik hareketlere neden olur (11, 12). Vas deferensi uyan preganglionik sempatik nöronlar T10-L2 seviyesinden başlayıp hipogastrik sinir ile pelvik pleksusa ulaşırken, preganglionik parasempatik nöronlar S2-4 seviyesinden başlayıp pelvik splanknik sinirler ile pelvik pleksusa taşınmaktadır (67). Vas deferens ejakülasyon sırasında endojen olarak uyarıldığı zaman α_{1A} reseptörleri ile noradrenalin (NA) aracılı ve pürinerjik P2X reseptörleri ile adenosin trifosfat (ATP) aracılı kasılma görülmektedir (13). Yapılan çalışmalarda elektriksel alan uyarısı ile vas deferens dokusu uyarıldığı zaman bifazik bir kasılma yanıtı görüldüğü ve ilk fazdaki kasılmadan ATP'nin,

ikinci fazdan ise noradrenalinin sorumlu olduğu gösterilmiştir (68, 69). Epididimal ve prostatik kısım olarak ikiye ayrılan vas deferens dokusunda, bu iki kısım arasında pürinerjik ve adrenerjik sistemin dağılımının araştırılması için yapılan çalışmalarda, prostatik kısmın ATP'ye karşı, epididimal kısmın noradrenaline karşı daha duyarlı olduğu ve daha çok kasılma yanıtı gösterdiği kanıtlanmıştır (68, 70). Vas deferens üzerindeki bu sempatik uyarıların sağlıklı bir şekilde sürdürülmesi, ejakülasyonun fizyolojik olarak gerçekleşmesi açısından kritik önem taşımaktadır.

2.5.2. Ejakülasyon Fizyolojisi

Ejakülasyon penis ve pelvik kas yapılarının hem otonom hem de somatik sinir sistemi tarafından koordine bir şekilde uyarılarak, eksternal üretral meatustan semenin atılması olarak tanımlanmaktadır (14). Sıçanlarla yapılan çalışmalarda ejakülasyonun düzenlenmesinde görev alan Spinal Ejakülatuar Jeneratör (SEG) adlı, medulla spinaliste yer alan bir yapı tespit edilmiştir (71). Bu yapının varlığı insanlarda da ölüm sonrası yapılan çalışmalarda gösterilmiştir ve bu yapıya ait nöronlar insanda L3-L5 seviyesinde yer almaktadır (72). Koitus sırasında beyindeki bazı merkezler kognitif, taktil ve görsel stimulusları SEG'e iletmektedir ve SEG'e ulaşan uyarılar belli bir eşik değeri aşınca ejakülasyon tetiklenmektedir (71, 73, 74). Ejakülasyon, sempatik sinir sistemi tarafından düzenlenen ve ejakülasyonun ilk fazı olan emisyon basamağı, emisyonun ardından gerçekleşen ve somatik sinir sistemi tarafından düzenlenen ejeksiyon basamağı olmak üzere iki fazda gerçekleşmektedir (75). Emisyon basamağı internal genitak yolak olarak adlandırılan epididimis, vas deferens, seminal vezikül ve prostatın kasılması ile semenin posterior üretraya iletilmesi iken, ejeksiyon semenin eksternal üretral meatustan atılması işlemidir

(15). Emisyon aşamasında internal genital yolak yapılarındaki kasılmaları sağlayan uyarılar T10-L2 seviyeleri arasındaki sempatik sinirlerden köken alıp, hipogastrik sinir ile kas yapılarına ulaşmaktadır (76). Bu yapılarda ejakülasyon sırasında kasılma yanıtlarını oluşturmak için esas olarak noradrenalin α_1 adrenerjik reseptörler üzerinden etki gösterirken, ATP ise purinerjik P2X reseptörleri ile bu etkiye katkı sağlamaktadır (13). Aynı zamanda ejakülasyon esnasında semenin mesane içerisine geçmesini engellemek amacıyla sempatik sinir sistemi tarafından adrenerjik uyarılar mesane boyun kasları ve internal üretral meatusta kasılmaya neden olmaktadır (77). Seminal sıvı emisyon fazının ardından posterior üretraya ulaştığında buradaki yapıların gerilmesine neden olarak ya da kemoreseptörleri uyarak bulbokavernöz kasların uyarılmasına neden olmaktadır (78). Ejeksiyon fazı olarak bilinen bu fazda S2-4 segmentleri arasından kaynaklanan uyarılar pudental sinirin somatik motor nöronları ile taşınarak pelvik taban kasları, bulbosponjiyöz ve bulbukavernöz kasları uyarak asetilkolin aracılı kasılma ile semenin dışarı atılmasını sağlar (15, 76). Ejakülasyon aynı zamanda santral sinir sisteminin kontrolü altındadır. Talamus (stria terminalisin posteromedial nükleusu) koitus sırasında gelen uyarıları alıp hipotalamusa iletmekte, hipotalamusta (medial pre-optik bölge, paraventriküler nükleus) SEG'e düzenleyici uyarılar göndermektedir (79). Bu santral düzenlemede görev alan başlıca nörotransmitterler dopamin, serotonin ve oksitosindir. Dopamin hipotalamusta D2 ve D3 reseptörleri ile; oksitosin oksitosin reseptörü ile; serotonin ise 5-HT_{1A} reseptörü ile ejakülasyonu başlatıcı etki gösterirken, 5-HT_{2A} reseptörü ile ejakülasyonu inhibe edici etki göstermektedir (80, 81).

2.5.3. Ejakülasyon Disfonksiyonu

Ejakülasyon disfonksiyonu fizyolojik bir şekilde ejakülasyonun sağlanamadığı durumlar olan prematür ejakülasyon, gecikmiş ejakülasyon, anejakülasyon, retrograd ejakülasyon, ejakülasyon kuvvetinin azalması gibi durumlar için kullanılan ortak tanımdır (15). Ejakülasyon disfonksiyonu erkeklerde farklı hastalık ya da durumlara bağlı olarak ortaya çıkıp hayat kalitesinde düşüklüğe neden olmakta ve sağlıklı fertilizasyon gerçekleşmesine engel olabilmektedir. Yapılan çalışmalar toplumda erkeklerde ejakülasyon disfonksiyonunun görülme sıklığını yaklaşık %30 olarak ortaya koymuştur (82). Ejakülasyon disfonksiyonuna neden olan durumlardan ilki, testis kanseri tedavisinde uygulanan retroperitoneal lenf nodu diseksiyonudur. Bu işlem sonrası oluşabilen sinir hasarına bağlı olarak, bu işlemi geçiren hastaların %3 ile %39'u arasında ejakülasyon disfonksiyonu görülmektedir (83, 84). Transvers miyelit, multiple sklerozis (erkeklerin hastaların %50'sinde ejakülasyon disfonksiyonu görülmektedir) gibi çeşitli nörolojik hastalıklar ejakülasyon disfonksiyonuna neden olabilmektedir (66, 85). Açık aortailiak rekonstrüksiyon cerrahisi (operasyon sonrası hastaların %63'ünde ejakülasyon disfonksiyonu görülmektedir) (86), rektal kanser cerrahisi (operasyon sonrası hastaların %47'sinde anejakülasyon görülmektedir) (87) gibi pelvik bölgedeki cerrahi girişimler yüksek oranda ejakülasyon ile ilgili problemlere neden olabilmektedir.

2.5.4. Diyabetes Mellitusta Ejakülasyon Disfonksiyonu

DM seyri sırasında vas deferensin de dahil olduğu internal genital yolak yapıları ve bu bölgeyi uyaran sinirleri etkileyerek ejakülasyon disfonksiyonuna neden olmaktadır. Ejakülasyon disfonksiyonu sağlıklı popülasyonda ortalama %30 olarak görülürken DM hastalarında bu oran %35 ile %50'ye kadar yükselebilmektedir (82, 88, 89). T1DM ve T2DM hastaları arasında, ejakülasyon disfonksiyonu gelişimi açısından farkları inceleyen çalışmalarda, T1DM'de glisemik kontrolün düzenli olduğu hastalarda sağlıklı popülasyona kıyasla bir fark olmadığı ancak glisemik kontrolü bozuk hastalarda sağlıklı popülasyona göre daha yüksek görüldüğü saptanmıştır (90). T2DM'li hastalarda ise glisemik kontrolden bağımsız olarak sağlıklı popülasyona göre ejakülasyon bozuklukları daha yüksek oranda görülmektedir (91). Ancak literatürde iki grup arasındaki farkları detaylıca inceleyen az sayıda çalışma bulunmaktadır. DM hastalarında ejakülasyon problemleri daha çok prematür ejakülasyon, retrograd ejakülasyon, anejakülasyon ya da gecikmiş ejakülasyon olarak görülmektedir. Prematür ejakülasyon 6 ay boyunca düzenli olarak koitus esansında ejakülasyon süresinin bir dakikadan kısa sürmesi olarak tanımlanmaktadır (92). Retrograd ejakülasyon, fizyolojik koşullarda ileri gitmesi gereken seminal sıvının çeşitli nedenlerle mesaneye doğru retrograd hareketinden kaynaklanmaktadır. Ejakülasyona ulaşabilen ancak çok az miktarda ejakülat görülen ya da hiç sıvı görülmeyen, post-orgazmik idrarda bulanık görüntü olan hastalarda süphelenilmelidir ve post-orgazmik idrar örneğinde spermatozoa görülmesi ile tanı konulmaktadır (88, 93). Ejakülasyona ulaşamama hali olan anejakülasyon ya da ulaşma süresinin uzun olması durumu olan gecikmiş

ejakülasyon benzer spektrumda yer almaktadır (15). 25 ya da 30 dakikalık yeterli seksüel stimülasyon sonucunda ejakülasyon durumuna erişememe ya da bu süreden sonra erişme durumudur (93).

Nöropati DM'nin en iyi bilinen ve sık görülen komplikasyonlarından biridir (94). Bu durum DM seyri sırasında görülen oksidatif stres, biriken sitokinlerin nöroinflamasyona neden olması, mitokondriyal ve hücrel disfonksiyon ile sinir hücresi ölümüne neden olmasından kaynaklanmaktadır (94, 95). Literatürde sıçanlarda altı aydan uzun süren DM'de nöropatinin internal genital yolakta sempatik uyarıyı azaltarak ejakülasyonda emisyon fazında görülen kasılmayı bozduğu gösterilmiştir (16). Ancak bazı çalışmalarda internal genital yolakta ekzojen noradrenaline karşı aşırı duyarlılık gelişebildiği kanıtlanmıştır (16, 19). Benzer şekilde sıçanlarda streptozotosin ile indüklenen DM çalışmalarında internal genital yolak nöronlarında noradrenerjik uyarıya karşı yanıtın azaldığı ancak ekzojen olarak noradrenalin, ATP, fenilefrin uygulandığı zaman hipersensitif yanıtlar alındığı literatürde yer almaktadır (17, 18). Bu durumun deneysel diyabet süresiyle ilişkili olabileceği ve α -adrenerjik agonistleri ya da sempatik sinirler aracılığı ile olan uyarı yanıtlarının kısa süreli diyabette arttığı, uzun süreli diyabette azaldığı öne sürülmüştür (96). Görülen aşırı duyarlılık yanıtında kasılma yanıtları yüksek gibi görünse de bu kasılmalar fizyolojik olmadığından toplam kasılma gücünün arttığı anlamına gelmemektedir (19). Aşırı duyarlılık durumu aksiyon potansiyeli sıklığını arttırdığı ancak daha az kasılma gücüne neden olduğu için düşük ejakülat miktarı ile birlikte görülen prematür ejakülasyonun bu mekanizmadan kaynaklanabileceği düşünülmektedir ve kronik DM'de nöronlarda

kalsiyum (Ca^{+2}) iyon kanallarının yukarı regülasyonunun bu duruma neden olduğu öne sürülmektedir (19). Emisyon fazında sempatik uyarının azalması internal üretral sfinkter ve mesane boynunda yeterli kasılma olmamasına neden olmaktadır ve bu durumun retrograd ejakülasyona neden olabileceği retrograd ejakülasyona sahip diyabetik erkeklerle yapılan çalışmada internal üretral sfinkterde atoni varlığı gösterilerek desteklenmiştir (88, 97, 98). Ejeksiyon fazındaki somatik uyarıların diyabetik nöropatiden dolayı azalmasının, pelvik taban kasları ve bulbosponjiyöz kaslarda kasılma miktarını azaltarak anejakülasyona neden olduğu öne sürülmüş ve bu durum diyabetik sıçan modeli kullanılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (98, 99). DM'de santral sinir sisteminde dopaminerjik iletimin bozulduğu bilinmektedir (100). SEG'e giden ejakülasyonu başlatıcı sinyallerin tetiklenmesinde D2 ve D3 reseptörleri önemli göreve sahip olduğu için bu sistemdeki iletim bozukluklarının DM'de gecikmiş ejakülasyon ya da anejakülasyona neden olabileceği öne sürülmektedir (101, 102). Aynı zamanda DM'li hastalarda santral sinir sisteminde serotonerjik iletimde görülen bozulma nedeniyle serotonin reseptörlerinin yeterli seviyede uyarılamamasından kaynaklı prematür ejakülasyon görülebileceği literatürde yer almaktadır (103). DM'de ejakülasyon disfonksiyonuna neden olan başka bir neden ise genital yapılarda görülen yapısal değişikliklerdir. Hiperglisemiden kaynaklı kronik inflamasyon kaynaklı sağlıklı dokularda görülen inflamasyon, kalsifikasyon ve fibrozis ejakülasyonun fizyolojik olarak gerçekleştirilmesine engel olmaktadır (20). Literatürde yer alan çalışmalarda DM'nin vas deferenste kalsifikasyona neden olduğu radyodiyagnostik yöntemlerle gösterilmiştir (104, 105). Streptozotosin ile indüklenmiş diyabetik sıçanlarla

yapılan bir çalışmada TGF- β 1 ekspresyonunun kontrole göre arttığı ve kalsifikasyon ile inflamasyona neden olan temel yollardan biri olduğu belirtilmiştir (106). Bir başka çalışmada DM'nin kronik inflamatuvar etkisi ve dokular üzerinde kalsifikasyon yapıcı etkisini NF- κ β , IL1- β , TNF- α ve Runx2 yollarının iletişimi üzerinden gerçekleştirdiği ve DM seyrinde bu proteinlerin ekspresyonlarının arttığı kanıtlanmıştır (21). DM çeşitli dokularda kronik hiperglisemi nedeniyle TGF- β miktarını arttırarak TGF- β /Smad-3 gibi yollar üzerinden fibrozise neden olmaktadır (22). Fibrozis nedeniyle sağlıklı dokuların yerini fibrotik yapılara bırakması bu dokuların fizyolojik fonksiyonlarını gerçekleştirmesine engel olmaktadır. Literatürde vas deferenste DM'nin fibrotik etkisini gösteren çalışmalar yer almamakla beraber, corpus cavernosum dokusu ile yapılan bir çalışmada sıçanlarda streptozotosin ile indüklenen diyabette, fibrozis geliştiği histopatolojik olarak gösterilmiş, TGF- β /Smad-3 yolağının fibrozis gelişiminde temel mekanizma olduğu kanıtlanmış ve bu durumun seksüel disfonksiyona neden olduğu ispatlanmıştır (64).

2.6. Diyabetes Mellitusta Ejakülasyon Disfonksiyonu Tedavisi

İlk olarak tüm hastalarda komplikasyon gelişmesini engellemek açısından glisemik kontrol sağlanmalıdır. Glisemik kontrol ile ejakülasyon disfonksiyonun doğrudan korele olduğu T1DM için özellikle önem taşımaktadır. T2DM'ta ise kontrolsüz hiperglisemi, kronik inflamasyon ve doku/organ hasarını arttırdığı için temel yaklaşım kan şekerinin regüle edilmesidir. Ayrıca ejakülasyon disfonksiyonuna sık sık psikolojik problemler eşlik edebildiği ya da etyolojisi

olabileceği için hastalarda psikoterapi denenmektedir. Bunların dışında kullanılan temel farmakolojik ve girişimsel tedaviler:

Prematür Ejakülasyon Tedavisi (103, 107-112):

Diyabette erektil disfonksiyon ile ejakülasyon disfonksiyonu birlikte görülebildiği için, hastalarda eşlik eden erektil disfonksiyon varsa fosfodiesteraz-5 (PDE-5) inhibitörleri reçete edilmektedir. Hastalara selektif serotonin geri alım inhibitörü (SSRI) başlanabilmektedir. SSRI antidepresan etkisinden ziyade koitustan 2 saat önce alınarak ejakülasyonu inhibe eden serotonin reseptörlerinde serotonin aktivitesini arttırmak amacıyla kullanılmaktadır. Daha eski bir tedavi yöntemi olarak lidokain, prilokain gibi lokal anestetik ilaçlar penis başına uygulanmaktadır.

Retrograd Ejakülasyon Tedavisi (15, 66, 112-117):

Hastalarda yapısal bozukluk yok ise farmakolojik tedaviler tercih edilmektedir. Mesane boyun kasları ya da internal üretral sfinkter üzerindeki sempatik uyarıyı azaltacak ilaç (α -adrenerjik reseptör blokörleri) kullanımı mevcutsa ilacın kullanımı kesilmelidir. Mesane boyun ve internal sfinkter kası üzerindeki sempatik uyarıyı arttırmak amacıyla efedrin, psödoefedrin (miks etkili sempatomimetik) kullanılmaktadır. Bir diğer yöntem olarak cerrahi bir seçenek olan mesane boynuna endoüretral kollajen enjeksiyonu yapılmaktadır.

Konsepsiyon isteği varlığında hastalarda sperm mesanenin içine geçtiği ve idrarda bulunan üre spermatozoa üzerinde toksik etkiye sahip olduğundan dolayı yardımcı üreme tekniklerinin kullanımı zorlaşmaktadır ve farmakolojik tedaviler

yetersiz kalmaktadır. Bu hastalarda sperm örneği elde etmek amacıyla: hastanın koitustan bir gece önce sodyum bikarbonat alarak idrarı alkalize etmesi sağlanmaktadır ya da idrarda bulunan üreyi seyreltmek adına tam dolu mesane varlığında koitus ile postorgazmik idrar örneği alınarak sperm toplama çalışması yapılmaktadır. Koitus öncesi mesanenin kateterle boşaltılıp, koitus sonrası kateterle sperm örneği toplanması uygulanmaktadır. Girişimsel olarak mikrocerrahi ile doğrudan sperm toplanabilmektedir.

Gecikmiş Ejakülasyon ve Anejakülasyon Tedavisi (3, 15, 66, 93, 118-121):

Hastalarda bu duruma neden olabilecek α -adrenerjik reseptör blokörleri, SSRI'ler, haloperidol gibi antipsikotik ilaçlar kullanılıyorsa bunlar kesilmelidir. D2 reseptör agonisti olan kabergolin ejakülasyonu başlatan D2 reseptörlerinde aktiviteyi arttırmak amacıyla reçete edilmektedir. İnternal genital yolakta sempatik sistem aktivitesini arttırıp yeterli kasılmayı sağlamak amacıyla efedrin, psödoefedrin gibi sempatomimetikler kullanılmaktadır. Atipik antidepresan olan bupropion, dopamin ve noradrenalin geri alımını inhibe etmesi nedeniyle hem santral hem de internal genital yolakta ejakülasyonu uyarıcı etki yapması amacıyla tercih edilmektedir. Oksitosin ejakülasyonu başlatıcı etkisinden dolayı alternatif bir seçenek olmaktadır. Penil vibratuar stimülasyon S2-S4 seviyesi ve SEG'e gelen duyu liflerini uyarmak amacıyla kullanılmaktadır. Ayrıca girişimsel olarak ejakülasyona ulaşamayan hastalarda rektal prob elektroejakülasyon ya da konsepsiyon isteği varlığında mikrocerrahi ile sperm toplama işlemi yapılmaktadır.

Ancak periferik nöropati, fibrozis, kalsifikasyon gibi yapı bozuklukları, santral dopaminerjik sistem disfonksiyonu gibi DM’da görülen durumlarda farmakolojik tedavi seçeneklerinin başarı oranı düşüktür.

2.7. Deneysel Diyabetik Hayvan Modelleri

2.7.1. Genetik Modeller

Diyabetes mellitus çalışmalarında özel olarak üretilen ve genetik olarak DM’ye sahip hayvanlar kullanılmaktadır. Bu hayvanlardan: Zucker Diyabetik Fatty (ZDF) sıçanlar, Goto-Kakizaki sıçanlar, ob/ob ve db/db modifiye fareler, insülin reseptör nakavtlı fareler tip 2 DM model çalışmalarında, biobreeding (BB) sıçanlar, LEW 1AR1/-IDDM sıçanlar, nonobez diyabetik (NOD) fareler, AKITA fareler ise tip 1 DM model çalışmalarında kullanılmaktadır (23, 122, 123).

2.7.2. Kalorijenik Modeller

Tip 2 DM oluşturmak amacıyla genetik modifiye olmayan ve sağlıklı sıçan ya da farelere yüksek yağlı diyet uygulama suretiyle insülin direnci, obezite, metabolik sendrom aksında seyreden modeller kullanılmaktadır (122).

2.7.3. Kimyasal Modeller

Hayvanlarda kimyasal olarak diyabet oluşturmak için başlıca alloxan ya da streptozotosin (STZ) kullanılmaktadır. Literatür incelendiğinde alloxanın günümüzde artık çok tercih edilmediği ve genetik modeller dahil bütün modeller içinde deneysel diyabet çalışmalarında en sık STZ kullanıldığı görülmektedir (23). STZ, glukoz transporter 2 aracılığı ile pankreas β hücrelerine girip DNA

fragmentasyonuna neden olarak bu hücrelerde tahribata neden olmaktadır (23, 124). β hücre tahribatından kaynaklı görülen insülin yetmezliği hiperglisemi ve diyabete neden olmaktadır. STZ ile diyabet oluşturmak için en sık tercih edilen protokol 40-70 mg/kg dozda, tek doz, intraperitoneal (i.p.) ilaç uygulamasıdır (125). STZ ile indüklenen T1DM modelinde, T2DM’de görülene benzer şekilde periferik nöronlarda inflamasyon ve nöropati olduğu: sinir iletim hızı ölçümü, taktıl allodini ölçümü, pati ısı tepkisinin gecikmesi ve sinir gövdelerindeki myelinli liflerin morfolojik olarak incelenmesiyle gösterilmiştir (122). Diyabetin vas deferens üzerindeki etkisini incelemek amacıyla STZ modeli kullanan çalışmalar literatürde mevcuttur (24, 25).

2.8. Hidrojen Sülfür

Hidrojen sülfür (H_2S), nitrik oksit (NO) ve karbon monoksit (CO) ile birlikte vücutta endojen olarak üretilen üç gazotransmitterden biridir (126). H_2S vücutta L-sistein kullanılarak, çeşitli dokularda sistasyonin- β -sentaz (CBS), sistasyonin- γ -liyaz (CSE) ve 3-merkaptopirüvat sülfürtransferaz (3-MST) enzimleri tarafından sentezlenmektedir (26). H_2S pek çok fizyolojik ve patolojik olayda rol almaktadır. H_2S etkisini temel olarak proteinlerin sistein içeren kısımlarını translasyon sonrası modifiye ederek, çeşitli ROS ve reaktif nitrojen türleri (RNS) ile etkileşime girerek ve hem-proteinlerin merkezine bağlanarak göstermektedir (26). Ancak bu etkilerini ortaya çıkartırken tek başına gerçekleştirmediği NO ve benzeri diğer moleküllerle etkileşimde bulunarak görev yaptığı öne sürülmektedir (127, 128).

H_2S üretiminde görev alan enzimlerden CBS’nin varlığı santral sinir sistemi, solunum ve dolaşım sistemine ait dokularda, iskelet kasında, gastrointestinal

sistemde, akciğerde, yağ dokusunda ve genitoüriner sistemde gösterilmiştir (129-132). Üretimde görev alan diğer temel enzim olan CSE ise kardiyovasküler sistem, solunum sistemi, böbrek, karaciğer, uterus ve genitoüriner sistemde bulunmaktadır (130, 133-135). H₂S görevi sonlandıktan sonra tiyol S-metiltransferaz enzimi ile yıkılmaktadır (136).

2.8.1. Hidrojen Sülfürün Etkileri

H₂S vücutta düz kaslar, vasküler homeostaz, anjiojenez, hücre proliferasyonu, metabolik fonksiyonlar, inflamasyon, apoptoz, oksidatif stres, endokrin fonksiyonlar, immün sistem fonksiyonları üzerinde etki göstermektedir (26-29). H₂S'nin nöronlar başta olmak üzere çeşitli hücrelerde glutatyon seviyesini arttırarak sitoprotektif etkisi bulunmaktadır (130, 137). Bu etkisinin yanı sıra bazı patolojik durumlarda vücutta miktarı artan ROS'ları ortamdan uzaklaştırarak oksidatif stresi azalttığı kanıtlanmıştır (130).

Düz kaslar üzerinde gevşetici etkiye sahiptir (138). Çeşitli dokular üzerinde gevşetici etkisi gösterilmiş olup, gevşetici etkisini ATP bağımlı K⁺ kanalları (K_{ATP}) üzerinden yaptığı öne sürülmüş ve aort düz kas dokusu ile yapılan çalışmalarda bu mekanizmanın aracı olduğu kanıtlanmıştır (139). Ancak başka dokularla yapılan çalışmalarda K_{ATP} kanallarının görevi olmadığı ispat edilmiş ve buradan yola çıkılarak H₂S'nin farklı dokularda gevşetici etkisini farklı mekanizmalar aracılığı ile yaptığı düşünülmektedir (140).

2.8.2. Genitoüriner Sistemde Hidrojen Sülfürün Etkileri

İnsanda penis dokusu, prostat, vas deferens, penil arterlerde CBS ve CSE, genitoüriner bölgedeki periferik sinirlerde ise CSE'nin varlığı gösterilmiştir. Korpus kavernozum dokusunda H_2S 'nin ereksiyona aracılık ettiği gösterilmiş ve bu etkisinin K_{ATP} kanalları aracılığı ile olduğu düşünülmektedir (26). Vas deferens dokusunda da endojen olarak üretilip düz kasların tonusunun ayarlanmasında görev aldığı ve bu etkisini Ca^{+} ile aktive olan K^{+} kanalları BK_{Ca} üzerinden yaptığı kanıtlanmıştır (30). Testosteron genitoüriner sistemdeki vasküler etkilerini H_2S üzerinden göstermektedir, ayrıca sağlıklı erkeklerde kadınlara kıyasla H_2S seviyesi daha yüksek olarak ölçülmektedir (141). Prostat dokusunda özellikle CSE kaynaklı H_2S 'nin prostat fizyopatolojisinde önemli bir yeri olduğu vurgulanmıştır (26). H_2S böbreklerde elektrolit dengesinin düzenlenmesinde görev almaktadır ve bu etkisini tübüllerde $Na^{+}-K^{+}-2Cl^{-}$ kotransporter ve $Na^{+}-K^{+}-ATPaz$ aktivitesini inhibe ederek gerçekleştirmektedir (142). H_2S 'nin mesane fonksiyon düzenlenmesinde görev aldığı ve sildenafilin mesanede etkisini H_2S üzerinden gösterdiği ispatlanmıştır (143). H_2S 'nin sperm hücresinde çeşitli yolaklarda görev aldığı, bu nedenle sağlıklı sperm fonksiyonu için gerekli olduğu öne sürülmüştür (144).

