

**ZONİSAMİDİN REPRODÜKTİF TOKSİSİTESİNİN
ERKEK SIÇANLARDA DEĞERLENDİRİLMESİ**
Yüksek Lisans Tezi

Abdullah Burak KARADUMAN
Eskişehir 2018

**ZONİSAMİDİN REPRODÜKTİF TOKSİSİTESİNİN ERKEK SIÇANLARDA
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Abdullah Burak KARADUMAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Sinem ILGIN

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Ağustos 2018

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Abdullah Burak KARADUMAN'ın "ZONİSAMİDİN REPRODÜKTİF TOKSİSİTESİNİN ERKEK SIÇANLARDA DEĞERLENDİRİLMESİ" başlıklı tezi 09/08/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Yüksek Lisans Yeterlik Tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Doç. Dr. Sinem ILGIN.....	
Üye	: Doç. Dr. Bülent ERĞÜN.....	
Üye	: Doç. Dr. Gözde GİRGİN.....	



Prof. Dr. Nalan GÜNDOĞDU KARABURUN
Enstitü Müdürü

ÖZET

ZONİSAMİDİN REPRODÜKTİF TOKSİSİTESİNİN ERKEK SIÇANLARDA DEĞERLENDİRİLMESİ

Abdullah Burak KARADUMAN

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ağustos 2018

Danışman: Doç. Dr. Sinem ILGIN

Epilepsi tedavisinde sıklıkla reçete edilen antiepileptik ilaç olarak zonisamidin (ZNS) erkeklerde seksüel fonksiyon bozukluklarına neden olduğu rapor edilmekle birlikte erkek reproduktif sistem üzerine toksik etkilerinin değerlendirildiği az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu doğrultuda tez çalışması kapsamında sıçanlara 25, 50 ve 100 mg/kg/gün ZNS'nin tekrarlayan dozlarda 28 gün süreyle oral olarak uygulanmasıyla ajanın reproduktif toksik etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda sıçanlarda sperm konsantrasyonu, motilitesi, morfolojisi ve DNA hasarı belirlenmiş ve testisler histolojik olarak incelenmiştir. Ayrıca folikül stimüle edici hormon (FSH), luteinleştirici hormon (LH) ve testosteron seviyeleri gibi reproduktif fonksiyonların regülasyonunda rol oynayan hormonlar ile reproduktif patolojilerde rol oynayan oksidatif stresin biyogöstergeleri olarak testis dokusunda glutatyon (GSH), katalaz (KAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve MDA seviyeleri belirlenmiştir.

Sonuçlara göre kontrol grubu ile karşılaştırıldığında 50 ve 100 mg/kg ZNS uygulanan gruplarda sperm konsantrasyonu, motilitesi ve normal sperm morfolojisinde azalma ve testiküler dokuda patolojik bulgular tespit edilmiştir. 50 ve 100 mg/kg ZNS uygulanan grupta kontrol grubuna göre serum LH ve testosteron seviyelerinin azaldığı belirlenmiştir. Ayrıca 50 ve 100 mg/kg ZNS uygulanan gruplarda testis KAT seviyeleri azalırken MDA seviyelerinin artması testis dokusunda ZNS ile indüklenen oksidatif stresin bulguları olarak değerlendirilmiştir. Sonuç olarak, tekrarlayan farmakolojik dozlarda ZNS uygulaması ile sıçanlarda reproduktif toksik etkilerin indüklendiği ve gözlenen bu patolojiye hormon seviyesindeki değişikliklerin ve testiküler oksidatif stresin eşlik ettiği tespit edilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Zonisamid, Sperm parametreleri, Testiküler histoloji, Reproduktif hormon seviyeleri, Oksidatif stres

ABSTRACT

EVALUATION OF ZONISAMIDE-INDUCED REPRODUCTIVE TOXICITY IN MALE RATS

Abdullah Burak KARADUMAN

Department of Pharmaceutical Toxicology

Anadolu University, Graduate School of Health Sciences, August 2018

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sinem ILGIN

Although there are reports that Zonisamide (ZNS), a frequently prescribed antiepileptic drug in the treatment of epilepsy, cause sexual dysfunction in men, there are limited number of studies investigating its reproductive toxicity. In the scope of this thesis study, it was aimed to assess the reproductive toxicity of the repeated oral administration of ZNS (25, 50 and 100 mg/kg/day for 28 days) in rats. For this purpose, sperm concentration, motility, morphology and DNA damage were determined in rats and testis were examined histopathologically. In addition, hormones that play a role in the regulation of reproductive functions, such as follicle-stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), testosterone levels were determined and oxidative stress biomarkers that play a role in the reproductive pathologies such as glutathione (GSH), catalase (KAT), superoxide dismutase (SOD) and MDA levels were determined.

According to the results, sperm concentration, motility and normal sperm morphology were decreased in 50 and 100 mg/kg ZNS-administered groups when compared with control group and pathological findings were determined in the testis tissues. Serum LH and testosterone levels were decreased in 50 and 100 mg/kg ZNS-administered groups when compared with control group. In addition, the decreases of testis KAT levels and the increases of MDA levels in 50 and 100 mg/kg ZNS-administered were evaluated as ZNS-induced oxidative stress findings in the testis tissue. In conclusion, it was determined that reproductive toxic effects were induced in rats by the administration of ZNS in repeated pharmacological doses and ZNS-induced pathology was accompanied by the changes of hormone levels and testicular oxidative stress.

Keywords: Zonisamide, Sperm parameters, Testicular histology, Reproductive hormone levels, Oxidative stress.

TEŞEKKÜR

Hazırlamış olduğum bu yüksek lisans tezinin her aşamasında sabrını, sevgisini, bilgisini hiç esirgemeyen, bana her zaman destek olan, yol göstericim, tez danışmanım Saygıdeğer Hocam Doç. Dr. Sinem ILGIN'a; karşılaştığım problemleri çözmemde her zaman içtenlikle bana yardımcı olan, beni motive eden, Saygıdeğer Hocam Doç. Dr. Özlem ATLI EKLİOĞLU'na; her konuda manevi olarak desteğini esirgemeyen, bir baba gibi gördüğüm anabilim dalı başkanımız Saygıdeğer Hocam Doç. Dr. Bülent ERĞÜN'a; deneyler sırasında tecrübesini, bilgisini hiç esirgemeyen değerli hocam Araş. Gör. Merve BAYSAL'a; tezin başladığı günden bitti dediğim güne kadar benimle birlikte özveriyle çalışan, bu süreçte büyük emeği olan, desteğini hep hissettiğim yol arkadaşım, dostum Ecz. Büşra KORKUT'a; yine bu süreçte tatil dinlemeden çalışmalarına yardıma gelen, her zaman yanımda olduklarını bildiğim Biyolog Beril İNCİ ve Berkant KURBAN'a; tez yazım sırasında teknik bilgisinden çok fazla faydalandığım Asaf Evrim EVREN'e; yalnızca bu tez çalışmamda değil hayatıma girdiği andan bugüne kadar en zor zamanlarımda yanımda olan, beni her konuda destekleyen, cesaretlendiren, nişanlım Ecz. Gizem ÇOLAK'a; çocukları olduğum için gurur duyduğum, bugünlere gelmemde maddi-manevi çok yardımları olan babam Ali KARADUMAN ve annem Emine KARADUMAN'a; canım kardeşim Hakan KARADUMAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

09/08/2018

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 aşamalardan bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel 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 sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

Abdullah Burak KARADUMAN

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
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KAYNAK BİLGİSİ	3
2.1. Epilepsi İle İlgili Genel Bilgiler	3
2.2. Epilepsi Tedavisi	3
2.2.1. Antiepileptik ilaçların etki mekanizmaları.....	4
2.2.2. Antiepileptik ilaçların advers etkileri	5
2.3. Zonisamid İle İlgili Genel Bilgiler	6
2.3.1. Farmakodinamik özellikleri.....	7
2.3.2. Farmakokinetik özellikleri	7
2.3.3. Advers etkileri	7
2.4. Erkek Üreme Sistemi	8
2.4.1. Testis.....	8
2.4.2. Kanal sistemleri.....	9
2.4.3. Yardımcı cinsiyet bezleri	9
2.4.4. Dış genital organlar.....	9

	<u>Sayfa</u>
2.4.5. Semen	10
2.4.6. Spermatogenez	10
2.4.6.1. <i>Spermatogenezin hormonal regülasyonu</i>	11
2.5. Reprodüktif Toksisite ve İnfertilite	11
2.5.1. Erkeklerde reprodüktif toksisitenin tanısı	13
3. GEREÇLER	14
3.1. Kullanılan Maddeler	14
3.2. Kullanılan Cihazlar	15
4. YÖNTEMLER	17
4.1. Sperm Konsantrasyonunun ve Motilitesinin Değerlendirilmesi	18
4.2. Sperm Morfolojisinin Değerlendirilmesi	19
4.3. Sperm DNA Hasarının Belirlenmesi	19
5. BULGULAR ve TARTIŞMALAR	21
5.1. Bağlı Organ Ağırlıklarının Değerlendirilmesi	21
5.2. Sperm Parametrelerinin Değerlendirilmesi	21
5.3. Testis Dokusunun Histolojik Olarak İncelenmesi	25
5.4. Serum Hormon Seviyelerinin Değerlendirilmesi	28
5.5. Oksidatif Stres Parametrelerinin Değerlendirilmesi	30
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	32
KAYNAKÇA	33
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Tablo 5.1. Gruplara ait bağıl testis/epididimis ağırlıkları	21
Tablo 5.2. Gruplara ait sperm parametreleri	23
Tablo 5.3. Gruplara ait serum hormon seviyeleri	29
Tablo 5.4. Gruplara ait SOD, KAT, GSH ve MDA seviyeleri	31

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 5.1. Gruplara ait sperm Comet testi fotoğrafları	24
Şekil 5.2. Gruplara ait % kuyruk moment	25
Şekil 5.3. Gruplara ait testis enine kesitleri	27
Şekil 5.4. Gruplara ait spermatogenik seri hücrelerinin yüksek büyötmeleri	28

KISALTMALAR DİZİNİ

ABP	: Androjen Bağlayıcı Protein
AEİ	: Antiepileptik İlaç
CYP3A4	: Sitokrom P450 İzoenzim 3A4
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
FSH	: Folikül Stimüle Edici Hormon
GABA	: Gama-Aminobutirik Asit
GnRH	: Gonadotropin Salıcı Hormon
GSH	: Glutasyon
HHG	: Hipotalamik-Hipofizeal-Gonadal
K	: Kontrol Grubu
KAT	: Katalaz
KTB	: Kan-Testis Bariyeri
LH	: Luteinleştirici Hormon
MDA	: Malondialdehid
NMDA	: N-Metil-D-Aspartat
OECD	: Organisation For Economic Co-Operation and Development (Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü)
SCA	: Sperm Class Analyzer
SHBG	: Seks Hormon Bağlayıcı Globulin
SOD	: Süperoksit Dismutaz
ZNS	: Zonisamid

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İlaçların tedavide kullanıldıkları etkilerine sekonder olarak farklı sistemler üzerinde indükledikleri advers etkilerin belirlenmesi, ilaç güvenilirliği açısından büyük önem taşımaktadır [1]. Özellikle tekrarlayan dozlarda maruz kalınan ilaçların organ/sistem düzeyinde kümülatif etkilerinin değerlendirilmesi toksikolojik çalışmalarda önemli bir araştırma alanı olarak kabul edilmektedir [2]. Yapılan araştırmalar özellikle son 60 yılda erkek sperm kalitesinin azaldığına dikkat çekmektedir [3]. Bu süreçte maruz kalınan kimyasal madde çeşitliliğinin ve yükünün arttığı önemli bir gerçektir. Dolayısıyla maruz kalınan ilaçlar dâhil pek çok kimyasal maddenin erkeklerde reproduktif toksik etkilere neden olması kaçınılmaz bir sonuç olarak kabul edilmektedir [4]. Özellikle tekrarlayan dozlarda kullanılan ilaçlar direkt olarak gonadları ya da indirekt olarak hipotalamik-hipofizeal-gonadal (HHG) aksı etkileyerek reproduktif toksik etkilere neden olabilmektedir [5].

Epilepsi, nöbetlere veya alışılmadık davranışlara, duyulara ve bazen bilinç kaybına neden olan beynin anormal elektriksel aktivitesi ile karakterize nörolojik bir hastalıktır [6, 7]. Dünya genelinde 70 milyondan fazla insanı etkileyen oldukça yaygın bir nörolojik bozukluktur [8]. Epilepsi tamamen tedavi edilebilen bir hastalık değildir, ancak beynin anormal elektriksel aktivitesi ilaçlarla ve diğer stratejilerle yönetilebilmektedir [7]. Felbamat, gabapentin, lamotrijin, levetirasetam, okskarbamazepin, pregabalin, tiagabin, topiramet ve ZNS gibi yeni nesil antiepileptik ilaçlar karbamazepin, klonazepam, etosüksimid, fenobarbital, fenitoin, pirimidon, valproik asit gibi geleneksel ilaçlara benzer etkinlik profili ile birlikte daha güvenilir olmaları nedeniyle epilepsi tedavisinde üstünlük sağlamaktadır [9, 10]. Yaygın görülen nörolojik bir hastalık olan epilepsi ve reproduktif sistem arasında etkileşim olduğu ifade edilmektedir. Libidonun azalması ve erektil disfonksiyon gibi seksüel fonksiyon bozuklukları erkek hastalarda sıklıkla meydana gelmektedir [11, 12]. Seksüel disfonksiyonun patogenezi hastalığın altında yatan patolojik lezyon ile temporal lob fonksiyonunun değişmesi, temporal limbik yapıların iktal veya interiktal deşarjlarla değişmesi ve nöroendokrin değişiklikler ile ilişkilendirilmiştir [13, 14]. Hastalarda meydana gelen hipogonadotropik hipogonadizm, hipergonadotropik hipogonadizm ve hiperprolaktinemi gibi endokrin bozukluklar da seksüel disfonksiyona neden olmaktadır [11, 15]. Tüm bunlara ek olarak epilepsili erkeklerde sperm sayısının ve normal sperm morfolojisinin azaldığı tespit edilmiştir. Hastalar fertil olarak değerlendirilse de epilepsili erkeklerde infertilite vakalarının arttığı

da bildirilmektedir [16-18]. Tedavide kullanılan ilaçlar da hormonal regülasyonu etkilemekte ve seksüel disfonksiyona neden olmaktadır [11, 12, 16, 18].

ZNS, parsiyal ve jeneralize nöbetlerin kontrolünde sıklıkla kullanılan yeni nesil antiepileptik bir ilaçtır [19, 20]. Santral sinir sisteminde sodyum ve T-tipi kalsiyum kanallarını bloke ederek antiepileptik aktivite göstermektedir [21]. ZNS tedavisinin erkek hastalarda reversibl erektıl disfonksiyona ve libidonun azalmasına neden olduğu bildirilmiştir [22-24]. Ayrıca ZNS'in erkek reproduktif sistemi üzerine advers etkilerinin incelendiği çalışmada erkek sıçanlarda serum testosteron, folikül stimüle edici hormon (FSH) ve luteinleştirici hormon (LH) seviyelerinin azaldığı, spermde morfolojik anomalilerin ve deoksiribonükleik asit (DNA) hasarının indüklendiği gösterilmiştir [25]. Diğer bir çalışmada ise ZNS yüksek dozlarda serum testosteron seviyelerini azaltırken, serum FSH ve LH konsantrasyonlarını arttırmış, histolojik kesitlerde seminifer tübüllerde spermatogenik hücre sayılarını azalttığı gözlenmiştir [26].

