



**HİPOTİROİDİZM VE LEVOTİROKSİNİN ERKEK SIÇANLARDA REPRODÜKTİF
TOKSİSİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Merve GÜVEN

Eskişehir 2024

**HİPOTİROİDİZM VE LEVOTİROKSİNİN ERKEK SIÇANLARDA REPRODÜKTİF
TOKSİSİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Merve GÜVEN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Özlem ATLI EKİOĞLU

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Aralık 2024

Eskişehir

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Merve GÜVEN'in “HİPOTİROİDİZM VE LEVOTİROKSİNİN ERKEK SIÇANLARDA REPRODÜKTİF TOKSİSİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ” başlıklı tezi 30/12/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek “Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Toksikoloji Ana Bilim Dalı Yüksek Lisans Yeterlik Tezi olarak kabul edilmiştir.

Ünvanı Adı Soyadı	İmza
Üye (Danışman): Prof. Dr. Özlem ATLI EKİOĞLU	
Üye: Prof. Dr. Bülent ERGUN	
Üye: Prof. Dr. Aylin ÜSTÜNDAĞ	

Prof. Dr. Saime ÖNCÜ

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

HİPOTİROİDİZM VE LEVOTİROKSİNİN ERKEK SIÇANLARDA REPRODÜKTİF TOKSİSİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Merve GÜVEN

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Aralık 2024

Danışman: Prof. Dr. Özlem ATLI EKİOĞLU

Erkek infertilitesi, hipotiroidizm dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların bir sonucu olarak meydana gelebilen yaygın bir halk sağlığı sorunudur. Hipotiroidizmin erkek infertilitesi üzerine etkisi ile ilgili yapılan çalışmalardan kesin veriler elde edilememiştir fakat hipotiroidizmin erkek reproduktif sistem üzerinde oluşturduğu olumsuz etkiler de önemli bir tartışma konusu olmuştur. Bu noktada hipotiroidizmin tedavisinde sıklıkla L-T4 kullanıldığı bilinmektedir. Hormon bazlı bir ajan olan ve kronik olarak kullanılan L-T4'ün erkek üreme sistemindeki etkisinin araştırılması önem taşımaktadır. Bu çalışma, sıçanların tiroid hormonları seviyelerine bakıldığında düşük T3 ve T4, yüksek TSH seviyesi ile hipotiroidizmin indüklendiğini göstermiştir. L-T4 tedavisi ile tiroid hormon seviyelerinin kontrole yaklaştığı gözlenmiştir. Hipotiroid sıçanların sperm konsantrasyonunun azaldığı ve yüksek oranda anormal morfolojik spermere sahip olduğu görülmüştür, ayrıca serum LH, FSH, SHBG, Testosteron, Inhibin B seviyeleri de kontrol grubuna göre azalmıştır. L-T4 tedavisiyle; sperm konsantrasyonu ve anormal sperm yüzdesi kontrol grubuna göre yine farklı değerlerde bulunmuş, FSH seviyelerinin kontrole göre azaldığı; SHBG, LH, Testosteron, Inhibin B seviyeleri kontrol grubuna göre de hala farklı değerlerde olduğu belirlenmiştir. Hipotiroid sıçanlarda azalmış GSH seviyeleri ve artmış MDA seviyeleri ile oksidatif stresin arttığı sonucuna ulaşılmıştır. L-T4 tedavisi ile GSH ve MDA seviyelerinde kontrole göre anlamlı bir farklılık görülememiştir. Sonuç olarak, PTU ile indüklenen hipotiroidizm erkek sıçanlarda reproduktif toksik etkileri indüklemiş, L-T4 ile tedavi sonrası da halen bu parametrelerde kontrol grubuna göre farklılıklar gözlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Levotiroksin, erkek infertilitesi, hipotiroidizm, sperm, rat

ABSTRACT

EVALUATION OF THE REPRODUCTIVE TOXICITY OF HYPOTHYROIDISM AND LEVOTHYROXINE IN MALE RATS

Merve GÜVEN

Department of Pharmaceutical Toxicology

Anadolu University, Graduate School, December 2024

Supervisor: Prof. Dr. Özlem ATLI EKLIÖĞLU

Male infertility is a prevalent public health concern that may arise from numerous conditions, including hypothyroidism. Although conclusive research on the impact of hypothyroidism on male infertility is lacking, the detrimental effects of hypothyroidism on the male reproductive system have been a prominent topic of discourse. L-T4 is commonly utilized in the management of hypothyroidism. Considering that L-T4 is a chronically administered hormone-based therapy, it is important to examine its effects on the male reproductive system. This study showed that hypothyroidism was developed in rats with low T3 and T4 levels and elevated TSH levels. The administration of L-T4 led to the normalization of thyroid hormone concentrations. Hypothyroid rats demonstrated reduced sperm concentration and an increased prevalence of morphologically abnormal sperm. Additionally, serum concentrations of LH, FSH, SHBG, testosterone, and inhibin B were markedly reduced in comparison to the control group. Following L-T4 treatment, sperm concentration and the percentage of abnormal sperm exhibited different results compared to the control group, although FSH levels remained diminished and SHBG, LH, testosterone, and inhibin B levels continued to be significantly decreased compared to controls. Moreover, hypothyroid rats had reduced GSH levels and raised MDA levels, indicating elevated oxidative stress. No notable variations in GSH and MDA levels were observed following L-T4 therapy in comparison to the control group. In conclusion, PTU-induced hypothyroidism resulted in reproductive toxicity in male rats, and substantial abnormalities in these parameters persisted even after L-T4 treatment compared to the control group.

Keywords: Levothyroxine, male infertility, hypothyroidism, sperm, rat

TEŞEKKÜR

Akademik hayatıma başladığım günden beri değerli bilgi birikimi ve tecrübelerini bana aktaran, değerli yorumları ile beni yönlendiren, her konuda bana destek olup, güzel enerjisiyle benim de enerjimi yükselten, çalışma özverisini her zaman örnek aldığım değerli danışmanım Prof. Dr. Özlem ATLI EKİÖĞLU'na tüm içtenliğimle teşekkür ediyorum.

Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı'nın bir üyesi olduğum ilk günden beri bana değerli görüş ve önerileriyle rehberlik eden, pozitif hayat enerjisiyle her zaman beni de motive eden, desteklerini her zaman arkamda hissettiren değerli hocam Prof. Dr. Sinem ILGIN'a;

Lisans ve Yüksek Lisans eğitimim süresince her daim kıymetli bilgi ve tecrübelerini bana aktaran, akademik hayatıma yön vermemde büyük katkıları bulunan değerli hocalarım; Prof. Dr. Aylin ÜSTÜNDAĞ ve Prof. Dr. Benay Can EKE'ye;

Süreç boyunca değerli tecrübelerini bana aktaran ve sürekli desteğini hissettiğim saygıdeğer hocam, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Bülent ERGUN'a; gerek akademik anlamda gerekse tez sürecimin her aşamasında bana destek olan, sorularımı asla cevapsız bırakmayan, bilgi birikimi ve tecrübeleriyle beni yönlendiren değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Merve BAYSAL'a;

Gerek tez sürecimde gerekse akademik hayata başladığım ilk günden beri yardımlarını esirgemeyen ve bana destek olan değerli ekip arkadaşlarım, hocalarım; Öğr. Gör. Büşra KORKUT ÇELİKATEŞ ve Arş. Gör. Abdullah Burak KARADUMAN'a; hayvan deneylerini gerçekleştirdiğimiz süreçte yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Kadir YÜCE'ye;

Tez çalışmam süresince analitik prosedürlerin uygulanmasında desteğini esirgemeyen ve değerli bilgilerini bana aktaran sayın hocam Doç. Dr. Erol ŞENER'e teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımının her aşamasında bana olan sonsuz destekleriyle kendimi daha güçlü ve çok şanslı hissettiren, her zaman yolumu aydınlatan, varlıklarıyla bana mutluluk ve huzur veren biricik çekirdek aileme ve canım teyzeme sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman sonsuz desteğini ve anlayışını bana sunarak yanımda olup, bana güç veren en büyük destekçim ve motivasyon kaynağım Onur ARSLAN'a çok teşekkür ederim.

İçten destekleriyle her zaman yanımda olan, güler yüzü ve pozitif enerjisiyle her anımda beni motive eden canım arkadaşım Hilal Gümrah'a çok teşekkür ederim.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

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

Merve GÜVEN

ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI

Bu tezi hazırlarken ChatGPT, Gemini, DALL-E vb. üretken yapay zekâ programlarından destek almadığımı beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Merve GÜVEN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI.....	ii
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI.....	vii
İÇİNDEKİLER.....	viii
TABLolar DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
GÖRSELLER DİZİNİ.....	xiii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
1 GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2 KAYNAK BİLGİSİ.....	5
2.1 Tiroid Bezi	5
2.2 Tiroid hormonu ve metabolizması	7
2.3 Tiroid Fonksiyon Bozuklukları	7
2.3.1 Hipertiroidizm.....	7
2.3.2 Tiroidit	8
2.3.3 Tiroid nodülleri	8
2.3.4 Tiroid kanseri.....	9
2.3.5 Tiroid krizi.....	9
2.3.6 Guatr	9
2.3.7 Hipotiroidizm	10

2.4 Hipotiroidizm ile İlgili Genel Bilgiler	10
2.4.1 Hipotiroidizmin etiyolojisi.....	10
2.4.2 Hipotiroidizm diagnozu.....	11
2.4.3 Hipotiroidizm tedavisi	12
2.5 Levotiroksin ile İlgili Genel Bilgiler	13
2.5.1 Levotiroksin farmakokinetiği	13
2.5.2 Levotiroksin farmakodinamiği	13
2.5.3 Levotiroksin uygulama dozu.....	14
2.5.4 Levotiroksinin kontrendikasyonları.....	14
2.5.5 Levotiroksinin advers etkileri	14
2.5.6 Levotiroksin ilaç ve gıda etkileşimleri.....	15
2.5.6.1 İlaçlarla etkileşim	15
2.5.6.2 Gıdalarla etkileşim	16
2.6 Erkek Reprodüktif Sistemi	17
2.6.1 Testosteron üretimi ve hipotalamus-hipofiz-gonadal eksenini	17
2.6.2 Spermatogenez	19
2.6.2.1 Spermatogenezin hormonal düzenlenmesi	20
2.7 Erkek Reprodüktif Sistem Toksisitesi	20
2.8 Erkek Reprodüktif Sistem Toksisitesi Biyogöstergeleri	21
2.8.1 Sperm parametreleri	22
2.8.1.1 Sperm sayısı ve konsantrasyonu	22
2.8.1.2 Sperm sayısı ve hareketliliği	22
2.8.2 Hormonlar	22
2.8.2.1 Testosteron	23
2.8.2.2 LH ve FSH	23
2.8.2.3 Prolaktin	24
2.8.2.4 İnhibin B	24

2.8.3 Oksidatif hasar	24
2.9 Hipotiroidizm ve Erkek Reprodüktif Sistem ile İlişkisi.....	25
2.9.1 Hormonlar	25
2.9.1.1 Gonadotropinler	25
2.9.1.2 Androjenik hormonlar	25
2.9.2 Sertoli hücreleri.....	26
2.9.3 Leydig hücreleri	26
2.9.4 Sperm morfolojisi.....	27
2.9.5 Oksidatif stres.....	27
2.9.6 Cinsel işlev	28
2.10 Hipotiroidizm Modelleri	28
2.10.1 Antitiroid ilaçlar ile hipotiroidizm oluşturulması.....	29
2.10.1.1 Metimazol ile hipotiroidizm oluşturulması	30
2.10.1.2 Propiltiourasil ile hipotiroidizm oluşturulması	30
3 GEREÇLER	31
3.1 Kullanılan Malzemeler	31
3.2 Kullanılan Cihazlar	32
4 YÖNTEMLER.....	33
4.1 Deney Hayvanlarına Uygulanan İşlemler	34
4.1.1 Sperm konsantrasyonunun ve motilitesinin değerlendirilmesi	36
4.1.2 Sperm morfolojisinin değerlendirilmesi	36
4.1.3 ELISA kit prosedürü	37
4.1.4 HPLC prosedürü.....	38
4.1.4.1 Doku homojenatı hazırlanması	38
4.1.4.2 MDA tayini	38
4.1.4.3 GSH tayini	39
4.1.5 İstatistiksel analiz.....	40

5 BULGULAR ve TARTIŞMALAR	41
5.1 Vücut Ağırlıklarının ve Bağlı Organ Ağırlıklarının Değerlendirilmesi	41
5.2 Sperm Parametrelerinin Değerlendirilmesi	43
5.3 Serum Tiroid Hormon Seviyelerinin Değerlendirilmesi	48
5.4 Testiküler GSH ve MDA Seviyelerinin Değerlendirilmesi	52
5.5 Tiroid ve Testis Dokusunun Histolojik Olarak Değerlendirilmesi	52
6 SONUÇLAR ve ÖNERİLER	59
6.1 Sonuçlar	59
6.2 Öneriler	65
KAYNAKÇA	67
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLER DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1 Hipotiroidizm etiyolojisi	11
Tablo 2.2 Tiroid hormon seviyelerine göre hipotiroidizmin tanısı.....	11-12
Tablo 2.3 Levotiroksinin farklı sistemler üzerindeki advers etkileri.....	15
Tablo 2.4 Levotiroksin İlaç-İlaç, İlaç-Gıda Etkileşimleri.....	16-17
Tablo 2.5 Erkek üreme sistemi yapılarına spesifik bazı toksik maddeler ve etkileri...21	
Tablo 2.6 Semen özelliklerine ilişkin alt referans sınırları.....	23
Tablo 2.7 Hipotiroidizm modelleri ve modelleme ilkeleri.....	29
Tablo 2.8 MMI ile hipotiroidizm modelinin oluşturulması.....	30
Tablo 2.9 PTU ile hipotiroidizm modelinin oluşturulması.....	30
Tablo 4.1 MDA tayini HPLC parametreleri.....	38
Tablo 4.2 MDA tayini elüsyon gradyanı.....	39
Tablo 4.3 GSH tayini HPLC parametreleri.....	39
Tablo 4.4 GSH tayini GSH tayini elüsyon gradyanı.....	39
Tablo 5.1 Gruplara ait vücut ağırlıkları ve bağıl testis ve epididimis ağırlıkları.....	43
Tablo 5.2 Gruplara ait sperm parametreleri.....	45
Tablo 5.3 Gruplara ait sperm morfoloji parametreleri.....	46
Tablo 5.4 Gruplara ait tiroid hormon seviyeleri.....	49
Tablo 5.5 Gruplara ait serum hormon seviyeleri.....	51
Tablo 5.6 Gruplara ait GSH seviyeleri.....	53
Tablo 5.7 Gruplara ait MDA seviyeleri.....	53

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1 T4 (Tiroksin) Hormonu Kimyasal Yapısı6

Şekil 2.2 T3 (Triiyodotironin) Hormonu Kimyasal Yapısı6



GÖRSELLER DİZİNİ

Sayfa

Görsel 5.1 Sperm morfoloji görüntüleri.....	47
Görsel 5.2 Gruplara ait tiroid enine kesitleri (<i>40x büyütme</i>)	55
Görsel 5.3 Gruplara ait tiroid enine kesitleri (<i>100x büyütme</i>).....	56
Görsel 5.4 Gruplara ait testis enine kesitleri (<i>20x büyütme</i>).....	57
Görsel 5.5 Gruplara ait testis enine kesitleri (<i>40x ve 100x büyütme</i>).....	58



KISALTMALAR DİZİNİ

ACTH	:Adrenokortikotropik Hormon
DIT	:Diiyodotirozin
FSH	:Folikül Stimüle Edici Hormon
GnRH	:Gonadotropin Salıverici Hormon
GSH	:Glutasyon
HPG	:Hipotalamik-Pitütier-Gonadal
HPT	:Hipotalamus- Pitütier -Tiroid
LH	:Luteinleştirici Hormon
L-T4	:Levotiroksin
MDA	:Malondialdehid
MIT	:Monoiyodotirozin
MMI	:Metimazol
PTU	:Propiltiourasil
ROS	:Reaktif Oksijen Türleri
SHBG	:Seks Hormonu Bağlayıcı Globulin
T3	:Triiyodotironin
T4	:Tiroksin
TRH	:Tirotropin Salgılatıcı Hormon
TSH	:Tiroid Stimülan Hormon

1 GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre infertilite; 12 ay veya daha uzun süre korunmasız ve düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebelik elde edilememesi olarak tanımlanan, erkek veya kadın reproduktif sisteminde gözlenen bir sağlık sorunudur (World Health Organization). Dünya çapında, infertilitenin üreme çağındaki çiftlerin %8-12'sini etkilediği bilinmektedir (Vander Borgh ve Wyns, 2018). Erkeklerin infertilite vakalarının %20-30'undan tek başına sorumlu olduğu ancak genel olarak vakaların %50'sine katkıda bulunduğu görülmüştür. Bu rakamlar dünyanın tüm bölgelerini tam olarak temsil etmemektedir. Erkek kısırlık oranlarının Afrika ve Orta/Doğu Avrupa'da en yüksek; Kuzey Amerika, Avustralya ve Orta/Doğu Avrupa için karşılık gelen oranların sırasıyla %4,5-6, %9 ve %8-12 arasında değiştiği gösterilmiştir (Agarwal et al., 2015).

Erkek infertilitesi birçok sebebe bağlıdır. Sperm üretim bozuklukları, sperm kanallarındaki tıkanıklıklar, sperme karşı antikor varlığı, testis travması, hormonal bozukluklar, anatomik problemler, varikosel, geçirilmiş hastalıklar, enfeksiyonlar ve bazı ilaçlar infertiliteye yol açabilir (Türk Androloji Derneği).

Tiroid hormonlarının infertilite sorunlarıyla bağlantısı temel olarak hipotalamik-hipofiz-gonadal eksen ile hipotalamus-hipofiz-tiroid eksenindeki çapraz iletişime dayanmaktadır. Fizyolojik koşullarda hipotalamus, hipofiz bezini luteinizan hormon (LH) ve folikül uyarıcı hormon (FSH) üretmesi için uyaran gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) üretir. LH ve FSH, gonadlar düzeyinde steroid hormonlarının (yumurtalıkta östradiol ve gestagenler, testislerde ise testosteron) üretimini kontrol eder. LH ve FSH ayrıca peptid hormonları inhibin ve aktivinin üretimini de kontrol eder. Öte yandan steroid hormonları, klasik geri bildirim mekanizması olarak bilinen, hipotalamus ve hipofiz bezi seviyesinde GnRH ile LH ve FSH sekresyonunu düzenler. Hipotalamus-hipofiz-tiroid eksenine ise daha basit bir şekilde çalışır. Hipotalamustaki kontrol hormonu tiroid salgılayan hormondur (TRH). TRH, tiroid uyarıcı hormonun (TSH) salgılanmasını düzenler. Son olarak TSH tarafından uyarılan tiroid bezi, ana tiroid hormonları olan triiyodotironini (T3) ve tiroksin/tetraiyodotironini (T4) üretir. Serumda yeterli miktarda T3 ve T4 bulunduğunda TSH ve TRH baskılanır. Her iki eksen de birbirini etkiler (Dittrich vd., 2011).

Son yıllarda yapılan klinik çalışmalar, tiroid hormonunun testis gelişimi ve fonksiyonunda önemli bir rol oynadığını göstermiştir. T3'ün, sıçanlarda ve diğer memeli türlerinde testis gelişimi sırasında Sertoli hücresi ve Leydig hücresi proliferasyonunu ve farklılaşmasını kontrol

ederek testisin olgunlaşmasını ve büyümesini düzenlediği tespit edilmiştir (Holsberger vd., 2005; Mendis-Handagama vd., 2005). Ayrıca erken testis gelişimi sırasında tiroid hormon düzeylerindeki değişikliklerin, testis olgunlaşmasını ve yaşamın ilerleyen dönemlerinde üreme sistemini olumsuz etkilediği gözlenmiştir (Jannini vd., 1995). Bu veriler, tiroid hormonu reseptörlerinin neonatal dönemden yetişkinliğe kadar insan ve sıçan testislerinde mevcut olduğuna ilişkin bulgularla (Buzzard vd., 2000; Jannini vd., 2000) birlikte, tiroid hormonunun testis gelişiminde anahtar rol oynadığını göstermektedir (Wajner vd., 2009)

Tiroid hormonu değişikliklerinin reproduktif sistem üzerindeki etkileri, insan denekler ve hayvan modellerinde kapsamlı bir şekilde araştırılmış ve genel olarak normal tiroid fonksiyonundaki değişikliklerin cinsel aktivite ve doğurganlığın azalmasıyla sonuçlandığı gösterilmiştir. Ancak altta yatan mekanizmaların tüm türlerde sabit olmadığı bilinmektedir (Krassas vd., 2010)

Dünya çapında tiroid hastalığının en yaygın nedeni guatr ve hipotiroidizme neden olan iyot eksikliğidir (Premawardhana ve Lazarus, 2006). Gelişmiş dünyada otoimmün tiroid hastalığı, tiroid bozukluğunun baskın şeklidir. Nüfusun yaklaşık %1'inde hipertiroidizm bulunurken, yaklaşık %12'sinde subklinik ve şiddetli hipotiroidizm gözlenmektedir (Dittrich vd., 2011). Tiroid bozukluklarının prevalansı ve insidansı cinsiyetten güçlü bir şekilde etkilenmektedir ve kadınlarda erkeklere göre çok daha yüksektir. Kadınlarda baskın olmasına rağmen giderek daha fazla erkeğe, özellikle yetişkin popülasyonda açık ara en sık görülen tiroid bozukluğu olan ve çoğu erkekte otoimmün kökenli olan hipotiroidizm tanısı konmaktadır (Krysiak vd., 2017).

Hipotiroidizm, tiroid hormonları olan tiroksin T4 ve triiyodotironin T3 eksikliği ile ilişkili kronik bir hastalıktır. T4, yalnızca az miktarda T3 üreten tiroid bezinin ürettiği ana hormondur. Periferik dokudaki T3'ün yalnızca %20'si veya daha azı tiroid bezinden kaynaklanır (Abdalla ve Bianco, 2014; Larsen vd., 1981) geri kalanı hedef dokularda T4'ün T3'e enzimatik dönüşümünden elde edilir. Tiroid bezinin T4 ve T3 hormonlarını üretememesi, hipofiz bezini negatif geri besleme mekanizması yoluyla TSH üretimini artırması için uyarır (Chiovato vd., 2019)

Hipotiroidizmden etkilenen hastaların %99'unda primer hipotiroidizm görülmektedir. Primer hipotiroidizm, tiroid bezindeki bir sorundan kaynaklanmaktadır. En yaygın neden otoimmün bir durum olup, Hashimoto tiroidi olarak adlandırılır. Bunun yanı sıra tiroidektomi sonrası iyatrojenik hipotiroidizmde görülmektedir. Hastaların geri kalan kısmında hipofiz bezi tarafından TSH'nin yetersiz üretiminin neden olduğu sekonder hipotiroidizm, tirotropin

salgılatıcı hormon (TRH) eksikliğinin neden olduğu tersiyer hipotiroidizm ve periferik (ekstra-tiroidal) hipotiroidizm dahil olmak üzere diğer nedenlerden kaynaklanan hipotiroidizm vardır. Hem sekonder hem de tersiyer hipotiroidizmi içeren santral hipotiroidizm ve periferik hipotiroidizm vakaların <%1'inden azını oluşturmaktadır. (Chiovato vd., 2019)

Hipotiroidizm erkeklerde, seks hormonu bağlayıcı globülin (SHBG) düzeylerinde ve toplam serum testosteron düzeylerinde azalmanın yanı sıra LH ve FSH düzeylerinde azalmaya da neden olabilir (Krassas ve Perros, 2003). LH ve FSH seviyelerindeki düşüşe bağlı olarak uzamış ergenlik öncesi hipotiroidizm vakalarında, sırasıyla Leydig ve Sertoli hücreleri olgun hücrelere farklılaşmak için daha az uyarılır ve spermatogenezi olumsuz yönde etkiler. Bu, testislerdeki hücre sayısını artırır ancak olgun hücre sayısını azaltır. Böylece, hipotiroidizimli hastalarda testis boyutunda artış ve seminifer tübüllerdeki olgun germ hücrelerinde önemli bir azalma gözlenir (Krassas ve Pontikides, 2004; Wajner vd., 2009)

Hipotiroidizm tedavisinde en sık kullanılan ilaç olan levotiroksin (L-T4), biyokimyasal ve fizyolojik olarak doğal hormonlardan ayırt edilemeyen sentetik bir T4 hormonudur ve vücutta doğal hormon eksikliği olduğunda uygulanır (Sarfaraz, 2004). Ticari olarak ilk kez 1949'da üretilmiştir ve üretiminden bu yana hipotiroidizmi tedavi etmek için kullanılan en yaygın preparat haline gelmiştir. İlacı kullananlarda gözlenen olumlu sonuçlar, uygulama kolaylığı, iyi bağırsak emilimi, uzun serum yarı ömrü gibi birçok faktör tedavide ilk tercihin L-T4 olmasını sağlamıştır (Jonklaas, 2022). Primer (tiroidal), sekonder (hipofiz) ve tersiyer (hipotalamik) hipotiroidizm için L-T4'ün oral uygulaması endikedir (Almandoz ve Gharib, 2012). L-T4 aynı zamanda tiroid nodülleri, subakut veya kronik lenfositik tiroidit, multinodüler guatr dahil olmak üzere ötiroid guatrların tedavisinde veya tiroidektomi geçirmiş tiroid kanseri hastalarında ve cerrahi ve radyoaktif tedavisine de yardımcı olarak kullanılır (Brunton vd., 2017). Tedavide amaç ötiroidi sağlanması, semptomların düzeltilmesi ve guatröz hipotiroidi olanlarda guatr hacminin azaltılmasıdır. Tiroit hormonu replasmanı ile primer hipotiroidide TSH'nın, santral hipotiroidide ise T4'ün normal sınırlara getirilmesi amaçlanmaktadır. (Atmaca, 2012).

Genel bilgiler doğrultusunda; hipotiroidizmin erkek reproduktif sistem üzerinde oluşturduğu olumsuz etkiler aşıkardır. Hipotiroidizmin olumsuz etkilerinin azaltılması veya ortadan kaldırılması için sıklıkla reçete edilen L-T4 tedavisine başvurulmaktadır. L-T4'e ait reproduktif toksik etkilerin ve bu toksisitenin altında yatan mekanizmaların araştırıldığı detaylı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle bu tez çalışmasında, hormon bazlı bir ajan olan L-T4'ün hipotiroidizmi tedavi ederken erkek reproduktif sistemdeki etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda sıçanlarda hipotiroidizm modeli oluşturulması ve tekrarlayan dozlarda

L-T4 uygulaması ile reproduktif toksisitenin değerlendirilmesinde kullanılan; sperm sayısı, sperm motilitesi, sperm morfolojisi ve testiküler doku histopatolojisi incelenmiştir. Ayrıca erkek reproduktif sistem regülasyonunda önemli rol oynayan FSH, LH, testosteron, SHBG ve İnhibin B seviyeleri; tiroid fonksiyonlarının belirlenmesi amacıyla serbest T3, serbest T4 ve TSH seviyeleri; reproduktif patolojilerde oksidatif stres göstergelerinden olan malondialdehit (MDA) ve glutatyon (GSH) seviyeleri değerlendirilerek hipotiroidizm ve L-T4'ün erkek reproduktif sistem üzerindeki potansiyel toksik etkileri ve altında yatan mekanizmalar incelenmiştir.



2 KAYNAK BİLGİSİ

2.1 Tiroid Bezi

Tiroid bezi, ön boynunun alt kısmında larenksin altında konumlanmış bir endokrin bezidir. Trakea üzerinde bulunan bu bez, adını Yunanca “thyreos” (kalkan) kelimesinden almış olup kalkan benzeri bir morfolojiye sahiptir (Braverman ve Cooper, 2012).

Tiroid bezi iki ana endokrin hücre popülasyonundan oluşmaktadır, bu hücreler; foliküler hücreler ve C hücreleridir. Foliküler hücreler, bazal metabolizma hızını, büyümeyi ve doku farklılaşma süreçlerini yöneten tiroid hormonlarını sentezler, depolar ve salgılar (Cote vd., 2015). C hücreleri aynı zamanda parafoliküler hücreler olarak da bilinir ve kalsitonin sentezinden sorumludur. Kalsitonin, serum kalsiyum ve fosfat konsantrasyonlarının düzenlenmesine yardımcı olur (Carling ve Udelsman, 2013).

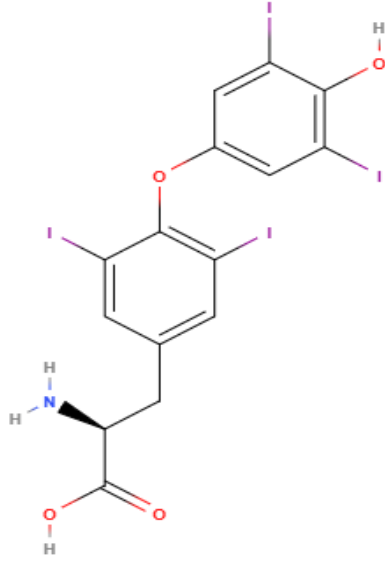
Tiroid bezinin temel işlevi, vücuttaki metabolik süreçleri düzenlemek için gerekli olan T3 ve T4 hormonlarını sentezlemektir. Bu hormonların salgılanması hipotalamus ve hipofiz etkileşimi ile gerçekleşmektedir. (Rousset vd., 2000).

Tiroid hormonlarının sentezi, öncelikle diyetle alınan iyodinin aktif bir şekilde tiroid folikülüne taşınmasıyla başlar. İyodür, spesifik bir transmembran taşıyıcı aracılığıyla kandan aktif olarak emilir. Bu süreçte, sodyum iyodürle birlikte tiroositlerin membranının bazolateral tarafında taşınır ve ardından foliküler lümende yoğunlaştırılır. İyodin daha sonra, tiroglobulin moleküllerindeki tirozin kalıntılarına bağlanır ve tiroperoksidaz enzimi aracılığıyla monoiyodotirozin (MIT) ve diiyodotirozin (DIT) oluşur. Bir MIT ve bir DIT birleşimiyle T3, iki DIT birleşimiyle ise T4 hormonları oluşur. Bu hormonlar, folikül hücrelerinin lümeninde bulunan kolloidde depolanır (Shahid vd., 2023).

T4 ve T3 hormonlarının kimyasal yapıları Şekil 2.1 ve Şekil 2.2’de gösterilmektedir.

Şekil 2.1

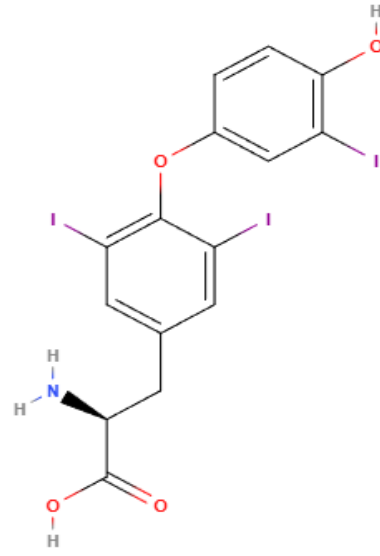
T4 (Tiroksin) Hormonu Kimyasal Yapısı



Kaynak: Castro vd., 2015

Şekil 2.2

T3 (Triiyodotironin) Hormonu Kimyasal Yapısı



Kaynak: Castro vd., 2015

Tiroid, hipotalamus-hipofiz-tiroid ekseninin (HPT eksen) bir bileşenidir. Ön hipofiz tiroid uyarıcı hormon (TSH) salgılar. Hipotalamustan gelen TRH, TSH salgılanmasını düzenlemek için hipofiz bezindeki reseptörler ile etkileşime girer. TSH, tiroid bezi tarafından T3 ve T4 salgılanmasını uyarmak için tiroid epitel hücrelerindeki TSH reseptörüne bağlanır. Buna HPT eksen adı verilir (Bates vd., 2018). Tiroid bezinden salgılanan T3 ve T4 hormonları hem hipotalamik hem de adenohipofiz düzeyinde negatif geri besleme mekanizması yoluyla TRH ve TSH hormonlarının salınımını baskılar. Bu şekilde, vücudun tiroid hormon seviyeleri HPT eksen aracılığıyla düzenlenir. Negatif geri bildirim, hormonların aşırı üretilmesini önleyerek homeostazi sağlar (Pirahanchi vd., 2023).