2.8.3. İnflamasyon Üzerinde Hidrojen Sülfürün Etkileri

İnflamasyon üzerinde H_2S 'nin çift yönlü etkisi olduğu öne sürülmüştür. Endotoksik şok ve sepsiste H_2S seviyesi normalden yüksek olduğu ve sepsis tablosunda görülen hipotansiyona aracılık edebilme ihtimali çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (28, 145, 146). İlerleyen dönemde çeşitli hidrojen sülfür donörleriyle

(yavaş salımlı GYY4137, hızlı salımlı sodyum hidrojen sülfür (NaHS)) yapılan çalışmalarda yavaş salımlı donörlerin ortama sürekli ancak az miktarda H_2S salarak inflamatuvar belirteçlerin seviyesini azaltıp anti-inflamatuvar etkinliğe sahip olduğu, hızlı salımlı donörlerin ise yüksek konsantrasyonlarda NF- κ B miktarını azaltarak anti-inflamatuvar etkinlik gösterdiği anlaşılmıştır (147). Fakat hızlı hidrojen sülfür donörü olan NaHS'in yüksek konsantrasyonlarda verildiği zaman IL-1 β , TNF- α , IL-6 gibi inflamasyon belirteçlerini arttırdığı tespit edilmiştir (147). Günümüzde artık hidrojen sülfürün konsantrasyon bağımlı olarak çift etkisi olsa da başlıca anti-inflamatuvar olduğu kabul edilmiş ve bu özelliğinden faydalanmak için H_2S salımlı diklofenak, H_2S salımlı mesalamin gibi kombinasyonlar geliştirilmiştir. Kombine preparatların anti-inflamatuvar etkilerinin standart versiyonlara göre daha yüksek olduğu kanıtlanmıştır ve mesalamin tek başına inflamasyon belirteçlerini düşürmezken, kombine preparat IL-1 β , TNF- α ve NF- κ B gibi inflamasyon belirteçlerinde anlamlı bir şekilde düşüşe neden olmaktadır (148, 149). H_2S miktarının hem diyabet hem de akut ve kronik inflamasyon durumlarında azalmış olmasından dolayı H_2S 'nin fizyolojik seviyelerinin korunmasının inflamasyon gelişimini engelleme açısından önemli olduğu söylenebilir. Yapılan çalışmalarda diyabet modellerinde H_2S tedavisi uygulanan gruplarda H_2S 'nin inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (150-152).

2.8.4. Kalsifikasyon Üzerinde Hidrojen Sülfürün Etkileri

Literatürde H_2S 'nin farklı patolojik nedenler temelinde dokularda görülen kalsifikasyon üzerindeki etkisini inceleyen çalışmalar mevcuttur. Farelerle yapılan bir çalışmada, aterojenik diyetle beslenen hayvanların aortlarında kalsifikasyon

geliştiği gösterilmiş olup, 8 hafta boyunca kronik H₂S tedavisi alan grupta kalsifikasyonun azaldığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada NF-κβ, TNF-α, IL-1β ve Runx2 gibi belirteçlerin seviyesinde de H₂S tedavisi alan grupta azalma görölmüştür (21). H₂S'nin patolojik durumlarda kalsifikasyonu engellediği kabul edilmiş olup, çeşitli patolojik nedenlerden kaynaklanan kalsifikasyonu engellemek için alternatif bir tedavi yöntemi olabileceği öne sürölmektedir (31).

2.8.5. Fibrozis Üzerinde Hidrojen Sülfürün Etkileri

Diyabetinde aralarında bulunduğu farklı etyolojilerden kaynaklanan fibrozis ve fibrozis üzerindeki H₂S etkisini inceleyen bir çalışmada, son 10 yılda literatürde yer alan çalışmaların analizi yapılmış olup, H₂S tedavisinin böbrek, kalp, karaciğer ve akciğer dokularında gelişen farklı etyolojiye sahip fibrotik hastalıkları engelleyici ya da azaltıcı etkisi olduğunu kanıtlamıştır. Farklı dokularda ortaya çıkan ve fizyolojik fonksiyonları engelleyen, günümüzde efektif bir tedavisi bulunmayan fibrozise karşı H₂S tedavisinin etkili olabileceği öne sürölmektedir (32).

2.8.6. Hidrojen Sülfür ve Nitrik Oksit Etkileşimi

H₂S yukarıda belirtilen etkileri tek başına gerçekleştirmemekte ve kendisine benzeyen diğer gazotransmitterler ile etkileşime girerek etki etmektedir. Ancak bu etkileşim mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılamamış olup doku bağımlı olarak aralarındaki etkileşim ve buna bağlı olarak ortaya çıkan etkinin değişkenlik gösterebileceği öne sürölmüştür (153). H₂S ve NO'nun birbirilerinin üretimini etkileyebildiği ve bu etkinin karşılıklı olarak hem aktive edici hem de inhibe edici olabileceği gösterilmiştir. NO, CBS enziminin hem kısmına bağlanıp enzim

aktivitesini ve H₂S üretimini inhibe edebilmektedir (154). H₂S donörü olan NaHS'ninde eNOS'u (endotelyal Nitrik Oksit Sentaz) inhibe ederek NO üretimini azalttığı gösterilmiştir (155). Karşıt şekilde NO'nun düz kaslarda CBS ve CSE aktivitesini arttırarak H₂S üretimini arttırdığı, endotel hücrelerde de H₂S'nin eNOS aktivitesini arttırarak NO üretimini arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (139, 156, 157). Literatürde iki molekül arasındaki etkileşimi inceleyen pek çok çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda: iskemik dokulara H₂S verilmesinin doku fonksiyonunu fizyolojik seviyelere geri yükselttiği ve bu etkisini NO miktarını arttırarak gerçekleştirdiği (158), damar düz kas gevşemesi üzerinde H₂S ve NO'nun sinerjistik etkisi olduğu (159), kronik inflamasyon modellerinde ekzojen H₂S verilmesinin NO miktarını azalttığı, benzer şekilde aynı koşullarda ekzojen NO verilmesinin H₂S miktarını azalttığı (33, 34), penil ereksiyonda iki molekülün birlikte görev alabileceği (26, 160) gösterilmiştir.

3.GEREÇ ve YÖNTEM

Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenen TTU-2023-8591 kodlu sunulan çalışma, Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan G.Ü.ET-22.107 numarasıyla onay alınarak gerçekleştirilmiştir. Çalışma Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırmalar Merkezi'nde (GÜDAM) ve Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı araştırma laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Deney Hayvanlarının Hazırlanması

Sunulan çalışmada erişkin, ağırlıkları 300-350 g arasında değişen 32 adet erkek Wistar albino sıçanlar kullanılmıştır. Çalışma öncesi power analizi yapılarak etik kurul görüşü doğrultusunda güvenilir sonuç elde edilecek minimum sayıda hayvan kullanılmıştır. Sıçanlar 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngüsü sağlanacak şekilde barındırılmıştır. Sıçanların su içmeleri serbest bırakılıp, serbest bir şekilde standart laboratuvar hayvan yemi ile beslenmiştir (ad libitum) ve oda ısısı 20 ± 2 °C'ye ayarlanmıştır. Altlarında talaş olacak şekilde kafeslerde barındırılan hayvanların kafesleri her gün temizlenerek kuru altlık olacak şekilde talaşları yenilenmiştir. Akredite bir laboratuvar olan Technical Universal Verification firmasından temin edilen hayvanlar deneyler başlamadan önce GÜDAM'da bir hafta süreyle karantinaya alınmış ve ortama alışmaları sağlanmıştır. Deney, 8 hafta boyunca her gün yapılacak enjeksiyonların ardından izole organ çalışmaları için her gün günde 1 hayvan kurban edilecek şekilde toplamda 3 aylık bir süreç olarak planlanmıştır.

3.2. Diyabet Modelinin Oluşturulması

Diyabet oluşturulacak gruplar 1 gece önceden aç bırakılarak, kan şekeri ve kilo kontrolünün ardından tek doz 60 mg/kg olacak şekilde 0.1M'lık sitrat buffer tamponunda çözünmüş STZ i.p. olarak uygulanmıştır (125). STZ uygulama anından hemen önce hazırlanıp, hayvanlara hızlı bir şekilde uygulanmıştır. Kontrol gruplarına ise sadece sitrat buffer i.p. olarak uygulanmıştır. Enjeksiyondan 7 gün sonra hayvanların kuyruklarından alınan kan örnekleriyle, kan şekeri ölçülmüştür. STZ verilen hayvanlardan ölçüm sonucu 250 mg/dl'nin üzerinde gelenler diyabetik kabul edilerek çalışmaya dahil edilmiştir (161). Diyabet oluşturulmayan hayvanların da 7 gün sonra kan şekeri kontrol edilerek 200 mg/dl'nin altında olanlar çalışmaya dahil edilmiştir (162). Tüm gruplarda 8 haftalık enjeksiyon süresince haftalık kan şekeri ölçümü ve kilo takibi yapılmıştır. Ölçümde oluşabilecek varyasyonları engellemek için ölçümler her hafta aynı gün ve saatte gerçekleştirilmiştir.

3.3. Deney Grupları

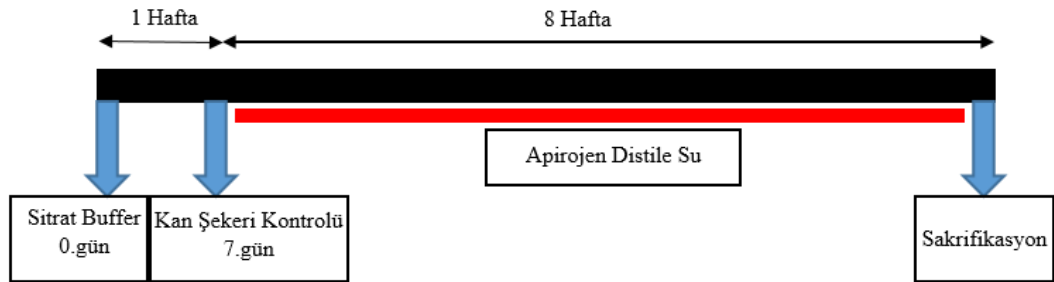
Sunulan çalışmada yer alan 32 adet sıçan rastgele bir şekilde toplamda 4 gruba ayrılmıştır. Deney grupları Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1. Deney Grupları

Deney Grupları	Yapılan İşlem	Hayvan Sayısı
1.Grup= Kontrol Grubu	Sham (sitrat-buffer) + apirojen distile su enjeksiyonu (8 hafta)	6
2.Grup= NaHS Grubu	Sham (sitrat-buffer) + NaHS enjeksiyonu(8 hafta)	6
3.Grup= Diyabet Grubu	STZ + apirojen distile su enjeksiyonu (8 hafta)	10

4.Grup= Diyabet+NaHS Tedavi Grubu	STZ + NaHS enjeksiyonu (8 hafta)	10
--	----------------------------------	----

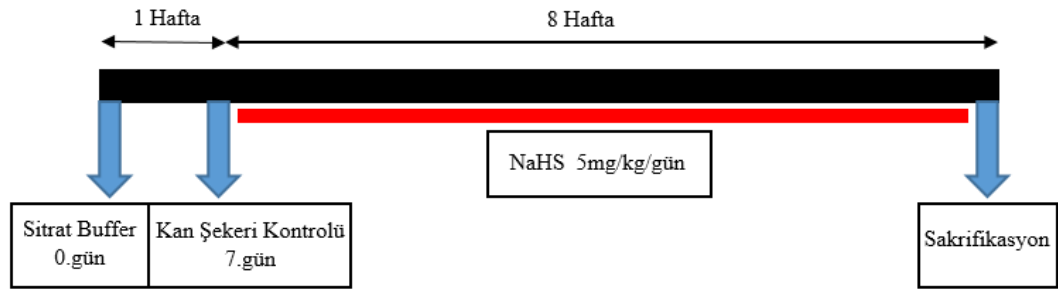
1.Grup; Kontrol Grubu: Bu gruptaki sıçanlara, STZ alan sıçanlara karşılık kontrol oluşturmak amacı ile STZ'nin çözücüsü olan sitrat buffer tek doz i.p. olarak uygulanmıştır. Enjeksiyondan 7 gün sonra ağırlık ve kan şekeri kontrolü yapılarak çalışmaya dahil edilmiştir. Ardından hayvanlara 8 hafta boyunca tedavi grubunda uygulanan NaHS'nin çözücüsü olan steril distile su her gün i.p. olarak (0,1 cc) enjekte edilmiştir. Deney süresince serbest bir şekilde yem ve su ile beslenen hayvanların haftalık kan şekeri ve kilo takibi yapılmıştır. 8 haftanın sonunda hayvanlar izole organ banyosu deneyleri ve western blot çalışmasına doku elde etmek amacıyla sakrifiye edildi. Deney akışı Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. 1. Gruba ait günlere göre deney akışı

2.Grup; NaHS Grubu: Bu gruptaki sıçanlara, STZ alan sıçanlara karşılık kontrol oluşturmak amacı ile STZ'nin çözücüsü olan sitrat buffer tek doz i.p. olarak uygulanmıştır. Enjeksiyondan 7 gün sonra ağırlık ve kan şekeri kontrolü yapılarak çalışmaya dahil edilmiştir. Ardından hayvanlara 8 hafta boyunca tedavi grubunda 5 mg/kg olacak şekilde uygulanan NaHS (163), sağlıklı hayvanlarda da etkisinin

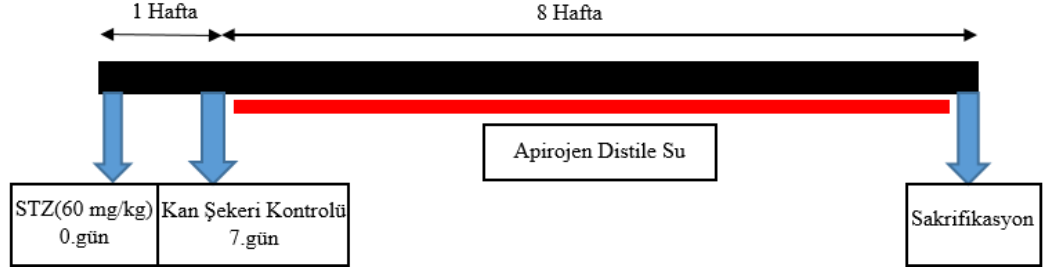
değerlendirilerek kontrol oluşturması amacıyla her gün i.p. olarak enjekte edilmiştir. Deney süresince serbest bir şekilde yem ve su ile beslenen hayvanların haftalık kan şekeri ve kilo takibi yapılmıştır. 8 haftanın sonunda hayvanlar izole organ banyosu deneyleri ve western blot çalışmasına doku elde etmek amacıyla sakrifiye edildi. Deney akışı Şekil 2’de gösterilmiştir.



Şekil 2. 2. Gruba ait günlere göre deney akışı

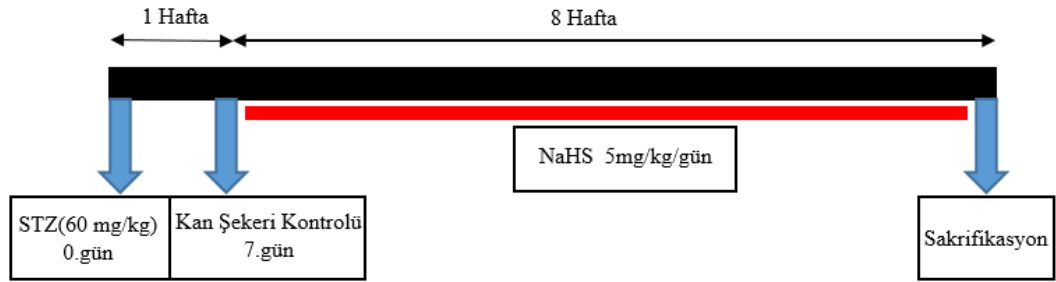
3.Grup; Diyabet Grubu: Bu gruptaki sıçanlara T1DM modeli oluşturmak amacıyla hayvanlara 60 mg/kg olacak şekilde i.p. STZ, kan şekeri kontrolü sonrası uygulanmıştır. Enjeksiyondan 7 gün sonra hayvanlara kilo ve kan şekeri kontrolü yapılarak, kan şekeri düzeyi 250 mg/dl’nin üzerinde gelen hayvanlar diyabetik kabul edilerek çalışmaya dahil edilmiştir (161). Ardından hayvanlara 8 hafta boyunca tedavi grubunda uygulanan NaHS’nin çözücüsü olan steril distile su i.p. olarak (0,1 cc) her gün enjekte edilmiştir. Deney süresince serbest bir şekilde yem ve su ile beslenen hayvanların haftalık kan şekeri ve kilo takibi yapılmıştır. 8 haftanın sonunda hayvanlar izole organ banyosu deneyleri ve western blot çalışmasına doku elde etmek amacıyla sakrifiye edilmiştir.

Deney akışı Şekil 3’de gösterilmiştir.



Şekil 3. 3. Gruba ait günlere göre deney akışı

4. Grup; Diyabet + NaHS Tedavi Grubu: Bu gruptaki sıçanlara T1DM modeli oluşturmak amacıyla hayvanlara 60 mg/kg olacak şekilde i.p. STZ, kan şekeri kontrolü sonrası uygulanmıştır. Enjeksiyondan 7 gün sonra hayvanlara kilo ve kan şekeri kontrolü yapılarak, kan şekeri düzeyi 250 mg/dl’nin üzerinde gelen hayvanlar diyabetik kabul edilerek çalışmaya dahil edilmiştir. Diyabetin vas deferens dokusu üzerinde yarattığı etkiye kronik hidrojen sülfür tedavisinin etkisini incelemek amacıyla bu gruptaki hayvanlara 8 hafta boyunca her gün 5 mg/kg olacak şekilde i.p. enjeksiyon olarak NaHS tedavisi uygulanmıştır. Deney süresince serbest bir şekilde yem ve su ile beslenen hayvanların haftalık kan şekeri ve kilo takibi yapılmıştır. 8 haftanın sonunda hayvanlar izole organ banyosu deneyleri ve western blot çalışmasına doku elde etmek amacıyla sakrifiye edilmiştir. Deney akışı Şekil 4’de gösterilmiştir.



Şekil 4. 4. Gruba ait günlere göre deney akışı

3.4. Vas Deferens Dokusunun Hazırlanması

1 hafta karantina, 1 hafta STZ/çözücü enjeksiyonu sonrası hastalık oluşması ve kan şekeri kontrolünün beklenmesi ve 8 haftalık tedavi olmak üzere toplam 10 haftalık sürenin ardından hayvanlar ketamin/ksilazin (45 mg/kg / 5 mg/kg, i.v.) ile anesteziye edildikten sonra intrakardiyak kan alımı yapılarak sakrifikasyonları sağlanmıştır. Karın, alt bölgenin orta hattından açılarak genitoüriner sisteme ulaşılmıştır. Ürogenital sistem toplu halde Şekil 5’te gösterildiği gibi çıkartılmıştır.



Şekil 5. Vas deferens dokusunun çıkartılması

Dokular önceden 37°C’ye ısıtılmış %5 CO₂, %95 O₂ karışımı ile havalandırılmış Krebs solüsyonuna alındı. Petrilerde vas deferens dokusu ürogenital sistemin geri kalanından ayrılmıştır. Vas deferens damar ve bağ dokudan temizlendikten sonra prostatik ve epididimal kısım olarak ikiye ayrılmış ve 3x3x20 mm boyutunda longitudinal şeritler halinde hazırlanmıştır. Dokular Krebs

solüsyonu içeren 20 ml'lik organ banyosuna bir ucu organ askısına diğer ucu izometrik kuvvet transdüserine (MAY, FDT35, COMMAT Ltd. Ankara, Türkiye) bağlı olacak şekilde organ banyosuna yerleştirilmiştir. İzometrik düz kas kasılma yanıtları transdüserler aracılığı ile (BIOPAC, MP35 System Inc, COMMAT Ltd., Ankara, Türkiye) kayıt edilmiştir.

3.5. Deney Protokolü

Deneyin başlangıcında dokulara 1 g ön gerim uygulanıp, ardından 15 dakika ara ile yıkanarak toplam 1 saat dengelenmeye bırakılmıştır. Dinlenme süresi boyunca bozulan gerim tekrar 1 g'a ayarlanmıştır. Dinlenme periyodunun ardından Elektriksel Alan Uyarısı (EAU) için dokular iki platin elektrod arasında vertikal olarak yer alacak ve elektrodlara değmeyecek şekilde konumlandırılmıştır. Elektriksel uyarı için STPT 03 Stimülatör (MAY STPT 03 Stimülatör Research Stimulator, COMMAT Ltd., Ankara, Türkiye) kullanılmıştır. Deney protokolleri başlamadan önce bilateral vas deferens şeritleri 80 mM KCl ile kasılmıştır. EAU, Noradrenalin hidroklorür ve α,β -metilen ATP aracılı kasılma yanıtları alınmış ve bu yanıtların, KCl aracılı kasılma sonuçlarına göre oranları değerlendirilmiştir.

3.5.1. EAU Aracılı Kasılma Yanıtlarının Alınması

Tüm deney gruplarında hem prostatik hem de epididimal vas deferens dokusunda EAU aracılı kasılma yanıtları 6 dakika aralıklar ile 10 saniye süre ile 60 V, 1 ms parametrelerinde 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 Hz'lerde alınmıştır (164, 165).

3.5.2. EAU Aracılı Kasılma Yanıtları Üzerine NO'nun Etkisinin Araştırılması

EAU yanıtları alındıktan sonra yıkama ve dinlenme periyodunun ardından aynı dokular bir NOS inhibitörü olan N-nitro-L-arjinin metil ester (L-NAME, 10^{-4} M) ile inkübe edilmiştir. Ardından tüm deney gruplarında hem prostatik hem de epididimal vas deferens dokusunda 6 dakika aralıklar ile 10 saniye süre ile 60 V, 1 ms parametrelerinde 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 Hz'lerde EAU aracılı kasılma yanıtları alınmıştır. L-NAME organ banyosuna kasılma yanıtları elde edilmeden 20 dakika önce eklenmiştir.

3.5.3. Noradrenalin Aracılı Kasılma Yanıtlarının Alınması

Tüm deney gruplarında hem prostatik hem de epididimal vas deferens dokusunda adrenerjik sistem aracılı kasılmanın incelenmesi için organ banyosuna artan dozlarda (10^{-6} , 10^{-5} , 10^{-4} M) noradrenalin hidroklorür verilerek kasılma yanıtları elde edilmiştir.

3.5.4. α,β -Metilen ATP Aracılı Kasılma Yanıtlarının Alınması

Tüm deney gruplarında hem prostatik hem de epididimal vas deferens dokusunda ATP aracılı kasılma yanıtlarının incelenmesi için organ banyosuna tek doz (10^{-5} M) α,β -metilen ATP verilerek kasılma yanıtları elde edilmiştir.

3.5.5. Western Blot Yöntemi ile Protein Analizi

Çalışmada housekeeping olarak beta-aktin (ACTB) proteini kullanılmış olup, CBS, CSE, IL-1 β , NF- κ β ve TGF- β protein ifadelerinin varlığı Western Blot

yöntemiyle belirlenmiştir. Western Blot yöntemi deneyleri Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı laboratuvarında yapılmıştır.

3.5.5.1. Sıçan Vas Deferens Doku Örneklerinden Protein Ekstraksiyonu

Tüm deney gruplarından alınan vas deferens örnekleri serum fizyolojik ile yıkandıktan sonra protein izolasyonunun yapıldığı güne kadar -80 °C'lik derin dondurucuda saklanmıştır. 100 mg doku örneği alınarak, buz üzerinde bistüri yardımıyla küçük parçalara ayrılmış ve ardından 1000 µl RIPA çözeltisi ile 10 µl proteaz inhibitör kokteyli eklenmiştir. Doku örnekleri homojenizatör buz üzerinde parçalandıktan sonra, örnekler +4 °C'de, 20 dakika 12.000 rpm'de santrifüj edilerek doku örneklerinden protein izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen örneklerle ait protein miktarı yükleme esnasında kuyucuklara eşit miktrarda protein yüklenmesini sağlamak amacıyla BCA Protein Assay kiti ile belirlenmiştir.

3.5.5.2. Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid (SDS-PAGE) Jelin Hazırlanması, Protein Yüklenmesi ve Elektroforez İşlemi

Jel hazırlanmasında kullanılan camlar jel kasetine yerleştirilmiştir. Ayırıcı jel (%10'luk) hazırlamak için 5,9 ml distile su, 5 ml %30'luk akrilamid/bisakrilamid karışımı, 3,8 ml 1,5 M tris bazı (pH 8.8), 0,15 ml %10 SDS, 0,15 ml % 10 APS ve 0,006 ml TEMED kullanılmıştır. Ayırıcı jel konulacak tarağın hizasına kadar dökülmüş ve ardından üzerine distile su eklenmiştir. Ayırıcı jel polimerize olduktan sonra, distile su uzaklaştırılarak ayırıcı jelin üzerine yığınlama jeli dökülmüştür. Yığınlama jelini (%4'lük) hazırlamak için 6,15 ml distile su, 1,34 ml %30'luk akrilamid/bisakrilamid karışımı, 2,5 ml 0,5 M tris bazı (pH 6.8), 0,1 ml %10 SDS,

0,05 ml % 10 APS ve 0,01 ml TEMED kullanılmıştır. Yığınlama jeli döküldükten hemen sonra taraklar takılarak kuyucukların oluşması sağlanmıştır. Yığınlama jeli polimerleşince sistem yükleme işlemine hazır hale gelmiştir. Yükleme için, -20 °C’de saklanan protein örnekleri önce +4 °C’de bekletilmiş, daha sonra kuru ısıtıcı blokta 95 °C’de 5 dakika süre tutularak denatüre olması sağlanmıştır. 5 dakika +4 °C’de soğumaya bırakılan ve içerdikleri toplam protein konsantrasyonları saptanmış olan protein lizatlarından 20 µg/ml (eşit miktarda) alınmış ve 4X Laemmli yükleme tamponu ile (%10 SDS, 20% Gliserol, %0.01 Bromofenol mavisi, 0.3125 M Tris HCl pH:6.8) 3:1 oranında karıştırılmıştır. Jelin polimerleşmesinin ardından jel kaseti dikey elektroforez sistemine yerleştirilmiş, taraklar çıkartılarak ilk kuyucuğa boyalı peroksidaz işaretli protein moleküler ağırlık belirteci ve diğer kuyucuklara sırasıyla protein örnekleri yüklenmiştir. Elektroforez işlemi +4 °C’de 120 V’da gerçekleştirilmiştir. Bu sayede proteinlerin yürütme tamponu aracılığıyla moleküler ağırlıklarına göre ayrılması sağlanmıştır.