ZNS'in erkek reproduktif sistem fonksiyonları üzerine etkilerinin araştırıldığı az sayıda çalışma bulunmakla birlikte, tekrarlayan farmakolojik dozlarda deney hayvanlarına uygulanmasının sperm parametreleri ve testiküler morfoloji üzerine etkilerinin ve hem spermatogenez hem de testiküler patolojilerde rol oynayan hormon seviyeleri ve oksidatif durum üzerine etkilerinin bir bütün olarak araştırıldığı herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Ayrıca reproduktif yaşlar da dâhil yaşam boyu devam eden bir hastalık olarak epilepsinin reproduktif fonksiyon bozukluklarını indükleyebilmesi tedavide kullanılan ilaçların reproduktif toksik etkilerinin tanımlanmasını daha da gerekli kılmaktadır. Bu doğrultuda tez çalışması kapsamında ZNS'in tekrarlayan dozlarda sıçanlara uygulanması ile sperm konsantrasyonunun, motilitesinin, morfolojisinin, DNA hasarının belirlenmesiyle ve testiküler yapının histolojik olarak değerlendirilmesiyle ajanın erkek reproduktif sistemi üzerine olası toksik etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca olası patolojide reproduktif fonksiyonların regülasyonunda rol oynayan hormonlar olarak serum testosteron, FSH ve LH seviyelerinin belirlenmesi; reproduktif patolojilerde rol oynayan oksidatif durumun göstergeleri olarak testis dokusunda glutatyon (GSH), katalaz (KAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve malondialdehit (MDA) seviyelerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Epilepsi İle İlgili Genel Bilgiler

Beynin belirli bir bölgesinde anormal elektriksel deşarjlar sonucu epileptik nöbetlerle karakterize bir hastalık olan epilepsi, hastalarda sosyal ve davranışsal olumsuzluklara neden olabilmekte ve her yaşta ortaya çıkabilmektedir [27]. Epilepsi etiyolojik olarak idiyopatik; kafa travması, beyin kanaması gibi bilinen bir nedenle ilişkili semptomatik ya da görüntülenebilen bir lezyonla ilişkili kriptojenik epilepsi olarak sınıflandırılmaktadır [28]. Dünya genelinde 70 milyondan fazla epilepsi hastasının bulunduğu ifade edilmektedir. Ayrıca, her yıl yaklaşık olarak 2,4 milyon kişiye epilepsi teşhisi konulduğu tahmin edilmektedir [29-32].

Epileptik nöbetleri, beynin bir bölümünde oluşan ve klinik bulgularının bu bölgeye bağlı olduğu parsiyel nöbetler, nöbetin beynin tamamına yayıldığı jeneralize nöbetler ve sebebi bilinmeyen epileptik spazmlar olarak sınıflandırmak mümkündür. Parsiyel nöbetler basit parsiyel nöbetler, kompleks parsiyel nöbetler, sekonder jeneralize nöbete dönüşen parsiyel nöbetler; jeneralize nöbetler ise absans nöbetler, miyoklonik nöbetler, klonik nöbetler, tonik nöbetler, tonik-klonik nöbetler, atonik nöbetler olmak üzere gruplandırılmaktadır [33-35].

Epilepsinin patofizyolojisini tek bir mekanizma ile açıklamak çok mümkün değildir. Santral sinir sisteminde eksitator ve inhibitör nörotransmisyon arasındaki dengenin eksitator nörotransmisyon lehine bozulması temel patofizyolojiyi oluşturmaktadır [36]. Gaberjik nörotransmisyon santral sinir sisteminde eksitasyon-inhibisyon arasındaki dengenin devamlılığını sağlamaktadır [37]. Bu nörotransmisyon düzeyinde meydana gelen hasar epileptik nöbetler için öncül olarak kabul edilmektedir [38]. Eksitator-inhibitör nörotransmisyondaki dengenin aşırı glutamaterjik aktivite ile bozulmasının da epileptik nöbetlere neden olduğu bilinmektedir [39]. Ayrıca voltaj-bağımlı sodyum kanallarının ve T-tipi kalsiyum kanallarının fonksiyon ve ekspresyonundaki bozuklukların da epilepsi patogenezinde rol oynadığı ifade edilmektedir [40, 41].

2.2. Epilepsi Tedavisi

Epilepsi tedavisinde ilk seçenek olarak antiepileptik ilaçlar (AEİ'ler) kullanılmaktadır. İlaç tedavisinin yanı sıra epileptik odağın bağlantısının kesilmesi veya o bölgenin çıkarılması ya da kafa içine küçük elektrotların yerleştirilmesi şeklindeki

cerrahi girişimler de tedaviye eklenebilmektedir. Hastalarda nöbetlerin kontrol altına alınmasında ketojenik diyet de önemli bir seçenek olarak kabul edilmektedir [42-45].

AEİ'ler birinci, ikinci ve üçüncü jenerasyon olarak sınıflandırılmaktadır. Fenitoin, fenobarbital, karbamazepin, primidon, valproik asit, etosuksimid ve benzodiazepinler gibi birinci kuşak AEİ'lerin 20 yıl kadar epilepsi tedavisinde kullanılmalarının yanında tedavideki etkinliklerinin limitli olması, sıklıkla ciddi advers etkilere neden olmaları ve ilaçlar ile etkileşimleri yeni nesil AEİ'lerin araştırılmasına/geliştirilmesine temel oluşturmuştur. Epilepsi tedavisindeki etkinlikleri ve hastalar tarafından tolere edilebilirlikleri açısından birinci kuşak AEİ'lere üstünlük sağlayan felbamat, gabapentin, lamotrijin, levetirasetam, okskarbazepin, pregabalin, rufinamit, stiripentol, tiagabin, topiramet, vigabatrin ve ZNS gibi ikinci jenerasyon AEİ'ler 90'lı yıllardan sonra piyasaya sürülmüş ve kullanımları yıllar içerisinde giderek artmıştır. Eslikarbazepin asetat ve lakosamit gibi üçüncü kuşak AEİ'ler ise son yıllarda epilepsi tedavisindeki yerlerini almışlardır [46, 47].

Epilepsi hastalarında etkili nöbet kontrolü sağlamak için nöbet tipine uygun AEİ seçimi önem taşımaktadır. Epilepsi tedavisinde "altın standart" olarak kabul edilen monoterapi ile hastaların yaklaşık %70'inde yeterli tedavi sağlanmaktadır [48]. Diğer taraftan monoterapi ile hastalarda nöbetlerin kontrol altına alınamaması çoklu ilaç tedavisini zorunlu kılmaktadır [49, 50]. Politerapide ise nöbetlerin kontrolünde başarı sağlanırken ilaç advers etkileri riski artmaktadır [51, 52].

2.2.1. Antiepileptik ilaçların etki mekanizmaları

AEİ'ler santral sinir sisteminde esas inhibitör nörotransmitter olan gama-aminobutirik asitin (GABA) nöronal ve glial geri alımını inhibe ederek ve nöronal GABA metabolizasyonundan sorumlu GABA-aminotransferazı inhibe ederek GABA'nın sinaptik kavşakta seviyelerini arttırarak, nöronlarda GABA_A reseptörü aracılıklı gaberjik transmisyonu güçlendirerek, voltaj-bağımlı sodyum kanallarını ve/veya kalsiyum kanallarını bloke ederek ve glutamaterjik aktiviteyi azaltarak antiepileptik aktivite göstermektedir [53, 54].

Sıklıkla kullanılan birinci jenerasyon AEİ'lerden fenitoin ve karbamazepin voltaj-bağımlı sodyum kanallarını bloke ederek, valproik asit voltaj-bağımlı sodyum ve T-tipi kalsiyum kanallarını bloke ederek ve gaberjik transmisyonu güçlendirerek, etosüksimid T-tipi kalsiyum kanallarını bloke ederek, barbitürat ve benzodiazepinler GABA_A reseptör

aktivasyonu ile gaberjik transmisyonu güçlendirerek antiepileptik aktivite göstermektedir. Sıklıkla kullanılan ikinci jenerasyon AEİ'lerden vigabatrin GABA-transaminaz inhibisyonu ile gaberjik transmisyonu güçlendirerek, lamotrigin voltaj-bağımlı sodyum kanallarını bloke ederek, gabapentin voltaj-bağımlı sodyum kanallarını bloke ederek ve glial-nöronal GABA seviyelerini arttırarak, felbamat voltaj-bağımlı sodyum kanallarını bloke etmenin yanında glutamat N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör aktivitesini regüle ederek ve nöronal klor iyon influksunu arttırarak, ZNS voltaj-bağımlı sodyum ve T-tipi kalsiyum kanallarını bloke ederek antiepileptik aktivite göstermektedir [55, 56].

AEİ'lerin tedavideki etkinliklerinin ve olası advers etki profillerinin belirlenmesinde var olan güçlüğü bu ilaçların birden fazla etki mekanizmasına sahip olmasıyla ilişkilendirmek mümkündür [35, 57].

2.2.2. Antiepileptik ilaçların advers etkileri

AEİ'ler hastalarca tolere edilebilirlikleri açısından birbirinden farklılık göstermektedir. Gastrointestinal semptomlar, bulanık görme, diplopi, vertigo, baş ağrısı, yorgunluk, hiponatremi, ataksi, tremor, kognitif fonksiyon bozukluğu, anormal ruh hali, davranış bozuklukları gibi advers etkiler AEİ kullanan hastalarda sıklıkla meydana gelen doz-bağımlı advers reaksiyonlar olarak ifade edilmektedir. Aplastik anemi, glokom, karaciğer toksisitesi, deri döküntüsü gibi idiyosenkratik reaksiyonlar daha nadir olarak hastalarda meydana gelen advers etkiler olarak kabul edilmektedir. Ayrıca hastalarda uzun süreli AEİ kullanımı ile ilişkili olarak bağ dokusu hastalıkları, endokrin sistem bozuklukları, dişeti hiperplazisi, saç kaybı, hirsutizm, görme alanı kaybı, kilo alma/kaybı gibi advers etkiler de gözlenebilmektedir [53, 58].

Karbamazepin, fenitoin ve fenobarbital gibi karaciğer enzim indükleyici AEİ'lerin kullanımının serum seks hormonu bağlayıcı globulin (SHBG) konsantrasyonunu arttırdığı bu yolla da testosteronun biyolojik aktivitesini azalttığı buna bağlı olarak erkek hastalarda sperm sayısını, motilitesini ve normal sperm morfolojisini azalttığı gösterilmiştir [59]. Ayrıca bu ilaçların testosteron seviyelerini azaltarak reproduktif sistemin erken yaşlanmasına neden olduğu ifade edilmektedir [60]. Valproik asit tedavisinin erkek hastalarda testiküler dokuda atrofiye sebep olduğu [59], spermatogenezi azalttığı [61] ve gonadotropin salıverici hormon (GnRH) salıverilmesini azalttığı [62]

gösterilmiştir. Karbamazepin ile tedavinin erkek hastalarda testosteron yıkımını arttırarak plazma seviyelerini azalttığı [63] ve sperm motilitesini azalttığı gösterilmiştir [64].

Ayrıca, AEİ'ler biyotransformasyondan sorumlu enzim düzeylerinde indükleyici/inhibitör etkileri nedeniyle sıklıkla ilaç-ilaç etkileşimlerine neden olmaktadır. Fenobarbital, fenitoin, karbamazepin ve valproik asit gibi birinci jenerasyon AEİ'ler, biyotransformasyondan sorumlu enzimlerin sentezini indüklemekte veya inhibe etmektedir. Enzim düzeyinde meydana gelen bu değişimler bu ilaçlar ile birlikte uygulanan farmakolojik tedavilerin etkinliklerini arttırabilmekte veya azaltabilmektedir. Bunun yanında enzim düzeyindeki bu değişiklikler ilaçlar ile indüklenen advers etkilerin sıklığını ve şiddetini de etkileyebilmektedir [65, 66]. Karbamazepin, fenitoin, fenobarbital, primidon sitokrom P450 ve glukuronil transferaz enzimlerini indükleyerek, birlikte kullanıldıkları valproik asit, tiyagabin, etosüksimid, lamotrijin, topiramat, okskarbazepin, ZNS ve felbamat gibi AEİ'lerin plazma konsantrasyonlarını azaltmaktadır. Bu durum epileptik nöbetlerin kontrolünde başarısızlıkla sonuçlanmaktadır. Karaciğer enzim inhibitörü olan valproik asit, özellikle fenobarbital ve lamotrijinin metabolizmasını inhibe ederek, plazma konsantrasyonlarını arttırabilmektedir [67, 68]. Yine CYP2C19 enzim inhibitörü okskarbazepin de fenitoin ve fenobarbitalin plazma konsantrasyonlarını arttırmaktadır. Güçlü bir enzim inhibitörü olan felbamat ise fenitoin, fenobarbital, karbamazepin ve valproik asitin plazma konsantrasyonlarında artışa neden olmaktadır [67]. Plazma konsantrasyonlarındaki artışlar bu ilaçlar ile indüklenen advers/toksik etki sıklığını ve şiddetini arttırmaktadır [67]. Ayrıca, enzim indükleyici AEİ'ler otoindüksiyon ile kendi plazma konsantrasyonlarını da azaltmakta, enzim inhibitörü AEİ'ler otoinhibisyon ile kendi plazma konsantrasyonlarını arttırmaktadır [67, 68].

2.3. Zonisamid İle İlgili Genel Bilgiler

ZNS, ilk olarak 1989 yılında Japonya'da ve 2005 yılında Avrupa'da epilepsi tedavisinde klinik kullanım için onay almış geniş spektrumlu antiepileptik bir ilaçtır [69, 70]. Kimyasal yapı ve etki mekanizması açısından diğer AEİ'lerden farklı olduğu için diğer ilaçlara dirençli epilepsi tedavisinde sıklıkla tercih edilmektedir [71].

ZNS'in tedavide tablet ve toz formları kullanılmaktadır. Yetişkinlerde ZNS tedavisinin başlangıç dozu 100 mg/gün olarak tavsiye edilmektedir. Gerekli görüldüğü durumlarda önerilen maksimum doz ise 600 mg/gün olarak ifade edilmektedir [72].

Pediyatrik hastalarda ZNS tedavisinin başlangıç dozu 2 - 4 mg/kg/gün olarak önerilirken, maksimum doz ise 12 mg/kg/gün olarak ifade edilmektedir [73].

2.3.1. Farmakodinamik özellikleri

ZNS, kimyasal olarak sülfonamid yan zincirine sahip bir benzizoksazol bileşiğidir. ZNS'nin antiepileptik etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte bu ilaç ile nöronal anormal deşarjların baskılanmasının temelini voltaj bağımlı sodyum ve T-tipi kalsiyum kanallarının inhibisyonu oluşturmaktadır [74]. Ayrıca ZNS'nin hipokampüsten GABA salıverilmesini arttırarak inhibitör yolları aktive etmesi, serotonerjik ve dopaminerjik sinir iletimini kolaylaştırması, potasyum aracılıklı glutamat salıverilmesini inhibe etmesi de antiepileptik aktivitesine katkı sağlamaktadır [75].

2.3.2. Farmakokinetik özellikleri

ZNS gastrointestinal sistemden değişken, ancak nispeten hızlı absorpsiyon oranına sahip bir ilaçtır. Plazma pik konsantrasyonuna 2.8 - 3.9 saatte ulaşmaktadır. Gıdaların ZNS'nin biyoyararlanımı üzerinde bir etkisi bulunmamaktadır. Dağılım hacmi 1.45 L/kg olarak ifade edilmektedir. En fazla eritrositlerde konsantre olmakla birlikte tüm kan ve plazmada bulunmaktadır. Başta albümin olmak üzere plazma proteinlerine %40-60 gibi değişen oranlarda bağlanmaktadır. Hepatik biyotransformasyonu 2 yolak ile gerçekleşmektedir. Başlıca yolak sitokrom P450 izoenzim 3A4 (CYP3A4) ile redüksiyon reaksiyonudur. Bu reaksiyon sonrasında 2-sülfomoiasetilfenol metaboliti oluşmaktadır. Hepatik biyotransformasyondaki diğer yolak ise N-asetiltransferaz ile N-asetilzonisamid'e asetilasyon reaksiyonudur. ZNS esas olarak idrarla değişmeden ve metabolitlerin glukuronid konjugatları olarak atılmaktadır. Bu noktada, N-asetiltransferaz enzimidaki genetik polimorfizmin bireylerdeki ZNS biyotransformasyonundaki farklılıkların temelini oluşturduğu vurgulanmalıdır [76]. Yetişkinlerde plazma yarılanma ömrünün 50-62 saat arasında olduğu belirtilmektedir. Kararlı ilaç konsantrasyonuna tedavi başlangıcından 2 hafta sonra ulaşmaktadır. Terapötik indeksi 10-40 µg/ml olarak ifade edilmektedir [72, 73, 76, 77].

2.3.3. Advers etkileri

ZNS tedavisi hastalar tarafından iyi tolere edilmekle birlikte, hastalarda uykusuzluk, baş dönmesi, iştahsızlık, ağırlık kaybı, baş ağrısı, ataksi, gastrointestinal semptomlar, kognitif fonksiyon bozuklukları, deri döküntüsü/kaşıntı gibi advers etkiler

meydana gelebilmektedir. Bu advers etkiler genellikle tedavi başlangıcını takiben hafif/orta şiddette başlamakta ve zamanla azalmaktadır. Bunun yanında ZNS sülfonamid türevi bir ilaç olduğu için sülfonamidlere alerjisi olan hastalarda hipersensitivite reaksiyonlarını da indükleyebilmektedir. Bununla ilişkili olarak hastalarda Stevens-Johnson sendromu ve toksik epidermal nekroz gibi hipersensitivite reaksiyonları bildirilmektedir [78].

