

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ERKEK BİREYLERİN AÇIKLANAMAYAN
İNFERTİLİTELERİNDE TİYOREDOKSİN MEKANİZMASI VE
TESTİS- İFADE PROTEİN 101 DÜZEYLERİ**

FATMA ZEHRA ERBAYRAM

YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Doç. Dr. ESMA MENEVŞE

KONYA-2018

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ERKEK BİREYLERİN AÇIKLANAMAYAN
İNFERTİLİTELERİNDE TİYOREDOKSİN MEKANİZMASI VE
TESTİS-İFADE PROTEİN 101 DÜZEYLERİ**

FATMA ZEHRA ERBAYRAM

YÜKSEK LİSANS TEZİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Doç.Dr. ESMA MENEVŞE

Bu araştırma Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü
tarafından 18202024 proje numarası ile desteklenmiştir.

KONYA-2018

S.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

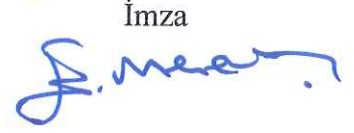
Fatma Zehra ERBAYRAM tarafından savunulan bu çalışma, jüri tarafından Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak oy birliği / ~~oy çokluğu~~ ile kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

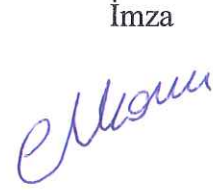
Başkan
Doç.Dr.Abdullah SİVRİKAYA

İmza


Danışman
Doç.Dr.Esma MENEVŞE

İmza


Üye
Dr. Öğr.Üyesi Emine Nedime KORUCU

İmza


ONAY:

Bu tez, Selçuk Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmenliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu tarih ve sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Ender ERDOĞAN

Enstitü Müdürü

Bu tez çalışması Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 18202024 nolu proje ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALARv

1.GİRİŞ.....1

1.1. İnfertilite'nin Tanımı ve Sınıflandırması.....1

1.1.1. İnfertilite'nin Prevalansı.....3

1.1.2.İnfertilite'nin Nedenleri.....4

1.1.3.Erkek Fertilizasyonu.....6

1.1.4. Erkek Fertilitesi.....14

1.1.5.Açıklanamayan Erkek İnfertilitesi.....24

1.2. Redoks Regülasyonu Ve Tioredoksin Mekanizmasının Erkek İnfertilitesi Üzerindeki Etkileri.....25

1.2.1.Tioredoksin Sistem.....31

1.2.2.Sperm Spesifik Tioredoksin Redüktaz3.....38

1.3.Testis İfade Protein-TEX 101.....41

1.3.2.TEX-101 Etli Mekanizması.....45

1.3.2.Epididimal Olgunlaşmada TEX-101 Proteinin Rolü.....46

2. GEREÇ ve YÖNTEM 50

2.1.Sperm Örneklerinin Toplanması, Muhafaza Edilmesi ve Spermiyogramın Değerlendirilmesi.....50

2.2.Semen Analizleri.....51

2.2.1.Spermiyogram.....51

2.3.Biyokimyasal Analizler.....54

2.3.1.Semen de Sperm spesifik Tioredoksin Redüktaz-3 (SPTRX3) Analizi.....	54
2.3.2. Semen de Testis - İfade Protein 101 (TEX-101) Analizi.....	56
2.4. İstatiksel Değerlendirilmesi.....	59
3. BULGULAR	60
4. TARTIŞMA	67
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	75
6. KAYNAKLAR.....	77
7. EKLER	90
EK A: Etik Kurul Kararı,.....	90
8. ÖZGEÇMİŞ.....	91

ŞEKİLLER

Şekil 1.1.3.1.: Memeli Spermatogenez Aşamaları

Şekil 1.1.3.2.: Seminifer tübüllerde spermatogenezis

Şekil 1.1.3.3.: Memeli Spermiyogenez Aşamaları

Şekil 1.1.3.4.: Spermatogenezisin Hormonal Kontrolü

Şekil 1.1.3.5.: Matür spermin şematik görünüşü

Şekil 1.1.3.6.: Fertilizasyon Aşamaları

Şekil 1.1.3.7.: Sperm baş defektleri

Şekil 1.1.3.8.: Sperm boyun defektleri ve sitoplazmik damla

Şekil 1.1.3.9.: Sperme ait kuyruk defektleri

Şekil 1.2.1.: Memeli sperm kapasitasyonu sırasında ROS üretimi.

Şekil 1.2.2.: PRDX'lerin fizyolojik ve patolojik durumlarda inaktivasyonunun sonuçları.

Şekil 1.2.3.: Peroksidanlar ın yeniden aktiflenmesi

Şekil 1.2.4.: PRDX'ler insan spermi kapasitasyon sırasında ROS sinyalini düzenler.

Şekil 1.2.5.: Tiyoredoksin redüktazın substratları ve Tiyoredoksinin hücredeki fonksiyonları

Şekil 1.3.2.1.: Fare spermatogenez sürecinde spermatozada TEX-101, ADAM3 ve ACE'nin rolleri

Şekil 3.1.: Grup I ve Grup II de SPTRxR3 Konsantrasyon Grafikleri

Şekil 3.2: Grup I ve Grup II de TEX-101 Konsantrasyon Grafikleri

TABLÖLAR

Tablo 1.1.3.1.: Normal spermin morfolojik özellikleri

Tablo 1.1.3.2. : Erkek infertilitesinde etyoloji

Tablo 1.1.3.3. : WHO 2010 semen parametreleri

Tablo 1.1.3.4. : Erkek infertilitesinde anatomik bozukluklar ve nedenleri

Tablo 2.2.1.1. Seminal sıvıyı oluşturan sekresyonların yüzde olarak dağılımı.

Tablo 2.2.1.2. Semen değişkenleri için terminoloji

Tablo 3.1. Normozoospermi grubundaki semen parametreleri (n=40)

Tablo 3.2. Oligozoospermi grubundaki semen parametreleri; (n=40)

Tablo 3.3. Grupların TEX-101 ve SPTrx 3 Değerleri

Tablo 3.4. Normozoospermi ve oligozoospermi li grupların TEX-101 düzeyleri ile semen parametreleri arasındaki korelasyon ve anlamlılık düzeyleri

Tablo 3.5. Normozoospermi ve oligozoospermi li grupların SPTRX 3 düzeyleri ile semen parametreleri arasındaki korelasyon ve anlamlılık düzeyleri

Tablo 3.6. Normozoospermi ve oligozoospermi li gruplarının TEX-101 ve SPTrx 3 parametrelerinin korelasyon katsayısı

Simgeler ve Kısaltmalar

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
AC	Adenilil Siklaz
ACE	Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
ADAM 3	Disintegrin Ve Metalloproteaz İçeren Protein Ailesi 3
AR	Akrozomal Reaksiyon
ART	Yardımcı Doğurganlık Tedavileri
ASA	Anti Sperm Antikor
c DNA	Tamamlayıcı DNA
c AMP	Siklik Adenozin Monofosfat
CAT	Katalaz
CYS	Sistein
ELİSA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ETZ	Elektron Transport Zincirinde
FAD	Flavin Adenin Dinükleotit
FMN	Flavin Mononükleotit
FSH	Folikül Stimule Edici Hormon
G6PD	Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz
GPX	Glutasyon Peroksidaz
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon –S-Transferaz
H₂O₂	Hidrojen Peroksit
HMPS	Oksidatif Hekzos Monofosfat
ICDH	İsocitrate Dehydrogenase
IHC	İmmünohistokimya
IM	İmmotilite
IVF	İn Vitro Fertilizasyon
LDH	Laktat Dehidrogenaz
LH	Lutein Hormon
M RNA	Mesajcı RNA

NADH	Nikotinamid Dinükleotit
NADPH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NO	Nitrik Oksit
NOS	Nitrik Oksit Sentaz
NP	Non Progresif
O₂[•]	Süperoksit Anyonu
OA	Obstrüktif Azospermi
ONOO⁻	Peroksinitrit
PH	Asitlik Derecesi
PR	Progresif
PRDX	Peroksidanlar
Prxs	Peroksidaz
PTK	Protein Tirozin Kinaz
PTM	Post-Translasyonel Modifikasyonlar
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SABC	Hrp-Streptavidin Konjugat Çalışma Solüsyonu
SCO	Sertoli Cell Only
SOD	Süperoksit Dismutaz
SPT_{rx} 1	Sperm Spesifik Tioredoksin 1
SPT_{rx} 2	Sperm Spesifik Tioredoksin 2
SPT_{rx} 3	Sperm Spesifik Tioredoksin 3
SPT_{rx}3	Sperm Spesifik Tioredoksin Redüktaz 3
T_{ACE}	Testiküler Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim
TESE	Testisten Biyopsi İle Sperm Elde Edilmesi
TEX 101	Testis İfade Protein 101
TNSA	Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması
Trx	Tioredoksin
Trx 1	Sitozolik Form
Trx 2	Mitokondriyal Form
Trx 3	Sperm Spesifik Form
TrxR	Tioredoksin Redüktazlar
TXL-1	Tioredoksin Benzeri -1

U.V	Ultraviyole
UPA	Ürokinaz Tipi Plazminojen Aktivatörü
UPAR	Ürokinaz Tipi Plazminojen Aktivatör Reseptörü
WBC	Lökosit, Akyuvarlar
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
YUT	Yardımcı Üreme Teknikleri
Zn⁺²	Çinko



ÖNSÖZ

Yüksek Lisans eğitimim boyunca, yanında çalışmaktan gurur duyduğum, bilgi ve tecrübelerini paylaşarak yetişmemde emeği olan, her aşamada hoşgörü, anlayış, ve desteğiyle bana yol gösteren değerli hocam Doç.Dr Esma MENEVŞE'ye sonsuz teşekkürü borç bilirim.

Vakaların temin edilmesi aşamasında destek gördüğümüz sayın Dr. Öğr. Üyesi Duygu DURSUNOĞLU' na ve S.Ü. Tıp Fakültesi Tüp Bebek ve Androloji laboratuvarı ekibine; tez çalışmamımın istatistiksel analizlerinin yapımında değerli katkılarını esirgemeyen kardeşim Sayın Tenzile ERBAYRAM' a teşekkür ederim.

Beni bu yaşıma kadar getiren, sevgi ve varlıklarıyla her koşulda arkamda olan, mutluluk ve huzur kaynağım olan ailem ve daima yanımda olan sevdiklerime Sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ERKEK BİREYLERİN AÇIKLANAMAYAN İNFERTİLİTELERİNDE TİYOREDOKSİN MEKANİZMASI VE TESTİS- İFADE PROTEİN 101 DÜZEYLERİ

Fatma Zehra ERBAYRAM

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi/ KONYA-2018

İnsanlık tarihi kadar eski olan üreme, yaşamın ve neslin süreklilik temelini oluşturması sebebiyle her zaman fazlasıyla önem taşıyan bir kavram olmuştur. Ancak çeşitli sebeplerden dolayı çiftler çocuk sahibi olamamaktadırlar. İnfertil çiftlerin %30-40'ında kaynak erkek, %40-50'sinde ise kaynak kadın faktörüdür. Çiftlerin %15'nde ise bütün tanınal tetkikler sonucunda herhangi bir infertilite nedeni belirlenememekte olup, açıklanamayan infertilite olarak tanımlanmaktadırlar. Erkeklerdeki infertilite, semen analizlerindeki anomaliler ile tanımlanmaktadır.

Redox düzenlenmesi normal spermatogenezin fizyolojisinde önemli olmakla birlikte, bazı spermatogenetik anomalilerde redoks düzenlenmelerindeki aksaklıkların rol alabileceği düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda tiyoredoksin ve tiyoredoksin redüktazlar erkek üreme hücreleri ile güçlü ilişkileri olduğu belirtilmiştir.

Tiyoredoksin sistem, glutasyon sistemle birlikte intersellüler redoks çevresinin ana düzenleyicisi olarak kabul edilmektedir. Spermatid spesifik tiyoredoksin (SPTRX3 / TXNDC8) , nükleer boşluklarda ve defektli insan spermatozoa'sının sitoplazmasında fazla tutulduğuna dair önemli bulgular mevcuttur.

Testis İfade Protein (TEX101) , sadece testiküler germ hücreleri tarafından eksprese edilen ve seminal plazma içine dökülen bir hücre zarı proteindir. TEX 101 proteinin sperm üretimi sırasında açığa çıktığı bilinmekle birlikte, fetal testisinde prospermatogonia plazma membranında bulunmaktadır. Bunun yanı sıra, azospermik infertil bireylerde TESE ameliyatı ile testislerde sperm bulma olasılığını tespit etmeye yönelik tanımlanan bir belirteç olabileceğine dair bulgular bulunmaktadır.

Bu bilgilerden yola çıkarak, infertilitede SPTRX3 ve TEX 101 düzeyleri ile semen parametreleri arasındaki olası ilişkilerin araştırılması ve redoks yollarında rolü olan SPTRX3 ün düzeylerinin tespit edilmesi amaçlandı. Normozoospermik bireyler ile Oligozoospermik bireyler arasında TEX 101 düzeyleri açısından farklılığın belirlenmesi çalışmamızın bir diğer hedefidir. Bu çalışma ile infertilitede bilinmeyen ve henüz açıklanamayan biyokimyasal yollarından olan Tiyoredoksin ve TEX 101 mekanizmaları aydınlatılmaya çalışıldı.

Sunulan araştırma, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tüp Bebek Ünitesi Androloji Laboratuvarına gelen bireylerden alınan semen numuneleri üzerinde yapılmıştır. Semen analizi için gelen bireylerin biyoatık olan numunelerinden SPTRX3 ve TEX 101 düzeylerinin analizi ticari ELİSA test kiti kullanılarak gerçekleştirilmiş olup, Androloji Laboratuvarında yapılan ve kayıt altına alınmış rutin Spermiyogram analiz sonuçları kullanılmıştır. Çalışmada iki grup oluşturulmuştur. Grup I'e yaş ortalaması $31,63 \pm 2,15$ olan 40 Normozoospermik birey oluşmakta iken Grup II'e yaş ortalaması $29,33 \pm 1,65$ olan 40 Oligozoospermik birey dahil edilmiştir.

Sunulan çalışmada, TEX-101 protein düzeylerini Normozoospermili bireylerde ($2,12 \pm 0,08$ ng/mL) Oligozoospermili bireylere ($1,55 \pm 0,04$ ng/mL) göre anlamlı düzeyde farklılık gösterdiği tespit edildi. Oligozoospermili bireylerin SPTrx3 düzeyleri ($6,98 \pm 0,46$ ng/mL) Normozoospermili bireylerin düzeylerine ($3,07 \pm 0,35$ ng/mL) göre anlamlı düzeyde yüksekti.

Sonuç olarak açıklanamayan infertil hastalarda etkili olabileceği düşünülen TEX-101 ve SPTrx3 dünya literatüründe tanımlanmış olmakla birlikte, sunulan tez çalışması Normozoospermili ve Oligozoospermili bireylerin semen TEX-101 ve SPTRX3 düzeylerini tespit eden ilk çalışmadır.

Erkeklerin infertilitesinin değerlendirilmesinde yüksek SPTRX3 ve düşük TEX-101 seviyelerinin erkeklerde biyobelirteç olabileceği sonucuna varılmıştır. Bu çalışmada elde ettiğimiz bulgular, SPTRX3 ve TEX-101 analizlerinin Oligozoospermik erkek bireylerin tanısında klinik bir yaklaşım olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Açıklanamayan Erkek infertilitesi, TEX-101, SPTrx-3, ROS, Tiyoredoksinler

SUMMARY

REPUBLIC of TURKEY

SELÇUK UNIVERSITY

HEALTH SCIENCES INSTITUTE

THIOREDOXINE MECHANISMS AND TESTIS- EXPRESSED PROTEIN 101 LEVELS IN UNEXPLAINED INFERTIL MEN INDIVIDUALS

Fatma Zehra ERBAYRAM

Department of Medical Biochemistry

MASTER THESIS / KONYA-2018

Reproduction, which is as old as human history, has always been a very important concept due to it forms the basis of life and continuity. However, due to various reasons couples cannot have children.. 30-40% of all infertile couples are male and 40-50% of all infertile couples are female. In 15% of the couples have no reason for their infertility according to the result of all diagnostic tests. Therefore, they are defined as unexplained infertility. Infertility problems in males are manifested by abnormalities in semen analysis.

Although redox regulation is important in the physiology of normal spermatogenesis, it is thought that interruption in redox regulation may play a role in some spermatogenetic anomalies. In recent years studies, thioredoxin and thioredoxin reductases have been indicated as strong relation with male reproductive cells.

The thioredoxin system together with the glutathione system is regarded as the main regulator of the intercellular redox environment. Spermatid-specific thioredoxin (SPTrx3/STRX3/ TXNDC8) are found as high concentrations in the defected human cytoplasm of spermatozoa and in nuclear vacuoles.

TEX101 (Testis expressed protein-101), is a cell membrane protein that is expressed only in testicular germ cells and shed into seminal plasma. It is known that TEX 101 protein is released during sperm production and in the plasma membrane of the prospermatogonia in the fetal testis. Furthermore, there is an evidence that TEX-101 may be a defined marker for detecting the possibility of finding sperm in the testes of azoospermic infertile individuals by TESE surgery.

Based on this information, it was aimed to investigate the possible relationships between SPTrxR3 and TEX 101 levels and semen parameters in infertility and to determine the levels of SPTrx3 which play a role in redox pathways. The determination of the differences between Normozoospermic and Oligozoospermic individuals in terms of TEX 101 levels is another target of our study. In this study, the mechanisms of thioredoxin and TEX 101 which are unknown and unexplained biochemical pathways in infertility were studied.

The present study was carried out on semen samples taken from individuals attending to the Andrology Laboratory and IVF Unit of the Selçuk University

Faculty of Medicine. Remaining amounts of sperm which is identified as biological waste were used in analysis of the SPTrxR3 and TEX101 levels performed by the commercial ELISA test kit. The results of the routine spermogram analysis performed in the Andrology Laboratory were used. Two groups were formed in the study. 40 normozoospermic individuals with a mean age of 31.63 ± 2.15 years were included as a Group 1, 40 patients with a mean age of 29.33 ± 1.65 years were included as a Group 2 in the present study.

In the present study, TEX-101 protein levels were significantly different in individuals with normozoospermia (2.12 ± 0.08 ng/mL) compared to the group with Oligozoospermia (1.55 ± 0.04 ng/mL). SPTrxR3 levels (6.98 ± 0.46 ng/mL) were significantly higher in individuals with Oligospermia than those with Normozoospermia (3.07 ± 0.35 ng/mL).

As a result, although the TEX-101 and SPTrxR3 which are thought to be effective in unexplained infertile individuals in the world literature, the thesis study is the first study to determine the semen TEX-101 and SPTrx3 levels of individuals with Normozoospermia and Oligozoospermia.

It was concluded that high SPTrxR3 and low TEX-101 levels may be a biomarker in evaluation of male infertility. The findings of this study suggest that SPTrxR3 and TEX-101 analyzes can be used as a clinical approach in the diagnosis of Oligozoospermic male.

Keywords: Unexplained male infertility, TEX-101, SPTrx-3, ROS, Thioredoxins

1.GİRİŞ

1.1.İnfertilite'nin Tanımı ve Sınıflandırması

Doğal yollarla gebeliğin oluşması için eşlerin fizyolojik işlevlerinin normal olması gerekir. Yumurtlama döneminde rahim ağzındaki salgının, cinsel temas sonrası hareketli spermilerin rahme geçişine izin verecek kıvam ve özellikte olması gerekir. Rahim içine ulaşan spermilerin hareketli, normal görünümlü ve sayıca yeterli olmaları önemlidir. Rahim içerisinden geçip tüplere ulaşan spermilerden dölleme yeteneğine sahip olan bir tanesi yumurtanın zarını delerek yumurtanın içerisine girer ve böylece dölleme işlemi tamamlanmış olur.

İnfertilite, üreme dönemlerindeki bir çiftin herhangi bir doğum kontrol yöntemi kullanmadan, en az bir yıl düzenli cinsel ilişkiye girmelerine rağmen gebeliğin oluşmaması olarak tanımlanır (Mengeot ve Vogel 2008, Allan ve Mounce 2015, Kahyaoglu Sut ve Balkanlı Kaplan 2015, Peyromusavi ve ark 2016). Bu dönemdeki çiftlerden %10-15 kadarı infertilite ile tanımlanmaktadır (Mosher ve Pratt 1991). Bu oran, son yıllarda %30'lara kadar artış göstermiştir. Bu artışta en fazla etkili olan faktör, kadının toplumsal şartlar nedeniyle evlenme ve doğum yapma yaşını geciktirmesidir. Sağlıklı ve normal çiftlerde bir yıl içinde beklenen kümülatif gebelik oranı %93 olup artan yaşla birlikte fertilitede belirgin bir azalma meydana gelmektedir (Eren 2008, Taşçı ve ark 2008, Yanikkerem ve ark 2008, Dilek 2009, Teskereci 2010, Kılıç ve ark 2011, Aşçı ve Beji 2012).

Bir menstrual siklusa gebe kalabilme olasılığı fekundabilite olarak ifade edilir. İlişkileri düzenli olan fertil çiftlerin siklus başına fekundabilitesi yaklaşık %20-25 dir (Dunson ve ark 2002). Düzenli olarak ilişkiye giren, normal çiftlerde gebelik oranı bir yıl içinde %85-90 dır (Boivin ve ark 2007). Konsepsiyon; ilişki sadece ovulasyon dönemi yakınlarında gerçekleştiğinde olur. Ovulasyon gününden sonraki 6 gün fertilizasyon penceresi olarak tanımlanır. Bu dönem de hem sperm hem oosit viabilitesi ve fonksiyonlarının en iyi olduğu zamandır (Reproductive

2008). Konsepsiyon veya gebeliğin gerçekleşemediği ve çocuk olmasının mümkün olmadığı durumlar sterilite olarak tanımlanır. Eşlerden birinin ya da her ikisinde fertilitenin azalmasının sonucunda çocuk sahibi olamamaları subfertilite olarak tanımlanır. (Hotun-Şahin ve Bilgiç 2015)

Fertilite; gebelik elde etme ve bebek sahibi olabilmeyi ifade eder. Fertilite yaşa bağlı olarak artan yaş ile azalmaktadır. Yapılan bir çalışmada 19-26 yaş arasındaki kadınların 35-39 yaş arasındaki kadınlara göre iki kat daha fazla gebe kalma ihtimalinin olduğu gösterilmiştir. Kız fetuslarda gebeliğin 20.haftasında oosit sayısı maksimum olur ve doğumla birlikte 1-2 milyona, puberte döneminde 300.000-500.000'e, 37 yaşında 25.000'e, ortalama menopoz yaşı olan 51 de ise yaklaşık 1.000'e düşer. Fekundite ki azalma yavaş yavaş gerçekleşir ancak 32 yaşından sonra bu azalma daha anlamlı olmaya başlar ve 37 yaşından sonra azalma daha hızlı gerçekleşir (Committee on Gynecologic Practice of American College of ve Gynecologists 2008). Fekunditedeki azalmanın nedeni tam olarak açıklanamamakla beraber azalmadan multiple faktörler sorumlu tutulmaktadır (Obstetricians ve Gynecologists 2014).

Kadınlarda 20'li yaşlardan 30'lu yaşlara kadar fertilite yarı yarıya kadar azalır. Erkeklerde 35 yaşından sonra semen parametrelerindeki bozulma ile saptanabilmekle beraber fertilitelerinde 50 yaşından önce belirgin azalma görülmemektedir. (Dunson ve ark 2004). Yaş, obezite, alkol ve sigara tüketimi, cinsel yolla bulaşan hastalıklar, genetik etkenler gibi birçok faktör fertilitenin azalmasına bağlı olarak infertiliteye neden olabilir (Pfeifer ve ark 2017).

1.1.1.İnfertilitenin Prevalansı

İnfertilite'nin görülme sıklığı, ülke ve bölgelere göre değişiklik göstermektedir (Zhang ve ark 2014). Dünya genelinde infertilite prevalansını belirlemek için 2007 yılında 25 ülkeden 172.413 kadınla bir araştırma yapılmıştır. Bu araştırma sonucunda infertilite prevalansının gelişmiş ülkelerde %3.5 ile %16.7 aralığında olduğu, az gelişmiş ülkelerde ise %6.9 ile %9.3 aralığında olduğu belirtilmiştir (Balen 2008) .

2008 yılında yapılan bir çalışma sonucunda 6,1 milyon çiftin çocuk sahibi olamama nedeniyle infertilite ile ilgili kliniklere başvurduğunu belirtmiştir (Erdemir ve Kılıç 2011). Gelişmekte olan ülkelerde infertilite insidansı, gelişmiş ülkelere göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Arslan-Özkan ve Okumuş 2012). Bazı ülkelerin infertilite oranları Norveç'te %6,6 (Boivin ve ark 2007), Japonya'da %14 (Oltuluoğlu ve ark 2014), Fransa'da %14 (Mengeot ve Vogel 2008), Pakistan'da %21,9 (Hussain ve ark 2014), Mısır'da % 10,4 (Arslan-Özkan ve Okumuş 2012), Hindistan'da %17,2 (Arslan-Özkan ve Okumuş 2012), Portekiz'de %12 (Kahyaoglu Sut ve Balkanlı Kaplan 2015) ; İran'da %12 (Mosalanejad ve ark 2014), Sahra-Altı Afrika'da %30-40 (Bahamondes ve Makuch 2014), olarak bulunmuştur.

Türkiye; infertilite oranı yüksek olan ülkeler arasındadır (Rutstein ve Shah 2004) . Türkiye'de infertilite oranı %10-20 arasında değişiklik göstermektedir (Taşçı ve ark 2008, Kırço 2009, Kılıç ve ark 2011, Karaca ve Ünsal 2012, Koçyiğit 2012, Çetinbaş ve ark 2014, Sezgin ve Hocaoglu 2014, Çavuşoğlu 2015). Türkiye'de infertilite sorunu ile yaklaşık 1,5-2,0 milyon kişinin karşı karşıya kaldığı ve bu sayının giderek arttığı belirtilmektedir (Amanak ve ark 2014). Ülkemizde 2013 yılında yapılan Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması verilerine göre; 15-49 yaş arası infertil kadınların oranı % 6,5 olarak tespit edilmiştir (TNSA 2013).

1.1.2.İnfertilite Nedenleri

Literatürde oldukça farklı oranlar yer almaktadır. İnfertilitenin %40'ının kadın faktörlerine, %40'ının erkekle ilişkili faktörlere, %20'sinin ise hem erkek hem de kadın kaynaklı faktörlere ya da açıklanamayan faktörlere bağlı olduğu düşünülmektedir (Yanikkerem ve ark 2008, Teskereci 2010, Erdem 2012, İlerisoy 2012, Ozan ve Okumuş 2013).

İnfertilitenin nedenleri arasında primer İnfertilitenin % 55-75, sekonder infertilite'nin ise % 25-40 oranında olduğu bildirilmektedir (Arslan-Özkan ve Okumuş 2012, Erdem 2012)

Kadın infertilitesi ve nedenleri

İnfertilitede kadın faktörünün değerlendirilmesinde hikâye, fiziki muayene, endokrin testler, görüntüleme yöntemleri ve genetik testlerden yararlanılır. Kadın fertilitesi, infertilite'nin değerlendirmede, en önemli etkeni oluşturmaktadır. Özellikle oosit sayısının ve kalitesinin azalmasından dolayı 19-26 yaş arasında olan kadınlarda, 35-39 yaş arasında ki kadınlara göre 2 kat daha fazla spontan gebe kalma oranı vardır. Benzer bulgulara, Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT) başarı oranları raporlarında da rastlanmakta olup, başarıyı etkileyen en önemli faktörün yaş olduğu özellikle belirtilmektedir. Embriyo transfer başına canlı doğum oranlarının 35 yaş altında %43,4, 35-37 yaşlarında %35,9, 41-42 yaşlarında %14,9, 42 yaş ve üzerinde %5,8 olduğu bildirilmiştir (Wright ve ark 2005).

Kadındaki infertilite faktörleri 7 ana başlık altında değerlendirilmektedir.

Yaş faktörü

Overlerdeki folikül kalitesinin yaşa bağlı olarak azalmaya başlamasıyla birlikte ovumun implantasyon başarısında da azalma başlar. Kromozom anomalisi ve

tekrarlayan düşük oranları artarken canlı doğum oranları azalmaktadır (Wallach ve ark 1991). Doğum kontrolünün yasak olduğu ülkelerde yapılan çalışmalarda fertilitenin yaşla birlikte ters orantılı olarak değiştiği kanıtlanmıştır.(Sezgin ve Hocaoglu 2014, Çavuşoğlu 2015)

Ovulatuvar faktörler

Kadın infertilitesinde görülen en sık nedendir. Endojen östrojen üretiminde ki bir sorun Folikül stimule edici hormon (FSH) düşüklüğü ve amenoreye neden olmaktadır. Bunun sonucunda oluşan primer over yetmezliği, erken menopoz veya ileri yaşa bağlıdır. Endojen prolaktin arasındaki düzensiz artış veya azalışlara bağlı olarak ovulasyon kusurlarına da neden olabilmektedir

Tubal ve pelvik faktörler

Kadın infertilitesinin ikinci sık nedenidir. Apandisit, geçirilmiş tubal cerrahiler, pelvik enfeksiyonuna neden olan rahim içi araç kullanımı veya tüberküloz gibi iltihabi hastalıklar, tubal tıkanıklığa sebep olarak, yumurtanın kanallara ulaşmasını ve ardından da kanal içinden uterusu doğru ilerlemesini engeller. Bunun sonucunda infertilite gelişir (Demirtürk ve Çalışkan 2007, Speroff ve ark 2007).

Servikal faktörler

Fertilite için sperm ile servikal mukusun etkileşimi oldukça önemlidir. Spermin dölleme yapabilmesi için Servikal mukusun artmış miktarda, berrak, ince ve bazik olması gerekir (Özdiler ve Aydos 2000). Bu salgı sperm için depo görevi görür ve sadece ovulasyon döneminde serbest sperm geçişine izin verir. Ovulasyon dönemi dışındaki zamanlarda ise salgının yapı ve kıvamı sperm geçişine izin vermez. Kronik servisit veya enfeksiyon gibi nedenlerle servikal mukus özelliğini kaybeder. Mukusun pH'ı, kalitesi, yoğunluğu değiştiği için salgı içindeki sperm antikorları sperm yapısını bozar. Spermilerin ovulasyon döneminde bile uterusu ulaşmasını engelleyerek infertiliteye neden olabilmektedirler (Demirtürk ve Çalışkan 2007, Speroff ve ark 2007).

Uterin faktörler

Döllenen yumurta uterusu yerleşir. Uterus bebeğin geliştiğı yerdir. Uterus anomalileri, konjenital malformasyonlar ve intrauterin adezyonlar daha az oranda fertilitiye olumsuz etkileyen faktörlerdendir (Çiçek 2008).

Miyomlar, polipler, intrauterin yapışıklıklar ve enfeksiyona bağılı patolojiler embriyonun implantasyon ve gelişimine engel olarak infertilitiye neden olurlar (Çavuşoğlu 2015).

Endometriyozis

Endometriyozis ile infertilite arasında güçlü bir ilişki vardır ve infertil kadınların %20-40'ında görülür (Özdiler ve Aydos 2000, Kırca ve Pasinlioğlu 2013). Endometriyozis rahim içini döşeyen dokunun (endometriyum) başka bir bölgede (ör. yumurtalıklar, karın içi vb.) bulunması halidir. Adet kanaması sırasında bu dokudan da kanama olduğundan şiddetli ağrı oluşur. Bu hastalık yumurtalıklarda koyu kahverengi renkli ve çikolata kisti olarak bilinen kist oluşumlarına da yol açmaktadır (Oral 2010).

Diğer Faktörler

Sigara, alkol kullanımı, obezite, cinsel yolla bulaşan hastalıklar, genetik bozukluklar kronik hastalıklar, aşırı düşük kilo ve aşırı stres gibi etkenlerde kadın infertilitesine sebep olabilmektedir (Kırca ve Pasinlioglu 2013). İnfertilite riski sigara içenlerde, içmeyenlere göre 1,6 kat daha fazladır (Demirci 2014).

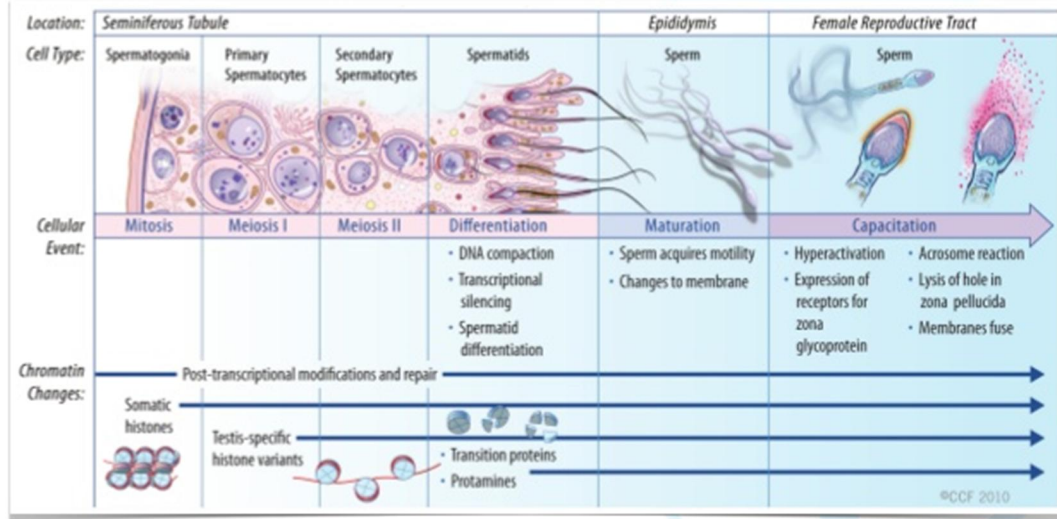
1.1.3. Erkek Fertilizasyonu

Fertilizasyonun gerçekleşmesi için spermin normal spermatogenez basamaklarını başarılı olarak tamamlaması gerekir. Fertilizasyon için gereken spermatogenez basamakları; maturasyon, kapasitasyon, hiperaktivasyon, zona pellusidaya bağlanma, akrozom reaksiyonu, sperm-oosit membran füzyonu, kromatin dekondensasyonu ve erkek-kadın pronükleuslarının füzyonunu içeren karmaşık süreçlerden oluşur (Sharlip ve ark 2002).

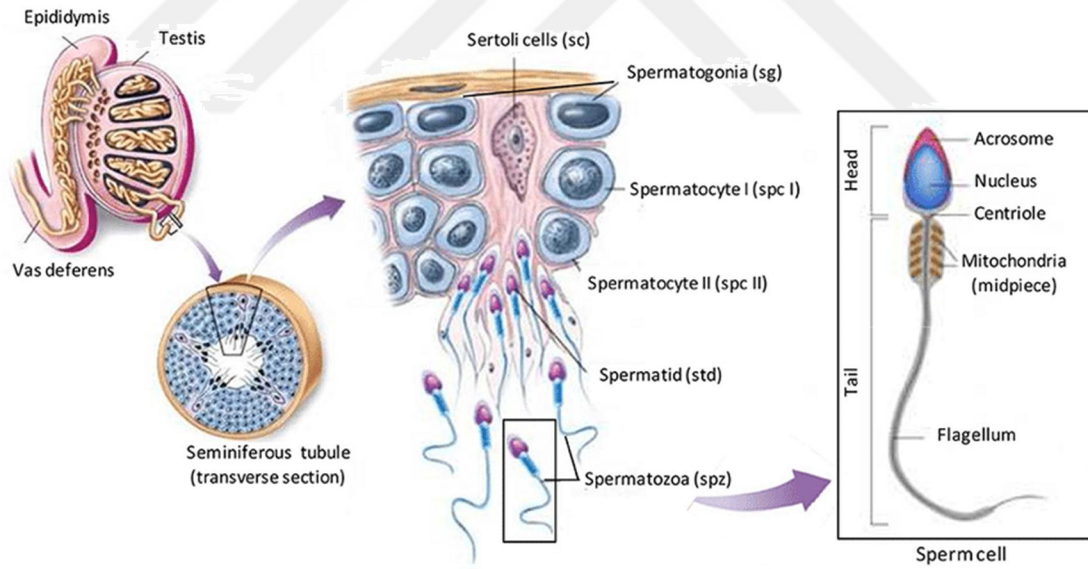
Testiküler fonksiyon ve spermatogenez

Testisler; seminifer tübül (spermatogonia ve sertoli hücreleri bulunur) ve leydig hücreleri (testosteron üretiminin yapıldığı yerdir) olmak üzere iki farklı fizyolojik yapıdan oluşurlar. Sertoli hücreleri arasında bulunan sıkı bağlantılar kan-testis bariyerini oluşturur. Bu kan-testis bariyeri sayesinde germ hücreleri antikorlardan ve çevresel toksinlerden korunurlar.

