



**PİOGLİTAZONUN ERKEK REPRODUKTİF SİSTEM HÜCRE  
DİZİLERİNDE TOKSİSİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Yüksek Lisans Tezi**

**Seda AKYÜZ**

**Eskişehir 2024**

**PIOGLİTAZONUN ERKEK REPRODÜKTİF SİSTEM HÜCRE  
DİZİLERİNDE TOKSİSİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

**Ecz. Seda AKYÜZ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı  
Danışman: Prof. Dr. Özlem ATLI EKİOĞLU**

**Eskişehir  
Anadolu Üniversitesi  
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü**

**Ekim 2024**

## JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Seda AKYÜZ'ün "PİOGLİTAZONUN ERKEK REPRODUKTİF SİSTEM HÜCRE DİZİLERİNDE TOKSİSİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ" başlıklı tezi 25/10/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Toksikoloji Anabilim dalında Yüksek Lisans Yeterlik tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Danışman)	: Prof. Dr. Özlem ATLI EKLIÖĞLU .....	
Üye	: Prof. Dr. Sinem ILGIN .....	
Üye	: Dr.Öğr.Üy. Fuat KARAKUŞ .....	

**Prof. Dr. Saime ÖNCE**  
**Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü**

## ÖZET

### PIOGLİTAZONUN ERKEK REPRODUKTİF SİSTEM HÜCRE DİZİLERİNDE TOKSİSİTESİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Ecz. Seda AKYÜZ

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Ekim 2024

Danışman: Prof. Dr. Özlem ATLI EKLIÖĞLU

Diyabetes mellitus prevalansı her geçen gün daha da artan dolayısıyla tedavisi önem arz eden bir metabolik hastalıktır. Diyabetes mellitus tedavisinde son yıllarda sıklıkla reçete edilen pioglitazonun reproduktif etkileri üzerine çalışma yapılması bu nedenle önem arz etmektedir. Çalışmada TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücre hatları üzerine doza bağımlı hücre canlılığı MTT ile test edilmiştir ve bu konsantrasyonlardan hareketle inhibitör konsantrasyon 50 belirlenmiştir. Bu konsantrasyonlardan hareketle TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücrelerinde hücre canlılığını azalttığı görülmüştür. Sonuç olarak pioglitazonun TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücrelerinde tespit edilen sitotoksik etkisi reproduktif toksisitenin bir göstergesi olarak değerlendirilmiştir.

**Anahtar sözcükler:** Pioglitazon, TM3 Leydig hücreleri, TM4 Sertoli hücreleri, reproduktif toksisite, MTT

## ABSTRACT

### PIOGLITAZONE IN MALE REPRODUCTIVE SYSTEM CELL LINES

#### ASSESSMENT OF TOXICITY

Phc. Seda AKYÜZ

Department of Pharmaceutical Toxicology

Graduate School of Anadolu University, October 2024

Supervisor: Prof. Dr. Özlem ATLI EKLİOĞLU

Diabetes mellitus is a metabolic disease whose prevalence is increasing day by day and therefore its treatment is important. It is therefore important to conduct studies on the reproductive effects of pioglitazone, which has been frequently prescribed in the treatment of diabetes mellitus in recent years. In the study, dose-dependent cell viability was tested with MTT and neutral on TM3 Leydig and TM4 Sertoli cell lines, and the inhibitory concentration 50 was determined based on these concentrations. Based on these concentrations, it was observed that cell viability decreased in TM3 Leydig and TM4 Sertoli cells. As a result, the cytotoxic effect of pioglitazone detected on TM3 Leydig and TM4 Sertoli cells was evaluated as an indicator of reproductive toxicity.

**Key words:** Pioglitazone, TM3 Leydig cells, TM4 Sertoli cells, reproductive toxicity, MTT

## TEŞEKKÜR

Tez süreci boyunca desteğini esirgemeyen sevgili danışman hocam Prof. Dr. Özlem ATLI EKLİOğLU'na;

Süreç boyunca katkılarıyla ve desteğiyle beni yönlendiren Arş. Gör. Merve GÜVEN ve Öğr. Gör. Büşra KORKUT ÇELİKATEŐ'e;

Her zaman yanımda olan aileme ve dostlarıma teşekkürlerimi sunarım.



## 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 çalışmamın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal 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.

Seda AKYÜZ

25/10/24

## 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.

Seda AKYÜZ

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
BAŞLIK SAYFASI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI .....	ii
ÖZET .....	iii
ABSTRACT .....	iv
TEŞEKKÜR .....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ .....	vi
ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI.....	vii
İÇİNDEKİLER .....	viii
TABLolar DİZİNİ .....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ .....	xiii
1 GİRİŞ ve AMAÇ .....	1
2 GENEL BİLGİLER .....	2
2.1 Diyabetes Mellitus Tanımı.....	2
2.2 Diyabetes Mellitusun Sınıflandırılması.....	2
2.2.1 Tip 1 diyabet.....	4
2.2.2 Tip 2 diyabet.....	5
2.3 Diyabetes Mellitus Kronik Komplikasyonları .....	6
2.4 Diyabetes Mellitus Tedavisi .....	7
2.4.1 Diyabetes mellitus tedavisinde kullanılan ajanlar .....	7
2.4.1.1 Biguanidler .....	7
2.4.1.2 Metformin .....	8
2.4.1.3 DPP-IV inhibitörleri .....	8
2.4.1.4 Sitagliptin .....	8
2.4.1.5 Tiyazolidindion .....	8
2.5 Pioglitazon .....	10
2.5.1 Pioglitazon etki mekanizması .....	10

2.5.2 Pioglitazon farmakodinamik özellikleri .....	11
2.5.3 Pioglitazon farmakokinetik özellikleri .....	12
2.5.4 Pioglitazon advers etkileri .....	14
2.5.5 Pioglitazon toksisitesi .....	16
2.6 Erkek Üreme Sistemi .....	16
2.6.1 Testisler .....	16
2.6.2 Epididimis .....	17
2.6.3 Vas deferens .....	17
2.6.4 Seminal veziküler .....	17
2.6.5 Prostat .....	17
2.6.6 Penis .....	18
2.6.7 Spermatogenez .....	18
2.6.7.1 <i>Spermatogenezde rol oynayan hormonlar</i> .....	19
2.6.7.1.1 <i>Gonadotropin salıcı hormon</i> .....	19
2.6.7.1.2 <i>Folikül stimüle edici hormon</i> .....	19
2.6.7.1.3 <i>Lüteinize edici hormon</i> .....	19
2.6.7.1.4 <i>Testosteron</i> .....	19
2.6.8 Reprodüktif toksisite .....	20
2.6.8.1 <i>Semen analizi</i> .....	22
2.6.9 <i>İn vitro</i> reprodüktif toksisite testleri .....	22
2.7 Pioglitazon-Erkek Reprodüktif Sistem Toksisitesi İlişkisi .....	25
3 GEREÇ VE YÖNTEMLER .....	26
3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler .....	26
3.2 Kullanılan Araç ve Gereçler .....	26
3.3 Kullanılan Hücre Hatları .....	27
3.4 Yöntemler .....	27
3.4.1 Hücre hatlarının çoğaltılması .....	27

3.4.2 Hücre canlılığının belirlenmesi .....	28
3.4.2.1 MTT sitotoksosite testinin uygulanması .....	29
3.4.3 Moleküler doking çalışmaları .....	29
3.4.4 Verilerin analizi .....	30
<b>4 BULGULAR .....</b>	<b>30</b>
4.1 Sitotoksosite Testleri .....	30
4.1.1 MTT sitotoksosite testi ve istatistiksel analiz .....	30
4.2 Moleküler Doking Çalışmaları .....	32
<b>5 TARTIŞMA VE ÖNERİLER .....</b>	<b>41</b>
5.1 Tartışma .....	41
5.2 Öneri .....	47
<b>KAYNAKÇA .....</b>	<b>48</b>
<b>ÖZ GEÇMİŞ</b>	

## TABLULAR DİZİNİ

	<b><u>Sayfa</u></b>
<b>Tablo 2.1</b> Diyabetes Mellitusun Sınıflandırılması.....	3
<b>Tablo 2.2</b> Diyabetes Mellitusun Tanı Kriterleri.....	4
<b>Tablo 2.3</b> Tip 2 diyabetle ilişkili kronik komplikasyonlar.....	6
<b>Tablo 2.4</b> Pioglitazonların dokulardaki etkileri.....	12
<b>Tablo 2.5</b> Pioglitazon metabolitleri.....	13
<b>Tablo 2.6</b> Erkek Üreme Sistemi Bozuklukları.....	21
<b>Tablo 2.7</b> DSÖ sperm parametreleri.....	22
<b>Tablo 2.8</b> <i>İn vitro</i> reproduktif tayin testleri.....	23
<b>Tablo 4.1</b> Pioglitazon molekülünün TNF-a (PDB ID:2AZ5), IL-1B (PDB ID:8C3U) ve kaspaz-3 (PDB ID:4QTX) kristalleri için doking skorları.....	33
<b>Tablo 4.2</b> Pioglitazon molekülünün TNF-a (PDB ID:2AZ5), IL-1B (PDB ID:8C3U) ve kaspaz-3 (PDB ID:4QTX) kristalleri için aminoasit etkileşimleri ve tipleri.....	34

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 2.1.</b> Tiyazolidindion türevi ilaçların kimyasal yapıları.....	9
<b>Şekil 4.1</b> TM3 Leyding Hücreleri MTT Testi.....	31
<b>Şekil 4.2</b> TM4 Sertoli Hücreleri MTT Testi.....	32
<b>Şekil 4.3.</b> Pioglitazon ile TNF-a (PDB ID:2AZ5) etkileşiminin iki boyutlu görseli.....	35
<b>Şekil 4.4</b> Pioglitazon ile TNF-a (PDB ID:2AZ5) etkileşiminin üç boyutlu görseli.....	36
<b>Şekil 4.5</b> Pioglitazon ile IL-1B (PDB ID:8C3U) etkileşiminin iki boyutlu görseli.....	37
<b>Şekil 4.6</b> Pioglitazon ile IL-1B (PDB ID:8C3U) etkileşiminin üç boyutlu görseli.....	38
<b>Şekil 4.7</b> Pioglitazon ile kaspaz-3 (PDB ID:4QTX) etkileşiminin iki boyutlu görseli...	39
<b>Şekil 4.8</b> Pioglitazon ile kaspaz-3 (PDB ID:4QTX) etkileşiminin üç boyutlu görseli...	40

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

APG	: Açlık plazma glukozu
CPK	: kreatin fosfokinaz
DM	: Diyabetes Mellitus
DMEM-F12	: Dulbecco'nun Modifiye Eagle Ortamı
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FSH	: Folikül stimüle edici hormonu
GİP	:İnsülinotropik polipeptid
GLP-1	:Glukagon benzeri peptid-1
GnRH	:Gonadotropin salıcı hormon
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
LH	: Lüteinize edici hormonlar
OGTT	:Oral glukoz tolerans testi
PPAR- $\gamma$	:Peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gama agonistleri
TRG	:Trigliserid

## 1 GİRİŞ ve AMAÇ

Bir çiftin bir yıl boyunca doğum kontrol yöntemleri kullanmadan düzenli cinsel aktivitede bulunmasına rağmen çocuk sahibi olamaması infertilite olarak bilinir (Tamrakar, S. R. ve Bastakoti R.,2019). Dünya çapında çiftlerin yaklaşık %12'si, insanlarda giderek artan bir oran olan infertiliteden etkilenmektedir. Bu vakaların yaklaşık yarısından erkek bileşenin sorumlu olduğu düşünülmektedir (Vander Borgh M ve Wyns C.,2018; Durairajanayagam D.,2018). Erkeklerin doğum öncesi ve doğum sonrası gelişimindeki bozukluklar, anormal sperm kalitesi ve erkek doğurganlığının azalmasıyla doğrudan ilişkilidir. İnsanlarda erkek gonadal fonksiyon bozukluğu ve infertilite çevresel maruziyetler, genetik kusurlar veya her ikisinden kaynaklanabilir. Bunlar arasında eksojen gonadotoksik maddeler ve endokrin bozucu ilaçlar olarak bilinen tıbbi tedavilerde kullanılan ilaçlar da yer alır (Semet M vd.,2017; Skakkebaek NE vd.,2001). Sperm sayısındaki düşüğe ilişkin araştırmalar, bu düşüşün ardındaki değişkenlerin belirlenmesi gerektiğini vurgulamaktadır (Levine H vd.,2017; Lokeshwar SD vd.,2020).

Diyabetes mellitus azalan insülin sekresyonu veya etkisi ile oluşan metabolik bir hastalıktır (Yazıcı H vd.,2005). Amerikan Diyabet Derneği'nin sınıflandırma sistemi bunları farklı türlere ayırmaktadır (American Diabetes Association,2010). Bireyler daha uzun yaşadıkça, daha az fiziksel aktiviteye katıldıkça ve daha fazla obez hale geldikçe, diyabet prevalansı önemli ölçüde artmıştır (Songer TJ ve Zimmet PZ,1995). Takip eden 25 yılda, 150 milyon olan diyabetes mellitus hastası sayısının tahmin edilenlere göre 300 milyona çıkacağı düşünülmektedir (King H vd.,1998).

Dünya çapında obezite ve diyabet prevalansı arasında giderek artan bir ilişki vardır. 1997 ve 2010 yıllarında yapılan Türkiye Diyabet Epidemiyolojisi Araştırması'nın ön bulguları incelendiğinde, Türk yetişkinlerinin %13,7'sinin diyabet hastası olduğu görülmüştür. Son 12 yılda DM prevalansının yaklaşık iki katına çıktığı kaydedilmiştir (Satman İ vd.,2010).

Diyabetli bireylerde glisemik kontrol için yaşam tarzı değişiklikleri önerilmektedir. Glisemik kontrol için hem farmasötik tedavi hem de yaşam tarzı değişiklikleri gereklidir. Oral antidiyabetikler farmakolojik tedavinin bir parçası olarak tek başına veya insülin veya insülin analoglarıyla birlikte kullanılabilir (American Diabetes, A,2019; European Diabetes Policy Group,1999).

Tip 2 diyabetes mellitusda insülin duyarlılığının azalması önemli etkenlerden biridir (Songer TJ ve Zimmet PZ.,1995). İnsülin duyarlılığının azalması ile erkeklerdeki testosteron düzeyinin azalması dolayısıyla infertilite arasında bir bağlantı olduğu düşünülmektedir (Kapoor D vd.,2005).

Pioglitazon dünya çapında sıkça reçete edilen bir oral antidiyabetiktir. Tiyazolidindion türevidir. Proliferatör aktive edici reseptör gama agonisti olup insülinin dokulardaki etkinliğini artırarak etkisini gösterir (Satman I,2009; http-1). Periferik ödem ve konjestif kalp yetmezliğini artırma, iskelet sisteminde kırıklar, kilo aldırma advers etkilerindedir (Soccio RE vd.,2014).

Pioglitazonun reproduktif sisteme etkileri üzerine yapılan çalışmalar mevcuttur. Yapılan bazı çalışmalarda erkek reproduktif sistemde etkili olan testosteronun biyosentezini ve işlevini azalttığı tespit edilmiştir (Carruthers M vd.,2008). Yapılan başka çalışmalarda ise diyabetes mellitusun androjen reseptörlerini olumsuz etkilediği ve pioglitazon tedavisi ile bu olumsuz etkide iyileşme olduğu görülmüştür (Ayuob NN vd.,2015). Bulunan sonuçların çelişkili olması nedeniyle pioglitazon ilişkili erkek reproduktif toksisitesinin araştırılmaya ihtiyacı olduğu açıktır.

Bu tez çalışmasında; prevalansı artmakta olan diyabetes mellitus tedavisinde kullanılan pioglitazonun erkek reproduktif toksisitesinin Sertoli ve Leydig hücrelerinde *in vitro* değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## **2 GENEL BİLGİLER**

### **2.1 Diabetes Mellitusun Tanımı**

Diabetes Mellitus, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında bozukluklara yol açan, bozulmuş insülin hormonu salgılanması ve/veya insülin aktivitesi ile karakterize edilen kronik hiperglisemik bir metabolizma hastalığıdır. Kronik hiperglisemi nedeniyle diyabet, gözlerin, böbreklerin, sinirlerin, kalbin ve damar sisteminin normal işleyişini bozarak uzun vadeli sorunlara neden olan bir hastalıktır (Yazıcı H vd.,2005).

### **2.2 Diabetes Mellitusun Sınıflandırılması**

Diyabetin patogenezi ve etiyolojisinin daha iyi anlaşılması, hastalığın sınıflandırmasının revizyonuna yol açmaktadır. İnsülin direnci bazı diyabet türlerinin temel sebebiyken bazılarında ise insülin yetersizliğine veya insülin sekresyonunun azalmasına neden olan

genetik bir anormallik vardır. Ulusal Diyabet Çalışma Grubu, 1979 yılında diyabetin sınıflandırılmasına ilişkin ilk fikir birliği kararını sunmuş ve Dünya Sağlık Örgütü, bazı küçük değişikliklerden sonra 1980 yılında bu kararı kabul etmiştir. Bu sınıflandırma, hastalıkları hem patogenezinin hem de tedavi gerekliliğine göre gruplandırmaktadır. Amerikan Diyabet Derneği (ADA), tip 2 diyabetli bazı hastaların zamanla insüline ihtiyaç duyduğu ve bazı nadir görülen diyabet türlerinin mevcut sınıflandırmaya dahil edilmediği gözlemleri nedeniyle, diyabetes mellitus ile ilgili etiyolojik bir kategorizasyon geliştirmiştir (American Diabetes Association,2010). Tüm bu faktörler ve diyabetin patofizyolojisinin giderek daha iyi anlaşılmasıyla birlikte, Amerikan Diyabet Derneği'nin (ADA) revize edilmiş sınıflandırması 1997'de kabul edilmiştir (American Diabetes, A., 2019). Buna göre diyabetin güncel sınıflaması tablo 2.1'de özetlenmiştir.

**Tablo 2.1**

*Diyabetes Mellitusun Sınıflandırılması*

- 
1. Tip 1 DM  
A-İmmün aracılıklı  
B-İdiyopatik
  2. Tip 2 DM
  3. Diğer Spesifik Tipler  
A-Beta hücre fonksiyonunda genetik defekt  
B-İnsülin etkisinde genetik defekt  
C-Ekzokrin pankreas hastalıkları  
D-Endokrinopati  
E-İlaç veya kimyasal ajanlar  
F-Enfeksiyonlar  
G-İmmün aracılıklı nadir diyabet formları  
H- DM ile ilişkili diğer genetik bozukluklar
  - 4-Gestasyonel diyabetes mellitus
- 

*Kaynak: American Diabetes, A.,2019*

Amerikan Diyabet Derneği (ADA) 2010 yılında diabetes mellitus için tanı kriterleri oluşturmuştur.Bu kriterler tablo 2'de belirtilmiştir (Yazıcı H vd.,2005). (Tablo 2.2)

## Tablo 2.2

### *Diyabetes Mellitusun Tanı Kriterleri*

1. En az sekiz saat açlık sonrası plazma glukozunun  $\geq 126$  mg/dl olması\*.
2. Oral glukoz tolerans testinde 2.saat plazma glukozunun  $\geq 200$  mg/dl olması<sup>1\*</sup>
3. Klasik hiperglisemi semptomları bulunan veya hiperglisemik krizdeki bir hastada rastlantısal plazma glukoz konsantrasyonunun  $\geq 200$  mg/dl olması.
4. HbA1c  $\geq$  % 6,5 (Test NGSP sertifikalı bir laboratuvarında DCTT standardize bir metotla yapılmış olmalı)<sup>2\*</sup>

1-Dünya Sağlık Örgütü'nün tanımına uygun olarak suda çözülmüş 75 g anhidroz glukoz ihtiva eden seker yüklemesi ile yapılmalıdır.

2-NGSP : National Glycohemoglobin Standardization Program DCTT: Diabetes Control and Complications Trial

\*Net hiperglisemi yokluğunda bu kriterler tekrar edilerek doğrulanmalıdır.

*Kaynak: Yazıcı H vd.,2005*

Bu kriterlerden bir veya birden fazlasının olması ile diabetes mellitus tanısı konulmaktadır (Yazıcı H vd.,2005). Eğer açlık plazma glukozu (APG) 100-125 mg/dl arasında ise oral glukoz tolerans testi (OGTT) yapılması önerilmektedir (Satman İ vd., 2009).

Diyabetin birçok patojenik nedene bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir. Tip 1 diyabetin ana nedeni, insülin eksikliğine neden olan otoimmün mekanizma veya beta hücrelerini yok eden tanımlanamayan süreçtir; Tip 2 diyabette ise beta hücre eksikliği sonucu insülin sekresyonunun bozulması ve hedef dokularda insülin direnci sonucu insülin etkisinin azalmasıdır (Yazıcı H vd., 2005).

### **2.2.1 Tip 1 diyabet**

Tip 1 diyabet genellikle çocukluk ve ergenlik döneminde gelişir. Tanı alan kişilerin çoğu otuz yaşın altındadır. Genellikle ilerleyici hastalıktır. En yaygın nedenlerinden biri Pankreas  $\beta$  hücrelerinin (tip 1A) idiyopatik otoimmün yıkımı gösterilir. Tip 1 Diyabet İdiyopatik diyabet olarak da bilinir. Tip 1 diyabet kalıtsaldır, nadirdir ve etiyolojisi tam olarak bilinmemektedir. Tip 1 diyabetli bireylerin %90'ından fazlası otoimmün gruba aittir (İmamoğlu Ş.,2006).

### 2.2.2 Tip 2 diyabet

Tip 2 diyabet zamanla ilerleyen kronik bir hastalık olarak tanımlanır. Tip 2 diyabet, hiperglisemi, insülin direnci, bozulmuş glukoz toleransı ve pankreas hücre aktivitesi, artan hepatik glukoz üretimi ile karakterize edilen karmaşık ve çeşitli bir durumdur (Tallman DL ve Taylor CG.,1999). Tip 2 diyabet, insülin eksikliğinin bir sonucu olmaktan çok, hücrelerin insülini kullanamamasından kaynaklanır (Unger RH vd.,1998). Tip 2 diyabet, hareketsiz bir yaşam tarzı sürdüren, yüksek yağlı diyet tercih eden, strese maruz kalan, obez ve yaşlı kişilerde daha sık görülür. Tip 2 diyabetin etiyojisine yönelik çalışmaların çoğu, insülin direncinin insülin sekresyon bozukluğundan önce geldiği görüşünü desteklemektedir (Yahya S.,2004). Farklı seviyelerdeki insülin direnci,  $\beta$  hücrelerinin işlevlerinin kademeli olarak bozulması ve yetersiz insülin üretimi bunun tanımlayıcı özellikleridir. Hiperglisemiyi kontrol altına almak için hastaların üçte biri ile dörtte biri arasında insülin tedavisi gereklidir. Tip 2 diyabetin teşhis ve tedavi edilmediği süreçte metabolik sorunlar ve doku bozulmaları meydana gelir (Özata M.,2006). Obezite, fiziksel hareketliliğin azalması ile birlikte yaşam süresinin uzaması sonucunda diyabet prevalansı önemli ölçüde artmıştır (Songer TJ ve Zimmet PZ.,1995). Önümüzdeki 25 yıl içerisinde diyabetli birey sayısının 150 milyondan 300 milyona çıkacağı öngörülmektedir (King H vd.,1998).