2.4. Erkek Üreme Sistemi

Memelilerde erkek üreme sistemi karın boşluğu dışına yerleşmiş bir çift testis (erkek gonadları), dışarı akışı sağlayan kanal sistemleri (efferent kanallar, epididimisler, duktus deferens ve üretra), yardımcı cinsiyet bezleri (ampulla, seminal vezikül, prostat ve balboüretal bezler), skrotum ve penisten oluşmaktadır [79].

2.4.1. Testis

Testisler interstisyel ve tübüler alanlardan oluşan parenkimal lobüllere bölünmüştür. Yapısal ve fonksiyonel bölümü olan seminifer tübülleri testisin %80'ini oluşturmaktadır. Seminifer tübülleri içinde farklılaşmanın değişik aşamalarındaki germ hücreleri ve germ hücrelerini yapısal olarak destekleyen ve besleyen Sertoli hücreleri bulunmaktadır [79]. Destek fonksiyonunun yanı sıra Sertoli hücreleri spermatogenezi regüle eden inhibin hormonunu üretmekte ve salıvermektedir [80]. Sertoli hücreleri bazal zara bağlanarak gelişmekte olan germ hücrelerini sarmaktadır [79]. Bitişik Sertoli hücreleri arasındaki sıkı kavşaklar, kanda ve hücreler arası sıvıdaki protein ve diğer büyük moleküllerin germ hücrelerine ulaşmasını önleyen bir kan-testis bariyeri (KTB) oluşturmaktadır. KTB zararlı ksenobiyotiklerin de germ hücrelerine ulaşmasını önleyerek olası hasardan hücreleri korumaktadır. Dolayısıyla KTB'de oluşabilecek bozuklukların reproduktif toksik etkilere neden olması kaçınılmazdır [80]. Testislerdeki interstisyel alanda ise testosteron üretiminden sorumlu Leydig hücreleri bulunmaktadır. Leydig ve Sertoli hücreleri ksenobiyotik biyotransformasyonuna katkı sağlayan enzimleri de içermektedir [79]. Kan testislere testiküler arter ile gelirken, testiküler ven ile ayrılmaktadır. Testisler az kanlanan yapılar olarak az oksijenlenmektedir. Bu nedenle sperm, dişi üreme kanalının hipoksik ortamında da hayatta kalabilmek için kendini önceden koşullayabilecek olağandışı büyük mitokondriler geliştirmektedir [80].

2.4.2. Kanal sistemleri

Kanal sistemleri her testis için efferent kanal, epididimal kanal ve vas deferensten oluşmaktadır. Bu sistem spermin ve bazı testiküler salgıların testislerden üretraya geçişini sağlamaktadır [81]. Türler arasında farklılık göstermekle birlikte epididimis başlangıç, baş (kaput), vücut (body-korpus) ve kuyruk (kauda) kısımlarından oluşmaktadır. Epididimis spermlerin taşınması ve beslenmesine, hareket ve fertilizasyon yeteneği kazanmasına, hasarlı spermin ortadan kaldırılmasına ve spermin depolanmasına katkı sağlamaktadır [82]. Epididimal transit süresi çeşitli faktörlere (ejekülasyon sıklığı) göre değişmekle birlikte 7-14 gün arasındadır. Vas deferans ise epididimiste olgunlaşmış spermlerin üretraya iletimini sağlamaktadır [79].

2.4.3. Yardımcı cinsiyet bezleri

Memelilerdeki sperm sıvısının bileşimine katkıda bulunan birçok yardımcı bez bulunmaktadır. Bu bezler arasında ampulla, seminal veziküller, prostat ve bulboüretal bezler sayılmaktadır [83]. Erkeklerde yardımcı cinsiyet bezlerinin androjen bağımlı olduğu bilinmektedir. Yardımcı cinsiyet bezlerinin ağırlıkları, testosteron konsantrasyonunun veya antiandrojen maruziyetinin indirekt göstergesi olarak kullanılabilir [79]. Erkek üreme sisteminin en önemli yardımcı cinsiyet bezi olarak prostat bezinin salgısı spermin kapasitasyonunu ve akrozom reaksiyonunu regüle etmektedir. Ayrıca, bu salgı dışı genital sisteminde bulunan immün sistem hücrelerinden spermleri korumaktadır. Hafif alkali özellikteki prostat sıvısı içeriğinde prostat asit fosfataz, prostat spesifik antijen, amilaz, sitrik asit, çinko ve plazmin bulunmaktadır. Ejekülatın diğer bir bileşeni olan seminal vezikül salgısı fruktoz, prostaglandinler, amino asitler, askorbik asit, basit şekerler ve seminal veziküle özgü proteinlerden oluşmaktadır. Sperm temel enerji kaynağı olarak fruktozu kullanmaktadır. Ejekülasyon sırasında seminal veziküllerin düz kasının kasılması sonucu salgı, ejakülatuar kanal içine boşalmakta ve spermin üretra dışına atılımını sağlamaktadır [84]. Bulboüretal bez cinsel uyarılma sırasında kaygan bir sıvı salgılamaktadır [80]. Bu sıvının içeriğinde galaktoz, galaktozamin, galakturonik asit, metilpentoz ve sialik asit bulunmaktadır [84].

2.4.4. Dış genital organlar

Erkek dış genital organları, penis ve skrotumdan oluşmaktadır [79]. Penis pelvik üretrayı çevreleyen erektile dokudan (korpus kavernozum ve korpus spongiosum)

oluşmakta ve spermi dışı üreme sistemine iletmektedir [85]. Karın boşluğunun dışında testislerin bulunduğu skrotum ise testisleri mekanik hasardan korumakla birlikte termoregülasyonda rol oynamaktadır [79].

2.4.5. Semen

Süt beyazı, hafif yapışkan semen; testiküler sıvılar ve yardımcı cinsiyet bezleri salgılarından oluşan bir karışımdır. Bu sıvı sperm için taşınma ortamı oluşturmakla birlikte; besin ve spermi koruyan, aktive eden, hareketini kolaylaştıran bazı kimyasallar içermektedir. Semen hafif alkali (pH 7,2-8,0) özelliği ile pH 6'nın altında hareketsiz olan spermleri, sperm için zararlı olan üretrada kalan idrardan ve dışı üreme sisteminin asiditesinden korumaktadır. Her ejakülasyonda erkek üreme sisteminden çıkan semen miktarı 2-5 ml kadardır ve her mililitresi yaklaşık olarak 20 ile 150 milyon sperm içermektedir [85].

2.4.6. Spermatogenez

Spermatogenez seminifer tübüllerde ön hipofizden salıverilen gonadotropik hormonların uyarısı ile başlayan, diploid (2n) kromozomlu spermatogoniadan haploid (n) kromozomlu sperm (gamet, spermatazoa) oluşmasına kadar geçen bir dizi süreç olarak tanımlanmaktadır. İnsanlarda spermatogenezin 65-75 gün sürdüğü bilinmektedir [86]. Bir erkekte ortalama 14 yaşlarında başlamakta ve ömrünün sonuna kadar azalarak devam etmektedir. Yetişkin bir erkek ortalama her gün 400 milyon sperm üretmektedir [85].

Seminifer tübüllerin epitel dokusunun bazal laminasında KTB'nin dışında bulunan spermatogoniyalar mitozla ikiye bölünmekte ve kardeş tip A ile tip B hücrelerini oluşturmaktadır. Tip A hücresi KTB dışında bazal laminada kalarak bölünen hücre havuzunu oluştururken, tip B hücresi tübül lümenine yaklaşarak KTB'yi geçmekte ve primer spermatosit olarak adlandırılan daha büyük ve farklılaşmış hücreyi oluşturmaktadır. Bu süreci takiben primer spermatosit mayoz 1 sonucunda haploid (n) kromozomlu 2 adet sekonder spermatositi oluşturmaktadır. Mayoz 1'i takiben meydana gelen mayoz 2 ile her kromozomda iki kromatit bulunduran sekonder spermatosit, her kromozomda bir kromatit bulunduran spermatit adı verilen 2 kardeş hücre oluşturmaktadır. Sonuç olarak bir adet 46 kromozomlu primer spermatositin 4 adet 23 kromozomlu spermatitler bu süreç sonunda oluşmaktadır. Bu aşamada oluşan haploid (n) kromozomlu spermatitlerin hareket yeteneği bulunmamaktadır [85]. Akrozom

oluşumunu, nukleus yoğunlaşmasını ve uzamasını, flagellum gelişmesini ve sitoplazmanın çoğunun kaybolmasını içeren bir seri olaylar dizisi olarak tanımlanan spermiyogenez aşaması sonunda spermiler oluşmaktadır [86].

2.4.6.1. Spermatogenezin hormonal regülasyonu

Hipotalamustan salıverilen GnRH, hipofizer portal sistem aracılığıyla ön hipofize ulaşmakta ve ön hipofizden FSH ve LH salıverilmesine neden olmaktadır. FSH, Sertoli hücrelerinden androjen bağlayıcı protein (ABP) salıverilmesini uyarak spermatogenez indirekt olarak başlatmaktadır. ABP, testosteron konsantrasyonunun spermatogenik hücrelerin çevresinde yüksek olmasını sağlayarak spermatogenez uyarmaktadır. Ön hipofizden salıverilen LH ise seminifer tübülleri çevreleyen bağ dokusundaki interstisyel alandaki Leydig hücrelerine bağlanarak bu hücrelerden esas olarak testosteron salıverilmesine aracılık etmektedir. Lokal olarak artan testosteron seviyesi spermatogenez için nihai başlatıcı görevi görmektedir [85].

Kan dolaşımına ulaşan testosteron diğer vücut bölgelerinde cinsel organların olgunlaşmasına, sekonder cinsel karakterlerin gelişmesine ve sürdürülmesine aracılık etmekle birlikte libidoyu uyarmaktadır [86]. Dolaşımda artan testosteron seviyesi negatif geri bildirim ile hem hipotalamustan GnRH salıverilmesini hem de ön hipofizden FSH ve LH salıverilmesini inhibe etmektedir. Sertoli hücreleri tarafından üretilen ve salıverilen inhibin hormonu ise spermatogenezin "barometresi" olarak rol oynamaktadır. Sperm sayısı arttığında, daha fazla inhibin salıverilerek hem hipotalamik GnRH hem de hipofizeal FSH'nin salıverilmesi inhibe olmaktadır. Sperm sayısı azaldığında ise Sertoli hücrelerinden inhibin salıverilmesi azalmaktadır [85].

2.5. Reprodüktif Toksisite ve İnfertilite

Reprodüktif toksisite, ksenobiyotik maruziyeti ile ilişkili olarak reprodüktif fonksiyonlarda rol oynayan fizyolojik süreçler ve ilişkili davranışlar ve/veya anatomik yapılar üzerindeki olumsuz etkiler olarak ifade edilmektedir [87]. Ancak reprodüktif toksisite, yetişkin erkek ve kadınlarda reprodüktif fonksiyonlar üzerindeki olumsuz etkilerin yanı sıra, yavruların gelişimi üzerindeki olumsuz etkileri de kapsamaktadır. Dolayısıyla, fertilite bozuklukları, teratoloji, embriyotoksisite, perinatal ve postnatal toksisite reprodüktif toksisitenin bileşenleri olarak kabul edilmektedir [88]. Çevresel kirleticiler, ilaçlar, kozmetikler, pestisidler ve mikroorganizmalar dâhil olmak üzere

çeşitli maruziyetler insan reproduktif sisteminde zararlı etkilere neden olabilmektedir. Tüm bu maruziyetler birçok ülkede reproduktif toksisitenin önemli bir bileşeni olan infertilitenin de artması ile ilişkilendirilmektedir [89]. Esas olarak infertilite, 12 ay veya daha fazla süreli düzenli korunmasız cinsel ilişkiden sonra klinik bir gebelik elde edilememesi ile tanımlanan bir sağlık problemidir ve evli çiftlerin yaklaşık %15'ini etkilemektedir [90, 91]. İnfertilite vakalarının yaklaşık %40-50'si kadın, %20'si erkek ve %30-40 hem kadın hem erkek faktörlerden kaynaklanmaktadır [92].

Erkek infertilitesi yetersiz koitusa, azoospermiye, sperm otoimmünitesine, semen kalitesindeki anomaliye ve sperm anomaliliğine bağlı olarak meydana gelmektedir [93].

Yetersiz koitusa bağlı infertilite: Mekanik sebeplerden kaynaklanmaktadır. Erkek infertilitesinin yaklaşık olarak %5'inden sorumludur. Erektile disfonksiyon, diabetes mellitus, mesane cerrahisi ve anorgazm yetersiz koitusa neden olan etkenler arasında sayılmaktadır.

Azoospermiye bağlı infertilite: Semende spermin olmaması durumu olarak tanımlanmaktadır. Erkek infertilitesinin yaklaşık olarak %5'inden sorumludur. Anabolik steroidlerin kötüye kullanımı, Kalmann sendromu, kriptorşidizm, radyoterapi, kemoterapi, vas deferensin konjenital bilateral yokluğu ve vazektomi azoospermiye neden olan etkenler arasında sayılmaktadır.

Sperm otoimmünitesine bağlı infertilite: Antisperm antikorlarının sperm fonksiyonunu bozmasına bağlı olarak meydana gelmektedir. Erkek infertilitesinin yaklaşık olarak %5'inden sorumludur. İdiyopati, genital enfeksiyon veya tek taraflı testiküler tıkanıklık otoimmüniteye neden olan etkenler arasında sayılmaktadır.

Semen kalitesindeki anomaliliğe bağlı infertilite: Erkek infertilitesinin yaklaşık olarak %85'inden sorumludur. Sperm sayısı, motilite ve morfolojisindeki anomalilere bağlı olarak meydana gelmektedir. Erkek yardımcı bezlerindeki enfeksiyonlar, testis kanseri, ilaçlar ve varikosel semen kalitesinde anomaliye neden olan etkenler arasında sayılmaktadır.

Sperm anomaliliğine bağlı infertilite: Sperm sayısı, motilite ve morfolojisinde bir bozukluk olmaksızın spermin fertilizasyon olayını gerçekleştirememesine bağlı olarak meydana gelmektedir. Erkek infertilitesinin yaklaşık olarak %1'inden sorumludur. İmmotil silia sendromu ve globozoospermi sperm anomaliliğine neden olan infertilite etkenleri arasında sayılmaktadır [93].

Erkeklerde infertiliteye neden olan etkenler arasında kabul edilen ilaçlar ise, direkt gonadotoksik etkileriyle ya da HHG aksın disregülasyonu, ejakülasyon ve erektile fonksiyon bozuklukları, libidonun azalması gibi indirekt gonatoksik etkileriyle erkeklerde fertilitiyi etkileyebilmektedir. Ayrıca gonadotoksinler, KTB'ye zarar vererek testislerin fonksiyonel birimlerini hasara açık hale getirerek de reproduktif toksik etkilere neden olabilmektedir [94].

Özellikle hormon tedavisi, anabolik steroidler ve bazı psikoaktif ilaçlar HHG aksı etkileyerek gonadotropin ve/veya testosteron konsantrasyonlarında değişikliklere neden olabilmektedir. Retrograde ejakülasyona neden olan, spinal refleksi bloke eden veya emisyonu engelleyip kuru ejakülasyona neden olan ilaçlar tarafından ejakülasyonun bozulabileceği bilinmektedir. Erektile disfonksiyon ise normal erektile fonksiyon için gerekli olan nörolojik veya vasküler aracılıklı olayları etkileyen ilaçlar ile meydana gelebilmektedir [94].

2.5.1. Erkeklerde reproduktif toksisitenin tanısı

Erkek reproduktif toksisitesi, testis, epididimis, seminal vezikül, prostat, hipofiz gibi dokulara ait organ ağırlıklarının; testis, epididimis, seminal vezikül, prostat, hipofiz gibi dokuların görünüm ve histojilerinin; sperm sayısı, motilitesi ve morfolojisinin; kan LH, FSH, testosteron, östrojen, prolaktin gibi hormon seviyelerinin; testis iniş, preputial ayırım, sperm üretim, anogenital mesafe, dış genital bölge yapısı gibi gelişimsel durumların değerlendirilmesi ile yapılmaktadır [95].