Spermatogenezis (şekil 1.1.3.1, şekil 1.1.3.2), Spermatositogenezis ve spermiyogenezis (şekil 1.1.3.3) olmak üzere başlıca iki temel süreçten oluşur. Spermatositogenezis; FSH ve testosteronun etkisine bağlı olarak testislerde bulunan seminifer tübüllerinde sperm üretimidir. Spermiyogenezis; anatomiksel yapı olarak olgunlaşmasını tamamlamış spermin, epidimis ve seminifer tübüllerde geçirdiği süre boyunca androjen bağımlı olarak fonksiyonel olarak olgunlaşma sürecini tamamlamasıdır. Sitoplazma kaybı, kromatin kondensasyonu, flajella ve akrozom başlığının oluşması gibi anatomik farklılaşmanın son aşamalarını da kapsar. Sperm epididimise kadar hareketsizdir, burada geçirdiği süreçlerle hareket ve fertilizasyon yeteneği kazanır. Prostat ve seminal vezikül sekresyonları seminal sıvıyı oluşturur. Ejakülasyon ve sekresyonu kolinerjik sistemin kontrolü altında androjen bağımlı olarak sentezlenir (Mawhinney ve Mariotti 2013).



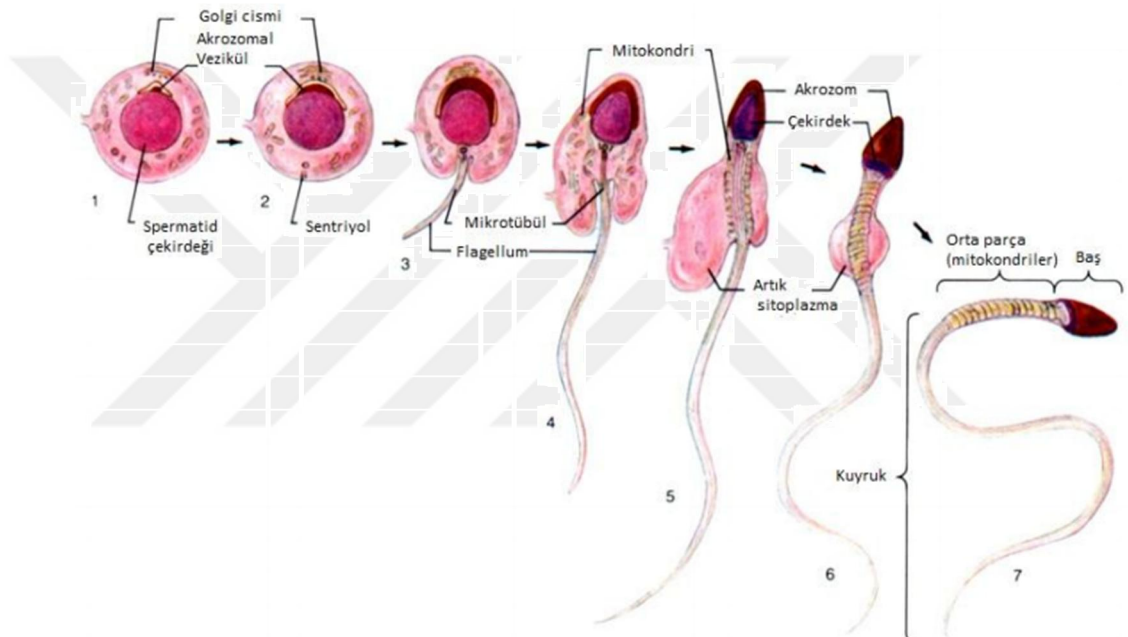
Şekil 1.1.3.1:Memeli Spermatogenez Aşamaları (Reproductive Andrology Surgery Workshop III 17-21 January 2016)



Şekil 1.1.3.2. Seminifer tübüllerde spermatogenezis (contraceptionformen.wordpress.com 02.12.2018)

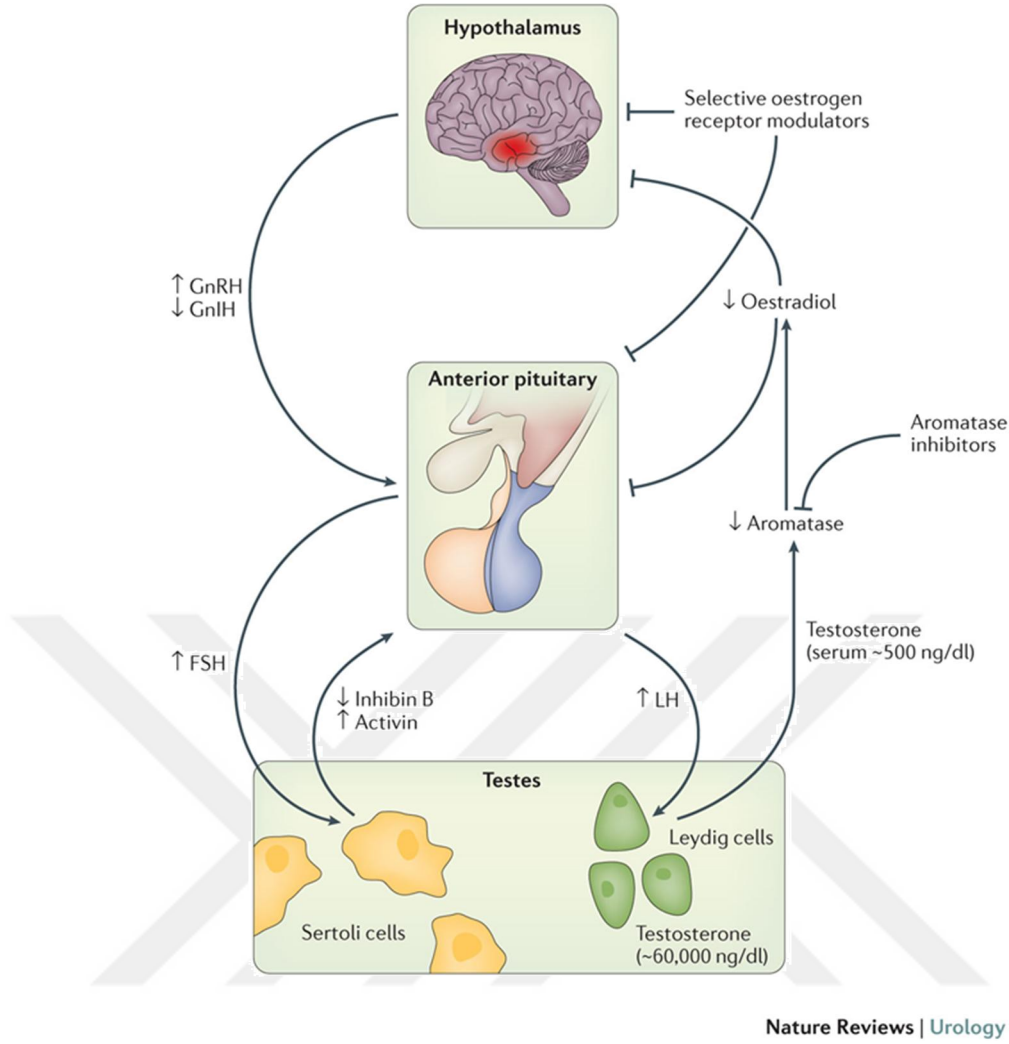
Spermatogenezis, Leydig hücrelerinin Luteinizan hormon (LH) tarafından uyarılması ile üretilen testosteron ve FSH'nın germinal epitel ve Sertoli hücreleri üzerine olan etkilerine bağımlı olarak gerçekleşen süreçtir. (Şekil 1.1.3.4). Bu süreç Y kromozomunda bulunan genlerin kontrolü altında gerçekleşmektedir. Seminifer

tübüller, testis hacminin yaklaşık %80'ini oluştururlar ve sperm üretimi ve farklılaşmasının önemli bir kısmı burada gerçekleşir. Seminifer tübüllerin terminal uç noktaları birleşerek 6 ve 12 kanal olarak epididimise açılırlar. Seminifer tübüllerde; Diploid spermatogoninin (46 kromozomlu) mitozu ve farklılaşması ile haploid spermatosit (23 kromozomlu) oluşumu ve sonrasında mayoz ve ileri farklılaşma ile haploid spermatidlere dönüşümü gerçekleşir (Mawhinney ve Mariotti 2013). Seminifer tübüllerde spermatogenezis şekil 1.1.3.2. gösterilmiştir.



Şekil 1.1.3.3. Memeli Spermiyogenez Aşamaları

(<http://www.austincc.edu/rfofi/NursingRvw/PhysText/Reproductive.html>)

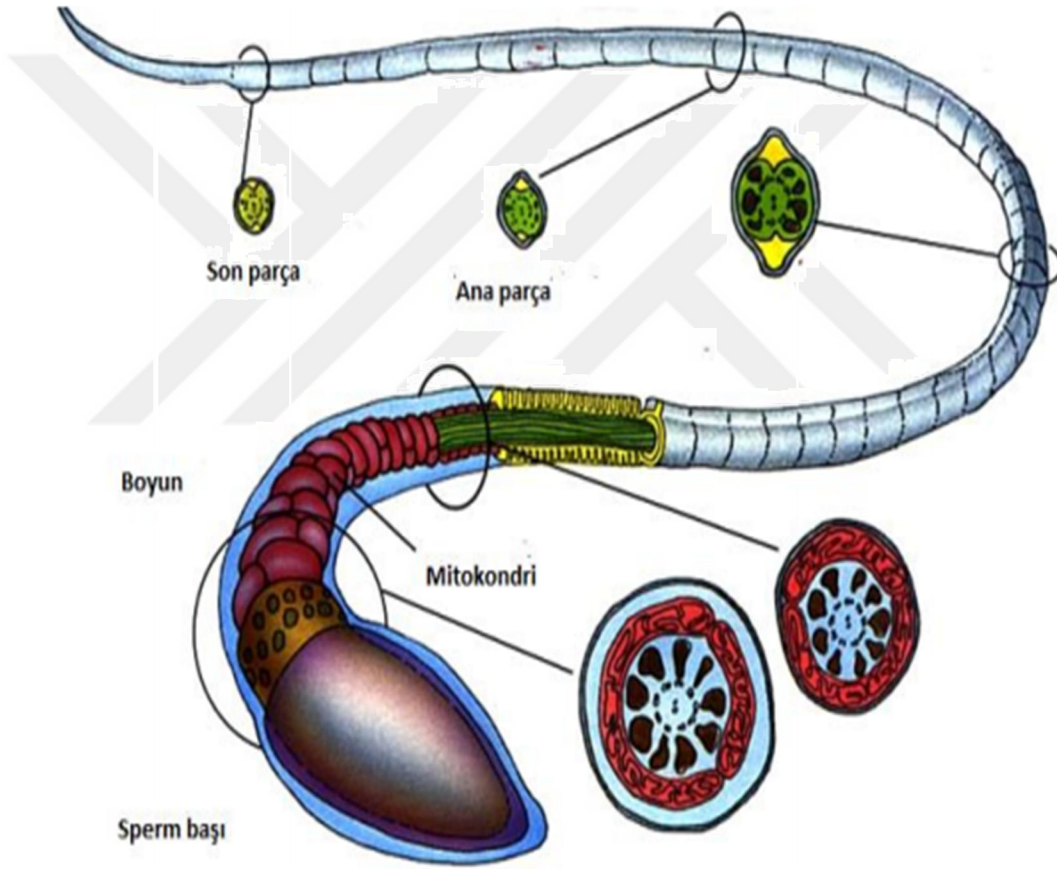


Şekil 1.1.3.4. : Spermatogenezisin Hormonal Kontrolü (Kathrins ve Niederberger, 2016)

Spermatogenezis proliferatif/mitotik faz, mayotik faz, spermiyogenezis olmak üzere üç aşamada gerçekleşmektedir. İlk faz spermatositogenezisdir (proliferatif/mitotik faz). Spermatogenezisin başlamasıyla birlikte 46 kromozomlu spermatogonia büyür, olgunlaşır ve primer spermatosit oluşturur. İkinci faz mayotik fazdır ve mayoz 1'in tamamlanmasının sonucunda 2 adet 23 kromozomlu sekonder spermatosit oluşur. Oluşan her iki sekonder spermatosit 2.mayoz bölünmeye girerek 4 adet 23 kromozomlu spermatiti meydana getirir. Üçüncü faz spermiyogenezisdir ve oluşan spermatidlerin her biri bu fazın tamamlanmasından sonra maturasyona uğrayarak olgun spermatozoaya dönüşür (Cheng ve Mruk 2010).

Üçüncü fazında tamamlanması ile oluşan spermatozoalar seminifer tübül lümenine salınır ve buradan da kaput epidimise kadar taşınırlar. Epididimiste spermler maturasyona uğrarlar. Epididimisteki maturasyon sonucunda spermler hareket yeteneklerini kazanırlar ve ejakulasyona kadar burada depolanırlar. Hareketli ve fertilizasyon yeteneğine sahip spermlerin saptanabileceği ilk yer epididimisin kuyruk bölgesidir (Samplaski ve ark 2010). Spermin testisten ejakülatuar kanala taşınması yaklaşık 12-21 gün sürer. Normal bir spermin şematik görünümü şekil-1.1.3.5’de olup, morfolojik özellikleri tablo 1.1.3.1’de gösterilmiştir.

Spermin yapısı



Şekil 1.1.3.5. Matür spermin şematik görünümü (Gartner ve Hiatt 1997)

TABLO 1.1.3.1. :Normal spermin morfolojik özellikleri

Normal spermin morfolojik özellikleri:

- Baş düzgün oval şekildedir.
- Akrozom başın apikal (ön) kısmının %40-70'ini kaplar.
- Başın en ve boy olarak ölçümleri kullanılan boyaya göre değişmesine rağmen ortalama $4-6\mu \times 2.5-3.5\mu$ 'dur.
- Orta kısım başın tam alt ortasından aksiyal olarak birleşir ve silindir şeklinde olup eni $< 1\mu$ boyu ise baş uzunluğunun 1.5 katıdır. ($6-10\mu$)
- Stoplazmik droplet (artık) ise sadece orta kısımda olmalı ve başın oluşturduğu alanın yarısından fazlasını kaplamamalıdır.

Fertilizasyon (Döllenme) nedir?

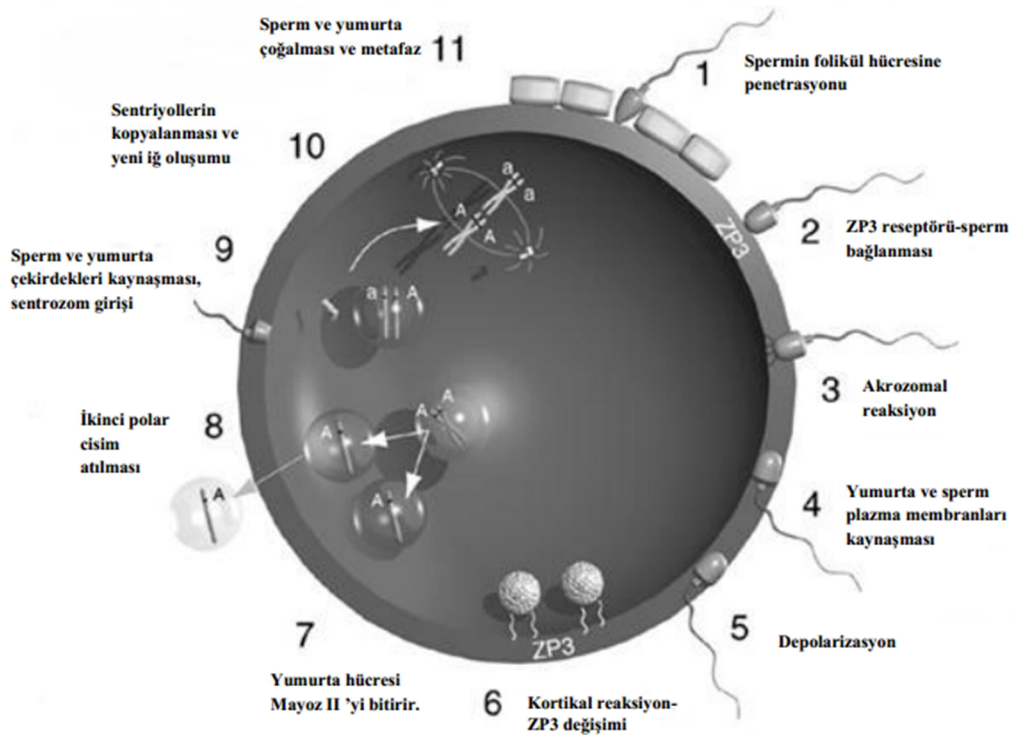
Spermatozoon ve oosit'in çekirdeklerinin birleşerek kaynaşması olayına fertilizasyon denir. Spermadaki spermatozoonların sadece %0,002'si oosite ulaşabilmektedir. Fertilizasyon gerçekleşmeden önce epididimiste spermin olgunlaşması ve dişi üreme kanallarındaki sperm kapasitasyonunun gerçekleşmesi gerekmektedir.

Seminifer tübüle bırakılan sperm epididimis kanalına girer ve burada sirküler bir harekete sahiptir. Ejakülasyondan sonra sperm dişi üreme kanalı olan uterusda kapasitasyon geçirir daha sonra ovidukt kanalında oosit döllenmesini geçirerek sürece devam eder.

Kapasitasyon, dişi genital sistem mukozası ile spermatozoa arasında gerçekleşen etkileşim ile spermiyumun geçirdiği fonksiyonel ve morfolojik değişiklikleri kapsar. Kapasitasyon yaklaşık 7 saat süren bir süreçtir ve bu sürecin sonunda spermiyum ZP tabakasına tutunabilir. Spermiyum hiperaktivite yeteneğini

burada kazanır. Bu esnada spermin plazma membranında; cAMP miktarı artar, adenil siklaz (AC) aktivitesinde artış olur, membrandaki Ca^{+} kanal aktivasyonu ve tirozin fosforilasyon aktivasyonuna bağlı olarak intasellüler Ca^{+} miktarını yükselmesi gerçekleşir. Tüm bu gerçekleşen olayların sonucunda sperm daha hareketli hale gelir. Maturasyon ve kapasitasyon süreçlerini başarılı olarak tamamlayan sperm bir oositi dölleyebilir ve bu süreçlerin sperm-oosit birleşmesinden önce tamamlanması gerekir (Babayeva 2017).(şekil 1.1.3.6)

- a) Spermatozoon korona radyataya yaklaştığında hiyaluronidaz enzimini salar ve akrozom reaksiyonu geçirir.
- b) Zona pellusidaya ulaşan sperm ZP3'e bağlanır. Bağlanma ile iç akrozomal membrandan akrozin salınımını gerçekleştirir, bunun sonucunda spermin-zona pellusida girişi kolaylaşır.
- c) Sperm oositin plazma membranı ile birleşir, bu birleşme ile plazma membranları arasında füzyon gerçekleşir.



Şekil 1.1.3.6. : Memelilerde fertilizasyon ve implantasyon (<http://docplayer.biz.tr/8227360-Fertilizasyon-yariklanma-ve-implantasyon-bilaminar-disk-olusumu-prof-dr-murat-akkus.html>)

1.1.4. Erkek İnfertilitesi

Erkeklerde kaliteli sperm üretimi 20-30 yaşlarında pik yapar, 40 yaşından sonra hafif azalmaya başlar ve ileri yaşlara kadar bu azalma devam eder. Erkeğin üreme yeteneği ileri yaşlara kadar sürer (Benli 2010, Kirca ve Pasinlioglu 2013, Amanak ve ark 2014). Son yıllarda sperm kalitesi ve konsantrasyonunda azalış, infertilite oranı ve testiküler kanserlerin görülme sıklığında ise artış olduğu raporlarda belirtilmiştir. Bu bulgular, gelecekte erkek infertilitesinin artışı ile ilgili endişelere neden olmuştur (Richard ve ark 2004, Merzenich ve ark 2010, Demirci 2014). Sperm konsantrasyonu ile malign hastalıklar arasında bir ilişki olabileceği ve bunun testiküler ve endokrinolojik fonksiyonları etkileyebileceği düşünülmektedir (Richard ve ark 2004). Obezite; erkeklerde hormon değerlerini değiştirerek spermatogenezin azalması ile fertilitiyi etkilediği belirtilmiştir (Şen 2011, Hussain ve ark 2014, Katib 2015). Erkek infertilitesindeki artış; konjenital ya da kazanılmış ürogenital bozukluklardan, skrotal ısı artımından (varikosel), genital sistem enfeksiyonlarından, endokrin bozukluklardan, genetik hastalıklardan, immünolojik faktörlerden kaynaklanabildiği gibi son zamanlarda elektromanyetik dalgalar ve bir takım kimyasallara maruz kalma gibi bazı çevresel faktörlerden de kaynaklanabilmektedir. Olguların %60- 75'inde infertiliteden sorumlu herhangi bir etken bulunmaz (idiyopatik erkek infertilitesi). Böyle erkekler fertilité problemiyle ilgili olabilecek geçmişe ait bir hikâye vermeksizin, normal fizik muayene ve endokrin laboratuvar sonuçlarına sahip olabilirler (Güneş 2017). Erkek infertilitesi, infertilite nedenlerinin %25'ini tek başına oluştururken, %50'ye yakınında eşlik eden başka faktörler bulunur (Sharlip ve ark 2002).

Yapılan birçok çalışma sonucuna göre erkek infertilitesine neden olabilecek genetik faktörlere sperm yüzey proteinleri örnek olarak verilmektedir (integrinler, adezyon molekülleri, fibronektin, selektinler vb.). Bu proteinlere ek olarak, hücre döngüsünün kontrol noktalarında görev yapan proteinler (ATM vb.(Aitken ve ark 2003)) ve DNA tamir mekanizmasında rol alan proteinler de gösterilmektedir (Pierik ve ark 2000).

Erkek infertilitesinin incelenmesinde, normal fizyolojinin değeriendirilmesi ve de bilinmesi önemlidir. Testiküler fonksiyon ve spermatogenez fertilizasyondaki primer unsurlardır.

Erkek infertilitesi etiyolojisi

Erkeklerdeki infertilite sorunları yaklaşık vakaların tümünde semen analizindeki anormalliklerle kendini göstermektedir. Erkek infertilitesine ait birden fazla neden vardır. Erkek infertilitesi obstrüktif azospermi (OA) veya hipogonadotropik hipogonadizm gibi belirlenebilir nedenlerle bağı ve tedavi edilebilirken, bazen de testis atrofisi gibi neden belirlense bile tedavi imkânı olmayan etkenlere bağı olabilir (Yumru ve Öndeş 2011).(Tablo 1.1.3.2)

Tablo 1.1.3.2.: Erkek infertilitesinde etyoloji

Erkek infertilitesinde etyoloji	(%)
Cinsel Faktörler	1,7
Ürogenital Enfeksiyonlar	6,6
Konjenital Anomalilerl	2,1
Varikosel	12,3
Endokrin Bozukluklar	0,6
İmmünolojik Faktörler	3,1
Diğer Hastalıklar	3,0
İdiyopatik Semen Bozuklukları	75,1

Erkek fertilite durumunu değeriendirmek için günümüzde spermiyogram testi kullanılır. Ejakulat 2-7 günlük cinsel perhizden sonra mastürbasyon yöntemi ile toplanır. Ejakulatın vücut veya oda sıcaklığında olması gerekir. Sonuçların daha güvenilir olması için en az 7 gün en çok 3 ay ara ile verilmiş iki sperm örneğinin değeriendirilmesi önerilmektedir (WHO 2001, Sharlip ve ark 2002). Semen analizinin değeriendirilmesi Dünya Sağlık Örgütünü (WHO) önerdiği değerielerle göre karşılaştırılıp değeriendirilmektedir (Kadıoğlu 2011). (Tablo 1.1.3.3)

Tablo 1.1.3.3.:WHO 2010 semen parametreleri

Semen Parametreleri	WHO 2010
Volume	1.5-5.0 ml
PH	>7.2
Viskozite	<3 (0-4)
Sperm Konsantrasyonu	>15 milyon/ml
Toplam Sperm Sayısı	>40 milyon/ ejakulat
Motilite Yüzdesi	>%50
İleri Hareket	>2(0-4)
Normal Morfolojî	>%50 normal >%30 normal >%14 normal (kruger)
Yuvarlak Hücre	<5 milyon/ml
Sperm aglütasyonu	<2(0-3)
Seminal çinko (µmol/ejakulat)	>2.4
Seminal früktoz (µmol/ejakulat)	>13
Seminal nötral glukozidaz (mU/ejakulat)	>20
Peroksidaz-pozitif lökositler (10 ⁶ per ml)	<1.0

Semen analizine göre sınıflandırma ve nedenleri

“Spermi” eki semeni “zoospermi” ise spermleri ifade eden terimlerdir. Bu yüzden spermin durumunu ifade etmek için oligozoospermi, astenozoospermi, teratozoospermi vs. gibi ifadeler kullanılmalıdır (Walsh ve ark 2005).

Normozoospermi

Toplam sperm sayısının, ileriye doğru hareketli spermilerin yüzdesinin alt referans değerine eşit veya yüksek olduğu, yapısal olarak normal sperm yüzdelерinin gözleendiği durumlarda kullanılan terimdir (Kadıoğlu 2011).

Aspermi (Ejakulat yokluğu)

Semen, vaz deferenslerden üretraya atılamazsa veya ters yöne (retrograd) ilerleme olursa vasküler, hormonal ve ereksiyon bozuklukları sonucunda seminal sıvının tamamen olmaması (ejakulat yokluğu) durumudur ve bu durum aspermi olarak tanımlanır.

Oligozoospermi

Sperm yoğunluğunun 15 milyon/ml'den az olduğu durumlar oligozoospermi olarak tanımlanır. Orta oligozoospermili hastalarda 5-10 milyon/ml arası sperm gözlenirken, sperm sayısının 5 milyon/ml az olduğu durumlar ise ciddi oligozoospermik olarak tanımlanır. Kromozomal defektler, inmemiş testis, varikosel ve stres oligozoospermiye neden olabilir.

Astenozoospermi

Hareket eden sperm yüzdesi (motilite) ve ileri hareket yeteneğinin alt sınır değerinin altına düşmesi sonucu astenozoospermi görülür. Spermde ki morfolojik (yapısal) bozukluklar, genital sistem enfeksiyonları, antisperm antikorlarının varlığı, ısı, varikosel, toksik maddeler, koit sıklığının azalması ve idiopatik faktörler sebep olabilmektedir (Walsh 2002, Walsh ve ark 2005).

Teratozoospermi

Morfolojik yönden normal spermlerin alt sınırından daha düşük yüzdede bulunması durumunu tanımlamakta kullanılır. (Kadioğlu 2011). Kromozomal nedenler, epididim enfeksiyonları, toksik maddelerle temas ve varikosel gibi sorunlar gözlemlenebilir. Genellikle oligozoospermi ve astenozoospermiyle birlikte görülür (Walsh 2002, Walsh ve ark 2005).

Oligoastenoteratozoospermi

Sperm yoğunluğunun, hızının ve yapı bozukluğunun varikosel, ısı, ilaç, toksin ve enfeksiyon gibi nedenlerle üç problemin bir arada görülmesiyle oluşur (Walsh 2002, Walsh ve ark 2005).

Nekrozoospermi

Kadına ait faktörler, immünolojik nedenler, genital enfeksiyonlar, yetersiz cinsel eğitim gibi nedenlere bağlı olarak sperm değerlerinin normal olmasına rağmen tüm spermlerin ölmesidir (Anafarta ve ark 1998).

Kriptoospermi, Hemospermi, Lökospermi

Preparatlara alınan örneklerde sperm gözlenmemesine rağmen santrifügasyon sonucunda pellette spermin gözlenmesi durumu kriptoospermi, semende eritrositlerin varlığı hemospermi (hemotospermi), semende yüksek miktarda lökositin bulunması durumunda ise lökospermi (lökositospermi/piyospermi) ifadeleri ile tanımlanmaktadır (Kadioğlu 2011).

Azoospermi

Azoospermi, seminal sıvının (ejakülatın) santrifüjü sonrasında pellette hiç sperm bulunamamasıdır. İnfertil grubun yaklaşık % 10-15' lik dilimini

oluşturmaktadır. İnfertil kişilerde azoospermiye hipotalamus ve hipofiz bezi yollarındaki sorunlardan dolayı oluşan hipogonadotropik hipogonadizm hastalığı, genetik kökenli spermatogenez bozuklukları, testiküler kanal tıkanıklıkları veya enfeksiyon neden olabilmektedir (Walsh 2002, Walsh ve ark 2005).

Erkek infertilitesi nedenleri ve sınıflandırılması

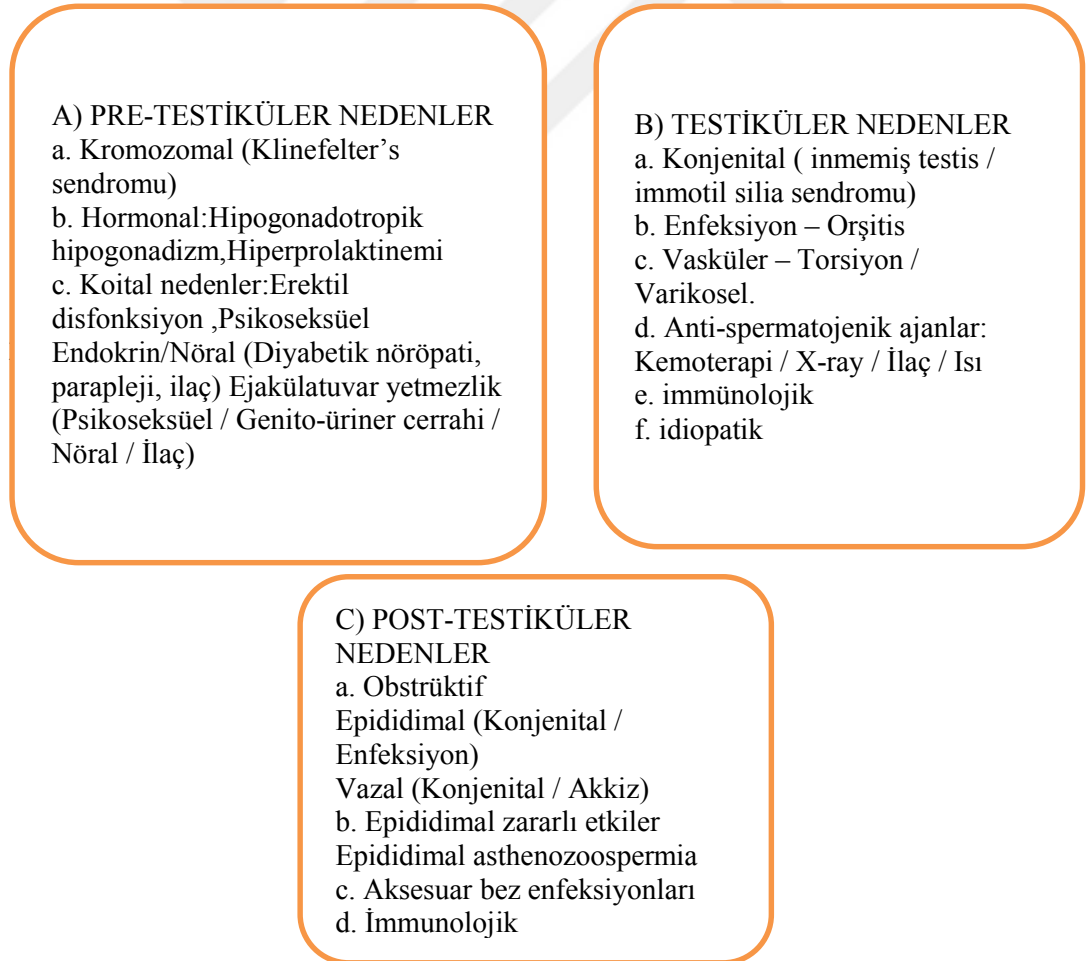
Erkek infertilitesi anatomik olarak üç grupta incelenebilir.(Aydos 2017)

A) Pre-testiküler nedenler

B) Testiküler nedenler

C) Post-testiküler nedenler

TABLO 1.1.3.4.::Erkek infertilitesinde anatomik bozukluklar ve nedenleri



Pre-Testiküler Nedenler

Normal spermatogenez esnasındaki FSH (Folikül stimule edici hormon) hormonunun seviyesi Sertoli hücreleri tarafından salınan inhibin hormonuyla kontrol edilir. Spermatogenezdeki bozukluk sonucu FSH değerinde yükselme gerçekleşir. Leydig ve sertoli hücrelerinin fonksiyonlarını yerine getirememesi sonucu testosteron miktarında azalma görülür. Bunun tam tersi olarak gonadotropinlerde artma görülür. FSH ve LH (luteinize edici hormon) hormonlarının testosteron üretimini uyarması için belli miktarda salınması gereklidir.

Hipotalamus ve hipofiz yollarının bozulması sonucu FSH ve LH eksikliğine bağlı olarak testosteron yetersizliği görülür. Bunun sonucu olarak oluşan hipogonadotropik hipogonadizm hastalığı infertiliteye neden olmaktadır (Aydos 2007).

Testiküler Nedenler

Kriptorşidizm (inmemiş testis) , varikozel, germinal hücre aplazisi, hormon bozuklukları, testiküler yapı, semen ve sperm kaynaklı problemler bu grupta yer almaktadır. İnfertil erkeklerde kromozomlarda sayısal ve yapısal olarak anomaliler görülmektedir (Stipoljev ve ark 2006).

Spermiler için optimal seviyelerde olması gereken testis ısısının artması sonucu sperm fonksiyonlarında bozulmalar meydana gelmeye başlar (Bozhedomov ve ark 2014). Testislerde ısı artışına bağlı olarak oluşan varikozel; spermatik venlerde kapakçıkların az veya hiç çalışmamasına bağlı kanın reflüsüdür.

Sık görülen ama tedavi edilebilen, varikoselektomiden sonra hastaların yaklaşık yarısında 1 yılda sperm sayısında artış görülebilmektedir. Tek taraflı inmemiş testis vakalarında fertilite mümkün iken, çift taraflı inmemiş testis vakalarında semen kalitesi bozuk olduğu için fertilite ihtimali çok düşüktür ve azoospermi söz konusu olmaktadır (Cayan ve ark 2001, Parekattil ve Agarwal 2012).

Seminifer tübüllerin tamamen sertoli hücreleriyle kaplı olduğu ve germinal hücre gelişiminin olmadığı durumlar germinal hücre aplazisi olarak tanımlanır. Bu

sendromdaki hastalarda yüksek FSH değeri ve azoospermi durumu görülür. Etiyolojisi ise genellikle tam olarak bilinmemektedir (Aydos 2007).

Hormon bozuklukları, testiküler yapı, sperm ve semen kaynaklı problemlerin yanı sıra obezite, psikolojik sorunlar, alkol, sigara, ilaç, kemoteröfik ajanlar, radyasyon, enfeksiyon ve yaş gibi yaşam tarzına bağlı faktörler de infertiliteye neden olabilmektedir. Kemoteröfik ajan ve radyasyona maruziyet, geçici azoospermiye neden olabilmektedir (Griffin ve Finch 2005, Aydos 2007).