Şu anda tip 2 diyabet epidemik bir hastalık grubu olarak kabul edilmektedir. Diyabetin küresel prevalansı 2000 yılında %2,8 iken, 2030 yılında prevalansın %4,4'e, diyabetli sayısının ise 171 milyondan 366 milyona çıkacağı düşünülmektedir (Wild S vd.,2004). Dünya çapında obezite ve diyabet prevalansı arasında artan bir ilişki vardır. Türk Diyabet Epidemiyolojisi Çalışması (TURDEP-1) Türkiye'de bozulmuş glukoz toleransı prevalansının %6,7, diyabet prevalansının ise %7,2 olduğunu bildirmiştir. Çalışma Eylül 1997 ile Mart 1998 tarihleri arasında Türkiye'de yürütülmüş ve sonuçları 2002 yılında yayınlanmıştır (Satman I vd.,2002). Ocak-Haziran 2010 tarihleri arasında gerçekleştirilen TURDEP-II araştırmasının ilk bulgularına göre Türkiye'deki yetişkin nüfusta diyabet prevalansı %13,7 dir ve ülkemizde son 12 yılda alınan tüm önlemlere rağmen diyabet görülme sıklığı yaklaşık iki katına çıktığı tespit edilmiştir (Satman I vd.,2010).

40 yaşından sonra tipik olarak tip 2 diyabet gelişir ve genellikle bu hastalarda aile öyküsü mevcuttur. Tip 2 diyabet hastalarının yaklaşık yarısında poliüri, polifaji, polidipsi ve kilo kaybı gibi klasik diyabet belirtileri görülür. Bazı hastalara ilk olarak diyabetik koma tanısı

konurken, diğlerlerine retinopati, nefropati, nöropati ve aterosklerotik kalp hastalığı dahil olmak üzere diyabetin semptomatik olmayan hiperglisemiye bağı kronik sekelleri için devam eden teşhisler konur (Sencer E.,2001). Çoğu hastaya tesadüfi bulgulara dayanarak hiperglisemi veya glikozüri ile diyabet tanısı konulmaktadır (Kolo lu S.,1996; Kyki-Jarvinen H.,1994).

### **2.3 Diabetes Mellitusun Kronik Komplikasyonları**

Tip 2 diyabetli hastaların dokularında ve birçok organında morfolojik, biyokimyasal ve fonksiyonel değışiklikler görülür.Kronik komplikasyonlar birçok organa zarar veren, hastanın yaşam kalitesini bozan, hatta erken ölüme neden olabilen önemli sorunlardır. Tip 2 diyabetin morbidite ve mortalitesinden çoğunlukla onlar sorumludur. Tablo 2.3 tip 2 diyabetle bağılantılı kronik sorunları sınıflandırmaktadır (Burant CF.,2004).

#### **Tablo 2.3**

*Tip 2 diyabetle ilişkili kronik komplikasyonlar*

---

#### 1-Vasküler Komplikasyonlar

##### -Makrovasküler Komplikasyonlar

- Hızlanmış koroner ateroskleroz
- Hızlanmış serebral ateroskleroz
- Hızlanmış periferik vasküler hastalık

##### -Mikrovasküler Komplikasyonlar

- Retinopati
- Nefropati

#### 2-Nöropati Sendromları

- Sensörimotor nöropati
- Otonom nöropati

#### 3-Mist Vasküler ve Nöropatik Hastalıklar

- Ayak ve bacak ülserleri

---

*Kaynak: Burant CF.,2004*

## 2.4 Diyabetes Mellitus Tedavisi

Hastalar diyabetin nedenleri, mevcut tedaviler, diyet ve egzersizin önemi, kan şekeri düzeylerinin nasıl izleneceği, öngörülemeyen durumlarla nasıl başa çıkılacağı, komplikasyonların nasıl tanınacağı ve hastalığın ilerlemesine karşı önleyici tedbirlerin nasıl alınacağı konusunda eğitilmelidir. Diyabet tedavisinin ana hedefleri, kan şekeri yönetimi, akut komplikasyon riskini azaltmak ve hastayı, hastalığın retina, böbrekler, beyin, kalp ve damarlar üzerindeki uzun vadeli zararlı etkilerinden korumaktır (American Diabetes, A.,2019).

Diyabetli bireylerde glisemik kontrol için aşağıdaki terapötik yöntemler kullanılabilir (American Diabetes, A.,2019):

- 1) Yaşam tarzı değişiklikleri (diyet, egzersiz, ideal kilonun sağlanması)
- 2) Medikal tedaviler
  - a) İnsülin harici antihiperglisemik ilaçlar (Oral antidiyabetikler ve insulinomimetik ilaçlar)
  - b) İnsülinler ve insülin analogları

Diyabet tedavisinde glisemik kontrolün sağlanabilmesi için farmakolojik müdahale gerekmektedir. Oral antidiyabetik ilaçlar tek başına, insülinle birlikte veya tip 2 diyabetle ilişkili bir veya daha fazla patofizyolojik sorunun tedavisinde kombinasyon halinde alınabilir (Standl E, fuchtenbusch M.,2003; European Diabetes Policy Group.,1999).

### 2.4.1 Diyabetes mellitus tedavisinde kullanılan ajanlar

#### 2.4.1.1 Biguanidler

Türkiye'de kullanılan tek biguanid metformindir. Biguanid grubu ilaçlar metformin (di metil biguanid) ve fenformin (fenetil biguanid) ilk kez 1957 yılında tip 2 diyabetin tedavisinde kullanılmak üzere tanıtılmıştır (Bahçeli M.,2003; Stumvoll M vd.,2004).

2 önemli mekanizması vardır. Bu mekanizmalar;

1-Hücresel solunumu inhibe ederler

2-Anaerobik glikolizi uyarır ve böylece laktat oluşumunu uyarır.

Bu süreçler kalp yetmezliği ve ateroskleroz gibi hipoksik durumlarda çok önemli bir rol oynar. Biguanid toksisitesine ilişkin temel fikirler arasında karaciğerde birikim ve lipofilik membran bileşenlerine bağlanma yer alır (Bahçeli M.,2003).

#### **2.4.1.2 Metformin**

Ülkemizde diyabet tedavisinde kullanılan tek biguanid metformindir. Periferik dokularda insülin duyarlılığını artırır. Ayrıca diyabeti olmayanlarda kan şekerini düşürmediği için antihiperlipidemik ilaç olarak kabul edilir. Diyabetli bireylerde plazma glikoz konsantrasyonunu normal aralıkların altına düşürmeksizin düzenler. Öncelikle hepatik glikoz sentezini azaltma ve insülin varlığında mevcut olduğunda insülin etkisini artırma etkisine sahiptir. Glisemik yönetimle serum insülin düzeylerinin düştüğü gözlemlenmiştir (McCulloch DK.,2004; Bailey CJ ve Turner RC.,1996).

#### **2.4.1.3 DPP-IV inhibitörleri**

Tip 2 diyabette etkisi azalan glukoz bağımlı insülinotropik polipeptid (GİP) ve glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) gibi inkretin hormonlarının etkinliğini artıran DPP-IV inhibitörleri açlık plazma glukoz seviyelerini de etkiler. DPP-IV inhibitörü olan sitagliptin FDA onayı almıştır ancak DPP-IV inhibitörleri üzerinde çalışmalar devam etmektedir (Cefalu WT.,2007).

#### **2.4.1.4 Sitagliptin**

Tip 2 diyabet tedavisinde tek başına veya diğer oral antidiyabetik ilaçlarla (metformin ve glitazonlar gibi) birlikte kullanılabilir. Günlük 100 ve 200 mg dozlarda ağızdan alındığında sitagliptinin FPG ve HbA1c'yi önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Oral formu iyi tolere edilme avantajına sahiptir ve hipoglisemi riskini artırmaz. Sitagliptin ve metformin birlikte HbA1c'yi %0,7 oranında azaltabildiğinden, bu kombinasyon geçerli bir tedavi seçeneği olarak ortaya çıkmıştır (Cefalu WT.,2007).

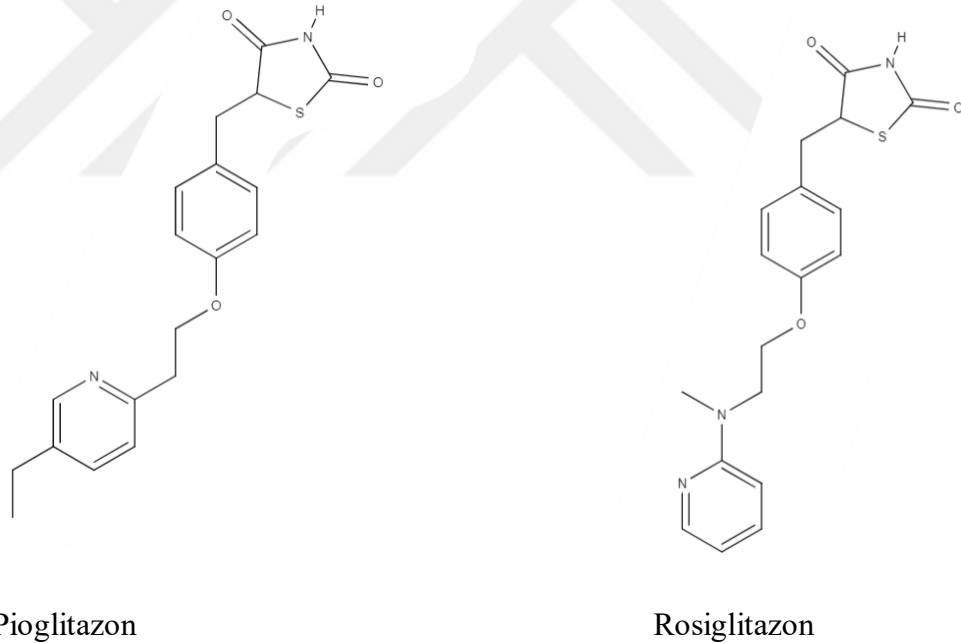
#### **2.4.1.5 Tiyazolidindion**

Tiyazolidindionlar, 1997 yılında insülin duyarlılığını artıran ilaçlar olarak tanımlanmıştır (Wild S vd.,2004). Peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gama (PPAR- $\gamma$ ) agonistleri olarak da adlandırılırlar. PPAR- $\gamma$  reseptör aktivasyonu yoluyla etkilerini gösterirler. İnsüline duyarlı genlerin transkripsiyonunu artırılırlar ve nükleer PPAR- $\gamma$ 'yı hedeflerler (Bailey CJ ve Day C.,2004). İnsülin direncini düşürerek glisemik kontrolü

sağlarlar. Tiyazolidin-2-4-dion yapısında olup her birinin yan zincirleri farklıdır (Hardy E ve Jabbour SA. ,2004). Antidiyabetik etki ana halkaya atfedilir ve bu halkadaki değişiklikler antidiyabetik etkiye neden olmak yerine ilacın farmakokinetik ve farmakodinamik özelliklerini değiştirir. Araştırmalar, glitazonların glikoz seviyeleri üzerindeki etkilerinin insülin varlığına bağlı olduğunu göstermiştir. Bir çalışmada, insülin uygulanmadığı sürece insülin üretimi olmayan sıçanlarda glitazonların etkili olamadığı gösterilmiştir. Glitazonların antihiperглиsemik özelliklerinin yanı sıra vasküler inflamasyon, oksidatif stres, endotel fonksiyonu ve lipid metabolizması üzerinde de yararlı etkileri olduğu gösterilmiştir (Vergès B. ,2004).

## Şekil 2.1

*Tiyazolidindion türevi ilaçların kimyasal yapıları*



Tiyazolidinedionlar, antilipidemik ve antihiperглиsemik özellikleri nedeniyle klofibratik asit analoglarının araştırılması sırasında keşfedilmiş ve daha sonra nükleer hormon reseptörü PPAR-y'nin ligandı olduğu tespit edilmiştir (Day C.,1999).

Troglitazon keşfedilen ilk tiyazolidinediondur. Troglitazon, 2000 yılında piyasadan kaldırılmadan önce karaciğer yetmezliğine, karaciğer toksisitesine ve FDA araştırmasına göre 61 ölüme ve 7 karaciğer nakline neden olmuştur (Bailey CJ.,2000). Araştırmalar

rosiglitazonun kardiyotoksik etkilere sahip olduğunu ve miyokard enfarktüsü riskini artırdığını göstermiştir (Nathan DM.,2007). Sonuç olarak 2010 yılı itibariyle rosiglitazon ülkemizde ve Avrupa ülkelerinde reçete edilmemektedir. Rosiglitazonun kullanımına ABD'de ve diğer birkaç ülkede belirli durumlarda hala izin verilmektedir (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. Diabetes mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem kılavuz, 2018).

## **2.5 Pioglitazon**

Pioglitazon, tiyazolidindion türevi bir ilaçtır. Moleküler formülü  $C_{19}H_{20}N_2O_3S$  olan pioglitazonun kimyasal ismi, Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği isimlendirmesine göre 5-[[4-[2-(5 etilpiridin-2-il)etoksi]fenil]metil]-1,3-tiazolidin-2,4-dion'dur.

### **2.5.1 Pioglitazonun etki mekanizması**

Etkileri periferik dokularda insülin direncinin azalması ve karaciğer ve kaslarda insülin duyarlılığının artmasıyla ortaya çıkar. İnsülin “sensitezer” olarak da adlandırılmaktadır.

Pioglitazon, nükleer reseptör olan peroksizom proliferatör aktive edici reseptöre (PPAR) bağlanarak etkilerini gösterir. Peroksizom proliferatörünü aktive eden reseptörler üç gruba ayrılır:  $\alpha$ ,  $\beta/\delta$  ve  $\gamma$ . Karaciğer, PPAR $\alpha$  ekspresyonunun birincil bölgesidir; iskelet ve kalp kası daha küçük bir miktara sahiptir. PPAR $\beta/\delta$  çeşitli organlarda bulunmasına rağmen insülin direncindeki rolü bilinmemektedir. PPAR $\gamma$ 'nın iki izoformu vardır: PPAR $\gamma_1$  ve  $\gamma_2$ . Yağ dokusu  $\gamma_2$  içerirken, PPAR $\gamma_1$  çeşitli dokularda bulunur. Yağ dokusu diğer dokulara göre daha yüksek bir PPAR $\gamma$  konsantrasyonuna sahiptir. İnsüline yanıt veren glukoz ve yağ metabolizmasının düzenlenmesinde yer alan bir gen, PPAR $\gamma$  nükleer reseptörlerinin aktivasyonu ile transkripsiyonel olarak modüle edilir. Kas ve yağ dokusunda pioglitazon, insülin varlığında glukoz alımını, GLUT-1 ve GLUT-4 reseptör ekspresyonunu, insülin sinyalini ve glikojen sentezi aktivitesini artırır. Ayrıca TNF- $\alpha$ 'yı, serbest yağ asitlerini, trigliserit klirensini ve hepatik glukoneogenezi azaltır. Adipoz dokuyu preadipositleri adipositlere dönüşümünü artırarak düzenler. PPAR $\gamma$ 'nın konsantrasyonu serum insülin konsantrasyonu ile paralel olup obez ve diyabetik hastaların iskelet kaslarında fazladır. Yapılan çalışmalarda insülinin sülfonilüre ve metforminle birlikte tedavide kullanıldığında daha etkili olduğu görülmüştür. Bu

kombinasyonlardan özellikle insülin-pioglitazon kombinasyonunda kalp yetmezliği riskinin arttığına dair çalışma sonuçları da bildirilmiştir (İmamoğlu Ş.,2009; http-1).

Pioglitazon, pankreas  $\beta$  hücrelerindeki trigliserid (TRG) konsantrasyonunu azaltarak  $\beta$  hücre fonksiyonlarında iyileşme sağlanmaktadır. Yüksek olan proinsülin/insülin oranının pioglitazon tedavisi sonrası düşmesi,  $\beta$  hücre fonksiyonlarındaki olumlu etkilerini göstermektedir (Moore KJ vd.,2001).

### **2.5.2 Pioglitazonun farmakodinamik özellikleri**

Tek başına alındıklarında açlık kan şekerini ve hemoglobin A1c'yi (HbA1c) önemli ölçüde düşürürler ve HbA1c düşüşü uzun süreli olur (Lebovitz HE.,2002; Miyazaki Y vd.,2001). Glisemik kontrolün yanı sıra insülin direnç sendromunun komponentlerinin birçoğunu iyileştirir (Miyazaki Y vd.,2001; Phillips LS vd.,2001).

İnsülin direnci olan sağlıklı bireylerde pioglitazon endotel fonksiyon bozukluğunu iyileştirebilir, antiinflamatuvar sitokinleri azaltabilir ve hücrel antioksidan mekanizmaları güçlendirebilir (Quinones, J vd.,2000; Shimazu, T vd.,2005).

İnsülin direncini azaltarak Tip 2 diyabetli kişilerin beta hücrelerini kaybetme oranını düşürdüğü düşünülmektedir. Ishida ve arkadaşları yaptığı bir çalışmada beta hücre ölümünü azalttığı ve oksidatif stresi azaltarak insülin salgılama kapasitesini artırdığı gösterilmiştir (Ishida H vd.,2004).

Dikkate değer hipoglisemik etkilerine ek olarak, tiyazolidindionlar oksidatif stres, vasküler inflamasyon ve lipid metabolizması için de faydalıdır (Verges, B., 2004).

Lipid metabolizmasını önemli ölçüde değiştirirler (Day C.,1999). Serbest yağ asitlerinin konsantrasyonu azalmaktadır. Araştırma bulguları pioglitazonun lipid indekslerini önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermektedir. 5.000'den fazla hastayı kapsayan bir çalışmada Van Wijk ve ark. pioglitazonun trigliserid, total kolesterol ve LDL kolesterol düzeylerini iyileştirdiğini tespit etmiştir. (Van Wijk J.P vd.,2003) Goldberg ve ark. pioglitazonun HDL kolesterolü yükseltirken aynı zamanda LDL partikül boyutunu ve konsantrasyonunu iyileştirdiğini keşfetmiştir (Goldberg RB vd.,2005).

*In vitro* yürütülen araştırmalar, PPAR $\gamma$  agonistlerinin, hücre farklılaşmasının teşvik edilmesi, ölüm ve büyümenin engellenmesi dahil olmak üzere birçok antikanser özelliğine sahip olduğunu göstermiştir (Ohta K vd.,2001). Ancak kemirgenlerde yapılan

çalışmalarda PPAR $\gamma$  agonistlerinin t $\ddot{u}$ m $\ddot{u}$ rogenezi potansiyalize ettiği g $\ddot{u}$ sterilmiştir (Rubenstrunk A vd.,2007). Epidemiyolojik araştırmalar  $\mathcal{C}$ elişkili sonuçlar vermektedir (Koro C vd.,2007; Ramos-Nino ME vd.,2007). İlaçların piyasaya hen $\ddot{u}$ z yeni çıkmış olması ve yalnızca kısa s $\ddot{u}$ reli maruziyete bakılmasının bu  $\mathcal{C}$ elişkili sonuçlarda etkilidir. Pioglitazonlar bu nedenle insanlarda daha y $\ddot{u}$ ks $\ddot{u}$ k veya daha d $\ddot{u}$ ř $\ddot{u}$ k kanser riskiyle bağlantılı olabilir (Ramos-Nino ME vd.,2007).

**Tablo 2.4**

*Pioglitazonların dokulardaki etkileri*

Yağ dokusu	İskelet Kası	Karaciğer
Glukoz alımı $\uparrow$	Glukoz alımı $\uparrow$	Glukoz alımı $\downarrow$
Yağ asiti alımı $\uparrow$	Yağ asiti alımı $\uparrow$	Yağ asiti alımı $\downarrow$
Lipogenez $\uparrow$	Lipogenez $\uparrow$	Lipogenez $\uparrow$
Glukoz oksidasyonu $\uparrow$	Glukoz oksidasyonu $\uparrow$	Glukoz oksidasyonu $\uparrow$

*Kaynak: Karabaş Kuru M.,2009*

### 2.5.3 Pioglitazonun farmakokinetik $\ddot{u}$ zellikleri

Pioglitazon dozları g $\ddot{u}$ nde 15 ila 45 mg arasında değişir. 15–30–45 mg tablet formları vardır. Tek doz olarak yemekle birlikte veya yemek dışında alınabilir. Oral pioglitazon emilimi hızlı ve etkili bir şekilde gerçekleşir. Aken verildiğinde 30 dakikada serumda  $\ddot{u}$  $\ddot{u}$ lebilir (Hardy E ve Jabbour SA.,2004; Gillies PS ve Dunn CJ.,2000). Pioglitazon serum konsantrasyonu, oral dozdan iki saat sonra zirveye ulaşır (Tmaks). Yemekle birlikte alındığında Tmax 3-4 saate kadar çıkabilir (http-1).

Pioglitazonun biyotransformasyonundan sorumlu karaciğer enzimleri CYP2C8 ve CYP3A4't $\ddot{u}$ r. Pioglitazon hidrosilasyon ve oksidasyon ile metabolize olur. Metabolitler glukronid veya s $\ddot{u}$ lfat konjugatlarına d $\ddot{u}$ n $\ddot{u}$ ř $\ddot{u}$ r (http-1). M-II, M-III ve M-IV aktif metabolitlerdir (http-2). M-IV' $\ddot{u}$ n oluşumu ağırlıklı olarak CYP2C8 tarafından katalize edilmektedir (Jaakkola T vd.,2006). Pioglitazonun hidroksi t $\ddot{u}$ revi olan metabolitleri

Metabolit II ve Metabolit IV, pioglitazonun keto türevi metaboliti ise Metabolit III tür. Bu metabolitler hayvanlarda farmakolojik olarak aktiftir. Metabolit III ve IV çoklu dozlamayı takiben insan serumunda bulunan metabolitlerdir. Bu aktif metabolitler kararlı durum konsantrasyonlarına 7 gün sonunda ulaşılmaktadır. Pioglitazonun dağılım hacmi  $0.63 \pm 0.41$  L/kg'dır. Proteinlere yüksek oranda (>%99) bağlanır. Aktif metabolitleri dolaşımda pioglitazona eşit ya da daha yüksek konsantrasyonda bulunurlar.