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) semen analiz kriterlerine göre ejakülat hacminin 2 ml veya daha fazla, likefaksiyon süresinin en fazla 60 dakika, sperm konsantrasyonunun 20×10^6 spermatozoa/ml veya daha fazla, sperm motilitesinin ileri hareket düzeyinin %32 veya daha fazla, sperm normal morfolojisinin %30 veya daha fazla, sperm canlılığının %75 veya daha fazla ve semende beyaz kan hücre konsantrasyonunun 1×10^6 / ml veya daha az olarak belirlendiği değerler normal olarak kabul edilmektedir [96].

3. GEREÇLER

3.1. Kullanılan Maddeler

Agaroz (Normal)	: Sigma-Aldrich, Almanya
Agaroz (Düşük erime dereceli)	: Sigma-Aldrich, Almanya
Alkol	: Sigma-Aldrich, Almanya
Boraks çözeltisi	: Sigma-Aldrich, Almanya
Borik asit	: Riedel de Haën, Almanya
Dikalsiyum Fosfat (DCP)	: Carlo Erba, Amerika Birleşik Devletleri
Ditiyotritol (DTT)	: Ambresco, Amerika Birleşik Devletleri
DMEM/Ham's F-12	: Wisent Inc, ABD
EDTA disodyum dihidrat	: Merck, Almanya
FSH Kiti	: Sun-Red, Çin Halk Cumhuriyeti
Glutaraldehit	: Merck, Almanya
GSH Kiti	: BioVision, Amerika Birleşik Devletleri
KAT Kiti	: BioVision, ABD
Lamel yapıştırıcısı	: Eukitt, İspanya
LH Kiti	: Sun-Red, Çin Halk Cumhuriyeti
Lityum 3,5-diiodosalisilat	: Fluka, Amerika Birleşik Devletleri
LMP Agaroz	: Invitrogen, İngiltere
LR White	: London Resin Company, İngiltere
MDA Kiti	: BioVision, Amerika Birleşik Devletleri
Monosodyum Fosfat	: Carlo Erba, Amerika Birleşik Devletleri
Paraformaldehit	: Sigma-Aldrich, Almanya
PBS	: MP Biomedicals, Fransa
SOD Kiti	: Sun-Red, Çin Halk Cumhuriyeti

Sodyum klorür (NaCl)	: Merck, Almanya
Sperm Blue dark staining	: Microptic SL, İspanya
Sperm Blue fixative solution	: Microptic SL, İspanya
Syber green	: Sigma-Aldrich, Almanya
Testosteron Kit	: Sun-Red, Çin Halk Cumhuriyeti
Triton X-100	: Merck, Almanya
Trizma baz	: Sigma-Aldrich, Amerika Birleşik Devletleri
Trizma hidroklorit	: Sigma-Aldrich, Amerika Birleşik Devletleri
Üretan	: Sigma-Aldrich, Almanya
Zonisamid	: Zentiva, Türkiye

3.2. Kullanılan Cihazlar

Basler A312fc dijital kamera	: Microptic SL, İspanya
Comet analiz programı	: BS 200 ProP, BAB Görüntüleme Sistemi, Türkiye
Elektroforez Tank	: Cleaver, İngiltere
Floresan mikroskobu	: Leica DM6000 B, Almanya
Güç kaynağı	: Thermo Scientific, Amerika Birleşik Devletleri
Hassas terazi	: Ohaus, Amerika Birleşik Devletleri
Homojenizatör	: Sartorius, Almanya
Isıticılı manyetik karıştırıcı	: Lab Companion, Amerika Birleşik Devletleri
İnkübatör	: Lab Companion, Amerika Birleşik Devletleri
Mikroplate okuyucu	: Biotek, Amerika Birleşik Devletleri
Nikon Eclipse 50i	: IMP, Güney Afrika
Otomatik Sperm Yazılımı	: SCA, İspanya
Soğutmalı santrifüj	: Eppendorf, Amerika Birleşik Devletleri

Stereomikroskop	: Leica Em Trim, Almany
Ultramikrotom	: Leica Em Uc6, Almany
Ultrasonik banyo	: Bandelin, Almany
Vorteks	: Heildolph, Almany

4. YÖNTEMLER

Deneylerde yaklaşık 300-350 g ağırlığında yetişkin erkek Sprague-Dawley sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar 12 saat gece/12 saat gündüz döngüsünde, %65 ortam nemi ve 24 ± 1 °C oda sıcaklığında, adlibitum ve serbest su erişimi olacak şekilde beslenerek muhafaza edilmiştir. Tez çalışması süresince gerçekleştirilen tüm deneyler, Anadolu Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Etik Komisyonu'ndan onay alındıktan sonra yapılmıştır (Dosya Kayıt No. 2015-15).

Sıçanlar her grupta 10 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrılmıştır. Deney hayvanlarına uygulanan ZNS dozları literatür araştırmaları sonucunda antiepileptik aktivite gösterdiği 25, 50 ve 100 mg/kg olarak belirlenmiştir [97, 98]. Ayrıca, epilepsi tedavisi için ZNS'in klinik dozları günde 100-600 mg'dır [72]. Seçilen dozlar, insan dozlarını hayvan dozlarına uyarlayan kılavuzlara uygun bulunmuştur [99]. ZNS, distile su içinde çözülerek 1 mL/100 g'lık bir hacimde deney hayvanlarına uygulanmıştır. Uygulama süresi, Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (The Organisation for Economic Co-operation and Development-OECD) 407: Kemirgenlerde tekrarlanan doz oral toksisite çalışması ile uyumlu olarak 28 gün olarak belirlenmiştir [100]. Ayrıca, 28 günlük maruziyet süresi erkek sıçanlarda ksenobiyotik kaynaklı reproduktif toksik etkilerin belirlenmesi için uygun bir süre olarak kabul edilmektedir [101, 102].

Kontrol grubu: 28 gün süre ile oral olarak 1 ml/100 g hacimde distile su uygulanan kontrol grubu sıçanlar (10 adet) – K

25 mg/kg ZNS uygulanan grup: 28 gün süre ile oral olarak 25 mg/kg dozda ZNS uygulanan sıçanlar (10 adet) – ZNS-25

50 mg/kg ZNS uygulanan grup: 28 gün süre ile oral olarak 50 mg/kg dozda ZNS uygulanan sıçanlar (10 adet) – ZNS-50

100 mg/kg ZNS uygulanan grup: 28 gün süre ile oral olarak 100 mg/kg dozda ZNS uygulanan sıçanlar (10 adet) – ZNS-100

28 günlük uygulama süresini takip eden 24 saatlik sürede deney gruplarında deney hayvanlarının ağırlıkları kayıt edilmiş ve aşağıda belirtilen deney protokolü uygulanmıştır.

1. Sıçanlara intraperitoneal olarak 1,5 g/kg ürean anestezisi uygulanmıştır [103].
2. Anestezi altındaki sıçanlar kalp sağ ventrikül yapısından yüksek miktarda kan toplanması yoluyla öldürülmüştür. Toplanan kan örnekleri 4°C'de 24 saat bekletildikten

sonra 2500 x rpm’de 15 dakika santrifüj edilmiş ve serum kısımları FSH, LH ve testosteron seviyelerinin belirlenmesi için kullanılmıştır. Gruplarda serum FSH, LH ve testosteron seviyeleri ilgili kitlerin üreticisi tarafından belirlenen deney prosedürüne göre belirlenmiştir.

3. Sıçan testis ve epididimis dokuları çıkarılmış ve fosfat tamponuyla (8 g/L NaCl; 0,2 g/L KCl; 0,2 g/L KH₂PO₄; 1.14 g/L Na₂HPO₄; pH 7,4) yıkanıp kan ve kirlilikten arındırılmıştır.

4. Sol testis ve epididimis dokularının ağırlıkları kaydedilmiş ve bu değerler sıçanların bağıl testis/epididimis ağırlıklarının hesaplanmasında kullanılmıştır.

5. Sol testis dokuları SOD ve KAT aktiviteleri ile GSH ve MDA seviyelerinin belirlenmesinde kullanılmıştır. Gruplarda testis SOD ve KAT aktiviteleri ile GSH ve MDA seviyeleri ilgili kitlerin üreticisi tarafından belirlenen deney prosedürüne göre belirlenmiştir.

6. Sağ testis dokuları küçük parçalara (2 mm³) dilimlenmiş ve %4 paraformaldehit çözeltisi (fosfat tampon içinde pH 7,2-7,3) içinde +4 °C’de ve 24 saat süre ile fikse edilmiştir. Fiksasyon süresi sonrasında örnekler 0,1 M’lık sodyum-fosfat tamponu (pH: 7,4) ile yıkanmış ve örnekler dehidratasyon amacıyla alkol serilerinden geçirilmiştir. Resinin hücre içerisine nüfuz etmesini sağlamak amacıyla örnekler 2:1 oranında hazırlanmış LR White/alkol karışımında 2 saat bekletilmiştir. Süre sonunda örnekler 24 saat süre ile LR White çözeltisinde bekletilmiştir. Gömme işleminin ardından oluşturulan bloklardan ultramikrotom kullanılarak 700 nm kalınlığında kesitler alınmıştır. Kesitler %1’lik toluidin mavisi/boraks çözeltisi (pH: 8,4) ile boyanmış ve mikroskopta görüntülenmiştir [104].

7. Sağ epididimisin proksimal kauda kısımları sperm konsantrasyonu, motilitesi, morfolojisi ve DNA hasarının belirlenmesinde kullanılmıştır.

4.1. Sperm Konsantrasyonunun ve Motilitesinin Değerlendirilmesi

Kauda kısımları önceden sıcaklığı 37°C’ye ayarlanmış DMEM/Ham’s F-12 besiyerini içeren saat camlarına alınmıştır. Kirliliklerinden arındırılan kaudaların 0.5 cm’lik parçası içerisinde 1 ml aynı besiyerini içeren yeni saat camlarına aktarılmıştır. Besiyeri içerisinde sperm bulutu oluşması sağlanmış ve bu buluttan 5’er µl alınarak Leja lamların kuyucuklarına doldurulmuştur. Hazırlanan lamlar Sperm Class Analyzer

(SCA[®]) sisteminde konsantrasyon ve motilite modülünde 4x ters faz objektifi ile her sıçan için en az 8 görüntü olacak şekilde saniyede 50 kare çekilerek analiz edilmiştir. Motilitenin değerlendirilmesinde her sıçan için en az 200 sperm kullanılmıştır [105-107].

4.2. Sperm Morfolojisinin Değerlendirilmesi

Sperm bulutunun 5 µl'si lama (24 x 60 mm) alınmış ve temiz başka bir lam yardımıyla 45°lik açı olacak şekilde yayılmıştır. Lamalar oda sıcaklığında kuruduktan sonra, 15-20 dakika boyunca dikey olarak SpermBlue[®] fiksasyon solüsyonu içinde fikse edilmiştir. Süre sonunda 15 dakika boyunca SpermBlue[®] ile boyanmıştır. Lamalar fazla fiksatif ve boyadan arındırılmak için 1 saniye distile su ile yıkanmıştır. Hazırlanan lamalar SCA[®] sistemine ait morfoloji modülünde 100x aydınlık alan objektifi ile mavi lens kullanılarak otomatik olarak analiz edilmiştir. Sıçanlara ait sperm morfolojilerinin değerlendirilmesinde her sıçan için en az 200 sperm kullanılmıştır. Sperm literatür verilerine göre belirlenen sperm anomalileri esas alınarak morfolojik olarak değerlendirilmiştir [105-107].

4.3. Sperm DNA Hasarının Belirlenmesi

Spermelerde DNA hasarı tek hücre jel elektroforezi (SCGE/Comet) yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Buzlu lamalar fosfat tamponu ile hazırlanmış %1'lik normal erime sıcaklığına sahip agaroz jel ile kaplanmıştır. Sperm bulutunun 8 µl'si 72 µl %1'lik düşük erime sıcaklığına sahip agaroz jel ile karıştırıldıktan sonra lama aktarılmış ve lamel ile kapatılmıştır. 5 dakika kuruma süresi sonrasında lamel çıkarılıp preparatlar 24 saat lizis tamponu (2,5 M NaCl, 100 mM EDTA, 10 mM Tris, pH 10; tampona %1 Triton X-100 ve 40 mM dithiotreitol) içerisinde bekletilmiştir. Süre sonunda lizis tamponuna 0,1 mg/ml proteinaz K ve 4 mM Lityum 3,5-diiodosalisilat eklenmiş ve lamalar 24 saat 37°C'de lizis tamponunda bekletilmiştir. Süre sonunda tuz ve deterjanları uzaklaştırmak için lamalar 5'er dakika 3 kez distile su ile yıkanmıştır. Lamalar yatay elektroforez ünitesine yerleştirildikten sonra 20 dakika TBE tamponunda (10 mM Tris, 0.08 M borik asit ve 0,5 M EDTA pH 8,2) bekletilmiştir. Süre sonunda 25 V'de 25 dakika yürütme işlemi gerçekleştirilmiştir. Elektroforez işleminin ardından lamalar distile su ile yıkanmış ve açık havada kurutulmuştur. Kurutulan lamalar Syber green boyası ile boyanmıştır. Lamalar

floresan mikroskopunda fotoğraflanmış ve görüntüler analiz edilmiştir. Analiz işlemi her lamdan 100 sperm kullanılarak gerçekleştirilmiştir [108].

8. İstatistiksel Analiz: Tüm veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel analizler, SigmaPlot v.10 programında çoklu karşılaştırma testleri olan Tukey ve Tek Yönlü Varyans Analizi ile gerçekleştirilmiştir. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

5. BULGULAR ve TARTIŞMALAR

5.1. Bağlı Organ Ağırlıklarının Değerlendirilmesi

Reprodüktif sistem organ ağırlıklarının belirlenmesi reprodüktif toksik etkilerin biyogöstergesi olarak kabul edilmektedir. Testis, epididimis, hipofiz bezi, seminal vezikül ve prostat ağırlıkları testiküler fonksiyonların değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Çalışmalarda organ ağırlıklarının organ ağırlığı/vücut ağırlığı şeklinde bağlı ağırlıklar halinde sunulması mutlak ağırlık şeklinde sunulmasına göre daha fazla kabul görmektedir [109]. Diğer taraftan toksisitenin biyogöstergeleri olarak kabul edilen testis ve epididimis ağırlıklarının değişmediği ancak reprodüktif toksik etkilerin meydana geldiği çalışmalar da bulunmaktadır [110-113]. Çalışma sonuçlarına göre, ZNS uygulanan gruplarda bağlı testis ve epididimis ağırlıkları açısından kontrol grubundan farksız değerler elde edilmiştir (Tablo 5.1.). Dolayısıyla çalışma sonuçlarına göre ZNS uygulaması ile elde edilen reprodüktif toksisite bulgularına bağlı organ ağırlıklarındaki değişmelerin eşlik etmediği ifade edilebilir.

Tablo 5.1. Gruplara ait bağlı testis/epididimis ağırlıkları

Deney grupları	Bağlı testis ağırlıkları (g/100 g vücut ağırlığı)	Bağlı epididimis ağırlıkları (g/100 g vücut ağırlığı)
K	0.43 ±0.016	0.18 ±0.006
ZNS-25	0.41 ±0.033	0.16 ±0.007
ZNS-50	0.39 ±0.006	0.17 ±0.005
ZNS-100	0.38 ±0.020	0.15 ±0.008

K: Kontrol grubu; ZNS-25: 25 mg/kg zonisamid uygulanan sıçanlar; ZNS-50: 50 mg/kg zonisamid uygulanan sıçanlar; ZNS-100: 100 mg/kg zonisamid uygulanan sıçanlar.

Sonuçlar ortalama ±standart hata olarak verilmiştir.

5.2. Sperm Parametrelerinin Değerlendirilmesi

DSÖ erkeklerde reprodüktif fonksiyonların değerlendirilmesinde semende sperm konsantrasyonu, motilitesi ve morfolojisinin belirlenmesinin gerekliliğini vurgulamaktadır. Semen analizinde oligozoospermi, astenospermi, tetraozoospermi ve bunların kombinasyonu şeklinde ortaya çıkan bozukluklar infertilitenin göstergesi olarak yorumlanmakla birlikte bu bozukluklar ksenobiyotikler ile indüklenen reprodüktif toksisitesinin göstergeleri olarak da kabul edilmektedir [96, 114]. Gruplara ait sperm konsantrasyonu, motilitesi ve morfolojisi Tablo 5.2’de sunulmuştur. Buna göre 50 mg/kg

ve 100 mg/kg ZNS uygulanan gruplarda sperm konsantrasyonlarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azaldığı belirlenmiştir. Bilindiği gibi, gaberjik transmisyondaki artış hipotalamustan GnRH salıverilmesini suprese etmektedir [115, 116]. GnRH salıverilmesinin azalması ön hipofizden LH salıverilmesine ve sekonder testosteron seviyelerinin azalmasına neden olarak erkelerde hem seksüel disfonksiyona hem de spermatogenezin inhibisyonuna neden olabilmektedir [117]. Dolayısıyla çalışma sonuçlarında gözlenen sperm konsantrasyonundaki azalmayı HHG aksındaki supresyon ile ilişkilendirmek mümkündür. Çalışma sonuçlarını destekler nitelikte Mallaki ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yüksek doz ZNS uygulanmasının sperm konsantrasyonunu azalttığı gösterilmiştir [26].