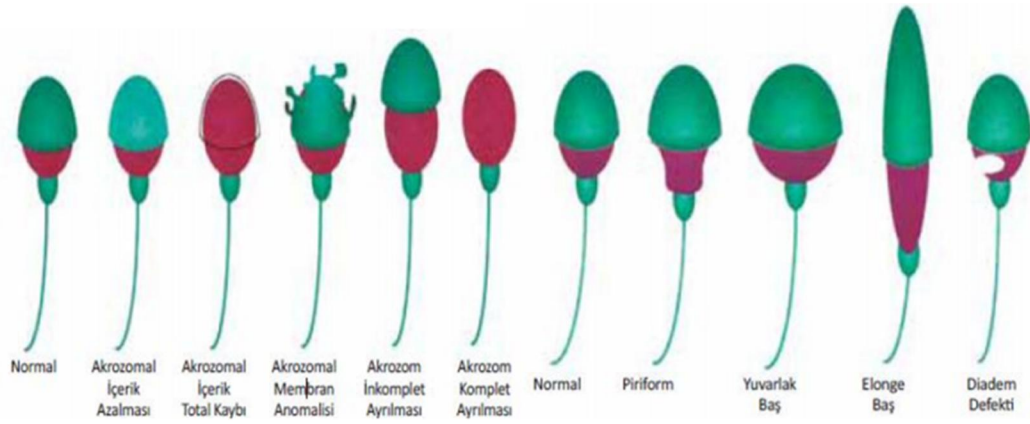
Sperm malformasyonlarının tipleri

İnsan spermleri morfolojik olarak diğer memelilere göre büyüklük ve yapı açısından önemli farklılıklar gösterir. Normal fertil ejakulatta dahi spermatozoonlar baş, akrozom, kuyruk şekil, büyüklük yönünden farklı yapılarda bulunur. Bir spermatozoonun normal veya anormal olduğunu belirlemek ve standardize etmek için pek çok uygulama yapılmıştır.

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO, 1980) tanımladığı ilk sınıflama, sperm morfolojisinin değerlendirilmesi açısından büyük bir adım olmuştur. Daha sonra Hofmann ve Haider, Dusseldorf sınıflaması adı altında yeni bir morfoloji sınıflamasını ortaya koymuştur (1985). Spermatozoonun uzaması ve akrozom hasarlarına bu sınıflama yönteminde daha fazla önem verilmiştir. 1987'de yayınlanan ikinci WHO kılavuzu ile semen analiz kriterleri yeniden revize edilmiştir. 1992'deki üçüncü WHO sınıflamasında ise sperm morfolojisinin değerlendirilmesi daha ayrıntılı olarak ele alınmıştır. Morfolojik olarak normal grubun yanında 4 sınıf halinde anomaliler sınıflandırılmış olup teratozoospermi indeksi hazırlanmıştır. Sperm morfolojisine yönelik bir diğer çalışmada Tygerberg kriterleri, Kruger ve Menkveld tarafından tanımlanmıştır. Bu sınıflandırma yönteminde, spermatozoon bir bütün olarak incelenir ve morfolojileri hafifçe anormal sperm başları ve düzensiz sınır hatlarının hepsi anormal olarak kabul edilip değerlendirilir (Güneş 2017).

Baş defektleri

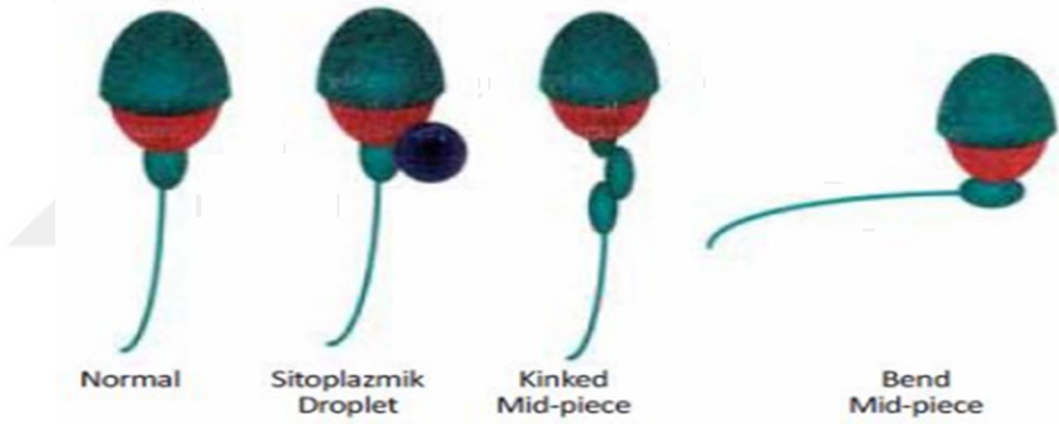
Büyük veya küçük, konik, piriform, yuvarlak, amorf, vakuollü (>2'den fazla vakuol, vakuoler alan boyanması %20'den fazla), çift başlı veya bunların kombinasyonu şeklinde görülmektedir (Şekil 1.1.3.7).



Şekil 1.1.3.7.:Sperm baş defektleri (Orhon ve ark., 1995: 17-29)

Boyun ve orta kısım defektleri:

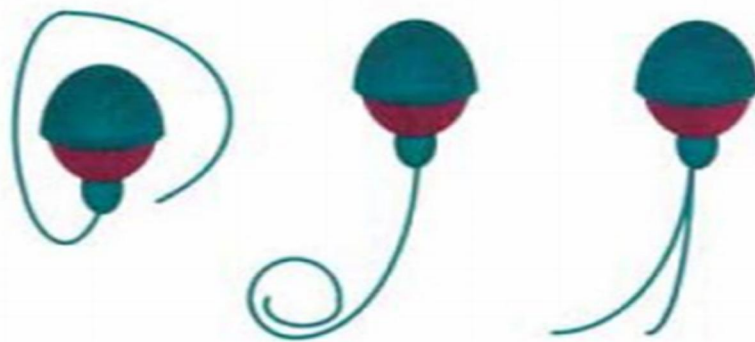
Başın asimetrik olarak orta parçaya girmesi, kalın ya da düzensiz olması, ince olması veya bunların kombinasyonu şeklinde görülebilmektedir (Şekil 1.1.3.8).



Şekil 1.1.3.8.: Sperm boyun defektleri ve sitoplazmik damla (Orhon ve ark., 1995:17-29)

Kuyruk defektleri:

Sperm kuyruğunun kısa, birden fazla, kırık, keskin açılı, şekilli, düzensiz veya bunların kombinasyonları şeklinde görülür (Şekil 1.1.3.9).



Şekil 1.1.3.9.: Sperme ait kuyruk defektleri (Orhon ve ark 1995: 17-29)

Fazla sitoplazma kalıntısı:

Spermatogenik süreçte üretilen normal olan spermatozoa ile ilgilidir. Büyük miktarda düzensiz sitoplazma içerir ve orta kısım hataları ile ilgilidir (Orhon ve ark 1995, Ford 2010).

Spermin morfolojik olarak incelemesinin spermatogenez kalitesinin ve fertilitenin duyarlı bir göstergesi olduğu ortaya konulmuştur (Kruger ve ark 1986).

Posttestiküler Nedenler

Kanal tıkanıklıkları, cinsel fonksiyon bozuklukları, ejakulasyon bozuklukları anatomik yapıdan kaynaklanan bozukluklardır. Bu tarz sperm iletim bozuklukları doğumsal, edinsel veya fonksiyonel şekillerde olabilir. Spermdaki hareket yeteneğinin yetersiz olmasına neden olan sperm kuyruğundaki doğumsal defektler ve sperm olgunlaşma defektleri fonksiyonel bozukluklara yol açarak infertiliteye sebep olmaktadır (Gürkan 1999, Parekattil ve Agarwal 2012)

Klinik geliş şekillerine göre sınıflandırma

Erkek infertilitesinin bir diğer sınıflandırma türü ise klinik geliş şekillerine göre yapılan sınıflandırmadır. Bu sınıflama türünde infertilite 5 ana gruba ayrılmıştır (Hirsh 1999).

Tip I-Mekanik infertilite : (% 0.3-7)

Tip II-Azoospermia : (%0.9-16)

Tip III-immunolojik infertilite : (%3.4-25)

Tip IV-Anormal semen kalitesi: (%23-48)

Tip V-Sperm disfonksiyonu : (%-25)

TİP I-Mekanik infertilite

Yetersiz koitus söz konusudur. Bu anatomik bozukluklar, erektil veya ejakülatuar bozukluklar nedeniyle olabilir.

TİP II-Azoospermi

Ejakülatta spermin olmaması durumudur. İnfertil erkeklerde %10-15 oranında görülür. Primer veya sekonder testiküler yetmezlik durumlarında (nonobstrüktif) veya genital yol obstrüksiyonlarında ortaya çıkmaktadır (Obstrüktif).

TİP III- İmmünolojik İnfertilite

Spermin fonksiyonu antikor bağlanması ile bozulmuştur. Sperm sayısının normal olduğu izole hareket bozuklukları, sperm agglütinasyonu varlığında ASA (Anti Sperm Antikor) değerlendirilmesi yapılmalıdır.

TİP IV-Anormal semen kalitesi

3 ana parametre olan sayı hareket ve morfolojide ya tek tek ya da 2'li 3'lü kombinasyonlar şeklinde görülen bozukluk durumunu tanımlar.

TİP V-Sperm Disfonksiyonu

Sperm için 3 ana parametre olan sayı, hareket ve morfolojide herhangi bir bozukluk yoktur fakat spermier fertilizasyon olayını gerçekleştirememektedirler (Hirsh 1999).

1.1.5.Açıklanamayan İnfertilite

İnfertil çiftler arasındaki en yaygın nedenlerden biri olarak değerlendirilmektedir (Adıgüzel ve ark 2015). Bir hastaya açıklanamayan infertilite tanısının konulabilmesi için; ovulasyonun varlığı, normal uterin kavitenin varlığı bilateral tubal açıklık, semen analizinin normal olduğu ve yeterli sayıda overyan rezervinin olması gerekmektedir (Balen 2008, Boyraz 2013). İnsidansı değişiklik göstermesine rağmen, beraber başvuran çiftlerin ortalama % 15'ine açıklanamayan infertilite tanısı konulmaktadır. Açıklanamayan infertilite insidansı merkezler ve çalışmaya dâhil edilen gruplar arasındaki farklılardan dolayı % 0 ile % 37 arasında değişmektedir (Abdella ve ark 2015, Işıkcı 2012, Zeren 2016). Standart tanı testlerinde görülen ama nadir olan yanlış negatif sonuçları dışlandığında, açıklanamayan infertilitenin iki olası açıklaması vardır:

1. Gerçekte herhangi bir anormallik yoktur ve çiftin doğal doğurganlığı, muhtemelen eşin yaşına ya da üremeye ilgili yaşlanmaya bağlıdır.
2. Özel bir sebep vardır ancak mevcut tanı testleri ile saptanamamaktadır (Kara 2011).

İnfertiliteye neden olan faktör veya fonksiyon bozukluğu tam olarak bilinemediği için günümüzde yapılan tedavi yöntemleri genellikle deneye dayalıdır (Aksu 2010).

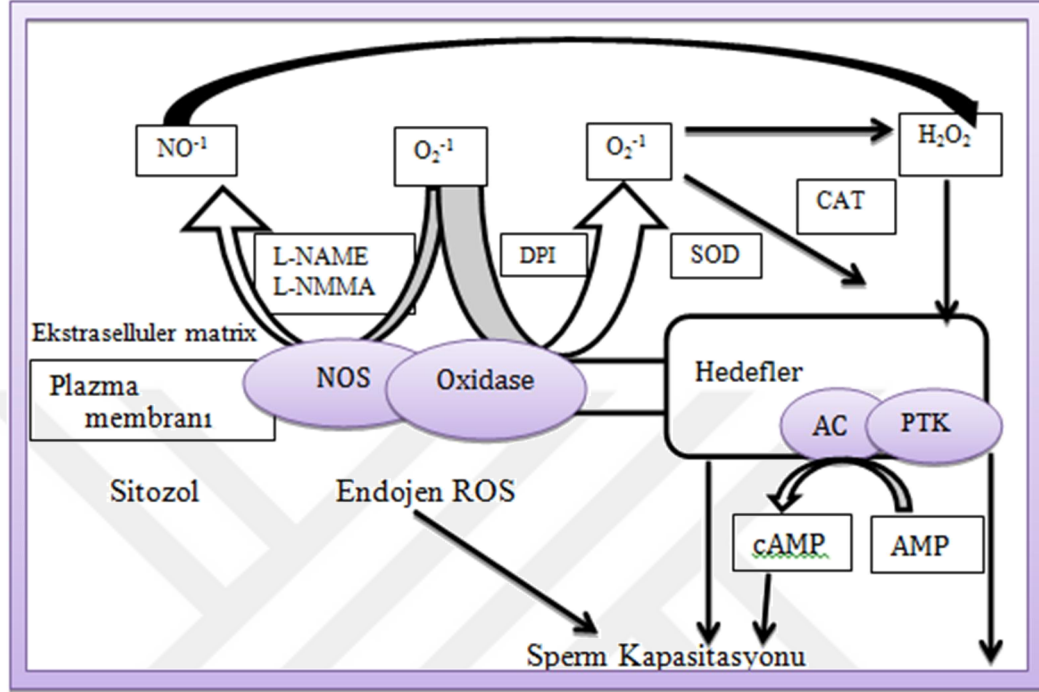
Mantıksal olarak nedeni açıklanamayan İnfertilitenin en olası nedenleri, günümüzde bir tanı testi ile değerlendirilemeyen gametlerde veya implantasyonda görülen anomallilerle ilgilidir. ZP proteinlerinde işlevsel veya genetik anormallikler sperm girişini engelleyebilmekte ve bunun sonucunda fertilizasyon başarısızlığına neden olabilmektedir (Conner ve ark 2005). Endometrial fonksiyon ve reseptivitedeki genetik anormallikler embriyonun adezyon, tutunma apozisyon, veya invazyonunu bozabilmekte ve implantasyon başarısızlığına neden olabilmektedir.

Açıklanamayan infertilitenin, ya üremeye ilgili verimin normal dağılımının alt sınırını, ya da değerlendirmede kullanılan standart yöntemlerle güvenilir bir şekilde saptanamayan sperm veya oosit işlev bozukluklarını, fertilizasyon, implantasyon veya embriyo gelişimindeki anormallikleri temsil ettiği düşünülmektedir (Collins ve Van Steirteghem 2004, Tapia ve ark 2007).

1.2.Redoks Regülasyonu ve Tioredoksin Mekanizmasının Erkek İnfertilitesi Üzerindeki Etkileri

Sperm kapasitasyonu, fertilizasyon için gerekli olan spermatozoalardaki morfolojik ve metabolik değişimlerdir. Yumurtalık içinde gerçekleşen karmaşık bir süreçtir. Spermatozoonun pellusidaya bağlanması, nüfuz etmesi ve nihayetinde oolema ile kaynaşması için gerekli biyokimyasal ve morfolojik değişiklikleri kapsar. Plazma zarı ve diğer hücre içi bölümlerde gerçekleşen biyokimyasal değişiklikler sperm kapasitansı ile ilişkilendirilmiştir (Yanagimachi 1994, De Lamirande ve ark 1997). Kapasitans sırasında erken biyolojik olaylar, cAMP üreten adenilil siklaz (AC) aktivasyonu, kalsiyum kanallarının aktivasyonu, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi, plazma membranından kolesterol akışı, hücre içi pH artışı ve protein

kinazlar ile diğerleri arasında aktivasyondur (Yanagimachi 1994, Ecroyd ve ark 2003, de Lamirande ve O'Flaherty 2012). (Şekil 1.2.1)

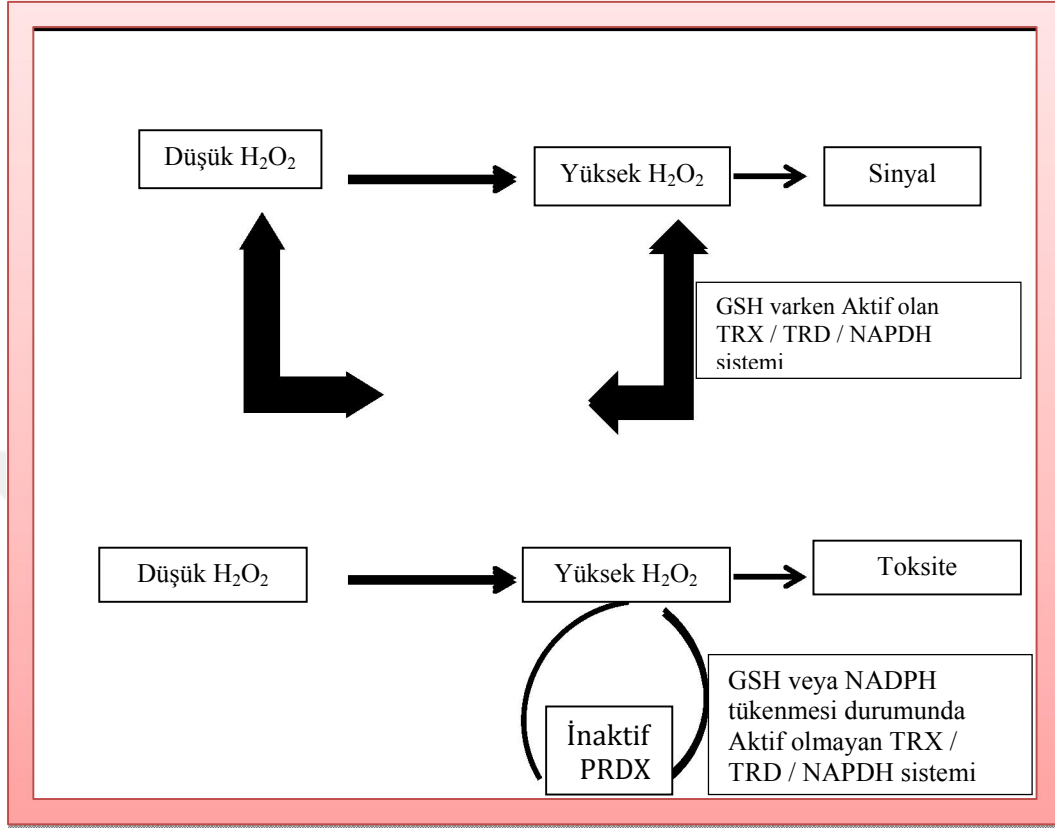


Şekil 1.2.1.: Memeli sperm kapasitasyonu sırasında ROS üretimi (O'Flaherty ve ark 1999, O'Flaherty ve ark. 2003, de Lamirande, ve Lamothe 2009, O'Flaherty 2015)

Kapasitans ile ilişkili ROS üretimi, spermatozoonun plazma membranında oluşmaktadır. Spontan olarak H₂O₂•⁻ oluşturan Süper oksidaz (SOD) serbest oksijen radikali üreterek kapasitasyonu tetikler. Gerek SOD ve gerekse CAT, sperm kapasitansını bloke edebilir, böylelikle ROS formlarının üretiminin plazma membran seviyesinde olduğunu doğrular. Sperm kapasitansı için NO' ya da ihtiyaç vardır. NOS, ROS'un spesifik kaynağıdır. NOS aktivitesinin inhibitörü olan L-NAME veya L-NMMA- kapasiteyi önlemektedir. ROS'un endojen üretimi, kapasitasyon sürecinde gereklidir.

Sperm kapasitasyonu prosesinde, protein fosforilasyonu dâhil olmak üzere birçok olayı tetikleyen ve regüle eden reaktif oksijen türlerinin üretimi öncelikli görülen oluşumdur. Günümüzde insan sperm kapasitasyon sürecinde oksidatif olayların olduğu bilinmektedir.(Aitken ve ark 1995, De Lamirande ve ark 1997, Ecroyd ve ark 2003). Süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, nitrik oksit,peroksinitritin

artmış konsantrasyonu ile birlikte ROS üretimi kapasitesinde sürecinde karşılaşılan biyokimyasal olaylardır.(O'Flaherty 2015) (Şekil 1.2.2)

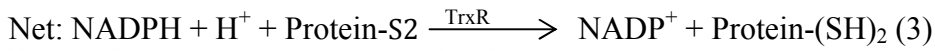
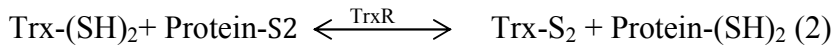
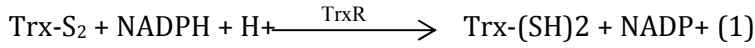


Şekil 1.2.2.: PRDX'lerin fizyolojik ve patolojik durumlarda inaktivasyonunun sonuçları (Q 'Flaherty 2014) .

- A) H₂O₂ artışına bağlı olarak PRDX'lerin inaktivasyonu, fizyolojik süreçler için sinyalleşmeyi sağlamak amacıyla gerçekleşir. Sinyal tetiklendikten sonra, GSH ve NADPH mevcudiyeti ve aktif TRX / TRD sisteminin varlığı, PRDX'in H₂O₂'nin hücre içi seviyelerinde azalmalara sebep olur.
- B) Patolojik durumlar altında, Hâlihazırda yüksek H₂O₂ seviyeleri GSH ve NADPH tükendikçe daha da artmaktadır. Bu nedenle PRDX'ler pasif kalır ve sonuç olarak spermatozoonlar lipidler, proteinler ve DNA üzerindeki H₂O₂'ye bağlı hasarlara karşı korunmaz.

Spermatozoa, kapasitans koşullarında bekletildiğinde, Sg ve Zn²⁺ plazma membranından ayrılır ve sperm oksidaz salınır. Bunun sonucunda O₂ üretimine izin verilir (de Lamirande ve Lamothe 2010). Epididimal geçiş sırasında

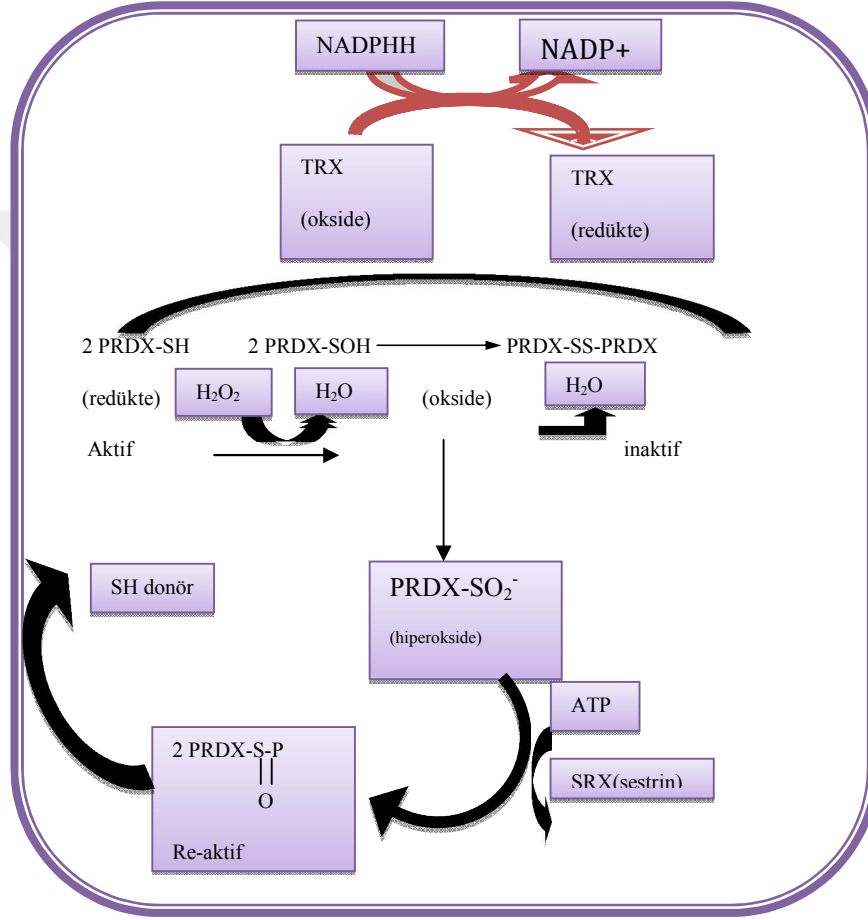
spermatozoaların serbest tiyol gruplarını kaybettiklerini dair bulgular mevcuttur .(Baker ve ark 2015, Cornwall ve ark 1988, Shalgi ve ark 1989, Dias ve ark 2006, Nakamura ve ark 2008). En yaygın bilinen tiyol oksidasyon reaksiyonu, moleküller arası disülfidlerin reaksiyonudur (O’Flaherty 2015). TRX’in redükte olmuş ditiyol formu [Trx-(SH)₂] disülfid grubu içeren okside protein substratlarını redükte eder. Okside disülfid formu [Trx-(S-S)] ise TrxR tarafından düzenlenen NADPH’a bağımlı bir yolla siklusa geri katılır (Nishinaka ve ark 2001) .



Son yıllarda erkek infertilitesi üzerine yapılan çalışmalar bu bilgilerden köken olarak tiyoredoksinler mekanizması üzerine yoğunlaşmıştır. Her ne kadar biyokimyasal mekanizmaların bu oluşumda rolleri tam olarak aydınlatılmamış olsa da, kapasitasyon sırasında spermatozoonların subsellüler bölümleri ve plazma membranına lokalize olan proteinlerin tiyol gruplarındaki değişiklikler ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Gerek disülfid köprüleri oluşturan tiyol gruplarının oksidasyonu ve gerekse yüksek tiyol içeriği, kapasitasyonla ilişkili olan birçok farklı sperm proteinlerinin regülasyonu için gereklidir. Bununla birlikte NADH ve NADPH gibi redükte bileşikler kapasitasyonda rol alırlar. LDH, G6PD, ve izositrat dehidrogenaz enzimleri sperm kapasitasyonu için NADPH sağlarlar (O’Flaherty 2015).

PRDX'lerin aktiviteleri için GPX'lerin aksine metal iyonları gerektirmez (Ishii ve ark 1995, Jin ve ark 1997, Syed ve Hecht 1998). Hem organik hem de inorganik hidroperoksitleri (Zhang ve ark 1997) ve peroksinitriti (Peshenko ve Shichi 2001, Dubuisson ve ark 2004) tiyoredoksinler (TRX) TRX redüktaz (TRD) sistemi aracılığıyla eşleştirerek azaltabilirler (Kang ve ark 1998, Wood ve ark 2003, Wood ve ark 2003).

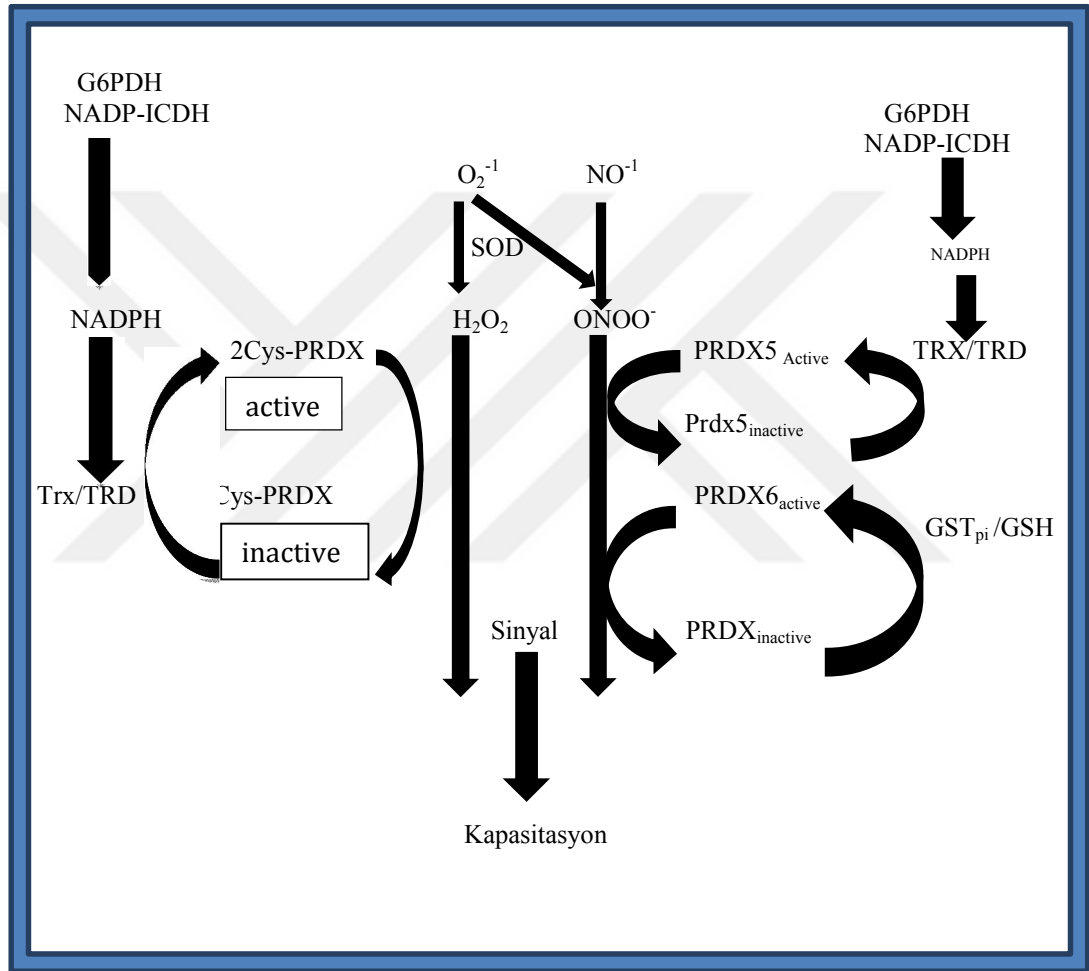
2-Cys PRDX'lerin TRX / TRD sistemi tarafından ile tekrardan etkinleştirilebilir (Şekil 1.2.3). Bu etkinleştirme hücrede bulunan NADPH miktarı ile sınırlıdır. Oksidatif stres durumunda, NADPH kaynağı olan glikoz 6-fosfat dehidrogenaz inaktif edilir ve böylece NADPH miktarı hızla tükenir. Bu sonuca bağlı olarak bu indirgeyici eşdeğer artık kullanılamaz (Griveau ve ark 1995).(şekil 1.2.4)



Şekil 1.2.3: Peroksidanlar ın yeniden aktiflenmesi (Q' Flaherty 2014)

Peroksi redoksinler (PRDXs) insan spermatozooalarını oksidanlardan koruyan antioksidan özelliğe sahip enzimlerdir. Bununla birlikte sperm kapasitasyonu için gerekli olan redoks sinyallerinin regülasyonunun garantisini oluşturur (O'Flaherty 2015). ROS düzeylerinin bölgesel kontrolüne izin veren (O'Flaherty ve Rico de Souza 2011, O'Flaherty 2014) koşulda farklı olarak lokalize edilir. PRDX6 içermeyen farelerin, sperm motilitelerinin azaldığı ve sperm kromatin

anormallikleri gösterdikleri ve oksidatif strese duyarlı oldukları son zamanlarda yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. (Ozkosem ve O'flaherty 2012). Oksidatif stresle mücadelede yüksek bir duyarlılığa sahip olsa da oksidatif strese karşı savaşmak için sınırlı bir sistemi vardır.(Tremellen 2008, Alvarez ve Aitken 2012).Çünkü, SOD ve sitosolik PRDX'lerin bulunduğu sitosolik alan çok sınırlıdır. 2-Cys PRDXs (PRDX1–4) ve PRDX5, spermatozoada bulunan tioredoksin / tioredoksin redüktaz sistemi ile oksidatif stresten korunmada etkili rol oynar.



Şekil 1.2.4 : PRDX'ler insan spermi kapasitasyon sırasında ROS sinyalini düzenler (Q Flaherty 2015).

Kapasitans indükleyicileri tarafından spesifik stimülasyon üzerine O₂⁻, H₂O₂, NO ve ONOO⁻ üretilir. 2 - Cys PRDX'ler oksitlenir ve bu nedenle H₂O₂ ile reaksiyona girerek inaktif hale gelir. PRDX5 ve PRDX6, ya H₂O₂ ya da ONOO⁻ ile reaksiyona girer ve aktif hale gelir. PRDX'lerin bu inaktivasyonu, kapasitans için gerekli redoks sinyalini tetiklemek üzere, spermatozoonun farklı hücre içi bölümlerinde ROS'un yükselmesini sağlar. Sinyal verildiğinde PRDX'ler, tioredoksin-tioredoksin redüktaz sistemi (2-Cys PRDXs ve PRDX5 için) ve

GSH'yi (PRDX6 için) azaltmak için bağlanan glutatyon -S- transferazlar tarafından yeniden aktive edilir. PRDX'lerin yeniden aktivasyonunu gerçekleştirmek için yeterli bir NADPH kaynağı (G6PDH ve NAP' ye bağımlı ICDH tarafından) ve GSH' nin sağlanması gereklidir. Yeterli NADPH ve GSH' nin sağlanamaması, PRDX'leri yeniden aktive etme ve böylece ROS'un toksik seviyelere yükselmesine izin verme yeteneğini azaltacaktır

Spermatozoanın oksidanlardan korunmasında TRX'lere duyulan ihtiyaç, Txndc2 ve Txndc3 çift rastgele seçilmiş erkek fareler kullanılarak gösterilmiştir. Çalışma sonucuna göre hayvanlarda yaşlanmaya bağlı bozulmuş sperm motilitesi, yüksek DNA hasarı ve kromatin anomalileri; spermatoozoa bozukluğunu göstermektedir (Smith ve ark 2013). İn vivo olarak oksidatif stresin artmasına bağlı bir durumdur (Weir ve Robaire 2007, Tremellen 2008, Smith ve ark 2013)

1.2.1.Tiyoredoksin Sistem:

Tiyoredoksin sistemi TrxR ve onun ana substratı olan Trx den oluşur. Tiyoredoksin redüktaz ile glutatyon redüktaz aynı enzim ailesine ait flavoproteinlerdir fakat TrxR bir selenoproteindir (Witte ve ark 2005). Trx aynı anda birden fazla yerde ifade edilen antioksidan bir proteindir (Sung ve ark 2014). Yapısal Trx ve TrxR ifadesi deri keratinositleri, plasental hücreler, karaciğer hücreleri, salgı hücreleri ve lökositleri içeren memeli vücudunun çeşitli hücre tiplerinde gözlenmiştir. UV ışık, hidrojen peroksit ve mitojenleri içeren fizyolojik uyarın, Trx ve TrxR ekspresyonunu uyarabilir (Söderberg ve ark 2000).

1964 yılında *E.coli*'de ribonukleotid reduktaz için hidrojen vericisi olarak ilk defa gösterilmiştir (Laurent ve ark 1964). Trx'ler molekül ağırlıkları yaklaşık olarak 12 kDa olan ve *archaebacteria* grubundan insana kadar tüm yaşayan canlılarda karsımıza çıkan küçük multifonksiyonel proteinlerdir. Trx hücrelerde ribonükleotidlerin redüksiyonunda hidrojen vericisi olarak birçok reaksiyonda yer alır. Bunlar; ökaryotik hücrede transkripsiyon, fotosentetik enzim regülasyonu gibi regülasyon faktörlerinin düzenlenmesi, kanserli hücre gelişiminde sinyal molekülü,

ROS'ların yok edilmesi gibi görevler üstlenmektedir (Fujii ve ark 1991, Jacquot ve ark 1994, Gasdaska ve ark 1995, Holmgren 1995). Bu aşamaların tamamında Tiyoredoksinler rol oynar ve oksidatif stres sonucu gelişen DNA hasarı için önemli bir faktör olarak kabul edilir.(Becker ve ark 2000). Bir tiyol (sülfidril (-SH)) protein olan Trx oksidasyonu dengeleyerek redoks kontrolünü sağlar (Burke-Gaffney ve ark 2005, Matsuo ve Yodoi 2013). Yapılan çalışmalarda TrxR'nin selenol grubunun mutajenik H₂O₂ için primer sensör olarak fonksiyon görevi görebildiği ve antioksidatif proteinleri kodlayan genlerin transkripsiyonuna yol açan bir sinyal akışını başlattığını göstermiştir.(Becker ve ark 2000).

