



**PENTOKSİLİFİNİN ASTENOZOOSPERMİK
OLGULARDA SPERM KALİTESİNE ETKİLERİNİN
ELEKTRON MİKROSKOBU İLE ARAŞTIRILMASI**

Serdar YİĞİT

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Deniz ÜNAL

Yüksek Lisans Tezi – 2015

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PENTOKSİLİFİNİN ASTENOZOOSPERMİK
OLGULARDA SPERM KALİTESİNE ETKİLERİNİN
ELEKTRON MİKROSKOBU İLE ARAŞTIRILMASI**

Serdar YİĞİT

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Doç. Dr. Deniz ÜNAL

ERZURUM
2015

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

PENTOKSİLİFİNİN ASTENOZOOSPERMİK OLGULARDA
SPERM KALİTESİNE ETKİLERİNİN ELEKTRON MİKROSKOBU
İLE ARAŞTIRILMASI

Serdar YİĞİT

Tez Savunma Tarihi : 06.07.2015

Tez Danışmanı : Doç. Dr. Deniz ÜNAL

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Bünyami ÜNAL

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Selina AKSAK KARAMEŞE

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans Tezi
ERZURUM – 2015

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	IV
ÖZET	V
ABSTRACT	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
TABLolar DİZİNİ	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Testisler.....	2
2.1.1. Testisin Embriyolojisi.....	2
2.1.2. Testisin Anatomisi	2
2.1. Testisin Histolojisi	3
2.2. Spermatogenez.....	5
2.2.1. Spermatogonia	5
2.2.2. Spermatozoidler	6
2.3. Motilite ve Mitokondri İlişkisi Sperm Hareketi Ve Metabolizması	11
2.3.1. Normal Sperm Motilitesinin Hücresel Temeli.....	11
2.3.2. Motilitede Mitokondrinin Önemi.....	12
2.3.3. Sperm Metabolizması	13
2.4. İnfertilite	14
2.4.1. Erkek infertilitesi	15
2.5. Erkek infertilite Nedenleri	16
2.5.1. Hipogonadotropik Hipogonadizm	16
2.5.2. Hiperprolaktinemi	16

2.5.3. Testiküler Nedenler.....	16
2.5.4. Klinefelter Sendromu.....	16
2.5.5. İnmemiş Testis.....	17
2.5.6. Varikosel.....	17
2.5.7. Germinal Hücre Aplazisi	17
2.5.8. Sistemik Hastalıklar ve Gonadotoksinler	17
2.5.8.1. Böbrek Yetmezliği.....	17
2.5.8.2. Karaciğer Sirozu	18
2.5.8.3. Hemokromatozis.....	18
2.5.8.4. Kabakulak	18
2.5.8.5. Sigara	18
2.5.8.6. Alkol	18
2.5.8.7. Anabolik Steroidler.....	18
2.5.8.8. İlaçlar	19
2.5.8.9. Endüstriyel Gonadotoksinler	19
2.5.8.10. Hipertermi.....	19
2.5.8.11. Radyasyon.....	19
2.5.8.12. Kemoterapotik ajanlar.....	19
2.5.8.13. Enfeksiyon ve Lökospermi	20
2.5.8.14. İmmünolojik İnfertilite	20
2.5.9. Posttestiküler Nedenler	20
2.6. Astenozoospermide Tanı	21
2.7. Pentoksifilin.....	21
3. MATERYAL VE METOT.....	23
3.1. Hasta Grupları.....	23

3.2. Pentoksifilin Hazırlanışı	24
3.3. Transmisyon Elektron Mikroskobu Takip Protokolü	24
3.4. İstatistiksel Analiz.....	26
4. BULGULAR.....	27
4.1. Elektron Mikroskobik Bulguları.....	27
4.2. stereolojik Bulguları	35
5. TARTIŞMA.....	42
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	45
KAYNAKLAR.....	46
EKLER	55
EK 1. ÖZGEÇMİŞ.....	55
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU	56

TEŞEKKÜR

Tez çalıőmam ve yüksek lisans eğitimim süresince sahip olduğu bilgi birikimi ve görüőleriyle beni yönlendiren, her zaman desteğini hissettiğim çok kıymetli hocam sayın Doç.Dr Deniz NAL'a Őukran ve minnetlerimi sunarım.

Bu süreçteki desteklerinden dolayı Anabilim Dalı Baőkanımız sayın Prof.Dr. Bünyami nal hocama teşekkür ederim. Tez çalıőmamın deneysel aőamalarında yaptıkları katkılardan ötürü, sırasıyla; Yrd. Doç. Dr. İsmail Can, Yrd. Doç. Dr. Osman Nuri Keleő, Yrd. Doç.Dr. Selina Aksak Karameşe, Uzm. zgen Vuraler, Arő. Gör. Tolga Mercantepe, Arő. Gör. Tuęba Bal, Arő. Gör. Elif Polat, Hilal Atılay, Arő. Gör. Nurhan Akaras, Tuba Seçil Karabıyık, Seçil Parlak, Zeliha Yetim, Erdem Toktay ve Yunus Aktürk'e Őukranlarımı sunarım. Bahsi geçen süreç boyunca aynı çalışma ortamını paylaőtıęım, ilgi ve dostluklarını her zaman hissettiğim tüm değerli asistan arkadaşlarıma, katkıları ve sabırlarından ötürü Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün değerli yönetici ve personeline, tüm hayatım boyunca sevgilerini ve desteklerini benden esirgemeyen aileme teőekkürü bir borç bilirim.

Serdar YİğİT

ÖZET

Pentoksifilin Astenozoospermik Olgularda Sperm Kalitesine Etkilerinin Elektron Mikroskobu ile Araştırılması

Amaç: İnfertilite nedenlerinin yaklaşık yarısını erkek hastalar oluşturmaktadır. Erkek infertilite hastalarının %30-40'ının infertilite nedenleri tam olarak açıklanamamıştır. Erkek infertilitesine sebep olan birçok neden vardır. Bu çalışmada erkek infertilitesine neden olan astenozoospermik olgularında pentoksifilin motilite üzerine etkinliğinin elektron mikroskobik düzeyde incelenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Atatürk Üniversitesi Tıp Bebek Merkezinde astenozoospermik olan gönüllü hastalardan sperm örnekleri alınarak kontrol grubu olarak değerlendirildi. Spermilerin likefiye olması için yarım saat bekletikten sonra semen analiz testi yapıldı. Sonrasında %50-%90'lık gradiyent hazırlandı ve %90'lık gradient alınarak yıkama medyumu ile yıkandı. Alınan örneklerden pentoksifilin ile muamele edilenler ise deney grubu olarak kabul edildi. Hazırlanan her iki grubun örnekleri elektron mikroskobik düzeyde analiz edildi.

Bulgular: Elektron mikroskobu ile yapılan incelemede, kontrol grubunda mitokondrilerin matriks ve kristalarını kaybettikleri ve vakuoller oluştuğu belirlenmiştir. Bununla beraber mitokondrilerin dış yoğun liflerinde hasar gözlemlenmemiştir. Pentoksifilin uygulanan sperm örneklerinde ise genel olarak spermatozoonların baş, boyun ve kuyruk yapısının normal olduğu izlenmiştir.

Sonuç: Astenozoospermik hastalarda, spermilerin mitokondrilerinde matriks kristalarının hasarlı olduğu ve plazma membranının anormal genişlemeler sergilemesine mukabil, pentoksifilin ile muamele edilen gruplarda bu tür bozuklukların daha az olduğu belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Astenozoospermi, elektron mikroskopu, infertilite, pentoksifilin.

ABSTRACT

Use of Electron Microscopy in Investigation of The Effects of Pentoxifylline on Sperm Quality of Asthenozoospermic Patients

Aim: Approximately half of the causes of infertility are formed by male patients. The causes of infertility are not fully explained in 30-40% of infertile male patients. There are many reasons that cause male infertility cases and one of them is astenoozospermik cases. The aim of this study was to examine the effects of pentoxifylline on the motility of asthenozoospermic patients with electron microscope.

Metaryal and Method: Pentoxifylline is known to play an important role in sperm motility. Sperm specimens taken from volunteer patients in the study were kept for half an hour to have a liquefying. After gradient was prepared in 90% -50% ratio and samples were washed with washing medium. Prepared sperm specimens were examined by electron microscopy.

Results: In the examination by electron microscopy it was determined that there are mitochondrial matrix and cristae loss and vacuoles are formed in the control group patients. However, no damage was observed in the outer dense fibers of mitochondria. In sperm samples pentoxifylline applied, generally the head, neck and tail structure of spermatozoa was determined to be normal.

Conclusion: In Asthenozoospermic patients the damage in the mitochondrial matrix and cristae was observed. Addittionally the results showed that there was an extension in the sperm plasma membrane.

Key Words: Asthenozoospermi, electron microscope, infertility, pentoxifylline.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

CaMKIV	: Calcium dependent protein kinase (Kalsiyum Bağımlı Protein Kinaz)
DFS	: Dyspalasia of fibrous sheath (Fibröz Kılıf Displazisi)
DSÖ	: Dünya sağlık örgütü
FSH	: Folikül stimüle edici hormon
IL	: İnterlökin
OAT	: Oligoastenoteratospermi
SC	: Sinaptonemal kompleks
SYCP1	: Sinaptonemal kompleks protein
XX	: Dişi kromozom kodu
XXY	: Klinifelter sendromu
XY	: Erkek kromozom kodu

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Testisin anatomisi.....	3
Şekil 2.2. Testisin histolojisi Atatürk üniversitesi histoloji ve embriyoloji ABD da çekilmiştir.	4
Şekil 2.3. Spermin Yapısı.....	11
Şekil 3.1. Makler kamarası Atatürk üniversitesi tıp fakültesi histoloji ve embriyoloji ABD da çekilmiştir.	24
Şekil 4.1. Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Elektron yoğun lifler izlenmekte (ok). Matriks ve kristaların tamamın kaybetmiş mitokondriler gözlenmekte (ok başı). Spermatozoon baş kısmı(asteriks). Boyun kısmındaki dejenerasyon izlenmekte (x). Aksonem (kuyruklu ok). X10000.	28
Şekil 4.2. Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Elektron yoğun lifler izlenmekte (ok). Matriks ve kristallerinin tamamın kaybetmiş mitokondriler gözlenmekte (ok başı). Mitkondriyal vakuolizasyon görülmekte (asteriks). Sentirol (kuyruklu ok). Aksonem (kuyruklu ok) X25000.	29
Şekil 4.3. Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Boyun kısmında dejenerasyon izlenmekte. Aksonem izlenmekte (ok). Belirgin kristal mitokondriler izlenmekte (ok başı). Spermatozoon baş kısmı (asteriks). X10000.....	29
Şekil 4.4. Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Elektron yoğun fiber izlenmekte (ok). Belirgin kristal mitokondriler izlenmekte (ok başı). X20000.....	30

- Şekil 4.5.** Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Aksonem (9+2) izlenmekte (ok başı). Belirgin kristal mitokondriler izlenmekte (ok). Spermatozoon baş kısmı (asteriks). 25000. 30
- Şekil 4.6.** Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Dış yoğun fibriller (ok) ve aksonem (9+2)(ok başı) ve dinein uzantıları (kuyruklu ok) izlenmekte (ok) Matriks ve kristalların tamamın kaybetmiş Mitokondriler gözlenmekte (ok başı). Spermatozoon baş kısmı. Boyun kısmındaki dejenerasyon izlenmekte (x). X40000. 31
- Şekil 4.7.** Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Aksonem izlenmekte (ok). Matriks ve kristallerinin tamamın kaybetmiş Mitokondriler gözlenmekte (ok başı). Boyun kısmındaki dejenerasyon izlenmekte (x). Mitokondriyal vakuolizasyon görülmekte (asteriks). Sentirol (kuyruklu ok) X10000. 31
- Şekil 4.8.** Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Boyun ve kuyruk kısmında mitokondrilerin düzensiz dağılmış olduğu gözlenmekte. Mitokondrilerin matriks ve 32
- Şekil 4.9.** Pentoksifilin grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Aksonem yapısı izlenmekte (9+2) (ok). Mitokondriyal vakuolizasyon izlenmekte (ok başı). Spermatozoon (asteriks) Boyun kısmı (kuyruklu ok). X15000. 32
- Şekil 4.10.** Pentoksifilin grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Aksonem yapısı izlenmekte (ok). Mitokondriler izlenmekte (ok başı). Spermatozoon baş kısmı (asteriks) Boyun kısmı (kuyruklu ok). Sentirol (eğik ok). X20000. 33

Şekil 4.11. Pentoksifilin grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Aksonem yapısı izlenmekte (ok). Mitokondriler izlenmekte (ok başı). X10000.....	33
Şekil 4.12. Pentoksifilin grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Aksonem (9+2) izlenmekte (ok). Belirgin kristal mitokondriler izlenmekte (ok başı). Sentriol (kuyruklu ok). X20000.....	34
Şekil 4.13. Pentoksifilin grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Aksonem (9+2) izlenmekte (ok başı). Yoğun matriks içeren belirgin kristal mitokondriler izlenmekte (ok). X25000.	34
Şekil 4.14. Pentoksifilin grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Aksonem (9+2) izlenmekte (ok). Yoğunluğu azalmış matriks içeren belirgin kristal mitokondriler izlenmekte (kuyruklu ok). Mitokondiral vakuolizasyon gözlenmekte (ok başı). X25000.	35
Şekil 4.2. Kontrol grubuna ait ışık mikroskobundaki (koyu renkli ok) round ve (sarı renkli ok) sperm başı izlenmekte.	35
Şekil 4.2.1. Kontrol grubuna ait ışık mikroskobundaki (koyu renkli ok) round ve (sarı renkli ok) sperm başı izlenmekte	36
Şekil 4.2.2. Kontrol grubuna ait ışık mikroskobundaki (koyu renkli ok) round ve (sarı renkli ok) sperm başı izlenmekte	36
Şekil 4.2.3 Pentoksifilin grubuna ait ışık mikroskobundaki (koyu renkli ok) round ve (sarı renkli ok) sperm başı izlenmekte	37
Şekil 4.2.4 Pentoksifilin grubuna ait ışık mikroskobundaki (koyu renkli ok) round ve (sarı renkli ok) sperm izlenmekte	37
Şekil 4.2.5. Pentoksifilin grubuna ait ışık mikroskobundaki (koyu renkli ok) round ve (sarı renkli ok) sperm izlenmektedir.	38

Şekil 4.2.6. Fractionator görüntüsü.....	39
Şekil 4.2.7. Nükleator sonuçları sperm sayılarının karşılaştırılması	40
Şekil 4.2.8. Kontrol grubu ve pentoksifilin gruplarının fractinatör'a göre round ve spermelerin istatistik olarak karşılaştırılması	41



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No

Sayfa No

Tablo 2.1. Dünya sağlık örgütüünün yayınlamı olduğu sperm parametreleri 16



1. GİRİŞ

Dünya sağlık örgütüne göre infertilite, herhangi bir kontrasepsiyon yöntemi olmadan eşlerin bir yıl içinde gebeliğe ulaşamamasıdır. Bir çiftin gebe kalma şansı bir ayda %20-25, 6 ayda içinde %75, bir yıl içinde %90 dır.¹ Günümüzde ise infertilite görülme sıklığı çeşitli sebeplerle artmaktadır. Genellikle çiftlerin % 15'i bir yıl içinde gebelik elde edemez ve infertilite tedavisine başvururlar.^{2,3} Erkek infertilitesi düşük ejakulat hacmi, azospermi-oligoastenoteratospermi, normal ama infertil astenospermi, konjenital veya kazanılmış ürogenital anomaliler, ürogenital enfeksiyonlar, varikosel, endokrin bozukluklar, genetik anomaliler ve immünolojik etkenlerden kaynaklanmaktadır.⁴

Astenozoospermi; spermioyogram analizlerinde, sperm motilitesinin % 50-60'dan daha az olması veya ileri motilite hareketinin olmaması durumudur.

Yürütülen bu tez çalışmasında astenozoospermik hasta grupları dünya sağlık örgütünün standartlarının belirlemiş olduğu parametrelere uygun olarak seçilmiştir. Astenozoospermik hastalara pentoksifilin uygulandığında, sperm motilite yetisi kazandığı bilinmektedir. Fakat bu uygulamanın spermde nasıl bir değişikliğe yol açtığı tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada pentoksifilin uygulaması gerçekleştirilen hastalar ile kontrol grubunu oluşturan astenozoospermik hastaların sperm yapılarında meydana gelen değişiklikler elektron mikroskobu ile incelenerek karşılaştırılmıştır. Araştırma sonucunda; astenozoospermik kontrol grubu hastalarda, sperm mitokondri matriks kristallarının hasarlı olduğu ve mitokondri plazma membranının genişlediği tespit edilmiştir. Bununla beraber pentoksifilin enjekte edilen hasta spermlerinde ise mitokondri plazma membranının normal yapısına daha yakın olduğu izlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testisler

2.1.1. Testisin Embriyolojisi

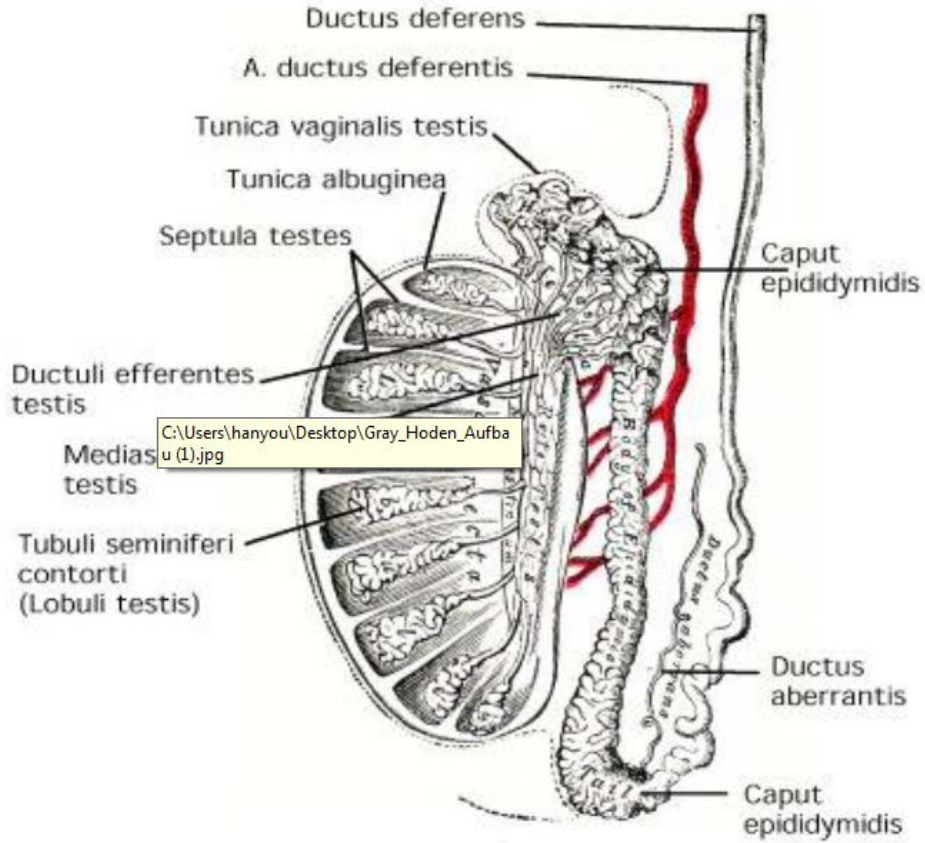
Embriyonun cinsiyeti sperm çeşidine göre belirlenir. Embriyonun morfolojik karakteri embriyonel siklusun 7.haftasına kadar belirlenmez. Erken dönemde hem erkek hem de dişi birbirine benzer ve bu dönem farklılaşmamış dönem olarak isimlendirilir.⁵