Sperm motilitesi açısından gruplar karşılaştırıldığında, ZNS uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre motilitenin azaldığı gözlenirse de bu azalma sadece 100 mg/kg ZNS uygulanan grupta istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmiştir. Sperm motilitesi de HHG aks ile regüle edilmektedir. Yine ZNS uygulaması ile gaberjik transmisyondaki artışa bağlı olarak GnRH salıverilmesinin baskılanması ile sperm motilitesini azaltmış olabilir. Ayrıca intraselüler sodyum ve kalsiyum seviyeleri de sperm motilitesi, canlılığı ve akrozom reaksiyonu için kritik öneme sahiptir [118-122]. ZNS'nin antiepileptik etki mekanizmasında voltaj bağımlı sodyum ve T-tipi kalsiyum kanal inhibisyonunun da rol aldığı göz önüne alındığında motilitenin azalmasını bu etki ile ilişkilendirmek mümkündür. Zaten antiepileptik ilaçların hücresel membranları stabilize ederek sperm motilitesini azalttığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [123, 124]. Ayrıca ksenobiyotik ile indüklenen oksidatif stresin de sperm motilitesi azaltarak sperm-oosit füzyon kapasitesini azalttığı ve infertiliteye neden olduğu gösterilmiştir [125, 126].

Genellikle motilitenin azaldığı patolojilere spermdeki morfolojik anomalilerin de eşlik ettiği bilinmektedir [127]. 50 mg/kg ve 100 mg/kg ZNS uygulanan gruplarda anormal morfolojili sperm yüzdesi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artmıştır. Ayrıca spermdeki morfolojik anomaliler oksidatif stresin bir sonucu olarak da meydana gelebilmektedir [120]. Çalışma sonuçlarına göre ZNS uygulaması ile meydana gelen testiküler oksidatif stres de sperm anomalilerinin bir nedeni olarak yorumlanabilir.

Tablo 5.2. Gruplara ait sperm parametreleri

Deney grupları	Sperm konsantrasyonları (10 ⁶ /ml)	Motil sperm (%)	Normal sperm morfoloji (%)
K	1.78 ±0.20	87.33 ±1.62	78.38 ±0.81
ZNS-25	1.23 ±0.08	85.92 ±2.41	74.34 ±0.97
ZNS-50	1.21 ±0.16 (*)	81.77 ±1.95	68.30 ±0.69 (*, +)
ZNS-100	0.87 ±0.09 (*)	78.13 ±2.6 (*)	73.13 ±0.45 (*)

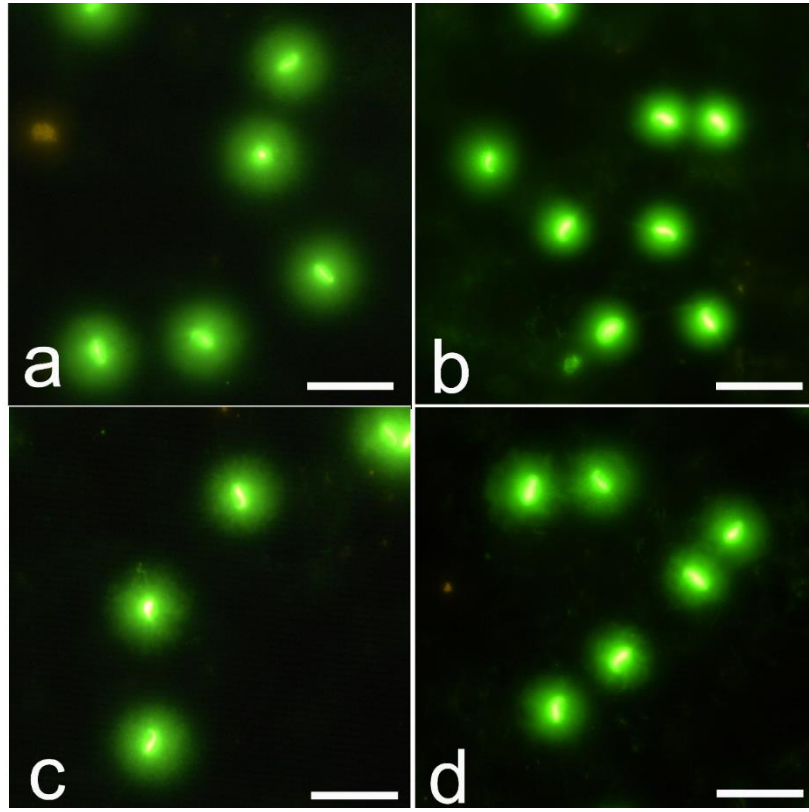
K: Kontrol grubu; ZNS-25: 25 mg/kg zonisamid uygulanan sıçanlar; ZNS-50: 50 mg/kg zonisamid uygulanan sıçanlar; ZNS-100: 100 mg/kg zonisamid uygulanan sıçanlar.

Sonuçlar ortalama ±standart hata olarak verilmiştir.

(*) Kontrolde farklı ($p \leq 0.05$); (+) ZNS-25'den farklı ($p \leq 0.05$).

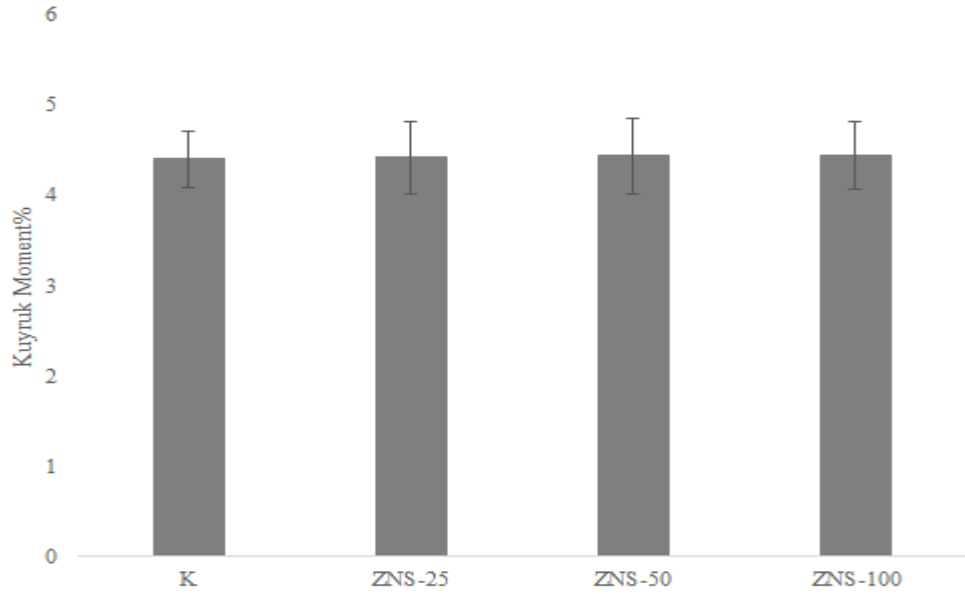
Reprodüktif toksisitenin bir göstergesi olarak sperm DNA hasarı teratojenik etkiler yanında infertiliteye de sebep olmaktadır [128]. Sperm DNA hasarının %30'dan fazla olduğu durumlarda, fertilizasyonun azaldığı ifade edilmektedir [129]. Spermdeki DNA hasarının belirlenmesi için kullanılan yöntemlerden biri olan Comet testi ile DNA'da tek ve çift iplikli kırıkların ölçülmesi mümkündür. Bu yöntemde DNA hasarının kantitatif olarak belirlenmesinde pek çok parametre kullanılmakla birlikte kuyruk uzunluğu, kuyruktaki DNA yüzdesi ve kuyruk momenti en çok kullanılan parametrelerdir [129, 130]. Gruplara ait sperm Comet testi fotoğrafları Şekil 5.1'de sunulmuştur. Comet testi sonuçlarına göre gruplar arasında % kuyruk momenti parametresi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmemiştir. Bu sonuçlara göre ZNS uygulamasının spermelerde DNA hasarını indüklediği söylenebilir. Gruplara ait % kuyruk momenti değerleri Şekil 5.2'de sunulmuştur. Sperm kromatin kondensasyon süresinin çok hassas olması, sperm hücrelerinde DNA tamir mekanizmalarının yetersiz olması, sperm membranının yüksek oranda doymamış yağ asidi içermesi ve spermatogenez süresince fazla miktarda reaktif oksijen türlerinin üretilmesi sperm DNA'sını özellikle oksidatif hasara duyarlı kılmaktadır. Ancak erkek reprodüktif sisteminde var olan hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidan savunma oksidatif hasara karşı bu sistemin tüm bileşenlerini korumaktadır [131]. Özellikle antioksidan savunma mekanizmaları ile donatılmış spermde oksidatif hasara karşı hem hücre membranı hem de DNA'sı korunmaktadır [132]. Ayrıca memeli sperminin oldukça organize, yoğunlaşmış yapısı spermin erkek ve dişi reprodüktif yolları boyunca taşınması sırasında paternal genomunun korunmasına imkân sağlamaktadır [132]. Memeli sperm DNA'sının oldukça

kondanse yapısı göz önüne alındığında çalışma gruplarında herhangi bir DNA hasarının gözlenmemesi bu kompakt yapının bir sonucu olabilir. Ayrıca sperm DNA hasarının oksidatif stresin geç sonucu olarak meydana geldiği de ifade edilmektedir [133]. Diğer taraftan ZNS maruziyet süresi spermatogenezin ilk aşamaları gibi bölünmenin ve farklılaşmanın yoğun olduğu, DNA'nın hasara daha açık olduğu dönemleri kapsamamaktadır. Dolayısıyla sıçanlarda tüm spermatogenezi kapsayan 70 günlük maruziyet periyodu sonrasında ZNS uygulaması ile sperm DNA hasarının meydana gelebileceği söylenebilir [134].



Şekil 5.1. Gruplara ait sperm Comet testi fotoğrafları

a: Kontrol grubuna ait comet testi fotoğrafı; b: ZNS-25 grubuna ait comet testi fotoğrafı; c: ZNS-50 grubuna ait comet testi fotoğrafı; d: ZNS-100 grubuna ait comet testi fotoğrafı. (Büyütme ölçeği: 20 μ m)



Şekil 5.2. Gruplara ait % kuyruk moment

K: Kontrol grubu; ZNS-25: 25 mg/kg zonisamid uygulanan sıçanlar; ZNS-50: 50 mg/kg zonisamid uygulanan sıçanlar; ZNS-100: 100 mg/kg zonisamid uygulanan sıçanlar.

5.3. Testis Dokusunun Histolojik Olarak İncelenmesi

Reproduktif sistemi oluşturan dokuların histolojik olarak incelenmesi reproduktif toksisite için önemli bir biyogösterge olarak kabul edilmektedir. Erkek reproduktif toksisite çalışmalarında testis, epididimis, prostat bezi, seminal vezikül ve hipofiz bezi histolojik olarak değerlendirilmektedir. Bu organların herhangi birinde tespit edilen dejeneratif bulgu toksisitenin varlığını düşündürmektedir [109].

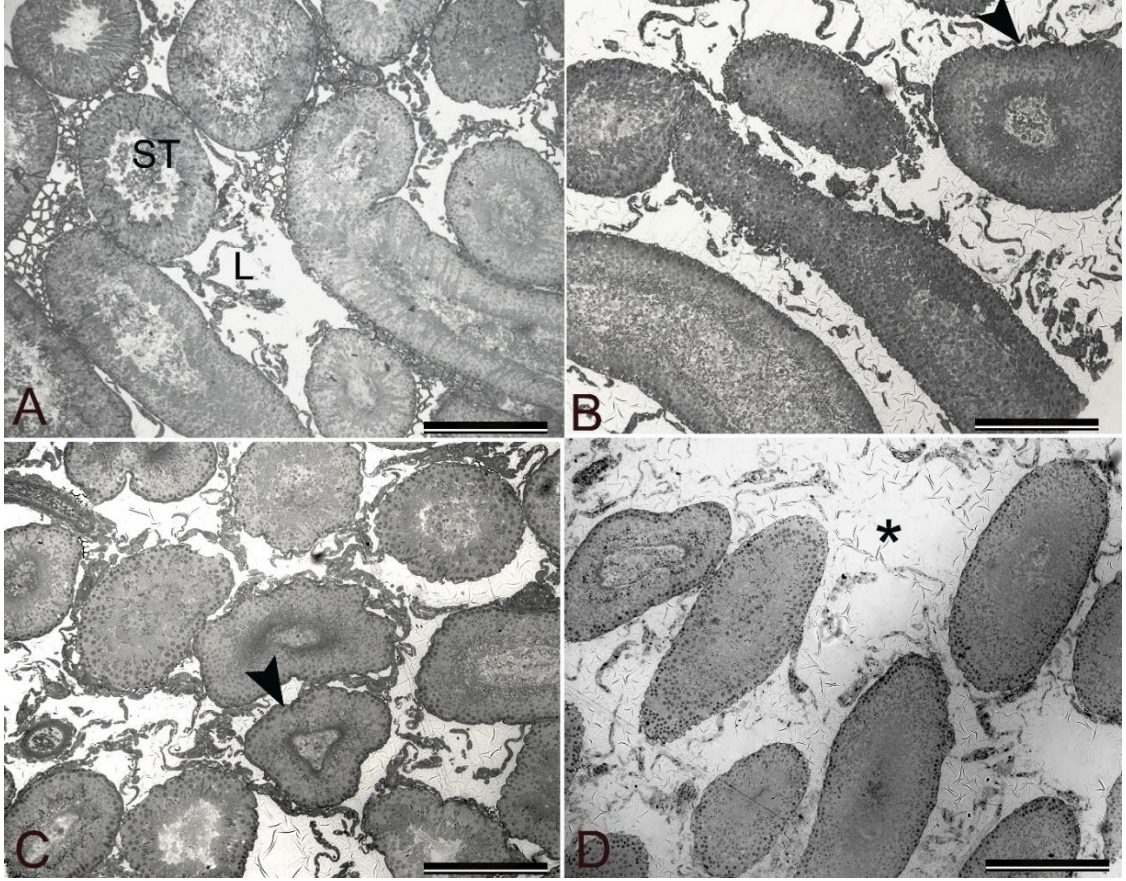
Çalışma sonuçlarına göre kontrol grubuna ait testis doku kesitlerinin histolojik analizleri, seminifer tübül yapılarının normal olduğunu göstermiştir. İnterstisyel alandaki Leydig hücrelerinin normal histolojik görünüme sahip olduğu ve düzenini koruduğu gözlenmiştir. Tübül içerisindeki germ hücrelerinin ve Sertoli hücrelerinin organizasyonunun normal olduğu tespit edilmiştir. Seminifer tübüllerde lümen içerisinde spermatozonlar izlenmiştir (Şekil 5.3-A ve Şekil 5.4-A).

ZNS-25 grubuna ait testis doku kesitlerinin histolojik analizlerinde, normal seminifer tübüllerle birlikte seminifer tübül sınırlarında hafif düzensizlik ve organizasyon bozuklukları ile seminifer tübüllerde hafif şekil bozuklukları izlenmiştir. Tübül içerisindeki spermatogenik serilerde hafif intraselüler vakuolizasyon ve Sertoli hücrelerinde küçük vakuolizasyonlar izlenmiştir (Şekil 5.3-B ve Şekil 5.4-B).

ZNS-50 grubuna ait testis doku kesitlerinin histolojik analizlerinde, seminifer tübül sınırlarında düzensizlik ve organizasyon bozuklukları ile seminifer tübüllerde şekil bozuklukları daha belirgin olarak izlenmiştir. Seminifer tübüllerin bazal membranlarında kalınlaşma izlenmiştir. Tübül içerisinde spermatogenik serilerde hafif şişme ve hafif intraselüler vakuolizasyon tespit edilmiştir (Şekil 5.3-C ve Şekil 5.4-C).