Tiyoredoksin'in Yapısı

Okside Trx yapısı (108 rezidu içeren protein), *Escherichia coli*'de 1,68 Å⁰ çözünürlükle X-ray kristallografide gösterilmiştir (Katti ve ark 1990). Bu yapı Trx için referans yapı olarak kabul edilir. Bu karışık β-tabaka yapısı beş zincir ve donuş içerir. İnsan Trx'i birçok biyolojik süreçte aktif komponent ifade edilmiş ve sonradan bunlar Trx olarak tanımlanmıştır (Tagaya ve ark 1989, Clarke ve ark 1991, Gasdaska ve ark 1994). Birçok biyolojik olayda fonksiyon gören insan Trx 'nin redükte formu hem de okside formunun kristal yapısı çalışılmıştır. (Weichsel ve ark 1996). Redükte Trx'nin aktif formu dimerik yapıda olup her bir monomer sistein birbirine disülfid bağlarıyla bağlanmış iki monomerden oluşur (aktif merkezde 3 sistein rezidüsü içerir (Weichsel ve ark 1996). Trx'de bulunan ve redoks aktif olan iki sisteinden (cys) (Trx-1-sitoplazmik- cys 32 ve cys 35), cys 35 yapıya gömülü olarak bulunurken, cys 32 açıkta yer alır. Ayrıca insan Trx'i 73. Pozisyonda Trx'nin dimer oluşumu ve düzenleyici yollarla ilişkisi olabilecek ek bir cys (cys73) içermektedir. Fakat memelilerde (mitokondrial Trx-2 gibi) ilave cys bulunmayan Trx'lerde bulunabilir. Tüm Trx'ler aktif merkezlerinde "Trx motifleri" (ditiyol/disülfid aktif merkez motifi) olarak adlandırılan ve yapısında iki komsu sistein yapısı bulunduran Cys-X-X-Cys dizesini içermektedir (Štefanková ve ark 2005). Bu dize β zincirin sonunda α-heliksin başlangıcında yer almaktadır (Holmgren 1985, Martin 1995)

Tiyoredoksin Redüktaz (TrxR)

TrxR'ların sınıflandırılması küçük TrxR (35 kDa) ve büyük TrxR (55 kDa) olmak üzere molekül kütlelerine göre yapılmaktadır. Büyük TrxR'larda küçük TrxR'lara göre ilave bir C-terminal redoks merkezi içermektedir. Tiyoredoksin

redüktazlar (EC 1.6.4.5); lipoamid dehidrogenaz, glutatyon ve civa iyonu redüktaz enzimlerini de kapsayan ‘piridin nükleotid-disülfid oksidoredüktazların’ flavoprotein ailesine ait olan enzimlerdir (Mustacich ve Powis 2000). Flavın nükleotidler etkilerini; (FMN ve FAD) oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonlarını katalizleyen enzimlerde prostetik grup olarak gösterirler. Bu enzimlerin adlandırılması flavoenzimler veya flavoproteinler olarak yapılmaktadır.

Bu enzimler amino asitlerin , yağ asitlerinin ve piruvatın oksidatif bozulmalarında rol oynadıkları gibi, elektron transport zincirinde (ETZ) de görev alırlar. Flavoproteinler daha güçlü elektron akseptörü olduklarından elektronları piridin nükleotidlerden çok kolaylıkla almaktadırlar.

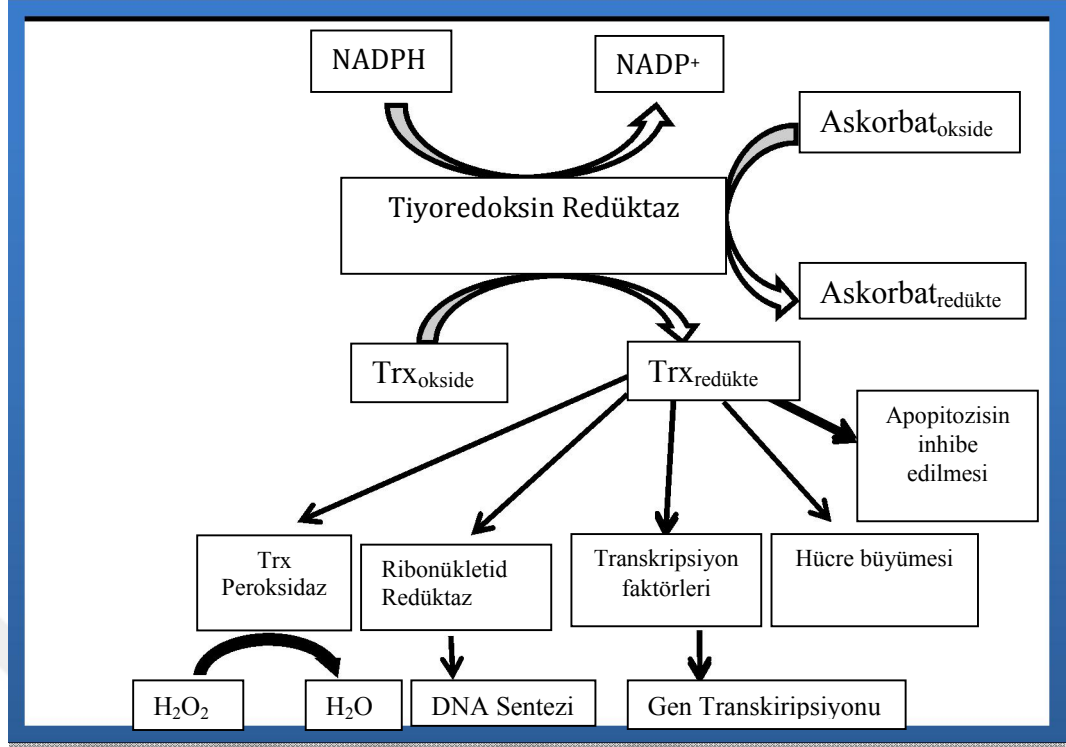
Flavın nükleotidler, flavo enzimlere kuvvetlice bağlanmaktadır fakat bu bağlanma kovalent değildir. Söz konusu olan piridin nükleotid, tiyoredoksin redüktaz (TrxR) enzimi için nikotinamid adenin dinükleotid fosfat’tır (NADPH). NADPH indirgeyici biyosentez olaylarında görev alırken bunu koenzim olarak kullanan enzimlere ‘redüktazlar’ denir. Tiyoredoksin redüktazlar (TrxR) her bir monomerinde, bir FAD prostetik grup, bir NADPH bağlanma bölümü ve redoks aktif disülfid içeren aktif bir bölge bulunduran homodimerik proteinlerdir. Elektronlar NADPH’dan TrxR’nin aktif bölgesine FAD aracılığıyla aktarılır (Özgençli 2014). TrxR enziminin aktivitesi; oksidatif heksos monofosfat (HMPS) döngüsünün kontrol noktası enzimi olan glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enzimi ile üretilen NADPH tarafından düzenlenir (Biaglow ve Miller 2005).

TrxR, bir selenoprotein (Witte ve ark 2005) olup okside Trx’ in reduksiyonunu sağlayan yaklaşık olarak 10-12 kDa’luk, küçük ubikutoz redoks aktif peptittir. Aktif merkezinde –Trp- Cys-Gly-Pro-Cys-lys dizisini bulundurur ve iki sisteinin reversibl oksidasyon/reduksiyonunu gerçekleştirmektedir (Mustacich ve Powis 2000). Trx/TrxR sistemi serbest radikalleri azaltır ve okside askorbat resiklusunda aktivite gösterir. TrxR; NADPH varlığında okside tiyoredoksinin elektron almasını sağlayarak indirgenmesini sağlar (Karaca ve Güder 2009).

Tiyoredoksin 'in etki mekanizması

Trx' in fonksiyonel alanı, proteinin tersiyer yapısı içerisinde yer alır ve disülfid bağlarının reversibl oksidasyonunu içerir (Mustacich ve Powis 2000). Proteinin okside formu, NADP bağımlı sistemle işlevsel olan redükte formuna çevrilmektedir. Bu sistemde elektronlar okside Trx'e tiyoredoksin redüktaz (TrxR) aracılığıyla NADPH'dan alınarak aktarılmaktadır (Štefanková ve ark 2005). Redükte Trx major hücresel "Protein disülfid redüktaz"dır ve primer metabolizmadaki birçok enzime elektron donörü olarak işlev görür (Schafer ve Buettner 2001). TRX'in aktif hidrofobik bölgesi ile (Cys 32) disülfid bağı arasında nükleofilik atak oluşur. Bu ataktan sonra Cys32 ile Cys 35 arasında nükleofilik atak ve bir disülfid köprüsü oluşur. Daha sonra hedef bağdan tamamen indirgenmiş olarak ayrılır. (Mustacich ve Powis 2000). TRX'in indirgenmesi, TRX Redüktaz tarafından olmaktadır ve TRX redüktaz, FAD içeren bir protein olup C terminalinde selenosistein rezidüsü bulunur (Miranda-Vizuete ve ark 2000).

İndirgeyici güçlerini NADPH'dan alan bir diğer tiyol redoks sistemi glutatyon redüktaz/glutatyon sistemidir. Bu iki sistem birbirine çok benziyor olsada özellikle hücreyi ROS'lara ve elektrofilik maddelere karşı korumada glutatyon sistemi daha önemlidir. Her iki sistemde piridin nükleotid-disülfid oksidoredüktaz grubundan, küçük redoks aktif peptidlerdir (Trx ve glutaredoxin) ve tiyol-disülfid değişimini yaparlar. Bu iki sistemden Glutatyon redüktaz TrxR'dan farklı olarak sadece glutatyonu redükler ve Trx sistemi GSH sisteminin aksine hücrede çok daha düşük konsantrasyonlarda bulunmaktadır (GSH, 1-10 mM; Trx 1-10 μ M) (Schafer ve Buettner 2001). Trx ve GSH'nun hücrenin korunmasındaki rolleri bakımından farklılık gösterir. GSH özellikle düşük redoks potansiyelinin ve serbest tiyol seviyelerinin yükseltilmesinden sorumludur. Trx ise sinyal iletimi ve gen regülasyonunda rol oynayan tiyollerin redoks regülasyonunda rol oynar (Schafer ve Buettner 2001). Trx'ler hücrede birçok ayrı bölümde çeşitli izoformlarda karsımıza çıkar. Trx'ler TrxR'la birçok proteinin disülfid bağlarının indirgenmesine katılır ve bu sistem peroksidazları da (Prxs) kapsamaktadır (Holmgren 1985, Mitsui ve ark 1992, Arnér ve Holmgren 2000, Nordberg ve Arner 2001)



Şekil 1.2.5: Tioredoksin redüktazın substratları ve Tioredoksinin hücredeki fonksiyonları (Mustacich ve Powis 2000)

Şekil 1.2.5’de Tioredoksin redüktaz enzimi, tioredoksin proteinin yükseltgenmiş formunu NADPH bağımlı olarak indirger, indirgenmiş tioredoksin, tioredoksin peroksidaza elektron sağlayarak hidrojen peroksidin suya dönüşümünü sağlar, ribonükleotid redüktaza elektron sağlayarak DNA sentezi için ribonükleotidlerin deoksiribonükleotidlere dönüşümünü gerçekleştirir ve transkripsiyon faktörlerinin DNA ’ya bağlanmasını etkiler. Ayrıca tioredoksin hücre büyümesine ve programlı hücre ölümü olan apoptozda inhibisyona neden olur (Mustacich ve Powis 2000)

Memelilerde birincisi hücre sitoplazmasında bulunan TrxR-1 ikincisi mitokondride bulunan TrxR-2, üçüncüsü ise testislerde bulunan TrxR-3 şeklinde tanımlanmış 3 adet izoenzimi bulunmaktadır. (Urig ve Becker 2006). Protein ekspresyon ifade yerlerine dayanarak, tioredoksinler iki farklı gruba ayrılabilir; grup I, her yerde bulunan tioredoksinleri TRX-1 (Wollman ve ark 1988), TRX-2 (Spyrou ve ark 1997), TXL-1 (Lee ve ark 1998, Miranda-Vizute ve ark.1998), ERDJ5 (Cunnea ve ark 2003, Hosoda ve ark 2003), farklı hücre içi bölmelerde bulunur. Grup II ise SPTRX-1 (Miranda-Vizute ve ark 2001, Jiménez ve ark 2002),

SPTRX-2 (Sadek ve ark 2001, Miranda-Vizuete ve ark 2003) ve TXL-2 (Sadek ve ark 2003) gibi dokuya özgü tiyoredoksinleri ifade eder. SPTRX-1 ve -2 gibi dokuya özgü Trx 'ler özellikle erkek germ hücrelerinde eksprese edilirler. TXL-2 ise spermatozoa veya akciğer hava yolu epitelyumu gibi silyalar ve flagella dokuları içeren dokulardan eksprese edilir. Bu dokuya özgü Trx'ler erkek germ hücrelerinde fazla bulunması, spermatogenezdeki bu protein ailesinin önemli bir rolünü yansıtır, ki bu da yeni bir testis spesifik sitozolik Tiyoredoksin Redüktaz olabileceğini ifade eder. (Rundlof ve ark 2004)

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda SPTRX1 ve SPTRX2 eksik olan farelerin subfertil olduğu bildirilmiştir (Smith ve ark 2013). Bu bulgular, başarılı bir fertilizasyonun olması için sağlam bir TRX sistemine olan ihtiyacı desteklemektedir. İnsan spermatozoasında SPTRX1 ve SPTRX2'nin yanı sıra TRX benzeri 2 farklı protein tanımlanmıştır. Bunlar TRD1 ve TRD2 (SPTRX' ler dahil olmak üzere oksitlenmiş TRX'leri azaltan enzimler) olarak adlandırılmış olup varlıkları immünoiblottlama ile gösterilmiştir (Miranda-Vizuete ve ark 2001), fakat sperm hücresindeki kesin lokalizasyonları hala tam olarak aydınlatılamamıştır (O'Flaherty 2014).

TrxR'lar için Trx'lerin yanı sıra başka endojen substratlarda belirlenmiştir. Sitotoksik peptid NK-lisin, Lipoik asit, lipid hidroperoksit, dehidroaskorbik asit, askorbil serbest radikal vitamin K3 ve p53 tümör-supresör proteini enzimin bilinen diğer substratlarıdır. (Mustacich ve Powis 2000). Bunların dışında küçük moleküller olarak; metilseleninat, 5,5' dithiobis (2-nitrobenzoate) (DTNB selenodiglutasyon, S-nitrozoglutasyon), alloksan ve ebselen enzimin bilinen diğer substratlarıdır (Witte ve ark 2005). TrxR hidroperoksitler, vitamin C ya da selenitler gibi disülfid yapıda olmayan substratları da indirgenmesini de sağlar (Arnér ve Holmgren 2000) . TrxR selenosistein içeren aktif bölgesi aracılığıyla çok sayıda substratın indirgenmesini sağlayabiliyor olsa da selenolat parçasının aşırı yüksek reaktivitesi yüzünden elektrofilik bileşikler tarafından kolaylıkla hedef haline gelebilir (Witte ve ark 2005). TrxR 'ın karboksi peptidaz ve tripsin tarafından sınırlanan Se-Cys rezidüsünün kısmi çıkarılması aktivitesinin azalmasına neden olur (Bar-Noy ve ark 2001).

TRX 1 sitozolik form

Primer olarak sitozolde bulunan; 12 kDa ağırlığında, 104 amino asit içeren küçük globüler bir protein olup ilk defa E coli’de tanımlanmıştır. E. coli tiyoredoksin 1’i in vivo ve invitro ortamda en etkili disülfid bağı indirgeni olarak belirtilmiş olsada ailenin farklı üyeleri, tamamen zıt reaksiyonları bile verimli bir şekilde gerçekleştirebilirler. Disülfid bağlarının redüksiyonu veya sistein tiyollerinin oksidasyonu örnek olarak verilebilir. Bu antagonistik reaksiyonlar, genellikle hücrenin farklı subselüler alanlarında meydana gelir. Hücre büyümesi ve apoptozun düzenlenmesinde, embriyonik implantasyonda transkripsiyon faktörlerinin DNA bağlanma aktivitelerinin düzenlenmesinde ve co-sitokinler ve serbest oksijen radikallerine karşı koruyucu mekanizmalarda rolü vardır (Holmgren 1985).

Çesitli çalışmalarda, Trx1’in ifadesinin astrositolar gibi insan primer kanserlerinde ve tümör hücrelerinde arttığı gösterilmiştir. Trx yükselmesinin de, DNA sentezinin artışı, redoks aracılı transkripsiyon faktörlerinin uyarılması gibi mekanizmalarla kanser hücrelerinin gelişimini ve kemoterapiye karşı direncini artırdığı saptanmıştır (Gasdaska ve ark 1994, Berggren ve ark 1996, Kawahara ve ark 1996, Baker ve ark 1997, Powis ve ark 2000, Soini ve ark 2001, Haapasalo ve ark 2003). Trx-1’in lenfoid hücre kültürüne eklendiğinde ya da geni bu hücrelere transfer edildiğinde hücre ölümünü engellediği gösterilmiştir (Powis ve ark 1998). Trx-1’e maruz kalan lenfositler, fibroblastlar ve birçok lösemik ve solid tümör hücre serilerinin büyüme hızında artış görülmüştür (Powis ve Montfort 2001).

TRX 2 mitokondriyal form

18,2 kDa ağırlığında, 166 aa asit uzunluğunda olup mitokondride bulunur. Uzunluk ve ağırlığındaki fark, TRX 2 ‘nin N terminalindeki 60 aa’lık mitokondriyal translokasyon sinyalinden kaynaklanır (Spyrou ve ark 1997). TRX2, mitokondriye lokalize olup TRX- 1’le sekans benzerliği göstermektedir. Bu maddenin, oksidan ilişkili sinyal iletiminde herhangi bir rolü saptanmamıştır (Chen ve ark 2002). Mitokondrial izoenzim Trx2’de, enerji üretimi ve hücre yaşamı süresinin regülasyonunda önemli görevleri bulunmaktadır (Akın 2008). Son çalışmalarda tiyoredoksin ailesinin yeni farklı tipi tanımlanmıştır. Spermatik spesifik tiyoredoksin (SPTrx) olarak adlandırılmıştır ve spermatogenezin haploid fazını sınırlar (Jiménez

ve ark 2002). Trx-2'nin hücre ölümüne karşı hangi mekanizma ile koruma sağladığı henüz bilinmemektedir. Ancak hücre redüksiyon gücündeki artışın, oksidatif stresin zarar verdiği proteinleri indirgediği, böylelikle hücre ölümünü engellediği düşünülebilir (Kemerdere 2008).

1.2.3.Sperm spesifik Tiyoredoksin Redüktaz-3 (SPTrxR-3)

Memeli germ hücreleri, spermatid ve sperm kuyruğu yapılarında spesifik olarak bir redoks protein sınıfı olan tiyoredoksin (Trx) bulundurulur (Jiménez ve ark 2004). İnsanlarda negatif sperm kalitesinin biyo göstergesinin en önemli örneği spermatid spesifik tiyoredoksin 3 tür (SPTrx-3 / TXNDC8) (Jiménez ve ark 2004). Androlojik değerlendirmeye yönelik “negatif” biyobelirteç tabanlı yaklaşım, ağırlıklı olarak veya yalnızca kusurlu spermatozoada saptanabilen proteinler ve lektin ligandlarına odaklanır. Sonuç olarak, bu tür biyobelirteçler normal sperm morfolojisi ve fonksiyonunun “negatif” göstergeleri olarak kabul edilir ve bu şekilde erkek fertilitesi veya tam sterillik azalması ile ilişkilendirilmiştir (Sutovsky ve Lovercamp 2011). Bu yaklaşımın ters yönünde, fenotipik olarak normal, morfolojik olarak sağlam, yaşayabilir, ilerleyen hareketli spermatozoada mevcut olduğu bilinen biyobelirteçler aşağı regüle edilebilir, ektopik olarak eksprese edilebilir, translasyon sonrası modifiye edilebilir veya tamamen kusurlu spermatozoa eksik olabilir. Eksik olduğunda tekrarlayan düşüklere bireyler daha yatkındır.

SPTrx-3 golgi aparatında spermatosit ve spermatitlerde lokalize olduğu belirgin şekilde ışık ve elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda gözlenmiş olup akrozomun gelişimi için spermatitlerde geçici lokalizasyon gösterir. SPTrx-3 bir postobstrüksiyon otoantijen olarak tanımlanmaktadır (Jiménez ve ark 2004). SPTrx-3 ekspresyonunun infertil erkeklerde artması anormal insan spermlerinin oluşmasına neden olduğu düşünülmektedir (Jiménez ve ark 2004). SPTrx-3 / TXNDC8, spermatosit ve spermatidler ile gelişmekte olan akrozomlar arasında geçici bir ilişki kurulmaktadır (Sutovsky ve ark 2015).

SPTx-3 RNA'nın fare testis gelişimi sırasında ekspresyonuna ilişkin olarak, ourin sitin hibridizasyon sonuçları, SPTx-3 mRNA'nın doğumdan sonraki üçüncü haftada ortaya çıktığını ve dördüncü haftada ve yetişkin yaşına kadar arttığını göstermektedir. Buna ek olarak, İnsan testis kesitlerinin immünohistokimyası spermatositler ve yuvarlak spermatidlerde SPTx-3 ekspresyonunu ortaya çıkardı. Tiyoredoksin başlangıçta, pachytene spermatocytes'in Golgi aparatında gözlenir; Daha sonra gelişen akrozomal granül ile yakın ilişki içinde yuvarlak spermatidlerde post-miyotik olarak tutulmakta ve akrozomal biyojenezde bir fonksiyonu olduğunu düşündürmektedir (Jiménez ve ark 2004). Akrozom oluştuktan sonra, kalan SPTx-3, kalan gövdeler şeklinde boşalmaya hazır uzun spermatidlerin sitoplazmik lobunda birikir. İlginç bir şekilde, SPTx-3 çeşitli hayvan türlerinin tamamen farklılaşmış normal spermatozoasında tespit edilememekte, ancak nükleer vakuollerini dolduran ve morfolojik olarak anormal insan spermatozoasında sperm kuyruğu orta kısımlarının etrafına sarılmış bol miktarda sitoplazmada tutulmaktadır (Jiménez ve ark 2004, Buckman ve ark 2009). Daha da önemlisi, olgun epididimal spermatozoada, SPTx-3, sitoplazma ve organellerin son kalıntılarının farklılaşma sonrası sperm hücresinden atıldığı sitoplazmik damlacıkta bulunur (Ramalho-Santos ve ark 2001). Bununla birlikte, bazı teratospermik hastalarda SPTx-3 nükleer vakuollerde ve morfolojik olarak anormal spermatozoanın rezidüel sitoplazmasında birikir ve tespit edilebilir. Bu nedenle, olgun spermatozoada SPTx-3'ün aşırı ekspresyonu veya tutulması, erkek infertilitesinin yeni bir fenotip belirteci ve aynı zamanda diagnostik deneyler ve ilaçlar geliştirmek için potansiyel bir hedef olarak düşünülebilir.

Yapılan bir çalışma, 19 infertil ve 5 fertil bireyden oluşan bir kohortta SPTx-3 ve ubiquitin (onaylanmış bir defektif sperm biyobelirteçleri (Ozanon ve ark 2005) ile sperm seviyeleri arasında güçlü bir pozitif korelasyon olduğunu ortaya koymuştur (Jiménez ve ark 2004). Daha sonraki bir çalışmada, fazla sitoplazma veya nükleer vakuoller içeren anormal spermelerde yüksek SPTx-3 olduğunu göstermek için, akış sitometrisi ve ışık mikroskopisini birleştiren ImageStream teknolojisini kullanılmıştır (Buckman ve ark 2009) .

İncelenen memeli türlerinin çoğunda testis yuvarlak spermatidler bulunurken, sadece anormal insan spermlerinin nükleer boşluklar ve orta parça sitoplazmasında korunmuş olduğu tespit edilmiştir (Jiménez ve ark 2004). Sperm biyolojisi açısından önemli olduğundan redoksin araştırmaları ve redoks düzenlenmesi konularındaki çalışmalar birçok yönüyle giderek önem kazanmaktadır (Fujii ve Tsunoda 2011). Çoğu organizmada tiyoredoksin ve glutatyon / glutaradoksin sistemleri tarafından redoks homeostazı korunur (Bindoli ve Rigobello 2013).

SPTrx-3, diğer iki sperm-spesifik tiyoredoksin, SPTrx-1 / TXNDC2 12 ve SPTrx-2 / TXNDC3 ile yakından ilişkilidir (Sadek ve ark 2001). SPTrx-1 lokasyon olarak kısıtlıdır. SPTrx-2 spermatozoanın kuyruğunun yapısal bileşeninde bulunur. Bu iki protein sperm motilitesi ve doğurganlıkta oldukça önemlidir. Şaşırtıcı bir şekilde, fareler her ikisinde de hedeflenen inaktive edici mutasyonları barındırır (Smith ve ark 2013).

SpTrx1 ve SpTrx2 genleri açık bir fenotipe sahip olmasa da yaşa bağlı bir artış hariç reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi ile hareket kaybı bakımından sperm fonksiyonuyla ilişkilidir (Smith ve ark 2013). Sperm tiyoredoksinlerin bir çoğu farklı patolojilerle erkek fertilitesi dahil en türleri (ROS) üretimi ile hareket kaybı bakımından sperm fonksiyonuyla ilişkilidir olur (Miranda-Vizuete ve ark 2003, Jiménez ve ark 2004). SPTrx-3'nün erkek infertilitesinde biyobelirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağını araştırmak için 239 infertil çift kapsamlı olarak incelenmiştir. Yüksek semen SPTrx-3 düzeylerine sahip bireylerde, yardımcı üreme tedavileri ile daha düşük olasılıkla gebelik yaşanması mümkün olduğu ve de çoklu gebeliklerde tekrarlayan düşükler ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. SPTrx-3 seviyeleri, erkek infertilitesinin daha önceki klinik tanısını doğrular ve idiyopatik ve sadece kadın infertilitesi olan vakaların bir kısmında tanı konmamış erkek infertilitesini ortaya çıkarır (Sutovsky ve ark 2015).

1.3. Testis - İfade Protein 101 (TEX-101)

TEX-101 (testis-eksprese edilen gen 101, TEX-101 tarafından kodlanan, Testis-ifade protein 101), fetal testiste prospermatogonia'nın plazma zarlarında görünen, fakat epididimal spermatozoadan yok olan, germ hücresine özgü, GPI-bağlı protein (Kurita ve ark 2001, Jin ve ark 2006) olarak bilinir (Takayama ve ark (2005 a), Takayama ve ark (2005 b)). TEX-101, sadece testiküler germ hücreleri tarafından eksprese edilen ve seminel plazma içine dökülen bir hücre zarı proteindir. İmmunohistokimyasal boyama ile TEX-101 in germ hücrelerinde ve ekstrasellüler membranda lokalize olduğu tespit edilmiştir. (Korbakis ve ark 2017) .TEX-101 hücre içi bir alandan yoksun bir GPI-sabitlenmiş proteindir (Jin ve ark 2006).

TEX-101'in moleküler ve biyokimyasal analizleri, N-ve C-terminalinde (Kurita ve ark 2001) güçlü bir şekilde hidrofobik sinyal peptidleri olan 250-amino asitten oluşan bir polipeptidi olduğunu göstermiştir. Bu da glikosilfosfatidilinositol (GPI) ile bağlantılı proteinlerin tipik bir özelliğini oluşturur (Peshenko ve Shichi 2001).Memeli hücrelerinde geçici bir ekspresyon sistemi kullanarak, yakın zamanda TEX-101'in GPI-parçası ile hücre yüzey membranına bağlandığı Jin ve arkadaşları tarafından doğrulanmıştır (Jin ve ark 2006).

İlginç bir şekilde, TEX-101 amino asit sekansı DNA / protein veri tabanlarındaki herhangi bir moleküle belirgin bir homoloji göstermez (Kurita ve ark 2001). Bu durumda, makul bir alternatif yaklaşım, TEX-101 ile ilişkilendirilen molekülleri tanımlamaktır, çünkü birçok protein, biyolojik aktivitelerini etkileyen bazı diğer proteinlerle (örn., Substratlar sağlayarak veya aktiviteyi düzenleyerek) fiziksel olarak ilişkilidir (Pawson ve Nash 2003). TEX-101 hakkındaki bilginin çoğunun fare modelleri kullanılarak yapılan çalışmalardan kaynaklanmaktadır. Bununla birlikte, sistein kalıntılarının ve dizideki potansiyel glikosilfosfatidilinositol (GPI) -anchoring pozisyonunun memeli türlerinde yüksek oranda korunduğu göz önüne alındığında, fare modelleri ile üretilen verilerin çoğunun insan TEX-101 için geçerli olabileceği kabul edilmektedir (Tsukamoto ve ark 2007).

Fare TEX-101 proteini (testis tarafından 101 gen, TEX-101 tarafından kodlanan) ilk olarak Kurita ve arkadaşları tarafından farelerde tanımlanmış olup testislerde yüksek ekspresyon gösteren proteindir (Kurita ve ark 2001).

Yetişkin farelerde, TEX-101 esas olarak testis içindeki spermatositler, spermatidler ve spermatozoanın (özellikle kuyruk kısmında) plazma membranı üzerinde yer alır (Kurita ve ark 2001, Takayama ve ark (2005 a)) TEX-101'in fare testis homojenatındaki biyokimyasal lokalizasyonu, hem sitozol hem de çözünebilir fraksiyonlarında TEX-101'in bulunduğu göstermektedir (Kurita ve ark 2001). Bununla birlikte, Nagdas ve ark. ın verileri sığır testis spermatozoasın da TEX-101'in bulunduğunu göstermiştir(Nagdas ve ark 2014). Takayama ve ark. Farede, (Takayama ve ark (2005 b)) TEX-101 polipeptidinin epididimal geçiş sırasında çoğunlukla sperm yüzeyinden çıkarıldığını bildirmişlerdir. Bunun Aksine, Yin ve arkadaşları (Yin ve ark 2009), hem insan hem de fare testislerinde NYD-SP8 (fare TEX-101 polipeptidine homolog) ve insan ejakülatında ve fare sperminin kaudasında bulunduğunu göstermişlerdir. TEX-101, fare kauda epididimal sperminin lipid tabaka fraksiyonlarında mevcuttu ve lipid fraksiyonlarında TEX-101'in yeniden dağılımının kapasitans sırasında meydana geldiğini göstermişlerdir (Sleight ve ark 2005).

TEX-101'in testis içindeki subselüler lokalizasyonu üzerindeki deney sonuçlarına göre, TEX-101 proteini, testiküler suda çözünür fraksiyonda tespit edilen hidrofilik bir forma sahiptir. (Kurita ve ark 2001) TEX-101'in çıkarılan amino asit dizisi içinde hidropati çizim analizi ile GPI bağlı proteinlerde bulunan N ve C terminallerinin bu bulunduğunu göstermiştir. (Kurita ve ark 2001). Spermde, GPI ile bağlanmış proteinlerin bölünmesinin fertilizasyonda rol oynadığı önceki çalışmalarda bildirilmiştir (Kondoh ve ark 2005). Daha önceki bir çalışmada, tipik olarak GPI bağlı proteinlerde bulunan N ve C terminallerindeki varsayılan iki sinyal dizisinin bulunduğu gösterildi (Yeh ve ark 1994, Udenfriend ve Kodukula 1995, Kinoshita ve ark 1997, Jin ve ark 2006). Fare TEX, yüksek oranda N-glikozile edilmiş (Jin ve ark 2006) iken, sığır TEX-101, 17 kDa N bağlı oligosakkarit içerir.

Daha sonra, insan testistisinde TEX-101, cDNA mikrodizi analizi (Gerhard ve ark 2004) ile tanımlandı ve inseminasyon sürecinde akrozom reaksiyonuna dahil olduğu bulundu (Yin ve ark 2009). Fare TEX-101, gametojenez sırasında ağırlıklı olarak germ hücrelerinin plazma membranı üzerinde bulunan testis germ hücresine özgü bir proteindir. İnsan Protein Atlası'na (www.proteinatlas.org) göre, insan TEX-101, testis dokusunun Sertoli ve Leydig hücreleri dahil olmak üzere başka bir insan dokusu veya hücre tipinde eksprese edilmez. TEX-101 geni, insanlarda 19q13.31 pozisyonunda kromozom 19'un uzun kolunda ve farede yaklaşık olarak % 55'lik bir homoloji ile farede kromozom 7'de yer almaktadır (Tajima ve ark 2003). TEX-101'in ekspresyon profilini açıklamak için 28 normal bireyin farklı organları toplanıp yüksek kaliteli anti TEX-101 antikoru ile immünohistokimyasal bir çalışma yapılmıştır. Çalışma sonucunda testislerin, TEX-101'in yüksek oranda ifade edildiği tek organ olduğu tespit edilmiştir ve yumurtalık dahil olmak üzere diğer 27 organda tespit edilememiştir. Bu sonuçlar, TEX-101'in testis-bol bir protein olduğunu doğrulamıştır (Shen ve ark 2014).

Yin ve ark. (Yin ve ark 2009) tarafından sperm-yumurta etkileşimi sırasında spermin TEX-101'in yumurta kümülüsüyle etkileşim içinde olabileceğini öne sürmüşlerdir. Yin ve arkadaşları (Yin ve ark 2009) tarafından yapılan bir çalışmada, sperm-kümülüs etkileşiminde TEX-101 rolü önerilmiştir. TEX 101 kümülüs hücrelerinin yüzeyine ayrılması ve bağlanması, kümülüsün Ca^{+2} mobilizasyonuna ve progesteron üretimine, AR'ı indüklediği ve kümülüs tabakasının penetrasyonunu kolaylaştırdığı gibi bilinen olaylara yol açar. Kallulus hücrelerinin AR içindeki rolünü incelemek amacıyla, aynı grup, kümülüs hücreleri üzerinde TEX-101 bağlanmasına aracılık eden ve Ca^{+2} mobilizasyonunu indükleyen aday molekülleri tanımlamaya odaklanmıştır. TEX-101'in uPA / uPAR kompleksine bağlanabileceğini ve uPA aktivitesine müdahale edebileceğini kanıtlamışlardır. UPA sisteminin, serin proteaz aktivitesi dışında, sinyal transdüksiyonuna dahil olduğu bilinmektedir ve Ca^{+2} mobilizasyonu ile ilişkilidir (Chen ve ark 2013)

Ayrıca, spermatozoa üzerinde TEX-101'in varlığının anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) tarafından düzenlendiğini ve fonksiyonel olarak verimli

spermatozoa üretildiğini, GPI ile bağlanmış TEX-101 proteininin ACE tarafından çıkarılmasının gerekli olduğunu da yaptıkları çalışma da sonucunda göstermişlerdir (Fujihara ve ark 2013).

ACE'nin bir glikosilfosfatidilinositol (GPI) ile bağlantılı protein salgılama (GPIaz) aktivitesi olduğu ve bu farklı enzimatik aktivitenin erkek fertilitesi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Kondoh ve ark 2005). Daha ileri çalışma ile TEX-101'in ACE'nin GPIaz aktivitesi için spesifik bir hedef olduğunu ve spermatogenez sırasında TEX-101'in bozulmasının, sperm plazma membranındaki ADAM 3 eksikliği nedeniyle normal görünümlü ancak fertilizasyon ile yetersiz spermatozoa ile sonuçlandığını ortaya koymuştur (Fujihara ve ark 2013).

TEX-101'in genomik düzeyde incelenmesi, Tsukamoto ve ark. (Tsukamoto ve ark 2007), fare TEX-101 geninin iki farklı promoter tarafından düzenlendiğini ve üç ana transkript oluşturduğunu bulmuşlardır. Nükleotid ve amino asit dizisine dayanarak, insan ortologunun iki promotörün regülasyonu altında Sitosolik form ve hücre dışı GPI-ankrajlı form, olmak üzere iki izoformda mevcut olduğu tahmin edilmektedir. Ancak, immünohistokimya (IHC) deneyleri yaparak Kurita ve ark. (Kurita ve ark 2001), TEX-101'in tüm gametogenez süreci boyunca esas olarak germ hücrelerinin plazma membranı üzerinde bulunduğunu göstermiştir. Ancak hücrelerin sitoplazmasında da zayıf bir şekilde bulunabildiğini göstermiştir.