Pioglitazonun yaklaşık %15-30'u idrar yoluyla atılmaktadır. Geriye kalan kısmın değişmeden safra yoluyla ya da metabolitleri halinde feçesle atıldığı düşünülmektedir. Plazma yarılanma ömrü ( $t_{1/2}$ ) pioglitazon için 3-7 saat, aktif metabolitleri için ise 16-24 saat arasında değişmektedir. Oral yoldan uygulanan pioglitazonun klirensi 5-7 L/saat'tir (http-1).

**Tablo 2.5**

*Pioglitazon metabolitleri*

Metabolit	Enzim	aktivite	Reaksiyon tipi
M-I	-	inaktif	o-dealkilasyon
M-II	Sitokrom P450 2C8 Sitokrom P450 3A4	aktif	oksidasyon
M-III	-	aktif	oksidasyon
M-IV	Sitokrom P450 2C8 Sitokrom P450 3A4	aktif	oksidasyon
M-V	Sitokrom P450 2C8 Sitokrom P450 3A4	inaktif	oksidasyon
M-VI	Sitokrom P450 2C8 Sitokrom P450 3A4	inaktif	oksidasyon
M-XI	Sitokrom P450 2C8 Sitokrom P450 3A4	inaktif	oksidasyon

*Kaynak: Jaakkola T vd.,2006; Zhou SFvd.,2009*

#### **2.5.4 Pioglitazonun advers etkileri**

Hepatik insülin duyarlılığına katkıda bulunduğu ve artan PPAR-gamma etkisi nedeniyle, merkezi sinir sistemi üzerindeki etkisi tam olarak bilinmese bile, besin alımını artırdığı ve kilo alımına neden olduğu, bu da beslenmeyi desteklediğine inanılmaktadır. Bu, ilacı kullanan kişilerin neden kilo aldığını açıklamaktadır (Lu M vd.,2011). Ödem, su tutulması ve kilo alımı (1-4±33 kg) sık görülen olumsuz etkilerdir. Dilüsyonel anemi, akciğer ödemi, konjestif kalp yetmezliği (özellikle yoğun insülin tedavisiyle birleştirildiğinde), karaciğer fonksiyon testlerinde yükselme, pnömoni, kreatin fosfokinazda (CPK) yükselme ve düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterolde yükselme diğer yan etkilerdir. New York Kalp Cemiyeti (NYHA) Class II, III ve IV Kalp yetmezliği, karaciğer disfonksiyonu (ALT>normalin üst sınırından 2.5 kat yüksek olması), ciddi KBY, Tip 1 DM, gebelik, çocuklar ve adolesanlarda ilacın kullanımı önerilmemektedir (Gardner DG ve Shoback D.,2004; Jameson JL.,2006).

Kırık riskini artırması en önemli olumsuz etkilerden biridir. 70 yaş üstü kadınlarda daha çok görülür. Osteoporotik kırık veya kırık risk faktörü olan hastalarda kullanımı ciddi şekilde sınırlandırılmalıdır (Kayaalp, S.O.,2002).

İskelet sisteminde görülen kırıklar kemik oluşumu ve artmış kemik rezorpsiyonu ile ilişkilendirilmiştir (McDonough AK ve Rosenthal RS.,2008).

Diğer antidiyabetik ilaçlarla kombine edildiğinde hipoglisemiye neden olabilir, hematokrit ve hemoglobin düzeylerini azaltabilmektedir (Rizos CV vd.,2009).

#### **İlaç etkileşimleri**

Çok sayıda ilacın inaktivasyonunda rol oynayan CYP3A4 enzimi pioglitazon tarafından indüklenir. Kendisi de kısmen bu enzimle yıkıldığından, bu enzimi inhibe eden ketokonazol, itrakonazol eritromisin ve diğer ilaçlarla, ayrıca bu enzim tarafından yıkılan diğer ilaçlarla etkileşebilmektedir (Kayaalp, S.O.,2002).

Pioglitazon ile birlikte kullanıldığında ilaç etkileşimi görülen ajanlar ve etkileri aşağıda belirtilmiştir; (El-Fayoumi S vd.,2021)

-Pregabalin ile birlikte kullanıldığında ödem artabilmektedir

-Aspirin ile birlikte kullanıldığında pioglitazonun hipoglisemik etkisini artırabilmektedir.

-Seçici serotonin geri alım inhibitörleri ile kullanıldığında pioglitazonun glikoz düşürücü etkisini artırabilmektedir.

-Tiyazid veya tiyazid benzeri diüretiklerle birlikte kullanıldığında pioglitazonun glukoz düşürücü etkisini azaltabilmektedir.

-Topiramat ile birlikte kullanıldığında pioglitazonun serum konsantrasyonunun azalmasına neden olabilmektedir.

### **Kontrendikasyonlar**

Pioglitazon insülin ile kombine olarak kullanıldığında, konjestif kalp yetmezliği insidensini artırdığı tespit edildiğinden konjestif kalp yetmezliği olan veya öyküsü bulunan hastalarda kullanılmaması gerekir (Kayaalp, S.O.,2002).

Kilo alımı, kemik kırıkları, artan periferik ödem ve konjestif kalp yetmezliği gibi olumsuz sonuçların yanı sıra, erkek farelerde mesane kanseri riskini artırdığı da gösterilmiştir (Soccio RE vd.,2014). Aktif mesane kanseri olan kişilerde kullanılmamalıdır çünkü iki yıldan uzun süre kullananlarda mesane kanseri riskini artırdığı gösterilmiştir (Lewis JD vd.,2011).

Pioglitazona duyarlılığı olan kişilerde kullanılmamalıdır.

Pioglitazon etkinliğinde insülin varlığında gösterebilir. Bu nedenle tip 1 diyabette kullanılmamalıdır.

Hipoglisemi durumunda kullanılmamalıdır, bu nedenle pioglitazon ile yapılan tedavilerde düzenli olarak kan glukoz seviyesi kontrol edilmelidir.

Karaciğer transaminaz düzeyi normal sınırın 2,5 katından fazla olduğunda ya da aktif karaciğer hastalığı varlığında kullanılmamalıdır.

Gebelikte kullanılmamalıdır.

Beers kriterlerince pioglitazon böbrek yetmezliği olan yaşlı popülasyon için uygunsuz bir ilaç olduğundan kullanılmamalıdır (Marks DH.,2013).

### **2.5.5 Pioglitazonun toksisitesi**

Altı ve yedi ay sonra pioglitazon kullanan iki hastada hepatotoksisite kaydedilmiştir. Bu nedenle pioglitazon tedavisi gören hastalarda serum aminotransferaz düzeyinin iki ayda bir izlenmesi tavsiye edilmektedir (McCulloch DK.,2004; Gitlin N vd.,1998).

2003 yılında, ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), pioglitazon üreticisinden, pioglitazon tedavisinin mesane kanseri riskini artırıp artırmadığını değerlendirmek için bir güvenlik çalışması yapmasını istemiştir. FDA'nın talebi üzerine, çalışmanın 10 yıl boyunca yürütülmesi planlanmıştır. 2011 yılında sunulan ara rapora göre, iki yıldan uzun süre pioglitazon kullanan hastalarda, pioglitazonun mesane kanseri riskini artırdığı saptanmıştır (Lewis JD vd.,2011; Chinnam P vd.,2012).

### **2.6 Erkek Üreme Sistemi**

Memelilerde erkek üreme sistemini oluşturan birbirine bağımlı birçok organın temel görevi, spermatozoa oluşturmak ve onları dişi üreme organına ulaştırmaktır. Testisler, epididim, vas deferens, bezler (prostat, seminal veziküller) ve penis bu organlar arasındadır (Hebert, D.C. vd.,1995).

#### **2.6.1 Testisler**

Testisler, karın boşluğu dışında, fibromusküler yapıda bir kese olan skrotum içerisinde Funiculus spermaticus (spermatik kordon) ile asılı konumda, ovoid biçimli, 4-5 cm uzunluğunda, 2- 3 cm eninde ve 15 g ağırlığında bir çift organdır (Arıncı K ve Elhan A.,2001; Scudamore CL.,2014).

Testisler spermatogenez ve androjen üretiminde kullanılan organlardır. Her testiste fibröz septalarla bölünmüş 400 segment vardır (http-3).

Sertoli, Leydig ve sperm hücreleri testislerde bulunan üç ana hücre tipidir. Hipofiz bezinden salgılanan folikül uyarıcı hormon (FSH) ve hipofiz bezinden salgılanan luteinize edici hormon (LH), testisleri sperm hücresi ve testosteron üretmesi için uyarır (http-4). Leydig hücreleri testosteron üretiminden, sertoli hücreleri ise sperm hücrelerinin üretiminden sorumludur. Testislerin seminifer tübüllerinde spermatozoa oluşur. Sperm, seminifer tübüllerin epitelindeki Sertoli hücreleri arasında bulunan spermatojenik hücrelerin gelişmesiyle üretilir (Ovalle vd.,2002). Erkek üreme hücrelerine sperm denir. Memeli sperm hücreleri 23 kromozoma sahiptir ve haploiddir. Dişinin haploid yumurta

hücreleriyle birleşerek diploid zigot hücrelerini oluştururlar. "Spermatozoa" hareketli, flagella taşıyan spermi ifade ederken, "spermatium" hareketsiz spermi ifade eder. Spermin sınırlı bir ömrü vardır ve bölünemez. Normalde 48 saat süren ömrü kadın üreme sisteminde 72 saate kadar uzayabilmektedir (Gilbert SF.,2006; Glover T.D.,1999).

### **2.6.2 Epididimis**

Spermin depolanıp hareketli hale geldiği organ epididimistir. Baş (Caput), gövde (Corpus) ve kuyruk (Cauda) onu oluşturan üç parçadır. Testiste oluşan spermatozoonlar caput epididimise girerler ve cauda epididimise geçip burada depolanırlar (Jones R.,1999; Robaire, B.,2002).

### **2.6.3 Vas Deferens**

Epididimisin kuyruk bölümünün kalınlaşması ile oluşur. Genişleyen ve katmanlı mukozaya sahip olan terminal kısmına ampulla adı verilir. Ampulla veziküla seminalis kanalıyla birleşerek ejakülatör kanalı oluşturur. Bu kanal ile spermiler ejakülasyon esnasında vas deferenstan üretraya aktarılır (Ross MH ve Pawlina W.,2014; Eşrefoğlu M.,2021).

### **2.6.4 Seminal Veziküller**

Mesaneenin arka duvarındaki duktus deferens ampullaya paralel olan uzun, katlanmış tübüler bir bezdir. Normal uzunluğu 15 cm'dir (Treuting PM vd.,2018; Drake RL vd.,2007).

İnsanda ejakülatın %50-70'lik bölümü bu bezin salgısıdır. Seminal bezler fruktozdan zengin visköz, sarımsı bir sıvı salgılar. Ayrıca sıvı içerisinde C vitamini, aminoasitler ve prostaglandinler bulunur (Ross MH ve Pawlina W.,2014; Eşrefoğlu M.,2021).

### **2.6.5 Prostat**

Prostat rektumun önünde ve mesaneenin altında bulunur. Salgıladığı alkali sıvıda çinko, spermin, kolesterol, proteazlar, asit fosfataz, sitrik asit ve fosfolizin bulunur. Bu salgının gerçekleşmesi döllenmenin gerçekleşebilmesi için çok önemlidir. Üreter iç taraftadır ve rektum, mesane tabanının arkasında yer alan seminal vezikülün arkasındadır. Salgılanması spermatozoanın büyümesi için çok önemlidir (Kadioğlu A vd. ,2004; Niederberger C.,2011).

### 2.6.6 Penis

Görevleri arasında ejakülatın vajinaya taşınması ve vücuttan atılacak idrarın uzaklaştırılması yer alır. Cinsel açıdan uyarılan hassas sinir uçlarını içerir (White B ve Porterfield S.,2012).

### 2.6.7 Spermatogenez

Gonadotropik hormon uyarımı ergenlik döneminden başlayarak testislerin seminifer tübül epitelinde gerçekleşen spermatogenez tetikler. Yetişkin erkek testislerinde ve epididimiste bu süre yaklaşık 64-74 gün sürer (White B ve Porterfield S.,2012; Johnson LR ve Byrne JH.,2003).

Erkek üreme kök hücresi olan Spermatogonium, mitoz yoluyla iki diploid hücreye bölünür: Bir hücre "Spermatogonium B" hücrelerine dönüşür, diğeri "Spermatogonium A" hücresi olarak kalır. Daha sonra "Birincil spermatozoidler" üretilir. Mayoz I geçirdikten sonra her diploid spermatozoid, iki haploid sekonder spermatozoidlere ayrılır. Dört haploid spermatid hücresi ve küresel spermatid oluşturmak için ikincil spermatozoidler mayoz II'den geçer ve yuvarlak spermatidleri oluştururlar. Yuvarlak spermatid hücreler spermiyogenez adı verilen çekirdek olgunlaşması ve hücre zarına doğru hareket etmesi, akrozom oluşumu ve diğer farklılaşma mekanizmalarından oluşan bir süreçten geçer. Spermiyogenezden sonra sperm olarak adlandırılırlar ve epididimise aktarılırlar. Epididimiste gelişimlerini tamamladıktan sonra hareketli hale gelirler (White B ve Porterfield S.,2012; Niederberger C.,2011; Hai Y vd.,2014).

Spermatogenez ergenlik döneminde LH ve FSH'nin üretilmesiyle başlar. FSH'nin Sertoli hücreleri üzerindeki bazı reseptörlerle etkileşerek spermatogonia ve Sertoli hücrelerinin miktarını artırdığı ve spermatogonyal olgunlaşmayı teşvik ettiği düşünülmektedir. Testisler LH salınımına yanıt olarak testosteron üretir. Testosteron, testislerdeki diploid spermatogonia'nın (46 kromozom) spermatozoidlere olgunlaştığı ve bu aşamada düzenli mayoz ve mitoz geçirdiği süreci düzenler (Niederberger C.,2011; O'Shaughnessy PJ vd.,2010).

### **2.6.7.1 Spermatogenezde Rol Alan Hormonlar**

#### **2.6.7.1.1 Gonadotropin salıcı hormon**

Hipotalamustan salgılanır. Folikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH) salınımı gonadotropin salıcı hormon tarafından düzenlenir (Niederberger C.,2011).

Gonadotropin salıcı hormonun (GnRH), GnRH 1 ve GnRH2 olmak üzere iki alt birimi bulunmaktadır.GnRH I, FSH ve LH salınımında rol oynar. GnRH II ise GnRH salınımında parakrin kontrolü sağladığı düşünülmektedir (White B ve Porterfield S.,2012; Tanriverdi F vd.,2004).

#### **2.6.7.1.2 Folikül stimüle edici hormon**

Ön hipofizdeki gonadotropinler, FSH olarak bilinen glikoprotein hormonunu üretir ve salgılar. Gonadotropin salgılayan hormon, salınımını (GnRH) düzenler (Agarwal A vd.,2005). FSH- $\alpha$  ve FSH- $\beta$  iki bileşenidir;  $\alpha$  bileşeninde 92 amino asit bulunmaktadır (http-5).

Üreme sırasında folikül uyarıcı hormon ve LH uyum içinde çalışır. FSH, erkeklerde Sertoli hücrelerinden androjen bağlayıcı proteinin salınmasını uyarır. Sonuç olarak spermatogenezde çok önemli bir rol oynar (Heindel JJ ve Treinen KA.,1989).

#### **2.6.7.1.3 Lüteinize Edici Hormon**

"Lutropin" olarak da anılır. LH proteininin iki bileşeni LH- $\alpha$  ve LH  $\beta$ 'dir. Ön hipofizdeki gonadotropinler LH üretir. Glikoprotein içeren bir hormondur. GnRH bunun salınımını düzenler. Hem erkek hem de dişi üremesi LH'ye bağlıdır.

Kadınlarda yumurtlamaya neden olur, erkeklerde ise Leydig hücrelerinin testosteron üretimini artırır. Spermatogenez süreci için çok önemlidir (White B ve Porterfield S.,2012; Niederberger C.,2011; http-6).

#### **2.6.7.1.4 Testosteron**

Erkeklerin testislerinin Leydig hücreleri ve kadınların yumurtalık tekal hücreleri, androjen grubuna ait bir steroid hormon olan testosteronu üretir. Her iki cinsiyetin plasentaları ve adrenal korteksin zona retikularis bölgesi testosteron üretir. Tıpkı diğer steroid hormonlar gibi kolesterolden yapılmıştır (De Groot LJ vd.,2000).

Fetal dönemde skrotumun oluşmasını, prostatın, seminal keseciklerin ve mesanenin gelişmesini, doğum sonrası cinsel organların gelişmesini, ergenlik döneminde ikincil cinsel özelliklerin gelişmesini ve testislerde spermatogenezin başlamasını sağlar (Welshons WV vd. ,2003; Aranda A ve Pascual A.,2001).

### **2.6.8 Reprodüktif Toksikite**

Reprodüktif toksisite, kimyasal veya fiziksel etkenlere maruz kalan kadın ve erkeklerin reprodüktif sistemlerindeki olumsuz etkileridir (Dixon, R.L ,1980).

Kadın ve erkek üreme sistemlerinin anatomik ve fonksiyonel normallığı doğurganlığın ön koşuludur. İnfertilite, üreme sistemlerinden birinin herhangi bir nedenle sağlıklı işlemediğinde ortaya çıkar. Bir yıl boyunca korunmasız cinsel aktiviteden sonra hamile kalamama, infertilitenin geleneksel tanımıdır. Her iki cinsiyetin de gebe kalmayı engelleyebilecek çok sayıda faktörden bir veya daha fazlasını paylaşması mümkündür (Anafarta K ve Göğüş O.,1998; Türk Üroloji Yeterlilik kurulları, Ders Notları, 2006).

Erkek infertilitesi üzerine yapılan araştırmalar, bu durumun çok yönlü olduğunu ve kalıtsal faktörlerin yanı sıra yaşam tarzı ve çevresel faktörlerin de üreme fonksiyonları üzerinde etkili olabileceğini ortaya koymuştur. Erkek infertilitesinin nedenleri ise şöyle: %32,6'sı idiyopatik, %26,6'sı varikosel, %15,3'ü obstrüksiyona bağlı, %10,7'si normal sperm değerlerine rağmen açıklanamayan infertilite, geri kalan %14,8'i ise torsiyon, enfeksiyon endokrin ve kriptorşidizm benzeri kaynaklıdır (Hamada A vd.,2011).

Erkek üreme sisteminde çeşitli maddeler, kimyasallar, çevredeki kirleticiler, enfeksiyon etkenleri, kronik hastalıklar, kanserler, travmalar, genetik bozukluklar ve anatomik anormallikler neden olabilir. Tablo 2.6 bu koşulları göstermektedir (Nieschlag E vd.,2010).

**Tablo 2.6***Erkek Üreme Sistemi Bozuklukları*

Hipotalamus ve hipofiz ve bezi	Kallmann sendromu Hipogonadizm Gecikmiş puberte Hormon salgılanmasında bozukluklar
Testisler	Konjenital bozukluklar Klinefelter sendromu Steroid sentez bozuklukları Yapısal kromozal anomaliler Testiküler tümörler Ekzojen kaynaklı sistemik bozukluklar İdiyopatik infertilite Geç başlangıçlı hipogonadizm
Seminal kanallar ve bezler	Enfeksiyonlar Kistik fibrozis İmmünolojik infertilite
Androjen hedef organları	Jinekomasti, Androjen insensitivite sendromu Estrojen rezistansı Estrojen eksikliği Androjenik alopesi

*Kaynak: Nieschlag E vd.,2010*

### 2.6.8.1. Semen analizi

Erkek üreme toksisitesini değerlendirmeye yönelik tekniklerden biri semen analizidir. Seminal veziküllerden, prostat Cowper bezlerinden ve üretral bezlerden gelen sperm ve salgılar, ejakülasyon sırasında salgılanan organik bir sıvı olan meni içinde bulunur (Kadioğlu A vd.,2011). Erkek infertilitesinin değerlendirilmesi, epididimis, yardımcı cinsiyet bezleri ve seminifer tübüllerin işleyişi hakkında fikir veren birincil parametre olan semen analizidir (Esteves SC ,2014).

İnfertilite için yapılan semen analizlerinde sperm sayısı, hareketliliği ve morfolojisi incelenen parametreler arasındadır. Bu değişkenler Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından belirlenen standartlar kullanılarak değerlendirilmektedir (Niederberger C.,2011; Menkveld R.,2010; Lamb DJ.,2010; Menkveld R vd.,2011).

2010 yılında yayınlanan DSÖ rehberine göre sperm parametreleri için normal değerler Tablo 7.'de yer almaktadır (Menkveld R,2010).

**Tablo 2.7**

*DSÖ sperm parametreleri*

<b>Parametre</b>	<b>Normal değerler</b>
Hacim	1,5 ml
Toplam Sperm Sayısı	39x10 <sup>6</sup>
Sperm Konsantrasyonu	15x10 <sup>6</sup>
Toplam Motilite	%40
İleri Doğrusal Motilite	%32
Canlılık	%58
Sperm Morfolojisi	%4

*Kaynak: Menkveld R,2010*

### 2.6.9 *In vitro* reproduktif toksisite testleri

İlaç endüstrisinde klinik öncesi güvenlik testlerinin ana amacı klinikte ortaya çıkabilecek toksisiteyi önlemektir. İlaç keşfi ve geliştirme aşamasında gelişimsel ve üreme toksisitesini değerlendirmek için doku ve embriyo kültürü veya memeli olmayan modellerle yapılan testler olmak üzere yöntemler geliştirilmektedir. Alternatif gelişimsel

ve üreme toksisitesi modelleri risk değerlendirmesi için kullanılacak olan hayvanları 3 R adı verilen azaltma iyileştirme ve değiştirme ilkesi uyumlu olmaktadır. Uluslararası uyumlaştırma konseyi (ICH) S5(R2) kılavuzunda belirtildiği gibi tıbbi ürünler için üreme toksisitesi ve erkek infertilitesinin tespitinde çok sayıda hayvan kullanılması gerektiğinden hayvan kullanımını azaltmak için alternatif yaklaşımların değerlendirilmesi önem arz etmektedir (Parks Saldutti vd.,2013).