T4, tiroidin birincil salgı ürünüdür ve dolaşımdaki tiroid hormonlarının yaklaşık %60-80'ini oluşturur. T3 ise geri kalan tiroid hormonlarının çoğu kısmını oluşturur. Dolaşımda bulunan T3'ün %80'i T4'ün periferik aktivasyonu yoluyla üretilirken dolaşımdaki T3'ün kalan %20'si tiroidde üretilir. T4 (veya ekzojen L-T4), özellikle Deiyodinaz 2 olmak üzere üç deiyodinaz enziminin etkileri yoluyla hedef dokularda lokal olarak T3'e dönüştürülür (Bianco & da Conceição, 2018).

2.2 Tiroid hormonu ve metabolizması

Tiroid hormonları, nörobilişsel işlevin, kardiyovasküler ve kas-iskelet sisteminin gelişimini ve sürdürülmesini düzenler. Ayrıca böbrek fonksiyonunu, iskelet büyümesini, kemik dönüşümünü, glikoz metabolizmasını, serum lipidlerini, vücut ağırlığını, ruh halini ve doğurganlığı kontrol ederler. Tiroid hormonu üretimi, tiroid hormonlarının perifere salınımı ile negatif geri bildirim döngüsü aracılığıyla merkezi hipotalamus-hipofiz kontrolü arasındaki karmaşık bir etkileşimle düzenlenir. Normal koşullar altında, serum tiroid hormonu konsantrasyonları, tiroid bezinden T4 ve T3 üretimi ve salgılanması, tiroid hormonlarının kullanımı ve katabolizması ve prohormon T4'ün deiyodinazlar tarafından aktif metabolit T3'e veya inaktif ters T3'e periferik dönüşümü arasındaki dinamik bir denge sonucu ortaya çıkar. T3, tiroid hormonu reseptörlerine bağlanan biyolojik olarak aktif tiroid hormondur. Sağlıklı bireylerde, her gün T3 üretiminin %20'si tiroid bezinin doğrudan salgılanmasıyla oluşurken, %80'i periferik dokularda T4'ün monodeiyodinasyonu ile üretilmektedir (Biondi vd., 2016).

2.3 Tiroid Fonksiyon Bozuklukları

Tiroid hastalıkları, hipertiroidi, hipotiroidi veya tiroid bezinin büyümesi ile ilişkili semptomlar veya fiziksel bulgularla kendini gösterebileceği gibi, sıklıkla hiçbir klinik belirti vermeksizin rutin laboratuvar testleri sırasında biyokimyasal anormallikler olarak da tespit edilebilir. Bu durum genellikle subklinik tiroid patolojisi olarak tanımlanır. (Uslu, 2006)

Tiroid hastalıklarının klinik tablosu genellikle üç türlü olabilmektedir;

1. Tiroid bezinin büyümesi
2. Tiroid hormonlarının fazla salgılanması
3. Tiroid hormonlarının yetersiz salgılanması

2.3.1 Hipertiroidizm

Hipertiroidizm, tiroid bezi tarafından aşırı tiroid hormonunun sentezlendiği ve salgılandığı patolojik bir bozukluktur. Tirotoksikoz ise kaynağı ne olursa olsun dolaşımdaki tiroid hormonlarının fazlalığından kaynaklanan klinik durumu ifade etmektedir. Hipertiroidizmin baskın etiyolojisi Graves hastalığıdır ve bunu toksik nodüler guatr takip eder (De Leo vd., 2016). Hipertiroidizmin görülme sıklığı dünyanın iyot bakımından yeterli bölgelerinde %0,4 ile %2,5 arasında değişmektedir (Censi et al., 2023).

Hipertiroidizmin en yaygın nedeni kadınlarda %2 ve erkeklerde %0,5'lik küresel yaygınlığa sahip Graves hastalığıdır (Lee and Pearce, 2023).

Graves hastalığı, hipertiroidizm ve yaygın guatr ile karakterize edilen bir otoimmün tiroid bozukluğudur; oftalmopati, pretibial miksödem ve tiroid akropakisi de bu tabloya eşlik edebilir. Bu karmaşık durumun patogenezi tam olarak anlaşılmamış olmakla birlikte, hastalığın merkezinde yer alan patojenik olay, TSH reseptörünün, otoreaktif TSH reseptör antikorları tarafından düzensiz olarak uyarılmasıdır (Taylor vd., 2018).

Hipertiroidizmin diğer yaygın nedenleri arasında toksik multinodüler guatr ve otonom işlev gören tiroid adenomu; daha az yaygın nedenleri arasında ise tiroidit, hipofiz TSH salgılayan adenom ve ilaç kaynaklı hipertiroidizm bulunmaktadır (Taylor vd., 2018).

Hipertiroidizm tedavisinde Metimazol (MMI) ve Propiltiourasil (PTU) başlıca kullanılan antitiroid ilaçlardır. Bu ilaçlar çeşitli düzeylerde tiroid hormonunun sentezini inhibe ederek etkilerini gösterirler ve hipertiroidizmin hem uzun süreli tedavisinde hem de radyoyodin tedavisi veya tiroidektomi öncesi hazırlıkları kapsayan kısa süreli tedavilerinde kullanılırlar. Tedavide ikinci seçenek olarak potasyum perklorat, β -blokerler, lityum karbonat ve glukokortikoidler tercih edilmektedir (Fumarola et al., 2010).

2.3.2 Tiroidit

Tiroidit; enfeksiyon, radyasyon veya travma nedeniyle oluştuğunda ağrılı ve hassas olan veya otoimmün durumlar, ilaçlar veya idiyopatik fibrotik bir süreç nedeniyle oluştuğunda ise ağrısız olabilen tiroid bezinin iltihaplanması durumudur. En yaygın formları Hashimoto hastalığı, subakut granümatöz tiroidit, doğum sonrası tiroidit, subakut lenfositik tiroidit ve ilaç kaynaklı tiroidittir. Tanı; ağrı, hassasiyet ve otoantikorların varlığı veya yokluğu dahil olmak üzere klinik bağlam ve bulgulara göre konmaktadır, tedavi ise öncelikle tiroid ağrısı ve hassasiyeti varsa semptomatik olarak giderilmesine ve ötiroidizmin yeniden sağlanmasına yöneliktir (Bindra ve Braunstein, 2006).

2.3.3 Tiroid nodülleri

Tiroid nodülleri yaygın bir klinik hastalıktır ve hastalığın prevalansı zamanla büyük ölçüde artmıştır (Haugen vd., 2016; Gharib, 2017). Epidemiyolojik çalışmalar, dünyanın iyot açısından yeterli bölgelerinde yaşayan kadınlarda elle muayene edilebilen tiroid nodüllerinin yaklaşık %5, erkeklerde ise %1 oranında yaygın olduğunu göstermiştir (Haugen vd., 2016).

Hiperfonksiyonlu tiroid nodülleri için radyoaktif iyot tedavisi düşünülmelidir (Gharib, 2017). Bu işlem bir kontrendikasyon veya hasta tercihi nedeniyle gerçekleştirilemiyorsa,

hipertiroidizm antitiroid bir ilaçla tedavi edilmelidir. Yaşam boyu antitiroid tedaviden kaçınmak için, hasta ötiroid olduktan sonra cerrahi işlem uygulanmalıdır (Kant vd., 2020).

2.3.4 Tiroid kanseri

Tiroid kanseri insidansı, büyük ölçüde tanısal görüntüleme ve takip yöntemlerinin artan kullanımı sonucunda dünya genelinde artmaya devam etmektedir. Tiroid kanserleri geniş bir klinik davranış yelpazesi gösterir; çoğu durumda düşük ölüm oranına sahip yavaş ilerleyen tümörlerden, çok agresif bir şekilde ilerleyen anaplastik tiroid kanseri gibi malignitelere kadar uzanır. Bu nedenle, tedaviye başlamadan önce uygun bir tanısal değerlendirme yapmak, tedavinin hastaya uygun bir şekilde uyarlanması açısından hayati önem taşımaktadır (Cabanillas, 2016).

2.3.5 Tiroid krizi

Tiroid krizi, tirotoksikozun nadir görülen bir komplikasyonudur (Nelson vd., 1969). Cerrahi, enfeksiyon veya travma gibi bir tetikleyicinin sonucu olarak kontrolsüz hipertiroid hastalarında ortaya çıkmaktadır (Farling, 2000). Tiroid krizinin diğer hastalıklardan ayırıcı tanısı zor olabilir ve tedavide gecikme zararlı olabileceğinden, tiroid fırtınası şüphesi taşıyan hastalar doğrudan tedavi edilmelidir (Nelson vd., 1969).

Tiroid krizi ilerledikçe, artan ajitasyon, konfüzyon, paranoyak düşünce, psikoz ve hatta son olarak koma dahil olmak üzere merkezi sinir sistemi işlev bozukluğunun belirtileri ortaya çıkabilir (Ylli vd., 2019).

Tiroid fırtınası olarak da bilinen tiroid krizi günümüzde karbimazol ve beta-blokerler gibi anti-tiroid ilaçların yaygın kullanımı nedeniyle daha nadir görülmektedir (Farling, 2000). Adrenokortikal steroidler, antitiroid ilaçlar, antibiyotikler ve sıcaklık kontrol önlemlerinin hepsi tiroid krizinin tedavisinde etkili yöntemlerdir (Ylli vd., 2019).

2.3.6 Guatr

Guatr, tiroid bezinin normal dışı bir şekilde büyümesi olarak tanımlanmaktadır. Hastanın kendisi ya da hekim muayenesi sırasında tiroid bezinin büyüklüğü en sık rastlanan klinik tablolardan biridir. Guatr, Graves hastalığı ve nodüller ile ilişkili olarak oluşabilir. Nadiren otozomal resesif geçiş gösteren enzim eksikliğine bağlı olarak dishormonogenez ile ilişkili guatr tablosu oluşabilmektedir (Uslu, 2006).

2.3.7 Hipotiroidizm

Hipotiroidizm, tiroid bezinin hayati metabolik işlevler için gerekli olan yeterli T4 ve T3 hormonlarını salgılayamaması ile ilişkili kronik bir hastalıktır (Dawood vd., 2024; Chiovato vd., 2019). Hipotiroidizm düşük serum T3 ve T4 hormonları ve negatif geri bildirim etkisiyle yükselen TSH seviyeleri ile karakterizedir (Dunn ve Turner, 2016).

Hipotiroidizm, tiroid bezi kaynaklı ise “primer hipotiroidizm”, hipotalamus veya hipofiz kaynaklı ise “sekonder hipotiroidizm” olarak adlandırılmaktadır (Chiovato vd., 2019).

Primer hipotiroidizmin en yaygın nedeni otoimmün bir durum olup, Hashimoto tiroidi olarak adlandırılır. Hastaların geri kalan kısmında hipofiz bezi tarafından TSH'nin yetersiz üretiminin neden olduğu sekonder hipotiroidizm, TRH eksikliğinin neden olduğu tersiyer hipotiroidizm ve periferik (ekstra-tiroidal) hipotiroidizm dahil olmak üzere diğer nedenlerden kaynaklanan hipotiroidizm vakaları gözlenmektedir. Hipotiroidizm vakalarının %99'undan fazlası tiroid bezinin tiroid hormonları üretememesinden kaynaklanmaktadır (Chiovato vd., 2019). Hem sekonder hem de tersiyer hipotiroidizmi içeren santral hipotiroidizm ve periferik hipotiroidizm, vakaların %1'den azını oluşturmaktadır (Chaker vd., 2017).

Hipotiroidizm tedavisinde L-T4, birinci basamak ilaç olarak önerilmektedir (Gaitonde vd., 2012; Jonklaas vd., 2014). Tedavinin amacı hipotiroidizm semptomlarını azaltmak ve uzun vadeli komplikasyonları önlemektir (Chiovato vd., 2019).

Tedavi edilmeyen veya yetersiz tedavi edilen hipotiroidizmin sonuçları arasında infertilite, kardiyovasküler hastalıklar ve nörolojik ve kas-iskelet sistemi semptomları yer almaktadır (Chiovato vd., 2019).

2.4 Hipotiroidizm ile İlgili Genel Bilgiler

2.4.1 Hipotiroidizmin etiyolojisi

Hipotiroidizm; tiroid hormonu sentezinde ve salınımında bir kusur olduğunda birincil olarak tiroid bezinden veya tiroidin TRH veya TSH sinyalinde bir kusur olduğunda merkezi olarak hipotalamik-hipofiz-tiroid ekseninden kaynaklanabilir (Almandoz ve Gharib, 2012). İyatrojenik olmayan nedenler arasında en sık gözlenen inflamatuvar tiroid durumu ve kronik lenfositik tiroidit olarak da bilinen aynı zamanda guatrın da en yaygın nedeni olan Hashimoto tiroiditidir ve dolaşımdaki antitiroid peroksidaz antikörleri ile ilişkili tiroid bezinin yaygın lenfositik infiltrasyonu ile karakterizedir (Almandoz ve Gharib, 2012; Hueston, 2001). Hipotiroidizmin diğer sık görülen nedenleri arasında ise Graves hastalığı sonrası tiroid

radasyonu ve tiroid bezi cerrahisi yer almaktadır (Hueston, 2001). Primer ve sekonder hipotiroidizmin görülme nedenleri tabloda 2.1’de gösterilmiştir.

Tablo 2.1

Hipotiroidizmin etiyolojisi

Primer hipotiroidizm	Sekonder hipotiroidizm
İdiyopatik hipotiroidizm	Hipofiz veya hipotalamik neoplazmalar
Hashimoto tiroiditi	Doğuştan hipopituitarizm
Graves hastalığına bağlı tiroid ışınlaması	Hipofiz nekrozu (Sheehan sendromu)
Tiroidin cerrahi olarak çıkarılması	
<i>Geç evre invaziv fibröz tiroidit</i>	
İyot eksikliği	
İlaç tedavisi	
İnfiltratif hastalıklar (örneğin sarkoidoz, amiloidoz, skleroderma, hemokromatozis)	
<i>Kaynak: Hueston, 2001</i>	

2.4.2 Hipotiroidizm tanısı

Hipotiroidizm vakalarının başlangıçta değerlendirilmesi oldukça sınırlıdır. Primer hipotiroidili hastalarda TSH seviyesi yüksektir, bu durum tiroid hormonu üretiminin metabolik ihtiyaçları karşılamakta yetersiz olduğunu ve serbest tiroid hormonu seviyelerinin düşük olduğunu göstermektedir. Sekonder hipotiroidili hastalarda ise TSH seviyesi düşüktür veya tespit edilemez. Bu nedenle TSH sonuçları hastanın klinik durumuna göre yorumlanmalıdır. Örneğin hipotiroidin klinik belirtilerine sahip bir hastada düşük TSH seviyesi hiperitiroid olarak yorumlanmamalıdır. Semptomlar nonspesifik olduğunda, serbest T4 seviyesinin takibi primer ve sekonder hipotiroidizm arasında ayırım yapılmasına yardımcı olabilir. (Hueston, 2001). Tiroid hormon seviyelerine göre hipotiroidizmin tanısı tablo 2.2’de yer almaktadır.

Tablo 2.2

Tiroid Hormon Seviyelerine göre Hipotiroidizmin Tanısı

TSH seviyesi	Serbest T4 seviyesi	Serbest T3 seviyesi	Tanı
Yüksek	Düşük	Düşük	Primer hipotiroidizm
Yüksek (>10 µU/ mL)	Normal	Normal	Yüksek riskli subklinik hipotiroidizm
Yüksek (6-10 µU /mL)	Normal	Normal	Düşük riskli subklinik hipotiroidizm

Tablo 2.2 Tiroid Hormon Seviyelerine göre Hipotiroidizmin Diaġnozu (Devam)

Yüksek	Yüksek	Düşük	T4-T3 dönüştürücü enzimin doğuştan eksikliği
Yüksek	Yüksek	Yüksek	Periferik tiroid hormon direnci
Düşük	Düşük	Düşük	Hipofiz kaynaklı tiroid yetersizliği (sekonder hipotiroidizm) veya aşırı replasman tedavisinden sonra yakın zamanda tiroksinin kesilmesi

Kaynak: Hueston, 2001

Primer hipotiroidi tanısı konulduktan sonra, tiroid bezi muayenede normalse ek görüntüleme veya serolojik testlere gerek yoktur; sekonder hipotiroidizme sahip hastalarda altta yatan nedenin hipotalamik veya hipofiz bozukluğu ile ilgili olup olmadığını belirlemek için hipofiz bezinin provokatif testi ile daha ileri incelemeler yapılabilir (Hueston, 2001).

2.4.3 Hipotiroidizm tedavisi

L-T4, biyokimyasal ve fizyolojik olarak doğal tiroksinden ayırt edilemeyen sentetik bir tiroid hormonudur ve vücutta doğal hormon eksikliği olduğuunda uygulanır. L-T4 ‘ün oral yoldan uygulanması; edinilmiş birincil (tiroid), ikincil (hipofiz) ve üçüncül (hipotalamik) hipotiroidizm için endikedir. Ayrıca tiroid nodülleri, subakut veya kronik lenfositik tiroidit, multinodüler guatr veya tiroidektomi geçirmiş tiroid kanseri hastaları da dahil olmak üzere ötiroid guatrları tedavi etmek için ve cerrahi ve radyoaktif iyot tedavisine ek olarak da kullanılmaktadır (Colucci vd., 2013).

L-T4, hipotiroidizm için güncel standart tedavidir ve hipotiroidizm tedavisine ilişkin ulusal ve uluslararası kılavuzlar, L-T4 monoterapisinin birinci basamak yaklaşım olarak kullanımını açıkça desteklemektedir (Hennessey, 2016). Tedavinin amacı klinik ve biyokimyasal ötiroidizmi yeniden sağlamaktır (Biondi vd., 2016).

Serum TSH seviyesini normalleştirmek için gerekli günlük doz; hipotiroidizmin şiddeti, hastanın yaşı, cinsiyeti, vücut kitle indeksi, hamilelik ve eş zamanlı patolojik hastalıklar dahil olmak üzere çeşitli parametrelere bağlıdır. L-T4‘ün yarılanma ömrü yaklaşık 7 gündür ve tek bir terapötik dozdan sonra serum tiroid hormon seviyelerinde minimal değişiklikler gözlenir. L-T4 verilmesini takip eden ilk 4 saat içinde serum FT4 seviyelerinde sadece %16‘lık bir yükselme (serum FT3‘te herhangi bir değişiklik olmaksızın) tespit edilebilir.

2.5 Levotiroksin ile İlgili Genel Bilgiler

2.5.1 Levotiroksin farmakokinetiği

Oral yolla alınan L-T4'ün esas olarak yaklaşık %70-80'i bağırsakta; daha spesifik olarak duodenum, jejunum ve ileumda; çok azı ise midede absorbe olmaktadır (Colucci vd., 2013). L-T4'ün kanda maksimum konsantrasyona ulaşma süresi ötiroid bireylerde yaklaşık 2 saatte gerçekleşirken, hipotiroid hastalarda bu süre 3 saate ulaşmaktadır (Colucci vd., 2013). L-T4 emilimi açlıkla artarken, bazı gıdalar ve ilaçlar L-T4 emiliminin azalmasına sebep olmaktadır (Tanguay vd., 2018).

L-T4'ün sınırlı bir dağılım hacmi vardır. Yapılan çalışmalarda L-T4'ün dağılım hacmi ötiroid kişilerde yaklaşık 11,6 L, primer hipotiroidili hastalarda ise 14,7 L olduğu bildirilmiştir (Colucci vd., 2013).

Tiroid hormonları farklı yollarla metabolize olmaktadır bunlar; glukuronidasyon, sülfatlama ve deiyodinasyon reaksiyonlarıdır (Peeters ve Visser., 2017). L-T4 çok sayıda metabolik reaksiyona tabi olmasına rağmen, ana metabolizma yolağı deiyodinaz enzimleri tarafından deiyodinasyon reaksiyonlarının yani iyodinin uzaklaştırılması ile gerçekleşmektedir (Lipp, 2021). T4'ün dış halkasının 5. karbonundan iyodun çıkarılması ile T4'ün T3'e dönüşümü gerçekleşmektedir bundan dolayı T4, T3 için bir pro-hormon olarak kabul edilebilir. T4'ün iç halkasının deiyodinasyonu da meydana gelebilir bu da inaktif ters T3 (rT3) oluşumuna yol açmaktadır. Deiyodinlenmiş T4'ün yaklaşık yarısı rT3'e, yarısı da T3'e metabolize olur. Hem T3 hem de rT3 daha sonra diiyodotironin (T2), iyodotironamin (T1) ve ters T2 ve T1'e metabolize olmaktadır (Colucci vd., 2013).

L-T4 vücuttan yavaş bir şekilde elimine olur, normal koşullar altında eliminasyon yarı ömrü 6-7 gündür (Colucci vd., 2013). Ötiroid bireylerde eliminasyon yarı ömrü daha düşüktür (Kahaly, 2021).

2.5.2 Levotiroksin farmakodinamiği

Tiroid hormonlarının hipotalamik-hipofiz-tiroid aksı içerisinde düzenlenmesi karmaşıktır ve çoklu geri bildirim ve ileri besleme döngülerinden oluşur. Buna ek olarak, bu sistem diğer hedef dokular düzeyinde tiroid hormonlarına karşı duyarlılığın düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır. Hipotiroidizmi olan kişilerde L-T4 replasman tedavisinin etkileri bu bağlamda değerlendirilmelidir (Kahaly, 2021).

L-T4 replasman tedavisi, enerji harcamasının ve metabolik hızın düşmesi, dislipideminin düzeltilmesi, insülin duyarlılığında ve glisemik kontrolde iyileşme, pro-inflamatuar ve prokoagülan durumun tersine çevrilmesi ve duygudurum bozukluklarının nihai olarak düzeltilmesi dahil olmak üzere hipotiroidizmle ilişkili birçok metabolik bozukluğu tersine çevirmektedir (Kahaly, 2021).

2.5.3 Levotiroksin uygulama dozu

L-T4'ün dar terapötik indekse sahip olması nedeniyle günlük dozajındaki küçük değişiklikler bile potansiyel klinik sonuçlara yol açabilir. (Biondi vd., 2016). Bu nedenle L-T4 dozu, hastanın klinik yanıtının ve laboratuvar parametrelerinin periyodik değerlendirmelerine dayanarak kişiye özgü olarak ayarlanmalıdır (Tanguay vd., 2018).

Uygulanabilirlik dozu; zayıf değiştirilebilirlik veya farklı emilim profili nedeniyle, özellikle çocuklar, hamile kadınlar, yaşlı bireyler ve eş zamanlı hastalıklara sahip olan bireyler gibi hassas hasta kesimlerinde daha dikkatli bir şekilde ayarlanmalıdır (Biondi vd., 2016).

50 yaşın altındaki ortalama bir yetişkin için L-T4 uygulanabilirlik dozu yaklaşık 1,7 mcg/kg/gündür, bu da yaklaşık 100-125 mcg/güne eşdeğerdir. Yaşlı hastalar veya kalp hastalığı olan hastalar daha az L-T4 'e ihtiyaç duyabilir ve dozlar 4-6 haftalık aralıklarla değiştirilebilir. Yenidoğanlar, bebekler ve ergenler 1,7 mcg/kg/günden daha yüksek dozlara ihtiyaç duyarlar. Amerikan Klinik Endokrinologlar Derneği ve Amerikan Tiroid Derneği tarafından yakın zamanda yetişkinlerde hipotiroidizm üzerine yayınlanan kılavuzlar, tanıya ek olarak tedavi önerilerini de içermektedir. L-T4 kullanmaya başlamadan önce hastaların bu önerileri dikkatle incelemeler tavsiye edilmektedir (Colucci vd., 2013).

2.5.4 Levotiroksinin kontrendikasyonları

L-T4, levotiroksin sodyuma veya formülasyonun herhangi bir bileşenine karşı aşırı duyarlılığı olan kişilerde, akut miyokard enfarktüsü geçiren kişilerde, aktif kardiyak aritmiye sahip kişilerde ve herhangi bir etiyolojiye bağlı tirotoksikozu olan kişilerde kontrendikedir. L-T4, düzeltilmemiş adrenal yetmezliği olan kişilerde de kontrendikedir, çünkü tiroid hormonları glukokortikoidlerin metabolik klirensini artırarak akut adrenal krize neden olabilir (Egghedari ve Correa., 2023)

2.5.5 Levotiroksinin advers etkileri

L-T4, hipotiroidizm tedavisinde ilk seçenek olmasına rağmen, uzun süreli uygulama veya yanlış doz seçimi sonucunda; oksidatif stres, artmış inflammatuar belirteç seviyeleri, terleme,

çarpıntı ve anksiyete/ajitasyon gibi advers etkiler ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (Eghtedari ve Correa, 2023; Dawood vd., 2024). L-T4 ile tedavi edilen yaşlı kişilerde, günde 75 mcg'den fazla dozda L-T4 kullanımı atriyal fibrilasyon riskinin artmasına sebep olmaktadır (Eghtedari ve Correa, 2023). L-T4'ün farklı sistemler üzerindeki advers etkileri tablo 2.3'te yer almaktadır.

Tablo 2.3

Levotiroksinin farklı sistemler üzerindeki advers etkileri

Advers Etki Türü	Etkiler
Nöropskiyatrik	Endişe, Uykusuzluk
Gastrointestinal	Kilo kaybı, İshal, Kusma
Kardiyovasküler	Angina pectoris, Taşikardi, Çarpıntı, Aritmi, Miyokard enfarktüs, Atriyal fibrilasyon
Endokrin	Guatr, Adet düzensizlikleri, Azalmış kemik mineral yoğunluğu
Hepatik	Karaciğer enzimlerinde artış, İmmünoalerjik hepatit
Dermatolojik	Cilt döküntüsü, Saç dökülmesi, Terleme

Kaynak: Eghtedari ve Correa., 2023

2.5.6 Levotiroksin ilaç ve gıda etkileşimleri

2.5.6.1 İlaçlarla etkileşim

İlaçlar tiroid hormonlarının farmakokinetiklerini çeşitli şekillerde değiştirebilir. Dopamin, glukokortikoidler, oktreotid, rexinoidler gibi TSH salgısını azaltan ilaçlar tiroid hormon konsantrasyonlarının azalmasına yol açmaktadır. Lityum, iyot tolbutamid, sülfonamidler ve amiodaron gibi ilaçlar ise tiroid hormon sentezini engellemektedir (Colucci vd., 2013). Proton pompası inhibitörleri, demir sülfat, sukralfat, raloksifen, safra asidi bağlayıcıları, kalsiyum karbonat, fosfat bağlayıcılar ve alüminyum içeren antiasitler gibi sıklıkla kullanılan çeşitli ilaçların, mide pH'ını artırarak veya L-T4'ü çözünmeyen komplekslere bağlayarak (kalsiyum veya demir tuzları formunda) L-T4 emilimini azaltmaktadırlar (Guglielmi vd., 2017).

İlaç etkileşimleri diğer farmakokinetik süreçleri de etkileyebilir. Protein bağlanmasındaki değişiklikler, L-T4'ün farmakokinetiğini etkileyebilir. Protein bağlanmasının azalması daha yüksek seviyelerde serbest L-T4 ile ilişkilidir. L-T4'ün proteine bağlanmasını azaltan ilaçlar arasında; karbamazepin, androjenler, anabolik steroidler ve nikotinik asit bulunur. Bazı ilaçlar protein bağlanmasının inhibisyonu nedeniyle serbest T4 seviyelerinde geçici artışlarla ilişkilidir, bu ilaçlara yüksek doz furosemid, salisilatlar ve heparin örnek verilebilir. Protein bağlanmasını artıran ilaçlar ise L-T4'ün azalmış klirensiyle ilişkilidir. Bu ilaçlar arasında

etinil östradiol, tamoksifen, eroin, metadon, mitotan ve florourasil yer almaktadır (Colucci vd., 2013).

L-T4 ile bazı ilaç etkileşimleri, T4'ün T3'e ekstratiroidal dönüşüm metabolizması üzerindeki bir etki ile açıklanabilir. Propranolol ve amiodaron gibi bazı ilaçlar T4'ün T3'e dönüşüm metabolizmasını azaltır. Tersine, karbamazepin, fenobarbital, rifampin ve fenitoin gibi ilaçlar ise karaciğer mikrozomal enzimlerini indükler ve bu periferik metabolizmayı artırır (Colucci vd., 2013).

L-T4 emilimini değiştiren ilaçlara ek olarak, bazı ilaçlar emilimden sonra L-T4'ün farmakodinamiğini ve farmakokinetiğini etkiler. Statinler veya proteaz inhibitörleri tarafından karaciğerde sitokrom P450 enzim aktivitesinin indüklenmesi, L-T4 katabolizmasını hızlandırabilir ve dolayısıyla serum T4 seviyelerini azaltabilir (Liu vd., 2023).

2.5.6.2 Gıdalarla etkileşim

L-T4'ün oral emilimi; yiyecekler, soya fasulyesi, papaya ve greyfurt gibi çeşitli yiyecekler tarafından engellenebilir (Colucci vd., 2013). Bunlara ek olarak kahvenin de L-T4'ün emilimini azaltabileceği ile ilgili çalışmalar mevcuttur. (Benvenga vd., 2008; Lai and Huang, 2022).

Eş zamanlı olarak oral yoldan ilaç ve gıdaların birlikte alımı L-T4'ün biyoyararlanımını, emilimin başlangıcını ve hızını dahil olmak üzere önemli ölçüde etkileyebilir. Gıdaların oral ilaç biyoyararlanımı üzerindeki etkisi; ilaç moleküllerinin fiziksel-kimyasal özelliklerine, oral dozaj formuna, öğünlerin miktarına ve bileşimine, gıda ve ilaç uygulaması arasındaki sıraya ve zaman aralığına ve sindirim sisteminin durumuna bağlı olarak değişmektedir (Skelin vd., 2017).

L-T4'ün ilaç-ilac, ilaç-gıda etkileşimlerine ait örnekler tabo 2.4'te gösterilmiştir.

Tablo 2.4

Levotiroksin İlaç-İlaç, İlaç-Gıda Etkileşimleri

İlaçlar	Etkiler
Diabetes mellitus ilaçları	Glisemik kontrolü sağlamak için gereken diyabet ilaçlarının dozunun artırılmasına sebep olabilir.
Digitalis	Serum digitalis tiroid hormon seviyelerini düşürebilir.
Gıdalar	Düzenli olarak ceviz, diyet lifi, soya fasulyesi unu, pamuk tohumu unu veya greyfurt suyu tüketen hastaların daha yüksek dozlarda L-T4'e ihtiyacı olabilir.
Ketamin	L-T4 ile eş zamanlı kullanımı önemli hipertansiyon ve taşikardi ile sonuçlanabilir.

Tablo 2.4 Levotiroksin İlaç-İlaç, İlaç-Gıda Etkileşimleri (Devam)

Oral antikoagülan	L-T4 etkisini artırabilir.
Seçici serotonin geri alım inhibitörleri	L-T4 terapötik ve toksik etkisini artırabilir.
Trisiklik antidepresanlar	L-T4 terapötik ve toksik etkisini artırabilir.
Tirozin kinaz inhibitörleri	Eşzamanlı kullanım hipotiroidizme neden olabilir.
Sempatomimetikler	Eşzamanlı kullanım, koroner arter hastalığı olan hastalarda kardiyak riskleri artırabilir.

Kaynak: Wilson vd., 2021

2.6 Erkek Reprodüktif Sistemi

Erkek reprodüktif sistem iç ve dış yapılar olmak üzere iki kısımdan oluşur; iç üreme organları epididim, vas deferens, ejakülatör kanal, seminal veziküller, prostat ve bulboüretral bezlerden oluşurken, dış üreme organları testislerden ve penisten oluşmaktadır (Jiménez-Reina vd., 2016).

Epididim, testisleri vas deferens'e bağlayan kanal benzeri bir organdır ve en belirgin işlevi, spermi rete testislerden vas deferens'e taşımaktır. Ayrıca sperm konsantrasyonunun ayarlanması, spermin olgunlaşması, korunması ve depolanmasından sorumludur (James vd., 2020)

Vas deferens, spermatozoaları epididimden üretraya ileten kaslı bir kanaldır (Koslov ve Andersson, 2013).

Seminal veziküller, seminal sıvı üretiminden sorumludur, ürettikleri seminal sıvı ile cinsel ilişki sırasında ve spermatozoanın olgunlaşması sırasında, hareketliliği, dondurma kapasitesi ve kromatin yoğunlaşması üzerinde etki etmektedir (Clavert vd., 2009).

Bulboüretral bezler, Cowper bezleri olarak da bilinmektedir. Prostat bezinin altında yer alan bu bez alkali mukus benzeri bir sıvı salgılayarak üretradaki idrar kalıntısının asiditesini nötralize ederler (Chughtai vd., 2005).