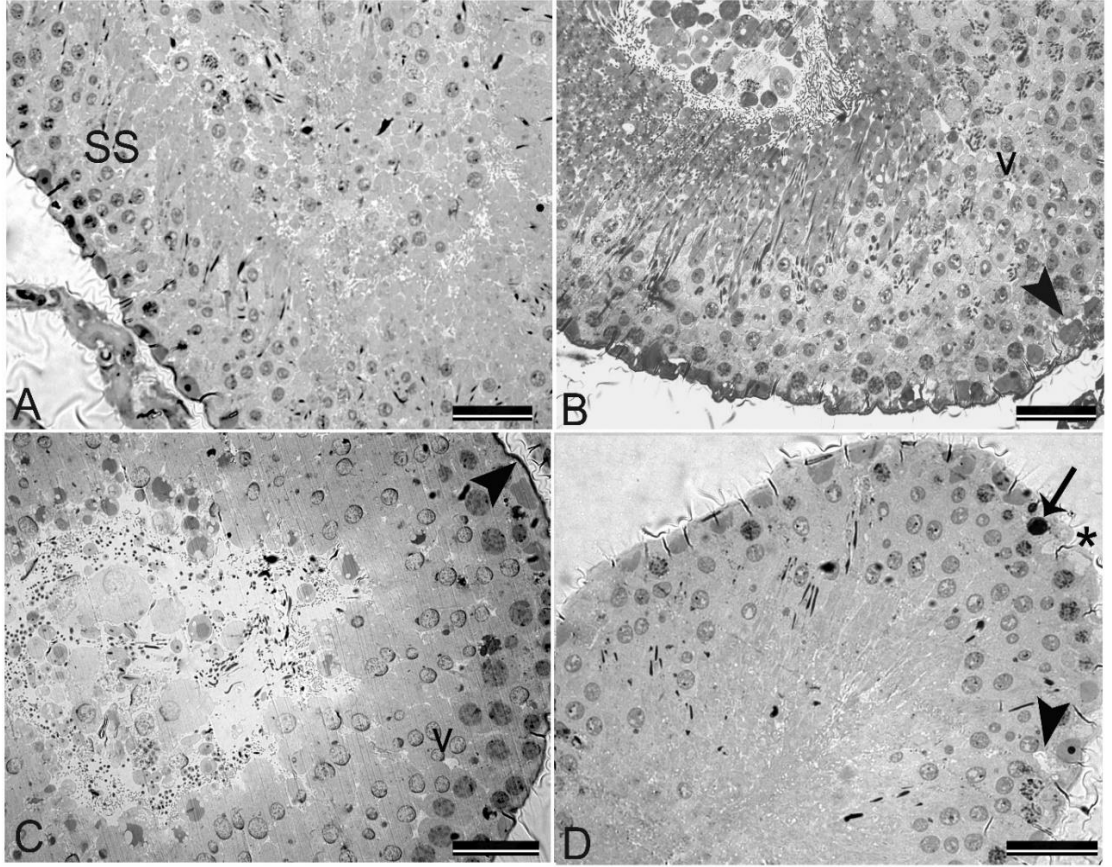
ZNS-100 grubuna ait testis doku kesitlerinin histolojik analizlerinde, seminifer tübül sınırlarında belirgin düzensizlik ve organizasyon bozuklukları ile seminifer tübüllerde şekil bozuklukları izlenmiştir. Seminifer tübüller arasındaki boşlukların arttığı dikkat çekmiştir. Seminifer tübül bazal membranında ayrışma gözlenmiştir. Tübül içerisindeki Sertoli hücrelerinde büyük vakuoller izlenmiştir (Şekil 5.3-D ve Şekil 5.4-D).

Testislerde süregelen oksidatif stres histopatolojik değişikliklere neden olabilmektedir [106, 135]. Testiküler dokudaki hücresel bileşenlerin oksidatif stres ile membran bütünlüğünün bozulmasına bağlı olarak testiküler dokuda atrofi meydana gelebilmektedir [136]. Doz bağımlı olarak dokularda gözlenen ilk patolojik bulgular özellikle yüksek doz ZNS uygulanan grupta belirgin olarak izlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre testiküler dokuda tespit edilen hafif yapısal değişimleri testis dokusunda ZNS ile indüklenen oksidatif stres ile ilişkilendirmek mümkündür.



Şekil 5.3. *Gruplara ait testis enine kesitleri*

A: Kontrol grubu: Normal görünümlü seminifer tübüller (ST) ve Leydig hücreleri. B: ZNS-25 grubu: Seminifer tübüllerin düzensiz organizasyonu (►). C: ZNS-50 grubu: Seminifer tübüllerin düzensiz organizasyonu (►). D: ZNS-100 grubu: Genişlemiş hücreler arası boşluklar (*). (Büyütme ölçeği: 200 μ m)



Şekil 5.4. Gruplara ait spermatogenik seri hücrelerinin yüksek büyütmeleri

A: Kontrol grubu: Tamamlanmış spermatogenez süreci (ss) ve normal seminifer tübül görünümü. B: ZNS 25 grubu: Spermatogenik serilerde hafif intraselüler vakuolizasyon (v) ve Sertoli hücrelerinde küçük vakuolizasyonlar (►). C: ZNS-50 grubu: bazal membranda kalınlaşma (►), spermatogenik serideki hücrelerde hafif şişme ve hafif intraselüler vakuolizasyon (v). D: ZNS-100 grubu: Sertoli hücrelerinde büyük vakuoller (►), nadiren gözlenen koyu çekirdekli atipik hücreler (→), bazı bölgelerde bazal membranın ayrılması (*). (Büyütme ölçeği: 20 µm.)

5.4. Serum Hormon Seviyelerinin Değerlendirilmesi

Serum hormon seviyelerinin belirlenmesi testiküler fonksiyonların değerlendirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Bilindiği gibi spermatogenezin endokrin kontrolü HHG aks ile gerçekleşmektedir [137]. HHG aksını değerlendirilmesi sperm üretimi ile ilgili önemli bilgiler sağlamaktadır. Özellikle sperm konsantrasyonunun azaldığı durumlarda serum FSH, LH ve testosteron seviyelerinin belirlenmesiyle patolojinin nedeni aydınlatılmaya çalışılmaktadır [95].

Gruplara ait serum hormon seviyeleri Tablo 5.3'te sunulmuştur. Buna göre ZNS uygulanan gruplarda serum FSH seviyeleri açısından kontrol grubundan farksız değerler elde edilmiştir. Diğer taraftan, 50 mg/kg ve 100 mg/kg ZNS uygulanan gruplarda serum LH seviyeleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır. Serum

testosteron seviyeleri gruplar arasında karşılaştırıldığında ise, 50 ve 100 mg/kg ZNS uygulanan gruplarda serum testosteron seviyeleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır. Reprodüksiyonun nöroendokrin kontrolünden GnRH nöronlarının sorumlu olduğu bilinmektedir [116]. Hipotalamustan GnRH salıverilmesinin GABA tarafından suprese edildiği ifade edilmektedir [116, 138]. Ayrıca gaberjik transmisyonun indüksiyonu ile hipogonadotropik hipogonadizm görüldüğü çalışmalarda gösterilmiştir [139, 140]. ZNS'nin farmakolojik etki mekanizmasında sodyum ve kalsiyum kanallarının inhibisyonuna ek olarak hipokampusta glutamerjik transmisyonu regüle ederek gaberjik transmisyonu güçlendirdiği ifade edilmektedir [75]. Dolayısıyla sıçanlarda LH seviyesindeki azalmayı ve sekonder olarak meydana gelen testosteron seviyesindeki azalmayı artan gaberjik transmisyona bağlı GnRH salıverilmesindeki supresyonla ilişkilendirmek mümkündür. Ayrıca T ve L tipi kalsiyum kanal blokörlerinin spermatogenezi inhibe ettiği belirtilmektedir. Kalsiyum kanal inhibisyonunun steroid hormon sentezini kontrol eden proteinlerin gen ekspresyonunu azalttığı vurgulanmaktadır [141]. ZNS ile indüklenen kalsiyum kanal inhibisyonu da testosteron seviyesindeki azalmanın nedeni olabilir. Çalışma sonuçlarını destekler nitelikte Khalil ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da ZNS uygulanmasını takiben sıçanlarda serum testosteron ve LH seviyelerinin azaldığı gösterilmiştir [25].

Tablo 5.3. Gruplara ait serum hormon seviyeleri

Deney grupları	FSH (IU/L)	LH (mIU/ml)	Testosteron (pg/ml)
K	23.26 ±0.54	18.05 ±0.3	1088.65 ±41.81
ZNS-25	22.37 ±0.29	17.27 ±0.09	997.20 ±31.58
ZNS-50	21.64 ±0.38	16.24 ±0.21 (*)	921.60 ±18.11 (*)
ZNS-100	21.45 ±0.67	15.71 ±0.41 (*, +)	946.75 ±28.80 (*)

K: Kontrol grubu; ZNS-25: 25 mg/kg zonisamid uygulanan sıçanlar; ZNS-50: 50 mg/kg zonisamid uygulanan sıçanlar; ZNS-100: 100 mg/kg zonisamid uygulanan sıçanlar.

Sonuçlar ortalama ±standart hata olarak verilmiştir

(*) Kontrolde farklı ($p \leq 0.05$); (+) ZNS-25'den farklı ($p \leq 0.05$).

5.5. Oksidatif Stres Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengenin hücrel hasara neden olan oksidanlar lehine bozulması olarak ifade edilmektedir [142]. Oksidatif stresin ilaçlar, sigara dumanı, radyasyon, virüsler gibi eksojen ajan maruziyetiyle ve iyon homeostazı bozuklukları ve iskemi gibi endojen durumların varlığında arttığı bilinmektedir [143]. Hücrelerde lipid, protein, DNA ve RNA gibi biyomoleküllere zarar veren oksidatif strese karşı hücrel SOD, KAT ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi enzimatik antioksidanlar ve GSH gibi enzimatik olmayan antioksidanlar savunma mekanizması oluşturmaktadır [142]. Biyolojik örneklerde SOD, KAT, GPx ve glutatyon gibi antioksidan seviyelerinin ölçülmesiyle birlikte lipid peroksidasyonunun yıkım ürünü olan MDA seviyesinin ölçülmesi de oksidatif durumu yansıtmaktadır [144]. Yapılan çalışmada gruplara ait testis dokusu SOD, KAT, GSH ve MDA değerleri Tablo 5.4'te sunulmuştur. Buna göre ZNS uygulanan gruplarda testis SOD aktiviteleri açısından kontrol grubundan farksız değerler elde edilmiştir. Benzer şekilde, testis GSH seviyeleri açısından da gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir. 50 mg/kg ve 100 mg/kg ZNS uygulanan gruplarda testis KAT aktiviteleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır. 50 mg/kg ve 100 mg/kg ZNS uygulanan gruplarda testis MDA seviyeleri kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak anlamlı artmıştır. Bu sonuçlara göre, yüksek doz ZNS uygulanan gruplarda testiküler dokuda oksidatif stresin indüklendiği söylenebilir. Testiküler yapıda artan oksidatif stresin, sperm hücre patolojilerine neden olduğu ve spermatogenezi inhibe ettiği bilinmektedir [145]. Dolayısıyla çalışma sonuçlarına göre, yüksek doz ZNS uygulanan gruplardaki azalmış sperm motilitesi ve normal sperm morfolojisini, testiküler yapıdaki dejeneratif bulguları ZNS ile testiküler dokuda indüklenmiş oksidatif stresle ilişkilendirmek mümkündür. Ayrıca azalmış testosteron seviyelerine bağlı olarak testiküler dokuda antioksidan enzim aktivitelerinin azalabileceği ve buna bağlı olarak dokuda oksidatif stresin indüklenebileceği de vurgulanmaktadır [146, 147]. Dolayısıyla bu gruplarda serum testosteron seviyelerinin azalması testiküler dokuda oksidatif stresin gelişmesine katkı sağlamış olabilir.

Tablo 5.4. Gruplara ait SOD, KAT, GSH ve MDA seviyeleri

Deney grupları	SOD (ng/ml)	KAT (ng/m)	GSH (μM)	MDA (mcg/ml)
K	34.65 ±1.00	111.83 ±6.56	7.91 ±0.27	7.94 ±0.44
ZNS-25	33.73 ±2.15	95.66 ±5.37	7.97 ±0.33	8,78 ±0.39
ZNS-50	31.63 ±0.85	81.76 ±3.23 (*)	8.20 ±0.20	10.14 ±0.48 (*)
ZNS-100	31.01 ±1.25	75.08 ±4.67 (*, +)	8.38 ±0.20	10.24 ±0.45 (*, +)

K: Kontrol grubu; ZNS-25: 25 mg/kg zonisamid uygulanan grup; ZNS-50: 50 mg/kg zonisamid uygulanan grup; ZNS-100: 100 mg/kg zonisamid uygulanan grup; Sonuçlar ortalama ±standart hata olarak verilmiştir, (*) Kontrolde farklı ($p \leq 0.05$); (+) ZNS-25'den farklı ($p \leq 0.05$).

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Reprodüktif sağlık bireylerin yaşam kalitesinin önemli bir bileşeni olarak kabul edilmektedir. Epilepsi gibi nöroendokrin değişikliklerin eşlik ettiği patolojilerin, hastalarda reprodüktif fonksiyonları etkilediği bilinmektedir. Buna ek olarak santral sinir sistemi ile etkileşerek bu hastalıkların tedavisinde kullanılan ilaçların da reprodüktif fonksiyonları etkilemesi kaçınılmaz bir sonuçtur. Aynı zamanda ilaçlar ile indüklenen reprodüktif toksik etkilerin, tedavide hasta uyuncunu etkileyen bir parametre olduğu kabul edilmektedir. Dolayısıyla reprodüktif yaşlarda meydana gelen ve tedavisi genellikle yaşam boyu devam eden epilepsi hastalığının tedavisinde kullanılan ilaçların reprodüktif toksik etkilerinin belirlenmesinin önemli olduğu ifade edilebilir. Buradan hareketle, sıçanlarda salt olarak ZNS ile ilişkili reprodüktif toksik etkilerin değerlendirildiği bu çalışma sonuçlarına göre doz bağımlı olarak ZNS uygulamasının sperm konsantrasyonunu, motilitesini ve normal morfolojisini azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca ZNS uygulanan grupta testiküler dokuda hücrelerde vakuoller, hücre membran bütünlüğünde değişimler, hücresel şekil bozuklukları gibi dejenerasyonun ilk bulguları izlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre ZNS uygulamasıyla doz bağımlı olarak reprodüktif düzeyde tespit edilen bu patolojiye serum LH ve testosteron seviyelerindeki azalmaların ve testiküler dokuda indüklenen oksidatif stresin katkı sağladığı belirlenmiştir. İn vivo/in vitro deneysel çalışmalarda toksik etkiler açısından faydalı bilgiler sağlansa da bu sonuçların insan verileri ile desteklenmesi gerekmektedir. Epilepsi hastalarında ZNS tedavisine başlamadan önce ve ZNS tedavisini takip eden süreçte sperm parametrelerinin belirlenmesi ile ajanın sperm kalitesi üzerine etkilerinin aydınlatılması önerilebilir. Ayrıca bu süreçlerde hastaların hormon seviyeleri de belirlenerek hastalarda hormonal regülasyon değerlendirilmelidir. Sonuçlar doğrultusunda ZNS tedavisi uygulanan ve çocuk sahibi olmak isteyen epilepsili erkek hastalar, hastalık-tedavi-reprodüksiyon konusunda hekimlerce bilgilendirilmelidir. Gerekli görüldüğü durumlarda hastalar alternatif tedavilere veya çocuk sahibi olma konusunda alternatif yöntemlere yönlendirilebilir.