Jin ve ark. (Jin ve ark 2006), Kurita ve arkadaşları tarafından tahmin edildiği gibi TEX-101'in ve hücre yüzeyinde GPI-bağlı bir protein olarak ifade edildiğini tüm potansiyel alanlarda yüksek glikozile olduğunu göstermiştir. (Kurita ve ark 2001). TEX-101'in, Spight ve ark. Tarafından da gösterildiği gibi, sperm yüzeyindeki lipid kısımlarında bulunduğuna dair kanıtlar sundular. (Sleight ve ark 2005). TEX-101 ekspresyonunun öncelikli olarak daha önce bildirildiği gibi spermatositler, spermatidler ve spermatozoa ile sınırlı olduğunu göstermişlerdir (Peshenko ve Shichi 2001, Takayama ve ark (2005 a)). Diğer yandan, Cellubrevin spermatocytes ve erken evre spermatidler gibi haploit germ hücreleri üzerinde bol miktarda bulunmuştu ve

geç evre spermatidler, spermatozoa, spermatogonia ve interstisyel hücrelerde nispeten daha az miktarda bulunduğunu raporlarında bildirdiler. Birleştirilmiş TEX-101 ve cellubrevin floresan görüntülerinin incelenmesi, iki protein arasındaki ilişkinin öncelikle ve erken evre spermatidlerde oluştuğunu göstermektedir (Tsukamoto ve ark 2006)

1.3.1. TEX 101 Etki Mekanizması

Son çalışmalarda azospermisi olan infertil bireylerde TESE ameliyatı ile testislerde sperm bulma olasılığını tespit etmeye yönelik iki yeni belirteç (ECM 1ve TEX-101) tanımlanmıştır (Drabovich ve ark 2013). Bunlardan biri TEX 101 dir. TEX-101 yakın zamanda AR (Yin ve ark 2009) sırasında kümülüs-sperm etkileşiminde tanımlanmış olup sperm üretimi sırasında açığa çıkan bir proteindir.

TEX-101 ilk olarak primordial germ hücrelerinin gonadal çıkıntıya ulaşmasından sonra prospermatogoniada ortaya çıkmış ve daha sonra yaklaşık 14 gün sonra koitustan sonra prospermatogoniye dönüşmüştür. Fetal testiste, TEX-101 ilk olarak olgunlaşmamış seminifer tübüllerin içinde prospermatogonyanın plazma membranında görülür. Ergenlikten sonra, artık spermatogoniada görünmez; bunun yerine spermatositler, spermatidler ve testiküler sperm dahil olmak üzere mayotik hücreler üzerinde ortaya çıkmaktadır (Takayama ve ark 2005).dimorfic TEX-101, prespermatogenez sırasında hayatta kalan prospermatogonia üzerinde yapısal olarak eksprese edildi. Spermatogenezin başlatılmasından sonra, prospermatogonia spermatogoniaya ayrılmış olup TEX-101 ekspresyonu spermatogoniden kayboldu, fakat spermatositler, spermatidler ve testiküler sperm üzerinde tekrar ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Dahası, TEX-101, gelişmekte olan yumurtalıkta folikülojeniz başlangıcına kadar kadın germ hücreleri (oogonia ve oositlerde)üzerinde de geçici olarak eksprese edildiği bildirilmiştir (Takayama ve ark (2005 a)). Son olarak, epididimal spermin hücre yüzeyinden kaput epididimis kanalı boyunca taşınması sırasında dökülür (Takayama ve ark (2005 b)). Yazarlar, epididimal olgunlaşmadan sonra ortadan kalktığını gösteren raporların çoğunun aksine, TEX-101'in olgun

spermatozoada tespit edildiği görüşünü desteklemektedir (Fujihara ve ark 2013, Li ve ark 2013, Takayama ve ark (2005 b)).

Bu proteinin görevi sperm yumurtaya yaklaştığında gerekli hücreleri uyarıp progesteron salgısını artırarak akrozom reaksiyonunu başlatmaktır. Akrozom reaksiyonunun başlamasıyla sperm yumurtanın zarlarını delerek, yumurtanın içine girmesini sağlar. Sperm kök hücreleri olgunlaşmaya başladığında, TEX-101 proteini de sperm hücresinin membranına yapışmış halde belirmeye başlar. Daha sonra olgunlaşmış sperm hücresi olan spermatozoa meydana gelir. Daha sonra spermatozoa testisi terk ederek epididim bezinin içinden geçer. Buradan geçerken TEX-101 sperm membranından ayrılır ve seminal sıvıya dökülür. Sperm tahlilinde bu protein bulunursa, genital kanallarda olgun sperm hücresi de var olduğunu gösterir. Olgun sperm bu proteinin miktarı doğru orantılıdır. Sperm üretiminin olduğu ve sperm tahlilinde normal düzeyde sperm olan olgularda TEX-101 miktarı anlamlı derecede yüksektir. Fakat sperm üretiminin hiç olmadığı Sertoli Cell Only (SCO) sendromu vakalarında bu miktar sıfıra yaklaşır. TEX-101 miktarının belli bir eşik değerin üzerinde olması, testiste olgun sperm hücresi varlığı açısından önemli bir bulgudur (Drabovich ve ark 2013, Korbakis ve ark 2017). Sonuç olarak, eğer azospermik bir erkekte hormon veya kanal tıkanıklığı gibi bir sorun yoksa spermdede TEX-101'in eşik değerine yakın bulunması, testislerde olgunluk aşamasında sperm üretiminin olduğunu göstermektedir. Eşik değerinin üzerinde olması ise testislerde olgun sperm hücresi varlığının çok daha yüksek olduğunu gösterir (Drabovich ve ark 2013). TEX-101 ekspresyon kinetiğinin cinsel dimorfizmi, TEX-101'in, germ hücre gelişimi ve farklılaşması sırasında önemli bir fizyolojik rol oynadığını gösterir (Tsukamoto ve ark 2006).

1.3.2.Epididimal Olgunlaşmada TEX-101 Proteinin Rolü

Testis spermatozoalarına germ hücrelerinin gelişimi, testis sonrası matürasyon için epididime geçişi takip eder. Testiküler spermatozoanın morfolojisi, sperm hücrelerine benzer olmasına rağmen, tam olarak olgunlaşmamış ve Zona Pellusida bağlanma ve yumurta hücreleriyle etkileşime girme kabiliyeti ve yeteneklerinden yoksundur (Cornwall 2009).

Testiküler spermler epididim tübül içine girdiğinde, transkripsiyonel ve translasyonel suskunluğun eşlik ettiği post-testiküler olgunlaşma başlar (Engel ve ark 1973). Bu translasyonel suskunluk göz önüne alındığında, spermin epididimal olgunlaşmasının esas olarak post-translasyonel modifikasyonlar (PTM'ler) tarafından kullanıldığının göstergesidir (Aitken ve ark 2007, Aitken ve Baker 2008). Spermatozoa epididimal sıvıda (epitel hücreleri tarafından salgılanır) bulunurken sperm yüzeyinde değişiklikler meydana gelir (Cooper 1986) Spermatozoayı çevreleyen ortam, protein içeriği ve kimyasal bileşimi açısından epididimisin (caput, corpus, cauda) üç bölgesi boyunca değişmektedir. Bu değişikliklere bağlı olarak, sperm membranına bağlanan testis proteinlerinin çoğunun aşamalı bir modifikasyonu vardır. Bu modifikasyonlar şunlardır:

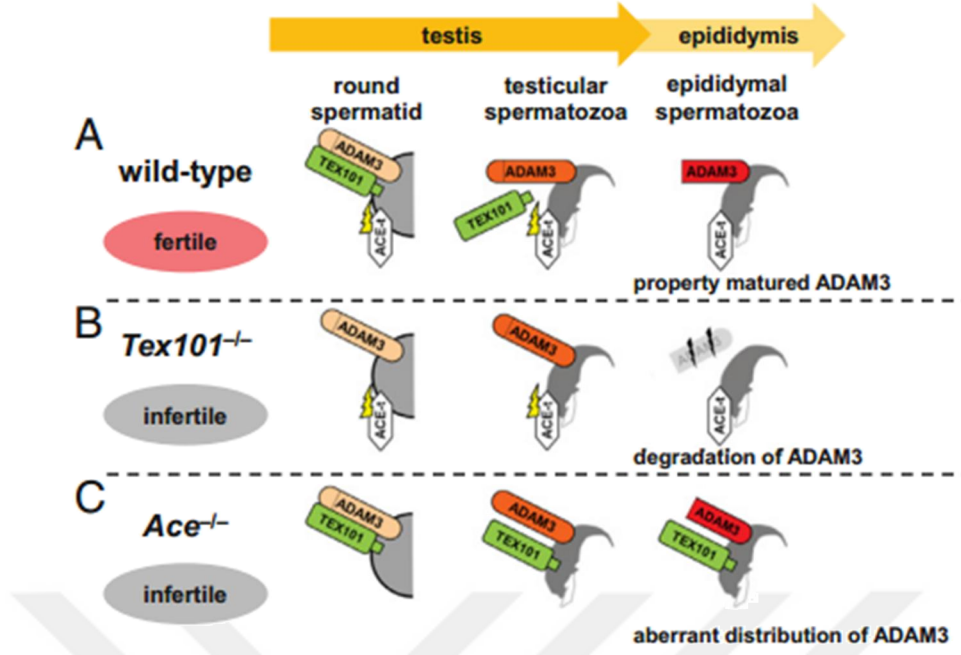
- (i) proteoliz ile sperm yüzey proteini çıkarılması,
- (ii) sperm yüzey proteini işleme ve olgunlaşması,
- (iii) zarın yüzeyindeki proteinlerin yeniden dağıtılması ve son olarak
- (iv) epididimal proteinlerin sperm içine geçici veya kalıcı membran entegrasyonudur (Dacheux ve ark 2012).

GPI ile bağlanmış proteinlerin, lipit sallarını adı verilen özel membran mikro bölgelerinin önemli bir bileşeni olduğu iyi bilinmektedir (Varma ve Mayor 1998). Lipit sallarında lokalize olduğu tespit edilen proteinler, spermatozoa ile oositin dış tabakası olan ZP'nin tanınmasında rol oynarlar (Pike 2006). Bazı proteinlerin sperm yüzeyinden dökülmesi sperm bağlama yeteneği için çok önemlidir ve iki olası mekanizm önerilir:

- i. GPI-ankorlanmış proteinler sperm membranından serbest bırakıldıktan sonra aktive edilir,
- ii. GPI-ankorlanmış proteinler Sperm-ZP bağlanmasını kolaylaştırmak için yarılmış olabilir (Kondoh ve ark 2005).

TEX-101, bu GPI ile bağlanmış proteinlerden biridir ve sperm yüzeyinden ayrılarak seminal sıvıya salınır. TEX-101'in epididimal sperm yüzeyinden enzimatik olarak döküldüğü kanıtlanmış olsa da (Takayama ve ark (2005 b)), bu sürece dahil olan enzim yakın zamana kadar bilinmemektedir.

Kondoh ve ark. (Kondoh ve ark 2005), bir başka GPI bağlı proteinin, testiküler anjiyotensin dönüştürücü enzimin (tACE), testiküler spermin hücre yüzeyinde de ifade edildiğini ve epididimal olgunlaşma sırasında sperm membranından döküldüğünü bildirmişlerdir. (Métayer ve ark 2002). Dahası, tACE'nin GPI ile bağlanmış proteinlerin sperm yüzeyinden katalize edilmesini ve fertilizasyon sırasında yumurta-sperm bağlanma yeteneğini etkilediğini rapor etmişlerdir. Bu iki bulgunun kombinasyonu, tACE'nin epididimal geçiş sırasında TEX-101'in salınmasından sorumlu olduğu varsayımına yol açmıştır. Kondoh'un tACE'nin yeni GPI-ase aktivitesi ile ilgili keşfi, ACE'nin iyi bilinen dipeptidaz aktivitesini öne sürerek, reproduksiyonda sperm olgunlaşması ve fertilizasyon için çok önemli olan GPI-ase aktivitesinin önemini sorgulayan birçok tartışma makalesinin yazılmasını sağlamıştır (Corvol 2005, Fuchs ve ark 2005, Leisle ve ark 2005, Mayor 2005). Birkaç yıl sonra, aynı grup (Watanabe ve Kondoh 2011), tACE'nin sperm-Zona Pellusida etkileşimi için gerekli olan GPI-ase ve dipeptidaz aktivitelerine (Corvol 2005, Fuchs ve ark 2005) sahip olduğu sonucuna varmıştır. Dipeptidaz aktivitesi epididimde (Deguchi ve ark 2007) gerçekleşir ve dipeptidaz eyleminin ürünü olan anjiyotensin II, epididimal sıvının pH homeostazını korur (Shum ve ark 2008). (Şekil 1.3.1)



Şekil 1.3.2.1.: Fare spermatogenez sürecinde spermatozoda TEX-101, ADAM3 ve ACE'nin rolleri (Fujihara ve ark 2013).

Sonuç olarak, ACE'nin dipeptidaz aktivitesi, epididimde (Watanabe ve Kondoh 2011) optimal bir pH'ı (6,5) muhafaza ederek GPI-ase aktivitesini dolaylı olarak desteklemektedir. Kalan diğer şüpheler Fujihara ve ark. (Fujihara ve ark 2013), TEX-101'in ACE tarafından epididimal spermden ayrıldığı *Ace*^{-/-} fare modeli ile giderilmiştir. TEX-101'in epididimal olgunlaşmasındaki başarısızlığın infertilite ile ilişkili olduğu in-vivo deneyler (*Ace*^{-/-} ve *TEX-101*^{-/-} fare modelleri) ile gösterilmiştir (Fujihara ve ark 2013, Li ve ark 2013).

2.GEREÇ ve YÖNTEM

Sunulan tez çalışması Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'nun 2018/103 sayılı kararınca gerçekleştirilmiştir. 18202024 proje numarası ile S.Ü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünce desteklenmiştir. Çalışmamızda Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tüp Bebek Ünitesi Androloji Laboratuvarına gelen bireylerden alınan semen numuneleri kullanılmış olup, gönüllüler 18-44 yaş aralığında erkek bireylerdir. Spermiyogram sonrasında biyoatık şeklinde atılmış olan ve numunesi yeterli miktarda olan gönüllü bireyler dâhil edilmiştir. Toplam 80 erkek gönüllü üzerinde yapılan çalışmada iki grup oluşturulmuştur. Grup 1 Normozoospermi olan 40 bireyden (n=40) , grup 2 ise Oligozoospermi olan 40 bireyden oluşmaktadır (n=40) . Spermiyogram için gelen kullanılan numunelerden biyoatık olarak arta kalan miktarlar üzerinden SPT_{rx} R 3 ve TEX101 düzeylerinin analizi ticari ELİSA test kiti ile gerçekleştirilmiştir. SPT_{rx} R 3 ve TEX101 düzeyleri analizleri Üniversitemiz bünyesindeki Biyokimya Araştırma Laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

2.1. Sperm Örneklerinin Toplanması, Muhafaza Edilmesi ve Spermiyogramın Değerlendirilmesi

2-6 gün koitus yasağı sonrasında hastanede mastürbasyon ile elde edilen sperm örneği özel steril plastik bir kaptaki toplandı. Likefaksiyon için 37 °C de 20 dakika inkübatörde bekletildikten sonra değerlendirilmeye başlandı.20 dk. İçerisinde likefaksiyon gerçekleşmediyse 15 dk. daha inkübatörde bekletildi. Sperm örneğinden sperm konsantrasyon, motilite ve progresif motilite, immotilite gibi fiziksel özellikler mikroskop altında WHO kriterlerine göre değerlendirildi. Daha sonra aynı numunelerin morfolojik değerlendirilmeleri yapıldı. Spermiyogram analizi sonuçları kaydedildi. Arta kalan biyoatık olarak tanımlanan semen numuneleri falcon tüplere alındıktan sonra 1000 rpm de 20 dk. a santrifüj edildi. Santrifüj sonrası numunelerin süpernatant kısımları ayrılarak ependorf tüplere ayrı ayrı ilave edildi. Ependorf tüpler daha sonra -80 °C'de analiz yapılıncaya kadar muhafaza edildi.

2.2.Semen Analizleri

Spermioyogram analizi numune alındıktan hemen sonra yapılmıştır. Arta kalan numunede biyokimyasal olarak SPTrxR-3 ile TEX-101 analizleri gerçekleştirilmiş olup, ayrıntıları aşağıda açıklanmaktadır.

2.2.1. SPERMİYOGRAM

Semen analizinin fiziksel parametreleri

- 1) **Koagülasyon:** Ejakülasyon sonrası semenin sıvı halden semisolid hale geçmesi koagülasyon olarak ifade edilir. Koagülasyon gerçekleşmediğinde seminal vezikül ve vas deferensin eksikliği düşünülebilir. (Du Plessis ve ark 2013)
- 2) **Likefaksiyon:** Koagüle halde olan semen yaklaşık 5-20 dakika arasında likefiye olur. Bu süreç prostattan yapılan proteolitik bir enzim olan fibrinolizin tarafından gerçekleştirilir. Bu nedenle likefaksiyon prostatın normal işlevinin bir göstergesidir.
- 3) **Viskosite:** Likefiye olan semen bir pipet yardımı ile damla yöntemi kullanılarak ölçülür. Damla yönteminde pipete çekilen semen damlatılarak oluşan iplikçiğin boyunun ölçülmesidir. Oluşan ipliğin boyu 20 mm'ye kadar normal, 20-40 mm arası hafifçe artmış, 40-80 mm arası oldukça artmış ve 80 mm üstü ise çok artmış olarak değerlendirilir. Viskozitenin artmış olması seminal vezikülde, genital traktusda veya prostatta olan bir enfeksiyonu gösterir.(Mikhailichenko ve Esipov 2005)
- 4) **Volüm:** 3-5 günlük cinsel yoksunluk sonrası 2-6 ml'dir.
- 5) **Renk:** Normalde gri opak renktedir. Fakat cinsel yoksunluk süresi artarsa rengi değişerek sarımsı bir renge dönüşür. Konsantrasyona bağlı olarak da renk değişir; konsantrasyon düşük olduğunda renk açık/sulu şekle döner, artarsa bulanıklık düzeyi artar.

6) **Koku:** Prostat sekresyonu olan sperminin oksidasyonu sonucu oluşan koku atkestanesi ağacı çiçeği kokusuna benzetilir. Kokunun normalden farklı olması enfeksiyon varlığını gösterir.

7) **pH :** 7.2-7.8 arasında olan değerler normal olarak kabul edilir.(Cooper ve ark 2010)

Mikroskopik İnceleme

Makroskopik incelemenin tamamlanmasından sonra, mikroskop ve Makler sayım kamarası kullanılarak sperm konsantrasyonu, hareket özellikleri, sperm dışı hücreler, agregasyon veya aglütinasyon varlığı açısından değerlendirmek amacıyla mikroskopik değerlendirme yapılır.

1. **Sperm agregasyonu:** Mukus iplikleri gibi hareketsiz spermlerin birbirleri ile ortamdaki debris materyali ile veya sperm dışı hücreler ile yapışmasıyla gözlenebilir.
2. **Sperm aglütinasyonu:** Hareketli spermlerin birbirine kuyruk-kuyruk, baş-baş veya karışık olarak yapışık şekilde bir arada bulunmasıdır.
3. **Sperm konsantrasyonu:** Sayım Makler sayım kamarası ile yapıldığında 10 tane orta boy karedeki toplam sperm sayısı milyon/ml olarak kaydedilir. Aynı sayım 10 farklı karede 4 kez tekrarlanır ve bulunan değerlerin ortalaması alınır. Normal bir semende alt referans değeri $15 \times 10^6/\text{ml}$ 'dir
4. **Total sperm sayısı :** Tüm semendeki toplam sperm sayısıdır ve alt referans değeri $39 \times 10^6/\text{ml}$ 'dir. Sperm konsantrasyonunun total hacim ile çarpımından elde edilir.
5. **Sperm Motilitesi**

Sperm motilitesi; total sperm popülasyonunda bulunan hareketli olan spermlerin yüzde olarak ifadesidir. İleri hareket değişken bir ölçüm sisteminde değerlendirilir (0-4 arasında derecelendirme). Hızlı hareket eden yüzde (3-4. Derece), yavaş (2.derece), progresif olmayan (0-1. Derece). Total progresif sperm hareketi genellikle amaçlı ileri hareket eden spermleri kapsar (derece 2-4). Motilitenin %60'a yaklaşması ile konsepsiyonun görülme olasılığı artar. ABD'de yapılan büyük bir çalışma sonucuna göre motilitenin %32 altına düştüğü bireylerde; erkek infertilitesinde yaklaşık 5 kat artma görülmüştür (Guzick ve ark 2001).

Progresif motilite için günümüzde WHO tarafından önerilen alt limit %32'dir (Cooper ve ark 2010).

- a. **İleri hareketli (Progresif Motilite; PR):** Hızdan bağımsız olarak doğrusal bir daire içinde aktif hareket eden spermatozoa olarak ifade edilir.
- b. **Yerinde hareketli (Nonprogresif Motilite; NP) :** İleriye doğru hareketin olmadığı ya da ileriye herhangi başka bir yöne doğru hareketin olmadığı kalıplar. Örneğin; küçük daireler halinde yüzme, başı yerinden güçlkle oynatan kamçısıl hareket veya yalnızca kuyruğun kamçısıl hareketi gözlenebilir.
- c. **Hareketsizlik (İmmotilite; IM):** Hareketin olmadığı spermatozoa olarak ifade edilir.

Tablo 2.2.1.1. Seminal sıvıyı oluşturan sekresyonların yüzde olarak dağılımı (Cooper ve ark 2010).

Sekresyon yeri	Ejakulat (%)
Testisler	5
Seminal Vezikül	45-80
Prostat	13-33
Bulboüretal bez	2-5

Tablo 2.2.1.2. Semen değişkenleri için terminoloji (WHO)

Normozoospermi Volüm >2ml pH 7,2-8,0 Sperm Sayısı > 15 milyon/ml Motilite (+4)+(+) >%50 veya +4 >%25 Morfoloji >%4 Canlılık >%75 WBC <1milyon/ml
Asthenozoospermi Motilite yüzdesi (+4)+(+) %50'den veya +4 %25'den düşük
Teratozoospermi Morfoloji yüzdesi %30 (WHO Kriterlerine göre) veya %4 (Kruger Strict Kriterlere göre)'den düşük
Oligoasthenoteratozoospermi Her üç değişkende bir arada bulunmaktadır.
Azoospermi Ejakülatta hiç spermatozoa bulunamaması
Aspermi Ejakulat elde edilememesi

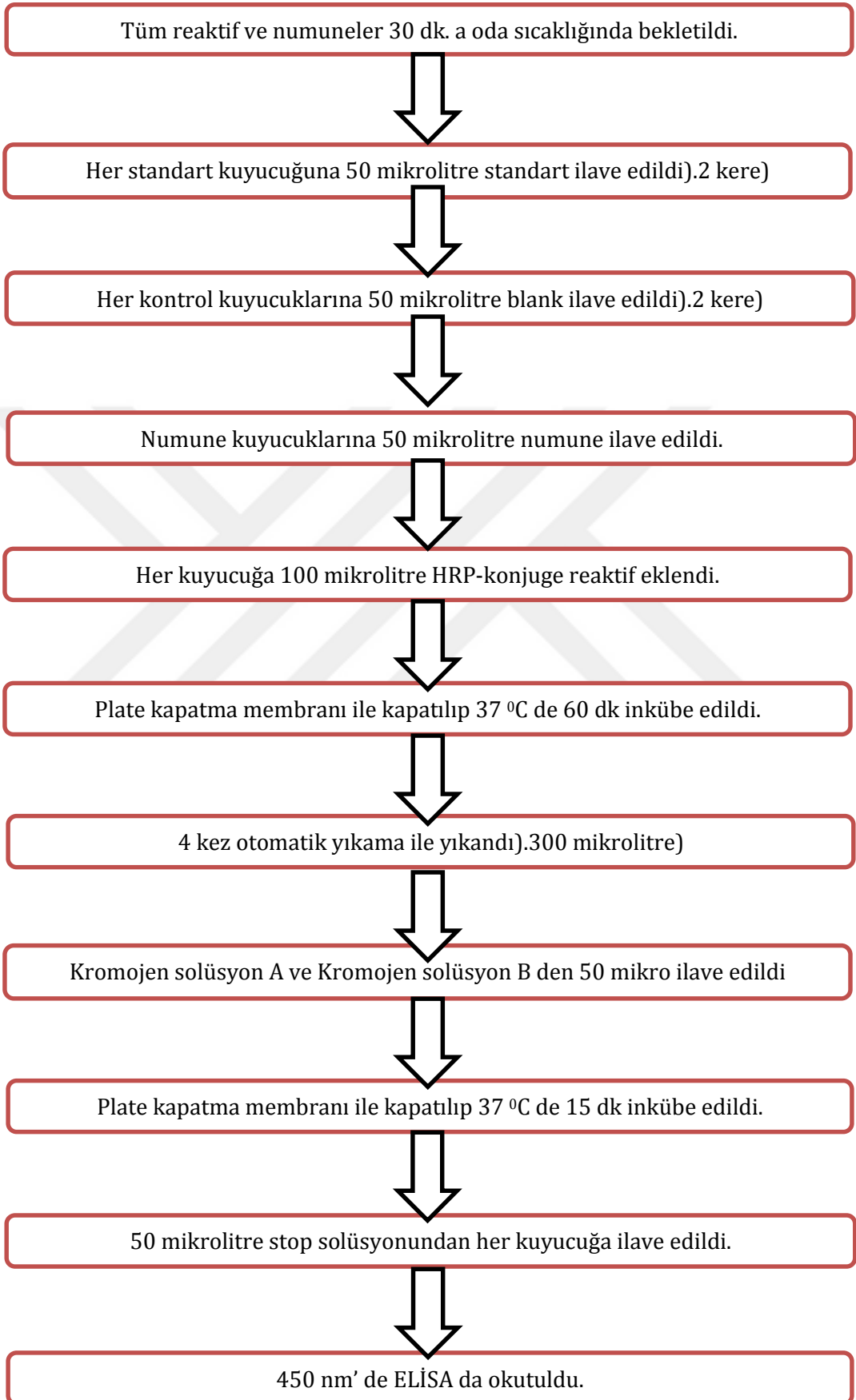
2.3. Biyokimyasal Analizler

2.3.1. Semen de Sperm spesifik Tioredoksin Redüktaz-3 (SPTrxR3) Analizi

Analiz, mybiosource marka, MBS9341730 katalog numaralı Elisa test kiti ile gerçekleştirilmiş olup ,kitin duyarlılığı 0.1 ng / ml'dir. Kitin referans aralığı ise 0.25 ng / ml - 8 ng / ml'dir. Elisa analizinde; Elisa yıkayıcı olarak Rayto microplate washer (RT-2600 Çin) ile Elisa okuyucu BMG LABTECH (Almanya) kullanıldı. Analizler için aşağıdaki solüsyonlar kit prosedürüne uygun olarak hazırlandı.

SPTrxR3 yıkama solüsyonu :1 20 oranında yıkama solüsyonu deiyonize su ile seyreltilerek hazırlandı. Standart olarak;sırasıyla 0,25 ng/ml, 0,5 ng/ml, 1 ng/ml, 2 ng/ml, 4 ng/ml, 8 ng/ml olmak üzere 6 standart kullanılarak grafik çizildi.

SPTrxR-3 Test Prosedürü



2.3.2. Semen de Testis - İfade Protein 101 (TEX-101) Analizi

Analiz, Mybiosource marka MBS7606254 katalog numaralı test kiti ile gerçekleştirilmiş olup ,kitin duyarlılığı <0.188 ng / ml'dir. Elisa analizinde ; elisa yıkayıcı olarak Rayto microplate washer (RT-2600, Çin) ile Elisa okuyucu BMG LABTECH (Almanya) kullanıldı. Analizler için aşağıdaki solüsyonlar kit prosedürüne uygun olarak hazırlandı. Semen analiz sonuçları ng/ml birimi olarak hesaplandı.

Standart hazırlanması

1)Standart solüsyondan 20 ng/ml Standart bir tüp içerisine 1 ml numune/ Standart seyreltme tamponundan eklenip, oda sıcaklığında 10 dk a bekletilip hazırlandı.

2)10 ng/ml 0,313 ng/ml standart çözeltiler epondorf tüpler; sırasıyla birden yediye kadar numaralandırıldı. Sırasıyla tüplere 10 ng/ml,5ng/ml, 2.5 ng /ml, 1.25 ng/ml, 0.625 ng/ml, 0.313 ng/ml etiketleri yapıştırıldı. Her tüpe 0.3 ml örnek/standart seyreltme tamponu eklendi.

3) Birinci tüpe 20 ng/ml standart çözeltiden 0.3 ml eklenip karıştırıldı.

İkinci tüpe birinci tüpten 0.3 ml eklenip ve iyice karıştırılır. Sırasıyla aynı işlemler diğer epondorf tüplere uygulanıp iyice karıştırıldı.

Biyotin etiketli antikor çalışma solüsyonunun hazırlanması

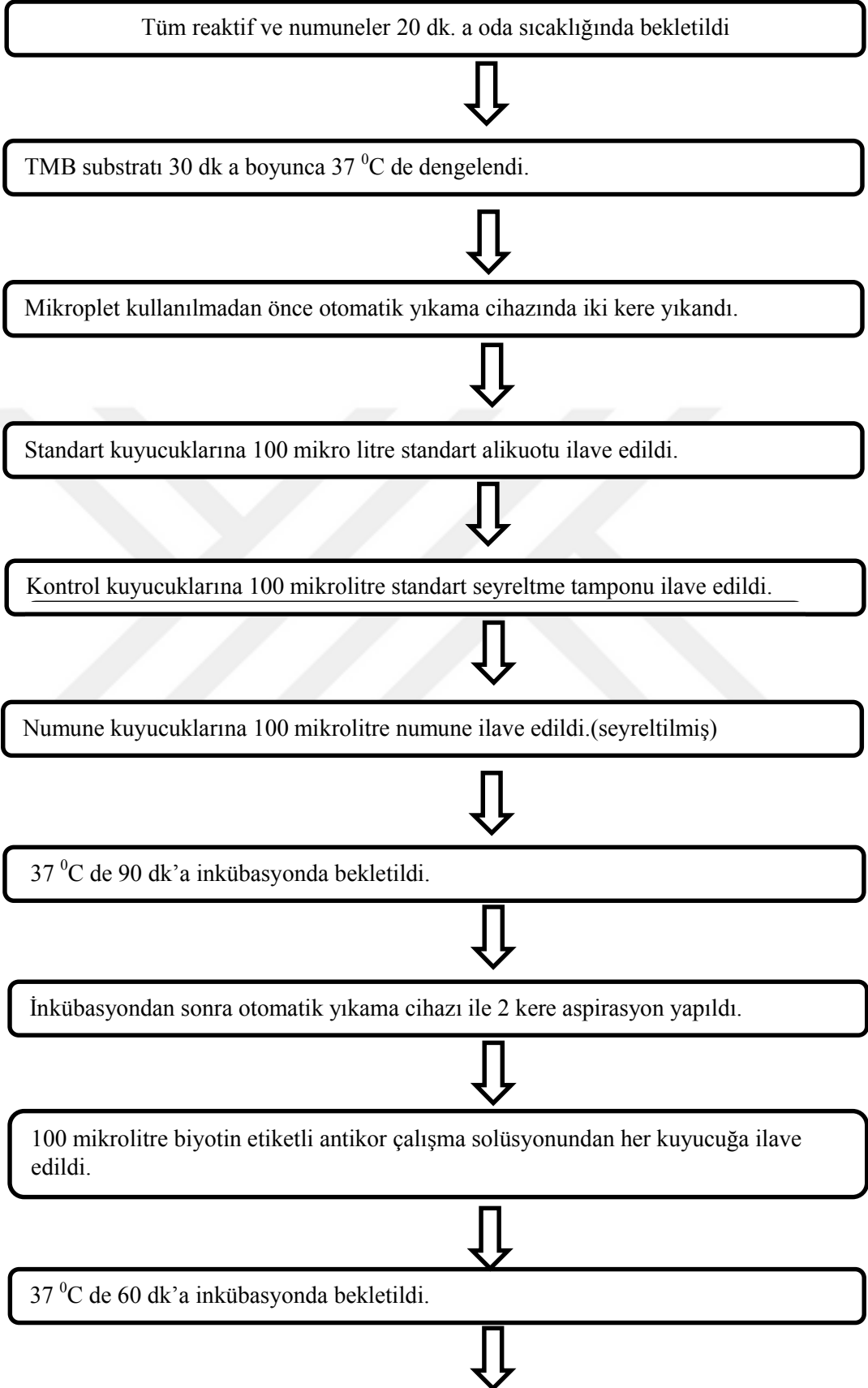
Kullanılmadan bir saat önce Biyotin etiketli antikor çalışma solüsyonu hazırlandı.1 mikrolitre antibody den ilave edilirken, 99 mikrolitre seyreltme tamponu ilave edilerek hazırlandı (gerekli miktar hesaplanıp bir mililitre fazlası hazırlandı.)

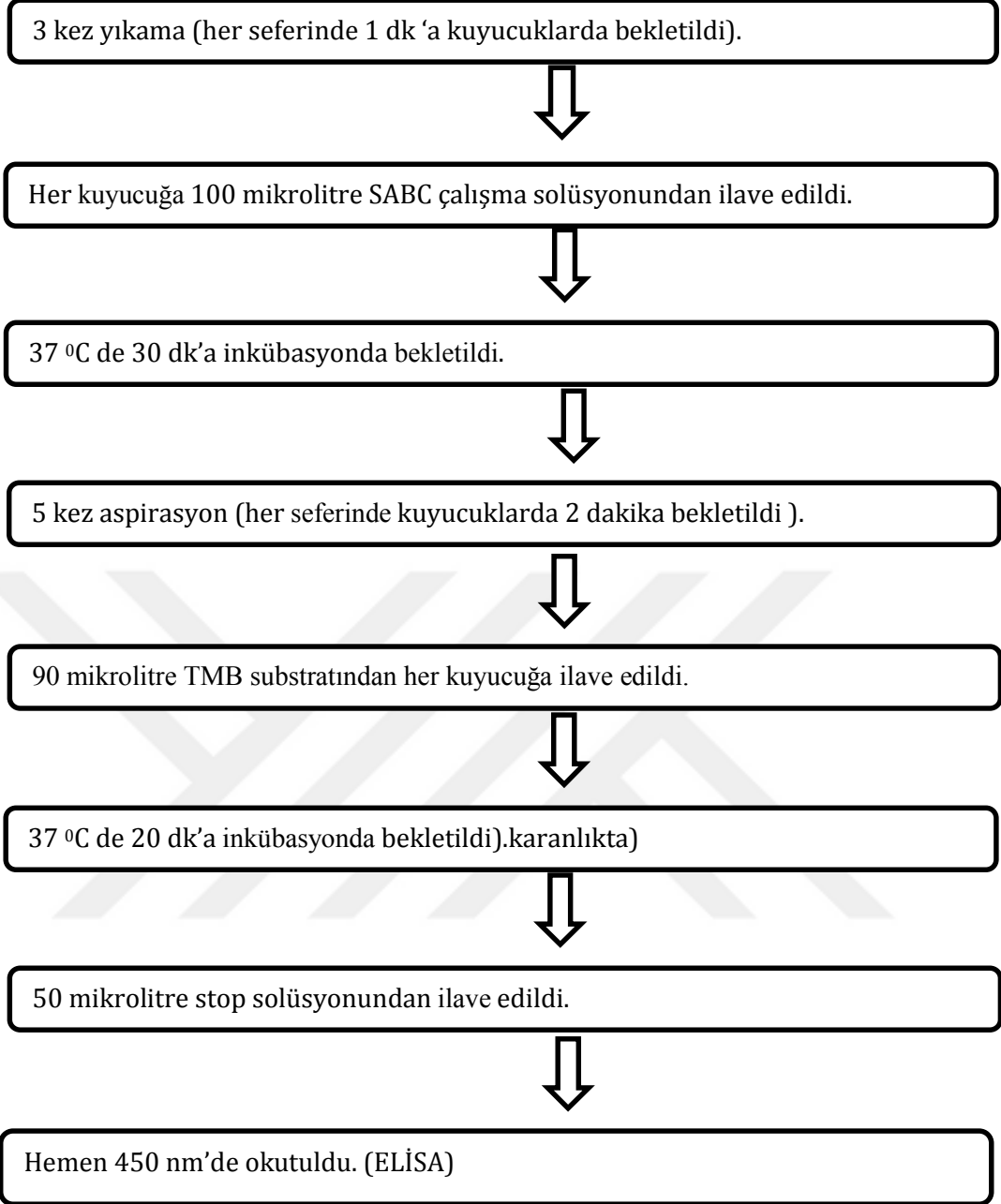
HRP-Streptavidin Konjugat (SABC)Çalışma Solüsyonunun Hazırlanması

SABC kullanılmadan yarım saat içinde hazırlandı.1 mikrolitre antibody ile 99 mikrolitre seyreltme tamponu ilave edilip vortex de iyice karıştırılarak hazırlandı.