Testisler skrotumun içinde bulunur ve çok sayıda damar ve sinire sahiptir. Erkek gametlerinin üretimi ve iletilmesinde önemli bir role sahip olup, endokrin sistemiyle karmaşık bir etkileşimle kontrol edilir. Testisler, spermatogenezden sorumludur ve testosteron da dahil olmak üzere belirli hormonların üretiminde önemli bir rol oynamaktadır (Jiménez-Reina vd., 2016).

2.6.1 Testosteron üretimi ve hipotalamus-hipofiz-gonadal eksen

Erkek reproduktif sisteminde baskın androjen olan testosteronun üretimi, kolesterolün mitokondriyal membran boyunca translokasyonu ile başlayıp hipotalamus ve hipofiz bezi seviyesinde testosteronun negatif geri bildirimi ile sonlanan dengeli bir süreçtir (McQuaid ve Tanrikut, 2014).

Hipotalamus-hipofiz-gonadal eksen (Hipotalamik-pitüiter-gonadal eksen-HPG eksen); hipotalamus, hipofiz bezi ve gonadal bezler arasındaki ilişkiyi ifade etmektedir. HPG eksen cinsel olgunluğun, sperm üretiminin ve ikincil cinsiyet özelliklerinin gelişiminin desteklenmesinde önemli bir rol oynar. Erkeklerde yaşam boyunca spermatogenezi ve cinsel işlevi sürdürülmesini sağlar (Gurung vd., 2023).

Hipotalamus, ön hipofizi uyarmak için hipotalamus-hipofiz portal sistemine GnRH salgılar. GnRH, hipotalamik nöronlar tarafından pulsatil bir şekilde salınan bir peptid hormonudur. Bir G protein reseptörünün bağlanması ve aktivasyonu yoluyla ön hipofizin gonadotrofları üzerinde etkili olur, bu da FSH ve LH salgılamak için inositol 1,4,5-trifosfat (IP3) aktivasyonu yoluyla ön hipofizi uyarır. GnRH testosteron, östrojen, östradiol ve prolaktin tarafından inhibe edilir (Mawhinney ve Mariotti, 2000). Buna karşılık, ön hipofiz bezi kana LH ve FSH salgılar. Bu gonadotropik hormonlar sırasıyla testislerin Leydig ve Sertoli hücrelerindeki zar reseptörleri üzerinde etki eder. Her iki hormon da aynı glikoprotein ailesinden gelir ve aynı alfa alt birimlerinden oluşur, ancak farklı beta alt birimleri işlevlerini farklılaştırır. Her ikisi de fizyolojik etkilerini, adenilil siklazı aktive eden ve hücrel cAMP seviyelerini artıran bir G protein reseptörüne bağlanarak ve aktive ederek uygular ve Sertoli ve Leydig hücrelerini uyarır. LH, testislerin interstisyumunda bulunan Leydig hücrelerini kolesterolden testosteron üretmeleri için uyarır. LH, kolesterolü pregnenolona dönüştüren ilk hız sınırlayıcı enzim olan desmolaz'ı destekler. Bu, iki önemli zayıf androjen ara maddesi üretmeye devam eder: dehidroepiandrosteron (DHEA) ve androstendion. 17-beta-hidroksisteroid dehidrogenaz enzimi, androstendion'un testosterona dönüşümünü tamamlamasını sağlar (Gurung vd., 2023).

Testosteron, LH ve FSH salgısını azaltmak için negatif geri bildirim yoluyla hipotalamus ve ön hipofiz üzerinde etki eder. Testosteron ayrıca testislerin seminifer tübüllerinin çevresinde bulunan Sertoli hücreleri üzerinde de bir miktar etki gösterebilir. FSH ve testosteron, Sertoli hücrelerini spermatogenez sırasında germ hücrelerine testosteron sağlayan androjen bağlayıcı proteini salgılamaya teşvik edebilir. FSH, Sertoli hücrelerini sperm üretimini teşvik etmek ve inhibin B ve MIS salgılamak için uyarır. İnhibin, Sertoli hücrelerinin FSH salınımını azaltmak

için hipotalamus-hipofiz sistemi üzerinde uyguladığı negatif geri bildirim kontrolü olarak işlev görür (Gurung vd., 2023).

Erkeklerde testosteron üretiminin çoğunluğu testislerdeki Leydig hücrelerinden gerçekleşse de adrenal korteks de bir miktar androjen üretimine katkıda bulunur. HPG eksenine benzer şekilde, adrenal bezler de hipotalamus ve ön hipofiz tarafından kontrol edilerek hipotalamus-hipofiz-adrenal eksenini oluşturur. Hipotalamus, n hipofizden adrenokortikotropik hormon (ACTH) salınımını uyaran kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) salgılar. ACTH, adrenallerde kolesterolü pregnenolona dönüştürmek için enzim desmolazını uyarır, bu da testislerdeki testosteron sentezine benzer. Özellikle, adrenal medullanın zona retiklarisi, periferik olarak testosterona veya östradiole dönüştürülen zayıf androjenler DHEA ve androstendion üretmekten sorumludur (Mawhinney ve Mariotti, 2000).

2.6.2 Spermatogenez

Spermatogenez, postpubertal testiste spermatogoniumların bölünmeleri ve farklılaşmaları sonucunda matür spermatozoanın oluşmasını sağlayan bir süreçtir (Sharma ve Agarwall., 2011; Uslu, 2006).

Spermatogenez, testis içindeki germ hücreleri ve Sertoli hücrelerini barındıran seminifer tübüllerde meydana gelir. Sertoli hücreleri kan-testis bariyerini oluşturarak çeşitli besinleri, hormonları ve büyüme faktörlerini seminifer tübüllere salgılayarak spermatogenezi düzenlemede önemli bir rol oynar. Leydig hücreleri ise testosteron veya endokrin faktörlerinin birincil kaynağı olarak spermatogenezi destekler ve seminifer tübülleri çevreleyen bağ dokusunda bulunur. Sertoli hücreleri ise Leydig hücrelerinde steroidogenezi ve bu steroidlerin işlevlerini düzenleyen çeşitli faktörler üretir (Park vd., 2024).

Spermatogenez; gelişmiş germ hücrelerinin spermatogonia'dan spermatositlere, spermatidlere ve son olarak spermatozoaya farklılaştığı, ardışık mitotik ve meiotik hücre bölünmelerini içeren sıkı bir şekilde düzenlenmiş bir gelişimsel süreçtir (Vazquez-Levin vd., 2015). Bu süreç üç adımda gerçekleşir;

1. Spermatositogenezi: Bu süreç erken hücre aşaması olan spermatogonia'nın çoğalmasını sağlayan mitotik hücre bölünmesi ve diploid hücrelerin haploid hücreler oluşturduğu mayoz bölünmeyi içerir. Yuvarlak bir spermatid oluşumu gerçekleşene kadar bölünme gerçekleşir (Suede vd., 2023; Jimnez-Reina vd., 2016).

2. Spermiyogenez: Spermatidlerin tamamen sıkıştırılmış kromatinli spermatozoalara farklılaşma sürecidir (Sharma ve Agarwall., 2011). Bu süreçte spermatidler olgunlaşır ve tamamen farklılaşmış sperm hücreleri olan spermatozoa'yı oluştururlar. Bu aşama, olgun hücreler germinal epitelyumu terk ettiğinde sona erer. Bu serbest hücrelere bu noktada spermatozoa adı verilir (Jiménez-Reina vd., 2016).

3. Spermiyasyon: Olgun spermatidlerin epididime geçişlerinden önce koruyucu Sertoli hücrelerinden seminifer tübülün lümenine salındığı süreçtir. Spermiyasyon, spermatid başının ve sitoplazmasının yeniden düzenlenmesi, özel yapıya yapılarının parçalanması ve spermatidin Sertoli hücresinden nihai olarak ayrılması dahil olmak üzere birkaç adımı içerir. Bu süreçler seminifer epitelinin apikal kenarında gerçekleşir ve tamamlanması birkaç gün sürer (Jiménez-Reina vd., 2016).

Olgun bir sperm bir baş, orta parça ve kuyruktan oluşur. Baş, çok az sitoplazma içeren çekirdeği içerir. Bir akrozom veya başlık başı örter ve döllenmeye yardımcı olan lizozomlarla doludur. Orta parça, spermin kamçısı veya kuyruğu için enerji sağlamak üzere bol miktarda mitokondri içerir (Gurung vd., 2023).

2.6.2.1 Spermatogenezin hormonal düzenlenmesi

Spermatogenez hipotalamus-hipofiz-testis hormonal eksenini tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilir (Marques vd., 2024). Bu eksen, hipotalamustan GnRH üretimini gerçekleştirerek hipofiz bezinden FSH ve LH salgılanmasını indükler. LH daha sonra, Sertoli ve germ hücresi fonksiyonunu desteklemek için steroidogenez yoluyla Leydig hücrelerinden testosteron salınımını uyarır ve bu da etkilerini yalnızca Sertoli hücreleri üzerinde gösteren FSH ile birlikte çalışır. Bu hormonlar, lokal olarak üretilen hormonlar (inhibin, aktivin vb.), steroidler (estradiol-17 β vb.) ve parakrin ve otokrin faktörlerle (sitokinler, laminin, kolajen parçaları vb.) birlikte seminifer epitelyumda spermatogenezini sürdürürler (Suede vd., 2023; Mok vd., 2013).

2.7 Erkek Reprodüktif Sistem Toksisitesi

Kimyasal, fiziksel veya biyolojik bir maddenin üreme fonksiyonlarını bozması veya embriyo üzerinde büyüme geriliği, malformasyonlar ve ölüm gibi olumsuz etkiler göstermesi reprodüktif toksisite olarak tanımlanmaktadır (Mantovani ve Maranghi, 2005).

Erkek doğurganlığı, spermatogenez aracılığıyla tam işlevli spermatozoa üretimine bağlıdır. Spermatogenezin bozulması; sperm sayısında azalma, anormal sperm veya hasarlı sperm DNA'sında artış gibi sperm parametrelerinde değişikliklere neden olmaktadır (Reis vd., 2015).

Spermatogenezi doğrudan veya dolaylı olarak etkileyen sağlık sorunları, spermatogenezi düzenleyen intratestiküler ve ekstratestiküler mekanizmaların yanı sıra erkek germ hücrelerinin çoğalması ve farklılaşmasında da problemlere neden olabilir. Ayrıca toksik maddeler, radyasyon, yüksek skrotum sıcaklığı, hormonlar ve metabolitleri, beslenme ve tıbbi ilaçlar spermatogenezi kısmen veya tamamen engelleyebilir (Sharma ve Agarwall., 2011).

Bazı toksik maddeler öncelikle sertoli hücrelerini hedef alır ve sertoli hücreleri veya sertoli-germ hücreleri arasındaki yapışmayı tehlikeye atarak spermatogenezi bozar. Bunlar arasında kemoterapötikler, gossypol, ftalatlar, alkilfenoller, pestisitler ve ağır metaller yer almaktadır (Reis vd., 2015). Leydig hücresi, spermatogonyum, spermatositler gibi erkek reproduktif sistemi yapılarını da hedef alan toksik maddeler bulunmaktadır. Bu maddeler ve etkileri tablo 2.5'te gösterilmiştir.

Tablo 2.5

Erkek Üreme Sistemi Yapılarına Spesifik Bazı Toksik Maddeler ve Etkileri

Hedef yapı	Toksik madde	Etki
Leydig hücresi	Etan dimetan sülfanat	Leydig hücresi nekrozu, germ hücrelerinin ölümü ve ikincil seks organlarının atrofi
Leydig hücresi	Lansoprazol	Testosteron sentezinin inhibisyonu, Leydig hücre tümörü gelişimi
Sertoli hücresi	Ftalat esterleri, 2,5-heksandion	Sertoli hücre vakuelleri, germ hücrelerinin ölümü ve dökülmesi
Spermatogonyum	Busulfan, bleomisin	Spermatogonyal hücre ölümü, sonrasında germ hücrelerinin azalması
Spermatositler	2-metoksi etanol, dinitropiroller	Spermatosit hücre ölümü, sonrasında germ hücrelerinin azalması
Testis Kan Damarları	Kadmiyum klorür	Endotel hücre nekrozu, tüm hücre tiplerinde ikincil iskemik nekroz
Epididim Epiteli	Metil klorür	Epitel hücre nekrozu, sperm granülomları oluşumu
Vas Deferens	Guanethidin	Ejakülasyonun inhibisyonu, vas deferens-yırtılması ve sperm granülomları
Prostat ve Seminal Veziküller	Finasterid	Testosteronun dihidrotestosterona dönüşümünün engellenmesi, atrofi

Kaynak: Creasy., 2001

2.8 Erkek Reprodüktif Sistem Toksisitesi Biyogöstergeleri

Erkek reprodüktif sistem toksisitesi; seminifer epitelyum ve/veya spermatogenezi, epididimal sperm olgunlaşmasını ve endokrin bozulmasını destekleyen Leydig ve Sertoli hücreleri üzerindeki doğrudan etkiler gibi geniş bir hedef ve mekanizma yelpazesini içermektedir. (Mantovani ve Maranghi, 2005). Erkeklerde ölçülebilir biyobelirteçler arasında sperm parametrelerinin incelenmesi, reprodüktif sistem hormonları, endokrin bozucular, oksidatif hasar ve RNA ekspresyon profilleri gibi parametreler yer almaktadır.

2.8.1 Sperm parametreleri

Erkek infertilitesinin en yaygın sebebi düzensiz sperm üretimidir. Azospermi ve şiddetli oligospermi ile seyreden erkek infertilitesi, genetik yatkınlık ile ilişkilidir. Ek olarak; ısı, radyasyon, mesleki etmenler ve farmasötik maddeler gibi çeşitli çevresel maruziyetler erkeklerde infertiliteye neden olabilir. Bu maruziyetlerin tamamı sperm kalitesini olumsuz yönde etkileyebilir. Bu nedenle, sperm konsantrasyonu, sperm motilite ve morfolojisi, erkek fertilitesi üzerindeki olumsuz etkilerin biyomarkerleri olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Rocket ve Kim., 2005; Champion vd., 2013; Brehm vd., 2019).

2.8.1.1 Sperm sayısı ve konsantrasyonu

Sperm sayısı ve konsantrasyonu spermatogenezin önemli biyobelirteçlerindedir. Sperm sayısı gözlemlenirken, tüm bir ejakülattaki toplam sperm sayısı, sperm konsantrasyonunun semen hacmiyle çarpılmasıyla hesaplanır. Sperm konsantrasyonu, birim semen hacmi başına düşen sperm sayısını ifade etmektedir (Brehm vd., 2019). Dünya Sağlık Örgütü'nün 2021 yılında yayınladığı kılavuza göre düşük sperm sayıları ($<2 \times 10^6$ /spermatozoa/ml) düşük konsantrasyon olarak kabul edilmektedir. Azospermi durumunda ise analiz sırasında sperm gözlenmemektedir (WHO, 2021).

Sperm hücreleri, teoride hedef organlarda maruziyet kaynaklı hasar ile doğurganlık ve diğer üreme uç noktalarındaki değişiklikler arasında kritik bir bağlantı sağlayan çok amaçlı biyobelirteçlerdir. Bu nedenle, seminal sıvıdaki sperm konsantrasyonu, erkek doğurganlığının klinik değerlendirmesinde kullanılan geleneksel bir parametredir (Ong vd., 2002).

2.8.1.2 Sperm morfolojisi ve hareketliliği

Sperm hücresinin morfolojisi spermatogenezin son aşamalarında şekillenir ve epididimdeki olgunlaşma sırasında da devam edebilir (Ong vd., 2002).

Sperm morfolojisinin değerlendirilmesi erkek üreme organlarının, özellikle testislerin ve epididimislerin fonksiyonel durumu hakkında tanısal bilgi sağlamaktadır. Erkek üreme organlarının değerlendirilmesi için sadece “normal” spermatozoa oranının belirlenmesi yeterli değildir. Baş, boyun/orta parça ve kuyruğun spesifik morfolojisini ve anormal sitoplazmik kalıntıların olası varlığını değerlendirmek de önemlidir (WHO, 2021).

Spermatozoalar hareketlerine göre; ilerleyici hareketli, ilerleyici olmayan (sadece başın yanlara doğru yer değiştirmesi) ve hareketsiz olarak derecelendirilebilir. Toplam hareketli sperm oranı %40'tan az veya ilerleyici hareketli sperm oranı %32 olan erkekler, sperm hareketliliğindeki bozukluklarla karakterize bir durum olan astenozoospermi olarak kabul edilir. (Barak ve Baker., 2016). Astenozoospermi, erkek infertilitesine katkıda bulunan baskın faktörlerden birisidir (Nayak vd., 2018). Ayrıca anormal sperm formlarının artması da infertilite ile ilişkilendirilmektedir (Ong vd., 2002) Dünya Sağlık Örgütü'nün 2021 yılında yayınladığı kılavuzda yer alan semen özelliklerine ilişkin alt referans sınırları tablo 2.6'da gösterilmektedir.

Tablo 2.6

Semen özelliklerine ilişkin alt referans sınırları

Parametreler	Alt referans değeri
Semen hacmi (ml)	1.4
Toplam sperm sayısı (10^6 ejakülat başına)	39
Sperm konsantrasyonu (10^6 /ml)	16
Progresif hareketlilik (%)	30
Canlılık (canlı spermatozoa, %)	54
Sperm morfolojisi (normal formlar, %)	4
pH	7.2

Kaynak: Goddard., 2022

2.8.2 Hormonlar

2.8.2.1 Testosteron

Testosteron eksikliği hem semptomlarla hem de dolaşımdaki plazma T'nin düşük seviyeleri ile ortaya çıkmaktadır. Testosteron eksikliği, testis disfonksiyonundan, hipofiz/hipotalamik bozukluklardan veya ilaç kullanımından kaynaklanabilir. Yapılan insan çalışmalarından elde edilen veriler testosteron ve libido arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermektedir. Bu nedenle testosteron seviyesi de reproduktif sistem toksisitesi biyogöstergelerinden biri olarak kullanılmaktadır (Dick vd., 2020).

2.8.2.2 LH ve FSH

Hipotalamustan salgılanan GnRH, ön hipofizden LH ve FSH salınımını uyarır. FSH ve LH, gonadotropik hücrelerden salgılanır ve gonadlar üzerindeki G proteinine bağlı reseptörlere

bağlanarak gonadlar üzerinde etkilerini gösterirler (Sidhom vd., 2022). Erkeklerde LH'nin birincil rolü, Leydig hücreleri tarafından testosteron üretimini uyarmaktır. Testosteron, FSH ile birlikte Sertoli hücrelerinde spermatogonial hücre oluşumunu ve spermatogenezi kontrol etmektedir. (Jarow., 2003). Hipofiz bezinden yeterli miktarda FSH ve LH salgılamadığı durumlarda testiküler problemler meydana gelmekte ve bu durum sperm üretimini etkileyerek infertiliteye sebep olmaktadır (Khamiss vd., 2019).

2.8.2.3 Prolaktin

Prolaktin, laktotrof hücreler tarafından ön hipofiz bezinde üretilen bir hormondur. Erkeklerde prolaktin hormonunun fazla salgılanması erektil disfonksiyon, libido azalması ve infertilite ile ilişkilidir (Majumdar ve Mangal., 2013)

2.8.2.4 İnhibin B

İnhibin B, testis Sertoli hücrelerinde ve germ hücrelerinde sentezlenen dimerik bir glikoproteindir ve özellikle Sertoli hücreleri olmak üzere seminifer epitelinin işlevsel durumunun bir belirteçidir. Erişkin erkek bireylerde, serum IB düzeyi serum FSH konsantrasyonu ile negatif korelasyon gösterirken; sperm sayısı, sperm konsantrasyonu, Sertoli hücre sayısı ve testis hacmi ile pozitif korelasyon göstermektedir bu nedenle IB'nin spermatogenezi düzenlemede parakrin bir rolü olduğu düşünülmektedir (Moreno-Pérez vd., 2015)

2.8.3 Oksidatif hasar

Sperm fonksiyon bozukluğunun olası nedenlerinden bir diğeri de endojen olarak ya da kimyasallar tarafından aşırı derecede üretilen reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu oksidatif streştir (Kumar vd., 2014) Oksidatif stres; ROS olarak bilinen oksijen ve oksijen kaynaklı serbest radikaller tarafından indüklenen artan hücresel hasarla ilgili bir durumdur. (Agarwall vd., 2014).

Menide, sperm ve seminal plazmayı kirleten bazı lökositler ROS'un başlıca kaynağıdır. Sperm plazma zarı, dokosaheksaenoik asit gibi yüksek miktarda çoklu doymamış yağ asitlerine sahiptir ve bunlar ROS tarafından hızla oksitlenerek sperm kuyruğunun esnekliğini ve hareketliliğini azaltır. ROS ayrıca sperm hareketliliği için enerji sağlayan sperm mitokondriyal kılıfı tarafından üretilen ATP'yi de azaltmaktadır (Kumar vd., 2014). Ayrıca yüksek ROS seviyeleri, sperm plazma membranında doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonuna neden olarak hücre fonksiyonunu kaybetmesine yol açabilir ve aynı zamanda sperm çekirdeğindeki DNA'ya zarar verebilirler (Sanocka ve Kurpisz., 2004).

2.9 Hipotiroidizm ve Erkek Reprodüktif Sistem ile İlişkisi

Tiroid bezi, merkezi sinir sistemi ve üreme sistemi de dahil olmak üzere neredeyse tüm dokuların normal büyümesi ve gelişimi için gerekli iki önemli hormonu sentezler ve salgılar. Bu hormonlar; T3 ve T4 hormonlarıdır. (Mullur vd., 2014).

Tiroid hormonlarının (TH) testis gelişiminde önemli bir düzenleyici olarak rol oynadığı kabul edilmektedir. Fetal ve puberte öncesi sertoli hücrelerinde spesifik TR'lerin (tiroid hormonu reseptörleri) ekspresyonu, TH'nin testiküler farklılaşmada önemli roller oynadığını göstermektedir. Ayrıca testislerin gelişimi ve sertoli hücrelerinin olgunlaşması için yeterli bir androjen/östrojen dengesi büyük bir öneme sahiptir (Aiceles ve Da Fonte Ramos, 2016).

2.9.1 Hormonlar

Cinsel işlev bozukluğu olan erkeklerin %3,1'inde hipotiroidizm görülürken, bunu %13,7 ile hiperprolaktinemi ve %15 ile düşük serum testosteron düzeyleri takip etmektedir (El-Sakka vd., 2005). Tiroid fonksiyon bozukluğunun erkek üreme fonksiyonu üzerindeki etkisi, hipotiroidizmin ortaya çıktığı veya gonadın değerlendirildiği yaşa bağlı olarak değişmektedir (Aiceles ve Da Fonte Ramos, 2016).

2.9.1.1 Gonadotropinler

Gonadotropinler olarak bilinen LH ve FSH hormonları ön hipofiz tarafından üretilir. Bu iki hormonun üretimi hipotalamus tarafından salgılanan GnRH tarafından uyarılır (Singh vd.,2011). Gonadotropinler testis fonksiyonlarının başlıca düzenleyicileridir. Hipotiroid durumlarda rapor edilen dolaşımdaki gonadotropin düzeyi; değişmeyen LH ve FSH, azalmış LH ve FSH, artmış LH ve FSH, değişmeyen FSH ile azalmış LH ve normal LH ile artmış FSH olarak kategorize edilebilir (Aiceles ve Da Fonte Ramos, 2016; Maran, 2003). Bu farklılıklar, deneylerde kullanılan hayvanların yaşına, hipotiroidizm indüksiyonunun uzunluğu, şiddeti ve şekline (akut veya kronik) ve deneyde kullanılan türe bağlı olarak değişmektedir. Hipotiroid bireylerde FSH ve LH hormonlarının üretimindeki dengesizlik erkek reprodüktif sistemi problemlerine yol açmaktadır (Maran, 2003).

2.9.1.2 Androjenik hormonlar

Tiroid hormonlarının üretimi hipotalamus tarafından düzenlenmektedir. Hipotalamusun periventriküler çekirdeğindeki hücre gövdeleri, TRH adlı bir peptid hormonu üretir ve hipotalamik-hipofiz portal sistemine ön hipofize salgılar. TRH, hipofiz bezindeki reseptörlere bağlanır ve bu da transkripsiyon ve TSH üretimiyle sonuçlanan bir sinyal başlatır. TRH ayrıca ön hipofizdeki laktotropik hücrelerin etkisiyle prolaktin üretimini de uyarmaktadır.

Hipotiroidizm; TH, T4 ve T3 üretiminin azalmasına neden olur, bu da TSH ve TRH'nin yukarı regülasyonuna yol açmaktadır (Morenas vd., 2023).

2.9.2 Sertoli hücreleri

Sertoli hücreleri gelişmekte olan germ hücrelerine destek sağlamaktadır. Sertoli hücrelerinin germ hücrelerine oranı insanlarda 1:11 ve yetişkin sıçan testisinde 1:50'dir bu nedenle, Sertoli hücrelerinin sayısı testisin günlük sperm üretiminin göstergelerinden biridir (Bendsen vd., 2003; Mruk ve Cheng, 2004).

Tiroid hormonları testis gelişiminde önemli bir düzenleyicidir. Fetal ve prepubertal sertoli hücrelerinde spesifik TR'lerin ekspresyonu, tiroid hormonlarının testiküler farklılaşmada önemli roller oynadığını ve bu etkilerin prepubertal dönemde en yüksek seviyede olduğunu göstermektedir. Androjen/östrojen dengesinin testis gelişimi ve Sertoli hücrelerinin olgunlaşması için uygun olması çok önemlidir. Prepubertal dönemde aromatazin maksimum ekspresyonu ve aktivitesi, prepubertal dönemde sertoli hücrelerinde gözlemlenir bu da bu hücrelerin tiroid hormonlarına en yüksek tepki verdiği dönemle örtüşmektedir. Ayrıca aromataz aktivitesi ve ekspresyonundaki ve östrojen reseptörü seviyelerindeki değişiklikler, tiroid hormonları kontrolü altındadır. Bu nedenle, konjenital hipotiroidizmde testis boyutunda azalma, sertoli hücre farklılaşmasında gecikme ve bu hücrelerin çoğalma süresinde artış görülmektedir. Ancak, yaşlılıkta testis incelendiğinde, testis boyutunda, sertoli hücre sayısında ve sperm üretiminde artış görülmektedir (Aiceles ve Da Fonte Ramos, 2016; Kumar vd., 2014).

2.9.3 Leydig hücreleri

Hem fetal hem de yetişkin leydig hücre popülasyonları için kök hücreler, iğ şeklinde ve steroid içermeyen testis intersitiumundaki mezenkimal hücrelerdir. Mezenkimal hücrelerin bazıları fetal leydig hücrelerine farklılaşırken diğerleri farklılaşmamış özelliklerini korur ve doğum sonrası testisteki yetişkin leydig hücreleri için öncü hücreler olarak görev yapar (Ariyaratne vd., 2000). Tiroid hormonları leydig hücre gelişimini ve steroidogenezi düzenler. Hardy ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, PTU ile tedavi edilen hipotiroid sıçanların ötiroid kontrollerle karşılaştırıldığında Leydig hücre sayısında önemli bir artış görülmüştür. Bununla birlikte, bu hipotiroid sıçanlardan izole edilen Leydig hücrelerinin daha düşük steroid üretme potansiyeline sahip olduğunu gözlemlemişlerdir. Böylelikle hipotiroidizmin steroidogenez, spermatogenez ve dolayısıyla fertilitiyi olumsuz etkilediği yönünde sonuçlara ulaşılmıştır. (Hardy vd., 1993).

2.9.4 Sperm morfolojisi

Hipotiroidizm sperm morfolojisini doğrudan etkileyebilir. Hipotiroid erkeklerin spermalarında anormal baş, orta parça ve kuyruk yapıları oldukça fazla görülmektedir (Krassas vd., 2008).

Tiroid hormonları spermatogenez için gerekli hücresel süreçlerin düzenlenmesine yardımcı olmaktadır, hipotiroidizm bu süreçlerde aksamalara yol açarak olgunlaşma aşamasındaki spermaların yapısal anormalliklerini arttırabilir. Sperm başının gelişiminde veya uygun şekil almasında morfolojik anormalliklerin meydana gelmesi deforme başlara neden olabilir ve bu anormallikler olgun bir oositi dölleme potansiyelini büyük ölçüde azaltır. Kuyruk bölgesindeki morfolojik deformiteler kuyruğun farklı kısımlarındaki defektlerden kaynaklanmaktadır (Krassas vd., 2008).

2.9.5 Oksidatif stres

ROS, oksijenin ve ürünlerinin diğer moleküllerle kimyasal olarak oldukça reaktif indirgenmiş formlarıdır. Süperoksit radikali, hidroksil radikali, hidrojen peroksit dahil tüm ROS, bir veya daha fazla eşleşmemiş elektron içermektedir. Mitokondri, ROS'un birincil biyolojik kaynağıdır. Fizyolojik koşullar altında ROS, doymamış yağ asitleri, sülfidril proteinleri ve nükleik asitler gibi bir dizi biyolojik molekülü oksitleyebilir. (Ochsendorf, 1999). ROS'un etkilerini dengelemek için hücreler; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSHPx), katalaz (CAT), tokoferoller, karotenoidler gibi birçok antioksidan molekül üretir. Oksidatif stres, hücrelerdeki ROS seviyeleri antioksidan seviyelerinden çok daha yüksek olduğunda ortaya çıkmaktadır (Kumar vd., 2014).

Menide, sperm ve seminal plazmayı kirleten bazı lökositler ROS'un başlıca kaynağıdır. Sperm plazma zarı, dokosaheksaenoik asit gibi yüksek miktarda çoklu doymamış yağ asitlerine sahiptir ve bunlar ROS tarafından hızla oksitlenerek sperm kuyruğunun esnekliğini ve hareketliliğini azaltır (Tremellen, 2008). ROS ayrıca sperm hareketliliği için enerji sağlayan sperm mitokondriyal kılıfı tarafından üretilen ATP'yi de azaltmaktadır (de Lamirande ve Gagnon, 1992). Çoğu durumda teratozoospermik sperm, normalde sperm olgunlaşması sırasında kaybedilen fazla artık gövdeyi tutar. Bu artık gövdeler, NADPH üreten büyük miktarda glikoz-6-fosfat dehidrogenaz içerir. NADPH, sperm plazma zarında bulunan NADPH oksidaz enzimi tarafından katalize edilen ROS üretmektedir (Kumar vd., 2014). Tiroid hormonları, testis de dahil olmak üzere birçok dokuda ROS ve antioksidan moleküller arasındaki dengeyi korumada oldukça önemlidir (Kumar vd., 2014).

Hipotiroidizmle ilişkili ROS hem serbest radikallerin artan üretiminin hem de antioksidan savunma kapasitesinin azalmasının sonucudur. Hipotiroidizmde aşırı TSH üretimi başlı başına oksidatif stres süreçlerini değiştirebilir ve hipotiroidizm kaynaklı mitokondriyal solunum zincirinin disfonksiyonu serbest radikallerin hızlandırılmış üretimine yol açabilir (Chakrabarti vd., 2016). Hipotiroidizmde gözlenen düşük antioksidan seviyeleri ve artmış lipid peroksidasyonu da oksidatif stresin varlığına işaret eden bir durum olarak görülmektedir (Nanda, 2017).

2.9.6 Cinsel işlev

Hipotiroid erkeklerde cinsel davranışta değişiklik görülmektedir. Yetişkin hipotiroid erkeklerde hipoaktif cinsel istek, erektil disfonksiyon ve ejakülasyon bozuklukları gibi bozulmuş cinsel davranışlar oldukça yaygındır. Bu hastalarda ötiroid durumunun geri kazanılmasıyla cinsel davranışta iyileşme görülmektedir. Hipotiroidizmde cinsel işlev bozukluğunun kesin nedeni net olmamakla birlikte; kalıcı hafif hiperprolaktinemiye, östrojen/testosteron oranındaki artışa veya merkezi sinir sistemi etkisine bağlı olabildiği görülmektedir (Kumar vd., 2014).

2.10 Hipotiroidizm Modelleri

Hipotiroidizm modelleme ilkeleri, sınırlı iyot içeriğine sahip gıdaların kullanımı (diyet modelleri), tiroid bezinin tamamının veya bir kısmının çıkarılması (tiroidektomi), tiroidi besleyen üst ve alt tiroid arterlerinin koagülasyonu nedeniyle kan akışının bozulması (cerrahi modeller), hayvan vücuduna antitiroid ilaçların uygulanması (ilaç modelleri), moleküler genetik yöntemler kullanılarak memeli genomunun düzenlenmesi (genetik modeller), hayvan vücudunun belirli bir dozda radyoaktif iyoda maruz bırakılması (radyoaktif modeller) ve hayvan vücuduna bir immünoşüpresif ajanın uygulanması (immünolojik model) gibi yöntemlerle yapılır. Bu hipotiroidizm modelleme prensipleri, çalışmanın özel hedef ve amaçları için gerekli olan neredeyse tüm koşulların simüle edilmesine olanak tanımaktadır (Chaulin vd., 2021). Hipotiroidizm modelleri ve modelleme ilkeleri Tablo 2.7’de sunulmuştur.