İlk olarak gonadal gelişim 5. haftada ortaya çıkar ve mezotelde bir yoğunlaşma oluşur. Eğer embriyo dişi ise (XX) gonadının korteksi ovaryuma doğru ilerlerken medullası geriler. Embriyo erkek ise (XY) medulla testise farklılaşır, korteks birçok birikinti yığarak geriler ve yok olur. Primordial germ hücreleri epiblastan oluşur. Üçüncü haftada primordial germ hücreleri endodermin içine girer. Dördüncü haftada bağırsağın mezenterlerinin yüzeyinden ilerleyerek beşinci haftada primitif gonadlara kadar gelir. Altıncı haftada genital yükseltilere doğru ilerler. Primordiyal germ hücreleri, testis ve over dönüşmesine yardımcı olur. Primordiyal germ hücreleri, primitif gonadlara ulaşır ulaşmaz genital yükseltilerdeki epitel hücreleri değişerek mezenşimin içine girer. Primitif cinsiyet kordonları olarak adlandırılan düzensiz kordonları yaparlar. Yüzey epiteline dişi ve erkek embriyolar tutunurlar ve bu gonadlar arasında hiç bir fark yoktur.^{5,6}

2.1.2. Testisin Anatomisi

Testisler skrotum denen bir kese ile vücudun dışında yer alan spermilerin üretildiği organlardır. Erkeklerde bir çift testis bulunmaktadır ve bu testislerin boyları kişiden kişiye değişmektedir ve ortalama testis 10-14 gr ağırlığında, 4-5 cm boyunda ve 2-3 cm kalınlıktadır. Anatomik olarak sol tarafta bulunan testis sağdakine oranla 1 cm daha aşağıda yer alır. Testisin üst tarafında appendiks olarak adlandırılan yapı

bulunmaktadır. Bu yapı kadınlardaki tuba uterinanın abdominal kısmına denk gelmektedir. Testislerin arka kısmının dışa bakan tarafında epididimis bulunmaktadır. Periton testisin ön kısmını tamamen örterken, arka kısmın yalnız lateral kısmını çevreler.³ Testisler fascia transversalis ve periton arasında gelişir. Ancak doğumdan önce inguinal kanalın yüzeyi de ilerleyerek skrotuma geçer.^{7,8} Fötal gelişimin sonraki aşamasında periton olarak bildiğimiz prosesus vajinalis gubernakulum testisi takip ederek karın ön duvarında ilerler ve skrotuma ulaşır. Prosesus vajinalis testislerin karın boşluğunda skrotuma geçişinde rol oynamaktadır.⁷



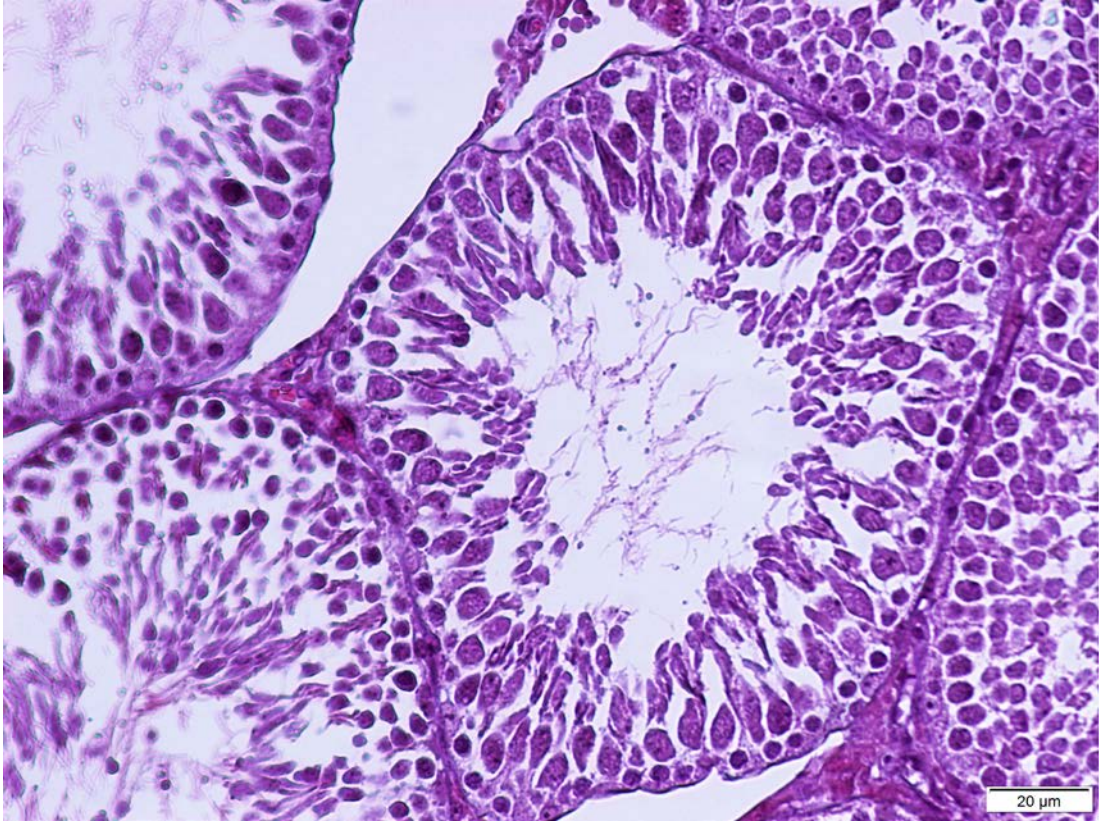
Şekil 2.1. Testisin anatomisi ⁷

2.1. Testisin Histolojisi

Testisin iki önemli görevi vardır. Bunlardan birincisi hormon üretmek ikincisinde spermatozoon üretmektir.⁹ Her testis skrotum içinde yer alır. Testisler dış tarafta tunika albuginea adı verilen bir kılıfla, içte ise tunika vaskuloza adı verilen

gevşek bağ dokudan meydana gelmiştir. Tunika albuginea testisin arka kısmında kalınlaşarak mediastium testis adı verilen bir yapıyı oluşturmaktadır.

Testis dokusunun içinde bulunan septum adı verilen fibroz uzantılar 250 tane piramidal kısma ayrılır. Her kısımda, gevşek bağ doku ile sarılan ve sayıları 1-4 arasında değişen seminifer tübül bulunmaktadır. Seminifer tübüller etrafındaki intersisiyel bağ doku, gevşek bağ doku hücreleri ile yoğun leydig hücreleri içerir. Bu hücreler testosteron salgısı yaparlar. Seminifer tübüller de spermatozoonların üretiminden sorumludurlar.¹⁰



Şekil 2.2. Testisin histolojisi Atatürk üniversitesi histoloji ve embriyoloji ABD da çekilmiştir.

2.2. Spermatogenez

2.2.1. Spermatogonia

Spermatogonialar, germ hücresi olarak bilinen doğumdan sonraki aşamada testis dokusunda mitotik bölünmeler geçirerek çoğalan hücrelerdir. Spermatogonia erkeğin yaşamı sürecinde testiste germ hücre popülasyonunun çoğaltmak zorundadır. Spermatogonyaya Tip A, Tip B ve İntermediyet tip A spermatogonyaya olarak 3 şekilde sınıflandırılır.

Spermatogonyaya, hiç bir dış etkene bağlı olmadan, yenilenen ve çoğalan spermatogonyal kök hücre şekli olan tek bir hücre şekli olarak isimlendirilir.¹⁰ Bunlar Apaired ve Aaliged gibi spermatogonyaları da oluşturmaktadır. Apaired ve Aaliged gibi spermatogonyumlar sitoplazmik köprüler sayesinde birbirleriyle etkileşim halindedirler.¹¹ Spermatogenez süresince bu köprüler yıkılmazlar ve bu köprüler protein hareketini ve germ hücreleri arasında mRNA hareketlerini gerçekleştirirler⁸. Aaliged spermatogonyaya mitotik çoğalmanın interfaz aşamasında farklılaşmalara uğrayarak A1 spermatogonyaya farklılaşır.¹² A1 spermatogonyaya mitotik çoğalmasının ardından A2, A3, A4, intermetiyet ve tip B spermatogonyaya dönüşür.¹³ Spematogonyalar sürekli seminifer tübüllerin membranı ile fiziksel etkileşim halindedir. Fakat bu farklılaşma esnasında fiziksel etkileşim azalır.

Spermatogonal farklanmayı ve embriyonik germ hücrelerini denetleyen c-kit/SCF ve retinoik asit önemli iki faktördür. Sertoli hücrelerinde bulunan SCF proteini ve spermatogonyada yer alan c-kit proteini, spermatogonal hücre farklanmasının denetlenmesinde önemli rol oynamaktadır.^{14,15} Bu c-kit/scf sinyalinde meydana gelen bir hasar olan tip A1-4 spermatogonyaların çoğalmasını engeller.^{14,16} Bu durum apoptoz ile ölüm oranının yükselmesine neden olur.¹⁷ Retinoik asit sinyali farklanmamış spermatogonyanın, A1 spermatogonyuma doğru ilerlemesinde önemli

etkendir.¹⁸ Sertoli ve spermatogonya hücrelerinde retinoik asit reseptörleri salgılanmaktadır. Retinoik asit bulunduğu zaman stra8 proteini salgılanır ve germ hücrelerinin mayoza başlamasına öncülük eder. Retinoik asit A vitamininin önemli bir bileşenidir ve retinoik asit de germ hücrelerinin mayotik profaza geçmesi için oldukça önem arz eder. Eğer postnatal testiste germ hücresi mayoz aşamasında olursa, stra8 salgısının başladığı görülür, stra8 tip A ve tip B spermatogonyalar da salgılanır. Spermatogonyumlarda farklılaşmayı denetleyen başka bir mekanizma da hormonal regülasyondur.

2.2.2. Spermatisitler

Spermatisitler mayoz aşamasına girerler. Mayoz bölünme, testiste yer alan germ hücrelerinin diploid gametten haploid gamet meydana getirmesini sağlar. Mayoz iki aşamada gerçekleşir birincisi homolog kromozomların eşlenmesi, ikincisi de kardeş kromatitlerin ayrılmasıdır.¹⁹ Mayotik profazın ilk evresi leptotendir ve bu evrede iplikçikler görülür. Zigoten evresinde homolog kromozomların eşleşmesi görülür ve sinaps gerçekleşir. Ayrıca hücrelerde kromatin kalınlaşması da zigoten evresiyle özdeşleşmiştir. Burada görev yapan üç önemli SC proteini vardır. SYCP1(sinaptonemal complex 1) SYCP2, SYCP3 proteinleridir. Bu proteinler fermuar oluşumunda görev alırlar ve rekombinasyonun oluşması için homolog kromozomların yakın olması gerekir. Pakiten evresinde kromozomlar bütünüyle sinaps oluşturmuştur. Bu evre, rekombinasyonun gerçekleştiği, kiazmata bölgelerinin gösterildiği, SC kompleksinin birbirinden ayrılarak yalnız rekombinasyonun gerçekleştiği kısmın ilişkide kaldığı fazdır.^{19,20} Profaz I, diyakinezle sonlanır. Diyakinez kromatinlerin üst düzeyde yoğunlaşmasının gerçekleştiği ve kromozom ayrılmasına hazırlık olarak kiazmatanın serbestlendiği evredir. Homolog kromozomların mayotik eşleşmesi erkek ve dişilerde farklıdır. Profaz I esnasında

seks kromozomları eşleşmez. Rekombinasyon yalnız pseudotozomal kısımlarda kalmaktadır.²⁰ XY bivalent, pakiten ve metafaz arasında inaktiftir ve XY cisimciğini oluşturmak amacıyla heterokromatin yapıda belirgin değişiklikler oluşturur.²¹ XY cisimciği spermatositlerin çekirdeğine özgüdür ve mayotik bölünmenin gerçekleşmesi için gerekmektedir. Profazın devamındaki metafaz evresinde, homolog kromozomlar iğ iplikçiklerine bağlanırlar ve anafaz evresinde hücrenin zıt kutuplarında yer alırlar.²² Telofaz evresinde haploid kromozomlu iki kardeş hücre oluşur. Bu hücreler, hücreler arası köprülerle bağlantılıdır.

Birinci mayozun profazını takiben sekonder spermatositler meydana gelir. Mayoz II oldukça hızlı tamamlandığı için spermatositlerin ömürleri oldukça kısadır. Sekonder spermatositlerin oluşumu mitozun aynısıdır. Kardeş kromatitler iğ iplikçikleriyle birbirlerine bağlanırlar ve metafaz anafaz II sırasında zıt kutuplarda bulunurlar. Mayoz II nin bitiminde spermatid olarak bildiğimiz 4 tane haploid gamet oluşur. Mayozda oluşacak herhangi bir mutasyon germ hücresi boyunca aktarıldığından mayoz hücrelerdeki bölünmeler denetim altında tutulmaktadır. Hücre siklusunun düzenli olarak denetim altında tutulması, mayozun düzenli olarak ilerlemesi için önemlidir. Siklin bağımlı kinazlar ve siklinler ile denetlenmektedir. cdk2 ve siklin A1 mayoz için önemli denetleyicilerdir.²³ Siklin A1 germ hücreleri, özellikle bir siklin olup mayozdan metafaza geçişte önemlidir.²⁴

2.2.3 Spermatidler

Spermatidler, spermiyogenezin oluşmasının bir göstergesidir. Spermiyogenez spermatid'in yetişkin spermatozaya dönüşmesidir. Spermiyogenez sırasında 5 farklı aşama gerçekleşir.

1. Akrozom meydana gelmesi
2. Çekirdeğin yoğunlaşması ve uzaması

3. Kuyruk oluşumu
4. Sitoplazmanın yeniden organizasyonu
5. Spermiyasyon

Akrozom spermatozoanın ovosite tutunmasında ihtiyaç duyduğu enzimleri barındırır.²⁵ Akrozom, golgi kompleksi aracılığıyla meydana gelen membran-bağımlı vezikül haline gelmesiyle oluşmaktadır.²⁶ Bundan sonra akrozom spermatid hücre nükleusu ile fiziksel bağlantıya girerek spermatitlerin yarısını oluşturur.

Nükleusun spermatid yüzeyine ilerlemesiyle akrozom da hücre membranıyla bağlantı kurar. Bu durumda spermatidler kutuplaşır; baş ve kuyruk kısmı meydana gelir. Spermatid çekirdeğinin kutuplaşmasından başka, kromatin de aşamalı olarak kondenzasyona uğrar.^{26,27} Bu organizasyon aşamasında histonlar, protaminler olarak adlandırılan küçük nükleozom proteinleri ile yer değiştirir. Histonların protaminlerle değişime uğraması aşamalı olarak gerçekleşir ve ilk olarak histonların geçiş proteinleri ile ikinci olarak ise bunların protaminlerle yer değişimi gözlenmektedir. Kromatinin yeniden şekillenmesinin sayesinde spermatid DNA'sı küçük ölçekte paketlenir. Spermatidlerde histonların değişim olayı tam olarak bilinmemesine rağmen bu olayların mekanizması Ca^{+2} /calmudilin bağımlı protein kinaz IV'ün (CaMKIV) doğrudan rolü vardır.²⁷⁻²⁹ Spermatidler kromatinin yeniden düzenlenmesinden sonra transkripsiyonu durdururlar. Transkripsiyonun durmasından hemem önce mRNA'lar spermatitlerde depolanır. Depolanan mRNA'ların kullanılmasından dolayı protein translasyonu meydana gelir ve bu gerçekleşen olay gecikme olarak adlandırılır. Mayozdan sonra ve spermatid kondenzasyonundan önce büyük oranda transkripte edilir. Sperm kuyruğunun oluşması ilk olarak haploid erkek germ hücrelerinde görülür.

Normal sperm hücresinin yapısı sperm ovumle birleşerek haploid sayıda kromozomların, tekrar aynı haploid sayıda kromozomları ile birleştiren erkek üreme hücresi olarak bilinmektedir.

Erkeklerde yaklaşık olarak sperm 60 mikron uzunluğundadır ve 3 kısımdan meydana gelmektedir.

Baş: Başın ön kısmı nükleusun oluşmaktadır. Nükleusun apikal kısmı akrozomdan oluşan bir yapı ile kaplıdır. Akrozomun apikal kısmı morfolojik olarak türe özgüdür ve akrozomda farklı enzimler bulunmaktadır. Akrozomun posterior bölümünde akrozom membranları, anteriordeki membranlardan daha yakındır ve akrozom yoğunluğu bu kısımda oldukça fazladır. Bu kısım ekvatoryal segment olarak adlandırılır. Sperm ovum ile etkileşime girecek kadar yaklaştığı zaman akrozom reaksiyonu başlar. Akrozomun sonlandığı bölgeden, boyun bölgesine kadar olan kısmına postakrozomal kısım denir. Bu kısmın sınırında hücre membranı yoğun bir plaklaşma görülür.

Boyun: Kuyruğun ana hatlarını oluşturur ve baş ile kuyruğun birbirine bağlanmasında görev yapar. Boyunun temel parçasına, bağlantı parçası denir. Bağlantı parçasıyla baş arasında ince flaman benzeri yapılar bulunmaktadır. Bu yapıların, baş ile kuyruğun bağlantısını sağlayan çok önemli görevleri vardır. Bağlantı bölgesinin arka bölümü, 9 adet segmentleşmiş sütundan oluşmuştur. Bu sütunlar kuyruğa ait 9 tane dış yoğun fibrilin ön kısmına bağlanır.

Kuyruk: Ortalama 55 mikron uzunluğuna sahiptir. Üç kısımdan oluşmaktadır.

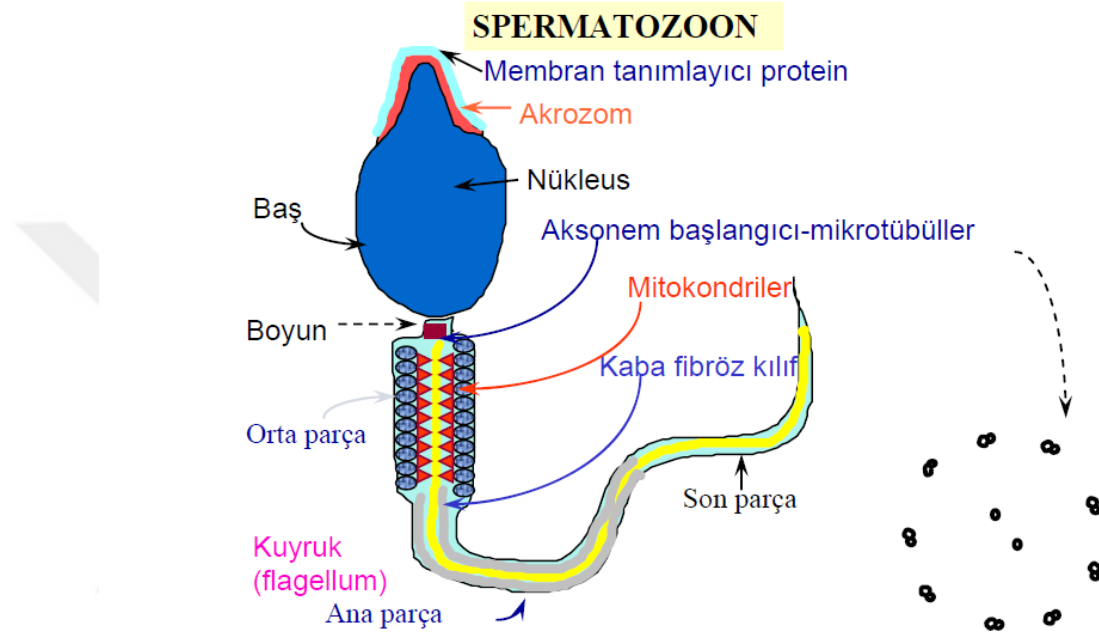
Orta parça; 5-9 mikron çapında olan kuyruğun, aksonema ve dış yoğun fibrillere ilave olarak, helezon yapıya benzer şekilde dizilmiş büyük mitokondrilerden oluşmuştur.

Orta parçada yer alan mitokondrilerin konfigürasyonu farklı türlerde farklılık oluşturur. Memelilerde mitokondriler aksonemanın temeline doğru ilerler, orada dış yoğun fibrillerle iletişime geçer. Mitokondriler, annulusun yanında bulunmakta ve annulus ilerledikçe aşağı doğru hareket etmektedirler.