Yıkama Tamponunun Hazırlanması:30 ml konsantre yıkama tamponu deiyonize su ile 750 ml seyreltilerek hazırlandı.

TEX - 101 Test Prosedürü





2.4. İstatiksel Değerlendirilmesi

İstatistiksel analiz Statistical Package for the Social Sciences (20.0 Veri Analizi SPSS) programı kullanılarak yapıldı. Karşılaştırma yapmak üzere Shapiro-Wilk testi kullanılmış olup, normal dağılıma uyup uymadığı kontrol edildi. Shapiro – Wilk testi sonucuna göre p değeri 0,05 den büyük olanlara Independent t testi; p değeri 0,05 den küçük sonuç gösterenlere ise Mann Whitney U Testi uygulandı. Bu testlerin sonuçlarına göre $p > 0,05$ den büyük sonuç gösterenler de istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı gözlemlenmişken, $p < 0,05$ olanlarda ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu gözlenmiştir. Korelasyon derecesinin değerlendirilmesinde, Shapiro- Wilk testi ile normal dağılıma uyup uymadığı kontrol edilmiştir. Shapiro – Wilk testi sonucuna göre p değeri 0,05 den büyük olanlara pearson korelasyon katsayısı kullanılırken p değeri 0,05 den küçük olanlara ise spearman'ın korelasyon katsayısı kullanılmıştır.

3. BULGULAR

Çalışmamızda oluşturulan gruplara ait spermiyogram sonuçları tablolarda belirtilmektedir. Tablo 3.1 deki veriler WHO kriterlerine göre; bu grupta yer alan kişiler Normozoospermisi olan bireylerine aittir ve grup 1 de yer alan bireylerin yaş ortalamaları $31,63 \pm 2,15$ yıldır.

Grup 1 Normozoospermisi olan 40 bireyden (n=40) , grup 2 ise Oligozoospermisi olan 40 bireyden oluşmaktadır (n=40) .

Tablo 3.1. Normozoospermisi grubundaki semen parametreleri (n=40)

Semen Parametreleri	Normozoospermisi
Yaş	$31,63 \pm 2,15$
PH	$7,62 \pm 0,05$
Volüme (ml)	$3,73 \pm 0,45$
Konsantrasyon (Mlyn /ml)	$53,80 \pm 6,81$
Total Sayı (Mlyn)	$195,76 \pm 30,74$
Motilite	$70,48 \pm 4,31$
Progresif Motilite	$56,63 \pm 4,49$
Non Progresif Motilite	$14,21 \pm 1,36$
İmmotilite	$29,53 \pm 4,31$
TPMSS (Milyon)	$118,07 \pm 20,83$
Normal Sperm	$2,25 \pm 0,21$
Baş Anomalisi	$88,60 \pm 0,59$
Amorf Baş	$76,93 \pm 1,13$
Büyük Baş	$4,35 \pm 0,72$
Küçük Baş	$2,33 \pm 0,51$
Uzun Baş	$4,03 \pm 0,91$
Multiple Baş	$0,98 \pm 0,55$
Boyun Veya Kuyruk Anomalili Spermiler	$9,08 \pm 0,55$
Boyun- Orta Kısım Anomalisi.	$12,53 \pm 0,76$
Kuyruk Anomalisi	$14,18 \pm 1,08$
Çift Kuyruk	$1,35 \pm 0,37$
Tail Stump (Şiddetli Kuyruk Defekti)	$0,38 \pm 0,19$
Dag Defekt	$6,25 \pm 0,78$
Uzun Kuyruk	$0,35 \pm 0,21$
Kısa Kuyruk	$5,90 \pm 0,55$
Teratozoospermisi İndeksi	$1,27 \pm 0,015$

Tablo 3.2 deki veriler WHO kriterlerine göre; bu grupta yer alan kişiler Oligozoospermisi olan bireylerine aittir ve grup 2 de yer alan bireylerin yaş ortalamaları $29,33 \pm 1,65$ yıldır.

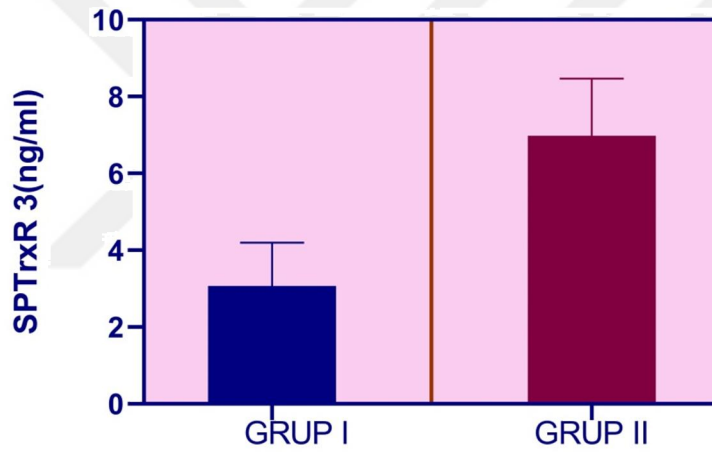
Tablo 3.2. Oligozoospermi grubundaki semen parametreleri; (n=40)

Semen Parametreleri	Oligozoospermi
Yaş	$29,33 \pm 1,65$
PH	$7,60 \pm 0,10$
Volüme(ml)	$4,35 \pm 0,47$
Konsantrasyon (Milyon/Ml)	$4,47 \pm 1,17$
Total Sayı (Milyon)	$19,68 \pm 5,59$
Motilite	$57,30 \pm 5,65$
Progresif Motilite	$39,05 \pm 5,12$
Non Progresif Motilite	$18,25 \pm 2,52$
İmmotilite	$43,20 \pm 5,88$
TPMSS (Milyon)	$8,45 \pm 2,89$
Normal Sperm	$1,38 \pm 0,16$
Baş Anomalisi	$91,00 \pm 0,50$
Amorf Baş	$79,25 \pm 1,40$
Büyük Baş	$5,50 \pm 1,49$
Küçük Baş	$2,13 \pm 0,56$
Uzun Baş	$3,63 \pm 0,74$
Multiple Baş	$0,50 \pm 0,23$
Boyun Veya Kuyruk Anomalili Spermiler	$7,63 \pm 0,40$
Boyun- Orta Kısım Anomalisi.	$16,88 \pm 1,01$
Kuyruk Anomalisi	$13,75 \pm 0,87$
Çift Kuyruk	$1,13 \pm 0,48$
Tail Stump (Şiddetli Kuyruk Defekti)	$0,38 \pm 0,23$
Dag Defekt	$6,38 \pm 0,76$
Uzun Kuyruk	$0,43 \pm 0,24$
Kısa Kuyruk	$5,50 \pm 0,47$
Teratozoospermi İndeksi	$1,31 \pm 0,01$

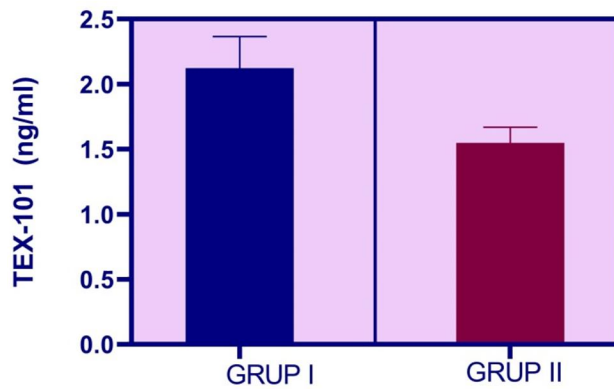
Tablo 3.3. Grupların TEX-101 ve SPTrxR-3 Değerleri

Gruplar	TEX 101(ng/ml)	SPTrxR-3(ng/ml)
Grup 1 (Normozoospermi)	2,12±0,08	3,07±0,35
Grup 2 (oligozoospermi)	1,55±0,04	6,98±0,46

Yukarıdaki tabloda ifade edildiği üzere, SPTrxR-3 konsantrasyonu Oligozoospermik bireylerde ($6,98 \pm 0,46$ ng/ml) Normozoospermik bireylere ($3,07 \pm 0,35$ ng/ml) göre önemli düzeyde yüksektir. (şekil 3.1). Diğer taraftan Normozoospermik bireylerde TEX -101 düzeyi ($2,12 \pm 0,08$ ng/ml) Oligozoospermik ($1,55 \pm 0,04$ ng/ml) bireylere göre anlamlı düzeyde yüksektir. ($p = 0,000$) (şekil 3.2)



Şekil 3.1.: Grup I ve Grup II de SPTRxR3 Konsantrasyon Grafikleri



Şekil 3.2: Grup I ve Grup II de TEX-101 Konsantrasyon Grafikleri

Aşağıdaki tabloda Norrmozoospermi ve Oligozoospermi gruplarının semen parametreleri ile TEX-101 protein düzeyleri arasındaki anlamlılık düzeyleri ve korelasyon katsayıları verilmiştir.

Tablo 3.4 de görüldüğü gibi normozoospermik bireylerde semen parametrelerinden özellikle küçük baş ve normal sperm kısmında; oligozoospermik bireylerinde de dag defekt, kuyruk anamolisi, amorf baş ve kısa kuyruk ile TEX-101 düzeylerinin arasında pozitif ancak önemsiz ilişki bulunmuştur. ($p > 0,05$).

Tabloda belirtildiği üzere Grup I'in semen parametreleri ile TEX-101 düzeyleri arasındaki ilişkileri incelediğimizde; semen volüme, konsantrasyon, total sayı, motilite, progresif motilite, non progresif motilite, immotilite, tpmss, baş anomali., amorf baş, büyük baş, multiple baş, boyun veya kuyruk anomali, boyun orta anomali, kuyruk anomali, çift kuyruk, tail stump, dag defekt, uzun kuyruk, kısa kuyruk, teratozostermi indeksi gibi semen parametreleri bakımından ($r > 0$) aralarında doğrusal önemli bir ilişki olduğu söylenebilir.

Tabloya göre grup II'nin semen parametreleri ve TEX-101 düzeyleri açısından karşılaştırdığımızda bulduğumuz sonuçlar ise; semen volüme, konsantrasyon, total sayı, motilite, normal, progresif motilite, non progresif motilite, immotilite, tpmss, normal sperm, baş anomali, büyük baş, küçük baş, multiple baş, boyun veya kuyruk anomali, boyun orta anomali, çift kuyruk, tail stump, uzun kuyruk, teratozostermi indeksi gibi semen parametreleri ile ($r > 0$) önemli doğrusal bir ilişki var olduğunu göstermektedir.

Tablo 3.4. Normozoospermi ve Oligozoospermi li grupların TEX-101 düzeyleri ile semen parametreleri arasındaki korelasyon ve anlamlılık düzeyleri

	Normozoospermi (r)	Oligozoospermi(r)
Semen Parametreleri	TEX-101(ng/ml)	TEX-101(ng/ml)
Volüme(Ml)	0,134***	0,700***
Konsantrasyon (Milyon/ml)	0,091***	0,541***
Total Sayı (Milyon)	0,814***	0,600***
Motilite	0,980***	0,092***
Progresif Motilite	0,955***	0,191***
Non Progresif Motilite	0,871***	0,527***
İmmotilite	0,980***	0,088***
Tpmss (Milyon)	0,707***	0,988***
Normal Sperm	0,656*	0,714***
Baş Anomalisi.	0,922***	0,862***
Amorf Baş	0,591***	0,609*
Büyük Baş	0,544***	0,965***
Küçük Baş	0,630*	0,061***
Uzun Baş	0,553***	0,234***
Multiple Baş	0,475***	0,596***
Boyun Veya Kuyruk Anomalisi	0,857***	0,660***
Boyun Orta Anomalisi	0,818***	0,938***
Kuyruk Anomalisi.	0,190***	0,716*
Çift Kuyruk (Şiddetli Kuyruk Defekti)	0,513***	0,263***
Tail Stump	0,088***	0,655***
Dag Defekt	0,357***	0,788*
Uzun Kuyruk	0,035***	0,619***
Kısa Kuyruk	0,745***	0,648*
Teratozoospermi İndeksi	0,433***	0,974***

*** p = 0,000 , * p > 0,05 olduğunu göstermektedir. p > 0,05 den büyük olanlarda anlamsal farklılık olmadığı kabul edilmiştir.

Aşağıdaki tabloda Normozoospermi ve Oligozoospermi gruplarının semen parametreleri ile SPTx 3 protein düzeyleri arasındaki anlamlılık düzeyleri ve korelasyon katsayıları verilmiştir

Tablo 3.5. Normozoospermi ve Oligozoospermili grupların SPTRX 3 düzeyleri ile semen parametreleri arasındaki korelasyon ve anlamlılık düzeyleri

	Normozoospermi (r)	Oligozoospermi(r)
Semen Parametreleri	SPTRX-3 (ng/ml)	SPTRX-3 (ng/ml)
Volüme(ml)	0,527***	0,853***
Konsantrasyon(Milyon/MI)	0,838***	0,293***
Total Sayı (Milyon)	0,402***	0,316***
Motilite	0,705***	0,923***
Progresif Motilite	0,744***	0,661***
Non Progresif Motilite	0,607***	0,454***
İmmotilite	0,705***	0,918***
TPMSS(Milyon)	0,806***	0,359*
Normal Sperm	0,317****	0,519***
Baş Anomalisi.	0,898***	0,672***
Amorf Baş	0,219***	0,804*
Büyük Baş	0,331***	0,679***
Küçük Baş	0,412***	0,210***
Uzun Baş	0,964*	0,500***
Multiple Baş	0,761***	0,050***
Boyun Veya Kuyruk Anomalisi	0,304***	0,433***
Boyun Orta Anomalisi	0,909***	0,980***
Kuyruk Anomalisi.	0,784***	0,920*
Çift Kuyruk (Şiddetli Kuyruk Defekti)	0,559***	0,951***
Tail Stump	0,823***	0,674***
Dag Defekt	0,295***	0,716***
Uzun Kuyruk	0,408***	0,676***
Kısa Kuyruk	0,069***	0,692***
Teratozosperti İndeksi	0,535***	0,807***

*** p = 0,000 , * p > 0,05 , olduğunu göstermektedir. p > 0,05 den büyük olanlarda anlamsal farklılık olmadığı kabul edilmiştir.

Tablo 3.5 de görüldüğü gibi normozoospermi grubunda bulunan bireylerin semen parametrelerinde; uzun baş anomalisi olanlarda ve oligozoospermi grubunda bulunan infertil bireylerin de TPMSS, kuyruk anamolisi ve amorf baş anomalisi bulunan bireylerin, SPTrxR-3 düzeyleri ile olan korelasyonları istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır.

Bu tabloya göre grup I'in semen parametreleri ve SPTrxR3 düzeyleri açısından karşılaştırdığımızda bulduğumuz sonuçlar şöyledir; volüme, konsantrasyon, total sayı, motilite, progresif motilite, non progresif motilite, immotilite, tpmss, normal sperm, baş anomalisi., amorf baş, büyük baş, küçük baş, multiple baş, boyun veya kuyruk anomalisi, boyun orta anomalisi, kuyruk anomalisi, çift kuyruk, tail stump, dag defekt, uzun kuyruk, kısa kuyruk, teratozosperti indeksi gibi semen parametreleri açısından Grup I de $r > 0$ olduğundan bu parametreler ile SPTrxR3 düzeyleri arasında doğrusal ve önemli bir ilişki vardır.

Grup II nin volüme , konsantrasyon, total sayı, motilite, progresif motilite, non progresif motilite, immotilite, normal sperm, amorf baş, büyük baş, küçük baş, uzun baş, multiple baş, boyun veya kuyruk anomalisi, boyun orta anomalisi, çift kuyruk, tail stump, dag defekt, uzun kuyruk, kısa kuyruk, teratozosperti indeksi ve SPTrxR3 konsantrasyon düzeylerini karşılaştırdığımızda ise yine önemli korelasyon tespit edilmiştir.

Tablo 3.6. Normozoospermi ve oligozoospermi li gruplarının TEX-101 ve SPTrxR3 parametrelerinin korelasyon katsayısı

	Normozoospermi ve Oligozoospermi (r)
TEX 101	0,837***
SPTRXR3	0,768***

*** $p = 0,000$, olduğunu göstermektedir.

Tablo 3.6 da görüldüğü üzere $p < 0,05$ olduğundan dolayı normozoospermi ve oligozoospermi gruplarının arasında anlamlı düzeyde farklılık gözlenmiştir.

4.TARTIŞMA

Sunulan tez çalışması ile açıklanamayan infertil erkek bireylerde etkili olabileceği düşünülen tanımlanmış proteinlerden TEX-101 ve SPTrxR-3 düzeyleri analiz edilmiştir. Çalışmamız, Normozoospermi ve Oligozoospermili bireylerin seminal plazmada TEX-101 ve SPTrxR-3 düzeylerini tespit eden ilk çalışmadır. Spermatogenez ve fertilizasyondaki önemli rolleri olduğunu düşündüğümüz bu iki proteinin, idiopatik erkek infertilitesinde yeni potansiyel biyobelirteç olabileceğini düşünmekteyiz.

Bilindiği üzere, genler, mRNA, mikro RNA, proteinler, metabolitler veya bunların kombinasyonu gibi farklı tiplerde moleküller, biyobelirteçler olarak kullanılmaktadırlar (Boschetti ve ark 2012). Son zamanlarda, proteomikteki ilerlemeler seminal plazmada erkek infertilitesinde yeni biyobelirteçlerin arayışına teşvik etmiştir. Seminal plazmanın veya spermatozoanın proteomik analizi, bir proteinin varlığı, bolluğu ve translasyon sonrası modifikasyonları hakkında bilgi sağlayabilmektedir (Kovac ve ark 2013) .

Bugüne kadar, germ hücrelerinde ifade edildiği bilinen genlerin ve proteinlerin listesi hızla çoğalmakta ve spesifik ekspresyon sergileyen bazı moleküllerin spermatogenezde önemli rol oynadığına düşünülmektedir (Schrans-Stassen ve ark 2001, Zhang ve ark 2001, Lipkin ve ark 2002, Mendoza-Lujambio ve ark 2002, Tanaka ve ark 2003, Hamer ve ark 2004). Genel olarak protein molekülleri, diğer proteinlerle etkileşimleri yoluyla fizyolojik eylemlerini gerçekleştirirler (Pawson ve Nash 2003). Proteinler arasında var olan işlevsel ve fiziksel ağların aydınlatılması, işlevlerini ve düzenleyici mekanizmalarını anlamada temel öneme sahiptir (Natsume ve ark 2002, Pawson ve Nash 2003). Gelişmekte olan proteomik alanı, protein-protein etkileşimlerinin fonksiyonel çalışmaları için güçlü araçlar sağlamıştır (Natsume ve ark 2002). Erkek infertilitesini teşhis etmenin en yaygın yolu olan semen analizi, seminal sıvının makroskopik (koagülasyon, renk, viskozite, pH ve hacim) ve mikroskopik (sperm sayısı, konsantrasyon, motilite,

morfoloji ve canlılık) parametrelerinin incelenmesini içermektedir (Turek 2012). Standart olarak yapılan semen analizleri, spermin fertilizasyon kapasitesini göstermede spesifik değildir ve hatta bazen standart semen analizi, bireylerin fertil - infertil ayırımında yetersiz kalabilmektedir (Siu ve Cheng 2004). Seminal plazmanın kompozisyonu çevresel faktörlerden, enfeksiyonlardan ve diğer patolojilerden etkilenebileceğinden, semen analizi sonuçları sıklıkla ya normal ya da belirsizdir ve sonuçta kesin olmayan tanıya yol açar (Guzick ve ark 2001). Bu olgularda hastalara idiyopatik infertilite tanısı konulur ve spesifik tedavi sağlanamaz (De Kretser ve Baker 1999).

Erkek faktörünün infertiliteye etkisi, erkek sağlığındaki önemine rağmen geleneksel olarak gözden kaçırılmıştır. Ancak, son on yılda, bu konu artan ilgiyle önemi artmış ve erkek infertilitesinin biyokimyasal yolları konusunda kayda değer bir ilerleme olmuştur. TEX101, LDHC ve ECM1 gibi bazı testis spesifik proteinler, erkek infertilitesinde anahtar biyobelirteçleri olarak tanımlanmıştır (Drabovich ve ark 2011). Diğer taraftan, üreme sisteminin hücresel ve moleküler mekanizmaları ve bunların klinik sonuç üzerindeki etkileri, erkek üreme sisteminin karmaşıklığı sebebiyle hala tam olarak anlaşılamamıştır.

TEX-101 rolüyle ait çalışma verileri, gerek erkek gerekse dişi üreme sisteminde diğer moleküllerle etkileşimleri doğrulanmalısının yapılması zorunluluğunu göstermektedir. TEX-101 ve ECM1, azospermi formlarının non-invaziv ayırıcı tanısı için bir algoritma (OA'ya karşı NOA) geliştirmek için kullanılmıştır (Drabovich ve ark 2013).

İlginçtir ki, Kondoh ve ark. (Kondoh ve ark 2005), bir başka GPI bağlı proteinin, testiküler anjiyotensin dönüştürücü enzimin (tACE), testiküler spermin hücre yüzeyinde de ifade edildiğini ve epididimal olgunlaşma sırasında sperm membranında olduğunu göstermiştir (Métayer ve ark 2002). tACE, GPI ile bağlanmış proteinlerin sperm yüzeyinden katalize edilmesini ve dölleme sırasında yumurta-sperm bağlanma yeteneğini etkilediği tespit edilmiştir. Bu iki bulgunun

kombinasyonu, tAP'nin epididimal geçiş sırasında TEX-101'in salınmasından sorumlu olduğu varsayımına yol açmıştır. Kondoh ve ark.'nın tACE'nin yeni GPI-a-aktivitesi ile ilgili keşfi ile birlikte, daha sonraki yıllarda ACE'nin iyi bilinen dipeptidaz aktivitesiyle spermin olgunlaşması ve fertilizasyon için GPI-az aktivitesinin onemini sorgulayan birçok tartışma makalesi (Corvol 2005, Fuchs ve ark 2005, Leisle ve ark 2005, Mayor 2005) yazılmıştır. Birkaç yıl sonra, aynı grup bir diğer çalışmalarında (Watanabe ve Kondoh 2011), tACE'nin sperm-Zona Pellusida etkileşimi için gerekli olan GPI-ase ve dipeptidaz aktivitelerine (Fuchs ve ark 2005, Kondoh ve ark 2005) sahip olduğu sonucuna varmıştır. TEX-101'in uPA / uPAR kompleksine bağlanabileceğini ve uPA aktivitesinde rolleri olduğunu kanıtlamışlardır. UPA sisteminin, serin proteaz aktivitesi dışında, sinyal transdüksiyonuna dâhil olduğu bilinmektedir ve Ca^{+2} mobilizasyonu ile ilişkilidir (Chen ve ark 2013). Son zamanlarda Mondejar ve ark. (Mondéjar ve ark 2012), uPA sistem bileşenleri tarafından fertilizasyonun düzenlenmesini gözden geçirmiştir. Plazminojen / plazmin sisteminin sperm motilitesi ve AR'ye karıştığını ve işlev bozukluğunun insanlarda infertiliteye yol açtığını bildirmişlerdir.

Lin ve ark (2013) , TEX-101^{-/-} fare dişi genital yolu yüzeyindeki özelliklerini tanımladılar. Tex101^{-/-} fare kauda epididimal sperminde dört ADAM proteininin (ADAM3, ADAM4, ADAM5, ve ADAM6) kaybını tespit ederek, sadece ADAM3'n değil, aynı zamanda diğer ADAM protein ailesi üyelerinin de sperm fonksiyonlarında önemli bir rol oynayabileceğini gösterdiler (Li ve ark 2013). Bununla birlikte, TEX-101^{-/-} sperm, yardımcı üreme yoluyla hem in vivo hem de in vitro olarak oositleri dlleyebildiği de tespit edilmiştir. TEX-101'in ultrastrüktürel düzeyde lokalize edilmesi ve memeli fertilizasyonunda TEX-101'in fzyolojik rolünün uyumsuzluğunun giderilmesi için ilave çalışmalara ihtiyaç olduğunu vurgulayan çalışmalar da mevcuttur (Nagdas ve ark 2014).

Testis İfade Gen- 101 (Tex- 101, TEX-101) 'in, sperm plazma membranı üzerinde bir disintegrin ve metallopeptidaz domen 3 (ADAM3) eksikliği ile normal görünüşlü ancak fertilizasyon-yetersiz spermatozoa ürettiği Fujihara ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. TEX-101'in germ hücrelerinin GPI bağlantılı proteinler ile

rollerini incelemek için TEX-101 defektli bir fare grubu üretilmiş ve erkek fertilitesi üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak, TEX-101'in olgun spermatozoada bulunmadığını, ancak spermiyogenezde fertil spermatozoa oluşumunda esas faktör olarak gerekli olduğunu gösterilmiştir. TEX-101'in bozulmasının spermatozoa ile zona-bağlama kabiliyeti kaybına neden olduğunu bildirmişlerdir (Fujihara ve ark 2013).

Bir disintegrin ve metallopeptidaz domen 3 (ADAM3), sistein açısından zengin, glikosile edilmiş bir zar proteindir ve ADAM3 gen defektli (Adam3^{-/-}) erkek fareler infertildir, çünkü spermin in vitro zona pellusida'ya bağlanma yeteneğinin yanı sıra spermin yumurta kanalına göç etme yeteneği bozulmuştur (Fujihara ve ark 2014). ADAM3'ün sperm yüzeyi üzerinde eksprese edilmesi için TEX-101'in, bir glikosilfosfatidilinositol (GPI) ile bağlanarak etkileşimi esastır. TEX-101 olmadan, ADAM3 epididimden sperm geçişi sırasında bozulmaktadır (Fujihara ve ark 2014). Takayama ve ark yaptıkları çalışmada, TEX-101'in prospermatogonia için spesifik bir belirteç olduğunu tespit etmişlerdir (Takayama ve ark 2005).

Sunulan tez çalışmasında 40 Normozoospermisi ve 40 Oligozoospermisi olan 80 infertil bireyin semen analiz sonuçları ile TEX-101 proteini arasında güçlü bir korelasyon ve de grular arasında anlamlı bir fark tespit ettik. Elde ettiğimiz bulgular yukarıda ifade edilen çalışmaların sonuçları ile uyumluluk göstermiştir. TEX-101 verilerine ait sonuçlarımız; Normozoospermili infertil bireylerde (2,12±0,08 ng/ml) Oligozoospermisi olan infertil bireylere (1,55±0,04 ng/ml) göre daha yüksek düzeylerde olduğunu göstermektedir. Bu düşüncelerden yola çıkarak, TEX-101'in infertilite ile arasında pozitif bir ilişki olduğunu ve bir belirteç olabileceğini söyleyebiliriz.

Diğer taraftan, grup I'de semen parametreleri ile TEX-101 konsantrasyonları arasındaki ilişkiyi incelediğimizde tüm parametreler açısından pozitif ilişki ($r>0$) olduğunu tespit ettik. Volüme (0,134), Konsantrasyon (0,091), Total Sayı (0,814), Motilite (0,980), Progresif Motilite (0,955), Non Progresif Motilite (0,871),

İmmotilite (0,980),Tpmss (0,707), Normal Sperm (0,656), Baş Anomalisi (0,922),Amorf Baş (0,591),Büyük Baş (0,544), Küçük Baş (0,630), Uzun Baş(0,553), Multiple Baş (0,475), Boyun veya Kuyruk Anomalisi (0,857), Boyun Orta Anomalisi (0,818), Kuyruk Anomalisi (0,190), Çift Kuyruk (0,513), Tail Stump (0,088), Dag Defekt (0,357), Uzun Kuyruk (0,035) Kısa Kuyruk(0,745), Teratozospermi İndeksi (0,433). Verilerimizin, spermiyogram sonuçları ile ilişki göstermesi sperm baş, kuyruk, boyun anomalileri ile TEX-101 düzeylerinin paralellik olduğunu vurgulamaktadır. Bu bulgulardan farklı olarak, Grup I de küçük baş anamolisi ile TEX-101 arasında bir ilişki tespit edilmedi.

Grup II de semen parametreleri ve TEX-101 arasında bulduğumuz sonuçlar ($r>0$) ise; Volüme (0,700),Konsantrasyon (0,541), Total Sayı (0,600), Motilite (0,092), Progresif Motilite (0,191), Non Progresif Motilite (0,527), İmmotilite (0,088), Tpmss (0,988), Normal Sperm (0,714), Baş Anomalisi.(0,862), Amorf Baş (0,609), Büyük Baş (0,965), Küçük Baş (0,061), Uzun Baş(0,234), Multiple Baş (0,596), Boyun veya Kuyruk Anomalisi (0,660), Boyun Orta Anomalisi (0,938), Kuyruk Anomalisi.(0,716), Çift Kuyruk (0,263), Tail Stump (0,655), Dag Defekt (0,788), Uzun Kuyruk (0,619), Kısa Kuyruk (0,648), Teratozospermi İndeksi (0,974 arasında önemli korelasyon olduğunu gösterdi. Grup II de dağ defekt, kuyruk anamolisi, amorf baş ve kısa kuyruk parametrelerinde $p > 0,05$ düzeyinde ilişki bulunmuş olup, istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Her iki grubun TEX -101 konsantrasyonlarını karşılaştırdığımızda ise aralarında yaklaşık olarak iki kat farklılık olduğunu bulduk. Literatürü taradığımızda bu şekilde karşılaştırma yapan bir çalışmaya rastlamamakla birlikte, bulduğumuz sonuçların doğrultusunda TEX-101 proteinin semen analizine ek olarak erkek fertilizasyonunun değerlendirilmesinde kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Redox düzenlenmesi normal spermatogenezin fizyolojisinde önemli olmakla birlikte, bazı spermatogenetik anomalilerde redoks düzenlenmelerindeki aksaklıkların rol alabileceği düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda tiyoredoksin ve tiyoredoksin redüktazlar erkek üreme hücreleri ile bağlantılı olarak tanımlanması açıklanamayan infertiliteye yeni bir bakış sergilemiştir.

Hayatı boyunca, canlı vücudu sürekli bir denge durumundadır. Canlılığın gereği olarak süreklilik arz eden metabolik faaliyetler; bir taraftan yapım, diğer taraftan yıkım fonksiyonları sürekli birlikte devam etmektedir. Normal koşullarda, metabolik faaliyetler sonucu oluşabilecek oksidatif stres-antioksidan kapasite arasında belirli bir denge mevcuttur. Ancak, ani olarak ortaya çıkan ek koşullar bu dengenin bozulmasına neden olabilir (Hall 2006). Canlı sistemlerde akut ROS artışına karşı koyma görevi ilk etapta hücrede mevcut kimyasal antioksidanların kullanımı ile başarılmaya çalışılır. Ancak canlı dokusu sahip olduğu sınırlı antioksidan kapasite nedeniyle her zaman bu artışa karşı koyamaz. Bu durumda bozulan dengenin korunması için ikinci aşamada enzimlerden oluşan antioksidan savunma sistemi faaliyete geçerek ortaya çıkan yeni durumla baş etmeye çalışır (Özalpan 2001, Hall 2006).

Tiyoredoksin Redüktaz glutatyon redüktaz gibi flavoenzimler ailesine ait homodimerik bir proteindir. TrxR; FAD aktif bölgedeki selenosistein üzerinden tiyoredoksin ve diğer substratlardaki disülfid bağlarını NADPH'a bağımlı olarak indirgeyen bir enzimdir. Memeli TrxR enzimi oksidasyon/redüksiyon reaksiyonlarını içeren çeşitli metabolik yollarda yer alır ve yaygın olarak hücre içi reaktif oksijen türlerinin kimyasal sürecinin merkezindedir (Tibodeau ve ark 2009). Çeşitli çalışmalarda, Trx1'in ifadesinin astrositomlar gibi insan primer kanserlerinde ve tümör hücrelerinde arttığı gösterilmiştir. Trx yükselmesinin de, DNA sentezinin artışı, redoks aracılı transkripsiyon faktörlerinin uyarılması gibi mekanizmalarla kanser hücrelerinin gelişimini ve kemoterapiye karşı direncini artırdığı saptanmıştır (Gasdaska ve ark 1994, Berggren ve ark 1996, Kawahara ve ark 1996, Baker ve ark 1997, Powis ve ark 2000, Soini ve ark 2001, Haapasalo ve ark 2003). Diğer taraftan, Trx-1'in lenfoid hücre kültürüne eklendiğinde ya da geni bu hücrelere transfer edildiğinde hücre ölümünü engellediği gösterilmiştir (Powis ve ark 1998).

Genel infertilite kliniği popülasyonundan rastgele alınan 239 infertil çiftin kapsamlı bir çalışmada, SPTrx-3'ün insan erkek infertilitesinin bir tanısal göstergesi olabilirliği düşüncesinden yola çıkıldı. Erkeklerin SPTrx-3'ün yüksek semen içeriği gösterdiği çiftlerde, ART tarafından normal zigot ürettiminde azalma ve ART tarafından gebe kalma şansını anlamlı derecede düşürdüğünü tespit ettiler.

SPTrx-3'ün yüksek sperm düzeylerinin tekrarlayan düşüklere ve düşük SPTrx-3'e sahip çiftlerin çoklu embriyo transferinden sonra çoklu doğumlara daha fazla olup olmadığını belirlemek için takip çalışmalarının yapılmasına karar verilen çalışmada, SPTrx-3 tabanlı semen taraması, erkek infertilite, tedaviye karar verme ve ART sonrası yerleşik gebeliklerin tedavisinin kesin tanısı için yararlı olabileceği ifade edildi (Buckman ve ark 2013).

19 infertil ve 5 fertil bireyden oluşan bir Kohort çalışmada, SPTrx-3 ve ubiquitin (Ozanon ve ark 2005) sperm seviyeleri arasında güçlü bir pozitif korelasyon olduğu ortaya koyulmuştur (Jiménez ve ark 2004). Bununla birlikte, idiopatik olguların% 20'sinde yüksek SPTrx-3 değerleri (% 0,15 M3) saptanmıştır. SPTrx-3'ün gebelik oranları üzerindeki etkisinin önemli olduğu bildirilmekte ve verilerin tedavi sonucunda da SPTrx-3 -bazlı semen analizin öngörü teşkil edeceğine dikkat çekilmektedir. (Buckman ve ark 2013).

Bulgularımız; infertil erkeklerin, semen örneklerinde, fertil erkeklere kıyasla önemli ölçüde daha yüksek bir SPTrx-3 içeriğine sahip olacağını göstermektedir. SPTrxR-3 konsantrasyonu Oligozoospermik bireylerde ($6,98 \pm 0,46$ ng/ml) Normozoospermik bireylere ($3,07 \pm 0,35$ ng/ml) göre önemli düzeyde yüksektir. ($p = 0,000$). Semende yüksek miktarlarda SPTrxR-3 ün bulunması fertilizasyonun sağlanması için gerekli ve fertilizasyon için yeterli kapasitede spermin yokluğunun göstergesi olarak kabul edilebilir. SPTrx-3 proteinin düşük olması fertilite ile doğru orantılıyken yüksek düzeylerde olması infertilite ile ilişkilendirdik.