Tablo 2.7*Hipotiroidizm modelleri ve modelleme ilkeleri*

Hipotiroidizm Modelleri	Modelleme İlkeleri
Diyet modelleri	Laboratuvar hayvanlarının tiroid hormonlarının oluşumu için gerekli olan iyot eser elementinin alımını kısıtlayan özel bir diyetle beslenmesi
Cerrahi modeller	Laboratuvar hayvanlarında tiroid bezinin çıkarılması ve kalıcı ve şiddetli hipotiroidizmin gelişmesi Üst ve alt tiroid arterlerinin pıhtılaşması sonucu tiroid bezine giden kan akımının bozulması
İlaç modelleri	Antitiroid (tirostatik) etkili ilaçların laboratuvar hayvanının vücuduna verilmesi: potasyum tiyosiyanat, merkazolil (metimazol, tiamazol), PTU
Genetik modeller	Moleküler genetik teknolojiler kullanılarak memeli genomunun düzenlenmesi
Radyoaktif modeller	Laboratuvar hayvanlarının vücuduna radyoaktif iyot (¹³¹ I) uygulanması
İmmunolojik modeller	Bir laboratuvar hayvanının vücuduna immünosüpresif bir ajanın uygulanması

*Kaynak: Chaulin vd., 2021***2.10.1 Antitiroid ilaçlar ile hipotiroidizm oluşturulması**

Hipotiroidizm modelleme yöntemleri arasında en sık kullanılan yöntemlerden biri antitiroid ilaçların kullanımıdır (Kar vd., 2022; Chaulin vd., 2021; Hwang vd., 2018)

Tiroid hipofonksiyonunun tıbbi modellemesinin prensipleri, tiroid bezinin foliküler hücrelerinin işlevini ve tiroid hormonlarının üretimini bozan antitiroid (tireostatik) ajanların laboratuvar hayvanlarına uygulanmasıyla sağlanır. Bu modelleme yöntemi, laboratuvar ortamında genellikle fareler ve sıçanlar gibi küçük hayvanlara uygulanmaktadır. Çalışmalarda küçük hayvanların kullanılması, ilaç tüketiminin düşük olması ve maliyet açısından avantaj sağlamaktadır (Chaulin vd., 2021).

Hipotiroidizm modellemesi esnasında kullanılan antitiroid ajanlar arasında potasyum tiyosiyanat, propiltiourasil, merkazolil ve merkazolil analogları (tiamazol, metimazol, metisol, karbimazol) bulunmaktadır. Bu ajanlar, tiroid hormonlarının biyosentezini çeşitli mekanizmalarla engelleyerek, deneysel olarak tiroid fonksiyonlarının inhibe edilmesine olanak tanır (Bianco vd., 2014). Hayvanlara uygulanan ajan türü ve uygulama yöntemi doğrultusunda değişik seviyelerde hipotiroidizm meydana gelebilir. Bu modellemeler, tiroid hastalıklarının patofizyolojisini analiz etmek ve olası tedavi stratejilerini araştırmak açısından kritik bir öneme sahiptir (Chaulin vd., 2021).

2.10.1.1 Metimazol ile hipotiroidizm oluşturulması

MMI etki mekanizması, tiroid peroksidaz enzimini inhibe ederek T4 ve T3 üretimini engellemesine dayanır; bu durum, amino asit tirozinin iyodinasyonunu, yani iyodun tiroid hormonları bileşimine katılımını engeller. Bu şekilde hipotiroidizm indüklenmiş olur (Chaulin vd., 2021).

Literatürlerde yer alan bazı MMI ile hipotiroidizm oluşturma modelleri tablo 2.8’de yer almaktadır.

Tablo 2.8

MMI ile hipotiroidizm modelinin oluşturulması

Antitiroid ilaç ve dozu	Veriliş Yolu	Veriliş süresi	Kaynak
%0.05 MMI	İçme suyu	32 gün	N. Bhargava vd., 1989
%0.04 MMI	İçme suyu	2 hafta	Cano-Europa vd., 2011
%0.02 MMI	İçme suyu	4 hafta	Efe vd., 2022
60 mg/kg MMI	İçme suyu	4 hafta	Isman vd., 2003
2,5 mg/100 g vücut ağırlığı tiamazol	İntragastrik	3 hafta	F. Kamilov vd., 2012
10 mg/kg MMI	İntragastrik	8 hafta	Y. Kruk ve E. Manuk; 2011

2.10.1.2 Propiltiourasil ile hipotiroidizm oluşturulması

PTU tiroid peroksidazı inhibe ederek tirozin’in iyodinasyonunu ve T4 sentezi esnasında iyodotirozinlerin birleşimini engelleyerek tiroid hormonlarının seviyesini azaltır. Bu durum, hipokampus ve dentat girus bölgesinde yapısal hasar gibi hipotiroidizm belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olur (Chaulin vd., 2021).

Literatürlerde yer alan bazı PTU ile hipotiroidizm oluşturma modelleri tablo 2.9’da yer almaktadır.

Tablo 2.9

PTU ile hipotiroidizm modelinin oluşturulması

Antitiroid ilaç ve dozu	Veriliş Yolu	Veriliş süresi	Kaynak
%0.05 PTU	İçme suyu	4 hafta	Wu vd;2013
%0.05 PTU	İçme suyu	4 hafta	Jena vd., 2012
%0.05 PTU	İçme suyu	5 hafta	Chaalal vd., 2014
%0.05 PTU	İçme suyu	3 hafta	Mohamad vd., 2020
%0.05 PTU	İçme suyu	8 hafta	Carnerio vd., 2008
10 mg/kg PTU	İçme suyu	4 hafta	Ozkan vd., 2005

3 GEREÇLER

3.1 Kullanılan Malzemeler

Alkol	: Sigma-Aldrich, Almanya
DMEM/Ham's F-12	: Capricorn, Almanya
Lam	: ISOLAB, Türkiye
Lamel yapıştırıcısı	: Eukitt, İspanya
LR White	: London Resin Company, İngiltere
Paraformaldehit	: Sigma-Aldrich, Almanya
PBS	: MP Biomedicals, Fransa
Propiltiourasil	: Recordati İlaç, Türkiye
Levotiroksin	: Bilim İlaç, Türkiye
Rat Tri-iodothyronine, T3 ELISA Kit	: Cusabio, ABD
Rat thyroxine, T4 ELISA Kit	: Cusabio, ABD
Rat TSH ELISA Kit	: Cusabio, ABD
Rat LH Elisa Kit	: Cusabio, ABD
Rat SHBG Elisa Kit	: Cusabio, ABD
Rat Testosteron Elisa Kit	: Cusabio, ABD
Rat Inhibin B Elisa Kit	: Cusabio, ABD
Rat FSH Elisa Kit	: Cusabio, ABD
Sodyum klorür (NaCl)	: Merck, Almanya
Sperm Blue dark staining	: Microptic SL, İspanya
Sperm Blue fixative solution	: Microptic SL, İspanya
Ketamin	: Sigma-Aldrich, Almanya
Ksilazin	: Bioveta, Çek Cumhuriyeti

3.2 Kullanılan cihazlar

Güç kaynağı	: Thermo Scientific, ABD
Hassas terazi	: Ohaus, ABD
Homojenizatör	: Sartorius, Almanya
Isıticılı manyetik karıştırıcı	: Lab Companion, ABD
Mikroplate okuyucu	: Biotek, ABD
Nikon Eclipse 50i	: IMP, Güney Afrika
Otomatik Sperm Yazılımı	: SCA, İspanya
Soğutmalı santrifüj	: Eppendorf, Almanya
Otomatik pipet	: Eppendorf, Almanya
Vorteks	: Heildolph, Almanya

4 YÖNTEMLER

Tiroid bezinin kimyasal inhibisyonu, cerrahi yöntemlerle (Xie vd., 2022) veya PTU gibi ilaçların uygulanması yoluyla indüklenebilmektedir. Bu ilaçlar günlük intraperitoneal enjeksiyonlar yoluyla, yiyeceklere veya içme suyuna eklenerek verilebilmektedir (Bianco vd., 2014).

Literatür taraması sonucunda yöntemler arasında en sık kullanılan deneysel hipotiroidizm modeli oluşturma yönteminin PTU kullanımı ile olduğu gözlenmiştir (Kar vd., 2022; Chaulin vd., 2021; Hwang vd., 2018) ve bu yüksek lisans tez çalışmasında PTU kullanarak deneysel hipotiroidizm modeli oluşturulmuştur.

Deneylerde yaklaşık olarak 300-350 g ağırlığında yetişkin (6 – 8 haftalık) erkek Sprague-Dawley sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar, çalışma ortamına uyum sağlamaları için deney başlangıcından bir hafta önce laboratuvar ortamına alınmıştır. 12 saat gündüz/12 saat gece döngüsünde, 24±1 °C sıcaklıktaki iyi havalandırılan, %65 ortam nemine sahip odalarda barındırılmıştır. Her grupta 10 sıçan olmak üzere 4 grup oluşturulup sıçanlar pleksiglas kafeslere her bir kafeste en fazla 4 adet sıçan olacak şekilde yerleştirilmiştir. Sıçanlar, pelet yem ve su ile ad libitum olarak beslenmiştir.

Hipotiroid gruptaki sıçanlara uygulanacak PTU dozu ve uygulama süresi literatür taramaları sonucunda; 10 hafta boyunca gastrik gavaj yoluyla 6 mg/kg/vücut ağırlığı olarak belirlenmiştir (Algaidi vd., 2022; Khalawi vd., 2013).

Deneysel çalışmalarda PTU modelinin 2-10 hafta arasında olduğu gözlenmiştir (Pantos vd., 2003; Khalawi vd., 2013; Alkalby ve Alzerjawi., 2013). 4 hafta sonunda da belirlenen dozda hipotiroidizm modeli oluştuğunu gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur (Kar vd., 2022; Hwang vd., 2018; Ferreira vd., 2007) Bu çalışmalardan yola çıkarak; Tedavi grubundaki sıçanlara 4 hafta boyunca 6 mg/kg/ vücut ağırlığı dozunda PTU verilmesinin ardından sıçanlar 6 hafta boyunca 10 µg L-T4 ile tedavi edilmiştir.

İnsanlarda hipotiroidizmde uygulanan L-T4 dozu 1.7 µg/kg/gün olarak belirlenmiştir (Collucci vd., 2013). Tedavi grubu ve Levotiroksin grubuna uygulanacak L-T4 dozunu belirlemek için insan dozu hayvan dozuna ekstrapole edilmiştir. Bu işlem için kullanılan formül şu şekildedir;

$$\text{HED (mg/kg)} = \text{Hayvan dozu (mg/kg)} \times (\text{Hayvan } Km / \text{İnsan } Km)$$

HED: Human Equivalent Dose (İnsan Eşdeğer Dozu)

Km faktörü: Vücut ağırlığı(kg)/ Vücut yüzey alanı (m²)

Yetişkin bir insanın ortalama vücut ağırlığı 60 kg, vücut yüzey alanı ise 1,62 m² olarak kabul edildiğinden insan Km değeri “37”; sıçanların ise ortalama vücut ağırlığı 0,15 kg ve vücut yüzey alanı 0.025 m² olarak kabul edildiğinden sıçan Km değeri “6” olarak bulunmaktadır (Nair ve Jacob., 2016). Bulunan değerler sonucunda; hayvan eşdeğer dozu, insan dozunun (mg/kg) Km oranına bölünmesi (sıçan için 0,162) veya çarpılması (sıçan için 6,2) yoluyla vücut yüzey alanı temel alınarak hesaplanır (Nair ve Jacob, 2016). Bu formülden hareketle L-T4’ün 1,7 µg/kg/gün insan dozu sıçan dozuna ekstrapole edildiğinde bu değer yaklaşık olarak 10 µg/kg/gün olarak hesaplanmıştır. Yapılan çalışmalardan yola çıkıldığında bu değer uygun aralıkta olduğu görülmüştür (Korkmaz vd.,2023; Celep vd., 2023; Bavarsad vd., 2018).

Deneylerde kullanılacak sıçanların ilk ağırlıkları ölçülerek kaydedilmiştir. Her grupta 10 sıçan olacak şekilde sıçanlar üçerli (2 kafes) ve dörtlü (1 kafes) olarak kafeslere yerleştirilmiştir. Deney süresince hayvanların genel durumları günlük olarak kontrol edilmiştir. Deneyin başlangıcında her bir sıçan başına 10 g/gün olacak şekilde yem hesabı yapılmıştır. Buna göre; 4 sıçan olan kafese 40 g, 3 sıçan olan kafese ise 30 g yem bırakılmıştır. Sıçanların vücut ağırlıkları haftada 1 kez aynı gün ve aynı saatte olmak üzere ölçülüp kaydedilerek, verilen ilaçların dozları sıçan ağırlıklarına göre ayarlanmıştır.

Kontrol grubu (K): 10 hafta herhangi bir ilaca maruz kalmayan grup (n=10)

Hipotiroid grup (HT): 10 hafta boyunca gastrik gavaj yoluyla 6 mg/kg/vücut ağırlığı PTU ile hipotiroidizm oluşturulan grup (n=10)

Tedavi grubu (T): 4 hafta boyunca gastrik gavaj yoluyla 6 mg/kg/vücut ağırlığı PTU ile 6 hafta boyunca gastrik gavaj yoluyla 10 µg/kg/gün L-T4 uygulanan grup (n=10)

Normal+Levotiroksin grup (LT): Sağlıklı sıçanlara 10 hafta boyunca gastrik gavaj yoluyla 10 µg/kg/gün L-T4 uygulanan grup (n=10)

4.1 Deney Hayvanlarına Uygulanan İşlemler

10 haftalık ilaç uygulaması sonucunda deney gruplarındaki sıçanların ağırlıkları kaydedilerek aşağıdaki deney prosedürü uygulanmıştır.

1. Sıçanlara intraperitoneal 100 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin anestezisi uygulanmıştır (Flecknell, 2009).

2. Anestezi altındaki sıçanların kalp sağ ventrikülünden kan alınması ile sıçanlar öldürülmüştür (Baysal vd., 2017).
3. Sıçanlara ait kan örnekleri 4°C’de 24 saat bekletildikten sonra 1500 x g’de 10 dakika santrifüj edilmiştir (Møller vd., 2016).
4. Santrifüj sonrası kanların serum kısımları; T3, T4, TSH, Testosteron, FSH, LH, Inhibin-B, SHBG seviyelerine bakılmak üzere -20°C’de saklanmıştır. T3, T4, TSH, Testosteron, FSH, LH, Inhibin-B ve SHBG seviyelerinin belirlenmesi için gerekli deneysel çalışmalar, ticari ELISA kitlerde belirlenen prosedür koşullarına uygun olarak yapılmıştır.
5. Sıçanların sağ ventriküllerinden kan alınmasını takiben sol testis ve sol epididimis dokuları alınarak fosfat tampon solüsyonu (8 g/L NaCl, 0,2 g/L KCl, 0,2 g/L KH₂PO₄, 1.14 g/L Na₂HPO₄, pH 7,4) ile yıkanarak kan ve diğer kirliliklerden arındırılmıştır. Ardından sağ testis ve sağ epididimis ağırlıkları kaydedilmiştir. Bu değerler, sıçanların bağıl testis/epididimis oranlarının hesaplanmasında kullanılmıştır.
6. Sol testis dokuları MDA ve GSH seviyelerine bakılmak üzere -20°C’de saklanmıştır. MDA ve GSH seviyelerinin belirlenmesi için gerekli deneysel çalışmalar, HPLC prosedür koşullarına uygun olarak yapılmıştır.
7. Sıçanlara ait tiroid ve sağ testis dokuları fosfat tamponlu salin (PBS) ile temizlendikten sonra histopatolojik inceleme amacıyla %10’luk formalin çözeltisine konularak 48 saat boyunca fikse edilmiştir. Fiksasyon işleminin ardından doku örnekleri, fiksatifin çökmesini önlemek amacıyla 3-4 saat boyunca çeşme suyunda yıkanmıştır. Yıkanan dokular sırasıyla %70, %80, %90 ve %96’lık alkol serilerinin her birinde 45 dk bekletilerek dehidrate edilmiştir. Dehidratasyon işlemini takiben örnekler şeffaflaştırma için iki kez 20 dk süreyle ksilolde bekletilmiştir. Şeffaflaştırılan dokular etüvde 65°C’de eritilmiş parafinlere alınarak her biri 60 dk süreyle üç farklı parafinde tutulmuştur. Parafinleme işlemi tamamlanan dokular, parafin içeren kasetlere yerleştirilerek bloklanıp kesit alınabilir hale getirilmiştir.

Kesit alma işleminde kullanılacak mikrotom bıçağı buzdolabında soğutulduktan sonra, mikrotom aracılığıyla her bir dokudan 5 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Alınan kesitler 45°C’deki su banyosunda açılarak temiz lamalar üzerine yerleştirilmiştir ve ardından etüvde 1 saat boyunca bekletilmiştir. Lamlar 1’er saat boyunca iki ayrı ksilolde tutulup deparafinizasyonları gerçekleştirildikten sonra boyama aşamasına geçilmiştir. Boyama işlemi için hematoksin-eosin (H&E) yöntemi kullanılmıştır. Deparafinizasyonu tamamlanmış kesitler sırasıyla %96, %90, %80, %70’lik alkol

çözeltilerinde ve ardından distile suda 5'er dk bekletilmiştir. Daha sonra kesitler, hematoksilin ile 2 dk, eosin ile 10 dk boyanmıştır. Fazla boya çeşme suyu ile uzaklaştırıldıktan sonra, kesitler hızla alkol serilerinden geçirilerek yeniden dehidrate edilmiştir. İki ayrı ksilolde 30'ar dk bekletilen dokular şeffaflaştırılarak entellan ile kapatılmıştır. Hazırlanan preparatlar Olympus BH-2 ışık mikroskobu ile incelenerek, tüm doku örneklerinin Olympus DP-70 dijital kamera kullanılarak fotoğrafları çekilmiştir.

8. Sağ epididimisin kauda dokuları sperm morfolojisi ve sperm motilitesinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Sperm sayısı, motilite ve morfolojisi sperm parametre analizlerinde kullanılan Sperm Class Analyzer® cihazında gerçekleştirilmiştir. Sperm Class Analyzer® cihazı sperm örneklerini nicel olarak analiz etmek amacıyla geliştirilmiş bilgisayar destekli bir otomatik sperm analiz sistemidir. Sıçanların sağ epididimisi, bovin serum albümin (4 mg/ml) ve Hepes (5,7 mg/ml) içeren pH 7.4 ve 37°C sıcaklığındaki 10 ml Ham-F10 ortamında sperm açığa çıkması için parçalanmıştır. Ardından spermlerin serbest bırakılması için 37°C' 10 dk süreyle bekletilmiştir. Epididimis dokusu ortamdan çıkarılarak sperm süspansiyonu; sperm sayısı, sperm motilite ve morfolojisinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır.

4.1.1 Sperm konsantrasyonunun ve motilitesinin değerlendirilmesi

Sperm konsantrasyonu ve motilitesinin değerlendirilmesi FluoCount kiti kullanılarak yapılmıştır. 100 µl sperm süspansiyonu 50 µl fosfat tamponu ile karıştırılarak 5 dk 37°C'de bekletilmiştir. Aynı bir vialde 250 µl fosfat tamponu ve 1 µl FluoCount çözeltisi ilave edilerek 5 dk 37°C'de bekletilmiştir. Fosfat tamponu ve sperm süspansiyonu karışımının 50 µl'si 250 µl fosfat tamponu ve 1 µl FluoCount çözeltisi karışımına ilave edilerek bu karışım da 5 dk 37°C'de bekletilmiştir. Süre sonunda Sperm Class Analyzer® sisteminde 200 sperm sayısına ulaşarak sperm sayısı ve motilitesi belirlenmiştir (Omolaoye vd., 2018; van der Horst vd., 2011)

4.1.2 Sperm morfolojisinin değerlendirilmesi

Sperm bulutunun 5 µl'si lama alınarak temiz başka bir lam yardımıyla 45°lik açı olacak şekilde yayılmıştır. Lamlar oda sıcaklığında kurumaya bırakıldıktan sonra 1 dakika boyunca yatay bir şekilde SpermBlue® solüsyonu ile muamele edilmiştir. Lamlar fazla boyadan arındırılmak için 5-10 saniye yatay bir şekilde distile su içerisine bırakılarak yıkanmıştır. Slaytlar sperm morfolojisini analiz etmek için kurumaya bırakılmıştır. (Baysal vd., 2017; Omolaoye vd., 2018; van der Horst vd., 2011). Sperm Class Analyzer® kontrol bilgisayarına bağlı 37°C'ye ısıtılmış

tablada faz kontrast mikroskobunda 100 x objektif ve mavi lens kullanılarak slaytlar incelenmiştir. Hayvan başına 200 sperm analiz edilmiştir. Morfolojik anormallikler, baş morfolojisi (muz şeklinde, eğik boyunlu veya başsız), kuyruk morfolojisi (eğik veya kırık) ve hem baş hem kuyruk morfolojisine sahip 3 kategoriye sınıflandırılmıştır (Fernandez vd., 2011).

4.1.3 ELISA kit prosedürü

Sıçan kanlarının serum kısımları; T3, T4, TSH, Testosteron, FSH, LH, Inhibin-B, SHBG seviyelerine bakılmak üzere -20°C'de saklanmıştır. Kit prosedürünün uygulanacağı günde serum örnekleri oda sıcaklığına getirilerek deneye başlanmıştır.

T3, T4, TSH ve SHBG hormonları için ELISA kit prosedürü (Cusabio Technology LLC, Houston, TX, ABD) protokole göre uygulandı. Standart ve test örnekleri hedef hormonlara karşı antikorlarla kaplanmış 96 kuyulu bir mikropalakaya yerleştirildi ve 37°C'de 60 dakika boyunca konjugat tamponu ile inkübe edildi. Kuyucuklar yıkandıktan sonra enzime konjuge sekonder antikorlar eklendi ve 37°C'de 30 dakika boyunca reaksiyon gerçekleşmesi için inkübasyona bırakıldı. Kuyucuklara substrat eklendikten sonra 37°C'de 15 dakika tekrar bir inkübasyon gerçekleştirildi, ardından her kuyucuğa durdurma solüsyonu eklendi. Örneklerin absorbansları 450 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü ve düzeltme dalga boyu 540 nm'ye ayarlandı.

Testosteron, LH ve Inhibin-B hormonları için ELISA kit prosedürü (Cusabio Technology LLC, Houston, TX, ABD) protokole göre uygulandı. Standart ve test örnekleri hedef hormonlara karşı antikorlarla kaplanmış 96 kuyulu bir mikropalakaya yerleştirildi ve 37 ° C'de 60 dakika boyunca konjugat tamponu ve enzime konjuge sekonder antikorlar ile inkübe edildi. Kuyucuklar yıkandıktan sonra her kuyucuğa substrat eklenerek 37°C'de 15 dakika inkübasyona bırakıldı ardından her kuyucuğa durdurma solüsyonu eklendi. Örneklerin absorbansları 450 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü ve düzeltme dalga boyu 540 nm'ye ayarlandı.

FSH hormonu için ELISA kit prosedürü (Cusabio Technology LLC, Houston, TX, ABD) protokole göre uygulandı. Standart ve test örnekleri hedef hormonlara karşı antikorlarla kaplanmış 96 kuyulu bir mikropalakaya yerleştirildi ve 37 ° C'de 120 dakika inkübasyona bırakıldı. Her kuyucuk yıkama yapılmaksızın boşaltılarak 37 ° C'de 60 dakika biotin-antikor ile inkübe edildi. Kuyucuklar yıkanarak enzime konjuge sekonder antikorlar eklendi ve 37°C'de 60 dakika boyunca reaksiyon gerçekleşmesi için inkübasyona bırakıldı. Kuyucuklara tekrar yıkama işlemi yapılarak her kuyucuğa substrat eklendi ve 37°C'de 15 dakika inkübasyona bırakıldı ardından her kuyucuğa durdurma solüsyonu eklendi. Örneklerin absorbansları 450 nm'de spektrofotometrik olarak ölçüldü ve düzeltme dalga boyu 540 nm'ye ayarlandı.

4.1.4 HPLC prosedürü

Sıçanların sol testis dokuları MDA ve GSH seviyelerine bakılmak üzere -20°C’de saklanmıştır. HPLC prosedürünün uygulanacağı günde serum örnekleri oda sıcaklığına getirilerek deneye başlanmıştır.

4.1.4.1 Doku homojenatı hazırlanması

Her bir sıçana ait testis dokuları tartılıp 1:10 oranında fosfat tampon solüsyonu (8 g/L NaCl, 0,2 g/L KCl, 0,2 g/L KH₂PO₄, 1.14 g/L Na₂HPO₄, pH 7,4) ile seyreltilerek hazırlanmıştır. Ardından doku örnekleri 1 dakika boyunca vortekslenerek, 10 dakika 10.000 x g hızında santrifüj edilmiştir (Jîtcă vd., 2021). Santrifüj sonrası üstteki sıvı kısım toplanarak MDA ve GSH analizinde kullanılmak üzere -20°C’de saklanmıştır.

4.1.4.2 MDA tayini

Analize başlamadan önce doku homojenatları oda sıcaklığına getirilmiştir. Oda sıcaklığına getirilen doku homojenatları 14.000 rpm hızında 4°C’de 30 dk boyunca santrifüj edilmiştir. Her bir numuneden 250 µl süpernatant alınarak üzerine, alkali hidrolizin gerçekleşmesi için 50 µl 6 N NaOH eklenip 65°C etüvde 35 dk inkübasyona bırakılmıştır. Alkali hidroliz gerçekleştikten sonra çözeltilerin 50 µl derişik perklorik asit ve 300 µl TCA çözeltisi eklenerek vortekslenmiştir ve bu esnadan bulanıklık gözlenmiştir. Bulanıklık oluşan çözeltiler 14.000 rpm hızında 4°C’de 30 dk boyunca santrifüj edilmiştir. HPLC viallerine Türev reaktifi olan DNPH konarak üzerine santrifüj sonrası numuneler eklenmiştir. MDA türevlendirilmesinden sonra MDA’nın kromatografik ayrımı; C18 ters faz kolonu ve su (A) ve asetonnitrilden (B) oluşan hareketli bir faz kullanılarak değerlendirilmiştir. HPLC analizinde kullanılan parametreler Tablo 4.1’de ve elüsyon gradyanı Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1

MDA tayini HPLC parametreleri

Akış hızı	0.6 ml/dk
Kolon sıcaklığı	40 °C
Enjeksiyon hacmi	10 µL
Maksimum basınç	400 bar
Elüsyon yöntemi	Gradient
Dedeksiyon dalga boyu (λ)	310 nm
Dedektör türü	DAD
Alıkonma süresi	7.958 ± 0.05 dk

Tablo 4.2**MDA tayini elüsyon gradyanı**

Zaman (dk)	Parametre
1.00	A:70.0% B:30.0%
9.00	A:62.0% B:38.0%
9.10	A:20.0% B:80.0%
10.70	Akış: 0.6 ml/dk
11.10	A:20.0% B:80.0%
11.20	A:70.0% B:30.0%
11.60	Akış: 1ml/dk
12.50	Akış: 0.6 ml/dk

A: Su, B: Asetonitril

4.1.4.3 GSH tayini

Analize başlamadan önce doku homojenatları oda sıcaklığına getirilmiştir. Oda sıcaklığına getirilen doku homojenatları 14.000 rpm hızında 4°C’de 30 dk boyunca santrifüj edilmiştir. Her bir numuneden 250 µl süpernatant alınarak üzerine 250 µl TCA çözeltisi eklenerek vortekslenmiştir. Bu esnada bulanıklık meydana gelmiştir. Çözeltiler tekrardan 14.000 rpm hızında 4°C’de 30 dk boyunca santrifüj edilmiştir. Her bir numunenin süpernatant kısmından 400 µl alınarak HPLC viallerine aktarılmıştır. HPLC analizi sırasında türevlendirme işlemi cihaz tarafından otomatik olarak yapılmıştır. GSH’ın kromatografik ayrımı, C18 ters faz kolonu ve su (A) ve metanolden (B) oluşan hareketli bir faz kullanılarak değerlendirilmiştir. HPLC analizinde kullanılan parametreler Tablo 4.3’te ve elüsyon gradyanı Tablo 4.4’te gösterilmiştir.

Tablo 4.3**GSH tayini HPLC parametreleri**

Akış hızı	0.6 ml/dk
Kolon sıcaklığı	35 °C
Enjeksiyon hacmi	4 µL
Maksimum basınç	350 bar
Elüsyon yöntemi	Gradient
Dedektör türü	FLD
Alıkonma süresi	6.481 ± 0.06 dk

Tablo 4.4**GSH tayini elüsyon gradyanı**

Zaman (dk)	Parametre
0.00	A:60.0% B:40.0%
7.20	A:6.0% B:94.0%
7.50	A:0.0% B:100.0%
9.50	A:60.0% B:40.0%
9.80	A:60.0% B:40.0%

A: Su, B: Metanol

4.1.5 İstatistiksel analiz

Değerler $\pm$ standart sapma ile ifade edilmiştir. İstatistiksel analizler IBM SPSS Statistics 27.0 (IBM Corporation- International Business Machines Corporation of Armonk, New York, ABD) yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Değişkenlerin normallik dağılımını değerlendirmek için Shapiro-Wilk testi uygulanmıştır. Deney grupları arasındaki farklılıkların anlamlılığını belirlemek için Levene testi ile varyans homojenliği değerlendirilmiştir. Bağımsız gruplarda ikiden fazla grubu karşılaştırmak için ANOVA (Tek Yönlü Varyans Analizi) testi kullanılmıştır. ANOVA testi istatistiksel olarak anlamlı olduğunda, post hoc Tukey testi uygulanmıştır. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Varyans homojenliği sağlanmadığı durumlarda ANOVA Welch değeri göz önünde bulundurularak Games-Howell testi uygulanmıştır. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

5 BULGULAR ve TARTIŞMALAR

5.1 Vücut Ağırlıklarının ve Bağlı Organ Ağırlıklarının Değerlendirilmesi

Hayvan çalışmalarında, vücut ağırlığı ile ilaç toksisitesi arasındaki ilişki genellikle doğrusal olmakla birlikte ilaç türüne, uygulama yoluna ve organizmanın cinsiyetine göre değişebilir, bu da vücut ağırlığının tek başına toksisitenin güvenilir bir belirleyicisi olmadığını göstermektedir (Lamanna ve Hart, 1968).

Bu çalışmada da hipotiroidizm modeli oluşturulan grupta, kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma elde edilmiştir. Deneysel prosedürün başlangıç ve bitişi arasında geçen süre zarfında kontrol grubu ağırlığında hipotiroid gruba kıyasla bir farklılık gözlenmemiştir. Hipotiroid grubun vücut ağırlığında %10,5 oranında bir azalma hesaplanmıştır. PTU tedavisi tipik olarak vücut ağırlığında önemli bir azalmaya neden olur. Bu durum, PTU ile indüklenen hipotiroidizmin kontrol gruplarına kıyasla vücut ağırlığında belirgin bir azalmaya yol açtığı sıçan ve kobay kullanılan çok sayıda çalışmada gözlemlenmiştir (El-Tantawi ve Abo-Zeid, 2019; Lara vd., 2020; Tarn vd., 1998; Park ve Lee, 2021)

Vücut ağırlığındaki azalmaya genellikle T3 ve T4 gibi tiroid hormonlarının seviyelerinde azalma ve TSH seviyelerinde artış eşlik etmektedir. Bu hormonal değişiklikler hipotiroidizmle ilişkili metabolik yavaşlamaya ve büyüme hızının azalmasına katkıda bulunmakta ve vücut ağırlığı etkilenmektedir (Kim,2014; Xu vd., 2017; Tarn vd., 1998; Hashem vd., 2016; Sengupta ve Dutta, 2013).

Bu sonuçlar, 10 hafta boyunca PTU ilacına maruz kalan HT grubundaki sıçanlarda vücut ağırlığı parametresi açısından hipotiroidizmin etkilerinin taklit edildiğini desteklemektedir.

