



## ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.  
2025; 39 (3): 176 - 180  
http://www.fusabil.org

### Sisplatinin Testikular Dimetilarginin Dimetilaminohidrolaz, Asimetrik Dimetilarginin ve İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz Düzeylerine Etkisi \*

Gözde ARKALI <sup>1, a</sup>  
Tutku Can ACISU <sup>2, b</sup>  
Abdurrauf YÜCE <sup>1, c</sup>

<sup>1</sup> Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Fizyoloji Ana Bilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

<sup>2</sup> Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Dölerme ve Suni Tohumlama  
Ana Bilim Dalı,  
Elazığ, TÜRKİYE

<sup>a</sup> ORCID: 0000-0002-0850-7557

<sup>b</sup> ORCID: 0000-0002-0882-937X

<sup>c</sup> ORCID: 0000-0003-2928-5970

Sitotoksik kemoterapi birçok kanser türünün tedavisinde etkili bir yöntem olmasına rağmen organizmada çok sayıda yan etkiye neden olmaktadır. Bu yan etkilerden biri de erkeklerde infertilitedir. Bu çalışmada, sisplatin ile tedavi edilen sıçanlarda testikular asimetrik dimetilarginin (ADMA), dimetilarginin dimetilaminohidrolaz (DDHA), nitrik oksit sentaz (NOS) ve testosteron düzeylerinin değerlendirilmesi ve DDAH/ADMA/NOS düzeylerinin testosteron düzeyi ve spermatolojik parametreler üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı. Bu çalışma da 10-12 haftalık 250-300 gram ağırlığında 20 adet Sprague Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı ve sıçanlar 2 gruba ayrıldı. Kontrol Grubu (n=10): Kontrol grubuna herhangi bir tedavi uygulanmadı. 2. Grup; Sisplatin Grubu (n=10): Sisplatin 5 mg/kg/ml dozunda serum fizyolojik içinde çözülerek tek doz intraperitoneal olarak uygulandı ve sıçanlar 7 gün sonra dekapite edildi. Sisplatin uygulanan grupta canlı ağırlıkların ( $p<0.001$ ), spermatozoon motilitesinin ( $p=0.009$ ), testis ( $p=0.028$ ), veziküla seminalis ( $p=0.001$ ) ve prostat ağırlığının ( $p=0.040$ ), testiküler DDAH1 ( $p=0.013$ ) düzeylerinin azaldığı; testis ADMA ( $p=0.006$ ) ile testis iNOS ( $p=0.002$ ) düzeylerinin arttığı belirlendi. Sonuç olarak sisplatin uygulamasının testiküler ADMA, DDAH1, iNOS düzeylerini etkilediği, bu durumun endotelial disfonksiyonda rol alabileceği ve dolayısıyla spermatolojik parametreler üzerindeki olumsuz etkilere neden olabileceği kanısına varılmıştır.

**Anahtar Kelimeler:** Sisplatin, testis, ADMA, DDAH1, iNOS

#### Effects of Cisplatin on Testicular Dimethylarginine Dimethylaminohydrolyase, Asymmetric Dimethylarginine, and Inducible Nitric Oxide Synthase Levels

Although cytotoxic chemotherapy is an effective method in the treatment of many types of cancer, it causes many side effects in the organism. One of these side effects is infertility in males. In this study, we aimed to evaluate testicular asymmetric dimethylarginine (ADMA), dimethylarginine dimethylaminohydrolyase (DDHA), nitric oxide synthase (NOS) and testosterone levels in rats treated with cisplatin and to investigate the effect of DDHA/ADMA/NOS levels on testosterone level and spermatological parameters. For this purpose, 20 male Sprague Dawley rats aged 10-12 weeks and weighing 250-300 grams were used and the rats were divided into 2 groups. Control Group (n=10): No treatment was applied to the control group. Group 2; Cisplatin Group (n=10): Cisplatin was dissolved in normal saline at a dose of 5 mg/kg/ml and administered intraperitoneally as a single dose and the rats were decapitated after 7 days. In the cisplatin treated group, body weights ( $p<0.001$ ), sperm motility ( $p=0.009$ ), testicular ( $p=0.028$ ), vesicular seminalis ( $p=0.001$ ) and prostate weights ( $p=0.040$ ), testicular DDAH1 ( $p=0.013$ ) levels decreased; testicular ADMA ( $p=0.006$ ) and testicular iNOS ( $p=0.002$ ), levels increased. In conclusion, cisplatin administration affected ADMA, DDAH1, iNOS levels in the testis, which may be involved in endothelial dysfunction and thus may cause negative effects on spermatologic parameters.

