



ARAŞTIRMA / RESEARCH

Resveratrolün streptozotosin ile diyabet oluşturulan sıçanlarda vas deferens kontraktilitesi üzerindeki antioksidan etkileri

Antioxidant effects of resveratrol on vas deferens contractility in streptozotocin-induced diabetic rats

Tuğçe Demirtaş Şahin¹

¹Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Kocaeli, Turkey

Cukurova Medical Journal 2020;45(1):316-323

Abstract

Purpose: The aim of the current study is to investigate the antioxidant effects of resveratrol on vas deferens contractility in streptozotocin-induced diabetic rats.

Materials and Methods: Adult male Wistar Albino rats were separated into three groups: control, diabetic and resveratrol-treated diabetic. Diabetes was induced by a single i.p. injection of STZ (50 mg/kg), and 2 days after the STZ injection the rats having hyperglycemia (>300 mg/dl) were assigned to be diabetic. Rats in treatment group were administered resveratrol (20 mg/kg/day, i.p.) for 4 weeks. After 4 weeks, vas deferens tissues were isolated and, noradrenaline-, ATP- and electrical field stimulation (EFS)-induced responses were obtained from these tissues.

Results: Noradrenaline- and ATP-induced responses significantly increased and EFS-induced responses significantly decreased in diabetic rats compared to control rats. EFS-induced responses in diabetic rats were inhibited more than control rats in the presence of pyrogallol. The increase in EFS-induced responses in the presence of tempol was found markedly enhanced in diabetic rats compared to control rats. Resveratrol treatment significantly ameliorated all the aforementioned responses.

Conclusion: This study demonstrated that resveratrol restored impaired contractility of vas deferens in diabetic rats by its antioxidant effects, suggesting that oxidative stress may play a crucial role on the development of ejaculatory dysfunctions associated with diabetes and antioxidant treatment may be effective in these dysfunctions.

Keywords: Diabetes mellitus, vas deferens, resveratrol

Öz

Amaç: Bu çalışmanın amacı, streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulmuş sıçanlarda vas deferens kontraktilitesi üzerinde resveratrolün antioksidan etkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem: Erişkin erkek Wistar Albino sıçanlar kontrol, diyabetik ve resveratrol tedavisi uygulanan diyabetik olarak üç gruba ayrılmıştır. Diyabet, tek doz i.p. STZ enjeksiyonuyla (50mg/kg) oluşturulmuş ve STZ enjeksiyonundan 2 gün sonra hiperglisemi (>300 mg/dl) olan hayvanlar diyabetik olarak kabul edilmiştir. Tedavi grubundaki sıçanlara 4 hafta boyunca (20 mg/kg/gün, i.p.) resveratrol uygulanmıştır. 4 hafta sonunda sıçanların vas deferens dokuları izole edilmiş ve bu dokularda noradrenalin, ATP, elektriksel alan uyarısı (EAU) aracılı yanıtlar elde edilmiştir.

Bulgular: Diyabetik sıçanlarda kontrol grubuna göre noradrenalin ve ATP aracılı yanıtlar anlamlı olarak artarken, EAU aracılı yanıtlar azalmıştır. EAU aracılı yanıtlar pirogallol varlığında diyabetik sıçanlarda kontrol sıçanlarına göre daha fazla inhibe olmuştur. Tempol varlığında ise EAU aracılı yanıtlardaki artış, diyabetik grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuştur. Resveratrol tedavisi, diyabetik sıçanlarda artan noradrenalin ve ATP aracılı yanıtları anlamlı olarak azaltmış, azalan EAU aracılı yanıtları ise artırmıştır.

Sonuç: Bu çalışma resveratrol tedavisinin diyabetik sıçanlarda vas deferens kontraktilitesindeki bozukluğu antioksidan etkileri aracılığıyla düzelttiğini ortaya koymuştur. Sonuçlar, diyabet ile ilişkili ejakülasyon bozukluklarında oksidatif stresin rol oynayabileceğini ve antioksidan tedavinin bu bozukluklarda etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Diabetes mellitus, vas deferens, resveratrol

Yazışma Adresi/Address for Correspondence: Dr. Tuğçe Demirtaş Şahin, Kocaeli Üniversitesi, Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Kocaeli, Turkey E-mail: tugcedemusa@gmail.com

Geliş tarihi/Received: 12.06.2019 Kabul tarihi/Accepted: 01.01.2020 Published online: 02.02.2020

GİRİŞ

Serbest oksijen radikallerinin, diyabetin ve diyabete bağlı olarak gelişen komplikasyonların patogeneğinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Diyabette hiperglisemiye bağlı olarak reaktif oksijen türlerinin aşırı üretilmesi ve/veya antioksidan savunmanın azalması sonucu artan oksidatif stres, diyabetin sık görülen bir komplikasyonu olan nöropatiye yol açmaktadır¹. Nöropati, uzun süreli diyabete sahip erkek hastaların üreme sisteminde de ortaya çıkmaktadır². Diyabetik hastalarda sıklıkla nöropatiye bağlı impotans, ejakülasyon bozuklukları ve azalmış fertilité gözlenmektedir³. Oksidatif stresin artması üreme sistemindeki düz kas fonksiyonlarının diyabete bağlı olarak bozulmasında kritik bir role sahiptir⁴. Otonom sinirler fizyolojik sistemlerde yer alan düz kaslara entegre olduğundan deneysel olarak oluşturulmuş diyabete bağlı nöropati düz kas fonksiyonlarında değişiklik yapabilmektedir⁵. Deneysel olarak diyabet oluşturulan hayvanlarda artmış oksidatif strese bağlı otonom sinir sistemindeki fonksiyonel, yapısal ve biyokimyasal anormalliklerin ereksiyon ve ejakülasyon bozukluklarına ve azalmış fertilitéye yol açtığı gösterilmiştir⁶.