3.5.5.3. Transfer İşlemi

Elektroforez işlemi bittikten sonra jel, camlardan ayrılarak transfer tamponuna alınmıştır. Transfer sistem tepsisine, transfer solüsyonu ile ıslatılmış pedlerin üzerine, metanol ile aktive edilmiş 0,2 µm poliviniliden flörür (PVDF) membranlar yerleştirilmiştir. Yarı-ıslak transfer sistemi tepsisi içinde, membranların üzerine arada boşluk kalmayacak şekilde jeller yerleştirilmiştir. Ardından jelin üstüne transfer solüsyonu ile ıslatılmış ped konularak transfer sistemi hazırlanmıştır. Yarı-ıslak transfer sistemi kullanılarak (Trans-Blot Turbo, Biorad) 30 dakikada transfer gerçekleştirilmiştir.

3.5.5.4. Bloklama ve Membran Üzerindeki Proteinlerin İmmünolojik Gösterilmesi

Transfer işleminin ardından, birincil antikorların özgül olmayan bağlanmasını engellemek maksadıyla membranlar TBS-T (%0,1 Tween-20 eklenmiş tris-tamponlu tuz) içerisinde hazırlanmış %3 BSA çözeltisi ile 1 saat oda sıcaklığında otomatik yatay çalkalayıcı üzerinde bloklama işlemine tabi tutulmuştur. Bloklama işleminin ardından membranlar bloklama amaçlı kullanılan tamponun içerisinde anti-CBS, anti-CSE, anti-TGF- β , anti-IL-1 β ve anti-NF- $\kappa\beta$ için her bir primer antikor 1:1000 oranında seyreltilerek ve housekeeping olarak anti- β -aktin (1:1000), +4 °C’de bir gece otomatik yatay çalkalayıcı üzerinde inkübe edilmiştir. Bir gecelik sürenin ardından membranlar, 3’er kez 10 dakika olacak şekilde TBS-T tamponu içerisinde yatay çalkalayıcı üzerinde yıkanmıştır. Yıkama işleminin ardından membranlar %3 BSA içeren 1X TBST içerisinde seyreltilmiş anti-tavşan IgG, HRP konjuge sekonder antikor ile oda sıcaklığında 2 saat inkübe edilmiştir. Sekonder antikor ile inkübasyon süresinin ardından membranlar 10 dakika boyunca 3’er kez 1X TBST çözeltisinde yıkanmıştır.

3.5.5.5. Görüntüleme ve Analiz

Membranlar kemilüminesans ışımaya veren kromojen substrat (Luminata Forte Western HRP Substrate, Millipore, Almanya) ile muamele edilmiştir. Elde edilen kemilüminesans ışımının Kodak Gel Logic 2200 Carestream (ABD) görüntüleme sisteminde fotoğrafı çekilerek bant görüntüleri kaydedilmiştir. Western blot analizi her bir antikor için en az 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir (166). Görüntüleme sonuçlarının analizi için membrandaki spesifik bantların optik

yoğunluğu Image J programı kullanılarak belirlenmiştir. β -aktin'in optik yoğunluğuna göre normalize edilip, her membrandaki standart kontrol grubu normalize edilmiş değere göre bağıl değerlere çevrilmiştir.

3.6. Deneylerde Kullanılan Madde ve Solüsyonlar

Streptozotosin (Sigma, ABD), hazır halde temin edilen sitrat buffer (Sigma, ABD) solüsyonu içerisinde enjeksiyon uygulamasından hemen önce çözündürülerek hazırlanmıştır.

NaHS (Sigma, ABD) enjeksiyon uygulamasından önce distile suda çözündürülerek hazırlanmıştır.

Banyo solüsyonu olarak kullanılan Krebs-Henseleit çözeltisi (mM): NaCl 118; KCl 4.7; NaHCO₃ 25; NaH₂PO₄-2H₂O 0.9; CaCl₂-2H₂O 1.26; MgCl-6H₂O 0.5; Glukoz monohidrat 11.

80 mM KCl'lik Krebs-Henseleit çözeltisi (mM): NaCl 42.7; KCl 80.0 mM; NaHCO₃ 25; NaH₂PO₄-2H₂O 0.9; CaCl₂-2H₂O 1.26; MgCl-6H₂O 0.5; Glukoz monohidrat 11.

L-Norepinefrin Hidroklorid (Sigma, ABD) kullanım öncesi distile suda çözündürülerek hazırlanmıştır.

α , β -Metilenadenozin 5-trifosfar lityum (Sigma, ABD) kullanım öncesi distile suda çözündürülerek hazırlanmıştır.

L-NAME (Sigma, ABD) kullanım öncesi distile suda çözündürülerek hazırlanmıştır.

Beta Actin Monoclonal Antibody (Cell Signal Tecn.), CBS (Cell Signal Tecn), CSE (Cell Signal Tecn.), TGF- β (Cell Signal Tecn), IL-1 β (Abcam) ve NF- $\kappa\beta$ (Cell Signal Tecn) primer antikorları, 9 ml TBS-T içerisinde çözdürülmüş 1 ml Bovine Serum Albumin (BSA/Sigma, ABD) solüsyonuna kendi dilüsyon faktörleri dikkate alınarak eklenmiş ve kullanılabilecek +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

Goat anti-tavşan IgG (Cell Signal Tecn) sekonder antikoru, 13,5 ml TBS-T içerisinde çözdürülmüş 1,5 BSA solüsyonuna kendi dilüsyon faktörüne göre eklenmiş ve kullanılabilecek 4 °C’de muhafaza edilmiştir.

1,5 M Tris-HCl Çözeltisi: 36,3 g Tris baz 150 ml ultra saf su içinde çözdürülmüştür. pH metre ile takip edilerek pH 8.8’ e ulaşıncaya dek çözeltiye HCl eklenmiştir. Ardından ultra saf su eklenmiş ve çözelti 200 ml’ye tamamlanmıştır. Çözelti kullanılabilecek +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

0,5 M Tris-HCl Çözeltisi: 12,1 g Tris baz 50 ml ultra saf su içinde çözdürülmüştür. pH metre ile takip edilerek pH 6.8’ e ulaşıncaya dek çözeltiye HCl eklenmiştir. Ardından ultra saf su eklenmiş ve çözelti 200 ml’ye tamamlanmıştır. Çözelti kullanılabilecek +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

Sodyum Dodesil Sülfat Çözeltisi: 1 g Sodyum Dodesil Sülfat (SDS/ Thermo Fisher Scientific, Almanya) 10 ml ultra saf su ile çözdürülmüştür ve oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

Amonyum Persülfat Çözeltisi (%10): 0,1 g Amonyum Persülfat (APS/Sigma, ABD) 1 ml ultra saf su içinde çözdürülmüştür ve kullanılabilecek +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

Akrilamid-Bisakrilamid Çözeltisi (%30): 29 g Akrilamid (Thermo-Fisher, Almanya) ve 1 g Bisakrilamid (Thermo-Fisher, Almanya) 100 ml ultra saf su ile çözdürülmüştür ve kullanılabilecek şekilde +4 °C’de ışık almayacak şekilde muhafaza edilmiştir.

1X Jel Yürütme Tamponu (Running Buffer): 10X’lik yürütme tamponu stokundan 100 ml alınarak 900 ml ultra saf suda çözdürülmüş ve oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

1X Jel Transfer Tamponu: 10X’lik transfer tamponu stokundan 100 ml alınmıştır ve üzerine 200 ml metanol eklenerek 700 ml ultra saf su içerisinde çözdürülmüş, kullanılabilecek şekilde +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

1X Tris Buffer Saline-Tween 20 (TBS-T) Çözeltisi: 10X’lik TBS stokundan 100 ml alınmıştır ve üzerine 1 ml Tween 20 eklenerek 900 ml ultra saf su içinde çözdürülmüştür, oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

1X BSA Bloklama Çözeltisi: 10X’lik Bovine Serum Albumin (BSA) Bloklama solüsyonu stokundan 1 ml alınarak 9 ml TBS-T içinde çözdürülmüştür ve kullanılabilecek şekilde +4 °C’de muhafaza edilmiştir.

3.7. İstatistiksel Analiz

Veriler hesaplanırken, EAU, L-NAME inkübasyonunda EAU, Noradrenalin ve ATP kasılma yanıtları KCl kasılma yanıtlarına oranlanarak yüzdeleri esas alınmıştır. Gruplar arası ikili karşılaştırmalar için Mann-Whitney U testi, ikiden fazla grup karşılaştırması için Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Aynı dokular için L-NAME öncesi ve sonrası EAU yanıtlarının kıyaslanması amacıyla Wilcoxon testi

kullanılmıştır. Veriler ortalama $\pm$ SEM olarak ifade edilmiştir. Tüm istatistiksel analizler SPSS (IBM Corp. Version 29.0.2.0. NY, ABD) programı kullanılarak yapılmıştır. $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4.BULGULAR

4.1. Hayvanların Kilo ve Kan Şekeri Ölçüm Sonuçları

Kontrol ve NaHS grubuna ait deney hayvanlarının kan şekeri değerlerinde 8 haftalık deney süresi boyunca anlamlı bir değişiklik görülmemiştir. Kontrol grubuna ait hayvanların 1. Hafta ortalama kilo değeri 309,83 gram olarak ölçülürken, son hafta 389,50 gram olarak ölçülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bir kilo artışı saptanmıştır. NaHS grubuna ait hayvanların 1. Hafta ortalama kilo değeri 300,67 gram olarak ölçülürken, son hafta 367 gram olarak ölçülmüş ve istatistiksel olarak anlamlı bir kilo artışı saptanmıştır.

Diyabet grubuna ait hayvanların deneyin 1. Haftasında kan şekeri plazma değeri ortalamaları 494,90 mg/dl, deneyin son haftasına geldiklerinde kan şekeri plazma değeri ortalamaları 407,25 mg/dl'dir. Bu gruptaki hayvanların ağırlık ortalamaları deneyin 1. Haftasında 293,60 gram iken, deneyin son haftasına geldiklerinde 313,75 gram olarak ölçülmüştür. Diyabet + NaHS tedavi grubuna ait hayvanların deneyin 1.Haftasında kan şekeri plazma değeri ortalamaları 581,90 mg/dl, deneyin son haftasında 537,44 mg/dl olarak ölçülmüştür. Bu gruptaki hayvanların ağırlık ortalamaları deneyin 1. Haftasında 278,30 gram iken, deneyin son haftasına geldiklerinde 242,67 gram olarak ölçülmüştür. Deney gruplarına ait kilo ve kan şekeri ölçümlerinin sonuçları Tablo 1 ve Tablo 2'de özetlenmiştir.

Tablo 2. Deney Gruplarına Ait Hayvan Ağırlığı Ölçüm Sonuçları

HAYVAN AĞIRLIĞI	0.Gün Ölçümü	7.Gün Ölçümü	56.Gün Ölçümü
Kontrol Grubu	295,56 ± 12,48	309,83 ± 13,14	389,5 ± 19,97
NaHS Grubu	286,66 ± 4,19	300,67 ± 10,13	367 ± 16,76
Diyabet Grubu	316 ± 11,34	294,38 ± 15,61	313,75 ± 29,53
Diyabet+NaHS Tedavi Grubu	304,77 ± 9,01	276,67 ± 10,63	242,67 ± 16,44

Tablo 3. Deney Gruplarına Ait Kan Şekeri Ölçüm Sonuçları

KAN ŞEKERİ	0.Gün Ölçümü	7.Gün Ölçümü	56.Gün Ölçümü
Kontrol Grubu	129,83 ± 2,54	135,17 ± 2,95	111,33 ± 7,27
NaHS Grubu	140,33 ± 2,98	141,5 ± 4,54	137,83 ± 6,6
Diyabet Grubu	136,83 ± 4,71	541,89 ± 38,72	407,25 ± 66,63
Diyabet+NaHS Tedavi Grubu	149,50 ± 4,12	579,89 ± 14,12	537,44 ± 31,65

4.2. İzole Organ Banyosunda Prostatik Uçta Elde Edilen Kasılma Yanıtları

4.2.1. Prostatik Uçta Elde Edilen EAU Aracılı Kasılma Yanıtları

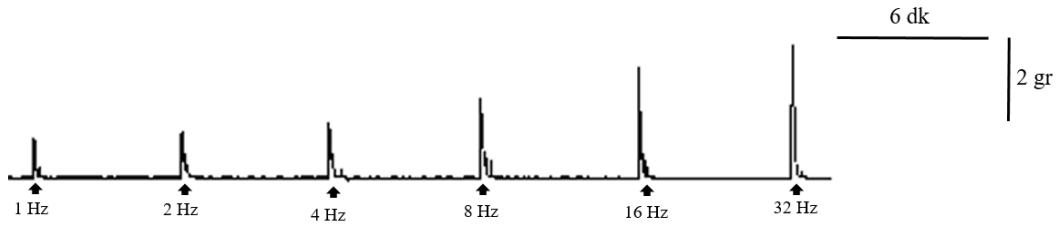
EAU ile kasılma yanıtları alınmadan önce KCl ile kasılma yanıtları elde edilmiştir. Prostatik uçta elde edilen KCl ve EAU’da farklı Hz’lere ait kasılma yanıtları (gram olarak) Tablo 3’te sunulmuştur.

Tablo 4. Prostatik Uçta Elde Edilen KCl ve EAU Aracılı Kasılma Yanıtları

Grup	KCl (g)	1 Hz (g)	2 Hz (g)	4 Hz (g)	8 Hz (g)	16 Hz (g)	32 Hz (g)
Kontrol	2367±164	559±77	711±98	889±82	1061±116	1682±52	3272±178
NaHS	2350±192	664±160	1078±191	1624±285	2361±420	3319±58	4259±178
Diyabet	2848±371*	565±106	796±146	1084±191	1381±228	1875±281	2985±356
Diyabet+NaHS Tedavi	3338±209	1042±149	1355±158	1639±183	2214±240	2868±348	3990±410

* Kontrole göre anlamlılığı göstermektedir

1, 2, 4, 8, 16 ve 32 Hz frekanslarında prostatik uçta EAU aracılı kasılma yanıtları alınmıştır. Prostatik uçta EAU aracılı kasılma yanıtına ait örnek trase örneği Şekil 6’da sunulmuştur.



Şekil 6. Prostatik uçta EAU aracılı kasılma yanıtları

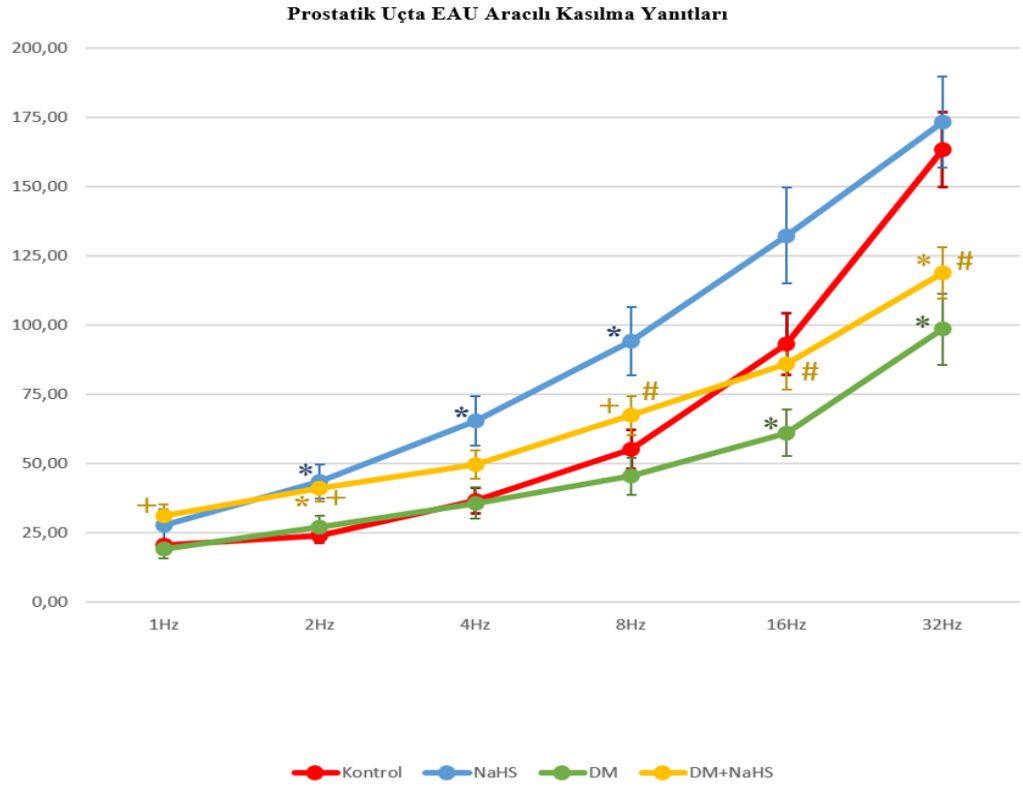
NaHS grubunda EAU aracılı kasılma yanıtlarında kontrole göre (1.Grup) 2, 4 ve 8 Hz’te anlamlı bir şekilde artış görülmektedir ($p<0.05$, Grafik 1).

Diyabet grubunda (3. Grup) EAU aracılı kasılma yanıtlarında 16 ve 32 Hz frekanslarında kontrole göre anlamlı bir şekilde azalma görülmektedir ($p <0.05$, grafik 1).

Diyabet+NaHS tedavi grubunda EAU aracılı kasılma yanıtları kontrole göre düşük Hz’lerde (1, 2, 4, 8 Hz) artış görülürken (2Hz’te $p <0.05$, grafik 1), 16 ve 32 Hz’te azalma görülmektedir (32 Hz’te $p <0.05$, Grafik 1).

NaHS ve Diyabet+NaHS tedavi grupları kıyaslandığı zaman, DM+NaHS tedavi grubunda NaHS grubuna kıyasla EAU aracılı kasılma yanıtlarında 8, 16 ve 32 Hz değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş bulunmaktadır ($p<0.05$, Grafik 1).

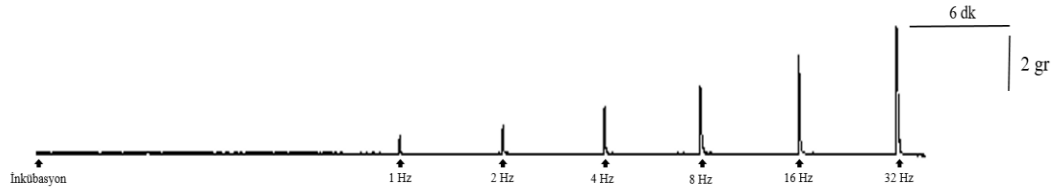
Diyabet ve Diyabet+NaHS tedavi grupları kıyaslandığı zaman, Diyabet+NaHS tedavi grubunda EAU aracılı kasılma yanıtlarında 1, 2 ve 8 Hz frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görülmektedir ($p<0.05$, Grafik 1).



Grafik 1. Prostatik uçta EAU aracılı kasılma yanıtları. * kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p<0.05$). + Diyabet grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p<0.05$) # NaHS grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p<0.05$). (Kontrol ve NaHS grubu için $n=8$, Diyabet ve Diyabet+NaHS tedavi grubu için $n=12$).

4.2.2. Prostatik Uçta L-NAME Varlığında Elde Edilen EAU Aracılı Kasılma Yanıtları

İzole organ banyosuna L-NAME (10^{-4} M) eklendikten 20 dakika sonra 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 Hz frekanslarında prostatik uçta EAU aracılı kasılma yanıtları alınmıştır. Prostatik uçta L-NAME varlığında EAU aracılı kasılma yanıtına ait örnek trase Şekil 7’de sunulmuştur.



Şekil 7. Prostatik uçta L-NAME varlığında EAU aracılı kasılma yanıtları

NaHS grubunda L-NAME varlığında alınan EAU aracılı kasılma yanıtlarında kontrole kıyasla 2 ve 4 Hz frekanslarında anlamlı bir şekilde artış görülmektedir ($p < 0.05$, Grafik 2).

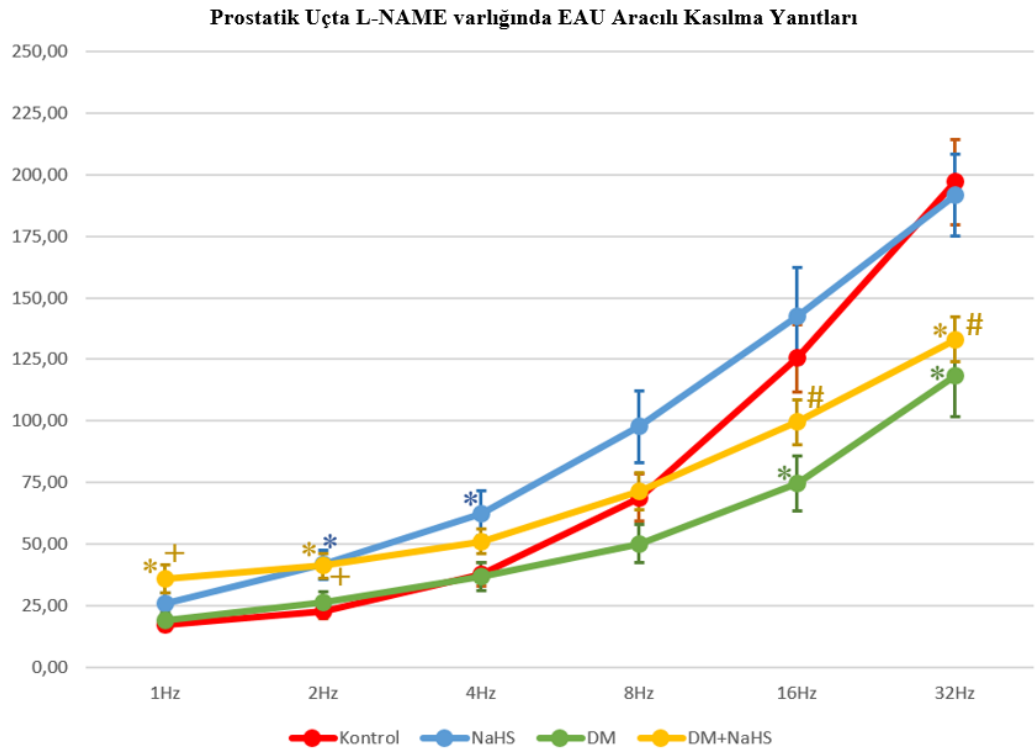
Diyabet grubunda L-NAME varlığında alınan EAU aracılı kasılma yanıtlarında kontrole kıyasla 16 ve 32 Hz frekanslarında anlamlı bir düşüş görülmüştür ($p < 0.05$, Grafik 2).

Diyabet+NaHS tedavi grubunda L-NAME varlığında alınan EAU aracılı kasılma yanıtlarında kontrole kıyasla 1 ve 2 Hz frekanslarında anlamlı bir artış ($p < 0.05$, Grafik 2) görülürken, 32 Hz frekansında anlamlı bir düşüş görülmektedir ($p < 0.05$, Grafik 2).

NaHS ve Diyabet+NaHS tedavi grupları kıyaslandığı zaman, DM+NaHS tedavi grubunda L-NAME varlığında elde edilen EAU aracılı kasılma yanıtlarında,

NaHS grubuna kıyasla 16 ve 32 Hz frekanslarında anlamlı bir düşüş olduğu saptanmaktadır ($p < 0.05$, Grafik 2).

Diyabet ve Diyabet+NaHS tedavi grupları kıyaslandığı zaman, Diyabet+NaHS tedavi grubunda, diyabet grubundaki L-NAME varlığında elde edilen EAU aracılı kasılma yanıtlarına 1 ve 2 Hz frekanslarında anlamlı bir artış olduğu görülmektedir ($p < 0.05$, Grafik 2).



Grafik 2. Prostatik uçta L-NAME varlığında EAU aracılı kasılma yanıtları. * kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0.05$). **+** Diyabet grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0.05$). **#** NaHS grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0.05$). (Kontrol ve NaHS grubu için $n=8$, Diyabet ve Diyabet+NaHS tedavi grubu için $n=12$).

4.2.3. Prostatik Uçta EAU Yanıtları Üzerine Nitrik Oksitin Etkisi

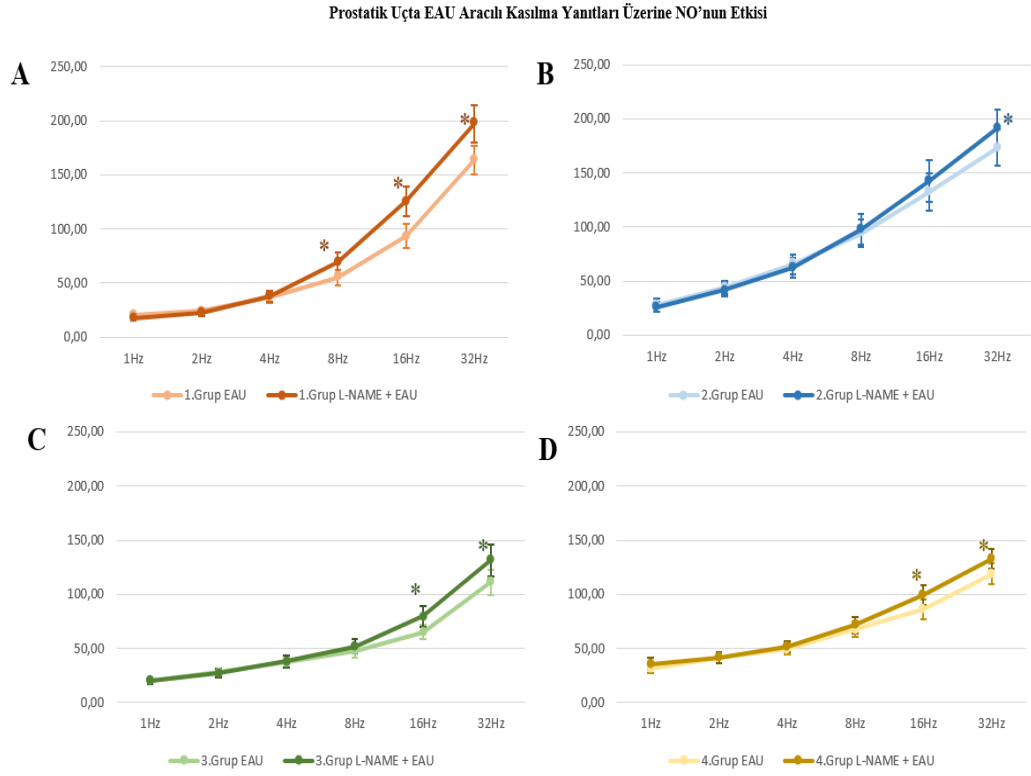
NO bağımsız yanıtları elde etmek için 1-32 Hz frekanslarındaki EAU aracılı kasılma yanıtları L-NAME inkübasyonu ile elde edilmiştir.