**Key Words:** Cisplatin, testes, ADMA, DDAH1, iNOS

#### Giriş

Kemoterapötik bir ajan olan sisplatin, klinik onkolojide çeşitli kanser türlerine karşı başarıyla kullanılmaktadır (1). Sisplatin tedavisi ile ilişkili testiküler disfonksiyon ve infertilite, üreme çağındaki ve ergenlik dönemindeki erkekler için önemli bir sorun oluşturmaktadır (2). Çalışmalar, sisplatin tedavisi gören erkek hastaların %50'sinden fazlasının morfolojik olarak anormal sperm, steroidogenez baskılanması, uzun süreli infertilite ve muhtemelen geri dönüşümsüz azospermi riski altında olduğunu göstermiştir (3). Nitrik oksit (NO), spermatozoon hiperaktivasyonu, akrozom reaksiyonu, kapasitasyon ve dölleme gibi çok sayıda fizyolojik sürecin düzenlenmesinde önemli bir rol oynayan bir oksijen serbest radikal molekülüdür (4). Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimatik aktivitesi altında L-arginin ve L-sitrülden sentezlenmektedir (5). NO düşük konsantrasyonda fizyolojik bir fonksiyona sahipken, yüksek konsantrasyonda hücrelerde patolojik hasarlara neden olmaktadır (6). Ancak NO'nun spermatozoon fonksiyonu üzerindeki etkileri doza bağlıdır. Fizyolojik koşullarda, düşük NO seviyesi spermatozoon motilitesi (7) kapasitasyon, akrozom reaksiyonu (8) gibi spermatozoon fonksiyonunda önemli bir rol oynarken, artan NO seviyesi spermatozoon motilitesi ve canlılığında bir azalma ile ilişkilendirilebilir (9).

\* Bu çalışma; Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: VF.22.19).

Geliş Tarihi : 04.07.2025  
Kabul Tarihi : 24.09.2025

#### Yazışma Adresi

Gözde ARKALI

Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Fizyoloji Ana Bilim Dalı  
Elazığ – TÜRKİYE

garkali@firat.edu.tr

Son yıllarda yapılan çalışmalar, endojen olarak salınan ve nitrik oksijen sentezini inhibe ederek etki gösteren asimetrik dimetil argininin (ADMA) vasküler patolojilerdeki önemini vurgulamaktadır. Asimetrik dimetil argininin, endojen nitrik oksit sentezinin (NOS) bir inhibitörüdür (10). Vasküler endoteldeki bu reaksiyonda ADMA, NOS aktivitesini inhibe ederek hücrelere l-arginin alımını önlemektedir. Başka bir deyişle ADMA nitrik oksit oluşum hızını düzenlemektedir (11). ADMA, bir grup protein-arginin metil transferaz tarafından proteinler üzerinde bulunan metillenmiş arginin kalıntılarında türetilir ve dimetilarginin dimetilamino hidrolaz (DDAH) tarafından büyük ölçüde ortadan kaldırılmaktadır. Bu nedenle, DDAH'in endotel NO üretimini DDAH-ADMA-NOS eksenini aracılığıyla düzenlediği düşünülmektedir. DDAH'in DDAH-1 ve DDAH-2 olmak üzere iki izoformu vardır; DDAH-1'in ADMA'ya bağlı NO üretimi üzerinde daha büyük etkileri olduğu görülmektedir (10, 12, 13). Son yıllarda yapılan çalışmalar, vasküler patolojilerde nitrik oksit sentezini inhibe etme etkisine sahip olan endojen olarak salınan asimetrik dimetil argininin önemini vurgulamaktadır. Endotel, tüm vücutta vasküler laminayı çevreleyen yüzeysel hücrelerden oluşan tek bir tabakadır. Endotel disfonksiyonu tanısı, organ fonksiyonunu korumak için gerekli olan endotel tabakasının karakteristik özelliklerinin kaybı ile tanımlanmaktadır (14). Vücutta oksidatif stresin arttığı durumlarda ADMA seviyelerindeki artış, dimetilarginin dimetilaminohidrolaz (DDAH) enzim aktivitesindeki azalmayla bağlantılı olabilir. Aktivitedeki azalma, DDAH'ın aktif bölgesindeki sisteinin oksidasyonuna bağlı olarak gelişir. Bu da NO seviyelerini düşürmektedir.