Diğer taraftan verilerimiz, grup I'in semen parametreleri ve SPTrxR-3 düzeyleri açısından karşılaştırdığımızda bulduğumuz sonuçlar anlamlı pozitif ilişki olduğunu göstermektedir. Volüme (0,527), Konsantrasyon (0,838), Total Sayı (0,402), Motilite (0,705), Progresif Motilite (0,744), Non Progresif Motilite (0,607), İmmotilite (0,705), TPMSS (0,806), Normal Sperm (0,317), Baş Anomalisi. (0,898), Amorf Baş (0,219), Büyük Baş (0,331), Küçük Baş (0,412), Uzun Baş (0,964), Multiple Baş (0,761), Boyun veya Kuyruk Anomalisi (0,304), Boyun Orta Anomalisi

(0,909), Kuyruk Anomalisi. (0,784), Çift Kuyruk (0,559), Tail Stump (0,823), Dag Defekt (0,295), Uzun Kuyruk (0,408), Kısa Kuyruk (0,069), Teratozospermi İndeksi (0,535). Grup I de semen parametreleri ile SPTrxR3 konsantrasyon düzeylerini karşılaştırdığımızda; uzun baş anomalisi olanlarda $p > 0,05$ büyük olduğunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir. Bulduğumuz sonuçları karşılaştırabileceğimiz bir çalışma bulunmamaktadır.

Grup II'nin semen analizleri ile SPTrxR-3 konsantrasyon düzeylerini karşılaştırdığımızda r değerleri; Volüme (0,853), Konsantrasyon (0,293), Total Sayı (0,316), Motilite (0,923), Progresif Motilite (0,661), Non Progresif Motilite (0,454), İmmotilite (0,918), TPMSS (0,359), Normal Sperm (0,519), Baş Anomalisi (0,672), Amorf Baş (0,804), Büyük Baş (0,679), Küçük Baş (0,210), Uzun Baş (0,500), Multiple Baş (0,050), Boyun veya Kuyruk Anomalisi (0,433), Boyun Orta Anomalisi (0,980), Kuyruk Anomalisi (0,920), Çift Kuyruk (0,951), Tail Stump (0,674), Dag Defekt (0,716), Uzun Kuyruk (0,676), Kısa Kuyruk (0,692), Teratozospermi İndeksi (0,807) olarak bulunmuştur. Diğer taraftan, grup II de bulunan infertil bireylerin TPMSS, kuyruk anamolisi ve amorf baş anomalisi bulunan bireylerin $p > 0,05$ olduğundan dolayı SPTrxR-3 ve semen parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmemiştir.

5.SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu bilgilerden yola çıkarak sunulan çalışma ile infertilitede bilinmeyen ve henüz açıklanamayan biyokimyasal yollardan olan Tiyoredoksinlerin mekanizmaları ile Testis-ifade protein 101'in düzeyleri ile olan olası ilişkilerini aydınlatmaya çalıştık. Erkek infertil bireylerde sperm spesifik tiyoredoksin redüktaz-3 (SPTxR-3), testis spesifik protein-101 (TEX101) ile semen parametreleri arasında önemli ilişkilerin ve de normozoospermik bireyler ile oligozoospermik bireyler arasında SPTxR-3 ve TEX-101 düzeyleri açısından önemli farklılığın belirlenmesi, bu parametrelerin infertil erkek bireyler için bir biyo belirteç olabileceği düşüncelerini desteklemektedir.

Çalışma sonucunda yukarıda bahsedildiği gibi TEX-101 proteinin semende işlevsel ve fertilizasyon için yeterli kapasitede spermin varlığıyla doğru orantılı olduğunu tespit edilmesi dikkat çekici bir bulgudur.

Erkek infertilitesine sebep olan biyokimyasal mekanizmalar yollara ait çalışmalar ile yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi yönünde araştırmalara, SPTxR 3'ün anormal spermlerin üretilmesi ile ilişkili olduğunu gösteren bulgularımızın katkı sağladığını düşünmekteyiz.

Sonuç olarak, redox düzenlenmesi normal spermatogenezin fizyolojisinde önemli olmakla birlikte, bazı spermatogenetik anomalilerde redoks düzenlenmelerindeki aksaklıkların rol alabileceği düşüncülerinden yola çıkarak, TEX-101 ve SPTxR-3 düzeylerinin erkek üreme hücrelerindeki rollerinin tanımlanması açıklanamayan infertiliteye yeni bir bakış açısı getirmiş olup umut dolu sonuçlar vadetmektedir.

Sonuç olarak dünya literatüründe açıklanamayan infertil hastalarda etkili olabileceği düşünülen çok sayıda protein tanımlanmış olmakla birlikte, söz konusu

Çalışma spermiyogram sonuçları ile bu proteinler arasındaki ilişkiyi araştıran ilk çalışma olup dünya literatürüne katkı sağladığı kanısına varılmıştır.

Bu proteinlerin, yakın gelecekte semen analizini destekleyeceğini ve fertil-infertil bireylerin tanısının yanısıra infertil erkeklerde prognozda analizlerinin önemli olacağını ve de yeni bir biyobelirteç olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Vakaların infertil tedavileri sırasında da bu biyokimyasal parametrelerin analiz edileceği yeni araştırmaların ve çalışmaların yürütülmesi önerilmektedir.

6.KAYNAKLAR

- Abdella Rm, Abdelmoaty Hı, Elsherif Rh, Sayed Am, Sherif Na, Gouda Hm, El Lithy A, Almohamady M, Abdelbar M, Hosni An, 2015. Screening For Chlamydia Trachomatis İn Egyptian Women With Unexplained İnfertility, Comparing Real-Time Pcr Techniques To Standard Serology Tests: Case Control Study. *Bmc Women's Health*, 15, 1, 45.
- Adıgüzel Fı, Adıgüzel C, Seyfettinoğlu S, Ürünsak İf, 2015. Açıklanamayan İnfertilite Etiyolojisinde Olası Risk Faktörü Olarak Herediter Trombofilinin Yeri. *Bakırköy Tıp Dergisi*, 11, 162-6.
- Aitken R, Paterson M, Fisher H, Buckingham D, Van Duin M, 1995. Redox Regulation Of Tyrosine Phosphorylation İn Human Spermatozoa And İts Role İn The Control Of Human Sperm Function. *Journal Of Cell Science*, 108, 5, 2017-25.
- Aitken Rj, Baker Ma, 2008. The Role Of Proteomics İn Understanding Sperm Cell Biology. *International Journal Of Andrology*, 31, 3, 295-302.
- Aitken Rj, Baker Ma, Sawyer D, 2003. Oxidative Stress İn The Male Germ Line And İts Role İn The Aetiology Of Male İnfertility And Genetic Disease. *Reproductive Biomedicine Online*, 7, 1, 65-70.
- Aitken Rj, Nixon B, Lin M, Koppers Aj, Lee Yh, Baker Ma, 2007. Proteomic Changes İn Mammalian Spermatozoa During Epididymal Maturation. *Asian Journal Of Andrology*, 9, 4, 554-64.
- Akın Ko, 2008. Deneysel Karaciğer İskemi/Reperfüzyon Modelinde Tiyoredoksin Ve L-Name'in Karaciğer Hasarı Üzerine Etkilerinin Karşılaştırılması Gazi Üniversitesi Ankara.
- Aksu S, 2010. Açıklanamayan İnfertilitesi Olan Hastaların Endometriyumlarında Doğal Öldürücü Hücre Yoğunluğunun Değerlendirilmesi.
- Allan H, Mounce G, 2015. Managing İnfertility İn Primary Care. *Practice Nursing*, 26, 9, 440-3.
- Alvarez Jg, Aitken Rj, 2012. Lipid Peroxidation İn Human Spermatozoa. In: *Studies On Men's Health And Fertility*. Eds: Springer, P. 119-30.
- Amanak K, Karaöz B, Sevil Ü, 2014. Modern Yaşamın İnfertilite Üzerine Etkisi. *Taf Preventive Medicine Bulletin*, 13, 4.
- Anafarta K, Göğüş O, Bedük Y, 1998. Temel Uroloji. , Ankara, Günes Kitabevi;, P. 169-75.
- Arnér Es, Holmgren A, 2000. Physiological Functions Of Thioredoxin And Thioredoxin Reductase. *European Journal Of Biochemistry*, 267, 20, 6102-9.
- Arslan-Özkan İ, Okumuş H, 2012. Bakım Ve İyileşmenin Kesiştiği Bir Model: Watson'ın İnsan Bakım Modeli. *Turkish Journal Of Research & Development İn Nursing*, 14, 2.
- Aşçı Ö, Beji Nk, 2012. İnfertilite Danışmanlığı. *Florence Nightingale Hemşirelik Dergisi* 20, 2, 154 - 9.
- Aydos K, 2007. Erkek İnfertilitesi. Temel Uroloji. 3rd Ed. Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N, Editors. Ankara: Güneş Tıp Kitabevi, 967-1011
- Babayeva G, 2017. Açıklanamayan İnfertilitesi Olan Hastalarda Serum Amh Seviyeleri İle Tedavi Cevabı Ve Fertilite Sonuçları İlişkisi, Türkiye Kamu Hastaneleri Kurumu İstanbul Bakırköy Kamu Hastaneleri Birliği Genel Sekreterliği Sağlık Bilimleri Üniversitesi.
- Bahamondes L, Makuch My, 2014. Infertility Care And The Introduction Of New Reproductive Technologies İn Poor Resource Settings. *Reproductive Biology And Endocrinology*, 12, 1, 87.
- Baker A, Payne Cm, Briehl Mm, Powis G, 1997. Thioredoxin, A Gene Found Overexpressed İn Human Cancer, İnhibits Apoptosis İn Vitro And İn Vivo. *Cancer Research*, 57, 22, 5162-7.
- Balen Ah, 2008. Infertility İn Practice, Crc Press, P.Bar-Noy S, Gorlatov Sn, Stadtman Tc, 2001. Overexpression Of Wild Type And Secys/Cys Mutant Of Human Thioredoxin Reductase İn E. Coli: The Role Of Selenocysteine İn The Catalytic Activity. *Free Radical Biology And Medicine*, 30, 1, 51-61.

- Becker K, Gromer S, Schirmer Rh, Müller S, 2000. Thioredoxin Reductase As A Pathophysiological Factor And Drug Target. *European Journal Of Biochemistry*, 267, 20, 6118-25.
- Benli S, 2010. İnfertil Kadınlarda Depresyon Ve Anksiyete Durumu Ve İlişkili Faktörler, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Berggren M, Gallegos A, Gasdaska Jr, Gasdaska Py, Warneke J, Powis G, 1996. Thioredoxin And Thioredoxin Reductase Gene Expression In Human Tumors And Cell Lines, And The Effects Of Serum Stimulation And Hypoxia. *Anticancer Research*, 16, 6b, 3459-66.
- Biaglow Je, Miller Ra, 2005. The Thioredoxin Reductase/Thioredoxin System: Novel Redox Targets For Cancer Therapy. *Cancer Biology & Therapy*, 4, 1, 13-20.
- Bindoli A, Rigobello Mp, 2013. Principles In Redox Signaling: From Chemistry To Functional Significance. *Antioxidants & Redox Signaling*, 18, 13, 1557-93.
- Boivin J, Bunting L, Collins Ja, Nygren Kg, 2007. International Estimates Of Infertility Prevalence And Treatment-Seeking: Potential Need And Demand For Infertility Medical Care. *Human Reproduction*, 22, 6, 1506-12.
- Boschetti E, Chung Mc, Righetti Pg, 2012. " The Quest For Biomarkers": Are We On The Right Technical Track? *Proteomics—Clinical Applications*, 6, 1-2, 22-41.
- Boyras G, 2013. Açıklanamayan İnfertilite Nedeniyle İntrauterin İnseminasyon Uygulanan Hastalarda Ejakülattaki Preapoptotik Sperm Oranının İntrauterin İnseminasyon Başarısındaki Etkisinin Araştırılması, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara.
- Bozhedomov V, Lipatova N, Im R, Ra A, Iv U, Sukhikh G, 2014. Male Fertility And Varicocoele: Role Of İmmune Factors. *Andrology*, 2(1), 51-8.
- Buckman C, George Tc, Friend S, Sutovsky M, Miranda-Vizuet A, Ozanon C, Morrissey P, Sutovsky P, 2009. High Throughput, Parallel İmaging And Biomarker Quantification Of Human Spermatozoa By Imagestream Flow Cytometry. *Systems Biology In Reproductive Medicine*, 55, 5-6, 244-51.
- Buckman C, Ozanon C, Qiu J, Sutovsky M, Carafa Ja, Rawe Vy, Manandhar G, Miranda-Vizuet A, Sutovsky P, 2013. Semen Levels Of Spermatid-Specific Thioredoxin-3 Correlate With Pregnancy Rates In Art Couples. *Plos One*, 8, 5, E61000.
- Burke-Gaffney A, Callister Me, Nakamura H, 2005. Thioredoxin: Friend Or Foe In Human Disease? *Trends In Pharmacological Sciences*, 26, 8, 398-404.
- Cayan S, Lee D, Black Ld, Pera Rar, Turek Pj, 2001. Response To Varicocelectomy In Oligospermic Men With And Without Defined Genetic İnfertility. *Urology*, 57, 3, 530-5.
- Chen H, Kui C, Chan Hc, 2013. Ca²⁺ Mobilization In Cumulus Cells: Role In Oocyte Maturation And Acrosome Reaction. *Cell Calcium*, 53, 1, 68-75.
- Chen Y, Cai J, Murphy T, Jones Dp, 2002. Overexpressed Human Mitochondrial Thioredoxin Confers Resistance To Oxidant-İnduced Apoptosis In Human Osteosarcoma Cells. *Journal Of Biological Chemistry*.
- Cheng Cy, Mruk Dd, (2010). *The Biology Of Spermatogenesis: The Past, Present And Future*, The Royal Society.
- Clarke F, Orozco C, Perkins A, Cock I, Tonissen K, Robins A, Wells J, 1991. Identification Of Molecules İnvolved In The'early Pregnancy Factor'phenomenon. *Journal Of Reproduction And Fertility*, 93, 2, 525-39.
- Collins Ja, Van Steirteghem A, 2004. Overall Prognosis With Current Treatment Of İnfertility. *Human Reproduction Update*, 10, 4, 309-16.
- Committee On Gynecologic Practice Of American College Of O, Gynecologists Ampcoasfr, 2008. Age-Related Fertility Decline. 90 (5 Suppl), 154-5.
- Committee On Gynecologic Practice Of American College Of O, Gynecologists, And M. Practice Committee Of American Society For Reproductive, Age-Related Fertility Decline: A Committee Opinion. *Fertil Steril*, 2008. 90(5 Suppl): P. S154-5

- Conner S, Lefievre L, Hughes D, Barratt C, 2005. Cracking The Egg: Increased Complexity In The Zona Pellucida. *Human Reproduction*, 20, 5, 1148-52.
- Cooper Tg, 1986. Epididymal Secretion And Resorption Of Proteins. In: *The Epididymis, Sperm Maturation And Fertilisation*. Eds: Springer, P. 200-30.
- Cooper Tg, Noonan E, Von Eckardstein S, Auger J, Baker H, Behre Hm, Haugen Tb, Kruger T, Wang C, Mbizvo Mt, 2010. World Health Organization Reference Values For Human Semen Characteristics. *Human Reproduction Update*, 16, 3, 231-45.
- Cornwall Ga, 2009. New Insights Into Epididymal Biology And Function. *Human Reproduction Update*, 15, 2, 213-27.
- Cornwall Ga, Vindivich D, Tillman S, Chang T, 1988. The Effect Of Sulfhydryl Oxidation On The Morphology Of Immature Hamster Epididymal Spermatozoa Induced To Acquire Motility In Vitro. *Biology Of Reproduction*, 39, 1, 141-55.
- Corvol P, 2005. Ace Sets Up Fertilization. *Nature Medicine*, 11, 2, 118.
- Cunnea Pm, Miranda-Vizuete A, Bertoli G, Simmen T, Damdimopoulos Ae, Hermann S, Leinonen S, Huikko Mp, Gustafsson J-Å, Sitia R, 2003. Erdj5, An Endoplasmic Reticulum (Er)-Resident Protein Containing DnaJ And Thioredoxin Domains, Is Expressed In Secretory Cells Or Following Er Stress. *Journal Of Biological Chemistry*, 278, 2, 1059-66.
- Çavuşoğlu İ, 2015. İnfertilite Tedavileri Sonrası Gebe Kalan Kadınların Yaşam Kalitesi Ve Depresyon Durumlarının İncelenmesi (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul, Haliç Üniversitesi.
- Çetinbaş A, Dağdeviren H, Öztora S, Çaylan A, Sezer Ö, 2014. Doğurganlık Sorunu Yaşayan Kişiler İçin Hayat Kalitesi Ölçeği'nin Türkçe Versiyonunun İç Güvenilirlik Analizi. *Euras J Fam Med*, 3, 2, 105-10.
- Çiçek N, 2008. Temel Üreme Endokrinolojisi Ve İnfertilite, Ankara, Palme Yayınları P.
- Dacheux J-L, Belleannée C, Guyonnet B, Labas V, Teixeira-Gomes A-P, Ecroyd H, Druart X, Gatti J-L, Dacheux F, 2012. The Contribution Of Proteomics To Understanding Epididymal Maturation Of Mammalian Spermatozoa. *Systems Biology In Reproductive Medicine*, 58, 4, 197-210.
- De Kretser D, Baker H, 1999. Infertility In Men: Recent Advances And Continuing Controversies. *The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 84, 10, 3443-50.
- De Lamirande E, Lamothe G, 2010. Levels Of Semenogelin In Human Spermatozoa Decrease During Capacitation: Involvement Of Reactive Oxygen Species And Zinc. *Human Reproduction*, 25, 7, 1619-30.
- De Lamirande E, Lamothe G. Reactive Oxygen-Induced Reactive Oxygen Formation During Human Sperm Capacitation. *Free Radic Biol Med* 2009; 46: 502-10.
- De Lamirande E, Leclerc P, Gagnon C, 1997. Capacitation As A Regulatory Event That Primes Spermatozoa For The Acrosome Reaction And Fertilization. *Molecular Human Reproduction*, 3, 3, 175-94.
- De Lamirande E, O'flaherty C, 2012. Sperm Capacitation As An Oxidative Event. In: *Studies On Men's Health And Fertility*. Eds: Springer, P. 57-94.
- Deguchi E, Tani T, Watanabe H, Yamada S, Kondoh G, 2007. Dipeptidase-Inactivated Tace Action In Vivo: Selective Inhibition Of Sperm-Zona Pellucida Binding In The Mouse. *Biology Of Reproduction*, 77, 5, 794-802.
- Demirci N, 2014. Erkek Fertilitesi Ve Riskli Yaşam Biçimi Davranışları. *Florence Nightingale Hemşirelik Dergisi*, 22, 1, 39-45.
- Demirtürk F, Çalışkan Ac, 2007. Kadın İnfertilitesi; Klinik Jinekolojik Endokrinoloji Ve İnfertilitesi, Ankara, Güneş Tıp Kitabevi P.
- Dias G, Retamal C, Tobella L, Arnholdt A, Lopez M, 2006. Nuclear Status Of Immature And Mature Stallion Spermatozoa. *Theriogenology*, 66, 2, 354-65.
- Dilek N, 2009. Yardımcı Üreme Tekniği İle Tedavi Olan Çiftlerin Belirlenmesi Haliç Üniversitesi.

- Drabovich Ap, Dimitromanolakis A, Saraon P, Soosaipillai A, Batruch I, Mullen B, Jarvi K, Diamandis Ep, 2013. Differential Diagnosis Of Azoospermia With Proteomic Biomarkers Ecml And Tex101 Quantified In Seminal Plasma. *Science Translational Medicine*, 5, 212, 212ra160-212ra160.
- Drabovich Ap, Jarvi K, Diamandis Ep, 2011. Verification Of Male Infertility Biomarkers In Seminal Plasma By Multiplex Selected Reaction Monitoring Assay. *Molecular & Cellular Proteomics*, 10, 12, M110.004127.
- Du Plessis Ss, Gokul S, Agarwal A, 2013. Semen Hyperviscosity: Causes, Consequences, And Cures. *Front Biosci (Elite Ed)*, 5, 224-31.
- Dubuisson M, Vander Stricht D, Clippe A, Etienne F, Nauser T, Kissner R, Koppenol Wh, Rees J-F, Knoops B, 2004. Human Peroxiredoxin 5 Is A Peroxynitrite Reductase. *Febs Letters*, 571, 1-3, 161-5.
- Dunson Db, Baird Dd, Colombo B, 2004. Increased Infertility With Age In Men And Women. *Obstetrics & Gynecology*, 103, 1, 51-6.
- Dunson Db, Colombo B, Baird Dd, 2002. Changes With Age In The Level And Duration Of Fertility In The Menstrual Cycle. *Human Reproduction*, 17, 5, 1399-403.
- Ecroyd Hw, Jones Rc, Aitken Rj, 2003. Endogenous Redox Activity In Mouse Spermatozoa And Its Role In Regulating The Tyrosine Phosphorylation Events Associated With Sperm Capacitation. *Biology Of Reproduction*, 69, 1, 347-54.
- Engel J, Bernard E, Wassermann G, 1973. Protein Synthesis By Isolated Spermatozoa From Cauda And Caput Epididymis Of Rat. *Acta Physiologica Latino Americana*, 23, 5, 358.
- Erdem K, 2012. İnfertil Kadınlarda Algılanan Sosyal Destek İle Depresyon Arasındaki İlişkinin Belirlenmesi., Atatürk Üniversitesi
- Erdemir F, Kılıç Ş, 2011. Varikosel. *Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 2, 1-11.
- Eren N, 2008. İnfertil Çiftlerde Algılanan Sosyal Desteğin İnfertilite İle İlişkili Stres Ve Evlilik Uyumu Üzerine Etkisi. Yayınlanmamış Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı, Ankara.
- Ford W, 2010. World Health Organization (Who) Laboratory Manual For The Examination And Processing Of Human Semen, P.
- Fuchs S, Frenzel K, Hubert C, Lyng R, Muller L, Michaud A, Xiao Hd, Adams Jw, Capecchi Mr, Corvol P, 2005. Male Fertility Is Dependent On Dipeptidase Activity Of Testis Ace. *Nature Medicine*, 11, 11, 1140.
- Fujihara Y, Okabe M, Ikawa M, 2014. Gpi-Anchored Protein Complex, Ly6k/Tex101, Is Required For Sperm Migration Into The Oviduct And Male Fertility In Mice. *Biology Of Reproduction*, 90, 3.
- Fujihara Y, Tokuhiko K, Muro Y, Kondoh G, Araki Y, Ikawa M, Okabe M, 2013. Expression Of Tex101, Regulated By Ace, Is Essential For The Production Of Fertile Mouse Spermatozoa. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 110, 20, 8111-6.
- Fujii J, Tsunoda S, 2011. Redox Regulation Of Fertilisation And The Spermatogenic Process. *Asian Journal Of Andrology*, 13, 3, 420.
- Fujii S, Nanbu Y, Nonogaki H, Konishi I, Mori T, Masutani H, Yodoi J, 1991. Coexpression Of Adult T-Cell Leukemia-Derived Factor, A Human Thioredoxin Homologue, And Human Papillomavirus Dna In Neoplastic Cervical Squamous Epithelium. *Cancer*, 68, 7, 1583-91.
- Gartner Lp, Hiatt JI: *Color Textbook Of Histology*. Pennsylvania, W.B.Saunders Company, 1997; 493-98. Kathrins M, And Niederberger C. Diagnosis And Treatment Of Infertility Related Male Hormonal Dysfunction. *Nature Reviews Urology*. Doi:10.1038/Nrurol.2016.62, 2016 Spermatogenez (Contraceptionformen.Wordpres.Com 02.12.2018)
- Gasdaska Jr, Berggren M, Powis G, 1995. Cell Growth Stimulation By The Redox Protein Thioredoxin Occurs By A Novel Helper Mechanism. *Cell Growth And Differentiation-Publication American Association For Cancer Research*, 6, 12, 1643-50.

- Gasdaska Py, Oblong Je, Cotgreave Ia, Powis G, 1994. The Predicted Amino Acid Sequence Of Human Thioredoxin Is İdential To That Of The Autocrine Growth Factor Human Adult T-Cell Derived Factor (Adf): Thioredoxin Mrna İs Elevated İn Some Human Tumors. *Biochimica Et Biophysica Acta (Bba)-Gene Structure And Expression*, 1218, 3, 292-6.
- Gerhard Ds, Wagner L, Feingold Ea, Shenmen Cm, Grouse Lh, Schuler G, Klein Sl, Old S, Rasooly R, Good P, 2004. The Status, Quality, And Expansion Of The Nih Full-Length Cdna Project: The Mammalian Gene Collection (Mgc). *Genome Research*, 14, 10b, 2121-7.
- Griffin Dk, Finch Ka, 2005. The Genetic And Cytogenetic Basis Of Male İnfertility. *Human Fertility*, 8, 1, 19-26.
- Griveau J, Dumont E, Renard P, Callegari J, Le Lannou D, 1995. Reactive Oxygen Species, Lipid Peroxidation And Enzymatic Defence Systems İn Human Spermatozoa. *Journal Of Reproduction And Fertility*, 103, 1, 17-26.
- Guzick Ds, Overstreet Jw, Factor-Litvak P, Brazil Ck, Nakajima St, Coutifaris C, Carson Sa, Cisneros P, Steinkampf Mp, Hill Ja, 2001. Sperm Morphology, Motility, And Concentration İn Fertile And İnfertile Men. *New England Journal Of Medicine*, 345, 19, 1388-93.
- Güneş K, 2017. Apopitozis Yolak Proteinleri İle İnfertilite Arasındaki İlişkinin İnsan Sperm Hücrelerinde Araştırılması., Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü., Tokat.
- Gürkan K, 1999. Smith Genel Üroloji. Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti., İstanbul.
- Haapasalo H, Kyläniemi M, Paunu N, Kinnula Vl, Soini Y, 2003. Expression Of Antioxidant Enzymes İn Astrocytic Brain Tumors. *Brain Pathology*, 13, 2, 155-64.
- Hall Ej, 2006. Radiobiology For The Radiologist, J.B. Lippincott Company, P. 45-50, 124-126
- Hamer G, Kal Hb, Westphal Ch, Ashley T, De Rooij Dg, 2004. Ataxia Telangiectasia Mutated Expression And Activation İn The Testis. *Biology Of Reproduction*, 70, 4, 1206-12.
- Health Of Future Generations, P.Hirsh Av, 1999. The İntestigation And Therapeutic Options For İnfertile Men Presenting İn Assisted Conception Units. In: *In Vitro Fertilization And Assisted Reproduction: The Bourn Hall Guide To Clinical And Laboratory Practice*. Second Newyork, Parthenon Publishing, P. Brinsden Pr.,
- Holmgren A, 1985. Thioredoxin. *Annual Review Of Biochemistry*, 54, 1, 237-71.
- Holmgren A, 1995. Thioredoxin Structure And Mechanism: Conformational Changes On Oxidation Of The Active-Site Sulfhydryls To A Disulfide. *Structure*, 3, 3, 239-43.
- Hosoda A, Kimata Y, Tsuru A, Kohno K, 2003. Jpdi, A Novel Endoplasmic Reticulum-Resident Protein Containing Both A Bip-İnteracting J-Domain And Thioredoxin-Like Motifs. *Journal Of Biological Chemistry*, 278, 4, 2669-76.
- Hotun-Şahin N, Bilgiç D, 2015. İnfertilite Hemşire Ve Ebelere Yönelik Kadın Sağlığı Ve Hastalıkları, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri Tic. Ltd. Şti., P. 113-7.
- Hussain T, Tauseef A, Bari A, Rasheed U, Hassan Ja, 2014. Awareness Among General Population Attending Civil Hospital Karachi About Risk Factors Associated With İnfertility. *Journal Of Pakistan Medical Association*, 64, 725-30.
- Hussain T, Tauseef A, Bari A, Rasheed U, Hassan Ja, 2014. Awareness Among General Population Attending Civil Hospital Karachi About Risk Factors Associated With İnfertility. *Jpma. The Journal Of The Pakistan Medical Association*, 64, 6, 725-30.
- Ishii T, Kawane T, Taketani S, Bannai S, 1995. Inhibition Of The Tiyol-Specific Antioxidant Activity Of Rat Liver Msp23 Protein By Hemin. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, 216, 3, 970-5.
- İşıklı T, (2012. Açıklanamayan İnfertilite Olgularında İvf Başarısı Önceden Predikte Edilebilir Mi? , Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Eskişehir.
- İlerisoy M, 2012. Aile Sistemleri Kuramı Çerçevesinde İnfertilite Tedavisi Gören Ailelerde Aile Yaşam Döngüsünün Nitel Yöntemlerle Araştırılması, Maltepe Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Psikoloji Anabilim Dalı Klinik Psikoloj Programı, Maltepe Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü Psikoloji Anabilim Dalı Klinik Psikoloj Programı

- Jacquot J-P, Rivera-Madrid R, Marinho P, Kollarova M, Le Maréchal P, Miginiac-Maslow M, Meyer Y, 1994. Arabidopsis Thaliana Naphp Thioredoxin Reductase: Cdna Characterization And Expression Of The Recombinant Protein In Escherichia Coli. *Journal Of Molecular Biology*, 235, 4, 1357-63.
- Jiménez A, Johansson C, Ljung J, Sagemark J, Berndt Kd, Ren B, Tibbelin G, Ladenstein R, Kieselbach T, Holmgren A, 2002. Human Spermatid-Specific Thioredoxin-1 (Sptrx-1) Is A Two-Domain Protein With Oxidizing Activity. *Febs Letters*, 530, 1-3, 79-84.
- Jiménez A, Oko R, Gustafsson J-Å, Spyrou G, Peltö-Huikko M, Miranda-Vizuete A, 2002. Cloning, Expression And Characterization Of Mouse Spermatid Specific Thioredoxin-1 Gene And Protein. *Mhr: Basic Science Of Reproductive Medicine*, 8, 8, 710-8.
- Jiménez A, Zu W, Rawe Vy, Peltö-Huikko M, Flickinger Cj, Sutovsky P, Gustafsson J-Å, Oko R, Miranda-Vizuete A, 2004. Spermatocyte/Spermatid-Specific Thioredoxin-3, A Novel Golgi Apparatus-Associated Thioredoxin, Is A Specific Marker Of Aberrant Spermatogenesis. *Journal Of Biological Chemistry*, 279, 33, 34971-82.
- Jin D-Y, Chae Hz, Rhee Sg, Jeang K-T, 1997. Regulatory Role For A Novel Human Thioredoxin Peroxidase In Nf-Kb Activation. *Journal Of Biological Chemistry*, 272, 49, 30952-61.
- Jin H, Yoshitake H, Tsukamoto H, Takahashi M, Mori M, Takizawa T, Takamori K, Ogawa H, Kinoshita K, Araki Y, 2006. Molecular Characterization Of A Germ-Cell-Specific Antigen, Tex101, From Mouse Testis. *Zygote*, 14, 3, 201-8.
- Kadioğlu A, 2011. Who Laboratuvar El Kitabı. İnsan Semeninin İncelenmesi Ve İşlemlerden Geçirilmesi. *Türk Üroloji Derneği*, 1-50.
- Kahyaoglu Sut H, Balkanlı Kaplan P, 2015. Quality Of Life In Women With Infertility Via The Ferti Q O L And The Hospital Anxiety And Depression Scales. *Nursing & Health Sciences*, 17, 1, 84-9.
- Kang Sw, Chae Hz, Seo Ms, Kim K, Baines Ic, Rhee Sg, 1998. Mammalian Peroxiredoxin Isoforms Can Reduce Hydrogen Peroxide Generated In Response To Growth Factors And Tumor Necrosis Factor- α . *Journal Of Biological Chemistry*, 273, 11, 6297-302.
- Kara Ö, 2011. Açıklanamayan İnfertilite Nedeniyle Kontrollü Ovaryan Hiperstimülasyon Ve İntrauterin İnseminasyon Uygulanan Hastalarda İui Öncesi Sperm Hazırlama Tekniklerinden Swim Up Ve Dansite Gradient Santrifugasyon Yöntemlerinin Gebelik Başarısı Üzerine Etkilerinin Araştırılması, Hacettepe Üniversitesi Ankara.
- Karaca A, Ünsal G, 2012. İnfertilitenin Kadın Ruh Sağlığı Üzerine Etkileri Ve Psikiyatri Hemşiresinin Rolü. *Journal Of Psychiatric Nursing/Psikiyatri Hemşireleri Derneği*, 3, 2.
- Karaca Ş, Güder H, 2009. Dermatolojide Antioksidan Sistem. *Turkish Journal Of Dermatology*, 3, 2.
- Katib A, 2015. Mechanisms Linking Obesity To Male Infertility. *Central European Journal Of Urology*, 68, 1, 79.
- Katti Sk, Lemaster Dm, Eklund H, 1990. Crystal Structure Of Thioredoxin From Escherichia Coli At 1.68 Å Resolution. *Journal Of Molecular Biology*, 212, 1, 167-84.
- Kawahara N, Tanaka T, Yokomizo A, Nanri H, Ono M, Wada M, Kohno K, Takenaka K, Sugimachi K, Kuwano M, 1996. Enhanced Coexpression Of Thioredoxin And High Mobility Group Protein 1 Genes In Human Hepatocellular Carcinoma And The Possible Association With Decreased Sensitivity To Cisplatin. *Cancer Research*, 56, 23, 5330-3.
- Kemerdere R, 2008. Glial Tümörlerde Tiyoredoksin Redüktaz Değerleri İstanbul Üniversitesi İstanbul.
- Kılıç M, Apay Se, Beji Nk, 2011. İnfertilite Ve Kültür. *Florence Nightingale Hemşirelik Dergisi*, 19, 2, 109-15.
- Kırca N, Pasinlioğlu T, 2013. İnfertilite Tedavisinde Karşılaşılan Psikososyal Sorunlar. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, 5, 2.
- Kırço T, 2009. İnfertilitenin Cinsel Yaşam Üzerine Etkisinin İncelenmesi, Haliç Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

- Kinoshita T, Ohishi K, Takeda J, 1997. Gp1-Anchor Synthesis In Mammalian Cells: Genes, Their Products, And A Deficiency. *The Journal Of Biochemistry*, 122, 2, 251-7.
- Kirca N, Pasinlioglu T, 2013. Infertilite Tedavisinde Karsilasilan Psikososyal Sorunlar/ Psychosocial Problems During Infertility Treatment. *Psikiyatride Guncel Yaklasimler*, 5, 2, 162.
- Koçyiğit Ot, 2012. İnfertilite Ve Sosyo-Kültürel Etkileri. *İnsanbilim Dergisi*, 1, 1, 27-37.
- Kondoh G, Tojo H, Nakatani Y, Komazawa N, Murata C, Yamagata K, Maeda Y, Kinoshita T, Okabe M, Taguchi R, 2005. Angiotensin-Converting Enzyme Is A Gp1-Anchored Protein Releasing Factor Crucial For Fertilization. *Nature Medicine*, 11, 2, 160.
- Korbakis D, Schiza C, Brinc D, Soosaipillai A, Karakosta Td, Légaré C, Sullivan R, Mullen B, Jarvi K, Diamandis Ep, 2017. Preclinical Evaluation Of A Tex101 Protein Elisa Test For The Differential Diagnosis Of Male Infertility. *Bmc Medicine*, 15, 1, 60.
- Kovac Jr, Pastuszak Aw, Lamb Dj, 2013. The Use Of Genomics, Proteomics, And Metabolomics In Identifying Biomarkers Of Male Infertility. *Fertility And Sterility*, 99, 4, 998-1007.
- Kruger T, Menkveld R, Stander F, Lambard C, Merwe Jvd, Zyl Jv, Smith K, 1986. Sperm Morphology Features As A Prognostic Factor In Vitro Fertilization. *Fertil Steril*. 46, 118-23.
- Kurita A, Takizawa T, Takayama T, Totsukawa K, Matsubara S, Shibahara H, Orgebin-Crist M-C, Sendo F, Shinkai Y, Araki Y, 2001. Identification, Cloning, And Initial Characterization Of A Novel Mouse Testicular Germ Cell-Specific Antigen. *Biology Of Reproduction*, 64, 3, 935-45.
- Laurent Tc, Moore Ec, Reichard P, 1964. Enzymatic Synthesis Of Deoxyribonucleotides Iv. Isolation And Characterization Of Thioredoxin, The Hydrogen Donor From Escherichia Coli B. *Journal Of Biological Chemistry*, 239, 10, 3436-44.
- Lee K-K, Murakawa M, Takahashi S, Tsubuki S, Kawashima S-İ, Sakamaki K, Yonehara S, 1998. Purification, Molecular Cloning, And Characterization Of Trp32, A Novel Thioredoxin-Related Mammalian Protein Of 32 Kda. *Journal Of Biological Chemistry*, 273, 30, 19160-6
- Leisle L, Parkin Et, Turner Aj, Hooper Nm, 2005. Angiotensin-Converting Enzyme As A Gpiase: A Critical Reevaluation. *Nature Medicine*, 11, 11, 1139.
- Li W, Guo X-J, Teng F, Hou X-J, Lv Z, Zhou S-Y, Bi Y, Wan H-F, Feng C-J, Yuan Y, 2013. Tex101 Is Essential For Male Fertility By Affecting Sperm Migration Into The Oviduct In Mice. *Journal Of Molecular Cell Biology*, 5, 5, 345-7.
- Lipkin Sm, Moens Pb, Wang V, Lenzi M, Shanmugarajah D, Gilgeous A, Thomas J, Cheng J, Touchman Jw, Green Ed, 2002. Meiotic Arrest And Aneuploidy In Mlh3-Deficient Mice. *Nature Genetics*, 31, 4, 385.
- Martin JI, 1995. Thioredoxin—A Fold For All Reasons. *Structure*, 3, 3, 245-50.
- Matsuo Y, Yodoi J, 2013. Extracellular Thioredoxin: A Therapeutic Tool To Combat Inflammation. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 24, 4, 345-53.
- Mawhinney M, Mariotti A, 2013. Physiology, Pathology And Pharmacology Of The Male Reproductive System. *Periodontology 2000*, 61, 1, 232-51.
- Mayor S, 2005. Aceing Gp1 Release. *Nature Structural And Molecular Biology*, 12, 2, 107.
- Mendoza-Lujambio I, Burfeind P, Dixkens C, Meinhardt A, Hoyer-Fender S, Engel W, Neesen J, 2002. The Hook1 Gene Is Non-Functional In The Abnormal Spermatozoon Head Shape (Azh) Mutant Mouse. *Human Molecular Genetics*, 11, 14, 1647-58.
- Mengeot M-A, Vogel L, 2008. Production And Reproduction, Stealing The Merzenich H, Zeeb H, Blettner M, 2010. Decreasing Sperm Quality: A Global Problem? *Bmc Public Health*, 10, 1, 24.
- Métayer S, Dacheux F, Dacheux J-L, Gatti J-L, 2002. Germinal Angiotensin I-Converting Enzyme Is Totally Shed From The Rodent Sperm Membrane During Epididymal Maturation. *Biology Of Reproduction*, 67, 6, 1763-7.
- Mikhailichenko Vv, Esipov As, 2005. Peculiarities Of Semen Coagulation And Liquefaction In Males From Infertile Couples. *Fertility And Sterility*, 84, 1, 256-9.
- Miranda-Vizuet A, Damdimopoulos Ae, Spyrou G, 2000. The Mitochondrial Thioredoxin System. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2, 4, 801-10.