Hipotiroidizm tedavisinde kullanılan L-T4 uzun süreli kullanımda metabolizma dengesizlikleri ve iştah artışı ile ilişkilendirilmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda; L-T4 tedavisinde başlangıçta sıvı kaybına bağlı kilo kaybının ardından yağ kütlelerinde artış meydana geldiği gözlenmiştir (Hashem vd., 2016). Bu çalışmada da 6 hafta boyunca L-T4 ile tedavi edilen grupta; deneysel prosedürün başlangıcında kaydedilen vücut ağırlığı ile deneyin bitişinde kaydedilen vücut ağırlığında %6,46 oranında bir artış hesaplanmıştır. 10 hafta boyunca sadece L-T4'e maruz kalan sıçanlarda ise kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık elde edilmemiştir, kontrol ve LT grubundaki sıçanların vücut ağırlıkları ortalaması birbirine çok yakın değerlerdedir. LT grubu suçanlarda başlangıç ağırlıklarına göre %14,6 oranında bir artış gözlenmiştir. Bu durum L-T4'ün vücut ağırlığı artışına sebep olduğunu desteklemektedir.

Bağıl testis ve epididimin ağırlıklarındaki değişiklikler üreme sağlığındaki değişikliklere işaret etmektedir. Örneğin, arsenik, akrilamid ve DEHP gibi çeşitli toksik maddelere maruz kalmayı içeren çalışmalarda görüldüğü gibi, azalmış ağırlıklar genellikle bozulmuş spermatogenez ve düşük sperm kalitesi ile ilişkilidir. Bu durum da sperm morfolojisi ve motilitesindeki bozulmaları da yansıtabilmektedir (Zhou vd., 2018; Li vd, 2012; Kalaivani vd., 2018; Liping vd., 2010; Kim vd., 2012; Fernandes vd., 2012).

Bu ağırlıklardaki değişiklikler hormonal seviyelerdeki ve üreme organlarının yapısal bütünlüğündeki değişiklikleri yansıtabilir. Örneğin, bazı kimyasallara maruz kalmak testosteron seviyelerinin düşmesine ve histopatolojik değişikliklere yol açabilir ve bu değişikliklere genellikle organ ağırlıklarının azalması eşlik eder (Reddy, 2016; Agarwal vd., 1986).

Paiva ve ekibinin yaptığı bir çalışmada; sıçanlarda indüklenen hipotiroidizm sonrasında testis ve epididimis ağırlıklarında anlamlı farklılıklar olmadığı bildirilmiştir (Paiva vd., 2024). Bu çalışma kapsamında da gruplar arasında; bağıl testis ağırlığı değişmemiş, bağıl epididimis ağırlıkları arasında ise kontrole göre anlamlı farklılıklar görülmüştür. PTU tedavisinin epididimis ağırlığında azalmaya yol açtığı çeşitli hayvan çalışmalarında da gözlenmiştir (Tarn vd., 1998; Kim, 2014).

Sadece L-T4 uygulanan ve L-T4 ile tedavi edilen grupta kontrol grubuna kıyasla bağıl epididimis ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir. L-T4 tedavisi, özellikle diyabetle ve tiroid bozukluklarında, bağıl epididimis ağırlığında azalmaya ve önemli histolojik değişikliklere yol açmıştır. Bu bulgular, tiroid hormonu tedavilerinin, özellikle diyabet ve tiroid bozukluklarının birlikte görüldüğü durumlarda, erkek üreme sağlığı üzerindeki potansiyel etkisini gösteren bir işaret olarak düşünülmüştür (Korejo vd., 2016).

Gruplara ait vücut ağırlıkları ve bağıl testis ve epididimis ağırlıkları Tablo 5.1’de gösterilmiştir.

Tablo 5.1*Gruplara ait vücut ağırlıkları ve bağıl testis ve epididimis ağırlıkları*

Deney Grupları	Vücut ağırlığı (g)	Bağıl testis ağırlığı (g/100 g vücut ağırlığı)	Bağıl epididimis ağırlığı (g/100 g vücut ağırlığı)
K	403 ±25,00	0,39 ±0,01	0,18 ±0,009
HT	304 ±9,00 (**)	0,38 ±0,04	0,15 ±0,01 (*)
T	356 ±21,00 (**,++)	0,38 ±0,02	0,16 ±0,01 (*)
LT	402 ±8,00 (++)	0,37 ±0,04	0,16 ±0,008 (*)

K: Kontrol grubu; HT: 6 mg/kg PTU uygulanan grup; T: 6 mg/kg PTU uygulaması ardından 10 µg/kg/gün L-T4 uygulanan grup; LT: 10 µg/kg/gün L-T4 uygulanan grup; Sonuçlar ± standart sapma olarak verilmiştir.

(*) Kontrolden farklı ($p \leq 0,05$)

(**) Kontrolden farklı ($p \leq 0,01$)

5.2 Sperm Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Erkek infertilitesi birçok sebebe bağlıdır ve bunlar altta yatan etiyolojilere göre geniş bir şekilde sınıflandırılabilir. Bunlar arasında vakalar; %2-5 oranında endokrin bozukluklar, %5 oranında sperm taşıma bozuklukları, %65-80 oranında primer testis defektleri ve %10-20 oranında idiyopatik sebeplerden kaynaklıdır. Bunlar dışında genetik ve immünolojik nedenler, çevresel toksinler ve ilaç kullanımı da erkeklerde infertiliteye sebep olmaktadır. (Leslie vd., 2024). Dünya Sağlık Örgütü kılavuzunda belirtildiği üzere sperm konsantrasyonu, motilite ve morfolojisi gibi semen analizinde değerlendirilen parametrelerin erkek fertilitesi değerlendirilmesinde önemli bir rol aldığını söylemek mümkündür. Semen analizi değerlendirilirken bu parametrelerin referans değerleri göz önünde bulundurulmalıdır. Bu değerlerin referans aralığı dışında olması erkeklerde infertiliteye sebep olabilmektedir (Menkveld vd., 2001).

Tiroid hormonlarının erkek üreme sistemi, spermatogenez ve erkek fertilitesi üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Tiroid hormonları temel olarak serum testosteron seviyesini değiştirerek semen kalitesini düzenlemektedir. Sağlıklı bireylerdeki normal testosteron seviyesi spermatogenezini indükleyerek yeterli sperm üretilmesini sağlamaktadır. (Sengupta ve Dutta, 2013).

Testosteron, seminal bileşenlerle birlikte sperm hareketliliği ve sperm morfolojisi gibi semen parametrelerini de düzenlemektedir. Ayrıca tiroid hormonları, erkek üreme sisteminde tek başına veya FSH/LH ile doğrudan etkisini göstererek gonadal gelişim, testosteron üretimi ve spermatogenez üzerinde düzenleyici etkilerde bulunabilir. Böylelikle sperm kalitesi artabilir. Hipotiroidizm durumunda serum testosteron seviyelerinde bir azalma gözlenmektedir ve bu durum azalan sperm kalitesi ile ilişkilidir. (Sengupta ve Dutta, 2013).

Tiroid hormonlarındaki dengesizlik sperm sayısı ve hareketliliğinde azalma ile ilişkilidir. Hipotiroidizm ve hipertiroidizm sperm hareketliliğinin azalmasına ve motil olmayan spermelerin artmasına yol açarak genel semen kalitesini etkileyebilmektedir (Rajender vd., 2011; Abdulhameed, 2023; Vaghela vd., 2016).

Anormal tiroid hormonu seviyeleri, değişen sperm morfolojisi ile de bağlantılıdır. Çalışmalar tiroid fonksiyon bozukluğunun normal sperm morfolojisi yüzdesinde azalmaya yol açabileceğini göstermiştir (Abdulhameed, 2023; Wang, 2018).

Vaghela ve ekibini yaptığı çalışmada; hipotiroid bireylerde sperm konsantrasyonu ve sperm canlılığının önemli ölçüde azaldığı, hareketsiz sperm oranının arttığı ve sperm anomalilerinin görüldüğü gözlenmiştir (Vaghela vd., 2016).

Yetişkin erkek sıçanlarda, PTU ile indüklenen hipotiroidizm sperm sayısını önemli ölçüde etkilememiş, ancak sperm hareketliliğini azaltmış ve anormal ve ölü sperm yüzdesini artırmıştır (Alzerjawi, 2013).

PTU tedavisi genellikle tiroid hormonlarının (T3 ve T4) seviyelerinde azalmaya ve TSH seviyelerinde artışa neden olur. Bu hormonal değişiklikler spermatogenez için çok önemli olan testosteron, FSH ve LH gibi üreme hormonlarını etkileyebilir dolayısıyla da sperm parametreleri etkilenebilmektedir (Al-Saeed ve Al-Rufaei, 2018).

Bu tez çalışması sonuçlarına göre ise PTU ile hipotiroidizm modeli oluşturulan grupta kontrol grubuna kıyasla sperm konsantrasyonu azalmıştır. Bu durum LT uygulanan hipotiroidizm grubunda da aynı şekilde gözlenmiştir. Gruplar arasında sperm motilite değerleri açısından ise PTU ile oluşturulan hipotiroidizm ve LT tedavisi gören hipotiroidizm grubunda azalma eğilimi görülse de istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Gruplara ait sperm parametreleri Tablo 5.2’de yer almaktadır.

Tablo 5.2*Gruplara ait sperm parametreleri*

Deney Grupları	Sperm konsantrasyonları (10⁶/ml)	Motilite (%)
K	6,15 ±1,73	86,78 ±7,21
HT	3,16 ±1,95 (*)	81,58 ±9,78
T	3,31 ±1,41 (*)	81,75 ±6,87
LT	6,81 ±1,10	85,40 ±10,37

K: Kontrol grubu; HT: 6 mg/kg PTU uygulanan grup; T: 6 mg/kg PTU uygulaması ardından 10 µg/kg/gün L-T4 uygulanan grup; LT: 10 µg/kg/gün L-T4 uygulanan grup; Sonuçlar ± standart sapma olarak verilmiştir.

(*) Kontrolde farklı ($p \leq 0,05$).

Krassas ve ekibinin yaptığı bir çalışmada sperm hareketliliği de hipotiroidizmden etkilenmiş, ancak normal erkeklerden alınan örneklerle hipotiroid erkeklerdeki sperm hareketliliği arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür. Sperm morfolojisi ise önemli ölçüde etkilenen tek sperm parametresi olarak gözlenmiştir (Krassas vd., 2008).

Bu çalışmada da kontrol grubu ile HT grubu karşılaştırıldığında; %39,4 oranında anormal sperm morfolojisine sahip olduğu görülmektedir. Anormal sperm açısından kontrol ve HT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunmuştur. HT grubunda gözlenen baş ve kuyruk anomalileri de istatistiksel olarak kontrol grubundan farklılık göstermektedir.

Özellikle kuyruk anomalileri kontrol grubuna göre tüm gruplarda anlamlı artışlar göstermiştir. T ve LT grupları HT grubuna göre daha az oranda anormal sperm içermektedir ve T-HT, T-LT ikili grupları arasında istatistiksel olarak önemli ölçüde anlamlı farklılık görülmektedir. Çoklu anomalilere bakıldığında ise gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir.

L-T4 ile tedavi edilen grupta HT grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli ölçüde anlamlı farklılık görülmektedir. Sadece L-T4 uygulanan grupta anormal sperm oranı istatistiksel olarak HT grubuna kıyasla düşüktür fakat bu değerlerin kontrol grubundaki seviyelere tamamen ulaşmadığı görülmektedir. Bu durum L-T4'ün uzun süreli kullanımının sperm morfolojisi üzerinde toksik etkiler oluşturma potansiyeline sahip olabileceğini düşündürmektedir.

Gruplara ait sperm morfoloji parametreleri Tablo 5.3'te, sperm morfoloji görüntüleri Görsel 5.1'de yer almaktadır.

Tablo 5.3

Gruplara ait sperm morfoloji parametreleri

Deney Grupları	Anormal sperm (%)	Baş anomali (%)	Kuyruk anomali (%)	Çoklu anomali (%)
K	15,82 ±4,10	11,30 ±4,42	3,60 ±1,14	0,92 ±0,37
HT	39,43 ±7,50 (*)	24,20 ±1,45 (*)	13,61 ±4,46 (**)	1,62 ±0,82
T	19,20 ±3,40 (*,+)	11,95 ±2,8 (++)	6,25 ±1,40 (*,+)	1,00 ±0,46 (+)
LT	24,23 ±4,80 (*,+)	14,70 ±4,70 (++)	7,88 ±2,57 (*,+)	1,65 ±1,18

K: Kontrol grubu; HT: 6 mg/kg PTU uygulanan grup; T: 6 mg/kg PTU uygulaması ardından 10 µg/kg/gün L-T4 uygulanan grup; LT: 10 µg/kg/gün L-T4 uygulanan grup; Sonuçlar ± standart sapma olarak verilmiştir.

(*) Kontrolde farklı ($p \leq 0,05$)

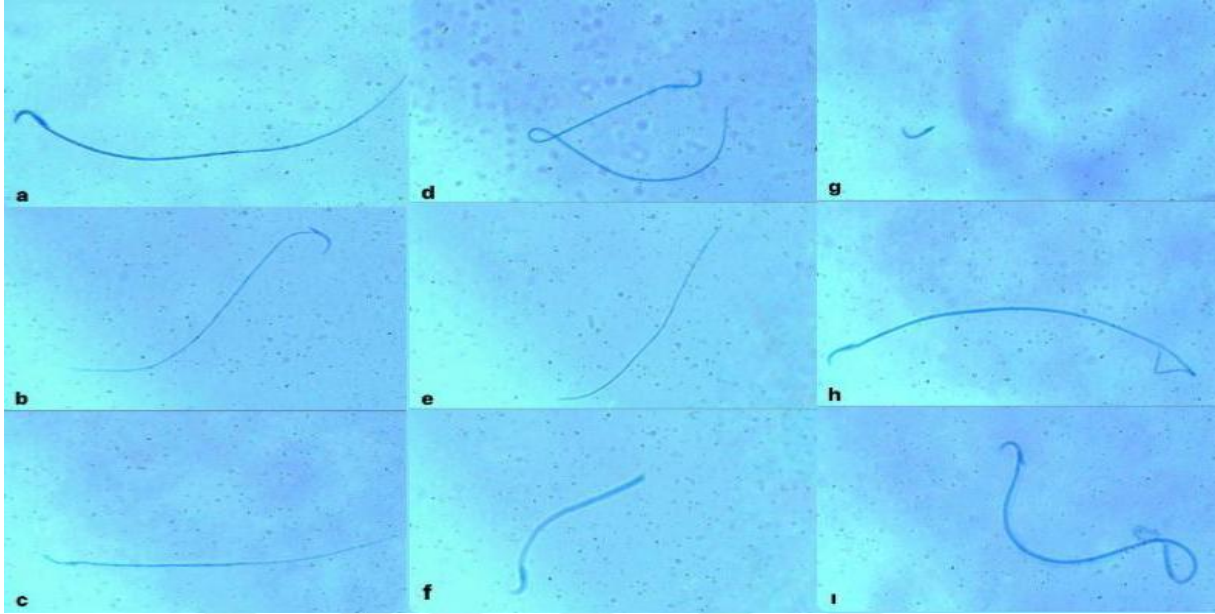
(**) Kontrolde önemli ölçüde farklı ($p \leq 0,01$)

(+): HT grubundan farklı ($p \leq 0,05$)

(++): HT grubundan önemli ölçüde farklı ($p \leq 0,01$)

Görsel 5.1

Sperm morfoloji görüntüleri



a: Normal sperm; b: Kırık boyun; c: Muz şeklinde baş; d: Kıvrımlı kuyruk; e: Kopuk baş; f: Kırık kuyruk; g: Ayrılmış sperm; h: Muz şeklinde baş ve kıvrımlı kuyruk; i: Kırık boyun ve kıvrımlı kuyruk

PTU tarafından indüklenen hipotiroidizm, sperm morfolojisi ve kromatin bütünlüğünde önemli bozulmalara yol açar. Farelerde yapılan çalışmalar, normal sperm morfolojisinde bir azalma ve sperm kromatin yoğunlaşmasında bir artış olduğunu göstermiştir; bunun da doğurganlık potansiyelinin azalmasına yol açabileceği düşünülmüştür (Alipour vd., 2018).

Yenidoğan döneminde PTU ile indüklenen hipotiroidizm Sertoli hücre sayılarını ve sperm üretimini arttırsa da gelişmiş sperm kalitesi ile sonuçlanmamıştır. Buna karşın, domuzlarda PTU tedavisi Sertoli hücre sayılarında ve spermatojenik verimlilikte azalmaya neden olarak türe özgü tepkileri göstermiştir (Hess vd., 1993; Lara vd., 2020). Hipotiroid koşullarda sperm morfolojisi üzerindeki olumsuz etkiler, sperm hücrelerine zarar verebilen ROS'un artan üretimiyle ilişkili olabilir (Alipour vd., 2018).

Araştırmalar, L-T4'ün mitokondriyal fonksiyon, hareketlilik ve DNA bütünlüğü gibi sperm parametreleri üzerindeki faydalı etkilerini vurgularken, sperm konsantrasyonu üzerindeki etkisini doğrudan ele almamaktadır (Condorelli vd., 2019). L-T4'ün erkek doğurganlığındaki rolünü tam olarak anlamak için konsantrasyon da dahil olmak üzere sperm sağlığının tüm yönleri üzerindeki kapsamlı etkilerini araştırmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu çalışma da L-T4 'ün kapsamlı etkilerini araştırma amacıyla yapılmış bir çalışmadır. Bu noktada hem tedavi hem de salt L-T4'ün varsayıldığı gibi sperm parametreleri üzerinde anlamlı etkilerine rastlanmamıştır. Kronik uygulama sonucunda, sperm konsantrasyonu ve sperm

morfolojisinde kontrol grubuna göre azalmalar gözlenmiştir. Diğer klinik çalışmalarda da tiroid bozukluklarında indüklenen sperm kalitesindeki düşüşlerden özellikle konsantrasyon ve morfolojinin tedavi ile düzelmediğine değinilmiştir (Wajner vd., 2009).

Bu çalışmada gözlenen sperm kuyruk anormallikleri, öncelikle sperm hareketliliği üzerindeki etkileri nedeniyle erkek infertilitesinin önemli bir göstergesidir. Bu anormallikler genetik mutasyonlardan, yapısal kusurlardan ve protein işlev bozukluklarından kaynaklanabilir ve sperm kuyruğu oluşumunun karmaşıklığını ve doğurganlıktaki kritik rolünü vurgular (Touré vd., 2020; Wilton vd., 1992; Lehti ve Sironen, 2017). Bu faktörleri anlamak, erkek infertilitesini teşhis etmek ve potansiyel olarak tedavi etmek için gereklidir.

5.3 Serum Tiroid Hormon Seviyelerinin Değerlendirilmesi

HPT eksenini, vücutta tiroid fonksiyonlarını düzenleyen karmaşık bir geri bildirim mekanizmasıdır. TRH'nin, ön hipofizdeki tirotroplardan TSH salgılanmasını uyarmasıyla TSH sırayla tiroid foliküler hücrelerini, T4 ve T3 salgılaması için uyarır. Normal tiroid fonksiyonunun genel olarak sürdürülmesi, negatif geri bildirim kontrol sistemine bağlıdır (Pirahanchi vd., 2023). Hipotiroidizm, serumda düşük tiroid hormonları ve yüksek TSH seviyeleri ile karakterize bir durumdur (Hueston, 2001).

Çalışmamızda, kontrol grubuna kıyasla HT grubunda serum T3 ve T4 seviyeleri daha düşüktür. Ayrıca T4 seviyesinde kontrole kıyasla yaklaşık 5,5 kat anlamlı derecede istatistiksel azalma görülmüştür. Bu durum sıçanlarda PTU ile hipotiroidizmin indüklendiğini desteklemektedir önceden yapılan çalışmalarla da örtüşmektedir (Alkalby ve Alzerjawi., 2013; Liman vd., 2022). T ve LT gruplarında, HT grubuna kıyasla T4 seviyesinin istatistiksel olarak anlamlı derecede daha fazla olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Yapılan diğer çalışmalardaki gibi bizim çalışmamızda da hipotiroidizmdeki düşük T3 ve T4 seviyelerinin, L-T4 etkisiyle kontrol grubuna yakın değerlere ulaştığı gözlenmiştir (Liman vd., 2022; Korkmaz vd., 2023). Sadece L-T4'ün uygulandığı gruptaki sıçanlarda da T4 seviyesinin HT grubundaki sıçanlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı gözlenmiştir. Serum T3 seviyesi kontrol grubuna göre T grubunda anlamlı olarak farklı olup ve TSH seviyeleri de HT grubunda kontrole göre anlamlı olarak artarken T grubunda değerler kontrole yaklaşmıştır.

TSH seviyelerindeki değişiklikler T3 ve T4 hormonlarındaki değişikliklerden daha erken gerçekleşmektedir. Bu nedenle TSH seviyelerinin değerlendirilmesi, hipotiroidizm için birinci basamak tarama testidir. Fakat TSH seviyeleri 0,4-4,5 mU/L aralığının dışındaysa, T3 ve T4 seviyeleri değerlendirilmektedir (Pirahanchi vd., 2023). PTU ile indüklenen hipotiroidizm;

serum T3 ve T4 seviyelerinde azalma, TSH seviyelerinde ise artış ile karakterizedir. Bu durum, tiroid disfonksiyonunun ve fizyolojik etkilerinin araştırılmasında faydalı bir model sunmaktadır (Rondeel vd., 1992; Männistö vd., 1979; Frumess ve Larsen, 1975). Bu çalışmada oluşturulan hipotiroidizm modelinde de bu değerler anlamlı olarak değişerek hipotiroidizm modelinin olduğu gösterilmiştir. Bunun yanı sıra L-T4 ile tedavi sonucunda T4 ve TSH değerlerinde anlamlı değişiklikler oluşmuştur. Gruplara ait tiroid hormon seviyeleri Tablo 5.4'te sunulmuştur.

Tablo 5.4

Gruplara ait tiroid hormon seviyeleri

Deney Grupları	T3 (ng/ml)	T4 (ng/ml)	TSH (μIU/ml)
K	2,2 ±0,1	25,5 ±6,9	1,95 ±0,88
HT	1,85 ±0,09 (*)	4,31 ±1,17 (*)	4,09 ±1,84 (*)
T	1,96 ±0,16 (*)	19,34 ±4,64 (+)	2,5 ±0,58
LT	1,98 ±0,25	23,14 ±4,55 (+)	1,35 ±0,54

K: Kontrol grubu; HT: 6 mg/kg PTU uygulanan grup; T: 6 mg/kg PTU uygulaması ardından 10 μg/kg/gün L-T4 uygulanan grup; LT: 10 μg/kg/gün L-T4 uygulanan grup; Sonuçlar ± standart sapma olarak verilmiştir.

(*) Kontrolde farklı ($p \leq 0,05$)

(+) Hipotiroid gruptan farklı ($p \leq 0,05$)

Testiküler fonksiyonların değerlendirilmesi amacıyla serum hormon seviyelerinin değerlendirilmesi yaygın olarak kullanılmaktadır. Spermatogenez süreci HPG askı tarafından düzenlenmektedir (Ramaswamy ve Weinbauer, 2014). HPG aksındaki değişikliklerin değerlendirilmesi spermatogenez süreci ile ilgili önemli veriler sağlamaktadır. Gonadotropinler testis fonksiyonlarının başlıca düzenleyicileridir. Hipotiroid durumlarda rapor edilen dolaşımdaki gonadotropin düzeyleri; değişmeyen LH ve FSH, azalmış LH ve FSH, artmış LH ve FSH, değişmeyen FSH ile azalmış LH ve normal LH ile artmış FSH olarak kategorize edilebilir (Aiceles ve Da Fonte Ramos, 2016; Maran, 2003). Bu farklılıklar, deneylerde kullanılan hayvanların yaşına, hipotiroidizm indüksiyonunun uzunluğu, şiddeti ve şekline (akut veya kronik) ve deneyde kullanılan türe bağlı olarak değişmektedir (Maran, 2003).

Bizim çalışmamızda FSH seviyelerine bakıldığında kontrol grubuna göre HT grubu, T ve LT grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı azalmalar gözlenmiştir. LH seviyelerine

bakıldığında, HT grubu kontrole kıyasla %51,7 oranında azalmış ve bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık gözlenmiştir. Yine LH seviyeleri hem hipotiroidizm oluşturulan sıçanlara verilen hem de tek başına L-T4 ile kontrolden anlamlı olarak düşük değerlerde seyretmiştir. LH seviyesindeki azalma, hipotiroidizm durumunda HPG aksının baskılanarak gonadotropin salınımının azaldığını desteklemektedir. Hipotiroid bireylerde FSH ve LH hormonlarının üretimindeki dengesizlik erkek reproduktif sistemi problemlerine yol açmaktadır (Maran, 2003). Erkeklerde PTU tedavisi, bu çalışmada olduğu gibi farklı çalışmalar ve türler arasında tutarlı olan FSH seviyelerinde önemli bir düşüşe yol açabilmektedir ve dolaşımdaki LH seviyelerinde %30-50 oranında kronik bir azalmaya neden olabilmektedir. Bu azalma genel bir hipofiz disfonksiyonundan değil, gonadotropin sentez kapasitesinin azalması ve değişmiş gonadal geri bildirim mekanizmalarından kaynaklanmaktadır. Ayrıca, PTU testiküler interstisyel hücrelerde 17 β -hidroksisteroid dehidrogenaz gibi enzimlerin aktivitesini azaltarak testosteron üretimini inhibe etmektedir. Bu durum bu çalışmada azalan LH ve T seviyelerini açıklamaktadır (Kirby vd., 1992).

L-T4 tedavisi ile LH ve FSH seviyesinde meydana gelen azalmaların bir miktar iyileştiğini hem erkek hem kadınlarda gösteren çalışmalara rastlanmıştır (Bruni vd., 1975). FSH ve LH seviyeleri hipotiroidizm sırasında genellikle düşük kalmaktadır. Bu, hipotalamus-hipofiz-testis eksenindeki baskılanmadan kaynaklanabilir. Neonatal hipotiroidizmde gonadotropin seviyeleri düşüktür (Krassas ve Pontikides, 2004) ve bu çalışmada olduğu gibi tedavi sonrasında düzelme görülmeyebilir.

Bu çalışmada LH seviyelerini takiben testosteron seviyeleri açısından, kontrol grubu ile HT ve T grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı azalmalar gözlenmiştir. Primer hipotiroidizm genellikle serbest testosteron seviyelerinde bir düşüşe neden olmaktadır. L-T4 tedavisiyle tiroid hormonlarının normale dönmesi söz konusu olursa, serbest testosteron seviyelerini de normal değerlere yükseltebilir (Krassas ve Pontikides, 2004).

Inhibin B seviyelerine bakıldığında, HT grubu kontrole kıyasla %63,5 oranında azalmış ve bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık gözlenmiştir. L-T4 alan hipotiroidizimli sıçanlarda ve sadece L-T4 alanlarda da kontrole göre anlamlı düşük değerlere ulaşılmış fakat hipotiroidizimli sıçanlara göre bu değerler istatistiksel olarak yüksek olarak gözlenmiştir. Inhibin B, erkeklerde Sertoli hücreleri tarafından salgılanmaktadır ve testis fonksiyonlarının bir göstergesidir. Inhibin B seviyesindeki bu azalma hipotiroidizmde sperm parametrelerinin, özellikle de sperm üretimi üzerindeki olumsuz etkilerin meydana gelmesini

desteklemektedir. L-T4 tedavisinin ardından da klinik çalışmalarda inhibin B seviyelerinde azalma ötiroidizm sağlandıktan sonra da gerçekleşmiştir (Ambigapathy vd., 2020).

Hipotiroidizm plazma SHBG seviyelerini azaltır. SHBG, kandaki androjenleri ve östrojenleri yüksek afinite ve özgüllükle bağlayan bir glikoproteindir (Thaler vd., 2015). Düşük SHBG seviyeleri, serumda total testosteron seviyelerinin de düşmesine yol açar, çünkü SHBG testosteronu taşıyan temel proteinlerden biridir. Neonatal hipotiroidizmde SHBG düzeylerindeki azalma, cinsel olgunlaşma ve gelişim sürecini etkileyebilir. Uzun süreli hipotiroidizm, SHBG üretimindeki azalma nedeniyle daha ciddi hormonal dengesizliklere neden olabilir (Krassas ve Perros, 2003). Bu çalışmada SHBG seviyeleri incelendiğinde, HT grubu kontrole kıyasla yaklaşık %74 oranında azalmıştır ve bu iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık gözlenmiştir. Azalmış SHBG seviyeleri kandaki serbest testosteron seviyesinin artmasına ve bağlı testosteron seviyesinin de azalmasına sebep olabilir bu durumda total testosteron seviyelerinde herhangi bir değişiklik görülmeyebilir (Goldman vd., 2017) veya hipotiroidizm, SHBG seviyelerindeki azalma nedeniyle total testosteron seviyelerinde düşüşe yol açabilir (Krassas ve Pontikides, 2004). SHBG'nin azalması, testosteronun taşıma kapasitesini sınırlar ve serumdaki total testosteron konsantrasyonunun azalmasına sebep olur. Bu çalışmada da bu durum gözlenmiştir. Gruplara ait serum hormon seviyeleri tablo 5.5'te gösterilmiştir.

Tablo 5.5

Gruplara ait serum hormon seviyeleri

Deney Grupları	FSH (ng/ml)	LH (mIU/ml)	Testosteron (ng/ml)	SHBG (ng/ml)	Inhibin-B (pg/ml)
K	0,55 ±0,09	28,33 ±4,94	5,56 ±1,11	438,57 ±45,88	126,00 ±30,03
HT	0,37 ±0,11 (**)	13,69 ±3,17 (**)	3,86 ±0,56 (*)	114,15 ±32,01 (*)	46,15 ±15,38 (**)
T	0,28 ±0,07 (**)	19,87 ±4,72 (**,+)	4,13 ±0,44 (*)	276,35 ±26,83 (*,+)	85,25 ±10,87 (**,++)
LT	0,33 ±0,10 (**)	19,96 ±2,04 (**,+)	4,35 ±1,28	290,70 ±87,62 (*,+)	82,98 ±1571 (**,++)

K: Kontrol grubu; HT: 6 mg/kg PTU uygulanan grup; T: 6 mg/kg PTU uygulaması ardından 10 µg/kg/gün L-T4 uygulanan grup; LT: 10 µg/kg/gün L-T4 uygulanan grup; Sonuçlar ± standart sapma olarak verilmiştir.

(*) Kontrolde farklı ($p \leq 0,05$).

(+) Hipotiroid gruptan farklı ($p \leq 0,05$).

(++) Hipotiroid gruptan farklı ($p \leq 0,01$).

5.4 Testiküler GSH ve MDA Seviyelerinin Değerlendirilmesi

Oksidatif stres; reaktif oksijen türleri olarak bilinen oksijen ve oksijen kaynaklı serbest radikaller tarafından indüklenen artan hücresel hasarla ilgili bir durumdur. (Agarwall vd., 2014). ROS, son derece reaktif oksitleyici serbest radikal ajanlardır ve süperoksit anyonları ($O_2^{\bullet}$), hidrojen peroksit (H_2O_2), peroksil ($ROO^{\bullet}$) ve hidroksil ($OH^{\bullet}$) radikallerini içerir. Spermdeki ROS'un başlıca kaynakları seminal plazmadaki aktive edilmiş lökositler ve spermatozoadaki mitokondridir. Çok sayıda kanıt, ROS aracılı sperm hasarının infertilite sorunu yaşayan erkeklerin %30-80'inde infertilite patolojisine önemli bir katkıda bulunduğunu göstermektedir (Bish vd., 2017).

Oksidatif stres, sperm hücresi işlev bozukluğunun başlıca nedenidir ve spermatozoanın yapısal ve işlevsel bütünlüğünün bozulması nedeniyle erkek infertilitesinin etiyolojisine önemli bir katkıda bulunmaktadır. Oksidatif stresin neden olduğu sperm fonksiyonundaki düşüşün kesin mekanizması henüz bilinmemektedir ancak esas olarak aksonemdeki peroksidatif hasara ve hücre içi ATP seviyelerinin azalmasına, ardından lipid membran bileşenlerinin oksidasyonu ve hem nükleer hem de mitokondriyal DNA'nın parçalanması nedeniyle 4-hidroksinonenal ve MDA oluşumuna bağlanmaktadır (Aitken vd., 2012; de Lamirande ve Gagnon, 1992).

