

**ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**SEMEN KÜLTÜRÜNÜN MİKROBİYOLOJİK PROFİLLERİ SPERM
PARAMETRELERİ VE SPERM DNA BÜTÜNLÜĞÜ İLE KORELASYONLARI**

Ahmed Riyadh Abdulsahib JALO

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ÇANKIRI
2024**

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Ahmed Riyadh Abdulsahib JALO tarafından hazırlanan “**Semen Kùltürünün Mikrobiyolojik Profilleri ve Sperm Parametreleri ve Sperm DNA Bütünlüğü ile Korelasyonları**” adlı tez çalışması 13/08/2024 tarihinde aşığıdaki jüri tarafından oy birliğı/oy çokluğı ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Serdal TARHANE

Eş Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Ali Ibrahim Rahim AL-DULAIMI

Jüri Üyeleri :

Başkan : Dr. Öğr. Üyesi Serdal TARHANE
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Cihan ÇİTİL
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Baycan MOR
Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı
Kafkas Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Ersoy YILMAZ

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum “**Semen Kültürünün Mikrobiyolojik Profilleri ve Sperm Parametreleri ve Sperm DNA Bütünlüğü ile Korelasyonları**” konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını, “intihal içermediğini” beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (13/08/2024).

Ahmed Riyadh Abdulsahib JALO

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SEMEN KÜLTÜRÜNÜN MİKROBİYOLOJİK PROFİLLERİ SPERM PARAMETRELERİ VE SPERM DNA BÜTÜNLÜĞÜ İLE KORELASYONLARI

Ahmed Riyadh Abdulsahib JALO

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Serdal TARHANE
Eş Danışman: Ali İbrahim Rahim AL-DULAIMI

İnfertilite, bir yıl boyunca düzenli cinsel ilişkiye girilmesine rağmen hamilelik elde edilememesi durumu olarak tanımlanmaktadır. Üreme çağındaki çiftlerin yaklaşık %15'i korunmasız cinsel ilişkiye rağmen 12 ay içinde istenen hamileliği elde edememektedir. Ürogenital sistemdeki doğuştan ve sonradan gelişen anormallikler, erkek aksesuar bez enfeksiyonları (MAGI), yüksek skrotal sıcaklık, hormon seviyelerindeki bozulmalar, genetik anormallikler ve immünolojik faktörler erkek infertilitesine neden olabilmektedir. Enflamatuvar süreçler ve enfeksiyonlar, infertiliteye önemli ölçüde sebebiyet verebilmektedir. İnfertil olan çiftlerin çoğunda erkek infertilitesinin birincil nedeni anormal semen parametreleridir. Bu durum, üreme sonuçları üzerinde bağımsız olarak veya kadın faktörleriyle birlikte kritik bir etkiye sahiptir. Semen kültürünün genital üriner sistemdeki enfeksiyonları değerlendirmek için kritik bir teşhis yöntemi olduğu belirtilmektedir. Seminal sıvıda bulunan bakteriler, bakteriospermia olarak bilinmekte ve aktif bir hastalığın klinik bir belirtisi olarak kabul edilmektedir. Bu bakteriler bireylerin idrar yolları semen kontaminasyonuna neden olmakta ve cinsel yollarla bulaşabilmektedir. Erkek infertilitesi, erkeklerin üreme yetenekleri üzerinde önemli bir olumsuz etkiye sahip ciddi bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir. Kısırlığı olan erkeklerin yaklaşık %15'inin seminal sıvılarında önemli derecede bakteriyel enfeksiyonlar bulunmaktadır. Enfeksiyonun potansiyel sonuçları, sperm üretimi, fonksiyonu ve taşıma işlevlerinin bozulmasına yol açabilmektedir. Bu prospektif vaka-kontrol çalışmasına, semen kültürünün mikrobiyolojik profilleri sperm parametreleri ve sperm DNA bütünlüğü ile korelasyonlarını belirlemek amacıyla 92 infertilite sorunu yaşayan erkek dahil edildi ve 30 sağlıklı erkek kontrol grubu olarak belirlendi. Üç günlük cinsel perhiz sonrası, her iki gruptan da semen örnekleri, tek kullanımlık steril bir semen toplama kabı ile toplandı. Seminal sıvının sıvılaşması tamamlandıktan sonra semen örnekleri üç hacme bölündü. İlk hacim, semen parametrelerini belirlemek için seminal analizde, ikinci hacim bakteriyolojik kültür, ve son hacim DNA fragmentasyonunu incelemek için kullanıldı. Tüm semen örnekleri kanlı agar, çikolata agar ve MacConkey agarda kültüre edildi. Saf kültürden elde edilen bakteri izolatlarının identifikasyonu analitik profil indeksi (API) kullanılarak gerçekleştirildi. Sperm DNA fragmentasyonu, alanin blue boyası (ABS) kullanılarak

gerçekleştirildi. Yapılan bu çalışmada yaş dağılımına göre hastaların en yüksek sayısının 30-39 yaş aralığında olduğu, yani 56 hastanın (%60.8) bu yaş grubunda yer aldığı, 25 hastanın (%27.2) <30 yaş grubunda olduğu tespit edildi. En düşük hasta sayısı ise 40 yaş ve üzerindeki grupta 11 hasta (%12) olarak tespit edildi. Yaşam tarzı değişkenleri açısından, 55 hastanın (%59.8) sigara içicisi, 37 hastanın (%40.2) ise sigara içmediği belirlendi. İnfertil erkeklerin 49'u (%53.3) ≤ 3 gün süreyle cinsel perhiz yaptığı, buna karşın 43'ünün (%46.7) >3 gün süreyle cinsel perhiz yaptığı tespit edildi. İnfertil erkeklerin 60'ının (%65.2) <3 yıl süreyle çocuk sahibi olamadığı, 23'ünün (%25) 3-5 yıl süreyle, en düşük sayıda infertil erkeğin ise 9'unun (%9.8) >5 yıl süreyle çocuk sahibi olamadığı gözlemlendi. Semen kültüründeki bakterilere bakıldığında, *Enterococcus faecalis* 31 (%33.7), *Escherichia coli* 25 (%27.2), *Streptococcus agalactiae* 14 (%15.2), *Staphylococcus aureus* 11 (%12), *Proteus* türleri 6 (%6.5), *Klebsiella pneumonia* ise 5 (%5.4) hastadan izole ve identifiye edildi. Semen parametreleri "semen hacmi, ileri hareket, hareketsizlik (p-değeri <0.0001) ve DNA fragmentasyonu" (p-değeri 0.0063) ile bakteriyel izolatlar arasındaki ilişki arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenemedi. Diğer yandan, semen konsantrasyonu (p-değeri 0.424) ve toplam sayım (p-değeri 0.366) açısından bakteriyel izolatlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış, ancak semen non-ilerleme (p-değeri 0.027) açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edildi. İki çalışma grubu arasında seminal sıvı miktarı açısından istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi. *S. aureus* enfeksiyonlarının en önemli etkiye sahip olduğu (p-değeri 0.0008) gözlemlenirken bunun ardından *K. pneumonia* (p-değeri 0.0093) ve *E. coli* (p-değeri 0.003) enfeksiyonlarının geldiği tespit edilirken *E. faecalis* enfeksiyonlarının ise en az önemli etkiye sahip olduğu (p-değeri 0.0188) belirlendi. Sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, infertil erkeklerin seminal konsantrasyonu üzerinde anlamlı bir etki gözlemlenmedi (*S. agalactiae*, *E. coli*, *S. faecalis*, *S. aureus* ve *Proteus* spp. için p-değeri <0.0001 , *K. pneumonia* için p-değeri 0.0003). Toplam sperm sayısı açısından, *S. faecalis*, *E. coli* ve *S. agalactiae* enfeksiyonlarının yüksek istatistiksel olarak anlamlı etkisi olduğu (p-değeri <0.0001), *S. aureus* enfeksiyonunun (p-değeri 0.0005) ve *Proteus* spp.'nin etkisi ise biraz daha düşük olduğu bulundu (p-değeri 0.0017). Bunun aksine, *K. pneumonia* enfeksiyonu arasında her iki grup için toplam sayımda bir etki gözlemlenemedi (p-değeri 0.0596). Tüm bakteriyel izolat enfeksiyonları, sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında infertil erkeklerde sperm non-ilerleme motilitesi üzerinde anlamlı bir etkisi olduğu gözlemlendi (tüm izolatlar için p-değeri <0.0001 , *K. pneumonia* için p-değeri 0.003). Tüm bakteriyel izolat enfeksiyonları, infertil erkeklerde sperm bütünlüğü, ilerleme, hareketsizlik ve DNA üzerinde sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında benzer ve önemli bir etki meydana geldiği belirlendi (p-değeri <0.0001). Elde edilen veriler, genital yol enfeksiyonunun sperm kalite parametreleri ve DNA bütünlüğü üzerinde etkili olarak infertiliteye önemli bir katkı sağlayabileceğini göstermiştir.

2024, 79 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: DNA fragmentasyonu, İnfertilite, Mikrobiyolojik, Sperm parametreleri

ABSTRACT

Master of Science Thesis

MICROBIOLOGICAL PROFILE OF SEMEN CULTURE AND ITS CORRELATION WITH SPERMS PARAMETERS AND SPERMS DNA INTEGRITY

Ahmed Riyadh Abdulsahib JALO

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Asst. Prof. Dr. Serdal TARHANE

Co-Advisor: Asst. Prof. Dr. Ali Ibrahim Rahim AL-DULAIMI

Infertility is the condition characterised by the failure to conceive a pregnancy after engaging in regular sexual intercourse for one year. Around 15% of couples in their reproductive years are unable to conceive a desired pregnancy within a 12-month timeframe, even with consistent unprotected sexual intercourse. Congenital and acquired abnormalities in the urogenital system, male accessory gland infections (MAGI), elevated scrotal temperature, disruptions in hormone levels, genetic abnormalities, and immunological factors can cause male infertility. Inflammatory processes and infections are prominent contributors to infertility. In the majority of infertile couples, the primary cause of male infertility is aberrant semen parameters. It has a crucial impact on reproductive results, independently or in conjunction with female variables. Semen culture is a crucial diagnostic method for evaluating infections in the genitourinary tract. Bacteria in seminal fluid, known as bacteriospermia, is considered a clinical indication of an active illness. Individuals' urinary systems cause semen contamination, which can spread sexually through infections. Male infertility is considered a serious healthcare issue that has a significant negative impact on male reproductive ability. Around 15% of infertile men exhibit a substantial presence of bacterial infections in their semen. The infection's potential consequences may include impaired sperm production, function, and transport. This prospective case-control study included 92 males suffering from infertility, and 30 healthy males served as a control group. After three days of abstinence, we collected the semen specimens from both groups using a disposable sterile seminal fluid container. Once we completed the liquefaction of the seminal fluid, we divided the semen specimens into three volumes. The first volume was used for seminal analysis to determine semen parameters, the second volume was used for bacteriological culture, and the last was used for DNA fragmentation. All semen specimens were cultured in blood agar, chocolate agar, and MacConkey agar, and then, after being obtained for pure culture, the pure colony from each culture was used for the identification of bacterial isolates using the analytical profile index (API). The sperm DNA fragmentation was detected using an alanine blue stain (ABS). According to the age distribution, this study showed that the highest number of patients, 56 (60.8%), were within the age range of 30-39 years, followed by

25 (27.2%) within the age group <30 years. In addition, the lowest number of patients, 11 (12%), were within the age group of ≥ 40 years. Regarding lifestyle variables, 55 (59.8%) were current smokers, while 37 (40.2%) were nonsmokers. 49 (53.3%) of infertile males were abstinence for ≤ 3 days; in contrast, 43 (46.7%) of them were abstinence for >3 days. Furthermore, 60 (65.2%) of infertile males had <3 years of non-fertilization period, and 23 (25%) had 3-5 years of non-fertilization period, while the lower number of infertile males 9 (9.8%) had more than 5 years of non-fertilization period. When looking at the bacteria in the semen culture, *Enterococcus faecalis* was found 31 times (33.7%), then *Escherichia coli* 25 times (27.2 %), *Streptococcus agalactiae* 14 times (15.2%), *Staphylococcus aureus* 11 times (% 12), and *Proteus* species 6 times (6.5%). *Klebsiella pneumonia* was found 5 times (5.4 %). In terms of the semen parameters, there was a statistically significant difference between the bacterial isolates in terms of semen volume, progression, immobility (p-value <0.0001), and DNA fragmentation (p-value 0.0063). On the other hand, there was no statistically significant difference between the bacterial isolates in terms of semen concentration (p-value 0.424), and total count (p-value 0.366), but there is statistically significant difference in semen non-progression (p-value 0.027). Additionally, there was a significant difference in the amount of semen between the two study groups. Infections with *S. aureus* had the most significant effect (p-value 0.0008), followed by infections with *K. pneumonia* (p-value 0.0093) and *E. coli* (p-value 0.003). Infections with *E. faecalis* had the least significant effect (p-value 0.0188). In comparison to healthy controls, there was a significant effect on the seminal concentration of infertile males (p-value <0.0001 for *S. agalactiae*, *E. coli*, *S. faecalis*, *S. aureus*, and *Proteus* spp., and p-value 0.0003 for *K. pneumonia*). Regarding total sperm count, *S. faecalis*, *E. coli*, and *S. agalactiae* infections had a high statistically significant impact (p-value <0.0001), whereas *S. aureus* infection (p-value 0.0005) and *Proteus* spp. had a slightly lower impact (p-value 0.0017). In contrast, there was no impact on the total count between both groups in the *K. pneumonia* infection (p-value 0.0596). Additionally, all bacterial isolate infections had a significant impact on sperm non-progression motility among infertile males when compared with healthy controls (p-value <0.0001 for all isolates and p-value 0.003 for *K. pneumonia*). Moreover, all bacterial isolate infections had a comparable and noteworthy effect on the integrity of sperm, progression, immobility, and DNA in infertile males as compared to healthy controls (p-value <0.0001). The data obtained have shown that infection in the genital tract may play an important role in infertility by affecting sperm quality parameters and DNA integrity.

2024, 79 pages

Keywords: DNA fragmentation, Infertility, Microbiological, Sperms parameters

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Dr.Öğr.Üyesi Serdal TARHANE'e sabrı, rehberliği ve anlayışı için teşekkür ederim.

Ahmed Riyadh Abdulsahib JALO

Çankırı, Ağustos 2024



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER DİZİNİ	viii
KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	0
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Çalışmanın Amaçları.....	2
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	3
2.1 Giriş.....	3
2.2 Erkek Kısırlığı.....	3
2.3 Küresel İnfertilite Prevalansı.....	4
2.4 Erkek Üreme Sistemi.....	5
2.5 Erkek Faktörlü İnfertilite	5
2.6 Erkek Gametler.....	9
2.7 Spermatogenez	9
2.8 Sperm Kromatin Yapısı	9
2.9 Spermatozoa Protamin.....	11
2.10Sperm DNA Parçalanması	15
2.11Ambalaj Kusurları.....	16
2.12Oksidatif Stres	17
2.13Abortif Apoptoz	18
2.14Erkek Kısırlığının Nedenleri.....	18
2.15Erkek İnfertilitesi ve Genetik Polimorfizm	19
2.16Cinsel Sorunlar.....	19
2.17Yaşam Tarzı	19
2.18Patofizyoloji	20
2.19Erkek Genital Yolu Enfeksiyonu ve Bakteriospermi	22

3. MATERYALLER VE YÖNTEMLER.....	24
3.2 Malzemeler	24
3.2.1 Kimyasallar ve çözelti.....	24
3.2.2 Malzemeler ve ekipmanlar.....	25
3.3 Malzemelerin Hazırlanması.....	26
3.3.1 Anilin mavisi boyasının hazırlanması.....	27
3.3.2 Fiksatif çözeltisinin hazırlanması.....	27
3.4 Seminal Sıvı Analizi	27
3.4.1 Seminal koleksiyon	28
3.4.2 Makroskopik muayene.....	29
3.4.3 Mikroskopik inceleme	30
3.5 Asidik Anilin Mavisi Boyası Kullanılarak DNA Bütünlüğünün Değerlendirilmesi	32
3.6 Boyama Prosedürü.....	33
3.8 İstatistiksel Analiz.....	35
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	36
4.1 İnfertil Erkeklerin Yaş Dağılımı.....	36
4.2 İnfertil Erkeklerin Yaşam Tarzı.....	36
4.3 Semen Kültürünün Bakteriyolojik Profili	38
4.4 Seminal Sıvı Parametreleri	40
4.4.1 Seminal sıvı hacmi	40
4.4.2 Seminal sıvı konsantrasyonu	42
4.4.3 Sperm sayısı.....	45
4.4.4 Progresif sperm (%)	48
4.4.5 Progresif olmayan sperm	50
4.4.6 İmmotil sperm.....	54
4.5 DNA Parçalanması.....	57
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	61
5.1 Sonuçlar	61
5.2 Tavsiyeler Öneriler	62
KAYNAKLAR	63
ÖZGEÇMİŞ.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

SİMGELER DİZİNİ

<	Daha küçük
>	Daha büyük
°C	Santigrat derece
%	Yüzde



KISALTMALAR DİZİNİ

ABS	Alanin mavi boyası
ART	Yardımcı üreme teknolojisi
CFTR	KF transmembran iletkenlik düzenleyicisi
CFU	Koloni Oluşturma Birimi
DBCP	1,2-Dibromo-3-kloropropan
DNA	Deoksiribonükleik asit
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
FSH	Folikül uyarıcı hormon
GnRH	Gonadotropin salgılatıcı hormon
GT1	Genital sistem enfeksiyonu
HIV	İnsan bağışıklık yetmezliği virüsü
HPG	Hipotalamik-hipofiz-gonadal
ICSH	İntra sitoplazmik sperm enjeksiyonu
IUI	İntrauterin İnseminasyon
IVF	İn-vitro döllenme-embriyo transferi
İYE	İdrar yolu enfeksiyonu
LH	Luteinizan hormon
MAG	Erkek aksesuar bezleri
MIS	Müllerian inhibe edici madde
P1	Protamin 1
P2	Protamin 2
RO	Reaktif oksijen türleri
SFA	Seminal sıvı analizi
SMF	Şiddetli erkek faktörü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Şiddetli erkek faktörü (SMF) şiddetli oligozoospermi ve azospermi durumları (Krausz vd. 2018)	7
Şekil 2.2 Ön koşullar, endikasyon ve erkek faktörünün sonuç üzerindeki etkisi (Mazzilli vd. 2023).....	8
Şekil 2.3 Protamin 1 geninin 2 kodlayıcı ekzondan oluşması ve 16p13.13 kromozomu üzerinde bulunması (Oliva 2006)	11
Şekil 2.4 Protamin ile histon değişimi (Oliva 2006).....	14
Şekil 4.1 Hastaların yaş dağılım grafiği.....	36
Şekil 4.2 Semen kültürlerinden izole edilen bakteri türlerinin dağılımı	38
Şekil 4.3 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre seminal sıvı hacminin kontrol grubu ile karşılaştırılması	41
Şekil 4.4 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre seminal sıvı konsantrasyonunun kontrol grubu ile karşılaştırılması.....	44
Şekil 4.5 Hasta grubu ile kontrol grubu arasında sperm sayısı ve patojenik bakteriler ortalamaları arasındaki karşılaştırma.....	47
Şekil 4.6 Seminal sıvıdaki progresif sperm ile her bir patojenik bakteri türü için semen kültürü sonuçlarının kontrol grubu ile karşılaştırılması	49
Şekil 4.7 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre progresif olmayan spermlerin kontrol grubuyla karşılaştırılması.....	53
Şekil 4.8 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre immotil spermlerin kontrol grubuyla karşılaştırılması.....	56
Şekil 4.9 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre DNA fragmentasyonunun kontrol grubuyla karşılaştırılması	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Erkek kısırlılığının nedenleri (Sihag vd. 2018).....	21
Çizelge 2.2 Farklı infertilite nedenleri olan hastalarda (erkeklerde) hormon düzeyleri (Sihag vd. 2018)	21
Çizelge 3.1 Kullanılan malzemelerin markası ve üretim yerleri.....	25
Çizelge 3.2 Kullanılan malzemelerin markası ve üretim yerleri.....	25
Çizelge 4.1 İnfertil erkeklerin yaşam tarzı.....	37
Çizelge 4.2 Bakteriyolojik profile göre seminal sıvı hacminin karşılaştırılması.....	40
Çizelge 4.3 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre seminal sıvı hacminin kontrol grubu ile karşılaştırılması.....	41
Çizelge 4.4 Semen kültürü sonucuna göre seminal sıvı konsantrasyonunun karşılaştırılması	43
Çizelge 4.5 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre seminal sıvı konsantrasyonunun kontrol grubu ile karşılaştırılması	43
Çizelge 4.6 Semen kültürü sonucuna göre seminal sıvının toplam sayımının karşılaştırılması	46
Çizelge 4.7 Her bir patojenik bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre sperm sayısının kontrol grubu ile karşılaştırılması	46
Çizelge 4.8 Semen kültürü sonucuna göre seminal sıvının progresif spermlerinin karşılaştırılması	48
Çizelge 4.9 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre seminal sıvının ileri sper hareketlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması	49
Çizelge 4.10 Semen kültürü sonucuna göre progresif olmayan spermlerin karşılaştırılması	52
Çizelge 4.11 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre progresif olmayan spermlerin kontrol grubuyla karşılaştırılması.....	52
Çizelge 4.12 Semen kültürü sonucuna göre immotil spermlerin karşılaştırılması.....	55
Çizelge 4.13 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre immotil spermlerin kontrol grubuyla karşılaştırılması	55
Çizelge 4.14 Semen kültürü sonucuna göre DNA fragmentasyonunun karşılaştırılması	57
Çizelge 4.15 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre DNA fragmentasyonunun kontrol grubu ile karşılaştırılması.....	58

1. GİRİŞ

İnfertilite giderek artan küresel bir sorundur; en az on iki ay devam eden korunmasız cinsel aktivitenin ardından gebelik elde edemeyen çiftlerin infertilite yaşadığı kabul edilir (Magdum vd. 2022). Üreme çağındaki çiftlerin yaklaşık %15-20'si infertildir ve bu vakaların %50'si erkek kaynaklı infertilitedir (Alnajjar vd. 2022).

Erkek üreme yeteneğininin fizyolojik olarak anlaşılması, erkek kaynaklı infertilitenin tedavi ve teşhisine yardımcı olan yapısal bir çerçeve sunar. Erkek subfertilitesi veya infertilitesinde rol oynayan faktörlerin çevresel, fizyolojik ve genetik nedenler olduğu bulunmuştur (Adewoyin vd. 2017). Genellikle, erkek infertilitesinin ilk belirtisi seminal sıvı analizi ile değerlendirilebilir (Pallotti vd. 2022)

Sperm, çocukların miras olarak aldığı genomik materyalin yarısını oluşturduğundan normal sperm genetik materyalinin döllenme, embriyo ve fetal gelişim için gerekli olduğu, anormal DNA'nın bu süreçlerin herhangi birinde anormalliklere neden olabileceği yaygın olarak kabul edilmektedir (Qiu vd. 2020)

Erkeklerde kısırlığa yol açan nedenlerden biri ürogenital sistem bakterilerinin enfeksiyonudur ve İdrar Yolu Enfeksiyonu (İYE), yardımcı üreme tekniklerinin uygulanmasıyla ilgili kısırlık tedavisini engelleyebilir (Zeyad vd. 2018).

Erkek infertilite bozukluklarının %35 kadarı ürogenital sistem enfeksiyonları ile ilişkilidir. Seminal bakteriler erkek ürogenital sistem kaynaklı olabileceği gibi cinsel yolla da bulaştırılabilmektedir (Rybar vd. 2012). Testis, prostat ve epididim enfeksiyonları spermatogenezi düşürebilir ve bir erkeğin döllenme yeteneğini azaltabilir (Rusz vd. 2012). Fonksiyonel üreme hücreleri başarılı üreme için gereklidir. Kromozom kırılması, hücre zarı yapısının değişmesi, akrozomun zarar görmesi ve mitokondrinin hatalı çalışması dahil olmak üzere bakteriyel enfeksiyon spermata önemli ölçüde zarar verebilir (Jendrossek vd. 2001).

1.1 Çalışmanın Amaçları

1. Sperm parametrelerinin DNA bütünlüğü ile ilişkisinin araştırılması
2. Patojenik bakteri üremesi ve DNA bütünlüğü arasındaki ilişkinin araştırılması
3. Bakteri üremesinin sperm parametreleri üzerindeki etkisinin araştırılması



2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Giriş

Erkek infertilitesinin en iyi şekilde tedavi edilmesi için doğru teşhis gereklidir. Uygun gözetim ve değerlendirmenin yapılması, kadın eşdeğerinin yönetimi kadar önemlidir. Uzmanlaşmış bir erkek fertilité hizmeti, yardımcı üreme sonuçlarını olumsuz etkileyebilecek veya nihayetinde artırabilecek çeşitli hastalıkları tanıyacak ve ele alacak, ayrıca bir erkeğin sağlığı üzerinde zararlı bir etkiye sahip olabilecek sorunları da göz önünde bulundurmalıdır (Aziz ve Agarwal 2018).

2.2 Erkek Kısırlığı

Erkek infertilitesi, şüpheli erkek üreme faktörleri nedeniyle 12 aylık korunmasız cinsel ilişkiden sonra gebe kalamama olarak tanımlanır (Naelitz vd. 2024). İnfertilite, kadınlarda ovülasyon ve uterus hastalıklarının yanı sıra erkeklerde genetik ve çevresel faktörler olarak bozulmuş spermatogenez ve düşük semen kalitesini içeren multifaktöriyel etiyojijye sahip bir durumdur (Aoun vd. 2021).

İnfertilite dünya çapında ciddi bir sosyal, ruhsal ve fiziksel sağlık sorunu haline gelmiştir (Hipwell vd. 2019). Erkeklerin infertilite vakalarının %20-30'undan tek başına sorumlu olduğu, ancak toplam vakaların %50'sine katkıda bulunduğu bulunmuştur. İkincil infertilite, genellikle üreme yolu enfeksiyonlarına bağlı olarak dünya çapında kadın infertilitesinin en yaygın şeklidir. Kendiliğinden gebe kalma olasılığını etkileyen üç ana faktör, istenmeyen gebe kalma süresi, kadın partnerin yaşı ve hastalıkla ilişkili infertilitedir. Kendiliğinden gebe kalma şansı gebe kalmadan önceki süreyle birlikte azalır. Kadınlarda doğurganlık düşüşü 25-30 yaş civarında başlar ve doğal doğurganlık yaşayan çoğu çalışılmış popülasyonda son doğumdaki ortalama yaş 40-41'dir. Hastalıkla ilişkili infertilite her iki cinsiyeti de etkileyebilir veya bir cinsiyete özgü olabilir (Vander Borgh ve Wyns 2018).

2.3 Küresel İnfertilite Prevalansı

Birçok ülke ve bölge, özellikle az gelişmiş ülkelerde, çeşitli etkileyici faktörler nedeniyle erkek fertilitite sorunları yaşamaktadır. Kadın infertilitesinin aksine, erkek infertilitesi yeterince ilgi görmemektedir. Dünyanın farklı bölge ve farklı ülkelerdeki erkek kısırlığının değişen modellerini anlamak, küresel erkek fertilitite ve üreme sağlığını değerlendirmek için önemlidir (Huang vd.2023).

Dünya çapında milyonlarca insan doğurganlık sorunları yaşamaktadır ve bu sorun gelişmekte olan ülkelerde önemli bir yaygınlık göstermektedir (Inhorn and Pasquale 2015).

Doğurganlık oranlarındaki düşüş, başta yaşanan nüfus olgusu olmak üzere sosyal zorluklara yol açmaktadır. Vollset ve arkadaşları tarafından 2020'de yayınlanan bir çalışmada, küresel nüfus genelinde gelecekteki toplam doğurganlık oranlarını tahmin etmek için 50 yaşında Kohort-Bileşen Doğurganlık Modeli (CCF50) olarak bilinen istatistiksel bir model kullanılmıştır. Çalışmada, dünya nüfusunun 2064 yılında zirveye ulaşması beklenirken, 2100 yılına kadar toplam 183 ülkenin doğurganlık oranlarının ikame seviyelerinin altında olacağı öngörülmüştür (Vollset vd. 2020).

Küresel olarak, infertilite prevalansı, farklı infertilite tanımları ve nüfus farklılıkları nedeniyle büyük ölçüde değişmektedir. Önceki çalışmalar infertilite prevalansını tahmin etmeye çalışmış olsa da, infertilite tanımı ve popülasyon kesin değildir, bu da infertilite prevalansının tahminini önemli ölçüde etkileyebilmektedir. Bu nedenle, toplum temelli popülasyonlara dayalı olarak küresel infertilite oranlarını tahmin etmek için bir sistem incelemesi ve meta-analiz yapılmıştır (Boivin vd. 2007, Cox vd. 2022).

Irak, otuz yılı aşkın bir süredir çok uzun bir savaşlar dizisi geçirmiş ve hala bu yıkıcı iç savaşın içinde olan nadir gelişmekte olan ülkelere biridir. Irak'ta kısırlık oranına ilişkin kayıtlı çalışma bulunmadığı göz önünde bulundurulduğunda, bu oranın her 10 çiftten 3-4'ünde (%35) olduğu tahmin edilmektedir (Al-Chalabi 2017).

2.4 Erkek Üreme Sistemi

Erkek fertilitasını anlamak ve değerlendirmek için erkek üreme sistemi anatomisini tanımlamak ve bilmek önemlidir. Erkek üreme sistemi iç yapıları: testisler, epididim, vas deferens, prostat ve dış yapılar: skrotum ve penistir. Bu yapılar, döllenme için sperm oluşumunu, depolanmasını ve boşaltılmasını teşvik etmek ve erkek gelişimi için önemli androjenler üretmek için birçok bez ve kanal ile donatılmışlardır. (Mawhinney vd. 2013).

Başlıca erkek androjeni testislerdeki Leydig hücrelerinden üretilen testosterondur. Testosteron periferde 5-alfa-redüktaz yoluyla daha aktif bir forma, dihidrotestosterona veya aromataz yoluyla estradiole dönüştürülebilir. Diğer kilit hormonlar arasında, her ikisi de testislerdeki sertoli hücreleri tarafından üretilen inhibin B ve Mülleriyan inhibe edici madde (MIS) hormonu yer alır. Bunları modüle eden önemli hormonlar arasında ön hipofiz bezinden salınan ve hipotalamus tarafından üretilen gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) tarafından düzenlenen folikül uyarıcı hormon (FSH) ve lüteinizan hormon (LH) bulunur. Bu hormonlar birlikte, erkekte cinsel gelişimi ve işlevi destekleyen ve sürdüren hipotalamik-hipofiz-gonadal (HPG) eksenini oluşturur (Molina 2023).

Erkek üreme sisteminin işlevi, erkek üreme işlevini sürdüren ve spermatogenezini teşvik eden ve döllenme için kadın üreme sistemine taşınan testosteron gibi androjenleri üretmektir. Testisler, androjen üretimi sperm üretimi ve taşınmasından sorumlu oldukları için hem endokrin hem de ekzokrin organlar olarak hareket ederler (Gurung vd. 2023).

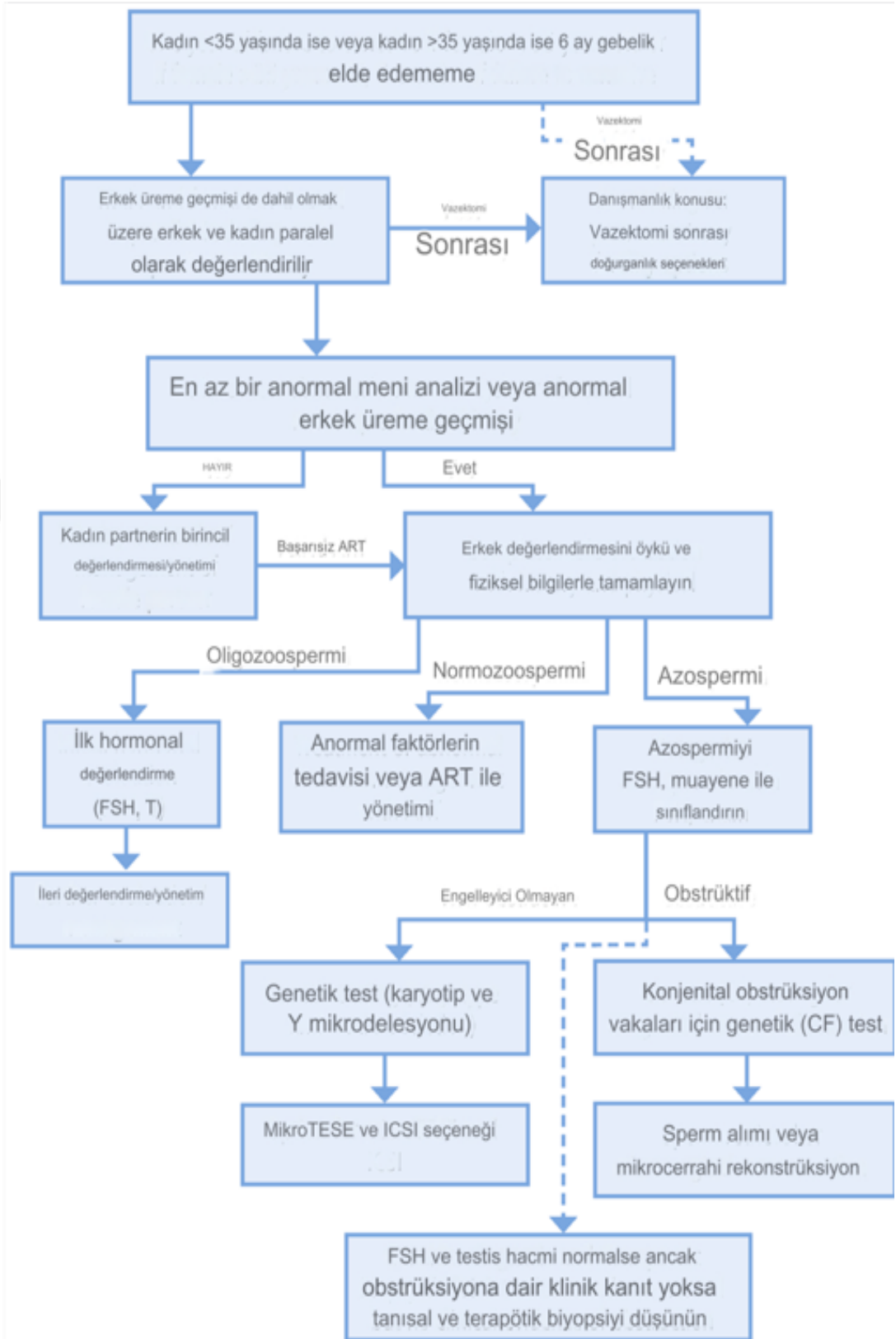
2.5 Erkek Faktörlü İnfertilite

Erkek infertilitesinin nedenleri ve risk faktörleri birçok nedene bağlı olabilmektedir ve bu infertiliteyi pre-testiküler (düşük gonadotropin seviyeleri ile hipotalamik veya hipofiz bozukluğu), testiküler (yüksek gonadotropin seviyeleri ile karakterize) ve post-

testiküler (gonadotropin seviyelerinin genellikle normal aralıkta olduğu) formları belirleyebilir (Tournaye vd. 2017).

Buna ek olarak, risk faktörleri puberte öncesi veya sonrası etki gösterebilir ve genetik formlarla ilişkili olabilir veya olmayabilir (örneğin, testiküler formda kromozomal anormallikler ve Y kromozomal mikrolelesyonu ve post-testiküler formda KF transmembran iletkenlik regülatörü (CFTR) gen mutasyonu) (Ferlin vd. 2022). Bu durum şiddetli erkek faktörü (SMF) şiddetli oligozoospermi ve azoospermi durumlarını içerir (Şekil 2.1) (Krausz vd. 2018).





Şekil 2.1 Şiddetli erkek faktörü (SMF) şiddetli oligozoospermi ve azoospermi durumları (Krausz vd. 2018)

Erkek faktörlü infertilitenin birçok türü için tedaviler mevcuttur. Bununla birlikte, tedaviler endike olmadığı veya etkili olmadığı, Yardımcı Üreme Teknolojisi (YÜT) programları önerilebilir. Bu karar, çiftin dölleme potansiyelinin ne derece bozulduğu (anne yaşı, yumurtalık rezervi, infertilite nedeni), infertilite süresi ve cinsel işlev gibi diğer faktörlere de bağlıdır ve jinekologlar ile androloglar arasında ortaklaşa yapılmalıdır (Ferlin vd. 2022). Yardımcı Üreme Teknikleri (ART), birinci seviye ve ikinci-üçüncü seviye teknikler olarak ikiye ayrılır. Birinci seviyedeki ana teknik, rahim içi tohumlama (IUI) iken, ikinci ve üçüncü seviyedeki teknikler, yumurta toplama ve laboratuvar ortamında döllemeyi içeren Tüp Bebek-Embriyo Transferi (IVF) ve İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI) yöntemleridir.

Teknik	Seviye I	Seviye II-III	
	IUI	IVF	ICSI
			
Minimum erişim kriterleri	Kesme noktasıyla toplam IMC 1 milyon Toplam hareketlilik: kesme %30 Morfoloji: %5 tipik formların kesilmesi TMC: kesinti 5-10 milyon IMC: kesme noktası 0,8-5 milyon/ml	TMC: kesme noktası 0,2-1 milyon Morfoloji: %5 tipik formların kesilmesi	—
Belirteçler	Eretil disfonksiyon veya diğer cinsel/ejakülatuar fonksiyon bozuklukları Hafif ila orta dereceli seminal değişiklik (başka şekilde tedavi edilemeyen veya tedavi başarısız olan) Cinsel yolla bulaşan hastalıklar (ör. HIV) İdiyopatik kısırılık (normozoospermi)	Önceki IUI hatası Orta ila şiddetli seminal değişiklik (başka şekilde tedavi edilemeyen veya tedavi başarısız olan)	IVF'e atıfı gibi Şiddetli oligozoospermi Obstrüktif ve obstrüktif olmayan azospermi (testiküler veya epididimal sperm) Hareketsiz sperm Antisperm antikorları Nekrozoospermi Globozoospermi
Sonuç üzerindeki etkisi	TMC arttıkça gebelik oranı da artıyor Semen hazırlama türünden etki yok Sperm DNA parçalanmasının düşük oranı üzerindeki olası etkisi APA'nın olası etkisine ilişkin kesin veri yok	SMF ile ilişkili azalmış dölleme oranı, bölünme ve blastosist oluşum oranı SMF'nin embriyo anöploid oranı üzerindeki minimum etkisi Başlatılan siklus nedeniyle gebelik oranında azalma, ancak SMF ile ilişkili transfer nedeniyle değil Yenidoğan ve obstetrik sonuçlara ilişkin sınırlı veri Sperm DNA parçalanmasının düşük yapma oranı üzerindeki olası etkisi APA ile ilişkili olası artan de novo mutasyon oranları ve epigenetik değişiklikler APA ile ilişkili olası düşük yapma riski	

APA, ileri baba yaşı; IUI, Rahim İçi Tohumlama; Tüp Bebek, İn Vitro Fertilizasyon-Embriyo Transferi; ICSI, İntra Sitoplazmik Sperm Enjeksiyonu; TMC, Toplam hareketli sayı; IMC, Tohumlama hareketli sayımı; SMF, Şiddetli erkek faktörü

Şekil 2.2 Ön koşullar, endikasyon ve erkek faktörünün sonuç üzerindeki etkisi (Mazzilli vd. 2023)

2.6 Erkek Gametler

Tam olgunluğa erişmek ve bir yumurtayı dölleyebilmek için spermin spermatogenez ve spermiyogenez olarak bilinen süreçlerde çeşitli bölümlerden geçmesi gerekir (Mortimer 2018). Olgun bir spermatozoon, başı, orta kısmı ve kuyruğu etrafında tek bir sürekli plazma zarı bulunan oldukça özelleşmiş bir hücredir (Gatimel vd. 2017).

2.7 Spermatogenez

Spermatogenez, başarılı üreme için fonksiyonel spermatozoa oluşumuyla sonuçlanan oldukça özelleşmiş bir hücrel farklılaşma sürecidir. Prensipte olarak, spermatogenez süreci cinsel olarak çoğalan tüm organizmalarda iyi korunur, ancak olgun spermin boyutu ve şekli farklı türler arasında önemli ölçüde değişir.

2.8 Sperm Kromatin Yapısı

Spermiyogenez sırasında, haploid spermatidler kromatinin bileşiminde ve kompaktlığında bir dizi değişikliğe uğrar (Steger vd. 2001). Bu arada, yuvarlak spermatidde DNA-histon arasındaki bağ geçiş proteinleri ile yer değiştirirken, uzun spermatidlerde geçiş proteini protamin ile yer değiştirecektir. Histondan protamine değişiklikler spermatozoa kromatin yoğunlaşmasını tetikler (Steger vd. 2001). Süreç, geçiş proteinleri 1 ve 2 tarafından tetiklenen histon değişiklikleri ile başlar ve sonunda protamin ile değiştirilir (Ward vd. 1999). Protaminin neden olduğu geçiş proteinlerindeki değişiklikler, uzayan spermatidler aşamasında ve insanlarda %85 histon protamin ile yer değiştirdiğinde meydana gelir. Protamin içeriği, spermatozoa çekirdeğinin son faz olgunlaşması için vazgeçilmezdir (Loir vd. 1984).

Yapılan çalışmalar insanların olgun spermatozoasındaki DNA'nın çoğunun protamine bağlandığını ortaya koymuştur. Memelilerde, histon ile protaminin yer değiştirmesi, spermatogenez sırasında DNA'nın spermatozoa başına yoğunlaşması ve katılmasında önemli bir rol oynar. Somatik histonların protamin ile değiştirilmesi, DNA'nın çok sıkı

bir şekilde paketlenmesine neden olur. Bu durum, DNA'nın serbest su ve su içinde çözünebilen diğer bileşikler gibi serbest radikallerden korunmasını sağlar ve DNA hasarını önler. (Conwell vd. 2003, Fraga vd. 1996).

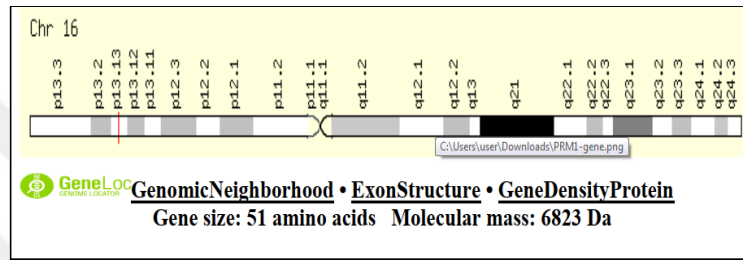
Ayrıca, protamin 1 (P1) ve protamin 2 (P2) ile birçok histonda meydana gelen değişiklikler, spermatozoanın normal işlevi için gerekli olan kromatin paketinin kompaktlığını kolaylaştırmada önemli bir rol oynar (Akmal vd. 2016).

Sperm hücreleri, genomik bilgiyi bir sonraki nesle aktarmada aktif rol oynar. Kromatinleri, hücrenin döllenme için gereken hareketliliği sağlaması ve genomik DNA'yı fiziksel olarak koruması için yüksek derecede yoğunlaşmıştır. Ayrıca, transkripsiyon gibi düzenli homeostatik işlevler askıya alınır. Protamin (PRM), DNA'nın ana oluşuna bağlanabilen arginin açısından zengin küçük bir proteindir ve sperm kromatininin yoğunlaşmasından sorumludur (Hud vd. 1994).

Memelilerde, protamin (PRM) yalnızca erkek haploid üreme hücrelerinde ifade edilir ve spermiogenez sırasında histonların yerini alır. Bu süreç sonucunda, olgun sperm hücrelerinde histonların yalnızca yaklaşık %10'u korunur (Erkek vd. 2013).

Histonların protamin (PRM) ile değiştirilmesi, sperm kromatininin yoğunlaşması için hayati önem taşısa da, bu süreçle ilgili birçok soru hâlâ yanıtlanmayı beklemektedir. Genel olarak, iki tür protamin bulunmaktadır: PRM1 ve PRM2. PRM1, yaklaşık 49-51 amino asit uzunluğundadır ve daha önce belirtilen, evrimsel olarak yüksek derecede korunmuş tüm bölgeleri içerir. Öte yandan, protamin 2 (PRM2), türlere özgü bir ifade biçimine sahip olup, PRM1'den daha fazla amino asit içerir ve özellikle belirli türlerde bulunur. İnsan PRM1 ve PRM2 genleri, kromozom 16p13.13'te sıkı bir kümelenme içinde (28 kb) yer alır ve bu genlerin ifadeleri, transkripsiyon, translasyon, post-translasyon ve epigenetik düzeylerde hassas bir şekilde düzenlenir. Bu bölge, Şekil 2.4'te gösterildiği gibi, protamin 3 ve geçiş proteinini de içermektedir (Oliva 2006, Schneider vd. 2016).

Memelilerde PRM'lerin (PRM1 ve PRM2) transkripsiyonu ve translasyonu, sırasıyla yuvarlak spermatid aşamasında ve spermatogenezin geç aşamasında geçici olarak ayrılır. Bu aşamaya özgü gen ifadesi modeli, doğru histon-protamin değişimi ve yuvarlak spermatidlerin olgun spermatozoaya tamamen farklılaşması için gereklidir. Erkek kısırlığı üzerine yapılan araştırmalar, PRM1'in veya PRM1/PRM2 oranının anormal ifadesinin, erkek kısırlığından sorumlu olan bozulmuş sperm şekli veya bozulmuş sperm fonksiyonu meydana getirdiğini ortaya koymuştur. (Steger and Balhorn 2018, Pardede vd. 2020) (Şekil 2.3).



Şekil 2.3 Protamin 1 geninin 2 kodlayıcı ekzondan oluşması ve 16p13.13 kromozomu üzerinde bulunması (Oliva 2006)

2.9 Spermatozoa Protamin

Protamin, spermatozoa kromatin kondensasyonunda anahtar bir role sahiptir. Eksikliği morfoloji ve erkek fertilitesi üzerinde olumsuz etkilere neden olur. Daha önce yapılan çalışmalar Protaminin spermatozoanın tasarımında ve işlevinde gerekli olduğunu göstermiştir. Protamin, spermatozoanın baş kısmında bulunan ve moleküler ağırlığı yaklaşık 5 kDa-8 kDa olan temel bir çekirdek proteindir (Lüke vd. 2014, McKAY vd. 1986, Rooney vd. 1999).

Spermatozoa başının çekirdeğindeki protamin içeriği, erkek fertilitesi için etkili olan kompakt bir spermatozoa kromatin yoğunlaşmasını indüklemek için hayati önem taşır (Hammadeh vd. 2010).

Spermatozoa başının çekirdeğinde P1 ve P2 bulunur. P1 olgun bir protein olarak sentezlenirken, P2 bir öncüdür ve bir insanın spermatozoa başının çekirdeğinde

bulunurlar. P1 tüm memelilerin spermatozoasında bulunurken, P2 spermatozoa farelerde, hamsterlerde, aygırlarda, bazı primat ve insanlarda bulunur. Veriler, P1 ve P2'nin spermatozoa başında bulunan bol miktarda çekirdek protein olduğunu ve erkek genomunun paketlenmesinde veya korunmasında işlev gördüklerini ortaya koymuştur (Aoki ve Carrell 2003, Corzett vd. 2002, Gusse vd. 1986, Lewis vd. 2003).

Yapılan çalışmalar P1 veya P2 yetersizliğinin farelerde kısırlığa neden olduğunu, P2 eksikliğinin ise spermatozoa DNA'sında hasara ve embriyo ölümlerine yol açtığını göstermiştir. (Cho vd. 2003).

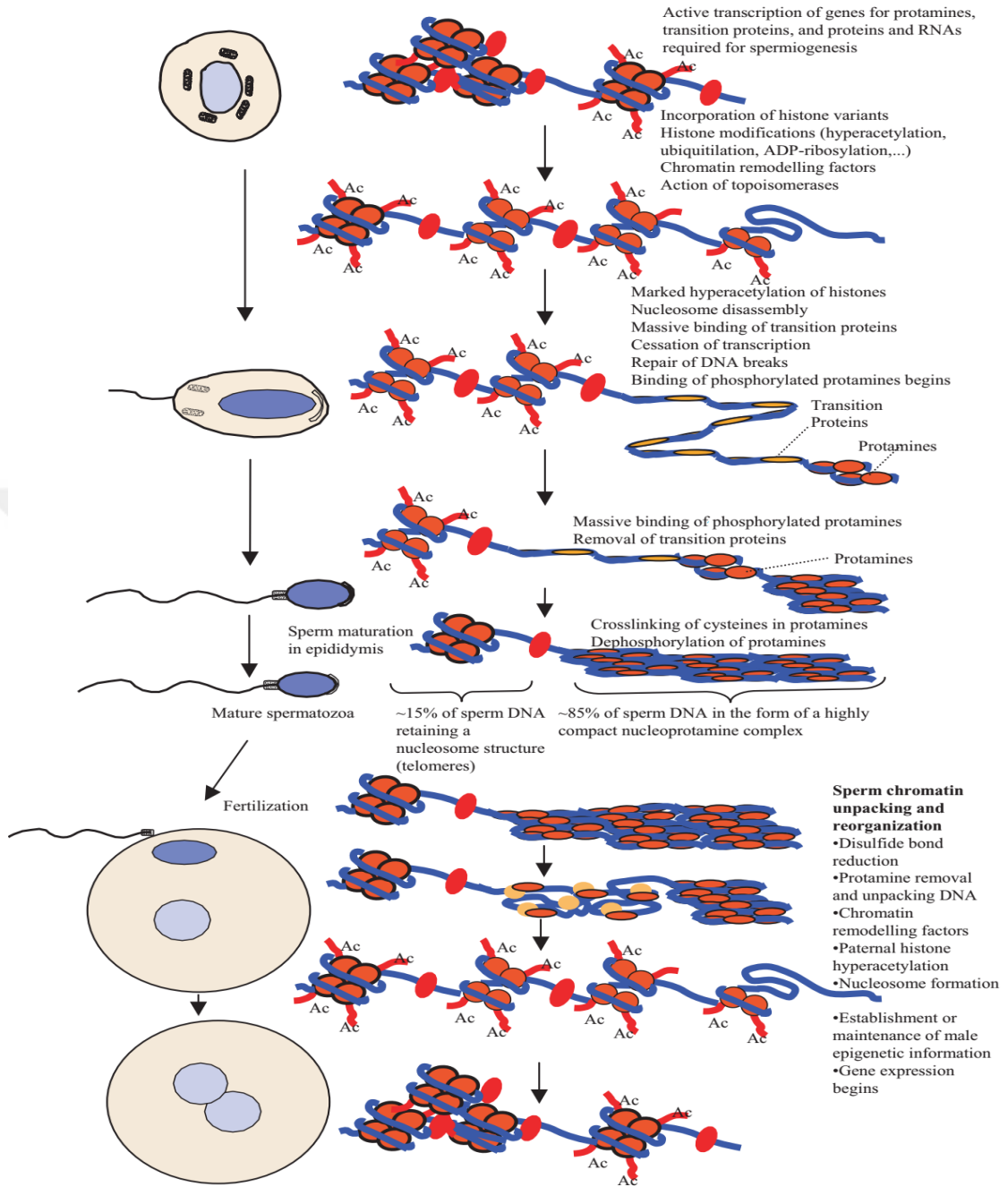
Genel olarak, bu proteinler çeşitli spermatogenez mekanizmalarında ve sperm hareketliliğinde rol oynar. Döllenme, spermatozoa ve oositler arasında doğrudan bir etkileşimi, hücre zarının birleşmesini erkek ve dişi gamet genomlarının birleşmesini içerir. Bu süreç, kompakt spermatozoa DNA bütünlüğü tarafından desteklendiğinde tam olarak gerçekleşebilir. Spermatozoa'nın DNA bütünlüğü, doğru genetik bilginin iletilmesinde önemli bir rol oynar (Agarwal vd. 2003, Primakoff vd. 2002).

Spermatozoa DNA'sının nükleazlara karşı dirençli olması için somatik hücre kromatini gibi iyi korunması gerekir. Normalde, spermatozoa kromatini iyi yapılandırılmıştır, yapı DNA içeriği ile kompakttır ve nükleoprotein heterojendir. Spermatozoa kromatininin kompaktlığı, DNA ve çekirdek spermatozoa proteinleri, özellikle de protamin arasındaki bağdan kaynaklanmaktadır (Manicardi vd. 1995, Simon vd. 2010, Ward ve Donald 1991).

Spermatozoanın kromatin veya DNA hasarının çeşitli anormal formları erkek infertilitesine neden olur. Spermatozoa DNA'sındaki hasarların bir infertilite biyobelirteci olarak rol oynadığı düşünülmektedir. Spermatozoa DNA hasarının birçok nedeni protamin eksikliği, DNA fragmantasyonu ve anormal kromatin bileşimidir (Kodama vd. 1997, Zini ve Libman 2006).

Protamin bir erkeğin normal fertilitesinde önemli bir rol oynar. P1 ve P2'deki eksiklik subfertil veya şiddetli infertil durumlara neden olur. Daha önce yapılan çalışmalar insan spermatozoasındaki DNA hasarının üreme sonuçlarının bozulmasına neden olduğunu göstermiştir. Germ hücrelerinin DNA'sındaki hasarlar mutasyonları artırabilir ve sonuçta doğum kusurlarına, genetik hastalıklara ve kansere yol açabilir. Spermatozoa DNA'sındaki hasarların erkek kısırlığı ve anormal spermatogenez oluşumuyla yakından ilişkili olduğu düşünülmektedir. Anormal protamin ekspresyonu, spermatogenezin bozulmasıyla bağlantılı patolojiye neden olur (Fraga vd. 1996, Zini ve Libman 2006).

Spermatogenez sürecinde protamin ile histon değişiminin moleküler mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır. Kanıtlar, histonların epigenetik modifikasyonlarının muhtemelen insan spermatozoasında histonlar / protamin değişimi için en önemli düzenleyiciler olduğunu göstermiştir (Şekil 2.4) (Huang vd. 2023). Bununla birlikte, olgun memeli spermindeki farklı protamin miktarları nedeniyle histon/protamin değişimi türlere göre farklılık gösterebilir (Oliva 2006).



Şekil 2.4 Protamin ile histon değişimi (Oliva 2006)

Bu şemada, spermiogenez sırasında nükleohiston-nükleoprotamin geçişi ve döllenmede nükleoprotaminin açılması sırasında meydana gelen kromatin değişiklikleri gösterilmektedir. Yuvarlak spermatidlerde kromatin, DNA'nın nükleozomlarda bulunduğu ve aktif transkripsiyonun gerçekleştiği somatik hücrelere benzer. Spermiogenezin erken aşamalarında histonlar hiperasetillenir, nükleozomlar parçalanır,

transkripsiyon durur ve geçiş proteinleri (TNP'ler) DNA'ya bağlanır. Daha sonraki aşamalarda TNP'ler protaminlerle değiştirilir ve protaminler, epididimde DNA'yı disülfid bağlarıyla stabilize eder. Döllenme sırasında kompakt nükleoprotamin açılır ve nükleozomlara yeniden düzenlenir. Hiperasetillenmiş histonlar, TNP'ler (turuncu oval) ve protaminler (kırmızı oval) vurgulanmış olup, DNA mavi çizgilerle gösterilmiştir (Oliva 2006).

2.10 Sperm DNA Parçalanması

Normal sperm genetik materyali, başarılı döllenmenin yanı sıra sağlıklı yavrularla sonuçlanacak daha ileri embriyo ve fetal geleişim için gereklidir. Sperm DNA'sı yavrunun genomik materyalinin yarısına katkıda bulunur ve anormal DNA üreme sürecinde dengesizliklere yol açabilir. Hasarlı sperm kromatini veya DNA yapısının çevresel stresler, gen mutasyonları veya kromozomal anormallikler nedeniyle ortaya çıktığı düşünölmektedir (Agarwal ve Tamer 2003).

Sperm kromatin anormallikleri, spermiyogenezde DNA paketlenmesi sırasında veya sonucunda ortaya çıkabilir. Ayrıca serbest radikal (reaktif oksijen türleri; ROS) kaynaklı hasarın bir sonucu da olabilir. Abortif apoptoz da DNA hasarına neden olabilir. Memeli sperm hasarının kaynağı/mekanizması henüz tam olarak anlaşılamamıştır (Aitken vd. 1998, Gorczyca vd. 1993, Sailer vd. 1995). Tek bir insan ejakülatındaki değişken sperm kromatin yapısı da protamin içeriğine bağlanmıştır. Bu nedenle, işlenen protamin öncüllerinin proteolitik bölünmesindeki anormallikler, insan sperm kromatin heterojenliğinin ve potansiyel kısırlığın ek bir kaynağı olarak hareket edebilir (de Yebra vd. 1998). Sperm DNA parçalanmasının etiyojisi ile ilgili başlıca teoriler aşağıda açıklanmaktadır.

2.11 Ambalaj Kusurları

Normal şartlar altında, mayotik profazdaki rekombinasyon kontrol noktası, DNA tamamen onarılan veya kusurlu spermatozoidler ortadan kaldırılana kadar mayotik bölünme I'in devam etmesine izin vermez (Evenson vd. 2000, Page vd. 1997).

DNA kırılmalarının bağlanması sadece birincil DNA yapısının bütünlüğünün korunması için değil, aynı zamanda genom ifadesinin önemli birimi olan DNA döngü alanının yeniden birleştirilmesi için de gereklidir (Bannister ve Schimenti 2004).

Memeli kromatin paketlemesinin, spermiyogenez sırasında protaminasyonu kolaylaştıran çentikler oluşturmak ve bağlamak için endojen nükleaz (topoizomeraz II) aktivitesi gerektirebileceği öne sürülmüştür (McPherson 1993).

DNA çift iplikçik (ds) kırıkları yuvarlak ve uzayan spermatidlerde bulunmuştur ve mayoz I'in sonuna kadar bağlanmalıdır. Çentiklerin burulma stresini hafiflettiği ve histonların protaminler tarafından yer değiştirmesi sırasında kromatinin yeniden düzenlenmesine yardımcı olduğu düşünülmektedir. DNaz I-hipersensitif bölgelerin olgunlaşan spermatid çekirdekleri boyunca lokalize olduğu ve kromatin yeniden paketleme ve yoğunlaştırma modelini yansıtabilecek şekilde spermatid çekirdeğinin ön kutbundan arka kutbuna doğru arttığı bulunmuştur. Bu nedenle, kromatinin yeniden paketlenmesi, kromatinin histon hiper-asetilasyonu ve topoizomeraz II tarafından kırılmaların oluşturulması ve bağlanmasıyla koordineli bir şekilde gevşetildiği endojen nükleaz aktivitesini içeren hassas bir adımı içerir (Erenpreiss vd. 2006, McPherson 1993). Normalde yeni protamin çekirdekleri etrafında kromatin paketlenmesi tamamlanır ve epididimal geçiş sırasında DNA bütünlüğü yeniden sağlanır (McPherson ve Longo 1992). Bununla birlikte, epididimal geçişten sonra spermatozoada endojen çentiklerin varlığı, spermiyogenezde kromatin paketlenmesi sırasında bir hataya ve tamamlanmamış bir olgunlaşma sürecine işaret edebilir.

2.12 Oksidatif Stres

Reaktif Oksijen Türleri (ROS), aralarında hidrojen peroksit, süperoksit ve serbest radikallerin de bulunduğu oldukça reaktif oksitleyici ajanlardır (Erenpreiss vd. 2001).

Düşük seviyelerde ROS üretimi, sperm çoğalması, farklılaşması ve işlevi için hayati önem taşıyan gen ve protein aktivitelerinin modüle edilmesi için gereklidir. Memeli spermde, ROS üretiminin derecesi seminal antioksidanlar tarafından uygun şekilde kontrol edilir. Oksidatif stres, ROS üretimi ile antioksidan kapasite arasındaki dengesizlikten kaynaklanır. Yüksek düzeyde ROS, kusurlu spermatozoa (özellikle sitoplazması korunmuş olanlar) ve semen lökositleri tarafından üretilebilir (Sharma vd. 1996, Warren vd. 1987, Vernet vd. 2001, Zini ve Libman 2006).

Sperm mitokondrileri, elektron sızdırarak, sıçan spermatozoalarından üretilen serbest oksijen radikallerinin (ROS) bir kısmından sorumludur. Ayrıca, erkek üreme hücre hattı, kalsiyum ve NADPH varlığında ROS üretebilecek potansiyele sahip bir nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz (NOX5) enzimine sahiptir. Memeli spermatozoalarında, diğer ROS üreten sistemler arasında lipooksijenaz da yer alabilir (Aitken vd. 1997). Birçok çalışmada oksidatif stres ve DNA hasarı arasında bir bağlantı olduğu bildirilmiştir (Baker vd. 2004, Cummins vd. 1994, Donnelly vd. 1999, Twigg vd. 1998).

Epididimal geçiş sırasında tiyollerin yetersiz oksidasyonu, kusurlu spermatid protaminasyonuna ve disülfid köprüsü oluşumuna neden olabilir. Bu durum, sperm kromatininin paketlenmesini olumsuz etkileyerek sperm hücrelerini ROS kaynaklı DNA parçalanmasına karşı daha savunmasız hale getirir. Sperm DNA hasarı ile sperm kaynaklı ROS arasındaki ilişki, DNA hasarının spermiyogenezdeki (sperm sitoplazmik damlacıklarının genellikle döküldüğü dönem) bir kusurdan kaynaklanabileceği de öne sürülmektedir (Irvine vd. 2000).

2.13 Abortif Apoptoz

Memeli testislerinde germ hücreleri, olgun spermatozoa ile sonuçlanan farklılaşma adımlarından geçmeden önce birçok mitoz turu boyunca klonal olarak genişler. Bu klonal genişleme aşırıdır ve sertoli hücrelerinin destekleyici kapasitesi ile germ hücrelerinin sayısını eşleştirecek bir mekanizma gerektirir. Bu nedenle, apoptozis erkek gametlerin aşırı üretimini kontrol eder ve sertoli hücrelerinin destekleyici kapasitesini aşmamaları için normal çoğalma seviyelerini kısıtlar (Gomez vd.vd. 1996, Sinha vd. 1997). DNA hasarı gibi apoptotik belirteçlere sahip spermatozoanın varlığı, anormal semen parametreleri olan erkeklerde abortif apoptozun gerçekleştiğini gösterir (Hikim ve Ronald 1999).

DNA hasarlı spermatozoanın temizlenememesi, bir veya daha fazla seviyedeki işlev bozukluğundan kaynaklanabilir. Spermatogenezi azalmış erkeklerin apoptozu tetiklemek için yeterli spermatozoa üretemeyebileceği varsayılmaktadır. Sperm DNA parçalanmasına katkıda bulunan apoptotik mekanizmanın bir diğer önemli bileşeni, kaspaz adı verilen aspartik asit yönelimli sistein proteaz ailesinin üyelerini içerir (Francavilla vd. 2000, Huszar vd. 1997).

2.14 Erkek Kısırlığının Nedenleri

Erkek infertilitesinin, altta yatan genel etiyojileri nedeniyle genel olarak sınıflandırılabilir bir dizi neden vardır. Bunlar arasında tahmini olarak %2 ila %5 oranında endokrin bozukluklar (genellikle hipogonadizme bağlı), %5 oranında sperm taşıma bozuklukları (vazektomi gibi), %65 ila %80 oranında primer testis defektleri (tanımlanabilir bir nedeni olmayan anormal sperm parametrelerini içerir) ve %10 ila %20 oranında idiyopatik (infertil bir erkeğin normal sperm ve semen parametrelerine sahip olması) yer almaktadır. Bu verilerin genel tahminlere dayandığı ve kesin istatistiksel verilerin mevcut olmadığı belirtilmektedir (Winters ve Thomas 2014).

2.15 Erkek İnfertilitesi ve Genetik Polimorfizm

Genetik polimorfizmler, bazı erkek kısırlığı türlerine yatkınlığı artırabilir.—Birçok genetik polimorfizmi, insan azospermi popülasyonu ile ilişkilendirilmiştir. *MEII*, *PRDM9 (MEISETZ)*, *SPATA17*, *PARP-2* ve *UBR2* genleri, meiotik duraklama nedeniyle azospermi hastaları için genetik risk faktörleridir (Miyamoto vd. 2008). *SEPTIN12* geninin polimorfizmleri, sertoli hücresine özel sendromu olan hastalarla ilişkilendirilmiştir (Safarinejad vd. 2011).

Genetik polimorfizmler ve erkek infertilitesi son zamanlarda sıklıkla araştırılmaktadır. Son üç yılda erkek infertilitesi ile ilişkili olduğu belirlenen bazı genlerin (*MTHFR*, *SHBG*, *Piwi*, *CYP19A1*, *NER*, *GSTM1*, *BCL2*, *ESR1*, *ESR2*, *eNOS*, *TNP1*, *SOHLH1*, *EPPIN*, *GSTT1*, *TSSK6*, *TSSK2*, *MDR1*, *MSH5*, *MLH3*, *H2BFWT*, *PACRG* ve *FASLG* bulunmaktadır) mevcut olduğu bildirilmiştir (Hammoud vd. 2010).

2.16 Cinsel Sorunlar

Cinsel işlev bozukluğu hem erkeklerde hem de kadınlarda görülmekte ve yaygınlığı yaşla birlikte artmaktadır. İşlev bozukluğu, normal cinsel tepki döngüsünün çeşitli aşamalarında ortaya çıkabilir: arzu, uyarılma veya orgazm; ayrıca ağrıya da bağlı olabilir (Stringer 2016). Birçok cinsel sorun hem fiziksel hem de psikolojiktir. İktidarsızlık olarak bilinen erektil disfonksiyon, erken boşalma ve boşalamama cinsel ilişki sorunlarına örnek olarak verilebilir (Otunctemur vd. 2015).

2.17 Yaşam Tarzı

Yaşam tarzı, sağlığı etkileyen tüm davranışsal faktörleri kapsar; bunlar arasında beslenme, egzersiz ve zararlı maddelerin (örneğin, tütün ve alkol) tüketimi yer alır. Örneğin, diyetle indüklenen obezite, uyku ve cinsel davranışlar, hormonal profiller, skrotal sıcaklıkları ve semen parametrelerini değiştirerek erkek fertilitasını etkileyebilir; (Campbell vd. 2015) Ayrıca, azospermi sperm riski hem zayıf hem de aşırı kilolu

erkeklerde normal kilolu insanlara kıyasla artabilir. Kilo verme programları, hücresel DNA hasarının azalması, toplam hareketli sperm sayısının artması ve semen morfolojisinin iyileşmesi ile ilişkilendirilmiştir (Mir vd. 2018) Beslenme alışkanlıkları, alkol ve tütün tüketimi, uyuşturucu kullanımı ve psikolojik stres doğurganlığı etkileyen faktörlerdendir (Leisegang ve Dutta 2021).

2.18 Patofizyoloji

Erkek infertilitesi, gebe kalmaya potansiyel olarak yardımcı olabilecek tıbbi müdahalelere göre de sınıflandırılabilir (Barak ve Baker 2000).

- Tedavi edilemeyen erkek kısırlığı, %12 oranında görülür ve bu durum, primer seminifer tübül yetmezliği, Sertoli hücresine özel sendrom ve bilateral orkiektomi ile ilişkilidir.
- Erkek kısırlığının tedavi edilebilir nedenleri, %18 oranında bulunur ve bunlar arasında obstrüktif azoospermi, ejakülasyon kanalı, prostatik orta hattaki kistler, gonadotropin eksikliği, cinsel işlev bozuklukları, sperm otoimmunitesi, varikosel ve tersine çevrilebilir toksin etkileri yer alır.
- Tedavi edilemeyen erkek kısırlığı %70 oranında görülür ve bu durum, oligozoospermi, asthenozoospermi, teratozoospermi ve fonksiyonel kusurlarla birlikte normozoospermiyi içerir. Erkek kısırlığının nedenleri, genel olarak obstrüktif nedenler ve obstrüktif olmayan nedenler olarak geniş bir şekilde alt kategorilere ayrılabilir (Laboratuvar kılavuzu, insan semeninin incelenmesi ve işlenmesi, 5. baskı, Dünya Sağlık Örgütü, 2010) (Çizelge 2.1).
- Erkek kısırlığı için rutin başlangıç taraması, semen analizini içerir ve bu analiz 4-6 hafta arayla tekrarlanır. Kısırlık yaşayan erkeğin değerlendirilmesine, detaylı bir klinik öykü ve fiziksel muayene ile başlanır, ardından düzeltilebilir nedenleri belirlemek için bir dizi laboratuvar testi yapılır (Sihag vd. 2018).
- Laboratuvar testleri genellikle folikül uyarıcı hormon (FSH), luteinize edici hormon (LH) ve testosteron seviyelerini içerir. Hormon seviyeleri, ayırıcı tanıyı daraltmaya yardımcı olabilir ve sonraki yönetim stratejilerinin planlanmasına rehberlik eder (Çizelge 2.2) (Al-Anbary, 2017).

- Yaşam tarzının erkek üreme sağlığı üzerindeki birçok etkisi vardır. Sigara içme, alkol tüketimi, yasa dışı ilaç kullanımı, obezite, psikolojik stres, ileri paternal yaş, beslenme alışkanlıkları ve kahve tüketimi bu etkenler arasında sayılmaktadır. Diğer faktörler arasında testiküler ısı stresi, yoğun bisiklet antrenmanları, uyku eksikliği ve mobil telefon kullanımından kaynaklanan elektromanyetik radyasyona maruz kalma da sayılmaktadır (Durairajanayagam 2018).

Çizelge 2.1 Erkek kısırlığının nedenleri (Sihag vd. 2018)

Obstrüktif (testis sonrası) nedenler	Obstrüktif olmayan nedenler
1. Epididim tıkanıklığı a) İdiyopatik epididim tıkanıklığı b) Enfeksiyon sonrası (epididimit) c) Ameliyat sonrası (epididim kistleri)	1. Testis öncesi a) Edinilmiş endokrinopatiler b) Konjenital endokrinopatiler c) Hipofiz yetmezliği d) Testosteron takviyeleri
2. Vas tıkanıklığı erteler a) Vas deferens'in doğuştan yokluğu b) Vazektomi sonrası, ameliyat sonrası (fitik, skrotal cerrahi)	2. Testis a) Genetik kısırlık b) İdiyopatik anormal meni (oligoasthenoeratozoospermi sendromu) c) Kriptorşidizm d) Varikosel e) Gonad toksinlerine maruz kalma
3. Boşalma kanalı tıkanıklığı a) Prostatik kistler (Mueller kistleri) b) Ameliyat sonrası (mesane boynu ameliyatı) c) Enfeksiyon sonrası	3. Testis sonrası a) Boşalma bozukluğu b) Erektile disfonksiyon c) Sperm karşıtı antikorlar

Çizelge 2.2 Farklı infertilite nedenleri olan hastalarda (erkeklerde) hormon düzeyleri (Sihag vd. 2018)

Parametreler	Primer testis yetmezliği	Hipo gonadotropik Hipogonadizm	Obstrüktif Azospermi
FSH seviyesi	Yüksek	Düşük	Normal
Sol seviye	Yüksek	Düşük	Normal
Testosteron seviyesi	Düşük	Düşük	Normal

2.19 Erkek Genital Yolu Enfeksiyonu ve Bakteriospermi

Genital sistem enfeksiyonu (GYE) erkek infertilitesinin en önemli nedenidir ve sadece sperm hücresi fonksiyonunu değil, tüm spermatogenezi etkiler (Sanocka vd. 2004).

Spermatogenezde bozulma, seminal kanalın tıkanması ve spermatozoa fonksiyonunun bozulması, seminal plazma beyaz kan hücrelerinin aktivasyonu veya mikrobiyal ajanlara karşı hücrel reaksiyonların yanı sıra patolojik bakteri suşlarının gametojenik hücreler üzerindeki doğrudan etkisinden kaynaklanabilir (Sanocka-Maciejewska vd. 2005). Altta yatan en yaygın idrar yolu enfeksiyonları arasında kronik üretrit, akut/kronik prostatit ve epididimit veya orşit gibi skrotal enfeksiyonlar yer almaktadır (Shang vd. 2014).

İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV) gibi viral enfeksiyonlar bile kronik enflamasyonla ilişkilendirilmiş ve bu nedenle infertiliteye neden olmuştur. *Escherichia coli* veya *Chlamydia trachomatis* gibi patojenlerle semptomatik enfeksiyonların erkek infertilitesiyle doğrudan ilişkili olduğu kanıtlanmış olsa da, asemptomatik erkeklerde bakteriyel tespitin erkek infertilitesiyle ilişkili olup olmadığı belirsizliğini korumaktadır. (Schuppe vd. 2017). Ejakülat örneklerinin üretral kommensallerle potansiyel kontaminasyonu ve en doğru teşhis örneği sorusu, bu çözülmemiş soruna katkıda bulunmaktadır. Ayrıca, hangi bakteri türlerinin ilgili olabileceği ve asemptomatik erkeklerde antibiyotik tedavisinin etkili olup olmadığı belirsizliğini korumaktadır (Volz vd. 2022).

WHO'ya göre, 30'dan fazla virüs, bakteri ve parazit cinsel temas yoluyla bulaşmaktadır. Bu patojenlerden sekizi, dünya çapında en yüksek insidans gösteren cinsel yolla bulaşan hastalıklardan sorumludur. Bunlar: Hepatit B Virüsü, herpes simpleks virüsü, insan bağışıklık yetmezliği virüsü, insan papilloma virüsü, *Treponema pallidum*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* ve *Trichomonas vaginalis* olarak sıralanmaktadır (Schuppe vd. 2017).

Bununla birlikte infertilite, hepatit B virüsü gibi kan yoluyla bulaşan patojenlerden, *E. coli* veya *Staphylococcus aureus* gibi kommensal organizmalardan da kaynaklanabilir. Bazı çalışmalar, kısırlık yaşayan erkeklerin %6 ila %18'inin genital yol enfeksiyonları ile hastanelere başvurduğunu göstermektedir (Guiton vd. 2023).

Streptococcus spp., *Staphylococcus*, *Mycoplasma*, *E. coli*, *Chlamydia* ve *Ureaplasma* gibi patojen bakteriler, genital sisteme lökosit akışı ile akut enflamatuvar bir yanıt oluşturarak ROS üretim seviyesinde artışa neden olabilmektedirler (Sasikumar vd. 2013, Ochsendorf 1999, Potts vd. 2000).

Enfeksiyon/inflamasyonun neden olduğu erkek üreme sorunlarına ilişkin çeşitli hipotezleri rapor eden çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Theam, Dutta ve Sengupta, 2020). İnfertil hastaların seminal sıvı örneklerinden birçok mikroorganizma izole edilmiştir, ancak izole edilen organizmalardan herhangi birinin infertiliteye neden olup olmadığı belirlenememiştir (Momoh vd. 2012), *S. aureus*'un yüksek vajinal sürüntü ve endo-servikal sürüntü örneklerinden sırasıyla %38,7 prevalans oranı ve infertil çiftlerin semen kültürlerinden elde edilen bakteri suşları arasında %75 prevalans oranı ile baskın mikroorganizmalardan biri olduğu bildirilmiştir. *E. coli*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis* ve *S. aureus* gibi çeşitli bakterilerin in vitro sperm hareketliliğini engellediği bilinmektedir (Moretti vd. 2009). İn vitro çalışmalar *E. coli* ve *M. hominis*'in de insan spermatozoasına yapışarak morfolojik değişikliklere ve spermin dölleme potansiyelinde azalmaya yol açtığını göstermiştir (Ohri ve Prabha 2005, Kaur vd. 2010).

3. MATERYALLER VE YÖNTEMLER

3.1 Çalışmanın Tasarımı

Bu prospektif deneysel çalışma, 19 Eylül 2022 ile 20 Ocak 2024 tarihleri arasında Al-Nahrain Üniversitesi, Al-kafeel Süper İhtisas Hastanesi, İnfertilite Tanı ve Yardımcı Üreme Teknolojileri Yüksek Enstitüsü ve Gizlilik Laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

100 denekten alınan semen örnekleri, normozoospermi, oligozoospermi, asthenozoospermi ve teratozoospermi (dahil edilme kriterleri) olarak sınıflandırılmıştır. (Hariç tutma kriterleri) ise azospermi ve şiddetli oligoasthenoteratozoospermi hastalarıydı. Ayrıntılı bir anket, öykü ve fiziksel muayeneye dayalı olarak tasarlandı. Örnekler, masturbasyon yöntemiyle steril kaplarda toplandı. Her kişiden yalnızca bir semen örneği alındı. Örneklerin herhangi bir nedenle hasar görmesi veya kaybolma riski dikkate alınarak kişiden 2-7 gün içinde cinsel ilişkiye girmeden tekrar örnek vermesi istenmiştir.

Örnekler alındıktan sonra, semen analizine uygun olarak örneklerin tamamen sıvı hale gelmesi için hızla 37°C'de inkübe edildi (WHO standartlarına göre, 1999). Ardından, örnekler iki kategoriye ayrıldı: İlk olarak, patojenik bakteri gelişimi için seminal sıvı kültürü, ikincisi ise kromatin yoğunlaşması testi için sperm kromatin olgunlaşmamışlık yüzdesi (asit anilin mavisi ile boyama) kullanılarak yapıldı. Ayrıca, semen kültürünün mikrobiyolojik profili ile semen parametreleri arasındaki ilişki de değerlendirildi.

3.2 Malzemeler

3.2.1 Kimyasallar ve çözeltiler

Kullanılan ve tüketilen tüm kimyasal bileşikler ve çözeltiler Çizelge 3.1'de listelenmiştir.

Çizelge 3.1 Kullanılan malzemelerin markası ve üretim yerleri

Malzemeler	Marka	Ülke
Anilin mavi toz boyası	Iso laboratuvarı	Almanya
Kanlı agar	Tmmedia	Hindistan
Distile su		Irak
Asetik asit	Thomas Baker	Hindistan
Glutaraldehit	Sigma-Aldrich	A.B.D.
MacCONKEY agar	Tmmedia	Hindistan
Mineral yağ	Optika	İtalya
Nutrient agar	Tmmedia	Hindistan
API kiti	Tmmedia	Hindistan
Fosfat tamponlu salin	Fertipro.	Belçika

3.2.2 Malzemeler ve ekipmanlar

Bu çalışmada kullanılan araç ve gereçler Çizelge 3.2'da listelenmiştir.

Çizelge 3.2 Kullanılan araç ve gereçlerin markası ve üretim yerleri

Araç ve gereçler	Menşei
İnkübatör	Almanya
Bunsen brülörü	Çin
Santrifüj	Thermo (ABD)
Lamel	Çin
Tek kullanımlık şiringalar	Çin
Hassas terazi	Çin
Erlenmeyer	Almanya
Dereceli silindir	Almanya
Lam	Çin
Öze (tek kullanımlık steril)	Almanya
Işık mikroskobu	Çin
Mikropipet	Çin
Mikropipet uçları	Çin
Otoklav	İspanya
Pastör pipeti	Çin
Petri kabı	Çin
pH metre	Kuveyt
Su banyosu	Tayvan

3.3 Malzemelerin Hazırlanması

A. Macconkey Agar

- 55 gr 1000 ml distile suda çözüldü
- Ortamın tamamen çözünmesi için hafifçe ısıtıldı
- 15 psi'de 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavlanarak sterilize edildi
- 45-50 °C'ye soğutulduktan sonra petri kaplarına dağıtıldı

B. Kanlı Agar

- 40 gr 1000 ml distile suda çözüldü
- Hafifçe karıştırarak kaynama noktasına kadar ısıtıldı
- Distile suda tamamen çözülmesi sağlandı
- 15 psi'de 121°C'de 15 dakika boyunca otoklavlanarak sterilize edildi
- 45-50c'ye soğutuldu
- Aseptik olarak %5-7 v/v steril defibrine kan eklendi
- Düzgün bir şekilde karıştırıldı ve steril petri plakalarına dağıtıldı

C. Çikolata Agar

- Blood agar 40.0 gm'ı 1000 ml distile suda çözüldü
- Hafifçe karıştırarak kaynama noktasına kadar ısıtıldı ve distile suda tamamen çözünmesi sağlandı
- Otoklav çıkışı 70 °C 'a soğutulup, %5-10 oranında defibrine koyun kanı eklenip karıştırıldı
- Petri kutularına 12,5 mL olacak şekilde döküldü.

Anilin Mavisi Boyası

Anilin mavisi, dekondeize olmuş kromatindeki proteinleri boyayarak sperm kromatini bütünlüğünü belirlemek için kullanılan asidik bir boyadır. Bu boyama yöntemi, sperm

çekirdeğinin temel protein içeriğini (lizin açısından zengin histonlar ve sistein/arginin açısından zengin protaminler) ayırt eder. Anilin mavisi, sperm hücresindeki kromatin yapısındaki değişiklikleri ve DNA bütünlüğüyle ilgili bozuklukları göstermek için yaygın olarak kullanılır. (Patil vd. 2021).

Olgunlaşmamış kromatini olan spermatozoalar, lizin açısından zengin kalıntı histonlarına sahiptir ve bu histonlar mavi boyayı bağlama eğilimindedir. Olgun spermatozoaların kromatini arginin ve sistein içeren protamin açısından zengindir ve lizin seviyesi düşüktür. Bu durumda, sperm boyayı almaz ve boyasız kalır (Dutta vd. 2021, Irez vd. 2015).

3.3.1 Anilin mavisi boyasının hazırlanması

Fosfat tamponlu salin (100 ml) cam bir konik şişeye eklendi ve PBS'nin pH'ı, 4.5 ml glasiyal asetik asit eklenerek 3.5'e ayarlandı; bu işlem bir pH metre kullanılarak kalibre edildi. Daha sonra, 5 gram anilin mavisi tozu asidik karışıma çözüldü ve karışım kısa bir süre gaz brülörü kullanılarak kaynatıldı (Şekil 3.1'de gösterildiği gibi). Çözeltinin oda sıcaklığına kadar soğuması sağlandı ve ardından filtre kağıdı kullanılarak süzüldü (WHO 2010).

3.3.2 Fiksatif çözeltisinin hazırlanması

Anilin mavisi boyama sırasında kullanılacak %3'lük (V/V) fiksatif çözeltinin hazırlanması için 97 ml PBS'ye 3 ml glutaraldehit eklendi ve iyice karıştırıldı, Şekil (3-2) (WHO 2010).

3.4 Seminal Sıvı Analizi

Bu çalışmada kullanılan semen örnekleri aşağıda açıklandığı şekilde işlenmiştir. Tüm örneklerin semen parametreleri (sıvı hacmi, sperm konsantrasyonu, motilite ve

morfoloji) WHO Manual of Human Seminal Fluid Analysis (2010) beşinci baskısının alt referans limit kriterleri dahilinde gerçekleştirildi.

3.4.1 Seminal koleksiyon

3.4.1.1 Genel bakış

Bu çalışmada kullanılan semen örnekleri, özel bir odada masturbasyon yoluyla doğrudan steril, plastik, toksik olmayan sperm ve hastaya verilen geniş ağızlı bir kaptan toplandı. Numunelerin alındığı kabın üzerine hasta adı, eşin adı, yaş, cinsel perhiz günü ve kimlik numarası yazılarak kaydedildi.

Hastaya 2 ila 7 gün arasında cinsel perhiz yapması, ejakülata herhangi bir fraksiyonda kayıp olmadan tamamen toplanması ve herhangi bir kayganlaştırıcı kullanmaması gerektiği sözlü olarak bildirildi. Semen örneği toplandıktan sonra, semen sıvılaşması tamamlanana kadar 37 C°de 24 saat inkübe edildi. (Liu vd. 2022).

3.4.1.2 Mikrobiyolojik analiz için semen toplanması ve dikkat edilmesi gereken durumlar

- Semen mikrobiyolojik kültüründen elde edilecek verilerin doğru ve güvenilir olması için özellikle dış kontaminasyonların en aza indirilmesi son derece önem arz etmektedir.
- Örnek kapları, pipet uçları ve karıştırma için kullanılan pipetler steril olmalıdır. İdeal olarak, mikrobiyolojik testler için örneklerin alınması, meni üzerinde herhangi bir başka değerlendirme yapılmadan önce gerçekleştirilmelidir.
- Erkek, semen örneği vermeden önce son 2-5 gün boyunca cinsel ilişkiden veya aşırı masturbasyondan kaçınmalıdır.

- Erkek, semen örneği vermeden önce idrarını yapmalıdır. Bu, seminal sıvıdaki idrar kalıntılarını temizlemeye yardımcı olur ve daha doğru bir semen örneği elde edilmesini sağlar.
- Erkek, semen örneği vermeden önce ellerini ve penisini sabunla yıkamalıdır. Bu, örneğin cilt üzerindeki zararsız mikroorganizmalarla kontamine olma riskini azaltmaya yardımcı olur.
- Erkek, steril bir kaba semen örneğini boşaltmalıdır. Bu, örneğin kontaminasyondan korunmasını sağlar ve doğru analizler için uygun bir örnek elde edilmesine yardımcı olur (WHO 2010).

3.4.1.3 Örneklerin Inokülasyonu

Örneklerin kültür ortamına inokülasyonu bakteriyolojik öze yardımıyla gerçekleştirildi ve besiyerine inoküle edilen numuneler 37 °C'de 24 saat inkübe edildi (Janagond vd. 2022).

3.4.1.4 Kültür tanımlama

Kültürden bakteri tanımlaması, geleneksel biyokimyasal testlerle veya otomatik tanımlama sistemleriyle yapıldı.

3.4.2 Semen örneğinin makroskopik muayenesi

A. Görünüm

Semen örneği, sıvılaşmadan sonraki ilk saat içinde incelendi. Örneğin normal kabul edilebilmesi için homojen ve kremimsi/gri opak bir görünüme sahip olması gerekmektedir. Sperm konsantrasyonu aşırı derecede düşük olduğunda, örneğin daha az opak görünebilir. Kırmızımsı kahverengi tonu kırmızı kan hücrelerinin (hemospermi) varlığına işaret eder, soluk sarı renk ise sarılığı gösterebileceği veya belirli vitaminlerin ya da ilaçların alımıyla ilişkili olabilir (WHO 2010).

B. Hacim

Semen hacmi, herhangi bir dereceli Pastör pipeti veya dereceli tüp vasıtasıyla herhangi bir hacim kaybını en aza indirmek için doğrudan toplanan kabın hacim ölçęęi kullanılarak ölçüldü. Örnek hacmi 1,4 ml'den az ise hipovolemik, 6,9 ml'den fazla ise hipervolemik olarak kabul edildi (WHO 2010).

C. Sıvılaşma

Ejakülatın tamamen sıvılaşması normalde oda sıcaklığında 15-30 dakika içinde gerçekteşirken, bazı örneklerin sıvılaşması 60 dakikaya kadar sürebilmektedir. Sıvılaşma bu zamana kadar tamamlanmazsa, ejakülate mekanik pipetleme yoluyla indüklenmiş sıvılaşma uygulanır (WHO 2010).

D. Viskozite

Ejakülatın viskozitesi geniş delikli bir Pasteur pipetinden aspire edilerek tahmin edildi, (normal viskoziteye sahip semen pipeti bir damla olarak terk eder). Damla 2 cm'den uzun bir iplik oluşturuyorsa numune viskoz kabul edilir (WHO 2010).

E. Seminal Ph

Semen pH'ı turnusol kağıdı kullanılarak ölçüldü. Sıvılaştırılmış meniden bir damla kağıda damlatıldı ve sonucu değerlendirmek için birkaç saniye beklendi, meninin pH'ı hafif alkali olduğunda (7,2'den fazla) normal olarak kabul edildi (WHO 2010).

3.4.3 Mikroskopik inceleme

İyi karıştırılmış ve kabarcıksız semenden iki tekrarlı örnek (10 μ L) önceden ısıtılmış bir lam üzerine yerleştirildi, üzeri bir lamel ile kapatılarak (22 \times 22 mm) ışık mikroskobu (40X) altında incelendi (WHO 2010).

A. Sperm konsantrasyonu

Sperm konsantrasyonunu tahmin etmek için, iki replikat örnek (10 µl) alındı ve toplamda en az 200 sperm (toplam 400 sperm) sayıldı. Bu, sperm sayımı için ıslak preparat kullanıldığında kabul edilen %5-7 arasındaki örnekleme hatasını azaltmak amacıyla yapıldı (WHO 2010).

Bu spermlerin toplamı, yüksek güç alanı (HPF) başına ortalama sperm sayısını elde etmek için alan sayısına bölündü. Ortalama sperm sayısı daha sonra nihai konsantrasyonu tahmin etmek için mikroskopik alan faktörüne bölündü. Alan faktörü mikroskopta gözlemlenen alanın büyüklüğüne bağlıdır (Ek 2). Bu çalışmada kullanılan mikroskopun alan faktörü (4) idi. Toplam sperm sayısı, sperm konsantrasyonunun semen hacmiyle çarpılmasıyla elde edildi (WHO 2010).

B. Sperm hareketliliğinin değerlendirilmesi ve derecelendirilmesi

Sperm hareketliliğini değerlendirmek için, her bir örnekten rastgele 200 sperm sayılması, kapak camının kenarlarına daha yakın alanların değerlendirilmesinden kaçınılmasını sağlar. Bu alanlar, hareketlilik kısıtlaması nedeniyle hareketliliği etkileyebilir. Hareketli ve hareketsiz sperm sayısı, aşağıdaki parametrelere göre kaydedildi (WHO 2010). Hareketliliği değerlendirmek için kullanılan üç kategorili bir derecelendirme sistemi:

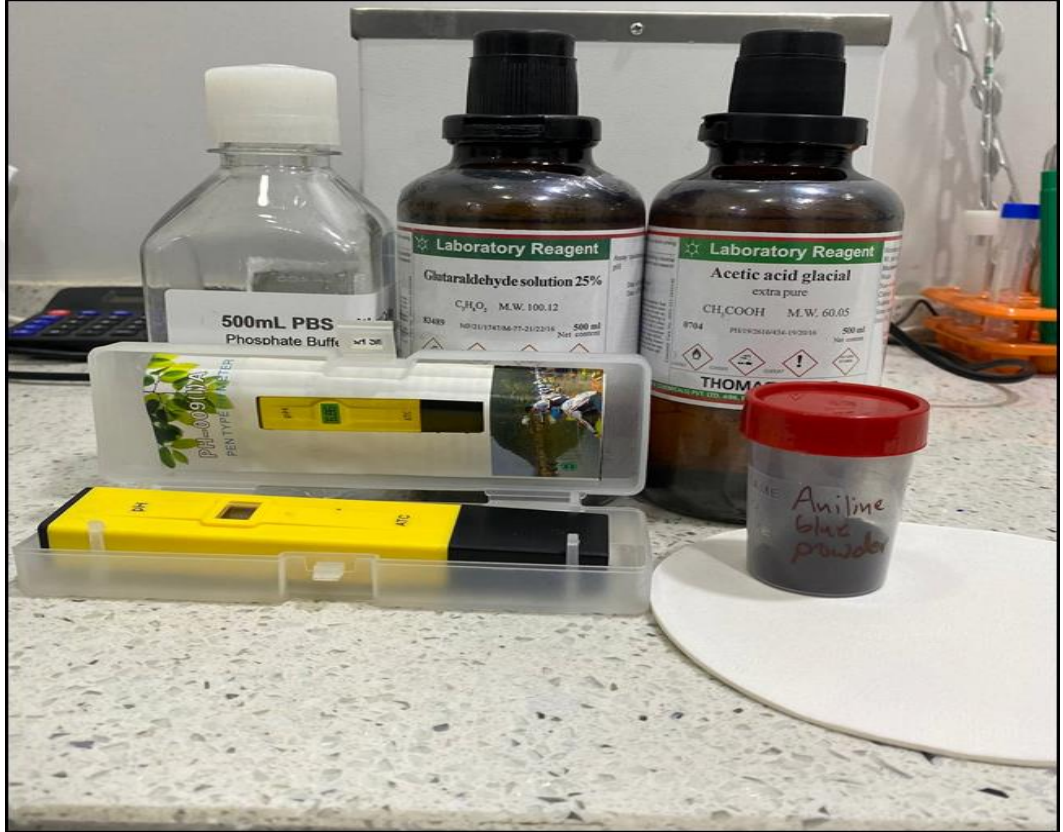
1. Progresif: spermatozoa, hızdan bağımsız olarak doğrusal veya geniş bir daire içinde aktif olarak hareket eder.
2. Non- non progresif: spermler progresyon dışında her türlü hareketi yapar.
3. İmmotil: kamçı hareketi yok.

Sperm hareketliliğini hesaplamak için aşağıdaki formül kullanıldı.

$$\text{Sperm hareketliliği} = \frac{\text{motile sperm sayısı}}{\text{total sperm sayısı}} \times 100$$

3.5 Asidik Anilin Mavisi Boyası Kullanılarak DNA Bütünlüğünün Değerlendirilmesi

Bu çalışmada, basit ve ucuz olması nedeniyle DNA bütünlüğünü değerlendirmek için asidik anilin mavisi boyası kullanıldı.



Şekil 3.1 Fosfat tampon tuzlu su, glutaraldehit çözeltisi, glasiyal asetik asit, anilin mavisi tozu ve pH metre



Şekil 3.2 Fiksatif çözeltisi ve anilin mavisi boyası

3.6 Boyama Prosedürü

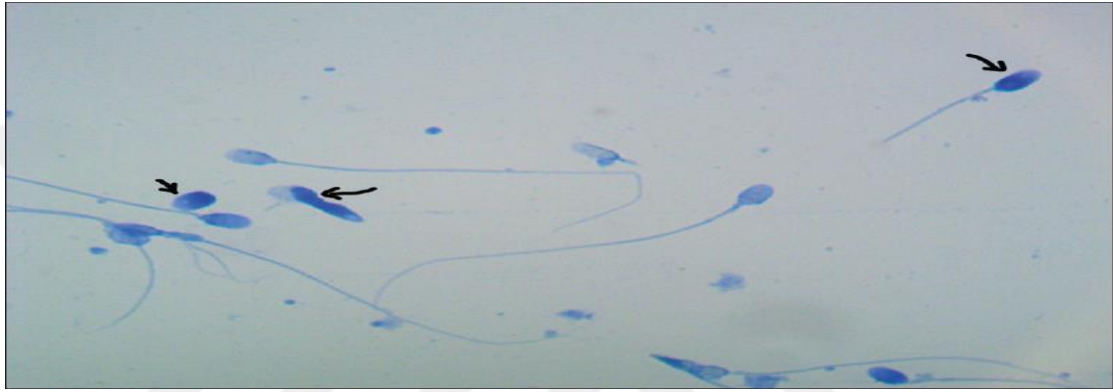
Sıvılaştırmadan sonra, 1 mL temiz semen 0,2 M fosfat tamponu içinde iki kez yıkandı. Cam lamalar üzerine 10 µL sperm peleti yayıldı ve sperm yaymalarının havada kurutuldu. Yaymalar 30 dakika boyunca tamponlanmış glutaraldehit çözeltisi ile fikse edildi. Daha sonra lamalar 5 dakika boyunca sulu anilin mavisi solüsyonu ve asetik asit (PH=3,5) ile boyandı. Her boyalı yayma için 200 sperm, yağ daldırma ışık mikroskobu (100x objektif lens) kullanılarak değerlendirildi.

Çekirdekleri boyanmamış spermatozoa normal (olgun kromatin) olarak kabul edilirken, mavi boyananlar anormal (olgunlaşmamış kromatin) olarak kabul edildi (Şekil 3.4) Sperm kromatininin yüzdesi, koyu mavi sperm başlarının (olgunlaşmamış) sayısının toplam sperm sayısına oranının 100 ile çarpılmasıyla hesaplandı (Talebi vd. 2012). Mavi boyalı çekirdekli sperm oranı %20'den az olan bir ejakülat normal kabul edildi (Auger vd. 1990).

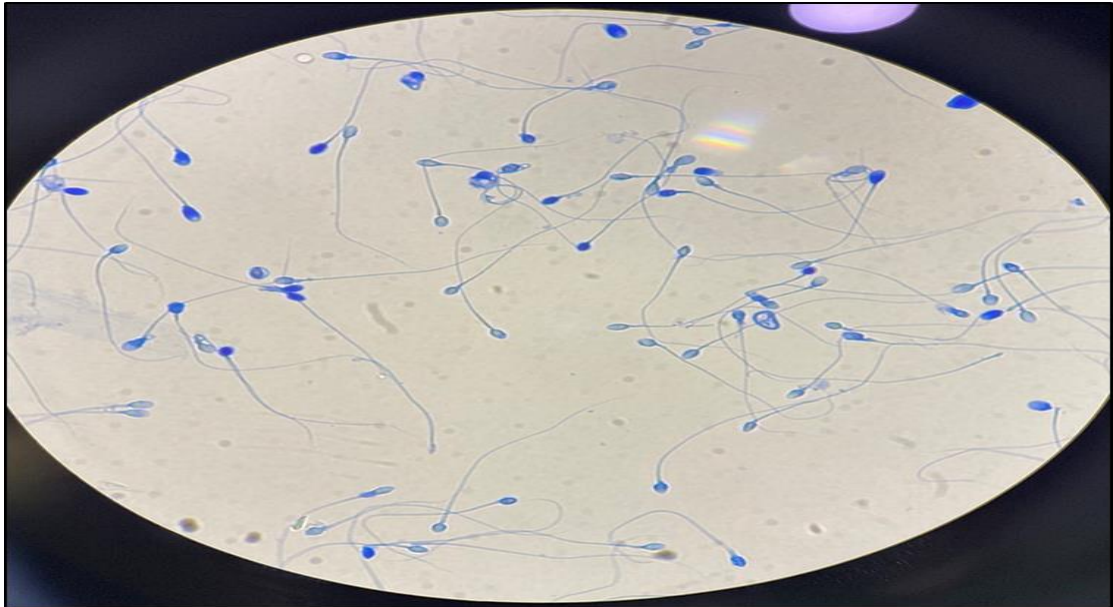
3.7 Sperm DNA Parçalanmasının Analizi

Sperm kromatin hasarı seviyeleri aşağıdaki kriterlere göre tahmin edildi:

% 0-15 SDF parçalanmış DNA'ya sahip sperm hücrelerinin düşük seviyeleri, yüksek fertilite potansiyeli, %15-30 SDF orta seviyeler, orta fertilite potansiyeli ve >%30 SDF yüksek seviyeler, düşük fertilite potansiyeli olarak kabul edildi (Vinnakota vd. 2019, Yang vd. 2019). Yeşil bir parlıtya sahip olanlar normal çekirdekli ve çift sarmallı DNA'ya sahip sperm hücreleri olarak kabul edildi. Kırmızı/turuncu bir parlıtya sahip olanlar hasarlı çekirdeğe ve/veya tek sarmala sahip olan hücreler olarak değerlendirildi (Şekil 3.3, Şekil 3.4).



Şekil 3.3 Kromatin yoğunlaşmasını değerlendirmek için asidik anilin mavisi stan (Patil vd. 2021)



Şekil 3.4 Mikroskop altında AAB boyası ile sperm, slayt A) koyu mavi boyanmış spermleri (anormal DNA bütünlüğü) ve B) açık mavi boyanmış veya boyanmamış spermleri (normal DNA bütünlüğü) göstermektedir

3.8 İstatistiksel Analiz

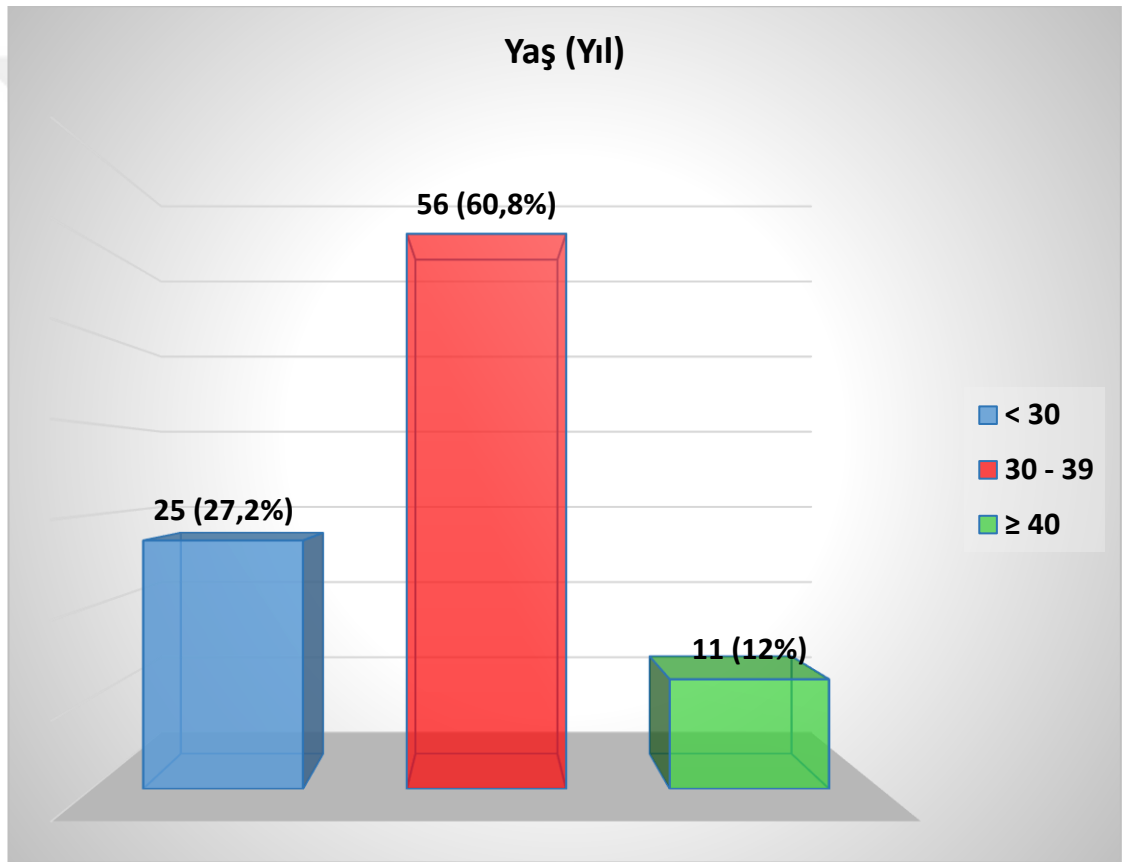
Veriler, Sosyal Bilimler için İstatistik Paket Programı (SPSS) sürüm 26 kullanılarak analiz edildi. Veriler ortalama ve standart sapma olarak sunuldu. Kategorik veriler ise frekans ve yüzdelerle ifade edildi. Sürekli değişkenleri karşılaştırmak için İki yönlü Varyans Analizi (ANOVA) kullanıldı. P değeri 0.05'ten küçük olan sonuçlar anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 İnfertil Erkeklerin Yaş Dağılımı

Elde edilen veriler yaş dağılımına göre, Şekil 4.1 görüldüğü gibi en fazla sayıda hastanın 56 (%60,8) ile 30-39 yaş aralığında olduğu, bunu 25 (%27,2) ile <30 yaş grubunun izlediğini gösterdi. Ayrıca, en düşük hasta sayısının 11 (%12) ile ≥ 40 yaş grubunda yer almakta olduğu gözlemlendi.



Şekil 4.1 Hastaların yaş dağılım grafiği

4.2 İnfertil Erkeklerin Yaşam Tarzı

Bu çalışma sırasında 92 infertil erkeğin 55'i (%59,8) halen sigara içerken, 37'sinin (%40,2) sigara içmediği belirlendi. Yoksunluk süresine bakıldığında, infertil erkeklerin 49'unun (%53,3) ≤ 3 gün yoksunluk yaşadığı, buna karşılık 43'ünün (%46,7) >3 gün

yoksunluk yaşadığı belirlendi. Ayrıca, infertil erkeklerin 60'ının (%65,2) <3 yıl, 23'ünün (%25) 3-5 yıl dölleyememe süresine sahipken, daha az sayıda infertil erkeğin 9'unun (%9,8) 5 yıldan fazla dölleyememe süresine sahip olduğu belirlendi (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 İnfertil erkeklerin yaşam tarzı

Değişken	Sayı (n= 92)	Yüzde (%)
Sigara içme durumu		
Şu anda sigara içiyor	55	59,8
Sigara içmeyen	37	40,2
Yoksunluk süresi (Gün)		
≤ 3	49	53,3
> 3	43	46,7
Dölleyememe süresi (Yıl)		
< 3	60	65,2
3 - 5	23	25,0
> 5	9	9,8

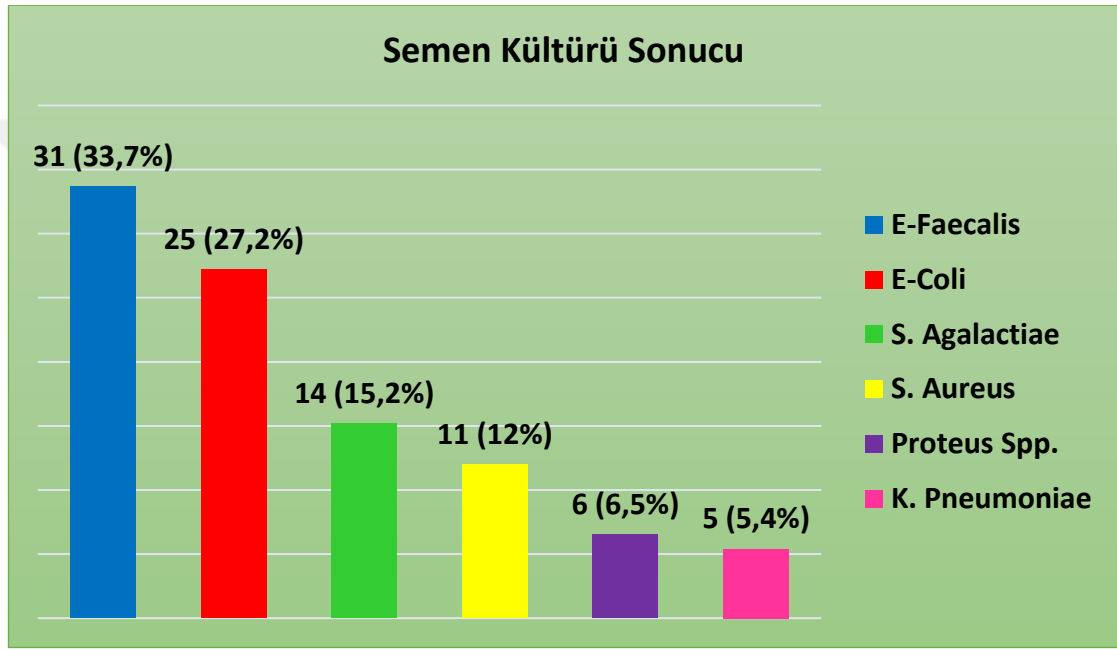
Sigara kullanımı, üreme sağlığı için önemli bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Kumar vd., 2014). Sigara içiciliği, üreme hormonlarında bozukluklara, spermatogenez ve sperm olgunlaşmasında bozulmalara ve spermatozoaların işlevlerinin bozulmasına neden olabilmektedir (Saleh vd., 2002).

Çalışmamız, Rehman vd. (2019) tarafından yapılan bir çalışmanın bulguları ile uyumlu bulunmuştur. Bu çalışma, katılımcıları sigara içme durumlarına göre sınıflandırmıştır. Çalışmalarına göre, 272 birey (%72) sigara içici, 104 birey (%28) ise sigara içmeyen olarak belirlenmiştir. Rahman ve arkadaşlarının belirttiği üzere sigara içicilerinin sigara içmeyenlere göre daha yüksek bir katılım oranına sahip olduğu belirlendi.

Çalışmamıza benzer bir çalışma, Cui vd. (2016) tarafından gerçekleştirilmiş ve sigara içme durumu ile sperm aktivitesi ve morfolojisi arasındaki ilişki analiz edilmiştir. Bulgular, 920 katılımcının sigara içicisi, 298 katılımcının ise sigara içmeyen olduğunu ortaya koymuştur.

4.3 Semen Kültürünün Bakteriyolojik Profili

Semen kültürünün bakteriyolojik profiliyle ilgili olarak, en yüksek prevalans *E. faecalis* (%33.7) ile bulunmuş, bunu %27.2 ile *E. coli*, %15.2 ile *S. agalactiae*, %12 ile *S. aureus* ve %6.5 ile *Proteus* türleri takip etmiştir. En düşük prevalans ise %5.4 ile *K. pneumoniae*'de gözlemlenmiştir. Bu bulgular, infertil erkek popülasyonunun semen kültürlerinde bakteriyel dağılımı gösteren Şekil 4.2'de sunulmuştur.



Şekil 4.2 Semen kültürlerinden izole edilen bakteri türlerinin dağılımı

Çalışmamızda, *E. faecalis* en yaygın tür olarak ortaya çıkmıştır. Bu bulgular, Ricci vd. (2018) tarafından yapılan çalışmayla uyumludur. Bu çalışma, *E. faecalis*'i pozitif semen örneklerinin %11.6'sında en sık tespit edilen tür olarak tanımlamıştır. Çalışma ayrıca, bu bakterinin hem sperm morfolojisi ($p = 0.026$) hem de hareketliliği ($p = 0.003$) üzerinde önemli bir olumsuz etki yarattığını göstermiştir. Moretti vd. (2009) tarafından yapılan bir çalışmada, 246 hastada yapılan spermiokültürde *E. faecalis*'in en yaygın tür olarak tespit edildiğini ve 79 örnekte bulunduğunu ortaya koymuştur. Çoğu çalışma, *E. faecalis*'in sperm hareketliliği ve morfolojisi üzerinde önemli olumsuz bir etki yarattığını göstermiştir (Ricci vd. 2018, Moretti vd. 2009).

Çalışmamızda *E. coli* 92 katılımcınının 25'inde (%27.2) tespit edilmiştir. Bu bulgular, Ricci vd. (2018) tarafından yapılan çalışmayla benzerlik göstermektedir. Bu çalışmada, 285 katılımcıdan 30 örnekte (%15.4) *E. coli* gelişimi gözlemlendi. Irak'ta yapılan bir çalışmanın bulgularına göre *E. coli* en sık izole edilen bakteri olarak belirlenmiş ve prevalansı %13.7 olarak tespit edilmiştir (Abbas vd. 2019). Benzer şekilde, Al-Janabi vd. (2014) tarafından Irak'ta yapılan başka bir çalışmada, *E. coli*'nin 408 hastadan 65'inde (%11.14) tespit edildiği bildirilmiştir.

Bu çalışmada *S. agalactiae* 14 vakada (%15.2) ve *S. aureus* 11 vakada (%12) tespit edildi. Bu bulgular, Abbas vd. (2019) tarafından yapılan çalışmayla benzerlik göstermektedir. *Staphylococcus*, diğer taraftan daha düşük bir enfeksiyon oranına sahipti (%10). Ayrıca, Faisal ve Salman (2021) tarafından yapılan bir çalışmada *S. epidermidis* ile yapılan enfeksiyonlarda gelişme oranı %16.6 olarak bildirilmiştir. Çalışmamıza benzer bulgulara sahip olan Uneke ve Ugwuoru (2010) tarafından yapılan çalışmada, *S. aureus* semen örneklerinde %15.4 oranında tespit edilmiş, *Streptococcus* spp. ise infertil erkeklerin semen örneklerinin %11.5'inde bulunmuştur. Önceki araştırmalar, *Staphylococcus* ve *Streptococcus* dahil olmak üzere gram-pozitif bakterilerin, seminal sıvıda bulunan en yaygın patojenler olduğunu göstermiştir (Machen vd. 2018, Abeyundara vd. 2013).

Uneke ve Ugwuoru (2010) tarafından yapılan benzer bir çalışmada, infertil erkeklerin semenlerinde *Proteus* spp. (%25) ve *Klebsiella* spp. (%11.5) tespit edilmiştir. Ayrıca, Bhatt vd. (2001) tarafından yapılan bir araştırmada izolatlar arasında *Proteus* spp. (%6.4) ve *Klebsiella pneumoniae* (%9.6) bulunmuştur. Vilvanathan vd. (2016) tarafından yapılan bir araştırmada ise *K. pneumoniae* bakterilerinin nadiren tespit edildiği bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada hastaların semenlerinde farklı türlerdeki bakterilerin gelişimi fertilitenin azalmasına yol açabileceğini düşündürmektedir. Sonuçlar Gdoura vd. tarafından (2008) yapılan bir çalışmayla desteklenmektedir. Aynı çalışmada, infertilite ile üreme sisteminde zararlı bakterilerin varlığı arasındaki ilişki geniş çapta kabul edilmiştir.

4.4 Seminal Sıvı Parametreleri

4.4.1 Seminal sıvı hacmi

Çizelge 4.2'de, bakteriyel izolatların semen hacmi üzerinde farklı etkileri gösterilmiştir. En yüksek hacim, *S. aureus* izolatlarında 5.15 ± 0.8 mL olarak kaydedilmiş, bunu 5.0 ± 0.61 mL'lik semen hacmi ile *K. pneumoniae* enfeksiyonları takip etmiştir. *S. agalactiae* enfeksiyonları, 4.19 ± 0.81 mL ile biraz daha düşük bir hacimle sonuçlanmıştır. *E. faecalis* enfeksiyonları ve *Proteus* türleri enfeksiyonları ise benzer hacimlere sahip olup sırasıyla 3.25 ± 0.76 mL ve 3.25 ± 0.38 mL olarak ölçülmüştür. Buna karşılık, *E. coli* enfeksiyonları en düşük kaydedilen semen hacmine sahip olup, 3.09 ± 0.69 mL olarak ölçülmüştür. Ayrıca, bu bakteriyel izolatların seminal sıvı hacmi üzerindeki etkilerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmiştir (p-değeri < 0.0001).

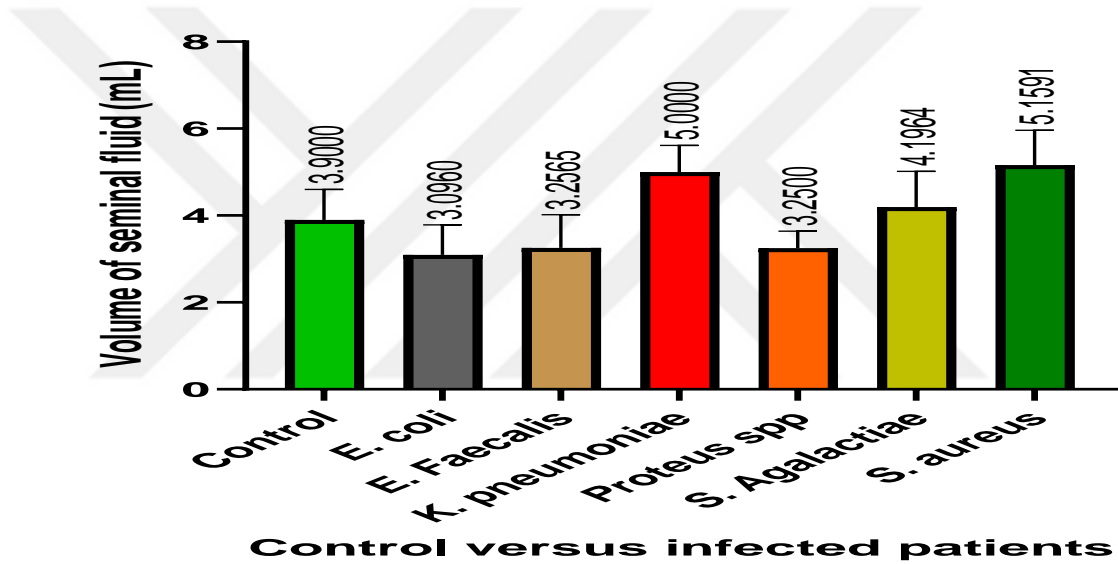
Çizelge 4.2 Bakteriyolojik profile göre seminal sıvı hacminin karşılaştırılması

Bakteriler	Hacim (ml) Ortalama \pm SD	P - Değer
<i>E. faecalis</i>	$3,25 \pm 0,76$	<0,0001****
<i>E. coli</i>	$3,09 \pm 0,69$	
<i>S. agalactiae</i>	$4,19 \pm 0,81$	
<i>S. aureus</i>	$5,15 \pm 0,8$	
<i>Proteus Spp.</i>	$3,25 \pm 0,38$	
<i>K. pneumoniae</i>	$5,0 \pm 0,61$	

Enfekte erkekler ile sağlıklı kontrol grupları arasındaki seminal sıvı hacminin karşılaştırılmasında, Çizelge 4.3 ve Şekil 4.3, her iki çalışma grubu arasında seminal hacimde istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir. Semen hacası üzerindeki en yüksek etki, *S. aureus* enfeksiyonunda gözlemlenmiştir (p-değeri = 0.0008), bunu *K. pneumoniae* enfeksiyonu (p-değeri = 0.0093) ve *E. coli* enfeksiyonu (p-değeri = 0.003) takip etmiştir. En düşük etki ise *E. faecalis* enfeksiyonu ile ilişkilendirilmiştir (p-değeri = 0.0188). Buna karşılık, *S. agalactiae* enfeksiyonu (p-değeri = 0.3486) veya *Proteus spp.* enfeksiyonu (p-değeri = 0.0548) ile seminal hacim üzerinde anlamlı bir etki bulunmamıştır.

Çizelge 4.3 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre seminal sıvı hacminin kontrol grubu ile karşılaştırılması

Hacim (ml)			
Bakteri ile enfekte hastalar	Ortalama ± SD	Kontrol Ortalama ± SD	P - Değer
<i>E. faecalis</i>	3,25 ± 0,76	3,90 ± 0,70	0,0188*
<i>E. coli</i>	3,09 ± 0,69	3,90 ± 0,70	0,0030**
<i>S. agalactiae</i>	4,19 ± 0,81	3,90 ± 0,70	0,3486 ^{ns}
<i>S. aureus</i>	5,15 ± 0,8	3,90 ± 0,70	0,0008***
<i>Proteus Spp.</i>	3,25 ± 0,38	3,90 ± 0,70	0,0548 ^{ns}
<i>K. pneumoniae</i>	5,00 ± 0,61	3,90 ± 0,70	0,0093**



Şekil 4.3 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre seminal sıvı hacminin kontrol grubu ile karşılaştırılması

Erkek infertilitesinin yaklaşık %35'i, genital idrar sistemi enfeksiyonları ile ilişkilidir (Rybar vd. 2012). Erkek genital idrar sisteminde, testis, epididim ve prostat enfeksiyonları sperm üretimini engelleyebilir ve doğurganlığı azaltabilir (Rusz vd. 2012). Ayrıca, genital idrar enfeksiyonları, seminal plazmadaki lökosit sayısının artmasına neden olabilir (Akgul vd. 2018).

Bu çalışmada *E. coli* enfeksiyonlarının en düşük kaydedilen semen hacmine yol açtığı gözlemlendi bu sonuç Al-Saadi ve Abd (2019) tarafından Irak'ta yapılan bir çalışmanın

bulgularıyla enzerlik göstermektedir. Aynı araştırmada bakteriyolojik kültür sonuçlarına dayalı olarak semen hacmi karşılaştırılmış ve *E. coli* varlığında en düşük seminal hacim (1.83 ± 0.93 mL) bildirmiştir.

Eini ve arkadaşlarıtarafından yapılan bir çalışmada en yüksek semen hacmi (5.00 ± 1.00 mL) *K. pneumoniae* enfeksiyonu olan hastalarda gözlemlenmiştir, bunu 4.80 ± 1.79 mL semen hacmi ile *S. aureus* enfeksiyonları takip etmiştir. *S. agalactiae* enfeksiyonu olan hastaların semen hacmi 4.02 ± 1.34 mL olarak kaydedilmiştir. *E. faecalis* ve *Proteus* spp. enfeksiyonları sırasıyla 3.30 ± 1.20 mL ve 3.50 ± 1.91 mL semen hacmi göstermiştir. Aynı alışmada *E. coli* enfeksiyonları en düşük semen hacmi ile ilişkilendirilmiş ve bu hacim 2.94 ± 0.89 mL olarak kaydedilmiştir (Eini vd. 2021). Yapılan bu çalışmada elde edilen bulguların bakteriyolojik kültür sonuçlarına dayalı olarak semen hacmini karşılaştıran Eini vd. (2021) alışmasıyla uyumlu olduğu gözlemlenmiştir.

Çalışmamız, bakteriyel enfeksiyonların sperm hacmini önemli ölçüde etkilediğini ortaya koymuştur ve bu bulgular Abdel Monem vd. (2013) tarafından yapılan araştırmalarla uyumlu olduğu gözlemlenmiştir. Aynı alışma pozitif bakteriyel kültürlere sahip infertil bireylerin semen hacminin sağlıklı kontrol gruplarına kıyasla belirgin şekilde daha düşük olduğunu göstermiştir ($P < 0.05$). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar Berjis vd. (2018) tarafından yapılan çalışmayla da tutarlılık göstermiştir. Aynı çalışmada bakteriyel enfeksiyonların sperm parametrelerinin hem hacmini hem de sayısını olumsuz etkilediği vurgulanmıştır.

4.4.2 Seminal sıvı konsantrasyonu

Yapılan analizler infertil erkeklerde düşük semen konsantrasyonlarının *S. aureus* enfeksiyonlarıyla ($19.09 \pm 12.3\%$) ilişkili olduğunu, ardından *S. agalactiae* ($22.07 \pm 9.2\%$), *E. coli* ($26.41 \pm 13.8\%$) ve *S. faecalis* ($27.99 \pm 17.4\%$) enfeksiyonlarının geldiğini ortaya koymuştur. Aksine, yüksek semen konsantrasyonları, *Proteus* spp. ($29.66 \pm 8.5\%$) ve *K. pneumonia* ($29 \pm 10.9\%$) kaynaklı enfeksiyonlarla bağlantılıydı.

Ancak, bakteriolojik profil bazında semen konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmedi (p-değeri = 0.424) (Çizelge 4.4).

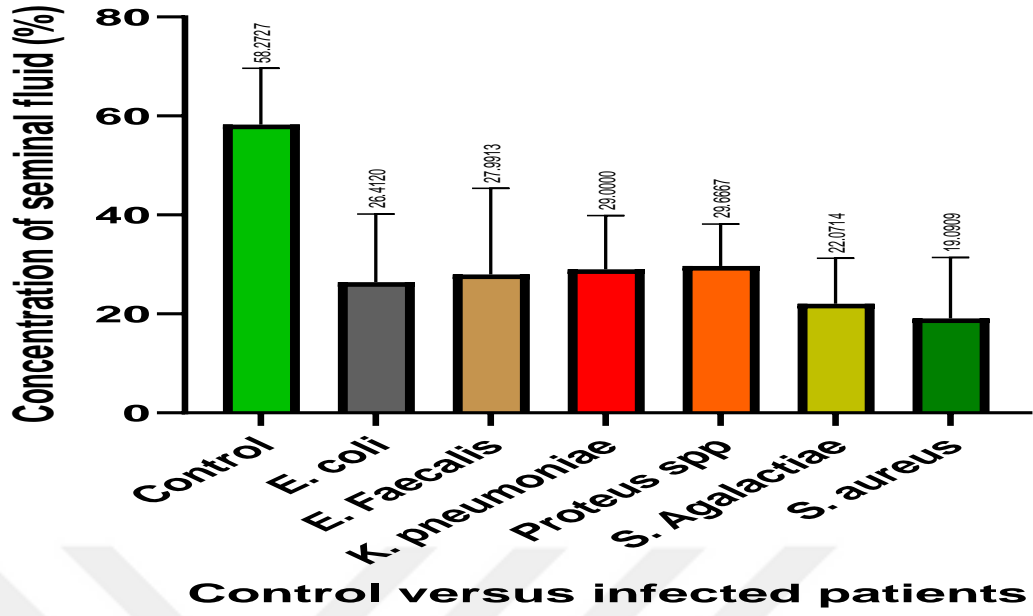
Çizelge 4.4 Semen kültürü sonucuna göre seminal sıvı konsantrasyonunun karşılaştırılması

Bakteriler	Konsantrasyon (%) Ortalama ± SD	F - Değer	P – Değer
<i>S. faecalis</i>	27,99 ± 17,4	0,988	0,424
<i>E. coli</i>	26,41 ± 13,8		
<i>S. agalactiae</i>	22,07 ± 9,2		
<i>S. aureus</i>	19,09 ± 12,3		
<i>Proteus Spp.</i>	29,66 ± 8,5		
<i>K. pneumoniae</i>	29,0 ± 10,9		

Çizelge 4.5 ve Şekil 4.4'te gösterildiği gibi, tüm bakteriyel izolatlar, sağlıklı kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında infertil erkeklerin seminal konsantrasyonunu önemli ölçüde etkilemiştir. Gözlemlenen p-değerleri, *S. agalactiae*, *E. coli*, *S. faecalis*, *S. aureus* ve *Proteus spp.* için oldukça anlamlıydı (p-değeri < 0.0001) ve *K. pneumoniae* için de anlamlıydı (p-değeri = 0.0003).

Çizelge 4.5 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre seminal sıvı konsantrasyonunun kontrol grubu ile karşılaştırılması

Konsantrasyon (%)			
Bakteri ile enfekte hastalar	Ortalama ± SD	Kontrol Ortalama ± SD	P – Değer
<i>S. faecalis</i>	27,99 ± 17,4	58,27 ± 11,36	<0,0001****
<i>E. coli</i>	26,41 ± 13,8	58,27 ± 11,36	<0,0001****
<i>S. agalactiae</i>	22,07 ± 9,2	58,27 ± 11,36	<0,0001****
<i>S. aureus</i>	19,09 ± 12,3	58,27 ± 11,36	<0,0001****
<i>Proteus Spp.</i>	29,66 ± 8,5	58,27 ± 11,36	<0,0001****
<i>K. pneumoniae</i>	29,00 ± 10,9	58,27 ± 11,36	0,0003***



Şekil 4.4 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre seminal sıvı konsantrasyonunun kontrol grubu ile karşılaştırılması

Daha önce yapılan çalışmalar semen örneklerinde bulunan bakteriyel enfeksiyonların sperm konsantrasyonu, hareketliliği ve morfolojisi gibi semen parametrelerini olumsuz etkilediğini göstermiştir (Domes vd. 2012). Sperm konsantrasyonu, erkek infertilitesinde önemli bir rol oynayan bir diğer semen parametresidir (Xu vd. 2020).

Bulgularımız, enfekte semen örneklerinde sperm konsantrasyonunun, enfekte olmayan örneklere kıyasla belirgin bir azalma gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu gözlem, bakteriospermiyanın semen kalitesini bozmadaki potansiyel etken rolünü vurgulayan mevcut literatürle tutarlılık göstermektedir. Eini ve arkadaşlarının (2021) bakteriyolojik kültür sonuçlarına dayanan çalışmaları, semen konsantrasyonunu karşılaştırma açısından bulgularımızla paralellik arz etmektedir. Söz konusu çalışmada, en yüksek semen konsantrasyonları *K. pneumoniae* (33.33 ± 14.57) ve *E. faecalis* (37.17 ± 23.1) ile enfekte hastalarda gözlemlenmiş; bunu sırasıyla *Proteus* türleri (24.25 ± 18.34), *E. coli* (22.33 ± 14.35) ve *Staphylococcus aureus* (22.80 ± 13.48) takip etmiştir. Öte yandan, *S. agalactiae* enfeksiyonları, 21.00 ± 13.70 olarak kaydedilen en düşük semen konsantrasyonu ile ilişkilendirilmiştir (Eini vd. 2021).

Bulgularımız, Zeyad ve arkadaşları (2018) ile Moretti ve diğerlerinin (2009) gerçekleştirdiği birçok çalışma ile tutarlılık göstermektedir. Bu çalışmalar, hem bakteriospermia hem de leukositospermianın sperm konsantrasyonunda belirgin bir azalmaya yol açtığını ortaya koymuştur. Özellikle, *E. faecalis* ve *E. coli* ile enfekte olan örneklerde sperm konsantrasyonunun olumsuz yönde etkilendiği tespit edilmiştir.

Pajovic vd. (2013) enfekte semen veya pyospermia ejakulatlarında tedavi sonrasında sperm konsantrasyonunun arttığını doğrulamıştır. Benzer şekilde, Ahmadi vd. (2018) da bakteriyel enfeksiyonla enfekte semen örneklerinde tedavinin sperm konsantrasyonu üzerindeki olumlu etkisini göstermiştir.

Baud ve arkadaşları (2019) tarafından elde edilen bulgular, *Proteus* varlığında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar göstermiştir (p-değeri 0.001). Bakteriyel varlığı bulunan normozoospermik bireylerin sperm konsantrasyonunun, normal sperm konsantrasyonu ($\geq 20 \times 10^6/\text{ml}$) aralığında olmasına rağmen, bakteriyel varlığı olmayan bireylerle karşılaştırıldığında her zaman daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Baud vd. 2019).

Ayrıca, bulgularımız, Qiang ve arkadaşları (2007) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmayla desteklenmektedir. Bu çalışma, *in vitro* fertilizasyon üzerine yapılan çeşitli araştırmaları incelemiştir. Çalışma, semen içinde patojenik organizmaların varlığının yumurta dölleme oranlarını azalttığını belirtmiş ve semen kontaminasyonunun semen kalitesini düşürdüğünü ve döllemeyi engellediğini sonucuna varmıştır. Ayrıca, *Enterococcus faecalis*'in neden olduğu genital kanal enfeksiyonlarının artan yaygınlığı, semen kalitesinin bozulmasıyla ilişkilendirilmiştir; bu durum özellikle sperm konsantrasyonu ve morfolojisi açısından gözlemlenmiştir (Kumar ve Garg 2019).

4.4.3 Sperm sayısı

Çizelge 4.6'da gösterildiği gibi, infertil erkeklerde seminal sıvıdaki toplam sperm sayısına bakteriyel izolatların en yüksek etkisi *E. coli* (83.78 ± 53.5 milyon) enfeksiyonu

ile gözlemlendi. Bunu sırasıyla *S. faecalis* (91.16±57.9 milyon) enfeksiyonu, *S. agalactiae* (93.26±44.6 milyon) enfeksiyonu, *Proteus spp.* (95.79±26.9 milyon) enfeksiyonu ve *S. aureus* (97.16±68.7 milyon) enfeksiyonu takip etti. Buna karşın, en düşük bakteriyel etki *K. pneumoniae* (146.2±58.4 milyon) enfeksiyonu ile ilişkilendirildi. Ayrıca, bu bakteriyel türlerle enfekte infertil erkekler arasında toplam seminal sıvı miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı.

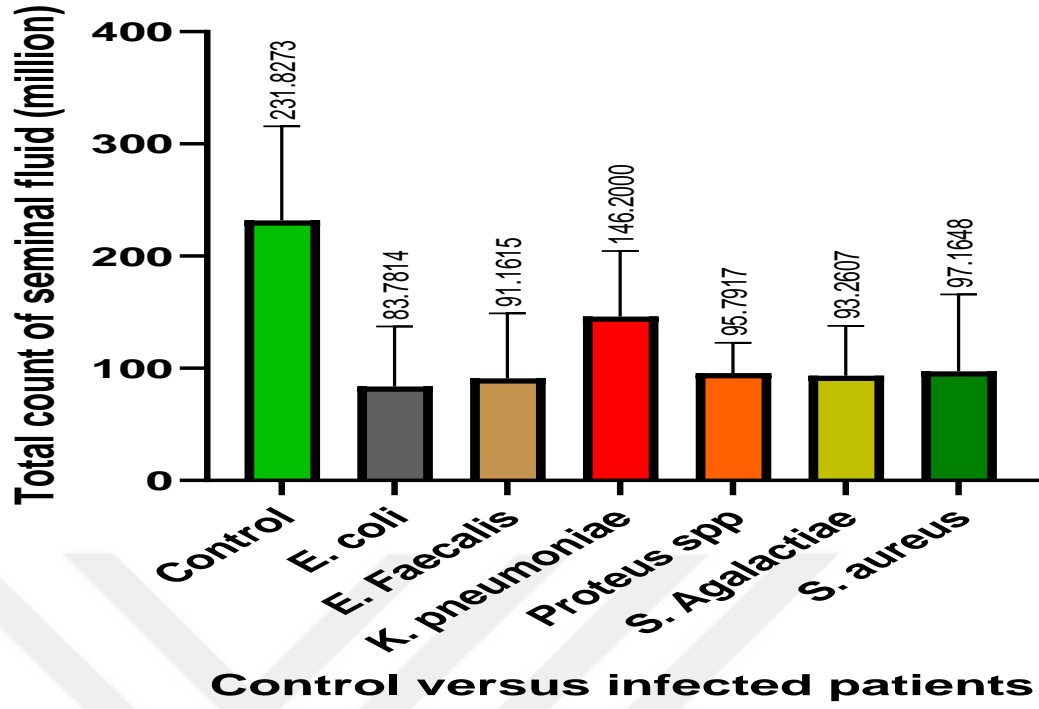
Çizelge 4.6 Semen kültürü sonucuna göre seminal sıvının toplam sayımının karşılaştırılması

Bakteriler	Toplam sayı (milyon) Ortalama ± SD	F - Değer	P - Değer
<i>S. faecalis</i>	91,16 ± 57,9	1,101	0,366
<i>E. coli</i>	83,78 ± 53,5		
<i>S. agalactiae</i>	93,26 ± 44,6		
<i>S. aureus</i>	97,16 ± 68,7		
<i>Proteus Spp.</i>	95,79 ± 26,9		
<i>K. pneumoniae</i>	146,2 ± 58,4		

İnfertil erkekler ve sağlıklı kontrol grupları arasındaki toplam seminal sıvı sayısı karşılaştırıldığında, *S. faecalis*, *E. coli* ve *S. agalactiae* enfeksiyonlarının yüksek düzeyde istatistiksel olarak anlamlı bir etkisi olduğu gözlemlendi (p-değeri <0.0001), buna karşın *S. aureus* enfeksiyonu (p-değeri 0.0005) ve *Proteus spp.* (p-değeri 0.0017) ile daha düşük bir etki görüldü. Buna karşın, *K. pneumoniae* enfeksiyonunda her iki grup arasında toplam sayıda herhangi bir etki gözlemlenmedi (p-değeri 0.0596). Bu durum Çizelge 4.7 ve Şekil 4.5'te daha ayrıntılı olarak açıklanmaktadır.

Çizelge 4.7 Her bir patojenik bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre sperm sayısının kontrol grubu ile karşılaştırılması

Toplam sayı (milyon)			
Bakteri ile enfekte hastalar	Ortalama ± SD	Kontrol Ortalama ± SD	P - Değer
<i>S. faecalis</i>	91,16 ± 57,9	231,8 ± 83,89	<0,0001****
<i>E. coli</i>	83,78 ± 53,5	231,8 ± 83,89	<0,0001****
<i>S. agalactiae</i>	93,26 ± 44,6	231,8 ± 83,89	<0,0001****
<i>S. aureus</i>	97,16 ± 68,7	231,8 ± 83,89	0,0005***
<i>Proteus Spp.</i>	95,79 ± 26,9	231,8 ± 83,89	0,0017**
<i>K. pneumoniae</i>	146,2 ± 58,4	231,8 ± 83,89	0,0596 ^{ns}



Şekil 4.5 Hasta grubu ile kontrol grubu arasında sperm sayısı ve patojenik bakteriler ortalamaları arasındaki karşılaştırma

Sperm konsantrasyonu, erkek infertilitesinde önemli bir faktördür (Xu ve diğerleri, 2020). Nasrawi ve Tawfiq (2020) tarafından Irak'ta yapılan bir çalışmada, bakteriyel enfeksiyonu olan hastalarda sperm sayısının 95 ± 15.7 olduğu bildirilmiştir. Bu sonuçlar, anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir ($p > 0.05$).

Bu çalışmada elde edilen sonuçlar Shash ve arkadaşlarının (2023) bulgularıyla uyumluluk göstermektedir. Bu çalışmada, çalışma grubunun %8'inde ($n = 20$) ve kontrol grubunun %6'sında ($n = 23$) toplam sperm sayısının $\geq 39 \times 10^6$ olduğu belirtilmiş ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p = 0.451$). Ayrıca, Shash ve diğerleri (2023) bakteriyel enfeksiyonu olan hastalarda ortalama sperm sayısının 53.43 ± 40.34 , sağlıklı grupta ise 52.21 ± 34.79 olduğunu ve enfekte ile sağlıklı gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmediğini ifade etmişlerdir.

Bizim çalışmamıza benzer bir çalışma, Irak'ta Nasrawi ve Tawfiq (2020) tarafından yapılmış ve bakteriyel enfeksiyonu olan hastalarda sperm sayısının 95 ± 15.7 olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmanın bulguları, anlamlı bir fark bulunmadığını ($p > 0.05$)

göstermiştir. Aynı çalışmada bakteriyel enfeksiyonların incelenen hastalarda sperm sayısını önemli derecede etkilemediği belirtilmiştir.

Benzer bir çalışma, Sadeek ve arkadaşları (2024) tarafından gerçekleştirilmiş olup, sperm sayısı indekslerinin enfekte olmayan grupta, enfekte gruba kıyasla daha yüksek olduğunu göstermiştir. Ancak, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir; bu durum, bakteriyel enfeksiyonların sperm sayısı üzerinde önemli bir etkisi olmadığına işaret etmektedir. Her gruptaki ortalama sperm sayısı, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde daha düşük bulunmuştur. Bakteriyel enfeksiyonu olmayan infertil erkekler grubunda sperm hacminin azaldığı gözlemlenmiş, ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bir düzeye ulaşmamıştır (Berjis vd. 2018).

4.4.4 Progresif sperm (%)

İnfertil erkeklerde farklı bakteriyel enfeksiyonların sperm ilerlemesi üzerindeki çeşitli etkilerini göstermektedir. *S. faecalis* enfeksiyonları, %17.09 ± 7.1'lik en yüksek sperm ilerleme oranına sahipken, bunu *Proteus* türleri (%13.16 ± 7.7), *K. pneumoniae* (%12.2 ± 4.9), *Streptococcus agalactiae* (%9.71 ± 2.9) ve *S. aureus* (%7.18 ± 5.4) takip etmektedir. Buna karşılık, *E. coli* enfeksiyonları en düşük sperm ilerleme oranını sergilemiştir ve bu oran %4.76 ± 2.8 olarak kaydedilmiştir. Ayrıca, bakteriyolojik etkiler ile sperm ilerlemesi arasında anlamlı bir fark gözlemlenmiştir (p < 0.0001) (Çizelge 4.8).

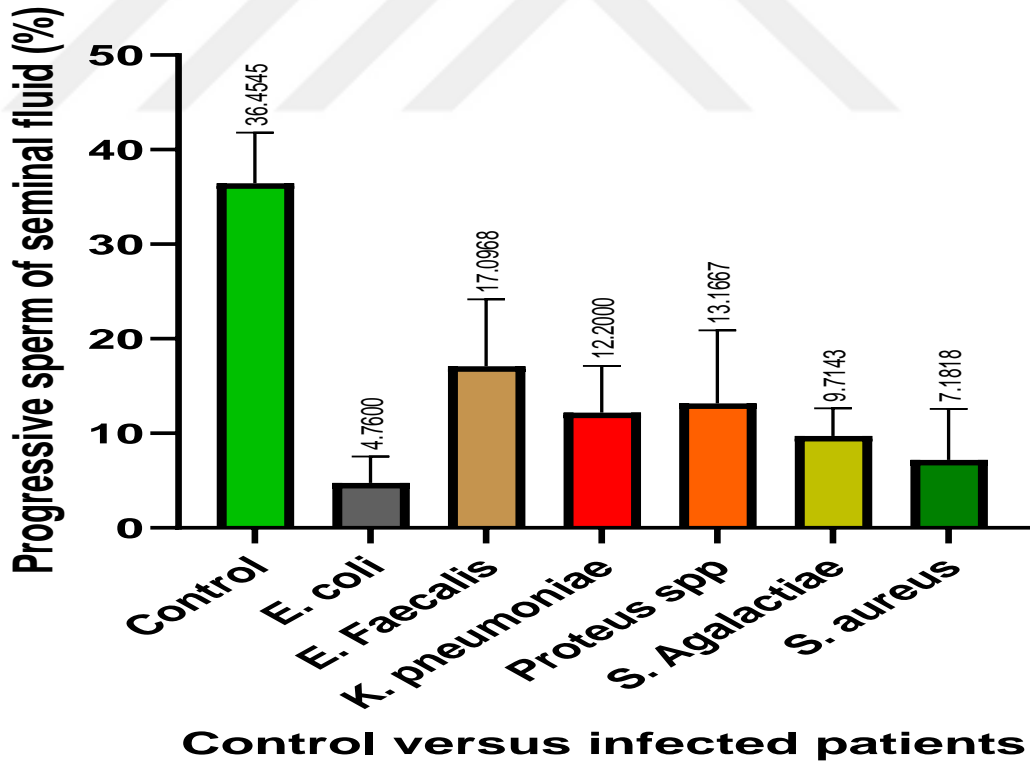
Çizelge 4.8 Semen kültürü sonucuna göre seminal sıvının progresif spermelerinin karşılaştırılması

Bakteriler	Progresif sperm (%) Ortalama ± SD	P – Değer
<i>S. faecalis</i>	17,09 ± 7,1	<0,0001****
<i>E. Koli</i>	4,76 ± 2,8	
<i>S. agalactiae</i>	9,71 ± 2,9	
<i>S. aureus</i>	7,18 ± 5,4	
<i>Proteus Spp.</i>	13,16 ± 7,7	
<i>K. pneumoniae</i>	12,2 ± 4,9	

Çizelge 4.9 ve Şekil 4.6'da gösterildiği gibi, tüm bakteriyel izolatların sperm hareketliliği üzerinde önemli bir etkisi olduğu gözlemlenmiştir, infertil erkeklerde sağlıklı kontrollere kıyasla belirgin şekilde azalmış bir ilerleme görülmüştür ($p < 0.0001$).

Çizelge 4.9 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre seminal sıvının ileri sper hareketlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

Progresif sperm (%)			
Bakteri ile enfekte hastalar	Ortalama \pm SD	Kontrol Ortalama \pm SD	P – Değer
<i>S. faecalis</i>	17,09 \pm 7,1	36,45 \pm 5,35	<0,0001****
<i>E. Koli</i>	4,76 \pm 2,8	36,45 \pm 5,35	<0,0001****
<i>S. agalactiae</i>	9,71 \pm 2,9	36,45 \pm 5,35	<0,0001****
<i>S. aureus</i>	7,18 \pm 5,4	36,45 \pm 5,35	<0,0001****
<i>Proteus Spp.</i>	13,16 \pm 7,7	36,45 \pm 5,35	<0,0001****
<i>K. pneumoniae</i>	12,2 \pm 4,9	36,45 \pm 5,35	<0,0001****



Şekil 4.6 Seminal sıvıdaki progresif sperm ile her bir patojenik bakteri türü için semen kültürü sonuçlarının kontrol grubu ile karşılaştırılması

Eini ve arkadaşlarının (2021) gerçekleştirdiği benzer bir çalışmada, seminal bakteriyel kontaminasyonun progresif sperm hareketliliğinde önemli bir kayba yol açtığı gösterilmiştir. Özellikle, *E. coli* (8.44 ± 5.17), *K. pneumoniae* (9.67 ± 6.81) ve *S. aureus* (10.40 ± 4.16) gibi bakterilerin etkileri belirgin bir şekilde ortaya çıkmıştır. Bu bakterileri sırasıyla *Proteus* türleri (11.5 ± 3.70), *S. agalactiae* (12.60 ± 7.47), *E. faecalis* (16.66 ± 14.8) ve tekrar *S. agalactiae* ($76.28 \pm 5.2\%$) enfeksiyonları takip etmiştir. Ayrıca, infertil erkeklerde sperm ilerleme hareketliliği ile ilgili tüm bakteriyel izolat enfeksiyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p -değeri < 0.05) (Eini vd. 2021). Bu çalışma, bizim araştırmamızla benzerlik göstererek, erkek infertilitesi bağlamında bakteriyel enfeksiyonların sperm hareketliliği üzerindeki olumsuz etkilerini vurgulamaktadır.

Bulgularımız, hasta grubunun meni sıvısındaki progresif sperm yüzdesinin kontrol grubuna kıyasla belirgin şekilde daha düşük olduğunu göstermektedir. Ayrıca, tüm bakteriyel izolatların sperm hareketliliği üzerinde önemli bir etkisi olduğu ve infertil erkeklerin sağlıklı kontrollere kıyasla belirgin şekilde azalmış progresyon gösterdiği tespit edilmiştir ($p < 0.0001$). Bu gözlemler, Shash ve arkadaşları (2023) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmayla uyumlu bir şekilde ortaya konmuştur; bu çalışmada hasta grubundaki progresif hareketliliğe sahip sperm formlarının yüzdesinin (8.24 ± 9.45), kontrol grubuna (16.91 ± 10.87) kıyasla anlamlı derecede daha düşük olduğu bildirilmiştir ($p < 0.05$).

Irak'ta Al-Saadi ve Abd (2019) tarafından gerçekleştirilen benzer bir çalışmada, sperm hareketliliği dereceleri bakteriyel kültürlerle ilişkili olarak incelenmiştir. Araştırma bulguları, *E. coli* (7.38 ± 12.2) ve *Klebsiella* türlerinin (5.93 ± 2.27) neden olduğu enfeksiyonların, progresif sperm yüzdesinde önemli bir azalmaya yol açtığını göstermektedir. Buna karşın, *Staphylococcus* türleri (23.25 ± 12.2), *Enterococcus* türleri (23.25 ± 12.2) ve *Proteus* türleri (23.25 ± 12.2) ile enfekte olan örneklerde progresif sperm yüzdesinin anlamlı derecede daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgular, farklı bakteriyel enfeksiyonların sperm hareketliliği üzerindeki değişken etkilerini vurgulamaktadır.

4.4.5 Progresif olmayan sperm

Çizelge 4.10'da gösterildiği gibi, *K. pneumonia* enfeksiyonlarının infertil erkeklerde en yüksek sperm progresyon eksikliği oranına (22 ± 7.6) neden olduğu belirlenmiştir. Bu durum, *K. pneumonia*'nın incelenen popülasyonda sperm hareketliliği üzerinde en zararlı etkiye sahip olduğunu göstermektedir. *E. coli* enfeksiyonları ise 17.16 ± 53.5 oranıyla bunu yakından takip etmektedir, ancak geniş standart sapma, enfeksiyonların farklı şiddetlerine bağlı olarak denekler arasında sperm progresyonunda önemli bir değişkenlik olduğunu göstermektedir.

S. faecalis enfeksiyonlarının sperm progresyon eksikliği üzerindeki etkisi, ortalama $.74 \pm 13.1$ oranında belirlenmiştir; bu durum, orta derecede bir bozulmaya işaret etmektedir. Öte yandan, *Proteus* türleri enfeksiyonlarında bu oran $.16 \pm 4.3$ olarak tespit edilmiştir. Her iki bakteriyel enfeksiyonun sperm progresyonu üzerinde anlamlı etkiler gösterdiği gözlemlenmiş, ancak *Proteus* türlerinin daha küçük bir standart sapma ile yansıtıldığı için daha tutarlı bir etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır.

S. agalactiae enfeksiyonlarının, sperm progresyonunda yaklaşık 4.5 oranında bir eksikliğe yol açtığı belirlenmiş ve bu patojen, erkek fertilitasını olumsuz etkileyen patojenler listesine eklenmiştir. Öte yandan, *S. aureus* enfeksiyonlarının sperm progresyonu üzerindeki etkisi, diğer bakterilere kıyasla daha az zararlı olduğu görülerek, 8.18 ± 5.9 oranında bir etkiyle en az düzeyde kalmaktadır. Bu bulgular, erkek fertilitasını etkileyen bakteriyel enfeksiyonların önemini vurgulamakta ve *S. aureus*'un daha düşük risk taşıdığını göstermektedir.

İnfertil erkeklerde sperm progresyon eksikliği ile ilgili olarak tüm bakteriyel izolat enfeksiyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunduğu (p değeri 0.027) saptanmıştır.

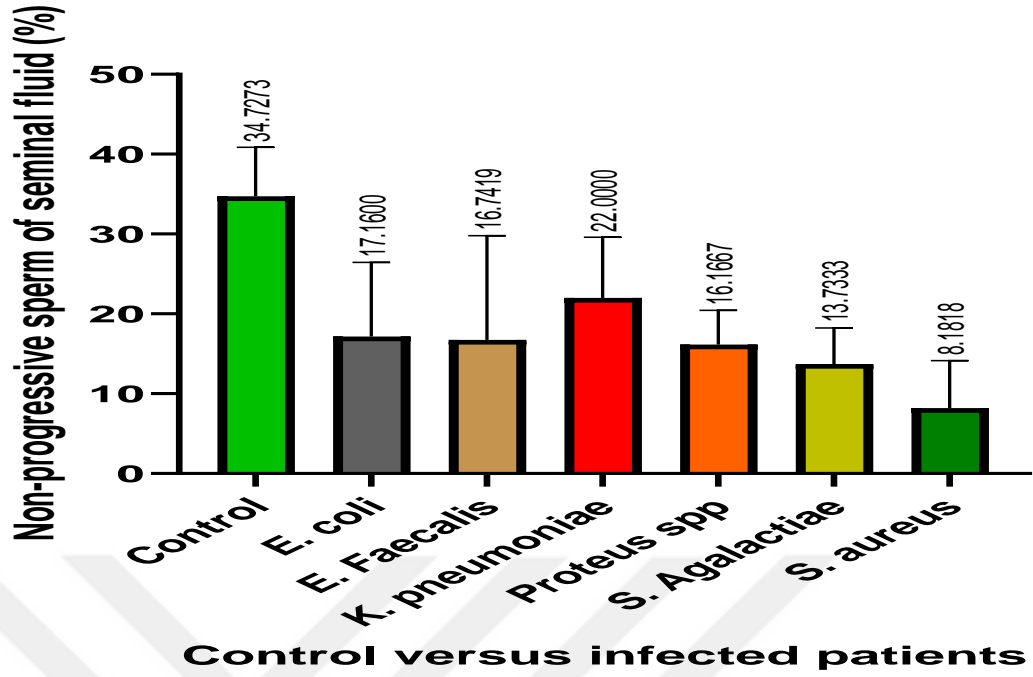
Çizelge 4.10 Semen kültürü sonucuna göre progresif olmayan spermilerin karşılaştırılması

Bakteriler	Progresif olmayan sperm (%) Ortalama ± SD	P – Değer
<i>S. faecalis</i>	16,74 ± 13,1	0,027
<i>E. coli</i>	17,16 ± 53,5	
<i>S. agalactiae</i>	14,0 ± 4,5	
<i>S. aureus</i>	8,18 ± 5,9	
<i>Proteus Spp.</i>	16,16 ± 4,3	
<i>K. pneumoniae</i>	22,0 ± 7,6	

Çizelge 4.11 ve Şekil 4.7'de belirtildiği üzere, tüm bakteriyel izolatların enfeksiyonlarının infertil erkeklerde sperm progresyon eksikliği hareketliliği üzerinde sağlıklı kontrollere kıyasla anlamlı bir etkisi olduğu tespit edilmiştir. Çoğu bakteriyel izolat için bu etkinin istatistiksel olarak oldukça anlamlı olduğu (p değeri < 0.0001) gözlemlenmiştir. Bununla birlikte *K. pneumoniae* için gözlemlenen etkinin de anlamlı olmasına rağmen daha az belirgin olduğu ve p değerinin 0.003 olarak hesaplandığı belirlenmiştir. Bu bulgular, bakteriyel enfeksiyonların infertil erkeklerde sperm hareketliliğini bozmadaki zararlı rolünü vurgulamaktadır.

Çizelge 4.11 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre progresif olmayan spermilerin kontrol grubuyla karşılaştırılması

Progresif olmayan sperm (%)			
Bakteri ile enfekte hastalar	Ortalama ± SD	Kontrol Ortalama ± SD	P – Değer
<i>S. faecalis</i>	16,74 ± 13,1	34,73 ± 6,13	<0,0001****
<i>E. coli</i>	17,16 ± 53,5	34,73 ± 6,13	<0,0001****
<i>S. agalactiae</i>	14,0 ± 4,5	34,73 ± 6,13	<0,0001****
<i>S. aureus</i>	8,18 ± 5,9	34,73 ± 6,13	<0,0001****
<i>Proteus Spp.</i>	16,16 ± 4,3	34,73 ± 6,13	<0,0001****
<i>K. pneumoniae</i>	22,0 ± 7,6	34,73 ± 6,13	0,0030**



Şekil 4.7 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre progresif olmayan spermelerin kontrol grubuyla karşılaştırılması

Elde edilen sonuçlar özellikle *K. pneumoniae*, *E. coli* ve *E. faecalis*'in neden olduğu bazı bakteriyel enfeksiyonların, infertil erkeklerde daha yüksek sperm progresyon eksikliği oranlarıyla ilişkilendirildiğini göstermektedir. Gözlemlenen farklılıkların, her bir bakterinin patojenik özellikleri ile sperm hücreleri ve seminal sıvı arasındaki etkileşimlerdeki farklılıkları yansıttığı ve bu durumun nihayetinde azalmış fertiliteye yol açtığı belirlenmiştir. Bulgularımız, hasta grubunun meni sıvısındaki progresyon göstermeyen sperm yüzdesinin kontrol grubuna göre belirgin şekilde daha düşük olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca, tüm bakteriyel izolatların sperm hareketliliği üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olduğu ve infertil erkeklerin sperm progresyonunun sağlıklı kontrollere kıyasla belirgin bir şekilde azaldığı tespit edilmiştir ($p < 0.027$). Bu sonuçlar, Shash ve arkadaşları (2023) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmayla tutarlılık göstermektedir; bu çalışmada hasta grubunda progresyon göstermeyen sperm yüzdesinin (0.32 ± 15.54), kontrol grubuna (0.12 ± 13.68) kıyasla anlamlı derecede daha düşük olduğu bildirilmiştir ($p < 0.05$). Bu tutarlılık, bakteriyel enfeksiyonların sperm hareketliliği ve morfolojisi üzerindeki zararlı etkilerini vurgulayarak, etkilenen bireylerde azalmış fertiliteye katkıda bulunduğunu göstermektedir.

Sanocka-Maciejewska ve arkadaşları (2005) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *E. coli* ve *S. aureus* varlığının azalmış progresif sperm hareketliliği ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma, bakteriyel enfeksiyonlar arasında sperm progresyon hareketliliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunduğunu ($p < 0.05$) ortaya koymuştur. Elde edilen bu bulgular, mevcut sonuçlarımızla uyumlu olup, bakteriyel kontaminasyonun infertil erkeklerde sperm fonksiyonu üzerindeki olumsuz etkisini daha da vurgulamaktadır.

Diemer ve arkadaşları (2003) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *E. coli*'nin sperm hareketliliğini olumsuz etkileyen başlıca etken olduğu tespit edilmiştir. Bu bulgu, *E. coli* enfeksiyonlarının erkek fertilitesi üzerindeki önemli etkilerini, özellikle sperm hareketliliği ile ilişkili olduğunu vurgulamaktadır.

Sadeek (2024) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, enfekte olmayan gruptaki sperm progresif yüzdesinin (3.87 ± 3.19), enfekte gruptaki sperm progresif yüzdesine (3.19 ± 3.8) kıyasla daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Ancak, bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamış; dolayısıyla, enfekte olmayan grupta daha iyi hareketlilik eğilimi gözlemlense de, gözlemlenen varyasyonun istatistiksel anlamlılığa ulaşacak kadar yeterli olmadığı sonucuna varılmıştır.

4.4.6 İmmotil sperm

Çizelge 4.12'de gösterildiği üzere, yapılan analiz, semen içerisindeki düşük hareketsiz sperm yüzdelerinin *K. pneumoniae* enfeksiyonu ile ilişkili olduğunu ortaya koymuştur; bu enfeksiyonda ortalama hareketsiz sperm yüzdesi $\%65,8 \pm 8,6$ olarak belirlenmiştir. Bunu sırasıyla *S. faecalis* enfeksiyonları ($\%66,16 \pm 15,6$), *Proteus* türleri enfeksiyonları ($\%70,66 \pm 6,1$) ve *S. agalactiae* enfeksiyonları ($\%76,28 \pm 5,2$) takip etmiştir. Bu bulgular, söz konusu bakteriyel enfeksiyonların, semen hareketsizliği seviyelerinin daha düşük olmasına ve enfekte gruplarda daha yüksek sperm hareketine neden olduğunu göstermektedir.

Buna karşın, *S. aureus* (%84,63 ± 7,6) ve *E. coli* (%78,08 ± 10,1) kaynaklı enfeksiyonlar, daha yüksek semen hareketsiz sperm yüzdeleri ile ilişkilendirilmiştir. Bu bakterilerin, sperm hareketliliği üzerinde daha olumsuz bir etkisi olduğu ve daha yüksek oranda hareketsiz sperm oluşumuna yol açtığı gözlemlenmiştir.

Bu sonuçlar, bakteriyel enfeksiyonların, özellikle *S. aureus* ve *E. coli* enfeksiyonlarının sperm hareketliliği üzerinde daha zararlı bir etkisi olduğunu ve erkek infertilitesine katkıda bulunduğunu düşündürmektedir. Ayrıca, semen içerisindeki hareketsiz sperm yüzdelerinde, bakteriyolojik profil temelinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmiştir (p-değeri = 0.001), bu da bakteriyel enfeksiyon türünün infertil erkeklerde sperm hareketsizliğinde önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır.

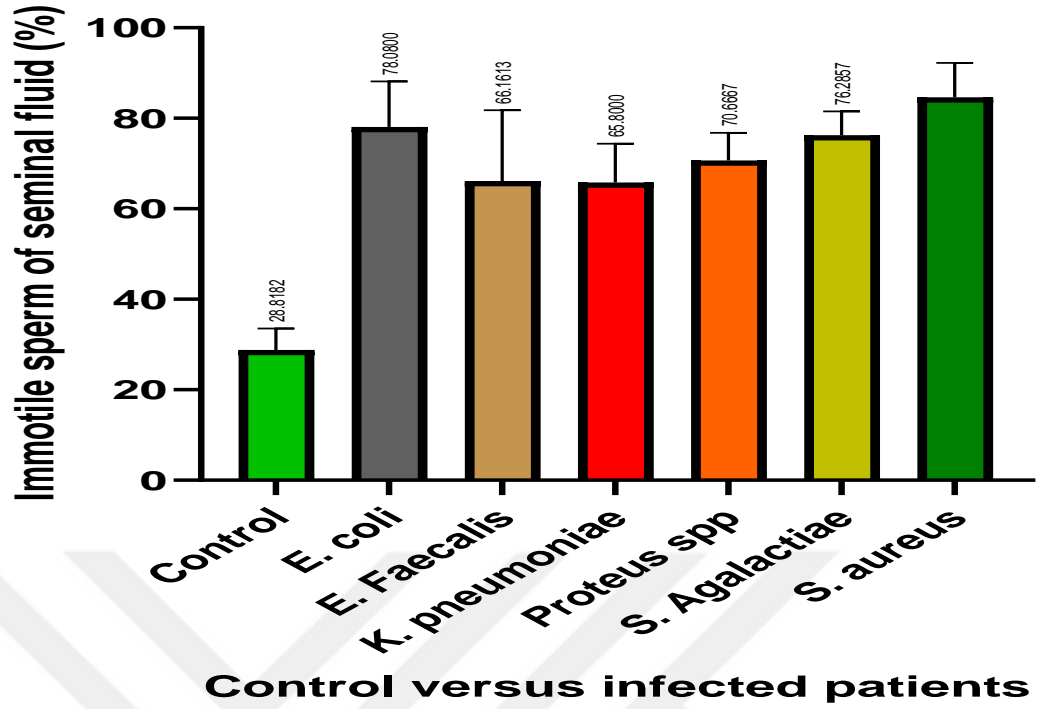
Çizelge 4.12 Semen kültürü sonucuna göre immotil spermilerin karşılaştırılması

Bakteriler	İmmotil sperm (%) Ortalama ± SD	F - Değer	P – Değer
<i>S. faecalis</i>	66,16 ± 15,6	6,179	0,001
<i>E. coli</i>	78,08 ± 10,1		
<i>S. agalactiae</i>	76,28 ± 5,2		
<i>S. aureus</i>	84,63 ± 7,6		
<i>Proteus Spp.</i>	70,66 ± 6,1		
<i>K. pneumoniae</i>	65,8 ± 8,6		

Çizelge 4.13 ve Şekil 4.8, tüm bakteriyel izolat enfeksiyonlarının, sağlıklı kontrollere kıyasla infertil erkeklerde sperm hareketliliği üzerinde benzer şekilde anlamlı bir etkisi olduğunu göstermektedir (p-değeri <0.0001).

Çizelge 4.13 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre immotil spermilerin kontrol grubuyla karşılaştırılması

İmmotil sperm (%)			
Bakteri ile enfekte hastalar	Ortalama ± SD	Kontrol Ortalama ± SD	P – Değer
<i>S. faecalis</i>	66,16 ± 15,6	28,82 ± 15,6	<0,0001****
<i>E. coli</i>	78,08 ± 10,1	28,82 ± 15,6	<0,0001****
<i>S. agalactiae</i>	76,28 ± 5,2	28,82 ± 15,6	<0,0001****
<i>S. aureus</i>	84,63 ± 7,6	28,82 ± 15,6	<0,0001****
<i>Proteus Spp.</i>	70,66 ± 6,1	28,82 ± 15,6	<0,0001****
<i>K. pneumoniae</i>	65,8 ± 8,6	28,82 ± 15,6	<0,0001****



Şekil 4.8 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre immotil spermelerin kontrol grubuyla karşılaştırılması

Çalışmamız, Irak'ta Al-Saadi ve Abd (2019) tarafından gerçekleştirilen ve bakteriyel kültüre dayalı olarak sperm gruplarını karşılaştıran bir çalışmanın bulguları ile tutarlı sonuçlar ortaya koymuştur. Söz konusu çalışma, *E. coli* ($67,83 \pm 32,34$) ve *Staphylococcus* ($47,14 \pm 22,44$) enfeksiyonlarında hareketsiz sperm yüzdesinin anlamlı şekilde daha yüksek olduğunu ($p < 0,05$) belirtmiştir. Bunu sırasıyla *K. pneumoniae* enfeksiyonları ($40,0 \pm 11,06$), *Proteus* türleri enfeksiyonları ($37,86 \pm 8,09$) ve *Enterococcus* türleri enfeksiyonları ($36,31 \pm 7,39$) takip etmiştir. Bu bulgular, bakteriyel enfeksiyonların sperm hareketsizliği üzerindeki olumsuz etkisinin olduğu görüşünü desteklemektedir.

Sonuçlarımız, hasta grubunun meni sıvısındaki hareketsiz sperm yüzdesinin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğunu göstermektedir. Ayrıca, tüm bakteriyel izolatların sperm hareketliliği üzerinde anlamlı bir etkisi olduğu ve infertil erkeklerin, sağlıklı kontrollere göre belirgin şekilde daha yüksek hareketsiz sperm yüzdesi sergilediği tespit edilmiştir ($p < 0,001$). Bu bulgular, Shash ve arkadaşları (2023) tarafından gerçekleştirilen çalışma ile tutarlıdır; söz konusu çalışmada, hasta grubundaki

hareketsiz sperm yüzdesinin ($65,44 \pm 20,61$) kontrol grubuna ($48,97 \pm 17,96$) kıyasla anlamlı derecede daha yüksek olduğu bildirilmiştir ($p < 0,05$). Bu durum, bakteriyel enfeksiyonların sperm hareketliliğini önemli ölçüde bozduğunu ve etkilenen erkeklerde infertiliteye katkıda bulunduğunu düşündürmektedir.

Bu çalışma, Enwurua ve arkadaşları (2016) tarafından bildirilen bulgularla tutarlıdır. Söz konusu çalışma, *S. aureus* ($40,2 \pm 26,7$) ve *E. coli* enfekte örneklerinde sperm hareketsizliğinin, kontrol grubuna (sırasıyla $21,3 \pm 11,6$ ve $20,0 \pm 0$) kıyasla anlamlı şekilde arttığını rapor etmiştir. Ayrıca, bu çalışma, *E. coli* ve *S. aureus*'un varlığının normal sperm hareketliliğinde önemli bir azalmaya yol açtığını vurgulamıştır. Bu durum, bakteriyel enfeksiyonların ölü sperm üzerindeki zararlı etkilerine ilişkin mevcut çalışmamızın gözlemlerini desteklemektedir.

4.5 DNA Parçalanması

Çizelge 4.14, en yüksek sperm DNA kırılma seviyelerinin *Klebsiella pneumoniae* ile enfekte örneklerde ($\%48,2 \pm 2,7$) gözlemlendiğini ve bu enfeksiyonun DNA bütünlüğü üzerindeki önemli etkisini ortaya koyduğunu göstermektedir. Bunu sırasıyla *Proteus* türleri ($\%40,66 \pm 6,5$), *S. aureus* ($\%39,18 \pm 5,8$), *E. coli* ($\%38,84 \pm 5,6$) ve *S. faecalis* ($\%37,7 \pm 7,2$) tarafından neden olunan enfeksiyonlar takip etmiştir. Her bir enfeksiyon, sperm DNA bütünlüğünü anlamlı şekilde bozmuştur. Buna karşın, en düşük sperm DNA kırılma seviyesi *Streptococcus agalactiae* enfeksiyonlarıyla ($\%35,78 \pm 3,7$) ilişkilendirilmiş olup, bu durum DNA bütünlüğü üzerinde nispeten daha hafif bir etki olduğunu göstermektedir. Ayrıca, çalışma, tüm bakteriyel enfeksiyonlar arasında sperm DNA kırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu ortaya koymuş (p -değeri = 0,00063) ve belirli bakteriyolojik profillerin sperm DNA bütünlüğü üzerindeki kritik etkisini ile erkek infertilitesindeki potansiyel rollerini vurgulamıştır.

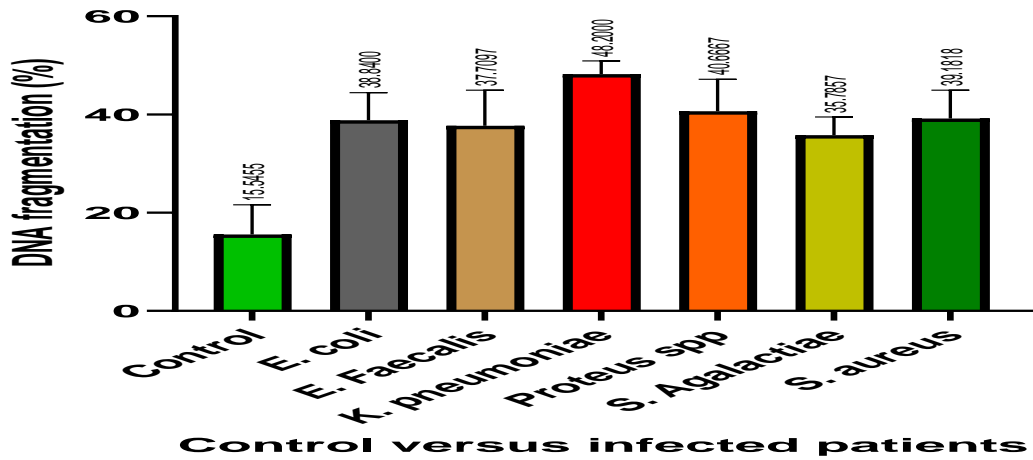
Çizelge 4.14 Semen kültürü sonucuna göre DNA fragmantasyonunun karşılaştırılması

Bakteriler	DNA fragmantasyonu (%) Ortalama \pm SD	P – Değer
<i>S. faecalis</i>	37,7 \pm 7,2	0,0063**
<i>E. Koli</i>	38,84 \pm 5,6	
<i>S. agalactiae</i>	35,78 \pm 3,7	
<i>S. aureus</i>	39,18 \pm 5,8	
<i>Proteus Spp.</i>	40,66 \pm 6,5	
<i>K. pneumoniae</i>	48,2 \pm 2,7	

Tüm bakteri izolat enfeksiyonları sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında infertil erkeklerde sperm DNA bütünlüğü üzerinde karşılaştırılabilir ve kayda değer bir etkiye sahip olduğu belirlendi (p-değeri <0,0001) (Çizelge 4.15 ve Şekil 4.9).

Çizelge 4.15 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre DNA fragmantasyonunun kontrol grubu ile karşılaştırılması

DNA parçalanması (%)			P – Değer
Bakteri ile enfekte hastalar Ortalama \pm SD	Kontrol Ortalama \pm SD		
<i>S. faecalis</i>	37,7 \pm 7,2	15,55 \pm 6,07	<0,0001****
<i>E. coli</i>	38,84 \pm 5,6	15,55 \pm 6,07	<0,0001****
<i>S. agalactiae</i>	35,78 \pm 3,7	15,55 \pm 6,07	<0,0001****
<i>S. aureus</i>	39,18 \pm 5,8	15,55 \pm 6,07	<0,0001****
<i>Proteus Spp.</i>	40,66 \pm 6,5	15,55 \pm 6,07	<0,0001****
<i>K. pneumoniae</i>	48,2 \pm 2,7	15,55 \pm 6,07	<0,0001****



Şekil 4.9 Her bir patojen bakteri türü için semen kültürü sonuçlarına göre DNA fragmantasyonunun kontrol grubuyla karşılaştırılması

Birçok çalışma, sperm DNA bütünlüğünün başarılı doğal gebeliklerde önemli bir erkek faktörü olarak kabul edildiğini göstermiştir (Haidl vd. 2015, Zeyad vd. 2018). Sperm DNA yoğunlaşmasının erkek fertilitesinde kaçınılmaz bir rol oynadığı ve erken embriyonik gelişimin sperm DNA bütünlüğü tarafından etkilendiği düşünülmektedir (Talebi vd. 2012).

Çalışmamız, tüm bakteriyel enfeksiyonlar arasında sperm DNA kırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptamıştır (p -değeri < 0.05). Bu bulgu, belirli bakteriyolojik profillerin sperm DNA bütünlüğü üzerindeki önemli etkilerini vurgulamış ve erkek infertilitesine olan potansiyel katkılarını ortaya koymuştur. Elde edilen sonuçlar, bakteriyel enfeksiyonların yalnızca sperm fonksiyonunu bozmakla kalmayıp, aynı zamanda sperm DNA bütünlüğünü de zayıflatarak infertilitenin patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Eini ve arkadaşları (2021) tarafından gerçekleştirilen bir çalışma, sperm DNA kırılmasını bakteriyel kültürlerle ilişkilendirerek incelediği için bulgularımızla büyük ölçüde örtüşmektedir. Bu çalışmada, *K. pneumoniae* enfeksiyonlarında (47.00 ± 32.45) ve *S. aureus* enfeksiyonlarında (45.00 ± 17.39) sperm DNA kırılma oranlarının anlamlı bir şekilde arttığı, bunu takiben *E. coli* enfeksiyonlarının (40.00 ± 18.53) geldiği gözlemlenmiştir. Benzer şekilde, aynı çalışma, *S. agalactiae* enfeksiyonlarında (39.00 ± 22.92) ve *S. faecalis* enfeksiyonlarında (38.04 ± 22.2) progressive sperm oranının anlamlı bir şekilde azaldığı bulunmuştur. Ayrıca, sperm DNA kırılma yüzdelerinde bakteriyolojik profile dayalı olarak istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmiştir (p -değeri < 0.05). Bu bulgular, sperm DNA bütünlüğünü etkileyen belirli bakteriyel enfeksiyonların kritik rolünü bir kez daha doğrulamış ve mevcut literatürde tutarlı bir eğilim sergilemiştir (Eini vd. 2021).

Zeyad vd. (2018) tarafından yapılan bir diğer çalışmada, bakteriyel enfeksiyonların spermdeki DNA katlanmasını engelleyerek bütünlüğünü bozduğuna dair rapor edilmiştir. Çalışma, *S. agalactiae*, *E. faecalis*, *E. coli* ve *S. aureus* ile enfekte semen örneklerinde anlamlı seviyede sperm DNA kırılması gözlemlendiğini belirtmiştir. Bu

bulgular, bakteriyel enfeksiyonların sperm DNA kalitesi üzerindeki zararlı etkisini ve erkek infertilitesine olası katkılarını vurgulamaktadır (Zeyad vd. 2018).

Shash vd. (2023) tarafından yapılan bir diğer çalışmada, gruplar arasında anlamlı bir fark rapor edilmiştir. Bu bulgular, daha yüksek sperm DNA kırılma seviyelerinin (> %30) daha düşük sperm hareketliliğine yol açtığını ve üreme başarısızlığı ile spontan düşük için bir risk faktörü olarak kabul edilebileceğini önermektedir.



5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

- 1- Çalışmamızda semen kültürünün bakteriyolojik profili, en yüksek *E. faecalis* prevalansını ve en düşük *K. pneumonia* prevalansını göstermiştir.
- 2- Sigara içme gibi yaşam tarzları, sperm sayısını, hareketliliğini, morfolojisini ve DNA kırılmasını olumsuz yönde etkileyerek erkeklerde infertilite gelişimine önemli ölçüde katkıda bulunmaktadır.
- 3- En düşük hacim, *E. coli* ve *E. faecalis* enfeksiyonlarında kaydedilmiştir. Ayrıca, bu bakteriyel izolatların semen hacmi üzerindeki etkileri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmiş ve belirli bakteriyel enfeksiyonların seminal sıvı üretimi üzerindeki farklı etkilerine dikkat çekilmiştir.
- 4- Bulgularımız, infertil erkeklerde en düşük semen konsantrasyonlarının *S. aureus* enfeksiyonlarıyla ilişkili olduğunu, bunu takiben *S. agalactiae* enfeksiyonlarının geldiğini ortaya koymuştur. Ancak, bakteriyolojik profile dayalı olarak semen konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir.
- 5- Bakteriyel izolatların infertil erkeklerde toplam seminal sıvı sayısı üzerindeki en yüksek etkisi *E. coli* enfeksiyonunda gözlemlenmiş, bunu *S. faecalis* enfeksiyonu ve *S. agalactiae* enfeksiyonu takip etmiştir.
- 6- Bakteriyolojik etkiler ile sperm progresyonu arasında ($p < 0.0001$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlenmiş ve bakteriyel enfeksiyonların infertil erkeklerde sperm hareketliliğini bozmadaki önemli rolü vurgulanmıştır.
- 7- *K. pneumonia* enfeksiyonları, infertil erkeklerde en yüksek sperm progresyonu olmayan orana yol açmıştır. *K. pneumonia*, çalışılan popülasyonda sperm hareketliliği üzerinde en zararlı etkiye sahip olarak bulunmuş bunu *E. coli* enfeksiyonlarının takip ettiği gözlemlenmiştir.
- 8- Bulgularımız, bakteriyel enfeksiyonların, özellikle *S. aureus* ve *E. coli*'nin sperm hareketsizliği üzerinde daha zararlı bir etkiye sahip olduğunu ve erkeklerde infertiliteye katkıda bulunduğunu ortaya koymuştur.

- 9- Çalışmamızda, en yüksek sperm DNA kırılma seviyelerinin *K. pneumoniae* ve *Proteus* türleri ile enfekte örneklerde gözlemlendiği ve bunun DNA bütünlüğü üzerinde negatif ve önemli bir etki oluşturduğu gözlemlenmiştir.

5.2 Tavsiyeler Öneriler

1. Enfekte erkeklerde antibiyotik tedavisinin infertilite oranını düşürmedeki rolünü ve tedavisini araştırmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.
2. Sperm DNA bütünlüğü üzerine oksidatif stres parametrelerinin etkisini araştırmak, ayrıca tedavi ve oksidatif stres etkilerini azaltmada antioksidan ajanların rolünü belirlemek.
3. Erkeklerde infertilite gelişimine alkol, ilaç kullanımı, aşırı egzersiz ve obezite gibi diğer yaşam tarzı değişkenlerinin rolünü değerlendirmek.

KAYNAKLAR

- Abbas, D., Aljanabi, A. and Waleed , N. 2019. Bacterial Infection in Male Infertility in Al-Anbar Province West Of Iraq. Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, G. Microbiology, 35-40.
- Abdel Monem, M. O., Saad, A. S., Saher, A. E. and El-Dougdoug, K. A. 2013. Potency of bacteriospermia and sperm quality in Leukocytospermic infertile males. Life Sci. J., 10: 1413-1419.
- Abeyundara, P. K., Dissanayake, D., Wijesinghe, P. S., Perera, R. and Nishad, A. 2013. Efficacy of two sperm preparation techniques in reducing non-specific bacterial species from human semen. Journal of Human Reproductive Sciences, 152-157.
- Adewoyin, M., Ibrahim, M., Roszaman, R., Md Isa, M. L., Mat Alewi, N. A., Abdul Raza, A. A. and Anuar, M. N. N. 2017. Male infertility: the effect of natural antioxidants and phytochemicals on seminal oxidative stress. Diseases, 5(1): 9-12.
- Agarwal, A. and Tamer M, S. 2003. Role of Sperm Chromatin Abnormalities and DNA Damage in Male Infertility. Human Reproduction Update, 331–345.
- Agarwal, A., Dutta, S., Sengupta, P. and Henkel, R. 2020. Physiological Role of ROS in Sperm Function. In male infertility. Springer Switzerland Ag, 241 page, Switzerland.
- Agarwal, A., Rana, M., Qiu, E., AlBunni, H., Bui, A. D. and Henkel, R. 2018. Role of oxidative stress, infection and inflammation in male infertilityV. Andrologia, e13126.
- Ahmadi, M. H., Mirsalehian, A., Gilani, M. A. S., Bahador, A. and Talebi, M. 2018. Improvement of semen parameters after antibiotic therapy in asymptomatic infertile men infected with Mycoplasma genitalium. Infection, 46(1): 31–38.
- Aitken, R. , J., Helen , M., Norma , F., Emilio , G., Wendy , K. and Stewart , I. 1997. Reactive Oxygen Species Generation by Human Spermatozoa Is Induced by Exogenous NADPH and Inhibited by the Flavoprotein Inhibitors Diphenylene Iodonium and Quinacrine. Molecular Reproduction and Development: Incorporating Gamete Research, 468–482.

- Aitken, R., J., Emma , G., Diana , H., Jeremy , P., Philip , M. and D. Stewart, I. 1998. Relative Impact of Oxidative Stress on the Functional Competence and Genomic Integrity of Human Spermatozoa. *Biology of Reproduction*, 1037–1046.
- Akgul, A., Kadioglu, A., Koksall, M. O., Ozmez , A. and Agacfidan , A. 2018. Sexually transmitted agents and their association with leucocytospermia in infertility clinic patients. *Andrologia*, e13127.
- Akmal, M., Widodo, M. A., Sumitro, S. B. and Purnomo, B. B. 2016. The important role of protamine in spermatogenesis and quality of sperm: A mini review. *Asian Pacific Journal of Reproduction*, 5(5): 357-360.
- Al-Anbary, K. 2017. Evaluation of Inhibin B and FSH in Serum and Seminal Plasma in Different Groups of Infertile Men. ~~International Journal of Advanced Research~~, 2320–5407.
- Al-Chalabi, S. M. 2017. Effect of Fertility Blend® Administration on the Oocytes Quality and Embryonic Development using assisted Reproductive Technology in Mice. *Journal of Biotechnology Research Center*, 11(1): 67-71.
- Al-Janabi, A., Jubair, A., Pemmaraju, S., Pruthi, P. and Pruthi, V. 2014. The role of bacterial infections on male infertility in Al-Anbar province of Iraq. *Int J Med Sci Public Health*, 3(2): 177-180.
- Alnajjar, A. F. 2022. Prevalence of Male Infertility In Kirkuk City, Iraq. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, 13(1): 89-94.
- Al-Saadi, B. Q. H. and Abd, A. S. 2019. The effect of bacterial infection on male infertility. *Iraqi Journal of Biotechnology*, 18(3): 6-7.
- Aoki, V. W. and Carrell, D. T. 2003. Human protamines and the developing spermatid: their structure, function, expression and relationship with male infertility. *Asian Journal of Andrology*, 5(4): 315-324.
- Aoun, A., Khoury, V. and Malakieh, R. 2021. Can Nutrition Help in the Treatment of Infertility. *Preventive Nutrition and Food Science*, 109-120.
- Auger, J., Mesbah, M., Huber, C. and Dadoune, J. 1990. Aniline Blue Staining as a Marker of Sperm Chromatin Defects Associated with Different Semen Characteristics Discriminates Between Proven Fertile and Suspected Infertile Men. *International Journal of Andrology*, 452-462.

- Aziz, N. and Agarwal, A. 2018. *The Diagnosis and Treatment of Male Infertility: A Case-Based Guide for Clinicians*. Springer International Publishing, 519 page, USA.
- Baker, Mark , A., Anton , K., Benjamin, J., Eileen , A. and R. John, A. 2004. Identification of Cytochrome P450-Reductase as the Enzyme Responsible for NADPH-Dependent Lucigenin and Tetrazolium Salt Reduction in Rat Epididymal Sperm Preparations. *Biology of Reproduction*, 307–18.
- Bannister, L. A. and Schimenti, J. C. 2004. Homologous recombinational repair proteins in mouse meiosis. *Cytogenetic and Genome Research*, 107(3-4): 191-200.
- Barak, S. and Baker, H. 2000. *Clinical Management of Male Infertility*. MDText, 315 page, South Dartmouth.
- Baud, O., Trousson, C., Biran, V., Leroy, E., Mohamed, D. and Alberti, C. 2019. Two-year neurodevelopmental outcomes of extremely preterm infants treated with early hydrocortisone: treatment effect according to gestational age at birth. *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition*, 104(1): F30-F35.
- Berjis, K., Ghiasi, M. and Sangy, S. 2018. Study of seminal infection among an infertile male population in Qom, Iran, and its effect on sperm quality. *Iranian Journal of Microbiology*, 10(2): 111–116.
- Bhatt, C. P., Mishra, S., Bhatt, A. and Lakhey, M. 2015. Bacterial pathogens in semen culture and their antibiotic susceptibility pattern in vitro. *Int J Biomed Res*, 6(11): 909-914.
- Boivin, J., Bunting, L., Collins, J. A. and Nygren, K. G. 2007. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Human Reproduction*, 22(6): 1506-1512.
- Campbell, J., Lane , M., Owens , J. and Bakos , H. 2015. Paternal obesity negatively affects male fertility and assisted reproduction outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Reproductive Biomedicine Online*, 593–604.
- Cho, C., Jung-Ha, H., Willis, W. D., Goulding, E. H., Stein, P., Xu, Z., ... & Eddy, E. M. 2003. Protamine 2 deficiency leads to sperm DNA damage and embryo death in mice. *Biology of Reproduction*, 69(1): 211-217.

- Conwell, C. C., Vilfan, I. D. and Hud, N. V. 2003. Controlling the size of nanoscale toroidal DNA condensates with static curvature and ionic strength. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(16): 9296-9301.
- Corzett, M., Mazrimas, J. and Balhorn, R. 2002. Protamine 1: protamine 2 stoichiometry in the sperm of eutherian mammals. *Molecular Reproduction and Development*, 61(4): 519-527.
- Cox, C. M., Thoma, M. E., Tchangalova, N., Mburu, G., Bornstein, M. J., Johnson, C. L. and Kiarie, J. 2022. Infertility prevalence and the methods of estimation from 1990 to 2021: a systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Open*, 2022(4): 12-14.
- Cui, X., Jing, X., Wu, X., Wang, Z. and Li, Q. 2016. Potential effect of smoking on semen quality through DNA damage and the downregulation of Chk1 in sperm. *Molecular medicine reports*, 14(1): 753–761.
- Cummins, J. M., Jequier, A. M. and Kan, R. 1994. Molecular biology of human male infertility: links with aging, mitochondrial genetics, and oxidative stress?. *Molecular Reproduction and Development*, 37(3): 345-362.
- de Yebra, L., Ballezá, J. L., Vanrell, J. A., Corzett, M., Balhorn, R. and Oliva, R. 1998. Detection of P2 precursors in the sperm cells of infertile patients who have reduced protamine P2 levels. *Fertility and Sterility*, 69(4): 755-759.
- Diemer, T., Huwe, P., Ludwig, M., Schroeder-Printzten, I., Michelmann, H.W., Schiefer, H.G., Weidner, W. 2003. Influence of autogenous leukocytes and *Escherichia coli* on sperm motility parameters in vitro. *Andrologia*, 35: 100–105.
- Domes, T., Lo, K. C., Grober, E. D., Mullen, J. B. M., Mazzulli, T. and Jarvi, K. 2012. The incidence and effect of bacteriospermia and elevated seminal leukocytes on semen parameters. *Fertility and Sterility*, 97(5): 1050-1055.
- Donnelly, E. T., McClure, N. and Lewis, S. E. 1999. The effect of ascorbate and α -tocopherol supplementation in vitro on DNA integrity and hydrogen peroxide-induced DNA damage in human spermatozoa. *Mutagenesis*, 14(5): 505-512.
- Durairajanayagam, D. 2018. Lifestyle causes of male infertility. *Arab Journal of Urology*, 16(1): 10-20.
- Dutta, S., Henkel, R. and Agarwal, A. 2021. Comparative Analysis of Tests Used to Assess Sperm Chromatin Integrity and DNA Fragmentation. *Andrologia*, e13718.

- Dutta, S., Sengupta, P., Slama, P. and Roychoudhury, S. 2021. Oxidative stress, testicular inflammatory pathways, and male reproduction. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18): 10043.
- Eini, F., Kutenaei, M. A., Zareei, F., Dastjerdi, Z. S., Shirzeyli, M. H. and Salehi, E. 2021. Effect of bacterial infection on sperm quality and DNA fragmentation in subfertile men with Leukocytospermia. *BMC Molecular and Cell Biology*, 22: 1-10.
- Enwurua, C. A., Iwalokuna, B., Enwuru, V. N., Ezechi, O. and Oluwadun, A. 2016. The effect of presence of facultative bacteria species on semen and sperm quality of men seeking fertility care. *African Journal of Urology*, 22(3): 213-222.
- Erenpreiss, J., Bars, J., Lipatnikova, V., Erenpreisa, J. and Zalkalns Ķ, J. A. N. I. S. 2001. Comparative study of cytochemical tests for sperm chromatin integrity. *Journal of Andrology*, 22(1): 45-53.
- Erenpreiss, J., Spano, M., Erenpreisa, J., Bungum, M. and Giwercman, A. 2006. Sperm chromatin structure and male fertility: biological and clinical aspects. *Asian Journal of Andrology*, 8(1): 11-29.
- Erkek, S., Hisano, M., Liang, C. Y., Gill, M., Murr, R., Dieker, J. and Peters, A. H. 2013. Molecular determinants of nucleosome retention at CpG-rich sequences in mouse spermatozoa. *Nature Structural and Molecular Biology*, 20(7): 868-875.
- Evenson, D. P., Jost, L. K., Corzett, M. and Balhorn, R. 2000. Characteristics of human sperm chromatin structure following an episode of influenza and high fever: a case study. *Journal of Andrology*, 21(5): 739-746.
- Faisal, A. and Salman, H. 2021. Determination of Semen Quality and Antibacterial Susceptibility Pattern of Bacteria Isolated from Semen of Iraqi Subjects. *Microbiol Biotechnol Lett*, 580-587.
- Ferlin, A., A. E. Calogero, C., Krausz, F., Lombardo, D., Paoli, R., Rago, C. and V, R. 2022. Management of Male Factor Infertility: Position Statement from the Italian Society of Andrology and Sexual Medicine (SIAMS) Endorsing Organization: Italian Society of Embryology, Reproduction, and Research (SIERR). *Journal of Endocrinological Investigation*, 1085–1113.
- Fraga, C. G., Motchnik, P. A., Wyrobek, A. J., Rempel, D. M. and Ames, B. N. 1996. Smoking and low antioxidant levels increase oxidative damage to sperm DNA.

- Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 351(2): 199-203.
- Francavilla, S., D'Abrizio, P., Rucci, N., Silvano, G., Properzi, G., Straface, E. and Ulisse, S. 2000. Fas and Fas ligand expression in fetal and adult human testis with normal or deranged spermatogenesis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 85(8): 2692-2700.
- Gatimel, N., Moreau, J., Parinaud, J. and Léandri, R. 2017. Sperm morphology: assessment, pathophysiology, clinical relevance, and state of the art in 2017. *Andrology*, 845-862.
- Gdoura, R., Kchaou, W., Ammar-Keskes, L., Chakroun, N., Sellemi, A., Znazen, A. and Hammami, A. 2008. Chlamydia Trachomatis, Ureaplasma Urealyticum, Ureaplasma Parvum, Mycoplasma Hominis, and Mycoplasma Genitalium in Semen and First Void Urine Specimens of Asymptomatic Male Partners of Infertile Couples. *Journal of Andrology*, 198–206.
- Gomez, E., Buckingham, D. W., Brindle, J., Lanzafame, F., Irvine, D. S. and Aitken, R. J. 1996. Development of an image analysis system to monitor the retention of residual cytoplasm by human spermatozoa: correlation with biochemical markers of the cytoplasmic space, oxidative stress, and sperm function. *Journal of Andrology*, 17(3): 276-287.
- Gorczyca, W., Gong, J. and Darzynkiewicz, Z. 1993. Detection of DNA strand breaks in individual apoptotic cells by the in situ terminal deoxynucleotidyl transferase and nick translation assays. *Cancer Research*, 53(8): 1945-1951.
- Guiton, R. and Drevet, J. R. 2023. Viruses, bacteria and parasites: infection of the male genital tract and fertility. *Basic and Clinical Andrology*, 33(1): 19.
- Gurung , P., Yetiskul , E. and Jialal , I. 2023. Physiology, Male Reproductive System. Web site: StatPearls: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538429/>. Date access: 07.08.2024.
- Gusse, M., Sautière, P., Bélaiche, D., Martinage, A., Roux, C., Dadoune, J. P. and Chevaillier, P. 1986. Purification and characterization of nuclear basic proteins of human sperm. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 884(1): 124-134.

- Haidl, F., Haidl, G., Oltermann, I. and Allam, J. P. 2015. Seminal parameters of chronic male genital inflammation are associated with disturbed sperm DNA integrity. *Andrologia*, 464–469.
- Hammadeh, M. E., Hamad, M. F., Montenarh, M. and Fischer-Hammadeh, C. 2010. Protamine contents and P1/P2 ratio in human spermatozoa from smokers and non-smokers. *Human Reproduction*, 25(11): 2708-2720.
- Hammoud, A. O., Griffin, J., Meikle, A. W., Gibson, M., Peterson, C. M. and Carrell, D. T. 2010. Association of aromatase (TTTAn) repeat polymorphism length and the relationship between obesity and decreased sperm concentration. *Human Reproduction*, 25(12): 3146-3151.
- Hikim, A. P, S. and Ronald , S. 1999. Hormonal and Genetic Control of Germ Cell Apoptosis in the Testis. *Rev. Reprod.*, 38–47.
- Hipwell, A., Kahn, L., Factor-Litvak, P., Porucznik, C., Siegel, E., Fichorova, R. and al, e. 2019. Exposure to non-persistent chemicals in consumer products and fecundability: a systematic review. *Human Reproduction Update*, 51-71.
- Huang, B., Wang, Z., Kong, Y., Jin, M. and Ma, L. 2023. Global, regional and national burden of male infertility in 204 countries and territories between 1990 and 2019: an analysis of global burden of disease study. *BMC Public Health*, 23(1): 2195.
- Hud, N. V., Milanovich, F. P. and Balhorn, R. 1994. Evidence of novel secondary structure in DNA-bound protamine is revealed by Raman spectroscopy. *Biochemistry*, 33(24): 7528-7535.
- Huszar, G., Sbracia, M., Vigue, L., Miller, D. J. and Shur, B. D. 1997. Sperm plasma membrane remodeling during spermiogenetic maturation in men: relationship among plasma membrane β 1, 4-galactosyltransferase, cytoplasmic creatine phosphokinase, and creatine phosphokinase isoform ratios. *Biology of Reproduction*, 56(4): 1020-1024.
- Inhorn, M. and Pasquale, P. 2015. Infertility around the Globe: New Thinking on Gender, Reproductive Technologies and Global Movements in the 21st Century. *Human Reproduction Update*, 411–426.
- Irez, T., Sahmay, S., Ocal, P., Goymen, A., Senol, H., Erol, N. and Guralp, O. 2015. Investigation of the association between the outcomes of sperm chromatin

- condensation and decondensation tests, and assisted reproduction techniques. *Andrologia*, 47(4): 438-447.
- Irvine, D., S., Jeremy, P., Emma, L., Norma, F., Philip, A. and John, A. 2000. DNA Integrity in Human Spermatozoa: Relationships with Semen Quality. *Journal of Andrology*, 33–44.
- Janagond, A., Sastry, A., Bhat, S. and Rajshekar, D. 2022. *Essentials of Medical Microbiology*. Jaypee Brothers Medical Publisher, 671 page, New Delhi.
- Jendrossek, V., Grassme, H., Mueller, I., Lang, F. and Gulbins, E. 2001. *Pseudomonas aeruginosa*-induced apoptosis involves mitochondria and stress-activated protein kinases. *Infection and Immunity*, 2675–2683.
- Kaur, S., Prabha, V., Shukla, G. and Sarwal, A. 2010. Interference of Human Spermatozoal Motility by Live *Staphylococcus aureus*. *American Journal of Biomedical Sciences*, 91-97.
- Kodama, H., Yamaguchi, R., Fukuda, J., Kasai, H. and Tanaka, T. 1997. Increased oxidative deoxyribonucleic acid damage in the spermatozoa of infertile male patients. *Fertility and Sterility*, 68(3): 519-524.
- Krausz, C., Cioppi, F. and Riera-Escamilla, A. 2018. Testing for genetic contributions to infertility: potential clinical impact. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 18(4): 331-346.
- Kumar, S., Murarka, S., Mishra, V. V. and Gautam, A. K. 2014. Environmental & lifestyle factors in deterioration of male reproductive health. *Indian Journal of Medical Research*, 140(1): S29-S35.
- Kumar, V. and Garg, N. 2019. Effect of *Escherichia coli* on Semen Quality of Infertile Human Male. *Virol Immunol J*, 3(3): 000214.
- Leisegang, K. and Dutta, S. 2021. Do lifestyle practices impede male fertility? *Andrologia*, e13595.
- Lewis, J. D., Song, Y., de Jong, M. E., Bagha, S. M. and Ausió, J. 2003. A walk through vertebrate and invertebrate protamines. *Chromosoma*, 111: 473-482.
- Li, J., Li, B., Song, J., Liu, H., Bi, W., Dong, G. and Wei, Z. 2018. Characteristic and mechanism of immobilization effect of *Staphylococcus aureus* on human spermatozoa. *Microbial Pathogenesis*, 28–34.

- Liu, X. R., Wang, X. L., Zhao, J., Hu, C. H., Cao, N. N., Chen, H. G. and Duan, P. 2022. Association between tea consumption and semen quality among 1385 healthy Chinese men. *Chemosphere*, 303: 135140.
- Loir, M. and Lanneau, M. 1984. Structural function of the basic nuclear proteins in ram spermatids. *Journal of Ultrastructure Research*, 86(3): 262-276.
- Lüke, L., Vicens, A., Tourmente, M. and Roldan, E. R. 2014. Evolution of protamine genes and changes in sperm head phenotype in rodents. *Biology of Reproduction*, 90(3): 67-1.
- Machen, G. L., Bird, E. T., Brown, M. L., Ingalsbe, D. A., East, M. M., Reyes, M. and Kuehl, T. J. 2018. Time trends for bacterial species and resistance patterns in semen in patients undergoing evaluation for male infertility. *Proceedings (Baylor University. Medical Center)*: 165–167.
- Magdum, M., Chowdhury, M., Begum, N. and Riya, S. 2022. Types of Infertility and Its Risk Factors among Infertile Women. *Journal of Biosciences and Medicines*, 158-168.
- Manicardi, G. C., Bianchi, P. G., Pantano, S., Azzoni, P., Bizzaro, D., Bianchi, U. and Sakkas, D. 1995. Presence of endogenous nicks in DNA of ejaculated human spermatozoa and its relationship to chromomycin A3 accessibility. *Biology of Reproduction*, 52(4): 864-867.
- Mawhinney, M. and Mariotti, A. 2013. Physiology, pathology and pharmacology of the male reproductive system. *Periodontology 2000*, 61(1): 232-251.
- Mazzilli, R., Rucci, C., Vaiarelli, A., Cimadomo, D., Ubaldi, F. M., Foresta, C. and Ferlin, A. 2023. Male factor infertility and assisted reproductive technologies: indications, minimum access criteria and outcomes. *Journal of endocrinological investigation*, 46(6): 1079–1085.
- Mckay, D. J., Renaux, B. S. and Dixon, G. H. 1986. Human sperm protamines: Amino-acid sequences of two forms of protamine P2. *European Journal of Biochemistry*, 156(1): 5-8.
- McPherson, S. 1993. Chromatin Structure-Function Alterations during Mammalian Spermatogenesis: DNA Nicking and Repair in Elongating Spermatids. *Eur. J. Histochem*, 109–128.

- McPherson, S. M. and Longo, F. J. 1992. Endogenous nicks in elongating spermatid DNA-involvement of DNA topoisomerase-ii and protamine. In *Molecular Biology of The Cell*. Publ Office: Amer Soc Cell Biology, 3: 102-112
- Mir, J., Franken, D., Andrabi, S., Ashraf, M. and Rao, K. 2018. Impact of weight loss on sperm DNA integrity in obese men. *Andrologia*, e12957.
- Miyamoto, T., Koh, E., Sakugawa, N., Sato, H., Hayashi, H., Namiki, M. and Sengoku, K. 2008. Two single nucleotide polymorphisms in PRDM9 (MEISETZ) gene may be a genetic risk factor for Japanese patients with azoospermia by meiotic arrest. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 25, 553-557.
- Miyamoto, T., Tsujimura, A., Miyagawa, Y., Koh, E., Namiki, M. and Sengoku, K. 2012. Male infertility and its causes in human. *Advances in Urology*, 2012(1): 384520.
- Molina, P. 2023. *Male Reproductive System*. New York: Endocrine Physiology 6th.
- Momoh, A., Orhue, P., Okolo, P., Odaro, D., Momoh, A. and Iyevhobu, L. 2012. The AntibioGram Types of Auto-agglutinating *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from the Semen Samples of Males with Infertility Problems in Edo State, Nigeria. *E3 Journal of Medical Research*, 17-24.
- Moretti, E., Capitani, S., Figura, N., Pammolli, A., Federico, M. G., Giannerini, V. and Collodel, G. 2009. The presence of bacteria species in semen and sperm quality. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 26: 47-56.
- Mortimer, D. 2018. The functional anatomy of the human spermatozoon: relating ultrastructure and function. *MHR: Basic Science of Reproductive Medicine*, 567-592.
- Naelitz, B. D., Khooblall, P. S., Parekh, N. V., Vij, S. C., Rotz, S. J. and Lundy, S. D. 2024. The effect of red blood cell disorders on male fertility and reproductive health. *Nature Reviews Urology*, 21(5): 303-316.
- Nasrawi, M. A. A. and Tawfiq, L. J. 2020. Bacterial infection and seminal fluid parameters in Iraqi sub fertile men. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 14(3): 1405-1410.
- Ochsendorf, F. 1999. Infections in the Male Genital Tract and Reactive Oxygen Species. *Human Reproduction Update*, 399-420.

- Ohri, M. and Prabha, V. 2005. Isolation of a Sperm-Agglutinating Factor from *Staphylococcus aureus* Isolated from a Woman with Unexplained Infertility. *Fertility and Sterility*, 1539-1541.
- Oliva, R. 2006. Protamines and male infertility. *Human Reproduction Update*, 417–435.
- Otunctemur, A., Dursun, M., Ozbek, E., Sahin, S., Besiroglu, H., Koklu, I. and Bozkurt, M. 2015. Effect of metabolic syndrome on sexual function in pre-and postmenopausal women. *Journal of Sex and Marital Therapy*, 41(4): 440-449.
- Page, A. W. and Orr-Weaver, T. L. 1997. Stopping and starting the meiotic cell cycle. *Current Opinion in Genetics and Development*, 7(1): 23-31.
- Pajovic, B., Radojevic, N., Vukovic, M. and Stjepcevic, A. 2013. Semen analysis before and after antibiotic treatment of asymptomatic Chlamydia- and Ureaplasma-related pyospermia. *Andrologia*, 45(4): 266–271.
- Pallotti, F., Barbonetti, A., Rastrelli, G., Santi, D., Corona, G. and Lombardo, F. 2022. The impact of male factors and their correct and early diagnosis in the infertile couple's pathway. *Journal of Endocrinological Investigation*, 1-16.
- Pardede, B., Agil, M. and Supriatna, I. 2020. Protamine and other proteins in sperm and seminal plasma as molecular markers of bull fertility. *Vet World*, 556-562.
- Patil, P., Mudiraj, N. and Mane, V. 2021. Aniline Blue Staining Method for Sperm DNA Fragmentation Index: A Guide to Sperm Quality and Infertility Management – An Observational Study in Males from South Maharashtra. *National Journal of Clinical Anatomy*, 126.
- Potts, R., Notarianni, L. and Jefferies, T. 2000. Seminal Plasma Reduces Exogenous Oxidative Damage to Human Sperm, Determined by the Measurement of DNA Strand Breaks and Lipid Peroxidation. *Mutation Research*, 249-256.
- Primakoff, P. and Myles, D. G. 2002. Penetration, adhesion, and fusion in mammalian sperm-egg interaction. *Science*, 296(5576): 2183-2185.
- Qiang, H., Jiang, M. S., Lin, J. Y. and He, W. M. 2007. Influence of enterococci on human sperm membrane in vitro. *Asian journal of andrology*, 9(1): 77-81.
- Qiu, Y., Yang, H., Li, C. and XU, C. 2020. Progress in research on sperm DNA fragmentation. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 26-27.

- Rehman, R., Zahid, N., Amjad, S., Baig, M. and Gazzaz, Z. J. 2019. Relationship Between Smoking Habit and Sperm Parameters Among Patients Attending an Infertility Clinic. *Frontiers in Physiology*, 10L 1356.
- Ricci, S., De Giorgi, S., Lazzeri, E., Luddi, A., Rossi, S., Piomboni, P. and Pozzi, G. 2018. Impact of asymptomatic genital tract infections on in vitro Fertilization (IVF) outcome. *PloS One*, 13(11): e0207684.
- Rooney, A. P. and Zhang, J. 1999. Rapid evolution of a primate sperm protein: relaxation of functional constraint or positive Darwinian selection?. *Molecular Biology and Evolution*, 16(5): 706-710.
- Rusz, A., Pilatz, A., Wagenlehner, F., Linn, T., Diemer, T. H., Schuppe, H. C. and Weidner, W. 2012. Influence of urogenital infections and inflammation on semen quality and male fertility. *World Journal of Urology*, 30: 23-30.
- Rybar, R., Prinosilova, P., Kopecka, V., Hlavicova, J., Veznik, Z. and Zajicova, A. 2012. The effect of bacterial contamination of semen on sperm chromatin integrity and standard semen parameters in men from infertile couples. *Andrologia*, 410–418.
- Sadeek, Y. K., Abdelghany, T., Gadel-Rab, A. G. and Mohamed, E. H. 2024. Influence of bacterial infection on human sperm.
- Safarinejad, M. R., Shafiei, N. and Safarinejad, S. 2011. Association of the (TAAAA) n repeat and Asp327Asn polymorphisms in the sex hormone-binding globulin (SHBG) gene with idiopathic male infertility and relation to serum SHBG concentrations. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 123(1-2): 37-45.
- Sailer, B. L., Jost, L. K. and Evenson, D. P. 1995. Mammalian sperm DNA susceptibility to in situ denaturation associated with the presence of DNA strand breaks as measured by the terminal deoxynucleotidyl transferase assay. *Journal of Andrology*, 16(1): 80-87.
- Saleh, R. A., Agarwal, A., Sharma, R. K., Nelson, D. R. and Thomas Jr, A. J. 2002. Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men: a prospective study. *Fertility and Sterility*, 78(3): 491-499.

- Sanocka, D., Frączek, M., Jędrzejczak, P., Szumała-Kąkol, A. and Kurpisz, M. 2004. Male genital tract infection: an influence of leukocytes and bacteria on semen. *Journal of Reproductive Immunology*, 62(1-2): 111-124.
- Sanocka-Maciejewska, D., Ciupińska, M. and Kurpisz, M. 2005. Bacterial infection and semen quality. *Journal of reproductive immunology*, 67(1-2): 51-56.
- Sanocka-Maciejewska, D., Ciupińska, M. and Kurpisz, M. 2005. Bacterial infection and semen quality. *Journal of reproductive Immunology*, 67(1-2): 51-56.
- Sasikumar, S., Dakshayani, D. and Sarasa, D. 2013. An Investigation of DNA Fragmentation and Morphological Changes Caused by Bacteria and Fungi in Human Spermatozoa. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 84-96.
- Schneider, S., Balbach, M., Jan, F. and Jikeli. 2016. Re-visiting the Protamine-2 locus: deletion, but not haploinsufficiency, renders male mice infertile. *Scientific Reports*, 36764.
- Schuppe, H. C., Pilatz, A., Hossain, H., Diemer, T., Wagenlehner, F. and Weidner, W. 2017. Urogenital infection as a risk factor for male infertility. *Deutsches Ärzteblatt International*, 114(19): 339.
- Shang, Y., Liu, C., Cui, D., Han, G. and Yi, S. 2014. The effect of chronic bacterial prostatitis on semen quality in adult men: a meta-analysis of case-control studies. *Scientific Reports*, 4(1): 7233.
- Sharma, R. K. and Agarwal, A. 1996. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology*, 48(6): 835-850.
- Shash, R. Y. M., Mohamed, G. A. A., Shebl, S. E., Shokr, M. and Soliman, S. A. 2023. The Impact of Bacteriospermia on Semen Parameters Among Infertile Egyptian Men: A Case-Control Study. *American Journal of Men's Health*, 17(3): 33-36.
- Sihag, P., Tandon, A., Pal, R., Jain, B., Bhatt, S., Kaur, S. and Sinha, A. 2018. Sonography in Male Infertility: A Look Beyond the Obvious. *Journal of Ultrasound*, 265–276.
- Simon, L., Brunborg, G., Stevenson, M., Lutton, D., McManus, J. and Lewis, S. E. 2010. Clinical significance of sperm DNA damage in assisted reproduction outcome. *Human Reproduction*, 25(7): 1594-1608.

- Sinha, H., Amiya, P., Tripathi, B., Indrani, S., Yanhe, L., Juan, J. and Ronald, S. 1997. Significance of Apoptosis in the Temporal and Stage-Specific Loss of Germ Cells in the Adult Rat after Gonadotropin Deprivation. *Biology of Reproduction*, 1193–1201.
- Steger, K. and Balhorn, R. 2018. Sperm nuclear protamines: A checkpoint to control sperm chromatin quality. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 273-279.
- Steger, K., Failing, K., Klönisch, T., Behre, H. M., Manning, M., Weidner, W. and Kliesch, S. 2001. Round spermatids from infertile men exhibit decreased protamine-1 and-2 mRNA. *Human Reproduction*, 16(4): 709-716.
- Stringer, J. 2016. Gender and Sexual Health: Sexual Dysfunction. *FP essentials*, 18–26.
- Talebi, A. R., Vahidi, S., Aflatoonian, A., Ghasemi, N., Ghasemzadeh, J., Firoozabadi, R. and Dehghani, F. 2012. Cytochemical evaluation of sperm chromatin and DNA integrity in couples with unexplained recurrent spontaneous abortions. *Andrologia*, 462–470.
- Theam, O., Dutta, S. and Sengupta, P. 2020. Role of Leucocytes in Reproductive Tract Infections and Male Infertility. *Chemical Biology Letters*, 124-130.
- Tournaye, H., Krausz, C. and Oates, R. D. 2017. Concepts in diagnosis and therapy for male reproductive impairment. *The Lancet Diabetes and Endocrinology*, 5(7): 554-564.
- Twigg, J. P., Irvine, D. S. and Aitken, R. J. 1998. Oxidative damage to DNA in human spermatozoa does not preclude pronucleus formation at intracytoplasmic sperm injection. *Human Reproduction (Oxford, England)*, 13(7): 1864-1871.
- Uneke, C. J. and Ugwuoru, C. D. C. 2010. Antibiotic susceptibility of urogenital microbial profile of infertile men in South-eastern Nigeria. *Andrologia*, 42(4): 268-273.
- Vander Borgh, M. and Wyns, C. 2018. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clinical Biochemistry*, 62: 2-10.
- Vernet, P., Fulton, N., Wallace, C. and Aitken, R. J. 2001. Analysis of reactive oxygen species generating systems in rat epididymal spermatozoa. *Biology of Reproduction*, 65(4): 1102-1113.
- Vilvanathan, S., Kandasamy, B., Jayachandran, A., Sathiyarayanan, S., Tanjore-Singaravelu, V., Krishnamurthy, V. and Elangovan, V. 2016. Bacteriospermia and

- its impact on basic semen parameters among infertile men. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*, 2614692.
- Vollset, Stein, E., Emily, G., Chun-Wei, Y., Jackie, C., Amanda, E. and Julian, C. 2020. Fertility, Mortality, Migration, and Population Scenarios for 195 Countries and Territories from 2017 to 2100: A Forecasting Analysis for the Global Burden of Disease Study. *The Lancet*, 1285–1306.
- Volz, Yannic, Benedikt, E., Paulo, P., Elena, B., Ekaterina, L. and Giuseppe, M. 2022. Asymptomatic Bacteriospermia and Infertility—What Is the Connection? *Infection*, 1499–1505.
- Ward, W. S., Kimura, Y. and Yanagimachi, R. 1999. An intact sperm nuclear matrix may be necessary for the mouse paternal genome to participate in embryonic development. *Biology of Reproduction*, 60(3): 702-706.
- Ward, W., S. and Donald S., C. 1991. DNA Packaging and Organization in Mammalian Spermatozoa: Comparison with Somatic Cells. *Biology of Reproduction*, 569–574.
- Warren, J. S., Johnson, K. J. and Ward, P. A. 1987. Oxygen radicals in cell injury and cell death. *Pathology and Immunopathology Research*, 6(5-6): 301-315.
- WHO, 2010. World Health Organization laboratory manual for the examination and processing of human semen, 5th edn. Geneva: WHO.
- Winters, B. R. and Walsh, T. J. 2014. The epidemiology of male infertility. *Urologic Clinics*, 41(1): 195-204.
- Xu, Y., Lu, H., Wang, Y., Zhang, Z. and Wu, Q. 2020. Comprehensive metabolic profiles of seminal plasma with different forms of male infertility and their correlation with sperm parameters. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 177: 112888.
- Xu, Y., Lu, H., Wang, Y., Zhang, Z. and Wu, Q. 2020. Comprehensive metabolic profiles of seminal plasma with different forms of male infertility and their correlation with sperm parameters. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 112888.
- Zeyad, A., Hamad, M. F. and Hammadeh, M. E. 2018. The effects of bacterial infection on human sperm nuclear protamine P1/P2 ratio and DNA integrity. *Andrologia*, 50(2): e12841.

Zini, A. and Libman, J. 2006. Sperm DNA damage: clinical significance in the era of assisted reproduction. *Cmaj*, 175(5): 495-500.