Esas parça; spermin en uzun bölümünü oluşturur. Spermin motoru aksonema, yakıt deposu ise mitokondrilerdir. Aksonema başın oluşumu esnasında kuyruğun oluşacağı tarafta uzun eksene paralel, proksimal sentriyole dikey konumda bulunan distal sentriyolun yapımının başladığı bir organeldir. Aksonema; merkezinde iki adet mikrotübül ile 9 çift mikrotübül ve merkezi mikrotübüller ile çevrelenmiş, mikrotübüllerin arasında bağlayıcı radikal tarzda yerleşmiş yapılardan oluşur. Mikrotübüller kuyruğun her tarafında bulunur. Merkezde mikrotübüller bütün bir çember halinde sıralanmış 13 tane tübülden oluşur ve açık ağzı 'O' yapısında birinci mikrotübülle kapatılacak şekilde ona yaklaşmaktadır. 'O' şeklindeki mikrotübülün diğer yanında dinein kolları vardır. Mikrotübülleri yapan tübüller tubulin proteinlerinden, dinein kolları ise dinein I proteinlerinden oluşur. Bu yapı ATPaz aktivitesine sahiptir ve kimyasal enerjiden fiziksel enerjiye iletilmesinde yardımcı olur. Komşu çiftlerin arasındaki kayma hareketi dinein vasıtasıyla gerçekleşir. Dinein vasıtasıyla ATP nin hidrolizi ile oluşan enerji kullanılarak komşu çiftlerin kayma hareketi yapılır. Merkezde bulunan mikrotubüller periferik mikrotubüllerin hareketine uygun olarak radikal bağlantılar vasıtasıyla sağlanır. Bu düzenli hareketler spermin ilerlemesine sebep olmaktadır. Aksonem kuyruğun son tarafında görülmektedir. Aksonem 9 tane dış yoğun fibril ile çevrelenmektedir. Bu fibriller kuyruğun son tarafına doğru ilerledikçe incelmektedir ve çoğu zamanda kuyruğun son tarafına gelmeden biter. Kuyruğun sağlamlığından sorumludur. Sperm kuyruğunun orta parçasından kesit aldığımızda merkezden dış tarafa doğru şu yapılar

gözlemlenmektedir. Bir adet mikrotubul çifti, 9 tane kaynaşık mikrotübül çifti, mikrotübül çiftlerinin dışında 9 tane dış yoğun fibril, fibröz kılıf ve dışında hücre membranını olarak çevrenir.

Kuyruğun son kısmı; çok kısa olan ve onu saran hücre membranından oluşmaktadır.^{30,31}



Şekil 2.3. Spermin Yapısı³⁵

2.3. Motilite ve Mitokondri İlişkisi Sperm Hareketi Ve Metabolizması

2.3.1. Normal Sperm Motilitesinin Hücresel Temeli

Spermin başı ile kuyruğunun bağlantılı olduğu bir yapı vardır. Bu yapı çekirdeğin implantasyon fossasını aksonem gelişmesi için kalıp görevi yapan bir bazal tabaka ile birleşir. Kapitulum geriye doğru uzanan dokuz adet kolon, flagellumun dokuz adet lifine bağlanmıştır. Bu nedenden dolayı dış yoğun lifler ile devamlılık göstermektedir. Sperm kuyruğu boyunca aksonem dokuz yoğun dış lif ile örtülüdür. Bu dış lifler şekil ve kesit olarak ayrılırlar. Yoğun dış liflerinde kontraktil

ve enzimatik faaliyetler bulunmaması, yoğun dış liflerinin aktif motor elemanlarını içermeme olasılığını artırmaktadır.³²

Motilite bozuklukları (DFS (dysplasia of fibrous sheath) - Stump Tail Syndrome –Fibröz Kılıf Displazisi) nedeni

- a. Santral mikrotübül çiftlerinin kaybı
- b. Güç kollarının olmaması
- c. Dış yoğun liflerinden 3-8’de hasarlı uzantılar olması
- d. Orta bölümde birleşme hasarı

Hipertrofi ile hiperplaziye bağlı fibröz yapılar sperm kuyruğunun kısa, kalın ve düzensizliğine neden olur. Kuyruğun karakteristik şekilde kısa ve kalın kalmasına bağlı olması, güdük kuyruk sendromu (stump-tail) olarak isimlendirilirler. Geç spermiogenez döneminde bu problemler görüldüğünden dolayı testiküler orjinlidir ve fibröz kılıftaki hasarlar spermatozoanın etkilenmesinden dolayı önemli motiliteye neden olur. Aksonemin temelinde yer alan fibröz kılıf yapısı ile birlikteki hasarlar, longitudinal kolonlarla transvers kolonlar arasındaki bağlantıyı bozarlar. Bazılarında sadece santral ikilide (doublet) ve güç kollarında kayıplar bulunurken, bazılarında ise 9+2 aksonem yapısı ortadan kaybolur.

2.3.2. Motilitede Mitokondrinin Önemi

Spermler fertilizasyonun erken evresinde flagellar hareketler için ATP kullanırlar. Memeli sperminin ara bölgesinde, ortalama 70-80 mitokondri bulunur. Bu bölgedeki mitokondrilerin her birinde de kopya mtDNA bulunur.³³ Spermatogenez aşamasında mitokondri birtakım şekil ve subsellüler reorganizasyona uğrar³⁴. Memeli sperminin olgunlaşması esnasında mitokondri ve mitokondrial genomda sayısal azalma görülmüştür.³⁵ Spermatogenez esnasında mtDNA replikasyonu ve organizasyonu önemli derecede denetlenmelidir ki, spermde

fonksiyon için gerekli sayıda mitokondri bulunabilsin. Mitokondrial biyoenerji sperm hareketliliği için önemli olduğundan dolayı, mitokondrideki kalitatif ve kantitatif farklanmalar, spermatozoadaki hücresel fonksiyonları etkiler. Spermiler, ejakulasyonu takiben motilite için enerjiye ihtiyaç duyarlar. Erkek infertilitesinde, mitokondrinin biyoenerjisi oldukça önemlidir.³⁶⁻³⁸

2.3.3. Sperm Metabolizması

Tüm somatik hücrelerde olan metabolizmaların aynısı spermatozoada da meydana gelir. Temelde spermatozoada, pentozfosfat yolu, glikoliz, sitrik asit siklusu ve oksidatif fosforilasyon gerçekleşmektedir.³⁹ Spermatozoaların sitoplazmasının yok denecek kadar az olması, ne protein sentezinin ne de yapımının olmadığına kanıttır. Ayrıca spermatozoların tek amacı vardır; dişi gamete genetik materyalini ulaştırıp içeride aktif hale getirmektir. Bu amaç doğrultusunda, sadece ileri doğru hareket edip oositin etrafındaki zarları geçmesi yeterlidir. Zarları geçmesi için ise akrozom reaksiyonları önemli rol oynamaktadır. Oositi aktive etmede gerekli olan proteinleri de epididimiste kazanmış olduğundan tekrar sentez yapmasına gerek yoktur. Sperm metabolizması, motilite ve akrozom reaksiyonları için gerekli olan enerjiyi sağlar. Bu enerjinin taşınması gerekmektedir ve bu görevi de fosfat molekülü yapmaktadır. Fosfat molekülü temelde ATP, GTP ve NADPH içerisinde bulunur. Bu enerji aksonemdeki dynein kollarının birbirlerinin üstünden kayarak spermin motilitesini sağlar. Akrozomdaki veziküllerin ekzositozu ile içeriğinin dışarı çıkması için kullanılır. Spermatozoada en fazla enerji yapımı oksidatif solunum sonucu oluşmaktadır. Oksidatif solunum spermatozoaların mitokondrisinde gerçekleşir. Bunun gerçekleşmesi için gerekli olan enzimlerde orta parçada yer alır. En fazla enerjinin kullanıldığı yer aksonemdeki dynein ayaklarıdır.⁴⁰ Glikolizde etkili olan hegzokinaz ve gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz enzimleri, fibroz kılıfında

bulunur.^{41,42} Şekerlerin spermatozoa içerisine girişi glukoz taşıyıcıları (GLUTs) tarafından sağlanmaktadır. Plazma membranı baştan sona kadar spermi sarar ve kuyruğun esas ile son parçaları üzerindeki fibroz kılıfta ATP üretimi plazma membranındaki GLUTs aracılığıyla getirilen glukozun yakılması ile elde edilir⁴³. Sperm mitokondrisinde oluşan oksidatif solunumda yakıt olarak laktat kullanılır. Sperm motilitesiyle mitokondrisi volümü arasında anlamlı bir ilişki mevcuttur⁴⁴. Oksidatif fosforilasyonun mitokdride başlaması, NAD'ın oluşması ile olmaktadır. NAD ise asetil CoA'dan sağlanmaktadır. Spermatozoların orta parçasında veya glikolizin son ürünü olarak pürivik asitten mitokondri matriksi içerisinde, asetil CoA üretilir ya da yağ asitlerinden doğrudan asetil CoA meydana gelir. ATP enerjiyi ileten bir moleküldür. Bu enerji de hücrenin foksiyonlarının gerçekleşmesi için kullanılır. ATP enerjisinin iletilmesi fosfat ile olmaktadır. Fosfat sahip olduğu enerjiden dolayı içine girdiği moleküle reaksiyona girer. Mitokondrinin iç zarı üzerinde, vücutta oluşan elektronlar hidrojene dönüşmüş olarak oksijene iletilmektedir. Mitokondrinin iç kısmı oldukça parçalıdır. Bu nedenle yüzeyi oldukça geniştir.^{43,44}

2.4. İnfertilite

Dünya sağlık örgütüne göre infertilite herhangi bir kontrasepsiyon yöntemi olmadan eşlerin bir yıl içinde gebeliğe ulaşamama durumudur. İnfertilite oldukça sık görülmektedir. Bir çiftin gebe kalma şansı bir ayda %20-25, 6 ayda içinde %75 ,bir yıl içinde %90 dır.¹ Özellikle son yapılan çalışmalarda çiftlerin % 15 'i, ilk çocuk denemelerinde sorun yaşamaktadır. Son yıllarda ICSI yöntemi oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Çiftler arasındaki infertilitenin nedenleri ICSI yöntemiyle giderilmeye çalışılmıştır.⁴⁵ Genellikle çiftlerin % 15'i bir yıl içinde gebelik elde

edemez ve infertilite tedavisine başvururlar.^{2,3} İnfertilite hastalarının %30'u erkek kaynaklı % 50'si ise kadın kaynaklıdır.

2.4.1. Erkek infertilitesi

Erkek infertilitesinde görülebilecek durumlar şunlardır: Düşük ejakulat hacmi, azospermi-oligoastenoteratospermi, normal ama infertil astenospermi, konjenital veya kazanılmış ürogenital anomaliler, ürogenital enfeksiyonlar, varikosel, endokrin bozukluklar, genetik anomaliler ve immünolojik etkenlerdir.⁴ En çok infertilite sebebi olarak idiyopatik erkek hastalıkları etkilemektedir.⁴⁶ İdiyopatik erkek infertilitesinde, hastaların özgeçmişinde, fizik muayenesinde ve endokrin testlerinde hiç bir sorun görülmez. Buna rağmen semen analiz testlerinde spermatozoa sayısı azalmıştır (Oligozoospermi), sperm motilitesi azalmıştır (astenospermi), çeşitli anormal sperm şekilleri vardır (teratospermi). Bu tür anomalilere oldukça sık rastlanmaktadır ve oligoastenoteratospermi (OAT) sendromu olarak bilinir. Erkek infertilite etiyojisi ve sıklık oranlarını şöyle sıralayabiliriz: idiyopatik erkek etkeni%31, varikosel %15,6, hipogonadizm %8,9 ürogenital enfeksiyonlar %8, inmemiş testis %7,8,cinsel ilişki ve ejakulat bozukluğu %5,9, immünolojik faktör %4,5, sistemik hastalık %3,1, obstrüksiyon %1,7 ve diğer etkenlerde %5,5'dir. Ayrıca oligozoospermi sebeplerinden dolayı çiftlerin 24 ay içinde çocuk sahibi olma olasılığı %27 dir.⁴⁷ Sperm sayısının az olmasına oligozospermi, motilite bozukluğuna astenozoospermi ve tüm bu bozuklukların birlikte görülmesine de oligoastenoteeratozoospermi(OAT) denilmektedir. Aspermia; ejakulatin olmaması, bazoospermia; ejakülatta sperm olmaması, normozoospermia; normal sperm olması, hematospermia; ejakülatta kan olması, lökositospermia; ejakülatta normalin üzerinde lökosit bulunması, hipospermia; ejakulat hacminin 1 ml den az olması, hiperspermia; ejakülata hacminin 1 ml den fazla olması, polizoospermia; normaden fazla sperm konsantrasyonu,

teratozoospermia; normol morfoloji yüzdesinin azalmış olması, nekrozoospermia; tüm spermilerin ölü olması, globozoospermia ise yuvarlak başlı, akrozomu olmayan spermeler için kullanılan ifadelerdir.³⁵

Tablo 2.1. Dünya sağlık örgütünün yayınlamış olduğu sperm parametreleri

Parametreler	Referans
Hacim	1,5 ml
Toplam sperm sayısı	39x10 ⁶
Sperm konsantrasyonu	15x10 ⁶
Sperm motilite	%40
İleri motilite	%32
Canlılık	%58
Sperm morfolojisi	%4

2.5. Erkek infertilite Nedenleri

2.5.1. Hipogonadotropik Hipogonadizm

Problem GnRH yetmezliğinden hipofizer tümör, hipofiz ameliyatlarından travma, enfarktüs ve enfeksiyondan kaynaklanmaktadır.⁴⁹

2.5.2. Hiperprolaktinemi

GnRH salgılanması ve gonodotropik hormonların salgılanmasını etkileyerek olmaktadır.⁴⁹

2.5.3. Testiküler Nedenler

Primer testiküler yetmezlik azospermi veya oldukça fazla oligozoospermiye özgüdür. Böyle hastalarda FSH seviyesi yüksek, testis ise küçüktür.⁵⁰

2.5.4. Klinefelter Sendromu

İnfertil erkeklerde kromozom bozukluklarının bulunma oranı %2-20 dir.⁴² En çok görülen kromozom bozukluğu klinefelter sendromudur (XXY). Bunun görülme sıklığıda 1/500-1000 'dir. Bu hastaların %93'ünde azospermi görülür.

2.5.5. İnmemiş Testis

İnmemiş testislerde, skrotum sıcaklığında bir artış olduğunda spermatogenez mekanizması bozulmaktadır. Sıcaklıktan dolayı testisin iç yapıları da geri dönüşümsüz olarak bozulur. Böyle testislerde leydig hücreleri işlevini gerçekleştiremez ve germinal epitelyum atrofiktir.⁵⁰

2.5.6. Varikozel

Testisleri drene eden pampiniform pleksusunu yapan spermatik venlerde, kanın geriye reflüsü ile birlikte venlerin dilate ve kıvrıntılı hal alması olarak adlandırılmaktadır. İnfertilite erkek hastaların %20-40'ında varikozel görülmektedir⁵⁰. Varikozel, hastaların testislerinde atrofi ve ebatlarında küçülmeye sebep olmaktadır. Varikozelin % 90'ında subnormal sperm motilitesi ve şekil bozukluğu gelişmektedir. Varikozektomiden sonra bu hastaların %66'sında semen değerleri düzelir ve gebelik oranı %40 artar.⁵⁰

2.5.7. Germinal Hücre Aplazisi

Semimifer tübüller bütünüyle sertoli hücreleriyle dolu olup germinal hücreler gelişmemektedir. Bazı tübülüslerde çok az spermatogenez görülür. Bu olay misk germ hücre aplazisi olarak adlandırılır. Hastalar azospermik olup, plazma FSH düzeyi artmıştır.⁵⁰

2.5.8. Sistemik Hastalıklar ve Gonadotoksinler

2.5.8.1. Böbrek Yetmezliği

Plazmada testesteron azalması görülür. LH ve FSH artar. Böbrek yetmezliğinde hipogonadizmin nedenleri bilinmemektedir ve büyük ihtimalle multifaktöriyel olarak bilinmektedir.⁵⁰

2.5.8.2. Karaciğer Sirozu

Sirozlu hastaların büyük kısmında testis atrofisi, erektil disfonksiyon ve jinekomasti görülür. Plazmadaki testosteron seviyesi azaldığından testosteronun, plazma proteinlerine bağlanması artmaktadır. Düşük testosteron seviyesinden dolayı LH ve FSH seviyelerine bağlı olarak orta derecede artma görülmektedir.⁵⁰

2.5.8.3. Hemokromatozis

Hastaların yaklaşık %80'inde testis faaliyetlerinde anormallikler görülür. Bunun sebepleri de testiste veya hipofizde biriken demir olabilir.⁵⁰

2.5.8.4. Kabakulak

Kabakulak geçiren hastalarda orşit gelişmektedir. Orşit geçiren hastaların yaklaşık % 13'ünde sperm değerleri normal olur.⁵⁰

2.5.8.5. Sigara

Çalışmalarda nikotinin, peritübüler alanda kollajen miktarını arttırdığı, seminifer tübüllerde bozukluğa ve stokeratin ile elastin miktarlarında da değişikliğe neden olduğu gözlenmiştir.⁵⁰

2.5.8.6. Alkol

Sirozlu akoliklerde, hipotalamohipofizer aksta bozukluklar olduğu, vitamin ve temel elementlerin azalması ile testislerde fonksiyonel bozuklukla beraber, erektil disfonksiyon ve infertilite oluşmaktadır.⁵⁰

2.5.8.7. Anabolik Steroidler

Anabolit steroidler, atletler arasında oldukça sık kullanılmaktadır. Bu steroidler FSH ve LH salınımını düşürür. Bu da hipogonadotropik hipogonadizme neden olur. Kullanımları bırakıldıktan sonra, sperm parametreleri ancak 4 ay sonra düzelir.⁵⁰

2.5.8.8. İlaçlar

Fertilizasyonu bozan ilaçlar arasında; spironotan allopurinol, kolşisin nitrofurantoin, simetidin, siklosporin ve sulfosalazin bulunmaktadır. Bunların dışında prozosin, terazosin, fentolamin, fenoksibenzamin gibi alfa blokerler ile metil dopa guanetidin, rezerpin gibi gangliyon blokerleri ve tetrograd, ejakülasyon veya emisyon bozukluğuna neden olarak infertiliteye yol açarlar.⁵⁰

2.5.8.9. Endüstriyel Gonadotoksinler

Piyasada böcek ilacı olarak bilinen Dibromoklorofon üretiminde çalışan işçiler, fertilité bozukluğú yaşamaktadır. Ayrıca kadmiyum, kurşun ve manganez, erkek üreme fonsiyonlarında hasar meydana getirirler.⁵⁰

2.5.8.10. Hipertermi

Bulunduğú yerde skrotal ısı miktarı değişikliği, testis fonsiyonlarına hasar vermektedir.⁵⁰

2.5.8.11. Radyasyon

Hızlı bir şekilde bölünen germinal epitelyum radyasyona oldukça dayanıklıdır ve leydig hücreleri de etkilenmez. Bu nedenle testesteron seviyesinde herhangi bir değişim gözlenmez.⁵⁰

2.5.8.12. Kemoterapotik ajanlar

Semen analizlerindeki bozulmaların, öncesinden mi bir bozukluk olduğı yoksa kullanılan kemoterapotik ilaçlara mı bağlantılı olduğunu anlamak için, semen analizi yapılması doğru olmaktadır.⁵⁰ Günümüzde kabul görülen çok sayıda kemoterapi protokolünün spermatogenez üzerine etkili olduğı bilinmektedir. Kemoterapiden sonra doğan çocuklarda herhangi bir anomali riski görülmemektedir. Puberte öncesi devrede testisler, alkine edici ajanların etkisine karşı daha kuvvetli direnç gösterirler. Fakat bazı hastalıkların kemoterapisinde, testisler de hasar

görülebilmektedir. Örneğin; Hodgkin hastalığında testislerde hasar gözlenmiştir.⁵⁰ Spermatogenezin yeniden normale dönmesi için 2 yıl geçmesi gerekmektedir. Kanserli hastalarda kullanılan birden çok kemoterapötik ajan, hastaların yaklaşık %17-68 inde azospermi gelişimine neden olur.⁵⁰

2.5.8.13. Enfeksiyon ve Lökospermi

Enfeksiyon, testislerde bozukluklar oluşturarak direkt olarak germ hücrelerini etkiler veya genital kanal obstrüksiyonu oluşturarak infertiliteye sebep olur.⁵⁰ Semende bulunan lökositlerin ve mikroorganizmaların rolü tam olarak açıklanamamıştır.⁵⁰

2.5.8.14. İmmünolojik İnfertilite

Geç spermatozoidler, spermatidler ve spermatozoa, immün sistem içinde yabancı antijenler olarak bulunurlar. Normalde seminifer tübül içinde immün sistem hücreleri yoktur ve kan-testis bariyeri bulunmaktadır. Fakat rete testis ve epididimis, zayıf morfolojik bariyerler ve makrofajlar bulundurmaktadır.⁵¹ Kan testis bariyerinde anatomik aralıklara rağmen, immün yanıtın oluşmaması “aktif immünsüpresyon” adı verilen bir model ile açıklanmaktadır. Bu model, anatomik olarak zayıf noktalardan sperm antijenlerinin sızması ile oluşmaktadır. Sonuç olarak T-süpresör hücrelerin uyarılmasıyla, immün sistemde desentizasyon meydana gelmektedir.⁵⁰ Buna rağmen vazektomi veya travma gibi büyük miktarda sperm antijenlerinin olduğu zaman, immün cevap şiddetli patolojik sınıra ulaşır. Erkek üreme sisteminde epididimis antikor sekresyonu ve hücrel immünitenin kaynağı olarak bilinmektedir. İmmünolojideki infertilitede, ana mekanizmanın antisperm antikor oluşudur.⁵⁰

2.5.9. Posttestiküler Nedenler

Ejeksiyon hasarı ve ejakulatuar kanal obstrüksiyonu yer alır.⁵⁰

2.6. Astenozoospermide Tanı

Yapılan spermigram analizlerinde sperm motilitesinin % 50-60 dan daha az olması veya ileri motilite hareketinin olmaması durumudur. Motilite anomalisi (astenozoospermi) erkek subfertilite sebebiyle değerlendirilmesi yapılan hastaların %24 'ünde izole bir hasar görülmektedir. Ayrıca sperm konsantrasyonu, motilitesi ve morfolojisi gibi tümü defektli olan hastaların yaklaşık% 55'inde motilitenin anormal olması önemlidir. Tümünde sorun olan hastaların motilite sorunu, spermatogenezdeki bozukluklara bağlıdır. Astenozoospermisi olan hastalarda, flagellar fonkiyon bozukluğu veya konjenital hasarlar görülmektedir. Motilitede azalma, spermın aksonem ve kuyruğun fonksiyonunda görev alan 200-300 gende meydana gelen hasardan kaynaklı olabilir.⁵²

2.7. Pentoksifilin

Erkek infertilitesinde, testis ve epididimiste mikrosirkülasyon düzenleyici etkisinden yararlanmak için kullanılır. Fosfodiesteraz inhibisyonunu yaptığından, hücre içi Camp oranı artmaktadır.⁵³⁻⁵⁵ Pentoksifilin kullanıldığında glikoliz ve endojen ATP yapımı artar. Bu artmadan dolayı sperm motilitesinin artması gözlenebilir. İn vitro kullanıldığında, sperm hazırlarken kullanılan solüsyona pentoksifilin ilave edilmesiyle sperm aktivasyonunda artış gözlenir. Pentoksifilin kullanıldığında akrozom reaksiyonlarının ve reaktif oksijen radikallerinin oluşumunun azaldığı izlenmiştir. Embriyogenez yapımında zararlı etkilerinden dolayı inseminasyon yapılmadan önce sperm yıkanmalıdır. Ayrıca bir ksantin türevidir ve (3,7-dimethyl-1-(5-oxohexyl)-xanthine), eritrosit esnekliğini arttırdığı düşünüldüğü için hipervizkozite tedavisinde kullanılmaktadır. Fosfodiesteraz inhibitörü olan pentoksifilin temel hedefi, adenilat siklaz aktivasyonu sonrasında hücre içi cAMP miktarının yükselmesiyle, protein kinaz A aktivitesini arttırarak,

TNF –alfa mRNA'sının ekspresyonunu baskılamasıdır. Ayrıca pentoksifilin; nötrofil ve mononükleer lökosit toplanması, yapışması, süperoksit anyon üretimi ve lizozim ekspresyonunu baskılayarak nötrofil aktivitesini baskılaması gibi fonksiyonları da bulunmaktadır.^{56,57} Pentoksifilin, eskiden sepsis ve endotoksik şok tedavisinde kullanılmış, kardiyak debi ve ince bağırsak kan akışını koruduğu, çoklu organ bozukluğunu azalttığı ve sepsisli hayvanlarda canlı kalma yüzdesini arttırdığı açıklanmıştır. İlaveten endotoksin, sepsis,TNF ve IL-2'ye ikinci gelişen akciğer hasarını azalttığı ve koruyucu olarak alındığında sepsisli hastaların akciğer hasarını düzelttiği gösterilmiştir.^{57,58}

3. MATERYAL METOT

3.1. Hasta Grupları

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi ilaç dışı etik kurul onayı alınan bu çalışmada kullanılan sperm örneklerinin sahipleri yapılacak çalışma ile ilgili bilgilendirilip gerekli resmi onayları alınmıştır.

Çalışmada astenoospermi tanısı konmuş (kontrol) (n=10) ve astenoospermi + pentoksifilin (n=10) olmak üzere iki grup oluşturuldu. Gruplar, 20-35 yaş arası, aktif üreme döneminde olan ve herhangi bir sistemik hastalığı veya hayatının herhangi bir döneminde testis travması geçirmemiş ayrıca kronik ilaç ve madde kullanımı olmayan (antidepresan, böbrek, tansiyon ilaçları, sigara, alkol), Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) laboratuvar kılavuzuna göre astenoospermik kabul edilen kriterlere uygun olarak seçilmiştir (WHO2010).

Hastalardan, 3 günlük cinsel perhiz sonrasında steril kaplara doğal yöntemlerle semen örnekleri alındı. Likefiye olması için yarım saat bekletildi. Makler kamarasına 1 ml semen damlatıldı.Sperm sayılarak astenozoospermi olduğuna karar verildi. Sonrasında %50 ve %90 lık gradiyent hazırlandı. Semen örnekleri 2500 devirde 10 dk santifüj edildi.Daha sonra alınan pellet Sperm yıkama medyumuyla yıkandı. Yıkanan spermler iki petri kabına alınarak 1. Kab kontrol, 2. Kabtaki spermlerede pentoksifilin uygulanarak elektron mikroskopunda incelendi.



Şekil 3.1. Makler kamarası Atatürk üniversitesi tıp fakültesi histoloji ve embriyoloji AD da çekilmiştir.

3.2. Pentoksifilin Hazırlanışı

1) 25 mg pentoksifilin 2,5 ml fertilizasyon medyumu içerisinde karıştırılıp vortekslendi.

2) 0,22 mikronluk filtreden geçirildikten sonra oda sıcaklığına gelinceye kadar beklendi

3) İnsülin enjektörü ile 0,3 ml çekildi ve yağ altında yayılan sperme enjekte edilerek 5 dk süre ile muamele edildi.

3.3. Transmisyon Elektron Mikroskobu Takip Protokolü

Elde edilen sperm örnekleri elektron mikroskobik takip için sırasıyla;

1. %3'lük 0,2 M fosfat tamponlu gluteraldehit solüsyonunda 1saat bekleme (+4⁰C'de),

2. 0.1 M fosfat tamponu ile 15 dakika yıkama,

3. 0.1 M fosfat tamponu ile 15 dakika yıkama,

4. 0.1 M fosfat tamponu ile 15 dakika yıkama,

5. 0.1 M fosfat tamponu ile 15 dakika yıkama,
6. Post fiksasyon 0,2 M fosfat tamponlu OsO₄ solüsyonunda 1 saat bekleme,
7. 0.1 M fosfat tamponu ile 15 dakika yıkama,
8. 0.1 M fosfat tamponu ile 15 dakika yıkama,
9. 0.1 M fosfat tamponu ile 15 dakika yıkama,
10. 0.1 M fosfat tamponu ile 15 dakika yıkama,
11. % 35 etil alkolde 15 dakika bekleme,
12. % 50 etil alkolde 15 dakika bekleme,
13. % 70 etil alkolde 30 dakika bekleme,
14. % 95 etil alkolde 20 dakika bekleme,
15. % 100 etil alkolde 20 dakika bekleme,
16. % 100 etil alkolde 20 dakika bekleme,
17. % 100 etil alkolde 20 dakika bekleme,
18. Propilen oksitde 20 dakika bekleme,
19. Propilen oksitde 20 dakika bekleme,
20. 1 kısım Propilen oksit + 1 kısım Aralditte 1 saat bekleme,
21. 1 kısım Propilen oksit + 2 kısım Aralditte 1 saat bekleme,
22. Saf Aralditte 4 saat bekleme

işlemlerinden geçirildi.

Parçalar araldit içeren kapsüllere yerleştirildikten sonra 1 gece desikatörde bekletildi. Ertesi gün parçalar sentralize edilerek 45°C'de 1 saat, 50°C'de 1 saat, 55°C 1 saat, 62°C 48 saat bekletilerek bloklar elde edilmiş oldu.

Araldit bloklara gömülen dokulardan, bir ultramikrotom (LKB NOVA, Bromma, Sweden) yardımıyla 70–80 nm kalınlığa sahip kesitler alındı. Elde edilen kesitler gridlere (S 162 -PELCO) alınarak aşağıdaki diğer işlemlere geçildi.

1. Gridler 30 dakika uranil asetat boyasında boyandı.
2. Distile su ile yıkama 1 dak
3. Distile su ile yıkama 1 dak
4. Distile su ile yıkama 1 dak
5. Gridler kurutma kâğıdı üzerine konularak kurutuldu.
6. Gridler 5 dakika kurşun sitrat ile boyandı.
7. Distile su ile yıkama 1 dak
8. Distile su ile yıkama 1 dak
9. Distile su ile yıkama 1 dak
10. Gridler kurutma kâğıdı üzerine konularak kurutuldu.

Yukarıda sıralanan tüm işlemler tamamlandıktan sonra, örnekler transmisyon elektron mikroskobu yardımıyla (100 SX Jeol, Tokyo, Japan) görüntülenerek incelenmeye hazır hale getirildi.

3.4. İstatistiksel Analiz

İncelemek için hazırlanan yarı ince kesitler, Leica 6400 DM marka kamera ataçmanlı ışık mikroskobu altında Stereo Investigator 8 programı kullanıldı. Fractionator probu ile kesit alanı sınırlandı. Uygun boyutlardaki tarafsız sayım çerçevesi yerleştirildi. 2 farklı marker seçilerek her 2 gruptaki sperm ve round yapıları sayılarak sperm ve round hücre sayısal yoğunluğu hesaplandı. Elde edilen sonuçlardan gruplar arası karşılaştırmalar student T testi ile gerçekleştirildi 0,05'ten küçük p değerleri anlamlı olarak kabul edildi ($p < 0,05$). Değerler aritmetik ortalama (\bar{X}) \pm standart sapma şeklinde ifade edildi.

4. BULGULAR

4.1. Elektron Mikroskopik Bulguları

Kontrol grubuna ait sperm örneklerinde mitokondrilerin matriks ve kristalarını kaybettikleri belirgin olarak gözlemlendi. Mitokondrilerdeki bu kayıpların yerine bazı alanlarda vakuollerin olduğu izlendi. Bunun yanında dış yoğun fibrillerinde ve aksonem yapısında her hangi bir hasar saptanmadı.

Spermatozoonların orta kısımlarında plazma membranının genişleyerek kısmen parçalanmış olduğu belirlendi. Özellikle plazma membranına ait hasarın neredeyse tamamının spermatozoonların boyun bölgesinde olması dikkat çekiciydi.

Spermatozoonların baş kısımlarında belirgin bir hasar tespit edilmedi. Spermatozoonlarda en belirgin hasarın orta bölgedeki mitokondirlerde olduğu saptandı. Aksonemlerin ince yapısına baktığımızda mikrotübül yapısında (9+2) herhangi bir hasarın olmadığı gözlemlendi.

Pentoksifilin grubu sperm örneklerini elektron ve ışık mikroskobu altında incelediğimizde ise spermatozoonların; baş kısmının, boyun kısmındaki mitokondrilerin, aksonemin, aksolemmanın ve plazma membranının ince yapılarının normale daha yakın görünümünde olduğu izlendi. Mitokondirlerin yoğun bir matriks içerdiği dikkat çekmekteydi. Krista yapıları çok net bir biçimde görülmekteydi. Tipik mitokondriyal iç ve dış membran yapısı bulunmaktaydı. Aksonemlerin (9+2) normal bir yapıda olduğu izlendi. Tipik ince yapıya sahip dış yoğun fibriler gözlemlendi.

4.2 Sterolojik Bulgular

Işık mikroskopik yarı ince kesitlerde de kontrol grubundaki sperm ve round hücrelerinin karşılaştırılmalarında önemli bulgulara rastlandı.

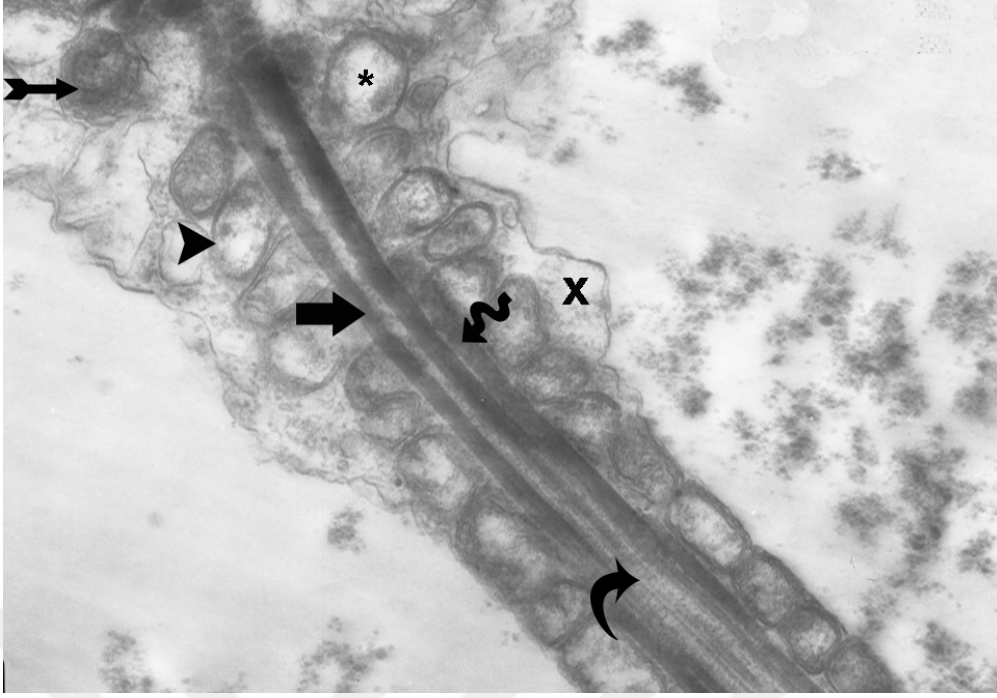
Kontrol grubu pentoksifilinli grup ile kıyaslandığında sperm sayısal yoğunluğunun daha az olduğu ancak round hücrelerinin ise daha fazla olduğu stereo

investigatorda ile tesbit edildi. Ayrıca yapmış olduğumuz nukleator sayımına göre kontrol grubunun ruond hücre hacminin, pentoksifilin grubuna göre azaldığı belirlendi.

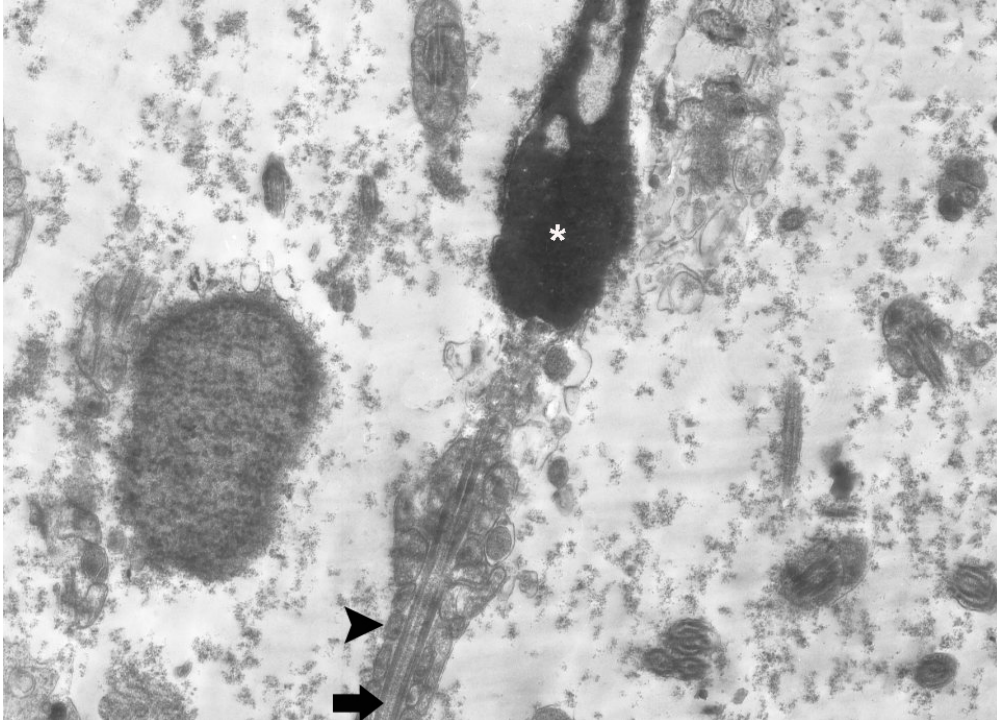
Kontrol grubu Elektron Mikroskopik Bulgular



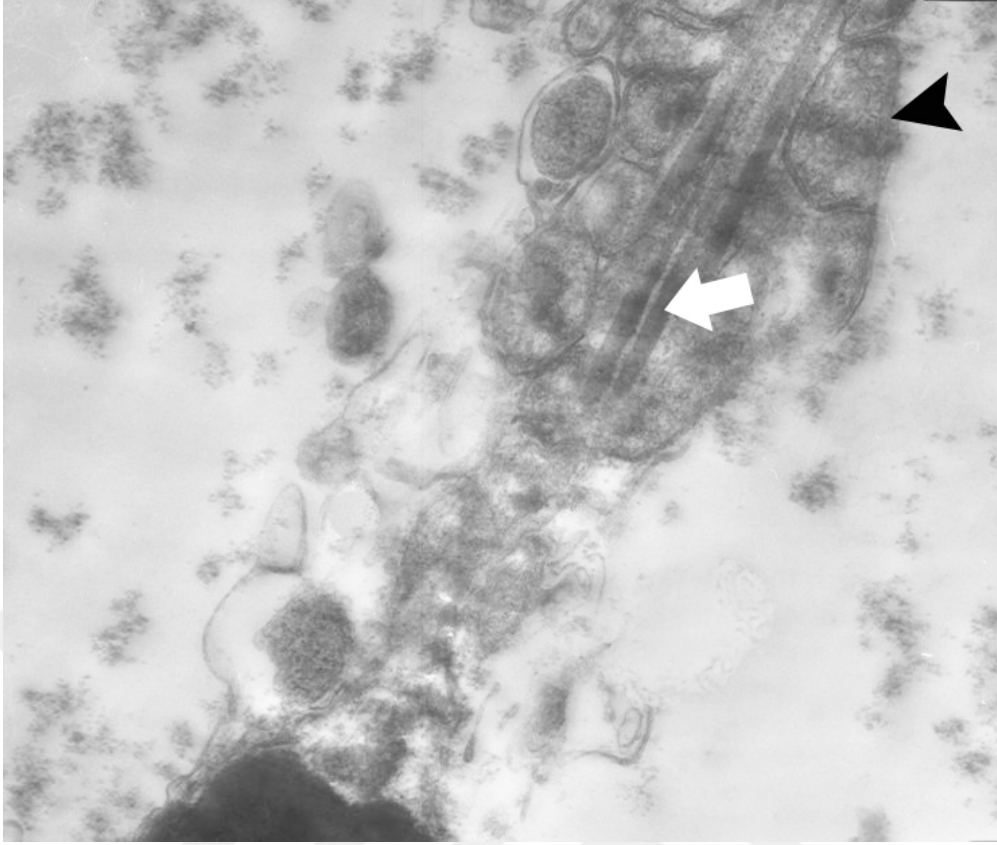
Şekil 4.1. Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Elektron yoğun lif izlenmekte (ok). Matriks ve kristalların tamamını kaybetmiş mitokondriler gözlenmekte (ok başı). Spermatozoon baş kısmı(asteriks). Boyun kısmındaki dejenerasyon izlenmekte (x). Aksonem (kuyruklu ok). X10000.



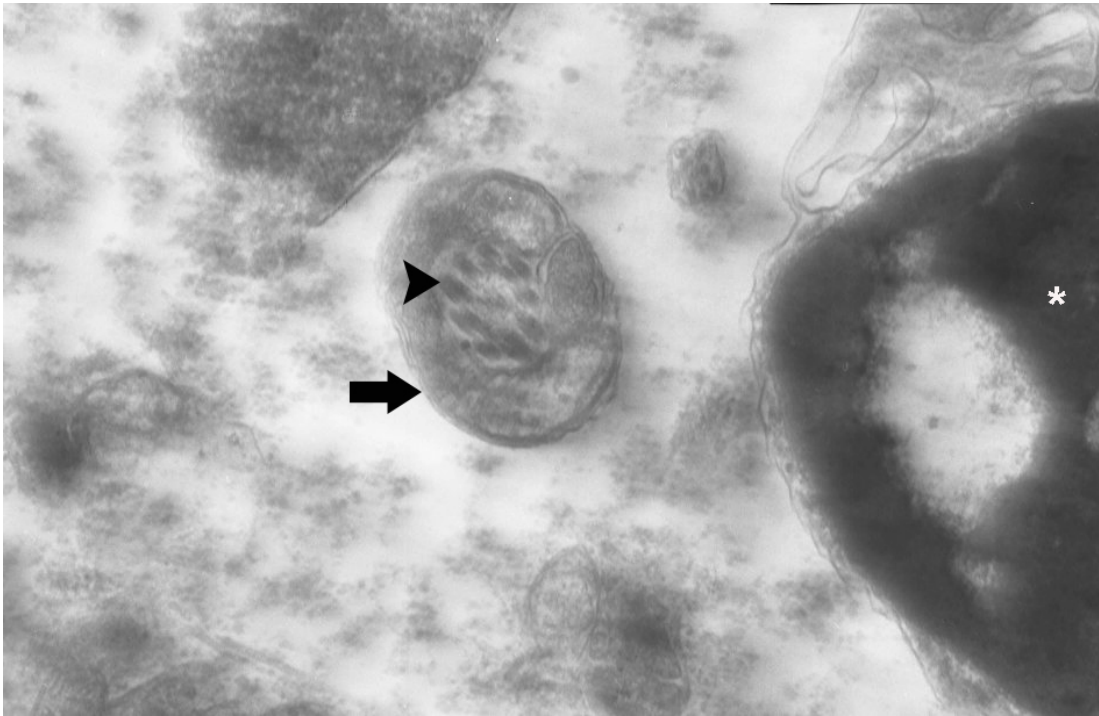
Şekil 4.2. Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Elektron yoğun lif izlenmekte (ok). Matriks ve kristallerinin tamamını kaybetmiş mitokondriler gözlenmekte (ok başı). Mitochondriyal vakuolizasyon görülmekte (asteriks). Sentirol (kuyruklu ok). Aksonem (kuyruklu ok) X25000.



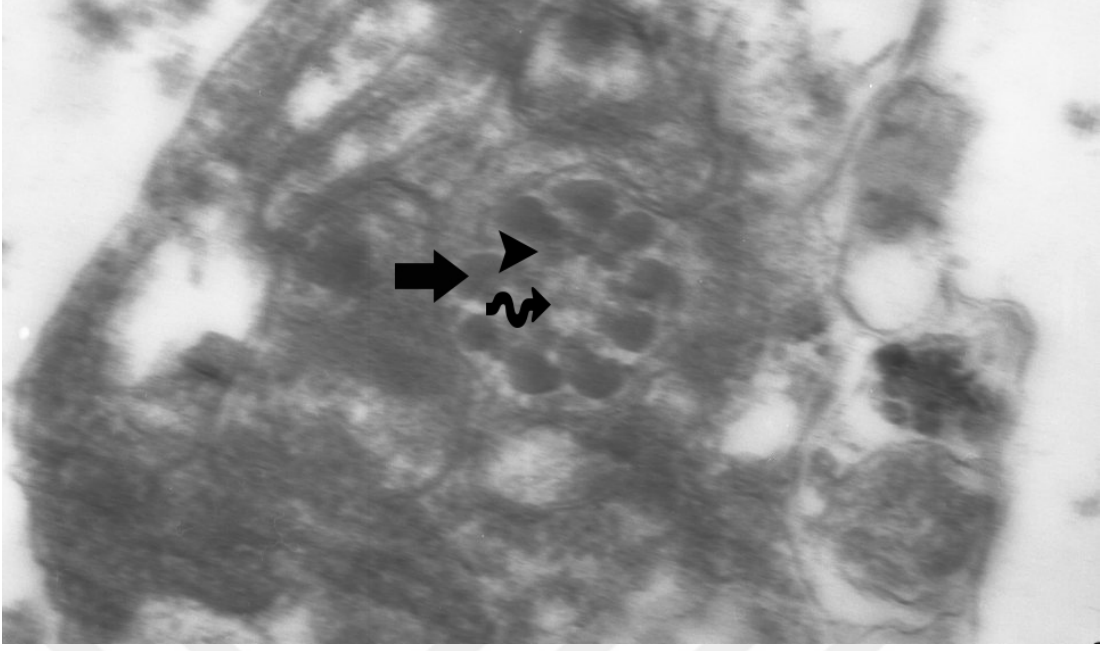
Şekil 4.3. Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Boyun kısmında dejenerasyon izlenmekte. Aksonem izlenmekte (ok). Belirgin kristal mitokondriler izlenmekte (ok başı). Spermatozoon baş kısmı (asteriks). X10000.



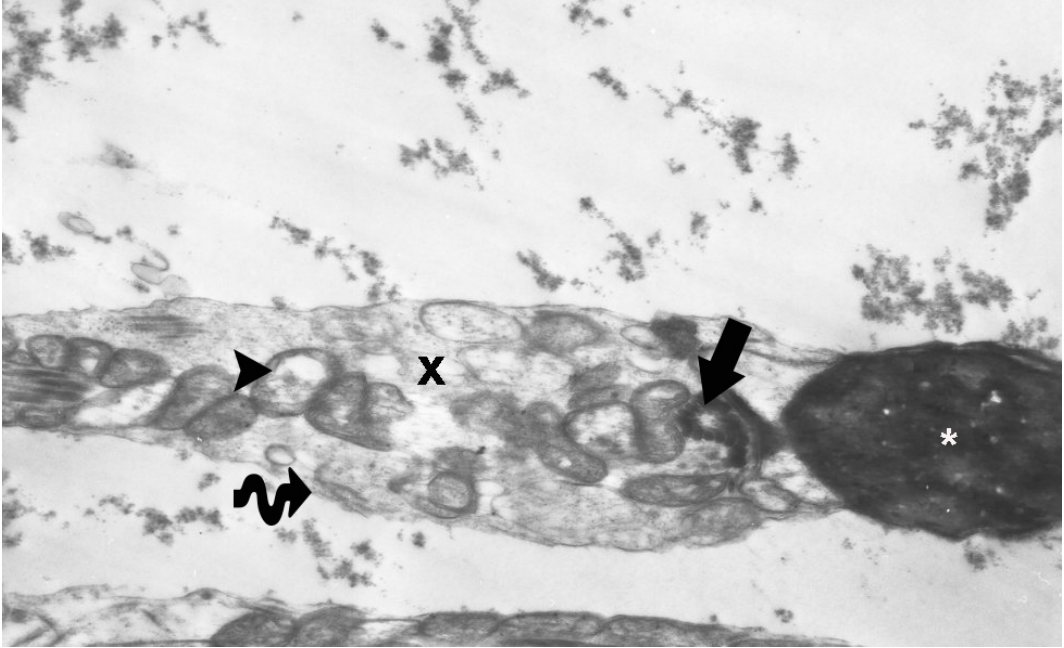
Şekil 4.4. Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Elektron yoğun fiber izlenmekte (ok). Belirgin kristal mitokondriler izlenmekte (ok başı). X20000.



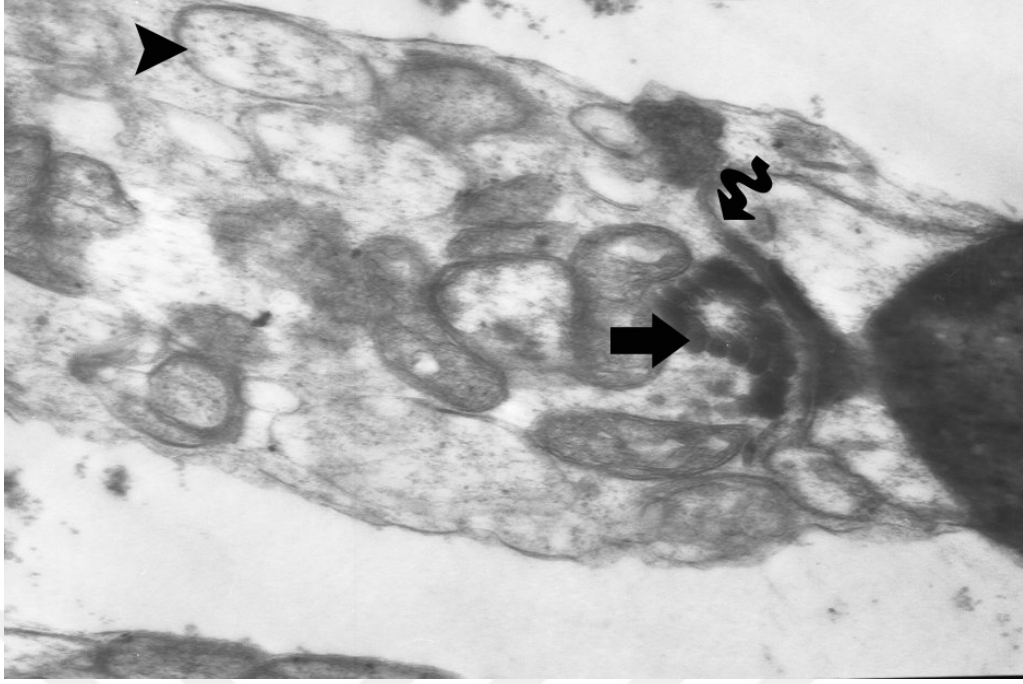
Şekil 4.5. Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Aksonem (9+2) izlenmekte (ok başı). Belirgin kristal mitokondriler izlenmekte (ok). Spermatozoon baş kısmı (asteriks). 25000.



Şekil 4.6. Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Dış yoğun fibriller (ok) ve aksonem (9+2)(ok başı) ve dinein uzantıları (kuyruklu ok) izlenmekte (ok) Matriks ve kristallerinin tamamını kaybetmiş Mitokondriler gözlenmekte (ok başı). Boyun kısmındaki dejenerasyon izlenmekte (x). X40000.

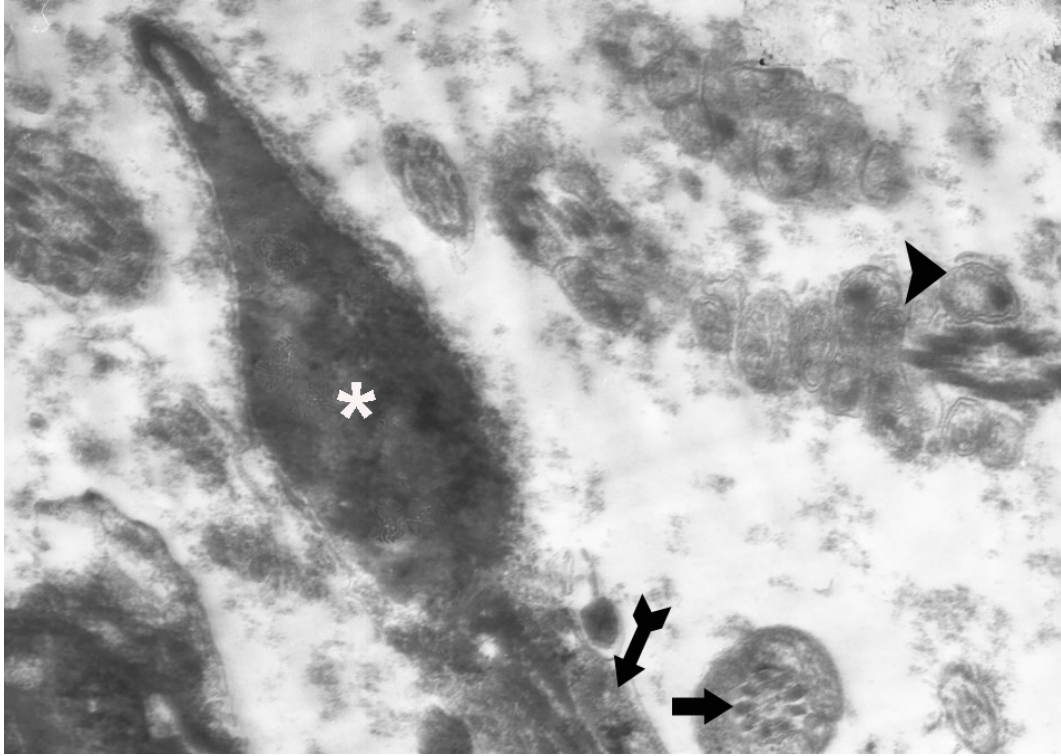


Şekil 4.7. Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Aksonem izlenmekte (ok). Matriks ve kristallerinin tamamını kaybetmiş Mitokondriler gözlenmekte (ok başı). Boyun kısmındaki dejenerasyon izlenmekte (x). Mitokondriyal vakuolizasyon görülmekte (asteriks). Sentriol (kuyruklu ok) X10000.

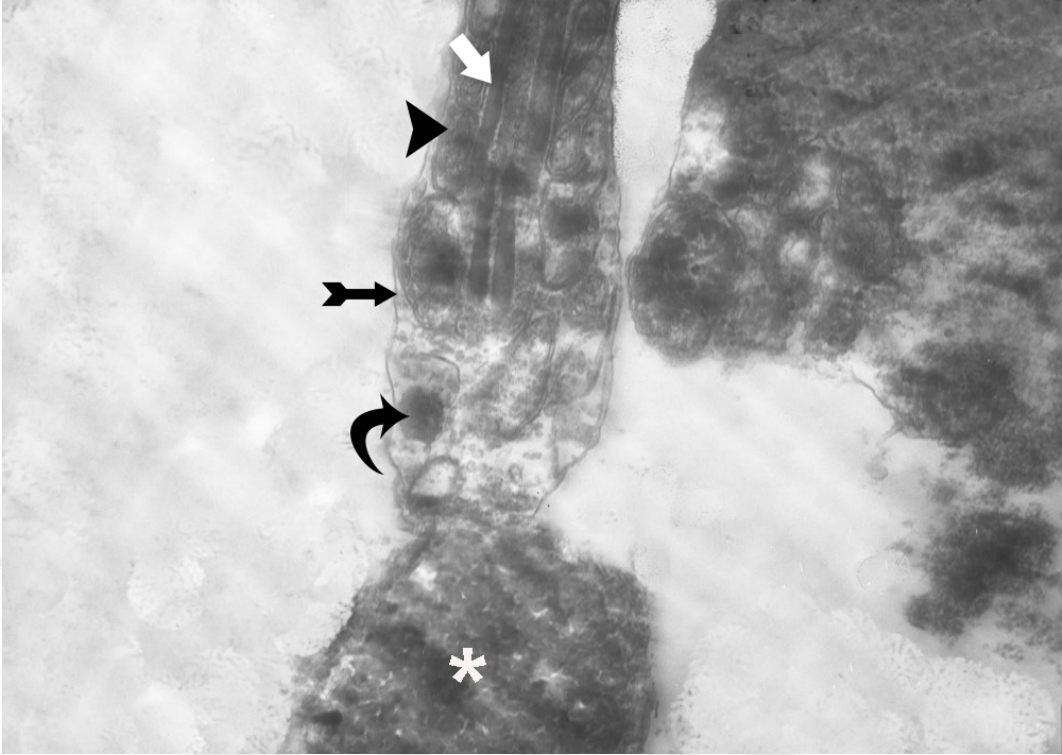


Şekil 4.8. Kontrol grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Boyun ve kuyruk kısmında mitokondrilerin düzensiz dağılmış olduğu gözlenmekte. Mitokondrilerin matriks ve krista yapılarını kaybettiği izlenmekte (ok başı). Sperm boynuna ait membran yapısı izlenmekte(kuyruklu ok) X20000.

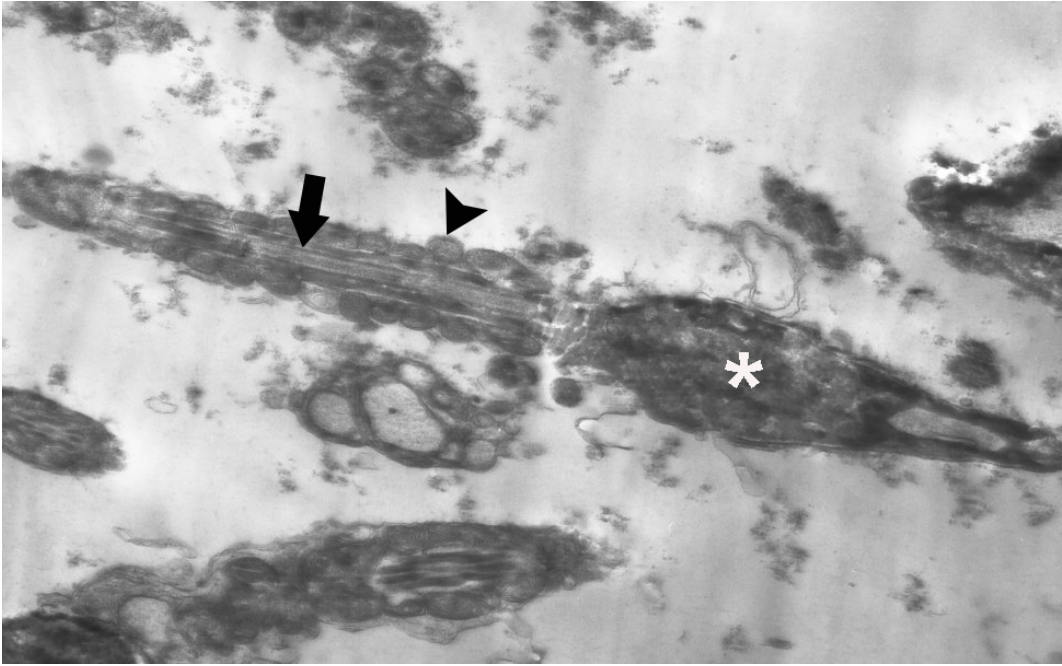
Pentoksifilin Grubunun Elektron Mikroskobik görüntüleri



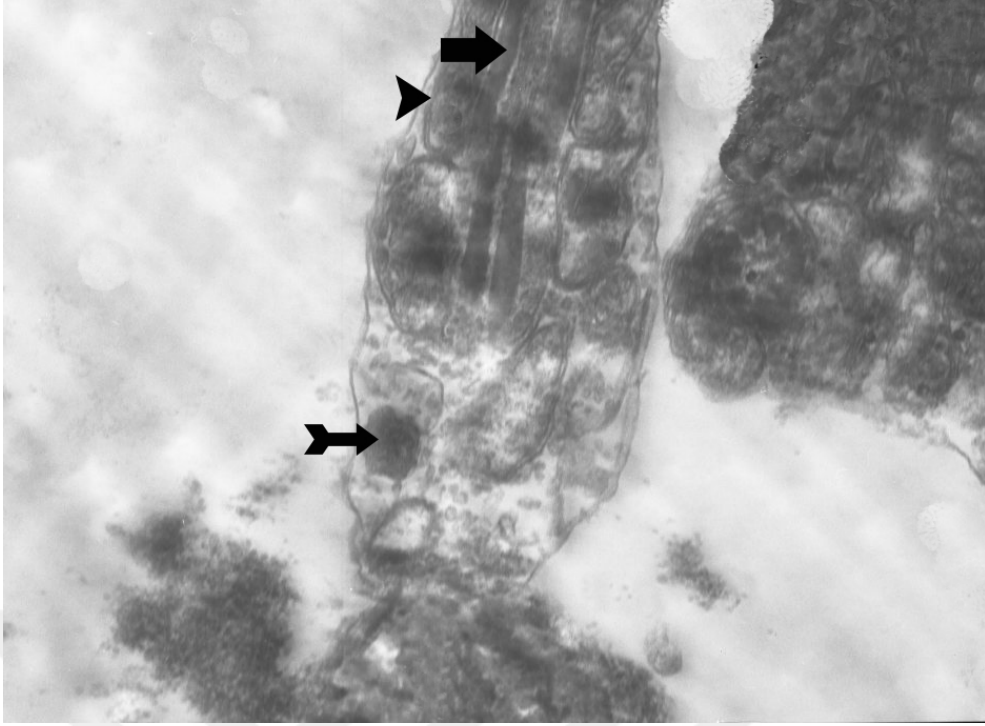
Şekil 4.9. Pentoksifilin grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Aksonem yapısı izlenmekte (9+2) (ok). Mitokondriyal vakuolizasyon izlenmekte (ok başı). Spermatozoon (asteriks) Boyun kısmı (kuyruklu ok). X15000.



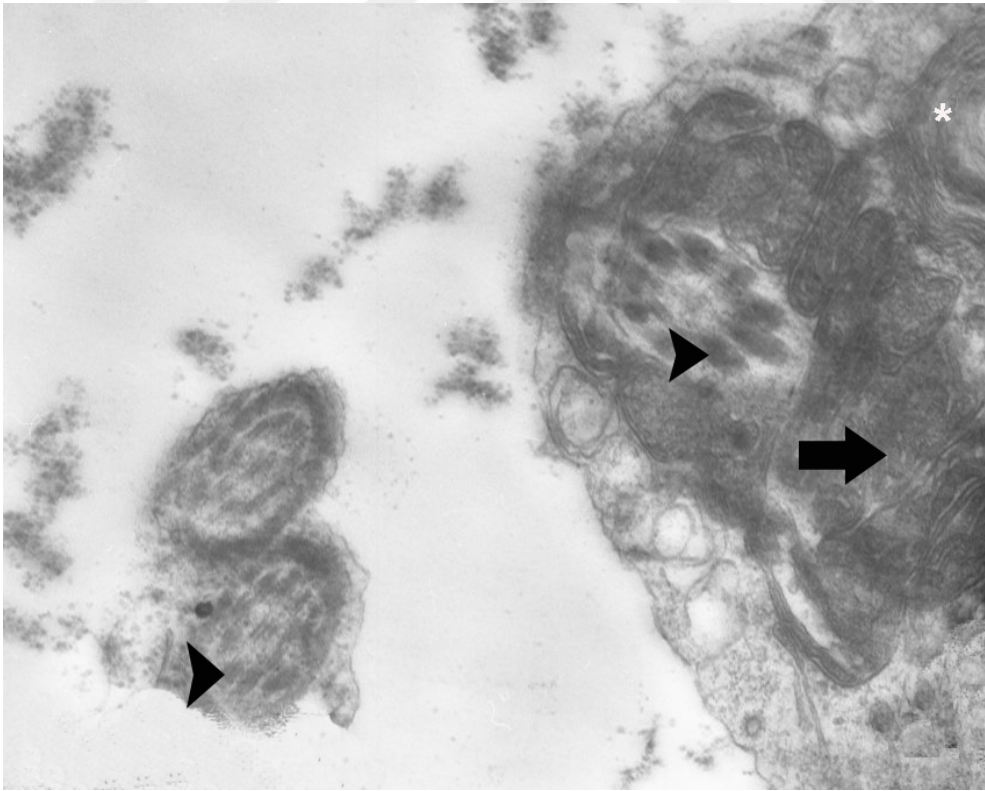
Şekil 4.10. Pentoksifilin grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Aksonem yapısı izlenmekte (ok). Mitokondriler zlenmekte (ok başı). Spermatozoon baş kısmı (asteriks) Boyun kısmı (kuyruklu ok). Elektron yoğun boyanmış mitokondri (eğik ok). X20000.



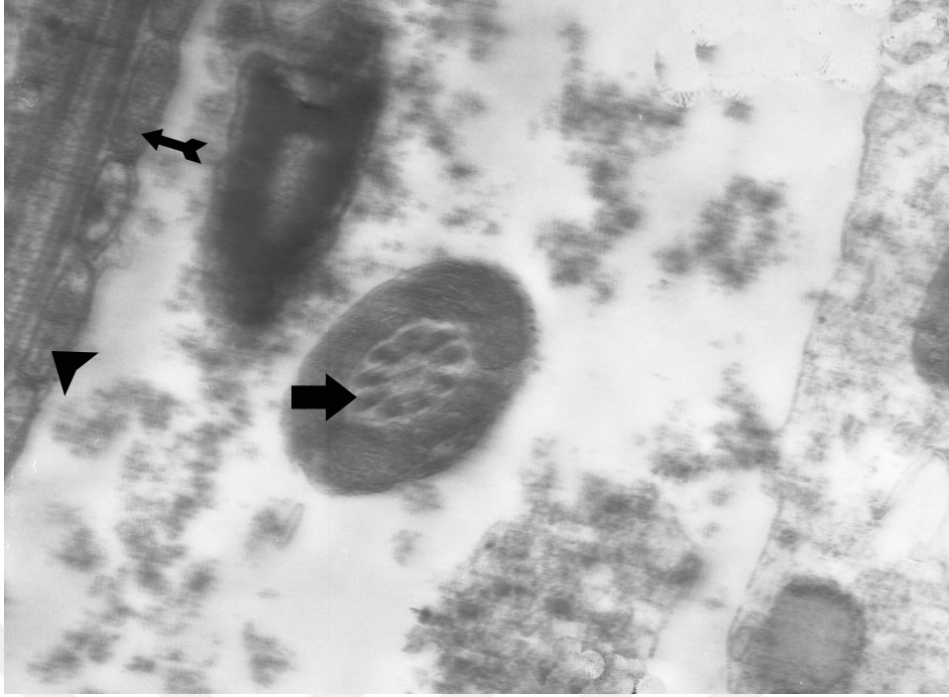
Şekil 4.11. Pentoksifilin grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Aksonem yapısı izlenmekte (ok). Mitokondriler izlenmekte (ok başı). Spermatozoon baş kısmı (asteriks) Boyun kısmı (kuyruklu ok). Sentirol (eğik ok). X10000.



Şekil 4.12. Pentoksifilin grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Aksonem (9+2) izlenmekte (ok). Belirgin kristalı mitokondriler izlenmekte (ok başı). Sentriol (kuyruklu ok). X20000.

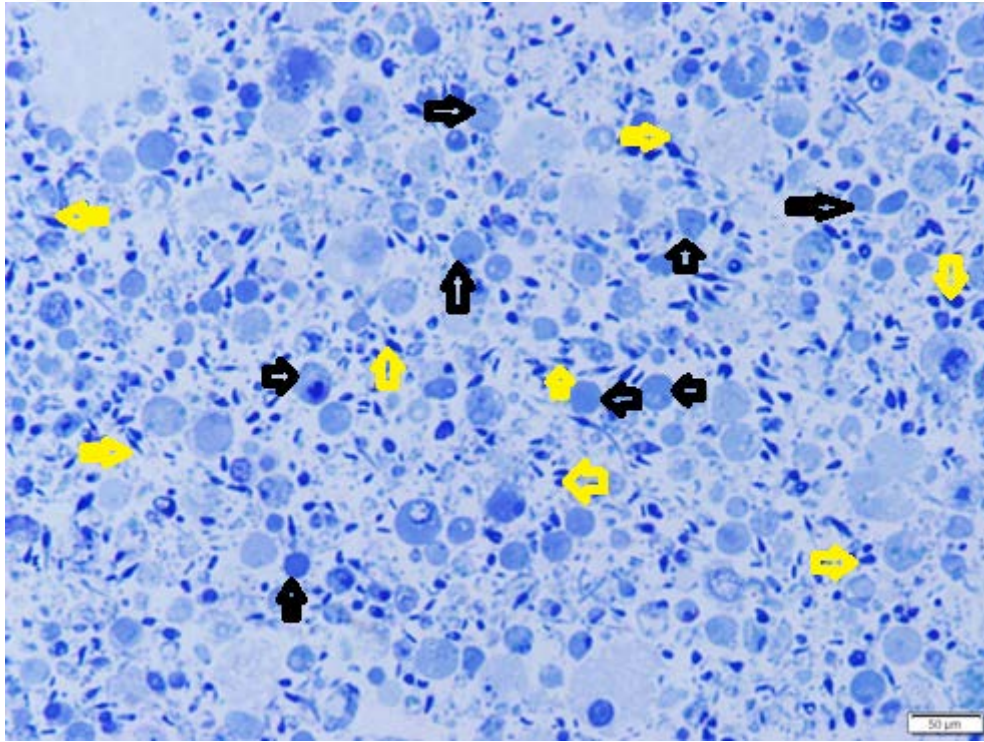


Şekil 4.13. Pentoksifilin grubuna ait elektron mikroskobu mikrografi izlenmekte. Aksonem (9+2) izlenmekte (ok başı). Yoğun matriks içeren belirgin kristalı mitokondriler izlenmekte (ok). X25000.

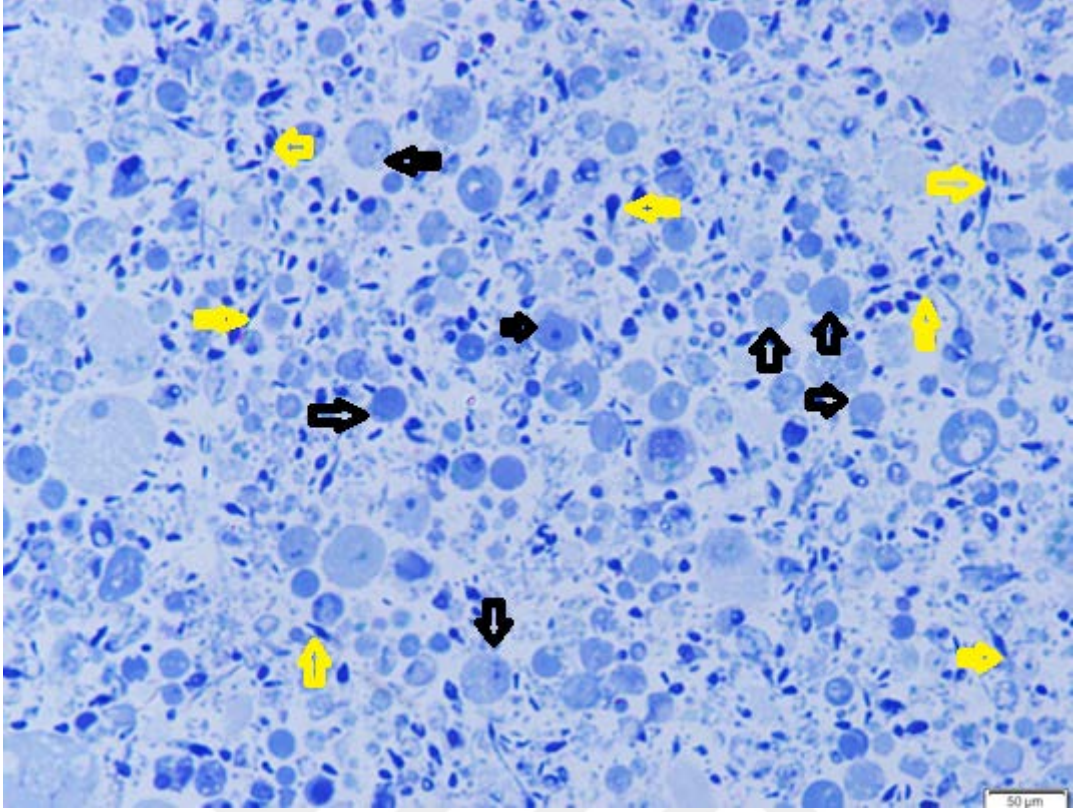


Şekil 4.14. Pentoksifilin grubuna ait elektron mikroskobu mikrografı izlenmekte. Aksonem (9+2) izlenmekte (ok). Yoğunluğu azalmış matriks içeren belirgin kristal mitokondriler izlenmekte (kuyruklu ok). Mitkondiral vakuolizasyon gözlenmekte (ok başı). X25000.

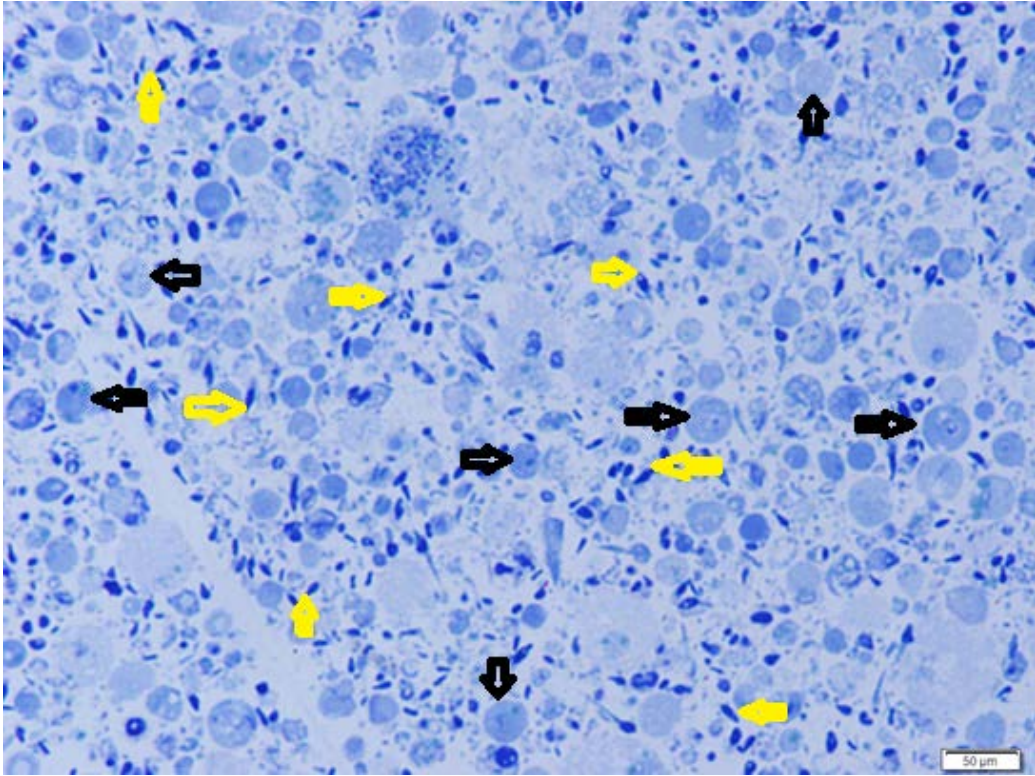
4.2. Stereolojik Bulguları



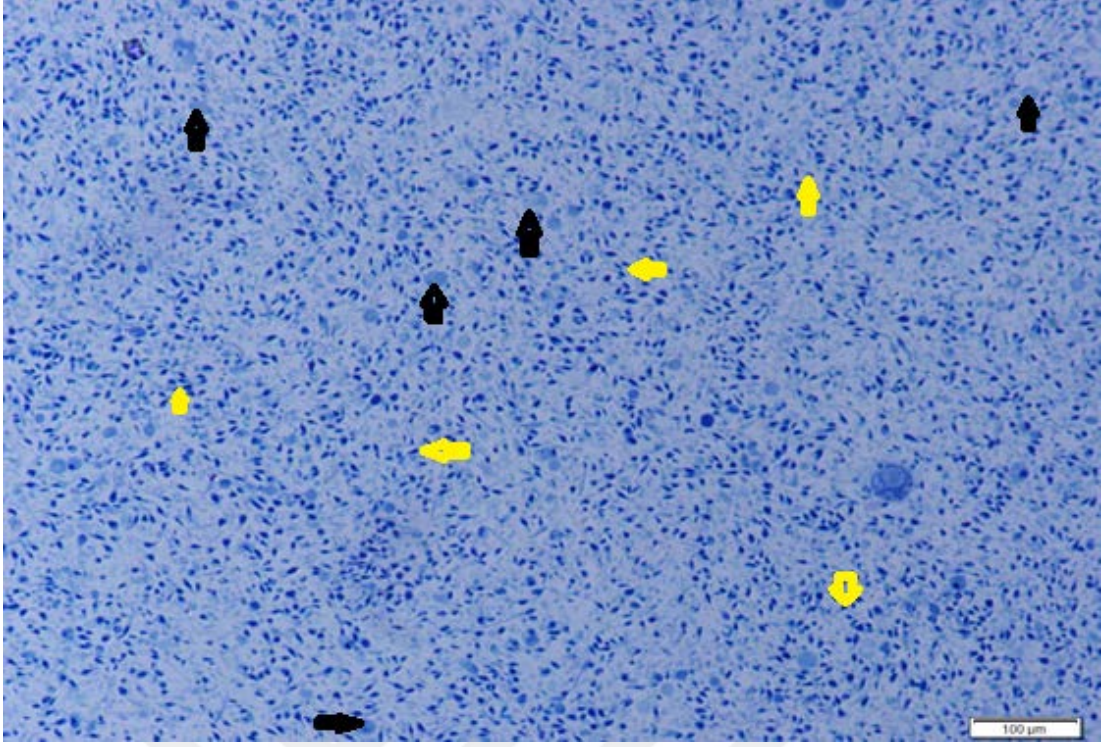
Şekil 4.2.1. Kontrol grubuna ait ışık mikroskobundaki (koyu renkli ok) round ve (sarı renkli ok) sperm başı izlenmekte.



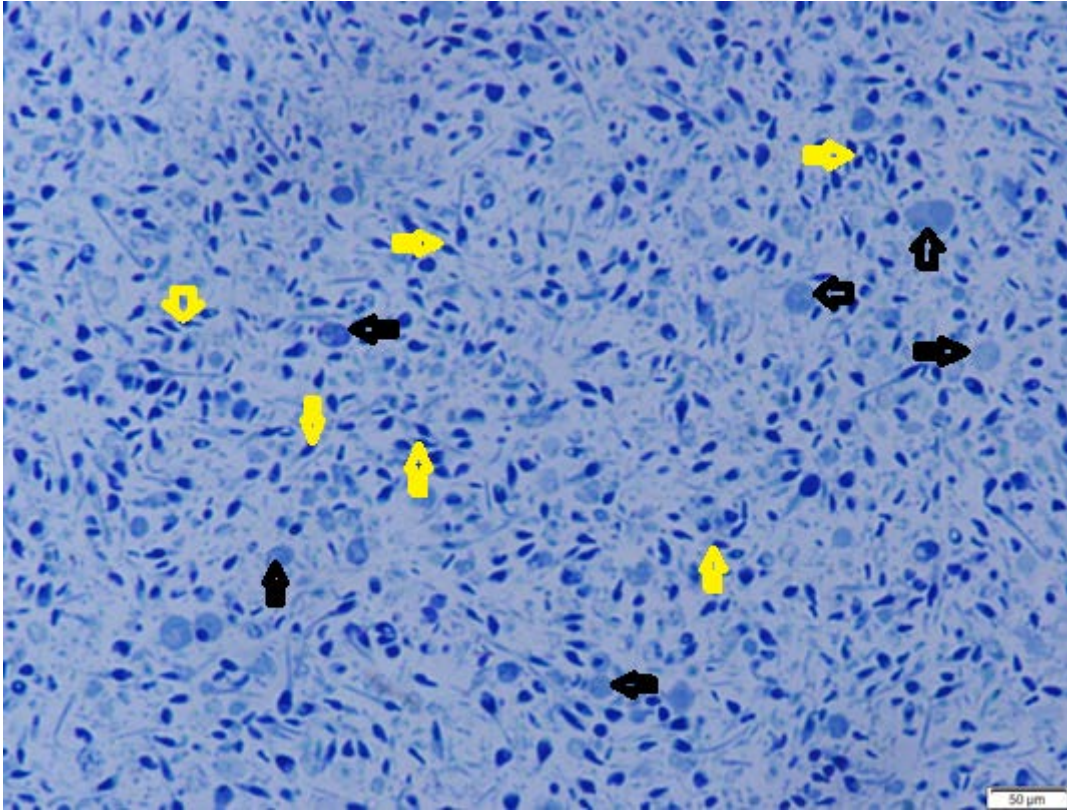
Şekil 4.2.2. Kontrol grubuna ait ışık mikroskobundaki (koyu renkli ok) round ve (sarı renkli ok) sperm başı izlenmekte



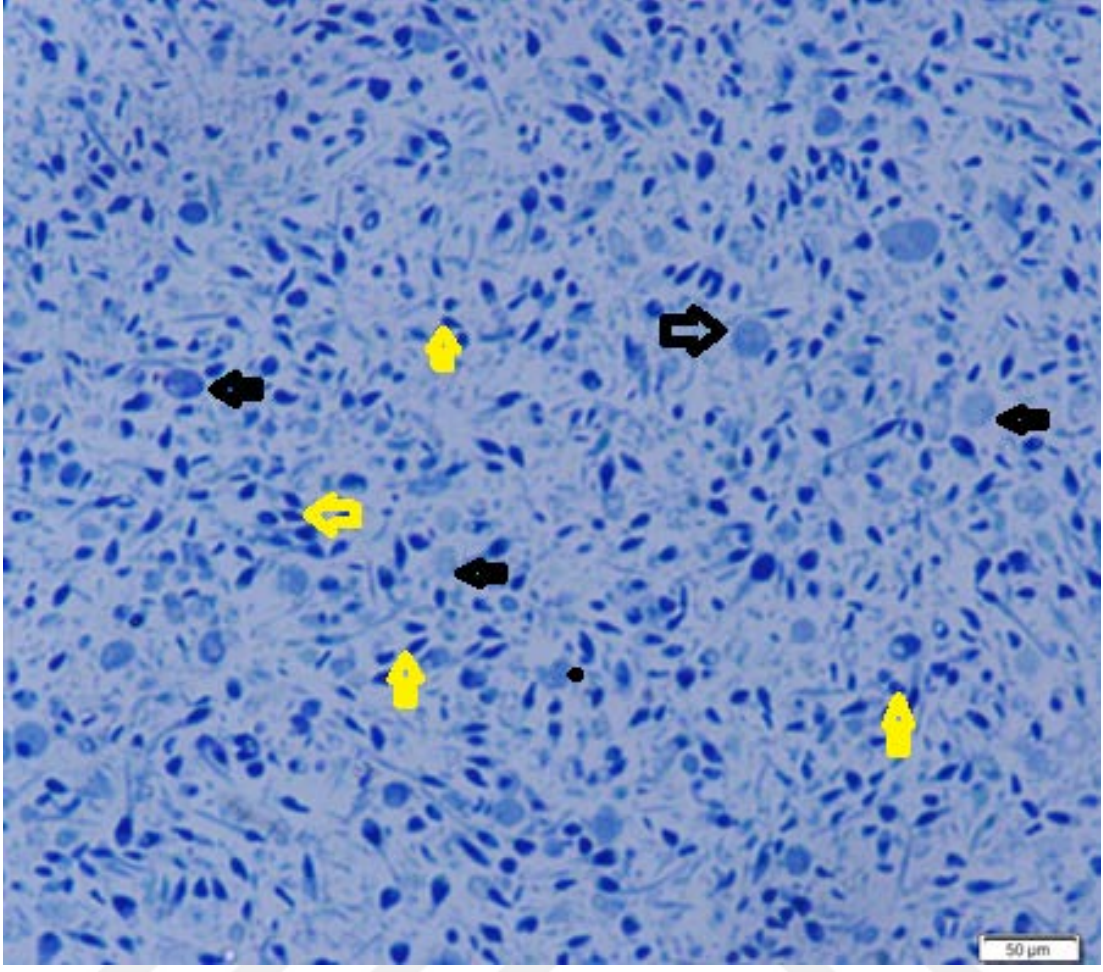
Şekil 4.2.3. Kontrol grubuna ait ışık mikroskobundaki (koyu renkli ok) round ve (sarı renkli ok) sperm başı izlenmekte



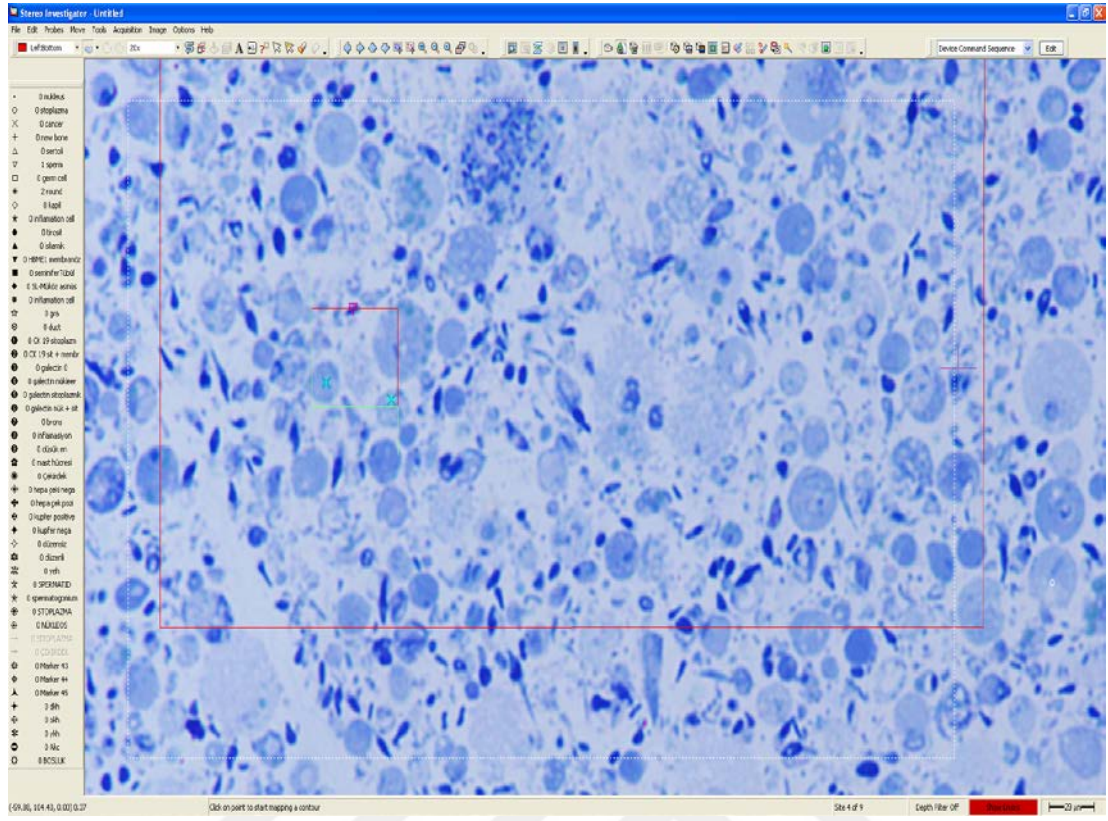
Şekil 4.2.3. Pentoksilifin grubuna ait ışık mikroskobundaki (koyu renkli ok) round ve (sarı renkli ok) sperm başı izlenmekte



Şekil 4.2.4. Pentoksilifin grubuna ait ışık mikroskobundaki (koyu renkli ok) round ve (sarı renkli ok) sperm izlenmekte

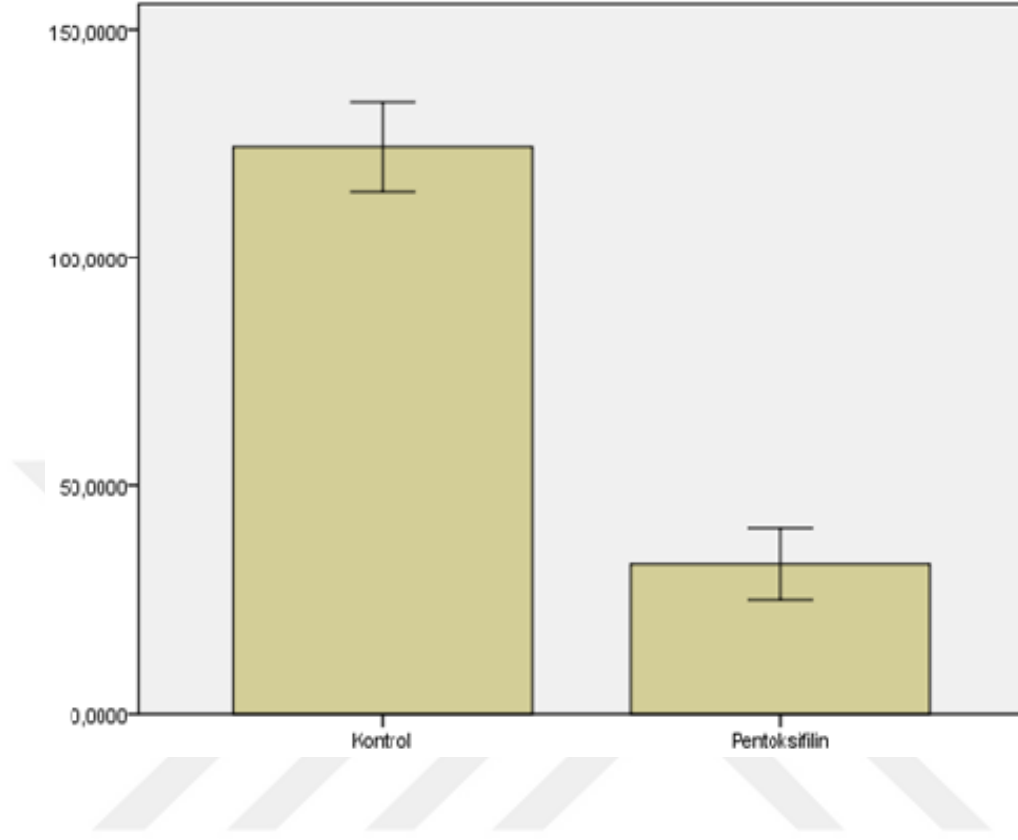


Şekil 4.2.5. Pentoksilifin grubuna ait ışık mikroskopundaki (koyu renkli ok) round ve (sarı renkli ok) sperm izlenmektedir.



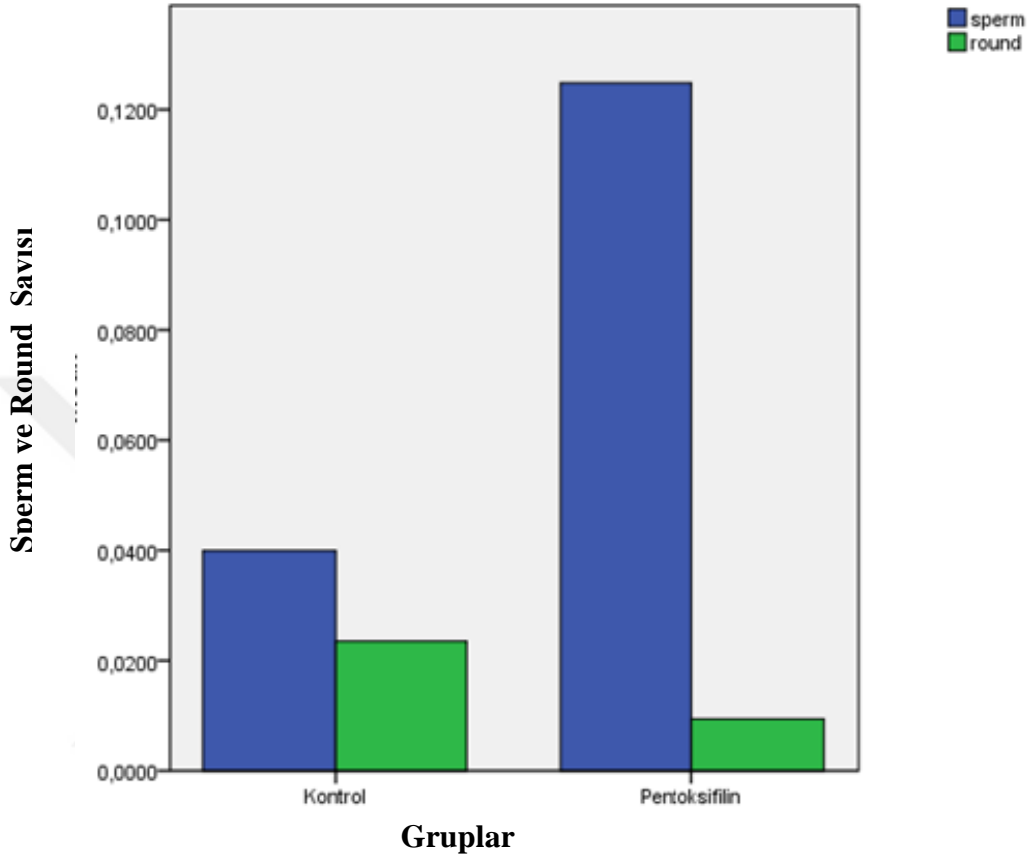
4.2.5. Fractionatör görüntüsü

Ortalama round yoğunluğu



Şekil 4.22. Nükleator sonuçları round hacminin karşılaştırılması

Round ve spermatid ortalama sayısal yoğunluğu



Şekil 4.23. kontrol grubu ve pentoksifilin gruplarının fractionator'a göre round ve spermlerin karşılaştırılması

5. TARTIŞMA

Tüp bebek merkezlerine başvuru yapan infertil hastalar incelendiğinde erkek ve kadın oranlarının birbiriyle eşit olduğu gözlenmektedir. IVF merkezlerine başvuran çiftlere bakıldığında erkek kaynaklı infertilite nedenlerinin % 30-40 nın idiopatik olduğu bilinmekte yani erkek infertilitesinin nedenleri sıralanırken büyük bir boşlukla karşılaşılmaktadır.

Bu çiftlerin infertilite nedenlerinin farklı olmasından dolayı tüp bebek merkezlerinde uygulanan tedavi planları da farklıdır. Bu çalışmaya başlamadan önce astenozoospermik hastaların spermlerine pentoksifilin uygulanmasının sadece sperm hareketini artırıp canlı sperm seçimine imkan sağlamamakla kalmadığını, azoospermiye neden olan ancak elektron mikroskobu ile gözlenebilen geri dönüşümlü bazı mekanizmalarında onardığını literatür taraması ile öngördük.

Rossato ve ark.⁵⁹ spermin, ekstraselüler ATP düzeyi artışının fertilizasyon oranlarının artırdığını göstermişlerdir. Bu durum da sperm mitokondrisinin motilitede önemli olduğunu gösterir. Ruiz-Pesini ve ark.⁴⁴ spermatozoa motilitesinin mitokondriyal enzim spesifik aktivitesi arasında pozitif bir denge olduğunu göstermiştir. Sperm morfolojisinin erkek infertilitesinde oldukça önemli olduğu bilinmektedir. Yapılan bu çalışmada astenozoospermik hastalarda sperm morfolojisi değerlendirildi ve astenozoospermik hasta spermelerinin orta parçalarında bozukluklar mitokondrielerin matriks ve kristallerini dejenerasyon olduğu ve bu alanlarda vakuolleşme olduğu ve normal spermelere göre daha kısa orta parçalara sahip olduğu görüldü ve bu bulgular Mundy ve arkadaşlarının bulgularını desteklemekteydi. Ayrıca açıklanamayan astenozoospermik hastalarda yapılan

incelemelerde periaxonemal anomalilerin, aksonemal defektlerle sıkı ilişkili olduğu ve azalan motilitenin tek sebebinin aksonemal anomalilerin tek nedeni olmadığını tespit edilmesi yapılan literatür taramalarıyla uyusmaktadır.^{60,61}

Pentoksifilin ile ilgili yapılan çalışmalarda hem normal hem de aztenozoospermik olgularda 0,3-0,6 mM kullanıldığında pentoksifilin daha uzun süre aktif kalabileceği bulunmuştur.⁶² Bu tez çalışmasında da aztenozoospermik olgularda 0,5 mM pentoksifilin kullanıldı. Pentoksifilin in vitro yolla sperm ejakulatına 0,5 mM ilave edilmesi, sperm motilitesinin artmasına yardımcı olduğunu gösterdik. Pentoksifilin gibi phosphodiesterase inhibitörü olan diğer ilaçların sperm motilitesini arttırdığı bilinmektedir.⁶³ Bununla birlikte, Yovich ve ark.⁶⁴ Pentoksifilin oligospermik olgularda da sperm motilitesini artırdığını, fakat normospermelerde, pentoksifilin etkisinin olmadığını göstermişlerdir.

Pentoksifilin aztenozoospermik olgularda hem spermin motilitesi hem de konstrasyonunun düzenlediği yapılan bu çalışma ile tespit edilmiştir. Heite ve ark.⁶⁵ hem oligo hem de astenoozospemlerde pentoksifilin sperm motilitesinin ve konstrasyonunu artırabileceğini bulgularında göstererek bu çalışma ile paralel sonuçlar elde etmiştir.

Yapılan diğer çalışmalarda pentoksifilin içeriğine bakıldığında kalsiyum iyonlarının bulunduğu bilinmektedir. Fakat sperm hareketi için kullanılan bu kalsiyum iyonunun sperm için zararlı olduğu belirtilmiştir.⁶⁶ Bu çalışmada Pentoksifilin mitokondrilerde matriks ve kristallerinde elektron mikroskopik düzeyde olumlu etkilerinin olduğunu gösterildi. Marrama ve ark.⁶⁷ Phosphodiester inhibitörü olduğu ve cAMP konsantrasyonunu artırdığı için, pentoksifilin ejakulattaki sperm motilitesini arttırdığını göstermişlerdir. Oligoastenozoospermik olgularda sperme ATP seviyesi azalması ve seminal fruktoz konsantrasyonunun arttığı bulunmuştur.

ATP miktarının azalması, ATP' nin cAMP dönüşümüyle açıklanmıştır.⁶⁷ Bu da oligoastenozoospermik vakalarda aerobik yerine anaerobik metabolizmasının baskın olduğu göstermektedir. Sperm parametreleri arasında sperm sayısı, morfolojisi spermiogenezle yakın ilişkilidir. Sperm motilitesi farmakolojik manipülasyonlarla değiştirilebilmektedir. Sperm motilitesi, spermin zona pellucidaya penetre olmasında oldukça önemlidir. Bu durum fertilizasyon için önem arz etmektedir.⁶⁸ Yine Yovich ve ark.⁶⁴ Pentoksifilin Astenozoospermik olgularda in vitro fertilizasyon oranlarının başarısını arttırdığını çalışmalarında göstermişlerdir.

Ayrıca Rizk ve ark.⁶⁹ yapmış oldukları kontrol ve pentoksifilin fertilizasyon oranlarının karşılaştırılmasında, pentoksifilinli grubun, kontrol grubuna oranla daha başarılı sonuçlar verdiğini bulmuşlardır. Imoedemhe ve ark.⁷⁰ gerçekleştirdikleri araştırmada pentoksifilin, embriyo gelişimi ve fertilizasyon oranların da önemli bir değişime neden olmadığını, fakat sperm motilitesini arttırdığını belirtmişlerdir.

Yürütülen bu çalışmada, pentoksifilin in vitro olarak uygulandı. Aynı şekilde Khalili ve ark.⁷¹ da astenozoospermik olgularda pentoksifilin in vitro uygulamasının sperm motilite oranını arttırdığını tespit ederek yapılan bu çalışma ile benzer bulgular elde etmişlerdir. Ayrıca pentoksifilin, in vitro ve in vivo uygulamasının sperm hareketi üzerine olan etkileri karşılaştırıldığı zaman in vitro uygulamanın daha etkili olduğu bulunmuştur.⁷² Astenozoospermik hastalara genelde pentoksifilin in vitro yolla uygulanmaktadır. Ayrıca oral yolla da uygulanabilmekte ve uygulamanın ancak 3. ayından sonra sperm motilitesinin önemli ölçüde değiştiği bulunmuştur. Bununla beraber pentoksifilin sperm konsantrasyonunda bir değişikliğe yol açmamaktadır. Azstenozoospermik hasta olan 15 erkeğe 4 ay boyunca 1200mg/gün pentoksifilin oral yolla verilmiş ve sonucunda sperm motilitesinin arttığı da yine Aparicio ve ark.⁷³ tarafından gösterilmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yürütülen bu tez çalışmasında Astenozoospermik hastaların spermlerinin mitokondrilerindeki matriks kristallarının hasarlı olduğu ve plazma membranının düzensiz bir görünüme sahip olduğu izlenmiştir. Pentoksifilin uygulaması ile bozuk olan plazma membranının daha düzenli bir yapı oluşturduğu sonucuna varıldı. Fakat membran aktivitesinin, tam olarak düzeltildiğinin sonucuna ulaşılması için başka yöntemler de kullanılması gerekmektedir. Mitokondri hasarlarının pentoksifilin uygulanması ile giderilebileceği gösterildi Membranda meydana gelen bozukluğun, sperm motilitesini azalttığı ve mitokondrilerin plazmalarında meydana gelen sperm motilitesi için enerjinin aktarılamadığı sonucuna ulaşıldı. Aksonem ve aksonemi çevreleyen kalın dış yoğun fibriller ve boyun bölgesinde meydana gelen defektler ile kuyruk anormalilerinin, sperm motilitesinde rol oynadığını gösterdik.

Işık mikroskobu yarı ince kesitlerinde yaptığımız stereolojik testler (fractionator ve nükleator) sonucunda pentoksifilinli grupta, kontrol grubuna oranla sperm sayısının artması ve round hücrelerinin azalması önemli bir sonuçtur. Bu uygulamanın tüp bebek merkezinde kullanılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Spira A. Epidemiology of human reproduction. *Human Reproduction*, 1986, 1: 111-115.
2. Hull MG, Glazener CM, Kelly NJ, Conway DI, Foster PA, Hinton RA. Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. *British Medical Journal (Clin Res Ed)*, 1985, 291: 1693-1697.
3. Thonneau P, Marchand S, Tallec A, Ferial ML, Ducot B, Lansac J. Incidence and main causes of infertility in a resident population (1,850,000) of three French regions (1988-1989). *Human Reproduction*. 1991, 6: 811-816.
4. Sigman M, Jarow JP. Male Infertility. In: Walsh P, Retik AB, Vaughan ED, Wein AJ (eds). *Campbell's Urology*, 8th ed. Philadelphia, Saunders, 2004: 1475-1531.
5. Sadler TW. *Langman's Medical Embryology*, 9th ed. Montana, KhCh, 2005: 321-363. Bhagavan NV, Ha CE. *Medical Biochemistry*, 5th ed. California,
6. Polat S. Ürogenital Sistem. İçinde: Dalçık H, Yıldırım M (editörler). *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi*, 8. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2009: 243-283.
7. Drake RI, Vogl W, Mitchell AWM. L Practice The Anatomical Basis of ClinicIn: Borley NR (ed). *Gray's Anatomy*, Spain, Elsevier, 2008, 326-387.
8. De Kretser D. Molecular Reproduction. In: Knobil CE, Neal J (eds). *Physiology of Reproduction*, New York, Raven Press, 1994: 302-459.
9. Qing Zhou RN, Ying L, Friel P, Mitchell D, Hess RA, Small C, Griswold MD. Expression of Stimulated by Retinoic Acid Gene 8 (Stra8) in Spermatogenic Cells Induced by Retinoic Acid: An In Vivo Study in Vitamin A-Sufficient Postnatal Murine Testes1. *Biology of Reproduction*, 2008, 79: 35-42.

10. Şahin P. Rapamisin Uygulamasının Fare Spermatogenik Hücrelere Etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı. Yükseklikan Tezi, Antalya: Akdeniz Üniversitesi, 2012.
11. Sancak B, Akşit D, Cumhuri M, İlgi S, Kural E, Taner D, Başar R, Önderoğlu S, Tuncel M, Taşçıoğlu B, Yener N, Durgun B, Çelik H, Atasever A, Sargon MF, Sürücü HS, Erbil M, Aldul M, Özkul E. Üreme Sistemi. İçinde: Sancak B, Cumhuri M (editörler). *Fonksiyonel Anatomi Baş-Boyun ve İç Organlar*, 6. Baskı, Ankara, ODTÜ Yayıncılık, 2012: 284-296.
12. de Lamirande E, Gagnon, C. Reactive oxygen species and human spermatozoa II. Depletion of adenosine triphosphate plays an important role in the inhibition of sperm motility. *J Androl*, 1992, 13: 377-379.
13. Russell LD, Ettlin R. *Histological and Histopathological Evaluation of the Testis*, 1th ed. Ann Arbor, Cache River Press 1990:286.
14. Yoshinaga K, Nishikawa S, Ogawa M, Hayashi S, Kunisada T, Fujimoto T, Nishikawa S. Role of c-kit in mouse spermatogenesis: identification of spermatogonia as a specific site of c-kit expression and function. *Development*, 1991, 113: 689-699.7
15. Hakovirta H, Yan W, Kaleva M, zhang F, Vanttinen K, Morris PL, Söder M, Parvinen M, Toppari J. Function of stem cell factor as a survival factor of spermatogonia and localization of messenger ribonucleic acid in the rat seminiferous epithelium. *Endocrinology*, 1999, 140: 1492-1498.
16. Tajima Y, Sawada K, Morimoto T, Nishimune Y, Switching of Mouse spermatogonial proliferation from the c-kit receptor-independent type to the receptor-dependent type during differentiation. *Journal of Reproduction & Infertility*, 1994, 102: 117-122.

17. Packer AI, Besmer P, Bachvarova RF. Kit ligand mediates survival of type A spermatogonia and dividing spermatocytes in postnatal mouse testes. *Molecular Reproduction and Development*, 1995, 42: 303-310.
18. van Pelt AM, van Dissel-Emiliani FM, Gaemers IC, van der Burg MJ, Tanke HJ, de Rooij DG. Characteristics of A spermatogonia and preleptotene spermatocytes in the vitamin A-deficient rat testis. *Biology of Reproduction*, 1995, 53: 570-578.
19. Aydos K. Erkek İnfertilitesi. İçinde: Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N (editörler). *Temel Üroloji*. 3. Baskı, Ankara, Güneş Tıp Kitapevi, 2007: 967-1011.
20. Heyting C. Synaptonemal complexes: structure and function. *Current Opinion in Cell Biology*, 1996, 8: 389-396.
21. Handel MA. The XY body: a specialized meiotic chromatin domain. *Experimental Cell Research*, 2004, 296: 57-63.
22. Demir N. Erkek Üreme Sistemi. İçinde: Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas, Baykal B. (çeviri editörü). *Histoloji a Text and Atlas*, Ross MH, Pawlina W. 6. Baskı, Ankara, Palme Yayıncılık, 2014: 784-830.
23. Balhorn R, Cosman M, Thornton K, Krishnan V, Corzett M, Bench G, Kramer C, Hud N, Allen M, Prieto M, Meyer-Ilse W, Brown J, Kirz J, ZHANG X, Bradbury E, Maki G, Braun R, Breed W. Protamine Mediated Condensation of DNA in Mammalian Sperm. Ann Arbor, Cache River Press, 1999: 55-70.
24. Wu JY, Ribar TJ, Cummings DE, Burton KA, McKnight GS, Means AR. Spermiogenesis and exchange of basic nuclear proteins are impaired in male germ cells lacking Camk4. *Nature Genetics*, 2000, 25: 448- 452.

25. Aytekin Y, Solkaoglu S. Testis. İçinde: Temel Histoloji, Aytekin Y, Solkaoglu S. (çeviri editörleri). *Basic Histology*, Jungueira LC, Carneiro J. 12. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2009: 418-435.
26. Sofikitis N, Yamamoto Y, Isoyama T, Miyagawa I. The early haploid male gamete develops a capacity for fertilization after the coalescence of the proacrosomal granules. *Human Reproduction*, 1998, 12: 2713-2719.
27. Abou-Haila A, Tulsiani DR. Mammalian sperm acrosome: formation, contents, and function. *Arch Biochem Biophys*, 2000, 379: 173-182.
28. Rathke C, Willy BM, Awe S, Renkawitz-Pohl R, Chromatin dynamics during spermiogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, 1839: 155–168.
29. Hellstrom WJ, Overstreet JW, Sikka SC, Denne J, Ahuja S, Hoover AM, Sides GD, Cordell, WH, Harrison M, Whitaker JS. Semen and Sperm Reference Ranges for Men 45 years of age and older. *Journal of Andrology*, 2006, 27: 421-428.
30. Seçkin İ. Ürogenital Sistemin gelişimi, Gözün Gelişimi. İçinde: Seçkin İ, Ertürkoğlu Ş, Taşyürekli M, Arda O, Alkan F, Oktar H (editörler). *Embriyoloji Ders Kitabı*, 1. Baskı, İstanbul, İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayın Evi, 2008: 215-260.
31. O'Donnel L, Nicholls PK, O'Bryan MK, McLachlan RI, Stanton PG. Spermiation, The process of sperm release. *Landes Bioscience*, 2011, 1: 14-35.
32. Fawcett DW. The mammalian spermatozoon. *Developmental Biology*, 1975, 44: 394-436.
33. Michaels GS, Hauswirth WW, Laipis PJ. Mitochondrial DNA copy number in bovine oocytes and somatic cells. *Developmental Biology*, 1982, 94: 246-51.

34. Schulz JB, Klockgether T, Dichgans J, Seibel P, Reichmann H. Mitochondrial gene mutations and diabetes mellitus. (*Letter*) *Lancet*, 1993, 341: 438-439.
35. Bora E. Mitokondrial Mutasyonların İnfertil Erkeklerin Semen Motilitesine Etkisi. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı. Doktora Tezi, İzmir: Ege Üniversitesi, 2006.
36. Tombes RM, Shapiro BM. Metabolite channeling: a phosphorylcreatine shuttle to mediate high energy phosphate transport between sperm mitochondrion and tail. *Cell*, 1985, 41: 325-334.
37. Jeffrey K, Katherine L, Moira O, de Kretser D. Cytology of the testis and intrinsic control mechanisms. In: Plant TM (ed). *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*, 1thed. USA, Elsevier Academic Press, 2006: 827-947.
38. Wei YH, Kao SH. Mitochondrial DNA mutation and depletion are associated with decline of fertility and motility of human sperm. *Zoological studies*, 2000, 39: 1-12.
39. Bajpai M, Gupta G, Setty BS. Changes in carbohydrate metabolism of testicular germ cells during meiosis in the rat. *European Journal of Endocrinology*, 1998, 138: 322-327.
40. Storey BT, Kayne FJ. Properties of pyruvate kinase and flagellar ATPase in rabbit spermatozoa: relation to metabolic strategy of the sperm cell. *Journal of Experimental Zoology*, 1980;211: 361-367.
41. Mori C, Nakamura N, Welch JE, Gotoh H, Goulding EH, Fujioka M, Eddy EM. Mouse spermatogenic cell-specific type 1 hexokinase (mHk1-s) transcripts are expressed by alternative splicing from the mHk1 gene and the HK1-S protein is localized mainly in the sperm tail. *Molecular Reproduction and Development*, 1998;49: 374-85.

42. Bunch DO, Welch JE, Magyar PL, Eddy EM, O'Brien DA. Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase-S protein distribution during mouse spermatogenesis. *Biology of Reproduction*, 1998;58: 834-41.
43. Urner F, Sakkas D. A possible role for the pentose phosphate pathway of spermatozoa in gamete fusion in the mouse. *Biology of Reproduction*, 1999;60: 733-739.
44. Ruiz-Pesini E, Diez C, Lapen AC, Pe' rez-Martos A, Montoya J, Alvarez E, Arenas J, Lo'pez-Pe' rez MJ. Correlation of sperm motility with mitochondrial enzymatic activities. *Clinical Chemistry*, 1998, 44: 1616-1620.
45. Kuhnert B, Nieschlag E. Reproductive functions of the ageing male. *Human Reproduction*, 2004, 10: 327-339.
46. Hauser R, Temple-Smith PD, Southwick GJ, de Kretser D. Fertility in cases of hypergonadotropic azoospermia. *Fertil Steril*, 1995, 63: 631-636.
47. Snick HK, Snick TS, Evers JL, Collins JA. The spontaneous pregnancy prognosis in untreated subfertile couples: the Walcheren primary care study. *Human Reproduction*, 1997, 12: 1582-1588.
48. Öncel HF. İnsülin Rezistansının Erkek İnfertilitesi Üzerine Etkileri. Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı. Uzmanlık Tezi, Şanlıurfa: Harran Üniversitesi, 2011.
49. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P. Erkek Üreme Sistemi. İçinde: Netter Temel Histoloji, Solakoğlu S, Gültomruk G. (bölüm çeviri editörleri). *Netter's Essential Histology*, Ovalle KL, Nahirney PC. İstanbul Güneş Kitabevleri, 2009: 399-426.
50. Morelli MA, Cohen PE. Not all germ cells are created equal: aspects of sexual dimorphism in mammalian meiosis. *Reproduction*, 2005, 130: 761-781.

51. Lipshultz L. Subfertility. In: Kaufman J (ed). *Current Urologic Therapy*, 2nd ed. Philadelphia, WB Saunders, 1980: 127-139.
52. Göğüş O. Ampirik medikal tedavi İçinde: Özdiler E, Aydos K (editörler). *Klinik Androloji*, 1. Baskı, Ankara, Ankara Üniversitesi Basımevi, 2000: 597-612.
53. Bozkırlı İ. Erkek İnfertilitesi. İçinde: *Yeni Üroloji*, 2. Baskı, Ankara, Gazi Üniversitesi Yayınları, 1999: 583-602.
54. Tesarik J, Thebault A, Testart J. Effect of pentoxifilline on sperm movement characteristics in normozoospermic and asthenozoospermic specimens. *Human Reproduction*, 1992, 7: 1257-1263.
55. Lamensdorf H, Compere D, Begley G. Testosterone rebound therapy in the treatment of male infertility. *Fertil Steril*, 1975, 26: 46-72.
56. Paulson RJ, Milligan RC, Sokol RZ. The lack of influence of age on male fertility. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2001, 184:818-822.
57. Murawski M, Saczko J, Marcinkowska A, Chwilkowska A, Gryboe M, Bananoe T. Evaluation of superoxide dismutase activity and its impact on semen quality parameters of infertile men. *Folia Histochemica et Cytobiologica*, 2007, 45: 123-126.
58. Chen Z, Godfrey-Bailey L, Schiff I, Russ Hauser R. Impact of seasonal variation, age and smoking status on human semen parameters: The Massachusetts General Hospital experience. *Journal of Experimental & Clinical Assisted Reproduction*, 2004, 1:2.
59. Rossato M, La Sala GB, Balasini M, Taricco F, Galeazzi C, Ferlin A, Foresta C. Sperm treatment with extracellular ATP increases fertilization rates in in-vitro fertilization for male factor infertility. *Human Reproduction*, 1999, 14: 694-697.

60. Mundy AJ, Ryder TA, Edmonds DK. Asthenozoospermia and the human sperm mid-piece. *Human Reproduction*, 1995, 10: 116-119.
61. Courtade M, Lagorce C, Bujan L, Caratero C, Miesusset R. Clinical characteristics and light and transmission microscopic sperm defects of infertile men with persistent unexplained asthenozoospermia. *Fertility and Sterility*. 1998, 70: 297-304.
62. Aparicio NJ, Turner EA, de Schwarzstein, L, Turner D. Effect of the phosphodiesterase inhibitor pentoxifylline on human sperm motility. *Andrologia*, 1980, 12: 49-54.
63. Schoenfeld C, Amelar RD, Dubin L. Stimulation of ejaculated human spermatozoa by caffeine. *Fertil. Steril*, 1975, 26: 158-161.
64. Yovich JM, Edirisinghe WR, Cummins JM, Yovich JL. Preliminary results using pentoxifylline in a pronuclear stage tubal transfer (PROST) program for severe male factor infertility. *Fertil. Steril*, 1988, 50: 179-181.
65. Heite HG. The effect of Trental on spermiographic parameters, a clinical study in patients with reduced fertility. *Fertil Steril*, 1979, 20: 38-42.
66. Ward A, Clissold SP. Pentoxifylline: A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and its therapeutic efficacy. *Drugs*, 1987, 34: 50-97.
67. Marrama P, Baraghini GF, Carani C, Celani MF, Giovenco P, Grandi F, Montanini V. Further studies on the effects of pentoxifylline on sperm count and sperm motility in patients with idiopathic oligo-asthenozoospermia. *Andrologia*, 1985, 17: 612-616.
68. Shen M, Chiang P, Yang R, Hong C, Chen S. Pentoxifylline stimulates human sperm motility both in vitro and after oral therapy. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 1991, 31: 711-714.

69. Rizk B, Fountain S, Avery S, Palmer C, Blayney M, Macnamee M. Successful use of pentoxifylline in male-factor infertility and previous failure of in vitro fertilization: a prospective randomized study. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 1995, 12: 710-714.
70. Imoedemhe DA, Sigue AB, Pacpaco EL, Olazo AB. The effect of caffeine on the ability of spermatozoa to fertilize mature human oocytes. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 1992, 9: 155-160.
71. Khalili MA, Vahidi S, Fallah-Zadeh, H. The effect of pentoxifylline on motility of spermatozoa from asthenozoospermic samples: fresh ejaculates, cryopreserved ejaculates, epididymal, and testicular. *Middle East Fertility Society Journal*, 2001, 6: 144-151.
72. Shen MR, Chiang PH, Yang RC, Hong CY, Chen SS. Pentoxifylline stimulates human sperm motility both in vitro and after oral therapy. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 1991, 31: 711-714.
73. Aparicio NJ, Schwarzstein L, de Turner EA. Pentoxifylline (BL 191) by oral administration in the treatment of asthenozoospermia. *Andrologia*, 1980, 12: 228-231.

EKLER

EK 1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Serdar YİĞİT
Doğum tarihi: 1985
Doğum yeri: Erzurum
Medeni hali: Bekar
Uyruğu: TC
Adres: Atatürk Üniversitesi Tıp Fak. Histoloji ve Embriyoloji ABD.
Tel: 553 503 3381
Faks:
E-mail: serdar_serdar85@hotmail.com
Eğitim
Lise: Şenkaya Lisesi
Lisans: Atatürk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
Yüksek lisans: Sağlık Bilimleri Enstitüsünde Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Doktora:
Yabancı Dil Bilgisi
Orta derece YDS-50
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
İlgi Alanları ve Hobiler
Snowboard, Futbol, Tenis.

EK-2. ETİK KURUL KARARI



ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ İLAÇ DIŞI KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Bölümü : Dekanlık
Servisi : İlaç Dışı Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
Sayı : B.30.2.ATA.0.01.00/129
Konu : Etik Kurul Kararı

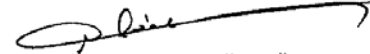
07.06.2013

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

İlgi: 29.05.2013 tarih ve 107 sayılı yazınız.

Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İlaç Dışı Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun 06.06.2013 tarih ve 5 nolu toplantısında, Biyolog Serdar YİĞİT tarafından hazırlanan "Pentoksifilin astenozoospermik olgularda sperm kalitesine etkilerinin elektron mikroskobu ile araştırılması" isimli bilimsel tez çalışması protokolü ve ekli belgeleri gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler ile gönüllü bilgilendirme metni dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın Etik Kurallara uygun olduğuna mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.


Prof. Dr. Metin GÖRGÜNER
Etik Kurul Başkanı

Eki :
1 Adet Etik Kurul Kararı