Testis dokusundaki GSH seviyesi antioksidan savunmanın bir göstergesidir ve düşük GSH seviyeleri testislerde artan oksidatif stresin bir kanıtı olabilir (Nanda, 2017). Baskol ve ekibinin yaptığı bir çalışmada, hipotiroidizmlı hastalarda tedavi öncesi değişmiş bir antioksidan durumu ve tedavi sonrası iyileşme durumu gözlenmiştir. Ancak, MDA seviyesi azalmış olsa da kontrol seviyelerine eşitlenmemiştir, bu da tiroid profilinin normalleşmesine rağmen oksidatif stresin devam ettiğini göstermektedir (Baskol vd., 2007). Bu nedenle hipotiroidizmle ilişkilendirilen oksidatif stres dikkatli bir şekilde ele alınmalıdır; çünkü hipotiroidizmin tedavisi, genellikle tiroid hormon seviyelerini normal aralıkta tutmayı hedeflemektedir. Bu süreçte hipotiroidizm ve tedavisinde oksidatif stres parametrelerinin uzun vadeli sonuçları da göz önünde bulundurulmalıdır.

Bu çalışmada GSH seviyeleri değerlendirildiğinde HT grubunda kontrole göre anlamlı bir şekilde azalan GSH seviyeleri dikkat çekmektedir. L-T4 ile GSH seviyeleri bir miktar artmış fakat kontrol seviyelerine ulaşmamıştır. MDA seviyelerine bakıldığında ise HT ve T grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmemiştir. L-T4 ile tedavi edilen grup ve sadece L-T4 uygulanan gruplara bakıldığında ise; kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık göstermemişlerdir.

Gruplara ait GSH ve MDA seviyeleri tablo 5.6 ve tablo 5.7’de sunulmuştur.

Tablo 5.6

Gruplara ait GSH seviyeleri

Deney Grupları	GSH (μM)
K	5,03 ±0,68
HT	4,04 ±0,35 (**)
T	4,80 ±0,17
LT	4,85 ±0,38

K: Kontrol grubu; HT: 6 mg/kg PTU uygulanan grup; T: 6 mg/kg PTU uygulaması ardından 10 μg/kg/gün L-T4 uygulanan grup; LT: 10 μg/kg/gün L-T4 uygulanan grup; Sonuçlar ± standart sapma olarak verilmiştir.

(**) Kontrolden farklı ($p \leq 0,05$)

Tablo 5.7

Gruplara ait MDA seviyeleri

Deney Grupları	MDA (μg/ml)
K	9,93 ±1,34
HT	10,21 ±1,31
T	9,65 ±0,57
LT	10,32 ±2,09

K: Kontrol grubu; HT: 6 mg/kg PTU uygulanan grup; T: 6 mg/kg PTU uygulaması ardından 10 μg/kg/gün L-T4 uygulanan grup; LT: 10 μg/kg/gün L-T4 uygulanan grup; Sonuçlar ± standart sapma olarak verilmiştir.

PTU, sıçanlarda oksidatif stres belirteçlerini çift yönlü olarak etkileyebilir. Radyasyona bağlı oksidatif stres gibi bazı durumlarda PTU, GSH seviyelerini artırarak ve MDA seviyelerini azaltarak antioksidan savunmayı güçlendirebilir. Ancak, PTU ile indüklenen hipotiroidizmde, GSH seviyeleri azalırken MDA seviyeleri artar ve bu durum oksidatif stresin arttığını gösterir. Bu etkiler, PTU'nun oksidatif strese karşı koruyucu veya zarar verici rolünün bağlama ve koşullara bağlı olduğunu ortaya koymaktadır. Özellikle hipotiroidizmde, PTU'nun neden olduğu oksidatif stresi yönetmek için ek tedavilerin gerekli olabileceği vurgulanmaktadır (Şener vd., 2006; Hosny vd., 2020; Hermansky vd., 1987).

Bazı çalışmalarda; L-T4, lipid peroksidasyonunun bir belirteci olan MDA seviyelerini düşürerek hipotiroid koşullarında oksidatif stresi azaltmada faydalı bir rol oynuyor gibi görünmektedir. GSH seviyeleri üzerindeki doğrudan etkisi ayrıntılı olarak açıklanmamış olsa da oksidatif streste genel azalma, antioksidan savunmanın sürdürülmesinde potansiyel faydalara işaret etmektedir (Bozbek vd., 2023; Ning vd., 2012; Tellechea, 2020). L-T4'ün GSH ve diğer oksidatif stres belirteçleri üzerindeki etkilerini tam olarak açıklamak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır. Bu çalışmada GSH üzerinde bir miktar artış görülse de anlamlı bir farklılık görülmemiştir.

Diğer çalışmalarda hipotiroid hastalarında L-T4 tedavisi GSH düzeylerini düşürdüğü gözlenirse de bu çalışmada olduğu gibi bunun yerine anlamlı olmayan bir artışa yol açabildiği gözlenmiştir (Marzhiori vd., 2015; Şenat vd., 2024).

5.5 Tiroid ve Testis Dokularının Histolojik Olarak İncelenmesi

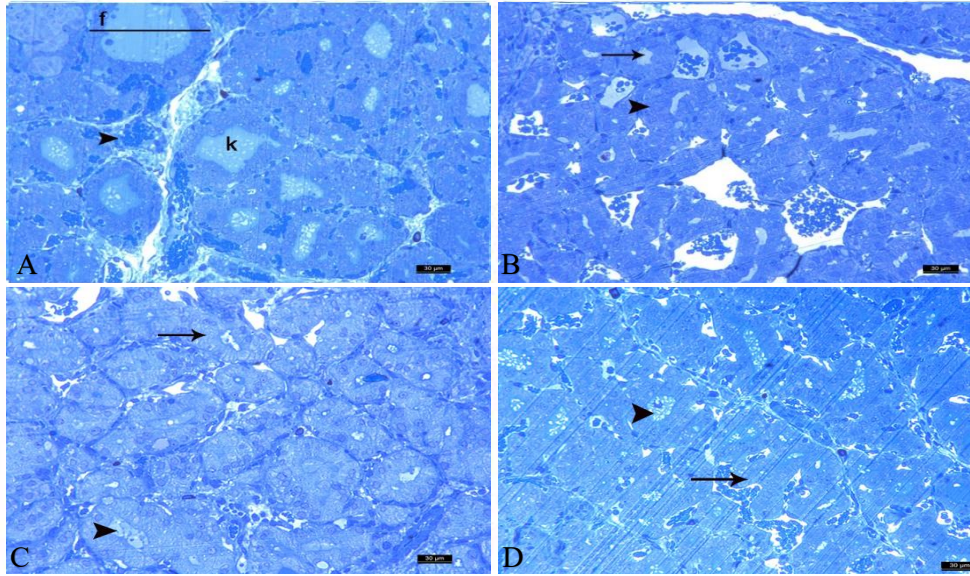
Hipotiroidizm, tiroid bezinin yetersiz hormon üretimiyle ilgili bir durumdur. Tiroid hormonları, testis gelişimi ve fonksiyonu üzerinde kritik bir rol oynayan önemli endokrin faktörlerdir. Tiroid hormon eksikliğinin testis gelişimi ve fizyolojisini olumsuz etkilediği iyi bilinmektedir (Wagner vd., 2009). Çalışmalar, sıçanlarda doğumdan yetişkinliğe kadar indüklenen kronik hipotiroidizmin; testisin gecikmiş olgunlaşması, bozulmuş spermatogenez, germ hücresi dejenerasyonu ve seminifer tübül çapının azalması ile ilişkili olduğu göstermiştir (Francavilla vd., 1991; Simorangkir vd., 1997; Maran ve Aruldas, 2002). Hipotiroidizm, tiroid dokusunda da foliküler kolloidlerde azalma ve foliküler vakuolizasyonun azalması gibi histolojik değişikliklere yol açabilir. (Kumar vd., 2021; Jameson ve De Groot, 2020). Hipotiroidizmin L-T4 ile tedavisi sonrasında genellikle folikül yapılarının düzeldiği ve inflamatuvar hücre özelliklerinin azaldığı gözlenmektedir (Yen, 2019).

Çalışmamızda tiroid dokusunun histolojik değerlendirilmesi sonucunda; kontrol grubundaki sıçanlara ait tiroid doku örneklerinde tiroid folikülleri, kolloid ve kan damarlarının normal olduğu tespit edilmiştir (Görsel 5.2A, Görsel 5.3A). Hipotiroidizmin indüklendiği sıçanlara ait tiroid doku örneklerinde; kolloid azalması ve foliküler epitelyal hücrelerde şişme ve vakuol oluşumu dikkat çekmiştir (Görsel 5.2B, Görsel 5.3B). L-T4 ile tedavi edilen gruptaki sıçanlara ait tiroid dokusunda; kolloidal ve foliküler dejenerasyon gözlenmiştir (Görsel 5.2C) Ayrıca foliküler epitelyal hücrelerde vakuolasyon ve hipertrofi gözlenmiştir (Görsel 5.3C). Sadece L-T4 uygulanan sıçanlara ait tiroid doku örneklerinde de kolloidal ve foliküler dejenerasyon gözlenmiştir (Görsel 5.2D). Ayrıca foliküler epitelyal hücrelerde vakuolasyon ve hiperplazi

dikkat çekmiştir (Görsel 5.3D). L-T4 uygulaması, tiroid dokusunu iyileştirmeye yönelik etkiler göstermiş olsa da tam bir iyileşme sağlayamadığı ve hücresel düzeyde hipertrofi, hiperplazi ve dejenerasyon gibi değişikliklere yol açtığı gözlenmiştir. Gruplara ait tiroid enine kesitleri Görsel 5.2’de, tiroid enine kesitlerinin 100 x büyütülmüş hali Görsel 5.3’te yer almaktadır.

Görsel 5.2

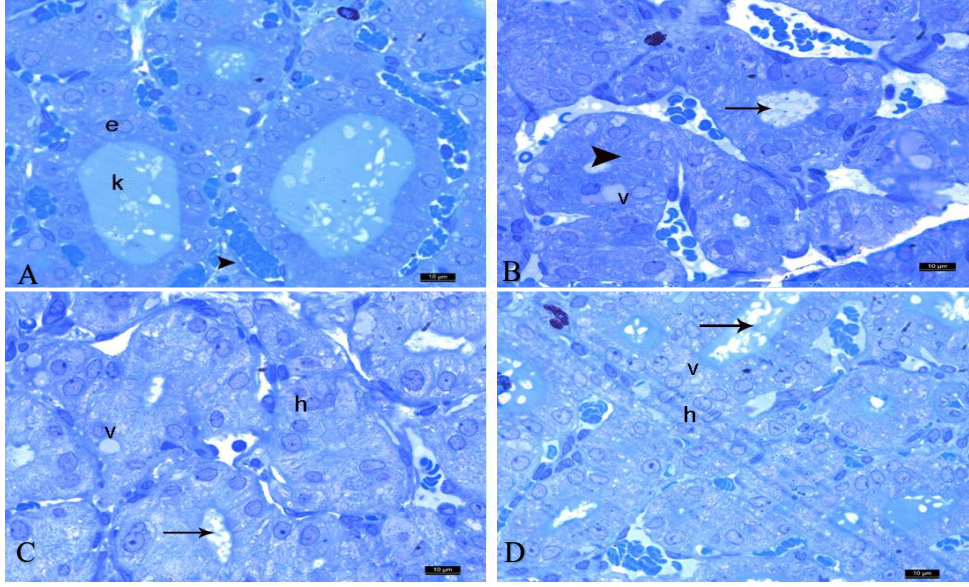
Gruplara ait tiroid enine kesitleri (40x büyütme)



(A) **Kontrol:** Tiroid folikülleri, kolloid ve kan damarlarının normal görünümü (►) (B) **HT:** Kolloid azalması (→) ve foliküller epitelyal hücrelerde şişme (►), (C) **T:** Kolloidal (►) ve foliküler (→) dejenerasyon (D) **LT:** Kolloidal (►) ve foliküler (→) dejenerasyon. **Kısaltmalar:** f: tiroid folikülleri, k: normal görünümlü kolloid, e: foliküler epitelyal hücreler, (Scale abar: 20 µm).

Görsel 5.3

Gruplara ait tiroid enine kesitleri (100x büyütme)



(A) **Kontrol:** Foliküler epitelyal hücrelerinin düzenli görüntüsü. Normal görünümlü kolloid ve kan damarları (▶) (B) **HT:** Kolloid azalması ve dejenerasyon (→) ve foliküller epitelyal hücrelerde şişme (▶) ve vakuolasyon, (C) **T:** Kolloid azalması ve dejenerasyonu (→). Foliküller epitelyal hücrelerde vakuolasyon ve hipertrofi (h) (D) **LT:** Kolloid dejenerasyonu (→), foliküler epitelyal hücrelerde vakuolasyon ve hiperplazi (v) **Kısaltmalar:** f: tiroid folikülleri, k: normal görünümlü kolloid, e: foliküler epitelyal hücreler, v: vakuolasyon (Scale abar: 20 µm).

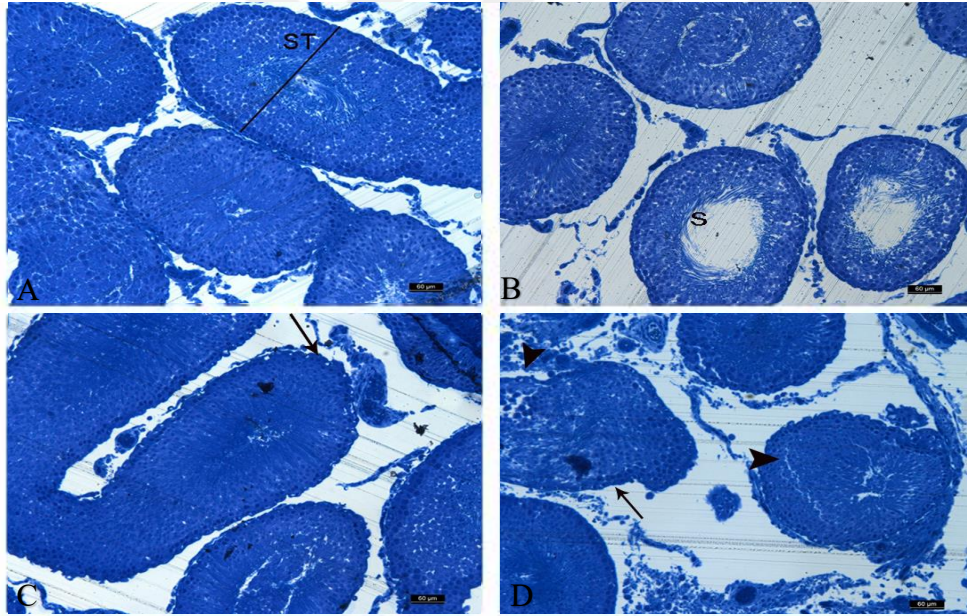
Reproduktif sistemi oluşturan dokuların histolojik olarak değerlendirilmesi, reproduktif toksik etkilerin önemli göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu bağlamda testis dokusunda gözlemlenen patolojik bulgular, reproduktif fonksiyonlardaki bozuklukların bir işareti olarak kabul edilmektedir (Dere vd., 2013).

Hipotiroidizmin indüklendiği sıçanlarda testiküler yapısal anomalileri işaret eden farklı çalışmalar bulunmaktadır (Tahmaz vd., 2002; Sakai vd., 2004; Sahoo vd., 2008; Wagner vd., 2009). Sakai ve ekibinin yaptığı bir çalışmada hipotiroidizmin indüklendiği sıçanlarda testis olgunlaşması tamamlandıktan kısa bir süre sonra testis histoloji incelenmiş ve birçok germ hücrelerinin apoptoza uğradığı, germinal epitellerin incelendiği ve dejenarasyonun ilerleyerek atrofik testisler oluşmasına sebep olduğunu gözlemişlerdir (Sakai vd., 2004). Bizim çalışmamızda da kontrol grubundaki sıçanlara ait testis doku örneklerinde seminifer tübüllerin, germinal epital hücrelerin ve interstisyel hücrelerin organizasyonunun normal olduğu tespit edilmiştir (Görsel 5.4A). Hipotiroidizmin indüklendiği sıçanlara ait testis doku örneklerinde; seminifer tübüllerin genel görünümünde deformasyon ve germinal epitelyal hücre düzensizliği, hücreler arasında vakuol oluşumları ve ayrılma, Sertoli hücrelerinde ileri dejenarasyon ve nekroz gözlenmiştir. Ayrıca sperm üretiminde ileri derecede azalma dikkat çekti (Görsel 5.4B). L-T4 ile tedavi edilen gruptaki sıçanlara ait testis dokusunda; germinal epitelyal hücre düzensizliği

ve hücreler arasında vakuol oluşumları, Sertoli hücrelerinin deformasyonu ve Leydig hücrelerinde şişme ve vakuol oluşumları gözlenmiştir. HT grubunda olduğu gibi bu grupta da sperm üretiminde ileri derecede azalma dikkat çekmiştir (Görsel 5.4C). Sadece L-T4 uygulanan sıçanlara ait testis doku örneklerinde, germinal epitelyal hücrelerde ileri dejenerasyon ve bazı tübüllerde parçalanma tespit edilmiştir. Ayrıca bu grupta da sperm üretiminde azalma gözlenmiştir (Görsel 5.4D). Hipotiroidizm durumunda gözlenen sperm konsantrasyonunda azalma ve sperm morfolojisinde gözlenen anormalliklerin testiküler histopatoloji sonuçlarıyla da örtüştüğü gözlenmiştir. Ayrıca L-T4 ile tedavi edilen grupta azalan sperm konsantrasyonu; sadece L-T4 uygulanan grupta artan anormal morfoloji oranının gözlenmesi de testiküler histopatoloji bulgularıyla desteklenmiştir. Gruplara ait tiroid enine kesitleri Görsel 5.4'te, gruplara ait testis kesitlerinin yüksek büyütme seminifer tübül yapısı Görsel 5.5'te yer almaktadır.

Görsel 5.4

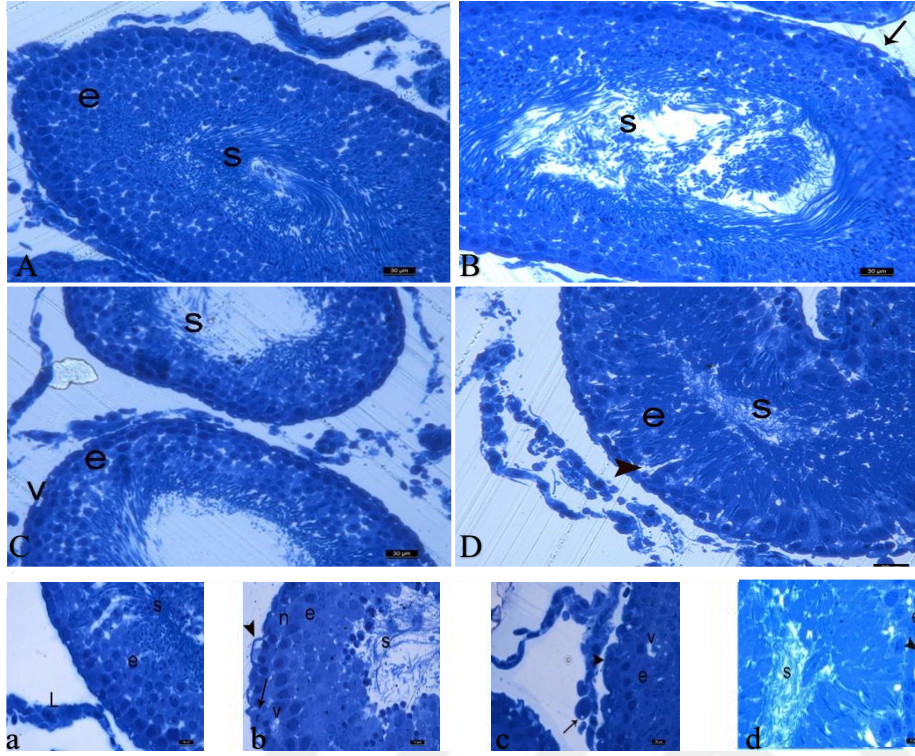
Gruplara ait testis enine kesitleri (20x büyütme)



(A) **Kontrol:** Germinal epitel hücreleri, interstisyel hücreler ve lümende normal miktarda spermatozoa içeren seminifer tübülün normal görünümü (B) **HT:** Sperm üretiminde ileri derecede azalma (s) (C) **T:** Seminifer tübüllerin genel görünümünde ve peritübüler hücrelerde deformasyon (→) (D) **LT:** Germinal epitelyal hücrelerde ileri derecede deformasyon (→) ve bazı tübüllerde parçalanma (▶). (Scale abar: 20 µm).

Görsel 5.5

Gruplara ait testis enine kesitleri (40x ve 100x büyütme)



40x büyütme; (A) **Kontrol:** Düzenli sıralanan germinal epitelyal hücreler (e) ve sperm hücrelerinin (s) normal görüntüsü (B) **HT:** Sperm üretiminde azalma (s), peritübüler hücrelerde ayrılma (→) (C) **T:** Sperm üretiminde ileri derecede azalma (s), germinal epitelyal hücrelerde düzensizlik (e) ve vakuolasyon (v) (D) **LT:** Germinal epitelyal hücrelerde düzensizlik (e) ve dejenerasyon (▶), sperm üretiminde azalma (s).

100x büyütme; (a) **Kontrol:** Düzenli sıralanan germinal epitelyal hücreler (e), normal görünümlü spermler (s) ve Leydig hücreleri (L) (b) **HT:** Germinal epitelyal hücrelerde düzensizlik (e), vakuolasyon (v) ve ayrılma (▶). Sertoli hücrelerinde ileri dejenerasyon (→) ve nekroz (n). Sperm üretiminde ileri derecede azalma (s) (c) **T:** Germinal epitelyal hücrelerde düzensizlik (e) ve vakuolasyon V. Sertoli hücre deformasyonu (▶). Leydig hücrelerinde şişme ve vakuolasyon (→) (d) **LT:** Germinal epitelyal hücrelerde düzensizlik ve dejenerasyon (e) ve parçalanma (▶), sperm üretiminde azalma (s). (Scale abar: 20 µm).

6 SONUÇLAR ve ÖNERİLER

6.1 Sonuçlar

Hipotiroidizmin son yıllarda artan prevalansı hakkında bilimsel basında ve popüler dergilerde birçok makale yayınlanmıştır. Bu yayınları destekler nitelikte DSÖ'nün verileri, dünya genelinde hipotiroidizmin yaygınlaştığına dikkat çekmiştir. Hipotiroidizm prevalansı coğrafi bölgeler ve bu bölgelerdeki iyot eksikliği durumuna bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Hipotiroidizm, dünya nüfusunun yaklaşık %4-10'unu etkilemektedir ve bazı çalışmalar subklinik hipotiroidizmin %5-15 oranında insanları etkilediğini göstermektedir. Bu oranların özellikle iyot eksikliğinin yaygın olduğu bölgelerde daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Klein ve Danzi, 2007; Ochs vd., 2008; Razvi vd., 2008).

Günümüzde beslenme tarzı, iyot eksikliği durumu ve otoimmün hastalıkların artışıyla birlikte hipotiroidizm vakalarının görülme sıklığı artmıştır. Hipotiroidizm, sadece endokrin bir bozukluk değil aynı zamanda metabolik hastalıklar ve birçok sistemik hastalık için önemli bir risk faktörü olarak görülmektedir (Biondi ve Cooper, 2008; Peeters, 2017; Chaker vd., 2017).

Bununla birlikte, son yıllarda erkek reproduktif sistemiyle giderek artan sayıda çalışma, hipotiroidizmin erkek reproduktif sistem üzerindeki olumsuz etkilerini vurgulamaktadır. Hipotiroidizmin testis fonksiyonlarını bozarak sperm kalitesini azalttığı ve bunun sonucunda infertiliteye sebep olduğu birçok çalışma mevcuttur (Krassas vd., 2010; Ambigapathy vd., 2020; Trokoudes vd., 2006). Tiroid hormon seviyelerindeki dengesizlik; sperm motilitesi ve morfolojisinde bozulmalar ve düşük testosteron seviyeleri ile ilişkilendirilmiştir (Bruni vd., 1975). Bu durum, hipotiroidizmin erkek reproduktif sistem üzerindeki önemini vurgulamaktadır. Bu çalışmada da PTU ile hipotiroidizm modeli oluşturularak, bu modelin hem güvenilirliği hem de hipotiroidizmin erkek reproduktif sistem üzerindeki salt etkileri detaylı ve standart biyogöstergelerle araştırılmıştır.

Hipotiroidizm tedavisinde ilk seçenek olarak kullanılan L-T4, biyokimyasal ve fizyolojik olarak doğal tiroid hormonlarından ayırt edilemeyen sentetik bir T4 hormonudur ve vücutta doğal hormon eksikliği durumunda kullanılmaktadır (Safaraz, 2004). İlk kez 1949 yılında ticari olarak üretilmiş olan L-T4, hipotiroidizm tedavisinde en sık tercih edilen ilaç olmuştur. L-T4 tedavisi genellikle hipotiroidizme sahip bireylerde tiroid hormon seviyelerini normal seviyelere getirmek için kullanılsa da uzun vadeli kullanımda erkek reproduktif sistem üzerindeki etkileri ile ilgili mevcut literatürde bilgi eksikliği bulunmaktadır. Bu eksikliği doldurmak üzere

çalışmamızda, L-T4'ün hipotiroidizmli ve sağlıklı erkek reproduktif sistem üzerindeki potansiyel toksik etkileri ve altında yatan mekanizmaların incelenmesi amaçlanmıştır.

Tiroid hormon seviyelerine bakıldığında; HT grubunda kontrol grubuna kıyasla T3 ve T4 seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu gözlenmiştir. Özellikle T4 seviyesinde 5,5 katlık bir azalma ve TSH seviyelerindeki artış PTU ile hipotiroidizmin indüklendiğini ve literatürdeki çalışmalarla uyumlu olduğunu desteklemektedir (Alkerjawi, 2013; Liman vd., 2022). L-T4 tedavisi uygulanan ve sadece L-T4'e maruz kalan gruplarda ise T4 seviyelerinin HT grubuna göre anlamlı olarak arttığı ancak tam olarak normal seviyelere ulaşmadığı gözlenmiştir. Bu tez çalışması kapsamında, PTU ile oluşan hipotiroidizmde ve L-T4 uygulanması durumunda meydana gelen tiroid hormon seviyelerindeki değişiklikler tiroid dokusuna ait histopatolojik çalışmalar ile desteklenmiştir. Tiroid dokusuna ait histopatolojik bulgular incelendiğinde; HT grubundaki sıçanların tiroid dokularında kolloid azalması, kolloid dejenerasyonu, foliküler epitelyal hücrelerde şişme ve vakuolasyona rastlanmıştır. T ve LT gruplarında da kolloidal ve foliküler dejenerasyon dikkat çekici şekilde gözlenmiştir. T grubunda diğer gruplardan farklı olarak foliküler epitelyal hücrelerde hipertrofi gözlenmiştir. LT grubunda ise diğer gruplardan farklı olarak foliküler epitelyal hücrelerde hiperplazi gözlenmiştir. Bu bulgular doğrultusunda; L-T4 uygulamasının tiroid dokusundaki fizyolojik süreçleri düzenlemeye çalışırken beraberinde hipertrofi, hiperplazi ve dejenerasyon gibi hücresel değişiklikleri de meydana getirdiği gözlenmiştir.

Bu tez çalışmasında kontrol grubuna kıyasla PTU ile hipotiroidizmin indüklendiği sıçanlarda azalan vücut ağırlığına eşlik eden kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak değişmeyen bağıl testis ve azalan bağıl epididimis ağırlıkları belirlenmiştir. Sadece L-T4 ilacına maruz kalan sıçanlarda ise artmış vücut ağırlığı ve kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak değişmeyen bağıl testis ve azalan bağıl epididimis ağırlıkları belirlenmiştir. Yine hipotiroidizme sahip sıçanlarda sperm konsantrasyonu azalırken, anormal morfolojiye sahip sperm yüzdesi artmıştır. L-T4 tedavisi uygulanan grupta sperm konsantrasyonu anlamlı olarak azalmış, anormal sperm konsantrasyonu da artmıştır. Bu parametreler hipotiroid gruba göre değişiklik gösterse de kontrol grubundan anlamlı olarak farklı bulunmuştur. Bu tez çalışması kapsamında yapılan histopatolojik çalışmalar da hipotiroidizmin erkek reproduktif sistem üzerinde oluşturduğu olumsuz etkileri desteklemiştir. Ayrıca L-T4 uygulanan T grubunda istatistiksel olarak azalan sperm konsantrasyonu ve LT grubunda istatistiksel olarak artan anormal morfoloji oranı ile

azalan sperm konsantrasyonunun gözlenmesi de testiküler histopatolojik bulgularla desteklenmiştir.

Testiküler histopatolojik bulgular incelendiğinde; kontrol grubundaki sıçanların testis dokusuna kıyasla HT grubundaki sıçanların testislerinde; seminifer tübüllerin genel görünümünde deformasyon, seminifer tübül lümeninde azalmış sperm miktarı, Sertoli hücre deformasyonu, Leydig hücrelerinde vakuol oluşumu ve şişme gibi durumlar izlenmiştir. Kontrole kıyasla azalmış sperm miktarı T ve LT gruplarında da dikkat çekmiştir. Aynı zamanda T ve LT gruplarındaki sıçanların testislerinde kontrole kıyasla germinal epitelyal hücrelerde düzensizlik ve dejenerasyona rastlanmıştır. L-T4 ile tedavi edilen ve sadece L-T4 uygulanan gruplarda testiküler histopatolojik bulgular incelendiğinde L-T4'ün de hipotiroidizm durumunda olduğu gibi testis yapısında deformasyona yol açtığı görülmüştür. Bu kapsamda L-T4 tedavisi ile diğer sperm ve hormon parametrelerinde gözlenen farklılıklar testiküler dokudaki görüntülerle de desteklenmiş ve reproduktif sistemde advers etkilerinin olabileceği konusunda bir gösterge olmuştur.

Bu çalışmada testiküler fonksiyonların değerlendirilmesinde serum gonadotropin seviyeleri en önemli parametrelerden biri olarak değerlendirilmiştir. HT grubunda kontrol grubuna kıyasla FSH ve LH seviyelerinde anlamlı azalmalar gözlenmiştir. Bu düşüş, hipotiroidizmden kaynaklı HPG aksının baskılanarak gonadotropin salınımının azaldığını ve erkek reproduktif sistemi olumsuz etkilediğini göstermektedir. T ve LT gruplarında da FSH ve LH seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı görülmüştür. Bu durum, L-T4'ün de gonadotropinlerin üretimindeki dengesizliğe katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir. Testosteron seviyelerinde ise HT ve T gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Bu durum, hipotiroidizmde değişen gonadal geri bildirim mekanizmalarının, testosteron üretiminin inhibe edilmesine sebep olduğunu göstermektedir. İnhibin B seviyelerine bakıldığında, HT grubu kontrole kıyasla anlamlı derecede azalmış ve bu azalma hipotiroidizmde sperm üretimi ve testis fonksiyonlarındaki bozulmayı desteklemiştir. L-T4 tedavisi sonrası inhibin B seviyeleri HT grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen kontrol grubu seviyelerinden anlamlı olarak az bulunmuştur.

Bu çalışmanın sonucunda L-T4'ün hipotiroidizmin erkek reproduktif sistem açısından olumsuz olarak etkilediği parametreleri geri döndüremediği görülmüştür. L-T4'ün hipotiroidizmdeki hormonal dengesizliği düzeltmeye yönelik bir tedavi olsa da uzun vadeli kullanımda özellikle serbest testosteron, gonadotropinler, SHBG ve sperm parametreleri gibi erkek reproduktif

sistem üzerinde kritik öneme sahip faktörlerde kendi başına da anlamlı azalmalar yaratabildiği görülmektedir.

HPG eksenini, reproduktif sistemin düzenlenmesinde son derece önemli bir işlevi olan iletişim halindeki bir nöroendokrin eksendir (Bliss vd., 2010). Bu eksenin temel işlevi, gonadal hormonların salgılanmasını sağlamak ve üreme fonksiyonlarını düzenleyip kontrol etmektir (Corradi vd., 2016). Spermatogenez, seks steroidlerinin sıkı denetimi altındadır ve bu süreç hipotalamus, hipofiz ve testislerde bulunan Leydig ve Sertoli hücreleri tarafından kontrol edilmektedir (Palmer vd., 2012).