KAYNAKÇA

- [1] Alshammari, T.M. (2016). Drug safety: The concept, inception and its importance in patients' health. *Saudi Pharm. J.*, 24 (4), 405-412.
- [2] Kille, J.W. (2013). Regulatory Toxicology, A. S. Faqi (Ed.), in *A Comprehensive Guide to Toxicology in Preclinical Drug Development* (s. 677-711). San Diego: Academic Press.
- [3] Kumar, N. ve Singh, A.K. (2015). Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature. *J. Hum. Reprod. Sci.*, 8 (4), 191-196.
- [4] Massaad, C., Entezami, F., Massade, L., Benahmed, M., Olivennes, F., Barouki, R., Hamamah, S. (2002). How can chemical compounds alter human fertility? *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.*, 100 (2), 127-137.
- [5] Woldemeskel, M. (2017). Toxicologic Pathology of the Reproductive System, R. C. Gupta (Ed.), in *Reproductive and Developmental Toxicology* (s. 1209-1241). San Diego: Academic Press.
- [6] Blumenfeld, H. (2012). Impaired consciousness in epilepsy. *Lancet. Neurol.*, 11 (9), 814-826.
- [7] Wahab, A. (2010). Difficulties in Treatment and Management of Epilepsy and Challenges in New Drug Development. *Pharmaceuticals (Basel)*, 3 (7), 2090-2110.
- [8] Sirven, J.I. (2015). Epilepsy: A Spectrum Disorder. *Cold. Spring. Harb. Perspect. Med.*, 5 (9), a022848.
- [9] Italiano, D., Capuano, A., Alibrandi, A., Ferrara, R., Cannata, A., Trifiro, G., Sultana, J., Ferrajolo, C., Tari, M., Tari, D.U., Perrotta, M., Pagliaro, C., Rafaniello, C., Spina, E., Arcoraci, V. (2015). Indications of newer and older anti-epileptic drug use: findings from a southern Italian general practice setting from 2005-2011. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 79 (6), 1010-1019.
- [10] Lyseng-Williamson, K.A. (2011). Levetiracetam: a review of its use in epilepsy. *Drugs*, 71 (4), 489-514.
- [11] Penovich, P.E. (2000). The effects of epilepsy and its treatment on sexual and reproductive function. *Epilepsia*, 41 (2), 53-61.
- [12] Atif, M., Sarwar, M.R. ve Scahill, S. (2016). The relationship between epilepsy and sexual dysfunction: a review of the literature. *Springerplus*, 5 (1), 2070.

- [13] Souza, E.A.P.D., Keiralla, D.M.B., Silveira, D.C., Guerreiro, C.A.M. (2000). Sexual dysfunction in epilepsy: identifying the psychological variables. *Arq. Neuro-Psiquiat.*, 58 (2A), 214-220.
- [14] Luef, G.J. (2008). Epilepsy and sexuality. *Seizure*, 17 (2), 127-130.
- [15] Herzog, A.G., Seibel, M.M., Schomer, D.L., Vaitukaitis, J.L., Geschwind, N. (1986). Reproductive endocrine disorders in men with partial seizures of temporal lobe origin. *Arch. Neurol.*, 43 (4), 347-350.
- [16] Tauboll, E., Roste, L.S., Svalheim, S., Gjerstad, L. (2008). Disorders of reproduction in epilepsy--what can we learn from animal studies? *Seizure*, 17 (2), 120-126.
- [17] Blume, W.T. (2009). Low fertility in men with epilepsy: unhappy, uninterested, unable. *Epilepsy Curr.*, 9 (3), 69-70.
- [18] Gustavsen, M.W. (2008): *Reproductive endocrine side effects of antiepileptic drugs*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Oslo: University of Oslo, Institute of Clinical Medicine.
- [19] Mares, P. (2010). Zonisamide suppresses the tonic phase but not the clonic phase of generalized seizures in developing rats. *Epilepsy Res.*, 92 (2-3), 244-248.
- [20] Wallander, K.M., Ohman, I. ve Dahlin, M. (2014). Zonisamide: pharmacokinetics, efficacy, and adverse events in children with epilepsy. *Neuropediatrics*, 45 (6), 362-370.
- [21] Arawaka, S., Fukushima, S., Sato, H., Sasaki, A., Koga, K., Koyama, S., Kato, T. (2014). Zonisamide attenuates alpha-synuclein neurotoxicity by an aggregation-independent mechanism in a rat model of familial Parkinson's disease. *PLoS One*, 9 (2), e89076.
- [22] Calabro, R.S., Italiano, D., Bramanti, P., Ferlazzo, E. (2011). Zonisamide-related erectile dysfunction. *J. Sex. Med.*, 8 (4), 1256-1257.
- [23] Maschio, M., Saveriano, F., Dinapoli, L., Jandolo, B. (2011). Reversible erectile dysfunction in a patient with brain tumor-related epilepsy in therapy with zonisamide in add-on. *J. Sex. Med.*, 8 (12), 3515-3517.
- [24] (2006). *Physicians' desk reference 2006*. Montvale: Thomson PDR.
- [25] Khalil, W.K., Abdu, F. (2015). Protective effect of melatonin against zonisamide-induced reproductive disorders in male rats. *Arch. Med. Sci.*, 11 (3), 660-669.

- [26] Mallaki, M., Shariati, M. ve Sepehrara, L. (2014). The Effect of Zonisamide on Sex Hormones Level and Testis Histological Changes in Adult Male Rat. *Armaghane Danesh*, 18 (10), 805-815.
- [27] Guerreiro, C.A. (2016). Epilepsy: Is there hope? *Indian J. Med. Res.*, 144 (5), 657-660.
- [28] Berg, A.T. ve Millichap, J.J. (2013). The 2010 revised classification of seizures and epilepsy. *Continuum*, 19 (3), 571-597.
- [29] Begley, C.E. ve Durgin, T.L. (2015). The direct cost of epilepsy in the United States: A systematic review of estimates. *Epilepsia*, 56 (9), 1376-1387.
- [30] Ngugi, A.K., Kariuki, S.M., Bottomley, C., Kleinschmidt, I., Sander, J.W., Newton, C.R. (2011). Incidence of epilepsy: a systematic review and meta-analysis. *Neurology*, 77 (10), 1005-1012.
- [31] Katchanov, J. ve Birbeck, G.L. (2012). Epilepsy care guidelines for low- and middle- income countries: From WHO mental health GAP to national programs. *BMC. Med.*, 10, 107.
- [32] Granbichler, C.A., Zimmermann, G., Oberaigner, W., Kuchukhidze, G., Ndayisaba, J.P., Taylor, A., Luef, G., Bathke, A.C., Trinka, E. (2017). Potential years lost and life expectancy in adults with newly diagnosed epilepsy. *Epilepsia*, 58 (11), 1939-1945.
- [33] Stafstrom, C.E. ve Carmant, L. (2015). Seizures and epilepsy: an overview for neuroscientists. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.*, 5 (6)
- [34] Goldenberg, M.M. (2010). Overview of Drugs Used For Epilepsy and Seizures: Etiology, Diagnosis, and Treatment. *P. T.*, 35 (7), 392-415.
- [35] Loscher, W. (1998). New visions in the pharmacology of anticonvulsion. *Eur. J. Pharmacol.*, 342 (1), 1-13.
- [36] Scharfman, H.E. (2007). The neurobiology of epilepsy. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.*, 7 (4), 348-354.
- [37] Bannai, H., Niwa, F., Sherwood, M.W., Shrivastava, A.N., Arizono, M., Miyamoto, A., Sugiura, K., Levi, S., Triller, A., Mikoshiba, K. (2015). Bidirectional Control of Synaptic GABAAR Clustering by Glutamate and Calcium. *Cell Rep.*, 13 (12), 2768-2780.
- [38] Mazarati, A. (2009). Neuropeptides: Epilepsy, L. R. Squire (Ed.), in *Encyclopedia of Neuroscience* (s. 907-914). Oxford: Academic Press.

- [39] Moldrich, R.X., Chapman, A.G., De Sarro, G., Meldrumb, B.S. (2003). Glutamate metabotropic receptors as targets for drug therapy in epilepsy. *Eur. J. Pharmacol.*, 476 (1-2), 3-16.
- [40] Mantegazza, M., Curia, G., Biagini, G., Ragsdale, D.S., Avoli, M. (2010). Voltage-gated sodium channels as therapeutic targets in epilepsy and other neurological disorders. *Lancet Neurol.*, 9 (4), 413-424.
- [41] Nelson, M.T., Todorovic, S.M. ve Perez-Reyes, E. (2006). The role of T-type calcium channels in epilepsy and pain. *Curr. Pharm. Des.*, 12 (18), 2189-2197.
- [42] Uysal, A.I. ve Gokcil, Z. (2013). Clinical spectrum, seizure outcomes, correlation of neuroradiology and neuropathology in surgically-treated epileptic patients. *Epilepsi*, 260 (2), 195.
- [43] Neal, E.G., Chaffe, H., Schwartz, R.H., Lawson, M.S., Edwards, N., Fitzsimmons, G., Whitney, A., Cross, J.H. (2008). The ketogenic diet for the treatment of childhood epilepsy: a randomised controlled trial. *Lancet Neurol.*, 7 (6), 500-506.
- [44] Englot, D.J. ve Chang, E.F. (2014). Rates and predictors of seizure freedom in resective epilepsy surgery: an update. *Neurosurg. Rev.*, 37 (3), 389-404.
- [45] Chang, E.F., Englot, D.J. ve Vadera, S. (2015). Minimally invasive surgical approaches for temporal lobe epilepsy. *Epilepsy Behav.*, 47, 24-33.
- [46] Guerrini, R., Zaccara, G., la Marca, G., Rosati, A. (2012). Safety and tolerability of antiepileptic drug treatment in children with epilepsy. *Drug Saf.*, 35 (7), 519-533.
- [47] Perucca, E. (1996). The new generation of antiepileptic drugs: advantages and disadvantages. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 42 (5), 531-543.
- [48] Perucca, E. (1997). Pharmacologic Advantages of Antiepileptic Drug Monotherapy. *Epilepsia*, 38 (5), S6-S8.
- [49] Schmidt, D. ve Gram, L. (1995). Monotherapy Versus Polytherapy in Epilepsy - a Reappraisal. *Cns Drugs*, 3 (3), 194-208.
- [50] Reynolds, E.H. ve Shorvon, S.D. (1981). Monotherapy or polytherapy for epilepsy? *Epilepsia*, 22 (1), 1-10.
- [51] Anderson, M., Egunsola, O., Cherrill, J., Millward, C., Fakis, A., Choonara, I. (2015). A prospective study of adverse drug reactions to antiepileptic drugs in children. *BMJ Open*, 5 (6), e008298.

- [52] Besag, F.M., Berry, D.J., Pool, F., Newbery, J.E., Subel, B. (1998). Carbamazepine toxicity with lamotrigine: pharmacokinetic or pharmacodynamic interaction? *Epilepsia*, 39 (2), 183-187.
- [53] Perucca, E. (2005). An introduction to antiepileptic drugs. *Epilepsia*, 46 (4), 31-37.
- [54] Czapinski, P., Blaszczyk, B. ve Czuczwar, S.J. (2005). Mechanisms of action of antiepileptic drugs. *Curr. Top. Med. Chem.*, 5 (1), 3-14.
- [55] White, H.S. (1997). Clinical significance of animal seizure models and mechanism of action studies of potential antiepileptic drugs. *Epilepsia*, 38 (1), 9-17.
- [56] Biton, V. (2007). Clinical pharmacology and mechanism of action of zonisamide. *Clin. Neuropharmacol.*, 30 (4), 230-240.
- [57] Macdonald, R.L. (1989). Antiepileptic drug actions. *Epilepsia*, 30 (1), 19-28.
- [58] Perucca, E. ve Meador, K.J. (2005). Adverse effects of antiepileptic drugs. *Acta. Neurol. Scand. Suppl.*, 181, 30-35.
- [59] Isojarvi, J.I., Lofgren, E., Juntunen, K.S., Pakarinen, A.J., Paivansalo, M., Rautakorpi, I., Tuomivaara, L. (2004). Effect of epilepsy and antiepileptic drugs on male reproductive health. *Neurology*, 62 (2), 247-253.
- [60] Isojarvi, J.I., Repo, M., Pakarinen, A.J., Lukkarinen, O., Myllyla, V.V. (1995). Carbamazepine, phenytoin, sex hormones, and sexual function in men with epilepsy. *Epilepsia*, 36 (4), 366-370.
- [61] Walker, R.M., Smith, G.S., Barsoum, N.J., Macallum, G.E. (1990). Preclinical toxicology of the anticonvulsant calcium valproate. *Toxicology*, 63 (2), 137-155.
- [62] Isojarvi, J.I., Laatikainen, T.J., Pakarinen, A.J., Juntunen, K.T., Myllyla, V.V. (1993). Polycystic ovaries and hyperandrogenism in women taking valproate for epilepsy. *N. Engl. J. Med.*, 329 (19), 1383-1388.
- [63] Macphee, G.J., Larkin, J.G., Butler, E., Beastall, G.H., Brodie, M.J. (1988). Circulating hormones and pituitary responsiveness in young epileptic men receiving long-term antiepileptic medication. *Epilepsia*, 29 (4), 468-475.
- [64] Hayashi, T., Miyata, A. ve Yamada, T. (2008). The impact of commonly prescribed drugs on male fertility. *Hum. Fertil. (Camb.)*, 11 (3), 191-196.

- [65] Brodie, M.J., Mintzer, S., Pack, A.M., Gidal, B.E., Vecht, C.J., Schmidt, D. (2013). Enzyme induction with antiepileptic drugs: cause for concern? *Epilepsia*, 54 (1), 11-27.
- [66] Abou-Khalil, B.W. (2009). The far-reaching influence of hepatic enzyme-inducing antiepileptic drugs. *Epilepsy Curr.*, 9 (6), 158-159.
- [67] Perucca, E. (2006). Clinically relevant drug interactions with antiepileptic drugs. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 61 (3), 246-255.
- [68] Johannessen, S.I. ve Landmark, C.J. (2010). Antiepileptic drug interactions - principles and clinical implications. *Curr. Neuropharmacol.*, 8 (3), 254-267.
- [69] Catarino, C.B., Bartolini, E., Bell, G.S., Yuen, A.W., Duncan, J.S., Sander, J.W. (2011). The long-term retention of zonisamide in a large cohort of people with epilepsy at a tertiary referral centre. *Epilepsy Res.*, 96 (1-2), 39-44.
- [70] Sobieszek, G., Borowicz, K.K., Kimber-Trojnar, Z., Malek, R., Piskorska, B., Czuczwar, S.J. (2003). Zonisamide: a new antiepileptic drug. *Pol. J. Pharmacol.*, 55, 683-689.
- [71] Leppik, I.E. (2004). Zonisamide: chemistry, mechanism of action, and pharmacokinetics. *Seizure*, 13 (1), 5-9.
- [72] Mimaki, T. (1998). Clinical pharmacology and therapeutic drug monitoring of zonisamide. *Ther. Drug. Monit.*, 20 (6), 593-597.
- [73] Peters, D.H. ve Sorkin, E.M. (1993). Zonisamide. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in epilepsy. *Drugs*, 45 (5), 760-787.
- [74] White, J.R., Walczak, T.S., Marino, S.E., Beniak, T.E., Leppik, I.E., Birnbaum, A.K. (2010). Zonisamide discontinuation due to psychiatric and cognitive adverse events: a case-control study. *Neurology*, 75 (6), 513-518.
- [75] Drake, M.E., Greathouse, N.I., Renner, J.B., Armentbright, A.D. (2004). Open-label zonisamide for refractory migraine. *Clin. Neuropharmacol.*, 27 (6), 278-280.
- [76] Glauser, T.A. ve Pellock, J.M. (2002). Zonisamide in pediatric epilepsy: review of the Japanese experience. *J. Child. Neurol.*, 17 (2), 87-96.
- [77] Frampton, J.E. ve Scott, L.J. (2005). Zonisamide: a review of its use in the management of partial seizures in epilepsy. *CNS Drugs*, 19 (4), 347-367.

- [78] Raman, S., Ranganathan, L.N. ve Ramaratnam, S. (2011). Zonisamide–An Overview, in *Epilepsy in Children-Clinical and Social Aspects* (s. 93-105). InTech.
- [79] Gupta, R.C. (2011). *Reproductive and developmental toxicology*. San Diego:Academic Press.
- [80] Saladin, K.S. (2003). *Anatomy and Physiology: The Unity of Form and Function*. New York: McGraw-Hill.
- [81] Senger, P.L. (2005). *Pathways to Pregnancy and Parturition*. 2 ed. United States of America: Cadmus Professional Communication.
- [82] Sutovsky, P., Moreno, R., Ramalho-Santos, J., Dominko, T., Thompson, W.E., Schatten, G. (2001). A putative, ubiquitin-dependent mechanism for the recognition and elimination of defective spermatozoa in the mammalian epididymis. *J. Cell. Sci.*, 114 (9), 1665-1675.
- [83] Haschek, W.M., Rousseaux, C.G. ve Wallig, M.A. (2010). Male Reproductive System, in *Fundamentals of Toxicologic Pathology* (s. 553-597). San Diego: Academic Press.
- [84] Ünal, M.S., Özer, M.C., Hacıoğlu Sönmez, F., Bayrak, G., Oruç Demirbağ, H. (2017). Seminal sıvının fertilizasyondaki rolü. *Androloji Bülteni*, 19 (4), 138-143.
- [85] Marieb, E.N. ve Hoehn, K.N. (2013). The Reproductive System. in *Human Anatomy & Physiology* (s. 1018-1035). New York: Pearson Education.
- [86] Jenkins, G., Tortora, G.J. ve Kemnitz, C.P. (2013). *Anatomy and Physiology: From Science to Life*. 3 International Student Version ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc.
- [87] Evans, T.J. (2012). Reproductive toxicity and endocrine disruption, R. C. Gupta (Ed.), in *Veterinary Toxicology* (s. 278-318). Boston: Academic Press.
- [88] Tisserand, R. ve Young, R. (2014). The reproductive system, R. Tisserand and R. Young (Eds.), in *Essential Oil Safety* (s. 147-163). St. Louis: Churchill Livingstone.
- [89] Wangikar, P., Ahmed, T. ve Vangala, S. (2011). Toxicologic pathology of the reproductive system, R. C. Gupta (Ed.), in *Reproductive and Developmental Toxicology* (s. 1003-1026). San Diego: Academic Press.