- Miranda-Vizuete A, Ljung J, Damdimopoulos Ae, Gustafsson J-Å, Oko R, Peltö-Huikko M, Spyrou G, 2001. Characterization Of Sptx, A Novel Member Of The Thioredoxin Family Specifically Expressed In Human Spermatozoa. *Journal Of Biological Chemistry*.
- Miranda-Vizuete A, Tsang K, Yu Y, Jiménez A, Peltö-Huikko M, Flickinger Cj, Sutovsky P, Oko R, 2003. Cloning And Developmental Analysis Of Murid Spermatid-Specific Thioredoxin-2 (Sptx-2), A Novel Sperm Fibrous Sheath Protein And Autoantigen. *Journal Of Biological Chemistry*.
- Miranda-Vizuete, A., Gustafsson, J.-Å., And Spyrou, G. (1998) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 243, 284–288
- Mitsui A, Hirakawa T, Yodoi J, 1992. Reactive Oxygen-Reducing And Protein-Refolding Activities Of Adult T Cell Leukemia-Derived Factor/Human Thioredoxin. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, 186, 3, 1220-6.
- Mondéjar I, Grullón La, García-Vázquez Fa, Romar R, Coy P, 2012. Fertilization Outcome Could Be Regulated By Binding Of Oviductal Plasminogen To Oocytes And By Releasing Of Plasminogen Activators During Interplay Between Gametes. *Fertility And Sterility*, 97, 2, 453-61. E3.
- Mosalanejad L, Parandavar N, Abdollahifard S, 2014. Barriers To Infertility Treatment: An Integrated Study. *Global Journal Of Health Science*, 6, 1, 181.
- Mosher W, Pratt W, 1991. Fecundity And Infertility In The United States: Incidence And Trends. *Fertility And Sterility*, 56, 2, 192-3.
- Mustacich D, Powis G, 2000. Thioredoxin Reductase. *Biochemical Journal*, 346, 1, 1-8.
- Nagdas Sk, Mclean El, Richardson Lp, Raychoudhury S, 2014. Identification And Characterization Of Tex101 In Bovine Epididymal Spermatozoa. *Biochemistry Research International*, 2014.
- Nagdas Sk, Mclean El, Richardson Lp, Raychoudhury S, 2014. Identification And Characterization Of Tex101 In Bovine Epididymal Spermatozoa. *Biochemistry Research International*, 2014, 1-10.
- Nakamura N, Miranda-Vizuete A, Miki K, Mori C, Eddy Em, 2008. Cleavage Of Disulfide Bonds In Mouse Spermatogenic Cell-Specific Type 1 Hexokinase Isozyme Is Associated With Increased Hexokinase Activity And Initiation Of Sperm Motility. *Biology Of Reproduction*, 79, 3, 537-45.
- Natsume T, Yamauchi Y, Nakayama H, Shinkawa T, Yanagida M, Takahashi N, Isobe T, 2002. A Direct Nanoflow Liquid Chromatography– Tandem Mass Spectrometry System For Interaction Proteomics. *Analytical Chemistry*, 74, 18, 4725-33.
- Nishinaka Y, Masutani H, Nakamura Jy, (2001). Regulatory Roles Of Thioredoxin In Oxidative Stress-Induced Cellular Responses. *Redox Report*. 6: 289-95.
- Nordberg J, Arner Es, 2001. Reactive Oxygen Species, Antioxidants, And The Mammalian Thioredoxin System. *Free Radical Biology And Medicine*, 31, 11, 1287-312.
- O'flaherty C, 2015. Redox Regulation Of Mammalian Sperm Capacitation. *Asian Journal Of Andrology*, 17, 4, 583.
- O'flaherty C, Beorlegui N, Beconi Mt. Participation Of Superoxide Anion In The Capacitation Of Cryopreserved Bovine Sperm. *Int J Androl* 2003; 26: 109–14.
- O'flaherty C, De Lamirande E, Gagnon C, 2004. Phosphorylation Of The Arginine-X-X-(Serine/Threonine) Motif In Human Sperm Proteins During Capacitation: Modulation And Protein Kinase A Dependency. *Mhr: Basic Science Of Reproductive Medicine*, 10, 5, 355-63.
- O'flaherty Cm, Beorlegui Nb, Beconi Mt. Reactive Oxygen Species Requirements For Bovine Sperm Capacitation And Acrosome Reaction. *Theriogenology* 1999; 52: 289–301.
- Obstetricians Aco, Gynecologists, 2014. Female Age-Related Fertility Decline. Committee Opinion No. 589. *Fertil Steril*, 101, 3, 633-4.
- O'flaherty C, 2014. Peroxiredoxins: Hidden Players In The Antioxidant Defence Of Human Spermatozoa. *Basic And Clinical Andrology*, 24, 1, 4.
- O'flaherty C, De Lamirande E, Gagnon C: Reactive Oxygen Species And Protein Kinases Modulate The Level Of Phospho-Mek-Like Proteins During Human Sperm Capacitation. *Biol Reprod* 2005, 73: 94–105.

- O'flaherty C, De Lamirande E, Gagnon C: Reactive Oxygen Species Modulate Independent Protein Phosphorylation Pathways During Human Sperm Capacitation. *Free Radic Biol Med* 2006;40:1045–1055
- O'flaherty C, Rico De Souza A, 2011. Hydrogen Peroxide Modifies Human Sperm Peroxiredoxins In A Dose-Dependent Manner. *Biology Of Reproduction*, 84, 2, 238-47.
- Oltuluoğlu H, U.Günay, R.Aylaz, 2014. İnfertil Çiftlerin Duygu Durumları Niteliksel Bir Çalışma *Sağlık Bilimleri Dergisi* 23, 92-8.
- Oral E, 2010. Endometriozis : Güncel Yönetim Ve Gelecek Akımlar. Jaypee Brothers Medical Publishers.
- Orhon E, Enginsu E, Günalp S, 1995. Sperm Morfoloji Atlası. Türkiye İnfertilite Vakfı Yayınları, 17-29.
- Ozan Yd, Okumuş H, 2013. Tedavi Sonucu Başarısız Olan İnfertil Kadınların Watson'ın İnsan Bakım Kuramına Göre Hemşirelik Bakımı. *Journal Of Anatolia Nursing And Health Sciences*, 16, 3.
- Ozanon C, Chouteau J, Sutovsky P, 2005. Clinical Adaptation Of The Sperm Ubuquitin Tag Immunoassay (Suti): Relationship Of Sperm Ubiquitylation With Sperm Quality In Gradient-Purified Semen Samples From 93 Men From A General Infertility Clinic Population. *Human Reproduction*, 20, 8, 2271-8.
- Ozkosem B, O'flaherty C, 2012. Detrimental Effects Of Oxidative Stress On Spermatozoa Lacking Peroxiredoxin 6: 197. *Free Radical Biology And Medicine*, 53, S86.
- Özalp A, 2001. Temel Radyobioloji. : , İstanbul, Haliç Üniversitesi Yayınları P. 1-218.5-.
- Özdiler E, Aydos K, 2000. Klinik Androloji. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi.
- Özgençli İ, 2014. Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus Mykiss*) Karaciğer Dokusundan Mitokondriyal Tiyoredoksin Redüktaz Enziminin Safaştırılması, Karakterizasyonu Ve Bazı Metal İyonlarının Enzim Aktivitesi Üzerine İn Vitro Etkilerinin İncelenmesi Atatürk Üniversitesi Erzurum.
- Parekattil Sj, Agarwal A, 2012. Male Infertility: Contemporary Clinical Approaches, Andrology, Art & Antioxidants, Springer Science & Business Media, P.
- Pawson T, Nash P, 2003. Assembly Of Cell Regulatory Systems Through Protein İnteraction Domains. *Science*, 300, 5618, 445-52.
- Peshenko Iv, Shichi H, 2001. Oxidation Of Active Center Cysteine Of Bovine 1-Cys Peroxiredoxin To The Cysteine Sulfenic Acid Form By Peroxide And Peroxynitrite. *Free Radical Biology And Medicine*, 31, 3, 292-303.
- Peyromusavi F, Barouni M, Naderi T, Shahravan A, 2016. Factors Affecting Response To Infertility Treatment: Case Of Iran. *Global Journal Of Health Science*, 8, 1, 118.
- Pfeifer S, Butts S, Fossum G, Gracia C, La Barbera A, Mersereau J, Odem R, Paulson R, Penzias A, Pisarska M, 2017. Optimizing Natural Fertility: A Committee Opinion. *Fertility And Sterility*, 107, 1, 52-8.
- Pierik Fh, Van Ginneken Am, Dohle Gr, Vreeburg Jt, Weber Rf, 2000. The Advantages Of Standardized Evaluation Of Male İnfertility. *International Journal Of Andrology*, 23, 6, 340-6.
- Pike Lj, 2006. Rafts Defined: A Report On The Keystone Symposium On Lipid Rafts And Cell Function. *Journal Of Lipid Research*, 47, 7, 1597-8.
- Powis G, Kirkpatrick Dl, Angulo M, Baker A, 1998. Thioredoxin Redox Control Of Cell Growth And Death And The Effects Of İnhibitors. *Chemico-Biological İnteractions*, 111, 23-34.
- Powis G, Montfort Wr, 2001. Properties And Biological Activities Of Thioredoxins. *Annual Review Of Biophysics And Biomolecular Structure*, 30, 1, 421-55.
- Powis G, Mustacich D, Coon A, 2000. The Role Of The Redox Protein Thioredoxin İn Cell Growth And Cancer. *Free Radical Biology And Medicine*, 29, 3-4, 312-22.
- Practice Committee Of American Society For Reproductive Medicine İn Collaboration With Society For Reproductive, E. And Infertility, Optimizing Natural Fertility. *Fertil Steril*, 2008. 90(5 Suppl): P. S1-6.

- Ramalho-Santos J, Moreno Rd, Wessel Gm, Chan Ek, Schatten G, 2001. Membrane Trafficking Machinery Components Associated With The Mammalian Acrosome During Spermiogenesis. *Experimental Cell Research*, 267, 1, 45-60.
- Reproductive Andrology Surgery Workshop In 17-21 January 2016 - Reproductive Medicine Unit - Jahra Hospital, Ministry Of Health - Kuwait Dr. Sandro Esteves Medical And Scientific Director www.androfert.com.br Androfert - Andrology & Human Reproduction Clinic Campinas / Sp - Brazil Stem Cell And Male Infertility
- Reproductive Pcoasfirmicwsf, (2008). E. And Infertility, Optimizing Natural Fertility. *Fertil Steril*. 90(5 Suppl).
- Richard S, Bianchi N, Bianchi M, Peltomäki P, Lothe R, Pavicic W, 2004. Ethnic Variation In The Prevalence Of Azf Deletions In Testicular Cancer. *Mutation Research/Fundamental And Molecular Mechanisms Of Mutagenesis*, 554, 1, 45-51.
- Rundlöf A-K, Janard M, Miranda-Vizuete A, Arnér Es, 2004. Evidence For Intriguingly Complex Transcription Of Human Thioredoxin Reductase 1. *Free Radical Biology And Medicine*, 36, 5, 641-56.
- Rutstein So, Shah Ih, 2004. Infecundity Infertility And Childlessness In Developing Countries.
- Sadek Cm, Damdimopoulos Ae, Peltö-Huikko M, Gustafsson Jå, Spyrou G, Miranda-Vizuete A, 2001. Sptrx-2, A Fusion Protein Composed Of One Thioredoxin And Three Tandemly Repeated Ndp-Kinase Domains Is Expressed In Human Testis Germ Cells. *Genes To Cells*, 6, 12, 1077-90.
- Sadek Cm, Jiménez A, Damdimopoulos Ae, Kieselbach T, Nord M, Gustafsson J-Å, Spyrou G, Davis Ec, Oko R, Van Der Hoorn Fa, 2003. Characterization Of Human Thioredoxin-Like 2 A Novel Microtubule-Binding Thioredoxin Expressed Predominantly In The Cilia Of Lung Airway Epithelium And Spermatid Manchette And Axoneme. *Journal Of Biological Chemistry*, 278, 15, 13133-42.
- Samplaski Mk, Agarwal A, Sharma R, Sabanegh E, 2010. New Generation Of Diagnostic Tests For Infertility: Review Of Specialized Semen Tests. *International Journal Of Urology*, 17, 10, 839-47.
- Schafer Fq, Buettner Gr, 2001. Redox Environment Of The Cell As Viewed Through The Redox State Of The Glutathione Disulfide/Glutathione Couple. *Free Radical Biology And Medicine*, 30, 11, 1191-212.
- Schrans-Stassen Bh, Saunders Pt, Cooke Hj, De Rooij Dg, 2001. Nature Of The Spermatogenic Arrest In Dazl-/- Mice. *Biology Of Reproduction*, 65, 3, 771-6.
- Sezgin H, Hocaoglu Ç, 2014. Infertilitenin Psikiyatrik Yönü/Psychiatric Aspects Of Infertility. *Psikiyatride Guncel Yaklasimler*, 6, 2, 165.
- Shalgi R, Seligman J, Kosower N, 1989. Dynamics Of The Tiyol Status Of Rat Spermatozoa During Maturation: Analysis With The Fluorescent Labeling Agent Monobromobimane. *Biology Of Reproduction*, 40, 5, 1037-45.
- Sharlip Id, Jarow Jp, Belker Am, Lipshultz L1, Sigman M, Thomas Aj, Schlegel Pn, Howards Ss, Nehra A, Damewood Md, 2002. Best Practice Policies For Male Infertility. *Fertility And Sterility*, 77, 5, 873-82.
- Shen C-C, Kang Y-H, Yu L, Cui D-D, He Y, Yang J-L, Gou L-T, 2014. Human Testis-Expressed Sequence 101 Is Limitedly Distributed In Germinal Epithelium Of Testis And Disappears In Seminoma. *Biological Research*, 47, 1, 52.
- Shum Wwc, Da Silva N, Mckee M, Smith Pj, Brown D, Breton S, 2008. Transepithelial Projections From Basal Cells Are Luminal Sensors In Pseudostratified Epithelia. *Cell*, 135, 6, 1108-17.
- Siu Mk, Cheng Cy, 2004. Dynamic Cross-Talk Between Cells And The Extracellular Matrix In The Testis. *Bioessays*, 26, 9, 978-92.
- Sleight Sb, Miranda Pv, Plaskett N-W, Maier B, Lysiak J, Scrable H, Herr Jc, Visconti Pe, 2005. Isolation And Proteomic Analysis Of Mouse Sperm Detergent-Resistant Membrane Fractions: Evidence For Dissociation Of Lipid Rafts During Capacitation. *Biology Of Reproduction*, 73, 4, 721-9.

- Smith T, Baker M, Connaughton H, Habenicht U, Aitken R, 2013. Functional Deletion Of Txndc2 And Txndc3 Increases The Susceptibility Of Spermatozoa To Age-Related Oxidative Stress. *Free Radical Biology And Medicine*, 65, 872-81.
- Soini Y, Kahlos K, Näpänkangas U, Kaarteenaho-Wiik R, Säily M, Koistinen P, Pääkkö P, Holmgren A, Kinnula V, 2001. Widespread Expression Of Thioredoxin And Thioredoxin Reductase In Non-Small Cell Lung Carcinoma. *Clinical Cancer Research*, 7, 6, 1750-7.
- Söderberg A, Sahaf B, Rosén A, 2000. Thioredoxin Reductase, A Redox-Active Selenoprotein, Is Secreted By Normal And Neoplastic Cells: Presence In Human Plasma. *Cancer Research*, 60, 8, 2281-9.
- Speroff L, Fritz Ma, Erk A, Günlü S, Bozdağ G, 2007. *Klinik Jinekolojik Endokrinoloji Ve Infertilite*, Güneş Tıp Kitabevleri, P.
- Spyrou G, Enmark E, Miranda-Vizuete A, Gustafsson J-Å, 1997. Cloning And Expression Of A Novel Mammalian Thioredoxin. *Journal Of Biological Chemistry*, 272, 5, 2936-41.
- Statement, A.P. (2014). Infertility Treatment As A Covered Health Insurance Benefit. *Journal Of Obstetric, Gynecologic, & Neonatal Nursing* 43: 264-5.
- Štefanková P, Kollarova M, Barak I, 2005. Thioredoxin—Structural And Functional Complexity. *Gen. Physiol. Biophys*, 24, 3-11.
- Stipoljev F, Vujisić S, Parazajder J, Hafner D, Ježek D, Sertić J, 2006. Cytogenetic Analysis Of Azoospermic Patients: Karyotype Comparison Of Peripheral Blood Lymphocytes And Testicular Tissue. *European Journal Of Obstetrics & Gynecology And Reproductive Biology*, 124, 2, 197-203.
- Sung J-H, Gim S-A, Koh P-O, 2014. Ferulic Acid Attenuates The Cerebral Ischemic Injury-Induced Decrease In Peroxiredoxin-2 And Thioredoxin Expression. *Neuroscience Letters*, 566, 88-92.
- Sutovsky P, Aarabi M, Miranda-Vizuete A, Oko R, 2015. Negative Biomarker-Based Male Fertility Evaluation: Sperm Phenotypes Associated With Molecular-Level Anomalies. *Asian Journal Of Andrology*, 17, 4, 554.
- Sutovsky P, Lovercamp K, 2011. Molecular Markers Of Sperm Quality.
- Syed V, Hecht Nb, 1998. Rat Pachytene Spermatocytes Down-Regulate A Polo-Like Kinase And Up-Regulate A Tiyol-Specific Antioxidant Protein, Whereas Sertoli Cells Down-Regulate A Phosphodiesterase And Up-Regulate An Oxidative Stress Protein After Exposure To Methoxyethanol And Methoxyacetic Acid. *Endocrinology*, 139, 8, 3503-11.
- Şen S, 2011. *İnfertil Kadınların Damgalanma Deneyimleri.*, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İzmir.
- Tagaya Y, Maeda Y, Mitsui A, Kondo N, Matsui H, Hamuro J, Brown N, Arai K-İ, Yokota T, Wakasugi H, 1989. Atl-Derived Factor (Adf), An Il-2 Receptor/Tac Inducer Homologous To Thioredoxin; Possible Involvement Of Dityol-Reduction In The Il-2 Receptor Induction. *The Embo Journal*, 8, 3, 757-64.
- Tajima K, Obata Y, Tamaki H, Yoshida M, Chen Y-T, Scanlan Mj, Old Lj, Kuwano H, Takahashi T, Takahashi T, 2003. Expression Of Cancer/Testis (Ct) Antigens In Lung Cancer. *Lung Cancer*, 42, 1, 23-33.
- Takayama T, Mishima T, Mori M, Ishikawa T, Takizawa T, Goto T, Suzuki M, Araki Y, Matsubara S, Takizawa T, (2005 B). Tex101 Is Shed From The Surface Of Sperm Located In The Caput Epididymidis Of The Mouse. *Zygote*, 13, 4, 325-33.
- Takayama T, Mishima T, Mori M, Jin H, Tsukamoto H, Takahashi K, Takizawa T, Kinoshita K, Suzuki M, Sato I, (2005 A). Sexually Dimorphic Expression Of The Novel Germ Cell Antigen Tex101 During Mouse Gonad Development. *Biology Of Reproduction*, 72, 6, 1315-23.
- Takayama T, Mishima T, Mori M, Jin H, Tsukamoto H, Takahashi K, Takizawa T, Kinoshita K, Suzuki M, Sato I, Matsubara S, Araki Y, Takizawa T, 2005. Sexually Dimorphic Expression Of The Novel Germ Cell Antigen Tex101 During Mouse Gonad Development. *Biology Of Reproduction*, 72, 6, 1315-23.

- Takayama T, Mishima T, Mori M, Jin H, Tsukamoto H, Takahashi K, Takizawa T, Kinoshita K, Suzuki M, Sato I, Matsubara S, Araki Y, Takizawa T, 2005. Sexually Dimorphic Expression Of The Novel Germ Cell Antigen Tex101 During Mouse Gonad Development. *Biology Of Reproduction*, 72, 6, 1315-23.
- Tanaka H, Iguchi N, Egydio De Carvalho C, Tadokoro Y, Yomogida K, Nishimune Y, 2003. Novel Actin-Like Proteins T-Actin 1 And T-Actin 2 Are Differentially Expressed In The Cytoplasm And Nucleus Of Mouse Haploid Germ Cells. *Biology Of Reproduction*, 69, 2, 475-82.
- Tapia A, Gangi Lm, Zegers-Hochschild F, Balmaceda J, Pommer R, Trejo L, Pacheco Im, Salvatierra Am, Henríquez S, Quezada M, 2007. Differences In The Endometrial Transcript Profile During The Receptive Period Between Women Who Were Refractory To Implantation And Those Who Achieved Pregnancy. *Human Reproduction*, 23, 2, 340-51.
- Taşçı E, Bolsoy N, Kavlak O, Yücesoy F, 2008. İnfertil Kadınlarda Evlilik Uyumu. *Türk Jinekoloji Ve Obstetrik Derneği Dergisi*, 5, 2, 105-10.
- Teitze C, 1957. Reproductive Span And Rate Of Reproduction Among Woman. *Fertil Steril*, 8, 89-97.
- Teskereci G, 2010. İnfertilite Tedavisi Gören Çiftlerde Yaşam Tarzının, Yaşam Kalitesine Etkisi, Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
- Tibodeau Jd, Benson Lm, Isham Cr, Owen Wg, Bible Kc, 2009. The Anticancer Agent Chaetocin Is A Competitive Substrate And İnhibitor Of Thioredoxin Reductase. *Antioxidants & Redox Signaling*, 11, 5, 1097-106.
- Tnsa, (2013). Türkiye Nüfus Ve Sağlık Araştırması İleri Analiz Çalışması. Bakanlığı Tk, Bakanlığı Ts.
- Tremellen K, 2008. Oxidative Stress And Male Infertility—A Clinical Perspective. *Human Reproduction Update*, 14, 3, 243-58.
- Tsukamoto H, Takizawa T, Takamori K, Ogawa H, Araki Y, 2007. Genomic Organization And Structure Of The 5'-Flanking Region Of The Tex101 Gene: Alternative Promoter Usage And Splicing Generate Transcript Variants With Distinct 5'-Untranslated Region. *Molecular Reproduction And Development: Incorporating Gamete Research*, 74, 2, 154-62.
- Tsukamoto H, Yoshitake H, Mori M, Yanagida M, Takamori K, Ogawa H, Takizawa T, Araki Y, 2006. Testicular Proteins Associated With The Germ Cell-Marker, Tex101: İnvolvement Of Cellubrevin İn Tex101-Trafficking To The Cell Surface During Spermatogenesis. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, 345, 1, 229-38.
- Udenfriend S, Kodukula K, 1995. How Glycosyl-Phosphatidylinositol-Anchored Membrane Proteins Are Made. *Annual Review Of Biochemistry*, 64, 1, 563-91.
- Urig S, Becker K. On The Potential Of Thioredoxin Reductase İnhibitors For Cancer Therapy. *Seminars İn Cancer Biology*, 452-65.
- Varma R, Mayor S, 1998. Gp1-Anchored Proteins Are Organized İn Submicron Domains At The Cell Surface. *Wallach Ee, Jaffe Sb, Jewelewicz R, 1991. The Basic Infertility Investigation. Fertility And Sterility*, 56, 4, 599-613.
- Walsh P, 2002. *Campbell's Urology*, Usa, Saunders, P.
- Walsh Pr, Vaughan E, Aj. Wein 2005. *Erkek İnfertilitesi*, Ankara, Nobel Tıp Kitabevi, P. 1475–515.
- Watanabe H, Kondoh G, 2011. Mouse Sperm Undergo Gp1-Anchored Protein Release Associated With Lipid Raft Reorganization And Acrosome Reaction To Acquire Fertility. *Journal Of Cell Science, Jcs*. 086967.
- Watanabe H, Kondoh G, 2011. Mouse Sperm Undergo Gp1-Anchored Protein Release Associated With Lipid Raft Reorganization And Acrosome Reaction To Acquire Fertility. *Journal Of Cell Science, Jcs*. 086967.
- Weichsel A, Gasdaska Jr, Powis G, Montfort Wr, 1996. Crystal Structures Of Reduced, Oxidized, And Mutated Human Thioredoxins: Evidence For A Regulatory Homodimer. *Structure*, 4, 6, 735-51.

- Weir Cp, Robaire B, 2007. Spermatozoa Have Decreased Antioxidant Enzymatic Capacity And Increased Reactive Oxygen Species Production During Aging In The Brown Norway Rat. *Journal Of Andrology*, 28, 2, 229-40.
- Who, 2001. Laboratory Manual Of The Who For The Examination Of Human Semen And Sperm-Cervical Mucus Interaction. *Annali Dell'istituto Superiore Di Sanita*, 37, 1, I.
- Witte A-B, Anestål K, Jerremalm E, Ehrsson H, Arnér Es, 2005. Inhibition Of Thioredoxin Reductase But Not Of Glutathione Reductase By The Major Classes Of Alkylating And Platinum-Containing Anticancer Compounds. *Free Radical Biology And Medicine*, 39, 5, 696-703.
- Wollman E, D'auriol L, Rimsky L, Shaw A, Jacquot J, Wingfield P, Graber P, Dessarps F, Robin P, Galibert F, 1988. Cloning And Expression Of A Cdna For Human Thioredoxin. *Journal Of Biological Chemistry*, 263, 30, 15506-12.
- Wood Za, Poole Lb, Karplus Pa, 2003. Peroxiredoxin Evolution And The Regulation Of Hydrogen Peroxide Signaling. *Science*, 300, 5619, 650-3.
- Wood Za, Schröder E, Harris Jr, Poole Lb, 2003. Structure, Mechanism And Regulation Of Peroxiredoxins. *Trends In Biochemical Sciences*, 28, 1, 32-40.
- Wright Vc, Schieve La, Reynolds Ma, Jeng G, 2005. Assisted Reproductive Technology Surveillance—United States, 2002. *Morbidity And Mortality Weekly Report: Surveillance Summaries*, 54, 2, 1-24.
- Yanagimachi R, 1994. Mammalian Fertilization. *The Physiology Of Reproduction*.
- Yanikkerem E, Kavlak O, Sevil Ü, 2008. İnfertil Çiftlerin Yaşadıkları Sorunlar Ve Hemşirelik Yaklaşımı. *Journal Of Anatolia Nursing And Health Sciences*, 11, 4.
- Yeh Et, Kamitani T, Chang Hm. Biosynthesis And Processing Of The Glycosylphosphatidylinositol Anchor In Mammalian Cells. *Seminars In Immunology*, 73-80.
- Yin L, Chung C, Huo R, Liu H, Zhou C, Xu W, Zhu H, Zhang J, Shi Q, Wong H, 2009. A Sperm Gpi-Anchored Protein Elicits Sperm-Cumulus Cross-Talk Leading To The Acrosome Reaction. *Cellular And Molecular Life Sciences*, 66, 5, 900-8.
- Yumru Ae, Öndeş B, 2011. İnfertil Çifte Yaklaşım Ve İn Vitro Fertilizasyon'a Doğru Hasta Seçimi.
- Zhang D, Penttilä T-L, Morris Pl, Teichmann M, Roeder Rg, 2001. Spermiogenesis Deficiency In Mice Lacking The Trf2 Gene. *Science*, 292, 5519, 1153-5.
- Zhang H, Wang S, Zhang S, Wang T, Deng X, 2014. Increasing Trend Of Prevalence Of Infertility In Beijing. *Chinese Medical Journal*, 127, 4, 691-5.
- Zhang P, Liu B, Seo Ms, Rhee Sg, Obeid Lm, 1997. Thioredoxin Peroxidase Is A Novel Inhibitor Of Apoptosis With A Mechanism Distinct From That Of Bcl-2. *Journal Of Biological Chemistry*, 272, 49, 30615-8.

7. EKLER

EK A:Etik Kurul Kararı,



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARARLARI

Toplantı Sayısı: 2018/06

Toplantı Tarihi : 21.03.2018

Karar Sayısı 2018/103 S.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Esma MENEVŞE'nin Erkek Bireylerin Açıklanamayan "İnfertiliterinde Tioredoksin Mekanizması ve Testis- İfade Protein 101 Düzeyleri" başlıklı araştırmasının değerlendirilme talebi ile ilgili 22.02.2018 tarihli dilekçesi ve ekleri görüşüldü.

Yapılan inceleme ve görüşmelerden sonra; Doç.Dr.Esma MENEVŞE'nin Erkek Bireylerin Açıklanamayan "İnfertiliterinde Tioredoksin Mekanizması ve Testis- İfade Protein 101 Düzeyleri" adlı araştırmasının kabulüne oy birliği ile karar verildi.



8. ÖZGEÇMİŞ

FATMA ZEHRA ERBAYRAM
Selçuk Üniversitesi
Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya AD

Doğum Tarihi ve Yeri: 07.07.1992 – Kadınhanı /TÜRKİYE
Medeni Hali: Bekar
Yabancı Diller: İngilizce
İletişim: f_zehra571@hotmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

2016–devam ediyor
(Yüksek Lisans Programı)

Selçuk Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Biyokimya ABD
Tez Çalışması: Erkek Bireylerin
Açıklanamayan İnfertiliterinde Tioredoksin
Mekanizması Ve Testis- İfade Protein 101
Düzeyleri
Eğitim Türü: Türkçe Eğitim
Mezuniyet Tarihi: Devam ediyor

2011–2016
(Lisans Programı)

Necmettin Erbakan Üniversitesi
Kimya Öğretmenliği bölümü
Eğitim Türü: Türkçe Eğitim
Mezuniyet Tarihi: Temmuz 2016

2012-2014
(Lisans Programı)

Anadolu Üniversitesi
İktisat Fakültesi
Eğitim Türü: Türkçe Eğitim
Mezuniyet Tarihi: Donduruldu

2012-2014
(ön Lisans Programı)

Anadolu Üniversitesi
İlahiyat Fakültesi
Eğitim Türü: Türkçe Eğitim
Mezuniyet Tarihi: Haziran 2014

2006-2010
(Lise Programı)

Karatay Anadolu İmam Hatip Lisesi
Eğitim Türü: Türkçe Eğitim
Yabancı Dil: Arapça-İngilizce
Mezuniyet Tarihi: Haziran 2010

1998-2005

(ilk ve ortaöğretim)

Mareşal Mustafa Kemal İlköğretim Okulu

ÇALIŞTIĞI KURUMLAR:

2016

Karaaslan Atatürk Ortaokulu ücretli DKAB Öğretmenliği

2014

öğreticisi

Kadınhanı Gölbaşı Cami Kur'an Kursu Fahri Kur'an Kursu

BİLİMSEL ÇALIŞMALAR:

Açıklanamayan Erkek İnfertilitesinde Tioredoksin Sistemi Mekanizması
(Seminer Sunumu,2017)

Poster Olarak Sunulan Bildiriler:

- 1) Menevşe,E., Sivrikaya, A.,Tok, M.,Dagli, M., **Erbayram F.Z** “Association Between Mean Platelet Volume Leves and Non-Hodgkin Lenfoma: A Retrospective Observational Study ”, Klinik Biyokimya Uzmanları Derneği, KONGRE & LAB EXPO, Antalya , 1-5 October 2017
- 2) Menevse E., Dursunoğlu D., Kose H., **Erbayram, F. Z.** , Sivrikaya, A.Alkol,S., “Association Between Nötrofil Lenfosit Ratio Levels and Semen Analysis ”, 1.Euroasia Biochemical Approaches Technologies congress , TURKEY, Antalya, 27-30 October 2018

ULUSLARARASI TOPLANTILARDA SUNULAN SÖZLÜ BİLDİRİLER

- 1) **Erbayram, F. Z.**, Menevse E., Dursunoğlu D, “May Semen Tex-101 SPTrx-3 Values A Biomarker In Evaluation Of The Infertile Male?” 5Th International Symposium On Multidisciplinary Studies (ISMS),TURKEY, Ankara,16-17 November 2018 (Tez Çalışmasından Yapılmıştır.)
- 2) Menevse E., **Erbayram, F. Z.** , Sevinç, R. , Kose H. , Dursunoğlu D., Sivrikaya, A. , “Are There Any Correlations Between Mean Platelet Volume, Platelet Levels and Sperm Parameters? ”, 1.Euroasia Biochemical Approaches Technologies congress , TURKEY, Antalya,27-30 October 2018