Kontrol grubunda NO bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtlarında, NO bağımlı gruba kıyasla 8, 16 ve 32 Hz frekanslarında anlamlı bir artış görülmektedir ($p < 0.05$, Grafik 3A).

NaHS grubunda NO bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtlarında, NO bağımlı gruba kıyasla 32 Hz'te anlamlı bir artış görülmektedir ($p < 0.05$, Grafik 3B).

Diyabet grubunda NO bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtlarında, NO bağımlı gruba kıyasla 16 ve 32 Hz frekanslarında anlamlı bir artış görülmektedir ($p < 0.05$, Grafik 3C).

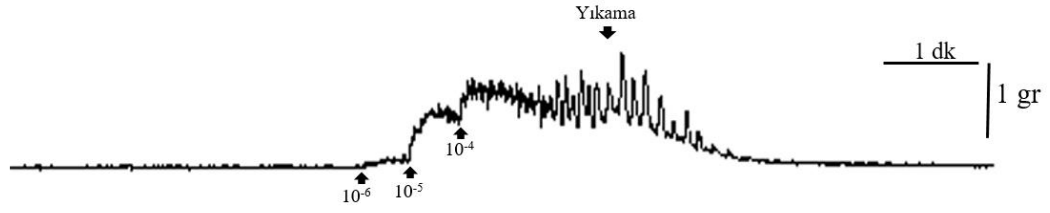
Diyabet+NaHS tedavi grubunda NO bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtlarında, NO bağımlı gruba kıyasla 16 ve 32 Hz frekanslarında anlamlı bir artış görülmektedir ($p < 0.05$, Grafik 3D).



Grafik 3. A. Kontrol grubunda prostatik uçta NO'nun EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine etkisi. B. NaHS grubunda prostatik uçta NO'nun EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine etkisi. C. Diyabet grubunda prostatik uçta NO'nun EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine etkisi. D. Diyabet+NaHS tedavi grubunda prostatik uçta NO'nun EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine etkisi. * L-NAME uygulama sonrasında alınan yanıtların, uygulama öncesi yanıtlarına göre anlamlılığını göstermektedir ($p<0.05$) (Kontrol ve NaHS grubu için $n=8$, Diyabet ve Diyabet+NaHS tedavi grubu için $n=12$).

4.2.4. Prostatik Uçta Elde Edilen Noradrenalin Aracılı Kasılma Yanıtları

Prostatik uçta 10^{-6} - 10^{-4} M şeklinde artan dozlarda Noradrenalin aracılı kasılma yanıtları elde edilmiştir. Noradrenalin aracılı kasılma kasılma yanıtına ait örnek trase Şekil 8'de sunulmuştur.



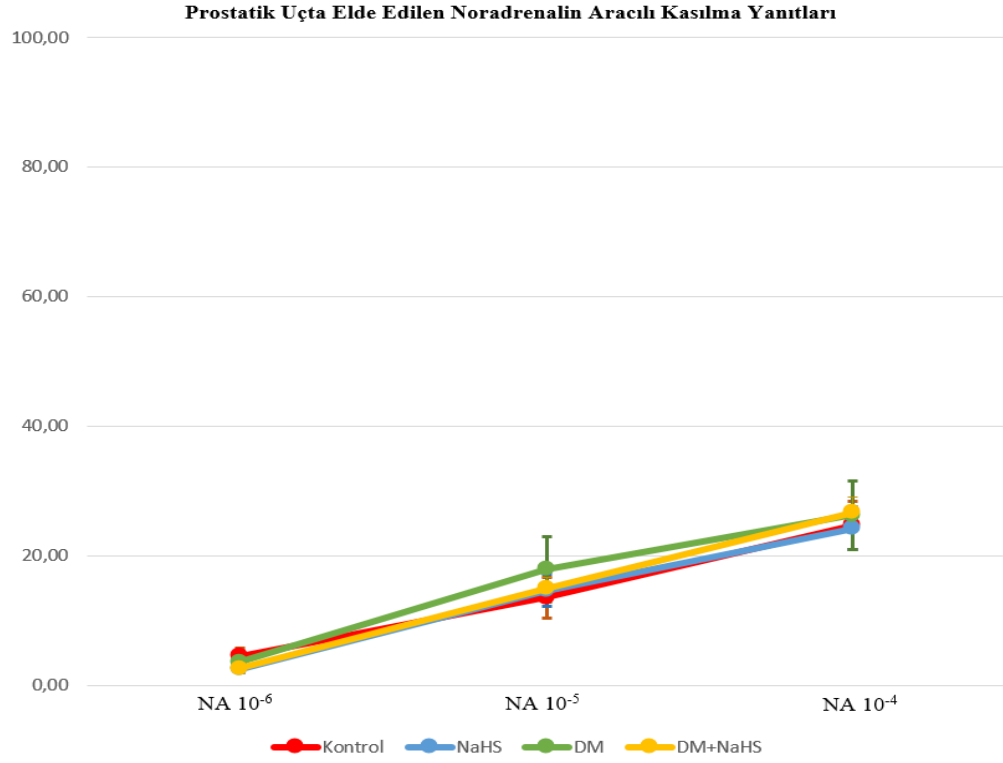
Şekil 8. Prostatik uçta Noradrenalin aracılı kasılma yanıtı

NaHS grubunda prostatik uçta elde edilen Noradrenalin aracılı kasılma yanıtlarında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Grafik 4).

Diyabet ve Diyabet+NaHS tedavi gruplarında elde edilen Noradrenalin aracılı kasılma yanıtlarında kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Grafik 4).

NaHS ve Diyabet+NaHS tedavi grupları kıyaslandığında Noradrenalin aracılı kasılma yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır (Grafik 4).

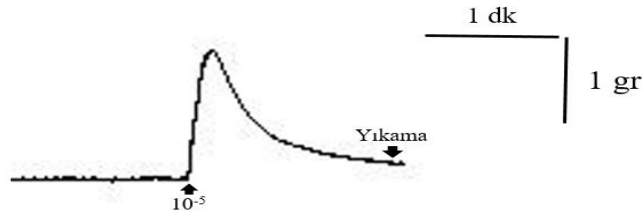
Diyabet ve Diyabet+NaHS grupları kıyaslandığında Noradrenalin aracılı kasılma yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır (Grafik 4).



Grafik 4. Prostatik uçta artan Noradrenalin ile elde edilen kasılma yanıtları. (Kontrol ve NaHS grubu için n=8, Diyabet ve Diyabet+NaHS tedavi grubu için n=12).

4.2.5. Prostatik Uçta Elde Edilen ATP Aracılı Kasılma Yanıtları

Prostatik uçta 10^{-5} M olarak tek doz olacak şekilde α, β -metilen ATP ile kasılma yanıtları elde edilmiştir. ATP ile elde edilen kasılma kasılma yanıtına ait örnek trase Şekil 9’da sunulmuştur.



Şekil 9. Prostatik uçta ATP aracılı kasılma yanıtı

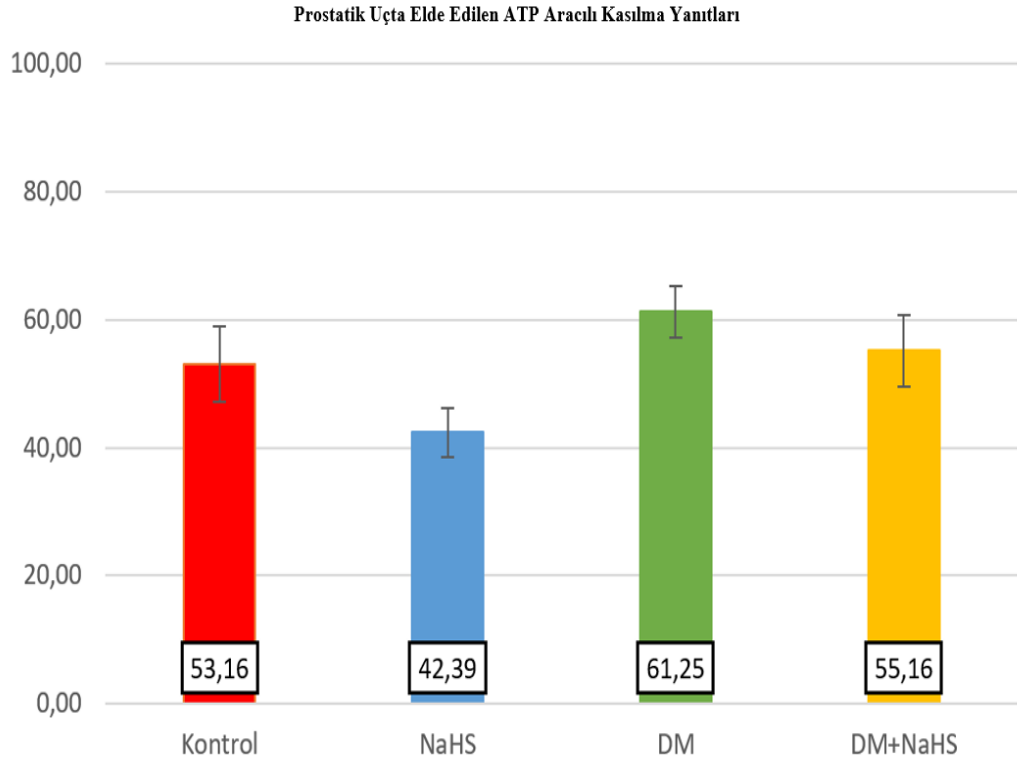
NaHS grubunda prostatik uçta elde edilen ATP aracılı kasılma yanıtlarında kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Grafik 5).

Diyabet grubunda elde edilen ATP aracılı kasılma yanıtlarında kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır (Grafik 5).

Diyabet+NaHS tedavi grubunda elde edilen ATP aracılı kasılma yanıtlarında kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır (Grafik 5).

NaHS ve Diyabet+NaHS tedavi grupları kıyaslandığında ATP aracılı kasılma yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır (Grafik 5).

Diyabet ve Diyabet+NaHS tedavi grupları kıyaslandığında ATP aracılı kasılma yanıtlarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır (Grafik 5).



Grafik 5. Prostatik uçta α,β -metilen ATP ile elde edilen kasılma yanıtları. (Kontrol ve NaHS grubu için n=8, Diyabet ve Diyabet+NaHS tedavi grubu için n=12).

4.3. İzole Organ Banyosunda Epididimal Uçta Elde Edilen Kasılma Yanıtları

4.3.1. Epididimal Uçta Elde Edilen EAU Aracılı Kasılma Yanıtları

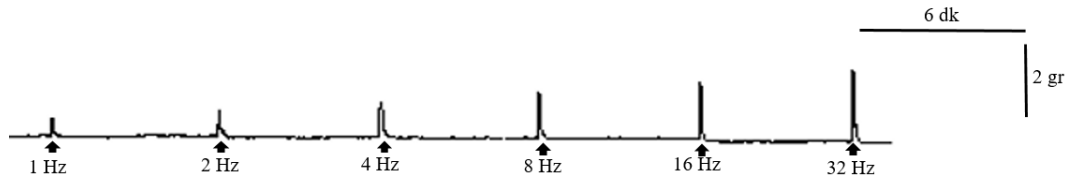
EAU ile kasılma yanıtları alınmadan önce KCl ile kasılma yanıtları elde edilmiştir. Epididimal uçta elde edilen KCl ve EAU'da farklı Hz'lere ait kasılma yanıtları (gram olarak) Tablo 5'te sunulmuştur.

Tablo 5. Epididimal Uçta Elde Edilen KCl ve EAU Aracılı Kasılma Yanıtları

Grup	KCl (g)	1Hz(g)	2 Hz (g)	4 Hz (g)	8 Hz (g)	16 Hz (g)	32 Hz (g)
Kontrol	652±109	126±34	335±96	663±281	1177±394	2189±163	3774±363
NaHS	859±183	344±78	758±145	1361±255	2278±367	3222±361	4055±329
Diyabet	1097±120	332±90	556±130	801±149	1422±183	2715±182	3773±237
Diyabet+NaHS Tedavi	895±129*	378±68	599±97	1006±156	1725±201	2647±210	3075±417

* Kontrole göre anlamlılığı göstermektedir

1, 2, 4, 8, 16 ve 32 Hz frekanslarında epididimal uçta EAU aracılı kasılma yanıtları alınmıştır. Epididimal uçta EAU aracılı yanıtına ait örnek trase örneği Şekil 10'da sunulmuştur.



Şekil 10. Epididimal uçta EAU aracılı kasılma yanıtı

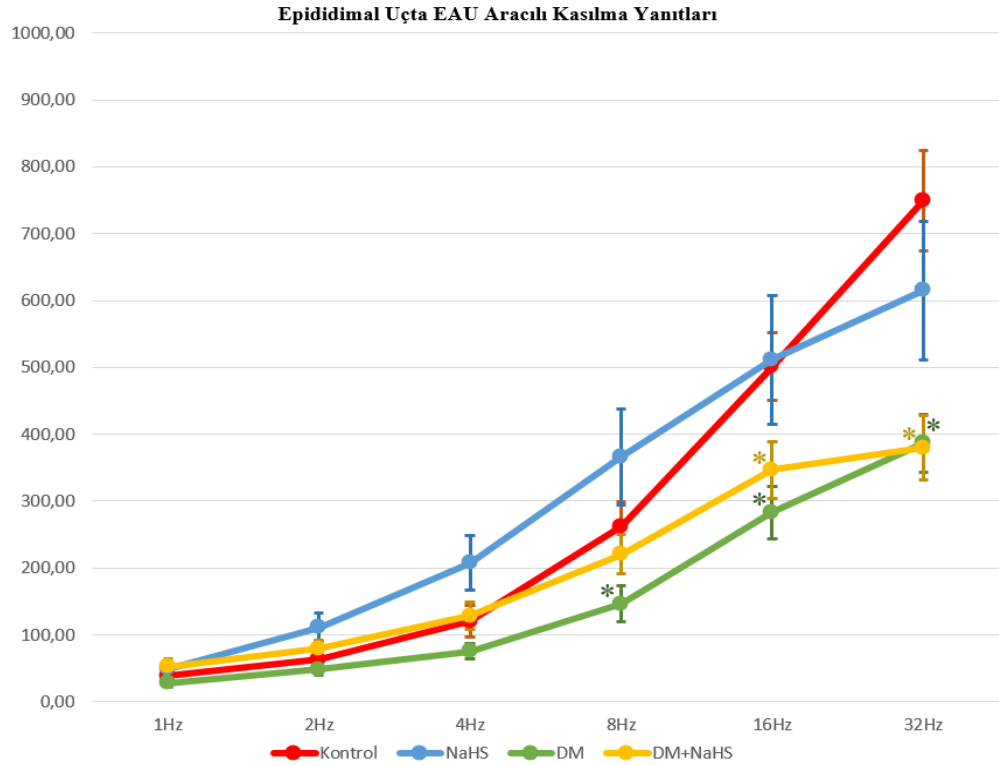
NaHS grubunda EAU aracılı kasılma yanıtlarında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Grafik 6).

Diyabet grubunda EAU aracılı kasılma yanıtlarında kontrol grubuna kıyasla 8, 16 ve 32 Hz frekanslarındaki istatistiksel olarak anlamlı düşüş görülmektedir ($p < 0.05$, Grafik 6).

Diyabet+NaHS tedavi grubunda EAU aracılı kasılma yanıtlarında kontrole göre 16 ve 32 Hz frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş görülmektedir ($p < 0.05$, Grafik 6).

NaHS ve Diyabet+NaHS tedavi grupları kıyaslandığı zaman, Diyabet+NaHS tedavi grubunda NaHS grubuna kıyasla EAU aracılı kasılma yanıtlarında anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Grafik 6).

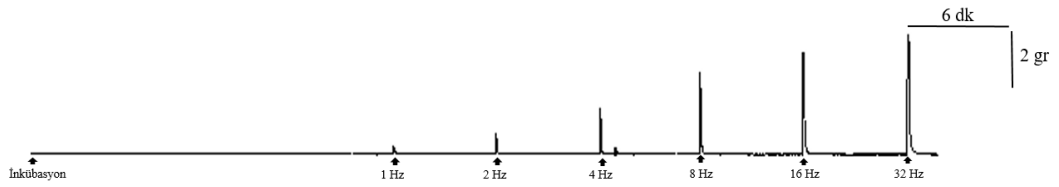
Diyabet ve Diyabet+NaHS tedavi grupları kıyaslandığı zaman, Diyabet+NaHS tedavi grubunda EAU aracılı kasılma yanıtlarında Diyabet grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Grafik 6).



Grafik 6. Epididimal uçta EAU aracılı kasılma yanıtları. * kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0.05$) (Kontrol ve NaHS grubu için $n=8$, Diyabet ve Diyabet+NaHS tedavi grubu için $n=12$).

4.3.2. Epididimal Uçta L-NAME Varlığında Elde Edilen EAU Aracılı Kasılma Yanıtları

İzole organ banyosuna L-NAME eklendikten 20 dakika sonra 1-32 Hz frekanslarında epididimal uçta EAU aracılı kasılma yanıtları alınmıştır. Epididimal uçta L-NAME varlığında EAU aracılı kasılma yanıtına ait örnek trase Şekil 11’de sunulmuştur.



Şekil 11. Epididimal uçta L-NAME varlığında EAU aracılı kasılma yanıtları.

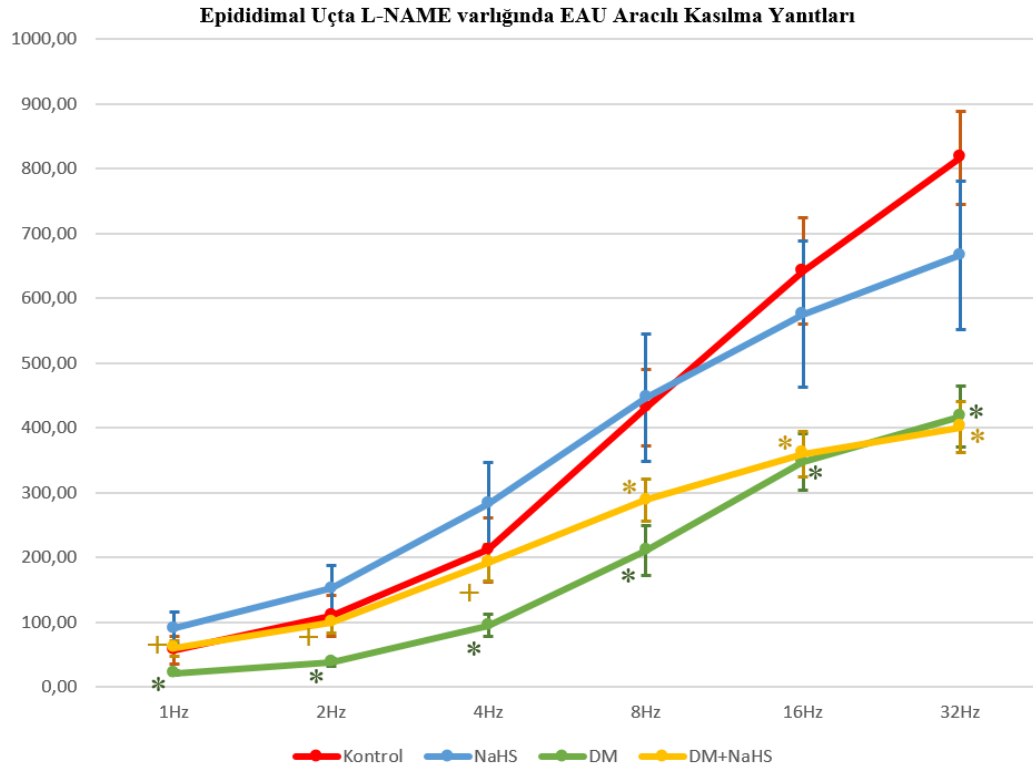
NaHS grubunda L-NAME varlığında elde edilen EAU aracılı kasılma yanıtlarında kontrole göre anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Grafik 7).

Diyabet grubunda L-NAME varlığında alınan EAU aracılı kasılma yanıtlarında kontrol grubuna kıyasla 1, 2, 4, 8, 16 ve 32 Hz frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlenmektedir ($p < 0.05$, Grafik 7).

Diyabet+NaHS tedavi grubunda L-NAME varlığında alınan EAU aracılı kasılma yanıtlarında kontrole kıyasla 8, 16 ve 32 Hz frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş gözlemlenmektedir ($p < 0.05$, Grafik 7).

NaHS ve Diyabet+NaHS tedavi grupları kıyaslandığı zaman, Diyabet+NaHS tedavi grubunda L-NAME varlığında elde edilen EAU aracılı kasılma yanıtlarında, NaHS grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (Grafik 7).

Diyabet ve Diyabet+NaHS tedavi grupları kıyaslandığı zaman, Diyabet+NaHS tedavi grubunda, Diyabet grubundaki L-NAME varlığında elde edilen EAU aracılı kasılma yanıtına kıyasla 1, 2 ve 4 Hz frekanslarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmektedir ($p < 0.05$, Grafik 7).



Grafik 7. Epididimal uçta L-NAME varlığında elde edilen EAU aracılı kasılma yanıtları. * kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0.05$). + Diyabet grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0.05$) (Kontrol ve NaHS grubu için $n=8$, Diyabet ve Diyabet+NaHS tedavi grubu için $n=12$).

4.3.3. Epididimal Uçta EAU Yanıtları Üzerine NO'nun Etkisi

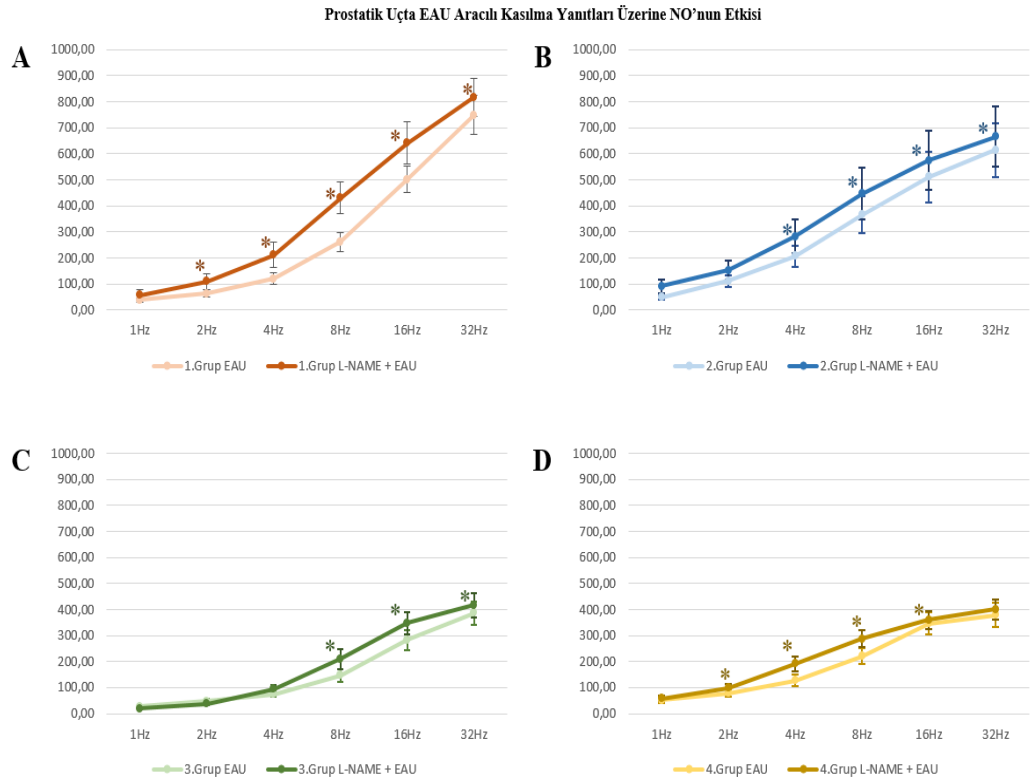
NO bağımsız yanıtları elde etmek için 1-32 Hz frekanslarındaki EAU aracılı kasılma yanıtları L-NAME inkübasyonu varlığında alınmıştır.

Kontrol grubunda NO bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtlarında, NO bağımlı gruba kıyasla 2, 4, 8, 16 ve 32 Hz frekanslarında anlamlı bir artış bulunmaktadır ($p<0.05$, Grafik 8A).

NaHS grubunda NO bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtlarında, NO bağımlı gruba kıyasla 4, 8, 16 ve 32 Hz frekanslarında anlamlı bir artış bulunmaktadır ($p<0.05$, Grafik 8B).

Diyabet grubunda NO bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtlarında, NO bağımlı gruba kıyasla 8, 16 ve 32 Hz frekanslarında anlamlı bir artış bulunmaktadır ($p<0.05$, Grafik 8C).

Diyabet+NaHS tedavi grubunda NO bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtlarında, NO bağımlı gruba kıyasla 2, 4, 8 ve 16 Hz frekanslarında anlamlı bir artış bulunmaktadır ($p<0.05$, Grafik 8D).



Grafik 8. A. Kontrol grubunda epididimal uçta NO'nun EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine etkisi. B. NaHS grubunda epididimal uçta NO'nun EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine etkisi. C. Diyabet grubunda epididimal uçta NO'nun EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine etkisi. D. Diyabet+NaHS tedavi grubunda epididimal uçta NO'nun EAU aracılı kasılma yanıtları üzerine etkisi. * L-NAME uygulama sonrasında alınan yanıtların, uygulama öncesi yanıtlarına göre anlamlılığını göstermektedir ($p < 0.05$) (Kontrol ve NaHS grubu için $n=8$, Diyabet ve Diyabet+NaHS tedavi grubu için $n=12$).