Tiroid, HPT ekseninin bir parçasıdır. Hipotalamus, TRH salgılayarak hipofizden TSH salınımını uyarır. TSH ise tiroid epitel hücrelerindeki reseptörlere bağlanarak T3 ve T4 üretimini sağlar (Bates vd., 2018). Tiroidden salgılanan T3 ve T4, negatif geri besleme yoluyla TRH ve TSH salınımını baskılamaktadır. Bu mekanizma tiroid hormon seviyelerini düzenleyerek homeostazı sağlar. Bu çalışmada hipotiroidizmin bu parametrelerde yarattığı değişiklikler şu şekilde açıklanabilmektedir:

TRH, hipofiz bezindeki reseptörlere bağlanarak TSH transkripsiyonu ve üretimini uyarır ve aynı zamanda prolaktin üretimini de teşvik eder. Hipotiroidizm, tiroid hormonları olan T4 ve T3 üretiminin azalmasıyla sonuçlanır ve bu da TSH ve TRH'nin artmasına yol açar. Artan TRH seviyeleri prolaktin üretimini artırabilir ve bu da gonadotropinlerin baskılanmasına neden olabilir. GnRH, FSH ve LH üretimini uyarmak için hipotalamustan ön hipofize etki eder. FSH, Sertoli hücrelerini uyarak germ hücrelerinin çoğalmasını destekler ve fetal gelişimde anti-müllerian hormon salgılanmasını sağlar. LH ise Leydig hücrelerini testosteron üretimi için uyarır. Testosteron, cinsel farklılaşma, eritropoez, kas ve yağ metabolizması gibi birçok fizyolojik süreci düzenler. Primer hipotiroidizm genellikle hipergonadotropik veya hipogonadotropik hipogonadizm ile ilişkilendirilir. Çalışmalarda, hipotiroidizmi olan hastalarda düşük serbest testosteron seviyeleri ve anormal FSH ve LH seviyeleri gözlemlenmiştir. L-T4 tedavisi, serbest testosteron seviyelerini normalleştirirken prolaktin seviyelerini düşürebilir. Ayrıca, hipotiroidizm SHBG seviyelerinin azalmasına yol açarak serum total testosteron seviyelerini düşürebilir (Morenas vd., 2023). Hipotiroidizm, HPT eksenindeki bozulmalar nedeniyle HPG eksenini de olumsuz etkileyebilir (Pirahanchi vd., 2023). Hipotiroidizmin HPG eksenindeki anormal düzenlenmesinden kaynaklı olarak spermatogenez süreci bozulabilmektedir. Hipotiroidizmin neden olduğu gonadotropin seviyelerindeki azalma ile ilişkili testosteron seviyelerinin azalması erkek infertilitesinin önemli bir etkeni olarak kabul edilmektedir. Gerçekten de tiroid hormonlarının eksikliği gonadotropin ekseninin olumsuz

yönde etkileyerek spermatogenezi engelleyerek, sperm kalitesinde düşüşe yol açmaktadır (Sharma vd., 2013; Kumar ve Agarwall, 2013). Testislerin gelişimi ve Sertoli hücrelerinin olgunlaşması için yeterli bir androjen/östrojen dengesi büyük bir öneme sahiptir. Hipotiroidizm bu dengeyi bozarak testosteron sentezinin azalmasına ve spermatogenezi olumsuz yönde etkileyerek sperm kalitesinde bozukluklarına yol açmaktadır (Aiceles ve Da Fonte Ramos, 2016).

L-T4, hipotiroidizm tedavisinde yaygın olarak kullanılan hormon bazlı bir ilaçtır. Ancak L-T4'ün erkek reproduktif sistem üzerindeki potansiyel toksik etkileri ile ilgili çalışmalara çok sık rastlanmamaktadır. Tiroid hormonlarının bu parametreler üzerindeki etkilerine bakacak olursak: T4, ratlarda serum gonadotropin seviyelerini düşürürken, testis hacminde azalmaya ve LH salım frekansında değişime yol açmıştır. T3, Sertoli hücre farklılaşmasını uyarır, mitotik bölünme süresini kısaltır, testis boyutunu, Sertoli ve germ hücre sayılarını azaltır ve mezenkimal hücrelerin Leydig hücrelerine dönüşümünü teşvik eder (Singh vd., 2011). Bu noktada uygulanan L-T4'ün de bu etkileri yansıtması mümkündür. Bu çalışmada da tam bir düzelme gözlenmeyen hatta reproduktif parametreler açısından advers etkiler gösterdiği tespit edilen hususlarda L-T4'ün bu durumları tetiklemesinin etkin olduğu düşünülebilir. L-T4'ün kronik kullanımı, dozların uygun şekilde yönetilmemesi durumunda hormonal dengesizliklere yol açabilir. Aşırı L-T4 kullanımı, TSH seviyelerini baskılayarak tirotoksikoz durumuna neden olabilir. Bu durum, kemik mineral yoğunluğunun azalması ve kemik kaybında artış ile ilişkilendirilmiştir (Janett-Pellegrini et al., 2021). L-T4 monoterapisi, özellikle tiroid bezine sahip olmayan hastalarda (atyreotik), TSH seviyeleri normal olsa bile T3 seviyelerini yeterince düzenlemeyebilir ve bu durum hormonal dengesizliklere işaret etmiştir (Gullo et al., 2011). Kronik L-T4 kullanıcılarının önemli bir kısmında, TSH seviyelerinin tedavi aralığının dışında olduğu ve bunun aşırı veya yetersiz tedaviye yol açabileceği belirtilmiştir (Janett-Pellegrini et al., 2021). Yüksek doz L-T4 (>125 µg/gün), anormal TSH seviyeleriyle ilişkili bulunarak bu durumun dikkatli doz yönetimi ve düzenli izlem gerektirdiği belirtilmiştir (Janett-Pellegrini vd., 2021). Ayrıca, bireylerin T4'ü T3'e dönüştürme yeteneğindeki farklılıklar, hormon dengesini etkileyerek kişiselleştirilmiş tedavi yaklaşımlarını zorunlu kılmaktadır (Gullo vd., 2011). Yapılan bir çalışmada, L-T4'ün T4 seviyelerini artırdığı ve TSH'yi azalttığı, ancak bu etkilerin ilacın kesilmesinden sonra tersine döndüğü gösterilmiştir. Kronik L-T4 kullanımı, HPT aksını baskılayabilmektedir (Ziglioli vd., 2017). HPG eksenini de HPT eksenindeki bozulmalardan dolayı olarak etkilenmektedir. Ancak, L-T4'ün HPG eksenini üzerindeki doğrudan etkisi

hakkında sınırlı kanıt bulunmaktadır (Vila ve Fleseriu, 2020). Bu açıdan da bu tez çalışması bu alandaki çelişkili sonuçları aydınlatmaya yönelik katkı sağlamıştır.

Sperm parametreleri üzerinde yapılan araştırmalar, hipotiroidizmin spermatogenezi olumsuz etkileyebileceğini ve sperm kalitesinde düşüşe neden olabileceğini göstermiştir (Chaudhury ve Singh, 2015; Kumar vd., 2014). Bu çalışmada da PTU ile indüklenen hipotiroidizm modeli klinik çalışmalarda bahsedilen sperm parametre bozukluklarını göstermiştir; sperm konsantrasyonu azalmış, sperm hareketliliği ve anormal sperm görünümü artmıştır. PTU modelinin bu açıdan da hipotiroidizmi taklit ettiği bu çalışma ile gözlenen önemli bir sonuçtur. PTU tarafından indüklenen hipotiroidizm, sperm sayısı, motilitesi ve sperm morfolojisi ile kromatin bütünlüğünde önemli bozulmalara yol açabileceği gösterilmiştir (Hess vd., 1993; Lara vd., 2020). L-T4 tedavisi ile sperm konsantrasyonu yine kontrolden anlamlı olarak düşük değerlerde seyretmiş, morfoloji ise yine anormal sperm yüzdesi açısından artış göstermiştir. L-T4'ün erkek infertilitesi üzerindeki etkilerini tam olarak anlayabilmek için sperm kalitesinin göstergeleri, özellikle konsantrasyon gibi parametreler üzerinde daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Bu çalışma, L-T4'ün sperm parametreleri üzerindeki geniş kapsamlı etkilerini incelemeyi amaçlamaktadır. Ancak hem tedavi hem de yalnızca L-T4 uygulaması sonrasında sperm parametreleri üzerinde anlamlı bir etki gözlemlenmemiştir. Kronik L-T4 kullanımı sonrasında, sperm konsantrasyonu ve morfolojisinde kontrol grubuna kıyasla belirgin bir azalma olduğu görülmüştür. Diğer klinik araştırmalar da tiroid bozuklukları nedeniyle sperm kalitesindeki düşüşlerin, özellikle konsantrasyon ve morfolojideki bozulmaların tedavi ile düzelmediğini belirtmiştir (Wajner vd., 2009). Bu durum oksidatif stres seviyelerinin artışı ve antioksidan savunma mekanizmalarının bozulması ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca tiroid hormonlarının eksikliği, gonadotropin hormonlarının regülasyonunu bozarak testosteron üretimini azaltabilmekte ve reproduktif fonksiyonları da etkileyebilmektedir (Pirahanchi vd., 2023). Oksidatif stres, ROS'un neden olduğu hücresel hasar ile ilgili bir durumdur ve erkek infertilitesinde önemli bir rol oynar, sperm hücrelerinin yapısal ve işlevsel bütünlüğünü bozarak infertiliteye sebep olabilir (Bish vd., 2017). Hipotiroidizm durumunda oksidatif stresin arttığı ve bunun MDA ve GSH seviyeleri ile ilgili olduğu gözlenmiştir (Aitken vd., 2012; Baskol vd., 2007). Bu çalışmada HT grubunda GSH seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde düşük olduğu gözlenmiştir. MDA seviyeleri gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Bu noktada da PTU, oksidatif stres açısından hipotiroidizmin etkilerini bu çalışmada sergilemiştir. Hipotiroidizmle ilişkilendirilen oksidatif stresin dikkatli bir şekilde ele alınması gerektiğinin önemini vurgulayan çalışmalar

bulunmaktadır (Baskol vd., 2007). Hipotiroidizmin tedavisi, genellikle tiroid hormon seviyelerini normal aralıkta tutmayı hedeflemektedir ve bu süreçte hipotiroidizm ve tedavide uzun vadede kullanılan L-T4'ün oksidatif stres parametreleri üzerindeki etkileri göz önünde bulundurulmalıdır.

Bu tez çalışmasında hipotiroidizm tedavisinde sıklıkla kullanılan L-T4'ün erkek reproduktif sistem üzerindeki potansiyel etkileri değerlendirilmiştir. Özellikle sperm parametreleri, serum hormon düzeyleri ve oksidatif stres parametreleri üzerinde yapılan analizler, hipotiroidizmin reproduktif toksisite ile net bir şekilde ilişkilendirilebileceğini göstermiştir. Bu çalışmayla L-T4'ün reproduktif sistem üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılması hedeflenmiştir. Elde ettiğimiz bulgular doğrultusunda hipotiroidizm tedavisinde kullanılan L-T4'ün bazı sperm parametrelerinde tam bir iyileşme göstermediği ve tam bir düzelme gözlenmeyen hususlarda L-T4'ün bu olumsuz etkileri sürdürebildiği de görülmektedir. Hipotiroidizmi incelemek için PTU ile indüklenen sıçan modelinin kolay uygulanabilir ve güvenilir olduğu bu çalışma ile de desteklenmiştir. Hipotiroidizm sonucunda yaygın olarak gözlenen infertilite problemlerinin diğer çoklu etkenlerden arı bir şekilde sadece HPT aksı işleyişi ve L-T4 etkileri açısından incelenebildiği bu çalışma ile erkek reproduktif sisteminin hipotiroidizm sonucunda olumsuz etkilendiği ve bu olumsuz etkilerin L-T4 tedavisine rağmen devam edebildiği, bu etkilerinin bertaraf edilebilmesi için daha fazla seçeneğe ihtiyaç olduğu görülmektedir.

6.2 Öneriler

İlerleyen aşamalarda, hipotiroidizmin erkek fertilitesi üzerindeki etkilerini daha iyi anlamak ve L-T4 tedavisinin bu etkiler üzerindeki rolünü belirlemek amacıyla birkaç önemli araştırma alanı ortaya çıkmaktadır. Öncelikle, klinik çalışmaların artırılması gerekmektedir. Bu tür çalışmalar, L-T4 tedavisinin erkek fertilitesi üzerindeki uzun dönem etkilerini daha ayrıntılı bir şekilde incelemeyi amaçlamalıdır. Ayrıca, hipotiroidizm ve tedavi sürecinde yaş grubu farkları ve tedaviye yönelik farklı yaklaşımlar üzerinde de durulmalıdır. Hipotiroidizmin tedavisinde kullanılan L-T4'ün potansiyel etkileri daha kapsamlı bir şekilde değerlendirilmelidir. L-T4 tedavisinin yanı sıra farklı tedavi kombinasyonlarının da araştırılması önemlidir. Özellikle, antioksidan tedaviler veya HPG aksına ait tedavi protokollerinin etkileri araştırılmalıdır. Hipotiroidizmin erkek fertilitesi üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılması için hormonal dengenin bozulmasındaki temel mekanizmaların derinlemesine incelenmesi gerekmektedir. Multidisipliner yaklaşımlar, farklı alanlardaki uzmanların iş birliği, hipotiroidizmin erkek fertilitesi üzerindeki etkilerinin daha kapsamlı bir şekilde ele alınmasını sağlayabilir. Ayrıca, erkeklerin tiroid fonksiyonları ve hormon düzeyleri hakkında daha fazla bilgi sahibi olmaları,

erken tanı ve tedavi sürecini hızlandırabilir. Eğitim ve farkındalık artırıcı programlar, hipotiroidizm ve erkek fertilitesi arasındaki ilişki hakkında toplumsal bir bilinç oluşturabilir. Son olarak, oksidatif stresin hipotiroidizmle ilişkili olarak arttığı ve bunun sperm kalitesi üzerindeki etkileri göz önünde bulundurularak, antioksidan tedavilerin potansiyel faydaları araştırılmalıdır. Hipotiroidizm ve tedavi sürecinde oksidatif stres parametrelerinin izlenmesi, tedavi sürecinin etkinliğini değerlendirmek açısından kritik bir öneme sahiptir. Bu öneriler doğrultusunda, hipotiroidizmin erkek fertilitesi üzerindeki etkileri daha iyi anlaşılabilir ve bu alanda yapılacak ilerlemeler, erkek üreme sağlığını iyileştirmeye yönelik daha etkili tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sağlayacaktır.



KAYNAKÇA

- Abdulhameed, L. (2023). Assessment of thyroid functions and its relationship with semen quality in men. *International Journal of Basic Science in Medicine*. <https://doi.org/10.34172/ijbsm.2023.02>
- Agarwal, A., Virk, G., Ong, C. and Du Plessis, S. S. (2014). Effect of Oxidative Stress on Male Reproduction. *The World Journal of Men S Health*, 32(1), 1. <https://doi.org/10.5534/wjmh.2014.32.1.1>
- Agarwal, D., Eustis, S., Lamb, J., Reel, J. and Kluwe, W. (1986). Effects of di(2-ethylhexyl) phthalate on the gonadal pathophysiology, sperm morphology and reproductive performance of male rats. *Environmental Health Perspectives*, 65, 343–350. <https://doi.org/10.1289/EHP.8665343>
- Aiceles, V. and Da Fonte Ramos, C. (2016). A link between hypothyroidism, obesity and male reproduction. *Hormone Molecular Biology and Clinical Investigation*, 25(1), 5–13. <https://doi.org/10.1515/hmbci-2015-0054>
- Aitken, R. J., Gibb, Z., Mitchell, L. A., Lambourne, S. R., Connaughton, H. S. and De Iuliis, G. N. (2012). Sperm motility is lost in vitro as a consequence of mitochondrial free radical production and the generation of electrophilic aldehydes but can be significantly rescued by the presence of nucleophilic thiols. *Biology of reproduction*, 87(5), 110. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.112.102020>
- Alipour, F., Jalali, M., Nikraves, M., Fazel, A., Sankian, M. and Khordad, E. (2018). Assessment of sperm morphology, chromatin integrity and Catsper genes expression in hypothyroid mice. *Acta Biologica Hungarica*, 69(3), 244–258. <https://doi.org/10.1556/018.68.2018.3.2>
- Alkalby, J.M., Alzerjawi, J.S. (2013). Effect of propylthiouracil-induced hypothyroidism on reproductive efficiency of adult male rats. *Basrah Journal of veterinary Research*, 12(2):113-121.
- Almandoz, J. P. and Gharib, H. (2012). Hypothyroidism: etiology, diagnosis and management. *The Medical clinics of North America*, 96(2), 203–221. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2012.01.005>

- Alzerjawi, S. J. S. (2013). Effect of propylthiouracil-induced hypothyroidism on reproductive efficiency of adult male rats. *Basrah Journal of Veterinary Research*, 12, 113–121. <https://doi.org/10.33762/BVETR.2013.83631>
- Ambigapathy, J. S., Kamalanathan, S., Sahoo, J., Kumar, R. and Perumal, N. L. (2020). Effect of thyroxine replacement on Leydig cell and Sertoli cell function in men with hypothyroidism. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 24(3), 265-269.
- Barak, S. and Baker, H. W. G. (2016). Clinical Management of Male Infertility. In K. R. Feingold (Eds.), *Endotext*. MDText.com, Inc.
- Baskol, G., Atmaca, H., Tanriverdi, F., Baskol, M., Kocer, D. and Bayram, F. (2007). Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with hypothyroidism before and after treatment. *Experimental and clinical endocrinology and diabetes: official journal, German Society of Endocrinology [and] German Diabetes Association*, 115(8), 522–526. <https://doi.org/10.1055/s-2007-981457>
- Bates, J. N., Kohn, T. P. and Pastuszak, A. W. (2018). Effect of Thyroid Hormone Derangements on Sexual Function in Men and Women. *Sexual Medicine Reviews*, 8(2), 217–230. <https://doi.org/10.1016/j.sxmr.2018.09.005>
- Baysal, M., Ilgin, S., Kilic, G., Kilic, V., Ucarcan, S. and Atli, O. (2017). Reproductive toxicity after levetiracetam administration in male rats: Evidence for role of hormonal status and oxidative stress. *PLoS One*, 12, 4.
- Bendsen, E., Byskov, A. G., Laursen, S. B., Larsen, H. P. andersen, C. Y. and Westergaard, L. G. (2003). Number of germ cells and somatic cells in human fetal testes during the first weeks after sex differentiation. *Human reproduction (Oxford, England)*, 18(1), 13–18. <https://doi.org/10.1093/humrep/deg057>
- Benvenga, S., Bartolone, L., Pappalardo, M. A., Russo, A., Lapa, D., Giorgianni, G., Saraceno, G. and Trimarchi, F. (2008). Altered intestinal absorption of L-thyroxine caused by coffee. *Thyroid: official journal of the American Thyroid Association*, 18(3), 293–301. <https://doi.org/10.1089/thy.2007.0222>
- Bianco, A. C. and da Conceição, R. R. (2018). The Deiodinase Trio and Thyroid Hormone Signaling. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1801, 67–83. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7902-8_8

- Bhargava, H. N., Ramarao, P., Gulati, A., Matwyshyn, G. A. and Prasad, R. (1989). Brain and Pituitary Receptors for Thyrotropin-Releasing Hormone in Hypothyroid Rats. *Pharmacology*, 38(4), 243–252. <https://doi.org/10.1159/000138543>
- Bindra, A. and Braunstein, G.D. (2006). Thyroiditis. *Am Fam Physician*, 73(10):1769-1776
- Biondi, B., Bartalena, L., Chiovato, L., Lenzi, A., Mariotti, S., Pacini, F., Pontecorvi, A., Vitti, P. and Trimarchi, F. (2016). Recommendations for treatment of hypothyroidism with levothyroxine and levotriiodothyronine: a 2016 position statement of the Italian Society of Endocrinology and the Italian Thyroid Association. *Journal of Endocrinological Investigation*, 39(12), 1465–1474. <https://doi.org/10.1007/s40618-016-0511-z>
- Bisht, S., Faiq, M., Tolahunase, M. and Dada, R. (2017). Oxidative stress and male infertility. *Nature reviews. Urology*, 14(8), 470–485. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2017.69>
- Bozbek, Ç., Şentürk, M. and Senturk, M. (2023). Effect of levothyroxine administration on oxidative stress and cytokine levels in rats with experimental hypothyroidism. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*. <https://doi.org/10.12681/jhvms.28743>
- Braverman, L.E, Cooper, D. (2012). Werner and Ingbar's the thyroid. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins.
- Brehm, E., Rattan, S., Chiang, C., Warner, G. R. and Flaws, J. A. (2019). Reproductive Toxicity Biomarkers. In Elsevier eBooks (pp. 287–301). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814655-2.00017-7>
- Bruni, J. F., Dibbet, J. A. and Meites, J. (1975). Effects of hyper- and hypothyroidism on serum LH and FSH levels in intact and gonadectomized male and female rats. *Endocrinology*, 97(3), 558-563.
- Cabanillas, M. E., McFadden, D. G. and Durante, C. (2016). Thyroid cancer. *Lancet* (London, England), 388(10061), 2783–2795. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30172-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30172-6)
- Campion, S., Aubrecht, J., Boekelheide, K., Brewster, D. W., Vaidya, V. S. Anderson, L., Burt, D., Dere, E., Hwang, K., Pacheco, S., Saikumar, J., Schomaker, S., Sigman,

- M. and Goodsaid, F. (2013). The current status of biomarkers for predicting toxicity. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*, 9(11), 1391–1408. <https://doi.org/10.1517/17425255.2013.827170>
- Carling, T., and Udelsman, R. (2013). Thyroid Cancer. *Annual Review of Medicine*, 65(1), 125–137. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-061512-105739>
- Carneiro, I. M. S. P., Castro-Piedras, I., Muñoz, A., Labandeira-García, J. L., Devesa, J. and Arce, V. (2008). Hypothyroidism is associated with increased myostatin expression in rats. *Journal of Endocrinological Investigation*, 31(9), 773–778. <https://doi.org/10.1007/bf03349256>
- Castro, G.V., Rocha, C.M.R., Sanches, V.L. and Ribeiro, PHZ (2015). Tiroid hormonlarının analoglarının sentezi: Nükleer reseptör modülatörleri. *Orbital: The Electronic Journal of Chemistry*, 7 (3), <https://doi.org/10.1007/bf03349256>
- Censi, S., Salmaso, L., Ceccato, F., Manso, J., Fedeli, U., Saia, M. and Mian, C. (2023). Hyperthyroidism incidence in a large population-based study in northeastern Italy. *Endocrine Connections*, 12(12). <https://doi.org/10.1530/EC-23-0292>
- Chaker, L., Bianco, A. C., Jonklaas, J. and Peeters, R. P. (2017). Hypothyroidism. *Lancet (London, England)*, 390(10101), 1550–1562. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30703-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30703-1)
- Chaalal, A., Poirier, R., Blum, D., Gillet, B., Le Blanc, P., Basquin, M., Buée, L., Laroche, S. and Enderlin, V. (2014). PTU-induced hypothyroidism in rats leads to several early neuropathological signs of Alzheimer's disease in the hippocampus and spatial memory impairments. *Hippocampus*, 24(11), 1381–1393. <https://doi.org/10.1002/hipo.22319>
- Chakrabarti, S. K., Ghosh, S., Banerjee, S., Mukherjee, S. and Chowdhury, S. (2016). Oxidative stress in hypothyroid patients and the role of antioxidant supplementation. *Indian journal of endocrinology and metabolism*, 20(5), 674–678. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.190555>
- Chaulin, A. M., Grigorieva, J. V., Suvorova, G. N. and Duplyakov, D. V. (2021). Experimental modeling of hypothyroidism: Principles, methods, several advanced research directions in cardiology. *Russian Open Medical Journal*. 10(3). <https://doi.org/10.15275/romj.2021.0311>

- Chiovato, L., Magri, F. and Carlé, A. (2019). Hypothyroidism in Context: Where We've Been and Where We're Going. In *Advances in Therapy* (Vol. 36). <https://doi.org/10.1007/s12325-019-01080-8>
- Chughtai, B., Sawas, A., O'malley, R. L., Naik, R. R., Khan, S. A. and Pentyala, S. (2005). A neglected gland: a review of Cowper's gland. *Andrology*, 28(2), 74–77. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.2005.00499.x>
- Clavert, A., Cranz, C. and Bollack, C. (2009). Functions of the seminal vesicle: Funktionen der Bläschendrüse. *Andrologia*, 22(S1), 185–192. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1990.tb02084.x>
- Colucci, P., Yue, C. S., Ducharme, M. ve Benvenga, S. (2013). A Review of the Pharmacokinetics of Levothyroxine for the Treatment of Hypothyroidism. *European endocrinology*, 9(1), 40–47. <https://doi.org/10.17925/EE.2013.09.01.40>
- Condorelli, R., La Vignera, S., Mongioi, L., Alamo, A., Giacone, F., Cannarella, R. and Calogero, A. (2019). Thyroid hormones and spermatozoa: In vitro effects on sperm mitochondria, viability and DNA integrity. *Journal of Clinical Medicine*, 8(5), Article 756. <https://doi.org/10.3390/jcm8050756>
- Corradi, P. F., Corradi, R. B. and Greene, L. W. (2016). Physiology of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in the male. *Urologic Clinics of North America*, 43(2), 151-162. <https://doi.org/10.1016/j.ucl.2016.01.004>
- Cote, G. J., Grubbs, E. G. and Hofmann, M. C. (2015). Thyroid C-Cell Biology and Oncogenic Transformation. Recent results in cancer research. *Fortschritte der Krebsforschung. Progres dans les recherches sur le cancer*, 204, 1–39. https://doi.org/10.1007/978-3-319-22542-5_1 <https://europepmc.org/article/NBK/nbk285550>
- Creasy D. M. (2001). Pathogenesis of male reproductive toxicity. *Toxicologic pathology*, 29(1), 64–76. <https://doi.org/10.1080/019262301301418865>
- Dawood, H. M., Barghouth, N. M., El-Mezayen, N. S., Ibrahim, R. S. and Shawky, E. (2024). Metabolomic insights into the therapeutic mechanisms of costus (*Saussurea costus* (Falc.) Lipsch.) root extract in propylthiouracil-induced hypothyroidism rat model. *Journal of Ethnopharmacology*, 324, 117784. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2024.117784>

- De Lamirande, E. and Gagnon, C. (1992). Reactive oxygen species and human spermatozoa. II. Depletion of adenosine triphosphate plays an important role in the inhibition of sperm motility. *Journal of andrology*, 13(5), 379–386.
- De Leo, S., Lee, S. Y. and Braverman, L. E. (2016). Hyperthyroidism. *Lancet* (London, England), 388(10047), 906–918. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)00278-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)00278-6)
- Dere, E., Anderson, L.M., Hwang, K., Boekelheide, K. (2013). Biomarkers of Chemotherapy-Induced Testicular Damage. *Fertil Steril.*, 100 (5), 10.
- Dick, B., Koller, C., Herzog, B., Greenberg, J. and Hellstrom, W. J. G. (2020). The Role of Hormones in Male Sexual Function. *Current Sexual Health Reports*, 12(3), 101–112. <https://doi.org/10.1007/s11930-020-00271-7>
- Efe, O. E., Aydingöz, S. E., Lux, K. M., Özer, E. Ö., Süzer, A. ve Tuncer, M. (2022). Metimazol ile Oluşturulan Sıçan Hipotiroidi Modelinde Kognitif Fonksiyonlar, Anksiyete ve Depresyon Benzeri Davranışların Değerlendirilmesi: Pilot Çalışma. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 48(2), 147–153. <https://doi.org/10.32708/uutfd.1081090>
- Eghtedari, B. and Correa, R. (2023). Levothyroxine. StatPearls- NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539808/>
- El-Sakka, A. I., Hassoba, H. M., Sayed, H. M. and Tayeb, K. A. (2005). Pattern of endocrinal changes in patients with sexual dysfunction. *The journal of sexual medicine*, 2(4), 551–558. <https://doi.org/10.1111/j.1743-6109.2005.00082.x>
- El-Tantawi, H. and Abo-Zeid, F. (2019). Impact of spirulina on propylthiouracil-induced hypothyroidism in albino rats: A histological, immunohistochemical and biochemical approach. *Egyptian Journal of Histology*. <https://doi.org/10.21608/ejh.2019.16398.1159>
- Farling, P. (2000). Thyroid disease. *British Journal of Anaesthesia*, 85(1), 15–28. <https://doi.org/10.1093/bja/85.1.15>
- Fernandes, G., Arena, A., Campos, K., Volpato, G., Anselmo-Franci, J., Damasceno, D. and Kempinas, W. (2012). Glutamate-induced obesity leads to decreased sperm reserves and acceleration of transit time in the epididymis of adult male rats. *Reproductive*

Biology and Endocrinology: RBandE, 10, 105. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-10-105>

- Fernandez, C. D., Bellentani, F. F., Fernandes, G. S., Perobelli, J. E., Favareto, A. P. A., Nascimento, A. F., Cicogna, A. C. and Kempinas, W. D. (2011). Diet-induced obesity in rats leads to a decrease in sperm motility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 9(1), 32. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-32>
- Flecknell, P. (2009). *Laboratory Animal Anesthesia* (3rd ed) Elsevier, San Diego, CA, U.S.A.
- Frumess, R. and Larsen, P. (1975). Correlation of serum triiodothyronine (T3) and thyroxine (T4) with biologic effects of thyroid hormone replacement in propylthiouracil-treated rats. *Metabolism: Clinical and Experimental*, 24(4), 547-554. [https://doi.org/10.1016/0026-0495\(75\)90079-7](https://doi.org/10.1016/0026-0495(75)90079-7)
- Fumarola, A., Di Fiore, A., Dainelli, M., Grani, G. and Calvanese, A. (2010). Medical Treatment of Hyperthyroidism: State of the Art. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, 118(10), 678–684. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1253420>
- Gaitonde, D. Y., Rowley, K. D. and Sweeney, L. B. (2012). Hypothyroidism: an update. *American family physician*, 86(3), 244–251.
- Gharib, H. (2017). Thyroid Nodules. In Springer eBooks. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-59474-3>
- Goddard, P. (2022). Andrology Laboratories, Department of Reproductive Medicine and Central Manchester University Hospitals NHS Foundation Trust. [Lower reference limits for semen characteristics]. In Central Manchester University Hospitals NHS Foundation Trust.
- Goldman, A. L., Bhasin, S., Wu, F. C. W., Krishna, M., Matsumoto, A. M. and Jasuja, R. (2017). A Reappraisal of Testosterone's Binding in Circulation: Physiological and Clinical Implications. *Endocrine reviews*, 38(4), 302–324. <https://doi.org/10.1210/er.2017-00025>
- Guglielmi, V., Bellia, A., Bianchini, E., Medea, G., Cricelli, I., Sbraccia, P., Lauro, D., Cricelli, C. and Lapi, F. (2017). Drug interactions in users of tablet vs. oral liquid

- levothyroxine formulations: a real-world evidence study in primary care. *Endocrine*, 59(3), 585–592. <https://doi.org/10.1007/s12020-017-1412-4>
- Gullo, D., Latina, A., Frasca, F. and Vigneri, R. (2011). Levothyroxine monotherapy cannot guarantee euthyroidism in all athyreotic patients. *PLoS ONE*, 6(8), e22552. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022552>
- Gurung, P., Yetiskul, E. and Jialal, I. (2023). Physiology, Male Reproductive System. StatPearls- NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538429/>
- Hashem, H., El-Metwaly, H., Mobarak, Y. ve Ibrahim, Z. (2016). Impact of induced thyroxine and carbimazole vacillation on liver of female rats. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences. D, Histology and Histochemistry*, 8(2), 15–29. <https://doi.org/10.21608/eajbsd.2016.14101>
- Haugen, B. R., Alexander, E. K., Bible, K. C., Doherty, G. M., Mandel, S. J., Nikiforov, Y. E., Pacini, F., Randolph, G. W., Sawka, A. M., Schlumberger, M., Schuff, K. G., Sherman, S. I., Sosa, J. A., Steward, D. L., Tuttle, R. M. and Wartofsky, L. (2016). 2015 American Thyroid Association Management Guidelines for Adult Patients with Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer: The American Thyroid Association Guidelines Task Force on Thyroid Nodules and Differentiated Thyroid Cancer. *Thyroid: official journal of the American Thyroid Association*, 26(1), 1–133. <https://doi.org/10.1089/thy.2015.0020>
- Hennessey, J. V. (2016). The emergence of levothyroxine as a treatment for hypothyroidism. *Endocrine*, 55(1), 6–18. <https://doi.org/10.1007/s12020-016-1199-8>
- Hess, R., Cooke, P., Bunick, D. and Kirby, J. (1992). Adult testicular enlargement induced by neonatal hypothyroidism is accompanied by increased Sertoli and germ cell numbers. *Endocrinology*, 132(6), 2607–2613. <https://doi.org/10.1210/ENDO.132.6.8504761>
- Hueston, W. J. (2001). Treatment of hypothyroidism. *American family physician*, 64(10), 1717–1724.
- Hussein, R.S. (2024). Thyroid hormones and their role in male infertility: A comprehensive review. *International Journal of Biomedicine*, 14(2), 231-234. [https://doi.org/10.21103/Article14\(2\)_RA4](https://doi.org/10.21103/Article14(2)_RA4)