Doğum öncesi gelişimsel toksisite çalışmaları, tek nesil çalışma, iki nesil çalışma, üreme/gelişimsel toksisite tarama testi, üreme ile birlikte doz toksisitesi çalışması Aktif/gelişimsel toksisite çalışması OECD test kılavuzlarına göre kullanılan geleneksel reproduktif toksisite tayin testleridir (OECD ,2001; Baker V,2001).

Özellikle endokrin bozucu olarak nitelendirilen ajanlar için reproduktif sistem sağlığı çalışmalarında *in vivo* tarama testlerinin tercih edilme oranı sayısı son yıllarda önemli ölçüde artmıştır. *In vitro* testlerde incelenen sistemin tamamını modellemek mümkün olmasa da ayrı ayrı incelemek için kullanışlı metodlar mevcuttur. Reproduktif sistemde kullanılan *in vitro* testler tablo 8 de özetlenmiştir.

**Tablo 2.8**

*In vitro* reproduktif tayin testleri

Hedef hücreler/organlar	Test sistemi
Spermatogonya	Birincil hücreler
	Hücre hatları
	(GC-1 spg)
Spermatositler	Birincil hücreler
Semen	Birincil hücreler
Spermatositler	Birincil hücreler
Sertoli hücreleri	Hücre hatları(15p-1, TM 4)
Leyding hücreleri	Leyding hücre hatları (MA10;RC2, TM3, MLTC)

Kaynak: Brown N.A. vd., 1995

### **Monokültürler**

Germ hücre monokültürleri, gen ekspresyonunu ve testis faktörlerinin farklılaşmadaki rollerini anlamak için idealdir. Hormonlardan ve büyüme faktörü takviyesinden yoksun olduğundan kısa sürelidir; 24 saat sonra hücrelerin %50'sinden fazlası canlılığını kaybeder. Genellikle farklılaşmanın ani belirtilerini ve *in vitro* fertilizasyon için hücre uygunluğunu tespit etmek için kullanılır (Hunter, D vd., 2012).

### **Besleyici Hücreler**

Besleyici hücreler olarak geliştirilen hücrelerden testis hücrelerinin yetiştirilmesinde kullanılan en başarılı hücrelerden biri Vero hücreleridir; bu hücrelerin spermatozoa olgunlaşma kültürlerinde sıradan ortamdan daha iyi performans gösteren şartlandırılmış bir ortam ürettiği rapor edilmiştir; bu etki, FSH ve testosteronun desteklenmesi durumunda daha da artar. Spermatogoniyal kök hücre kültürleri için, STO fare fibroblastlarının da muhtemelen LIF ve Wnt ailesi üyelerinin salgılanması yoluyla farklılaşmayı teşvik etmek için yeterli olduğu görülmektedir (Hunter, D vd.,2012).

### **Seminifer tübül kültürü**

Spermatogenezin tüm aşamalarını destekleme kapasitesine sahiptir ve tüm doku ile spermatogenik döngünün eş zamanlı gözlemlenmesini sağlar. Ancak büyüme faktörleri, metabolitlerin kinetiklerinin değişimi gibi nedenlerden dolayı birkaç günden fazla muhafaza edilmesi zordur (Oatley, J.M vd.,2004).

### **Testis parçalarının eksplant kültürü**

Testis parçalarının eksplant kültürü ile spermatogonyadan başlayarak tamamen işlevsel spermatozoa elde edilebilir. Androjen üreten Leydig hücreleri de dahil olmak üzere testis parakrin sisteminin tüm bileşenleri eksplant kültürlerinde mevcuttur ve yalnızca fetal sığır serumu ve antibiyotiklerle desteklenen Dulbecco'nun Modifiye Eagle Ortamı (DMEM) gibi oldukça basit ortamlarda germ hücresi çoğalmasını sürdürebilir (Sato, T vd.,2011; Carruthers M vd.,2008).

### **Ortak Kültür**

Ortak kültürün avantajı toksisite tespitinde primer hedef sertoli ve germ hücrelerse hızlı ve kolay tespit edilebilir fakat öte yandan bileşiğin metabolitlerinin toksisitesini

aydınlatmak için yetersiz kalmaktadır. Bununla birlikte uzun süreli maruziyet sonuçları, hormonal bozulma, olgun spermatidlerde bozulmayı tespit mümkün değildir (Parks Saldutti vd.,2013).

### **Üç boyutlu kültür yaklaşımları**

Sertoli/germ hücre ortak kültürlerini içermektedir. Bu kültür sistemleri, bu kompleks dokuda gerekli olan karmaşık biyokimyasal ve fizyolojik sistemleri sürdürmediği için testis dokusu tepkisinin kısa değerlendirmeleri için kullanılmıştır (Parks Saldutti vd.,2013).

### **2.7 Pioglitazon-Erkek Reprodüktif Sistem Toksisitesi İlişkisi**

Erkeklerde düşük testosteron düzeyinin insülin duyarlılığının azalması ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Kapoor D vd.,2005). İnsülin direncine bağlı diyabetlerde kas kütlelerinin ve kuvvetinin azalmasının nedeninin düşük testosteron seviyesine bağlı miyogloblin azalmasının olabileceği düşünülmektedir (Carruthers M vd.,2008).

Diyabet tedavisinde kullanılan pioglitazon ile yapılan çalışmalar sonucunda konjestif kalp yetmezliği, osteoporoz, kilo alımı, ödem ve anemi gibi istenmeyen etkiler tespit edilmiştir. Bu farklı etkilerin incelenmesi sonucunda pioglitazonun, endokrin sistem ve metabolik etkilerinin testosteron biyosentezini ve testosteronun işlevini olumsuz etkilediği ve bu olumsuz etkinin de istenmeyen etkilere neden olduğu öne sürülmüştür. Yapılan çalışmalara göre tip 2 diyabetes mellitus hastalarında yaygın bir şekilde kullanılan pioglitazon birden fazla doku ve organda patofizyolojik değişiklikler yapmaktadır. Androjenlerin insan seks hormon bağlayıcı globulinine bağlanmasını artırarak ve androjen reseptör aktivasyonunu azaltarak androjen eksikliğine yol açtığı ve fizyolojik etkilerini azalttığı düşünülmektedir (Carruthers M vd.,2008).

Glitazon grubu ilaçların sağlıklı erkek bireylerde total testosteronu ve dihidrotestosteronu azalttığı görülmüştür (Vierhapper H vd.,2003). Pioglitazon insan adrenal NCI-H295R hücrelerinin steroid profilini değiştirerek androjen biyosentezinde önemli rolü olan P450C17 ve 3BetaHsd2 enzimlerinin aktivitelerini ve inhibe etmektedir (Carruthers M vd.,2008).

### 3 GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler

Pioglitazon	Bilim İlaç Sanayii ve Ticaret A.Ş.
DMEM-F12Medium	WisentBioProducts
Penisilin-Streptomisin çözeltisi	WisentBioProducts
Fötal sığır serumu	CapricornScientific
Tripsin-EDTA çözeltisi	CapricornScientific
Dulbecco's fosfat tamponlu serum fizyolojik (DPBS) (Ca+2 ve Mg+2 içermeyen)	Sigma-Aldrich
Fosfat tamponu çözeltisi (PBS) tableti	Bioshop
Tripan mavisi	Bio-Rad
Dimetilsülfoksit (DMSO)	Carlo Erba
MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür)	Serva

#### 3.2 Kullanılan Araç ve Gereçler

Biyogüvenlik kabini	Heal Force
Mikroplaka okuyucusu	Biotek
İnkübatör (CO2 dönüşümlü)	ThermoFisherScientific
Otoklav	Hirayama
Soğutmalı santrifüj	Eppendorf
Hücre sayım cihazı	Bio-Rad
Hücre sayım slaytı	Bio-Rad
Hassas terazi	Ohaus
Hücre kültür şişesi	Nest

96 kuyucuklu hücre plakası	Nest
Otomatik pipetler	Eppendorf
Pipet uçları	Vertex
Steril polipropilen santrifüj tüpü	Nest
Steril rezervuar	Axygen
Şırınga ucu filtre (0,22 µM)	Aisimo Corporation

### **3.3 Kullanılan Hücre Hatları**

TM3 (CRL-1714™) fare Leydig hücreleri ve TM4 (CRL-1715™) fare Sertoli hücreleri American Type Culture Collection (ATCC) kuruluşundan temin edilmiştir.

### **3.4 Yöntemler**

Hücreler, %5 horse serumu, %2,5 fetal sıgır serumu ve %1 penisilin streptomisin çözeltisi içeren DMEM-F12 (1:1) besiyerinde inkübe edildi (37 °C, %5 CO<sub>2</sub>).

Deneylerde pasaj numaraları 4-10 olan hücreler kullanıldı.

#### **3.4.1 Hücre hatlarının çoğaltılması**

Deneylerde kullanılan TM3 Leydig ve TM4 Sertoli hücrelerinin deneye hazır hale gelmesi için 2-3 günde bir pasajlama işlemi yapıldı.

1. Ölü hücreler ve metabolik artıklardan uzaklaştırmak için inkübatörden alınan hücre kültür şişesi besiyerine artıkların geçmesi için hafifçe çalkalandı. Steril bir pipetle kültür şişesi içindeki besiyeri alınarak atıldı.

2. Kültür şişesine 5 ml fosfat tamponu ilave edilerek yıkama işlemi yapıldı. Yıkama işlemi sonrası yıkama çözeltisi ortamdan uzaklaştırıldı.

3. Kültür şişesine proteaz aktivasyonu gösteren tripsin EDTA çözeltisi (75 cm<sup>2</sup>'lik kültür şişelerine 32ml) ilave edildi. EDTA ile hücreler bulunduğu yüzeyden ve birbirinden kopararak, hücrelerin homojen süspansiyon edilebilmesi sağlandı. EDTA ilavesi sonrası kültür şişesi hafifçe çalkalanıp inkübatörde yaklaşık 5 dakika bekletildi (37 °C, %5 CO<sub>2</sub>).

4. İnkübatörden alınan kültür şişelerine 20–25 ml besiyeri ilave edildi ve hücreler süspanse edildi. Hücreler 1:20 ila 1:200 oranlarında bölünerek yeni kültür şişelerine alındı.

5. Kültür şişeleri inkübasyona bırakıldı (37 °C, %5 CO<sub>2</sub>).

### 3.4.2 Hücre canlılığının belirlenmesi

Hücre canlılığının belirlenmesi amacıyla MTT yöntem kullanıldı.

Hücre canlılığı testleri arasında sıkça kullanılan yöntemlerden biridir. Hücrelerde dehidrogenaz enzim aktivitesiyle indirgenir mor renkli ve suda çözünmeyen formazan kristalleri oluşturur. Bu kristallerin çözünmesi için dimetil sülfoksit (DMSO) kullanılmaktadır. Meydana gelen hücre canlılıkları ile orantılı renk oluşumları spektrofotometrede ölçülmektedir (Menkveld R vd.,2011).

Hücre kültürlerinin plakaya ekilmesi

1. İnkübatörden alınan hücre kültür şişesi, hafifçe çalkalanarak ölü hücrelerin besiyeri çözeltilisine geçmesi sağlandı ve steril bir pipetle kültür şişesi içindeki besiyeri alınarak atıldı.

2. Kültür şişesine tripsin-EDTA çözeltilisi 2 ml eklenerek proteaz aktivasyonu sağlandı ve hafifçe çalkalandıktan sonra inkübatöre bırakıldı.

3. İnkübatörden alınan kültür şişelerinin içine ilave edilen tripsin-EDTA çözeltilisinin en az iki katı kadar besiyeri ilave edildi. Böylece enzim aktivasyonu durduruldu ve sonrasında pipet yardımıyla kültür şişesi içeriği santrifüj tüpüne alındı.

4. Santrifüj sonrasında hücre pelleti taze besiyeri ile süspande hale getirildi. Hücre süspanسیونundan 10 µL alındı ve 10 µL tripan mavisini ilave edildi. Otomatik hücre sayma cihazında sayıldı.

5.  $1 \times 10^4$  hücre/kuyucuk olacak şekilde 96 kuyucuklu hücre plakasına ekilerek 24 saat inkübasyona bırakıldı.

### 3.4.2.1 MTT sitotoksosite testinin uygulanması

1. Pioglitazonun 0,1-500 µM ve 10-500 µM olmak üzere 5 seri konsantrasyonu (çözeltiler DMSO içinde hazırlandı) büyüme kontrol ve çözücü kontrol ile birlikte plakalara uygulandı. 24 saat inkübasyona bırakıldı (37 °C, %5 CO2).

2.24 saatlik inkübasyon süresi sonunda hücre plakasının üst kısmı ters çevrilerek artıklar uzaklaştırıldı.

3. Hücreler fosfat tamponu ile yıkandı ve yıkama işlemi sonrası yıkama çözeltisi ortamdan uzaklaştırıldı.

4. MTT çözeltisi (5 mg/mL) ve besiyeri 1:10 oranında karıştırıldı. Hücre plakasına 100 µL/kuyucuk olacak şekilde MTT ve besiyeri karışımından ilave edildi. 3 saat inkübasyona bırakıldı (37 °C, %5 CO2).

5.3 saatlik inkübasyon süresi sonunda plakalar ters çevrilerek artıklar uzaklaştırıldı.

6. Hücre plakasına DMSO çözeltisi 100 µL/kuyucuk olacak ilave edildi ve kuyucukların mikropkaya okuyucuda 540nm'de absorban değerleri okundu.

7. Pioglitazonun her bir konsantrasyonu için % inhibisyon değerleri hesaplandı. Non lineer regresyon analizi ile maddelerin inhibitör konsantrasyon 50 değerleri hesaplandı. Bu hesaplama yapılırken

$$\text{İnhibisyon \%} = 100 - \left[ \frac{(\text{OD}_{\text{test bileşigi}} - \text{OD}_{\text{boş çözelti}})}{(\text{OD}_{\text{çözücü kontrol}} - \text{OD}_{\text{boş çözelti}})} \times 100 \right]$$
formülü kullanılmıştır. (Acar Çevik vd., 2018).

### 3.4.3 Moleküler doking çalışmaları

Pioglitazon ile gerçekleştirilen doking çalışmalarında TNF-a (PDB ID:2AZ5) (He, M. M. vd,2005) ve IL-1B (PDB ID:8C3U) (Blank, J vd.,2023) ve Kaspaz-3 (PDB ID:4QTX) (Cade, C vd.,2014) kristalleri kullanılmıştır. Yapı temelli *in siliko* doking çalışmaları için ilgili kristaller protein data bank ([http-7](http://7)) aracılığı ile elde edilmiştir. PDB ID:2AZ5 ve PDB ID:8C3U kristalleri için pozitif kontrol olarak protein data bankasında kullanılan ligandlar seçilmiştir. Bunlar sırası ile 6,7-Dimetil-3-[(metil{2-[metil({1-[3-(triflorometil)fenil]-1*H*-indol-3-il}metil) amino] etil} amino)metil]-4*H*-kromen-4-on ve (*S*)-4'-hidroksi-3'-(6-metil-2-okso-3-(1*H*-pirazol-4-il) indolin-3-il)-[1,1'-bifenil]-2,4-dikarboksilik asit olarak belirlenmiştir. PDB ID:4QTX kristali için ise staurosporin

molekölü pozitif kontrol olarak kullanılmıştır (Pasovic, L vd.,2013). İlk olarak kristal yapılar Schrödinger Suite 2020 Update 2'de (Schrödinger Release, 2020) Maestro arayüzü ile (Schrödinger Suite, 2020) yer alan "Protein Preparation Wizard" protokolü uygulanmış ve kristal yapı doking çalışmalarına hazır hale getirilmiştir. Daha sonra bağ uzunlukları OPLS3e kuvvet alanı kullanılarak düzenlenmiş ve yüklü amino asitlerin üzerindeki atomların belirtilen ortam koşullarındaki olası yükleri otomatik olarak belirlenmiştir. LigPrep 3.8 (L. Schrödinger ve LigPrep ,2016) modülü ile moleküler doking çalışmaları yürütülecek bileşikler doking için hazırlanmıştır. Grid oluşturulurken Glide 7.1 (L. Schrödinger ve Glide,2016) kullanılmış ve yine aynı modülün yardımı ile single precision (SP) ile doking çalışmaları tamamlanmıştır.

#### **3.4.4 Verilerin analizi**

IBM SPSS 27.0 istatistik yazılımı kullanılarak yapıldı. Tüm veriler normal dağılım açısından Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi; varyansın homojenliği ise Levene testi ile kontrol edildi.

### **4 BULGULAR**

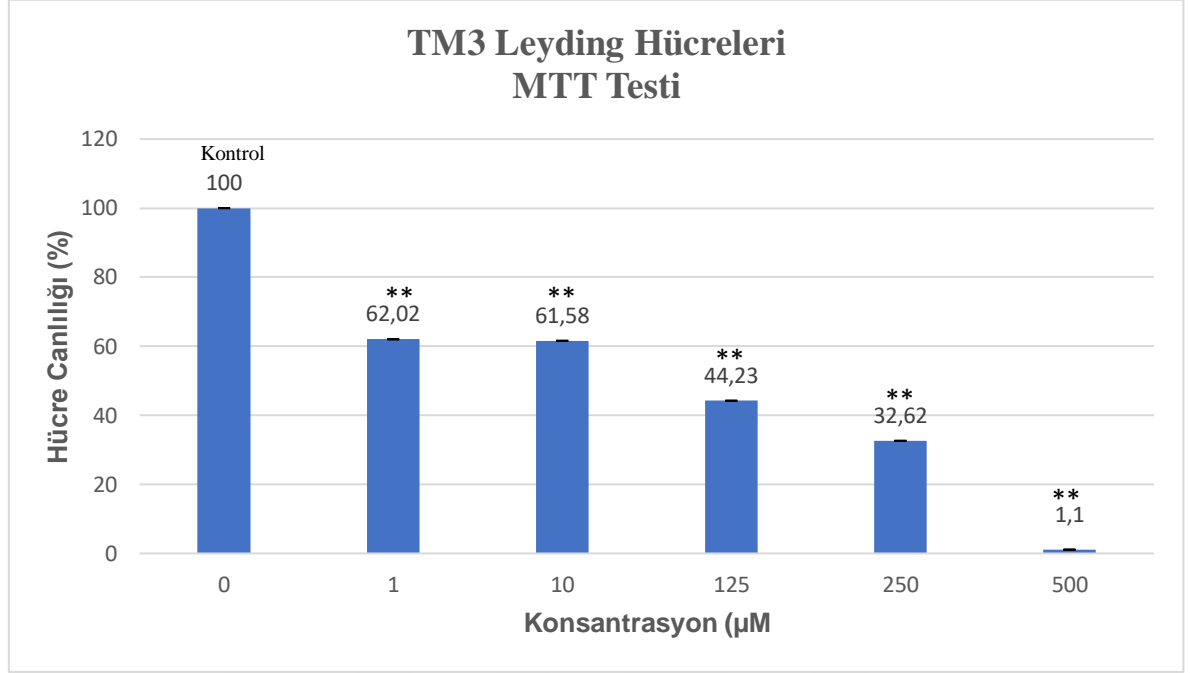
#### **4.1 Sitotoksite Testleri**

##### **4.1.1 MTT sitotoksisite testi ve İstatistiksel Analiz**

İstatistiksel analizler IBM SPSS 27.0 istatistik yazılımı kullanılarak gerçekleştirildi. İstatistiksel analiz sonucuna göre; Shapiro-Wilk testi ile verilerin normal dağılım sağladığı gözlenmiştir. Deney grupları arasındaki farklılıkların anlamlılığını belirlemek için Levene testi ile varyans homojenliğine bakılmıştır. Levene testi sonuçlarına göre varyans homojenliği sağlanamadığından dolayı parametrik bir post hoc testi olan Welch testi kullanılmıştır. Welch testinin sonucuna göre gruplar arası anlamlı farklılıklar gözlenmiştir. İkili karşılaştırmalar için Games-Howell testi uygulanmıştır. Games Howell testi sonuçlarına göre tüm grupların ikili olarak birbirinden ve kontrol grubundan istatistiksel olarak önemli ölçüde anlamlı farklılık olduğu saptanmıştır ( $p < 0.01$ ).

## Şekil 4.1

TM3 Leydig Hücreleri MTT Testi



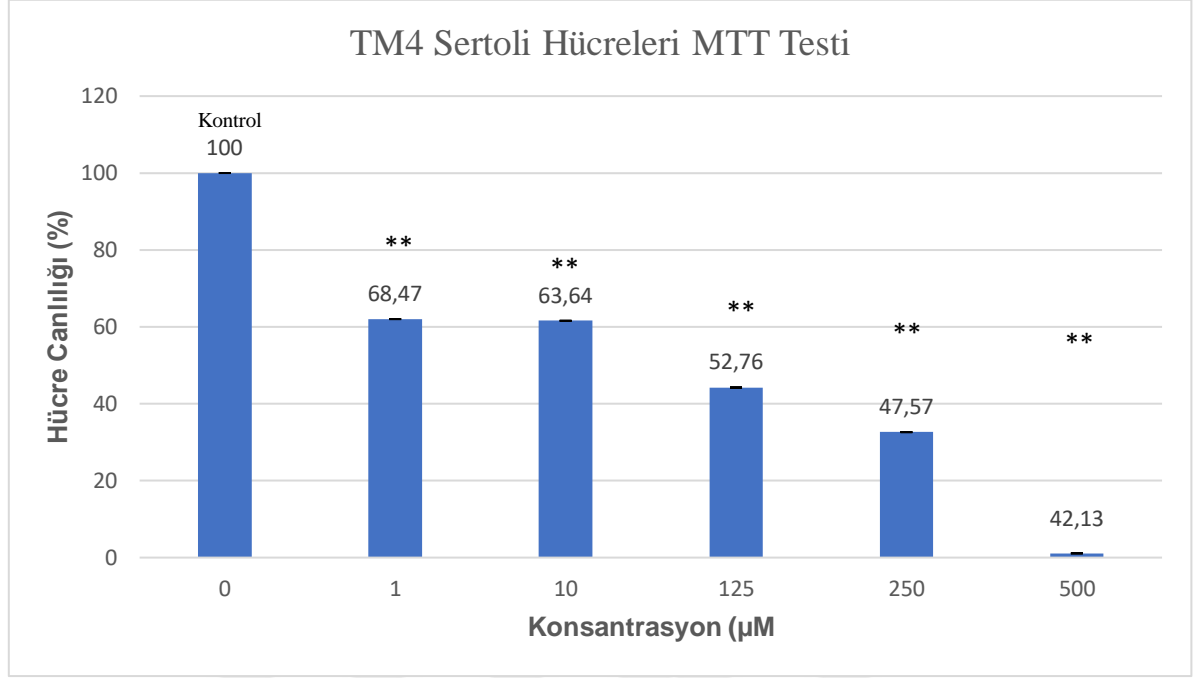
\*:  $p < 0,05$  kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılık

\*\* :  $p < 0,01$  kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli ölçüde anlamlı farklılık

MTT testi, farklı konsantrasyonlardaki Pioglitazon maddesi ile muamele edilen TM3 Leydig hücrelerinin canlılığını ölçmek için kullanılmıştır. MTT testi sonucuna göre Şekil 4.1’de gösterildiği gibi, hücre canlılığı Pioglitazon tarafından doz-bağımlı bir yanıtla etkilenmiştir ve pioglitazonun IC50 değeri TM3 Leydig hücrelerinde 98,21 µM olarak hesaplanmıştır. Pioglitazon uygulanan hücrelerde, sırasıyla 1, 10, 125, 250, 500 µM konsantrasyonlar için hücre canlılığı %62,02 %61,58 %44,23, %32,62, %9,53, %1,1 olarak ölçülmüştür. İstatistiksel analiz sonucunda gruplar arasında ve tüm gruplar ile kontrol grubu arasında önemli ölçüde anlamlı derecede fark olduğu bulunmuştur ( $p < 0,01$ ).