4.3.4. Epididimal Uçta Elde Edilen Noradrenalin Aracılı Kasılma Yanıtları

Epididimal uçta 10^{-6} , 10^{-5} ve 10^{-4} M şeklinde artan dozlarda Noradrenalin aracılı kasılma yanıtları elde edilmiştir.

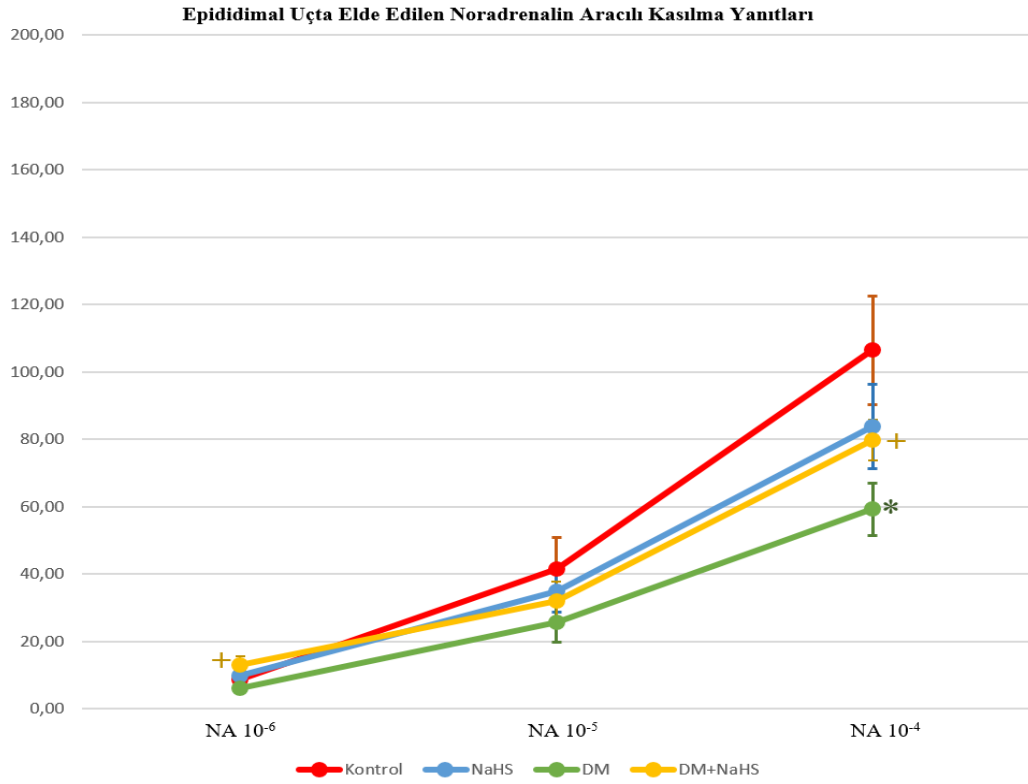
NaHS grubunda epididimal uçta elde edilen Noradrenalin aracılı kasılma yanıtlarında kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır (Grafik 9).

Diyabet grubunda elde edilen Noradrenalin aracılı kasılma yanıtlarında kontrole kıyasla 10^{-4} M dozunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş görülmektedir ($p < 0.05$, Grafik 9).

Diyabet+NaHS tedavi grubunda elde edilen Noradrenalin aracılı kasılma yanıtlarında kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır (Grafik 9).

NaHS ve Diyabet+NaHS tedavi grupları kıyaslandığında Diyabet+NaHS tedavi grubunda elde edilen Noradrenalin aracılı kasılma yanıtlarında, NaHS grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemektedir (Grafik 9).

Diyabet ve Diyabet+NaHS tedavi grupları kıyaslandığında Diyabet+NaHS tedavi grubunda elde edilen Noradrenalin aracılı kasılma yanıtlarında, Diyabet grubuna kıyasla 10^{-6} ve 10^{-4} M dozlarındaki artışlar istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmektedir ($p < 0.05$, Grafik 9).



Grafik 9. Epididimal uçta artan Noradrenalin ile elde edilen kasılma yanıtları. * kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p<0.05$). + DM grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p<0.05$) (Kontrol ve NaHS grubu için $n=8$, Diyabet ve Diyabet+NaHS tedavi grubu için $n=12$).

4.3.5. Epididimal Uçta Elde Edilen ATP Aracılı Kasılma Yanıtları

Epididimal uçta 10^{-5} M olarak tek doz olacak şekilde α,β -metilen ATP ile kasılma yanıtları elde edilmiştir.

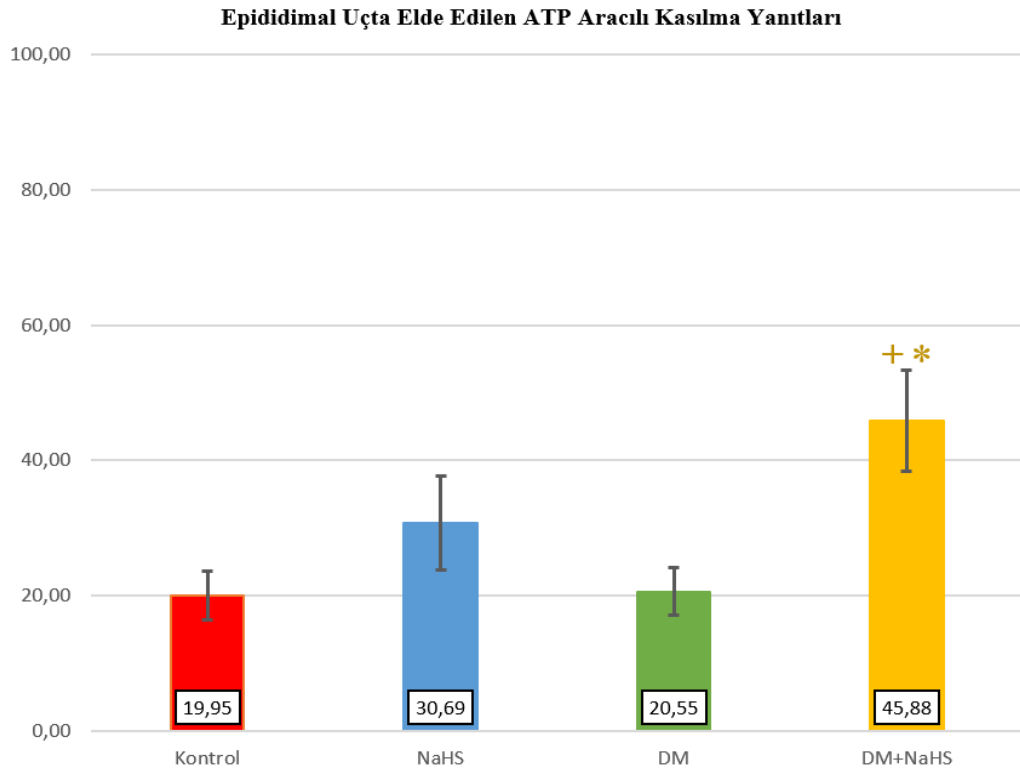
NaHS grubunda epididimal uçta elde edilen ATP aracılı kasılma yanıtlarında kontrole kıyasla artış görülmekle birlikte, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır (Grafik 10).

Diyabet grubunda elde edilen ATP aracılı kasılma yanıtlarında kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamaktadır (Grafik 10).

Diyabet+NaHS tedavi grubunda elde edilen ATP aracılı kasılma yanıtlarında kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmektedir ($p < 0.05$, Grafik 10).

NaHS ve Diyabet+NaHS tedavi grupları kıyaslandığında Diyabet+NaHS tedavi grubunda elde edilen ATP aracılı kasılma yanıtlarında, NaHS grubuna kıyasla, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır (Grafik 10).

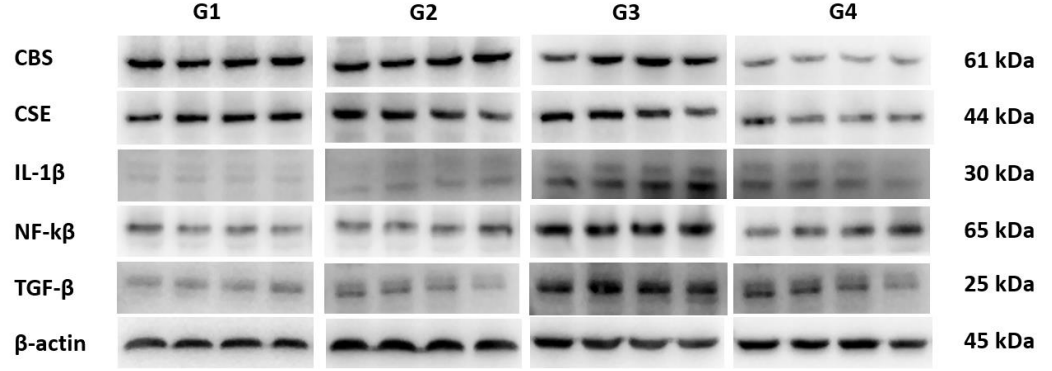
Diyabet ve Diyabet+NaHS grupları kıyaslandığında Diyabet+NaHS tedavi grubunda elde edilen ATP aracılı kasılma yanıtlarında, Diyabet grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmektedir ($p < 0.05$, Grafik 10).



Grafik 10. Epididimal uçta ATP ile elde edilen kasılma yanıtları. * kontrol grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0.05$). + Diyabet grubuna göre anlamlılığı göstermektedir ($p < 0.05$) (Kontrol ve NaHS grubu için $n=8$, Diyabet ve Diyabet+NaHS tedavi grubu için $n=12$).

4.4. Western Blot Analizi Sonuçları

Vas deferens dokularında CBS, CSE, IL-1 β , NF- κ B ve TGF- β protein ifade düzeylerinin analizi için Western blot yöntemi uygulanmıştır (Şekil 12).



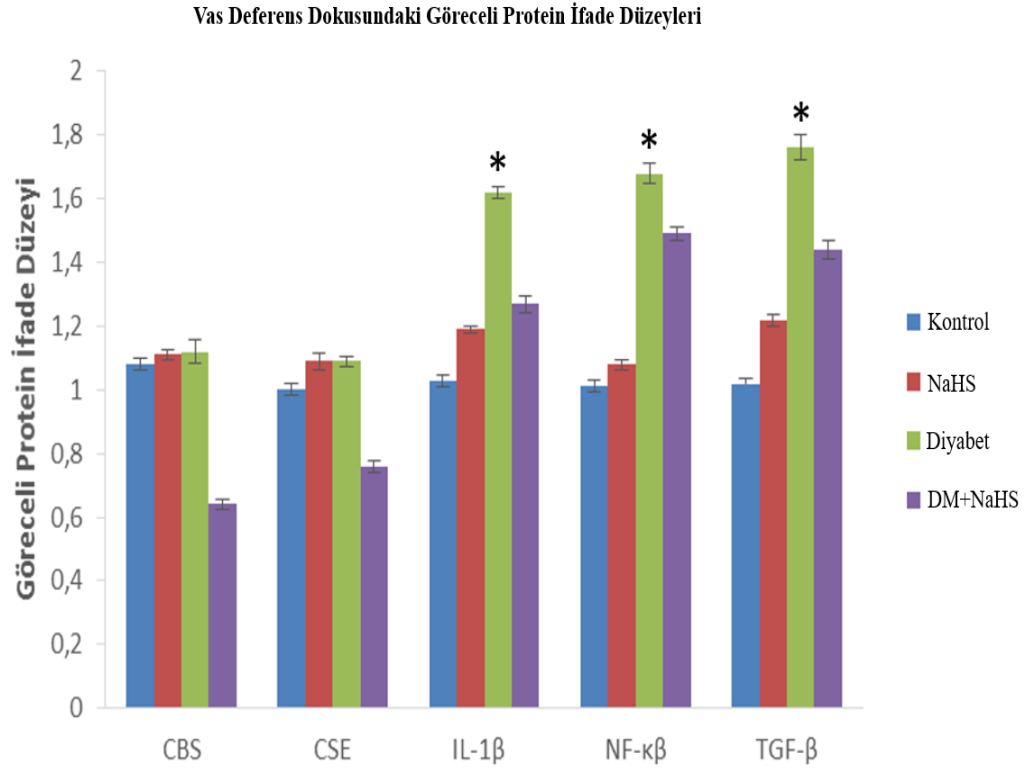
Şekil 12. Vas deferens dokularında CBS, CSE, IL-1 β , NF- κ B ve TGF- β protein seviyelerinin temsili Western blot görüntüleri

CBS ve CSE protein düzeylerinde tüm gruplarda anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır (Grafik 11).

IL-1 β ve TGF- β protein düzeylerinde NaHS grubunda kontrole kıyasla anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. (Grafik 11).

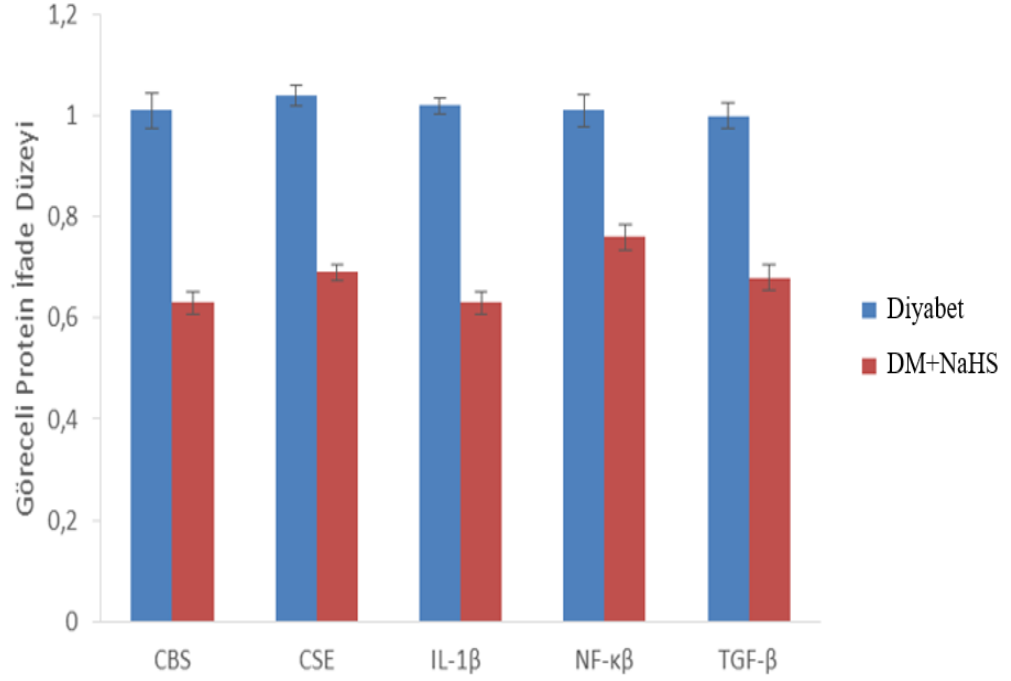
IL-1 β , NF- κ B ve TGF- β protein düzeylerinin diyabet grubunda kontrole kıyasla anlamlı düzeyde arttığı görülmektedir ($p < 0.05$, Grafik 11).

IL-1 β , NF- κ B ve TGF- β protein düzeylerinin diyabet+NaHS grubunda, kontrol ve diyabet grubuna kıyasla anlamlı bir değişiklik gözlenmemektedir (Grafik 12).



Grafik 11. Vas deferens dokularındaki göreceli protein ifade düzeyleri. Veriler ortalama $\pm$ Standart Sapma olarak ifade edilmiştir. Grafikler, her grup için en az dört farklı hayvanda belirtilen proteinlerin kat değişimini temsil etmektedir. Gösterilen sonuçlar üç bağımsız deneyi temsil etmektedir. * Kontrol grubuna kıyasla anlamlılığı göstermektedir ($p<0.05$).

Diyabet ve Diyabet+NaHS Grubu Göreceli Protein İfade Düzeyleri



Grafik 12. Diyabet ve Diyabet+NaHS grupları arasında vas deferens dokularındaki göreceli protein ifade düzeyleri. Veriler ortalama $\pm$ Standart Sapma olarak ifade edilmiştir. Grafikler, her grup için en az dört farklı hayvanda belirtilen proteinlerin kat değişimini temsil etmektedir. Gösterilen sonuçlar üç bağımsız deneyi temsil etmektedir.

5.TARTIŞMA

Hidrojen sülfürün çeşitli patolojik durumlar varlığında korpus kavernozum gibi erkek genitoüriner sistem yapılarının bozulan fonksiyonları üzerinde düzeltici etkisine, ayrıca kronik inflamasyon durumlarında gösterdiği anti-inflamatuvar etkisine ilişkin literatür incelemesinden hareketle, sunulan çalışmada diyabetes mellitusun, vas deferens fonksiyonunda bozulmaya neden olup olmadığı ve kronik hidrojen sülfür tedavisinin oluşabilecek bozukluğu önleyebileceği/düzeltebileceği hipotezini test etmek amaçlanmaktadır.

Streptozotosinin deneysel diyabet oluşturulan hayvanlarda doz bağımlı bir şekilde vücut ağırlığında azalmaya neden olduğu literatürde gösterilmiştir (167). Sunulan çalışmada diyabet grubu ve Diyabet+NaHS tedavi grubunda deneyin son haftasında başlangıç ağırlıklarına kıyasla literatürle uyumlu bir şekilde kilo kaybı yaşanmıştır. Ancak diyabet grubundaki hayvanlarda anlamlı olmasa da ilk haftaya kıyasla kilo artışı görülmüştür. Literatürde farelerde yapılan bir çalışmada STZ enjeksiyonundan sonra, ilk ölçümde hayvanların vücut ağırlığı ve 24 saatlik gıda alımının azaldığı, ancak daha sonraki ölçümlerde hem 24 saatlik gıda alımının hem de vücut ağırlığının ilk ölçüme göre arttığı gösterilmiştir. Bu durumun STZ sonrası hızlı kilo kaybı dönemi atlatıldıktan sonra diyabete bağlı hiperfajiden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür (162). STZ'nin sıçanlarda insülin β hücrelerini yıkıma uğratarak DM'ye neden olduğu ve hayvanlarda bundan kaynaklı olarak kronik yüksek kan şekeri düzeyi görüldüğü literatürde belirtilmiştir (122). Sunulan çalışmada da DM oluşturulan iki grupta da kan şekeri düzeyleri birinci haftadan itibaren normal sınırların üzerinde seyretmiştir. Çalışmanın son haftasına

gelindiğinde ise diyabetik gruplarda plazma kan şekeri düzeylerinde diyabetik sınırlarda kalmak suretiyle hafif bir azalma görülmüştür. Bununla uyumlu olarak literatürde STZ ile sıçanlarda yapılan diyabet modelinde 6 haftadan sonra plazma kan şekeri düzeyinde düşüş yönünde de değişimler görülebileceği mevcuttur (168). Aynı zamanda sıçanlarla yapılan başka bir çalışmada STZ ile oluşturulan DM modelinde takip sürecinde plazma kan şekeri düzeyinde spontan bir şekilde hem artış hem de azalış yönünde değişiklikler görülebileceği kaydedilmiştir (169).

KCl ile elde edilen kasılma yanıtlarında prostatik uçta diyabet grubunda, epididimal uçta ise diyabet+NaHS grubunda artış görülmektedir. Her iki grupta da NaHS gruplarında artış yokken diyabet varlığında artış olması diyabetin KCl uyarısına karşı hassasiyeti arttırdığını düşündürmektedir. Literatürde diyabet varlığında elde edilen KCl aracılı kasılma yanıtlarının artabildiği, azalabildiği ya da değişmediği gösterilmiştir. Bu çalışmalarda KCl uyarısının voltaj bağımlı Ca^{+2} kanallarını uyardığı ve Ca^{+2} akışının artması ile kasılma yanıtlarını arttırdığı belirtilmiştir (16-18, 96, 170-172). Bu bağlamda sonuçlarımız literatür ile uyumludur.

Sunulan çalışmada presinaptik uyarı ile oluşan kasılma şeklindeki fizyolojik fonksiyonu simule edebilmek için EAU ile farklı frekanslarda vas deferens dokusunda kasılma yanıtları elde edilmiştir. NaHS verilmesi bu kasılma yanıtlarında prostatik uçta anlamlı bir şekilde artışa neden olurken, epididimal uçta bazı frekanslarda artış görülse de anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır. Bu durum vas deferensin epididimal ucunun ekzojen hidrojen sülfüre duyarlılığın daha az olduğunu düşündürmektedir. Literatürde daha önce hidrojen sülfür ile yapılan

çalışmalarda izole organ banyosunda vas deferens dokusuna NaHS verildiği zaman vas deferens dokusunda elde edilen kasılma yanıtlarında inhibisyona neden olduğu belirtilmiştir (30, 140). Benzer şekilde farklı dokularda yapılan in vitro çalışmalarda da H₂S düz kas hücreleri üzerinde gevşetici etki göstermiştir (139, 159, 173, 174). Ancak bu çalışmalarda NaHS banyoya doğrudan tek sefer olacak şekilde verilmiş olup kronik bir şekilde in vivo uygulanmamıştır. Literatürde hidrojen sülfürün vas deferens kasılma/gevşeme yanıtları üzerindeki etkisini in vivo olarak inceleyen bir çalışma mevcut değildir. Çalışmamızda kronik olarak i.p. NaHS enjeksiyonu yapılmasının, bu yanıtı in vitro deneylere kıyasla değiştiren temel faktör olduğu öne sürülebilir. Endojen olarak vas deferensta üretilen hidrojen sülfürün BK_{Ca} kanalları aracılığı ile vas deferens tonusuna katkıda bulunduğu kanıtlanmıştır (30). Çalışmamızın sonuçlarına göre kronik H₂S tedavisinin ortamda bulunan fizyolojik H₂S miktarını arttırarak bu etkiye katkıda bulunduğu öne sürülebilir. Fakat literatürde yapılan çalışmalarda H₂S sadece hastalık oluşturulan gruplarda denenmiş olup kontrol/sağlıklı gruplar üzerinde etkisine bakılmadığından sunulan çalışmanın sonuçlarını kıyaslamak için literatürde bir referans noktası mevcut değildir. Çalışmamız H₂S'nin özellikle prostatik uçta olmak üzere vas deferens dokusunda presinaptik uyarı aracılığı ile elde edilen kasılma yanıtlarını arttırdığını ilk defa göstermiştir. Prostatik kısım ile epididimal kısım arasında görülen anlamlılık farkının, iki uçta yer alan reseptör dağılımının farklılığından kaynaklanabileceği düşünülebilir. Prostatik uçta pürinerjik sinir innervasyonunun epididimal uca kıyasla daha fazla olduğu ve özellikle ATP ile olan uyarılara karşı daha fazla yanıt gösterdiği kanıtlanmıştır (175). Bu bilgi göz önünde

bulundurularak H₂S'nin kronik olarak uygulandığı zaman prostatik uçta presinaptik düzeyde pürinerjik sistemle etkileşime girebileceği ve kasılma yanıtlarında bu etkileşim aracılığı ile artışa neden olabileceği öne sürülebilir.

Sunulan çalışmanın sonuçlarına göre EAU aracılı kasılma yanıtlarında diyabet grubunda kontrole kıyasla hem prostatik uçta hem de epididimal uçta hemen hemen bütün frekanslarda azalma görülmektedir. Bu sonuç diyabetes mellitusun vas deferens dokusunu etkileyerek fizyolojik fonksiyonu olan kasılma yeteneğini etkileyeceğini doğrulamaktadır. Vas deferens dokusu EAU ile uyarıldığı zaman bifazik kasılma görülmektedir. İlk olarak ATP'nin uyarımına bağlı hızlı fazik kasılma, ardından daha yavaş seyreden noradrenalin aracılı tonik kasılmanın gerçekleştiği gösterilmiştir (176). EAU frekansı arttırıldıkça elde edilen kasılma yanıtlarında hem prostatik hem de epididimal uçta ikinci faz olan tonik kasılmaların, ilk faza göre belirgin olarak arttığı bilinmektedir (175). Çalışmamız sonuçlarına göre diyabetin hem prostatik hem de epididimal uçta yüksek frekanslarda kasılma yanıtlarını daha fazla azaltması ve yüksek frekanslardaki bu kasılmaların daha çok adrenerjik sistem ile ilişkili olması, diyabetin kronik süreçte adrenerjik sinirleri ve reseptörleri pürinerjik sisteme kıyasla daha fazla etkileyebileceği sonucunu düşündürülebilir. Ayrıca epididimal uçta daha fazla frekansta düşüş görülmesi ve epididimal uçta adrenerjik uyarının daha fazla olması diyabetin adrenerjik sistemi daha fazla etkileyebileceği görüşünü desteklemektedir. Bu durum epididimal ucun prostatik uca göre diyabetik hasara daha hassas olabileceği sonucunu doğurabilir. Epididimal ucun çeşitli durumlarda daha fazla etkilenebileceği düşüncesi, sıçanlarla yapılan bir çalışmada epididimal uçtaki

adrenerjik reseptörlerde yaşlanmaya bağlı olarak görülen değişikliklerin, prostatik uca kıyasla vas deferens fonksiyonunda daha fazla bozulmaya neden olduğunun gösterilmesiyle desteklenmiştir (177). Ancak literatürde vas deferense ait iki kısım arasındaki farkları hastalıklar açısından inceleyen yeterli kaynak bulunmamaktadır.

Diyabetik hayvanlarda uygulanan kronik H₂S tedavisi prostatik uçta tüm frekanslarda diyabetik hayvanlara kıyasla EAU aracılı kasılma yanıtlarını arttırmıştır. Her iki uçta da düşük frekanslarda anlamlı bir şekilde artış görülürken yüksek frekanslarda yanıtları arttırsa da kontrol seviyesine getiremediği gözlemlenmiştir. Prostatik uçta 2 Hz frekansında ise kontrole göre daha yüksek kasılmaya neden olması, NaHS grubu sonuçlarında da elde edilen H₂S'nin prostatik uçta düşük frekanslı EAU uyarılarında elde edilen kasılma yanıtlarında pürinerjik sistemle etkileşime girerek kasılma yanıtlarını arttırabileceği önerisini desteklemektedir. Ek olarak prostatik uçtan farklı olarak epididimal uçta NaHS ile tedavi edilen diyabetik hayvanların kasılma yanıtlarında kontrol yanıtlarına kıyasla değişiklik olmaması ve kontrol ile NaHS grubu yanıtları arasında da anlamlı bir fark görülmemesi, epididimal uçta bu etkileşimin prostatik uçta görüldüğü kadar belirgin olmadığını düşündürmektedir.