- [90] Zegers-Hochschild, F., Adamson, G.D., de Mouzon, J., Ishihara, O., Mansour, R., Nygren, K., Sullivan, E., Vanderpoel, S., International Committee for Monitoring Assisted Reproductive, T., World Health, O. (2009). International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, 2009. *Fertil. Steril.*, 92 (5), 1520-1524.
- [91] Mosher, W.D. (1988). Fecundity and infertility in the United States. *Am. J. Public Health*, 78 (2), 181-182.
- [92] Agarwal, A., Mulgund, A., Hamada, A., Chyatte, M.R. (2015). A unique view on male infertility around the globe. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 13, 37.
- [93] Brinsden, P.R. (2005). *A textbook of in vitro fertilization and assisted reproduction: the Bourn Hall guide to clinical and laboratory practice*. Oxford: CRC Press.
- [94] Nudell, D.M., Monoski, M.M. ve Lipshultz, L.I. (2002). Common medications and drugs: how they affect male fertility. *Urol. Clin. N. Am.*, 29 (4), 965.
- [95] Karavolos, S., Stewart, J., Evbuomwan, I., McEleny, K., Aird, I. (2013). Assessment of the infertile male. *The Obstetrician & Gynaecologist*, 15 (1), 1-9.
- [96] WHO. (2010). *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen*. İsveç: WHO Press, 58-63.
- [97] Hord, A.H., Denson, D.D., Chalfoun, A.G., Azevedo, M.I. (2003). The effect of systemic zonisamide (Zonegran) on thermal hyperalgesia and mechanical allodynia in rats with an experimental mononeuropathy. *Anesth. Analg.*, 96 (6), 1700-1706.
- [98] Kitano, Y., Komiyama, C., Makino, M., Takasuna, K., Satoh, H., Aoki, T., Kinoshita, M., Takazawa, A., Yamauchi, T., Sakurada, S. (2005). Anticonvulsant and neuroprotective effects of the novel nootropic agent nefiracetam on kainic acid-induced seizures in rats. *Brain Res.*, 1057 (1-2), 168-176.
- [99] FDA. (2005). *Guidance for industry: estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers*. Rockville: US Food and Drug Administration.

- [100] OECD. (2008). *Test No. 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents*. Paris: OECD Publishing.
- [101] Foran, C.M., Weston, J., Slattery, M., Brooks, B.W., Huggett, D.B. (2004). Reproductive assessment of Japanese medaka (*Oryzias latipes*) following a four-week fluoxetine (SSRI) exposure. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 46 (4), 511-517.
- [102] Moilanen, L.H., Bagley, B.D., Hakes, D.C., Hope, E.F., Reynolds, J.E., van Otterdijk, F. (2015). A Combined 28-Day Oral Toxicity Study of HFPO-Amidol (CASRN 75888-49-2) With Reproductive/Developmental Toxicity Screening Test in Wistar Han Rats. *Int. J. Toxicol.*, 34 (6), 514-533.
- [103] Takeuchi, K., Takayama, S., Hashimoto, E., Itayama, M., Amagase, K., Izuhara, C. (2014). Effect of rebamipide on gastric bleeding and ulcerogenic responses induced by aspirin plus clopidogrel under stimulation of acid secretion in rats. *J. Gastroenterol. Hepatol.*, 29 (4), 37-46.
- [104] Bancroft, J.D. ve Gamble, M. (2008). *Theory and practice of histological techniques*. San Diego: Elsevier Health Sciences.
- [105] Omolaoye, T.S., Skosana, B.T. ve du Plessis, S.S. (2018). Diabetes mellitus-induction: Effect of different streptozotocin doses on male reproductive parameters. *Acta. Histochem.*, 120 (2), 103-109.
- [106] Baysal, M., Ilgin, S., Kilic, G., Kilic, V., Ucarcan, S., Atli, O. (2017). Reproductive toxicity after levetiracetam administration in male rats: Evidence for role of hormonal status and oxidative stress. *PLoS One*, 12 (4), e0175990.
- [107] van der Horst, G., Maree, L., Kotze, S.H., O'Riain, M.J. (2011). Sperm structure and motility in the eusocial naked mole-rat, *Heterocephalus glaber*: a case of degenerative orthogenesis in the absence of sperm competition? *BMC Evol. Biol.*, 11 (1), 351.
- [108] Trivedi, P.P., Kushwaha, S., Tripathi, D.N., Jena, G.B. (2010). Evaluation of male germ cell toxicity in rats: correlation between sperm head morphology and sperm comet assay. *Mutat. Res.*, 703 (2), 115-121.
- [109] EPA. (1996). *Guidelines for Reproductive Toxicity Risk Assessment*, Federal Register, 61 (212), 56274-56322.

- [110] Cappon, G.D., Horimoto, M. ve Hurtt, M.E. (2004). Reproductive toxicity assessment of lasofoxifene, a selective estrogen receptor modulator (SERM), in male rats. *Birth Defects Res. B. Dev. Reprod. Toxicol.*, 71 (3), 142-149.
- [111] Hoyt, J.A., Fisher, L.F. ve Swisher, D.K. (1995). Short-term male reproductive toxicity study with sulfasalazine in the rat. *Reprod. Toxicol.*, 9 (3), 315-326.
- [112] Rao, M.V. ve Sharma, P.S. (2001). Protective effect of vitamin E against mercuric chloride reproductive toxicity in male mice. *Reprod. Toxicol.*, 15 (6), 705-712.
- [113] Yamauchi, K., Takaura, Y., Noto, T., Saegusa, T., Nakatsuji, S., Ohishi, Y. (2000). Collaborative work to evaluate toxicity on male reproductive organs by repeated dose studies in rats 7). Effects of reserpine in 2- and 4-weeks studies. *J. Toxicol. Sci.*, 25, 79-85.
- [114] Guzick, D.S., Overstreet, J.W., Factor-Litvak, P., Brazil, C.K., Nakajima, S.T., Coutifaris, C., Carson, S.A., Cisneros, P., Steinkampf, M.P., Hill, J.A., Xu, D., Vogel, D.L., National Cooperative Reproductive Medicine, N. (2001). Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. *N. Engl. J. Med.*, 345 (19), 1388-1393.
- [115] Han, S.K., Abraham, I.M. ve Herbison, A.E. (2002). Effect of GABA on GnRH neurons switches from depolarization to hyperpolarization at puberty in the female mouse. *Endocrinology*, 143 (4), 1459-1466.
- [116] Watanabe, M., Fukuda, A. ve Nabekura, J. (2014). The role of GABA in the regulation of GnRH neurons. *Front. Neurosci.*, 8, 387.
- [117] Penovich, P.E. (2000). The effects of epilepsy and its treatment on sexual and reproductive function. *Epilepsia*, 41 (2), 53-61.
- [118] Zahmatkesh, E., Najafi, G., Nejati, V., Heidari, R. (2014). Protective effect of royal jelly on the sperm parameters and testosterone level and lipid peroxidation in adult mice treated with oxymetholone. *Avicenna J. Phytomed.*, 4 (1), 43-52.
- [119] Ahmad, T., Gakhar, H., Waheed, I. ve Naeem-ur, R. (2018). Effect of voltage-gated sodium channels blockers on motility and viability of human sperm in vitro. *Asian Pac. J. Reprod.*, 7 (2), 62-71.
- [120] Agarwal, A., Virk, G., Ong, C., du Plessis, S.S. (2014). Effect of oxidative stress on male reproduction. *World J. Mens Health*, 32 (1), 1-17.

- [121] Morakinyo, A.O., Iranloye, B.O. ve Adegoke, O.A. (2009). Antireproductive effect of calcium channel blockers on male rats. *Reprod. Med. Biol.*, 8 (3), 97-102.
- [122] Meacham, R.B. (2006). The effect of calcium channel blockers on male reproductive potential. *J. Androl.*, 27 (2), 160.
- [123] Taneja, N., Kucheria, K., Jain, S., Maheshwari, M.C. (1994). Effect of Phenytoin on Semen. *Epilepsia*, 35 (1), 136-140.
- [124] Yerby, M.S. ve McCoy, G.B. (1999). Male Infertility: Possible Association with Valproate Exposure. *Epilepsia*, 40 (4), 520-521.
- [125] Aitken, R.J. (1994). A free radical theory of male infertility. *Reprod. Fertil. Dev.*, 6 (1), 19-23.
- [126] Griveau, J.F. ve Le Lannou, D. (1997). Reactive oxygen species and human spermatozoa: physiology and pathology. *Int. J. Androl.*, 20 (2), 61-69.
- [127] Ma, Y.H., Liu, R.Z., Xu, Z.G., Zhang, H.G., Li, Z. (2006). Relationship between sperm motility parameters and sperm morphology. *Zhonghua nan ke xue*, 12 (7), 590-593.
- [128] Tremellen, K. (2008). Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. *Hum. Reprod. Update*, 14 (3), 243-258.
- [129] Agarwal, A. ve Said, T.M. (2003). Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility. *Hum. Reprod. Update*, 9 (4), 331-345.
- [130] Simon, L. ve Carrell, D.T. (2013). Sperm DNA damage measured by comet assay. *Methods Mol. Biol.*, 927, 137-146.
- [131] Sabeti, P., Pourmasumi, S., Rahiminia, T., Akyash, F., Talebi, A.R. (2016). Etiologies of sperm oxidative stress. *Int. J. Reprod. Biomed.*, 14 (4), 231-240.
- [132] Henkel, R.R. (2011). Leukocytes and oxidative stress: dilemma for sperm function and male fertility. *Asian J. Androl.*, 13 (1), 43-52.
- [133] Ozturk, M.I., Koca, O., Keles, M.O., Yilmaz, S., Karaman, M.I. (2012). Increased sperm DNA damage in experimental rat varicocele model and the beneficial effect of varicocelectomy. *Int. J. Fertil. Steril.*, 6 (2), 95-100.
- [134] Marchetti, F., Aardema, M., Beevers, C., van Benthem, J., Douglas, G.R., Godschalk, R., Yauk, C.L., Young, R., Williams, A. (2018). Simulation of mouse and rat spermatogenesis to inform genotoxicity testing using OECD test guideline 488. *Mutat. Res. Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.*, 19-28.

- [135] Atli, O., Baysal, M., Aydogan-Kilic, G., Kilic, V., Ucarcan, S., Karaduman, B., Ilgin, S. (2017). Sertraline-induced reproductive toxicity in male rats: evaluation of possible underlying mechanisms. *Asian J. Androl.*, 19 (6), 672-679.
- [136] Mandal, T.K. ve Das, N.S. (2011). Correlation of testicular toxicity and oxidative stress induced by chlorpyrifos in rats. *Hum. Exp. Toxicol.*, 30 (10), 1529-1539.
- [137] Ramaswamy, S. ve Weinbauer, G.F. (2014). Endocrine control of spermatogenesis: Role of FSH and LH/ testosterone. *Spermatogenesis*, 4 (2), e996025.
- [138] Oury, F., Sumara, G., Sumara, O., Ferron, M., Chang, H., Smith, C.E., Hermo, L., Suarez, S., Roth, B.L., Ducy, P., Karsenty, G. (2011). Endocrine regulation of male fertility by the skeleton. *Cell*, 144 (5), 796-809.
- [139] Zuure, W.A., Roberts, A.L., Quennell, J.H., Anderson, G.M. (2013). Leptin signaling in GABA neurons, but not glutamate neurons, is required for reproductive function. *J. Neurosci.*, 33 (45), 17874-17883.
- [140] Martin, C., Navarro, V.M., Simavli, S., Vong, L., Carroll, R.S., Lowell, B.B., Kaiser, U.B. (2014). Leptin-responsive GABAergic neurons regulate fertility through pathways that result in reduced kisspeptinergic tone. *J. Neurosci.*, 34 (17), 6047-6056.
- [141] Ebiya, R.A., Montaser, M.M. ve Darwish, S.M. (2016). Downregulated StAR gene and male reproductive dysfunction caused by nifedipine and ethosuximide. *J. Basic Appl. Zool.*, 76, 42-51.
- [142] Sies, H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Exp. Physiol.*, 82 (2), 291-295.
- [143] Rahal, A., Kumar, A., Singh, V., Yadav, B., Tiwari, R., Chakraborty, S., Dhama, K. (2014). Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *Biomed. Res. Int.*, 2014, 761264.
- [144] McMichael, M.A. (2007). Oxidative stress, antioxidants, and assessment of oxidative stress in dogs and cats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 231 (5), 714-720.
- [145] Aitken, R.J. ve Roman, S.D. (2008). Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 1 (1), 15-24.
- [146] Zini, A. ve Schlegel, P.N. (2003). Effect of hormonal manipulation on mRNA expression of antioxidant enzymes in the rat testis. *J. Urol.*, 169 (2), 767-771.

- [147] Ghosh, D., Das, U.B., Ghosh, S., Mallick, M., Debnath, J. (2002). Testicular gametogenic and steroidogenic activities in cyclophosphamide treated rat: a correlative study with testicular oxidative stress. *Drug Chem. Toxicol.*, 25 (3), 281-292.

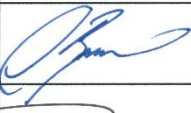
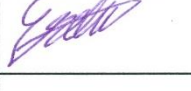
EK-1: ETİK KURUL ONAYI

 **T. C .
ANADOLU ÜNİVERSİTESİ**
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

Toplantı No: 50 Dosya Kayıt No: 15-12 BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	Levetirasetam ve Zonisamid'in Erkek Sıçanlarda Reprodüktif Toksisitesinin Değerlendirilmesi
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI / ADI KURUMU	Yard.Doç. Dr. Sinem ILGIN Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Yard. Doç. Dr. Özlem ATLI, Arş. Gör. Merve BAYSAL
	Hayvan Türü ve Sayısı	Sıçan Sprague-Dawley 140

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

KARAR BİLGİLERİ	Anadolu Eczacılık Fakültesi Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim görevlilerinden Yard.Doç. Dr. Sinem Ilgın'ın araştırma yürütücüsü olduğu 15-012 kayıt numaralı ve "Levetirasetam ve Zonisamid'in Erkek Sıçanlarda Reprodüktif Toksisitesinin Değerlendirilmesi " konulu çalışma; Deney Hayvanları Etik Kurulu Yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına karar verilmiştir.	
	KARAR NO: 2015-12	KARAR TARİHİ: 04.03.2015

ETİK KURUL ÜYELERİ			
ÜNVANI / ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ	BİRİMİ	TOPLANTIYA KATILMA	KARARA KATILMA İMZA
Doç. Dr. Bülent ERGUN BAŞKAN	Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji ABD	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Doç. Dr. Özgür Devrim CAN ÜYE	Eczacılık Fakültesi Farmakoloji ABD	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Prof. Dr. Hülya SİVAS ÜYE	Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Yrd. Doç. Dr. Sinem ILGIN ÜYE	Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji ABD	☐ Katıldı ☒ Katılmadı	
Vet. Hek. Erdem ERKUŞ ÜYE	Deney Hayvanları Arş. Ve Uyg. Birimi	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Vet. Hek. Adem MUSLUK ÜYE	Serbest	☐ Katıldı ☒ Katılmadı	
Zuhal ERYILMAZ ÜYE	Serbest	☐ Katıldı ☒ Katılmadı	

EK-2: DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI



ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI

Belge No: 31-16

Sayın Abdullah Burak KARADUMAN

28 Mart – 08 Nisan 2016 tarihleri arasında düzenlenen

“Deney Hayvanları Kullanımı İle İlgili B Sınıfı Eğitim Programı” 80 saatlik teorik ve uygulamalarına katılarak tamamlamış ve yapılan sertifika sınavını başarıyla geçmiştir.

Prof. Dr. Kevser EROL
Hayvan Deneyleri Yerel
Etik Kurulu Başkanı

Prof. Dr. Hasan GÖNEN
Eskişehir Osmangazi Üniversitesi
Rektörü