## Şekil 4.2

TM4 Sertoli Hücreleri MTT Testi



\*:  $p < 0,05$  kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılık

\*\* :  $p < 0,01$  kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak önemli ölçüde anlamlı farklılık

MTT testi, farklı konsantrasyonlardaki Pioglitazon maddesi ile muamele edilen TM4 Sertoli hücrelerinin canlılığını ölçmek için kullanılmıştır. MTT testi sonucuna göre Şekil 4.2’de gösterildiği gibi, hücre canlılığı Pioglitazon tarafından doz-bağımlı bir yanıtla etkilenmiştir ve pioglitazonun IC50 değeri TM4 Sertoli hücrelerinde 165,29 µM olarak hesaplanmıştır. Pioglitazon uygulanan hücrelerde, sırasıyla 10, 20, 125, 250, 500 µM konsantrasyonlar için hücre canlılığı %68,47 %63,64 %52,76, %47,57, %42,13 olarak ölçülmüştür. İstatistiksel analiz sonucunda gruplar arasında ve tüm gruplar ile kontrol grubu arasında önemli ölçüde anlamlı derecede fark olduğu bulunmuştur ( $p < 0,01$ ).

### 4.2 Moleküler Doking Çalışmaları

Pioglitazon ile gerçekleştirilen doking çalışmalarında hedef olarak TNF-a (PDB ID:2AZ5) (He, M. M vd.,2005), IL-1B (PDB ID:8C3U) (Blank, J. vd.,2023) ve Kaspaz-3 (PDB ID:4QTX) (Cade, C. Vd.,2014) seçilmiştir. Her üç kristal ile gerçekleştirilen doking çalışmalarında elde edilen skorlar Tablo 4.1’de sunulmuştur. Tabloda kontrol-1 bileşiği PDB ID:2AZ5 için ligand olan 6,7-Dimetil-3-[(metil{2-[metil(1-[3-

(triflorometil)fenil]-1*H*-indol-3-il} metil)amino]etil} amino)metil]-4*H*-kromen-4-on molekülüdür. Kontrol-2 bileşiği PDB ID:8C3U için ligand olan (*S*)-4'-hidroksi-3'-(6-metil-2-okso-3-(1*H*-pirazol-4-il)indolin-3-il)-[1,1'-bifenil]-2,4-dikarboksilik asit molekülüdür. Kontrol-3 bileşiği ise PDB ID:4QTX için ligand olan staurosporin molekülüdür. Elde edilen veriler pioglitazon molekülünün PDB ID:2AZ5 kristali (TNF- $\alpha$ ) için doking skorunun -3.705 olduğunu göstermektedir. TNF- $\alpha$  doking skorunun kontrol bileşiğinin doking skoru (-3.813) ile kıyaslandığında oldukça yakın oldukları görülmektedir. Yani pioglitazon bileşiği için enzime kontrol grubu ile benzer afinite gösterdiğini söylemek mümkündür. Pioglitazon molekülünün PDB ID:8C3U kristali (IL-1B) için doking skorunun -4.730 olduğu görülmektedir. Bu kontrol bileşiğin doking skoru (-9.894) ile kıyaslandığında daha büyük bir değerdir. Daha yüksek afinite gösterdiğini söylemek mümkündür. Son olarak pioglitazon molekülünün PDB ID:4QTX kristali (kaspaz-3) için doking skorunun -4.730 olduğu görülmektedir. Bu kontrol bileşiğin doking skoru (-4.042) ile kıyaslandığında çok benzer bir değerdir. Pioglitazon molekülü kaspaz-3 enzimine karşı ciddi bir afinite göstermektedir.

**Tablo 4.1**

*Pioglitazon molekülünün TNF- $\alpha$  (PDB ID:2AZ5), IL-1B (PDB ID:8C3U) ve kaspaz-3 (PDB ID:4QTX) kristalleri için doking skorları*

Bileşik	PDB ID:2AZ5			PDB ID:8C3U			PDB ID:4QTX		
	Doking skoru	Glide scoru	Glide e-model	Doking skoru	Glide scoru	Glide e-model	Doking skoru	Glide scoru	Glide e-model
<b>Pioglitazon</b>	-3.705	-4.464	-36.971	-5.432	-5.652	-60.255	-4.730	-5.490	-58.967
<b>Kontrol-1</b>	-3.813	-4.659	-41.440	-	-	-	-	-	-
<b>Kontrol-2</b>	-	-	-	-9.894	-9.894	-134.925	-	-	-
<b>Kontrol-3</b>	-	-	-	-	-	-	-4.042	-4.163	-48.122

Pioglitazon molekülünün TNF- $\alpha$  (PDB ID:2AZ5), IL-1B (PDB ID:8C3U) ve kaspaz-3 (PDB ID:4QTX) kristalleri ile yapılan doking çalışmaları sonucunda elde edilen

etkileşimler Tablo 4.2’de sunulmuştur. Doking çalışmaları sonucunda elde edilen pozların iki boyutlu ve üç boyutlu görselleri Şekil 4.3- 4.8 arasında sunulmuştur.

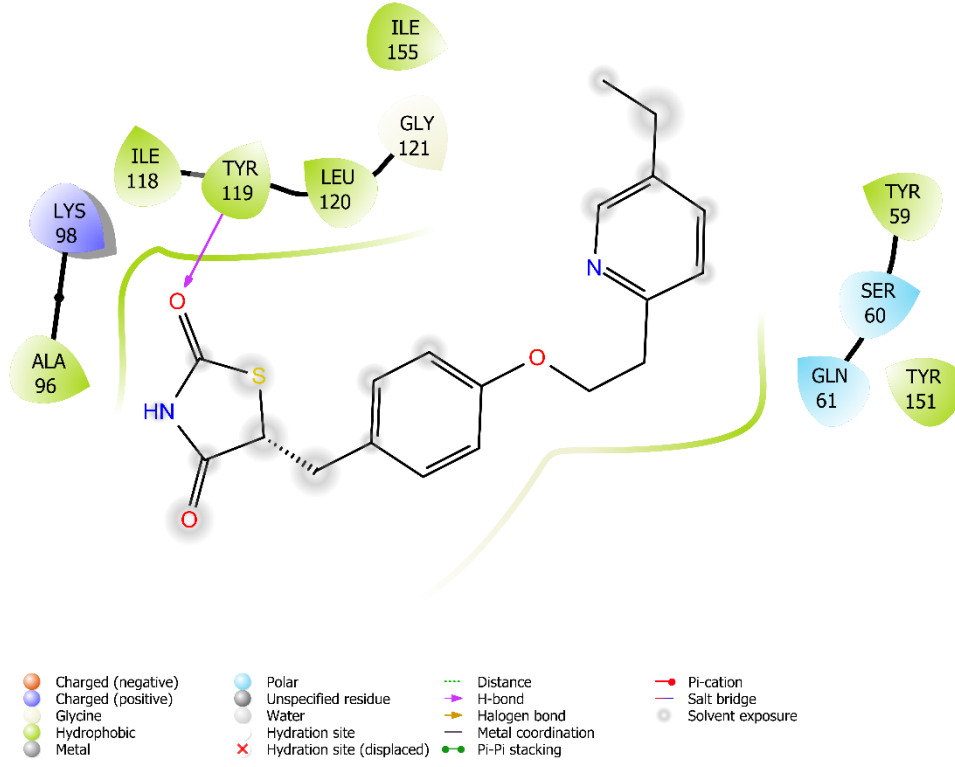
**Tablo 4.2**

*Pioglitazon molekülünün TNF-a (PDB ID:2AZ5), IL-1B (PDB ID:8C3U) ve kaspaz-3 (PDB ID:4QTX) kristalleri için aminoasit etkileşimleri ve tipleri*

<b>Kristal</b>	<b>Pioglitazon molekülünün aminoasit etkileşim çeşitleri</b>
<b>PDB ID:2AZ5</b>	Tyr119 ile hidrojen bağı; Tyr151 ile aromatik hidrojen bağı
<b>PDB ID:8C3U</b>	Lys97 ile hidrojen bağı; Lys97 ile tuz köprüsü; Lys94 ile hidrojen bağı; Pro57 ile aromatik hidrojen bağı; Lys93 ile aromatik hidrojen bağı; Lys92 ile aromatik hidrojen bağı
<b>PDB ID:4QTX</b>	Ser120 ile hidrojen bağı; Arg64 ile hidrojen bağı; Gln161 ile hidrojen bağı; Ser205 ile aromatik hidrojen bağı; Arg207 ile iki adet aromatik hidrojen bağı; Trp206 ile pi-pi etkileşimi; Trp206 ile aromatik hidrojen bağı

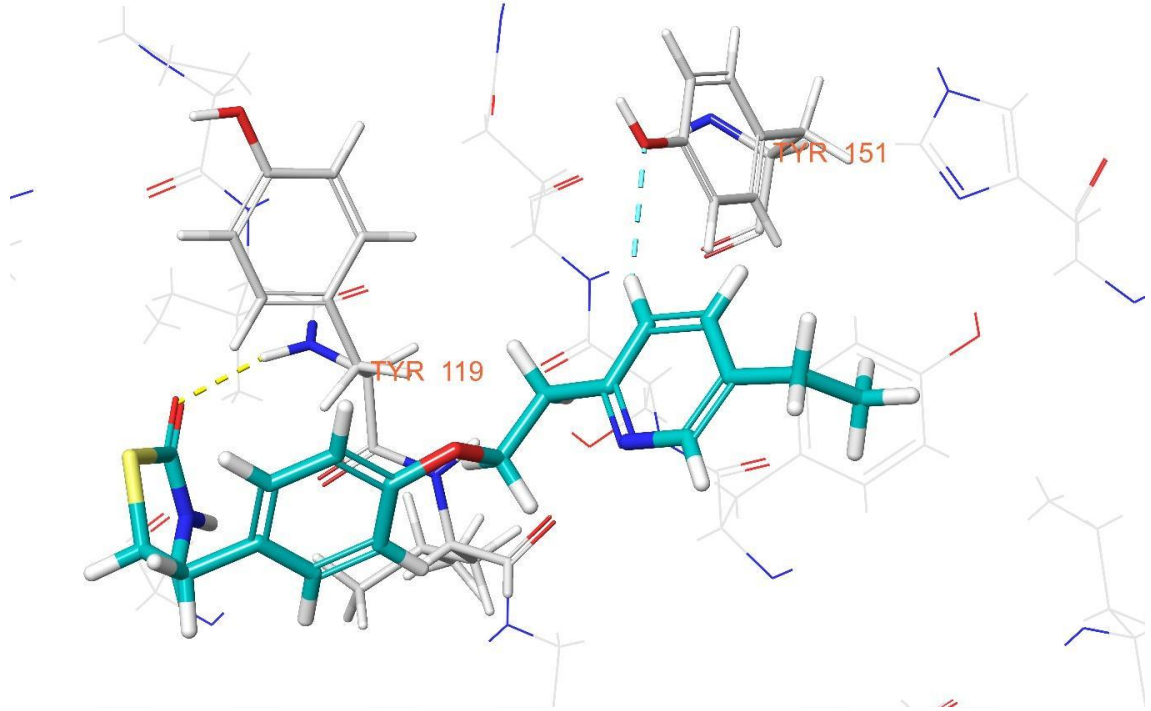
### Şekil 4.3

*Pioglitazon ile TNF- $\alpha$  (PDB ID:2AZ5) etkileşiminin iki boyutlu görseli*



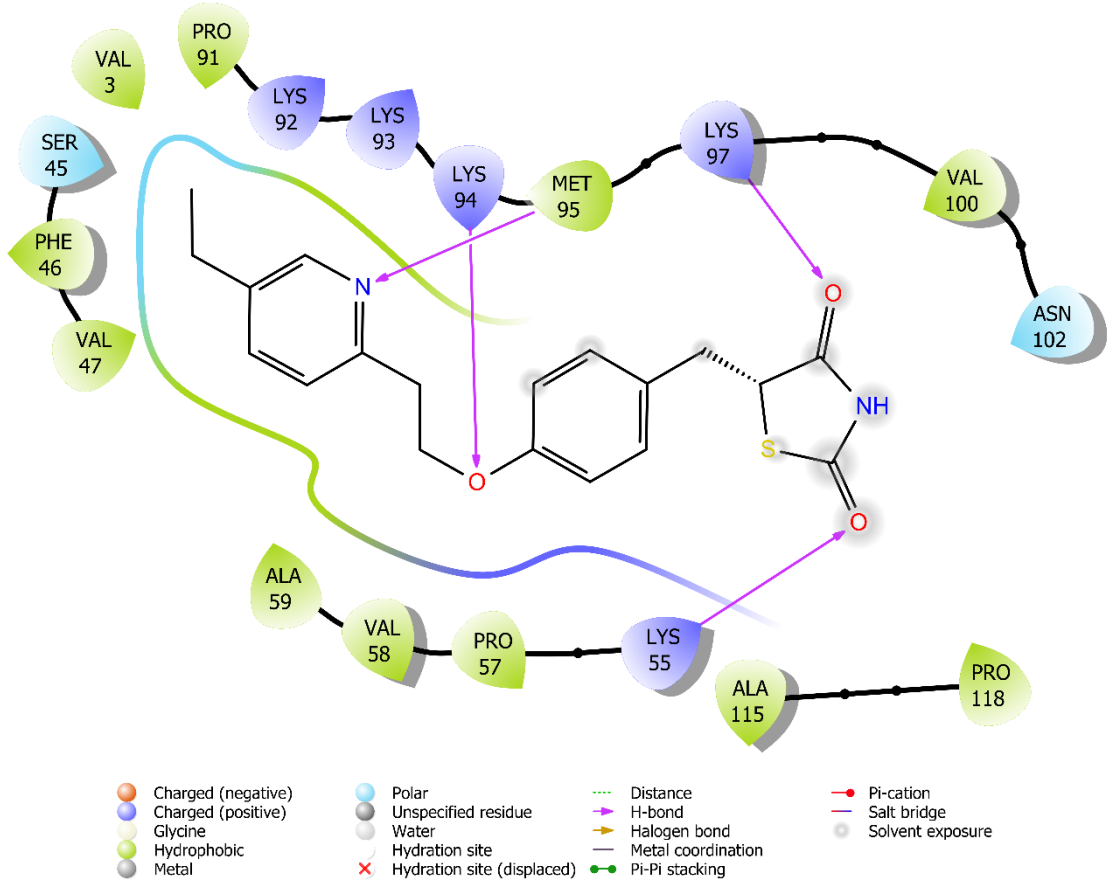
#### Şekil 4.4

*Pioglitazon ile TNF-a (PDB ID:2AZ5) etkileşiminin üç boyutlu görsel*



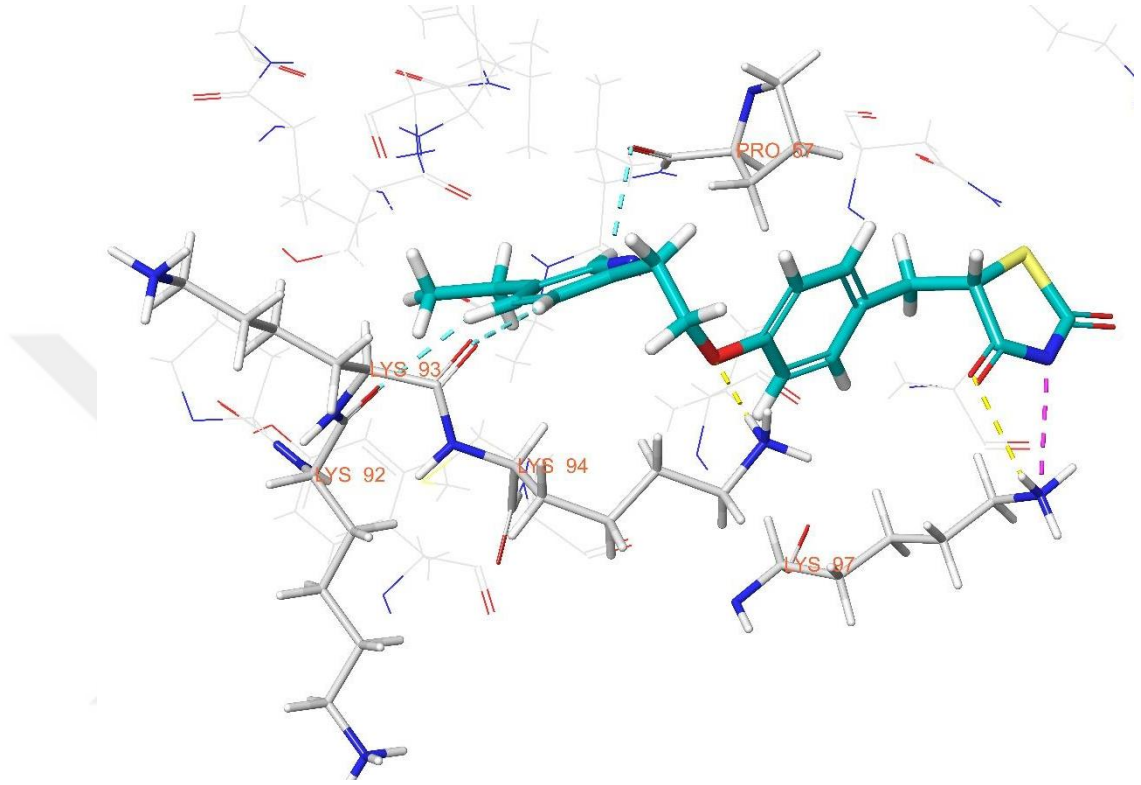
## Şekil 4.5

*Pioglitazon ile IL-1B (PDB ID:8C3U) etkileşiminin iki boyutlu görseli*



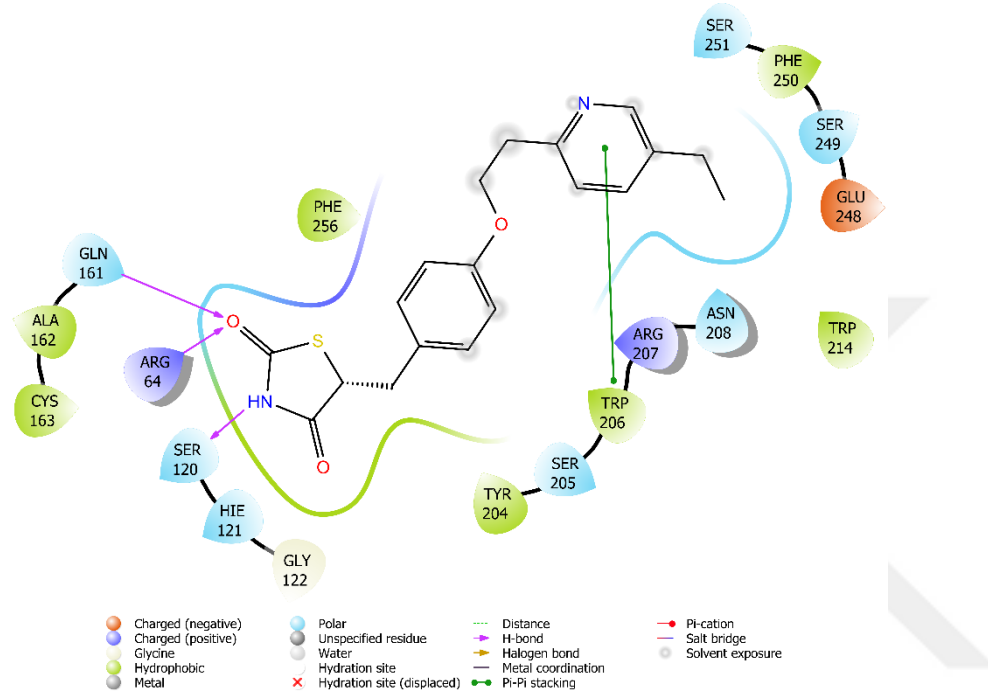
## Şekil 4.6

*Pioglitazon ile IL-1B (PDB ID:8C3U) etkileşiminin üç boyutlu görseli*



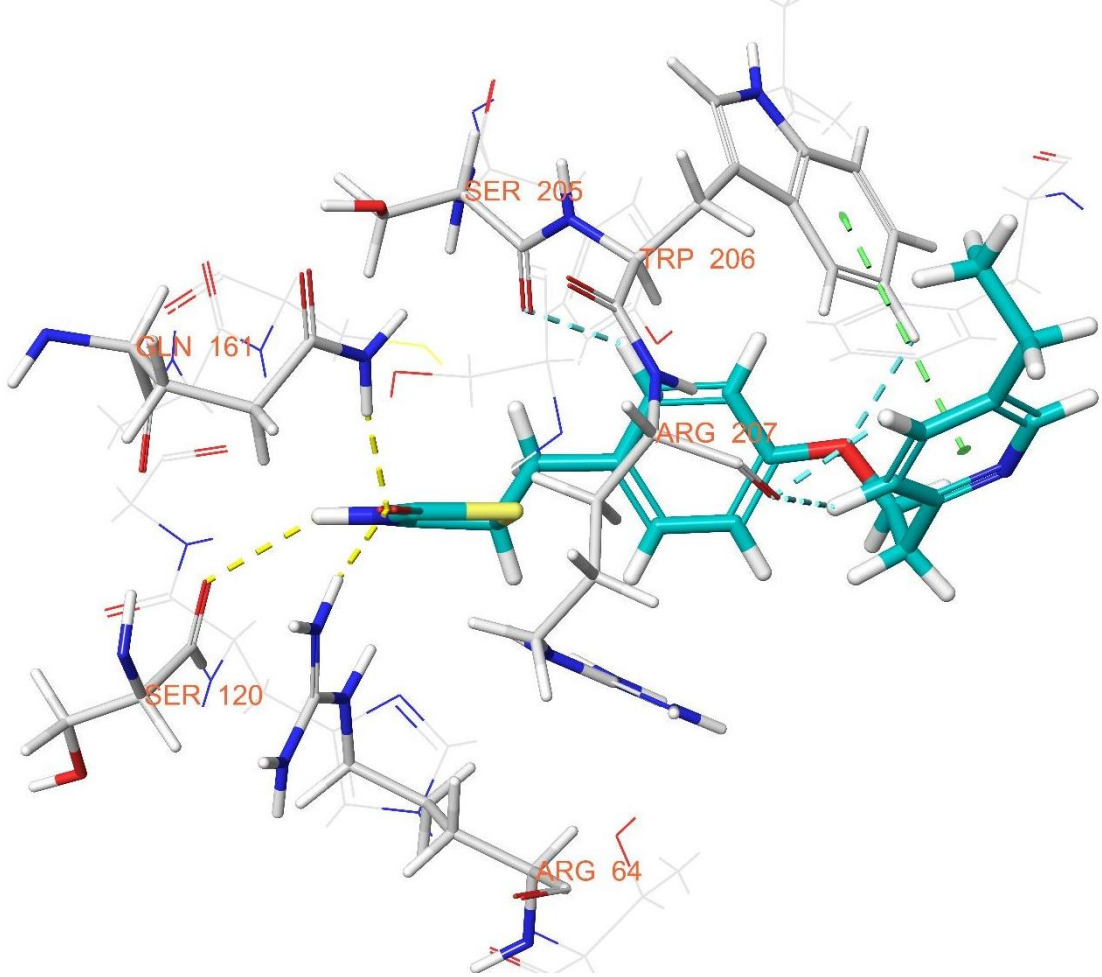
## Şekil 4.7

*Pioglitazon ile kaspaz-3 (PDB ID:4QTX) etkileşiminin iki boyutlu görseli*



## Şekil 4.8

*Pioglitazon ile kaspaz-3 (PDB ID:4QTX) etkileşiminin üç boyutlu görseli*



## 5 TARTIŞMA ve ÖNERİLER

Pioglitazon MTT testinde TM3 Leyding hücrelerinde ve TM4 Sertoli hücrelerinde anlamlı hücre canlılığı azaltmış ve sitotoksik etki göstermiştir (Şekil 4.1, Şekil 4.2).