Ejakülasyon farklı nöronal, nörokimyasal ve hormonal olaylar/mekanizmaların aracılık ettiği karmaşık bir süreçtir. Bu süreçte sperm hücrelerini epididimisten üretraya taşımakla görevli olan vas deferensin ritmik kontraksiyonları önemli rol oynamaktadır⁷. Bu kontraksiyonlar, vas deferens inerve eden sempatik sinir uçlarından salınan noradrenalin ve ATP ile kontrol edilmektedir⁷. Bu bağlamda, vas deferensin sempatik inervasyonunun ve/veya kontraktıl fonksiyonunun bozulması, ejakülasyon bozukluklarına yol açabilmektedir. Önceki çalışmalar streptozotosin (STZ) ile deneysel diyabet oluşturulan hayvanlarda vas deferens inerve eden noradrenerjik sinirlerde patolojik değişiklikler olduğunu ortaya koymuştur⁸. Uzun süreli deneysel diyabet oluşturulan hayvanların vas deferens dokularında sempatik sinir stimülasyonuna karşı bozulmuş yanıtlar saptanmış ve ekzojen noradrenalin, fenilefrin ve ATP'ye karşı hipersensitivite gözlemlendiği gösterilmiştir^{9,10}. Başka bir deneysel bir çalışmada STZ ile deneysel diyabet oluşturulan hayvanlarda reaktif oksijen türlerinin vas deferensin sempatik inervasyonunun ve kontraktıl aktivitesinin bozulmasından sorumlu olduğu ileri sürülmüştür¹¹. Diğer yandan, diyabetin vas deferensin sempatik

inervasyonu ve fonksiyonu üzerindeki etkisini araştıran farklı hayvan çalışmalarında ortaya konan bulgular çelişkilidir¹².

Diyabetik sıçanlarda antioksidan tedavinin periferik sinirleri serbest radikal hasarına karşı koruyabildiği gösterilmiştir¹³. Resveratrol (RSV), antioksidan etkilere sahip polifenol yapıda olan doğal bir bileşiktir. Diyabete bağlı olarak gelişen komplikasyonlarda RSV'nin yararlı etkilerinin bulunduğu bilinmekle birlikte¹⁴, bugüne kadar diyabetik hayvanlarda RSV'nin vas deferens kontraktilesi üzerindeki etkileri araştırılmamıştır. Bu çalışmada STZ ile deneysel diyabet oluşturulmuş sıçanlarda RSV'nin vas deferens kontraktilesi üzerindeki etkileri ve bu etkilerin altında yatan antioksidan mekanizmalar araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Deney hayvanları

Çalışmamızda Kocaeli Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi'nden elde edilen erişkin (3 aylık, 250-300 g) erkek Wistar Albino sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar standart laboratuvar koşullarında (07:00-19:00 arası aydınlık, 22±2°C, %45 nem) ve bir kafeste 5-6 hayvan olacak şekilde barındırılmıştır. Yem ve su kısıtlama olmadan sağlanmıştır.

Çalışmadaki prosedürler, Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmış (Karar No: KOÜ HADYEK 2/1-2017) ve tüm deneyler 'Guide for the Care and Use of Laboratory Animals' prensiplerine uygun olarak yürütülmüştür.

Deneysel diyabet oluşturulması

Deneysel diyabet, sıçanlara tek doz (50 mg/kg) i.p. STZ enjeksiyonu yapılması ile oluşturulmuştur. STZ enjeksiyonundan 2 gün (48 saat) sonra kuyruk veninden alınan kan örnekleri taşınabilir bir glukometrenin (Accutrend Alpha, Boehringer Mannheim) striplerine damlatılarak hayvanların kan glukoz düzeyleri ölçülmüştür. Kan glukozu 300 mg/dl'nin üzerinde ölçülen sıçanların diyabetik olduğu varsayılmıştır.

Deney grupları

Sıçanlar randomize olarak 3 gruba ayrılmıştır: Kontrol, Diyabet ve Diyabet+RSV (n=8). Kontrol

grubuna 4 hafta boyunca i.p. %5'lik DMSO enjeksiyonu yapılmıştır. Diyabet grubuna diyabet oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca i.p. % 5'lik DMSO enjeksiyonu yapılmıştır. Diyabet+RSV grubuna ise diyabet oluşturulduktan sonra 4 hafta boyunca i.p. resveratrol (20 mg/kg/gün) enjeksiyonu yapılmıştır. RSV, %5'lik DMSO içinde çözündürülüp hayvanlara verilmiştir. Dört haftalık tedavi periyodundan sonra hayvanların yeniden kan glukoz düzeyleri ölçülmüş ve sonrasında ketamin (90 mg/kg)/ksilazin (10 mg/kg) anestezisi altında vas deferens dokuları alınmak üzere hayvanlara ötenazi uygulanmıştır.