Bu çalışmanın amacı, sisplatin uygulanan ratlarda testikular ADMA, DDAH-1, eNOS düzeylerinin spermatolojik parametreler üzerindeki etkisini araştırmaktır.

## Gereç ve Yöntem

**Araştırma ve Yayın Etiği:** Bu çalışma, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezinde, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'nın "06.07.2022 tarihli ve 2022/12 nolu izni" ile yapılmıştır. Çalışmada, hayvan deneylerinde uygulanan kurallara ve hayvan refahına uyulmuştur.

**Çalışma Dizaynı:** Çalışmada Sprague Dawley ırkı 10-12 haftalık 250-300 gram ağırlığında 20 adet erkek rat kullanıldı. Deneysel uygulamalar laboratuvar hayvanlarının bakımı ve kullanımı şartlarına (12 saat aydınlık: 12 saat karanlık ve 24±3°C) uygun olarak yürütüldü. Deneysel uygulamalar süresince ratlara standart ticari rat yemi (pellet yem) ve musluk suyu ad libitum sağlandı. Çalışmada 1 haftalık adaptasyon periyodunun ardından ratlar 2 gruba ayrıldı. Kontrol Grubu (n=10): Kontrol grubuna hiçbir uygulama yapılmadı. Sisplatin Grubu (n=10): Sisplatin 5 mg/kg/mL (15) dozda serum fizyolojik içerisinde intraperitoneal olarak tek doz uygulandı. Yedinci günün sonunda ratlar dekapite edildi. Çalışma sonunda spermatolojik analizler yapıldı. Prostat, epididimis, vezikula seminalis, kauda

epididimis, testis dokuları alındı ve üreme organ ağırlıkları tartıldı. Alınan dokular PBS solüsyonu ile yıkandıktan sonra polietilen poşetlere sarılıp etiketlendi. Alınan numuneler analizlere kadar -80°C derin dondurucuda saklandı. Alınan doku örneklerinden ADMA, DDAH1, iNOS düzeyleri belirlendi.

**ELISA Analizleri:** Testis ADMA (sunred 201-11-1668), DDAH-1 (sunred 201-11-2746) ve iNOS (sunred 201-11-0741) konsantrasyonları rat spesifik ELISA kitleri kullanılarak ölçüldü. Konsantrasyonlar kitin içerisinde yer alan stok standarttan farklı konsantrasyonlarda standartlar hazırlanarak oluşturulan eğri kullanılarak hesaplandı.

**Spermatolojik Parametrelerin Analizleri:** Sol kauda epididimisten kesit yapılarak alınan epididimal spermadan, spermatozoon motilitesi tayin edildi. Mikroskop altında 10x40'luk büyütmede en az 3 farklı sahada motilite oranlarının ortalaması alınıp %0-100 arasında değer verilerek kaydedildi. Sperma yoğunluğu analizi için sağ kauda epididimis kullanıldı. Tartılan sağ kauda epididimis petri kutusunda 1 mL %0.9'luk NaCl içerisinde parçalandı ve 4 saat oda sıcaklığında inkubasyona bırakıldı. Ardından alyuvar pipetinin 0,5 çizgisine kadar spermatozoon ihtiva eden süpernatant, 101 çizgisine kadar da %1'lik eozin solüsyonundan çekildi. Yaklaşık 10 µL sulandırılmış süpernatant thoma lamının her iki sayım alanına bırakıldı ve spermatozoonlar ışık mikroskopunun 200'lük büyütmesinde sayıldı. Kauda epididimisteki sperma yoğunluğu hesaplandı. Anormal spermatozoon oranının belirlenmesi için kuru ve ısıtma tablasında ısıtılmış (37°C) bir lama birkaç damla Tris buffer solüsyonu damlatıldıktan sonra üzerine sol kauda epididimisten alınan küçük bir damla sperma süspansiyonu ve birkaç damla eozin-nigrozin boyası damlatılarak bir lam yardımıyla karıştırılıp homojen hale getirildi. Daha sonra bu Tris-sperma süspansiyonu-boya karışımından ince frotiler çekildi. Kuruyan frotiler ışık mikroskopun 400'lük büyütmesinde incelendi. Bir frotiler de toplam 200 spermatozoon incelenip baş, kuyruk ve toplam anormal spermatozoon oranı yüzde olarak ifade edildi (16, 17, 18).