Epididimal uçta 32 Hz haricinde tüm frekanslarda diyabet+NaHS tedavi grubu yanıtları, diyabet grubuna kıyasla anlamlı olmasa da artmıştır. Kronik hidrojen sülfür tedavisinin düşük frekanslarda diyabet grubuna göre anlamlı bir şekilde yanıtları arttırarak kontrol seviyesine getirmesi, bu frekanslarda daha belirgin olan ATP bağımlı fazik kasılmalar üzerinden pürinerjik sistem ile etkileşime girmesi aracılığı ile vas deferens kasılma fonksiyonu üzerinde düzeltici etki

gösterebileceğini düşündürebilir. Çeşitli çalışmalarla diyabetik hayvanlarda kronik H₂S tedavisinin korpus kavernozum gibi genitroüriner sistem doku fonksiyonları üzerinde düzeltici etkisi olduğu ayrıca genitoüriner sistem dışında da diyabetin nöronal hasar ya da vasküler disfonksiyon benzeri komplikasyonlarını önlediği/düzeltiltiği kanıtlanmıştır (64, 178-181). Bu çalışmalarda fizyolojik ortamdaki H₂S düzeyini daha iyi yansıtacağı planlanarak yavaş salımlı hidrojen sülfür donörleri kullanılsa da, literatürde hidrojen sülfürün kronik etkisini değerlendirmek amacıyla hızlı salımlı hidrojen sülfür donörü olan ve sunulan çalışmada da kullanılan NaHS ile yapılan çok sayıda çalışma yer almaktadır. Bu çalışmaların arasında diyabetin çeşitli komplikasyonlarının kronik NaHS tedavisi ile önlediği/düzeltiltiği gösteren çalışmalar mevcuttur (182-186). Çalışmamızda kronik H₂S tedavisinin hem prostatik uçta anlamlı bir şekilde, hem de epididimal uçta istatistiksel olarak anlamlı olmasa da diyabetik grupta azalan kasılma yanıtlarını arttırması DM'den kaynaklanan vas deferens kasılma fonksiyonu üzerinde düzeltici etkisi olabileceğini göstermiştir. Testosteronun genitoüriner sistemdeki vasküler etkilerini H₂S üzerinden gösterdiği ve erkeklerde kadınlara kıyasla H₂S seviyesinin daha yüksek olduğu bilinmektedir (141). Ayrıca H₂S'nin vas deferens dokusunda endojen olarak üretilip düz kasların tonusunun ayarlanmasında görev aldığı kanıtlanmıştır (30). Bu bilgiler göz önüne alındığında erkekte seksüel fonksiyonların sağlıklı bir şekilde sürdürülmesi için H₂S seviyesinin korunmasının önemli olduğu düşünülebilir.

Sunulan çalışmada post sinaptik kasılma yanıtlarını değerlendirmek amacıyla dokulara noradrenalin ve ATP uygulanmıştır. Prostatik uçta noradrenalin aracılı

kasılma yanıtlarında NaHS grubunda uygulanan H₂S tedavisi anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Benzer şekilde diyabet grubu ve Diyabet+NaHS tedavi gruplarında da kasılma yanıtlarında da üst dozlarda (10⁻⁵, 10⁻⁴ M) kontrole kıyasla artış görölse de bu artış anlamlı değildir. Literatürde kronik diyabet varlığında ekzojen olarak verilen noradrenalin ve ATP yanıtlarının görülebilecek hipersensitiviteden dolayı artabileceği ya da var olan sempatik ve pürinerjik yolların hasarından dolayı azalabileceğini belirten çalışmalar yer almaktadır (3, 16-19, 96). Ancak kronik diyabette vas deferensteki bu yanıtların tam olarak hangi yöne değişeceği yönünde bir konsensus bulunmamaktadır. Ayrıca prostatik ve epididimal uçların ayrı ayrı nasıl etkilendiği henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Sunulan çalışmada da prostatik uçtaki post sinaptik kasılmayı değerlendiren noradrenalin aracılı kasılma yanıtlarının anlamlı bir şekilde diyabetten etkilenmemesi, ancak EAU aracılı yanıtlarda düşüş görülmesi prostatik uça diyabetin olumsuz etkisinin postsinaptik reseptör ve mekanizmalardan çok presinaptik mekanizmaları bozarak etkilemesinden kaynaklanıyor olabileceğini düşündürebilir. Diyabetin bilinen en önemli yan etkilerinden birinin nöropati olması ve sinirsel iletimi ya da nörotransmitter salgılanmasını etkileyebilmesi bu görüşü desteklemektedir (94). EAU aracılı kasılma yanıtlarına benzer şekilde noradrenalin aracılı kasılma yanıtları da prostatik uça epididimal uca kıyasla diyabetten daha az etkilenmiştir. Epididimal uça noradrenalin aracılı kasılma yanıtlarında NaHS grubunda anlamlı bir değişiklik görülmemektedir. Benzer şekilde prostatik uça da NaHS grubunda elde edilen noradrenalin aracılı kasılma yanıtlarında anlamlı bir değişiklik görülmemesi, patolojik bir durum olmadığı

ortamda kronik H₂S tedavisinin hem prostatik hem de epididimal uçlarda adrenerjik reseptörler üzerinde bir etkisi olmayabileceğini düşündürmektedir. Epididimal uçta diyabet en yüksek dozda (10⁻⁴ M) anlamlı olmak üzere noradrenalinin tüm dozlarında elde edilen yanıtlarında düşüşe neden olmuştur ve bu düşüşün prostatik uçta görülmeyip epididimal uçta görülmesi, epididimal ucun diyabetik hasara daha duyarlı olabileceği görüşünü desteklemektedir. Ayrıca diyabetin epididimal uçta adrenerjik sistemi postsinaptik düzeyde de etkileyebileceğini göstermektedir. Diyabet+NaHS grubu yanıtlarında epididimal uçta diyabet grubuna kıyasla tüm dozlarda artış olup kontrole yaklaşmaktadır (10⁻⁶ ve 10⁻⁴ M dozlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış). Bu sonuç göze alındığında EAU aracılı kasılma sonuçlarındakine benzer şekilde kronik NaHS tedavisinin diyabette görülen vas deferens kasılma fonksiyonunda görülen bozukluğu düzeltebileceği öne sürülebilir. Bu etkisinin özellikle postsinaptik uyarı göz önüne alındığında prostatik uçtan daha çok epididimal uçta belirgin olduğu savunulabilir. Ancak iki uç arasındaki farkların anlaşılabilmesi için ek çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Adrenerjik sisteme dair postsinaptik uyarılar göz önünde bulundurulduğunda H₂S'nin prostatik uçta etkisi olmayabileceği ihtimaliyle birlikte, prostatik uçta bu yapıların diyabetten etkilenmeyebileceği ya da daha az etkileneceği ve buna bağlı olarak sonuçlarda anlamlı bir değişiklik gözlenmediği düşünülebilir.

Literatürde ATP aracılı kasılma yanıtlarının prostatik uçta daha belirgin olduğu ve bunun iki uç arasındaki innervasyon ve reseptör dağılım farkından kaynaklandığı belirtilmiştir (175). Sunulan çalışmada da bu durumla uyumlu olarak kontrol grubunda prostatik uçta ATP aracılı elde edilen kasılma yanıtları epididimal uca

kıyasla daha yüksek değerlerdedir. EAU ve noradrenalin aracılı kasılma yanıtlarından farklı olarak NaHS grubu yanıtlarında kontrole kıyasla prostatik uçta düşüş, epididimal uçta yükselme görülse de bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Her iki uçta da ATP aracılı kasılma yanıtlarında diyabet anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır. Bu sonuç pürinerjik sinirlerin kronik diyabetten daha az etkilenebileceği düşüncesini desteklemektedir. Ancak vas deferenste yer alan pürinerjik sinirlerin hiperglisemiden ne düzeyde etkilendiğini ve diğer ana sinir yolağı olan adrenerjik sistemle bu bağlamda kıyaslanması açısından literatürde çalışma bulunmamakta olup ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Prostatik uçta diyabetik gruba ait yanıtlarda bir değişiklik görülmediği gibi, diyabet+NaHS tedavi grubunda da kontrol grubu ya da diyabetik grup yanıtlarına kıyasla anlamlı bir değişiklik görülmemektedir. Bu bilgi göz önüne alındığında H₂S'nin vas deferens dokusunda prostatik kısımda hastalık varlığında ya da yokluğunda postsinaptik ATP yanıtları üzerinde bir etkisi olmadığı öne sürülebilir. Prostatik uçta EAU aracılı yanıtlarda etkileşim görülürken, postsinaptik yanıtlarda görülmemesi, H₂S'nin pürinerjik sistem ile olan etkileşiminin daha çok presinaptik düzeyde olabileceğini düşündürmektedir. Epididimal uçta diyabetik hayvanlarda elde edilen ATP aracılı kasılma yanıtlarında kontrole göre anlamlı bir değişiklik görülmezken, diyabet+NaHS tedavi grubunda elde edilen ATP aracılı kasılma yanıtlarında hem kontrole hem de diyabetik gruba göre anlamlı bir şekilde artış saptanmıştır. NaHS grubunda kasılma yanıtlarında anlamlı bir değişim görülmezken, diyabet+NaHS grubunda artışa görülmesi, patolojik durum mevcut değilken etki göstermeyip, epididimal uçta bir patoloji varlığında etki gösterdiğini düşündürmektedir. Ancak

diğer sonuçlarımızda H₂S daha çok prostatik uçta görülen kasılma yanıtlarında artışa neden olurken, ATP aracılı kasılma yanıtlarında epididimal uçta sadece diyabet varlığında arttırıcı etki göstermesi dikkat çekmektedir. H₂S'nin inflamasyon konusunda dual etkili olduğu literatürde yer almaktadır (187, 188). Ancak mevcut çalışmalar incelendiği zaman endojen olarak üretilen H₂S'nin bazı durumlarda pro ya da anti-inflamatuvar etkiye sahip olduğu, inflamasyon varlığında ekzojen olarak verildiği zaman ise daha çok anti-inflamatuvar özellik gösterdiği anlaşılmaktadır (189). Çalışmamızda ATP aracılı kasılma yanıtlarında sadece epididimal uçta diyabet varlığında değişikliğe neden olması, H₂S'nin patolojik durum varlığında ekzojen olarak verildiği zaman etkisinin, fizyolojik olarak ortamda bulunduğu ya da inflamasyon yokken ekzojen olarak verildiği zamana kıyasla farklı olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Vas deferens dokusuna ait kasılma fonksiyonu üzerinde NO'nun etkisinin incelenmesi amacıyla sunulan çalışmada EAU aracılı kasılma yanıtları L-NAME inkübasyonu sonrasında tekrar elde edilmiştir. Aynı zamanda bu yanıtlar üzerinde diyabetin ve diyabet varlığında/yokluğunda NO'nun etkisini değerlendirmek amacıyla tüm gruplara ait sonuçlar birbiri ile kıyaslanmıştır. NaHS ve Diyabet+NaHS tedavi grupları birbiri ile pek çok sistem ve fizyolojik olayda iletişim halinde olduğu bilinen (190) NO ve H₂S'nin etkileşimini kronik diyabet bağlamında incelemek için fırsat oluşturmuştur. NO'nun ve NOS'un vas deferensi innerve eden pelvik pregangliyonik sempatik sinirlerde bulunduğu kanıtlanmıştır (69). Ayrıca NO'nun vas deferens kasılma fonksiyonu üzerinde düzenleyici etkisi olduğu öne sürülmüştür (191). NO'nun vas deferens üzerindeki etkisine yönelik

literatürde çelişkili sonuçlar yer almaktadır. NO'nun, ortama ekzojen olarak semptomimetik bir madde verildiği zaman vas deferens'te elde edilen kasılma yanıtlarını arttırdığını bildiren sonuçlar mevcut olmakla birlikte (192), NO donörü verildiği ya da NO sentezinin inhibe edildiği durumlarda ekzojen olarak verilen ATP ve noradrenalin aracılı kasılma yanıtlarının değişmediğini gösteren sonuçlar da mevcuttur (193). Ancak literatürde yer alan çalışmalar incelendiği zaman ortak yorum olarak NO'nun vas deferens yanıtları üzerinde nöromodülatör bir etkisi olduğu sonucuna varılmaktadır. Sunulan çalışmada hem prostatik hem de epididimal uçta L-NAME ile NO üretimi inhibe edildiği zaman elde edilen EAU aracılı kasılma yanıtlarının tüm gruplarda NO bağımlı yanıtlara göre anlamlı bir şekilde arttığı saptanmıştır. Bu sonuç NO'nun vas deferens kasılma yanıtları üzerinde düzenleyici bir etkisi olduğunu doğrulamaktadır. Yanıtların NO bağımsız ortamda artması NO'nun presinaptik uyarı geldiği zaman görülen kasılma yanıtlarını azaltıcı ya da dengeleyici bir etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Bunu destekler nitelikte literatürde vasküler sistemde NO verildiği zaman adrenerjik sistem üzerinde inhibe edici etkisi olabileceği gösterilmiştir (194). Prostatik uçta pürinerjik sinirler daha baskın olsa da, tüm gruplarda özellikle yüksek frekanslarda anlamlı artışlar görülmesi ve EAU aracılı yanıtlarda yüksek frekanslardaki kasılmaların daha çok adrenerjik sistem kaynaklı olması (175) NO'nun vas deferens üzerindeki bu düzenleyici etkisinin daha çok adrenerjik sistem üzerinden olduğunu düşündürmektedir. Ek olarak adrenerjik sinirlerin daha yoğun bulunduğu epididimal uçta tüm gruplarda NO bağımsız yanıtlarda daha fazla frekansta artış olması bu görüşü desteklemektedir. Literatürde de NO'nun α 1-

adrenerjik reseptörlerle etkileşime girerek fonksiyon gösterdiği kanıtlanmış olup bu bağlamda sonuçlarımız literatür ile uyumludur (195).

L-NAME varlığında alınan EAU aracılı kasılma yanıtları gruplar arası ve NO bağımlı yanıtlarla kıyaslandığı zaman, prostatik uçta NO bağımlı yanıtlara benzer sonuçlar alındığı görülmüştür. Ancak NO bağımsız yanıtlarda NaHS verilen grupta, NO bağımlı yanıtlara kıyasla kontrole göre artışın daha az görüldüğü dikkat çekmektedir. Bu durumun prostatik uçta NO ve H₂S arasındaki olası bir etkileşimden kaynaklandığı düşünülebilir. H₂S tedavisinin eNOS, NO ve cGMP yolağını kullanarak böbrekte α adrenerjik reseptörlerin duyarlılığını arttırdığı gösterilmiştir (196) ve NO bağımsız yanıtlarda H₂S verilmesi ile daha az artış görülmesinin bu etkileşimden kaynaklandığı düşünülebilir. Epididimal uçtaki sonuçlar incelendiğinde ise NO bağımlı ve bağımsız yanıtların NaHS verilen grupta değişiklik göstermemesi, patolojik durum yokken H₂S'nin prostatik uçta daha çok etki gösterdiği görüşümüzü güçlendirmektedir. Literatürde de prostatik uçta NOS'un epididimal uca kıyasla daha fazla bulunduğu kanıtlanmış olup (197) H₂S ile NO'nun prostatik uçta olası bir etkileşimi olabileceğini desteklemektedir. H₂S ve NO'nun vasküler homeostaz, vasodilatasyon, anti-inflamasyon gibi pek çok alanda birbiri ile etkileşime girdiği ve birbirinin etkilerini düzenledikleri bilinmektedir (198). Bu nedenle vas deferens dokusunda da etkileşime girecekleri varsayılabilir. Destekler nitelikte NO ve H₂S'nin genitoüriner sistemde birlikte bulunduğu, sağlıklı sperm fonksiyonu sağlanmasında ve düzenlenmesinde birlikte görev aldıkları belirtilmiştir (144). Prostatik uçta NO bağımsız EAU aracılı kasılma yanıtlarında diyabet grubu sonuçları NO bağımlı yanıtlara kıyasla benzer olup,

diyabetik hayvanlara NaHS tedavisi verilmesi diyabetik gruba kıyasla kasılma yanıtlarında artışa neden olmuştur. Ancak diyabete kıyasla görülen bu artışlar özellikle düşük frekanslarda kontrole göre de yüksek bulunmuş olup tedavi edici etkiden daha çok prostatik uçta H_2S 'nin pürinerjik sistemle olası etkileşiminden kaynaklanıyor olabilir. Fakat yüksek frekanslarda da kontrol seviyesine yakınlaştıramasa da diyabetik yanıtlara göre kasılma yanıtlarını arttırmıştır, bu nedenle toplam etkiye bakıldığında diyabette vas deferensin bozulan kasılma fonksiyonu üzerinde pozitif düzeltici bir etkisi olabileceği öne sürülebilir. Benzer şekilde epididimal uçta NO bağımsız ortamda elde edilen EAU aracılı kasılma yanıtlarında diyabetik grupta bütün frekanslarda kontrole kıyasla anlamlı bir düşüş görülmüş ve diyabetik hayvanlara NaHS tedavisi verildiği zaman artışa neden olmuştur. NO bağımsız sonuçlarda da epididimal uç prostatik uca kıyasla diyabetten daha fazla etkilenmiştir. Adrenerjik sinirlerin daha yoğun bulunduğu epididimal ucun NO bağımsız yanıtlarda prostatik uçtan ve NO bağımlı yanıtlara kıyasla daha fazla etkilenmesi bu durumu destekler niteliktedir.

H_2S sentezleyen CBS ve CSE enzimlerinin protein ifade düzeyleri incelendiğinde NaHS grubunda değişmezken, Diyabet+NaHS grubunda düzeylerin azaldığı görülmüştür. Bu durum patoloji varlığında substrat ortama verildiği zaman geri bildirim mekanizması ile enzimlerin downregüle olmasından kaynaklanıyor olabilir. Literatürde ekzojen olarak hidrojen sülfür donörü verilmesinin doz bağımlı bir şekilde CSE seviyesini azalttığı aksine CBS seviyesini arttırdığı gösterilmiştir (199). Ancak bu çalışma miyosit hücrelerinde yapılmış olup genital sistemdeki geri bildirim üzerinden enzim ifadenmesi düzeyini inceleyen bir çalışma

bulunmamaktadır. Başka bir çalışma ise 2 ay boyunca NaHS tedavisi sonucunda farelerde karaciğer ve böbrek dokusunda hem CBS hem de CSE ifadenmesinin arttığını göstermiştir (200). Çalışmamızda ekzojen H_2S verilmesi diyabet yokluğunda enzim ifadenmesini değiştirmezken, diyabet+NaHS grubunda her iki enzim ifadenmesini de azaltmıştır. Hem literatürdeki farklı çalışmalar arasındaki, hem de bizim çalışmamızdaki sonuçlar farklı türler ya da dokularda farklı düzenleme mekanizmalarının var olmasından kaynaklanıyor olabilir. Çalışmamızda diyabet CBS ve CSE enzim düzeyini anlamlı bir şekilde etkilememiştir. Literatürde CBS ve CSE seviyesinin diyabette çeşitli dokularda farklı şekilde değiştiği görülmektedir. Çalışmalarda diyabette CBS ve CSE ifadenmesinin retina dokusunda azaldığı (201), penil dokuda ise değişmediği gösterilmiştir (202). Çalışmamızda diyabetin vas deferens dokusunda CBS ve CSE düzeyini değiştirmediğini tespit edilmiştir.

H_2S 'nin inflamasyon ya da inflamasyon belirteçleri üzerinde etkisine dair çalışmalar birbiri ile farklı sonuçlar göstermektedir. Çalışmamızda inflamatuvar belirteçlerin ifadenme düzeyi incelendiği zaman NaHS grubunda IL-1 β , NF- κ β ve TGF- β seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülme de hafif artış olması patolojik durum yokluğunda H_2S 'nin inflamatuvar belirteçleri az bir düzeyde de olsa arttırabileceğini düşündürmektedir. Diyabetteki kronik inflamasyon varlığında inflamasyon belirteçlerinin yükselip H_2S tedavisinin bu seviyeleri düşürmesi beklense de literatür incelendiği zaman H_2S 'nin bu durum üzerindeki etkisinin karmaşık olduğu ve henüz anlaşılamadığı görülmektedir. 2020 yılında yapılan ve geçmiş yıllarda literatürde H_2S 'nin inflamasyon üzerindeki

etkisini inceleyen çalışmaları derleyen bir araştırmada H₂S'nin özellikle inflamozomlar üzerinden proinflamatuvar ya da antiinflamatuvar etki gösterdiği ancak hangi patolojik durumda inflamasyonda ve belirteçlerinde artışa neden olduğu ya da koruyucu özellik gösterdiğinin henüz anlaşılamadığı vurgulanmıştır (203).

Çalışmamızda IL-1β ifadenme düzeyinin diyabet grubunda arttığı gösterilmiştir. IL-1β seviyesinin diyabette arttığını gösteren çalışmalar mevcut olup (204) sonuçlarımız bu bağlamda literatür ile uyumludur. H₂S'nin IL-1β zerindeki etkisini inceleyen çalışmalar incelendiğinde genellikle yavaş salımlı H₂S donörlerinin IL-1β seviyesini azalttığı gözlenmektedir (21). Yavaş donörler ile çalışmamızda kullanılan NaHS'nin kıyaslandığı bir çalışmada, NaHS'nin IL-1β zerindeki etkisinin bifazik olduğu vurgulanmıştır. Aynı alışmada NaHS'nin düşük konsantrasyonlarda IL-1β'yi azalttığı, yüksek konsantrasyonlarda bir etkisi görülmediği, çok yüksek konsantrasyonlarda ise arttırdığı kanıtlanmıştır (147). Çalışmamız NaHS'nin vas deferens dokusunda diyabette yükselen IL-1β seviyelerini anlamlı bir düzeyde olmasa da düşürdüğü gösterilmiştir. Bu sonuç kronik NaHS tedavisinin vas deferens dokusunda görülen inflamasyonu azaltabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda NF-κβ seviyesinin diyabet varlığında literatürle uyumlu şekilde ifadenmesinin yükseldiği tespit edilmiştir (205). Diyabet+NaHS grubunda ise diyabete kıyasla anlamlı olmasa da düşüş görülmektedir. Literatürde yer alan çalışmalarda H₂S tedavisinin inflamasyon varlığında NF-κβ seviyesini azalttığı gösterilmiştir (21). Çalışmamızda da NaHS tedavisi ile NF-κβ seviyesini azalması

ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmaması bu çalışmalarda yavaş salımlı H₂S donörlerinin kullanılması farkından kaynaklanıyor olabilir. Benzer şekilde H₂S tedavisinin inflamasyon varlığında NF- κ B seviyesini azalttığı çalışmalarda da nonsteroid anti-inflamatuvar ilaçlarla kombine H₂S donörleri kullanılmış olup, aradaki anlamlılık farkı çalışmamızda hızlı H₂S donörü kullanılmasından ya da nonsteroid anti-inflamatuvar ilaçların etkisinden kaynaklanıyor olabilir (148, 149). Çalışmamızda diyabetin NF- κ B ifadelenme düzeyini arttırırken kronik NaHS tedavisinin anlamlı olmasa da NF- κ B'yi azaltıyor olması, H₂S'nin diyabette vas deferens dokusunda görülen inflamasyon ve kalsifikasyon üzerinde önleyici/düzeltilici etkisi olabileceğini düşündürmektedir. Literatürde de patolojik durumlarda H₂S'nin kalsifikasyonu azalttığı gösterilmiş olup (31) sonuçlarımız bu bağlamda literatür ile uyumludur.

Diyabette TGF- β düzeyinin arttığı bilinmektedir ve STZ çalışmaları ile bu artış gösterilmiştir (206). Çalışmamızda diyabet grubunda TGF- β düzeyinde artış görülmesi literatür ile uyumludur. Diyabet+NaHS grubunda ise anlamlı olmasa da TGF- β düzeyinde azalma görülmektedir. Literatürde vas deferens dokusunda bir çalışma bulunmamakla birlikte H₂S'nin myokard, böbrek, korpus kavernozum gibi farklı dokularda TGF- β 'yi inhibe ettiği ve böylece fibrozisi azalttığı kanıtlanmıştır (64, 207, 208). H₂S'nin TGF- β 'yi inhibe edici etkileri gösterilmiş olup H₂S'nin fibrozis konusunda üriner sistemde TGF- β üzerinde düzenleyici bir rol üstlenmiş olabileceği literatürde belirtilmiştir (209). Çalışmamız sonuçlarına göre H₂S tedavisinin diyabette vas deferens dokusunda görülebilecek fibrozisi önleyici/düzeltilici etkisi olabileceği öne sürülebilir.

Sonuç olarak Western Blot işlemine dair bütün sonuçlar göz önüne alındığında, inflamasyon, kalsifikasyon ve fibrozis belirteç artışları ile bu etkilerin vas deferens dokusunda görülebileceği öne sürülebilir. Kronik NaHS tedavisinin ise inflamasyon, kalsifikasyon ve fibrozisi ve bu durumlara ait belirteçleri azaltabileceği söylenebilir. Ancak bu etkilerin kanıtlanması ve kronik H₂S tedavisinin inflamasyon, kalsifikasyon ve fibrozis gibi vas deferenste görülebilecek komplikasyonlar üzerindeki etkisini kesin olarak değerlendirmek için histopatolojik görüntüleme yöntemleri ya da literatürde yer alan yavaş salımlı H₂S donörleri kullanılarak ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Western Blot ve izole organ banyosunda elde edilen sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde diyabetin vas deferens fonksiyonu üzerindeki olumsuz etkisini hem yapısal bozukluklar hem de adrenerjik nöronlar üzerinde presinaptik iletim mekanizmasını etkileyerek yaptığı ve H₂S'nin otonom sinir sistemi üzerinde düzeltici bir etkisiyle birlikte yapısal bozuklukları azaltıcı yönde bir etkisi de olduğu öne sürülebilir.

6. SONUÇLAR

1. Diyabet hem prostatik hem de epididimal uçta EAU aracılı kasılma yanıtlarını azaltmıştır. Bu durum diyabetin vas deferens kasılma fonksiyonunu bozarak etki gösterdiğini doğrulamaktadır. Diyabet epididimal ucu prostatik uca kıyasla daha fazla etkilemiş olup epididimal ucun diyabet komplikasyonlarına daha hassas olduğunu düşündürmektedir.

2. Diyabet epididimal ucu daha fazla etkilemekle birlikte, her iki uçta da yüksek frekanslarda daha fazla düşüşe neden olmaktadır. Hem yüksek frekanslarda elde edilen EAU aracılı kasılma yanıtlarının hem de epididimal uçtaki yanıtların daha çok adrenerjik sistemle ilgili olması diyabetin daha çok adrenerjik sinirleri etkileyerek vas deferens kasılma fonksiyonunu bozduğu söylenebilir.