### 5.1 Tartışma

Ülkemizde diyabetes mellitus görülme sıklığı beklenenin üstünde artmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü, Türkiye’de 2000 yılında yaklaşık 3 milyon olan diyabetes mellitus hastasının sayısının 2030 yılında 6,5 milyona ulaşacağını tahmin etmiş, ancak 2014 yılında diyabetes mellitus hasta sayısının tahmin edilen bu değerden fazla olduğu görülmüştür (Longo, D.L vd.,2012). Üreme çağındaki diyabetli erkeklerin sayısındaki artış ve hastalığın çocuklarda, gençlerde ve genç yetişkinlerde artan prevalansı, anti-diyabetik ilaçların erkek üreme sağlığının kritik bileşenleri üzerindeki güvenliğini değerlendiren araştırmalara duyulan ihtiyacın altını çizmektedir (Covilhã,2015).

Diyabetes mellitus tedavisinde kullanılan pioglitazon, tiyazolidindion grubunda yer alan peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gama agonisti, iskelet kasında, karaciğer ve yağ dokusunda insülin direncini azaltan, insülinin dokulardaki etkinliğini artırarak etki gösteren bir oral antidiyabetik ajandır (İmamoğlu, (2006 ;2019); Whitcomb RW vd.,1971). Diyabetes mellituslu hayvanlarda yapılan çalışmalarda pioglitazonun insülin direnci ile birlikte görülen hiperglisemi, hiperinsülinemi ve hipertrigliseridemiye de azalttığı, açlık kan şekeri ve diyabetin uzun dönem belirteci olan HbA1c değerinde düşüş sağladığı görülmüştür (Sugiyama Y vd.,1990; Kemnitz JW vd.,1994).Tedavi başladıktan sonra açlık kan şekeri ve HbA1c için 2.haftada anlamlı düşüşlerin görülmeye başladığı ve 14.haftada ise HbA1c de istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldüğü bildirilmiştir (Aronoff S vd.,2000). Tip 2 diyabet tedavisinde yaşam tarzı değişikliğinden sonra en çok tercih edilen ilaç metformin olsa da yapılan bir çalışmada metformin ile pioglitazonun kombine kullanımının daha kalıcı glisemik kontrol sağladığı ortaya koyulmuştur (Abdul-Ghani MA vd.,2015). Pioglitazonun glisemik kontrol üzerindeki etkisi, diğer antidiyabetik ilaçlara göre düşük maliyetli olması gibi sebepler ilaca olan ilgiyi artırmaktadır (DeFronzo RA vd.,2019).

Tiyazolidindionların uzun süreli kullanımı; kilo alımı, ödem, konjestif kalp yetmezliği, hepatotoksisite, kanser riski artışı, teratojenik potansiyel, steroid hormon üretiminde bozukluklar ve üreme sorunları gibi doza bağlı yan etkilerle ilişkilidir. Ancak, sağlık

düzenleme kurumları pioglitazon ve rosiglitazonun toksisiteleleri ile ilişkili yeterli kanıt bulamamıştır. Bu nedenle, tiyazolidindionların özellikle diyabetik erkeklerde üreme sağlığı üzerindeki etkilerini anlamak, güvenli kullanımını sağlamak, dozaj suistimali potansiyelini incelemek ve testiküler hücrelerdeki etki mekanizmalarını açıklamak büyük önem taşımaktadır. Pioglitazon ile yapılan çalışmalar sonucunda, pioglitazonun endokrin sistem ve metabolitik etkilerinin birden fazla doku ve organda patofizyolojik değişiklikler yaptığı tespit edilmiştir. Pioglitazon androjenlerin seks hormon bağlayıcı globuline daha fazla bağlanmasına, reseptörlerin aktivasyonunun azalmasına neden olur ve sonuç olarak erkek reproduktif sistemde etkili olan testosteronun biyosentezi ve işlevi azalır (Carruthers M vd.,2008). FDA, geliştirilmekte olan PPAR agonistlerinin çoğunluğunun tiyazolidinedionlar olmadığını belirtmektedir. Geçtiğimiz yıllarda, bu ilaçların geliştirme projelerinin çoğu, güvenlik nedenleriyle sona ermiştir ve onay alamamıştır. Androjenin kök hücrelerin miyositlere, vasküler endotele, eritroid kök hücrelere ve osteoblastlara farklılaşmasını sağlama ve aynı zamanda adipositlerin farklılaşmasını destekleme yeteneğini azaltan etki, pioglitazonun kalp ve diğer organlar üzerindeki zararlı etkilerini açıklamaktadır. Bu ilacın metabolik aktiviteleri olumsuz klinik sonuçlarıyla doğrudan ilişkilidir (Carruthers M vd.,2008).

Sertoli hücreleri kan-testis bariyerini oluşturduğundan germ hücrelerinin gelişimi için gerekli desteği sunarlar. Ayrıca transferrin, anti-Müllerian hormonu (AMH), glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör (GDNF), androjen bağlayıcı protein (ABP), ayrıca inhibin ve aktivin salgırlar. Epididimiste spermatogenezin başlaması ve sperm olgunlaşması, bu hormonların seminifer tübüllerdeki yüksek konsantrasyonuyla mümkün olur. Androjen bağlayan proteinlerin sentezi FSH tarafından düzenlenir. Ek olarak sertoli hücreleri, spermiyogenezden kalan sitoplazma artıklarının uzaklaştırılmasını sağlayan fagositik aktivite sergiler (Barden, C.W. vd.,1988; Tindall, D.J. vd.,1985). Leydig hücreleri dihidroepiandrosteron, androstenedion ve testosteron salgırlar. LH bu androjenlerin salınımını uyarır. Leydig hücrelerinin testosteron üretmesine ve salımına izin veren kolesterolün pregnenolon'a dönüşümü, LH'nin neden olduğu kolesterol desmolaz aktivitesindeki artışla mümkün olur (Knobil, E. ve Neill, J.,1988; Handelsman DJ vd.,2020). Sertoli ve leyding hücrelerinin bahsedilen etkileri sebebiyle pioglitazonun reproduktif sistem üzerindeki etkilerini değerlendirebilmek için pioglitazonun hücreler üzerindeki toksisitesi önem arz etmektedir.

Araştırmalar, rosiglitazonun sıçanlarda 15 gün boyunca 5 mg/kg/gün dozunda ve sağlıklı pubertal erkeklerde 7 gün boyunca 8 mg/gün dozunda testis hücrelerini ve testosteron sentezini inhibe ettiğini göstermektedir. Ayrıca, tiyazolidindionların *in vitro* olarak 48 saat boyunca 2,5-10 µM konsantrasyonlarda tedavisi, insan adrenal NCI-H295R hücrelerinde androjen sentezini inhibe etmektedir (Kempná vd., 2007). Tiyazolidindionların erkek doğurganlığı üzerindeki farklı etkileri, dozaj, tedavi süresi, deneklerin sağlık durumu (sağlıklı veya diyabetik) ve hücre kültürü koşulları gibi çeşitli faktörlere bağlıdır.

PPAR'ın hipofiz bezindeki varlığı ve hipofiz hücrelerindeki antiproliferatif etkileri ortaya konmuştur. Pioglitazonun tedavide kullanılması PPAR ın hipofizdeki rolü dşnldğinde prolaktin, büyüme hormonu, FSH, LH salgılarını etkileyerek üreme sistemini etkileyebileceği düşünülmektedir. Seminifer tübül hücreleri (Sertoli ve germ hücreleri) ve Leydig hücrelerinin her ikisi de yüksek düzeyde PPAR ekspresyonu sergilemektedir. Yapılan bir başka çalışmada ise, testis dokusunun pioglitazon ile inkübasyonu mRNA seviyesinde bir düşüşe neden olmuştur. mRNA seviyesindeki bu düşüşün pioglitazonun reproduktif toksisitesi ile ilişki olabileceği düşünülmektedir (Froment, P. vd.,2024).

Çalışmamızda pioglitazonun erkek üreme sisteminde önemli rolleri bulunan TM3 Leyding ve TM4 Sertoli hücrelerindeki toksisitesi MTT hücre canlılık tayin yöntemi ile incelenmiştir. Çalışmamız sonucunda elde ettiğimiz bulgulara göre pioglitazonun reproduktif toksisitesi değerlendirilmiştir. Pioglitazonun TM3 Leyding ve TM4 Sertoli hücrelerinde sitotoksik etkisi bulunduğu, TM3 Leyding hücrelerindeki sitotoksik etkisinin TM4 Sertoli hücrelerindeki sitotoksik etkisinden fazla olduğu tespit edilmiştir (şekil 4.1, şekil 4.2). Pioglitazon ile yapılan diğer çalışmalarda da çalışmamızda olduğu gibi TM3 Leyding ve TM4 Sertoli hücrelerinde bir toksik etkisinin olabileceği sonucuna varılmış (şekil 4.1, şekil 4.2) ve tespit edilen reproduktif toksisitenin sebeplerinden biri olarak pioglitazonun androjen biyosentezini ve etkinliğini azaltması gösterilebilmektedir.

Moleküler doking sonuçlarımıza göre ise pioglitazonun olası mekanizmasının altında TNF-a, IL1-B ve kaspaz-3 üzerinde etkileşimlerinin olabileceği sonucuna varılmıştır (şekil 4.3, şekil 4.4, şekil 4.5, şekil 4.6, şekil 4.7, şekil 4.8).

Moleküler doking, yapısı bilinmeyen hedef modülatörlerin moleküler düzeyde ligand-hedef etkileşimlerini, yapı-aktivite ilişkilerini belirleyerek yeni bileşiklerin

keşfedilmesine katkıda bulunan, ilaç keşfinde yaygın olarak kullanılan *in siliko* tabanlı bir yöntemdir (Pinzi L vd.,2019). İlaçların advers etkilerinin erken tespit edilmesi ilaç keşfinde önemli olan konulardan biridir. İlaç adaylarının birçoğunun beklenmedik etkileşimler sonucu görülen advers etkiler nedeniyle başarısız olduğu görülmektedir. İlaçların klinik çalışmalarda belirlenemeyen güvenlik riskleri, ilacın onay alıp kullanıma sunulması ile tespit edilebilmektedir (Klein, E. ve Bourdette, D.,2013). İlaçların kullanıma sunulması ile yapılan yan etki analizlerine yardımcı olduğu düşünülen çeşitli hesaplama yöntemleri mevcuttur. Ancak bu yöntemler ilgili ilaca ait biyoaktivite verisi ve bildirilmiş advers etkilere ihtiyaç duymaktadır (Yoo, S. vd.,2018; Ekins, S.,2004). Moleküler doking yöntemi ile advers etkilerin tespit edilmesi için ise hedefin yapısal bilgileri yeterlidir. Bu nedenle ilaç keşif çalışmalarının erken aşamalarında bileşiklerin potansiyel advers etkilerinin tahmin edilmesi için önemli bir yaklaşımdır (Xu, X. vd.,2018; Li, C.Y. vd.,2007).

Tümör nekrozis faktör alfa, doğal bağışıklık için önemli bir mekanizma olan inflamasyonda etkin olarak yer alan bir sitokindir. Hücre ölümünü destekleyen faktör olarak keşfedilmiştir (Baud V ve Karin M.,2001; Carswell EA vd.,1975). Tümör nekrozis faktör alfa monositler, makrofajlar, b hücreleri, nötrofiller gibi bağışıklık sisteminde rolü olan hücreler tarafından üretilmektedir (Richter F vd.,2019). Otoimmün ve inflamatuvar hastalıklarda konsantrasyonu artmaktadır (Fernández-Ruiz M ve Aguado JM.,2018). İnterlökin-1 salınımını artırır, bu etki TNF- $\alpha$ 'nın sistemik etkilerindedir (Makhatadze, N.J.,1998). TNF- $\alpha$ 'nın fare testisinde interstisyumda bulunan monositler ve makrofajlar tarafından da üretildiğini gösteren ve tümör nekroz faktörlerinin reseptörlerinin Sertoli hücrelerinde bulunduğunu ifade eden çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalarda TNF- $\alpha$ 'nın Sertoli hücrelerinde kan testis bariyerinin yeniden yapılandırılmasını sağladığı ve spermatogenezi düzenlediği ancak yüksek konsantrasyonda da hücre ölümünü tetiklediği görülmektedir (Hutson JC.,1993; Lydka M vd.,2012). Sertoli hücrelerindeki mikrofilamentleri oluşturan F-aktin TNF  $\alpha$ 'ya karşı yüksek duyarlılık göstermektedir (Wen Q vd.,2018). Bu duyarlılık neticesinde bozulan kan testis bariyeri ile mayoz ve spermiyogenez, germ hücre apoptozunda artış görülürken ilerleyen süreçte sperm hücre sayısında ve sperm canlılığında düşüşe neden olmaktadır (Hu S. vd.,2021). Semendeki TNF- $\alpha$  artışının azalmış sperm sayısı, sperm hareketliliği ve sperm morfolojisi ile ilişkili olduğu da yapılan yeni çalışmalarda gösterilmiştir (Gruschwitz MS vd.,1996; Sanocka D. vd.,2003).

Apoptozu indükleyen TNF- $\alpha$  gibi IL-1 de enflamatuar sitokindir ve TNF- $\alpha$  ile aynı görevleri paylaşır (Cudicini C. Vd.,1997). İnterlökin-1 monositler, endotel hücreleri, keratinositler, nötrofiller, b lenfositleri tarafından salgılanır, kaspaz-1 enzimi ile aktifleşir (Andreas L. vd.,2007; Dinarello CA,1984). IL-1 sitokin ailesi, IL-1a, IL-1b, IL-1Ra (IL-1 reseptör antagonist), IL-18 ve IL 13 gibi önemli sitokinleri içerir (Taylor JJ. vd.,2000). IL-1b; inflamatuvar yanıtı, hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması ve apoptozunu düzenlemede etkin rol oynar. Hücreleri uyararak inflamasyonun yayılmasını sağlar (Mendiola, A.S. ve A.E. Cardona,2018). IL-1b nin, glukoz metabolizmasında düzenleyici etkisi vardır. İnsulinin, glukoz alımına bağlı olarak sekresyonunu sağlar. Metabolik sendrom ile sürekli uyarılan IL-1b, pankreatik  $\beta$  hücrelerinin fonksiyonunu bozar ve Tip2 diyabetes mellitus oluşumuna neden olur (Wiedemann SJ vd.,2022). Naz ve Evans tarafından yapılan çalışmalarda interlökin 12'nin sperm yoğunluğu ve sperm morfolojisi ile ilişkili olduğu ve interlökin seviyesinin infertil erkeklerde arttığı belirtilmiştir. Semendeki yüksek seviyedeki belirli sitokinlerin sıklıkla seminolojik parametrelerin kalitesindeki düşüşle bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Sikka SC.,2001; Naz RK ve Evans L.,1998). Artan sitokin seviyesi, beta hücrelerinin proliferasyonu ve farklılaşması, T hücrelerinin ve doğal öldürücü hücrelerin proliferasyonu sonucunda semende apoptoza neden olmaktadır. İnterlökin1 alfa (IL-1  $\alpha$ ) ve interlökin1 beta (IL1 $\beta$ ) da beta hücrelerinin proliferasyonu ve farklılaşması, lökositlerin enflamasyon bölgesine kemoatraksiyonu ve nötrofil ve monosit oluşumunun indüklenmesi yoluyla semende apoptozu indükler. Bu sitokinlerin semen kalitesini de olumsuz etkilediği görülmüştür. Bildirilen bir başka çalışmada, IL-1 $\beta$  düzeylerindeki artışın sperm hareketliliğinde azalma ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Kocak I. vd.,2002).

Kaspazlar (sisteinil aspartat spesifik proteinazlar), insan seminifer epitelinde apoptozisin düzenlenmesinde merkezi bir rol oynar. Bunlar inaktif proenzimler olarak ifade edilir ve pro-apoptotik sinyallere yanıt olarak tetiklenen bir kaskada katılırlar. Bugüne kadar, 14 kaspaz insan apoptotik yol kaskadında rol oynamıştır (Tamer vd.,2004). Bunlar arasında kaspaz-3, sistein-proteaz grubu enzimlerdir ve apoptotik hücre ölümü esnasında önemli rol oynarlar (Nicholson DW vd.,1995). Apoptozis moleküler, endokrin ve fiziksel faktörler yoluyla yakın bir kontrol, hücre büyümesi ve ölümünün homeostazını sağlar (Tamer vd.,2004). Kaspaz kaskadının uygun şekilde düzenlenmesi, sperm farklılaşmasında ve testis olgunluğunda önemli bir rol oynar. Ancak, kaspazlar bozulmuş spermatogenez, azalmış sperm motilitesi ve artmış sperm DNA parçalanması seviyeleri,

testis torsiyonu, varikosel ve immünolojik infertilite gibi birden fazla androlojik patolojinin patogeneğinde de rol oynamıştır (Tamer vd.,2004).

Kaspaz-3 apoptoz sürecinde üstlendiği rol ile meme kanseri, inme başlangıcı ile beyin parankiminde ortaya çıkan hücre ölümü ve doku hasarının rol oynadığı diabetes mellitus gibi apoptoz sürecini içeren patolojik durumlar ile ilişkilendirilmektedir (Pu X vd.,2017; Shoukheba MY vd.,2016).

Pioglitazonun inflamatuvar sitokinler olan tümör nekroz faktör  $\alpha$ , interlökin 6 ve interlökin 1  $\beta$  ekspresyonunu üzerine etkilerine çeşitli çalışmalarda değinilmiştir (Zamanian MY vd.,2022; Aksakal O vd.,2010; Farin Malekifard vd.,2018; Hong SW vd.,2018).

Bu çalışmalarda çeşitli modellerin oluşturulmuş olması, ekstrapole edilmelerinin zorluğu ve maruziyet şekli ve miktarlarının günümüzde kullanılan pioglitazon tedavi seçeneğine ne kadar uyum gösterecekleri araştırılması gereken bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır.

Pioglitazonun PPAR- $\gamma$  agonisti olarak, akt-1 proteini ve fosforilasyon seviyesini düşürdüğü, sitokrom c salınımını artırdığı ve kaspaz-3 aktivasyonunu sağlayarak apoptozu indüklediğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (Tavares RS vd.,2019). Pioglitazonun 48 saat boyunca 5  $\mu$ M'yi aşan konsantrasyonlarda uygulanması, olgunlaşmamış kök hücrelerde hücre sağkalımı, metabolik aktivite, büyüme ve hücre döngüsü ilerlemesini belirgin şekilde azaltmaktadır. Pioglitazon tedavisi kesildiğinde, sertoli hücre proliferasyonunun baskılandığı ve sertoli hücre canlılığının arttığı gözlemlenmiştir. Tiyazolidindionlar, reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışı yoluyla mitokondri aracılı kaspaz apoptozunu indüklemekte ve siklinler yoluyla hücre büyümesini inhibe ederek hepatosit fonksiyonunu bozmaktadır (Rachek, L. I. vd.,2009).

Pioglitazonun da sertoli hücrelerine adinopektin seviyelerinin artışı ile antiproliferatif etki gösterdiği ve reaktif oksijen türlerinin artışının da buna aracılık ettiği ifade edilmiştir (Zhang, J. J. Vd.,2022). Kaspazlar, apoptoz sürecinde kritik bir rol oynayan sistein proteaz sınıfındadır. Ekstrinsik ve intrinsik apoptotik yollar, kaspaz 8 ve 9 ile başlar ve kaspaz 3 son efektör olarak görev yapar (Bruedigam C vd.,2011).

Rosiglitazon, kaspaz bağımlı apoptozu indükleyerek mineralize hücre ölümüne yol açmaktadır. Araştırmalar, pioglitazon tedavisinin ve PPAR $\gamma$  aşırı ekspresyonunun, kaspaz

8 ve 3/7'yi aktive ederek ekstrinsik kaspaz yolu üzerinden apoptoza neden olduğunu ortaya koymaktadır (Wan, J.vd.,2014).