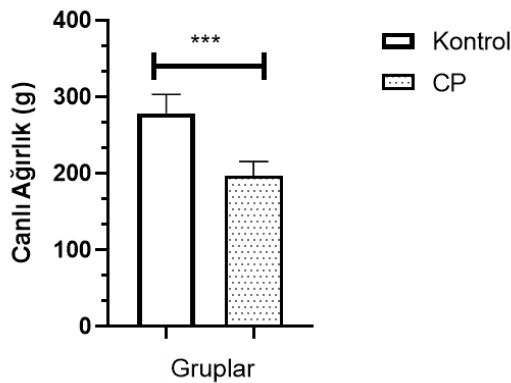
**İstatistiksel Analizler:** İstatistiki değerlendirmeler için SPSS 22 paket programı kullanıldı. Çalışma sonunda elde edilen veriler Shapiro Wilk analizi sonucunda normal dağılım gösterdiler ve gruplar arası karşılaştırmada parametrik bir test olan Bağımsız t-testi kullanıldı. Çalışma verileri, gruplar için ortalama±standart sapma (X±SD) olarak sunuldu. İstatistiksel anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak kabul edildi. Çalışma için örnek sayısı, etki büyüklüğü 1.8 ile alfa hata 0.05 ve %95 güçte, G\*Power paket programı (Versiyon 3.1.9.2) yardımı ile toplamda 20 rat (n=10; 2 grup) olacak şekilde belirlenmiştir.

## Bulgular

**Canlı Ağırlık Bulguları:** Kontrol grubuyla kıyaslandığında sisplatin uygulanan grupta canlı ağırlıkta düşüş olduğu belirlenmiştir (p=0.001) (Şekil 1).

**ELISA Analiz Bulguları:** Kontrol grubuyla kıyaslandığında CP uygulanan grupta, testis ADMA ( $p=0.006$ ) ve iNOS ( $p=0.002$ ) konsantrasyonunun arttığı, testis DDAH-1 ( $p=0.013$ ) konsantrasyonunun azaldığı belirlenmiştir (Tablo 1).

**Spermatolojik Analiz Bulguları:** Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, CP grubunda motilite azalmış ( $p=0.009$ ), sperma yoğunluğu ( $p=0.342$ ), baş ( $p=0.568$ ), kuyruk ( $p=0.730$ ) ve toplam ( $p=0.732$ ) anormal spermatozoon oranlarında gruplar arasında fark olmadığı görülmüştür (Tablo 2). Absolut üreme organ ağırlıkları incelendiğinde, CP grubunda testis ( $p=0.028$ ) ve vezikula seminalis ( $p=0.001$ ), ventral prostat ( $p=0.040$ ) ağırlıkları kontrol grubuna kıyasla azalmıştır (Tablo 3).



**Şekil 1.** Çalışma Sonu Canlı Ağırlık (g) Değerleri. Veriler Ortalama, Standart Sapma şeklinde verilmiştir (\*\*\*. $p<0.001$ ).