İzole organ banyosu çalışmaları

Hazırlık

Vas deferens dokuları dikkatlice izole edildikten sonra taze Krebs Henseleit solüsyonu (NaCl:118,4 mM; KCl:4,7 mM; MgSO₄:1,2 mM; KH₂PO₄:1,2 mM; NaHCO₃:25 mM; CaCl₂:1,9 mM ve glukoz:11 mM) içinde temizlenmiştir. Daha sonra dokuların prostatik kısmından elde edilen 1 cm uzunluğundaki strip şeklindeki preparatlar; sıcaklığı (37°C) ve pH'ı (7,4) sabit tutulan, %95 O₂+%5 CO₂ karışımı ile gazlandırılan ve Krebs Henseleit solüsyonu içeren organ banyolarına 1 g gerim altında asılmıştır. İzometrik gerim değişiklikleri bir veri toplama sistemine (MP30, Commat Ltd.) bağlı transduserlar (FDT 05, Commat Ltd) kullanılarak elde edilmiştir. Dokular, deneylere başlamadan önce Krebs Henseleit solüsyonu ile 15 dakika aralıklarla yıkanacak şekilde 1 saat dinlenmeye bırakılmıştır.

Agonistler için konsantrasyon-yanıt eğrilerinin elde edilmesi

Bir saatlik dinlenme periyodundan sonra dokulardan 80 mM KCl solüsyonu ile kasılma yanıtları alınmıştır. Sonrasında dokular yıkanmış ve dinlenme periyodunu takiben sırasıyla kümülatif noradrenalin (10⁻⁸-10⁻⁴ M) ve ATP (10⁻⁸-10⁻⁴ M) aracılı kasılma yanıtları elde edilmiştir.

Nörojenik kasılmalar

Başka bir dizi deneyde dokulardan 80 mM KCl solüsyonu ile kasılma yanıtları elde edildikten sonra, dokulara elektrik akımı sağlayan bir stimülatör (ST 95 PT, Commat Ltd.) yardımıyla iki platin tel elektrot kullanılarak 10 s süre ile artan frekansta elektriksel alan uyarısı (EAU) (50 V, 2-32 Hz, 0,5 ms) uygulanmıştır. Dokular yıkandıktan sonra serbest radikallerin rolünü araştırmak için dokulardan ayrı

ayrı pirogallol (süperoksit anyonu üreticisi) (10⁻⁴ M) ve tempol (serbest radikal süpürücüsü) (10⁻⁴ M) varlığında EAU aracılı yanıtlar alınmıştır.

Farmakolojik parametreler

Noradrenalin ve ATP'nin farklı deney gruplarından elde edilen vas deferens dokuları üzerindeki etkilerini değerlendirmek için E_{max} (agonist tarafından indüklenen maksimum kasılma yanıtı) ve pD₂ (maksimum kasılma yanıtının yarısını oluşturan agonist konsantrasyonunun negatif logaritması) değerleri hesaplanmıştır.

İlaçlar ve kimyasal maddeler

Krebs Henseleit çözeltisinin hazırlanmasında kullanılan NaCl, KCl, MgSO₄, KH₂PO₄, NaHCO₃, CaCl₂ ve glukoz Merck Sharp Dohme (Brinny, İrlanda) firmasından sağlanmıştır. Noradrenalin, ATP, pirogallol, tempol ve RSV Sigma-Aldrich (St.Louis, MO, ABD) firmasından satın alınmıştır. Her bir kimyasal madde ya da ilaç kullanılmadan hemen önce taze olarak hazırlanmıştır.

İstatistiksel analiz

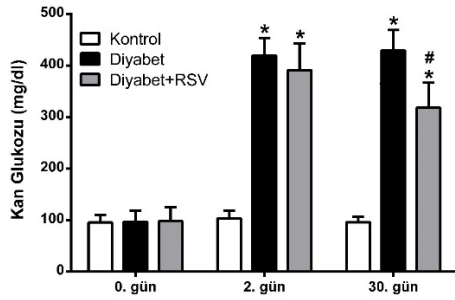
Veriler, ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiş ve GraphPad Prism (San Diego, CA, ABD) programı kullanılarak değerlendirilmiştir. Noradrenalin, ATP ve EAU aracılı kasılma yanıtları, her bir vas deferens preparatı için 80 mM KCl ile elde edilen kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ifade edilmiştir. İstatistiksel anlamlılık tek yönlü ANOVA post hoc Bonferroni testi ile analiz edilmiştir. 'p<0,05' istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

Deney başlangıcında deney grupları arasında kan glukoz düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 1). STZ enjeksiyonundan 48 saat sonra ise kan glukoz düzeylerinin diyabetik gruplarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı gözlemlenmiştir (p<0,05; Şekil 1). Çalışma başlangıcından 30 gün sonra diyabetik gruplardaki kan glukoz düzeyleri kontrol grubuna göre hala anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. RSV tedavisi alan diyabetik gruptaki kan glukoz düzeyi, RSV tedavisi almayan diyabetik gruptan daha düşük bulunmuştur (p<0,05; Şekil 1).

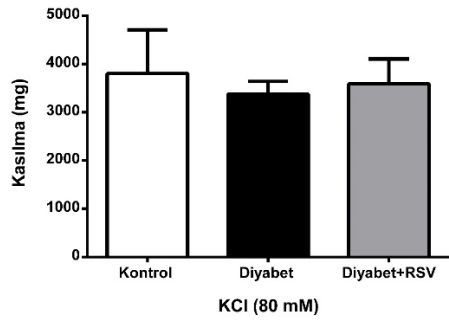
Hayvanlara ötenazi uygulandıktan sonra izole edilen vas deferens dokularında 80 mM KCl'ye bağlı kasılma yanıtları açısından deney grupları arasında anlamlı

fark bulunmamıştır (Şekil 2). Şekil 3'te vas deferens dokularına noradrenalinin (10^{-8} - 10^{-4} M) kümülatif olarak uygulanması sonucu elde edilen kontraktıl yanıtları gösteren konsantrasyon-yanıt eğrisi verilmiştir. Noradrenalin aracılı kontraktıl yanıtlar, diyabetik grupta kontrol grubuna anlamlı olarak artmıştır ($p<0,05$).



Şekil 1. Resveratrolün kan glukoz düzeyi üzerindeki etkisi.

Kan glukoz düzeyi, deney başında (0. gün), STZ enjeksiyonundan 2 gün ve 30 gün sonra ölçülmüştür. Veriler, ortalama±standart hata şeklinde ifade edilmiştir. * $p<0,05$ kontrol grubuna göre, # $p<0,05$ diyabet grubuna göre. (n=8).

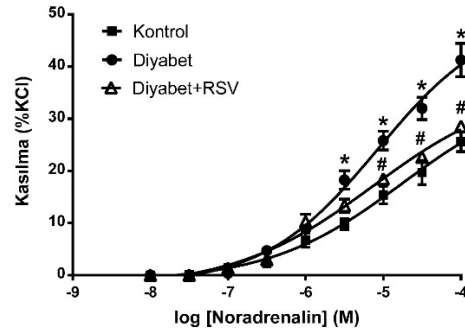


Şekil 2. Vas deferens dokularından elde edilen 80 mM KCl aracılı kasılma yanıtları.

Veriler, ortalama ± standart hata olarak ifade edilmiştir. (n=8).

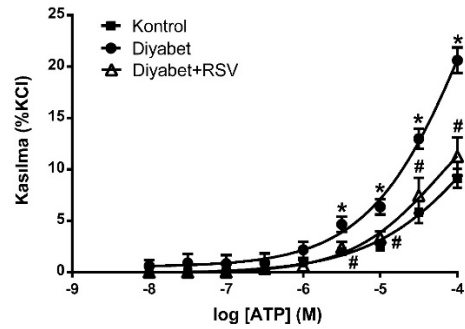
Diyabetik sıçanlara RSV tedavisi uygulanması ise bu yanıtları anlamlı olarak azaltmıştır ($p<0,05$). Diğer yandan noradrenalinin etkisi için hesaplanan pD_2 değerleri açısından deney grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunmamıştır (Kontrol= $5,34\pm0,17$; Diyabet= $5,27\pm0,07$; Diyabet+RSV= $5,57\pm0,09$). Dokulardan elde edilen ATP aracılı kümülatif (10^{-8} - 10^{-4} M) kontraktıl yanıtları gösteren konsantrasyon-yanıt eğrisi Şekil 4'te

sunulmuştur. Diyabetik sıçanlarda ATP ile elde edilen kontraktıl yanıtlar kontrol grubuna göre anlamlı olarak artarken ($p<0,05$), diyabetik hayvanlara kronik RSV verilmesi yanıtları kontrole geri döndürmüştür. Deney gruplarında ATP için hesaplanan pD_2 değerleri ise gruplar arasında benzer bulunmuştur (Kontrol= $4,70\pm0,03$; Diyabet= $4,73\pm0,06$; Diyabet+RSV= $4,72\pm0,02$).



Şekil 3. Vas deferens dokularından elde edilen noradrenalin aracılı kasılma yanıtları.

Veriler, 80 mM KCl ile elde edilen kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ve ortalama±standart hata şeklinde ifade edilmiştir. * $p<0,05$ kontrol grubuna göre, # $p<0,05$ diyabet grubuna göre. (n=8).

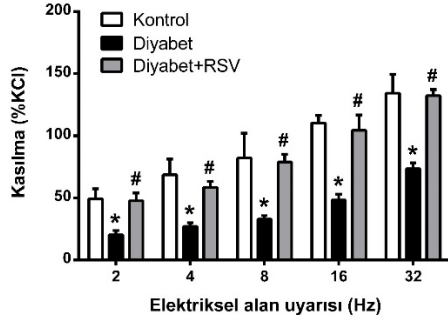


Şekil 4. Vas deferens dokularından elde edilen ATP aracılı kasılma yanıtları.

Veriler, 80 mM KCl ile elde edilen kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ve ortalama±standart hata şeklinde ifade edilmiştir. * $p<0,05$ kontrol grubuna göre, # $p<0,05$ diyabet grubuna göre. (n=8).