3. Diyabet her iki uçta da EAU aracılı kasılma yanıtlarında düşüşe neden olmuştur. Prostatik uçta postsinaptik noradrenalin ya da ATP aracılı kasılma yanıtlarında değışikliğe neden olmaması diyabetin prostatik uçta daha çok presinaptik mekanizmaları etkilediğini düşündürmektedir. Epididimal uçta postsinaptik noradrenalin yanıtlarında da düşüşe neden olması, bu uçta adrenerjik sinirleri hem presinaptik hem de postsinaptik mekanizma düzeyinde etkilediğini düşündürmektedir.

4. NaHS tedavisinin hem prostatik hem de epididimal uçta diyabet grubuna kıyasla EAU aracılı kasılma yanıtlarını arttırması, kronik NaHS tedavisinin diyabetin vas deferens fonksiyonu üzerindeki olumsuz etkisini düzeltebileceğini göstermektedir. Prostatik uçta postsinaptik kasılma yanıtlarında bu etki görülmezken EAU aracılı yanıtlarda düzelmeye neden olması bu uçta daha çok presinaptik düzeyde etkili

olduğunu düşündürmektedir. Epididimal uçta presinaptik yanıtlara ek olarak postsinaptik noradrenalin yanıtlarında da düzelmeye neden olması bu uçta hem presinaptik hem de postsinaptik mekanizma düzeyinde etki edebileceğini düşündürmektedir.

5. NaHS patoloji olmayan duruma epididimal uçta etki göstermemektedir. Ancak prostatik uçta EAU aracılı kasılmayı arttırıcı bir etkisi görülmektedir. Bu durum hidrojen sülfürün patoloji varlığında ya da yokluğunda prostatik uçtaki pürinerjik sinirlerle etkileşime girdiğini düşündürmektedir.

6. NO üretimi inhibe edildiği zaman vas deferens dokusunda elde edilen kasılma yanıtlarının artması, NO'nun bu yanıtlar üzerinde baskılayıcı ya da düzenleyici bir etkisi olduğunu kanıtlamaktadır.

7. Western blot yöntemi ile CBS ve CSE enzimeri varlığı vas deferens dokusunda gösterilmiştir ve patolojik durum yokken ekzojen H₂S verildiği zaman enzim seviyeleri değişmezken, diyabette H₂S verilmesini ile enzimlerin downregüle olduğu tespit edilmiştir. Diyabet vas deferens dokusunda NF- κ B, IL-1 β ve TGF- β ifadenme düzeylerini arttırmış ve böylece vas deferenste inflamasyon, kalsifikasyon ve fibrozise neden olabileceği gösterilmiştir. NaHS tedavisinin ise bu belirteçleri azalttığı gösterilmiş olup diyabette vas deferens dokusunda görülebilecek inflamasyon, kalsifikasyon ve fibrozisi önleyici/düzeltici etkisi olduğu öne sürülebilir.

7.KAYNAKLAR

1. Tuomi T, Santoro N, Caprio S, Cai M, Weng J, Groop L. The many faces of diabetes: a disease with increasing heterogeneity. *Lancet*. 2014;383(9922):1084-94.
2. Zimmet P, Alberti KG, Magliano DJ, Bennett PH. Diabetes mellitus statistics on prevalence and mortality: facts and fallacies. *Nat Rev Endocrinol*. 2016;12(10):616-22.
3. Association AD. Diabetes Overview Understanding A1C [Available from: <https://diabetes.org/diabetes/a1c/diagnosis>.
4. Satman I IS, Yılmaz C, Akalın S, Salman S. Diyabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu Türkiye Endokrin ve Metabolizma Derneği 2022 [Available from: https://file.temd.org.tr/Uploads/publications/guides/documents/diabetes-mellitus_2022.pdf.
5. Huang D, Refaat M, Mohammedi K, Jayyousi A, Al Suwaidi J, Abi Khalil C. Macrovascular Complications in Patients with Diabetes and Prediabetes. *Biomed Res Int*. 2017;2017:7839101.
6. Mishriky BM, Cummings DM, Powell JR. Diabetes-Related Microvascular Complications - A Practical Approach. *Prim Care*. 2022;49(2):239-54.
7. 11. Microvascular Complications and Foot Care: Standards of Medical Care in Diabetes-2021. *Diabetes Care*. 2021;44(Suppl 1):S151-s67.
8. Baum P, Toyka KV, Blüher M, Kosacka J, Nowicki M. Inflammatory Mechanisms in the Pathophysiology of Diabetic Peripheral Neuropathy (DN)-New Aspects. *Int J Mol Sci*. 2021;22(19).
9. Agochukwu-Mmonu N, Pop-Busui R, Wessells H, Sarma AV. Autonomic neuropathy and urologic complications in diabetes. *Auton Neurosci*. 2020;229:102736.
10. Dunsmuir WD, Holmes SA. The aetiology and management of erectile, ejaculatory, and fertility problems in men with diabetes mellitus. *Diabet Med*. 1996;13(8):700-8.
11. Westfall TD, Westfall DP. Pharmacological techniques for the in vitro study of the vas deferens. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2001;45(2):109-22.
12. Burnstock G, Verkhatsky A. Vas deferens--a model used to establish sympathetic cotransmission. *Trends Pharmacol Sci*. 2010;31(3):131-9.
13. Koslov DS, Andersson KE. Physiological and pharmacological aspects of the vas deferens-an update. *Front Pharmacol*. 2013;4:101.
14. Revenig L, Leung A, Hsiao W. Ejaculatory physiology and pathophysiology: assessment and treatment in male infertility. *Transl Androl Urol*. 2014;3(1):41-9.
15. Desai A, Chen R, Cayetano A, Jayasena CN, Minhas S. Understanding and treating ejaculatory dysfunction in men with diabetes mellitus. *Andrology*. 2023;11(2):379-98.
16. Tomlinson DR, Gillon KR, Smith MG. Axonal transport of noradrenaline and noradrenergic transmission in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 1982;22(3):199-204.

17. Peredo H, Agostini MD, Gimeno MF, Borda ES. Hypersensitivity to norepinephrine in vasa deferentia from diabetic rats. Possible participation of metabolic products of arachidonic acid. *Prostaglandins Leukot Med.* 1984;15(2):229-39.
18. Longhurst PA. The effects of testosterone or insulin treatment on contractile responses of the rat vas deferens following castration or streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Gen Pharmacol.* 1990;21(4):427-34.
19. Kamata K, Kirisawa H. Changes in electrophysiological properties and noradrenaline response in vas deferens of diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* 1998;350(2-3):237-41.
20. Haddad WT, Jr., Moritsugu OT, Fornazari VR, Neto C, da Frota YB, Molina CAF, et al. Prevalence of Vas Deferens Calcifications on Abdominal CT Examinations and Association With Systemic Conditions. *AJR Am J Roentgenol.* 2020;215(6):1398-402.
21. Éva Sikura K, Combi Z, Potor L, Szerafin T, Hendrik Z, Méhes G, et al. Hydrogen sulfide inhibits aortic valve calcification in heart via regulating RUNX2 by NF- κ B, a link between inflammation and mineralization. *J Adv Res.* 2021;27:165-76.
22. Tuleta I, Frangogiannis NG. Diabetic fibrosis. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis.* 2021;1867(4):166044.
23. Pandey S, Dvorakova MC. Future Perspective of Diabetic Animal Models. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2020;20(1):25-38.
24. Kamai T, Fukumoto Y, Gousse A, Yoshida M, Davenport TA, Weiss RM, et al. Diabetes-induced alterations in the properties of muscarinic cholinergic receptors in rat vas deferens. *J Urol.* 1994;152(3):1017-21.
25. Bektas N, Ozturk Y. Effect of phenolic acids on functions of rat aorta, vas deferens and on metabolic changes in streptozotocin-induced diabetes. *Indian J Pharmacol.* 2012;44(2):184-8.
26. Cirino G, Szabo C, Papapetropoulos A. Physiological roles of hydrogen sulfide in mammalian cells, tissues, and organs. *Physiol Rev.* 2023;103(1):31-276.
27. Beltowski J, Jamroz-Wisniewska A. Hydrogen sulfide and endothelium-dependent vasorelaxation. *Molecules.* 2014;19(12):21183-99.
28. Lo Faro ML, Fox B, Whatmore JL, Winyard PG, Whiteman M. Hydrogen sulfide and nitric oxide interactions in inflammation. *Nitric Oxide.* 2014;41:38-47.
29. Yu XH, Cui LB, Wu K, Zheng XL, Cayabyab FS, Chen ZW, et al. Hydrogen sulfide as a potent cardiovascular protective agent. *Clin Chim Acta.* 2014;437:78-87.
30. Li Y, Zang Y, Fu S, Zhang H, Gao L, Li J. H₂S relaxes vas deferens smooth muscle by modulating the large conductance Ca²⁺-activated K⁺ (BKCa) channels via a redox mechanism. *J Sex Med.* 2012;9(11):2806-13.
31. Castelblanco M, Nasi S, Pasch A, So A, Busso N. The role of the gasotransmitter hydrogen sulfide in pathological calcification. *Br J Pharmacol.* 2020;177(4):778-92.
32. Chirindoth SS, Cancarevic I. Role of Hydrogen Sulfide in the Treatment of Fibrosis. *Cureus.* 2021;13(9):e18088.

33. Anuar F, Whiteman M, Siau JL, Kwong SE, Bhatia M, Moore PK. Nitric oxide-releasing flurbiprofen reduces formation of proinflammatory hydrogen sulfide in lipopolysaccharide-treated rat. *Br J Pharmacol*. 2006;147(8):966-74.
34. Oh GS, Pae HO, Lee BS, Kim BN, Kim JM, Kim HR, et al. Hydrogen sulfide inhibits nitric oxide production and nuclear factor-kappaB via heme oxygenase-1 expression in RAW264.7 macrophages stimulated with lipopolysaccharide. *Free Radic Biol Med*. 2006;41(1):106-19.
35. Diabetes around the world in 2021 International Diabetes Foundation Diabetes Atlas: International Diabetes Foundation; 2021 [updated 2021. Available from: <https://diabetesatlas.org/>.
36. Satman I, Omer B, Tutuncu Y, Kalaca S, Gedik S, Dinccag N, et al. Twelve-year trends in the prevalence and risk factors of diabetes and prediabetes in Turkish adults. *Eur J Epidemiol*. 2013;28(2):169-80.
37. Roden M, Shulman GI. The integrative biology of type 2 diabetes. *Nature*. 2019;576(7785):51-60.
38. Weyer C, Bogardus C, Mott DM, Pratley RE. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest*. 1999;104(6):787-94.
39. Kautzky-Willer A, Harreiter J, Pacini G. Sex and Gender Differences in Risk, Pathophysiology and Complications of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocr Rev*. 2016;37(3):278-316.
40. FE C. Tip 2 Diyabetes Mellitus Hastalarında Diyabetik Retinopati ile Ürik Asit/HDL Arasındaki İlişki. Tıpta Uzmanlık Tezi. İstanbul: T.C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi, 2023.
41. Jameson JL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 20e. New York, NY: McGraw-Hill Education; 2018.
42. Goldman L SA. *Goldman-Cecil Medicine 25th Edition*: Elsevier; 2015. 3024 p.
43. Haffner SM, Lehto S, Rönnemaa T, Pyörälä K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1998;339(4):229-34.
44. O'Donnell MJ, Xavier D, Liu L, Zhang H, Chin SL, Rao-Melacini P, et al. Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the INTERSTROKE study): a case-control study. *Lancet*. 2010;376(9735):112-23.
45. Jia Q, Zhao X, Wang C, Wang Y, Yan Y, Li H, et al. Diabetes and poor outcomes within 6 months after acute ischemic stroke: the China National Stroke Registry. *Stroke*. 2011;42(10):2758-62.
46. Lange S, Diehm C, Darius H, Haberl R, Allenberg JR, Pittrow D, et al. High prevalence of peripheral arterial disease and low treatment rates in elderly primary care patients with diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2004;112(10):566-73.
47. KDIGO 2020 Clinical Practice Guideline for Diabetes Management in Chronic Kidney Disease. *Kidney Int*. 2020;98(4s):S1-s115.
48. Samsu N. Diabetic Nephropathy: Challenges in Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment. *Biomed Res Int*. 2021;2021:1497449.

49. Nukada H, McMorran PD, Baba M, Ogasawara S, Yagihashi S. Increased susceptibility to ischemia and macrophage activation in STZ-diabetic rat nerve. *Brain Res.* 2011;1373:172-82.
50. Kosacka J, Nowicki M, Klötting N, Kern M, Stumvoll M, Bechmann I, et al. COMP-angiopoietin-1 recovers molecular biomarkers of neuropathy and improves vascularisation in sciatic nerve of ob/ob mice. *PLoS One.* 2012;7(3):e32881.
51. Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *Jama.* 2001;286(3):327-34.
52. Duncan BB, Schmidt MI, Pankow JS, Ballantyne CM, Couper D, Vigo A, et al. Low-grade systemic inflammation and the development of type 2 diabetes: the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes.* 2003;52(7):1799-805.
53. King GL. The role of inflammatory cytokines in diabetes and its complications. *J Periodontol.* 2008;79(8 Suppl):1527-34.
54. Herder C, Schamarek I, Nowotny B, Carstensen-Kirberg M, Straßburger K, Nowotny P, et al. Inflammatory markers are associated with cardiac autonomic dysfunction in recent-onset type 2 diabetes. *Heart.* 2017;103(1):63-70.
55. Bhati P, Alam R, Moiz JA, Hussain ME. Subclinical inflammation and endothelial dysfunction are linked to cardiac autonomic neuropathy in type 2 diabetes. *J Diabetes Metab Disord.* 2019;18(2):419-28.
56. Pop-Busui R, Boulton AJ, Feldman EL, Bril V, Freeman R, Malik RA, et al. Diabetic Neuropathy: A Position Statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care.* 2017;40(1):136-54.
57. Freeman R. Autonomic Peripheral Neuropathy. *Continuum (Minneapolis).* 2020;26(1):58-71.
58. Yuan Z, Tang Z, He C, Tang W. Diabetic cystopathy: A review. *J Diabetes.* 2015;7(4):442-7.
59. Penson DF, Wessells H, Cleary P, Rutledge BN. Sexual dysfunction and symptom impact in men with long-standing type 1 diabetes in the DCCT/EDIC cohort. *J Sex Med.* 2009;6(7):1969-78.
60. Feldman HA, Goldstein I, Hatzichristou DG, Krane RJ, McKinlay JB. Impotence and its medical and psychosocial correlates: results of the Massachusetts Male Aging Study. *J Urol.* 1994;151(1):54-61.
61. Koudrat Y, Pizzol D, Cosco T, Thompson T, Carnaghi M, Bertoldo A, et al. High prevalence of erectile dysfunction in diabetes: a systematic review and meta-analysis of 145 studies. *Diabet Med.* 2017;34(9):1185-92.
62. Lizza EF, Rosen RC. Definition and classification of erectile dysfunction: report of the Nomenclature Committee of the International Society of Impotence Research. *Int J Impot Res.* 1999;11(3):141-3.
63. Hidalgo-Tamola J, Chitaley K. Review type 2 diabetes mellitus and erectile dysfunction. *J Sex Med.* 2009;6(4):916-26.
64. Qabazard B, Yousif M, Mousa A, Phillips OA. GYY4137 attenuates functional impairment of corpus cavernosum and reduces fibrosis in rats with STZ-induced diabetes by inhibiting the TGF- β 1/Smad/CTGF pathway. *Biomed Pharmacother.* 2021;138:111486.

65. Kerr DM, Middleton WD. Ultrasound of the Normal and Abnormal Vas Deferens. *Ultrasound Q.* 2022;38(3):224-36.
66. Phillips E, Carpenter C, Oates RD. Ejaculatory dysfunction. *Urol Clin North Am.* 2014;41(1):115-28.
67. Dixon JS, Jen PY, Gosling JA. Structure and autonomic innervation of the human vas deferens: a review. *Microsc Res Tech.* 1998;42(6):423-32.
68. Sneddon P, Machaly M. Regional variation in purinergic and adrenergic responses in isolated vas deferens of rat, rabbit and guinea-pig. *J Auton Pharmacol.* 1992;12(6):421-8.
69. Ventura S. Autoinhibition, sympathetic cotransmission and biphasic contractile responses to trains of nerve stimulation in the rodent vas deferens. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 1998;25(12):965-73.
70. French AM, Scott NC. Evidence to support the hypothesis that ATP is a co-transmitter in rat vas deferens. *Experientia.* 1983;39(3):264-6.
71. Truitt WA, Coolen LM. Identification of a potential ejaculation generator in the spinal cord. *Science.* 2002;297(5586):1566-9.
72. Chéhensse C, Facchinetti P, Bahrami S, Andrey P, Soler JM, Chrétien F, et al. Human spinal ejaculation generator. *Ann Neurol.* 2017;81(1):35-45.
73. Baird AD, Wilson SJ, Bladin PF, Saling MM, Reutens DC. Neurological control of human sexual behaviour: insights from lesion studies. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2007;78(10):1042-9.
74. Borgdorff AJ, Bernabé J, Denys P, Alexandre L, Giuliano F. Ejaculation elicited by microstimulation of lumbar spinothalamic neurons. *Eur Urol.* 2008;54(2):449-56.
75. Chéhensse C, Bahrami S, Denys P, Clément P, Bernabé J, Giuliano F. The spinal control of ejaculation revisited: a systematic review and meta-analysis of anejaculation in spinal cord injured patients. *Hum Reprod Update.* 2013;19(5):507-26.
76. Clement P, Giuliano F. Physiology and Pharmacology of Ejaculation. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2016;119 Suppl 3:18-25.
77. Michel MC, Vrydag W. Alpha1-, alpha2- and beta-adrenoceptors in the urinary bladder, urethra and prostate. *Br J Pharmacol.* 2006;147 Suppl 2(Suppl 2):S88-119.
78. Shafik A. The mechanism of ejaculation: the glans-vasal and urethromuscular reflexes. *Arch Androl.* 1998;41(2):71-8.
79. Peeters M, Giuliano F. Central neurophysiology and dopaminergic control of ejaculation. *Neurosci Biobehav Rev.* 2008;32(3):438-53.
80. Ahlenius S, Larsson K, Svensson L, Hjorth S, Carlsson A, Lindberg P, et al. Effects of a new type of 5-HT receptor agonist on male rat sexual behavior. *Pharmacol Biochem Behav.* 1981;15(5):785-92.
81. Oti T, Satoh K, Uta D, Nagafuchi J, Tateishi S, Ueda R, et al. Oxytocin Influences Male Sexual Activity via Non-synaptic Axonal Release in the Spinal Cord. *Curr Biol.* 2021;31(1):103-14.e5.
82. Laumann EO, Paik A, Rosen RC. Sexual dysfunction in the United States: prevalence and predictors. *Jama.* 1999;281(6):537-44.

83. Beck SD, Bey AL, Bihrlé R, Foster RS. Ejaculatory status and fertility rates after primary retroperitoneal lymph node dissection. *J Urol*. 2010;184(5):2078-80.
84. Basiri A, Ghaed MA, Simforoosh N, Tabibi A, Danesh A, Nouralizadeh A, et al. Is modified retroperitoneal lymph node dissection alive for clinical stage I non-seminomatous germ cell testicular tumor? *Urol J*. 2013;10(2):873-7.
85. McDougall AJ, McLeod JG. Autonomic nervous system function in multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2003;215(1-2):79-85.
86. May AG, DeWeese JA, Rob CG. Changes in sexual function following operation on the abdominal aorta. *Surgery*. 1969;65(1):41-7.
87. Nishizawa Y, Ito M, Saito N, Suzuki T, Sugito M, Tanaka T. Male sexual dysfunction after rectal cancer surgery. *Int J Colorectal Dis*. 2011;26(12):1541-8.
88. Fedder J, Kaspersen MD, Brandslund I, Højgaard A. Retrograde ejaculation and sexual dysfunction in men with diabetes mellitus: a prospective, controlled study. *Andrology*. 2013;1(4):602-6.
89. Getie Mekonnen E, Yeshita HY, Bishaw Geremew A. Sexual dysfunction among men with diabetes mellitus attending chronic out-patient department at the three hospitals of Northwest Amhara region, Ethiopia: Prevalence and associated factors. *PLoS One*. 2021;16(8):e0256015.
90. Bellastella G, Maiorino MI, Olita L, Della Volpe E, Giugliano D, Esposito K. Premature ejaculation is associated with glycemic control in Type 1 diabetes. *J Sex Med*. 2015;12(1):93-9.
91. Majzoub A, Arafa M, Al-Said S, Dabbous Z, Aboulsoud S, Khalafalla K, et al. Premature ejaculation in type II diabetes mellitus patients: association with glycemic control. *Transl Androl Urol*. 2016;5(2):248-54.
92. Serefoglu EC, McMahon CG, Waldinger MD, Althof SE, Shindel A, Adaikan G, et al. An evidence-based unified definition of lifelong and acquired premature ejaculation: report of the second International Society for Sexual Medicine Ad Hoc Committee for the Definition of Premature Ejaculation. *J Sex Med*. 2014;11(6):1423-41.
93. Rowland D, McMahon CG, Abdo C, Chen J, Jannini E, Waldinger MD, et al. Disorders of orgasm and ejaculation in men. *J Sex Med*. 2010;7(4 Pt 2):1668-86.
94. Sloan G, Selvarajah D, Tesfaye S. Pathogenesis, diagnosis and clinical management of diabetic sensorimotor peripheral neuropathy. *Nat Rev Endocrinol*. 2021;17(7):400-20.
95. Feldman EL, Callaghan BC, Pop-Busui R, Zochodne DW, Wright DE, Bennett DL, et al. Diabetic neuropathy. *Nat Rev Dis Primers*. 2019;5(1):41.
96. Oztürk Y, Yildizoğlu-Ari N, Altan VM. Altered alpha-adrenergic responses of vas deferens to noradrenaline and tyramine from rats with short- and long-term alloxan diabetes. *Gen Pharmacol*. 1994;25(7):1519-24.
97. Ibragimov AZ, Aliev TA, Abdullaev KI, Mirza-Zade VA. [The function of the closure apparatus of the bladder in retrograde ejaculation in diabetics]. *Urol Nefrol (Mosk)*. 1990(3):65-8.
98. Torimoto K, Hirao Y, Matsuyoshi H, de Groat WC, Chancellor MB, Yoshimura N. alpha1-Adrenergic mechanism in diabetic urethral dysfunction in rats. *J Urol*. 2005;173(3):1027-32.

99. McVary KT, Rathnau CH, McKenna KE. Sexual dysfunction in the diabetic BB/WOR rat: a role of central neuropathy. *Am J Physiol.* 1997;272(1 Pt 2):R259-67.
100. Pérez-Taboada I, Alberquilla S, Martín ED, Anand R, Vietti-Michelina S, Tebeka NN, et al. Diabetes Causes Dysfunctional Dopamine Neurotransmission Favoring Nigrostriatal Degeneration in Mice. *Mov Disord.* 2020;35(9):1636-48.
101. Eaton RC, Markowski VP, Lumley LA, Thompson JT, Moses J, Hull EM. D2 receptors in the paraventricular nucleus regulate genital responses and copulation in male rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 1991;39(1):177-81.
102. Ahlenius S, Larsson K. Effects of the dopamine D3 receptor ligand 7-OH-DPAT on male rat ejaculatory behavior. *Pharmacol Biochem Behav.* 1995;51(2-3):545-7.
103. Waldinger MD. The neurobiological approach to premature ejaculation. *J Urol.* 2002;168(6):2359-67.
104. Culver GJ, Tannenhaus J. Calcification of the vas deferens in diabetes. *J Am Med Assoc.* 1960;173:648-51.
105. Rodriguez-de-Velasquez A, Yoder IC, Velasquez PA, Papanicolaou N. Imaging the effects of diabetes on the genitourinary system. *Radiographics.* 1995;15(5):1051-68.
106. Wang FZ, Zhou H, Wang HY, Dai HB, Gao Q, Qian P, et al. Hydrogen sulfide prevents arterial medial calcification in rats with diabetic nephropathy. *BMC Cardiovasc Disord.* 2021;21(1):495.
107. Althof SE, Wieder M. Psychotherapy for erectile dysfunction: now more relevant than ever. *Endocrine.* 2004;23(2-3):131-4.
108. Dinsmore WW, Hackett G, Goldmeier D, Waldinger M, Dean J, Wright P, et al. Topical eutectic mixture for premature ejaculation (TEMPE): a novel aerosol-delivery form of lidocaine-prilocaine for treating premature ejaculation. *BJU Int.* 2007;99(2):369-75.
109. Atlantis E, Sullivan T. Bidirectional association between depression and sexual dysfunction: a systematic review and meta-analysis. *J Sex Med.* 2012;9(6):1497-507.
110. Althof SE, McMahon CG, Waldinger MD, Serefoglu EC, Shindel AW, Adaikan PG, et al. An Update of the International Society of Sexual Medicine's Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Premature Ejaculation (PE). *Sex Med.* 2014;2(2):60-90.
111. Sutton M, Hunn C, Summers-Colquitt RB, Chen SH, Kavoussi SK, Kavoussi KM, et al. Promescent Has a Cytotoxic Impact on Fresh Human Sperm In Vitro. *Urology.* 2018;114:95-8.
112. Salonia A, Bettocchi C, Boeri L, Capogrosso P, Carvalho J, Cilesiz NC, et al. European Association of Urology Guidelines on Sexual and Reproductive Health-2021 Update: Male Sexual Dysfunction. *Eur Urol.* 2021;80(3):333-57.
113. Hotchkiss RS, Pinto AB, Kleegman S. Artificial insemination with semen recovered from the bladder. *Fertil Steril.* 1954;6(1):37-42.
114. Jefferys A, Siassakos D, Wardle P. The management of retrograde ejaculation: a systematic review and update. *Fertil Steril.* 2012;97(2):306-12.