**Tablo 1.** Testis dokusu ADMA, DDAH-1, iNOS düzeyleri

Gruplar	ADMA (ng/L)	DDAH-1 (ng/L)	iNOS (ng/mL)
Kontrol	156.84±10.55	171.25±10.44	9.82±1.11
CP	182.30±17.64	150.78±14.08	13.51±0.89
<i>p</i>	0.006	0.013	0.002

**Tablo 2.** Spermatolojik parametreler

Gruplar	Motilite (%)	Sperma Yoğunluğu (milyon/sağ kauda epididimis)	Anormal Spermatozoon Oranı (%)		
			Baş	Kuyruk	Toplam
Kontrol	62.33±12.77	74.00±10.11	5.30±2.40	5.80±3.15	11.10±4.48
CP	36.66±18.39	62.20±26.82	6.00±2.78	7.10±4.43	13.20±6.79
<i>p</i>	0.009	0.342	0.568	0.730	0.732

**Tablo 3.** Absolut üreme organ ağırlıkları (g)

Gruplar	Testis (Sağ +Sol)/2	Epididimis (Sağ +Sol)/2	Sağ Kauda Epididimis	Vezikula Seminalis	Ventral Prostat
Kontrol	1.48±0.18	0.42±0.07	0.16±0.02	0.90±0.15	0.15±0.04
CP	1.29±0.09	0.39±0.09	0.15±0.03	0.53±0.21	0.11±0.03
<i>p</i>	0.028	0.705	0.595	0.001	0.040

## Tartışma

Kemoterapötik ajanların organizmada birçok sistem üzerine olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir. Erkeklerde kemoterapötiklerden olumsuz yönde etkilenen sistemlerden birisi de genital sistemdir. Özellikle kullanılan kemoterapötik ajanın doz ve kullanım süresine bağlı olarak, kemoterapötik ajanlar yüksek mitotik aktivite gösteren spermatogonik hücreler üzerinde toksik etkilere yol açabilmektedir (19).

Tek veya kombine olarak kullanılan kemoterapötiklerden biriside sisplatin dir. Daha önce yapılan çalışmalarda, sisplatin tedavisinin de spermatogenezi bozduğu (20) spermatozoa sayısında ve hareketliliğinde azalmaya ve anormal morfolojiye sahip spermatozoon sayısında artışa, spermatozoada kromozomal anormalliklere ve geçici veya kalıcı azospermiye neden olduğu bildirilmiştir (21-24). Bu çalışmada sisplatin uygulamasının spermatozoon motilitesini azalttığı ancak sperma yoğunluğunda ve anormal spermatozoon oranında anlamlı bir farklılık olmadığı belirlenmiştir (Tablo 2). Bu durumun sisplatinin yüksek dozlarda kullanımının ve/veya doza bağlı sisplatin maruziyet süresinden kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Sisplatin uygulamasında vücut ağırlığında azalma olduğu yapılan birçok çalışmada bildirilmiştir. Bu çalışmada da kontrol grubuyla kıyaslandığında vücut ağırlığında azalma olduğu görülmüştür (Şekil 1). Çalışma bu yönüyle birçok çalışma ile paralellik göstermektedir (16, 25, 26). Bunun paralelinde üreme organ ağırlıkları, CP kaynaklı erkek üreme toksitesinin belirlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır (27).

Bu çalışmada, CP grubunda testis, vezikula seminalis ve ventral prostat ağırlıkları kontrol grubuna göre önemli ölçüde düşük bulunmuştur (Tablo 3). Elde edilen bu bulgular CP uygulamasının spermatolojik parametreler ve üreme organ ağırlıkları üzerinde zararlı etkisi olduğunu gösteren birçok çalışma ile paralellik

göstermektedir (18, 28). Bazı çalışmalarda, CP uygulamasının sıçanların testis ağırlığında önemli bir artışa neden olduğu bildirilse de (29), bu durumun testisin histolojik yapısının ne ölçüde etkilendiğine bağlı olarak değişebileceği düşünülmektedir.