- Isman, C., Yegen, B. and Alican, I. (2003). Methimazole-induced hypothyroidism in rats ameliorates oxidative injury in experimental colitis. *Journal of Endocrinology*, 177(3), 471–476. <https://doi.org/10.1677/joe.0.1770471>
- James, E. R., Carrell, D. T., Aston, K. I., Jenkins, T. G., Yeste, M. ve Salas-Huetos, A. (2020). The Role of the Epididymis and the Contribution of Epididymosomes to Mammalian Reproduction. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(15), 5377. <https://doi.org/10.3390/ijms21155377>
- Janett-Pellegrini, C., et al. (2021). Prevalence and factors associated with chronic use of levothyroxine: A cohort study. *PLoS ONE*, 16(12), e0261160. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0261160>
- Jarow, J. P. (2003). Endocrine causes of male infertility. *Urologic Clinics of North America*, 30(1), 83–90. [https://doi.org/10.1016/s0094-0143\(02\)00117-9](https://doi.org/10.1016/s0094-0143(02)00117-9)
- Jena, S., Chainy, G. B. and Dandapat, J. (2012). Expression of antioxidant genes in renal cortex of PTU-induced hypothyroid rats: effect of vitamin E and curcumin. *Molecular biology reports*, 39(2), 1193–1203. <https://doi.org/10.1007/s11033-011-0849-4>
- Jiménez-Reina, L., Maartens, P. J., Jimena-Medina, I., Agarwal, A. and Du Plessis, S. S. (2016). Overview of the Male Reproductive System. In Springer eBooks (pp. 1–17). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3402-7_1
- Jîtcă, G., Fogarasi, E., Ősz, B. E., Vari, C. E., Fülöp, I., Croitoru, M. D., Rusz, C. M. and Dogaru, M. T. (2021). Profiling the Concentration of Reduced and Oxidized Glutathione in Rat Brain Using HPLC/DAD Chromatographic System. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 26(21), 6590. <https://doi.org/10.3390/molecules26216590>
- Jonklaas, J., Bianco, A. C., Bauer, A. J., Burman, K. D., Cappola, A. R., Celi, F. S., Cooper, D. S., Kim, B. W., Peeters, R. P., Rosenthal, M. S., Sawka, A. M. and American Thyroid Association Task Force on Thyroid Hormone Replacement (2014). Guidelines for the treatment of hypothyroidism: prepared by the american thyroid association task force on thyroid hormone replacement. *Thyroid: official journal of the American Thyroid Association*, 24(12), 1670–1751. <https://doi.org/10.1089/thy.2014.0028>

- Kahaly, G. J. (2021). 70 Years of Levothyroxine. In Springer eBooks. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-63277-9>
- Kalaivani, M., Saleena, U., Katapadi, K., Kumar, Y. and Nayak, D. (2018). Effect of acrylamide ingestion on reproductive organs of adult male Wistar rats. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 12. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2018/38170.12364>
- Kalland, G. A., Vera, A., Peterson, M. and Swerdloff, R. S. (1978). Reproductive hormonal axis of the male rat in experimental hypothyroidism. *Endocrinology*, 102(2), 476–484. <https://doi.org/10.1210/endo-102-2-476>
- Kamilov, F.K, Mamtsev, A.N, Kozlov, V.N, Abdullina, G.M. and Lobyreva, O.V. (2012). Activity of antioxidant enzymes and processes of free radical oxidation in experimental hypothyroidism and correction of thyroid shifts with iodized polysaccharide complexes. *Kazan Medical Journal*, 93(1): 116-119.
- Kant, R., Davis, A. and Verma, V. (2020). Thyroid Nodules: Advances in Evaluation and Management. *American Family Physician*, 102(5):298-304.
- Khamiss, B., Al-Rekabe, K., Abed, D., Al-Wayelli, O. J., Hussein, A., Khadim, A. and Kouti, B. (2019). Evaluation of serum FSH, LH and Testosterone levels in infertile patients affected with different male infertility factors after IUI technique. *Thi-Qar Medical Journal*, 4(2):2010(37-46).
- Kim, S. and Kim, D. (2014). Effects of Jaeumkanghwa-tang on the rat hypothyroidism induced by propylthiouracil (PTU). *Journal of Korean Oriental Biological and Medical Sciences*, 27, 41–64. <https://doi.org/10.15204/JKOBGY2014.27.1.041>
- Kim, W., Kim, S., Park, S. and Chang, M. (2012). *Astragalus membranaceus* ameliorates reproductive toxicity induced by cyclophosphamide in male mice. *Phytotherapy Research*, 26. <https://doi.org/10.1002/ptr.4756>
- Kirby, J., Jetton, A., Cooke, P., Hess, R., Bunick, D., Ackland, J., Turek, F. and Schwartz, N. (1992). Developmental hormonal profiles accompanying the neonatal hypothyroidism-induced increase in adult testicular size and sperm production in the rat. *Endocrinology*, 131(2), 559-565. <https://doi.org/10.1210/ENDO.131.2.1639007>

- Klein, I. and Danzi, S. (2007). Thyroid disease and the heart. *Circulation*, 116(15), 1725–1735. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.678326>
- Korejo, N., Wei, Q., Shah, A. and Shi, F. (2016). Effects of concomitant diabetes mellitus and hyperthyroidism on testicular and epididymal histoarchitecture and steroidogenesis in male animals. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 17, 850–863. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1600136>
- Korkmaz, F. N., Yilmaz-Oral, D., Asker, H., Guven, B., Turkcan, D., Kirlangic, O. F., Oztekin, C. V., Çorapçioğlu, D., Demir, Ö., Ates, I. and Gur, S. (2023). Combined levothyroxine and testosterone treatment for restoring erectile dysfunction in propylthiouracil-induced hypothyroid rats. *The journal of sexual medicine*, 20(6), 732–741. <https://doi.org/10.1093/jsxmed/qdad034>
- Koslov, D. S. and Andersson, K. (2013). Physiological and pharmacological aspects of the vas deferens an update. *Frontiers in Pharmacology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fphar.2013.00101>
- Krassas, G. E., Papadopoulou, F., Tziomalos, K., Zeginiadou, T. and Pontikides, N. (2008). Hypothyroidism has an adverse effect on human spermatogenesis: a prospective, controlled study. *Thyroid: official journal of the American Thyroid Association*, 18(12), 1255–1259. <https://doi.org/10.1089/thy.2008.0257>
- Navratil, A. M., Xie, J. and Roberson, M. S. (2010). GnRH signaling, the gonadotrope and endocrine control of fertility. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 31(3), 322–340. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2010.04.002>
- Krassas, G. E. ve Pontikides, N. (2004). Male reproductive function in relation with thyroid alterations. *Best Practice and Research Clinical Endocrinology and Metabolism*, 18(2), 183-195.
- Krassas, G. E., Poppe, K. and Glinoer, D. (2010). Thyroid function and human reproductive health. *Endocrine Reviews*, 31(5), 702–755. <https://doi.org/10.1210/er.2010-0005>
- Kumar, A., Shekhar, S. and Dhole, B. (2014). Thyroid and male reproduction. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 18(1), 23. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.126523>

- Kruk, Y. Y., Mahneva, A. V., Zolotuhin, S. Y. and Bitukov, D. S. (2011). Features of manifestation of oxidative stress in hypothyreosis of different severity degrees in the experiment. *Pathologia*, 8(2): 62-65. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=20868729>.
- Lai, Y. and Huang, S. (2022). Tea consumption affects the absorption of levothyroxine. *Frontiers in Endocrinology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fendo.2022.943775>
- Lamanna, C. and Hart, E. (1968). Relationship of lethal toxic dose to body weight of the mouse. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 13(3), 307–315. [https://doi.org/10.1016/0041-008X\(68\)90104-X](https://doi.org/10.1016/0041-008X(68)90104-X)
- Lara, N., Silva, V., Chiarini-Garcia, H., Garcia, S., Debeljuk, L., Hess, R. and França, L. (2020). Hypothyroidism induced by postnatal PTU (6-n-propyl-2-thiouracil) treatment decreases Sertoli cell number and spermatogenic efficiency in sexually mature pigs. *General and Comparative Endocrinology*, 113593. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2020.113593>
- Lee, S. Y. ve Pearce, E. N. (2023). Hyperthyroidism. *JAMA*, 330(15), 1472. <https://doi.org/10.1001/jama.2023.19052>
- Lehti, M. and Sironen, A. (2017). Formation and function of sperm tail structures in association with sperm motility defects. *Biology of Reproduction*, 97(4), 522–536. <https://doi.org/10.1093/biolre/iox096>
- Leslie, S.W., Soon-Sutton TL, Khan, M.A.B. Male Infertility. [Updated 2024 Feb 25]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562258/>
- Li, Y., Wang, M., Piao, F. and Wang, X. (2012). Subchronic exposure to arsenic inhibits spermatogenesis and downregulates the expression of ddx3y in testis and epididymis of mice. *Toxicological Sciences: An Official Journal of the Society of Toxicology*, 128(2), 482–489. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfs169>
- Liman, B.C., Liman, N, Tekeli, Y., Ergen, E. ve Kavraal, U.K. (2022). Propil Tiourasil (PTU) ve L-Tiroksin ile Oluşturulan Deneysel Hipo- ve Hipertiroidizm Erişkin Sıçanların Hipokampusünde Doku Lipid Peroksidasyonu, Glutatiyon ve Antioksidan Enzim Düzeyleri Üzerine Araştırmalar. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 11(1), 22-28.

- Liping, L., Xiufang, L. and Ling, W. (2010). Reproductive and developmental toxicity to male offspring rats with utero and lactational exposure to DEHP. *Journal of Environmental Health*, 27, 115–117.
- Liu, H., Li, W., Zhang, W., Sun, S. and Chen, C. (2022). Levothyroxine: Conventional and Novel Drug Delivery Formulations. *Endocrine Reviews*, 44(3), 393–416. <https://doi.org/10.1210/endrev/bnac030>
- Lipp, H. (2021). Administration and Pharmacokinetics of Levothyroxine. In Springer eBooks (pp. 13–22). https://doi.org/10.1007/978-3-030-63277-9_2
- Majumdar, A. and Mangal, N. (2013). Hyperprolactinemia. *Journal of Human Reproductive Sciences*, 6(3), 168. <https://doi.org/10.4103/0974-1208.121400>
- Maksyutov, R.R, Baimatov, V.N, Ponomareva, L.F. and Kozlov, V.N. (2013). Study of thyroid status in rats while correcting disorders induced by experimental hypothyroidism. *Russian Veterinary Journal. Productive Animals*, 3:36-39.
- Manuk, E. S., Izatulin, V. G. and Vasilieva, L. S. (2008). The correction of the experimental hypothyrosis with plant preparation of aconitum baikalense bayacon. *Siberian Medical Journal (Irkutsk)*, 76(1): 82-84. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=17844860>.
- Maran, R. R. M. (2003). Thyroid Hormones: Their role in testicular steroidogenesis. *Archives of Andrology*, 49(5), 375–388. <https://doi.org/10.1080/01485010390204968>
- Marchiori, R. C., Pereira, L. A., Naujorks, A. A., Rovaris, D. L., Meinerz, D. F., Duarte, M. M. and Rocha, J. B. (2015). Improvement of blood inflammatory marker levels in patients with hypothyroidism under levothyroxine treatment. *BMC Endocrine Disorders*, 15, 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12902-015-0015-y>
- Marques, P., De Sousa Lages, A., Skorupskaite, K., Rozario, K. S. anderson, R. A. and George, J. T. (2024, October 15). Physiology of GnRH and Gonadotrophin Secretion. Endotext- NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279070/>

- Mawhinney, M. and Mariotti, A. (2013). Physiology, pathology and pharmacology of the male reproductive system. *Periodontology* 2000, 61(1), 232–251. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2011.00408.x>
- Männistö, P., Ranta, T. and Leppäluoto, J. (1979). Effects of methylmercaptoimidazole (MMI), propylthiouracil (PTU), potassium perchlorate (KClO₄) and potassium iodide (KI) on the serum concentrations of thyrotrophin (TSH) and thyroid hormones in the rat. *Acta Endocrinologica*, 91(2), 271–281. <https://doi.org/10.1530/ACTA.0.0910271>
- Menkveld, R., Wong, W.Y., Lombard, C.J., Wetzels, A. M., Thomas, C.M., Merkus, H.M., Steegers Theunissen, R.P. (2001). Semen parameters, including WHO and strict criteria morphology, in a fertile and subfertile population: an effort towards standardization of in-vivo thresholds. *Hum Reprod.*, 16 (6), 1165–1171.
- McQuaid, J. W. and Tanrikut, C. (2014). Physiology of Testosterone Production. In Springer eBooks (pp. 31–43). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0425-9_3
- Mohamad, Y. R. and Rania, R. A. (2020). Adropin and Irisin levels in a rat model of hypothyroidism. *Journal of Physiology and Pathophysiology*, 11(1), 1–8. <https://doi.org/10.5897/jpap2020.0134>
- Mok, K. W., Mruk, D. D. and Cheng, C. Y. (2013). Regulation of blood-testis barrier (BTB) dynamics during spermatogenesis via the "Yin" and "Yang" effects of mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1) and mTORC2. *International review of cell and molecular biology*, 301, 291–358. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-407704-1.00006-3>
- Møller, M. F., Søndergaard, T. R., Kristensen, H. T. and Münster, A. B. (2016). Evaluation of a reduced centrifugation time and higher centrifugal force on various general chemistry and immunochemistry analytes in plasma and serum. *Annals of Clinical Biochemistry International Journal of Laboratory Medicine*, 54(5), 593–600. <https://doi.org/10.1177/0004563216674030>
- Morenas, R., Singh, D. and Hellstrom, W. J. G. (2023). Thyroid disorders and male sexual dysfunction. *International Journal of Impotence Research*, 36(4), 333–338. <https://doi.org/10.1038/s41443-023-00768-4>

- Moreno-Pérez, O., Boix, V., Merino, E., Picó, A., Reus, S., Alfayate, R., Giner, L., Mirete, R., Sánchez-Payá, J. and Portilla, J. (2015). Biological markers of fertility (inhibin-B) in HIV-infected men: influence of HIV infection and antiretroviral therapy. *HIV Medicine*, 17(6), 436–444. <https://doi.org/10.1111/hiv.12350>
- Mullur, R., Liu, Y. Y. and Brent, G. A. (2014). Thyroid hormone regulation of metabolism. *Physiological reviews*, 94(2), 355–382. <https://doi.org/10.1152/physrev.00030.2013>
- Mruk, D. D. and Cheng, C. Y. (2004). Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. *Endocrine reviews*, 25(5), 747–806. <https://doi.org/10.1210/er.2003-0022>
- Nair, A.B. and Jacob, S. (2016). A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 7(2): 27-31.
- Nanda, N. (2017). Oxidative stress in hypothyroidism. *International Journal of Clinical and Experimental Physiology*, 3(1).
- Nayak, J., Jena, S. R. and Samanta, L. (2018). Oxidative Stress and Sperm Dysfunction. In Elsevier eBooks (pp. 261–275). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-812501-4.00024-9>
- Nelson, N. C., Becker, W. F. and Department of Surgery, Louisiana State University School of Medicine. (1969). Thyroid Crisis: Diagnosis and Treatment. In *Annals of Surgery*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1387636/pdf/annsurg00416-0111.pdf>
- Ning, Z. (2012). Protective effect of Angelica polysaccharide on liver damage induced by Graves disease in rats. *Acta Chinese Medicine and Pharmacology*.
- Occupational Health and Safety Administration. "Reproductive Hazards". osha.gov. Retrieved 28.10.2024.
- Ochs, N., Auer, R., Bauer, D. C. (2008). Meta-analysis: Subclinical thyroid dysfunction and the risk for coronary heart disease and mortality. *Annals of Internal Medicine*, 148(11), 832–845. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-148-11-200806030-00004>
- Ochsendorf F. R. (1999). Infections in the male genital tract and reactive oxygen species. *Human reproduction update*, 5(5), 399–420. <https://doi.org/10.1093/humupd/5.5.399>

- Omolaoye, T.S., Skosana, B.T. and Plessis, S.S. (2018). Diabetes mellitus- induction: Effect of different streptozotocin doses on male reproductive parameters. *Acta. Histochem.*, 120 (2), 103-109.
- Ong, C., Shen, H. and Chia, S. (2002). Biomarkers for Male Reproductive health hazards: Are they available? *Toxicology Letters*, 134(1–3), 17–30. [https://doi.org/10.1016/s0378-4274\(02\)00159-5](https://doi.org/10.1016/s0378-4274(02)00159-5)
- Ozkan, Y., Dönder, E., Güney, H. and Baydaş, G. (2005). Changes in plasma homocysteine levels of rats with experimentally induced hypothyroidism and hyperthyroidism. *Neuro endocrinology letters*, 26(5), 536–540.
- Palmer, N. O., Bakos, H. W., Fullston, T. and Lane, M. (2012). Impact of obesity on male fertility, sperm function and molecular composition. *Spermatogenesis*, 2(4), 253–263. <https://doi.org/10.4161/spmg.21362>
- Park, J. and Lee, S. (2021). Effects of maternal hypothyroidism on the pubertal development in female rat offspring. *Development and Reproduction*, 25(2), 83–91. <https://doi.org/10.12717/DR.2021.25.2.83>
- Park, S., Kook, M. G., Kim, S., Lee, C., Lee, J. W., Park, J., Park, C. H., Oh, B., Jung, Y. and Hong, I. (2024). Development of a novel testis-on-a-chip that demonstrates reciprocal crosstalk between Sertoli and Leydig cells in testicular tissue. *Experimental and Molecular Medicine*, 56(7), 1591–1605. <https://doi.org/10.1038/s12276-024-01258-3>
- Peeters, R. P. and Visser, T. J. (2017). Metabolism of Thyroid Hormone. Endotext- NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK285545/>
- Pirahanchi, Y., Toro, F. and Jialal, I. (2023). Physiology, Thyroid Stimulating Hormone. StatPearls- NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499850/>
- Rajender, S., Monica, M., Walter, L. and Agarwal, A. (2011). Thyroid, spermatogenesis and male infertility. *Frontiers in Bioscience*, 3, 843–855. <https://doi.org/10.2741/E292>
- Ramaswamy, S. and Weinbauer, G.F. (2014). Endocrine control of spermatogenesis: Role of FSH and LH/ testosterone. *Spermatogenesis*, 4 (2), e996025.
- Razvi, S., Shakoor, A., Vanderpump, M., Weaver, J. U. and Pearce, S. H. (2008). The influence of age on the relationship between subclinical hypothyroidism and

- ischemic heart disease: A meta-analysis. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 93(8), 2998–3007. <https://doi.org/10.1210/jc.2008-0525>
- Reddy, K. and Reddy, P. (2016). Testicular and epididymal toxicity induced by benzo(a)pyrene, alcohol and their combination in Wistar rats. *Toxicology Research*, 5(2), 420–433. <https://doi.org/10.1039/c5tx00420a>
- Reis, M. M. S., Moreira, A. C., Sousa, M., Mathur, P. P., Oliveira, P. F. and Alves, M. G. (2015). Sertoli cell as a model in male reproductive toxicology: Advantages and disadvantages. *Journal of Applied Toxicology*, 35(8), 870–883. <https://doi.org/10.1002/jat.3122>
- Rockett, J. C. and Kim, S. J. (2005). Biomarkers of reproductive toxicity. *Cancer Biomarkers*, 1(1), 93–108. <https://doi.org/10.3233/cbm-2005-1110>
- Rondeel, J., De Greef, W., Klootwijk, W. and Visser, T. (1992). Effects of hypothyroidism on hypothalamic release of thyrotropin-releasing hormone in rats. *Endocrinology*, 130(2), 651–656. <https://doi.org/10.1210/ENDO.130.2.1733713>
- Rousset, B., Dupuy, C., Miot, F. and Dumont, J. (2000). Chapter 2: Thyroid hormone synthesis and secretion. In *Endotext*. MDText.com, Inc. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK285550/>
- Sanocka, D. and Kurpisz, M. (2004). Reactive oxygen species and sperm cells. *Reproductive biology and endocrinology: RBandE*, 2, 12. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-2-12>
- Sengupta, P. and Dutta, S. (2018). Thyroid disorders and semen quality. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 11(1), 01–10. <https://doi.org/10.13005/bpj/1342>
- Shahid, M. A., Ashraf, M. A. and Sharma, S. (2023). Physiology, Thyroid Hormone. StatPearls- NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK500006/>
- Sharma, R. and Agarwal, A. (2011). Spermatogenesis: An Overview. In *Springer eBooks* (pp. 19–44). https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6857-9_2
- Sharma, R., Biedenharn, K. R. and Fedor, J. M. (2013). "Lifestyle factors and reproductive health: Taking control of your fertility." *Reproductive Biology and Endocrinology*, 11(66).

- Sidhom, K., Panchendrabose, K., Mann, U. and Patel, P. (2022). An update on male infertility and intratesticular testosterone-insight into novel serum biomarkers. *International journal of impotence research*, 34(7), 673–678. <https://doi.org/10.1038/s41443-021-00507-7>
- Singh, R., Hamada, A.J. and Agarwal, A. (2011). Thyroid Hormones in Male Reproduction and Fertility. *The Open Reproductive Science Journal*, 3, 98-104.
- Skelin, M., Lucijanić, T., Klarić, D. A., Rešić, A., Bakula, M., Liberati-Čizmek, A., Gharib, H. and Rahelić, D. (2017). Factors Affecting Gastrointestinal Absorption of Levothyroxine: A Review. *Clinical Therapeutics*, 39(2), 378–403. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2017.01.005>
- Suede, S. H., Malik, A. and Sapra, A. (2023). Histology, Spermatogenesis. StatPearls- NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553142>
- Şenat, A., Erinç, O., Yeşilyurt, S., Gök, G. and Erel, O. (2024). Assessment of thiol-disulfide and glutathione homeostasis after levothyroxine replacement in individuals with autoimmune or nonautoimmune hypothyroidism. *Archives of Endocrinology and Metabolism*, 68. <https://doi.org/10.20945/2359-4292-2023-0197>
- Tanguay, M., Girard, J., Scarsi, C., Mautone, G. and Larouche, R. (2018). Pharmacokinetics and Comparative Bioavailability of a Levothyroxine Sodium Oral Solution and Soft Capsule. *Clinical Pharmacology in Drug Development*, 8(4), 521–528. <https://doi.org/10.1002/cpdd.608>
- Tarn, C., Rosenkrans, C., Apple, J. and Kirby, J. (1998). Effects of 6-N-propyl-2-thiouracil on growth, hormonal profiles, carcass and reproductive traits of boars. *Animal Reproduction Science*, 50(1-2), 81–94. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(97\)00091-2](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(97)00091-2)
- Taylor, P. N., Albrecht, D., Scholz, A., Gutierrez-Buey, G., Lazarus, J. H., Dayan, C. M. and Okosieme, O. E. (2018). Global epidemiology of hyperthyroidism and hypothyroidism. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(5), 301–316. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2018.18>
- Tellechea, M. (2020). Meta-analytic evidence for increased low-grade systemic inflammation and oxidative stress in hypothyroid patients: Can levothyroxine

- replacement therapy mitigate the burden? *Endocrine*, 72, 62-71.
<https://doi.org/10.1007/s12020-020-02484-1>
- Thaler, M. A., Seifert-Klauss, V. and Luppa, P. B. (2015). The biomarker sex hormone-binding globulin- from established applications to emerging trends in clinical medicine. *Best practice and research. Clinical endocrinology and metabolism*, 29(5), 749–760. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2015.06.005>
- Touré, A., Martinez, G., Kherraf, Z., Cazin, C., Beurois, J., Arnoult, C., Ray, P. and Coutton, C. (2020). The genetic architecture of morphological abnormalities of the sperm tail. *Human Genetics*, 140(1), 21–42. <https://doi.org/10.1007/s00439-020-02113-x>
- Tremellen K. (2008). Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. *Human reproduction update*, 14(3), 243–258. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmn004>
- Trokoudes, K. M., Skordis, N. and Picolos, M. K. (2006). Infertility and thyroid disorders. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 18(4), 446–451.
<https://doi.org/10.1097/01.gco.0000222377.81991.7b>
- van der Horst, G., Maree, L., Kotze, S.H., O'Riain, M.J. (2011). Sperm structure and motility in the eusocial naked mole-rat, *Heterocephalus glaber*: a case of degenerative orthogenesis in the absence of sperm competition? *BMC Evolutionary Biology*, 5 (11), 351.
- Uslu, İ. (2006). Tiroid ve üreme sistemi. U. Çolgar (Ed.), *Reprodüktif endokrinoloji ve infertilite* (s. 417-427). İstanbul Medikal Yayıncılık. ISBN:975-6395-65-6.
- Vaghela, K., Oza, H., Mishra, V., Gautam, A., Verma, Y., Mishra, S. and Kumar, S. (2016). Relationship between thyroid profile with reproductive hormones and semen quality. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology and Sciences*, 21, 250–258.
- Vazquez-Levin, M. H., Marín-Briggiler, C. I., Caballero, J. N. and Veiga, M. F. (2015). Epithelial and neural cadherin expression in the mammalian reproductive tract and gametes and their participation in fertilization-related events. *Developmental biology*, 401(1), 2–16. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2014.12.029>
- Wajner, S. M., Wagner, M. S. and Maia, A. L. (2009). Clinical implications of altered thyroid status in male testicular function. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia and Metabologia*, 53(8), 976–982. <https://doi.org/10.1590/S0004-27302009000800011>

- Wang, Y., Zhou, B., Chen, Y., Liu, C., Huang, L., Liao, J., Hu, X., Lu, W., Zeng, Q. and Pan, A. (2018). Thyroid function, phthalate exposure and semen quality: Exploring associations and mediation effects in reproductive-aged men. *Environment International*, 116, 278–285. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.04.031>
- Wilson, S. A., Stem, L. A. and Bruehlman, R. D. (2021). Hypothyroidism: Diagnosis and Treatment. AAFP. <https://www.aafp.org/pubs/afp/issues/2021/0515/p605.html#references>
- Wilton, L., Temple-Smith, P. and De Kretser, D. (1992). Quantitative ultrastructural analysis of sperm tails reveals flagellar defects associated with persistent asthenozoospermia. *Human Reproduction*, 7(4), 510–516. <https://doi.org/10.1093/OXFORDJOURNALS.HUMREP.A137681>
- World Health Organization (2021). WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen Sixth Edition. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/343208/9789240030787-eng.pdf?sequence=1>
- Wu, S., Tan, G., Dong, X., Zhu, Z., Li, W., Lou, Z. and Chai, Y. (2013). Metabolic profiling provides a system understanding of hypothyroidism in rats and its application. *PloS one*, 8(2), e55599. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055599>
- Xu, Q., Wang, X. and Peng, Y. (2017). Hypothyroidism induced by propylthiouracil decreases sirtuin1 content in rat heart. *Journal of Laboratory and Precision Medicine*, 2, 67. <https://doi.org/10.21037/JLPM.2017.08.03>
- Ylli, D., Klubo-Gwiedzinska, J. and Wartofsky, L. (2019). Thyroid emergencies. *Polish archives of internal medicine*, 129(7-8), 526–534. <https://doi.org/10.20452/pamw.14876>
- Ziglioli, V., Panciera, D. L., Troy, G. C., Monroe, W. E., Boes, K. M. and Refsal, K. R. (2017). Effects of Levothyroxine Administration and Withdrawal on the Hypothalamic-Pituitary-Thyroid Axis in Euthyroid Dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 31(3), 705–710. <https://doi.org/10.1111/jvim.14711>
- Zhou, X., Wang, J., Sheng, N., Cui, R., Deng, Y. and Dai, J. (2018). Subchronic reproductive effects of 6:2 chlorinated polyfluorinated ether sulfonate (6:2 Cl-PFAES), an alternative to PFOS, on adult male mice. *Journal of Hazardous Materials*, 358, 256–264. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.07.004>

EKLER

EK-1. Etik Kurul Karar Yazısı



T.C.
ANADOLU ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR FORMU

Toplantı No: 5 Dosya Kayıt No:24-10 BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	"Levotiroksinin hipotiroidizm modelinde erkek sıçanlarda reproduktif toksik etkilerinin değerlendirilmesi"
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI / ADI KURUMU	Prof. Dr.Özlem ATLI EKİÖĞLU Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Prof. Dr.Sinem İLGİN,Dr.Öğr.Üy. Merve BAYSAL,Öğr.Gör.Büşra KORKUT ÇELİKATEŞ,Arş.Gör. Abdullah Burak KARADUMAN, Arş. Gör. Merve GÜVEN
	Hayvan Türü ve Sayısı	S.Dawley(Erkek-40)

DEĞERLENDİRİLEN BELGE	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ	Var
-----------------------	----------------------------------	-----

KARAR BİLGİLERİ	Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr.Özlem ATLI EKİÖĞLU'nun 25.04.2024 tarih ve 24-07 karar no ile düzeltme istenen "Levotiroksinin hipotiroidizm modelinde erkek sıçanlarda reproduktif toksik etkilerinin değerlendirilmesi" başlıklı etik kurul proje düzeltme başvurusu, Deney Hayvanları etik kurul yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına karar verilmiştir. KARAR NO: 2024-10 KARAR TARİHİ: 15.05.2024
-----------------	---

ETİK KURUL ÜYELERİ			
ÜNVANI / ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ	BİRİMİ	TOPLANTIYA KATILMA	KARARA KATILMA İMZA
Prof. Dr. Bülent ERGUN BAŞKAN	Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Prof. Dr. Özgür Devrim CAN ÜYE	Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Prof. Dr. A.Tansu KOPARAL ÜYE	Yunus Emre Sağlık Hiz. Meslek Yüksek Okulu	☐ Katıldı ☒ Katılmadı	
Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ ÜYE	Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Prof.Dr. Ümide DEMİR ÖZKAY ÜYE	Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Prof. Dr. M.Sinan KAYNAK ÜYE	Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı	☐ Katıldı ☒ Katılmadı	
Dr.Öğr.Üy.Mustafa ESER ÜYE	Deney Hayvanları Arş. Ve Uyg. Birimi	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Vet. Hek. Mustafa SAYIN ÜYE	Serbest	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Av.İsmail KARADANA ÜYE	STK Üyesi	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	

Anadolu Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu Sekreterliği, Yunus Emre Kampüsü, 26470 ESKİŞEHİR
Tel+90 222 335 05 80-3798 Faks+90 222 335 36 16, E-Posta hadyekanadolu@gmail.com, Web http://www.anadolu.edu.tr

EK-2. Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası

	
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU	
DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI	
Sayın MERVE GÜVEN	
21/05/2024 - 30/05/2024 tarihleri arasında Eskişehir Osmangazi Üniversitesi HADYEK tarafından Eskişehir ilinde düzenlenen “Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası” eğitimini başarı ile tamamlayarak A kategorisi sertifikası almaya hak kazanmıştır.	
Prof. Dr. Kubilay Uzuner HADYEK BAŞKANI	Prof. Dr. KAMİL ÇOLAK Rektör
	

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Merve GÜVEN

Yabancı Dil: İngilizce

Eğitim Bilgileri:

- Yüksek Lisans: 2022-2024, Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı
- Lisans: 2016-2022, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
- Erasmus Eğitimi: Şubat 2021-Ağustos 2021, Università degli Studi di Perugia

Mesleki Deneyim:

- Nisan 2023-halen, Araştırma Görevlisi, Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı
- Ağustos 2022-Şubat 2023, Ar-Ge Formülasyon Geliştirme Uzman Yardımcısı, Türk Tıpsan A.Ş.
- Şubat 2022-Nisan 2022, Üretim Stajyeri, Drogsan İlaç San. Ve Tic. A.Ş.
- Temmuz 2019-Eylül 2019, Stajyer Eczacı, Özgün Eczanesi

Yayınlar:

- Güven, M., Güven, N.M., Eke, B. (2023). Polikistik Over Sendromunda MikroRNA'ların Rolü. Eczacılıkta Yenilikler 4, Asuman Bozkır, İlkay Yıldız (Ed.), Ankara Üniversitesi Yayınları, Ankara, ss. 551-560.

Sertifikalar:

- Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası