

T.C.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**IUI SİKLUSLARINA GİREN HASTALARDA CİNSEL PERHİZ
SÜRESİNİN REAKTİF OKSİJEN RADİKALLERİ OLUŞUMU
ÜZERİNE ETKİSİ**

PROSPEKTİF ÇALIŞMA

UZMANLIK TEZİ

Dr. Yaman DEĞİRMENCİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ahmet ERDEM

ANKARA

HAZİRAN 2015

T.C.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

**IUI SİKLUSLARINA GİREN HASTALARDA CİNSEL PERHİZ
SÜRESİNİN REAKTİF OKSİJEN RADİKALLERİ OLUŞUMU
ÜZERİNE ETKİSİ**

PROSPEKTİF ÇALIŞMA

UZMANLIK TEZİ

Dr. Yaman DEĞİRMENCİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ahmet ERDEM

ANKARA

HAZİRAN 2015

TEŞEKKÜR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimim süresince bana emeği geçen tez danışmanım sayın hocam Prof. Dr. Ahmet Erdem'e, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. M. Anıl Onan'a, tezimin hazırlanmasındaki yardımlarından dolayı Prof. Dr. Mehmet Erdem'e, Prof. Dr. Nuray Bozkurt'a ve Prof. Dr. Mesut Öktem'e, çok değerli tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen, mesleki eğitimime büyük katkıları olan tüm saygı değer hocalarıma, hayatımın her anında yanımda olan ve her konuda bana destek ve yardımcı olan eşim Dr. Sinem Sevil Değirmenci'ye, sevgili aileme ve eşimin ailesine, değerli çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Saygılarımla

Dr. Yaman Değirmenci

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR	iv
ŞEKİLLER	v
TABLOLAR.....	vi
1.GİRİŞ.....	1
2. Genel Bilgiler	3
2.1. İnfertilite Tanımı, İnsidansı ve Etiyolojisi	3
2.1.1. İnfertilite Tanımı, İnsidansı.....	3
2.1.2. İnfertilite Etiyolojisi	4
2.2. Erkek infertilitesi	4
2.2.1 Erkek Üreme Fizyolojisi	4
2.2.2.Erkek İnfertilitesi Etiyolojisi.....	8
2.2.3. Erkek İnfertilitesine Yaklaşım	10
2.2.4. Erkek İnfertilitesinde Tedavi	21
2.3. Sperm DNA Hasarı	22
2.4. Oksidatif Stres.....	25
2.4.1. Reaktif oksijen radikalleri:.....	25
2.4.2. Reaktif oksijen radikalleri kaynakları:	26
2.4.3. Reaktif oksijen radikallerinin seminal plazmadaki fizyolojik rolleri: .	28
2.4.4. Reaktif oksijen radikallerinin patolojik rolleri:.....	29
2.4.5. Oksidatif stresin ölçümü	30
2.5. Cinsel perhiz:	34
3. MATERYAL VE METOD	35
3.1.Hasta Seçimi.....	35
3.1.1. Çalışmaya dahil olma kriterleri:.....	35

3.1.2. Bu çalışmada dahil edilmeme kriterleri ise şunlardır:	36
3.2. Hastaların cinsel perhiz sürelerine göre gruplandırılması, semen örneklerinin incelenmesi	36
3.3. Çalışmamızda Kullanılan Yöntemler.....	37
3.3.1. Gradient Yöntemi.....	37
3.4. Oksidatif Stresin Değerlendirilmesi:.....	37
3.5. İstatistiksel Değerlendirme.....	38
4.BULGULAR	40
5.TARTIŞMA.....	49
6. SONUÇLAR	59
7.KAYNAKLAR.....	62
8.ÖZET	80
9. SUMMARY	82
10.EKLER	84

KISALTMALAR

8-OHdG	: 8- oxo-7, 8- dihydro 2' deoxyguanosine
ATP	: Adenozin Tri- fosfat
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CASA	: Computer Aided Sperm Analyzer
CC	: Klomifen Sitrat
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
FMLP	: N- formil- metiyonin- lösin- fenilalanine
FSH	: Foliküler Stimulan Hormon
GnRH	: Gonadotropin Releasing Hormon
HMG	: Human Menapozal Gonadotropin
HPLC	: High Pressure Liquid Chromatography
IBT	: Immunobead Test
ICSI	: Intracytoplasmic Sperm Injection
IUI	: İntrauterin İnseminasyon
IVF	: İn Vitro Fertilizasyon
LH	: Lüteinizan Hormon
MAR	: Mixed Antiglobulin Reaksiyon
MDA	: Malondialdehid
NBT	: Nitroblue tetrazolium
ROS-TAC	: Reaktif Oksijen Radikalleri – Total Antioksidan Kapasite
WHO	: World Health Organization
YÜT	: Yardımcı Üreme Teknikleri

ŞEKİLLER

Şekil 1. Testis Yapısı. Speroff L, Fritz MA. Clinical Gynaecologic Endocrinology and Infertility. 8nd edition. 2011.....	6
Şekil 2. Erkek Genital Sistemi. Speroff L, Fritz MA. Clinical Gynaecologic Endocrinology and Infertility. 8nd edition. 2011.....	7
Şekil 3. Semen oksidatif stres düzeyinin OxiSperm® yöntemi ile gösterilmesi.....	32
Şekil 4. Sperm yıkama yönteminin sperm konsantrasyonu üzerine etkisi.....	42
Şekil 5. Sperm yıkama yönteminin sperm motilitesi üzerine etkisi.....	43
Şekil 6. Sperm yıkama yönteminin sperm ileri hareketlilik oranları üzerine etkisi.....	44

TABLÖLAR

Tablo 1. Erkek infertilitesi nedenleri.....	9
Tablo 2. Bilinen erkek infertilitesi nedenleri alt grupları	10
Tablo 3. Semen analizi normal referans değerleri (WHO, 5. Baskı, 2010).....	12
Tablo 4. Gruplara göre olguların demografik ve klinik özellikleri.....	40
Tablo 5. Sigara öyküsü olan ve olmayan gruplara göre olguların oksidatif stres açısından dağılımı.....	41
Tablo 6. Gruplara göre olguların sperm parametreleri.....	42
Tablo 7. Gruplara göre yıkama öncesi ve sonrası sperm konsantrasyonu, sperm motilitesi ve ileri hareket ölçümleri.....	44
Tablo 8. Yıkama öncesine göre yıkama sonrası sperm konsantrasyonu, sperm motilitesi ve ileri hareket ölçümlerindeki değişimler.....	45
Tablo 9. Gruplara göre olguların diğer klinik bulguları.....	46
Tablo 10. Gruplara göre olguların oksidatif stres açısından frekans dağılımı.....	47
Tablo 11. Gruplara göre olguların gebelik durumları yönünden dağılımı.....	47
Tablo 12. Lökosit pozitif ve negatif olan gruplara göre olguların oksidatif stres açısından frekans dağılımı.....	48
Tablo 13. Gebelik saptanan ve saptanmayan gruplara göre olguların oksidatif stres açısından frekans dağılımı.....	48

1.GİRİŞ

Fertilite, Latince “fertilis” kelimesinden köken alır ve üretken olma halini ifade eder. Aynı zamanda sperm kalitesinin, dölleyebilir özellikte olduğunu da gösterir (1).

İnfertilite ise çiftin 1 yıl boyunca kontraseptif yöntem kullanmadan düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebelik elde edememesi olarak tanımlanmaktadır (2). Düzenli cinsel ilişki ile sağlıklı çiftlerin yaklaşık %90’ ında 1 yıl içerisinde gebelik elde edilmektedir (3). Üreme çağındaki çiftlerin %10-15’ i infertil tanısı almaktadır. İnfertilitenin nedenleri arasında %20-40 erkeğe bağlı, %40-50 kadına bağlı nedenler sayılabilir. İnfertil çiftlerin %10-15 inde günümüz standart testleri ile bir neden ortaya konamamaktadır (4). Yaş infertilite sebeplerinin dağılımını etkileyen önemli bir faktördür (4).

İnfertil çiftlerin çoğu gerçekten steril değil subfertildir. 1 yıl korunmasız ilişkiye rağmen gebelik elde edemeyen çiftlere ileri değerlendirme yapılmalıdır. Fakat 1 yıllık infertilite değerlendirme için ön koşul değildir. İleri kadın yaşı, kötü sperm kalitesi şüphesi gibi bazı kötü prognostik faktörleri olan çiftlerde daha erken değerlendirme yapılmalıdır (5). Tedavisiz canlı doğum elde etme olasılığı artan yaş ve infertilite süresi ile azalmaktadır (6, 7).

Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT), infertilite sorununu çözmeye yönelik olarak geliştirilen birçok tekniği içerir. Bu yöntemlerden en yaygın olarak kullanılanları in vitro fertilizasyon (IVF) ve intrauterin inseminasyon (IUI) uygulamalarıdır (4).

Bağımsız olarak değerlendirildiğinde erkeğe bağlı nedenler çiftlerin %20’ sinde infertilitenin tek saptanan sebebi iken, %20-40’ ında ise erkek faktörün infertiliteye neden olan sebeplere eşlik ettiği bilinmektedir (8). Hafif fakat önemli erkek faktöründe intrauterin inseminasyon (IUI), daha ağır patolojilerde ise in vitro fertilizasyon (IVF) yöntemi gebelik elde etmek için kullanılabilir (4).

Erkek infertilitesi değerlendirilirken en önemli basamaklardan biri semen analizidir. Erkek faktörünün değerlendirilmesinde ilk olarak en az 4 hafta ara ile uygun yapılmış 2 semen analizinin olması gerekir (9). Semen analizi sonrası ortaya konmuş olan parametreler infertilitede erkek faktörünü çoğu zaman ortaya koysada bazı açıklanamayan infertil olgularda ve erkek faktörüne bağlı olgularda sebebi ortaya koymak için ek özel testler yapma gerekliliği doğmuştur.

Sağlıklı bir döllenme, genetik bilginin aktarımı, hücrenin canlılığının devamı ve normal fonksiyonu için spermatozoada deoksiribonükleik asit (DNA) bütünlüğünün tam olması gerekmektedir (10). Son 10 yılda daha kesin kanıtlara dayandırılan, sperm deoksiribonükleik asit (DNA) fragmentasyonunun değerlendirilmesi, semen kalitesini belirlemede önemli bir faktör olmuştur. İnfertil erkeklerin çoğunluğunda artmış sperm DNA hasarı saptanmaktadır (11). Güncel yayınlarda tüm standart semen parametreleri normal olsa da sperm DNA hasarının fazla olduğu olgularda fertilitenin kötü yönde etkilendiği ve yardımcı üreme teknikleri başarısının azaldığı gösterilmiştir (11-18). Semen ve sperm özellikle spermatogenez sırasında; kromatin paketlenmesi ve düzenlenmesi aşamasında, apoptoz sürecinde, depolanma sırasında ve sonrasında DNA hasarında neden olabilecek çok sayıda etken ile karşılaşmaktadır (19).

Seminal plazmada serbest oksijen radikalleri fizyolojik roller üstlenselerde, artmış oksidatif stres sperm DNA hasarına, hücresel boyutta patolojik değişimlere neden olabileceği gösterilmiş 3 ana etkenden birisidir (20). Spermin kendisi ve lökositler reaktif oksijen radikallerinin ana oluşum kaynaklarıdır. Artan cinsel perhiz süresi gibi çok sayıda çevresel ve kontrol edilebilir faktör semende reaktif oksijen radikalleri artışına sebep olarak DNA hasarının artmasına neden olabilmekte ve fertilitiyi kötü yönde etkileyebilmektedir (21) .

Bu çalışmanın amacı fertilite prognozunu etkilediği düşünülen sperm DNA hasarına sebep olan semen reaktif oksijen radikallerinin cinsel perhiz süresi ile ilişkisini basit, ucuz ve kolay uygulanabilen bir test olan OxiSperm® kiti

kullanarak araştırmaktır. Bu amaçla Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tüp Bebek Merkezi'ne başvuran intrauterin inseminasyon (IUI) sikluslarına dahil edilmesi planlanan infertil olgular 0-2 gün, 2-4 gün, 4 gün üzeri cinsel perhiz sürelerine göre 3 gruba ayrılmış ve Reaktif Oksijen Radikalleri yükü açısından karşılaştırılmıştır. Bu çalışmadan elde edilen bilgiler ile IUI sikluslarında ideal cinsel perhiz süresinin tanımlanması hedeflenmiştir.

2. Genel Bilgiler

2.1. İnfertilite Tanımı, İnsidansı ve Etiyolojisi

2.1.1. İnfertilite Tanımı, İnsidansı

İnfertilite: Çiftin 1 yıl boyunca kontraseptif yöntem kullanmadan düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebelik elde edememesi olarak tanımlanmaktadır (2). İnfertilite daha önce hiç gebelik elde edilmemiş olması olarak ifade edilen 'primer infertilite' ve daha önce gebelik elde edilmiş fakat son 1 yıldır yeni gebelik elde edememek olarak ifade edilen 'sekonder infertilite' olarak 2 ana başlığa ayrılabilir. Düzenli cinsel ilişki ile sağlıklı çiftlerin yaklaşık %90' ında gebelik elde edilmektedir (3). Geri kalan çiftlerin yaklaşık %5' i devam eden 1 yıl içerisinde gebe kalabilmektedir. Üreme çağındaki çiftler %10-15 oranında infertil tanısı almaktadır. İnfertilitenin sıklığı ve nedenleri bir toplumdan diğerine farklılık gösterebilir. İnfertilitenin nedenleri arasında %20-40 erkeğe bağlı, %40-50 kadına bağlı nedenler sayılabilir. İnfertil çiftlerin %10-15 inde günümüz standart testleri ile bir neden ortaya konamamaktadır (4).

Fekundabilite: Bir siklusun gebelikle sonuçlanma olasılığıdır. Normal çiftlerde % 20- 25 olarak bildirilmiştir (2).

Fekundite: Bir siklusun canlı doğumla sonuçlanabilme ihtimalidir. Fekundite oranı her zaman fekundabilite oranından düşüktür (22).

2.1.2. İnfertilite Etiyolojisi

Genel algının aksine infertilitenin toplam sıklığı geçen zamanla birlikte değişmemekte ve benzer kalmaktadır. Genel değişim infertiliteye yaklaşımda ve infertiliteye neden olan patolojilerle baş etme yöntemlerinde olmuştur. Detaylandırıldığı zaman başlıca infertilite nedenleri erkeğe bağlı sebepler (%35), tubal ve pelvik patolojiler (%35), ovulatuvar işlev bozuklukları (%15) ve açıklanamayan subfertilite (%15) olarak bildirilmiştir (23). İn vitro fertilizasyon (İVF) ve diğer yardımcı üreme tekniklerinin (YÜT) kullanılması ile özellikle tubal, peritoneal faktör ve erkek infertilitesine sahip çok sayıda çiftin prognozu iyileşmiştir.

2.2. Erkek infertilitesi

Son 20 yılda erkek üreme sisteminin anlaşılması ve infertilitede erkek faktörünün öneminin ortaya konması nedeni ile erkek infertilitesi ve yaklaşımı ile ilgili tedavilerde gelişmeler hızlanmıştır. Hafif fakat önemli erkek faktöründe intrauterin inseminasyon (IUI), daha ağır patolojilerde ise in vitro fertilizasyon (IVF) yöntemi gebelik elde etmek için kullanılabilir (4).

2.2.1 Erkek Üreme Fizyolojisi

Erkek üreme sisteminde testis, epididim, vas deferens, postat, seminal vezikül, ejakulatuar kanal, bulboüretal gland, ve üretra kısımları bulunur. Testiste bulunan sertoli ve leydig hücre grupları gonadotropin duyarlıdır. Leydig hücreleri (LH) luteinize edici hormon uyarımı ile testesteron salgırlar. Sertoli hücreleri spermatogenez için kaynak olan seminifer tübüllerde bulunurlar ve (FSH) folikül stimule edici hormon uyarısı ile testesteron ile beraber spermatogenezini stimüle ederler (24).

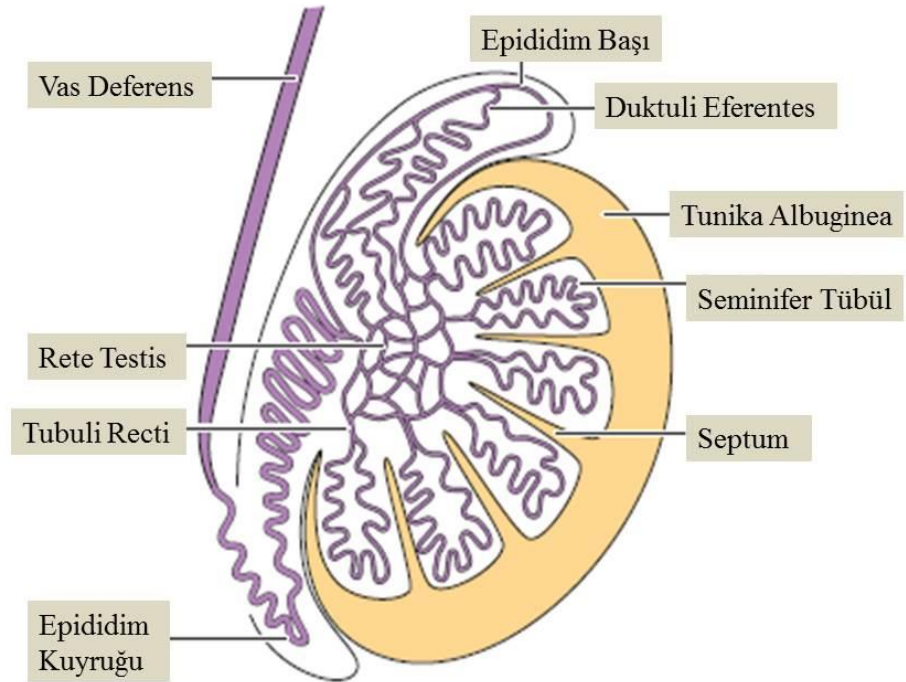
A) Spermatogenez, spermiyogenez:

İnsan fizyolojisinde embriogenez sırasında genital katlantıya germ hücresi göçü olur. Erkek embrioda her bir gonadda yaklaşık 300.000 spermatogonya bulunur. Spermatogonyalar mitoz bölünme ile çoğalmaya devam ederler ve üreme hayatı boyunca erkekte toplam 1 trilyon civarında sperm üretimi olur (25). Spermatogonyalardan matür sperm oluşması için gereken süre yaklaşık 75 gündür. İnsanlarda her 16 günde bir yeni spermatogonya kohortu spermatogenez için sıklusa girmektedir (26). Spermatogenez 3 faza ayrılabilir; ilk faz mitotik fazın olduğu spermatogonial fazdır, ikinci faz mayoz bölünmenin olduğu spermatosit fazıdır, üçüncü ve son faz spermatidlerin matür spermatozoaya dönüştüğü spermiyogenez fazıdır. Spermatogenezin başlaması ile spermatogoniadan primer spermatosit oluşur ve spermatosit mayoz bölünmeye girerek 2 haploid (23 kromozomlu) spermatidi oluşturur. Mayoz bölünme sırasında potansiyel spermilerin yaklaşık yarısı apoptoz ile kaybedilir (27). Spermatidlerin olgunlaşma sürecinde (spermiyogenez) çekirdekleri yoğunlaşır, flagellum şekillenir ve golgi kompleksinden oluşan akrozom meydana gelir (28). Spermiyogenez sırasında spermilerin sitoplazmasındaki kayıp nedeni ile spermier antioksidan enzim aktivitelerinin çoğunu kaybeder ve oksidatif strese duyarlı hale gelirler (29). Olgun sperm seminifer tübüllerden epididime taşınır. Spermatozoalar yaklaşık 10 gün epididimde progresif hareket kazanırlar ve olgunlaşmaya devam ederler (30). Ardından olgun spermier vas deferense taşınır (31).

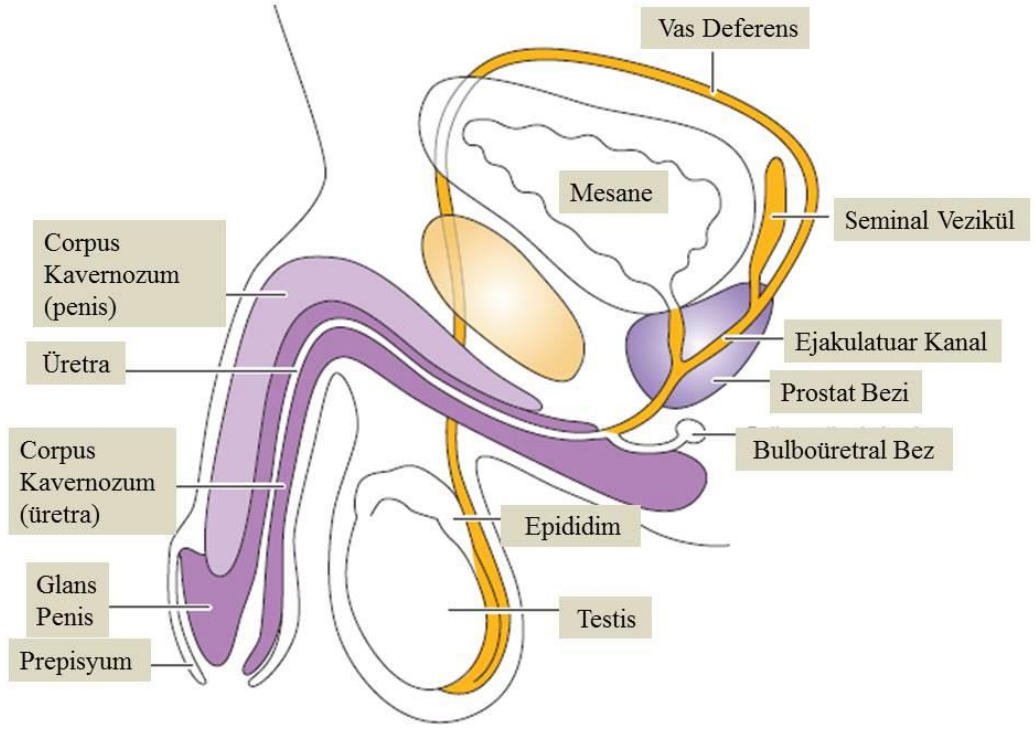
B) Sperm transportu:

Erkekte spermatozoalar dölleme özelliğini kazanmadan önce epididimde matüre olur ardından dişi genital kanalda kapasitasyon (fertilizasyon yeteneğinin kazanılması için gereken son basamak) özelliğini kazanırlar (32). Epididimis sperm maturasyon sürecinde önemli bir yer tutmaktadır. Epididim dört bölümden oluşmaktadır; ilk kısım maturasyonun başlangıç yeri olan kaput, son kısım ise maturasyonun tamamlandığı ve depolanmanın olduğu kaudadır (33). Sperm

epididime geçince motilite ve dölleme yeteneğini büyük oranda kazanmaktadır. Deneysel olarak, epididim başından alınan spermier ovumu fertilize edemezken; epididim kuyruk bölümünden alınan spermier edebilmektedir. Bu da spermierin fertilizasyon yeteneklerini epididimde kazandıklarını göstermektedir (34). Sperm deposu kabul edilen epididim skrotum içerisinde çevresel değışkenlere maruziyet açısından yüksek risk altındadır. Depolanma esnasında sperm fonksiyonlarının korunması yeterli testosteron düzeylerine ve normal skrotal ısının sürdürülmesine bağıdır (35). Ejakulasyon sırasında vas deferense taşınmış olan matur spermatozoalar prostat sıvısı, seminal vezikül ve bulboüretal bezlerin salgısı ile birleşerek vücut dışına atılırlar. Vücut dışında jel kıvamında olan spermatozoa ve seminal plazma prostat sıvısı yardımı ile ortalama 20-30 dakika içerisinde likefiye olup daha akışkan hale gelir (36).



Şekil 1: **Testis Yapısı.** Speroff L, Fritz MA. Clinical Gynaecologic Endocrinology and Infertility. 8nd edition. 2011.



Şekil 2: **Erkek Genital Sistemi.** Speroff L, Fritz MA. Clinical Gynaecologic Endocrinology and Infertility. 8nd edition 2011.

C) Kapasitasyon ve Fertilizasyon:

Ejakulasyon sonrası sağlıklı erkeklerde vajene dökülen yaklaşık 200-300 milyon spermin çoğu kaybedilmekte yalnızca birkaç yüz tanesi oosite ulaşmaktadır (37). En büyük kayıp vajende olmakta, ayrıca üreme kanalı boyunca spermin fagositozu ve peritoneal kavitede kayıp gibi etkenlerde sperm kaybına neden olmaktadır (4). Spermin oositi dölleme yeteneği kazanması yani kapasitasyon dışı genital sisteminde spermler vajene döküldükten sonra başlar. Spermin yüzey lipidlerinin, glikoproteinlerinin modifiye olması, tirozin fosforilasyonu ve hücre içine kalsiyum girişi gibi değişiklikler kadın genital

sisteminde meydana gelen kapasitasyonun bir parçasıdır (38). Kapasitasyon sırasında zona penetrasyonu için gerekli olan sperm hipermotilitesi kazanılmakta ve oosit plazma membranı füzyonu için zona pellusida proteinleri ile indüklenen akrozom reaksiyonu meydana gelmektedir (39, 40). Kapasitasyon her ne kadar dişi genital sistemine ihtiyaç duysada yardımcı üreme tekniklerinde (YÜT) in-vitro uygun medyumlar kullanılarak kapasitasyon sağlanabilmektedir (4).

İnsan oositlerinin ovulasyon sonrası yaşam süresi yaklaşık 12-24 saattir, sperm için ise dölleyebilir olma süresi 48-72 saat arasındadır. Gebeliklerin çoğu ovulasyon öncesindeki 3 gün içerisinde gerçekleşen koituslarla olmaktadır (4, 41).

Ejakulasyon sonrası tuba uterinanın ampulla bölgesine ulaşır oosit ile karşılaşması kapasitasyon aşamasında kazanılan bazı kemotaktik değişimler ile olmaktadır (42).

Oosit çevresinde ovum ve granuloza hücreleri tarafından oluşturulan glikoprotein tabaka spermin bağlanması için reseptörler barındırır. ZP3 reseptörü spermin bağlandığı ana reseptördür. Sperm ve zona pellucida bağlanması akrozom reaksiyonunu tetikler (29). Sperm oosit plazma membranına bağlandıktan sonra özellikle ZP2 glikoproteini polisperminin önlenmesinde etkin olan, oolemma'nın depolarizasyonu ve multipl sperm girişini önleyen zona reaksiyonunu tetiklemektedir (29, 43).

Zona pellucidaya penetrasyon sonrası, oolemma ve sperm plazma membranı füzyonu gerçekleşir. Pronükleusların birleşimi sonrası kromozomlar tek diploid zigotu oluştururlar.

2.2.2. Erkek İnfertilitesi Etiyolojisi

Erkek faktörü infertil çiftin yaklaşık %20' sinde saptanabilen tek sebeptir. %20-40 hastada da bahsedildiği gibi infertiliteye neden olan faktörlere eşlik etmektedir (22).

Tablo 1. Erkek İnfertilitesi Nedenleri (44)

Saptanamayan sebepler	%48.5
İdiopatik anormal semen	%26.4
Varikosel	%12.3
Enfeksiyonlar	%6.6
İmmünolojik sebepler	%3.1
Diğer kazanılmış sebepler	%2.6
Konjenital sebepler	%2.1
Seksüel sebepler	%1.7
Endokrin sebepler	%0.6

Erkek infertilitesinin nedeni yüksek oranda idiopattiktir. Erkek infertilitesi nedenleri hipotalamik-hipofizer yani pretestiküler (%1-2), primer testiküler (%30-40), sperm transport bozuklukları yani posttestiküler (%10-20) ve idiopatik (%40-50) olarak 4 ana başlıkta sınıflandırılabilir (4). Tablo 2’de erkek infertilitesinin bazı sebepleri sınıflandırılmıştır.

Pretestiküler nedenlerden en sık görüleni idiopatik izole gonadotropin eksikliğidir (45). Pretestiküler nedenler sıklıkla medikal tedavi edilirler ve diğer sebeplere göre infertilite tedavisinde daha iyi prognoza sahiptirler. Testiküler sebepler sıklıkla gonadal yetmezliğe neden olurlar. Primer gonadal yetmezliğin

(hipergonadotropik hipogonadizm) en sık sebebi 1000 erkekten birini etkileyen Kleinfelter sendromudur (46). Testiküler sebepler sıklıkla ciddi testiküler hasara neden olur ve hastalar genelde kötü prognoza sahiptirler (4). Posttestiküler nedenler arasında sıklıkları değişken olan kistik fibrozis (%1- 2), Kartagener sendromu gibi genetik kökeni olan patolojilerde mevcuttur (47, 48).

Tablo 2. **Bilinen erkek infertilitesi nedenleri alt grupları (4).**

Pretestiküler	İzole gonadotropin eksikliği, Gonadotropin reseptör patolojileri, Hipotalamik ve hipofizer tümörler, Hipotalamus ve hipofizin infiltratif hastalıkları, GnRH (Gonadotropin releasing hormon) analogları, Androjenler, Hiperprolaktinemi, Glukokortikoidler, Opiatlar, Kronik hastalıklar, Kafa travması, Malnutrisyon, Obezite vb.
Testiküler	Kleinfelter sendromu, Y kromozom delesyonları, Tek gen mutasyonları ve polimorfizmi, Kriptorşidizm, Varikosel, Enfeksiyonlar, İlaçlar, Çevresel faktörler vb.
Posttestiküler	Epididimal obstrüksiyon veya disfonksiyon, Kistik fibrozis, Enfeksiyonlar, Kartagener sendromu, Young sendromu, Ejakulatuar disfonksiyonlar vb.

2.2.3. Erkek İnfertilitesine Yaklaşım

İnfertilite tanısı konan çiftte erkek eşin değerlendirilmesine kadın değerlendirmesi ile eş zamanlı başlanmalıdır (7). **Değerlendirmede ilk olarak**

‘detaylı öykü’ sorgulanmalı ve fizik muayene yapılmalı, ardından semen analizi ve hormon profili incelenmelidir.

Erkek infertilitesinin değerlendirilmesi jinekolog tarafından yapılıyorsa yapılacak olan fizik muayene, ilk semen analizi sonuçlarına ve anamnezde fizik muayenede saptanacak patoloji şüphesi uyandıracak öykü yoksa ertelenebilir (7). Fizik muayeneyi gerektirecek durum var ise muayene ürolog veya bu konuda eğitim almış deneyimli jinekolog tarafından yapılabilir.

A) Semen analizi:

İnfertil çiftte erkek faktörü değerlendirilmesinde en önemli basamaklardan biri semen analizidir. Semen analizinde fertil erkeklerin semen parametreleri temel alınarak belirlenen 5 persentil olan alt sınırlar Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 2010 yılında tekrar revize edilmiştir (36). Anormal sperm parametreleri infertiliteyi veya normal sperm parametreleri fertilitiyi kesin olarak kanıtlamasa da (36), referans kabul edilen değerlere göre anormal semen parametreleri saptanınca genellikle infertilite sebebi erkek faktör olarak öngörülür (49).

Semen parametreleri zaman içinde hatta mevsimsel bile farklılık gösterebilmektedir (50, 51). İnfertilitede erkek faktörü değerlendirilirken en az 4 hafta ile alınmış iki farklı semen analizi yapılmalıdır (49).

Tablo 3. Semen analizi normal referans değerleri (WHO, 5. Baskı, 2010) (52).

Görünüm	Homojen, gri- opak
Volüm (ml)	> 1, 5 (% 95 CI: 1, 4- 1, 7)
Ph	7, 2- 8. 0
Viskosite	< 3
Sperm sayısı (Spermatozoa / ml)	> 15 x 10 ⁶ (%95 CI: 12- 16)
Total sperm sayısı (Spermatozoa / ml)	> 39 x 10 ⁶ (% 95 CI: 33- 46)
Total Hareketlilik (progresif+ nonprogresif)	> % 40 (% 95 CI: 38- 42)
Progresif hareketlilik	% 32 (% 95 CI: 31- 34)
Progresif hareketli sperm sayısı (spermatozoa / ml)	> 3 x 10 ⁶
Morfoloji	>% 4 normal (% 95 CI: 3- 4)
Vitalite	> % 58 (% 95 CI: 55- 63)
Peroksidaz pozitif lökosit sayısı (x 10 ⁶ / ml)	< 1
İmmünobead test	< % 50 partikülle kaplı sperm
MAR testi	< % 50 partikülle kaplı sperm
Çinko (mmol/ ejakülat)	> 2, 4
Fruktoz (mmol/ ejakülat)	> 13
Alfa – glukozidaz (nötral) (mU/ ejakülat)	>20

WHO parametrelerine göre sperm analizi terminolojileri ve sebepleri (53, 54)

1. Aspermi: Ejakülat yokluğu anlamına gelir. Retrograd ejakülasyon, vasküler nedenler, hormonal nedenler ve seksüel disfonksiyonlar aspermiye neden olabilir.

2. Hipospermi: Ejakulatın 1,5 ml' den az olması anlamına gelir. Prostat bezi, seminal vezikül ve vas deferensin enfeksiyonu, travma, tümörler, androjen eksikliği, ejakülatör kanalların tıkanıklıkları ve retrograd ejakülasyon, hipospermi nedeni olabilir.

3. Hiperspermi/ polizoospermi: Sperm konsantrasyonunun 250 milyon/ml'den fazla olmasıdır. Prostat ve seminal veziküllerin enfeksiyonunda veya cinsel ilişkinin seyrek olması durumunda görülebilir.

4. Ejakulatta koagülasyon bozukluğu: Ejakülatın koagüle olmaması durumudur. Seminal vezikül patolojilerinde görülür.

5. Ejekülatta likefaksiyon bozukluğu: Ejakülatın likefiye olmaması durumudur. Prostat ve bulbo- üretral bezin patolojilerinde görülür.

6. Azospermi: Ejakulatta sperm yokluğu anlamına gelir. Genetik bozukluklar, germinal aplazi, bilateral vas deferens yokluğu ve ejakülatör kanallarda tıkanıklıklar azospermi nedeni olabilir.

7. Oligozoospermi: Sperm konsantrasyonunun 15 milyon/ ml' nin altında olmasıdır.

a. Hafif Oligozoospermi: Sperm konsantrasyonunun 5- 15 milyon/ ml' nin arasında olmasıdır.

b. Şiddetli Oligozoospermi: Sperm konsantrasyonunun 5 milyon/ ml' nin altında olmasıdır. Sistemik ve genital enfeksiyonlar, kromozomal bozukluklar, inmemiş testis, ilaçlar, kronik sistemik hastalıklar oligozoospermi nedeni olabilmektedir, fakat sıklıkla idiopatiktir.

8. Astenozoospermi: İleri hareketli spermatozoa oranının $< \% 40$ olması ya da ileri hızlı hareketli spermatozoa oranlarının $< \% 32$ olması anlamına gelir. Pek çok konjenital (Kartegener Sendromu) ve akkiz nedenlerle (enfeksiyon, ilaç, ısı) oluşabilir.

9. Teratozoospermi: Normal spermatozoa morfolojisinin belirli bir oranın altında ($< \%4$) olması anlamına gelir. Kromozomal bozukluklar, toksik maddeler, seminal kanallarda deformasyon ve epididim enfeksiyonu gibi sebepler teratozoospermiye neden olabilir.

10. Astenoteratozoospermi: Spermilerin motilite ve morfolojik incelemesinin her ikisinde normal sınırların altında olmasıdır.

11. Oligoastenoteratozoospermi: Spermilerin sayı, motilite ve morfolojik incelemesinde üçünün birden normal sınırların altında olmasıdır.

12. Nekrozoospermi: Numunenin $\% 25'$ ten fazla ölü sperm hücresi içermesi anlamına gelir. İdiyopatik olabildiği gibi; toksik maddelerle temas, Kartagener Sendromu ve cinsel ilişki sıklığında azalma nedeniyle de oluşabilir.

Semen, ejakulasyon öncesi epididimde depolanmış olan spermium ve $\%90$ oranda aksesuar genital kanal bezlerinin (seminal vezikül, prostat, cowper bezi) salgılarından oluşmaktadır (55). Semen değerlendirmesinde 3 önemli nokta vardır. Total sperm sayısı testiküler fonksiyonları ve ejakülatör kanal devamlılığının göstergesi, total semen miktarı aksesuar gland fonksiyonlarının göstergesi olarak kabul edilebilir. Spermatozoanın doğası (vitalitesi, morfolojisi, motilitesi) ve seminal plazmanın kompozisyonu da fertilizasyon için önemlidir.

Fizyolojik süreçte ejakulasyon sonrasında semen prostatik içerikteki proteazlar yardımı ile likefiye edilir.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2010 klavuzuna göre semen analizinde şu sıralar takip edilmelidir (36).

- **İlk 5 dakika:** Spesimen likefaksiyon için inkübatörde veya uygun ortamda (37 °C) bekletilmelidir.
- **30. ve 60. Dakikalar arası:**
 - Semen likefaksiyonunun ve görünümünün değerlendirilmesi
 - Semen volümünün değerlendirilmesi
 - Semen Ph'ının değerlendirilmesi (gerekliyorsa)
 - Mikroskopik değerlendirme (vitalite, motilite, morfoloji)
 - Sperm sayısının hesaplanması için dilüsyonunun yapılması
 - Mixed antiglobulin reaksiyon testinin (MAR) yapılması (gerekliyorsa)
 - Peroksidaz pozitif hücrelerin belirlenmesi (yuvarlak hücreler var ise)
 - İmmunobead testi için spermatozoaların hazırlanması (gerekliyorsa)
 - Semen santrifüjü (biyokimyasal belirteçler taranacaksa)
- **İlk 3 saat içerisinde:** Gerekiyorsa örnekler mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilmelidir.
- **4 saat sonrasında:** Morfolojinin değerlendirilmesi için sürüntülerin hazırlanması
- **Daha sonra veya materyal donduruldu ise birkaç gün sonra**
 - İndirekt immunobead testi yapılması (gerekliyorsa)
 - Aksesuar bez belirteçleri taraması (gerekliyorsa)

Semen toplanması:

Semen analizi için alınan materyal DSÖ klavuzuna göre evde veya seksüel birleşme sırasında kondom ile toplanabilir. Önerilen yöntem ise semenin laboratuvar yakınında semen toplanması için özellikle oluşturulmuş bir odada

toplanmasıdır (36). Semen mastürbasyon ile elde edilmeli; temiz, spermatozoa için toksik olmayan maddeden yapılmış olan cam veya plastik bir kaba toplanmalıdır. Semen toplama odası uygun ısıda ve uygun çevresel koşullara (ses, temizlik) sahip olmalıdır. **DSÖ tarafından semen analizi öncesi önerilen cinsel perhiz süresi 2-7 gün arasındır.** Önerilenden kısa cinsel perhiz sürelerinde semen volümü ve yoğunluğu azalmakta fakat motilite ve morfoloji üzerine olumsuz etki saptanmamaktadır (56). Daha uzun cinsel perhiz sürelerinde ise semen volümü ve yoğunluğu artmakta fakat anormal morfolojiye sahip, hareketliliği ve canlılığı azalmış spermatozoa sayısı artmaktadır (57, 58). Fakat aşağıda daha detaylı bahsedileceği gibi DSÖ tarafından önerilen cinsel perhiz süresinin dayandırıldığı kesin kanıtlar yoktur (59).

Makroskobik inceleme:

Semenin ilk olarak hacmi değerlendirilebilir. DSÖ kriterlerine göre semen hacmi 1.5 ml üzerinde olmalıdır. Koagülüm halindeki ejakulatın likefiye olması ortalama 10-20 dak içerisinde gerçekleşir. Likefaksiyon devam ettikçe semen daha sulu (visköz) hale gelir. Likefaksiyon süresi nadiren 60 dakika veya daha uzun sürebilir. Likefaksiyon, normal prostat fonksiyonunun bir göstergesidir(60). Prostata bağlı patolojilerde likefaksiyon süresi uzar. Viskozite akışkanlık anlamına gelir. Genital sistem enfeksiyonları, antisperm antikorlar vb. hiperviskozite nedeni olabilir (61), hipervizkozite ise astenospermi nedeni olabilmektedir (62, 63). Normal olarak likefiye olmuş olan semenin homojen gri-opak bir görüntüsü vardır.

Mikroskobik inceleme:

- Konsantrasyon:

Sperm konsantrasyonu mililitrede bulunan sperm sayısıdır. Fertilite için gereken sperm konsantrasyonu sınırı 15 milyon/ml olarak kabul edilmektedir (52). 15 milyon/ml altındaki sperm konsantrasyonları kötü fertilite prognozu ile ilgili

iken 15 milyon/ml üzerindeki konsantrasyonun fertilite prognozunu arttırdığına dair kesin kanıtlar yoktur (64). Bazı kaynaklara göre ise de konsepsiyon ihtimali konsantrasyon 40-50 milyon/mililitre olana dek artar, üzerinde ise değişmez (65, 66). Konsantrasyon 5milyon/ml altında ise ciddi oligospermi olarak adlandırılır. Ciddi oligospermide endokrinolojik ve genetik tarama yapılmalıdır. Total sperm sayısı basitçe volüm ile konsantrasyon çarpımı ile hesaplanabilir. Ejakülatta hiç spermin olmamasına azospermi denir ve prevelansı tüm erkeklerde yaklaşık %1, infertil erkekler arasında ise %10-15 kadardır (67). Tanı koymak için semen örneği yüksek derecede santrifüj edilir ve pellet yüksek büyütmede (400X) incelenir. Sperm yokluğu en az iki incelemede ispatlanmalıdır.

- Sperm motilitesi:

Sperm motilitesi fertilizasyon ve gebelik için gerekli önemli faktörlerden biridir. Sperm motilitesi 0 (hareketsiz), 1 (ileri hareket olmadan yerinde titreşim), 2 (ileri yavaş hareket), 3(orta hızda ileri hareket), 4(hızlı ileri hareket) olarak sınıflandırılır. DSÖ kriterlerine göre motilite progresif motil (3-4), non-progresif motil (1-2) ve immotil (0) olarak 3'e ayrılır. DSÖ 2010 normal spermiogram kriterlerine göre progresif motilite en az %32 olmalıdır (52). Konsepsiyon ihtimali motilitenin %60' a yaklaşması ile artar (65). Sperm motilitesi aynı zamanda vitalitenin yani spermin canlılığının güvenilir bir göstergesidir. Sperm motilitesinin azalması astenozoospermi olarak adlandırılır.

- Sperm vitalitesi:

Sperm vitalitesi spermin canlı olduğu anlamına gelir ve en az %58 oranda olmalıdır. Sperm motilitesi vitalite tayini için iyi bir göstergedir. Sperm vitalitesi kötü erkek prognozuna sahip olan çiftlerde önemlidir (4).

- Sperm morfolojisi:

Sperm morfolojisi spermatogenezin kalitesini yansıtır (4). Kruger ve arkadaşları 1986 yılında spermatozoanın morfolojisini değerlendirmek için baş, gövde ve kuyruk kısmının değerlendirildiği 'Strict Tygerberg' kriterlerini sunmuşlardır (68, 69). Kruger kesin kriterlerinde belirtilen normal morfoloji sınırı WHO'nun son sınıflamasında %4 olarak kabul edilmiştir. Anormal sperm morfolojisi teratozoospermi olarak adlandırılır, kötü fertilizasyon prognozu ile beraberdir. Sperm morfolojisi strict normal standart kriterlerine göre değerlendirildiğinde, in vitro fertilizasyon etkinliği morfolojik normal sperm yüzdesi ile ilişkilidir (68- 70). Konvansiyonel fertilizasyon oranları morfoloji %14 ve daha yüksek ise en yüksek %4 ve altında ise en düşüktür (4). Yeterli değerlendirme için en az 200 adet spermatozoa değerlendirilmelidir.

Normal Kruger kriterleri için (68,69) :

Baş: Oval konfigürasyonda, uzunluğu 5-6 µm, genişliği 2.5- 3.5 µm olmalıdır. Akrozom sperm başının %40-70' ini kaplamalıdır.

Gövde: İnce, başın uzun eksenini boyunca bağlanmış olmalıdır. Sitoplazmada damlacık içermeyen, sperm başından %50' den daha büyük boyut özelliklerine sahip olmalıdır.

Kuyruk: Tek, kırıksız, düz ve yaklaşık olarak 45 µm uzunluğunda olmalıdır.

Prognoza göre 2'ye ayrılır:

İyi prognoz (G pattern): Normal morfolojili sperm oranı %5-14 arası

Kötü prognoz (P patern): Oran %4'den azdır.

Kruger kesin kriterlerinde belirtilen normal morfoloji sınırı WHO'nun son sınıflamasında %4 olarak kabul edilmiştir.

Tüm semen parametrelerinin fertilizasyon üzerine etkisi olmakla birlikte, erkek infertilitesi olasılığı subfertil semen parametreleri (morfoloji, motilite, konsantrasyon vb.) sayısına göre artar; bir tanesi anormal ise 2-3 kat artar ve eğer 3 tanesi anormal ise 16 kat artar (65). Çoğu zaman semen parametreleri anormal olduğunda bile spermin dişi ovumuna efektif olarak bağlanabildiğini, penetre edebildiğini ve dölleyebildiğini anlayabilmek için ek özel testlere ihtiyaç duyulur (4).

Özel testler;

- **Sperm otoantikorları:** Doğal olarak kan-testis bariyeri spermleri antikorlara karşı korur fakat ductus obstrüksiyonu, genital enfeksiyonlar, testiküler torsiyon, travma ve testiküler cerrahi gibi durumlarda bariyer bozularak sperm otoantikorları artabilir (71). Sperme bağlanmış olan antikorlar klinik olarak anlamlıdır, sperm motilitesini etkiler veya fertilizasyonu önler (72, 73). Sıklıkla kullanılan iki yöntem; MAR testi (Mixed Antiglobulin Reaction Test) ve IBT (Immunobead Test) dir.

- **Sperm penetrasyon testi:** Sperm penetrasyon testinde kobaylardan toplanan oositler ile yıkanmış insan spermi ile inkübe edildiğinde; sperm tarafından penetre edilen oosit oranları veya oositi penetre eden sperm sayısı fertilitesi bilinen kişilerden alınan spermler ile karşılaştırılır (74). Test zaman alıcı pahalı ve kullanışsızdır (4).

- **İnsan zonasına bağlanma testi:** Sperm penetrasyon testleri zonası olmayan oositler ile yapılır bu yüzden zona pellucidaya bağlanma yeteneğini test etmezler. İnsan zonası bağlanma testleri çıkarılmış over dokusundan alınmış zona kullanılarak fertil kontrol grubu ve test vakalarını karşılaştırır (75).

- **Bilgisayar yardımlı sperm analizi (CASA):** Kesin, otomatize, objektif sperm konsantrasyonu ve hareket karakteristikleri (hız ve kafa hareketleri) değerlendirilmesini sağlar. Sonuçlar örneklerin hazırlanması, alınan resim sayısı ve konsantrasyona bağlıdır (76).

- **Akrozom reaksiyonu:** Akrozom zona pellucida penetrasyonu için normal fonksiyon göstermesi gereken yapıdır. İnfertil erkeklerde spontan akrozom reaksiyonu kaybında artış görülmüştür (77).

- **Kreatin fosfokinaz testi:** Kreatin fosfokinaz enzimi spermin enerjiyi oluşturmada ve kullanmada önemli bir enzimdir. Spermelerde yapılan kreatin fosfokinaz testlerinin infertilite ile ilişkisi net olarak ortaya konamamıştır (78).

- **Reaktif oksijen radikalleri:** Semende reaktif oksijen radikallerinin temel kaynağı spermatozoalar ve lökositlerdir. Normal oksijen metabolizmasının bozulduğu durumlarda semende reaktif oksijen radikalleri artar ve açıklanamayan infertilite nedenlerinden birini oluşturur (79, 80). Reaktif oksijen radikalleri kemilüsent probalar kullanılarak tesbit edilir.

- **Sperm kromatin yapısı ve DNA:** İnfertil erkeklerin büyük çoğunluğunda artmış DNA hasarı vardır ve tüm semen parametreleri normal olsa dahi DNA hasarı fertilitiyi kötü yönde etkilemektedir (11- 16).

- **Ejekülasyon sonrası idrar örneğinin mikroskopik incelemesi:** Ejekulat hacmi 1 ml'nin altında olduğunda, retrograd ejakülasyonu değerlendirmek için kullanılan bir yöntemdir.

- **Genetik tarama:** İnfertil erkeklerde tüm kromozom anomalilerinin prevalansı %7 civarındadır. Bu oran sperm konsantrasyonları ile (azospermi, oligospermi) ters orantılıdır (81).

B) Endokrin Değerlendirme: Endokrin bozukluklar erkek infertilitesinin nadir nedenlerindendir ve normal semen parametrelerine sahip erkeklerde oldukça az saptanırlar (4). İnfertil erkeklerde hipotalamo-hipofiz-testis aksının değerlendirilmesi yalnızca anormal semen bulgularına (sperm konsantrasyonu < 10 milyon/ml), cinsel disfonksiyona (azalmış libido, impotans) ve diğer bulguların klinik semptomların spesifik bir endokrinopatiji düşündürdüğü zamanlarda endikedir (82).

C) Ürolojik Değerlendirme: Eğer daha önce yapılmadı ise, belirgin semen parametrelerinde anormallik (azospermi, oligospermi vb.) saptanan çiftlerde ürolog veya erkek üreme sistemi üzerinde uzmanlaşmış kişilerce muayene endikasyonu vardır (4). Bazı erkekler transrektal ultrasonografi, renal ultrasonografi, transskrotal ultrasonografi, testis biopsisi gibi ek girişimlere ve tetkiklerin yapılmasına ihtiyaç duyarlar

2.2.4. Erkek İnfertilitesinde Tedavi

Erkek infertilitesi çoğunlukla idiopatiktir, birkaç önemli ve özel istisna dışında erkek infertilitesi genelde medikal tedaviye cevap vermez (4).

A) Medikal tedavi: Patoloji hipotalamus ve hipofizde ise (prolaktinoma, Kallmann Sendromu, izole gonadotropin eksikliği vb.) yani hipogonadotropik hipogonadizm grubunda medikal tedavinin fertilité üzerine katkısı büyüktür (4). Fakat hipergonadotropik hipogonadizmi olan olgularda testiküler yetmezlik vardır. İnfertil erkeklerde semen kalitesinin ve fertilitenin herhangi bir medikal tedavi ile düzeltilebileceğine dair bir kanıt yoktur (4).

Ögonadotropik-hipogonadizmi olan grupta ciddi oligospermisi, anormal derecede düşük testosteron düzeyi olan erkeklerde androjen tedavisi ve aromataz inhibitörleri ile semen kalitesi arttırılabilir (83, 84).

Retrograd ejakulasyon gibi özel sebepler gösterilmiş erkek infertil hastalar semptomimetikler gibi medikal tedavilerden fayda görebilirler, ayrıca gösterilmiş genital enfeksiyonu olan hastalarda lökositospermi de medikal tedaviye yanıt verir.

B) Cerrahi tedavi: Obstrüktif azospermi veya varikoselin kötü etkilerine maruz kalmış erkek grubunda özel cerrahi yöntemlerin (vazovazostomi, vazoepididimostomi, ejakulatuar kanalların transüretal rezeksiyonu, varikosel onarımı) önerilmesi hala geçerlidir. Hasta seçimi özenle yapılmalıdır (85- 87).

Günümüzde medikal ve cerrahi tedaviye uygun olmayan, ciddi erkek faktörü de dahil, erkek faktör nedenli infertil çiftte intrauterin inseminasyon (IUI) ve yardımcı üreme teknikleri (YÜT) ile gebelik sağlanabilmektedir. Açıklanamayan infertilitede (kadın+ erkek) etyolojik faktörü olmadığı için tedavisinde de standart bir yöntem yoktur. Tedavide genellikle fekunditenin arttırılmasına yönelik ampirik metodlar uygulanmaktadır.

2.3. Sperm DNA Hasarı

Semen analizi erkek inferilitesi tayininde rutin olarak kullanılsada fertil ve infertil erkeği ayırt etmek, gebelik başarısını ortaya koymak ve reproduktif kötü etkileri riskini öngörmek için ek testlere günümüzde ihtiyaç duyulmaktadır.

DNA bütünlüğü sperm veya hücre canlılığı- hayat için, ayrıca doğal üreme ve yardımla üreme teknikleri başarısı için gereklidir (29). Defektif sperm fonksiyonları erkek infertilitesinin en sık nedenidir; azalmış fertilite artmış düşük oranları ve artmış sperm patolojileri ile birlikteliği vardır (88). Sperm DNA içeriği

temel olarak genetik bilginin iletilmesi için gereklidir (89, 90). Günümüzde sperm DNA bütünlüğünün sperm kalitesi ve in vivo, in vitro fertilite tayininde standart semen parametrelerinden daha üstün prognostik değere sahip olduğu tahmin edilmektedir (29). Tüm standart semen parametreleri normal olsa dahi sperm DNA sında kötü fertilite prognozu olan erkeklerde artmış hasarlanma izlenmiştir (18). İnfertil erkeklerde fertil erkeklere göre daha fazla DNA hasarı saptanmıştır (91- 96).

Sperm kromatin yapısı diğer somatik hücrelerden farklı olarak sıkıca paketlenmiş halde bulunur. Bu yapılanma şekli kromatini dış etkenlerden ve oksidatif stresten korur (97). İntratestiküler ve ekstratestiküler sebepler dahil birçok faktör sperm DNA hasarı nedeni olabilmektedir (29).

Kromatin anormallikleri, DNA hasarı mekanizmaları net olarak anlaşılabilmiş değildir, fakat DNA hasarı ile ilgili 3 ana teori öne sürülmüştür.

A) Defektif Yenilenme ve Sperm Kromatin Paketlenmesi:

Sperm kromatin yapısı DNA ve sperm nükleer proteinleri arasındaki ilişkiyi sağlamak için sıkı bir şekilde paketlenmiştir. Paketlenme sırasında DNA sarmalının çevresinde paketlenildiği protein parçacıkları mevcuttur. İnsan sperm kromatin yapısında %85 oranında daha bazik protamin ve %15 oranında daha az bazik histon proteinleri bulunur. Spermatogenez sırasında mayoza giren spermelerde yeniden düzenlenme için programlı çift kırık DNA hasarları oluşturulur (98). Spermiogenez sırasında da programlı DNA kırıkları oluşturulur ve sonrasında paketlenme sırasında histon ve protaminlerde yer değişimi olur (99). Histonlar protaminlerden daha gevşek paketlenmeye neden olurlar. Artmış histon oranları, artmış kromatin hasarını beraberinde getirir bu durum infertil erkeklerde daha fazladır (100). DNA paketlenmesi anormal ise hasarlanmaya açık hale gelir (64).

B) Yetersiz Apoptoz:

Bu teoriye göre apoptotik sürece girmiş olan hücre apoptoz olmadan ejakulasyon ile atılmaktadır (101). Bu teori ejakule olan spermde apoptotik gösterge olarak kabul edilen 'Fas' reseptörünün yüksek oranda eksprese edilmesi ve sitoplazik kofulların gözlenmesi gibi bulgulara dayandırılmıştır. Apoptotik süreçte aktive endonükleazlar DNA kırıklarına neden olurlar (102, 103).

Sperm DNA hasarı apoptoz ile ilişkilendirilmiş olsa da apoptotik marker ekspresyonu ve DNA hasarlanması ve ayrıca apoptotik bulgular ve DNA hasarı oranı arasında bir ilişki saptanamamıştır (104, 105).

C) Oksidatif stres:

Oksijen metabolizması sonrası oluşan reaktif oksijen radikalleri sperm proliferasyonu, farklılaşması ve fonksiyonu için önemli rol oynarlar. Fertil erkeklerde reaktif oksijen radikalleri oluşumu seminal antioksidanlar tarafından kontrol altında tutulmaktadır (64). Erkek genital sistemde veya seminal plazmada antioksidan kapasitenin üzerinde reaktif oksijen radikalleri oluşursa patojenik etkiler ortaya çıkar (80). Artan reaktif oksijen radikalleri plazma membranı peroksidasyonu ve DNA kırıklarına neden olur.

D) Erkek yaşı, radyoterapi, kemoterapi, sigara kullanımı, genital kanal enfeksiyonları, pestisidler, varikosel, testiküler hipertermi, sperm yıkama yöntemlerinde vb. Sperm DNA hasarı üzerine ayrıca etkisi vardır (64).

DNA hasarı tayini önemli sonuçlar ortaya koyduğu için rutin taranması önerilmektedir (106).

2.4. Oksidatif Stres

Oksidatif stres tanı konamamış idiopatik erkek infertilitesine neden olduğu düşünülen önemli bir etkidir. Oksidatif stres vücutta denge halinde bulunan reaktif oksijen radikalleri oluşumu ve antioksidan kapasite arasındaki dengenin bozulması sonucu oluşur (107). Spermatozoalar antioksidan savunma mekanizmalarına sahiptirler, gonadal hücreleri ve matur spermatozoaları reaktif oksijen radikallerine karşı korurlar fakat patolojik durumlarda kontrol edilemeyen reaktif oksijen radikalleri seminal plazma antioksidan kapasitesini aşar ve oksidatif strese neden olur (108). Bazı çalışmalara göre erkek infertilitesi tanısı almış hastaların %30-40 ının seminal plazmalarında artmış reaktif oksijen radikalleri saptanmıştır (109). Oksidatif stres etkileri çoğu zaman onarılabildir. Fakat matür spermatozoalar sitoplazmik enzim onarım sistemlerinden yoksun oldukları için reaktif oksijen radikalleri hasarlarını onaramazlar (110). Spermatozolar membranlarında yoğun olarak poliansature yağ asitleri barındırdıkları için serbest oksijen radikallerine yoğun olarak maruz kalırlar ve membran lipid peroksidasyonu oluşur. Lipid peroksidasyonu sonrası aksonal hasarlanma ve peroksidayona sırasında hücre içi adenosin tri- fosfat (ATP) kaybına bağlı sperm motilitesi azalır (111). Oksidatif stresin erkek fertilitesindeki kötü etkileri dahil; kötü fertilizasyon oranları, kötü embrionik gelişim, doğum defektleri (otizm dahil) ve çocukluk çağı kanserlerine neden olduğunu gösteren kanıtlar mevcuttur (112- 115).

2.4.1. Reaktif oksijen radikalleri:

Reaktif oksijen radikalleri aynı zamanda serbest radikaller olarak da adlandırılır. Bir adet serbest elektrona sahiptirler ve oksijen metabolizması sonucu oluşurlar. Reaktif oksijen ürünleri; radikaller: 'hidroksil iyonu [OH^-], süperoksit iyonu [O_2^-], nitrik oksit [NO], peroksil [RO_2], lipid peroksil [LOO], tiyl [RO_2] ve radikal olmayan serbest moleküller: hidrojen peroksit [H_2O_2], hipoklorik asit [HOCL], lipid peroksit [LOOH], ozon [O_3] dur (111).

2.4.2. Reaktif oksijen radikalleri kaynakları:

Seminal plazmada bulunan reaktif oksijen radikallerinin eksojen ve endojen olmak üzere birçok kaynağı olabilmektedir. İnsan ejakulatı matür ve immatür hücreler, spermatogenezin farklı aşamalarındaki yuvarlak hücreleri, lökositleri ve epitelyal hücreleri içermektedir. Bu hücrelerden özellikle lökositler (nötrofil, makrofajlar) ve immatür spermatozoalar reaktif oksijen radikallerinin ana oluşum kaynaklarıdır. Sigara içmek, alkol almak gibi yaşam tarzı değişkenleri ve toksinler, radyasyon gibi çevresel faktörlerde eksojen serbest radikallerin kaynağı olabilmektedir (116- 118).

A) Endojen kaynaklar:

- Lökositler:

Peroksidaz pozitif lökositler %50-60 oranda polimorfonükleer lökositlerden %20-30 oranda ise makrofajlardan oluşmaktadırlar (119). Peroksidaz pozitif lökositlerin çoğu prostat ve seminal vezikül kökenlidir. Eğer peroksidaz pozitif lökositler enfeksiyon, inflamasyon gibi ekstraselüler veya intraselüler mekanizmalarla uyarılırsa normalden 100 kat daha fazla reaktif oksijen radikalleri oluşturup heksos monofosfat yolunu devreye sokarak NADPH oluştururlar (120, 121). Semen lökosit miktarı DSÖ 'nün önerdiği eşik değeri olan 1 milyon/ml üzerinde ise artan oksidatif stres ile sperm hasarı oluşur (122).

- İmmatür spermatozoa:

Spermatogenez sırasında gelişmekte olan spermatozoa fertilizasyona hazırlık için sitoplazmasını kaybeder. Spermiogenezdeki duraksama sırasında hasarlanan spermatozoa orta kısmında atılamamış sitoplazma barındırır. Bu durum rezidü sitoplazma olarak adlandırılır ve bunun sonucunda heksos monofosfat yolu yani NADPH sistemi aktive olur. NADPH yolu ile oluşan serbest elektronlar reaktif oksijen radikalleri oluşumundan sorumlu tutulmuştur (123).

Rezidüel sitoplazmanın sperm motilitesini, morfolojisini, fertilizasyon potansiyelini kötü yönde etkilediği gözlenmiştir (124).

- Varikosel:

Varikosel pampiniform pleksustaki venöz yapıların anormal dilatasyonu olarak tanımlanır. Varikoselin derecesi ile orantılı olarak semende reaktif oksijen radikalleri artar (125).

B) Eksojen kaynaklar:

- Radyasyon:

Cep telefonlarının da kaynak olabileceği radyofrekans elektromanyetik dalgalar hücre membranında elektron akışını etkileyerek serbest radikal oluşumunu tetikleyebilmektedir (120). Artmış radyasyon maruziyeti reaktif oksijen radikallerinin artmasına ve DNA hasarına neden olmaktadır (126).

- Toksinler:

Kadmiyum, bakır vb. toksinlere maruziyetin artışı ile beraber testislerde artmış reaktif oksijen radikalleri oluşumu saptanmıştır (127).

- Sigara:

Sigara 4000 den fazla kimyasal bileşen içeren, dünya çapında en önemli önlenabilir ölüm sebeplerinden biridir. Sigaranın içerdiği bazı kimyasalların reaktif oksijen radikalleri ve antioksidan dengesini bozduğu gösterilmiştir (120). Sigara içmenin seminal lökosit oranında %50' ye yakın artış ve reaktif oksijen radikallerinde %100' e yakın artışa neden olduğu gösterilmiştir (128).

- Alkol:

Alkol özellikle karaciğer üzerinden antioksidan savunmayı güçsüzleştirerek ve etil alkol metabolitleri reaktif oksijen radikalleri oluşumunu arttırarak erkek fertilitatesini kötü yönde etkilemektedir (107).

2.4.3. Reaktif oksijen radikallerinin seminal plazmadaki fizyolojik rolleri:

Artmış reaktif oksijen radikallerinin zararlı etkileri olsa da fizyolojik düzeydeki serbest radikallere başarılı fertilizasyon için kapasitasyonda, spermin hiperaktivasyonunda, akrozom reaksiyonunda ve sperm-oosit füzyonunda ihtiyaç olduğu kanıtlanmıştır (110).

A) Kapasitasyon:

Başarılı fertilizasyon için artmış motilite ile sonuçlanan spermin kapasitasyonu önemli bir aşamadır. Fizyolojik düzeydeki reaktif oksijen radikalleri cAMP artışı ile başlayan son olarak tirozin fosforilasyonu ile son bulan süreçte aracı olarak rol oynar (129).

B) Hiperaktivasyon :

Hiperaktivasyon kapasitasyonun aşaması; yüksek amplitüdlü flagellar hareket, asimetrik flagellar hareket ve non- lineer motilite ile karakterize bir durumdur (130). Hiperaktivasyon ve serbet radikal ilişkisi invitro olarak OH^- ile inkube edilen spermatozoalarda hiperaktivasyonun belgelenmesi ile kanıtlanmıştır (131).

C) Akrozom reaksiyonu:

Spermatozoa hiperaktivasyon sonrası zona pellucidaya bağlanarak zona pellucidayı eritir ve oosit füzyonu gerçekleşir. Spermatozoanın başarılı oosit füzyonu için tamamlanmış akrozom reaksiyonuna ihtiyaç vardır. Reaktif oksijen radikalleri proteinlerin fosforilasyonu aşamasında akrozom reaksiyonunda rol

oyunlar, invitro ise H₂O₂, NO, O₂ ile inkube edilmiş seminal plazmada akrozom reaksiyonunun tetiklendiği gözlenmiştir (111).

D) Sperm-oosit füzyonu:

Sperm oosit füzyonu için gerekli olan spermin membran akışkanlığı fizyolojik düzeylerde serbest oksijen radikalleri ile sağlanmaktadır (132).

2.4.4. Reaktif oksijen radikallerinin patolojik rolleri:

A) Lipid peroksidasyonu:

Spermatozoa membranı somatik hücrelerden farklı olarak yoğun oranda serbest elektronlara yani hidrojen iyonlarına duyarlı poliansatüre yağ asitleri içerir. Kapasitasyon sırasında düzenlenen membran lipid akışkanlığı patolojik düzeyde artan reaktif oksijen radikallerinden etkilenir ve lipid peroksidasyonu olarak adlandırılan kimyasal reaksiyon meydana gelir (131). Sperm membranında oluşan lipid peroksidasyonu sonrası membran %60 oranında yağ asitlerini kaybeder sonuç olarak akışkanlık kaybolur, hücre yüzeyindeki enzim, reseptörler inaktive olur ve non-selektif iyonlara karşı geçirgenlik artar (112). Malondialdehid peroksidasyon sonrası ortaya çıkan son ürünlerden biridir, spermatozoanın peroksidatif hasar düzeyini ölçmek için kullanılabilir (133).

B) DNA hasarı:

Yukarıda da bahsedildiği gibi oksidatif stres bazı modifikasyonlarına ve DNA hasarına neden olabilir (80). DNA zincirleri spermiogenez sırasında protaminler ile paketlenerek yoğunlaştırılır ve paketlenmiş kromatin olan 'toroid' haline gelirler. Toroidler ardından inter ve intramoleküler disülfid bağları ile sıkıca bağlanırlar. Paketlenmiş DNA oksidatif strese dirençli hale gelir (20). Bazı

erkeklerde DNA paketlenmesinde yetersizlikler olabilir, bu durumda DNA oksidatif strese; testiküler, epididimal ve postejakulatuar dönemde duyarlı hale gelir (134). DNA hasarı minimal düzeyde olduğu zaman onarılabilir ve fertilizasyon kapasitesini tekrar kazanabilir (135). Oositte fertilizasyon sonrası DNA hasarını onarabilen mekanizmalara sahiptir, eğer onarım yetersiz olursa fertilize olan ovumun implantasyon başarısızlığı artmaktadır (136).

C) Apoptoz:

Apoptoz hücresel morfolojik ve biyokimyasal değişiklikleri içeren programlanmış hücre ölümüdür (131). Başarısız apoptoz yukarıda bahsedildiği gibi DNA hasarının sebepleri arasında yer almaktadır. İnfertil hastalarda artmış reaktif oksijen radikalleri barındıran matür spermatozoalarda apoptoz oranı kontrol grubuna göre fazla saptanmıştır (137).

2.4.5. Oksidatif stresin ölçümü

Rutin semen analizinin yanında rutin olarak oksidatif stres ölçümünün yapılmamasının sebebi standart kabul edilmiş bir yöntemin olmayışı ve çoğu yöntemin pahalı ve kompleks olmasıdır. Günümüzde 30 un üzerinde test oksidatif stresi saptamak için kullanılabilmektedir (138). Bazı yöntemler diğerlerine göre daha ucuz ve kullanışlıdır.

A) Direkt metodlar

Oksidatif stresin membran lipidleri ve DNA üzerindeki etkisi sonucu ortaya çıkan son ürünleri ölçen testlerdir. Aşağıda sıklıkla kullanılan yöntemlerden bahsedilmiştir.

- Thiobarbitürik asit testi :

Lipid peroksidasyonu reaksiyonu sonrası ortaya çıkan malondialdehid (MDA) düzeyini sperm veya seminal plazmada ölçen testtir. Sperm MDA düzeyi seminal

plazmaya göre daha düşük olduğu için MDA düzeyini saptamak için yüksek basınçlı sıvı kromatografisine (HPLC) (139) veya demir bazlı promotörlere ve spektrofotometri ölçümüne (140) ihtiyaç duyulur. Seminal plazmada MDA düzeyleri sperme göre 5-10 kat daha yüksektir bu da standart spektrofotometri ölçümünü mümkün kılmaktadır (141).

- 8-OHdG ölçümü:

8-oxo-7,8- dihydro 2' deoxyguanosine DNA' nın oksidatif hasarlanması sonrası ortaya çıkan okside deoksinükleoziddir. Ölçümü oksidatif stres hakkında bilgi verir. Sperme veya seminal plazmada HPLC ile (142), enzim bağımlı immün-absorbe yöntem (143) veya direkt olarak immunflouresans yöntem (144) ile ölçülebilir.

B) İndirekt metodlar

Oksidatif strese neden olan serbest radikal düzeyini ölçen testlerdir. Aşağıda sıklıkla kullanılan yöntemlerden bahsedilmiştir.

- Kemoluminescence yöntemler:

Amin türevleri olan 'Luminol' veya 'Lucigenin' problemleri kullanılan kemoluminescence yöntemleri semende reaktif oksijen radikallerini saptamak için en çok tanımlanan yöntemlerdir. Lucigenin oto-oksidasyon reaksiyonu gösterir bu yüzden süperoksit anyonu ölçümünde luminol daha duyarlıdır (145). Fakat bu yöntem ekipmanın (luminometer) pahalı olması ve seminal plazma kontaminasyonu, lökosit kontaminasyonu gibi etmenlerin olduğu kalite kontrol yönetimi gerektirdiği için pratik değildir (146).

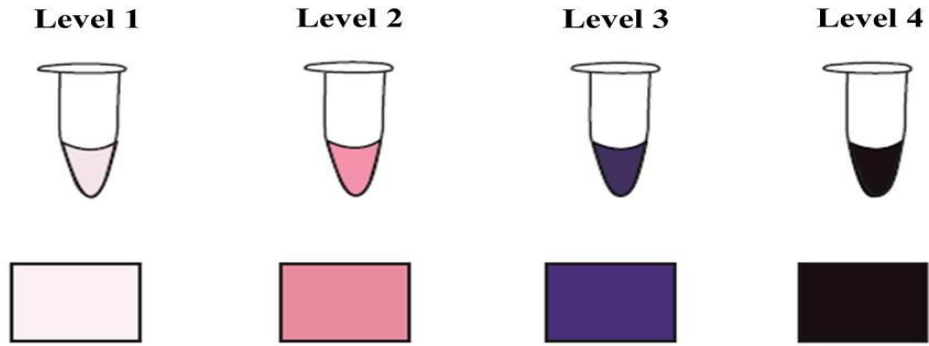
- Total antioksidan kapasitenin ölçümü:

Total antioksidan kapasitesi ölçümü dışarıdan verilen oksidatif moleküllerin seminal plazma antioksidanları ile nötralize edilebilmesi kapasitesine dayandırılan testlerdir. Total antioksidan kapasitesi sıklıkla vitamin E analogu (Trolox)

antioksidan kapasitesi ile kıyaslanarak reaktif oksijen radikalleri – total antioksidan kapasite (ROS- TAC) skoru olarak ifade edilen oran olarak belirlenir (147).

- Nitroblue tetrazolium (NBT) Oxi- Sperm yöntemi:

Prensip: NBT süperoksit anyonları ile reaksiyona girdiğinde mavi bir pigment olan ‘diformazan’ ortaya çıkaran suda eriyen sarı bir moleküldür (148). Semen in sahip olduğu oksidatif stres yüküne oranla ortaya çıkan renk koyulaşır (şekil 3).



Şekil 3. Semen oksidatif stres düzeyinin OxiSperm® yöntemi ile gösterilmesi.

*Halotech ® DNA. To assess sperm oxidative stress. Principle of the method:

Level 1: Düşük düzeyde reaktif oksijen radikali yükü

Level 2: Düşük- Orta düzeyde reaktif oksijen radikali yükü

Level 3: Orta düzeyde reaktif oksijen radikali yükü

Level 4: Yüksek düzeyde reaktif oksijen radikali yükü

Yöntem:

1. Kit içeriğindeki NBT (**Nitroblue tetrazolium**) içeren reaktif jelin likefiye olması için eppendorf tüpleri mikrodalgada 1 dakika süre ile veya 90 °C su banyosunda 5 dakika süreyle ısıtılır.
2. Eppendorf tüpleri ısının düşürülmesi için 37 °C sıcaklıkta su banyosunda veya fırında 5 dakika tutulur.
3. Eppendorf tüpündeki reaktif jel, karışım sırasında kabarcık oluşmamasına özen göstererek 1000 adet sperme karşılık gelecek semen volümü ile 1/1 oranında birleştirilir.
4. Eppendorf tüpündeki karışımın jelöz hale gelmesi için 4 °C sıcaklıkta 5 dakika süreyle buzdolabında tutulur.
5. Karışım 37 °C sıcaklıkta 45 dakika inkübe edilir.
6. İnkubasyon sonrası ortaya çıkan renk çıplak gözle, kalorimetre veya ışık mikroskobu ile değerlendirilerek şemadaki (şekil 3) renk ile kıyaslanarak oksidatif stres düzeyi raporlanır.

Avantajları: NBT (Oxi- Sperm) yöntemi sonuçlarının geleneksel kemoluminescene yöntemleri ile korele olduğu gözlenmiştir (149). NBT yöntemi diğer testlere göre daha ucuzdur ve yalnızca ışık mikroskobuna ihtiyaç duyulur. Ayrıca NBT yöntemi sperm ve lökositlerin oluşturduğu reaktif oksijen radikallerini diğer klasik kemoluminescene yöntemlerde kullanılan lökosit aktive edici N-formil-metiyonin-lösin-fenilalanine (FMLP) ihtiyaç duymadan ayırt edebilmektedir (53). Ticari olarak sunulan Oxisperm® kiti (halotech® DNA SL , Madrid Spain) son yıllarda geliştirilmiştir ve sıklıkla kullanılmaktadır. Çalışmalarla Oxisperm® kiti' nin ejakulatta reaktif oksijen radikallerini saptamakta etkin bir yöntem olduğu kanıtlanmıştır (150).

2.5. Cinsel perhiz:

DSÖ tarafından semen analizi öncesi önerilen standart cinsel perhiz süresi 2-7 gün arasındır. Fakat DSÖ tarafından önerilen cinsel perhiz süresinin dayandırıldığı kesin kanıtlar yoktur (59). Eski yayınlara göre ovulasyon döneminde gebelik ihtimalinin artmasını sağlamak amaçlı önerilen ejakulasyon sıklığı haftada iki idi (151). Ejakulasyon sıklığının günde 3 kez ile belirlendiği çalışmalarda sperm sayısının belirgin azaldığı fakat immatür formların değişenlik göstermediği saptanmıştır (152). Artan cinsel perhiz süreleri ile sperm sayısı ve semen volümünün arttığı gözlenmiştir (153). DNA fragmantasyonu ve perhiz süreleri ilişkisini değerlendiren çoğu çalışma net standart perhiz süresini belirleyememiştir (152, 154). Ejakulasyon sıklığının artması ile oksijen radikallerine maruziyetin azaldığı sperm fonksiyonları ve viabilitesinin arttığı öngörülmüştür (155). Çalışmamızda standardize edilmemiş farklı cinsel perhiz sürelerinin reaktif oksijen radikalleri üzerine etkisi değerlendirilmiş ve literatüre katkı sağlamak amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOD

Bu prospektif randomize çalışmada ‘0-2’ gün, ‘2-4’ gün, ‘4’ gün üzeri olarak gruplandırılan cinsel perhiz sürelerinin, infertilite tanısı alan ve çalışma kriterlerine uyan 90 erkek katılımcıda semende reaktif oksijen radikalleri oluşumu üzerine etkisi karşılaştırıldı. Çalışma Haziran 2014- Haziran 2015 tarihleri arasında “Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tüp Bebek Merkezi’ ne” çocuk istemi ile başvuran hastalarda uygulandı. Çalışma önce “Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu’ na” sunuldu ve etik kurul onayı alındı. Çalışmaya infertilite tanısı konmuş olan IUI (intrauterin inseminasyon) planlanan hastalar dahil edildi.

3.1.Hasta Seçimi

3.1.1. Çalışmaya dahil olma kriterleri:

- En az 1 yıl düzenli cinsel ilişki ve korunmamaya rağmen gebe kalamamış olmak.
- İnfertilite incelemesinde:
 1. Histerosalpingografide en az bir tuba uterinanın açık olması. Peritoneal – uterin – tubal faktörün dışlanması.
 2. Erkeğin semen analizinin Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterlerine göre oligozoospermi sınırında olmaması (sperm yoğunluğunun 15 milyon/ml den fazla olması).
 3. İnfertilite incelemesi sonuçlarına göre İVF (in-vitro fertilizasyon) endikasyonu konmamış olması.

Bu kriterlere uyan hastalarda İUI (intrauterin inseminasyon) endikasyonu konmuş ve çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmanın sonunda 0-2 gün, 2-4 gün, 4 gün üzeri cinsel perhiz sürelerinin reaktif oksijen radikalleri oluşumu üzerine etkisine ait sonuçlar ayrı olarak değerlendirilmiştir.

3.1.2. Bu çalışmada dahil edilmeme kriterleri ise şunlardır:

1. Erkeğin semen analizinin Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterlerine göre oligozoospermi-azospermi-aspermi olarak raporlanması.
2. Erkeklerde medikal tedavi gerektirecek impotans ve- veya ejakulatuar disfonksiyonun olması.
3. Çiftlerin tedavi sonrası gebe kalması durumunda gebeliğin devamının kadının yaşamını tehlikeye sokacağı sistemik hastalıklarının (kalp hastalıkları, regüle olmamış diyabet, böbrek hastalıkları vs.) olması.
4. Over rezervinin hormonal olarak bozuk olması (bazal FSH >15 IU/ml)
5. Daha önce hormon tedavisi (gonadotropin, klomifen sitrat) alan hastalarda, bu ilaçlara karşı herhangi bir yan etki gelişmiş olması.
6. İnceleme sonucunda İVF endikasyonu konmuş olan çiftler.

3.2. Hastaların cinsel perhiz sürelerine göre gruplandırılması, semen örneklerinin incelenmesi

Çalışmaya dahil edilme kriterlerine uygun olan IUI planlanan hastaların hepsi bilgilendirilmiş gönüllü onam formuna onam alındıktan sonra çalışmaya dahil edildi. Hastalar cinsel perhiz süreleri açısından ‘**basit rastgele örnekleme**’ yöntemi ile 0-2 gün, 2-4 gün, 4 gün üzeri olarak gruplandırıldı. İnseminasyon için alınan tüm semen örnekleri “Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yardımcı Üreme Merkezi Androloji Laboratuvar’ında” hazırlandı. Semen örnekleri yıkama işlemi öncesi OxiSperm® kiti ile boyanarak incelendi. İnceleme sonrası hazırlanan oksidatif stres değerlendirilmesi için ayrılan semen preperatları tedavi amacıyla kullanılmadı.

3.3. Çalışmamızda Kullanılan Yöntemler

İnseminasyon için semen örneği, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yardımcı Üreme Merkezi Androloji Laboratuvarı'nda hazırlandı. Erkek katılımcıdan 0-2 gün, 2-4 gün, 4 gün üzeri cinsel perhiz sonrası, işlem günü laboratuvarda semen örneği alındı. Alınan semen örneği OxiSperm® kiti ile boyanarak incelendi. İnceleme ardından kalan semen 'gradient' sperm hazırlama yöntemi ile hazırlanarak intrauterin inseminasyon için kullanıldı.

3.3.1. Gradient Yöntemi

Gradient solüsyonu olarak bikarbonat ve hepes-tamponlanmış silane kaplı colloid silica solüsyonu (Sperm Grad-125, Vitrolife) kullanıldı. Solüsyon önce G-IVF plus (Vitrolife, İsveç) kullanılarak % 40 ve % 90'lık iki farklı konsantrasyonda hazırlandı. Falkon konik tüpün dibine % 90'lık, onun üzerine dikkatlice, birbirine hiç karıştırmayacak şekilde % 40'lık gradiyent solüsyonu konuldu. 37°C derecede 10-15 dakika bekletilip, üzerine pipet yardımıyla yavaş yavaş semen ilave edildi. 1400 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Üst kısmı pipet yardımıyla dikkatlice alınıp ve atıldı. En altta kalan pellet falkon 4 ml'lik tüpe aktarıldı. Üzerine ortalama 3 ml sperm yıkama solüsyonu (G-IVF plus, Vitrolife, İsveç) eklenerek santrifüjda tekrar 1400 devirde 10 dakika çevrildi. Üstte kalan süpernatant alınıp, dipte kalan 0,3-0,5 ml sperm solüsyonu IUI için kullanılmak üzere pipet yardımıyla alınarak falcon tüpe konuldu.

3.4. Oksidatif Stresin Değerlendirilmesi:

Semen oksidatif stresin değerlendirilmesi için OxiSperm® kiti kullanıldı ve aşağıdaki basamaklar izlendi.

1. OxiSperm® kitinin içeriğindeki reaktif jelin sıvılaşması için eppendorf tüpleri mikrodalgada 1 dakika süre ile veya 90 °C su banyosunda 5 dakika süreyle ısıtıldı.

2. Tüpler ısıнын düşürülmesi için 37 °C sıcaklıkta su banyosunda veya fırında 5 dakika tutuldu.
3. Eppendorf tüpündeki reaktif jel, karışım sırasında kabarcık oluşmamasına özen göstererek semen örneği ile birleştirildi.
4. Eppendorf tüpündeki karışımın jelöz hale gelmesi için 4 °C sıcaklıkta 5 dakika süreyle buzdolabında tutuldu.
5. Karışım 37 °C sıcaklıkta 45 dakika inkübe edildi.
6. İnkubasyon sonrası ortaya çıkan renk çıplak gözle veya ışık mikroskobu ile değerlendirilerek temel alınan şemadaki renk ile kıyaslanarak oksidatif stres düzeyi raporlandı.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin analizi SPSS for Windows 11.5 paket programında yapıldı. Sürekli ve kesikli sayısal değişkenlerin dağılımının normal dağılıma uygun dağılıp dağılmadığı Kolmogorov Smirnov testiyle varyansların homojenliği ise Levene testiyle araştırıldı. Tanımlayıcı istatistikler sürekli ve kesikli sayısal değişkenler için ortalama $\pm$ standart sapma veya medyan (minimum-maksimum) şeklinde, kategorik değişkenler ise olgu sayısı ve (%) biçiminde gösterildi.

Gruplar arasında ortalamalar yönünden farkın önemliliği Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) ile değerlendirildi. Gruplar arasında medyan değerler yönünden farkın önemliliği bağımsız grup sayısı iki olduğunda Mann Whitney U testiyle ikiden fazla grup arasındaki farkın önemliliği ise Kruskal Wallis testiyle incelendi. Kruskal Wallis test istatistiği sonuçlarının önemli bulunması halinde Conover'in parametrik olmayan çoklu karşılaştırma testi kullanılarak farka neden olan durum(lar) tespit edildi.

Kategorik değişkenler Pearson'un ki-Kare veya Olabilirlik Oran testiyle incelendi. Cinsel perhiz süresi grupları içerisinde yıkama öncesi ve yıkama sonrası arasında sperm konsantrasyonu, sperm motilitesi ve ileri hareket ölçümleri

yönünden farkın önemliliği Wilcoxon İşaret testiyle araştırıldı. Oksidatif stres derecesi ile morfoloji arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişkinin olup olmadığı Spearman'ın Korelasyon testi kullanılarak araştırıldı.

Aksi belirtilmedikçe $p < 0,05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Ancak, olası tüm çoklu karşılaştırmalarda Tip I hatayı kontrol edebilmek için Bonferroni Düzeltmesi yapılmıştır.

4.BULGULAR

Bu prospektif çalışmada, Haziran 2014 ve Haziran 2015 tarihleri arasında “Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yardımcı Üreme Merkezine” çocuk istemi ile başvuran, çalışma kriterlerine uyan IUI siklusuna dahil edilmesi planlanan 0-2 gün (n:30, %33,3), 2-4 gün (n:30, %33,3) ve 4 gün (n:30, %33,3) üzeri cinsel perhiz süresine sahip olan 60 hastada cinsel perhiz sürelerinin reaktif oksijen radikalleri oluşumu üzerine etkileri araştırıldı.

Hastalar cinsel perhiz sürelerine göre 3 gruba ayrıldı. Demografik özellikleri ve klinik özellikleri açısından değerlendirildiğinde, cinsel perhiz süresi grupları arasında erkek yaş ortalaması, kadın yaş ortalaması, medyan evlilik süresi, medyan infertilite süresi, infertilite türü ve nedeni açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (Tablo 4).

Gruplar arasında erkek BMI ortalaması, kadın BMI ortalaması, sigara öyküsü, alkol öyküsü ve lökosit varlığı açısından da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (Tablo 4).

Tablo 4. Gruplara göre olguların demografik ve klinik özellikleri

Değişkenler	0-2 gün (n=30)	2-4 gün (n=30)	>4 gün (n=30)	p-değeri
Erkek yaşı (yıl)	31,8±4,1	30,5±3,5	33,1±5,4	0,073†
Kadın yaşı (yıl)	28,4±4,0	27,8±3,3	28,4±5,0	0,795†
Evlilik süresi (yıl)	3 (0,5-11)	3,5 (1-12)	3,2 (1-19)	0,772‡
İnfertilite süresi (yıl)	2 (0,5-9)	3 (1-9)	2 (1-10)	0,302‡
İnfertilite türü				1,000¶
Primer	21 (%70,0)	21 (%70,0)	21 (%70,0)	
Sekonder	9 (%30,0)	9 (%30,0)	9 (%30,0)	

İnfertilite nedeni				0,685¶
<i>Anovulasyon</i>	10 (%33,3)	9 (%30,0)	7 (%23,3)	
<i>Açıklanamayan</i>	20 (%66,7)	21 (%70,0)	23 (%76,7)	
Erkek BMİ (kg/m²)	26,4±4,0	25,3±3,1	25,5±3,1	0,430†
Kadın BMİ (kg/m²)	24,2±4,6	25,7±4,2	23,3±3,5	0,718†
Sigara öyküsü	15 (%50,0)	11 (%36,7)	9 (%30,0)	0,270¶
Alkol öyküsü	3 (%10,0)	4 (%13,3)	-	0,133¶
Lökosit varlığı	3 (%10,0)	5 (%16,7)	3 (%10,0)	0,672\$

† Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA), ‡ Kruskal Wallis testi, ¶ Pearson'un Ki-Kare testi, \$ Olabilirlik Oran testi.

Sigara içen ve sigara içmeyen hastalar oksidatif stres düzeyleri açısından değerlendirildiğinde, sigara içen ve sigara içmeyen gruplar arasında oksidatif stres açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (p=0,086) (Tablo 5).

Tablo 5. Sigara öyküsü olan ve olmayan gruplara göre olguların oksidatif stres açısından dağılımı

	Sigara içmeyen	Sigara içen	p-değeri
Oksidatif stres			0,086†
Level 1	11 (%20,0)	9 (%25,7)	
Level 2	9 (%16,4)	11 (%31,4)	
Level 3	34 (%61,8)	15 (%42,9)	
Level 4	1 (%1,8)	-	

† Mann Whitney U testi

Cinsel perhiz süresinin sperm parametreleri üzerine etkisi değerlendirildi, cinsel perhiz süresi grupları arasında medyan sperm total sayıları, medyan sperm konsantrasyonları, medyan progresif motil sperm sayıları, medyan total motilite oranları ve medyan morfoloji oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (p>0,05), (Tablo 6).

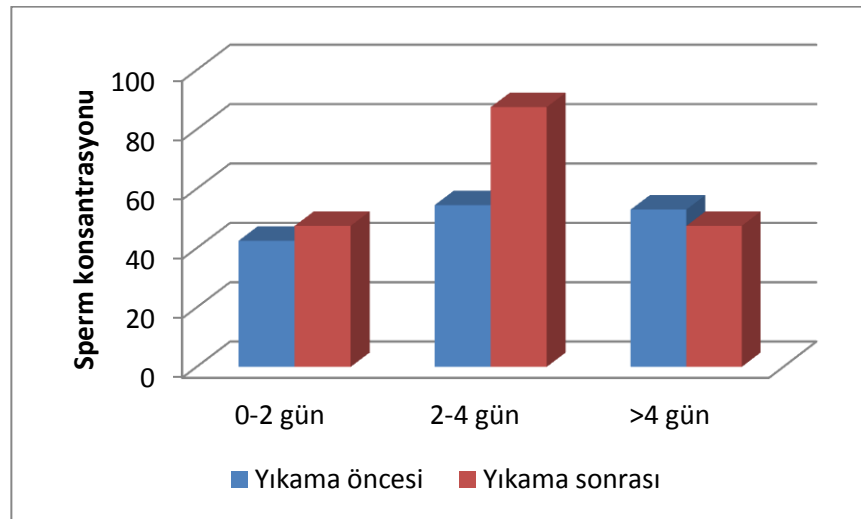
Tablo 6. Gruplara göre olguların sperm parametreleri

Değişkenler	0-2 gün (n=30)	2-4 gün (n=30)	>4 gün (n=30)	p-değeri †
Total sayı	104,5 (30,0-350,0)	176,0 (16,0-420,0)	135,5 (20,0-320,0)	0,079
Konsantrasyon	42,5 (15,0-87,0)	54,5 (16,0-100,0)	53,0 (10,0-135,0)	0,233
Progresif motil	46,3 (4,0-175,0)	96,6 (0,0-200,9)	62,3 (6,2-182,4)	0,096
Total motilite	62,5 (28,0-88,0)	69,5 (40,0-89,0)	62,5 (24,0-90,0)	0,078
Morfoloji	2,5 (0-7)	2 (0-7)	2 (0-6)	0,249

† Kruskal Wallis testi.

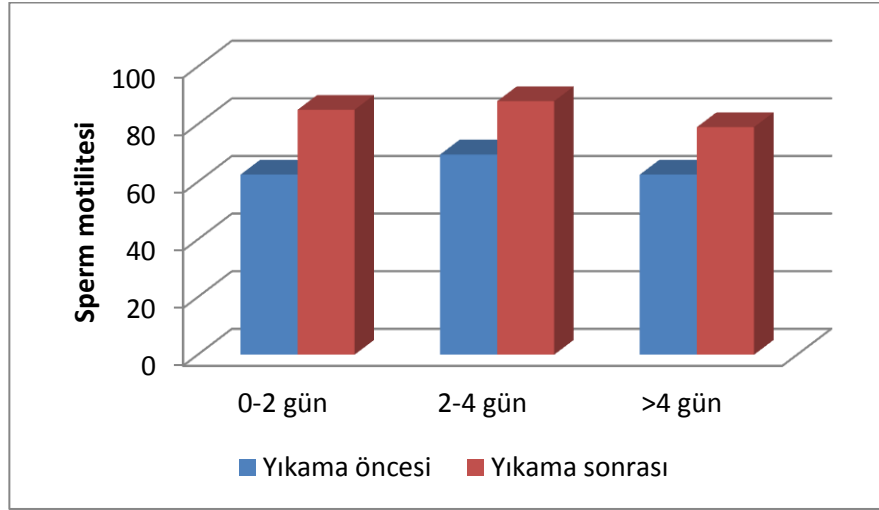
Sperm yıkama yönteminin, sperm parametreleri üzerine etkisi 3 ayrı cinsel perhiz grubu için değerlendirildiğinde;

Cinsel perhiz süresi 0-2 gün olan grup içerisinde yıkama öncesi ve sonrası medyan sperm konsantrasyonu yönünden Bonferroni düzeltmesine göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,021$). Cinsel perhiz süresi 2-4 gün olan grup içerisinde yıkama öncesine göre yıkama sonrası medyan sperm konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü ($p<0,001$). Cinsel perhiz süresi >4 gün olan grup içerisinde yıkama öncesi ve sonrası medyan sperm konsantrasyonu yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,187$) (Şekil 4) (Tablo 7).



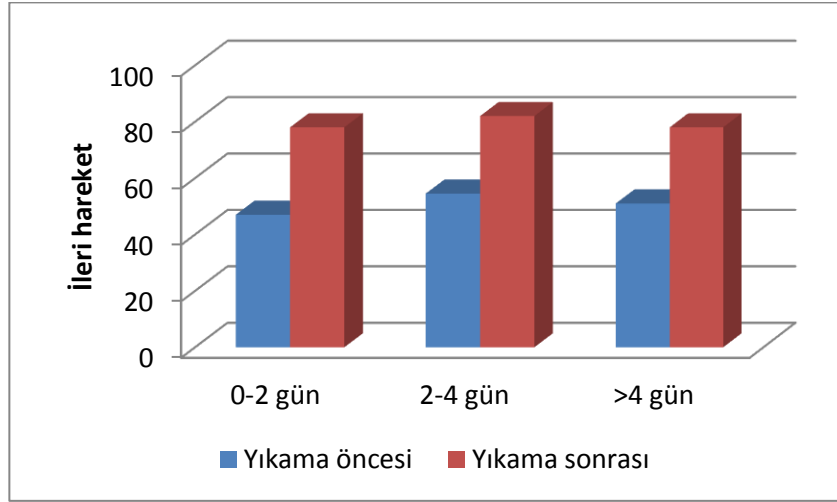
Şekil 4: Sperm yıkama yönteminin sperm konsantrasyonu üzerine etkisi

Cinsel perhiz süresi 0-2 gün olan grup içerisinde yıkama öncesine göre yıkama sonrası medyan sperm motilitesinde istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü ($p<0,001$). Cinsel perhiz süresi 2-4 gün olan grup içerisinde yıkama öncesine göre yıkama sonrası medyan sperm motilitesinde istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü ($p<0,001$). Cinsel perhiz süresi >4 gün olan grup içerisinde yıkama öncesine göre yıkama sonrası medyan sperm motilitesinde istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü ($p<0,001$) (Şekil 5) (Tablo 7).



Şekil 5: Sperm yıkama yönteminin sperm motilitesi üzerine etkisi

Cinsel perhiz süresi 0-2 gün olan grup içerisinde yıkama öncesine göre yıkama sonrası medyan ileri hareket düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü ($p<0,001$). Cinsel perhiz süresi 2-4 gün olan grup içerisinde yıkama öncesine göre yıkama sonrası medyan ileri hareket düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü ($p<0,001$). Cinsel perhiz süresi >4 gün olan grup içerisinde yıkama öncesine göre yıkama sonrası medyan ileri hareket düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü ($p<0,001$) (Şekil 6) (Tablo 7).



Şekil 6: Sperm yıkama yönteminin sperm ileri hareketlilik oranları üzerine etkisi

Tablo 7. Gruplara göre yıkama öncesi ve sonrası sperm konsantrasyonu, sperm motilitesi ve ileri hareket ölçümleri

Değişkenler	Yıkama öncesi	Yıkama sonrası	p-değeri †
Konsantrasyon			
0-2 gün	42,5 (15,0-87,0)	47,5 (10,0-140,0)	0,021
2-4 gün	54,5 (16,0-100,0)	87,5 (12,0-180,0)	<0,001
>4 gün	53,0 (10,0-135,0)	47,5 (10,0-170,0)	0,187
Motilite			
0-2 gün	62,5 (28,0-88,0)	85,0 (48,0-96,0)	<0,001
2-4 gün	69,5 (40,0-89,0)	88,0 (60,0-96,0)	<0,001
>4 gün	62,5 (24,0-90,0)	79,0 (40,0-96,0)	<0,001
İleri hareket			
0-2 gün	47,0 (7,0-84,0)	78,0 (34,0-96,0)	<0,001
2-4 gün	54,5 (0,0-81,0)	82,0 (40,0-96,0)	<0,001
>4 gün	51,0 (4,0-85,0)	78,0 (0,0-96,0)	<0,001

† Wilcoxon İşaret testi, Bonferroni Düzeltmesine göre $p < 0,0083$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Gruplar için yıkamanın etkisi delta analize göre değerlendirildiğinde yıkama öncesine göre yıkama sonrası medyan sperm konsantrasyonundaki değişim yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık olup ($p=0,021$) söz konusu farka neden olan durum 0-2 gün ve >4 gün gruplarına 2-4 gün grubunda sperm konsantrasyonundaki artışın daha fazla olmasıydı ($p=0,013$ ve $p=0,005$). Cinsel perhiz süresi grupları arasında yıkama öncesine göre yıkama sonrası medyan sperm motilitesindeki değişim yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,429$). Cinsel perhiz süresi grupları arasında yıkama öncesine göre yıkama sonrası medyan ileri hareket düzeyindeki değişim yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,535$).

Tablo 8. Yıkama öncesine göre yıkama sonrası sperm konsantrasyonu, sperm motilitesi ve ileri hareket ölçümlerindeki değişimler

Değişkenler	0-2 gün (n=30)	2-4 gün (n=30)	>4 gün (n=30)	p-değeri †
Konsantrasyon	10 (45 - 88) ^a	25 (68 - 118) ^{a,b}	8,5 (80 - 90) ^b	0,021
Motilite	17 (4-40)	15,5 (7-40)	16 (5-30)	0,429
İleri hareket	26,5 (8-50)	25 (5-74)	23 (50 - 37)	0,535

† Kruskal Wallis testi, a: 0-2 gün ile 2-4 gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,013$), b: 2-4 gün ile >4 gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,005$).

Cinsel perhiz süresi grupları arasında medyan IUI siklus sayıları, IUI sikluslarında kullanılan ilaçların toplam dozu, IUI sikluslarında kullanılan ilaçların dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,05$).

Cinsel perhiz süresi grupları arasında medyan sperm eldesi ve IUI arası geçen süre yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık yokken ($p=0,242$), gruplar arasında medyan yıkama işlemi ve IUI arası geçen süre yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0,042$), söz konusu farka neden olan durum 2-4 gün grubuna göre >4 gün grubunda medyan yıkama IUI arası süre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0,006$).

Tablo 9. Gruplara göre olguların diğer klinik bulguları

Değişkenler	0-2 gün (n=30)	2-4 gün (n=30)	>4 gün (n=30)	p-değeri
IUI siklus sayısı	2 (1-6)	2 (1-4)	2 (1-4)	0,482†
IUI ilacı toplam dozu	712,5 (475-4350)	825 (300-2813)	675 (250-1500)	0,478†
IUI ilaç				0,766‡
FSH	18 (%64,3)	22 (%73,3)	22 (%73,3)	
HMG	6 (%21,4)	4 (%13,3)	6 (%20,0)	
Klomen	4 (%14,3)	4 (%13,3)	2 (%6,7)	
Sperm eldesi- IUI	86 (15-210)	95 (10-180)	105 (20-270)	0,242†
arası süre				
Yıkama işlemi-IUI	59 (10-180)	40 (5-150) ^a	70 (5-240) ^a	0,042†
arası süre				

† Kruskal Wallis testi, ‡ Olabilirlik Oran testi, a: 2-4 gün ile >4 gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı ($p=0,006$).

Cinsel perhiz süresi ve oksidatif stres ilişkisi karşılaştırıldı. Cinsel perhiz süresi grupları arasında oksidatif stres açısından istatistiksel olarak anlamlı fark olup söz konusu farka neden olan durum 0-2 gün ve 2-4 gün grubuna göre >4 gün grubunun oksidatif stres derecesinin daha yüksek olmasıydı ($p=0,012$ ve $p=0,043$) (Tablo 10).

Tablo 10. Gruplara göre olguların oksidatif stres açısından frekans dağılımı

	0-2 gün (n=30)	2-4 gün (n=30)	>4 gün (n=30)	p-değeri
Oksidatif stres				0,031†
Level 1	9 (%30,0)	8 (%26,7)	3 (%10,0)	
Level 2	8 (%26,7) ^a	7 (%23,3) ^b	5 (%16,7)	
Level 3	13 (%43,3)	15 (%50,0)	21 (%70,0) ^{a,b}	
Level 4	-	-	1 (%3,3)	

† Kruskal Wallis testi, a: 0-2 gün ile >4 gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p=0,012), b: 2-4 gün ile >4 gün arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı (p=0,043).

Cinsel perhiz süreleri ve gebelik oranları arasında ilişki değerlendirildiğinde, cinsel perhiz süresinin artması ile beraber gebelik oranı düştüğü saptandı fakat cinsel perhiz süresi grupları arasında gebelik sıklığı yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (p=0,115) (Tablo 11).

Tablo 11. Gruplara göre olguların gebelik durumları yönünden dağılımı

	0-2 gün (n=30)	2-4 gün (n=30)	>4 gün (n=30)	p-değeri
Gebelik				0,115†
Yok	22 (%73,3)	25 (%83,3)	28 (%93,3)	
Var	8 (%26,7)	5 (%16,7)	2 (%6,7)	

† Pearson'un Ki-Kare testi.

Hastalar lökosit varlığı açısından gruplandırıldığında ve oksidatif stress düzeyleri açısından kıyaslandığında, lökosit pozitif ve negatif olan gruplar arasında oksidatif stres derecesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi (p=0,236) (Tablo 12).

Tablo 12. Lökosit pozitif ve negatif olan gruplara göre olguların oksidatif stres açısından frekans dağılımı

	Lökosit var	Lökosit yok	p-değeri
Oksidatif stres			0,236†
Level 1	3 (%27,3)	17 (%21,5)	
Level 2	4 (%36,4)	16 (%20,3)	
Level 3	4 (%36,4)	45 (%57,0)	
Level 4	-	1 (%1,3)	

† Mann Whitney U testi.

Hastalar IUI siklusları sonucunda gebelik var ve yok olarak gruplandırıldı, gebelik görülen ve gebelik görülmeyen gruplar oksidatif stres derecesi yönünden karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,447$) (Tablo 13).

Tablo 13. Gebelik saptanan ve saptanmayan gruplara göre olguların oksidatif stres açısından frekans dağılımı

	Gebelik yok	Gebelik var	p-değeri
Oksidatif stres			0,447†
Level 1	16 (%21,3)	4 (%26,7)	
Level 2	16 (%21,3)	4 (%26,7)	
Level 3	42 (%56,0)	7 (%46,7)	
Level 4	1 (%1,3)	-	

† Mann Whitney U testi.

Oksidatif stresin morfoloji üzerine etkisi karşılaştırıldı, oksidatif stres derecesi ile morfoloji arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı ($r=-0,074$ ve $p=0,489$).

5.TARTIŞMA

IUI ve IVF gibi yardımcı üreme tekniklerinin infertilite tedavisinde sıklıkla kullanılmaya başlamasıyla çoğu infertil çiftte olumlu sonuçlar alınmaya başlanmıştır. İnfertil çiftlerde saptanabilen çoğu patolojinin yönetimi konusunda ciddi tıbbi gelişmeler olması nedeniyle infertilite ve yaklaşımına bakış yıllar içerisinde değişmiştir. Kadına ait faktörler yanında, erkeğe ait faktörlerin de infertilite etyolojisinde önemli rolü olduğu anlaşılmıştır. Erkeğe bağlı nedenler çiftlerin yaklaşık %20' sinde infertilitenin tek saptanan sebebi iken %20-40' ında ise erkek faktörün infertiliteye neden olan sebeplere eşlik ettiği bilinmektedir (8). Erkek infertilitesinde çoğu zaman günümüz sık kullanılan tarama yöntemleri ile bir sebep ortaya konamamaktadır. Erkek infertilitesi değerlendirilirken en önemli basamaklardan biri olan spermiogram parametreleri normal olsa dahi artmış oranda saptanırsa fertilitiyi kötü yönde etkilediği gözlenmiş, infertil erkeklerde fertil erkeklere göre daha yüksek oranda saptanan DNA hasarı semen kalitesini belirlemekte önemli olduğu gözlenmiştir (11-16). Artan DNA hasarına neden olabilecek çok sayıda etken olduğu düşünülse, en önemli sebeplerden birinin oksidatif stress olduğu gösterilmiştir (80). Oksidatif stres DNA hasarının yanı sıra, sperm membranı lipid peroksidasyonuna (131) ve apoptoza (137) neden olarak fertilitiyi kötü yönde etkilemektedir.

IUI açıklanamayan infertilitede ve anovulasyon patolojisine sahip infertil çiftlerde ovulasyon indüksiyonu ile beraber tedavide sıklıkla tercih edilen ilk yöntemdir. Günümüzde hem erkek infertilitesi değerlendirilirken spermiogram aşamasında hemde YÜT için kullanım için sperm eldesi öncesi DSÖ tarafından önerilen kesin kanıtlara dayandırılmamış olan cinsel perhiz süresi 2-7 gün arasındadır (36, 59).

Bu prospektif çalışmada, değişen cinsel perhiz sürelerinin erkek infertilitesini saptamada önemli rolü olduğu düşünülen reaktif oksijen radikalleri yükü ile

ilişkisi araştırılmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar artan cinsel perhiz süresinin semende reaktif oksijen radikalleri yükünü arttırdığını göstermektedir.

Çalışmamızda demografik veriler arasında değerlendirilen BMI'nin (body mass index) 30 kg/m² üzerinde olması obezite olarak adlandırılır ve erkeklerde obezitenin anormal sperm parametreleri ile ilişkili olduğu ve fertilitiyi olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir (156). Bir başka demografik veri olan sigara kullanımının hem erkekte hemde kadında düşük fertilité oranları ile ilişkili olduğu bilinmektedir (157). Sigara kullanımı ile beraber seminal lökosit oranı ve reaktif oksijen radikalleri yükü artmaktadır (128). Artan oksijen radikalleri ve azalan antioksidanlar nedeni ile sigara içenlerde oksidatif hasar artmaktadır (158). Bir başka demografik veri olarak değerlendirilen alkol kullanımının direkt olarak sperm oksidatif hasarı ile ilişkisinin ortaya koyan çalışma literatürde mevcut olmasa bile (112) alkol tüketiminin ve etanolün sistemik oksidatif stresi arttırdığı bilinmektedir (159) ayrıca alkol erkeklerde semen kalitesinde azalma ve impotans ile ilişkili bulunmuştur (160). Demografik veriler arasında değerlendirilen bir diğer parametre ise reaktif oksijen radikallerinin ana kaynaklardan biri olan lökosit varlığıdır (161).

Hastaların demografik özellikleri gruplar arasında karşılaştırıldığında erkek yaşı, kadın yaşı, evlilik süreleri, infertilite süreleri, infertilite türü ve nedenleri, erkek-kadın BMI, sigara kullanımı, alkol kullanımı ve lökosit varlığı açısından fark bulunmamaktadır ($p>0,05$). Bu bulgular aynı zamanda gruplardaki hastaların homojen olarak dağıldığını göstermekte ve infertilitede en önemli prognostik faktör olan kadın yaşı ve infertilite sürelerinin ayrıca reaktif oksijen radikalleri oluşumuna etkisi bilinen sigara-alkol kullanımının ve lökosit varlığının sonuçlara etkisini minimuma indirmektedir.

Literatürde cinsel perhiz sürelerinin sperm parametreleri ile ilişkisi olduğunu gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur (58, 162, 59, 163, 164, 165, 166). Bunlardan De Jonge ve arkadaşlarının 2004 yılında yapmış oldukları 11

erkek katılımcının dahil olduğu ve 1,3,5,8 günlük cinsel perhiz sürelerinin kıyaslandığı çalışmada artan perhiz süresi ile birlikte semen volümü ve sperm konsantrasyonunun arttığı fakat total, progresif motilite ve morfolojinin cinsel perhiz süresi ile ilişkili olmadığı bulunmuştur (59). Carlsen ve arkadaşlarının 2004 yılında yapmış oldukları 419 semen örneğinin dahil edildiği ve ejakulasyon sıklığının semen parametrelerine etkisinin değerlendirildiği çalışmada sperm konsantrasyonu ve total sayı 4. güne kadar belirgin artış göstermiş sonrasında ise artmaya devam etmekte fakat artış oranı daha az olmuştur. Aynı çalışmada morfoloji ve total motilitenin cinsel perhiz süresinden etkilenmediği saptanmıştır (165). Levitas ve arkadaşlarının 2005 yılında yapmış oldukları oligozoospermik (n:2495) ve normozoospermik (n:3513) erkeklerin dahil edildiği çalışmada normozoospermik grupta konsantrasyon ve total sayı 3. gün cinsel perhizden sonra istatistiki olarak anlamlı düzeyde artmıştır. Aynı çalışmada normozoospermik grupta total motilite ve progresif motilite 7. cinsel perhiz gününe kadar artış göstermiştir, morfoloji ise normozoospermik grupta hiç perhiz yapmamış grupta en yüksek iken 10-14 güne kadar belirgin olarak düşmemiştir (58).

Elzanaty ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptıkları 422 erkeğin ejakulatının dahil edildiği, 2-3 gün, 4-5 gün, 6-7 gün cinsel perhiz sürelerinin sperm parametreleri üzerine etkisinin değerlendirildiği çalışmada ise sperm konsantrasyonu ve total sayının 4-5 gün perhizi olan grupta 2-3 güne göre anlamlı olarak yüksek olduğu fakat 6-7 gün perhizi olan grupla benzer olduğu saptanmıştır. Yine aynı çalışmada progresif motilitenin 4-5 gün perhiz süresi olan grupta diğer gruplara göre fazla olduğu 2-3 gün olan grubun motilitesinin 6-7 gün olan gruba göre artmış olduğu saptanmıştır (166). Levitas ve arkadaşlarının 2006 yılında oligospermik (n:237) ve normozoospermik (n:759) erkeğin dahil edildiği cinsel perhiz sürelerinin morfoloji üzerine etkisinin karşılaştırıldığı çalışmada, her iki grupta da bir günlük cinsel perhiz süreleri ile en iyi morfoloji sonucu elde edilmiş artan perhiz süreleri ile morfolojinin bozulduğu saptanmıştır (164). Sánchez-Martín ve arkadaşlarının 2013 yılında yapmış oldukları bir çalışmada

cinsel perhiz süresi ile motilite ve morfolojinin ilişkisiz olduğunu saptamışlardır (163). Bütün bu literatür verilerine dayanarak artan cinsel perhiz süreleri ile sperm konsantrasyonunun arttığı fakat motilite ve morfolojinin perhiz süreleri ile belirgin ilişkisi olmadığı düşünülebilir.

Çalışmamızda cinsel perhiz süresi ve sperm parametreleri arasındaki ilişki değerlendirildiğinde cinsel perhiz süresinin sperm parametrelerini etkilemediği sonucuna varılmaktadır. Değişkenlere ayrı ayrı bakıldığında; total sayı ve konsantrasyon değişikliğinin diğer çalışmalarda gözleendiği gibi 3-4 gün sonrası belirgin olarak artmakta olup çalışmamızda perhiz süresi grupları yakın sürelerle sahip olduğu için anlamlı fark saptanmamış olabilir. Motilite ve morfoloji diğer çoğu çalışmada olduğu gibi cinsel perhiz sürelerinden etkilenmemektedir. Fakat çalışmaların sonuçları arasındaki farklılıklardan dolayı cinsel perhiz süresi ve sperm parametrelerini kıyaslayan daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Ejakulasyon sonrası semen yardımcı üreme tekniklerinde kullanılmadan önce birçok aşamadan geçirilerek motilite ve morfoloji gibi sperm fonksiyonlarında düzelme ve spermilerin zararlı olabilecek çevresel etkenlerden uzaklaştırılması sağlanmaktadır. Çalışmamızda gradient yöntemi IUI öncesi sperm hazırlama yöntemi olarak kullanılmıştır. Semen parametrelerinden konsantrasyon grupları için ayrı ayrı değerlendirildiğinde, 0-2 gün ve 4 gün üzeri cinsel perhize sahip grupta yıkamanın konsantrasyon üzerine olumlu etkisi istatistiki olarak saptanmadı, fakat 2-4 gün için yıkama sonrası konsantrasyon artışı anlamlı saptandı ($p < 0,001$). Gruplar arasında konsantrasyon artış oranlarına delta analiz yapıldığında tüm gruplarda istatistiki olarak anlamlı yansımaya neden olmasa da, konsantrasyon artışı saptanmıştır. Motilite ve ileri hareket ise tüm gruplar için yıkama sonrası anlamlı bir artış göstermiştir. Ricci ve arkadaşları 62 infertil olguyu dahil ettikleri çalışmalarında total ve progresif motilite açısından swim- up yöntemi ile karşılaştıran çalışmada dansite gradient yöntemini total ve

progresif motilite artışı açısından başarılı bulmuşlardır (167). Amiri ve arkadaşları ise 2012 yılında yapmış oldukları 35 erkeğin dahil edildiği çalışmada sperm konsantrasyonunun ve motilitenin yıkama işlemi (swim- up ve dansite gradient) sonrası arttığını saptamışlardır (168). Ghaleno ve arkadaşlarının 2014 yılında yapmış oldukları 28 sağlıklı erkeği dahil ettikleri çalışmada sperm parametrelerine etkinliğinde değerlendirildiği gradient yönteminin de dahil olduğu çalışmada motilitenin ve progresif motilitenin sperm yıkama sonrası belirgin arttığını belirtmişlerdir (169). Bizim çalışmamız ve literatür çalışmaları sonuçları beraber değerlendirildiğinde sperm hazırlama yöntemlerinin sperm parametreleri üzerine olumlu etkiye sahiptir sonucuna varılabilir.

Çalışmamızda gruplar arası IUI siklus sayıları, IUI sikluslarında ve kullanılan ilaç dozlarında homojenite mevcuttur. Fakat diğer klinik bulgulardan; sperm eldesi ve IUI arası geçen süre gruplar arasında benzer iken, sperm yıkama ve IUI arası geçen süreler ise gruplar arasında homojen değildir. Oysa, bazı çalışmalarda bu parametrelerin IUI sikluslarında gebelik başarısı üzerine etkileri olabileceği öne sürülmüştür (170-173). Kılıçdağ'ın yapmış olduğu 1125 IUI siklusunun dahil edildiği gradient yıkama yönteminin kullanılmış olduğu çalışmada sperm eldesi ve IUI arası süre 30 dakikadan az ise gebelik oranlarının 30 dakikadan 180 dakikaya kadar olan gruplara göre düştüğü saptanmıştır (170). Bu çalışma yıkama yöntemi ve IUI arası süreyi ayrıca değerlendirmeye almadığı için bizim çalışmamızla tam karşılaştırma yapmak mümkün değildir. Yavas ve arkadaşlarının 2004 yılında yapmış olduğu 62 çiftin 132 IUI siklusunun dahil edildiği çalışmada hMG (Human Menapozal Gonadotropin) ve CC (Klomifen Sitrat) sikluslarında sperm eldesi-yıkama, yıkama-IUI, sperm eldesi ve IUI arası sürelerin kısa olduğu hMG grubunda gebelik oranlarının daha yüksek olduğu fakat CC grubunda belirgin fark olmadığı saptanmıştır (173). Klomen sikluslarının değerlendirildiği Alexander ve arkadaşlarının yaptığı 210 siklusun dahil edildiği çalışmada sperm eldesi- yıkama, yıkama- IUI arası süre farklılıklarının gebelik başarısı üzerine etkisi olmadığı saptanmıştır (172).

Bizim çalışmamız ve bu iki çalışma beraber değerlendirildiğinde çalışmamızın grupları arasında IUI ilaç çeşitleri açısından homojenite olduğundan ve gruplar arasında sperm eldesi ve IUI arasındaki süreler açısından fark olmadığından sonuçların etkilenmeyeceği düşünülebilir. Ancak, özellikle 2-4 gün ve 4 gün üzeri grup arasında belirgin olan yıkama ve IUI arası sürelerdeki farklılık çalışma sonucunda gruplar arasındaki gebelik oranları arasındaki fark üzerinde etkili olabilir.

Çalışmamızda oksidatif stres miktarı sperm eldesi sonrası, yıkama işlemi öncesi değerlendirildiği için yıkama ve IUI süresi açısından gruplar arasındaki farklılık, cinsel perhiz süresinin oksidatif stres üzerindeki etkisi sonuçları ile ilişkisizdir, sonuçları etkilememiştir.

Literatürde çalışmamızın ana konusu olan cinsel perhiz süresinin reaktif oksijen radikallerine etkisini değerlendiren az sayıda çalışma mevcuttur. Desai ve arkadaşlarının 2009 yılında yayınladıkları tek bir fertil erkeğin 1-10 gün cinsel perhiz süreleri sonrası elde edilen 36 semen örneğinin semen parametreleri ve reaktif oksijen radikalleri açısından değerlendirildiği çalışmada, reaktif oksijen radikalleri düzeylerinin cinsel perhiz süresi ile ilişkisiz olduğunu, semen parametrelerini etkilemediğini saptamışlardır. Oksidatif stresin bağımsız bir infertilite nedeni olduğunu vurgulamışlardır. Bu çalışmada reaktif oksijen radikallerini saptamak için luminol yöntemi kullanılmıştır (174). Marshburn ve ark 2014 yılında yapmış oldukları 40 erkek katılımcının dahil edildiği 4 gün perhiz ardından aynı katılımcıdan 1 gün sonrasında alınan semen örneklerinde total antioksidan kapasiteyi ve sperm membranı lipid peroksidasyonunu karşılaştırmışlardır. Elde edilen sonuçlarda artan perhiz süresinin total antioksidan kapasiteyi azalttığını fakat lipid peroksidasyonu üzerinde etkisi olmadığını saptamışlardır (175). Bu çalışmada lipid peroksidasyonu için daha yüksek düzeyde reaktif oksijen radikallerine maruziyet gerektiği öngörülmüş buna bağlı olarak lipid peroksidasyon açısından gruplar arasında farklılık saptanmadığı

raporlanmıştır. Literatürde reaktif oksijen radikallerinin infertiliteye neden olduğu düşünülen etkilerinden biri olan sperm DNA fragmentasyonunun artan cinsel perhiz süreleri ile kötü yönde etkilendiğine dair çalışmalar da (176) mevcuttur. Bizim çalışmamız ve bütün bu çalışmalar değerlendirildiğinde yöntem olarak benzerlik taşınmasada artan cinsel perhiz süresinin reaktif oksijen radikallerini arttırdığı düşünülebilir, fakat daha kesin sonuçlara ulaşmak için daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

Cinsel perhiz süresi ve gebelik başarısı ile ilgili literatürde 3 adet çalışma mevcuttur (162, 163, 155). Çalışmamızda cinsel perhiz süresi ve gebelik başarısı arasında istatistiki fark saptanmamış olsada artan cinsel perhiz süresi ile gebelik oranlarında düşme dikkat çekmektedir (0-2 gün %26.7, 2-4 gün %16.7, 4 gün ve üzeri %6.7). Marshburn ve arkadaşlarının yapmış olduğu 372 çiftin 866 IUI siklusunun değerlendirildiği retrospektif çalışmada 0-2 gün arası cinsel perhiz süresinin artan günlere göre daha yüksek gebelik başarısı ile sonuçlandığını bildirmişlerdir (155). Jurema ve arkadaşlarının 2005 yılında yayınladıkları 929 IUI siklusunun değişen cinsel perhiz süreleri ve gebelik başarısı ile ilişkisi açısından değerlendirildiği çalışmada 3 gün ve altındaki cinsel perhiz sürelerinde gebelik başarısının artan günlere göre daha yüksek oranda olduğu bildirilmiştir (162). Sánchez-Martín ve arkadaşlarının 2013 yılında yapmış oldukları ICSI (intrasitoplazik sperm enjeksiyonu) planlanmış olan 40 infertil çift ile 150 kontrol grubunun karşılaştırıldığı çalışmada tekrarlayan ejakulasyon periodları (4 gün perhiz sonrası 24 saatte bir ejakulasyon ardından 12 saatlik perhiz sonrası elde edilen sperm örneği) sonrası elde edilen sperm örneği ile daha yüksek oranda gebelik başarısı sağlanmıştır (163). Bizim çalışmamız ve literatür beraber değerlendirildiğinde artan cinsel perhiz süreleri ile gebelik oranlarının azaldığı sonucuna varılmaktadır. Çalışmamızdan elde ettiğimiz cinsel perhiz süresi ile oksidatif stres arasındaki pozitif korelasyon yönündeki veriler cinsel perhiz süresinin uzaması ile gebelik oranları arasındaki negatif ilişkiyi açıklayan bir faktör olabilir.

DSÖ tarafından kabul edilen lökositosperminin reaktif oksijen radikalleri ilişkisi bazı çalışmalarda (177) saptanmış olsada lökosit oranının sperm parametreleri üzerindeki negatif etkisi için lökositospermi eşik değerinin daha yüksek olduğunu bildiren çalışmalarda mevcuttur (178). Literatürde lökositospermi eşiğini ve oksidatif stres ilişkisini kesin kanıtlarla ortaya koyan çalışma yoktur. Çalışmamızda da gruplar arasında lökositospermi varlığı ve oksidatif stres oranları arasında istatistiki ilişki saptanmamıştır.

Literatürde oksidatif stresinde etken olduğu kabul edilen DNA hasarı ve gebelik başarısı ile ilgili çok sayıda yayın mevcutken tek başına oksidatif stres ve gebelik başarısını ortaya koyan yeterli sayıda yayın yoktur. Yumura ve arkadaşlarının 2009 yılında yayınladıkları çalışma kriterlerine uyan 89 katılımcıyı dahil ettikleri, gebe kalmış ve kalamamış hastaları reaktif oksijen radikalleri yükü açısından taradıkları çalışmada gebelik var olan ve yok olan grupta reaktif oksijen radikalleri açısından istatistiki olarak fark olmadığı fakat gebe kalamayan grupta oksidatif stres oranının diğer gruba göre daha yüksek olduğunu raporlamışlardır (179). Thomson ve arkadaşlarının 2011 yılında yayınlamış oldukları ICSI (n:48) ve IUI (n:53) sikluslarına dahil edilen katılımcılarda '8-OHdG' yöntemi ile oksidatif stres etkilerini değerlendirmiş ve IUI başarısının '8-OHdG' düzeyinin eşik değerin üzerinde olduğu katılımcılarda diğerlerine göre daha düşük olduğunu saptamışlardır. Aynı çalışmada ICSI grubunda bu fark saptanmamıştır (180) ayrıca reaktif oksijen radikallerinin IVF ve ICSI sonuçları üzerine etkisinin tarandığı iki çalışmada artan reaktif oksijen radikalleri ile IVF sikluslarında fertilizasyonun azaldığı, gebelik başarısının düştüğü ve ICSI sikluslarında embriogenezin bozulduğu raporlanmıştır (181, 182). Çalışmamızda gebelik olan ve olmayan grupta oksidatif stres düzeyleri açısından fark saptanmamıştır. Çalışmaya dahil edilen katılımcının sayısının azlığı bu sonuçların çıkmasına neden olmuş olabilir. Reaktif oksijen radikalleri ve gebelik başarısı ilişkisi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Son olarak morfoloji ve oksidatif stres etkisi değerlendirildiğinde çalışmamızda oksidatif stres derecesi ile morfoloji arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı ($p=0,489$). Venkatesh ve arkadaşlarının 2009 yılında yayınlamış oldukları 25 primer 21 sekonderidiopatik infertiliteye sahip erkeğin ve 15 fertil kontrolün dahil edildiği çalışmada sperm morfolojisi ve oksidatif stres arasında ilişki saptanmamıştır, fakat infertil grupta daha fazla saptanan sitoplazmik rezidünün reaktif oksijen radikali kaynağı olarak rol oynacağı vurgusu yapılmıştır (183). **Agarwal** ve arkadaşlarının 2014 yılında yayınladıkları 79 teratospermik ve 56 sağlıklı donorü dahil ettikleri bir çalışmada ise teratospermi ile reaktif oksijen radikalleri arasında anlamlı ilişki olduğunu belirtmişlerdir (184). Çalışmalar arasındaki farklı sonuçlar göz önüne alındığında morfoloji ve oksidatif stres ilişki ile ilgili daha fazla çalışmanın gerekliliği vurgulanabilir.

Biz çalışmamızda oksidatif stresi saptamak için OxiSperm® yöntemini kullandık. Literatürdeki çalışmalarda oksidatif stresi saptamada pek çok farklı yöntem kullanılmıştır. Çalışmalar arasındaki bu farklı sonuçlar oksidatif stresi saptamada standart bir yöntemin kullanılmamasından kaynaklanıyor olabilir. Özlem ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada NBT yöntemi ile oksidatif stres taranmış ve DNA fragmentasyonu, apoptoz ilişkisi araştırılmıştır. Çalışmanın sonuçlarına göre NBT testi hastalarda fertilitiyi öngörmekte yüksek oranda spesifik ve sensitiftir (150). Esfandiari ve arkadaşlarının 2003 yılında yayınladıkları çalışmada 21 infertil ve 9 fertil kontrolü dahil ettikleri çalışmada oksidatif stresi saptamada sıklıkla kullanılan yöntem olan luminol yöntemi ve NBT yöntemini kıyaslamışlar ve sonuçların birbiri ile güçlü oranda korele olduğunu raporlamışlardır (149). Iommiello ve arkadaşlarının oksidatif stres ve DNA fragmentasyonu ilişkisini taradıkları bir çalışmada oksidatif stres tayini için OxiSperm® yöntemini kullanmışlar, testin düşük maliyetli ve kolay uygulanabilir olduğunu vurgulamışlardır (185). Diğer çalışmalarda da olduğu gibi bizim

Çalışmamızda kullanılan OxiSperm® yöntemi oksidatif stresi saptamak için kullanılabilir ucuz ve kolay uygulanabilir bir yöntemdir.

Sonuç olarak; Çalışmamızda cinsel perhiz süresi olarak belirgin zaman farklılıkları olmayan gruplarda semen parametrelerinin belirgin farklılık göstermesede, IUI sikluslarına giren hastalarda cinsel perhiz süresinin artması ile semende oksidatif stres yükünü arttığı ve gebelik oranlarının istatistiksel olarak anlamlı oranda olmasada düştüğü görülmüştür.

6. SONUÇLAR

1. Hastalar demografik özellikleri ve klinik özellikleri açısından değerlendirildiğinde, cinsel perhiz süresi grupları arasında erkek yaş ortalaması, kadın yaş ortalaması, medyan evlilik süresi, medyan infertilite süresi, infertilite türü ve nedeni açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,05$). Gruplar arasında erkek BMI ortalaması, kadın BMI ortalaması, sigara öyküsü, alkol öyküsü ve lökosit varlığı açısından da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$). Bu bulgular aynı zamanda gruplardaki hastaların homojen olarak dağıldığını göstermekte ve infertilitede en önemli prognostik faktör olan kadın yaşı ve infertilite sürelerinin ayrıca reaktif oksijen radikalleri oluşumuna etkisi bilinen sigara-alkol kullanımının ve lökosit varlığının sonuçlara etkisini minimuma indirmektedir.
2. Sigara içen ve sigara içmeyen hastalar oksidatif stres düzeyleri açısından değerlendirildiğinde, sigara içen ve sigara içmeyen gruplar arasında oksidatif stres açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,086$).
3. Cinsel perhiz süresinin sperm parametreleri üzerine etkisi değerlendirildi, cinsel perhiz süresi grupları arasında medyan sperm total sayıları, medyan sperm konsantrasyonları, medyan progresif motil sperm sayıları, medyan total motilite oranları ve medyan morfoloji oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,05$).
4. Sperm yıkama yönteminin, sperm parametreleri üzerine etkisi 3 ayrı cinsel perhiz grubu için değerlendirildiğinde; konsantrasyon açısından gruplar arasında yıkamanın konsantrasyona olumlu etkisi yalnızca 2-4 gün arası

cinsel perhiz yapan grupta saptandı ($p<0,001$). Sperm yıkama yönteminin motilite ve ileri hareketlilik üzerine etkisi gruplar için ayrı ayrı değerlendirildiğinde, yıkamanın tüm gruplar için değişkenler açısından olumlu etkisi olduğu saptandı ($p<0,001$). Gruplar için yıkamanın etkisi delta analize göre değerlendirildiğinde yıkama öncesine göre yıkama sonrası medyan sperm konsantrasyonundaki değişim yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,021$).

5. Cinsel perhiz süresi grupları arasında medyan IUI siklus sayıları, IUI sikluslarında kullanılan ilaçların toplam dozu, IUI sikluslarında kullanılan ilaçların dağılımı yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p>0,05$). Cinsel perhiz süresi grupları arasında medyan sperm eldesi ve IUI arası geçen süre yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık yokken ($p=0,242$), gruplar arasında medyan yıkama işlemi ve IUI arası geçen süre yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark olup ($p=0,042$), söz konusu farka neden olan durum 2-4 gün grubuna göre >4 gün grubunda medyan yıkama IUI arası süre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksekti ($p=0,006$).
6. Cinsel perhiz süresi ve oksidatif stres ilişkisi karşılaştırıldığında, cinsel perhiz süresi grupları arasında oksidatif stres açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. >4 gün üzeri cinsel perhiz süresine sahip grubun, 0-2 gün ve 2-4 gün cinsel perhiz süresi grubuna göre oksidatif stres derecesi daha yüksek saptandı ($p=0,012$ ve $p=0,043$).
7. Cinsel perhiz süreleri ve gebelik oranları arasında ilişki değerlendirildiğinde, cinsel perhiz süresinin artması ile beraber gebelik oranı düştüğü saptandı (0-2 gün %26.7, 2-4 gün %16.7, 4 gün üzeri %6.7)

fakat cinsel perhiz süresi grupları arasında gebelik sıklığı yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,115$).

8. Hastalar lökosit varlığı açısından gruplandırıldığında ve oksidatif stress düzeyleri açısından kıyaslandığında, lökosit pozitif ve negatif olan gruplar arasında oksidatif stres derecesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,236$).
9. Hastalar IUI siklusları sonucunda gebelik var ve yok olarak gruplandırıldı, gebelik görülen ve gebelik görülmeyen gruplar oksidatif stres derecesi yönünden karşılaştırıldı ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık görülmedi ($p=0,447$).
10. Oksidatif stresin morfoloji üzerine etkisi karşılaştırıldı, oksidatif stres derecesi ile morfoloji arasında istatistiksel olarak anlamlı korelasyon saptanmadı ($r=-0,074$ ve $p=0,489$).

7.KAYNAKLAR

1. Günalp İ. , Fertilité ve Sterilité, Modern Üroloji Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
2. World Health Organization. Manual for the standardised investigation and diagnosis of infertile couple. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2000.
3. Gnoth C, Godehardt E, Frank-Herrmann P, et al. Definition and prevalence of subfertility and infertility. Hum Reprod 2005;20:1144-1147
4. Speroff L, Fritz MA. Clinical Gynaecologic Endocrinology and Infertility. 8th edition. 2011.
5. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss, Fertil Steril 90(Suppl 5):S60, 2008.
6. Snick HK, Snick TS, Evers JL, Collins JA, The spontaneous pregnancy prognosis in untreated subfertile couples: the Walcheren primary care study, Hum Reprod 1997;12:1582-8.
7. Collins JA, Burrows EA, Wilan AR, The prognosis for live birth among untreated infertile couples, Fertil Steril 1995;64:22-8.
8. Thonneau P, Marchand S, Tallec A, Ferail ML, Ducot B, Lansac J, et al. Incidence and main causes of infertility in a resident population (1,850,000) of three French regions (1988–1989), Hum Reprod 1991;6:811-6.
9. American Society for Reproductive Medicine, Report on optimal evaluation of the infertile male, Fertil Steril 2006;86:S202-9.
10. Benchaib M, Lornage J, Mazoyer C, Lejeune H, Salle B, Francois Guerin J. Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation as a prognostic indicator of assisted reproductive technology outcome. Fertil Steril 2007;87(1):93-100.

11. Irvine DS, Twigg JP, Gordon EL, Fulton N, Milne PA, Aitken RJ, DNA integrity in human spermatozoa: relationships with semen quality, *J Androl* 21:33, 2000.
12. Evenson DP, Jost LK, Marshall D, Zinaman MJ, Clegg E, Purvis K, et al. Utility of the sperm chromatin structure assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic, *Hum Reprod* 14:1039, 1999.
13. Larson KL, DeJonge CJ, Barnes AM, Jost LK, Evenson DP, Sperm chromatin structure assay parameters as predictors of failed pregnancy following assisted reproductive techniques, *Hum Reprod* 15:1717, 2000.
14. Morris ID, Ilott S, Dixon L, Brison DR, The spectrum of DNA damage in human sperm assessed by single cell gel electrophoresis (Comet assay) and its relationship to fertilization and embryo development, *Hum Reprod* 17:990, 2002.
15. Zini A, Fischer MA, Sharir S, Shayegan B, Phang D, Jarvi K, Prevalence of abnormal sperm DNA denaturation in fertile and infertile men, *Urology* 60:1069, 2002.
16. Duran EH, Morshedi M, Taylor S, Oehninger S, Sperm DNA quality predicts intrauterine insemination outcome: a prospective cohort study, *Hum Reprod* 17:3122, 2002.
17. Spano M, Bonde JP, Hjollund HI, Kolstad HA, Cordelli E, Leter G, Sperm chromatin damage impairs human fertility. The Danish First Pregnancy Planner Study Team, *Fertil Steril* 73:43, 2000.
18. Saleh RA, Agarwal A, Nelson DR, Nada EA, El-Tonsy MH, Alvarez JG, et al. Increased sperm nuclear DNA damage in normozoospermic infertile men: a prospective study, *Fertil Steril* 78:313, 2002.
19. Sakkas D, Alvarez J. G, "Sperm DNA fragmentation: mechanisms of origin, impact on reproductive outcome, and analysis," *Fertility and Sterility* 2010;93(4):1027–1036.
20. Ryan T, Schulte, Dana A, et al. Sperm DNA damage in male infertility: etiologies, assays, and outcomes. *J Assist Reprod Genet.* 2010;27:3-12.

21. Poongothai J, Gopenath TS, Manonayaki S, Genetics of human male infertility. Singapore Med J. 2009;50(4):336-47.
22. Berek, Novak's Gynecology. Fifteenth Edition. 2012.
23. Mosher WD, Pratt WF, Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. Fertil Steril 1991; 56(2):192-193
24. Ruwanpura SM, McLahlan RI, Meachem SJ. Hormonal regulation of male germ cell development. J Endocrinol 2010;205:117-131
25. Vogel F, Rathenberg R, Spontaneous mutation in man, Adv Hum Genet 5:223, 1975
26. Amann RP, The cycle of the seminiferous epithelium in humans: a need to revisit? J Androl 2008;29:469-487
27. Johnson L, Petty CS, Neaves WB, Further quantification of human spermatogenesis: germ cell loss during postprophase of meiosis and its relationship to daily sperm production, Biol Reprod 29:207, 1983.
28. Ramalho-Santos J, Schatten G, Moreno RD. Control of membrane fusion during spermiogenesis and the acrosome reaction. Biol Reprod 2002;67:1043-1051
29. Lt Col Pankaj Talwar VSM. Manual of Assisted Reproductive Technologies and Clinical Embryology. First Edition. 2012
30. Hinrichsen MJ, Blaquier JA, Evidence supporting the existence of sperm maturation in the human epididymis, J Reprod Fertil 60:291, 1980.
31. Turner TT, De Graaf's thread: the human epididymis. J Androl 2008;29:237-250
32. Bedford JM, The contraceptive potential of fertilization: a physiological perspective, Hum Reprod 9:842, 1994
33. Marengo SR, Maturing the sperm: unique mechanisms for modifying integral proteins in the sperm plasma membrane, Animal Reprod Sci 105:52, 2008
34. Bostofte E, Bagger P, Michael A, Fertility prognosis for infertile men: results of follow-up study of semen analysis in infertile men from two

- different populations evaluated by the cox regression model. *Fertil Steril* 1990; 54(6): 1100-6
35. Foldesy RG, Bedford JM, Biology of the scrotum. I. Temperature and androgens as determinants of the sperm storage capacity of the rat cauda epididymis, *Biol Reprod* 26:673, 1982
 36. World Health Organization. 2010 Laboratory manual for the examination and processing of human semen. Available from: URL: http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241547789_eng.pdf
 37. Williams M, Hill CJ, Scudamore I, Dunphy B, Cooke ID, Barratt CLR, Sperm numbers and distribution within the human fallopian tube around ovulation, *Hum Reprod* 8:2019, 1993.
 38. Ikawa M, Inoue N, Banham AM, et al. Fertilization: a sperm's journey to and interaction with the oocyte. *J Clin Invest* 2010;120:984-994.
 39. Katz DF, Drobnis EZ, Overstreet JW, Factors regulating mammalian sperm migration through the female reproductive tract and oocyte vestments, *Gamete Res* 22:443, 1989.
 40. Cross NL, Morales P, Overstreet JW, Hanson FW, Induction of acrosome reactions by the human zona pellucida, *Biol Reprod* 38:235, 1988.
 41. Wilcox AJ, Weinberg CR, Baird DD, Timing of sexual intercourse in relation to ovulation. Effects on the probability of conception, survival of the pregnancy, and sex of the baby, *New Engl J Med* 333:1517, 1995.
 42. Cohen-Dayag A, Tur-Kaspa I, Dor J, Mashiach S, Eisenbach M, Sperm capacitation in humans is transient and correlates with chemotactic responsiveness to follicular factors, *Proc Natl Acad Sci USA* 92:11039, 1995.
 43. Chakravarty S, Kadunganattil S, Bansal P, Sharma RK, Gupta SK, Relevance of glycosylation of human zona pellucida glycoproteins for their binding to capacitated human spermatozoa and subsequent induction of acrosomal exocytosis, *Mol Reprod Dev* 75:75, 2008.
 44. The ESHRE Capri Workshop Group. Male sterility and subfertility: guidelines for management. *Hum Reprod* 1994;9:1260-1264.

45. Spratt DI, Carr DB, Merriam GR, Scully RE, Rao PN, Crowley WF, Jr.,
The spectrum of abnormal patterns of gonadotropin-releasing hormone
secretion in men with idiopathic hypogonadotropic hypogonadism: clinical
and laboratory correlations, *J Clin Endocrinol Metab* 64:283, 1987.
46. Schwartz ID, Root AW, The Klinefelter syndrome of testicular dysgenesis,
Endocrinol Metab Clin North Am 20:153, 1991.
47. Patrizio P, Asch RH, Handelin B, Silber SJ, Aetiology of congenital
absence of vas deferens: genetic study of three generations, *Hum Reprod*
8:215, 1993.
48. Zariwala MA, Knowles MR, Omran H, Genetic defects in ciliary structure
and function, *Annu Rev Physiol* 69:423, 2007.
49. Male Infertility Best Practice Policy Committee of the American
Urological Association; Practice Committee of the American Society for
Reproductive Medicine . Report on optimal evaluation of the infertile
male. *Fertil Steril* 2006 ;86:s202-209.
50. Chen Z, Toth T, Godfrey-Bailey L, Mercedat N, Schiff I, Hauser R,
Seasonal variation and age-related changes in human semen parameters, *J
Androl* 24:226, 2003.
51. Andolz P, Bielsa MA, Andolz A, Circannual variation in human semen
parameters, *Int J Androl* 24:266, 2001.
52. Cooper TG, Noonan E, von Eckardstein S, Auger J, Baker HW, Behre
HM, et al. World Health Organization reference values for human semen
characteristics, *Hum Reprod Update* 16:231, 2010.
53. WHO: World Health Organization Laboratory Manual For The
Examination Of Human Semen And Sperm-Cervical Mucus Interaction. 4th
Ed. New York: Cambridge University Press: Cambridge.1999.
54. Yaman S, Müftüoğlu Y.Z, Anafarta K, Bedük Y, Erkek İnfertilitesi.
Üroloji, Ankara, Güneş Kitabevi, 1990:483-508.
55. Weiske WH., Pregnancy caused by sperm from vasa efferentia. *Fertil
Steril*. 1994 Sep;62(3):642-3

56. Tyler JP, Crockett NG, Driscoll GL, Studies of human seminal parameters with frequent ejaculation. I. Clinical characteristics, *Clin Reprod Fertil* 1:273, 1982
57. Pellestor F, Girardet A, Andreo B, Effect of long abstinence periods on human sperm quality, *Int J Fertil Menopausal Stud* 39:278, 1994.
58. Levitas E, Lunenfeld E, Weiss N, et al. Relationship between the duration of sexual abstinence and semen quality: analysis of 9,489 semen samples. *Fertil Steril* 2005;83:1680-1686.
59. De Jonge C, LaFromboise M, Bosmans E, Ombelet W, Cox A, Nijs M., Influence of the abstinence period on human sperm quality. *Fertil Steril*. 2004 Jul;82(1):57-65.
60. Amelar R.D. Coagulation, liquefaction and viscosity of human semen. *J Urol* 1962, 87: 187-190.
61. Munuce MJ, Bregni C, Carizza C, Mendeluk G, Semen culture, leukocytospermia, and the presence of sperm antibodies in seminal hyperviscosity, *Arch Androl* 42:21, 1999.
62. Siciliano L, Tarantino P, Longobardi F, Rago V, De Stefano C, Carpino A, Impaired seminal antioxidant capacity in human semen with hyperviscosity or oligoasthenozoospermia, *J Androl* 22:798, 2001.
63. Curi SM, Ariagno JI, Chenlo PH, Mendeluk GR, Pugliese MN, Sardi Segovia LM, Repetto HE, Blanco AM, Asthenozoospermia: analysis of a large population, *Arch Androl* 49:343, 2003.
64. Gardner D.K., Weissman A., Howles C. M. , Shoham Z., Textbook of assisted reproductive techniques, Fourth Edition, Volume 1: Laboratory Perspectives. Informa Healthcare, 2012.
65. Guzick DS, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Brazil CK, Nakajima ST, Coutifaris C, et al. Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men, *New Engl J Med* 345:1388, 2001.
66. Bonde JP, Ernst E, Jensen TK, Hjollund NH, Kolstad H, Henriksen TB, et al. Relation between semen quality and fertility: a population-based study of 430 first-pregnancy planners, *Lancet* 352:1172, 1998.

67. Jarow JP, Espeland MA, Lipshultz LI, Evaluation of the azoospermic patient, *J Urol* 142:62, 1989
68. Kruger TF, Acosta AA, Simmons KF, et al. Predictive value of abnormal sperm morphology in in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1988;49:112-117.
69. Kruger TF, Menkveld R, Stander FS, et al. Sperm morphologic features as a prognostic factor in in vitro fertilization, *Fertil Steril* 1986;46:1118-1123
70. Kruger TF, Acosta AA, Simmons KF, Swanson RJ, Matta JF, Veeck LL, et al. New method of evaluating sperm morphology with predictive value for human in vitro fertilization, *Urology* 30:248, 1987.
71. Turek PJ, Infections, immunology, and male infertility., *Infertil Reprod Med Clin North Am* 10:435, 1999.
72. Haas GG, Jr., The inhibitory effect of sperm-associated immunoglobulins on cervical mucus penetration, *Fertil Steril* 46:334, 1986.
73. Mahony MC, Blackmore PF, Bronson RA, Alexander NJ, Inhibition of human sperm-zona pellucida tight binding in the presence of antisperm antibody positive polyclonal patient sera, *J Reprod Immunol* 19:287, 1991.
74. Smith RG, Johnson A, Lamb D, Lipshultz LI, Functional tests of spermatozoa. Sperm penetration assay, *Urol Clin North Am* 14:451, 1987.
75. Burkman LJ, Coddington CC, Franken DR, Kruger TF, Rosenwaks Z, Hodgen GD, The hemizona assay (HZA): development of a diagnostic test for the binding of human spermatozoa to the human hemizona pellucida to predict fertilization potential, *Fertil Steril* 49:688, 1988.
76. Davis RO, Katz DF, Standardization and comparability of CASA instruments, *J Androl* 13:81, 1992.
77. Fenichel P, Donzeau M, Farahifar D, Basteris B, Ayraud N, Hsi BL, Dynamics of human sperm acrosome reaction: relation with in vitro fertilization, *Fertil Steril* 55:994, 1991.
78. Rolf C, Behre HM, Cooper TG, Koppers B, Nieschlag E, Creatine kinase activity in human spermatozoa and seminal plasma lacks predictive value for male fertility in in vitro fertilization, *Fertil Steril* 69:727, 1998.

79. Iwasaki A, Gagnon C, Formation of reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients, *Fertil Steril* 57:409, 1992.
80. Aitken RJ, Buckingham D, West K, Wu FC, Zikopoulos K, Richardson DW, Differential contribution of leucocytes and spermatozoa to the generation of reactive oxygen species in the ejaculates of oligozoospermic patients and fertile donors, *J Reprod Fertil* 94:451, 1992.
81. Ravel C, Berthaut I, Bresson JL, Siffroi JP, Prevalence of chromosomal abnormalities in phenotypically normal and fertile adult males: large-scale survey of over 10,000 sperm donor karyotypes, *Hum Reprod* 21:1484, 2006.
82. Sharlip ID, Jarow JP, Belker AM, Lipshultz LI, Sigman M, Thomas AJ, et al. Best practice policies for male infertility, *Fertil Steril* 77:873, 2002.
83. Pavlovich CP, King P, Goldstein M, Schlegel PN, Evidence of a treatable endocrinopathy in infertile men, *J Urol* 165:837, 2001.
84. Raman JD, Schlegel PN, Aromatase inhibitors for male infertility, *J Urol* 167:624, 2002.
85. Kolettis PN, Thomas AJ, Jr., Vasoepididymostomy for vasectomy reversal: a critical assessment in the era of intracytoplasmic sperm injection, *J Urol* 158:467, 1997.
86. Pavlovich CP, Schlegel PN, Fertility options after vasectomy: a cost-effectiveness analysis, *Fertil Steril* 67:133, 1997.
87. Schlegel PN, Is assisted reproduction the optimal treatment for varicocele-associated male infertility? A cost-effectiveness analysis, *Urology* 49:83, 1997
88. Aitken RJ. Sperm function tests and fertility. *Int J Androl*. 2006;29:69-75.
89. Aitken RJ, Sawyer D. The human spermatozoon-not waving but drowning. *Adv Exp Med Biol*. 2003;518:85-98.
90. Aitken RJ, De Iuliis GN. On the possible origins of DNA damage in human spermatozoa . *Mol Hum Reprod*. 2010;16:3-13.

91. Sakkas D, Urner F, Bianchi PG, et al. Sperm chromatin anomalies can influence decondensation after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1996;11:837-43.
92. Kodama H, Yamaguchi R, Fukuda J, et al. Increased oxidative deoxyribonucleic acid damage in the spermatozoa of infertile male patients. *Fertil Steril.* 1997;68:519-24.
93. Zini A, Bielecki R, Phang D, et al. Correlations between two markers of sperm DNA integrity, DNA denaturation and DNA fragmentation, in fertile and infertile men. *Fertil Steril.* 2001;75:674-7.
94. Zini A, Kamal K, Phang D, et al. Biologic variability of sperm DNA denaturation in infertile men. *Urology.* 2001;58:258-61.
95. Zini A, San Gabriel M, Baazeem A. Antioxidants and sperm DNA damage: a clinical perspective. *J Assist Reprod Genet.* 2009;26:427-32.
96. Zini A, Sigman M. Are tests of sperm DNA damage clinically useful? Pros and cons. *J Androl.* 2009;3:219-29.
97. Aitken RJ, De Iuliis GN. Origins and consequences of DNA damage in male germ cells. *Reprod Biomed Online.* 2007;14:727-33.
98. Bannister L. A, Schimenti J. C, "Homologous recombinational repair proteins in mouse meiosis," *Cytogenetic and Genome Research*, vol. 107, no. 3-4, pp. 191–200, 2004.
99. Marcon L, Boissonneault G, "Transient DNA strand breaks during mouse and human spermiogenesis: new insights in stage specificity and link to chromatin remodeling," *Biology of Reproduction*, vol. 70, no. 4, pp. 910–918, 2004.
100. Tesarik J, Mendoza C, Greco E, 2002 Paternal effects acting during the first cell cycle of human preimplantation development after ICSI, *Human Reproduction* 17, 184–189.
101. Sakkas D, Mariethoz E, Manicardi G, Bizzaro D, Bianchi PG et al. Origin of DNA damage in ejaculated human spermatozoa, *Rev Reprod* 1999; 4: 31–7.

102. Sakkas D, Mariethoz E, St John JC. Abnormal sperm parameters in humans are indicative of an abortive apoptotic mechanism linked to the Fas-mediated pathway, *Exp Cell Res* 1999;251: 350–5.
103. Baccetti B, Strehler E, Capitani S, Collodel G, de Santo M et al. The effect of follicle stimulating hormone therapy on human sperm structure (*Notulae seminologicae* 11), *Hum Reprod* 1997; 12: 1955–68.
104. Muratori M, Piomboni P, Baldi E, Filimberti E, Pecchioli P et al. Functional and ultrastructural features of DNA fragmented human sperm, *J Androl* 2000; 21: 903–12.
105. Sakkas D, Moffatt O, Manicardi GC, Mariethoz E, Tarozzi N et al. Nature of DNA damage in ejaculated human spermatozoa and the possible involvement of apoptosis, *Biol Reprod* 2002; 66: 1061–7.
106. DeJonge C, The clinical value of sperm nuclear DNA assessment, *Hum Fertil* 2002; 5 : 51-3.
107. Saalu LC, The incriminating role of reactive oxygen species in idiopathic male infertility: an evidence based evaluation, *Pak J Biol Sci* 2010;13:413-22.
108. Henkel RR, Leukocytes and oxidative stress: dilemma for sperm function and male fertility, *Asian J Androl* 2011;13: 43-52
109. Lanzafame FM, La Vignera S, Vicari E, Calogero AE. Oxidative stress and medical antioxidant treatment in male infertility, *Reprod Biomed Online* 2009;19:638-59.
110. Saleh RA, Agarwal A. Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice, *J Androl* 2002; 23:737-52.
111. Bansal AK, Bilaspuri GS. Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions, *Vet Med Int* 2011;2011: 686137.
112. Tremellen K, Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. *Hum Reprod Update* 2008;14:243-58.

113. De Iuliis GN, Wingate JK, Koppers AJ, McLaughlin EA, Aitken RJ. Definitive evidence for the nonmitochondrial production of superoxide anion by human spermatozoa, *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:1968-75.
114. Aitken RJ, Baker MA, De Iuliis GN, Nixon B. New insights into sperm physiology and pathology, *Handb Exp Pharmacol* 2010;(198):99-115.
115. Butler A, He X, Gordon RE, Wu HS, Gatt S, Schuchman EH. Reproductive pathology and sperm physiology in acid sphingomyelinase-deficient mice, *Am J Pathol* 2002;161: 1061-75.
116. Gharagozloo P, Aitken RJ. The role of sperm oxidative stress in male infertility and the significance of oral antioxidant therapy, *Hum Reprod* 2011;26:1628-40.
117. Choudhary R, Chawala VK, Soni ND, Kumar J, Vyas RK, Oxidative stress and role of antioxidants in male infertility, *Pak J Physiol* 2010;6:54-9.
118. Esteves SC, Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men: a prospective study, *Int Braz J Urol* 2002;28:484-5.
119. Saleh RA, Agarwal A, Nada EA, El-Tonsy MH, Sharma RK, Meyer A, et al. Negative effects of increased sperm DNA damage in relation to seminal oxidative stress in men with idiopathic and male factor infertility, *Fertil Steril* 2003;79 Suppl 3:1597-605.
120. Lavranos G, Balla M, Tzortzopoulou A, Syriou V, Angelopoulou R. Investigating ROS sources in male infertility: a common end for numerous pathways, *Reprod Toxicol* 2012;34:298-307.
121. Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction, *Fertil Steril* 2003;79:829-43.

122. Lu JC, Huang YF, Lü NQ. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen: its applicability to andrology laboratories in China, *Zhonghua Nan Ke Xue* 2010;16:867-71.
123. Rengan AK, Agarwal A, van der Linde M, du Plessis SS, An investigation of excess residual cytoplasm in human spermatozoa and its distinction from the cytoplasmic droplet, *Reprod Biol Endocrinol* 2012;10:92.
124. Hampl R, Drábková P, Kand'ár R, Stěpán J, Impact of oxidative stress on male infertility, *Ceska Gynekol* 2012;77:241-5.
125. Shiraishi K, Matsuyama H, Takihara H, Pathophysiology of varicocele in male infertility in the era of assisted reproductive technology, *Int J Urol* 2012;19:538-50.
126. De Iuliis GN, Newey RJ, King BV, Aitken RJ, Mobile phone radiation induces reactive oxygen species production and DNA damage in human spermatozoa in vitro, *PLoS One* 2009;4:6446.
127. Jurasović J, Cvitković P, Pizent A, Colak B, Telisman S, Semen quality and reproductive endocrine function with regard to blood cadmium in Croatian male subjects, *Biometals* 2004;17:735-43. 142.
128. Saleh RA, Agarwal A, Sharma RK, Nelson DR, Thomas AJ Jr, Effect of cigarette smoking on levels of seminal oxidative stress in infertile men: a prospective study, *Fertil Steril* 2002;78:491-9.
129. Kothari S, Thompson A, Agarwal A, du Plessis SS, Free radicals: their beneficial and detrimental effects on sperm function. *Indian J Exp Biol* 2010;48:425-35.
130. Suarez SS, Control of hyperactivation in sperm, *Hum Reprod Update* 2008;14:647-57.
131. Makker K, Agarwal A, Sharma R, Oxidative stress & male infertility, *Indian J Med Res* 2009;129:357-67.
132. Khosrowbeygi A, Zarghami N, Fatty acid composition of human spermatozoa and seminal plasma levels of oxidative stress biomarkers in

- subfertile males, Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2007;77:117-21.
133. Sanocka D, Kurpisz M, Reactive oxygen species and sperm cells, Reprod Biol Endocrinol 2004;2:12.
 134. Kemal Duru N, Morshedi M, Oehninger S, Effects of hydrogen peroxide on DNA and plasma membrane integrity of human spermatozoa, Fertil Steril 2000;74:1200-7.
 135. Aitken RJ, Koppers AJ. Apoptosis and DNA damage in human spermatozoa, Asian J Androl 2011;13:36-42.
 136. Agarwal A, Virk G, Ong C, Plessis S, Effect of Oxidative Stress on Male Reproduction, World J Mens Health 2014;32(1): 1-17.
 137. Agarwal A, Said TM, Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility, Hum Reprod Update 2003;9:331-45.
 138. Ochsendorf FR, Infections in the male genital tract and reactive oxygen species, Hum Reprod Update 1999;5:399–420.
 139. Shang XJ, Li K, Ye ZQ, Chen YG, Yu X, Huang YF, Analysis of lipid peroxidative levels in seminal plasma of infertile men by high-performance liquid chromatography, Arch Androl 2004;50:411–416.
 140. Aitken RJ, Harkiss D, Buckingham D, Relationship between iron-catalysed lipid peroxidation potential and human sperm function, J Reprod Fertil 1993;98:257–265.
 141. Tavalani H, Doosti M, Saeidi H, Malondialdehyde levels in sperm and seminal plasma of asthenozoospermic and its relationship with semen parameters, Clin Chim Acta 2005;356:199–203.
 142. Loft S, Kold-Jensen T, Hjollund NH, Giwercman A, Gyllemborg J, Ernst E, Olsen J, Scheike T, Poulsen HE, Bonde JP, Oxidative DNA damage in human sperm influences time to pregnancy, Hum Reprod 2003;18: 1265–1272.
 143. Nakamura H, Kimura T, Nakajima A, Shimoya K, Takemura M, Hashimoto K, et al. Detection of oxidative stress in seminal plasma and

- fractionated sperm from subfertile male patients, *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2002;105:155–160.
144. Kao SH, Chao HT, Chen HW, Hwang TI, Liao TL, Wei YH. Increase of oxidative stress in human sperm with lower motility, *Fertil Steril*, 2008;89(5):1183-90.
 145. Liochev SI, Fridovich I, Lucigenin (Bis-N-methylacridinium) as a mediator of superoxide anion production, *Archives Biochem Biophysics* 1997;337:115–120.
 146. Kobayashi H, Gil-Guzman E, Mahran AM, et al. Quality control of reactive oxygen species measurement by luminol-dependent chemiluminescence assay, *J Androl* 2001;22:568–574.
 147. Sharma RK, Pasqualotto FF, Nelson DR, Thomas AJ, Jr, Agarwal A, The reactive oxygen species-total antioxidant capacity score is a new measure of oxidative stress to predict male infertility, *Hum Reprod* 1999;14:2801–2807.
 148. Baehner RL, Boxer LA, Davis J, The biochemical basis of nitroblue tetrazolium reduction in normal human and chronic granulomatous disease polymorphonuclear leukocytes, *Blood*. 1976;48:309-13.
 149. Esfandiari N, Sharma RK, Saleh RA, Thomas AJ, Jr, Agarwal A, Utility of the nitroblue tetrazolium reduction test for assessment of reactive oxygen species production by seminal leukocytes and spermatozoa, *J Androl* 2003;24:862–870.
 150. Tunc O, Thompson J, Tremellen K, Development of the NBT assay as a marker of sperm oxidative stress, *Int J Androl* 2010 Feb;33(1):13-21.
 151. MacLeod J, Gold RZ, The male factor in fertility and infertility. V. Effect of continence on semen quality, *Fertil Steril* 1952;3:297–315.
 152. Oldereid NB, Gordeladze JO, Kirkhus B, Purvis K, Human sperm characteristics during frequent ejaculation, *J Reprod Fertil* 1984;71: 135–40.

153. Matilsky M, Battino S, Ben-Ami M, Geslevich Y, Eyali V, Shalev E, The effect of ejaculatory frequency on semen characteristics of normozoospermic and oligozoospermic men from an infertile population, *Hum Reprod* 1993;8:71–3.
154. Le Lannou D, Colleu D, Boujard D, Le Couteux A, Lescoat D, Segalen J, Effect of duration of abstinence on maturity of human spermatozoa nucleus, *Arch Androl* 1986;17:35–8.
155. Marshburn PB, Alanis M, Matthews ML, Usadi RS, Papadakis MH, Kullstam S, et al. A short period of ejaculatory abstinence before intrauterine insemination is associated with higher pregnancy rates, *Fertil Steril* 2010;93: 286–8.
156. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, Obesity and reproduction, *Fertil Steril* 90(Suppl 5):S21, 2008.
157. Stillman RJ, Rosenberg MJ, Sachs BP, Smoking and reproduction, *Fertil Steril* 46:545, 1986.
158. Fraga CG, Motchnik PA, Wyrobek AJ, Rempel DM, Ames BN, Smoking and low antioxidant levels increase oxidative damage to sperm DNA, *Mutat Res* 1996;351:199–203.
159. Koch OR, Pani G, Borrello S, Colavitti R, Cravero A, Farre S, et al. Oxidative stress and antioxidant defenses in ethanol-induced cell injury, *Mol Aspects Med* 2004;25:191–198.
160. Nagy F, Pendergrass PB, Bowen DC, Yeager JC, A comparative study of cytological and physiological parameters of semen obtained from alcoholics and non-alcoholics, *Alcohol* 21:17, 1986.
161. Aitken, R.J., West, K.M., Analysis of the relationship between reactive oxygen species production and leucocyte infiltration in fractions of human semen separated on Percoll gradients, *Int. J. Androl.* 1990;13: 433–451.
162. Jurema MW, Vieira AD, Bankowski B, Petrella C, Zhao Y, Wallach E et. al, Effect of ejaculatory abstinence period on the

- pregnancy rate after intrauterine insemination, *Fertil Steril* 2005;84(3):678-81.
163. Sánchez-Martín P, Sánchez-Martín F, González-Martínez M, Gosálvez J, Increased pregnancy after reduced male abstinence, *Syst Biol Reprod Med*. 2013;59(5):256-60.
 164. Levitas E, Lunenfeld E, Weisz N, Friger M, Har-Vardi I, Potashnik G, Relationship between sexual abstinence duration and the acrosome index in teratozoospermic semen: analysis of 1800 semen samples, *Andrologia*. 2006;38(3):110-2.
 165. Carlsen E, Petersen JH, Andersson AM, Skakkebaek NE, Effects of ejaculatory frequency and season on variations in semen quality, *Fertil Steril* 2004;82(2):358-66.
 166. Elzanaty S, Malm J, Giwercman A, Duration of sexual abstinence: epididymal and accessory sex gland secretions and their relationship to sperm motility, *Hum Reprod*. 2005;20(1):221-5.
 167. Ricci G, Perticarari S, Boscolo R, Montico M, Guaschino S, Presani G, Semen preparation methods and sperm apoptosis: swim-up versus gradient-density centrifugation technique, *Fertil Steril* 2009;91(2):632-8.
 168. Amiri I, Ghorbani M, Heshmati S, Comparison of the DNA Fragmentation and the Sperm Parameters after Processing by the Density Gradient and the Swim up Methods, *J Clin Diagn Res* 2012;6(9):1451-3.
 169. Ghaleno LR, Valojerdi MR, Janzamin E, Chehrazhi M, Sharbatoghli M, Yazdi RS, Evaluation of conventional semen parameters, intracellular reactive oxygen species, DNA fragmentation and dysfunction of mitochondrial membrane potential after semen preparation techniques: a flow cytometric study, *Arch Gynecol Obstet*. 2014;289(1):173-80.
 170. Kılıcdag E.B, The effect of intervals from sperm wash to intrauterine insemination (IUI) time on pregnancy rate, *Journal of Turkish Society of Obstetrics and Gynecology* 2012; 9(3): 159- 63.

171. Koyun E, Okyay R.E, Doğan Ö. E, Kovalı M, Doğan S.S, Gülekli B, The effect of intrauterine insemination time on semen parameters, J Turk Ger Gynecol Assoc. 2014; 15(2): 82–85.
172. Alexander C. J, King J, Lipari C, Zhao Y, Wallach E. E, The Effect of Time Intervals Between Semen Collection, Processing and Intrauterine Insemination (IUI) on Pregnancy Rates in Clomiphene-Citrate-IUI Cycle, Fertility and Sterility, September 2005; 84(1):279 .
173. Yavas Y, Selub MR, Intrauterine insemination (IUI) pregnancy outcome is enhanced by shorter intervals from semen collection to sperm wash, from sperm wash to IUI time, and from semen collection to IUI time, Fertil Steril. 2004;82(6):1638-47.
174. Desai NR, Mahfouz R, Sharma R, Gupta S, Agarwal A. Reactive oxygen species levels are independent of sperm concentration, motility, and abstinence in a normal, healthy, proven fertile man: a longitudinal study, Fertil Steril 2010;94(4):1541-3.
175. Marshburn PB, Giddings A, Causby S, Matthews ML, Usadi RS, Steuerwald N, et al. Influence of ejaculatory abstinence on seminal total antioxidant capacity and sperm membrane lipid peroxidation, Fertil Steril. 2014;102(3):705-10.
176. Gosálvez J, González-Martínez M, López-Fernández C, Fernández JL, Sánchez-Martín P, Shorter abstinence decreases sperm deoxyribonucleic acid fragmentation in ejaculate. Fertil Steril 2011;96(5):1083-6.
177. Yadav S.B, Suryakar A.N, Huddedar A.D, Shukla P.S, Effect of antioxidants and antibiotics on levels of seminal oxidative stress in leukocytospermic infertile men, Indian J. Clin. Biochem. 2006;(21):152–156.
178. Yanushpolsky E.H, Politch J.A, Hill J.A, Anderson D.J, .Is leukocytospermia clinically relevant? Fertil Steril 1996;66:822–825.

179. Yumura Y, Iwasaki A, Saito K, Ogawa T, Hirokawa M., Effect of reactive oxygen species in semen on the pregnancy of infertile couples International Journal of Urology 2009;16:202–207.
180. Thomson LK, Zieschang JA, Clark AM, Oxidative deoxyribonucleic acid damage in sperm has a negative impact on clinical pregnancy rate in intrauterine insemination but not intracytoplasmic sperm injection cycles, Fertil Steril 2011;96(4):843-7.
181. Zorn B, Vidmar G, Meden-Vrtovec H, Seminal reactive oxygen species as predictors of fertilization, embryo quality and pregnancy rates after conventional in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection, Int J Androl 2003;26(5):279-85.
182. Hammadeh ME, Radwan M, Al-Hasani S, Micu R, Rosenbaum P, Lorenz M, Schmidt W, Comparison of reactive oxygen species concentration in seminal plasma and semen parameters in partners of pregnant and non-pregnant patients after IVF/ICSI, Reprod Biomed Online 2006;13(5):696-706.
183. Venkatesh S, et al. Correlation of sperm morphology and oxidative stress in infertile men, Iranian Journal of Reproductive Medicine 2009;7(1):29-34.
184. Agarwal A, Tvrda E, Sharma R, Relationship amongst teratozoospermia, seminal oxidative stress and male infertility, Reproductive Biology and Endocrinology 2014;12:45.
185. Iommiello V. M, Albani E, Rosa A. D, Marras A, Menduni F, Morreale G, et al. Ejaculate Oxidative Stress Is Related with Sperm DNA Fragmentation and Round Cells International Journal of Endocrinology 2015 Article ID 321901, 6 pages.

8.ÖZET

IUI SİKLUSLARINA GİREN HASTALARDA CİNSEL PERHİZ SÜRESİNİN REAKTİF OKSİJEN RADİKALLERİ OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİ

Bu prospektif çalışmada; IUI sikluslarına girecek hastalarda cinsel perhiz sürelerinin reaktif oksijen radikalleri oluşumu üzerine etkisi değerlendirilmiştir.

Bu amaçla, tüp bebek merkezine başvuran IUI planlanmış olan 90 hasta; 0-2 gün (n:30), 2-4 gün (n:30), 4 gün üzeri (n:30) cinsel perhiz sürelerine göre gruplandırılmış ve gruplar; klinik özelliklerin, cinsel perhiz süresinin oksidatif stres oluşumu üzerine etkisi ve ayrıca oksidatif stres, cinsel perhiz süresinin gebelik üzerine etkisi açısından karşılaştırılmışlardır. Ek olarak gruplar arasında sperm yıkama yönteminin semen parametrelerine etkisi değerlendirilmiştir.

Tüm hastalar cinsel perhiz sürelerinin semen parametreleri üzerine etkisi açısından değerlendirildiğinde; cinsel perhiz süresi ve semen parametreleri arasında ilişki olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Gruplar için bağımsız olarak sperm yıkama işleminin semen parametreleri üzerine etkileri değerlendirildiğinde motilite ve ileri hareket açısından tüm gruplarda yıkama sonrası anlamlı olumlu etki görülmüştür ($p<0,001$). Konsantrasyon etkisi açısından 0-2 gün, 4 gün üzeri cinsel perhiz süresi grubu için anlamlı fark saptanmaz iken 2-4 gün cinsel perhiz süresi grubu için anlamlı artış saptanmıştır ($p<0,001$). Delta analiz sonuçlarına göre konsantrasyon açısından yıkamanın tüm gruplarda olumlu etkisi olduğu gözlenmiştir ($p=0,021$).

Cinsel perhiz sürelerinin oksidatif stres açısından etkisine bakıldığında, artan cinsel perhiz süresi ile oksidatif stresin arttığı saptanmıştır ($p=0,031$).

Lökositosperminin oksidatif stres ile ilişkisi bağımsız olarak tüm hastalarda değerlendirildiğinde, ilişki saptanmamıştır ($p=0,236$).

IUI sonrası gebelik sonuçları cinsel perhiz süreleri ile değerlendirildiğinde; artan cinsel perhiz süreleri ile gebelik oranlarının düştüğü (0-2 gün %26.7, 2-4 gün %16.7, 4 gün üzeri %6.7) saptanmış olsada istatistiki fark saptanmamıştır ($p=0,115$). Gebelik olan ve olmayan grup, cinsel perhiz sürelerine bakılmaksızın oksidatif stres oranları açısından değerlendirildiğinde anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p=0,447$).

Bu çalışmanın sonucunda artan cinsel perhiz süresinin semen reaktif oksijen radikalleri yükünü arttırdığı ve gebelik oranlarını düşürdüğü bulunmuştur. Ayrıca, cinsel perhiz sürelerinin semen parametrelerine, oksidatif stres ve gebelik üzerine etkisinin değerlendirildiği geniş serilerle yapılacak daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: IUI, Oksidatif Stres, Cinsel Perhiz Süresi, Oxi-Sperm

9. SUMMARY

THE EFFECT OF THE SEXUAL ABSTINENCE PERIOD ON THE PRODUCTION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES IN PATIENTS WHO PLANNED TO TAKE PART IN INTRAUTERINE INSEMINATION

In this prospective study, we evaluated the impact of the Sexual Abstinence Period on the production of Reactive Oxygen Species in patients who planned to take part in intrauterine insemination.

For this goal; 90 patient who were referred to the infertility center and planned to take part in intrauterine insemination cycles were included for this study. Participants were divided into three groups (0-2 days, 2-4 days, 4< days) according to their sexual abstinence period. In this three groups, we compared the effects of the clinical features and the sexual abstinence period on the production of Reactive Oxygen Species. The effect of the oxidative stress and sexual abstinence period on the pregnancy rates, the influence of sperm washing technique on the sperm parameters between groups were also analyzed.

When all the participants were analyzed for the correlation between sexual abstinence period and sperm parameters, there was no significant change detected ($p>0,05$). When the groups were separately analyzed for the effect of sperm washing on sperm parameters; sperm motility and progressive motility increased after sperm washing in all of the groups ($p<0,001$). The sperm concentrations did not significantly changed in the groups of abstinence period 0-2 day and 4< day except 2-4 day ($p<0,001$). When delta analyzes were performed to compare sperm concentration before and after sperm washing, it was also significantly increased for all groups after sperm washing($p=0,021$).

When we analyzed the effect of the sexual abstinence period on the oxidative stress we found that the oxidative stress was increasing with the longer sexual abstinence period ($p=0,031$).

When all the participant were analyzed for the correlation of leukocytospermia and the oxidative stress there was no significant correlation between groups ($p=0,236$).

When the participants were analyzed for the pregnancy status after IUI, there was a decreasing rate in pregnancy success with longer sexual abstinence period (0-2 days %26.7, 2-4 days %16.7, 4< days %6.7) but the correlation was not statistically significant ($p=0,115$). The correlation between pregnancy rates and oxidative stress was not statistically significant ($p=0,447$).

In conclusion increasing sexual abstinence periods seem to decrease pregnancy rates and increase oxidative stress. Further studies in larger series would be useful to improve our understanding about the effect of the sexual abstinence period on oxidative stress, pregnancy rates and semen parameters.

Keywords: IUI, Oxidative Stress, Sexual Abstinence, Oxi-Sperm

10.EKLER

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU GİRİŞİMSSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU

ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara
	TELEFON	0312 202 69 58
	FAKS	0312 202 46 73
	E-POSTA	tipetikkurul@gazi.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	IUI Sikluslarına Giren hastalarda Cinsel Perhiz Süresinin Reaktif Oksijen Radikalleri Oluşumu Üzerine Etkisi			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Ahmet ERDEM			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI/UZMANLIK ALANI/ BULUNDUĞU MERKEZ	Kadın Hast. ve Doğum AD. / G.Ü.T.F.			
	DESTEKLEYİCİ (Varsa)				
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Kan, idrar, doku, radyolojik görüntü gibi biyokimya,mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji kolleksiyon materyalleriyle veya rntin muayene tetkik tahlil ve tedavi işlemleri sırasında (önceden) elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırmalar- Dosya ve görüntü kayıtları kullanılarak yapılan retrospektif çalışmalar veya arşiv taramaları-Uzmanlık Tezi			
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☐	ULUSLARARASI ☐
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Ver.No	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☒	İngilizce ☐ Diğer ☐
	AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU			Türkçe ☒	İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama	
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ		☒		
	BİYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU		☐		
	DİĞER		☐		

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 145	Toplantı tarihi: 07.10.2013
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, araştırma dosyasında belirtilen merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına, G.Ü.Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir.	

GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik (13.04.2013), İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr.Canan ULUOĞLU

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof.Dr.Canan ULUOĞLU BAŞKAN	Tıbbi Farmakoloji A.D	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Uzm.Dr.Cemal GÜVERCİN BAŞKAN YARD.	Tıp Etiği	Y.mah. Prof.Dr. Yunus Müftü AÇS/AP Merk.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Gonca AKBULUT RAPORTÖR	Fizyoloji A.D	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof.Dr.Bülent BOYACI ÜYE	Kardiyoloji A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	

Prof.Dr.Sefer AYCAN ÜYE	Halk Sağlığı A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	<i>Payman</i>
Prof.Dr.Mehmet Akif ÖZTÜRK ÜYE	İç Hastalıkları A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	<i>Musta</i>
Prof.Dr.Elvan İŞERİ ÜYE	Çocuk Psikiyatrisi A.D	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	<i>Öğ</i>
Prof.Dr.Arzu BAKIRTAŞ ÜYE	Çocuk Sağlığı ve Hast.A.D	G.Ü.T.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	<i>AB</i>
Prof.Dr.Nilüfer TURAN DURAL ÜYE	Farmakoloji A.D	G.Ü.E.F	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	<i>Prof.Dr.</i>
Prof.Dr.Hasan KAFALI ÜYE	Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D	Fatih Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Prof.Dr.Cengiz Bekir DEMİREL ÜYE	Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Doç.Dr.Osman YÜKSEL ÜYE	Genel Cerrahi A.D	G.Ü.T.F	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Doç.Dr.Hakan KAYIR ÜYE	Tıbbi Farmakoloji A.D	G.A.T.A	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	<i>H Kay</i>
Öğr.Gör.Adem GELİR ÜYE	Avukat	G.Ü.	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	Katılmadı
Emine ŞEKER ÜYE	Sivil Temsilci	-	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	<i>Y. Şeker</i>

* :Araştırma ile İlişki
** :Toplantıda Bulunma

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Yaman Değirmenci
Baba Adı	Orhan
Doğum Yeri/Tarihi	Heidelberg / ALMANYA 19.12.1989
Diploma Tarihi / Diploma No	25/08/2010 - 2. BT. 16. 504
Mezun Olduğu Fakülte	Silegman Dental Üniversitesi Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Kadın Hastalıkları ve Doğum
İhtisas Süresi	Yıl: 4 (Dört) Ay: 4 (Dört)
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI: IUI Sıklıklarına Gören Hastalarda

Cinsel Perhiz Sıklığının Reaktif Oksijen Redüktasyonu Ölçümü
Üzerine Etkisi

JÜRİ KARARI:

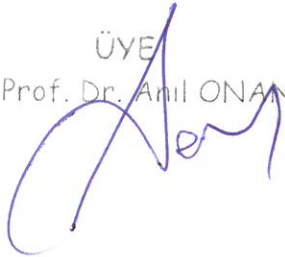
Yukarıda ismi geçen tez çalışması jüri üyeliği ile
uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ

BAŞKAN
Prof. Dr. Ahmet ERDEM



ÜYE
Prof. Dr. Anıl ONAN



ÜYE
Doç. Dr. Polat DURSUN