Diabetes mellitus gibi komplike bir metabolizma hastalığının erkek reproduktif sistem üzerinde olumsuz etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalar ile birlikte dünya çapında hastalığın artışı göz önünde bulundurulduğunda endişe verici bir sonuç ortaya çıkmaktadır. Diabetes mellitus tedavisinde kullanılan ajanların glisemik kontroldeki etkileri kanıtlanmış olsa da reproduktif sistem üzerindeki olumsuz etkilerin tedavi ile giderilip giderilmediği konusunda bir bilgi mevcut değildir (Tavares RS vd.,2019). Bu tez çalışmasında pioglitazonun sertoli ve leydig hücrelerine toksisitesinin gözlemlendiği ve olası mekanizma olarak öne sürülen inflamatuvar göstergelerden TNF-a, IL-1 $\beta$  ve kaspaz-3 ile sıkı bir ilişki içinde olduğu gösterilmiştir.

## 5.2 Öneriler

Tez çalışması kapsamında, pioglitazonun reproduktif toksisitesini işaret eden bulgular elde edilmiştir. Prevalansı yüksek olan Diyabetes mellitus tedavisinde kullanılan pioglitazonun, diğer *in vitro* toksisite testlerinin de incelenmesi ve deney hayvanlarında insan dozlarına eşdeğer maruziyetlerde reproduktif sistem üzerindeki etkilerinin daha ayrıntılı bir şekilde tanımlanması gerekmektedir. Ayrıca, tedavilerinde pioglitazon kullanan Diyabetes mellitus hastalarının fertilité potansiyelleri, sperm parametreleri ve reproduktif hormon seviyeleri de epidemiyolojik çalışmalarla değerlendirilmelidir. Pioglitazon tedavisi ile ilişkilendirilebilecek olası reproduktif advers etkiler, hastaların fertilité açısından düzenli takip edilmesinin gerekliliğine dikkat çekmektedir. Bu sayede, olası fertilité problemleri için alternatif tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine odaklanılacaktır. Bu çalışmada, erkek üreme sistemi toksisitesi açısından önemli bir *in vitro* model olan Leydig ve Sertoli hücreleri ile çalışılmış ve pioglitazonun bu hücreler üzerindeki toksik etkileri gösterilmiştir. Ancak daha gerçekçi ve güvenilir sonuçlar elde edebilmek için daha detaylı ve gelişmiş modellere ihtiyaç vardır. Ayrıca, mekanistik çalışmalar açısından önemli bir *in siliko* yaklaşım olan moleküler doking yöntemi kullanılarak, pioglitazonun TNF- $\alpha$ , interlökin 1 $\beta$  ve kaspaz-3 gibi biyogöstergelerle ilişkisi incelenmiştir. Bu inceleme sonucunda, pioglitazonun özellikle interlökin 1 beta ve kaspaz-3 ile yüksek derecede ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır. Bu doğrultuda, daha detaylı bir şekilde tasarlanacak yeni çalışmalarla, bu yolaklar hakkında literatürdeki çelişkili sonuçların aydınlatılması gerekmektedir.

## KAYNAKÇA

- Abdul-Ghani MA, Puckett C, Triplitt C, et al. Initial combination therapy with metformin, pioglitazone and exenatide is more effective than sequential add-on therapy in subjects with newonset diabetes. Results from the Efficacy and Durability of Initial Combination Therapy for Type 2 Diabetes (EDICT): a randomized trial. *Diabetes Obes Metab* 2015; 17:268–275
- Acar Çevik, U., Sağlık, B. N., Ardiç, C. M., Özkay, Y., & Atlı, Ö. (2018). Synthesis and evaluation of new benzimidazole derivatives with hydrazone moiety as anticancer agents. *Turkish Journal of Biochemistry*, 43(2), 151-158.
- Agarwal A., Gupta, S., Sharma, R. (2005). Oxidative stress and its implications in female infertility- a clinician's perspective. *Reproductive BioMedicine Online*, 11, 641-650.
- Aksakal O, Yilmaz B, Gungor T, Sirvan L, Sut N, Inan I, et al. A randomised controlled trial on melatonin and rosiglitazone for prevention of adhesion formation in a rat uterine horn model. *Archives of Gynecology and Obstetrics* 2010; 282:55–61.
- American Diabetes Association: Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 33(1): 64-69, 2010.
- American Diabetes, A., 3. Prevention or Delay of Type 2 Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2019. *Diabetes Care*, 2019. 42(Suppl 1): p. S29-S33
- American Diabetes, A., 3. Prevention or Delay of Type 2 Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2019. *Diabetes Care*, 2019. 42(Suppl 1): p. S29-S33.
- Anafarta K., Göğüş O., Bedük Y., Arıkan N. (1998). *Temel Üroloji*. Güneş Kitabevi Ltd. Şti., Ankara.
- Andreas L, Glen A, William G. Systemic inflammation after trauma. *Injury, Int. J. Care Injured USA* 2007; 38:13361345.
- Aranda A, Pascual A. Nuclear hormone receptors and gene expression. *Physiol Rev*. 2001;81(3):1269-304.
- Arıncı K, Elhan A. *Anatomi*,3. Baskı.Ankara,Güneş Kitabevi, 2001.

- Aronoff S, Rosenblatt S, Braithwaite S, Egan JW, Mathisen AL, Schneider RL. Pioglitazone hydrochloride monotherapy improves glycemic control in the treatment of patients with type 2 diabetes: a 6-month randomized placebo-controlled dose-response study. The Pioglitazone 001 Study Group. *Diabetes Care*. 2000 Nov;23(11):1605-11. doi: 10.2337/diacare.23.11.1605. PMID: 11092281.
- Ayuob NN, Murad HA & Ali SS 2015 Impaired expression of sex hormone receptors in male reproductive organs of diabetic rat in response to oral antidiabetic drugs. *Folia Histochemica et Cytobiologica* 53 35–48
- Bahçeli M. *Oral antidiyabetik ilaçlar ve yeni uygulamalar, Diabetes mellitusun modern tedavisi*, Yılmaz MT, Bahçeci M, Büyükbeşe MA, 1. Baskı, Türk Diyabet Vakfı, İstanbul, 2003; (2): 35-54.
- Bailey CJ, Day C. Avandamet: Combined metformin-rosiglitazone treatment for insulin resistance in type 2 diabetes. *Int J Clin Pract*. 2004;58(9):867–76.
- Bailey CJ, Turner RC. Metformin. *N Engl Med* 1996; 334:574-9
- Bailey CJ. The rise and fall of troglitazone. *Diabetic Medicine*. 2000;17(6):414–5.
- Baker, V. (2001). Endocrine disruptors testing strategies to assess human hazard. *Toxicology in Vitro* 15, 413419.
- Barden, C.W., Cheng, C.Y., Musto, N.A., Gunsalus, G.L. (1988). The Sertoli Cell. E. Knobil, J. Neill (Ed.). *The Physiology of Reproduction* (s. 933-974). New York: Raven Press.
- Baud V, Karin M. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends in cell biology*. 2001;11(9):372-7.
- Bauman WA, Shaw S, Jayatilleke E, Spungen AM, Herbert V. Increased intake of calcium reverses vitamin B12 malabsorption induced by metformin. *Diabetes Care* 2000; 23: 1227-31.
- Blank, J., Blechschmidt, A., Boettcher, A., Bornancin, F., Brady, J., Eder, J., ... & Schleberger, C. (2023). Discovery of a selective and biologically active low-molecular weight antagonist of human IL-1b. *Nature communications*, 14, 5497-5509.

- Brown, N.A., Spielmann, H., Bechter, R., Flint, O.P., Freeman, S.J., Jelinek, R.J., Koch, E., Nau, H., Newall, D.R., Palmer, A.K., Renault, M.F., Repetto, M.F., Vogel, R. & Wiger, R. (1995). Screening chemicals for reproductive toxicity: the current alternatives. The report and recommendations of ECVAM workshop 12. *ATLA* 23, 868882.
- Bruedigam C, Eijken M, Koedam M, Chiba H, Van Leeuwen JP: Opposing actions of rosiglitazone and resveratrol on mineralization in human vascular smooth muscle cells. *J Mol Cell Cardiol.* 2011, 51 (5): 862-871. 10.1016/j.yjmcc.2011.07.020.
- Bs D. Androgen Physiology, Pharmacology and Abuse. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Feingold KR, Grossman A, Hershman JM, et al., editors. *Endotext*. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000.
- Burant CF. *Medical Management of Type Two Diabetes*, 5 th. Ed. American Diabetes Association 2004.
- Cade, C., Swartz, P., MacKenzie, S. H., & Clark, A. C. (2014). Modifying caspase-3 activity by altering allosteric networks. *Biochemistry*, 53(48), 7582-7595.
- Carruthers M, Trinick TR, Jankowska E, Traish AM. Are the adverse effects of glitazones linked to induced testosterone deficiency? *Cardiovasc Diabetol.* 2008 Oct 15;7:30. doi: 10.1186/1475-2840-7-30. PMID: 18922158; PMCID: PMC2576082.
- Carswell EA, Old LJ, Kassel R, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 1975;72(9):3666-70.
- Cefalu WT. Pharmacotherapy for the treatment of patients with type 2 diabetes mellitus: rationale and specific agents. *Clinical Pharmacol Ther* 2007; 81:636-49.
- Chen, Y.Z.; Ung, C.Y. Prediction of potential toxicity and side effect protein targets of a small molecule by a ligand-protein inverse docking approach. *J. Mol. Graph. Model*
- Chinnam P, Mohsin M, Shafee LM. Evaluation of acute toxicity of pioglitazone in mice. *Toxicol Int.* 2012;19(3):250-4.

- Combes, R.D. (2000). Endocrine disruptors a critical review of in vitro and in vivo testing strategies for assessing their toxic hazard to humans. *ATLA* 28, 81118.
- Covilhã, Junho de, Efeito de Antidiabéticos em Células de Sertoli Humanas: Implicações Para a Fertilidade Masculina 2015
- Cudicini C, Lejeune H, Gomez E, Bosmans E, Ballet F, Saez J, et al. Human Leydig cells and Sertoli cells are producers of interleukins-1 and -6. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(5):1426-33.
- Day C. Thiazolidinediones: a new class of antidiabetic drugs. *Diabet Med.* 1999; 16:179–92
- DeFronzo RA, Inzucchi S, Abdul-Ghani M, Nissen SE. Pioglitazone: the forgotten, cost-effective cardioprotective drug for type 2 diabetes. *Diab Vasc Dis Res* 2019; 16:133–143
- DeFronzo, RA, Goodman, AM. Efficacy of metformin in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. The Multicenter Metformin Study Group. *N Engl J Med* 1995, 333:541-9.
- Dinarello CA. Interleukin1 and the pathogenesis of the acute phase response. *N Engl J Med* 1984; 311:14138.
- Dixon, R.L. (1980). Toxic responses of the reproductive system. J. Doull, C.D. Klaassen ve M.O. Amdur (Eds.), in Casarett and Doull's Toxicology (s. 332-334). Macmillan Publishing Co: New York.
- Drake RL, Vog IW, Mitchell AWM. Gray's Anatomy, Çeviri: Yıldırım, M. İstanbul, Güneş Kitabevi, 2007.
- Durairajanayagam D. Lifestyle causes of male infertility. *Arab J Urol* 2018;16:10e20.
- Ekins, S. Predicting undesirable drug interactions with promiscuous proteins in silico. *Drug Discov. Today* 2004, 9, 276–285
- El-Fayoumi S, Mansour R, Mahmoud A, Fahmy A, Ibrahim I. Pioglitazone Enhances  $\beta$ -Arrestin2 Signaling and Ameliorates Insulin Resistance in Classical Insulin Target Tissues. *Pharmacology.* 2021;106(7-8):409-417

- Esteves SC. Clinical relevance of routine semen analysis and controversies surrounding the 2010 World Health Organization criteria for semen examination. *Int Braz J Urol.* 2014 Jul-Aug;40(4):443-53.
- Eşrefoğlu M. *Özel Histoloji*, 3. Baskı. İstanbul, İstanbul Tıp Kitabevleri, 2021: 300-10.
- European Diabetes Policy Group. A desktop guide to type 2 diabetes mellitus. *diabet med* 1999;16:716-30).
- Farin Malekifard, Nowruz Delirezh, Ali Soleimanzadeh, Modulatory Effect of Pioglitazone on Sperm Parameters and Oxidative Stress, Apoptotic and Inflammatory Biomarkers in Testes of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats, *International Journal of Medical Laboratory* 2018;5(1):19-34.
- Fernández-Ruiz M, Aguado JM. Risk of infection associated with anti-TNF- $\alpha$  therapy. *Expert Review of Anti-infective Therapy.* 2018;16(12):939-56.
- Froment, P., Gizard, F., Defever, D., Staels, B., Dupont, J., & Monget, P. (2006). Peroxisome proliferator-activated receptors in reproductive tissues: from gametogenesis to parturition. *Journal of Endocrinology*, 189(2), 199-209. Retrieved Jul 5, 2024, from
- Gardner DG, Shoback D, *Greenspan's Basic & Clinical Endocrinology*. Eighth edition, McGraw-Hill Companies, 2004, pp. 661-747.
- Gilbert SF. (2006). Chapter 11. The early development of vertebrates: fish, birds, and mammals. S.F. Gilbert (Ed.). *Developmental Biology*. 8th Edition. (s.325-372). London: Sinauer Associates Incorporated.
- Gillies PS, Dunn CJ. Pioglitazone. *Drugs* 2000; 60: 333-343.
- Gitlin N, Julie NL, Spur CL, Lim KN, Juarbe HM. Two cases of severe clinical and histologic hepatotoxicity associated with troglitazone. *Ann Intern Med* 1998;129:36-38.
- Glover T.D. (1999). Chapter 3. Sperm production and delivery in mammals, including man. T.D. Glover, C.L.R. Barratt (Ed.). *Male Fertility and Infertility* (p.34-56). Cambridge: Cambridge University Press.

- Goldberg RB, Kendall DM, Deeg MA, Buse JB, Zagar AJ, Pinaire JA et al. A comparison of lipid and glycemic effects of pioglitazone and rosiglitazone in patients with type 2 diabetes and dyslipidemia. *Diabetes Care* 2005; 28: 1547-1554
- Gruschwitz MS, Brezinschek R, Brezinschek HP. Cytokine levels in the seminal plasma of infertile males. *J Androl.* 1996;17(2):158-63.
- Hai Y, Hou J, Liu Y, Liu Y, Yang H, Li Z, et al. The roles and regulation of Sertoli cells in fate determinations of spermatogonial stem cells and spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol.* 2014; 29:66-75.
- Hall JE, and Arthur C. Guyton. *Guyton and Hall textbook of medical physiology.* 10th ed. Philadelphia: PA:Saunders Elsevier; 2011.
- Hamada A, Esteves SC, Agarwal A. Unexplained male infertility: potential causes and management. *Human Andrology* 2011; 1: 2-16.
- Handelsman DJ. Androgen Physiology, Pharmacology, Use and Misuse. [Updated 2020 Oct 5]. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, et al., editors. *Endotext* [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-.
- Hardy E, Jabbour SA. *Tip 2 diyabetin patogenezi, Textbook of Type 2 Diabetes Ed.:* B.J. Goldstein, D. Müller-Wieland (Türkçe çevirisi) 1.Baskı İstanbul: AND Yayıncılık 2004; 117 130.
- He, M. M., Smith, A. S., Oslob, J. D., Flanagan, W. M., Braisted, A. C., Whitty, A., ... & Cunningham, B. C. (2005). Small-molecule inhibition of TNF- $\alpha$ . *Science*, 310(5750), 1022-1025.
- Hebert, D.C., Supakar, P.C., Roy, A.K. (1995). Chapter 1. Male Reproduction. R.J. Witorsch (Ed.) *Reproductive Toxicology* (s.3-21). New York: Raven Press.
- Heindel JJ, Treinen KA. Physiology of the male reproductive system: endocrine, paracrine and autocrine regulation. *Toxicol Pathol.* 1989;17(2):411-45. 2017
- Hong SW, Lee J, Cho JH, Kwon H, Park SE, Rhee EJ, Park CY, Oh KW, Park SW, Lee WY. Pioglitazone Attenuates Palmitate-Induced Inflammation and Endoplasmic Reticulum Stress in Pancreatic  $\beta$ -Cells. *Endocrinol Metab (Seoul).* 2018

Mar;33(1):105-113. doi: 10.3803/EnM.2018.33.1.105. PMID: 29589392; PMCID: PMC5874186.

http-1 ACTOSTM (Pioglitazone Hydrochloride) Tablets [web page on the Internet]. Erişim 30.05.2020, [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/1999/210731bl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/1999/210731bl.pdf).

http-2 ACTOS (Pioglitazon Hidroklorür) Tablet [internet web sayfası]. Erişim [https://titck.gov.tr/storage/Archive/2020/kubKtAttachments/yaynlanacakkbactos15mg\\_b262a38f-81c7-4936-afa2-906eecb57c84.pdf](https://titck.gov.tr/storage/Archive/2020/kubKtAttachments/yaynlanacakkbactos15mg_b262a38f-81c7-4936-afa2-906eecb57c84.pdf)

http-3 Instant Anatomy. Testis. İnternet Adresi: <http://www.instantanatomy.net/abdomen/areas/genitaltract/testis.html>. Erişim Tarihi: 25.5.09.

http-4 American Society of Toxicology. Chapter 1. What are the components of the male reproductive system? İnternet Adresi: <http://www.andrologysociety.com/resources/handbook/ch.1.asp>. Erişim Tarihi: 25.5.09.

http-5 CGA glycoprotein hormones, alpha polypeptide [Homo sapiens (human)] [İnternet]. [Erişim tarihi 15.09.2017]. Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=1081>

http-6 LHB luteinizing hormone beta polypeptide [Homo sapiens (human)] [İnternet]. 2017 tarihi 15.09.2017]. adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=3972>

http-7 <https://www.rcsb.org> (Erişim Tarihi:21.07.2024)

Hu S, Zhu L, Song Y, Zhao X, Chen Q, Pan Y, Zhang J, Bai Y, Zhang H, Shao C. Radiation-induced abscopal reproductive effect is driven by TNF- $\alpha$ /p38 MAPK/Rac1 axis in Sertoli cells. *Theranostics*. 2021 Mar 31;11(12):5742-5758. doi: 10.7150/thno.56853. PMID: 33897879; PMCID: PMC8058717.

- Hunter, D., Anand-Ivell, R., Danner, S., & Ivell, R. (2012). Models of in vitro spermatogenesis. *Spermatogenesis*, 2(1), 32–43.
- Hutson JC. Secretion of tumor necrosis factor alpha by testicular macrophages. *J Reprod Immunol* 1993; 23: 63-72.
- American Diabetes Association. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: *Standards of Medical Care in Diabetes-2019*. *Diabetes Care*. 2019 Jan;42(Suppl 1): S13-S28. doi: 10.2337/dc19-S002. PMID: 30559228.
- Ishida H, Takizawa M, Ozawa S, Nakamichi Y, Yamaguchi S, Katsuta H et al. Pioglitazone improves insulin secretory capacity and prevents the loss of beta-cell mass in obese diabetic db/db mice: Possible protection of beta cells from oxidative stress. *Metabolism* 2004; 53: 488-494.
- İmamoğlu. *Diabetes Mellitus 2006*. 1.bask 2006-istanbul.
- İmamoğlu, *Diabetes Mellitus 2009 Multidisipliner Yaklaşımla Tanı Tedavi ve İzlem*, S:151-153.
- Jaakkola T, Laitila J, Neuvonen PJ, Backman JT. Pioglitazone is metabolised by CYP2C8 and CYP3A4 in vitro: potential for interactions with CYP2C8 inhibitors. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2006 Jul;99(1):44-51. doi: 10.1111/j.1742-7843.2006.pto\_437.x. PMID: 16867170.
- Jameson JL: *Harrison's endocrinology*, Dragonfly Media Group, Pennsylvania, 2006, pp. 283-331.
- Ji, Z.L.; Wang, Y.; Yu, L.; Han, L.Y.; Zheng, C.J.; Chen, Y.Z. In silico search of putative adverse drug reaction related proteins as a potential tool for facilitating drug adverse effect prediction. *Toxicol. Lett*. 2006, 164, 104–112.
- Johnson LR, Byrne JH. *Essential Medical Physiology*. 3rd ed. Elsevier Academic Press; 2003.
- Jones R. (1999). To store or mature spermatozoa? The primary role of the epididymis. *International Journal of Andrology*, 22, 57–67.

- Kadioğlu A., ayan S., Semerci B., Orhan İ., Aşçı R., Yaman Ö. ve ark. *Erkek Reprodüktif Sistem Hastalıkları ve Tedavisi*. İstanbul: Türk Androloji Derneği; 2004.
- Kapoor D, Malkin CJ, Channer KS, Jones TH: Androgens, insulin resistance and vascular disease in men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2005, 63:239-250
- Karabaş Kuru, Münire Diyabetik nefropati oluşturulmuş ratlarda pioglitazonun antioksidan parametrelere ve patolojik süreçlere etkileri,2009
- Kayaalp, S.O. (2002). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* (13.Baskı). Ankara: Hacettepe Taş Yayınları.
- Kemnitz JW, Elson DF, Roecker EB, Baum ST, Bergman RN, Meglasson MD: Pioglitazone increases insulin sensitivity, reduces blood glucose, insulin, and lipid levels, and lowers blood pressure, in obese, insulinresistant rhesus monkeys. *Diabetes* 43:204– 211, 1994
- Kempná P, Flück CE. Adrenal gland development and defects. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2008 Feb;22(1):77-93. doi: 10.1016/j.beem.2007.07.008. PMID: 18279781.
- Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği. *Diabetes mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem kılavuzu*. 2018;25–33.
- King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995–2025: prevalence, numerical estimates and projections. *Diabetes Care* 1998; 21: 1414–1431.
- Klein, E.; Bourdette, D. Postmarketing adverse drug reactions: A duty to report *Neurol. Clin. Pract.* 2013, 3, 288–294
- Knobil, E., Neill, J. (1988). *The Cytology of Testis*. E. Knobil, J. Neill (Ed.). *The Physiology of Reproduction*. (s. 837-889). New York: Raven Press .
- Kocak I, Yenisey C, Dundar M, Okyay P, Serter M. Relationship between seminal plasma interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha levels with semen parameters in fertile and infertile men. *Urol Res.* 2002;30(4):263-7.
- Kolo lu S. *Endokrinoloji Temel ve Klinik*. 1. bask Ankara 1996.