115. Philippon M, Karsenty G, Bernuz B, Courbiere B, Brue T, Saias-Magnan J, et al. Successful pregnancies and healthy live births using frozen-thawed sperm retrieved by a new modified Hotchkiss procedure in males with retrograde ejaculation: first case series. *Basic Clin Androl.* 2015;25:5.
116. Kurbatov D, Russo GI, Galstyan GR, Rozhivanov R, Lepetukhin A, Dubsky S, et al. Correction of Retrograde Ejaculation in Patients with Diabetes Mellitus Using Endourethral Collagen Injection: Preliminary Results. *J Sex Med.* 2015;12(11):2126-9.
117. Mostafa T, Abdel-Hamid IA. Ejaculatory dysfunction in men with diabetes mellitus. *World J Diabetes.* 2021;12(7):954-74.
118. Keller Ashton A, Hamer R, Rosen RC. Serotonin reuptake inhibitor-induced sexual dysfunction and its treatment: a large-scale retrospective study of 596 psychiatric outpatients. *J Sex Marital Ther.* 1997;23(3):165-75.
119. Nelson CJ, Ahmed A, Valenzuela R, Parker M, Mulhall JP. Assessment of penile vibratory stimulation as a management strategy in men with secondary retarded orgasm. *Urology.* 2007;69(3):552-5; discussion 5-6.
120. Park YW, Kim Y, Lee JH. Antipsychotic-induced sexual dysfunction and its management. *World J Mens Health.* 2012;30(3):153-9.
121. Butcher MJ, Welliver RC, Jr., Sadowski D, Botchway A, Köhler TS. How is delayed ejaculation defined and treated in North America? *Andrology.* 2015;3(3):626-31.
122. Jolivald CG, Frizzi KE, Guernsey L, Marquez A, Ochoa J, Rodriguez M, et al. Peripheral Neuropathy in Mouse Models of Diabetes. *Curr Protoc Mouse Biol.* 2016;6(3):223-55.
123. Al-Awar A, Kupai K, Veszelka M, Szűcs G, Attieh Z, Murlasits Z, et al. Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models. *J Diabetes Res.* 2016;2016:9051426.
124. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia.* 2008;51(2):216-26.
125. Brøndum E, Nilsson H, Aalkjaer C. Functional abnormalities in isolated arteries from Goto-Kakizaki and streptozotocin-treated diabetic rat models. *Horm Metab Res.* 2005;37 Suppl 1:56-60.
126. Wang R. The evolution of gasotransmitter biology and medicine: from atmospheric toxic gases to endogenous gaseous signaling molecules. *Signal Transduction and the Gasotransmitters: NO, CO, and H₂S in Biology and Medicine.* 2004:3-31.
127. Fukuto JM, Carrington SJ, Tantillo DJ, Harrison JG, Ignarro LJ, Freeman BA, et al. Small molecule signaling agents: the integrated chemistry and biochemistry of nitrogen oxides, oxides of carbon, dioxygen, hydrogen sulfide, and their derived species. *Chem Res Toxicol.* 2012;25(4):769-93.
128. Kevil C, Cortese-Krott MM, Nagy P, Papapetropoulos A, Feelisch M, Szabo C. Cooperative interactions between NO and H₂S: chemistry, biology, physiology, pathophysiology. *Nitric Oxide: Elsevier;* 2017. p. 57-83.
129. Robert K, Vialard F, Thiery E, Toyama K, Sinet PM, Janel N, et al. Expression of the cystathionine beta synthase (CBS) gene during mouse

development and immunolocalization in adult brain. *J Histochem Cytochem.* 2003;51(3):363-71.

130. Kimura H. Signaling molecules: hydrogen sulfide and polysulfide. *Antioxid Redox Signal.* 2015;22(5):362-76.

131. Kimura H. Hydrogen polysulfide (H₂S (n)) signaling along with hydrogen sulfide (H₂S) and nitric oxide (NO). *J Neural Transm (Vienna).* 2016;123(11):1235-45.

132. Uhlen M, Zhang C, Lee S, Sjöstedt E, Fagerberg L, Bidkhor G, et al. A pathology atlas of the human cancer transcriptome. *Science.* 2017;357(6352).

133. Kabil O, Vitvitsky V, Xie P, Banerjee R. The quantitative significance of the transsulfuration enzymes for H₂S production in murine tissues. *Antioxid Redox Signal.* 2011;15(2):363-72.

134. Kondo K, Bhushan S, King AL, Prabhu SD, Hamid T, Koenig S, et al. H₂S protects against pressure overload-induced heart failure via upregulation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation.* 2013;127(10):1116-27.

135. Bucci M, Vellecco V, Cantalupo A, Brancalone V, Zhou Z, Evangelista S, et al. Hydrogen sulfide accounts for the peripheral vascular effects of zofenopril independently of ACE inhibition. *Cardiovasc Res.* 2014;102(1):138-47.

136. Kimura H. Production and physiological effects of hydrogen sulfide. *Antioxid Redox Signal.* 2014;20(5):783-93.

137. Kimura Y, Kimura H. Hydrogen sulfide protects neurons from oxidative stress. *Faseb j.* 2004;18(10):1165-7.

138. Kimura H, Nagai Y, Umemura K, Kimura Y. Physiological roles of hydrogen sulfide: synaptic modulation, neuroprotection, and smooth muscle relaxation. *Antioxid Redox Signal.* 2005;7(5-6):795-803.

139. Zhao W, Zhang J, Lu Y, Wang R. The vasorelaxant effect of H₂S as a novel endogenous gaseous K(ATP) channel opener. *Embo j.* 2001;20(21):6008-16.

140. Teague B, Asiedu S, Moore PK. The smooth muscle relaxant effect of hydrogen sulphide in vitro: evidence for a physiological role to control intestinal contractility. *Br J Pharmacol.* 2002;137(2):139-45.

141. Bucci M, Mirone V, Di Lorenzo A, Vellecco V, Roviezzo F, Brancalone V, et al. Hydrogen sulphide is involved in testosterone vascular effect. *Eur Urol.* 2009;56(2):378-83.

142. Xia M, Chen L, Muh RW, Li PL, Li N. Production and actions of hydrogen sulfide, a novel gaseous bioactive substance, in the kidneys. *J Pharmacol Exp Ther.* 2009;329(3):1056-62.

143. di Villa Bianca R, Cirino G, Sorrentino R. Hydrogen Sulfide and Urogenital Tract. *Handb Exp Pharmacol.* 2015;230:111-36.

144. Kadlec M, Ros-Santaella JL, Pintus E. The Roles of NO and H₂S in Sperm Biology: Recent Advances and New Perspectives. *Int J Mol Sci.* 2020;21(6).

145. Collin M, Anuar FB, Murch O, Bhatia M, Moore PK, Thiemermann C. Inhibition of endogenous hydrogen sulfide formation reduces the organ injury caused by endotoxemia. *Br J Pharmacol.* 2005;146(4):498-505.

146. Zhang H, Zhi L, Mookhala S, Moore PK, Bhatia M. Hydrogen sulfide acts as an inflammatory mediator in cecal ligation and puncture-induced sepsis in mice

by upregulating the production of cytokines and chemokines via NF-kappaB. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2007;292(4):L960-71.

147. Whiteman M, Li L, Rose P, Tan CH, Parkinson DB, Moore PK. The effect of hydrogen sulfide donors on lipopolysaccharide-induced formation of inflammatory mediators in macrophages. *Antioxid Redox Signal*. 2010;12(10):1147-54.

148. Fiorucci S, Orlandi S, Mencarelli A, Caliendo G, Santagada V, Distrutti E, et al. Enhanced activity of a hydrogen sulphide-releasing derivative of mesalamine (ATB-429) in a mouse model of colitis. *Br J Pharmacol*. 2007;150(8):996-1002.

149. Li L, Rossoni G, Sparatore A, Lee LC, Del Soldato P, Moore PK. Anti-inflammatory and gastrointestinal effects of a novel diclofenac derivative. *Free Radic Biol Med*. 2007;42(5):706-19.

150. Szabó C. Hydrogen sulphide and its therapeutic potential. *Nat Rev Drug Discov*. 2007;6(11):917-35.

151. Whiteman M, Winyard PG. Hydrogen sulfide and inflammation: the good, the bad, the ugly and the promising. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2011;4(1):13-32.

152. Wang Y, Wang S, Xin Y, Zhang J, Wang S, Yang Z, et al. Hydrogen sulfide alleviates the anxiety-like and depressive-like behaviors of type 1 diabetic mice via inhibiting inflammation and ferroptosis. *Life Sci*. 2021;278:119551.

153. Pae HO, Lee YC, Jo EK, Chung HT. Subtle interplay of endogenous bioactive gases (NO, CO and H(2)S) in inflammation. *Arch Pharm Res*. 2009;32(8):1155-62.

154. Taoka S, Banerjee R. Characterization of NO binding to human cystathionine beta-synthase: possible implications of the effects of CO and NO binding to the human enzyme. *J Inorg Biochem*. 2001;87(4):245-51.

155. Kubo S, Doe I, Kurokawa Y, Nishikawa H, Kawabata A. Direct inhibition of endothelial nitric oxide synthase by hydrogen sulfide: contribution to dual modulation of vascular tension. *Toxicology*. 2007;232(1-2):138-46.

156. Zhao W, Wang R. H(2)S-induced vasorelaxation and underlying cellular and molecular mechanisms. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2002;283(2):H474-80.

157. Predmore BL, Julian D, Cardounel AJ. Hydrogen sulfide increases nitric oxide production from endothelial cells by an akt-dependent mechanism. *Front Physiol*. 2011;2:104.

158. Bir SC, Kolluru GK, McCarthy P, Shen X, Pardue S, Pattillo CB, et al. Hydrogen sulfide stimulates ischemic vascular remodeling through nitric oxide synthase and nitrite reduction activity regulating hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor-dependent angiogenesis. *J Am Heart Assoc*. 2012;1(5):e004093.

159. Hosoki R, Matsuki N, Kimura H. The possible role of hydrogen sulfide as an endogenous smooth muscle relaxant in synergy with nitric oxide. *Biochem Biophys Res Commun*. 1997;237(3):527-31.

160. d'Emmanuele di Villa Bianca R, Sorrentino R, Maffia P, Mirone V, Imbimbo C, Fusco F, et al. Hydrogen sulfide as a mediator of human corpus cavernosum smooth-muscle relaxation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(11):4513-8.

161. Chundi V, Challa SR, Garikapati DR, Juvva G, Jampani A, Pinnamaneni SH, et al. Biochanin-A attenuates neuropathic pain in diabetic rats. *J Ayurveda Integr Med.* 2016;7(4):231-7.
162. Motyl K, McCabe LR. Streptozotocin, type I diabetes severity and bone. *Biol Proced Online.* 2009;11:296-315.
163. Tu F, Li J, Wang J, Li Q, Chu W. Hydrogen sulfide protects against cognitive impairment induced by hepatic ischemia and reperfusion via attenuating neuroinflammation. *Exp Biol Med (Maywood).* 2016;241(6):636-43.
164. Pampal A, Ozturk Fincan GS, Özen IO, Isli F, Yildirim S, Ercan S, et al. The effects of different vasovasostomy techniques on motility of vas deferens (vas motility following vasovasostomy). *World J Urol.* 2023;41(12):3795-800.
165. Demirtola A, Ozen IO, Ozturk GS, Vural IM, Ercan S, Kale N, et al. The effects of varicocele and its surgical correction on vas deferens motility. *Pediatr Surg Int.* 2008;24(3):319-23.
166. Yar Saglam AS, Alp E, Elmazoglu Z, Menevse S. Treatment with cucurbitacin B alone and in combination with gefitinib induces cell cycle inhibition and apoptosis via EGFR and JAK/STAT pathway in human colorectal cancer cell lines. *Hum Exp Toxicol.* 2016;35(5):526-43.
167. Howarth FC, Qureshi A, Shahin A, Lukic ML. Effects of single high-dose and multiple low-dose streptozotocin on contraction and intracellular Ca²⁺ in ventricular myocytes from diabetes resistant and susceptible rats. *Mol Cell Biochem.* 2005;269(1-2):103-8.
168. Xiang E, Han B, Zhang Q, Rao W, Wang Z, Chang C, et al. Human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells prevent the progression of early diabetic nephropathy through inhibiting inflammation and fibrosis. *Stem Cell Res Ther.* 2020;11(1):336.
169. Dunford EC, Leclair E, Aiken J, Mandel ER, Haas TL, Birot O, et al. The effects of voluntary exercise and prazosin on capillary rarefaction and metabolism in streptozotocin-induced diabetic male rats. *J Appl Physiol (1985).* 2017;122(3):492-502.
170. Sakai Y, Honda H. Hyperactivity of Ca channels in vasa deferentia smooth muscle of diabetic rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 1987;27(2):227-9.
171. Longhurst PA. In vitro contractile responses of vasa deferentia from spontaneously diabetic BB rats. *J Auton Pharmacol.* 1991;11(2):63-71.
172. Oztürk Y, Aydin S. Effects of streptozotocin-induced diabetes and insulin on calcium responsiveness of the rat vas deferens. *Life Sci.* 2006;78(10):1084-90.
173. Hayden LJ, Franklin KJ, Roth SH, Moore GJ. Inhibition of oxytocin-induced but not angiotensin-induced rat uterine contractions following exposure to sodium sulfide. *Life Sci.* 1989;45(26):2557-60.
174. Sidhu R, Singh M, Samir G, Carson RJ. L-cysteine and sodium hydrosulphide inhibit spontaneous contractility in isolated pregnant rat uterine strips in vitro. *Pharmacol Toxicol.* 2001;88(4):198-203.
175. Nakanishi H, Matsuoka I, Nakahata N. Contractile responses of prostatic and epididymal portions of isolated rabbit vas deferens to electrical field stimulation. *Fukushima J Med Sci.* 2008;54(1):4-10.

176. Wong PY, Fong Z, Hollywood MA, Thornbury KD, Sergeant GP. Regulation of nerve-evoked contractions of the murine vas deferens. *Purinergic Signal*. 2024.
177. Markus RP, de Avellar MC. Age-related changes in the reactivity of postsynaptic adrenoceptors in the rat vas deferens: differences between the epididymal and prostatic portion. *J Auton Pharmacol*. 1997;17(3):147-54.
178. Qabazard B, Yousif MHM, Phillips OA. Alleviation of impaired reactivity in the corpus cavernosum of STZ-diabetic rats by slow-release H(2)S donor GYY4137. *Int J Impot Res*. 2019;31(2):111-8.
179. Shayea AMF, Mousa AMA, Renno WM, Nadar MS, Qabazard B, Yousif MHM. Chronic Treatment With Hydrogen Sulfide Donor GYY4137 Mitigates Microglial and Astrocyte Activation in the Spinal Cord of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2020;79(12):1320-43.
180. Alshahwan H, Qabazard B, Mousa A, Chandrasekhar B, Santhosh K, Yousif MHM. Hydrogen sulfide donor GYY4137 attenuates vascular complications in mesenteric bed of streptozotocin-induced diabetic rats. *Eur J Pharmacol*. 2022;933:175265.
181. Shayea AMF, Renno WM, Qabazard B, Masocha W. Neuroprotective Effects of a Hydrogen Sulfide Donor in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Int J Mol Sci*. 2023;24(23).
182. Shi YX, Chen Y, Zhu YZ, Huang GY, Moore PK, Huang SH, et al. Chronic sodium hydrosulfide treatment decreases medial thickening of intramyocardial coronary arterioles, interstitial fibrosis, and ROS production in spontaneously hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;293(4):H2093-100.
183. Ng HH, Yildiz GS, Ku JM, Miller AA, Woodman OL, Hart JL. Chronic NaHS treatment decreases oxidative stress and improves endothelial function in diabetic mice. *Diab Vasc Dis Res*. 2017;14(3):246-53.
184. Gomez CB, de la Cruz SH, Medina-Terol GJ, Beltran-Ornelas JH, Sánchez-López A, Silva-Velasco DL, et al. Chronic administration of NaHS and L-Cysteine restores cardiovascular changes induced by high-fat diet in rats. *Eur J Pharmacol*. 2019;863:172707.
185. Habibitabar E, Moridi H, Shateri H, Karimi SA, Salehi I, Komaki A, et al. Chronic NaHS treatment improves spatial and passive avoidance learning and memory and anxiety-like behavior and decreases oxidative stress in rats fed with a high-fat diet. *Brain Res Bull*. 2020;164:380-91.
186. Silva-Velasco DL, Beltran-Ornelas JH, Tapia-Martínez J, Sánchez-López A, de la Cruz SH, Cervantes-Pérez LG, et al. NaHS restores the vascular alterations in the renin-angiotensin system induced by hyperglycemia in rats. *Peptides*. 2023;164:171001.
187. Bhatia M. H₂S and substance P in inflammation. *Methods Enzymol*. 2015;555:195-205.
188. Wang Y, Liao S, Pan Z, Jiang S, Fan J, Yu S, et al. Hydrogen sulfide alleviates particulate matter-induced emphysema and airway inflammation by suppressing ferroptosis. *Free Radic Biol Med*. 2022;186:1-16.
189. Dilek N, Papapetropoulos A, Toliver-Kinsky T, Szabo C. Hydrogen sulfide: An endogenous regulator of the immune system. *Pharmacol Res*. 2020;161:105119.

190. Kolluru GK, Yuan S, Shen X, Kevil CG. H₂S regulation of nitric oxide metabolism. *Methods Enzymol.* 2015;554:271-97.
191. Zini A, O'Bryan MK, Magid MS, Schlegel PN. Immunohistochemical localization of endothelial nitric oxide synthase in human testis, epididymis, and vas deferens suggests a possible role for nitric oxide in spermatogenesis, sperm maturation, and programmed cell death. *Biol Reprod.* 1996;55(5):935-41.
192. Pinto R, Mota-Filipe H, Lima BS. Nitric oxide synthase/guanylate cyclase pathway modulates the rat vas deferens contractility induced by phenylephrine. *Pharmacol Toxicol.* 2002;91(4):179-84.
193. Postorino A, Vetri T, Leggio L, Serio R, Bonvissuto F. Nitric oxide as neuromodulator of sympathetic transmission in rat vas deferens. *J Auton Pharmacol.* 1998;18(1):21-9.
194. Cederqvist B, Gustafsson LE. Modulation of neuroeffector transmission in guinea-pig pulmonary artery and vas deferens by exogenous nitric oxide. *Acta Physiol Scand.* 1994;150(1):75-81.
195. Pinto R, Barrento C, Mota-Filipe H, Lima BS. Phenylephrine induces endogenous noradrenaline release in the rat vas deferens through nitric oxide synthase pathway. *Pharmacol Toxicol.* 2003;93(4):191-6.
196. Ahmad A, Sattar MA, Azam M, Abdulla MH, Khan SA, Hashmi F, et al. Cystathione gamma lyase/Hydrogen Sulphide Pathway Up Regulation Enhances the Responsiveness of α 1A and α 1B-Adrenoreceptors in the Kidney of Rats with Left Ventricular Hypertrophy. *PLoS One.* 2016;11(5):e0154995.
197. Ventura S, Burnstock G. Variation in nitric oxide synthase-immunoreactive nerve fibres with age and along the length of the vas deferens in the rat. *Cell Tissue Res.* 1996;285(3):427-34.
198. Kolluru GK, Prasai PK, Kaskas AM, Letchuman V, Pattillo CB. Oxygen tension, H₂S, and NO bioavailability: is there an interaction? *J Appl Physiol* (1985). 2016;120(2):263-70.
199. Nandi SS, Mishra PK. H₂S and homocysteine control a novel feedback regulation of cystathionine beta synthase and cystathionine gamma lyase in cardiomyocytes. *Sci Rep.* 2017;7(1):3639.
200. Wu W, Hou CL, Mu XP, Sun C, Zhu YC, Wang MJ, et al. H₂S Donor NaHS Changes the Production of Endogenous H₂S and NO in D-Galactose-Induced Accelerated Ageing. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:5707830.
201. Kowluru RA, Mohammad G, Sahajpal N. Faulty homocysteine recycling in diabetic retinopathy. *Eye Vis (Lond).* 2020;7:4.
202. Zhang Y, Yang J, Wang T, Wang SG, Liu JH, Yin CP, et al. Decreased Endogenous Hydrogen Sulfide Generation in Penile Tissues of Diabetic Rats with Erectile Dysfunction. *J Sex Med.* 2016;13(3):350-60.
203. Wang H, Shi X, Qiu M, Lv S, Zheng H, Niu B, et al. Hydrogen Sulfide Plays an Important Role by Influencing NLRP3 inflammasome. *Int J Biol Sci.* 2020;16(14):2752-60.
204. Qian J, Huang Y. Expression of TNF- α and IL-1 β in Peripheral Blood of Patients with T2DM Retinopathy. *Comput Math Methods Med.* 2022;2022:9073372.

205. An Y, Zhang H, Wang C, Jiao F, Xu H, Wang X, et al. Activation of ROS/MAPKs/NF- κ B/NLRP3 and inhibition of efferocytosis in osteoclast-mediated diabetic osteoporosis. *Faseb j.* 2019;33(11):12515-27.
206. Liu M, Li Y, Liang B, Li Z, Jiang Z, Chu C, et al. Hydrogen sulfide attenuates myocardial fibrosis in diabetic rats through the JAK/STAT signaling pathway. *Int J Mol Med.* 2018;41(4):1867-76.
207. Sun L, Jin H, Sun L, Chen S, Huang Y, Liu J, et al. Hydrogen sulfide alleviates myocardial collagen remodeling in association with inhibition of TGF- β /Smad signaling pathway in spontaneously hypertensive rats. *Mol Med.* 2015;20(1):503-15.
208. Huang Y, Zhang Z, Huang Y, Mao Z, Yang X, Nakamura Y, et al. Induction of inactive TGF- β 1 monomer formation by hydrogen sulfide contributes to its suppressive effects on Ang II- and TGF- β 1-induced EMT in renal tubular epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2018;501(2):534-40.
209. Lin S, Lian D, Liu W, Haig A, Lobb I, Hijazi A, et al. Daily therapy with a slow-releasing H₂S donor GYY4137 enables early functional recovery and ameliorates renal injury associated with urinary obstruction. *Nitric Oxide.* 2018;76:16-28.

8.ÖZET

Sıçanlarda Streptozosin ile Oluşturulmuş Diyabetes Mellitus Modelinde, Vas Deferens Kasılma Yanıtlarına Kronik Hidrojen Sülfür Tedavisinin Etkisi

DM otonomik nöropati ile vas deferensi etkileyip kasılma fonksiyonunu bozarak ejakülasyon bozukluğuna neden olmaktadır. Ayrıca inflamasyon, kalsifikasyon, fibrozis gibi yapısal bozukluklara (NF- κ B, IL1- β , TGF- β aracılı) neden olabilmektedir. H₂S'nin DM'de nöroprotektif, anti-inflamatuvar, anti-kalsifiye ve anti-fibrotik özellikleri gösterilmiştir. Çalışmamızda DM'nin vas deferens fonksiyonundaki etkisine kronik H₂S tedavisinin etkisini incelemeyi amaçladık. Sıçanlar rastgele dört gruba ayrıldı (Kontrol, NaHS, Diyabet, Diyabet+NaHS). Tek doz STZ enjeksiyonu ile (60 mg/kg) diyabet oluşturuldu. Diyabet geliştiği doğrulanarak, 8 hafta boyunca NaHS (5 mg/kg), NaHS verilmeyen gruplara distile su enjekte edildi. Enjeksiyon süresinin ardından hayvanlar sakrifiye edilerek vas deferens çıkarıldı ve şeritler izole organ banyosuna asıldı. KCl (80mM), EAU (1, 2, 4, 8, 16, 32 Hz), NO'nun etkisini değerlendirmek için L-NAME+EAU, Noradrenalin ve α , β -metilen-ATP ile kasılma yanıtları alındı. Western Blot yöntemi ile NF- κ B, IL-1 β , TGF- β ; H₂S sentezleyen CBS ve CSE enzimlerinin ifadenme düzeyine bakıldı. Prostatik ve epididimal uçlarda diyabetin EAU aracılı kasılma yanıtlarını düşürdüğü, NaHS tedavisi verilmesinin bu düşüşü düzelttiği görülmüştür. Epididimal uçta daha çok etkilenme kaydedilmiştir. NO üretimi inhibe edildiği zaman tüm gruplarda EAU aracılı kasılma yanıtları artmıştır. Bu sonuca göre vas deferens fonksiyonu üzerinde NO'nun düzenleyici bir etkisi olabilir. Prostatik uçta diyabet noradrenalin ve ATP

yanıtlarını değiştirmemiştir. Epididimal uçta diyabetin noradrenalin yanıtını azalttığı ve bu azalmanın NaHS tedavisi ile düzelidiği görölürken ATP yanıtları diyabetten etkilenmemiştir. Diyabetin IL-1 β , NF- κ β ve TGF- β ifadenme düzeyini arttırdığı ve NaHS tedavisinin anlamlı olmasa da bu düzeyleri azalttığı gösterilmiştir. NaHS tedavisinin diyabette bozulan vas deferens fonksiyonu üzerinde tedavi edici bir etkisinin olduğu ve bu etkinin presinaptik mekanizma ve yapısal fonksiyonlar üzerindeki düzeltici etki ile olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Vas deferens, hidrojen sülfür, diyabetes mellitus

9.SUMMARY

The Effect of Chronic Hydrogen Sulfide Treatment on Vas Deferens Contractile Responses in Streptozocin-induced Diabetes Mellitus Model in Rats

DM causes ejaculation disorder by affecting the vas deferens, impairing its contractile function through autonomic neuropathy. It causes structural defects via inflammation, calcification and fibrosis (by NF- κ B, IL1- β , TGF- β). H₂S has neuroprotective, anti-inflammatory, anti-calcifying and anti-fibrotic properties in DM. We aimed to examine the effect of chronic H₂S treatment on the effect of DM on vas deferens function. Rats were divided into four groups (Control, NaHS, Diabetes, Diabetes+NaHS). Diabetes was induced with STZ injection (60 mg/kg, single dose). After diabetes was confirmed, NaHS (5 mg/kg) was injected for 8 weeks, and distilled water was injected into the groups not given NaHS. After the injection period, animals were sacrificed, vas deferens was removed, and strips were hung in the isolated organ bath. Contractile responses were taken with KCl (80mM), EFS (1, 2, 4, 8, 16, 32 Hz), L-NAME+EFS (to evaluate the effect of NO), Noradrenaline and α , β -methylene-ATP. The expression levels of NF- κ B, IL-1 β , TGF- β and CBS and CSE (H₂S synthesizing enzymes) was examined with Western Blot. Diabetes reduced EFS-mediated contractile responses in the prostatic and epididymal parts, and NaHS treatment attenuates this decrease. Epididymal part was effected further. When NO production was inhibited, EFS-mediated contractile responses increased in all groups. Considering this, NO may have a regulatory effect on vas deferens function. At the prostatic part, diabetes did not alter noradrenaline and ATP responses. Diabetes decreased the noradrenaline responses in the epididymal part and this decrease improved with NaHS treatment, while ATP

responses were not affected by diabetes. Diabetes increased the expression levels of IL-1 β , NF- κ β and TGF- β , and NaHS treatment reduced these levels, although not significantly. It can be said that NaHS treatment has a therapeutic effect on the impaired vas deferens function in diabetes, and this is due to the corrective effect on the presynaptic mechanism and structural defects.

Keywords: Vas deferens, hydrogen sulfide, diabetes mellitus