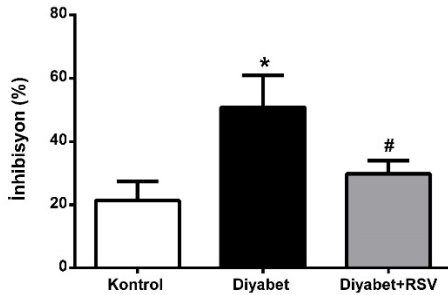
Vas deferens dokularına EAU verilmesi, frekansa bağlı olarak artan kasılma yanıtlarına yol açmıştır (Şekil 5). Bu yanıtların her bir frekansta diyabetik grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı

gözlenmiştir ($p<0,05$). RSV tedavisi alan diyabetik grupta ise bu yanıtların anlamlı olarak yükseldiği bulunmuştur ($p<0,05$). Deney gruplarında EAU aracılı yanıtlar pirogallol varlığında anlamlı olarak inhibe olmuştur ($p<0,05$; Şekil 6).



Şekil 5. Vas deferens dokularından elde edilen elektriksel alan uyarısı aracılı kasılma yanıtları.

Veriler, 80 mM KCl ile elde edilen kasılma yanıtlarının yüzdesi olarak ve ortalama±standart hata şeklinde ifade edilmiştir. * $p<0,05$ kontrol grubuna göre, # $p<0,05$ diyabet grubuna göre. (n=8).

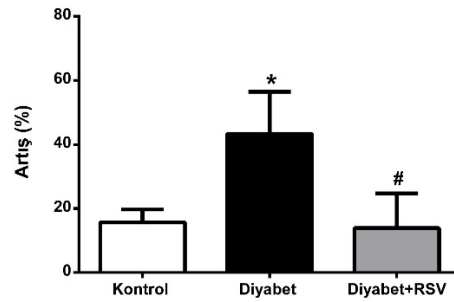


Şekil 6. Vas deferens dokularından elde edilen 32 Hz elektriksel alan uyarısı aracılı kasılma yanıtlarının pirogallol varlığında inhibisyon yüzdesi.

Veriler, ortalama±standart hata şeklinde ifade edilmiştir. * $p<0,05$ kontrol grubuna göre, # $p<0,05$ diyabet grubuna göre. (n=8).

Yanıtların inhibisyon yüzdesinin diyabetik sıçanlarda kontrol sıçanlarına göre anlamlı olarak arttığı görülmüştür ($p<0,05$; Şekil 6). RSV verilen diyabetik grupta ise inhibisyon yüzdesinin tedavi almayan diyabetik gruptan anlamlı olarak daha az olduğu saptanmıştır ($p<0,05$; Şekil 6). Diğer yandan dokulara

tempol verilmesi ise EAU aracılı yanıtlarda artışa yol açmıştır (Şekil 7). Bu artışın yüzde olarak değeri, diyabetik grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak fazla bulunmuş ($p<0,05$; Şekil 7), RSV tedavisi alan diyabetik grupta ise kontrol grubundan farklı saptanmamıştır.



Şekil 7. Vas deferens dokularından elde edilen 32 Hz elektriksel alan uyarısı aracılı kasılma yanıtlarının tempol varlığında artış yüzdesi.

Veriler, ortalama±standart hata şeklinde ifade edilmiştir. * $p<0,05$ kontrol grubuna göre, # $p<0,05$ diyabet grubuna göre. (n=8).

TARTIŞMA

STZ ile oluşturulan deneysel diyabet, diyabetin ve diyabet ile ilişkili komplikasyonların altında yatan mekanizmaların aydınlatılmasında yaygın olarak kullanılan bir diyabetik hayvan modelidir. Bu çalışmada, sıçanlarda tek doz STZ enjeksiyonu ile diyabet oluşturulmuş ve enjeksiyondan 48 saat sonra hayvanların kan glukoz düzeyleri anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. RSV tedavisi ise diyabetik sıçanlarda artan kan glukoz düzeylerini düşürmüştür. RSV'nin bu etkisi; glukozun alımı, kullanımı ya da depolanmasındaki artışa, insülin sekresyonu/duyarlılığındaki artışa ya da anormal insülin sinyal yollarının restorasyonuna bağlı olabilir¹⁵. Elde edilen bulgular, RSV'nin STZ ile diyabet oluşturulan hayvanlardaki antidiyabetik etkisini gösteren diğer çalışmalarla da uyumludur¹⁵.

Vas deferensin kontraktil aktivitesi sempatik sinir uçlarından salınan noradrenalin ve ATP ile kontrol edilmektedir. Sıçan vas deferensinde EAU aracılı kasılma yanıtları, ilk faz ATP'ye, ikinci faz noradrenaline bağlı olmak üzere bifazik karakter göstermektedir⁷. Çalışmamızda vas deferensin EAU aracılı kasılma yanıtları diyabetik sıçanlarda anlamlı

olarak azalmıştır. Bu sonuç, diyabetin vas deferens inerve eden sempatik sinirlerde hasara yol açtığını düşündürmektedir. Çalışmanın bulguları, STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda EAU aracılı yanıtların azaldığını ortaya koyan diğer çalışmalarla uyumludur^{11,16}. Spontan diyabetik sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada ise vas deferens dokularında EAU ile indüklenen yanıtların bu çalışmanın aksine arttığı gösterilmiştir¹⁷. Çalışmadan elde edilen bulgular, diyabetik sıçanlarda noradrenalin ve ATP aracılı kasılma yanıtlarının anlamlı olarak arttığını göstermiştir. Bu bulgular, diyabetik hayvanlarda vas deferens dokularında kontraktıl ajanlara karşı aşırı duyarlılık geliştiğini ve sempatik sinir stimülasyonuna karşı dokunun yanıt verebilirliğinin azaldığını ortaya koymaktadır. Sonuçlar, STZ ile indüklenen 4 haftalık¹⁸ ve 8 haftalık^{11,16} diyabet modellerinde vas deferens dokularında kontraktıl ajanlara karşı aşırı duyarlılık geliştiğini ortaya koyan çalışmaların sonuçlarına paraleldir. Öte yandan vas deferens kontraktılıtesinde bahsi geçen değişiklikler spontan diyabetik sıçanlarda gözlenmemiştir¹⁷. Başka bir çalışmada ise noradrenalin ile indüklenen vas deferens kontraktıl yanıtları; alloksan ile oluşturulan akut (72 saatlik) diyabet modelinde artarken, kronik diyabet modelinde (8 haftalık) azalmıştır¹². Bu çalışmacılar, diyabetik sıçanların vas deferens dokularındaki adrenerjik yanıtların geçen süreye bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Çalışmamızda noradrenalin ve ATP'nin kontraktıl etkileri için pD₂ değerleri de hesaplanmış ve bu değerler açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Bu sebeple, diyabetik sıçanlardan elde edilen vas deferens dokularının noradrenalin ve ATP'ye cevap verebilirliğindeki artışın, adrenerjik ve pürinerjik reseptörlere afinitedeki artıştan ziyade, yeni reseptör sentezine veya post-reseptör mekanizmaların aktivasyonuna bağlı olabileceği düşünülmüştür. Öte yandan diyabetik sıçanlarda noradrenalin için hesaplanan pD₂ değerleri, STZ ile indüklenen 4 haftalık ve 8 haftalık diyabet modellerinde çalışmamıza benzer şekilde kontrole göre değişmezken^{11,18}, 10 haftalık diyabet modelinde azalmıştır¹⁹. Alloksan ile oluşturulan akut (72 saat) ve kronik diyabet modellerinde (8 haftalık) ise pD₂ değerlerinin arttığı gözlenmiştir¹². Yukarıdaki çalışmalar ile birlikte ele alınan güncel çalışma, diyabet süresinin ve modelinin vas deferensin kontraktıl yanıtlarını etkilediğini göstermektedir.

Diyabetik sıçanlarda vas deferensin adrenerjik agoniste karşı artan kontraktıl yanıtları ve sinir stimülasyonuna verilen azalmış yanıtlar, reseptör

aracılı süreçlerde gözlenen denervasyon benzeri aşırı duyarlılıkla açıklanmıştır¹⁰. Ayrıca, hücre içi kalsiyum metabolizmasının bozulması, diyabetik sıçanlarda vas deferens fonksiyonunun bozulması ile ilişkilendirilmiştir¹⁹. Dolayısıyla, kontraktıl ajanlara dokunun artan cevabının diyabetik vas deferensdeki sarkoplazmik retikulumdan kalsiyum salımının artmasına bağlı olabileceği akla gelmektedir. Öte yandan çalışmamızda KCl aracılı kontraktıl yanıtlarda gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır. Bu da vas deferens kontraktılıtesindeki değişikliğin KCl duyarlı kanallar aracılığıyla hücre içerisine giren kalsiyum ile ilişkili olmadığını göstermiştir. Sonuçlar, STZ ile oluşturulan 4 haftalık ve 8 haftalık diyabetik sıçanların vas deferens dokularında KCl aracılı yanıtların değişmediğini gösteren diğer çalışmalarla uyumludur^{11,18}.

Oksidatif stresin diyabete bağlı olarak periferik sinirlerde meydana gelen yapısal ve fonksiyonel bozuklukların altında yatan mekanizmalardan biri olduğu bilinmektedir. Önceki çalışmalar, diyabette meydana gelen periferik sinir hasarından süperoksit anyonu üretimindeki artışın sorumlu olduğunu ileri sürmüşlerdir²⁰. Bu çalışmada diyabetik vas deferens dokularının süperoksit anyonu üreticisi olan pirogallol varlığında EAU'ya verdiği yanıtlarda artan inhibisyon gözlenmiştir. Bu da diyabetik sıçanlarda adrenerjik sinirlerde reaktif oksijen türlerinin yıkıcı etkilerine karşı duyarlılığın arttığını akla getirmektedir. Ayrıca, çalışmada serbest radikal süpürücüsü ve aynı zamanda süperoksit dismutaz (SOD)-mimetik bir ajan olan tempol varlığında EAU aracılı yanıtların diyabetik sıçanlarda daha çok arttığı belirlenmiştir. Pirogallol ve tempolün diyabetik sıçanlardaki bu etkileri, adrenerjik sinirlerde SOD enzim aktivitesi ve/veya üretiminde azalmanın olabileceğini düşündürmektedir. Bulgular aynı zamanda diyabetik vas deferens dokularında serbest radikal oluşumunun arttığını ortaya koymaktadır. Bulgularımıza paralel olarak, diyabetik sıçanlarda adrenerjik sinir iletimi ve vas deferensin kontraktıl aktivitesindeki bozulmadan reaktif oksijen türleri sorumlu tutulmuştur¹¹. Benzer şekilde yakın tarihli başka bir çalışma ise, STZ ile oluşturulan diyabet modelinde vas deferens dokularında MDA düzeyinin yükseldiğini ve oksidatif stres düzeyi ile bozulmuş vas deferens kontraktıl yanıtları arasında anlamlı bir korelasyon olduğunu ortaya koymuştur¹⁸.

RSV, çeşitli doku ve organlarda serbest radikalleri temizleyici ve antioksidan özelliklere sahip olduğu bilinen polifenol yapıda bir bileşiktir. RSV'nin üreme

ve cinsel fonksiyon bozukluklarında yararlı etkilerinin olduğu gösterilmiştir^{21,22}. Bu çalışmada RSV, diyabetik sıçanların vas deferens dokularında bozulan EAU aracılı yanıtları düzeltmiştir. Ayrıca RSV, dokularda pirogallol varlığında EAU aracılı yanıtlarda artan inhibisyonu, tempol varlığında ise EAU ile elde edilen yanıtlardaki artışı kontrole geri döndürmüştür. Bu sonuçlar, RSV'nin vas deferens dokularını inerve eden periferik adrenerjik sinirleri diyabetin indüklediği oksidatif strese karşı koruduğunu göstermektedir. Bu çıkarımı destekleyecek şekilde başka bir çalışmada, RSV'nin STZ ile oluşturulan diyabet modelinde oksidatif strese karşı sinir fonksiyonları üzerindeki koruyucu etkileri ortaya konmuştur²³. Diğer yandan RSV, diyabetik sıçanlarda artan noradrenalin ve ATP aracılı kontraktıl yanıtları da düzeltmiştir. RSV'nin diyabetik sıçanlarda çeşitli dokularda antioksidan enzim aktivitesi ve üretimini artırdığı saptanmıştır^{24,25}. Bu doğrultuda, RSV'nin çalışmadaki bahsi geçen koruyucu etkileri, vas deferens dokularında serbest radikalleri temizleyebileceğini ve SOD gibi antioksidanların üretim ve/veya aktivitesini artırabileceğini akla getirmektedir. Ayrıca bu çalışmanın bulgularına paralel olarak STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda antioksidan tedavinin bozulan vas deferens kontraktıl fonksiyonunu düzelttiği gösterilmiştir¹⁸. Bu bağlamda, vas deferensin ejakülasyon sürecindeki rolü göz önüne alındığında, RSV'nin diyabet ile ilişkili ejakülasyon bozukluklarında yararlı etkilerinin olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışma, diyabetik sıçanlarda bozulan EAU, noradrenalin ve ATP aracılı kontraktıl yanıtları RSV'nin düzelttiğini ortaya koymuştur. RSV tedavisinin diyabete bağlı olarak gelişen oksidatif stres hasarına karşı koruyucu olduğu gözlenmiştir. Genel olarak bakıldığında diyabet ile ilişkili ejakülasyon bozukluklarında antioksidan tedavinin etkili bir strateji olabileceği düşünülmelidir.

Teşekkür:

Yazar Katkıları: Çalışma konsepti/Tasarımı: TDŞ; Veri toplama: TDŞ; Veri analizi ve yorumlama: TDŞ;; Yazı taslağı: TDŞ; İçeriğin eleştirel incelenmesi: TDŞ;; Son onay ve sorumluluk: TDŞ; Teknik ve malzeme desteği: -; Süpervizyon: TDŞ; Fon sağlama (mevcut ise): yok.

Etik Onay: Çalışmadaki prosedürler, Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Karar No: KOÜ HADYEK 2/1-2017).

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Teşekkür: Çalışmanın deneylerinde verdiği teknik destekten dolayı Doç. Dr. Semil Selcen Göçmez'e teşekkür ederim.

Author Contributions: Concept/Design : TDŞ; Data acquisition: TDŞ; Data analysis and interpretation: TDŞ; Drafting manuscript: TDŞ; Critical revision of manuscript: TDŞ; Final approval and accountability:

TDŞ; Technical or material support: -; Supervision: TDŞ; Securing funding (if available): n/a.

Ethical Approval: Procedures in the study were approved by Kocaeli University Animal Experiments Local Ethics Committee (Decision No: KOÜ HADYEK 2 / 1-2017).

Peer-review: Externally peer-reviewed.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: Authors declared no financial support

Acknowledgement: I would like to thank Dr. Selin Selcen Göçmez for her technical support in experiments.