- Koro C, Barrett S, Qizilbash N. Cancer risks in thiazolidinedione users compared to other anti-diabetic agents. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 2007; 16:485-92
- KYki- Jarvinen H. Pathogenesis of non-insulin –dependent diabetes mellitus. *Lancet* 1994; 343: 91–95
- L. Schrödinger, Glide, Version 7.1, Schrödinger, LLC: New York, NY, USA, (2016).
- L. Schrödinger, LigPrep, Version 3.8, Schrödinger, LLC, New York, NY, USA, (2016).
- Lamb DJ. Semen analysis in 21st century medicine: the need for sperm function testing. *Asian J Androl.* 2010;12(1):64-70.
- Lebovitz HE. Rationale for and role of thiazolidinediones in type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2002; 90: 34-41.
- Levine H, Jorgensen N, Martino-Andrade A, et al. Temporal trends in sperm count: a systematic review and meta regression analysis. *Hum Reprod Update* 2017;23: 646e59.
- Lewis JD, Ferrara A, PengHeddererson M, Bilker WB, QuesenberryJr, et al. *Diyabet Bakımı.* 2011; 34:916-22.
- Li MW, Xia W, Mruk DD, Wang CQ, Yan HH, Siu MK, et al. Tumor necrosis factor {alpha} reversibly disrupts the blood-testis barrier and impairs Sertoli-germ cell adhesion in the seminiferous epithelium of adult rat testes. *J Endocrinol* 2006; 190: 313-329.
- Li, C.Y.; Yu, Q.; Ye, Z.Q.; Sun, Y.; He, Q.; Li, X.M.; Zhang, W.; Luo, J.; Gu, X.; Zheng, X.; et al. A nonsynonymous SNP in human cytosolic sialidase in a small Asian population results in reduced enzyme activity: Potential link with severe adverse reactions to oseltamivir. *Cell Res.* 2007, 17, 357–362.
- Lokeshwar SD, Patel P, Fantus RJ, et al. Decline in serum testosterone levels among adolescent and young adult men in the USA. *Eur Urol Focus* 2020:1e4. <https://doi.org/10.1016/j.euf.2020.02.006> [in press].
- Longo, D.L., et al., *Harrison's principles of internal medicine.* NEW YORK: McGraw-Hill CO, 2012. 6(1): p. 312.

- Lu M, Sarruf DA, Talukdar S, et al. Brain PPAR-gamma promotes obesity and is required for the insulin-sensitizing effect of thiazolidinediones. *Nat Med.* 2011; 17:618
- Lydka M, Bilinska B, Cheng CY, Mruk DD. Tumor necrosis factor  $\alpha$ -mediated restructuring of the Sertoli cell barrier in vitro involves matrix metalloprotease 9 (MMP9), membrane-bound intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and the actin cytoskeleton. *Spermatogenesis* 2012; 2: 294-303
- Makhatadze, N.J., Tumor necrosis factor locus: genetic organisation and biological implications. *Hum Immunol*, 1998. 59(9): p. 571-9.
- Marks DH. Drug utilization, safety and clinical use of Actos and Avandia. *Int J Risk Saf Med.* 2013 Jan 01;25(1):39-51.
- McCulloch DK: Drugs that improve insulin action: biguanides (metformin) and thiazolidinediones . In: Rose B, ed. *UpToDate Vol.12.2.* Wellesley MA 02181: BDR, Inc.;2004.
- McDonough AK, Rosenthal RS, Cao X, Saag KG. The effect of thiazolidinediones on BMD and osteoporosis. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2008 Sep;4(9):507-13.
- Mendiola, A.S. and A.E. Cardona, The IL-1 $\beta$  phenomena in neuroinflammatory diseases. *Journal of Neural Transmission*, 2018. 125: p. 781-795.
- Menkveld R. Clinical significance of the low normal sperm morphology value as proposed in the fifth edition of the WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. *Asian J Androl.* 2010;12(1):47-58.
- Menkveld R, Holleboom CA, Rhemrev JP. Measurement and significance of sperm morphology. *Asian J Androl.* 2011;13(1):59-68.
- Miyazaki Y, Mahankali A, Matsuda M, Glass L, Mahankali S, Ferrannini E. Improved glycemic control and enhanced insulin sensitivity in type 2 diabetic subjects treated with pioglitazone. *Diabetes Care* 2001; 24: 710-719.
- Montaner J, Mendioroz M, Ribo M, Delgado P, Quintana M, Penalba A et al. A panel of biomarkers including caspase-3 and D-dimer may differentiate acute stroke from stroke-mimicking conditions in the emergency department. *J Intern Med.* 2011; 270:166-174.

- Moore KJ, Rosen ED, Fitzgerald ML, Randow F, Andersson LP, Altshuler D, Milstone DS, Mortensen RM, Spiegelman BM, Freeman MW. The role of PPARgamma in macrophage differentiation and cholesterol uptake. *Nat Med.* 2001 Jan;7 (1):417.
- Myers MG Jr, Burant CF. PPAR-gamma Action: It's all in your head. *Nat Med.* 2011; 17:544
- Nathan DM. Rosiglitazone and Cardiotoxicity — Weighing the Evidence. *N Engl J Med.* 2007;357(1):64–6.
- Naz RK, Evans L. Presence and modulation of interleukin-12 in seminal plasma of fertile and infertile men. *J Androl.* 1998;19(3):302-7
- Nicholson DW, Ali A, Thornberry NA, Vaillancourt JP, Ding CK, Gallant M, Gareau Y, Griffin PR, Labelle M, Lazebnik YA (1995): Identification and inhibition of the ICE/CED-3 protease necessary for mammalian apoptosis. *Nature*, 376 (6535), 37–43.
- Niederberger C. *An Introduction to Male Reproductive Medicine.* USA: Cambridge University Press; 2011.
- Nieschlag, Eberhard, Behre, Hermann M., Nieschlag, Susan. *Andrology Male Reproductive Health and Dysfunction.* 3rd ed. Berlin: Springer; 2010.
- Oatley, J.M., de Avila, D.M., Reeves, J. J., & McLean, D. J. (2004). Testis tissue explant culture supports survival and proliferation of bovine spermatogonial stem cells. *Biology of reproduction*, 70(3), 625–631.
- OECD (1983). *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, No. 415: One-generation Reproduction Toxicity Study*, 8pp. Paris, France: Organisation for Economic Cooperation and Development.
- OECD (1995). *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, No. 421: Reproduction/Development Toxicity Screening Test*, 10pp. Paris, France: Organisation for Economic Cooperation and Development.
- OECD (1996). *OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, No. 422: Combines Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity*

- Screening Test, 14pp. Paris, France: Organisation for Economic Cooperation and Development.
- OECD (2001). OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, No. 414: Prenatal Developmental Toxicity Study, 6pp. Paris, France: Organisation for Economic Cooperation and Development.
- OECD (2001). OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, No. 416: Two-generation Reproduction Toxicity Study, 8pp. Paris, France: Organisation for Economic Cooperation and Development.
- Ohta K, Endo T, Haraguchi K, Hershman JM, Onaya T. Ligands for peroxisome proliferator -activated receptor gamma inhibit growth and induce apoptosis of human papillary thyroid carcinoma cells. *J Clin Endocrinol Metab*2001;86:2170-77
- O'Shaughnessy PJ, Monteiro A, Verhoeven G, De Gendt K, Abel MH. Effect of FSH on testicular morphology and spermatogenesis in gonadotrophin-deficient hypogonadal mice lacking androgen receptors. *Reproduction* (Cambridge, England). 2010;139(1):177-84.
- Ovalle, W.K., Nahirney, P.C. Chapter 17. Male Reproductive System. (2002). *Netter's Essential Histology: With Student Consult Online Access*. W.K. Ovalle, P.C. Nahirney (Ed.). (s.377-398). Elsevier Health Sciences.
- Özata M. *Endokrinoloji Metabolizma ve Diyabet*, İstanbul Medikal Yayıncılık 1.Baskı, 284-290, 2006.
- Parks Saldutti, L., Beyer, B. K., Breslin, W., Brown, T. R., Chapin, R.E., Champion, S., Enright, B., Faustman, E., Foster, P.M., Hartung, T., Kelce, W., Kim, J.H., Lobo, E.G., Piersma, A.H., Seyler, D., Turner, K. J., Yu, H., Yu, X., Sasaki, J.C. (2013). In vitro testicular toxicity models: opportunities for advancement via biomedical engineering techniques. *Altex*, 30(3), 353–377.
- Pasovic, L., Utheim, T. P., Maria, R., Lyberg, T., Messelt, E. B., Aabel, P., ... & Eidet, J. R. (2013). Optimization of storage temperature for cultured ARPE-19 Cells. *Journal of ophthalmology*, 2013(1), 216359.

- Phillips LS, Grunberger G, Miller E, Patwardhan R, Rappaport EB, Salzman A. Once- and twice-daily dosing with rosiglitazone improves glycemic control in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2001; 24: 308-315.
- Pinzi L, Rastelli G. Molecular Docking: Shifting Paradigms in Drug Discovery. *Int J Mol Sci.* 2019 Sep 4;20(18):4331. doi: 10.3390/ijms20184331. PMID: 31487867; PMCID: PMC6769923.
- Pu X, Storr SJ, Zhang Y, Rakha EA, Green AR, Ellis IO ve ark. Caspase-3 and caspase-8 expression in breast cancer: caspase-3 is associated with survival. *Apoptosis.* 2017; 22:357-368
- Quinones, J., Pampaloni, M.H., Juarez, B.E., Wang, Y., Carmona, G.C., and Van Herle, K. (2000). Insulin resistance in healthy Mexican Americans is associated with coronary artery endothelial dysfunction. *Diabetes*, 49(5), 146.
- Rachek, L. I., Yuzefovych, L. V., LeDoux, S. P., Julie, N. L., & Wilson, G. L. (2009). Troglitazone, but not rosiglitazone, damages mitochondrial DNA and induces mitochondrial dysfunction and cell death in human hepatocytes. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 240\*(3), 348–354. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.07.017>
- Ramos-Nino ME, MacLean CD, Littenberg B. Association between cancer prevalence and use of thiazolidinediones: results from the Vermont Diabetes Information System. *BMC Med* 2007;5:17
- Ramos-Nino ME, MacLean CD, Littenberg B. Association between cancer prevalence and use of thiazolidinediones: results from the Vermont Diabetes Information System. *BMC Med* 2007;5:17
- Richter F, Zettlitz KA, Seifert O, Herrmann A, Scheurich P, Pfizenmaier K, et al., editors. Monovalent TNF receptor 1-selective antibody with improved affinity and neutralizing activity. *MAbs*; 2019: Taylor & Francis.
- Rizos CV, Elisaf MS, Mikhailidis DP, Liberopoulos EN. How safe is the use of thiazolidinediones in clinical practice? *Expert Opin Drug Saf.* 2009 Jan;8(1):15-32.

- Robaire, B. (2002). Chapter 5. Epididymal Cell Types and Their Functions. B.T. Hinton, B.Robaire (Ed.). *The Epididymis: From Molecules to Clinical Practice: A Comprehensive Survey of the Efferent Ducts, the Epididymis, and the Vas Deferens*. (p. 81-103). New York: Springer-Verlag.
- Ross MH, Pawlina W. , *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas*. Baykal B. (Çeviren). 7. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, 2014: 784-829.
- Rubenstrunk A, Hanf R, Hum DW, Fruchart JC, Staels B. Safety issues and prospects for future generations of PPAR $\gamma$  modulators. *Biochim Biophys Acta* 2007;1771:1065-81
- Sanocka D, Jedrzejczak P, Szumala-Kaekol A, Fraczek M, Kurpisz M. Male genital tract inflammation: the role of selected interleukins in regulation of pro-oxidant and antioxidant enzymatic substances in seminal plasma. *J Androl.* 2003;24(3): 448-55.
- Satman I, Yılmaz T, Sengul A, Salman S, Salman F, Uygur S, Bastar İ, Tutuncu Y, Sargin M, Dinççağ N, Karşıdağ K, Kalaça S, Özcan C, King H, The Turdep Group: Population-based study of diabetes risk characteristics in Turkey. *Diabetes Care*, 25(9): 1551-1556, 2002.
- Satman İ, İmamoğlu Ş, Yılmaz C: *Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği diyabetes mellitus ve komplikasyonlarının tanı, tedavi ve izlem klavuzu*. Dördüncü baskı. Bayt bilimsel araştırmalar basın yayın ve tanıtım Ltd.Şti. Ankara, 2009, s.15-28.
- Satman I, Alagöl F, Ömer B, Kalaca S, Tütüncü Y, Çolak N, Boztepe H, Genç S, Çakır B, Tuomilehto J, Gedik S, Türker F, Canbaz B, Dinççağ N, Karşıdağ K, Telci A, Yılmaz T, Keskinçılıç B, İmamecioğlu R, Yardım N: *TURDEP-II Sonuçlarının özeti*. Çalışma Grubu adına, Prof. Dr. İlhan Satman: 2010
- Sato, T., Katagiri, K., Gohbara, A., Inoue, K., Ogonuki, N., Ogura, A., Kubota, Y., & Ogawa, T. (2011). In vitro production of functional sperm in cultured neonatal mouse testes. *Nature*, 471(7339), 504–507.
- Schrödinger Release 2020-3, Maestro, Schrödinger, LLC, New York, NY, USA, 2020.

- Schrödinger Suite 2020 Update 2; Schrödinger LLC: New York, NY, USA, 2020.
- Scudamore CL. A Practical Guide to the Histology of the Mouse, India, John Wiley & Sons, 2014: 97-105.
- Semet M, Paci M, Saias-Magnan J, et al. The impact of drugs on male fertility: a review. *Andrology* 2017; 5:640e63.
- Sencer E. Endokrinoloji, Metabolizma ve Beslenme Hastalıkları. 2001 İstanbul. Sayfa: 246–249.
- Shimazu, T., Inoue, I., Araki, N., Asano, Y., Sawada, M., Furuya, D., Nagoya, H., and Greenberg, J.H. (2005). A peroxisome proliferator activated receptor-gamma agonist reduces infarct size in transient but not in permanent ischemia. *Stroke*, 36, 353.
- Shoukheba MY, Ibrahim WS. Caspase-3 activity as a novel biomarker in type 2 diabetes mellitus patients with chronic periodontitis. *Egyptian Dental Journal*. 2016; 62:32811-32821.
- Sikka SC. Relative impact of oxidative stress on male reproductive function. *Curr Med Chem*. 2001;8(7):851-62.
- Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E, Main KM. Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod* 2001; 16:972e8.
- Soccio RE, Chen ER, Lazar MA. Thiazolidinediones and the promise of insulin sensitization in type 2 diabetes. *Cell Metab*. 2014;20(4):573–91.
- Sohoni P, Sumpter JP. Several environmental oestrogens are also anti-androgens. *J Endocrinol*. 1998;158(3):327-39
- Songer TJ, Zimmet PZ. Epidemiology of type 2 diabetes: an international perspective. *Pharmacoeconomics* 1995; 8: 1–11.
- Standl E, Fichtenbusch M. The role of oral antidiabetic agents: why and when to use an early-phase insulin secretion agent in Type II diabetes mellitus. *Diabetologia* 2003; 46(Suppl 1): M30-6.

- Stumvoll M, Haring H, Matthaei S, Metformin, Textbook of Type 2 Diabetes 2003, Goldstein B, Müller-Wieland D 1. baskı çevirisi, Tip 2 Diyabet, AND Danışmanlık, Eğitim, Yayıncılık ve Organizasyon Akman A 2004 ;87-97.
- Sugiyama Y, Taketomi S, Shimura Y, Ikeda H, Fujita T: Effects of pioglitazone on glucose and lipid metabolism in Wistar fatty rats. *Arzneimittel-Forschung Drug Res* 40: 263–267, 1990
- Tallman DL, Taylor CG. Potential interactions of zinc in the neuroendocrine endocrine disturbances of diabetes mellitus type 2. *Can J. Physiol. Pharmacol* 1999; 77: 919–933.
- Tamer M. Said, Uwe Paasch, Hans-Juergen Glander, Ashok Agarwal, Role of caspases in male infertility, *Human Reproduction Update*, Volume 10, Issue 1, January 2004, Pages 39–51,
- Tamrakar, S. R., & Bastakoti, R. (2019). Determinants of Infertility in Couples. *Journal of Nepal Health Research Council*, 17(1), 85–89. <https://doi.org/10.33314/jnhrc.1827>
- Tanriverdi F, Gonzalez-Martinez D, Silveira LF, Hu Y, Maccoll GS, Travers P, et al. Expression of gonadotropin-releasing hormone type-I (GnRH-I) and type-II (GnRH-II) in human peripheral blood mononuclear cells (PMBCs) and regulation of B-lymphoblastoid cell proliferation by GnRH-I and GnRH-II. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2004;112(10):587-94.
- Tavares RS, Escada-Rebelo S, Sousa MI, Silva A, Ramalho-Santos J, Amaral S. Can Antidiabetic Drugs Improve Male Reproductive (Dys)Function Associated with Diabetes *Curr Med Chem*. 2019;26(22):4191-4222. doi: 10.2174/0929867325666181101111404. PMID: 30381064.
- Taylor JJ, Preshaw PM, Donaldson PT: Cytokine gene polymorphism and immunoregulation in periodontal disease. *Periodontol* 2000. 35:158-182 2004
- Tindall, D.J., Rowley, D.R., Murthy, L., Lipshultz, L.I., Chang, C.H. (1985). Structure and biochemistry of the Sertoli cell. *International Review of Cytology*, 94,127-149.

- Treuting PM, Dintzis SM, Montine KS. Comparative Anatomy And Histology A Mouse, Second Edi. Rat, and Human Atlas, Washington, Elsevier, 2018.
- Türk Üroloji Yeterlilik kurulları, Ders Notları, (2006), Tıyık Sınavı III. Hazırlık Kursu, Ankara.
- Unger RH, Foster DW, Wilson JD, Foster DW, Kronenberg HM, Larsen PR. 16th Ed, Williams textbook of endocrinology Philadelphia: WB Saunders company: 973-1059, 1998.
- Van Wijk jP, Koning E, Martens EP, Rabelink TJ. Thiazolidinediones and blood lipids in type 2 diabetes. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology* 2003; 23: 1744-1749.
- Vander Borgh t M, Wyns C. Fertility and infertility: definition and epidemiology. *Clin Biochem* 2018; 62:2e10.
- Vergès B. Clinical interest of PPARs ligands. *Diabetes Metab* 2004; 30: 7-12.
- Verges, B. (2004). Clinical interest of PPARγ's ligands. *Diabetes & Metabolism*, 30, 7-12.
- Vierhapper H, Nowotny P, Waldhausl W: Reduced production rates of testosterone and dihydrotestosterone in healthy men treated with rosiglitazone. *Metabolism* 2003, 52:230-232.
- Wan, J., Xiao, Z., Chao, S. *et al.* Pioglitazone modulates the proliferation and apoptosis of vascular smooth muscle cells via peroxisome proliferators-activated receptor-gamma. *Diabetol Metab Syndr* 6, 101 (2014).
- Welshons WV, Thayer KA, Judy BM, Taylor JA, Curran EM, vom Saal FS. Large Effects from Small Exposures. I. Mechanisms for Endocrine-Disrupting Chemicals with Estrogenic Activity. *Environ Health Perspect.* 2003;111(8):994-1006.
- Wen Q, Tang EI, Gao Y, Jesus TT, Chu DS, Lee WM, et al. Signaling pathways regulating blood-tissue barriers - Lesson from the testis. *Biochim Biophys Acta Biomembr* 2018; 1860: 141-153.

- Whitcomb RW, Saltiel AR, Lockwood DH: New therapies for non-insulin-dependent diabetes mellitus: thiazolidinediones. In Diabetes Mellitus. LeRoith D, Taylor SI, Olefsky JM, Eds. Philadelphia, LippincottRaven, 1971, p. 661–668
- White B, Porterfield S. Endocrine and Reproductive Physiology E-Book: Mosby Physiology Monograph Series: Elsevier Health Sciences; 2012.
- White B, Porterfield S. Endocrine and Reproductive Physiology E-Book: Mosby Physiology Monograph Series: Elsevier Health Sciences; 2012.
- Wiedemann SJ, Trimigliozzi K, Dror E, Meier DT, Molina-Tijeras JA, Rachid L, et al. The cephalic phase of insulin release is modulated by IL-1 $\beta$ . Cell metabolism. 2022;34(7):991-1003. e6.
- Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H: Global prevalence of diabetes estimates for the year 2000 and projections for 2030. Diabetes Care, 27(5): 1047-1053, 2004.
- Xu, X.; Huang, M.; Zou, X. Docking-based inverse virtual screening: methods, applications, and challenges. Biophys. Rep. 2018, 4, 1–16
- Yahya S. Harrison İç Hastalıkları Prensipleri, cilt 2, Nobel Kitabevleri,2109-2137,2004.
- YAZICI H, Hamuryudan V, Sonsuz A. Diyabetes Mellitus Tanı, Epidemiyoloji ve Sınıflandırma, Cerrahpaşa İç Hastalıkları, 1. Baskı İstanbul: Elma Basım, 2005: 1086-1089.
- YAZICI H, Hamuryudan V, Sonsuz A. Diyabetes Mellitus Tanı, Epidemiyoloji ve Sınıflandırma, Cerrahpaşa İç Hastalıkları, 1. Baskı İstanbul: Elma Basım, 2005: 1086-1089
- Yoo, S.; Noh, K.; Shin, M.; Park, J.; Lee, K.H.; Nam, H.; Lee, D. In silico profiling of systemic effects of drugs to predict unexpected interactions. Sci. Rep. 2018, 8, 1612
- Zamanian MY, Taheri N, Opulencia MJC, Bokov DO, Abdullaev SY, Gholamrezapour M, et al. Neuroprotective and-inflammatory effects of pioglitazone on traumatic brain injury. Mediators of inflammation 2022;2022:9860855
- Zhang, J. J., Li, Y. Q., Shi, M., Deng, C. C., Wang, Y. S., Tang, Y., & Wang, X. Z. (2022). 17 $\beta$ -estradiol rescues the damage of thiazolidinedione on chicken Sertoli cell

proliferation via adiponectin. \*Ecotoxicology and Environmental Safety, 233\*, 113308. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.113308>)

Zhou SF, Zhou ZW, Yang LP, Cai JP: Substrates, inducers, inhibitors and structure-activity relationships of human Cytochrome P450 2C9 and implications in drug development. *Curr Med Chem.* 2009;16(27):3480-675. Epub 2009 Sep 1. [Article]



## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Seda AKYÜZ

Yabancı dil: İngilizce

### Eğitim ve Mesleki Geçmişi:

- 2018, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
- 2018, Hastane Eczacısı, SBÜ. Kütahya Evliya Çelebi EAH
- 2024, Hastane Eczacısı, Kütahya Şehir Hastanesi

### Mesleki Birlik/Dernek/Kuruluş Üyelikleri:

- 2020, Tüm Kamu Eczacıları Derneği (TÜKED), Ankara