Sisplatinin testiküler toksisitede etkili olan mekanizmaları tam olarak anlaşılmış değildir. Fakat özellikle serbest radikal üretimindeki artış başta olmak üzere, hipoksi, inflamasyon ve apoptoz gibi bir çok mekanizmaların bu sürece dahil olduğu düşünülmektedir (30). Son yıllarda ADMA/DDAH1/NOS sinyal yolağının erkek fertilitesi üzerindeki etkileri ile ilgili yapılan çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır (31). ADMA düzeyinin artması testiküler NO üretimini azaltarak spermatozoon üretimi ve kalitesini olumsuz yönde etkileyebilmektedir. DDAH1 in fonksiyonel aktivitesi bu noktada kritik hale gelmektedir. DDAH1 düzeylerinde azalma ADMA'nın birikimine yol açarken buda testiküler mikrosirkülasyonun bozulmasına ve spermatogenezde aksamlara yol açabilmektedir (32, 33). Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda DDAH1 ekspresyonunun artmasının spermatozoon kalitesini arttırdığını ve testis dokusunun oksidatif strese karşı daha dayanıklı hale geldiğini göstermiştir. İnsanlarda ise infertil erkeklerde ADMA seviyelerinin anlamlı derecede yüksek DDAH1 düzeylerinin ise düşük olduğu bildirilmiştir. Bu çalışma da testis ADMA ve iNOS konsantrasyonlarının arttığı, DDAH1 düzeyinin azaldığı belirlenmiştir (Tablo 1).

Antrasiklinler, taksoidler, 5-fluorourasil, sisplatin, siklofosamid, bazı monoklonal antikolar ve multi-kinaz inhibitörleri gibi bazı kemoterapötik ajanlar endotel disfonksiyonuna neden olmaktadır (34-37). Spesifik olmayan endotel hasarı homeostatik dengelyi bozmakta ve bir dizi patolojik değişikliğe yol açmaktadır. Genel

olarak bu durum, klinik tablonun geç ortaya çıkması nedeniyle kolayca fark edilebilen bir süreç değildir; ancak endotel disfonksiyonu patolojik sürecin bir başlangıç adımı olarak düşünülebilir (38).

Bu çalışma da sisplatin uygulamasının testis dokusunda ADMA, DDAH1 ve iNOS yolağını etkilediği belirlenmiştir. ADMA/DDAH-1 sistemi, endotel fonksiyonunun belirleyici bir düzenleyicisidir. ADMA'nın birikimi, NO üretimini engelleyerek vasküler tonusu ve reaktiviteyi olumsuz yönde etkiler. Eş zamanlı olarak DDAH-1/2 aktivitesinin azalması, ADMA birikimini tetikler. Bu sistem, diyabet, hiperlipidemi, hipertansiyon, böbrek hastalığı gibi birçok kardiyovasküler risk faktöründe bozulmaktadır. Kemoterapötik maddelerin fertilitite üzerindeki olumsuz etkilerinde bu yolağın çalışılması önem arz etmektedir. Yang ve ark. yaptıkları bir çalışma da DDAH1'in, sisplatin kemorezistansı ve hastalık progresyonu riskini öngörmelerine yardımcı olabileceğini ifade etmişlerdir (39). Bilgic ve ark. (40) yaptıkları bir çalışmada 7 mg/kg sisplatin uygulamasının serum ADMA konsantrasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir. Çalışma bu yönüyle kemoterapötik ajanların endotel hasarı üzerine olumsuz etkileri olduğunu gösteren birçok çalışma ile benzerlik göstermektedir (34-37, 40,41).

Sonuç olarak erkek üreme sağlığı sadece hormonal dengeye değil aynı zamanda moleküler seviyedeki düzenleyici mekanizmalara da bağlıdır. ADMA/DDAH1 eksenli testiküler fonksiyonların düzenlenmesinde kritik bir rol oynamakta olup gelecekte erkek fertilitésinin tanı ve tedavisinde önemli bir biyobelirteç ve hedef olabilir. ADMA/DDAH-1 yolunun hedef alınması erkek fertilitésine yönelik tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde yeni bir kapı aralayabilir.

## Kaynaklar

1. Von Hoff DD, Rozenzweig M. Cis-Diamminedichloroplatinum (II): A metal complex with significant anticancer activity. *Advances in Pharmacology* 1979;16:273-298.
2. Salvagnod F. Gonadal failure and infertility in cancer survivors: Clinical management and strategies for prevention. *Endocrine and Metabolic Late Effects in Cancer Survivors* 2021;54:58-68.
3. Pont J, Albrecht W. Fertility after chemotherapy for testicular germ cell cancer. *Fertility and Sterility* 1997;68(1):1-5.
4. Buzadzic B, Vucetic M, Jankovic A, et al. New insights into male (in) fertility: The importance of NO. *British Journal of Pharmacology* 2015;172(6):1455-1467.
5. Balercia G, Moretti S, Vignini A, et al. Role of nitric oxide concentrations on human sperm motility. *Journal of Andrology* 2004;25(2):245-249.
6. Uribe P, Boguen R, Treulen F, Sanchez R, Villegas J. Peroxynitrite-mediated nitrosative stress decreases motility and mitochondrial membrane potential in human spermatozoa. *Mhr: Basic Science of Reproductive Medicine* 2015;21(3):237-243.
7. Du Plessis S, McAllister D, Luu A, et al. Effects of H2O2 exposure on human sperm motility parameters, reactive oxygen species levels and nitric oxide levels. *Andrologia* 2010;42(3):206-210.
8. Herrero MB, Chatterjee S, Lefièvre L, de Lamirande E, Gagnon C. Nitric oxide interacts with the cAMP pathway to modulate capacitation of human spermatozoa. *Free Radical Biology and Medicine* 2000;29(6):522-536.
9. Badade ZG, More KM. Human seminal oxidative stress: correlation with antioxidants and sperm quality parameters. 2011.
10. Kielstein A, Tsikas D, Galloway GP, Mendelson JE. Asymmetric dimethylarginine (ADMA)—a modulator of nociception in opiate tolerance and addiction? *Nitric Oxide* 2007;17(2):55-59.
11. Closs EI, Basha FZ, Habermeier A, Förstermann U. Interference of L-arginine analogues with L-arginine transport mediated by the y+ carrier hCAT-2B. *Nitric Oxide* 1997;1(1):65-73.
12. Pope AJ, Karrupiah K, Kearns PN, Xia Y, Cardounel AJ. Role of dimethylarginine dimethylaminohydrolases in the regulation of endothelial nitric oxide production. *Journal of Biological Chemistry* 2009;284(51):35338-35347.

13. Pope AJ, Karuppiyah K, Cardounel AJ. Role of the PRMT–DDAH–ADMA axis in the regulation of endothelial nitric oxide production. *Pharmacological Research* 2009;60(6):461-465.
14. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: Testing and clinical relevance. *Circulation* 2007;115(10):1285-1295.
15. Mercantepe T, Unal D, Tmkaya L, Yazici ZA. Protective effects of amifostine, curcumin and caffeic acid phenethyl ester against cisplatin-induced testis tissue damage in rats. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2018;15(4):3404-3412.
16. Arkalı G, Acısu TC, Ekmen EG, et al. The Effect of kisspeptin-10 on cisplatin-induced testicular oxidative stress. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi* 2025;14(1):184-191.
17. Snmez M, Trk G, Yce A. The effect of ascorbic acid supplementation on sperm quality, lipid peroxidation and testosterone levels of male Wistar rats. *Theriogenology* 2005;63(7):2063-2072.
18. Trk G, Ateřřahin A, Snmez M, eribaşı AO, Yce A. Improvement of cisplatin-induced injuries to sperm quality, the oxidant-antioxidant system, and the histologic structure of the rat testis by ellagic acid. *Fertility and Sterility* 2008;89(5):1474-1481.
19. Trk G. Kemoteraptiklerin erkek reme sistemi zerindeki yan etkileri ve koruyucu stratejiler. *Marmara Pharmaceutical Journal* 2013;17(2):73-92.
20. Cherry SM, Hunt PA, Hassold TJ. Cisplatin disrupts mammalian spermatogenesis, but does not affect recombination or chromosome segregation. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 2004;564(2):115-128.
21. Martin RH, Ernst S, Rademaker A, et al. Analysis of sperm chromosome complements before, during, and after chemotherapy. *Cancer Genetics and Cytogenetics* 1999;108(2):133-136.
22. Aly HA, Eid BG. Cisplatin induced testicular damage through mitochondria mediated apoptosis, inflammation and oxidative stress in rats: Impact of resveratrol. *Endocrine Journal* 2020;67(9):969-980.
23. Ateřřahin A, řahna E, Trk G, et al. Chemoprotective effect of melatonin against cisplatin-induced testicular toxicity in rats. *Journal of Pineal Research* 2006;41(1):21-27.
24. Salem EA, Salem NA, Maarouf AM, Serefoglu EC, Hellstrom WJ. Selenium and lycopene attenuate cisplatin-induced testicular toxicity associated with oxidative stress in Wistar rats. *Urology* 2012;79(5):1184.
25. Sidharta BRA, Purwanto B, Wasita B, Widyaningsih V, Soetrisno S. Single or divided administration of cisplatin can induce inflammation and oxidative stress in male Sprague-Dawley rats. *The Indonesian Biomedical Journal* 2022;14(2):164-171.
26. Sari SDP, Maknun LU, Louisa M, Estuningtya A, Soetikno V. Effects of nanocurcumin against cisplatin induced-nephrotoxicity in rats. *Advanced Science Letters* 2017;23(7):6823-6827.
27. Soni KK, Kim HK, Choi BR, et al. Dose-dependent effects of cisplatin on the severity of testicular injury in Sprague Dawley rats: Reactive oxygen species and endoplasmic reticulum stress. *Drug Design, Development and Therapy* 2016:3959-3968.
28. Aksu EH, Akman O, zkaraca M, mr AD, Ucar . Effect of Maclura pomifera extract on cisplatin-induced damages in reproductive system of male rats. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakltesi Dergisi* 2015;21 (3): 397-403.
29. Yucel C, Arslan FD, Ekmekci S, et al. Protective effect of all-trans retinoic acid in cisplatin-induced testicular damage in rats. *The World Journal of Men's Health* 2019;37(2):249.
30. Rezvafar MA, Rezvafar MA, Shahverdi AR, et al. Protection of cisplatin-induced spermatotoxicity, DNA damage and chromatin abnormality by selenium nanoparticles. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2013;266(3):356-365.
31. Weinberg JB, Doty E, Bonaventura J, Haney A. Nitric oxide inhibition of human sperm motility. *Fertility and Sterility* 1995;64(2):408-413.
32. Luo Y, Zhu Y, Basang W, et al. Roles of nitric oxide in the regulation of reproduction: A review. *Frontiers in Endocrinology* 2021;12:752410.
33. Shiraiishi K, Naito K. Nitric oxide produced in the testis is involved in dilatation of the internal spermatic vein that compromises spermatogenesis in infertile men with varicocele. *BJU International* 2007;99(5):1086-1090.
34. Schimmel KJ, Richel DJ, Van den Brink RB, Guchelaar H-J. Cardiotoxicity of cytotoxic drugs. *Cancer Treatment Reviews* 2004;30(2):181-191.
35. Yeh ET, Tong AT, Lenihan DJ, et al. Cardiovascular complications of cancer therapy: Diagnosis, pathogenesis, and management. *Circulation* 2004;109(25):3122-3131.
36. Khouri MG, Douglas PS, Mackey JR, et al. Cancer therapy–induced cardiac toxicity in early breast cancer: Addressing the unresolved issues. *Circulation* 2012;126(23):2749-2763.
37. Jones LW, Haykowsky M, Peddle CJ, et al. Cardiovascular risk profile of patients with HER2/neu-positive breast cancer treated with anthracycline-taxane-containing adjuvant chemotherapy and/or trastuzumab. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention* 2007;16(5):1026-1031.
38. Pacholczak R, Dropiński J, Walocha J, Musiał J. Anti-cancer agents and endothelium. *Oncology in Clinical Practice* 2018;14(5):249-256.
39. Yang JH, Yuan L, Chen QY, et al. DDAH1 promotes cisplatin chemoresistance in patients with locally advanced nasopharyngeal carcinoma via the EGFR-JAK2-STAT3 pathway. *Adv Sci (Weinh)* 2025:e03647.
40. Bilgic Y, Akbulut S, Aksungur Z, et al. Protective effect of dexpanthenol against cisplatin-induced hepatotoxicity. *Exp Ther Med* 2018;16: 4049-4057.
41. Arkalı G, Aksakal M. Metotreksatin Neden Olduğu Hepatorenal Hasarda Dimetilarginin Dimetilaminohidrolaz, Asimetrik Dimetilarginin ve Nitrik Oksit Sentaz Dzeyleri FU Sağ Bil Vet Derg 2023;37(2):107-113.