KAYNAKLAR

1. Valensi P, Le Devehat C, Richard JL, Farez C, Khodabandehlou T, Rosenbloom RA et al. A multicenter, double-blind, safety study of QR-333 for the treatment of symptomatic diabetic peripheral neuropathy. A preliminary report. *J Diabetes Complications*. 2005;19:247-53.
2. Dunsmuir WD, Holmes SA. The aetiology and management of erectile, ejaculatory, and fertility problems in men with diabetes mellitus. *Diabet Med*. 1996;13:700-8.
3. Maresch CC, Stute DC, Alves MG, Oliveira PF, de Kretser DM, Linn T. Diabetes-induced hyperglycemia impairs male reproductive function: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2018;24:86-105.
4. Thorve VS, Kshirsagar AD, Vyawahare NS, Joshi VS, Ingale KG, Mohite RJ. Diabetes-induced erectile dysfunction: epidemiology, pathophysiology and management. *J Diabetes Complications*. 2011;25:129-36.
5. Oztürk Y, Altan VM, Yıldizoğlu-Ari N. Effects of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions. *Pharmacol Rev*. 1996;48:69-112.
6. Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care*. 2003;26(5):1553-79.
7. Koslov DS, Andersson KE. Physiological and pharmacological aspects of the vas deferens-an update. *Front Pharmacol*. 2013;4:101.
8. Tomlinson DR, Gillon KR, Smith MG. Axonal transport of noradrenaline and noradrenergic transmission in rats with streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*. 1982;22:199-204.
9. Peredo H, Agostini MD, Gimeno MF, Borda ES. Hypersensitivity to norepinephrine in vasa deferentia from diabetic rats. Possible participation of metabolic products of arachidonic acid. *Prostaglandins Leukot Med*. 1984;15:229-39.
10. Longhurst PA. The effects of testosterone or insulin treatment on contractile responses of the rat vas deferens following castration or streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Gen Pharmacol*. 1990;21:427-34.
11. Güneş A, Ceylan A, Sarioglu Y, Stefek M, Bauer V, Karasu C. Reactive oxygen species mediate abnormal contractile response to sympathetic nerve stimulation and noradrenaline in the vas deferens of chronically

- diabetic rats: effects of in vivo treatment with antioxidants. *Fundam Clin Pharmacol.* 2005;19:73-9.
12. Oztürk Y, Yildizoğlu-Ari N, Altan VM. Altered alpha-adrenergic responses of vas deferens to noradrenaline and tyramine from rats with short- and long-term alloxan diabetes. *Gen Pharmacol.* 1994;25:1519-24.
 13. Karasu C, Dewhurst M, Stevens EJ, Tomlinson DR. Effects of anti-oxidant treatment on sciatic nerve dysfunction in streptozotocin-diabetic rats; comparison with essential fatty acids. *Diabetologia.* 1995;38:129-34.
 14. Kaur G, Padiya R, Adela R, Putcha UK, Reddy GS, Reddy BR et al. Garlic and resveratrol attenuate diabetic complications, loss of β -cells, pancreatic and hepatic oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Front Pharmacol.* 2016;7:360.
 15. Oyenihı OR, Oyenihı AB, Adeyanju AA, Oguntibeju OO. Antidiabetic effects of resveratrol: the way forward in its clinical utility. *J Diabetes Res.* 2016;2016:9737483.
 16. Longhurst PA. The effects of testosterone or insulin treatment on contractile responses of the rat vas deferens following castration or streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Gen Pharmacol.* 1990;21:427-34.
 17. Longhurst PA. In vitro contractile responses of vasa deferentia from spontaneously diabetic BB rats. *J Auton Pharmacol.* 1991;11:63-71.
 18. Tsounapi P, Honda M, Dimitriadis F, Shimizu S, Shiomi T, Hikita K et al. Antioxidant treatment ameliorates diabetes-induced dysfunction of the vas deferens in a rat model. *Andrologia.* 2018;50(1).
 19. Kamata K, Kirisawa H. Changes in electrophysiological properties and noradrenaline response in vas deferens of diabetic rats. *Eur J Pharmacol.* 1998;350:237-41.
 20. Obrosova IG. How does glucose generate oxidative stress in peripheral nerve? *Int Rev Neurobiol.* 2002;50:3-35.
 21. Fahim AT, Abd El-Fattah AA, Sadik NAH, Ali BM. Resveratrol and dimethyl fumarate ameliorate testicular dysfunction caused by chronic unpredictable mild stress-induced depression in rats. *Arch Biochem Biophys.* 2019;665:152-65.
 22. Yazir Y, Demirtaş Şahin T, Furat Rençber S, Gacar G, Halbutoğulları ZS, Utkan T et al. Restorative effect of resveratrol on expression of endothelial and neuronal nitric oxide synthase in cavernous tissues of chronic unpredictable mild stress-exposed rats: an impact of inflammation. *Int J Impot Res.* 2018;30:318-26.
 23. Kumar A, Kaundal RK, Iyer S, Sharma SS. Effects of resveratrol on nerve functions, oxidative stress and DNA fragmentation in experimental diabetic neuropathy. *Life Sci.* 2007;80:1236-44.
 24. Gocmez SS, Şahin TD, Yazir Y, Duruksu G, Eraldemir FC, Polat S et al. Resveratrol prevents cognitive deficits by attenuating oxidative damage and inflammation in rat model of streptozotocin diabetes induced vascular dementia. *Physiol Behav.* 2019;201:198-207.
 25. Yu W, Wan Z, Qiu XF, Chen Y, Dai YT. Resveratrol, an activator of SIRT1, restores erectile function in streptozotocin-induced diabetic rats. *Asian J Androl.* 2013;15:646-51.