

T.C. SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FERTİL VE İNFERTİL BİREYLERDE METİL ARJİNİN DÜZEYLERİ

Yasin SAYGIN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Abdullah SİVRİKAYA

KONYA-2020

ÖNSÖZ

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

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana olan desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ali Ünlü'ye, Doç. Dr. Sedat ABUŞOĞLU, Doç. Dr. Hüsamettin VATANSEV'e, Doç. Dr. Bahadır ÖZTÜRK ve Doç. Dr. Esmâ MENEVŞE'ye teşekkür ederim.

Numunelerin temin edilmesi aşamasında destek gördüğümüz sayın Doç. Dr. Mehmet KAYNAR'a, Dr. Öğr. Üyesi Duygu DURSUNOĞLU'na ve S.Ü. Tıp Fakültesi Tüp Bebek ve Androloji laboratuvarında Rukiye ERDOĞAN'a deneysel çalışmada yardımını ve desteğini esirgemeyen Oğuzhan TOK'a ve tüm Biyokimya laboratuvarı çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Bunun yanı sıra çalışmam süresince maddi ve manevi varlığını hep yanımda hissettiğim, en az benim kadar yorulduğunu düşündüğüm, yol arkadaşım Duygu AKIN SAYGIN'a ve biricik oğlum (Kerem Akın) ve kızım (Damla ElaNur)'a şükranlarımı sunuyorum.

ÖZET.....	vi
SUMMARY	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
ÇİZELGELER.....	ix
ŞEKİLLER.....	x
1.GİRİŞ	1
1.1.Erkek Genital Sistem.....	2
1.1. 1. Erkek genital sistem anatomisi	2
1.1.2. Testis Histolojisi	7
1.2. Spermatogenez	7
1.3. Spermin Yapısı.....	10
1.4. Ejakulat (Semen, Meni, Döl)	11
1.4.1.Ejakulat analizi.....	11
1.4.2. Semen analizi için numune toplanması.....	11
1.4.3.Semen analizi nasıl yapılır	11
1.5. Semen analizine göre sınıflandırma	13
1.6. Fertilite	13
1.7. İnfertilite.....	13
1.7.1. İnfertilite Nedenleri.....	14
1.7.2. Erkek İnfertilitesi	14
1.7.3. Erkek İnfertilitesi Etiyolojisi.....	14
1.8.Arjinin	15
1.8.1. Arjinin ve Nitrik Oksit	16
1.8.2. Nitrik Oksit (NO)	16
1.8.3. Nitrik Oksitin Biyosentezi	16
1.8.4. Nitrik Oksit Sentaz (NOS)	17
1.8.5. Metilarjininler	18
1.8.6. Asimetrik Dimetil Arginin (ADMA)	19
1.8.7. Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA) Metabolizması	20
1.8.8. Dimetil Arjinin DimetilAminohidrolaz Enzimleri (DDAH).....	21
1.8.9. ADMA ve Nitrik Oksit İlişkisi.....	22
1.9. ADMA ile ilgili klinik çalışmalar	23
2. GEREÇ ve YÖNTEM.....	25
2.1. Gereç	25

2.1.1. Çalışmanın Yöntemi ve Hasta Seçimi.....	25
2.1.2. Sperm Örneklerinin Toplanması, Muhafaza Edilmesi ve Spermiyogramın Değerlendirilmesi.....	25
2.1.3. Kan Örneklerinin Toplanması ve Saklanması	25
2.1.4. Çalışmada Kullanılan Çözelti ve Reaktifler.....	26
2.1.5. Çalışmada Kullanılan Cihaz ve Malzemeler.....	26
2.2. Yöntem.....	28
2.2.1. LC-MS/MS Metoduyla ADMA, SDMA, L-NMMA, Homoarjinin ve Arjinin.....	28
2.2.2. İstatistiksel Analiz.....	30
3. BULGULAR	32
3.1. ADMA Analiz Sonuçlarına Yönelik Bulgular.....	33
3.2. SDMA Analiz Sonuçlarına Yönelik Bulgular.....	35
3.3. L-NMMA Analiz Sonuçlarına Yönelik Bulgular	36
3.4. Arjinin Analiz Sonuçlarına Yönelik Bulgular.....	37
3.5. Sitrulin Analiz Sonuçlarına Yönelik Bulgular	39
3.6. Homoarjinin (HArg) Analiz Sonuçlarına Yönelik Bulgular.....	40
4. TARTIŞMA	64
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	70
5.1. Sonuçlar	70
5.2. Öneriler	71
6. KAYNAKLAR	73
7. EKLER	80
8. ÖZGEÇMİŞ	81

ÖZET
T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Fertil ve İnfertil Bireylerde Metil Arjinin Düzeyleri

Yasin SAYGIN

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ /KONYA-2020

İnfertilite, reproduktif dönemde olan bir çiftin herhangi bir doğum kontrol yöntemi kullanmaksızın, en az bir yıl düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebeliğin oluşmaması olarak tanımlanır. Tüm dünyada yaşayan insanlar için gerek tıbbi gerekse sosyopsikolojik açıdan en temel klinik problemlerden biri olarak kabul edilmektedir. Erkek infertilitesinin yaklaşık %40-60'ında altta yatan neden bilinse de birçoğunda etken ortaya konamamakta (%15) ve açıklanamayan infertilite olarak kabul edilmektedir. Metil arjininler; asimetrik dimetilarjinin (ADMA), simetrik dimetilarjinin (SDMA), monometilarjinin (L-NMMA) olarak üç şekilde bulunur. Metilarjininler proteinlerde bulunan arjinin rezidülerinin metilasyonu sonucu oluşurlar. ADMA, endojen Nitrik Oksit Sentaz Enzimi inhibitörüdür. ADMA'nın endotel disfonksiyonu ve aterosklerozda rol alabileceği gösterilmiştir.

Çalışmamızı Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Polikliniğine başvuran 30 oligozoospermi hastası ile normozoospermili (kontrol grubu) 30 sağlıklı birey oluşturmuştur. Bireylerden alınan kan örneklerinden serum-metilarjinin düzeyleri Sıvı Kromatografi – Tandem Kütle Spektrometre ile analiz edildi.

Oligozoospermi hasta grubunun serum ADMA düzeyi (0.38 ± 0.07), normozoospermi grubunun serum ADMA düzeyine (0.35 ± 0.05) göre anlamlı bir şekilde ($p=0,046$) yüksek bulunmuştur. Oligozoospermi hastalarında ADMA ile SDMA ($r=0.686$, $p=0.000$), HArg ile SDMA ($r=0.611$, $p=0.001$), Sitrulin ile L-NMMA ($r=0.595$, $p=0.001$) aralarında pozitif korelasyon gözlemlendi.

Sonuç olarak çalışmamızda, oligozoospermili bireylerin serum ADMA düzeyleri, normozoospermili bireylere göre istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek, SDMA, Arjinin ve HArg seviyelerindeki artma ve L-NMMA ve Sitrulin seviyelerinde azalma anlamlı değildi. Sperm konsantrasyonu düşük olan bireylerde ADMA seviyesi yüksek bulundu. Çalışmamızda; fertil ve infertil bireylerin metil arjinin düzeylerinin ölçülerek teşhis ve tedavi aşamasında metil arjininlerin rolünü belirlemek açısından önem arz etmektedir. Ayrıca çalışmamız sonucunda ereksiyon difonksiyonu olan hastaların ejakülat alınmadan ve spermiogram testi yapılmadan önce kan örneklerinden metil arjinin düzeylerinin infertil veya fertil erken tanısının biyobelirteç parametresi olabileceği kanısındayız.

Anahtar Sözcükler: Asimetrik Dimetilarjinin; Fertil; İnfertil; Simetrik Dimetilarjinin

SUMMARY

REPUBLIC OF TURKEY
SELÇUK UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Methyl Arginine Levels in Fertile and Infertile Individuals

Yasın SAYGIN

Department Of Medical Biochemistry

MASTER THESIS/KONYA-2020

Infertility is defined as lack of pregnancy despite regular sexual intercourse by a couple at reproductive period for at least one year. It is accepted as one of the most basic clinical problems all over the globe for both medically and socio-psychologically. Although 40% to 60% of underlying cause of male fertility is known, the exact cause may not be revealed in many of the cases (15%); these cases are accepted as unexplained infertility. Methyl arginines exist in three forms including dimethyl arginine (ADMA), symmetrical dimethyl arginine (SDMA), and monomethylarginine (L-NMMA). Methylarginins arise from methylation of residues of arginin which exists in proteins. ADMA is the inhibitor of endogenous Nitric Oxide Synthase enzyme. It was dfemonstrated that ADMA may take a role in endothelial dysfunction and atherosclerosis.

This study included 30 patients with oligospermia who have referred to Urology Polyclinic of Medical Faculty within Selcuk University, and 30 healthy individuals with normospermia (control group). Blood samples were collected from the participants, and methylarginin levels in the serum were analysed through Tandem Mass Spectrometer.

Serum ADMA level of the patient group with oligozoospermia (0.38 ± 0.07) was significantly higher than serum ADMA level of the normozoospermia control group ($p=0.046$). In patients with oligozoospermia; a positive correlation was observed between ADMA and SDMA ($r=0.686$, $p=0.000$); HArg and SDMA ($r=0.611$, $p=0.001$); and Citruline and L-NMMA ($r=0.595$, $p=0.001$).

Consequently, serum ADMA levels of the patients with oligozoospermia were significantly higher than individuals with normozoospermia; the increase in SDMA, Arginine and HArg levels, and the decrease in L-NMMA and Citrulibe were not statistically significant. ADMA level was found higher in the individuals with lower sperm concentration. Measurement of methyl arginine levels in fertile and infertile individuals enrolled in this study is important in order to determine the role of methyl arginines at diagnosis and treatment stages. Furthermore, we believe that methyl arginine levels in blood samples may be a biomarker for early diagnosis of fertility and infertility before collection of ejaculate from the patients with erectile dysfunction and running the spermiogram test.

Keywords: Asymmetric Dimethylarginine; Fertile; Infertile; Symmetric Dimethylarginine

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	Santigrat derece
Ca⁺²:	Kalsiyum
HCl:	Hidroklorik asit
IU/ml:	International unit per mililitre
mIU/ml :	Miliinternational unit per mililitre
Na⁺²:	Sodyum
ng/ml:	Nanogram per mililitre
NO₃⁻ :	Nitrat
O₂:	Oksijen
pg/ml:	Pikogram per mililitre
rpm:	Revolution per minute
mm:	Milimetre
ml:	Mililitre
ml/dk:	Mililitre per dakika
µM:	Mikromolar
µmol/L:	Mikromol per litre
NO:	Nitrik oksit
NOS:	Nitrik oksit sentaz
ATP:	Adenozin Trifosfat
ADMA:	Asimetrik dimetil arjinin
SMDA:	Simetrik dimetil arjinin
L-NMMA:	N-Mono metil L arjinin
MtDNA:	Mitokondriyal DNA
EDRF:	Endotel kaynaklı gevşetici faktör
iNOS:	İndüklenebilir nitrik oksit sentaz
nNOS:	Nöronal nitrik oksit sentaz
eNOS:	Endotelyal nitrik oksit sentaz
PRMT-1:	Arjinin metiltransferaz Tip 1
PRMT-2:	Arjinin metiltransferaz Tip 2
DDAH:	DimetilArjininDimetilAminohidrolaz
AGAT	Arjinin glisin amidinotranferaz

ÇİZELGELER

Çizelge 1. 1. WHO 2010 semen parametreleri	12
Çizelge 1. 2. Erkek infertilitesinin başlıca etiyolojik nedenleri.....	15
Çizelge 1. 3. Farklı hastalık evresindeki hasta grupları ve kontrol grubuna ait bireylerin plazma yada serumundaki ADMA seviyesi	23
Çizelge 3. 1. Oligozoospermi ve normozoospermi gruplarının sperm sayılarının karşılaştırılması.....	32
Çizelge 3. 2. Normozoospermi ve oligozoospermi gruplarındaki semen parametreleri (n=30).....	33
Çizelge 3. 3. Normozoospermi ve oligozoospermi gruplarının Metil Arjinin düzeyleri	42
Çizelge 3. 4. Normozoospermi grubun ölçüm parametreleri ile semen parametreleri arasındaki korelasyon ve anlamlılık düzeyleri (n=30).....	47
Çizelge 3. 5. Oligozoospermi grubun ölçüm parametreleri ile semen parametreleri arasındaki korelasyon ve anlamlılık düzeyleri (n=30).....	48
Çizelge 3. 6. Oligozoospermi grubuna ait ADMA, SDMA, L-NMMA, Arjinin, Sitrulin ve HArg Parametrelerinin Korelasyonu	48
Çizelge 3. 7. Normozoospermi grubuna ait ADMA, SDMA, L-NMMA, Arjinin, Sitrulin ve HArg Parametrelerinin Korelasyonu.....	50
Çizelge 3. 8. Oligozoospermi grubuna ait SDMA/ADMA, L-NMMA/ADMA, Arjinin/ADMA,Sitrulin/ADMA ve HArg/ADMA Parametrelerinin Korelasyonu ...	53
Çizelge 3. 9. Normozoospermi grubuna ait SDMA/ADMA, L-NMMA/ADMA, Arjinin/ADMA, Sitrulin/ADMA ve HArg/ADMA Parametrelerinin Korelasyonu ..	57
Çizelge 3. 10. Normozoospermi ve oligozoospermi gruplarının Metil Arjinin düzeyleri ile ön tanı koydurucu sınır değerleri ve bunlara ait veriler	63

ŞEKİLLER

Şekil 1. 1. Erkek genital organların şematik görünümü.....	2
Şekil 1. 2. Penis'in alttan görünüşü	3
Şekil 1. 3. Urethra masculina.....	3
Şekil 1. 4. Scrotum.....	4
Şekil 1. 5. Scrotum iç yapısı	5
Şekil 1. 6. Erkek genital organların sagittal kesitten görünümü.....	6
Şekil 1. 7. Seminifer tübül	7
Şekil 1. 8. Memeli Spermatogenez Evreleri.	8
Şekil 1. 9. Spermatogenezin Hormonal Kontrolü.....	10
Şekil 1. 10. Olgunlaşmış spermin şematik görünümü	10
Şekil 1. 11. Arjininin molekül yapısı.....	16
Şekil 1. 12. Nitrik Oksit Oluşumunda Kimyasal Reaksiyon	17
Şekil 1. 13. Endotelyal nitrik oksit sentaz etki mekanizması.	18
Şekil 1. 14. L-Arjinin, L-NMMA, SDMA ve ADMA'nın moleküler formülleri.....	19
Şekil 1. 15. ADMA Metabolizması	21
Şekil 1. 16. ADMA'nın Biyokimyasal Yolları	22
Şekil 2. 1. AB SCIEX API 3200 marka Sıvı Kromatografi-Tandem Kütle Spektrometre (LC-MS/MS) cihazı.....	27
Şekil 3. 1. 1,5µM ADMA standart kromatogramı.....	34
Şekil 3. 2. ADMA kalibrasyon grafiği.....	34
Şekil 3. 3. En düşük sperm konsantrasyonuna (0,5 milyon/ml) ait ADMA seviyesinin kromatografisi	34
Şekil 3. 4. 1,37µM/L SDMA standart kromatogramı	35
Şekil 3. 5. SDMA kalibrasyon grafiği	35
Şekil 3. 6. En düşük sperm konsantrasyonuna (0,5 milyon/ml) ait SDMA seviyesinin kromatografisi	36
Şekil 3. 7. 0,15625 µM/L L-NMMA standart kromatogramı	36
Şekil 3. 8. L-NMMA kalibrasyon grafiği	37
Şekil 3. 9. En düşük sperm konsantrasyonuna (0,5 milyon/ml) ait L-NMMA seviyesinin kromatografisi	37
Şekil 3. 10. 15,56 µM/L Arjinin standart kromatogramı	38
Şekil 3. 11. Arjinin kalibrasyon grafiği	38
Şekil 3. 12. En düşük sperm konsantrasyonuna (0,5 milyon/ml) ait Arjinin seviyesinin kromatografisi	38
Şekil 3. 13. 15,56 ng/ml Sitrulin standart kromatogramı.....	39
Şekil 3. 14. Sitrulin kalibrasyon grafiği	39
Şekil 3. 15. En düşük sperm konsantrasyonuna (0,5 milyon/ml) ait Sitrulin seviyesinin kromatografisi	40
Şekil 3. 16. 2,5µM/L HArg standart kromatogramı.....	41
Şekil 3. 17. HArg kalibrasyon grafiği.....	41
Şekil 3. 18. En düşük sperm konsantrasyonuna (0,5 milyon/ml) ait HArg seviyesinin kromatografisi	41
Şekil 3. 19. Normozoospermi ve oligozoospermi'e ait serum ADMA düzeyleri.....	43
Şekil 3. 20. Normozoospermi ve Oligozoospermi'e ait Serum SDMA Düzeyleri	44
Şekil 3. 21. Normozoospermi ve Oligozoospermi'e ait Serum L-NMMA Düzeyleri.....	44

Şekil 3. 22. Normozoospermi ve Oligozoospermi'e ait Serum Arjinin Düzeyleri....	44
Şekil 3. 23. Normozoospermi ve Oligozoospermi'e ait Serum Sitrulin Düzeyleri ...	45
Şekil 3. 24. Normozoospermi ve Oligozoospermi'e ait Serum HArg Düzeyleri	45
Şekil 3. 25. Normozoospermi ve Oligozoospermi'e ait Serum SDMA/ADMA Düzeyleri.....	45
Şekil 3. 26. Normozoospermi ve Oligozoospermi'e ait Serum L-NMMA/ADMA Düzeyleri.....	46
Şekil 3. 27. Normozoospermi ve Oligozoospermi'e ait Serum Arjinin/ADMA Düzeyleri.....	46
Şekil 3. 28. Normozoospermi ve Oligozoospermi'e ait Serum Sitrulin/ADMA Düzeyleri.....	46
Şekil 3. 29. Normozoospermi ve Oligozoospermi'e ait Serum HArg/ADMA Düzeyleri	47
Şekil 3. 30. Oligozoospermi grubuna ait ADMA ve SDMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği.....	49
Şekil 3. 31. Oligozoospermi grubuna ait HArg ve SDMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği.....	49
Şekil 3. 32. Oligozoospermi grubuna ait Sitrulin ve L-NMMA değerleri arasındaki korelasyongrafiği.....	50
Şekil 3. 33. Normozoospermi grubuna ait ADMA ve HArg değerleri arasındaki korelasyongrafiği.....	51
Şekil 3. 34. Normozoospermi grubuna ait ADMA ve L-NMMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği.....	52
Şekil 3. 35. Normozoospermi grubuna ait SDMA ve HArg değerleri arasındaki korelasyon grafiği.....	52
Şekil 3. 36. Normozoospermi grubuna ait L-NMMA ve HArg değerleri arasındaki korelasyon grafiği.....	53
Şekil 3. 37. Oligozoospermi grubuna ait SDMA ve SDMA/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği	54
Şekil 3. 38. Oligozoospermi grubuna ait L-NMMA ve L-NMMA/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği	55
Şekil 3. 39. Oligozoospermi grubuna ait L-NMMA ve Sitrulin/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği	55
Şekil 3. 40. Oligozoospermi grubuna ait Arjinin ve Arjinin/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği	56
Şekil 3. 41. Oligozoospermi grubuna ait Sitrulin ve Sitrulin/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği	56
Şekil 3. 42. Oligozoospermi grubuna ait HArg ve HArg/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği.....	57
Şekil 3. 43. Normozoospermi grubuna ait ADMA ve L-NMMA/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği	58
Şekil 3. 44. Normozoospermi grubuna ait ADMA ve Arjinin/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği	59
Şekil 3. 45. Normozoospermi grubuna ait SDMA ve SDMA/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği	59
Şekil 3. 46. Normozoospermi grubuna ait SDMA ve HArg/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği	60

Şekil 3. 47. Normozoospermi grubuna ait L-NMMA ve HArg/ADMA değerleri arasındaki korelasy. on grafiği	60
Şekil 3. 48. Normozoospermi grubuna ait Arjinin ve Arjinin/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği	61
Şekil 3. 49. Normozoospermi grubuna ait Sitrulin ve Sitrulin/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği	61
Şekil 3. 50. Normozoospermi grubuna ait HArg ve HArg/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği.....	62
Şekil 3. 51. Normozoospermi ve oligozoospermi gruplarının Metil Arjinin düzeyleri ile ön tanı koydurucu ROC eğrisi.....	62



1. GİRİŞ

İnfertilite, ergen çağında olan bir kadın ile bir erkeğin herhangi bir doğum kontrol yöntemi kullanmaksızın, en az on iki ay düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebeliğin oluşmamasıdır. İnfertilite günümüzde çiftlerin %15'inde görülmektedir. Çiftlerde rastlanan infertilite, yapılan tanısai tetkikler sonucunda tek başına kadın veya erkekten kaynaklanan sorunlara bağılı olabileceğı gibi ayrıca açıklanamayan infertilite nedenlerinin de olduğı tespit edilmiştir (Vayena ve ark 2002, Gnoth ve ark 2003, Wang ve ark 2003).

Erkek infertilitesi günümüzde birçok hastalığa bağılı olarak ortaya çıkabildiğı gibi idiyopatik (sebebi açıklanamayan) olarakta kabul edilmektedir. Birçok yardımcı üreme teknikleri *in vitro* dölleme, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu ile erkek infertilitesine çözüm sunulmaktadır. Bu süreç hastaları hem maddi hem de manevi olarak yıpratmaktadır. Erkek infertilite sebebinin araştırılmasında semen analizi ilk sırayı almaktadır. Spermin etki mekanizmasındaki bozukluk ve infertilite arasındaki ilişkisi ile ilgili yapılan çalışmalar daha çok serbest oksijen radikalleri ile ilişkisini ortaya koymuştur (Carlsen ve ark 1992, Agarwal ve Allamaneni° 2011). Erkek üreme sistemi üzerine serbest oksijen radikallerinden Nitrik oksit (NO)'in, çeşitli fonksiyonların düzenlenmesinde etkisi vardır (Rosselli ve ark 1998). NO, endojen L-arjininden nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi ile sentezlenmekte olup farklı dokularda, farklı NOS izoformu bulunmaktadır (Förstermann ve ark 1995). Spermatozoa'nın NOS izoformlarının lokalizasyonları hakkında yeterli bir bilgi bulunmamaktadır. Yapılan çalışmalarla NO'in sperm motilite ve canlılığının korunmasına olan etkileri tam olarak ortaya konulamamıştır. NO ile Asimetrik dimetil arjinin (ADMA) arasındaki ilişki ortaya konulmasın rağmen ADMA ile sperm sayısı arasındaki ilişki ortaya konulmamıştır. İnsanda NO'in sperm üzerindeki etkisini gösteren çalışmalar yetersizdir. Özellikle normozoospermi ve oligozoospermi arasında NO sentezinde önemli görevi olan NOS enzimini inhibe eden ADMA ile ilgili araştırmalar bulunmamaktadır.

Çalışmamızdaki amacımız; normozoospermi ve oligozoospermi bireylerinden elde edilen kan serumundan Metil arjinin ve türevlerinin Sıvı Kromatografi–Tandem Kütle Spektrometre (LC-MS/MS) ile belirlemek ve sperm sayısı üzerine etkisini araştırmaktır.

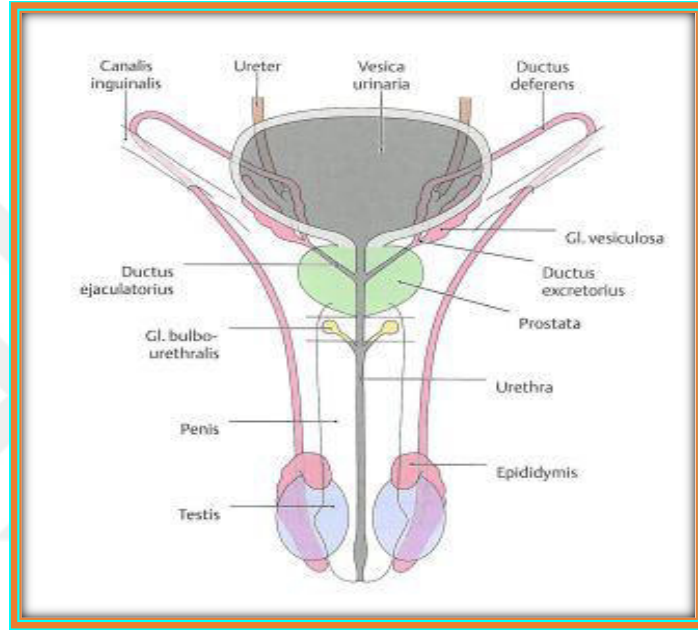
1.1. Erkek Genital Sistem

Erkek üreme sistemi spermatozoa'nın oluşması (haploid erkek gameti), spermatozoa'nın beslenmesi, depolanması, erkek seks hormonlarının sentezi ve spermatozoa'ların dişi genital organa aktarılması gibi fonksiyonlardan sorumludur.

1.1. 1. Erkek genital sistem anatomisi

Erkek genital organları iki gruba ayrılır.

1. Dış genital organlar
2. İç genital organlar (Şekil 1.1).



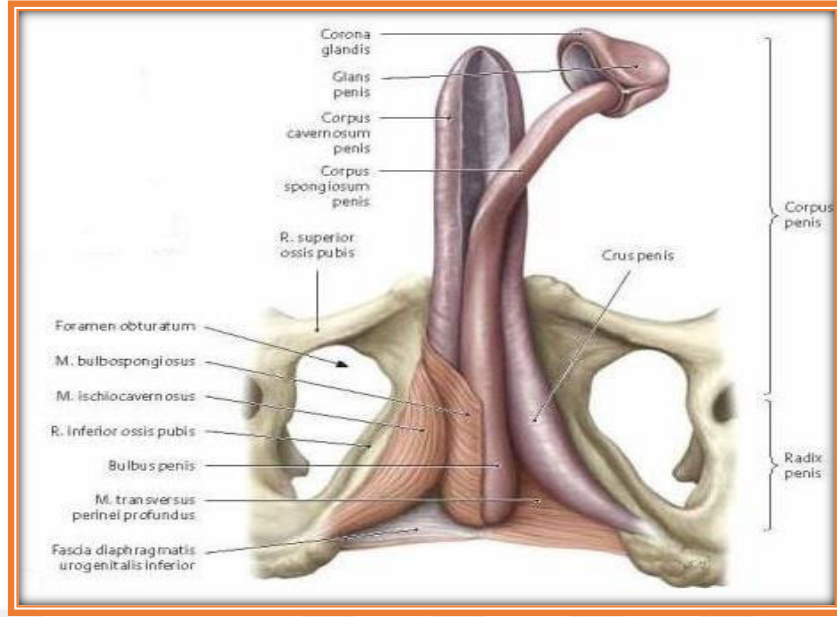
Şekil 1. 1. Erkek genital organların şematik görünümü (Gilroy 2014).

1.1.1.1. Erkek dış genital organlar

Penis

Erkek dış genital organlardan olan penis, cinsel birleşme ve idrar ile semenin dışarıya atıldığı organdır (Moore ve ark 2013). Penis gövde (corpus) ve kök (radix) penis olmak üzere iki bölümden oluşur (Arıncı ve Elhan 1995)(Şekil 1.2).

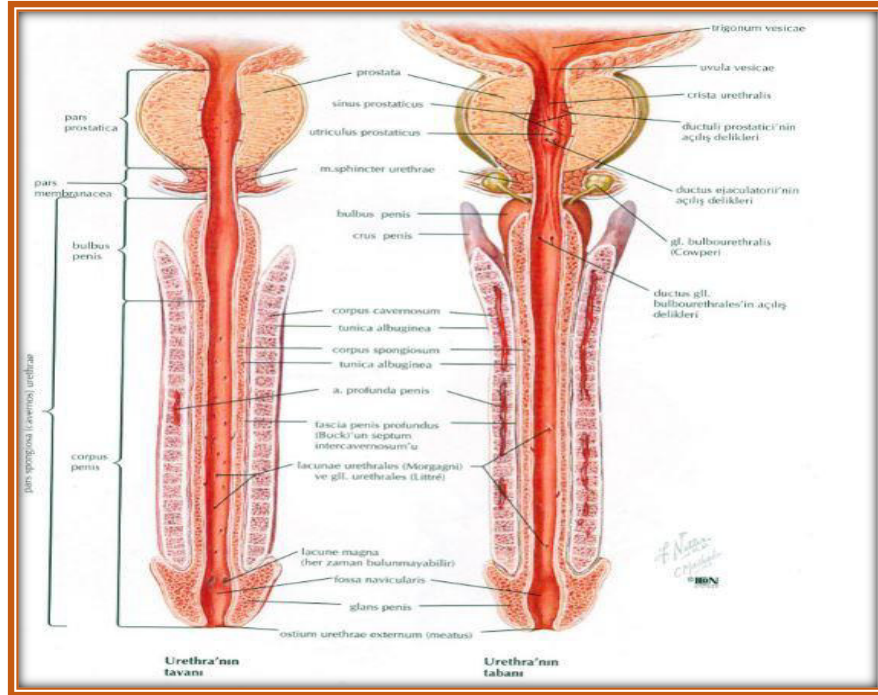
Penisin sertleşmesi ve dikleşmesi durumuna ereksiyon denir. Cinsel birleşme için penisin ereksiyon durumunda olması gerekir. Cinsel birleşme sırasında ejakulatın dışarı atılmasına ejakulasyon denir.



Şekil 1. 2. Penis'in alttan görünüşü (Netter ve ark 2002).

Erkek Uretrası

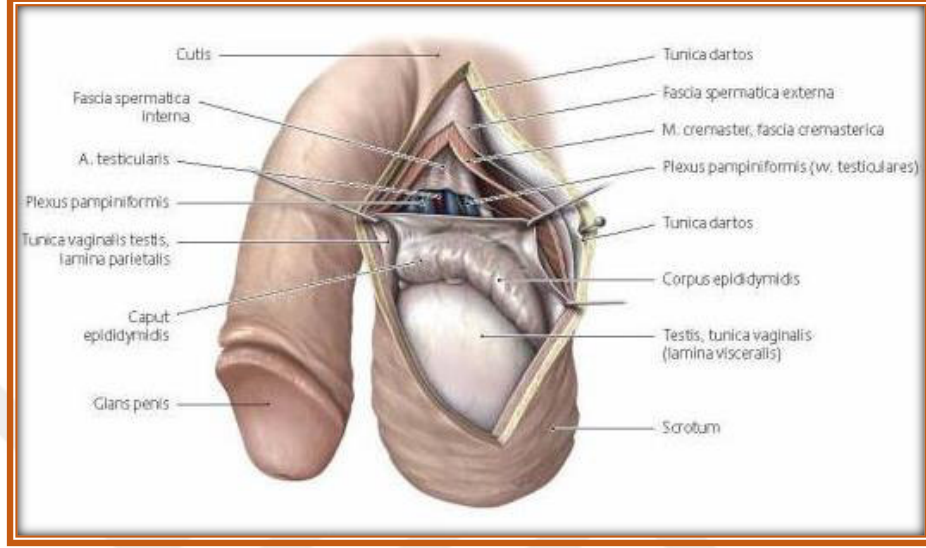
Erkek uretrası, mesane'nin dip kısmındaki uretranın açılma deliğinden başlayan, 18 ile 20 cm uzunluğunda olan ve penis ucundaki uretra'nın sonlanma deliğinde son bulan bir yapıdır. İçinden idrar veya meni geçtiği zaman açık diğer zamanlar lümeni kapalıdır (Arıncı ve Elhan 1995)(Şekil 1.3).



Şekil 1. 3. Urethra masculina (Netter ve ark 2002).

Scrotum (Testis yuvası)

Testis ve funiculus spermaticus'un içinde bulunduğu fibromüsküler yapıda deriden oluşan bir torbadır. Embriyolojik olarak sağlı sollu bir çift olan scrotum, gelişim sürecinde orta hatta kaynaşır (Arıncı ve Elhan 1995)(Şekil 1.4).



Şekil 1. 4. Scrotum (Netter ve ark 2002).

1.1.1.2. Erkek İç Genital Organlar

Testis (Erbezi)

Testis, scrotum'un içinde bulunan ve funiculus spermaticus'a asılı durumda olan sağlı sollu bir çift organdır. Ağırlığı 10-14g, kalınlığı 3cm, genişliği 2,5 cm olan yaklaşık iri bir badem büyüklüğündedir (Arıncı ve Elhan 1995) (Şekil 1.4). Karışık bir bez olan testisler hem ekzokrin hemde endokrin salgılama özelliği bulunmaktadır. Ekzokrin salgısı sperm hücresi, endokrin salgısı, özelleşmiş hücreler tarafından sentez edilen bir iç salgı maddesidir (Moore ve ark 2013).

Epididymis

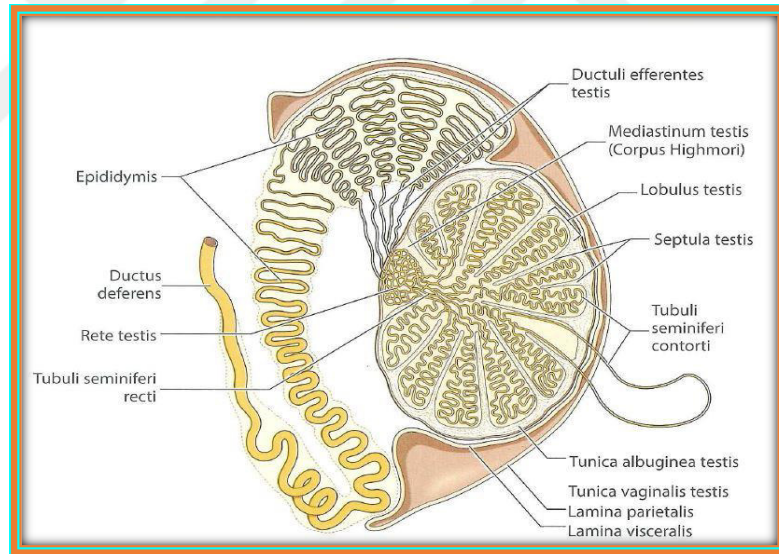
Testis'lerin posterior'unda bulunan yaklaşık 6 m lik bir kanal yumağıdır. Epididymis'i oluşturan bu kanala, ductus epididymis denilir. Epididymis'in üst kısmı daha kalındır ve aşağı doğru indikçe inceler. Testis'ten ayrılan ductuli efferentes testis'ler caput epididymis'e girer ve burada ductus epididymis'e açılırlar. Epididymis'de, spermiumlar depo edilir ve olgunlaşmasının son safhasını tamamlar (Arıncı ve Elhan 1995, Moore ve ark 2013) (Şekil 1.5).

Ductus deferens (Sperma kanalı)

Ductus epididymidis, epididymis'in kuyruk kısmında kalınlaşarak ductus deferens adını alır. Funiculus spermaticus içerisinde yukarıya ve canalis inguinalis'den içinden geçerek karın boşluğuna, pelvis boşluğundan mesanenin fundus kısmına gelir. Ductus deferens'in son kısmını döşeyen epitel, spermiumların hareketini artıran salgı yaparlar. Ductus deferens, testis'in sekresyonunu (spermium) urethra'ya taşıyan kalın duvarlı bir borudur (Arıncı ve Elhan 1995, Moore ve ark 2013) (Şekil 1.5).

Funiculus spermaticus

Testislerden başlayıp anulus inguinalis profundus'tan kadar uzanan damar, sinir ve kanalların oluşturduğu bir kordondur. Sol tarafinki biraz daha uzundur. Bu nedenle de sol testis sağ testis'e oranla 1 cm kadar daha aşağıda bulunur. Funiculus spermaticus, yaklaşık 15-20 cm uzunluğunda ve yaklaşık bir kurşun kalem kalınlığındadır (Arıncı ve Elhan 1995, Moore ve ark 2013).



Şekil 1. 5. Scrotum iç yapısı (Netter ve ark 2002).

Vesicula seminalis

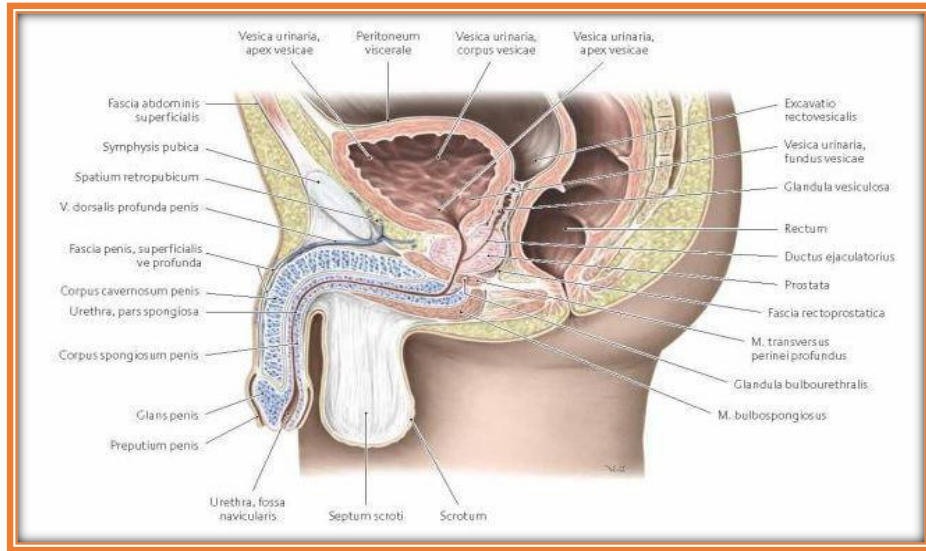
Mesanenin tabanı ile rektum arasında bulunan bir çift bezdir. Genişlikleri 2,5 cm, uzunluğu 4-5 cm uzunluğunda açıldığında 10-15 cm uzunluğuna ulaşabilen kanal sisteminden oluşan bir bezdir. Ejakulatın büyük kısmını (%70-60) oluşturur ve bazik reaksiyonludur. Bazik ortam vagina'daki asit ortamı nötralize ederek spermiumların daha uzun süre canlı kalmasını sağlar (Arıncı ve Elhan 1995). Salgısı içerisinde bulunan şeker (fruktoz), spermatozoonların için enerji kaynağıdır.

Prostat

Erkek genital sisteminin en büyük eklenti bezidir. Prostat mesane boyunun altında urethra'nın başlangıç kısmını çevreleyen iri kestane şeklindedir. İri kestane büyüklüğünde olan bez yaklaşık 3 cm yüksekliğinde, 4 cm genişliğinde ve 2 cm kalınlığında olan bu organ, genç erişkinlerde yaklaşık 20 g, çocuklarda 8 g, obezlerde ise 40 g'dır. Yaşlılarda 150 g, hatta daha fazla da olabilir. Prostatta bir miktar salgı depo ederler ve ejakulasyon esnasında ara dokuda bulunan kasların kasılmasıyla buradaki salgı urethra'ya akıtılır. Prostat salgısı ejakulatın yaklaşık %20'sini (3-5 ml) oluşturur (Büyük kısmını (%60) gl. vesiculosa'nın salgısı oluşturur). Hafif asit reaksiyon gösterir ve içerdiği spermin denilen bir maddeden dolayı, spesifik keskin bir kokusu vardır (Şekil 1.6).

Glandulae bulbourethralis

Bezelye büyüklüğünde (2-4 cm büyüklüğünde), sarı renkli bir çift bezdir. Yaklaşık 2.5 cm (2-4 cm) uzunluğunda olan boşaltıcı kanalları, membrana mucosa'nın altında oblik olarak öne doğru uzanır ve diaphragma ürogenitale'nin yaklaşık 2.5 cm ön tarafında, urethra'nın pars spongiosa'sına küçük birer delik ile açılır (Arıncı ve Elhan 1995). Mukoz yapıda olan bezin salgısı, ejakulasyon öncesi urethra'nın nötralize edilmesini ve kayganlaştırılmasını sağlar (Şekil 1.6).

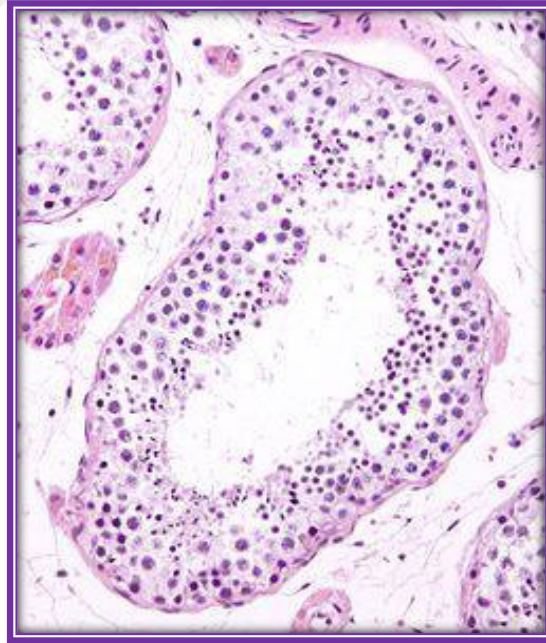


Şekil 1. 6. Erkek genital organların sagittal kesitten görünümü (Gilroy 2014).

1.1.2. Testis Histolojisi

Scrotumda bulunan testisler karın boşluğunun dışında bir çift organdır. Testislerin vücut ısısından 2-3°C düşük bir ısıda bulunmasını sağlar. Normal spermatogenez için gerekli sıcaklık 34-35°C'dir. Testisteki her bir lobülde 1 ile 4 arasında değişen sperm üretilen oldukça kıvrımlı seminifer tubulleri bulunur. Stroma içerisinde damarlar, sinirler ve başlıca testesteron hormonunu salgılayan endokrin fonksiyonu olan interstisyel hücreler (leyding hücreleri) olmak üzere pek çok hücre bulunur.

Seminifer tubüller, testisin yapısal ve fonksiyonel birimi olup testisin büyük bölümünü oluşturur. Kıvrımlı 150-250 µm kalınlığında 30-80 cm uzunluğunda olan bir kanaldır. Tübüller kıvrımlı ve uçlara doğru daralarak düzleşerek tubuli seminiferi recti olarak isimlendirilir. Epitelyum ile döşeli tubuli seminiferi recti kanallarının oluşturduğu labirent yapıya rete testis'i denir. Rete testis kanalları anastomoz yaparak, 10-20 adet ductus deferens ile epididimin baş kısmına bağlanmaktadır. Seminifer tübüller seminifer epitel ya da germinal epitel ile döşelidir. Epitelin altında bazal lamina ile fibroblast, kollajen lifler ve myoid hücre içeren lamina propriadan bulunur (Moore ve ark 2018)(Şekil 1.7).



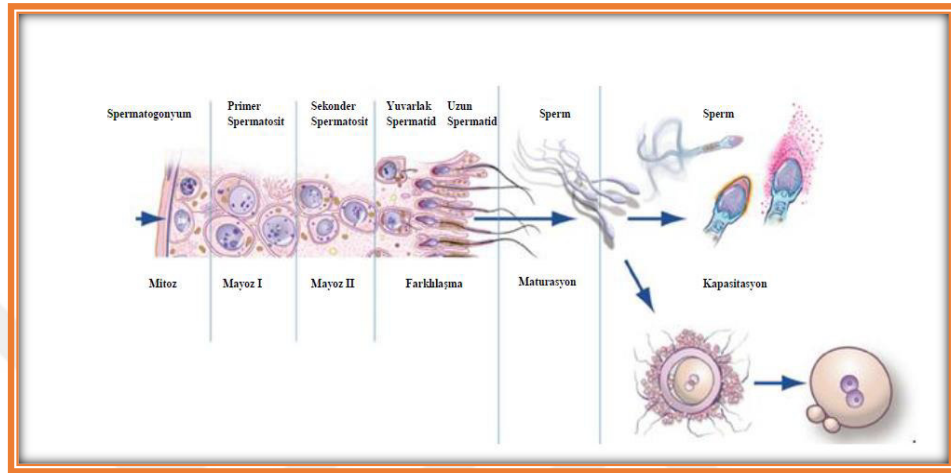
Şekil 1. 7. Seminifer tübül (Moore ve ark 2018).

1.2. Spermatogenez

Spermatogenez sürecinde, sertoli hücreleri, seminifer tübüllerin bazal membranı üzerinde yer alan ve lümene kadar uzanan hücrelerdir. FSH ve testesteron hormonlarının etkisiyle gelen endokrin uyarıya verilen cevap olarak parakrin

regülasyonu ve germ hücrelerin diferansiyasyonu için yapısal destek sağlamaktadır. Sertoli hücreleri düzensiz çekirdeğe sahip olup, daha kompleks bir epitelyum oluşturmak için germ hücrelerine yapışmaktadırlar (Aydos ve ark 2002).

Spermatogenez erkeklerde; seminifer tübüllerinin epitelyum hücrelerinde spermatositogenez, spermiyogenez ve spermiyasyon olarak üç evrede meydana gelir (Şekil 1.8).



Şekil 1. 8. Memeli Spermatogenez Evreleri (Du Plessis ve ark 2011).

1.2.1 Spermatositogenez evresi

Spermatogenez diploid germ kök hücrelerden haploid sperm hücresinin oluşturulduğu bir farklılaşma sürecidir. Gelişimsel süreç, spermatogoniumların mitoz ile çoğalması ile seminifer epitelin bazal bölmesinde başlar ve primer spermatositlerin oluşumuna kadar uzanır. Spermatogoniyaların mitoz bölünme ile çoğalması, mitotik faz olarak ifade edilmektedir. Primer spermatositler daha sonra peşpeşe iki mayoz bölünme geçirerek önce primer spermatosit sonrada sekorder spermatosit olarak ifade edilen haploid yuvarlak spermatidler haline dönüşmüştür (Yan 2009)(Şekil 1.9).

1.2.2 Spermiyogenez evresi

Kısaca ifade edecek olursak spermiyogenez germ hücrelerinin olgunlaşması olarak tanımlanmaktadır. Başka bir ifadeyle yuvarlak spermatidlerin olgun spermatozoa oluşturacak şekilde metamorfoza uğraması evresidir. Bu sırada spermatidin sitoplazmasında ve nükleusunda önemli morfolojik, hücresel ve moleküler değişiklikler meydana gelmektedir. Bu değişiklikleri ifade edecek olursak spermatidin baş kısmında genetik materyalin yoğunlaştırılması, akrozom gelişimi, orta kısımda sıkı şekilde paketlenmiş mitokondri oluşumu ile birlikte kuyruk uzaması,

sitoplazma kaybı, sitoplazma içinde bulunan organellerin yer değiştirmesi ile karakterize olmaktadır (Cheng ve Mruk 2010).

Spermiyogenez ise, spermin epidimis ve seminifer túbüllerde geçirdiği süre boyunca fonksiyonel olarak olgunlaşma sürecini tamamladığı evredir.

1.2.3 Spermiasyon evresi

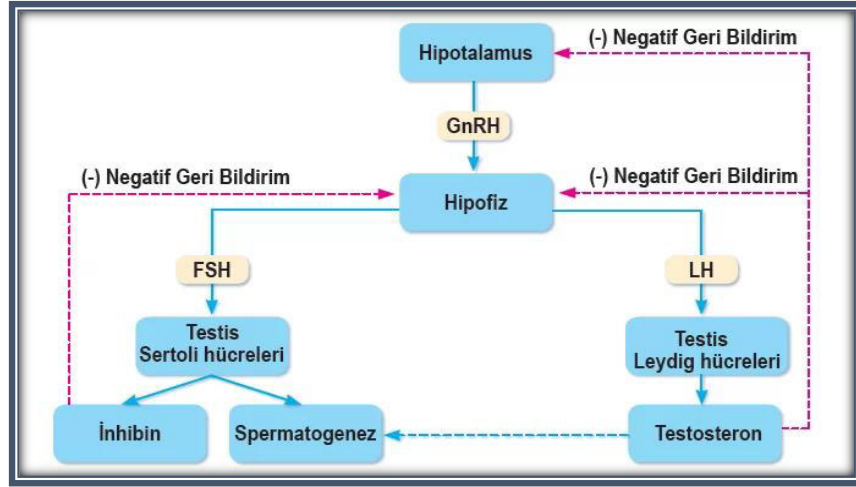
Spermiasyon olgunlaşmasını tamamlayan ve serbestleşen spermatozoaların seminifer túbül lümeninden atılması evresidir. Spermiasyon, seminifer túbül epitelinin apikalinde birkaç gün içinde tamamlanmaktadır. Spermiasyon evresinde spermatid baş ve sitoplazmasının yeniden düzenlenmesi gerçekleşir. Spermiasyon evresinin son aşamasında spermatidin sertoli hücresinden ayrılması gerçekleşir (O'Donnell ve ark 2011). Spermiasyon ise olgunlaşmasını tamamlayan ve serbestleşen spermatozoaların seminifer túbül lümeninden atılması aşamasıdır (Mawhinney ve Mariotti 2013). Bir spermatogonium hücresinin ejakulatta görölmesi için geçen ortalama süre yaklaşık 64 ± 8 gündür (56-72 gün)(Mruk ve Cheng 2004, P Mathur ve ark 2011).

1.2.4 Spermatogenezin Hormonal Kontrolü

Spermatogenezin hormonal kontrolünün ilk basamağını Hipotalamustan salgılanan Gonadotropin salgılatıcı hormonun (GnRH), ön hipofizden lüteinize edici hormon (LH) ve Follikül uyarıcı hormon (FSH) salınmasını uyarması ile başlayan süreçtir. Daha sonra ise, LH Leydig hücreleri üzerindeki reseptörlere bağlanıp testosteron üretimini sağlamaktadır. Testosteron spermatogenezle ilişkili olan ve ayrıca erkek sekonder cinsiyet karakterlerini belirleyen ve gelişmesinde rol oynayan çok önemli bir hormondur.

Spermatogenez esnasındaki FSH hormonunun seviyesi Sertoli hücreleri tarafından salınan inhibin hormonuyla kontrol edilir. Spermatogenezin hormonal kontrolü iki farklı geri bildirim mekanizmasıyla düzenlenir. Birincisi kandaki miktarı artış gösteren testosteron hormonu, hipotalamus ve hipofiz bezini uyarak GnRH, FSH ve LH hormonlarının salgılanmasını azaltır. İkincisi ise Sertoli hücrelerinden salgılanan inhibin hormonu hipofiz bezine etki ederek FSH hormonu salgılanmasını azaltır. Spermatogenezin düzgün gerçekleşmemesi sonucu FSH değerinde yükselme gerçekleşir. Leydig hücrelerinin fonksiyonlarını yerine getirememesi sonucu testosteron miktarında azalma görölür. Bunun yanında GnRH'nin salgısında da artma görölür. FSH ve LH hormonlarının testosteron üretimini uyarabilmesi için belli miktarda salınması gereklidir. Hipotalamus ve hipofiz bezindeki hormon salgı sisteminin bozulması sonucu FSH ve LH eksikliğine bağlı olarak testosteron

yetersizliği görülür. Sonuç olarak oluşan hipogonadotropik hipogonadizm hastalığı infertiliteye neden olmaktadır (Aydos 2007)(Şekil 1.9).

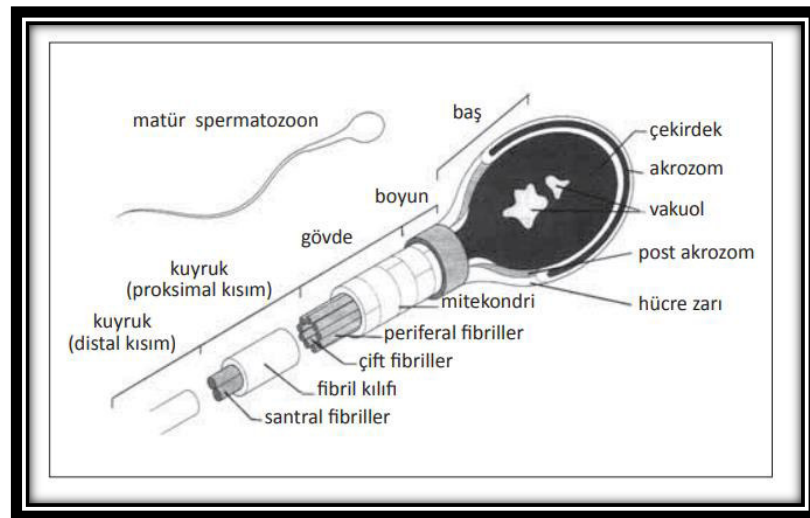


Şekil 1. 9. Spermatogenezin Hormonal Kontrolü (Reece ve ark 2014).

1.3. Spermin Yapısı

Olgun bir spermin yapısı incelendiğinde; baş, boyun, gövde ve kuyruk olmak üzere 4 parçadan oluşur. Baş bölgesinde akrozom, hücre zarı ve nükleus bulunur. Boyun bölgesinde sentrioller ve mitokondri bulunur (Şekil 1.10).

Normal bir spermin morfolojik özellikleri Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) parametreleri ile belirlenmiştir. WHO parametrelerine göre normal bir spermin baş kısmı düzgün ve oval şekildedir. Baş uzunluğu 5-6 mikron genişliği ise 2,5-3,5 mikron olmalıdır. Akrozom başın %40-70 ini oluşturmaktadır. Orta parçanın genişliği 1 mikron uzunluğu ise baş uzunluğunun 1,5 katı olmalıdır. Kuyruk boyu yaklaşık 45 mikron orta parçadan daha ince, kıvrılmamış, kırık içermeyen boyu yaklaşık 45 mikron olmalıdır (Erdemir ve ark 2011).



Şekil 1. 10. Olgunlaşmış spermin şematik görünümü (Hoogendijk ve ark 2010).

1.4. Ejakulat (Semen, Meni, Döl)

Epididymis, glandula seminalis, prostat ve glandula bulbouretralis'lerin salgılarının testis salgısı olan spermle birlikte oluşturdıkları sıvıya ejakulat denir. Yaklaşık 3-4 ml olup, 300-400 milyon sperm içerir. Opak, beyazımsı ve %90 su içerir. Bir mililitresinde 15 milyondan az sperm olması infertilite riski taşır. Spermier ejakulat'ın yaklaşık % 10 luk kısmını içerir. Geri kalan 90 luk kısmını ise seminal vezikül, prostat ve bulboüretal bez salgıları oluşturur.

1.4.1.Ejakulat analizi

Semen analizi ya da spermiyogram olarak ta bilinen bu test infertilite sorunu yaşayan bireylerde fiziksel muayene ardından yapılması gereken bir testtir. Spermiyogramda semene ait karakteristik özelliklere bakılır ve sorunun bu parametrelere bağılı olarak gerçekleşip gerçekleşmediğini belirler. Semen analizi ile semendeki sperm sayısı, spermin hareketliliği ve sperm morfolojisi değerlendirilir.

1.4.2. Semen analizi için numune toplanması

Özel bir odada, cinsel perhiz süresi dikkate alınarak, masturbasyon yöntemiyle, toplama kabına alınan semen Androloji laboratuvarına teslim edilir.

1.4.3.Semen analizi nasıl yapılır

Steril olarak verilen semen örneği tüpe alınır. Tüpe alınan örnek likefiye olması için 37 °C de; 15 ila 60 dakika arası inkibatörde bekletilir. Spermierin örnek içinde homojen olarak dağılması için likefiye olan örneğe pastör pipetle pipetleme işlemi uygulanır. Likefiye olan örnekte iki farklı değerlendirme yapılır.

Semenin Makroskopik incelenmesi

Semen rengi opak, kokusu at kestanesi bitkisine benzer, görünüm olarak da partikülsüz ve kansız olmalıdır. Semen örneği pipetleme işlemi sonrasında pipetten damla damla dökülmüyorda sünüyorsa örnek vizkozdur. Örneğin çözünmesi için tekrar inkibatörde 37 °C de 15 dakika bekletilir. Semen baziktir. pH: 7,2 ile 8 arasında değer alır. Örneğin alındığı tüp üzerindeki değerlerle örneğin hacmi belirlenir (Çizelge 1.1).

Semenin Mikroskopik incelenmesi

Konsantrasyon (sayı): Makler kamaraya (10x10 kareden oluşur) 1 damla damlatılan semen, 3 farklı 10 karede (toplam 30 kare) sayılıp ortalaması alınarak hesaplanır.

Motilite: Sperm hareketliliği demektir. Semen analizi genel olarak spermiogram testi olarak ta ifade edilmektedir. Erkek fertilité durumunu değerlendirmek için günümüzde kullanılan test spermiyogram testidir. Semen numunesi en az 2 en çok 7 günlük cinsel perhizden sonra mastürbasyon yöntemi ile toplanır. Sonuçların daha güvenilir olması için en az 7 gün en çok 3 ay ara ile verilmiş iki sperm örneğinin değerlendirilmesi önerilmektedir (Sharlip ve ark 2002). Semen analizinin değerlendirilmesi WHO önerdiği değerlere göre karşılaştırılıp değerlendirilmektedir (Organization 2010, Kadioğlu 2011)(Çizelge 1.1).

Çizelge 1. 1. WHO 2010 semen parametreleri (Organization 2010).	
Volume	1.5-5.0 ml
pH	>7.2
Viskozite	<3 (0-4)
Sperm Konsantrasyonu	> 15 milyon/ml
Toplam Sperm Sayısı	>40 milyon/ ejakulat
Motilite Yüzdesi	>%50
İleri Hareket	>2(0-4)
Normal Morfolojî	>%50 normal >%30 normal >%14 normal (kruger)
Yuvarlak Hücre	<5 milyon/ml
Sperm aglütasyonu	<2(0-3)
Seminal çinko (µmol/ejakulat)	>2.4
Seminal früktoz (µmol/ejakulat)	>13
Seminal nötral glukozidaz (mU/ejakulat)	>20
Peroksidaz-pozitif lökositler (106 per ml)	<1.0

1.5. Semen analizine göre sınıflandırma

Semen analizine göre semen “spermi” son eki ile isimlendirilirken “zoospermi” son eki ise spermleri ifade etmek için kullanılır. Bu nedenle spermin analiz sonrası durumunu ifade etmek için normozoospermi, oligozoospermi, astenozoospermi vs. gibi ifadeler ile isimlendirilir. Sperm analizi sonrası 1 ml deki sperm yoğunluğuna göre hastaları 3 ana grup altında inceleyebiliriz (Organization 2010).

Normozoospermi; Sperm yoğunluğunun 15 milyon/ml’e eşit veya daha fazla olduğu durumlarda normozoospermi olarak tanımlanır.

Oligozoospermi: Sperm yoğunluğunun 15 milyon/ml’den az olduğu durumlarda ise oligozoospermi olarak ifade edilir. Sperm yoğunluğunun 5-15 milyon/ml arasında olduğu hastalara orta oligozoospermili hastalar denir. Sperm yoğunluğunun 5 milyondan az olduğunda ise ciddi oligozoospermi durumu görülmektedir.

Azoospermi: Sperm analizi sonrasında semen içinde hiç sperm bulunamaması durumunu ifade etmektedir. (Organization 2010).

1.6. Fertilite

Erkeklerde fertilite kısaca ifade edecek olursak kadını hamile bırakabilme yetisi olarak tanımlanabilir. Erkeğin kadını hamile bırakabilmesi için, üreme sisteminin sperm üretmesi, depolaması ve depolanan bu spermlerin vücut dışına atılması gereklidir.

Kadında fertilite ise kadının gebe kalabilme durumunu ifade eder. Bir kadında fertilite, kadının ergenliğe girmesi ile başlar, menopoz dönemine girmesi ile sonlanır. Fertilite yaşa bağlı olarak, artan yaş ile birlikte azalma göstermektedir. Kadınlarda 20’li yaşlardan 30’lu yaşlara kadar fertilite %50 azalma göstermektedir. Erkeklerde fertilite semen parametrelerindeki bozulma ile saptanabilmektedir. Erkek fertilitesinde genellikle 50 yaşından önce belirgin azalma görülmemektedir (Dunson ve ark 2004). Obezite, yaş sigara ve alkol tüketimi, cinsel yolla bulaşan hastalıklar, genetik etkenler gibi birçok faktör fertilitenin azalmasına sebep olmaktadır. Bu birçok faktörün etkisiyle birlikte fertilitenin azalması infertiliteye neden olabilir (Pfeifer ve ark 2017).

1.7. İnfertilite

İnfertilite, üreme dönemindeki bir çiftin herhangi bir korunma yöntemine başvurmadan sürdürülen aktif bir cinsel hayata rağmen en az bir yılda çocuk sahibi olamama durumu olarak tanımlanmaktadır (Vayena ve ark 2002).

İnfertilite, tüm dünyada yaşayan insanlar için gerek tıbbi gerekse sosyopsikolojik açıdan en temel klinik problemlerden biri olarak kabul edilmektedir. İnfertilite çiftlerin % 10-15'ni etkileyen bir sorun olduğunu belirtmektedir (Mosher ve Pratt 1991). Çiftlerde rastlanan infertilite, tek başına kadın veya erkekten kaynaklanan sorunlara bağlı olabileceği gibi hem kadın hem erkeğin birden sorumlu olmasına da bağlı olabilir. Literatür bilgilerine göre erkek faktörünün infertiliteye katkısı % 20 civarında iken, çiftlerin birlikte sorumlu olduğu durumlarda bu oran % 30–40 düzeyine yükselmektedir (Hamada ve ark 2011).

İnfertilite, erkek ve kadın infertilitesi ile birlikte açıklanamayan infertiliteyi de kapsayan kompleks bir durum olarak kabul edilerek ve bu şekilde gruplandırılarak tedavi için çözüm yolları üretilmeye çalışıldığı bildirilmiştir (Pinborg ve ark 2009).

Dünyada ülke ve bölgelere göre infertilitenin görülme sıklığı, değişiklik göstermektedir (Zhang ve ark 2014). Türkiye; infertilite oranı yüksek olan ülkeler arasında yer almaktadır (Rutstein ve Shah 2004). Türkiye’de infertilite oranına bakacak olursak bu oran %10-20 arasında değişiklik göstermektedir (Taşçı ve ark 2008). Türkiyede yaklaşık 1,5-2 milyon kişi infertilite sorunu yaşamaktadır. Her geçen yıl Türkiyede infertilite sorunu yaşayan kişi sayısı artmaktadır (Amanak ve ark 2014).

1.7.1. İnfertilite Nedenleri

İnfertiliteye sebep olan faktörleri kadına ait, erkeğe ait ve açıklanamayan nedenler olmak üzere 3 ana başlık altında toplanmıştır (Lee ve ark 2001).

1.7.2. Erkek İnfertilitesi

Erkek infertilitesi bir erkeğin doğal yoldan çocuk sahibi olamaması durumunu ifade eder. Genel olarak erkek kısırlılığı olarak adlandırılır. Erkeklerde üreme yeteneği ileri yaşlara kadar sürmesine rağmen üremenin en verimli olduğu dönem 20-30 yaş arası, 40 yaş ve üzeri yaşlarda üreme yeteneği azaldığı belirtilmektedir (Benli 2010, Kırca ve Pasinlioğlu 2013, Amanak ve ark 2014). Erkek infertilite oranlarında artış olması; sperm kalitesi ve sayısının azalması, testiküller kanserlerin artmasıyla ilişkili olduğu bulunmuştur (Richard ve ark 2004, Demirci 2014).

1.7.3. Erkek İnfertilitesi Etiyolojisi

Yapılan araştırmaların verilerine göre son 50 yıl içinde erkeklerin sperm sayılarında giderek bir azalma olduğu ortaya çıkmıştır. Erkeklerdeki infertilite sorunu

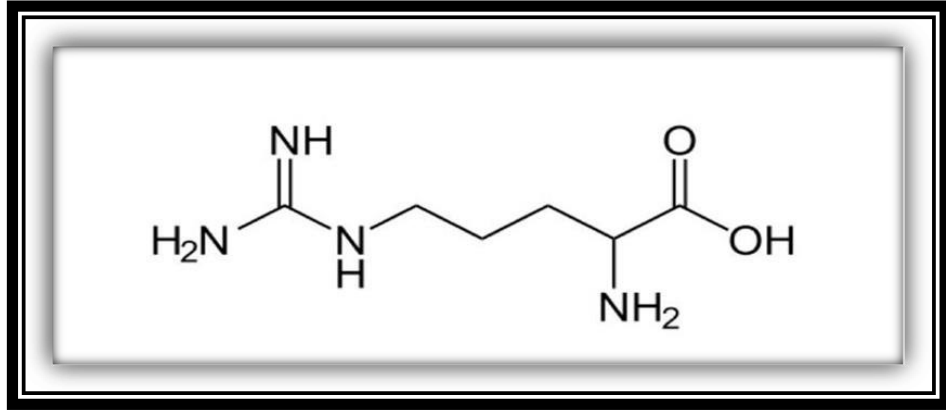
ile kliniklere başvuran hastaların tamamına yakınında yapılan semen analizlerinde anormallikler tespit edilmiştir. Bu anormallik durumların bir kısmı tedavi edilebilirken, tedavi edilemeyecek durumlarda söz konusudur (Yumru 2011) (Çizelge 1.2). Erkek infertilitesinin başlıca etiyolojik nedenleri çizelgede verilmektedir.

Çizelge 1. 2. Erkek infertilitesinin başlıca etiyolojik nedenleri.	
Erkek infertilitesinde etyolojik nedenler	%
İdiyopatik Semen Bozuklukları	75,1
Varikosel	12,3
Ürogenital Enfeksiyonlar	6,6
İmmünolojik Faktörler	3,1
Diğer Hastalıklar	3,0
Konjenital Anomaliler	2,1
Cinsel Faktörler	1,7
Endokrin Bozukluklar	0,6

1.8.Arjinin

Arjinin 1895 yılında Hedin tarafından bulunmuştur. Arjinin açılımı 2-amino-5-guanidino pentanoik asit, pozitif yüklü (bazik)(R) bir amino asittir. D ve L Arjinin olmak üzere 2 farklı formu vardır. Proteinlerin yapısında bulunan L-arjinindir (Barbul 1986, Carcillo 2003).

Esansiyel aminoasit olan arjinin protein sentezinde, hücre yenilenmesinde gereklidir. Ayrıca amonyak atılımında rol oynamaktadır. Glikojenik olması nedeniyle enerji için katabolize edilebildiği gibi glukozu çevrilebilir. Vücuda iki yolla alınabilir. Besinlerle veya protein döngüsünden endojen kaynaklı olarak alınabilir. Böbreklerdeki arjinin sentezinin yaklaşık %60'ından sorumlu olan ana organizma protein metabolizmasından gelmektedir. Arjinin sentezinde birincil substrat olarak görev alan sitrulin; prolin, glutamat ve glutamin gibi diyetle alınan aminoasitlerin metabolizasyonu sonucunda ince bağırsaklarda üretilir (Yavuz 2006) (Şekil 1.11).



Şekil 1. 11. Arjininin molekül yapısı (Champe ve ark 2005).

1.8.1. Arjinin ve Nitrik Oksit

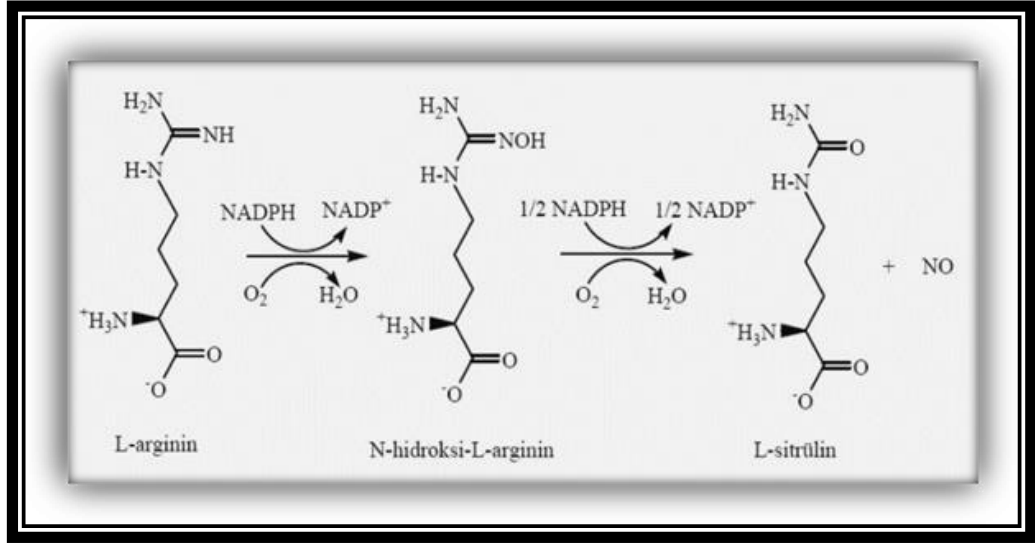
Arjininin en önemli fonksiyonu nitrik oksit (NO) oluşumunda nitrik oksit sentaz enziminin substratı olmasıdır. Sitotoksik etkili ve nörotransmitter bir molekül olan NO, ayrıca endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak da isimlendirilir. NO kan damarlarında vazodilatasyona neden olur (Palmer ve ark 1987). Bu sebeple impotans, koroner arter hastalığı ve konjestif kalp yetmezliği gibi endotelial disfonksiyon ve birçok kardiyovasküler hastalığın tedavisinde kullanımı tavsiye edilmektedir (Cooke ve Tsao 1997).

1.8.2. Nitrik Oksit (NO)

NO 1960'lı yıllarda basit bir atmosfer atığı olduğu sanılıyorken, daha sonraki yıllarda hayvanların ve insanların nitrik oksit üretebildiklerinin keşfedilmesi ile birlikte 1987 yılında bu molekülün patolojik ve fizyolojik olaylardaki görevleri tespit edilmeye başlanmıştır (Nussler ve Billiar 1993). Sadece endotel hücrelerinden değil, pek çok hücre tarafından da sentezlenir. Nöronal aşınım immün cevap ve hücrel adezyonun düzenlenmesi gibi birçok fizyolojik durumlarda önemli görevleri bulunmaktadır (Marletta 1994, Atalık ve Doğan 1997). Endotel kökenli NO bilinen en kuvvetli endojen vazodilatördür. NO, nörohormonal ajanlara ve pek çok fiziksel kuvvetlere cevap olarak salgılanır (Cocks ve Angus 1983).

1.8.3. Nitrik Oksitin Biyosentezi

NO, organizmada nitrik oksit sentaz enziminin katalizlediği bir reaksiyonla L-arjinin'in L-sitrulin'e dönüşümü sırasında meydana gelmektedir. (Moncada 1991)(Şekil 1.14).



Şekil 1. 12. Nitrik Oksit Oluşumunda Kimyasal Reaksiyon (Burgner ve ark 2003).

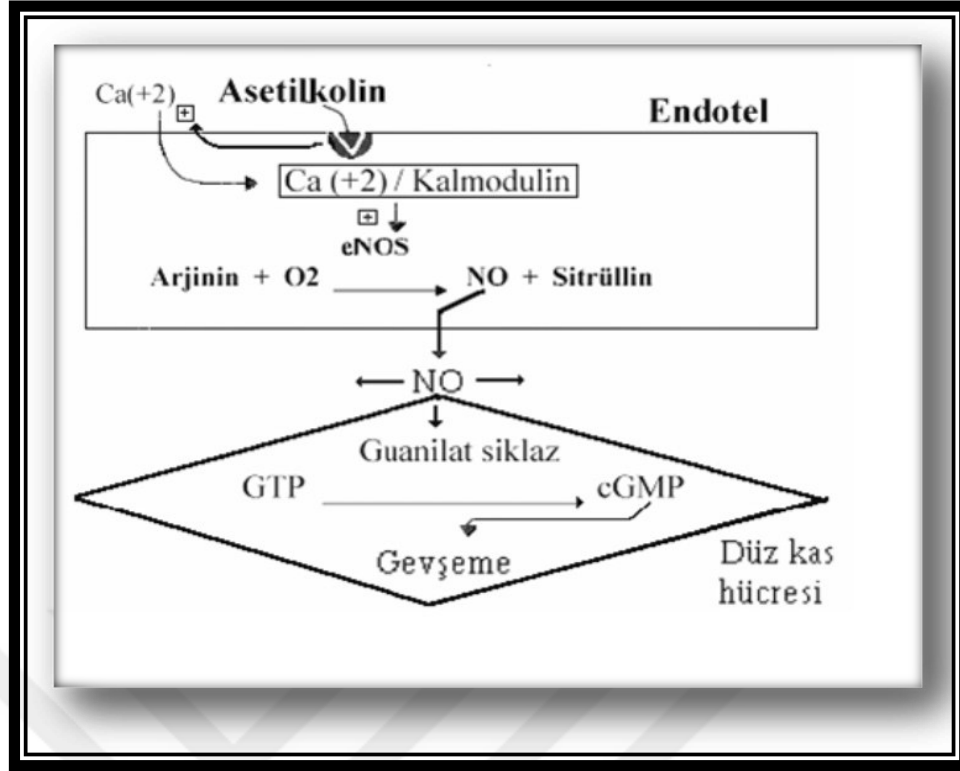
1.8.4. Nitrik Oksit Sentaz (NOS)

NOS enzimi NO biyosentezini katalizleyen, 5-10 sn yarılanma ömrüne sahip bir enzimdir. NOS'un; İndüklenebilir izoform (iNOS), konstitütif endotelial izoform (eNOS) ve konstitütif nöronal izoformu (nNOS) olmak üzere 3 formu bulunmaktadır (McNamara ve ark 2003).

iNOS izoformu (İndüklenebilir nitrik oksit sentaz): Sitotoksinler ve endotoksinlerin karaciğer hücrelerinde makrofajlarla uyarılan enzim olarak bilinir. Fizyolojik ortamlarda kalmodulin ile sıkı bir bağlantısı olması nedeniyle kalsiyum ile bağlantısı yoktur.

nNOS izoformu (Nöronal nitrik oksit sentaz): Kalsiyum ile bağımlı sinir dokusunda tanımlanmış NOS enziminin ikinci izoformudur.

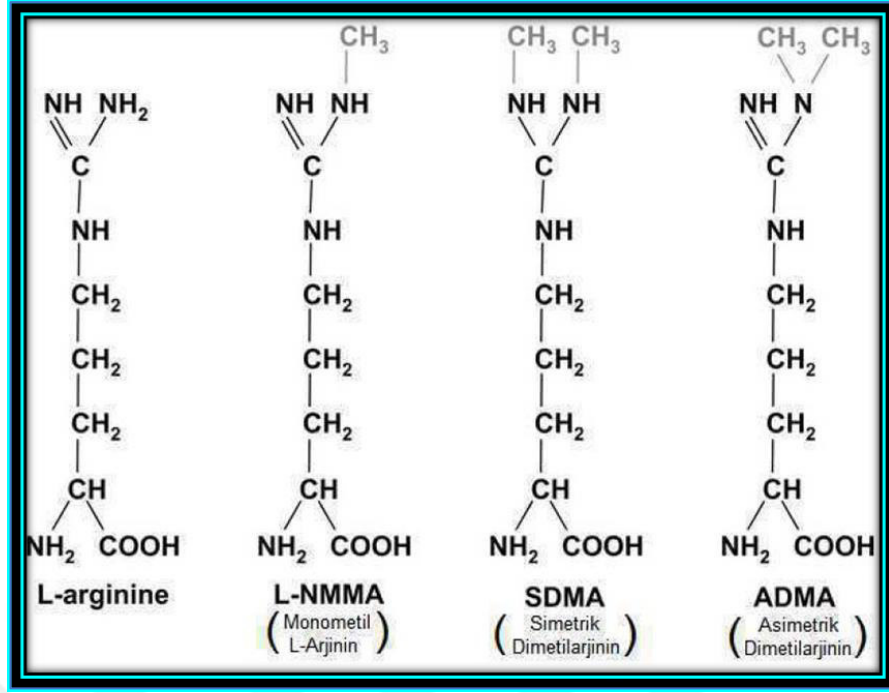
eNOS izoformu (Endotelial nitrik oksit sentaz): Yapısal olarak kalsiyum ile bağlı olan vasküler endotel hücrelerinde tanımlanmış en çok bilinen izoenzimidir (Nathan 1992)(Şekil 1.13).



Şekil 1. 13. Endotelyal nitrik oksit sentaz etki mekanizması (Moncada 1991).

1.8.5. Metilarjininler

Simetrik dimetilarjinin (SDMA), Asimetrik dimetilarjinin (ADMA) ve N-monometil L-arjinin (L-NMMA) olmak üzere 3 tane metilarjinin türevi bulunmaktadır. Metilasyonu sonucu meydana gelen arjinin türevi metilarjininler proteinlerde bulunan arjinin rezidülerinin posttranslasyonel modifikasyonu ile meydana gelir. Arjinin metiltransferaz tip I (PRMT-I) enzimi ile arjinin rezidülerine metil grupları transfer eden proteine bağlanması ile ADMA ve L-NMMA sentezi olur. S-adenozil metiyonin (SAM); metil grubu vericisi olarak bu reaksiyonlar sırasında kullanılır (McBride ve Silver 2001)(Şekil 1.14).



Şekil 1. 14. L-Arjinin, L-NMMA, SDMA ve ADMA'nın moleküler formülleri (Dweik 2007).

1.8.6. Asimetrik Dimetil Arginin (ADMA)

Endojen bir molekül olan ADMA, insan kanında, idrarında ve dokularında analiz edilebilen, NO sentezi için inhibitör görevi alan bir aminoasittir (Vallance ve Leiper 2004). İnsan vücudundaki en önemli küçük moleküllerden biri olan NOS, birçok fizyolojik görevde rol alır.

ADMA, L-arjinine yapısal olarak benzeyen ve onun öncülüğünde sentezlenen bir maddedir. ADMA 1970 yılında idrarda atılan metillenmiş arjinin olarak tanımlanmıştır (Kimoto ve ark 1993). İlk çalışma ise 1992 yılında (Vallance ve Leiper 2004) insan plazmasında NO sentezini inhibe eden ADMA'yı tanımlanmıştır (Vallance ve Leiper 2004). ADMA'nın NOS'u kompetitif olarak inhibe ettiğini ve endotel disfonksiyonu arasındaki ilişkiyi tespit edilmiştir (Böger ve ark 2009).

ADMA, molekül ağırlığı 174 dalton olan nötral pH'ta guanidinyum grubu ihtiva eden bir proton alıcısıdır (Barbul 1986, Carcillo 2003) ADMA'nın en önemli foksiyonu, nitrik oksit sentaz (NOS) enzimini inhibe etmesidir (Cooke ve Tsao 1997, Napoli ve Ignarro 2001).

1.8.7. Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA) Metabolizması

Metil arjinin türevleri başlıca;

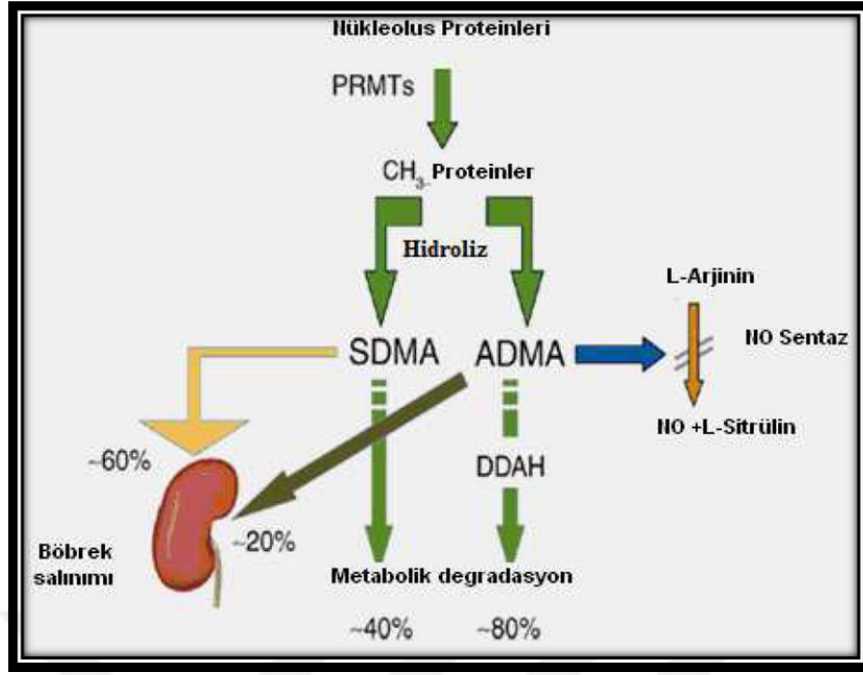
1. Simetrik dimetil arjinin (SDMA),
2. Asimetrik Dimetil Arjinin (ADMA),
3. N-monometil-L-arjinin (L-NMMA)'dır.

Proteinlerdeki arjinin rezidülerinin posttranslasyonel modifikasyonu ile metillenmesi sonucu metil arjinin türevleri oluşur. Proteinlerdeki arjininin guanido azotuna bir veya 2 metil grubunun protein arjinin metil transferaz (PRMT) katalizörlüğü ile transfer edilmesiyle oluşurlar.

PRMT enziminin Tip 1 PRMT ve Tip 2 PRMT olmak üzere 2 alt grubu vardır. ADMA, Tip 1 PRMT dimetilasyon sonucunda oluşur. SDMA ise tip 2 PRMT dimetilasyon sonucunda oluşur. Tip 1 ve Tip 2 PRMT'nin birkaç izoformu vardır, her iki izoformu da monometilasyon ile L-NMMA oluşumunu sağlar. Metillenmiş proteinler hücrenin önemli bir bileşenidir. Metillenmiş proteinlerin hidrolizlenmesi sonucu sitozolde serbest metilarjininler meydana gelir (McBride ve Silver 2001).

PRMT enziminin en çok görülen tipi Tip1 PRMT dir. Tip 1 PRMT kardiyovasküler sistemde kalp, düz kas hücreleri ve endotelial hücrelerde bulunduğu gösterilmiştir (Vallance ve Leiper 2004). Artmış tip 1 PRMT ekspresyonu ile ADMA düzeylerinin LDL ile pozitif korelasyon gösterdiği ve endotelial hücre kültürlerinde LDL artışının PRMT gen ekspresyonu artışına neden olduğu görülmüştür (Boger ve ark. 2000). Bu etki ADMA oluşumundaki değişikliklerle korele gözükmemektedir. Tip 1 PRMT aktivitesi sonucu oluşan ürünlerin NOS'u inhibe edebilme özelliği vardır. ADMA'nın yıkımı, dimetil arjinin dimetil aminohidrolaz (DDAH) enzimiyle sitrulin ve dimetilamine yıkılması şeklindedir (Kimoto ve ark 1995, Boger ve ark 2000, Yildirim ve ark 2006) (Şekil 1.15).

Tip 2 PRMT, SDMA oluşumunda rol oynar. SDMA'nın NOS'u inhibe etme özelliği yoktur. PRMT'lerin akciğerlerde fonksiyonel olduğu ve hipoksinin akciğerde PRMT 2 ekspresyonu ve akciğer ADMA konsantrasyonlarında düzenleyici olduğu gösterilmiştir. SDMA tamamıyla renal yolla atılır (Kimoto ve ark 1993, Boger ve ark 2000, Yildirim ve ark 2006).

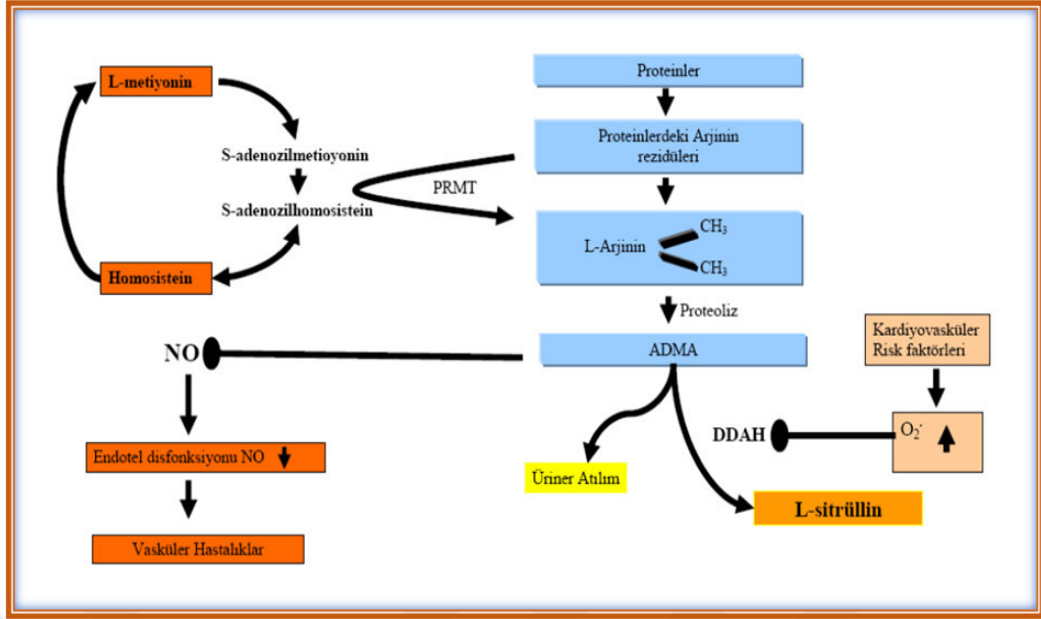


Şekil 1. 15. ADMA Metabolizması (Li ve ark 2011).

1.8.8. Dimetil Arjinin DimetilAminohidrolaz Enzimleri (DDAH)

Gelişmiş organizmalarda dimetil arjinin dimetil amino hidrolaz (DDAH) enziminin DDAH1 ve DDAH2 olmak üzere 2 izoformu bulunmaktadır. DDAH1 enzimini kodlayan gen 1. kromozomda, DDAH2 enzimini kodlayan gen 6. kromozomda lokalizedir. İki izoformunun aktiviteleri benzer olmasına rağmen doku dağılımları farklılık göstermektedir.

DDAH1 ekspresyonu ile nNOS arasında, DDAH2 ile eNOS arasında ilişki vardır. Kardiyovasküler sistemde DDAH1’de tespit edilmesine rağmen en fazla DDAH2 ekspresyonu görülmektedir. ADMA seviyelerini regüle etmede DDAH önemli rol oynamaktadır. ADMA, DDAH’ın substratı olduğu, SDMA’nın ise substratı olmadığı tespit edilmiştir (Leiper ve ark 1999, Tran ve ark 2000)(Şekil 1.16).



Şekil 1. 16. ADMA nın Biyokimyasal Yolları (Vallance ve Leiper 2004).

1.8.9. ADMA ve Nitrik Oksit İlişkisi

ADMA'nın en önemli fonksiyonu, NOS enzimini inhibe etmesidir (Cooke 1997, Napoli ve Ignarro 2001). ADMA eNOS'ın endojen yarışmalı inhibitörüdür ve eNOS'ın üretim ve biyoyararlanımını azaltmaktadır. ADMA, NO'yu inhibe ederek damar kompliyansını azaltmakta, damar direncini artırmakta ve kan akımını sınırlandırmaktadır. ADMA'nın kandaki miktarı arttıkça NO sentezi azalma göstermektedir (Selçuk ve ark 2008, Böger ve ark 2009).

ADMA düzeyi ile yapılan çalışmalar Çizelge 1.3'de verilmektedir. 2002 ile 2020 yılları arasında yapılan çalışmalarda hasta grubunda ADMA düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur.

1.9. ADMA ile ilgili klinik çalışmalar

ADMA düzeyi ile yapılan çalışmalar Çizelge 1.3’de verilmektedir. 2002 ile 2020 yılları arasında yapılan çalışmalarda hasta grubunda ADMA düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur.

Çizelge 1. 3. Farklı hastalık evresindeki hasta grupları ve kontrol grubuna ait bireylerin plazma yada serumundaki ADMA seviyesi

	Kontrol Grup		Hasta Grup		Hastalık
	N	ADMA (μ m)	N	ADMA (μ m)	
(Chan ve Chan 2002)	18	1.3 $\pm$ 0.2	24	2.1 $\pm$ 0.2	Hiperkolesterolemi
(Yoo ve Lee 2001)	35	0.93 $\pm$ 0.32	25	2.28 $\pm$ 1.63	Tekrarlayan serebral
(Wahbi ve ark 2001)	9	0.61 $\pm$ 0.13	13	1.04 $\pm$ 0.17	Kronik böbrek hastalığı
(Valkonen ve ark 2001)	139	0.47 $\pm$ 0.12	70	0.66 $\pm$ 0.17	Koroner kalp hastalığı
(Kielstein ve ark 2002)	16	1.4 $\pm$ 0.7	44	4.2 $\pm$ 0.9	Kronik böbrek hastalığı
(Päivä ve ark 2002)	47	0.43 $\pm$ 0.12	16	0.59 $\pm$ 0.13	Hipertansiyon
(Lu ve ark 2004)	46	0.44 $\pm$ 0.09	51	0.47 $\pm$ 0.12	Koroner kalp hastalığı
(Lluch ve ark 2004)	7	0.58 $\pm$ 0.05	20	1.12 $\pm$ 0.08	Karaciğer sirozu
(Mookerjee ve ark 2007)	10	0.37 $\pm$ 0.02	10	1.75 $\pm$ 0.3	Akut karaciğer yetmezliği
(Lajer ve ark 2008)	175	0.40 $\pm$ 0.06	397	0.46 $\pm$ 0.08	Diyabet tip 1
(Ozgurtas ve ark 2008)	22	0.09 $\pm$ 0.02	44	0.17 $\pm$ 0.02	Polikistik over sendromu
(Charitidou ve ark 2008)	30	0.652 $\pm$ 0.040	160	0.746 $\pm$ 0.025	Polikistik over sendromu
(Billecke ve ark 2009)	16	0.42 $\pm$ 0.02	18	0.60 $\pm$ 0.04	Hipertansiyon
(Billecke ve ark 2009)		0.42 $\pm$ 0.02		0.82 $\pm$ 0.03	Böbrek hastalığının son evresi
(Mark ve ark 2018)	138	0.50 $\pm$ 0.08	138	0.65 $\pm$ 0.16	Eretil difonksiyonu
Çalışmamızda	30	0.35 $\pm$ 0.05	30	0.38 $\pm$ 0.07	İnfertil bireylerde

ADMA ile ilgili genel olarak, diabetes mellitus, kardiyovasküler risk faktörü, periferik damar hastalıkları gibi konularda daha yoğun olmak üzere; alkolik siroz, pulmoner hipertansiyon, çeşitli tedavilerde (simvastatin, ACE-inhibitörleri, hormon replasman tedavisi, vitamin E), preeklamsi ve multiple organ yetmezliklerinde

bilimsel araştırmalar yapılmıştır. Direkt olarak infertil ve fertil bireylerde ADMA düzeyleri ile ilgili çok az sayıda literatür bulunmaktadır.

Altıntaş ve arkadaşları 2016 da yaptıkları çalışmada, grade 2 ve 3 tek taraflı sol varikozel hastası (31 hasta) ve 31 sigara kullanmayan fertil kontrol grubunda, ADMA düzeylerini kontrol grubunda 10.88 $\mu\text{M/ml}$, varikozel ameliyatı öncesinde 20,6 $\mu\text{M/ml}$, ameliyat sonrasında 11,5 $\mu\text{M/ml}$ olarak tespit etmişlerdir (Altintas ve ark 2016)

Endometriozis olmayan 90 sağlıklı birey ve 89 endometriozisli kadın hasta üzerinde yapılan bir çalışmada; serum ADMA düzeyleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunamamıştır (Kianpour ve ark 2015).

 n vitro fertilizasyonda (IVF) ADMA'nın implantasyon başarısı için bir marker olarak kullanılıp kullanılmayacağının araştırıldığı bir çalışmada (Keskin ve ark 2016) gonadotropin tedavisi  ncesi ADMA düzeylerinin IVF'de implantasyon başarısı için kullanılamayacağı sonucuna varılmıştır.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

2.1. Gereç

2.1.1. Çalışmanın Yöntemi ve Hasta Seçimi

Çalışmamız için Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 20.03.2019 tarih ve 2019/36 sayılı kararı ile onay alınmıştır. Çalışma 21.03.2019 ile 03.02.2020 tarihleri arasında Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Üroloji polikliniğine infertilite nedeniyle başvuran ve Androloji laboratuvarında spermiyogram analizi yapılan 30 normozoospermi ve 30 oligozoospermi tanısı alan bireylerin rutin takip amaçlı alınan kan örneklerinden arta kalan serumları kullanılarak yapılmıştır. Bireylerin hipertansiyon, koroner arter hastalığı, diyabet, böbrek hastalığı olan ve malignite öyküsü bulunan ve immünolojik enfeksiyöz hastalığı olanlar çalışmaya dahil edilmemiştir. Herhangi bir nedene bağlı olarak düzenli ilaç kullanmayan bireylerden oluşturulmuş normozoospermi grubu kontrol grubu olarak, oligozoospermili bireyler ise hasta grubu olarak kabul edildi.

2.1.2. Sperm Örneklerinin Toplanması, Muhafaza Edilmesi ve Spermiyogramın Değerlendirilmesi

Semen numunesi özel bir odada en az 2 en çok 7 günlük cinsel perhizden sonra mastürbasyon yöntemi ile toplama kabına toplandı. Steril olarak verilen semen örneği tüpe alındı. Tüpe alınan örnek likefiye olması için 37 °C de; 20 dakika inkibatörde bekletilir. Likefiye olmaması durumunda ek 15 dk inkibatörde bekletildi. Spermilerin örnek içinde homojen olarak dağılması için likefiye olan örneğe pastör pipetle pipetleme işlemi uygulandı. Likefiye olan sperm örnekleri mikroskop altında sperm motilite, konsantrasyon, ve progresif motilite, immotilite gibi fiziksel özellikler WHO kriterlerine göre değerlendirildi. Daha sonra aynı numunelerin morfolojik değerlendirilmeleri yapıldı. Spermiyogram analizi sonuçları göre normozoospermi ve oligozoospermi grupları oluşturuldu.

2.1.3. Kan Örneklerinin Toplanması ve Saklanması

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Üroloji polikliniğine infertilite nedeniyle başvuran bireylerin Androloji laboratuvarında spermiyogram analizi sonucuna göre, normozoospermi ve oligozoospermi tanısı konmuş hastaların rutin alınan kan örneklerinden arta kalan serumlarında metil arjininlerin ölçümü için

toplandı. Çalışmamızda hastalardan hekimlerin istediği testler için alınan kan örneklerinden başka kan alınmamıştır.

Toplanan bütün numuneler ikiye bölünerek ependorf tüplere konularak çalışma gününe kadar -80 derecede muhafaza edilmiştir.

2.1.4. Çalışmada Kullanılan Çözelti ve Reaktifler

- 1- ADMA internal standart (d7-ADMA),
- 2- ADMA standart (Calbiochem, Lot: 311204, US),
- 3- HArg'nin standart (Sigma: 1483-01-8, Lot: 010 ml 1218 v)
- 4- Arjinin standart (Merck: 519-K 538944, Darmstadt Germany), 23
- 5- HCI (Merck: K 25039614-814, Darmstadt Germany),
- 6- Metanol (Sigma: 34885-2, 5l-R, Lot: S2bd126SV),
- 7- Asetonitril (Gas Chromatograph Suprasoly Merck, No: 1000172500 Almanya),
- 8- (D7)-ADMA (Medical Isotopes, No: DLM-7476-5 ABD),
- 9- Formik asit (98-100%, Suprapur Merck, No: 1116701000, Almanya,
- 10- Bütaonol (Sigma, No: W2178081KG-K).

2.1.5. Çalışmada Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

- 1- Santrifüj (Beckman Coulter Allegra, TM X-2212, ABD),
- 2- PH Metre (Radiometer CopenhagenPhm 92 LabPhMeter),
- 3- Millipore Filtre,
- 4-Magnetik Bar, Magnetik Karıştırıcı,
- 5- Nuçe Erlenii,
- 6- Vorteks (Heidolph,Almanya),
- 7- Phenomenex Luna C18 50X2.1 mm kolon (HPLC Brand, No:00A-4040- B0, ABD),
- 8- Shimadzu (LC-20AD system),
- 9- Tandem MS (ABSCIEX API 3200, Singapur),
- 10-HPLC
- 11- Hassas Terazii (Sartorius BP 110 S),
- 12-Otomatik Pipetler (Eppendorf Resarch 100-1000 µL, 20-200 µL),
- 13-Örnek Saklama Tüpleri (Ependorf Marka, 1,5µL),
- 14- Vakumlu Tüpler (9 Ml Serum Pıhtı Aktivatörlü, Venosafe Marka),
- 15- Derin Dondurucu (Sanyo Ultra Low (-80°C)),
- 16- Karıştırıcı (Stuart Scientific Magnetic Stirrer Hotplate),



Şekil 2. 1. AB SCIEX API 3200 marka Sıvı Kromatografi–Tandem Kütle Spektrometre (LC-MS/MS) cihazı.

Sıvı Kromatografi–Tandem Kütle Spektrometre (LC-MS/MS): Deteksiyon limitinin artırılması ile seçiciliğin yükseltilmesine yönelik olarak numunelerin, MS öncesinde kromatografik, derivatizasyon ve ekstraksiyon ayrıştırma gibi çeşitli işlemlerden geçirilmesi gerekmektedir. Bu işlemlerin yapılması için en uygun yöntemlerden bir tanesi; iki veya daha fazla analitik işlemin arka arkaya bağlanması (tandem) işlemidir. Bu sistem üçlü kuadropol ve sıvı kromatografisinden oluşmakta olup sıvı kromatografi tandem kütle spektrometresi; spektrometre ile kromatografinin bir araya gelmesi ile oluşturulmuş bir sistemdir. Sistemde iki farklı iyonlaştırıcı kaynak bulunmakla birlikte, moleküller iyonlaştırma kaynağında iyonlaşmakta (gaz formu) ve kütle spektrometresinden geçmektedir.

Sıvı kromatografi tandem kütle spektrometresinde karışım, ilk olarak MS'nin birinci kaynağına gönderilmekte, karışımın iyonizasyon bileşiği karakteristik olarak kendine has iyon oluşmasını sağlamaktadır. Bu iyonlara precursor adı verilmekte olup, precursor iyonu seçilerek burada tanımlanmaktadır. İncelemeye alınacak olan bileşik, karışımın diğer iyonlarından ayrılarak, ayrılan precursor iyonları fragmentlerine ayrılması için MS'nin ikinci analizörüne gönderilerek, ayrıştırılır. Bu iyonlar product olarak adlandırılmakla birlikte, product iyonların ikinci MS analizörü yardımı ile kütle analizi sonucunda yüksek spesifikasyonla tanımlanmasına olanak sağlanır. Bu cihazlar

genel olarak çoklu analitik numunelerin tespiti ile eser miktar analitlerin hassas şekilde miktar tayin edilmesinde kullanılmaktadır.

2.2. Yöntem

2.2.1. LC-MS/MS Metoduyla ADMA, SDMA, L-NMMA, Homoarjinin ve Arjinin Analizi

Teknik bilgiler;

- ADMA molekül ağırlığı: 202,26 g.mol⁻¹

- Arjinin molekül Ağırlığı: 174,204g.Mol⁻¹

- HArg'in molekül ağırlığı: 188,228g.mol

-ADMA, HArg ve Arjinin ölçümlerine (Di ve ark 2010)'nin çalışmalarında yapmış oldukları metot referans alındı. Yeni birtakım düzenlemelerle modifiye edilerek ölçüm zamanı da kısaltıldı. Gradien pompa kullanılarak; ADMA, arjinin, HArg düzeyleri analize edildi. Mobil faz olarak gradient mobil faz A ve mobil faz B olarak hazırlandı.

Mobil faz A'nın hazırlanması: Mobil faz A'nın hazırlanmasında 1 litrelik HPLC grade su içerisinde 1 ml çekilerek atıldı. Üzerine 1 ml formik asit ilave edildi.

Mobil faz B'nin hazırlanması: Mobil faz B'nin hazırlanmasında 1 litre metanol içerisinde 1 ml çekilip atıldı. Üzerine 1 ml formik asit ilave edildi.

ADMA standart hazırlanması: ADMA standart hazırlanırken standart solüsyon (0,5 mM) 0.1 M HCl içinde hazırlanarak, buzdolabında saklandı, stok solüsyon 0,1 M HCl ile dilüsyon standart solüsyon (50 µM) hazırlandı. Hazırlanan standart solüsyon içerisinde 0,1 M HCl ve sırasıyla dilüsyonlar ile 1.5 µM, 0,75 µM, 0,375 µM, 0,185 µM, 0,0937 µM standart çözeltiler hazırlandı. Elde edilen standartlar, derivatizasyon işlemlerinin arkasından otomatik örnekleme cihazına aktararak, 40 µl enjekte edildi. Alınan pik alanları ile standart ADMA grafiği oluşturuldu.

Arjinin standart hazırlama: Arjinin standart hazırlama işleminde, hazırlama öncelikle stok solüsyon (1 mM) 0.1 M HCl içerisinde hazırlanarak buzdolabına konuldu. Stok solüsyonun 0.1 M HCl dilüsyonuyla standart solüsyon (500 µL) hazırlanarak, solüsyondan 0,1 M HCl ile dilüsyonla 250 µM, 125 µM, 62,5 µM, 31,25 µM, 15,56 µM, 7,78 µM olacak şekilde standart çözeltiler hazırlandı. Elde edilen standartlar derivatizasyondan sonra otomatik örnekleme cihazına konuldu ve 10 µl enjekte edilerek, elde edilen pik alanları ile arjinin standart grafiği oluşturuldu.

Homoarjinin standardının hazırlanması: HArg'nin standart solüsyonunun oluşturulmasında, HArg stok standart solüsyonu, (0,5 mM) 0.1 M HCl içerisinde hazırlanarak buzdolabına konuldu. Stok solüsyondan 0,1 M HCl ile dilüsyonu ile standart solüsyon (50 µL) hazırlandı. Elde edilen standart solüsyonun 0.1 M HCl ile 5 µM, 2.5 µM, 1,25 µM, 0,625 µM, 0,312 µM, 0,156 µM olarak standart çözelti hazırlandı. Elde edilen standartlar derivatizasyon işleminin arkasından otomatik örnekleme cihazına aktararak 10 µl enjekte edilmesi sonucunda elde edilen pik alanları ile homoarjinin grafiği oluşturuldu. Türevleştirici Reaktifin hazırlanması: Türevleştirici reaktifin hazırlanmasında cam erlen içerisinde 19 ml bütanol konularak, üstüne 1 ml asetil klorid eklendi.

Çözücü reaktifin hazırlanması: Çözücü reaktifin hazırlanmasında 18 ml HPLC grade distile su cam beher içerisinde aktarıldı. Üstüne 2 ml metanol eklenerek karışımdan 20 µl çekilerek atıldı ve üstüne 20 µl formik asit eklendi. Numunenin hazırlanması ve ölçülmesi: Elde edilen numunelerden; ADMA, SDMA, L-NNMA, homoarjinin ve arjinin düzeyleri, Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Metabolizma Laboratuvarında ABSCIEX API 3200 tandem kütle spektrometresinde pozitif modda elektrosprey iyon kaynağı kullanılarak ölçüldü

- Her bir katılımcıdan 10 ml venöz kan örneği tüplere (BD vacutainer, USA) alındı ve soğutmalı santifüjde 4 °C' de 3500 devirde 10 dakika santifüj edildikten sonra serum örnekleri ayrılıp analize kadar -80 °C' de saklandı.

- -80 °C' de ependorf tüplerinde stoklanmış olan serumlar çözünmesi için oda sıcaklığında bekletildi. Çözünen serumların homojenliğini sağlamak için 3-5 saniye vorteks edildi.

- 200 µL serum örneğinin üzerine, 100 µL metanol içerisinde çözülmüş iç standart (d7-ADMA) eklendikten sonra 13000 rpm'de 10 dakika santrifüj ile çöken proteinler uzaklaştırıldı. Süpernatant temiz bir tüpe alınarak 60 °C' de azot gazı ile uçuruldu,

- Türevleştirme işlemi amacı ile yeni hazırlanan %5 (v v-1)'lik bütanol/ asetil klorid solüsyonundan 200 µL eklenerek 60 °C' de 20 dakika bekletildikten sonra azot gazı ile solvent uçuruldu,

- Çözdürme işlemi; % 0,1 (v v-1) formik asit barındıran 100 µL su metanol (90:10, v v-1) ile gerçekleştirildi.

- Analitik kolona 40 µL enjeksiyon yapıldı. Bu metodun gün içi ve günler arası değişkenlik (CV) değerleri %8,6 ve %10,1 idi. - Serum ADMA, SDMA, L-NMA, homoarjinin, arjinin düzeyleri Shimadzu LC-20AD (Japonya) yüksek performanslı

sıvı kromatografisi ile eşleşmiş Applied Biosystems MDS SCIEX (USA) API 3200 marka kütle spektrometre (LC-MS/MS) cihazında elektro spreylendirme (ESI) kullanılarak pozitif mod ile ölçüldü. Kromatografik analiz Phenomenex Luna C18 marka kolon ile modifiye edilmiş bir metot ile gerçekleştirildi.

ADMA ölçümü için LC-MS/MS değerleri: Çalışmada kullanılan LC-MS/MS cihazında ayarlanan ADMA metot özellikleri aşağıda yer almaktadır.

Kromatografi için;

- Pompa: BinaryFlow
- Total Akış: 0,8000 ml / Min
- Enjeksiyon Volümü: 40,00 µL
- Analiz Süresi: 5 Dk
- Kolon : Phenomenex Luna C18 Kolon
- Mobiz Faz A : Grade Su+1 ml Formik asit=1L
- Mobil Faz B : Metanol ve 1 ml Formik Asit =1L Kütle Spektrometresi İçin;
- Lon Source Gas1 : (GSS1) 60,00
- Lon Source Gas2 : (GS2) 60,00
- Ionisation Mode : Pozitif
- Entrance Potential (EP) : 40,00
- Collision Gas (CAD) : 5,00
- Collision Energy (CE) : 24,00
- Temperature (TEM) : 550,00
- Q1 MASS : 259,300
- Q3 MASS : 214,000

2.2.2. İstatistiksel Analiz

Çalışmadan elde edilen veriler, veri kaybına yol açmamak için elde edilme sırasına göre SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versiyon 20 istatistik programına girilerek istatistikler program üzerinden gerçekleştirilmiştir. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistikler sperm sayısı için Median $\pm$ standart sapma ve maximum ve minimum değerleri (Min-Max) şeklinde sunuldu, verilerin dağılımı için One-Sample Smirnov testi yapıldı ve verilerin dağılımında $p>0.05$ olması normal dağılım (homojen) olarak kabul edildi (Çizelge 3.3.1). Ayrıca çalışmamızda sperm parametre değerlerinin tanımlayıcı istatistikler ile Ort $\pm$ SS değerleri verildi (Çizelge 3.2). Ölçüm yapılan parametreler ile semen parametreleri arasındaki ilişkisi

korelasyon testi ile analiz edildi (Çizelge 3.4-5). Yaş ve sitrulin parametreleri normallik testinde normal dağılım gösteren parametrelerdi ve analiz için t-student Testi kullanıldı. ADMA, SDMA, LNMMA, HArg, Arjinin, Sitrulin, SDMA/ADMA, HArg/ADMA oranı normal dağılım göstermeyen (homojen olmayan) parametrelerdi. Bu parametrelere ait değerlendirmenin istatistiği çizelge 3.1’de verildi. İki bağımsız grubun karşılaştırılmasında kullanılan non-parametrik Mann-Whitney U testi ile gruplar arasındaki parametrelerin ilişkilerine tek tek bakıldı. Sonuçların değerlendirilmesinde %95 güven aralığı ve %5 hata payı göz önünde bulundurularak $p<0.05$ anlamlılık değeri kabul edildi. Parametreler arasındaki korelasyonlar, Spearman korelasyon testi ile değerlendirildi.

Normozoospermi ve oligozoospermi gruplarının Metil Arjinin düzeylerine göre ön tanısını koydurmadaki duyarlılıklarını belirlemek için ROC eğrisi analizi yapıldı. Bu eğrilerde duyarlılık ve özgünlüğün en yüksek olduğu değerler kesim noktası olarak alındı. Bu kesim noktasına göre sınır değerler üzerinden veri yeniden kodlanarak, bunlara ait duyarlılık, seçicilik ve doğruluk yüzdesi ayrı ayrı hesaplandı.

3. BULGULAR

Çalışmamızda oligozoospermli ve normozoospermli bireylerin sperm konsantrasyon değerlerinin median±SS ve min. ve max. değerleri Çizelge 3.1’de verilmektedir. Sperm konsantrasyon değerleri oligozoospermli ve normozoospermli bireyleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Çizelge 3.1).

Çizelge 3. 1. Oligozoospermli ve normozoospermli gruplarının sperm sayılarının karşılaştırılması

	OLİGOZOOSPERMİ			NORMOZOOSPERMİ			F	p
	n	Median±SS	(Min-Max)	n	Median±SS	(Min-Max)		
Sperm Konsantrasyonu (milyon/ml)	30	3,6±3,36	0,5-14	30	38±19,51	21-90	52,09	0,000

Çalışmamızda oluşturulan gruplara ait spermiyogram sonuçları çizelgede belirtilmektedir. Kontrol grubu normozoospermli olan 30 bireyden (n=30) , hasta grubu ise oligozoospermli olan 30 bireyden oluşmaktadır (n=30). Çizelge 3.2 deki veriler WHO kriterlerine göre; bu grupta yer alan kişiler normozoospermli bireylerin yaş ortalamaları 31,15±6,68 iken oligozoospermli hastaların yaş ortalaması 28±5,48’dir. Oligozoospermli bireylerin sperm konsantrasyon miktarı <5 milyondan az olduğu için sperm morfolojik olarak değerlendirilemedi.

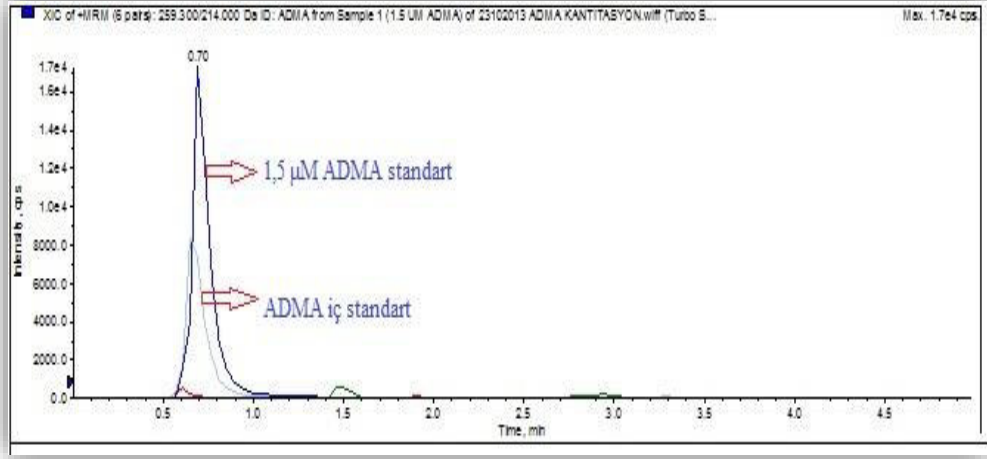
Çizelge 3. 2. Normozoospermi ve oligozoospermi gruplarındaki semen parametreleri (n=30)

Semen Parametreleri	Normozoospermi	Oligozoospermi	P
Yaş	31,15±6,68	28±5,48	0.064
pH	7,7±0,15	7,62±0,24	0.163
Volüme (ml)	3,22±1,34	2,88±1,27	0,336
Konsantrasyon (milyon/ml)	45,56±19,51	4,4±3,65	0.000**
Total Sayı (milyon)	145,83±82,83	11,07±10,36	0.000**
Motilite	65,59±10,49	50,67±20,23	0.002
Progresif Motilite	50,44±10,91	36,26±16,79	0.001
Non Progresif Motilite	15,15±4,92	14,41±7,13	0.659
İmmotilite	34,78±11,32	49,33±20,23	0.002
TPMSS (Milyon)	76,2±49,43	4,83±5,77	0.000**
Normal Sperm	2,19±0,79		
Baş Anomalisi	88,56±2,19		
Amorf Baş	72,56±4,96		
Büyük Baş	5,93±2,88		
Küçük Baş	4,15±3,13		
Uzun Baş	4,81±2,2		
Multiple Baş	1,19±1,78		
Boyun veya Kuyruk Anomalili Sperm	9,26±1,58		
Boyun Orta Kısım Anomalisi	14,33±2,37		
Kuyruk Anomalisi	16,59±4,52		
Çift Kuyruk	1,74±1,83		
Tail Stump (Şiddetli Kuyruk Defekti)	0,33±0,62		
Dag Defekt	7,85±1,92		
Uzun Kuyruk	0,44±1,05		
Kısa Kuyruk	6,22±2,79		
Tetratozoospermi İndeksi	1,32±0,05		

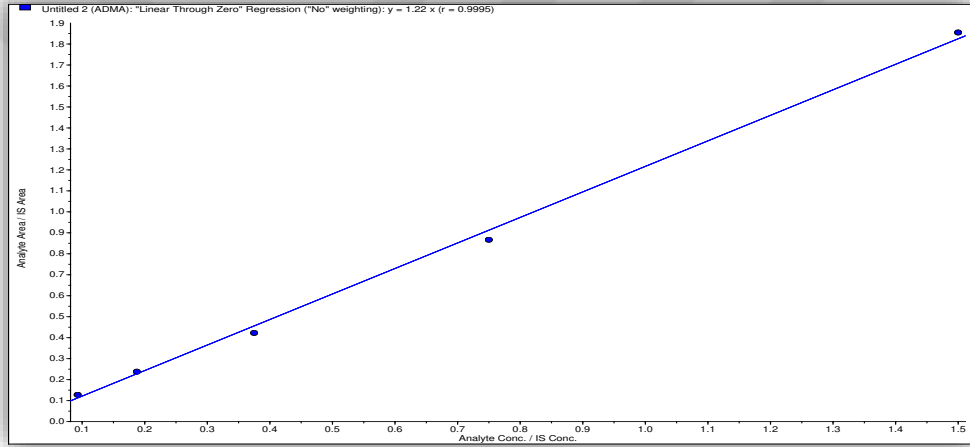
*p<0.05,

3.1.ADMA Analiz Sonuçlarına Yönelik Bulgular

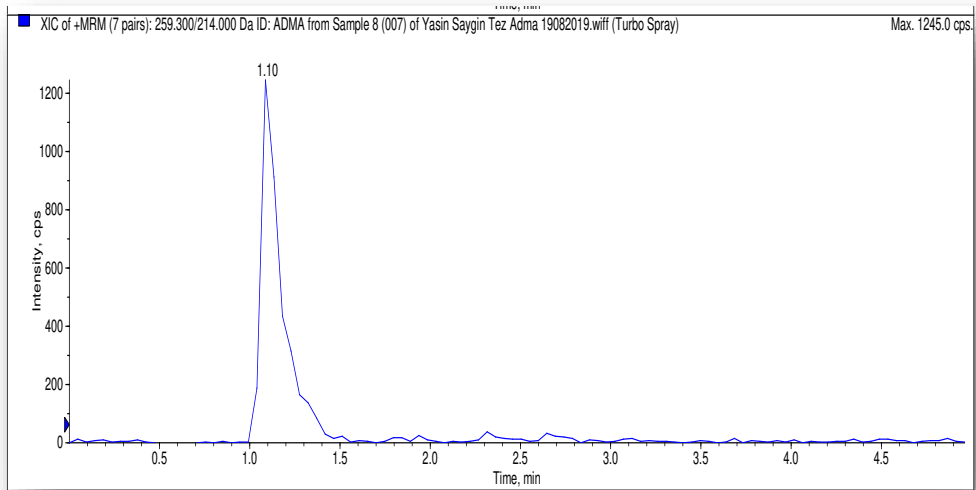
Çalışmada LC-MS/MS cihazıyla 1,5 µM/L, 0,75 µM/L, 0,375 µM/L, 0,1875 µM/L ve 0,09375 µM/L'lik konsantrasyonlardaki ADMA standartları ölçüldü. LC-MS/MS cihazıyla analizi yapılan 1,5 µM/L ADMA standardının kromatogramı ve piklerin çıkma zamanı gösterilmiştir (Şekil 3.1). ADMA standartlarına ait kalibrasyon grafiği Şekil 3.2'de verildi. Ayrıca çalışmamızda en düşük sperm konsantrasyonuna ait ADMA seviyesine ait kromatografisi Şekil 3.3'de verildi.



Şekil 3. 1. 1,5 µM ADMA standart kromatogramı



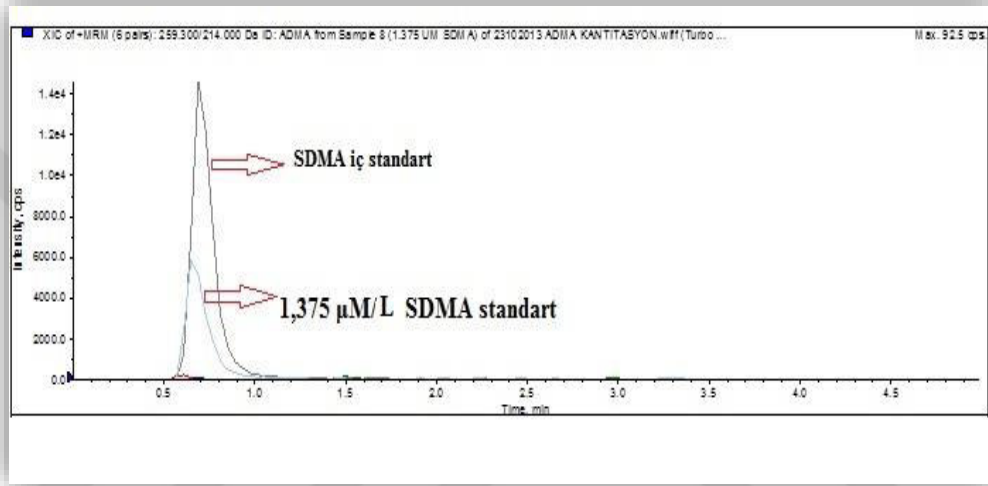
Şekil 3. 2. ADMA kalibrasyon grafiği



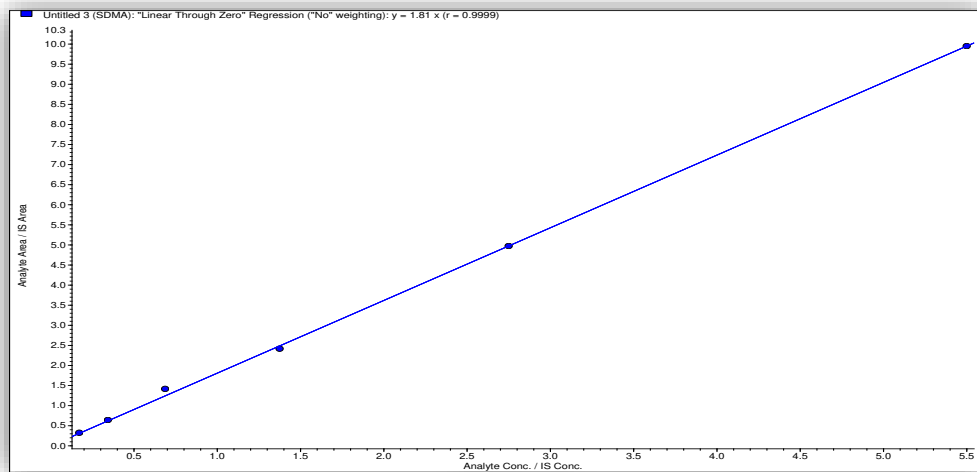
Şekil 3. 3. En düşük sperm konsantrasyonuna (0,5 milyon/ml) ait ADMA seviyesinin kromatografisi

3.2. SDMA Analiz Sonuçlarına Yönelik Bulgular

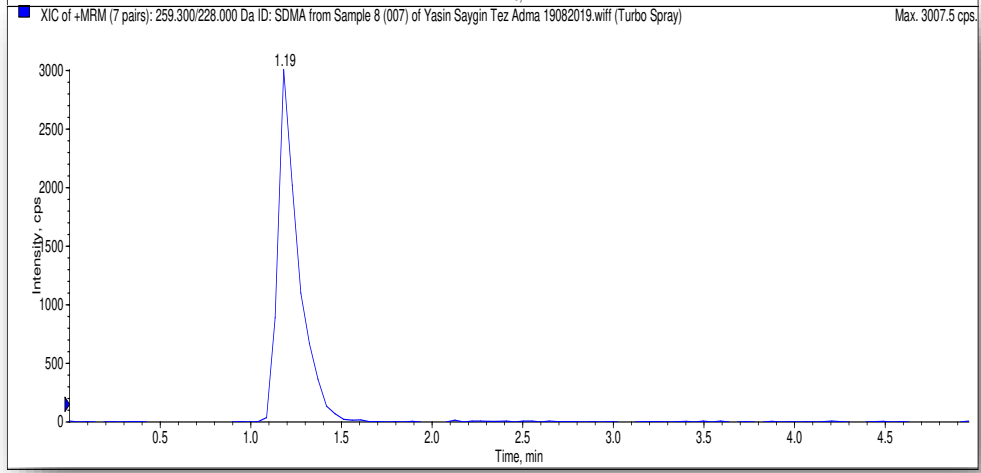
Çalışmada 2,75 $\mu\text{M/L}$, 1,375 $\mu\text{M/L}$, 0,6875 $\mu\text{M/L}$, 0,34375 $\mu\text{M/L}$ ve 0,171875 $\mu\text{M/L}$ miktarlardaki SDMA standartları hazırlandı ve ölçümleri gerçekleştirildi. LC-MS/MS cihazıyla analizi yapılan 1,375 $\mu\text{M/L}$ SDMA standardının kromatogramı ve piklerin çıkma zamanı gösterildi (Şekil 3.4). Bu standartlara ait konsantrasyon sonuçlarıyla LC-MS/MS cihazında kalibrasyon grafiği elde edildi. SDMA kalibrasyon grafiği ile ilgili veriler şekil 3.5’de yer almaktadır. Ayrıca çalışmamızda en düşük sperm konsantrasyonuna ait SDMA seviyesine ait kromatografisi Şekil 3.6’de verildi.



Şekil 3. 4. 1,37 $\mu\text{M/L}$ SDMA standart kromatogramı



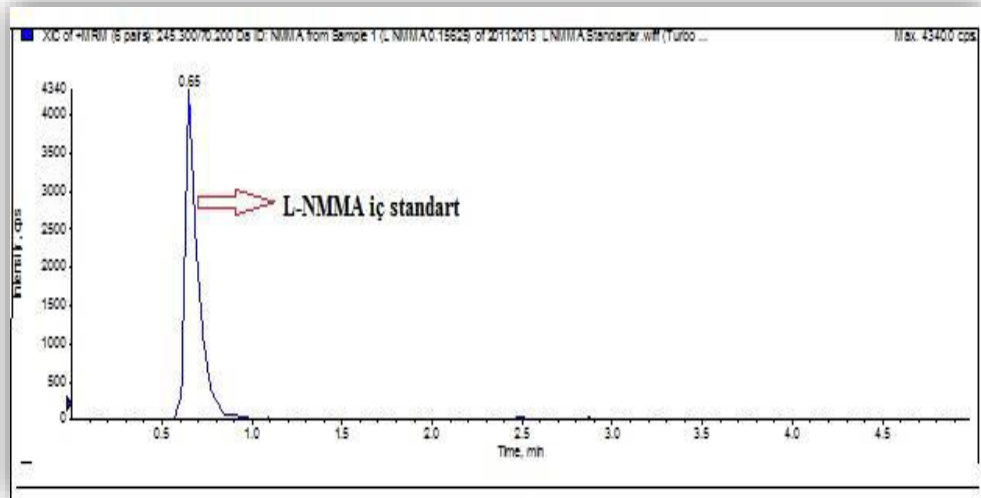
Şekil 3. 5. SDMA kalibrasyon grafiği



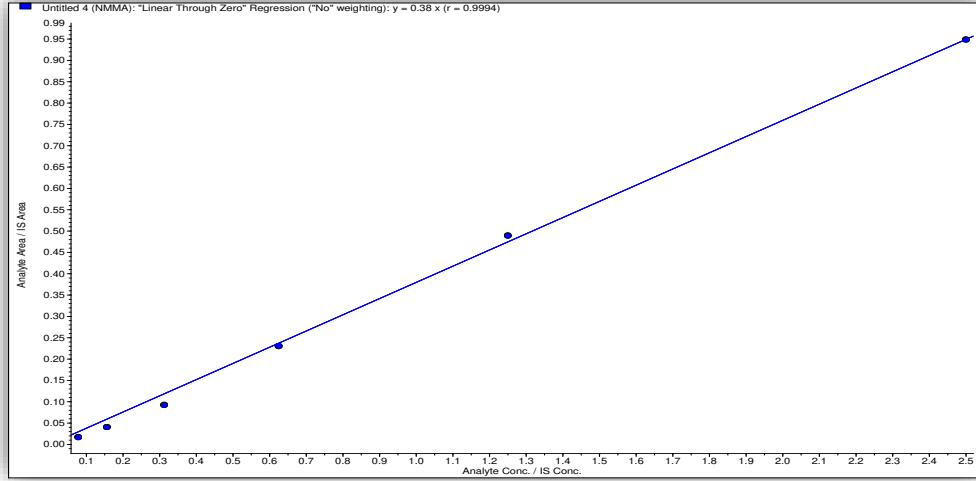
Şekil 3. 6. En düşük sperm konsantrasyonuna (0,5 milyon/ml) ait SDMA seviyesinin kromatografisi

3.3. L-NMMA Analiz Sonuçlarına Yönelik Bulgular

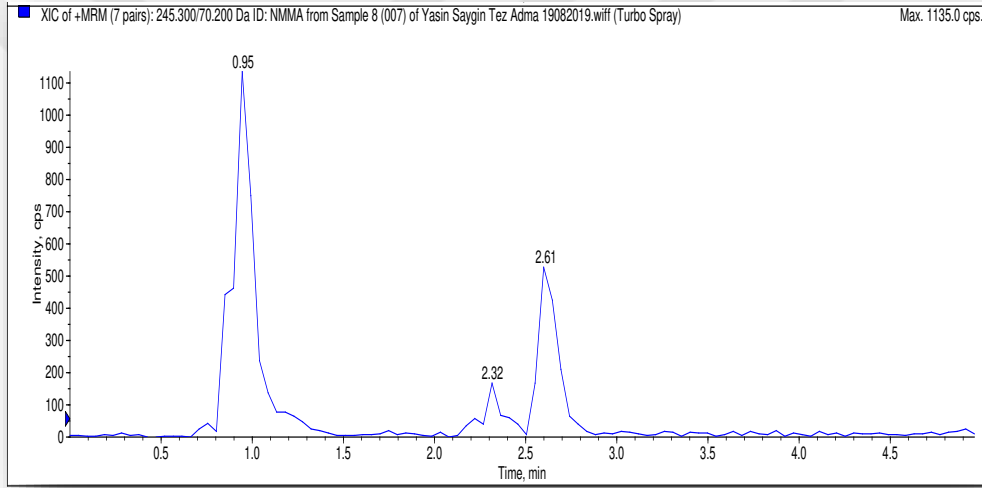
Çalışmada 2,5 $\mu\text{M/L}$, 1,25 $\mu\text{M/L}$, 0,625 $\mu\text{M/L}$, 0,3125 $\mu\text{M/L}$ ve 0,15625 $\mu\text{M/L}$ değerlerinde L-NMMA standartları hazırlandı ve LC-MS/MS cihazında ölçümleri yapılarak kalibrasyon grafiği elde edildi. LC-MS/MS cihazıyla analizi yapılan 0,15625 $\mu\text{M/L}$ L-NMMA standardının kromatogramı ve piklerin çıkma zamanı Şekil 3.7’de gösterildi. L-NMMA kalibrasyon grafiği ile ilgili veriler Şekil 3.8’de yer almaktadır. Ayrıca çalışmamızda en düşük sperm konsantrasyonuna ait L-NMMA seviyesine ait kromatografisi Şekil 3.9’de verildi.



Şekil 3. 7. 0,15625 $\mu\text{M/L}$ L-NMMA standart kromatogramı



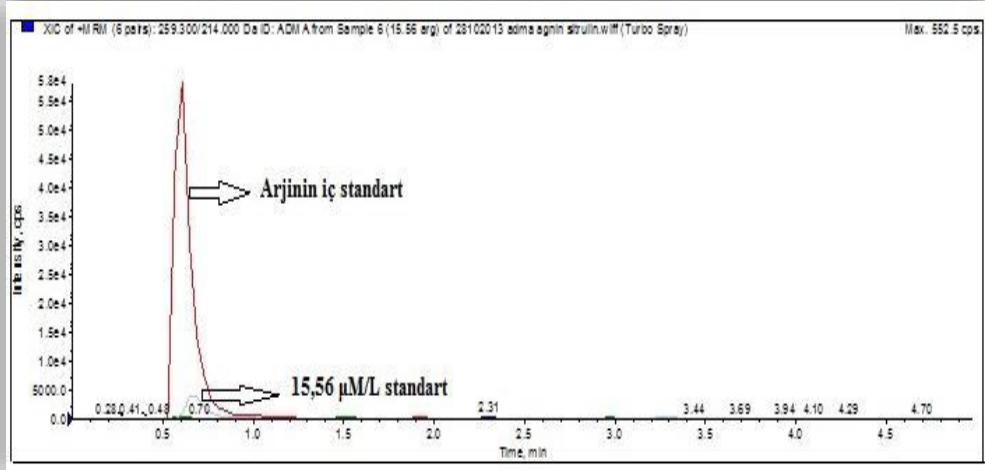
Şekil 3. 8. L-NMMA kalibrasyon grafiği



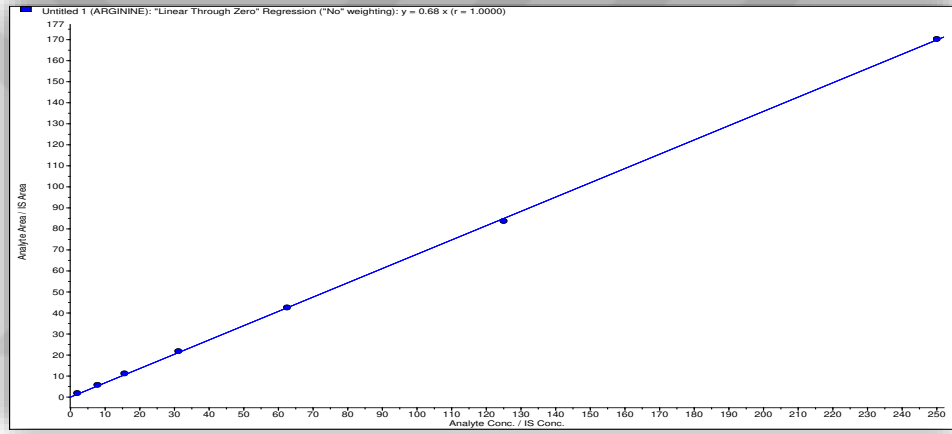
Şekil 3. 9. En düşük sperm konsantrasyonuna (0,5 milyon/ml) ait L-NMMA seviyesinin kromatografisi

3.4. Arjinin Analiz Sonuçlarına Yönelik Bulgular

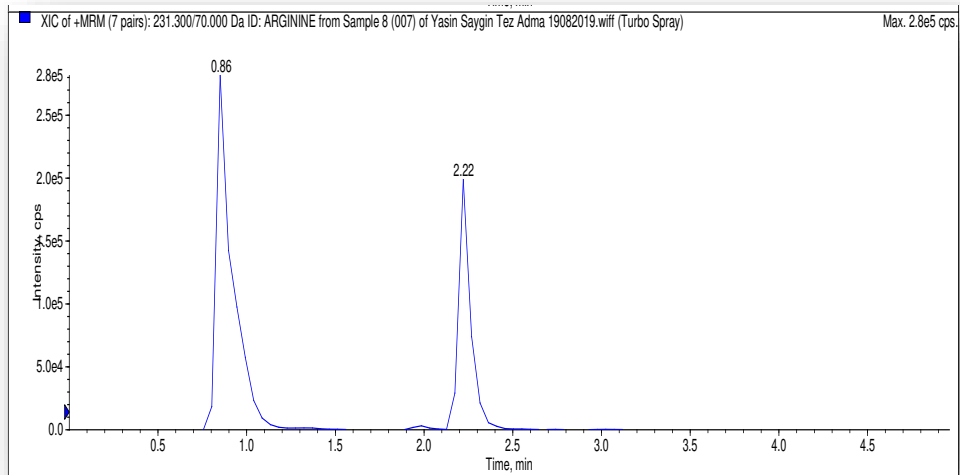
Çalışma ile ilgili 250 $\mu\text{M/L}$, 125 $\mu\text{M/L}$, 62,5 $\mu\text{M/L}$, 31,125 $\mu\text{M/L}$ ve 15,56 $\mu\text{M/L}$ konsantrasyonlarına sahip arjinin standartları hazırlanarak ölçümleri gerçekleştirildi. Standartların, konsantrasyon sonuçlarıyla LC-MS/MS cihazında kalibrasyon grafiği elde edildi, LC-MS/MS cihazıyla analizi yapılan 15,56 $\mu\text{M/L}$ Arjinin standardının kromatogramı ve piklerin çıkma zamanı gösterildi (Şekil 3.10). Arjinin kalibrasyon grafiği sonuçları Şekil 3.11’de yer almaktadır. Ayrıca çalışmamızda en düşük sperm konsantrasyonuna ait Arjinin seviyesine ait kromatografisi Şekil 3.12’de verildi.



Şekil 3. 10. 15,56 µM/L Arjinin standart kromatogramı



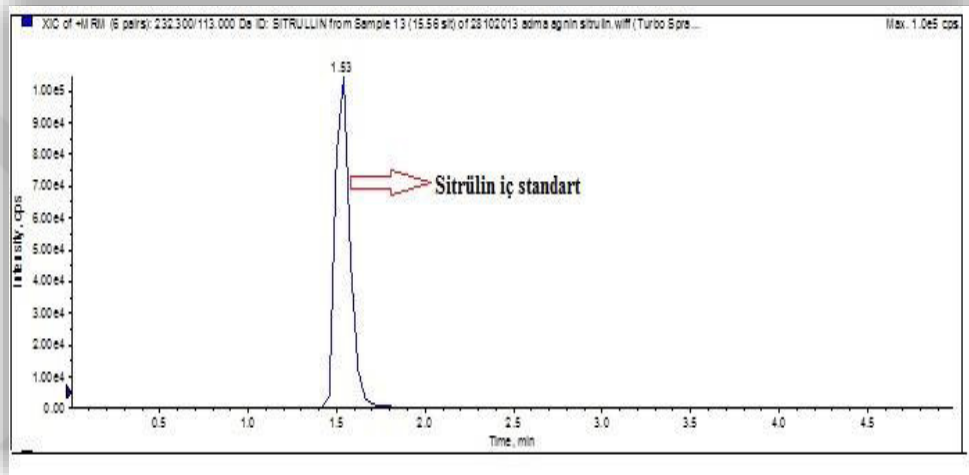
Şekil 3. 11. Arjinin kalibrasyon grafiği



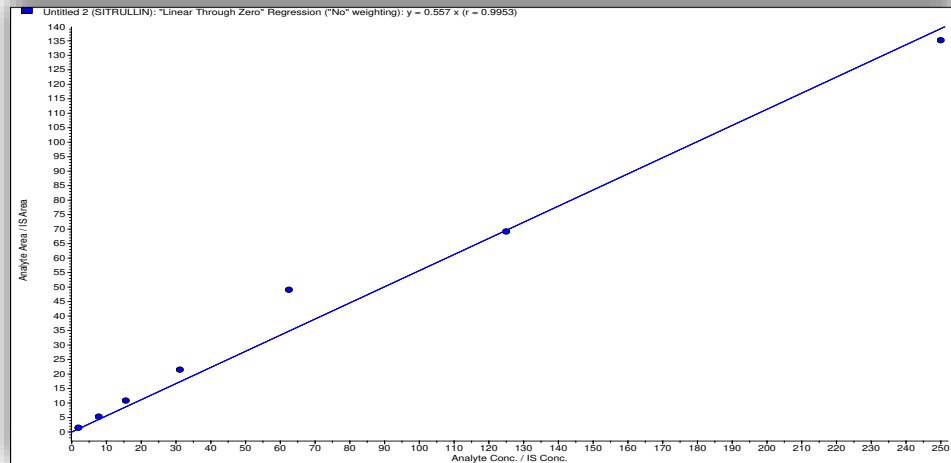
Şekil 3. 12. En düşük sperm konsantrasyonuna (0,5 milyon/ml) ait Arjinin seviyesinin kromatografisi

3.5. Sitrulin Analiz Sonuçlarına Yönelik Bulgular

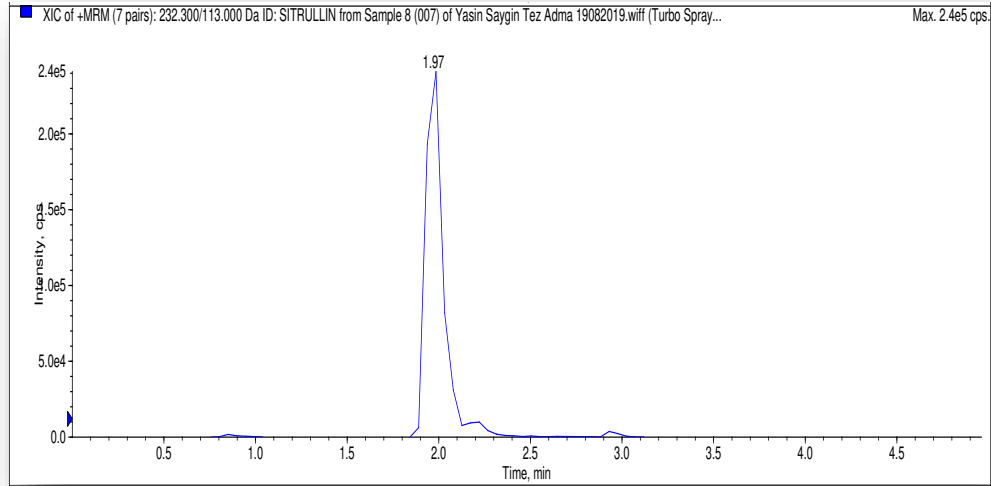
Çalışma ile ilgili 250 ng/ml 125 ng/ml, 62,5 ng/ml 31,125 ng/ml ve 15,56 ng/ml konsantrasyonlarına sahip sitrulin standartları hazırlanarak ölçümleri gerçekleştirildi. Standartların, konsantrasyon sonuçlarına göre LC-MS/MS cihazında kalibrasyon grafiği elde edildi olup, sitrulin kalibrasyon sonuçları şekil 3.13’da yer almaktadır. LC-MS/MS cihazıyla analizi yapılan her bir ADMA standardının kromatogramı ve piklerin çıkma zamanı gösterildi. Sitrulin’e kalibrasyon grafiği sonuçları Şekil 3.14’de yer almaktadır. Ayrıca çalışmamızda en düşük sperm konsantrasyonuna ait Sitrulin seviyesine ait kromatografisi Şekil 3.15’de verildi.



Şekil 3. 13.15,56 ng/ml Sitrulin standart kromatogramı



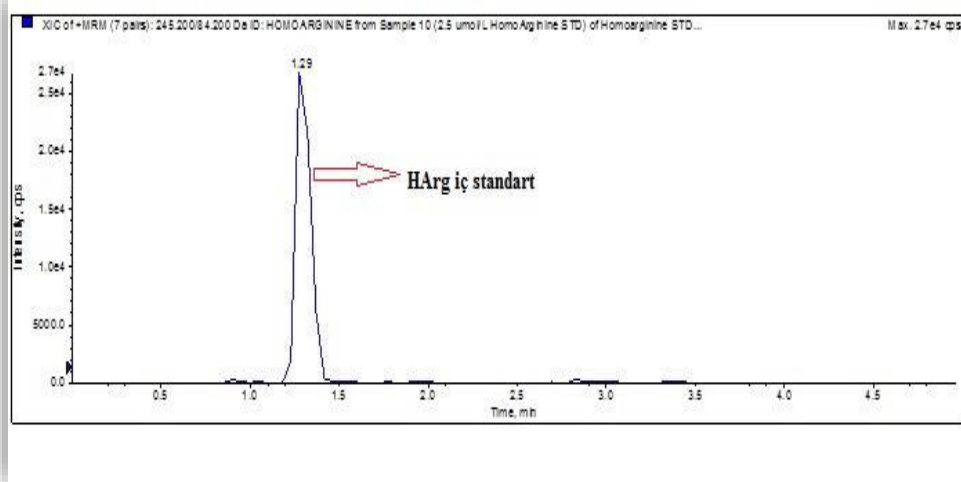
Şekil 3. 14. Sitrulin kalibrasyon grafiği



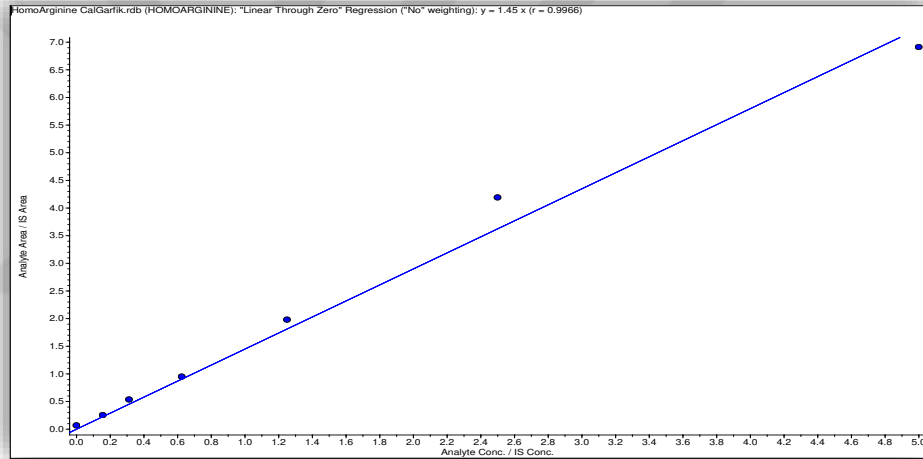
Şekil 3. 15. En düşük sperm konsantrasyonuna (0,5 milyon/ml) ait Sitrulin seviyesinin kromatografisi

3.6. Homoarjinin (HArg) Analiz Sonuçlarına Yönelik Bulgular

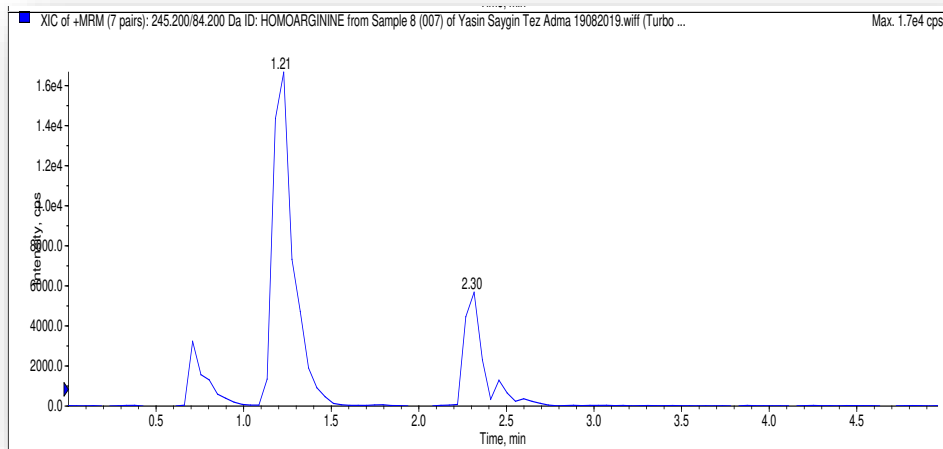
Çalışmadan elde edilen 5 µM/L, 2.5 µM/L, 1,25 µM/L, 0,625 µM/L ve 0,312 µM/L konsantrasyonlarına sahip HArg'in standartları hazırlanarak ölçümleri gerçekleştirildi. Çalışmadan elde edilen ve LC-MS/MS cihazıyla analizi yapılan HArg standart kromatogramları ve piklerin çıkma zamanı gösterildi (Şekil 3.16). Standartların, konsantrasyon sonuçlarıyla LC-MS/MS cihazında kalibrasyon grafiği elde edilmiş olup, HArg'in kalibrasyon grafiği şekil 3.17'de yer almaktadır. Ayrıca çalışmamızda en düşük sperm konsantrasyonuna ait HArg seviyesine ait kromatografisi Şekil 3.18'de verildi.



Şekil 3. 16. 2,5 µM/L HArg standart kromatogramı



Şekil 3. 17. HArg kalibrasyon grafiği



Şekil 3. 18. En düşük sperm konsantrasyonuna (0,5 milyon/ml) ait HArg seviyesinin kromatografisi

Çizelge 3. 3. Normozoospermi ve oligozoospermi gruplarının Metil Arjinin düzeyleri

	Oligozoospermi (n=30)	Normozoospermi (n=30)	
	Mean±SD	Mean±SD	p
Yaş	31,15±6,68	28±5,48	0,064
ADMA	0,38±0,07	0,35±0,05	0,046*
SDMA	0,53±0,14	0,49±0,08	0,269
L-NMMA	0,068±0,016	0,069±0,008	0,728
Arjinin	236,44±72,69	230,96±42,31	0,737
Sitrulin	60±38,01	71,5±29,8	0,222
HArg	4,41±1,6	4,14±1,46	0,529
SDMA/ADMA	1,38±0,26	1,42±0,26	0,574
L-NMMA/ADMA	0,18±0,04	0,2±0,03	0,146
Arjinin/ADMA	621,79±182,01	672,39±160,39	0,192
Sitrulin/ADMA	154,81±93,14	203,29±77,27	0,050
HArg/ADMA	11,59±3,89	11,73±3,59	0,966

*p<0.05, ADMA (µM/L):AsimetrikDimetil Arjinin, SDMA(µM/L): Simetrik Dimetil Arjinin, L-NMMA (µM/L): NGMonometil L-arjinin, HArg(µM/L): Homoarjinin

Oligozoospermi grubunun serum ADMA düzeyleri (0,38±0,07) kontrol grubu serum ADMA düzeylerine göre (0,35±0,05) anlamlı bir şekilde yüksek bulunmuştur (p=0,046). Oligozoospermi grubunun serum ADMA düzeyleri kontrol grubunun serum ADMA seviyesine göre %8.57 oranda artış görülmektedir (Şekil 3.19).

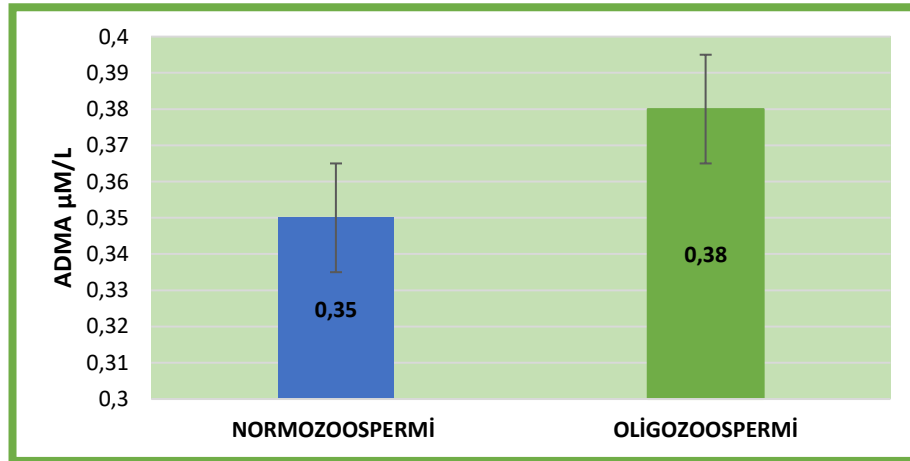
Oligozoospermi grubunun serum SDMA seviyeleri kontrol grubu serum SDMA seviyelerine göre (0,49±0,08) yüksek bulundu (Şekil 3.20); ancak bu değerler istatistiksel olarak anlamlı değildi (p=0,269). Oligozoospermi grubunun serum L-NMMA seviyesi (0,068±0,016) kontrol grubu serum LNMMA seviyesine (0,069±0,008) göre düşük bulundu (Şekil 3.21); ancak istatistiksel açıdan anlamlı değildi (p=0,728).

Oligozoospermi grubunun serum Arjinin düzeyleri (236,44±72,69) kontrol grubu serum Arjinin düzeyi (230,96±42,31) göre istatistiksel açıdan anlamlı olmayan yükseklik bulundu (Şekil 3.22); (p=0,737). Oligozoospermi grubunun serum sitrulin düzeyleri (60±38,01) kontrol grubuna göre (71,5±29,8) düşük bulundu (Şekil 3.23); ancak istatistiksel açıdan önemli değildi (p=0,222). Oligozoospermi hasta grubunun

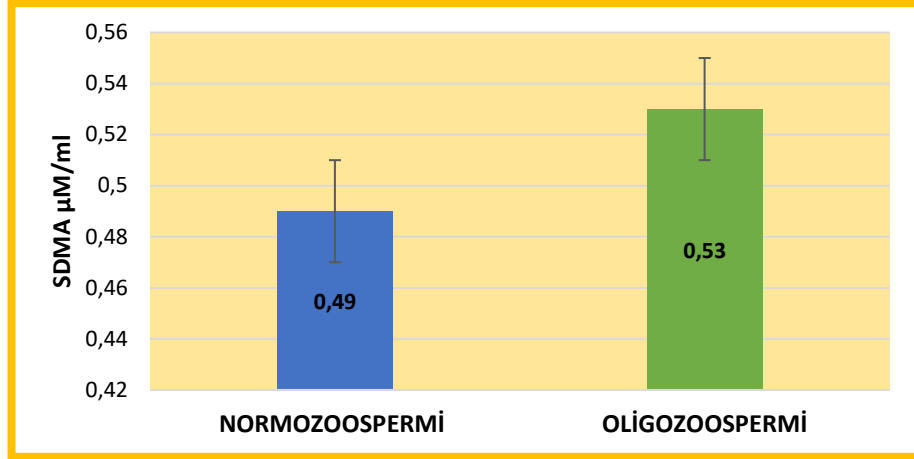
serum homoarjinin düzeyleri ($4,41 \pm 1,6$) kontrol grubuna ($4,14 \pm 1,46$) göre düşük bulundu (Şekil 3.24); ancak istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p=0,529$). Oligozoospermi grubunun serum SDMA/ADMA seviyesi ($1,38 \pm 0,26$) kontrol grubu serum SDMA/ADMA seviyesine ($1,42 \pm 0,26$) göre düşük bulundu (Şekil 3.25); ancak istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p=0,574$). Oligozoospermi grubunun serum L-NMMA/ADMA düzeyi ($0,18 \pm 0,04$) kontrol grubu serum L-NMMA/ADMA düzeyine ($0,2 \pm 0,03$) göre düşük bulundu (Şekil 3.26); ancak istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p=0,146$).

Oligozoospermi grubunun serum Arjinin/ADMA düzeyi ($621,79 \pm 182,01$) kontrol grubu serum Arjinin/ADMA düzeylerine ($672,39 \pm 160,39$) göre düşük bulundu (Şekil 3.27); ancak istatistiksel açıdan anlamlı bulunmadı ($p=0,192$). Oligozoospermi grubunun serum Sitrulin/ADMA düzeyleri ($154,81 \pm 93,14$) kontrol grubu serum

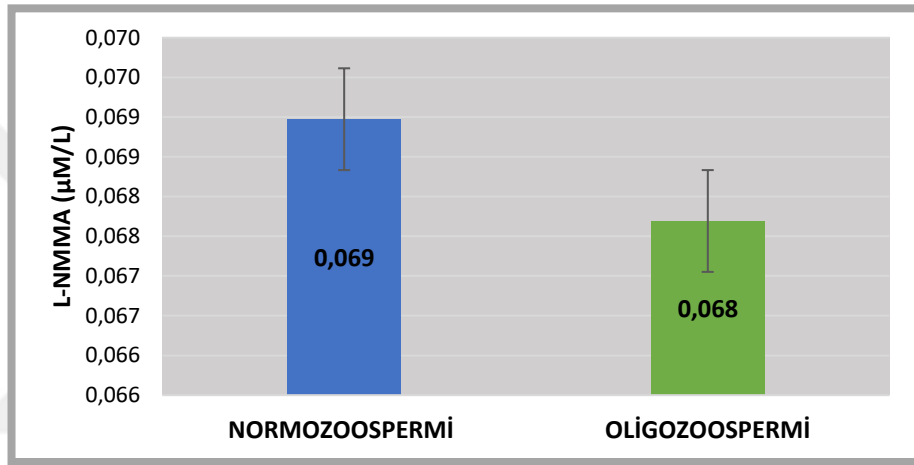
Sitrulin/ADMA düzeyine ($203,29 \pm 77,27$) göre yüksek bulundu (Şekil 3.28); ancak istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p=0,050$). Oligozoospermi grubunun serum HArg/ADMA düzeyleri ($11,59 \pm 3,89$) kontrol grubu serum HArg/ADMA düzeylerine ($11,73 \pm 3,59$) göre düşük bulundu (Şekil 3.29); ancak istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p=0,966$)(Çizelge 3.3).



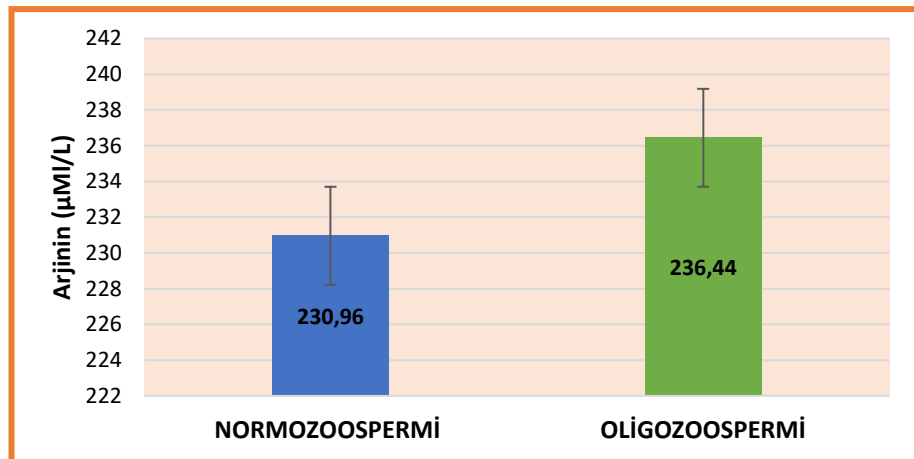
Şekil 3. 19. Normozoospermi ve oligozoospermi'e ait serum ADMA düzeyleri



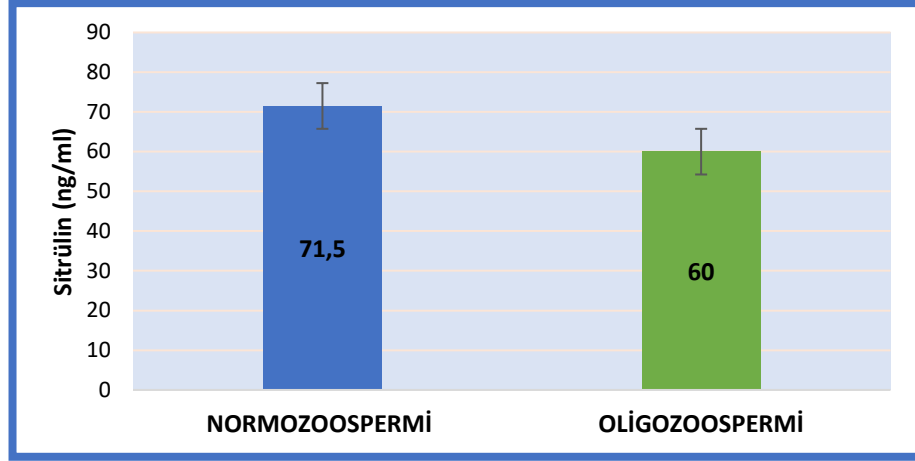
Şekil 3. 20. Normozoospermi ve oligozoospermi'e ait serum SDMA düzeyleri



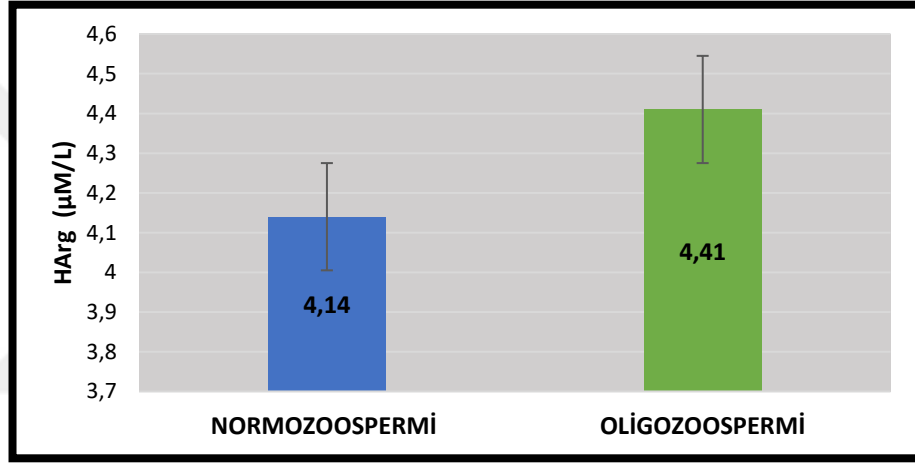
Şekil 3. 21. Normozoospermi ve oligozoospermi'e ait serum L-NMMA düzeyleri



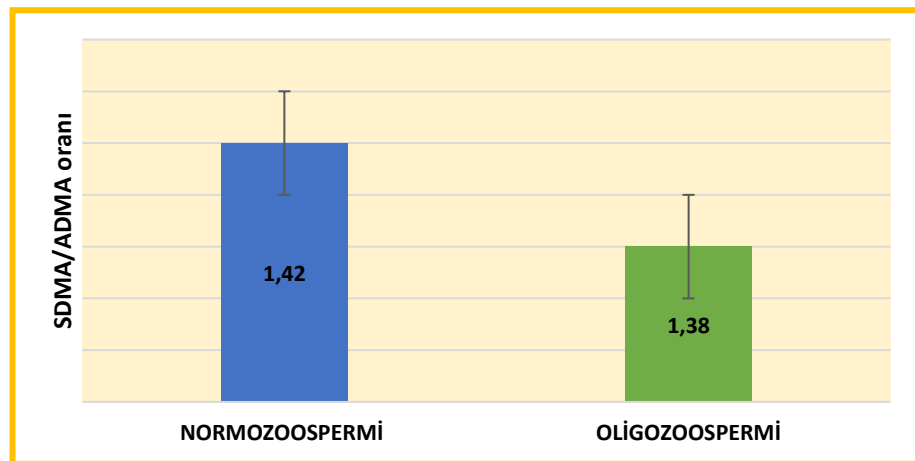
Şekil 3. 22. Normozoospermi ve oligozoospermi'e ait serum arjinin düzeyleri



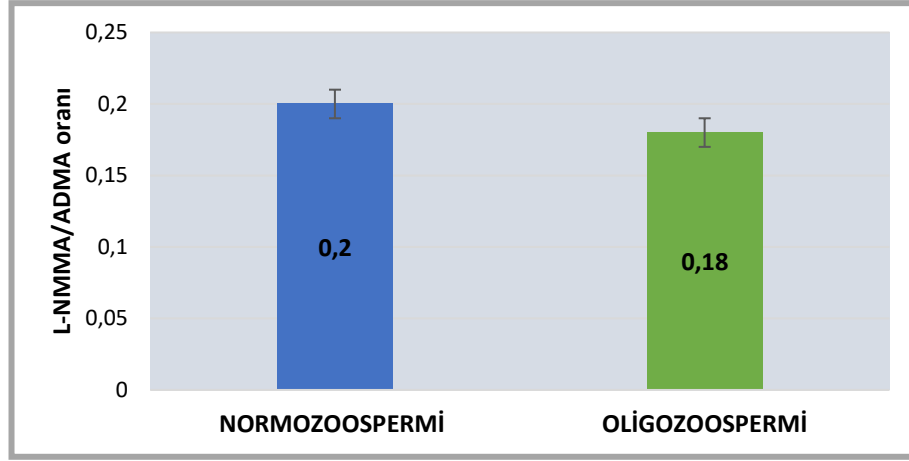
Şekil 3. 23. Normozoospermi ve oligozoospermi'e ait serum sitrulin düzeyleri



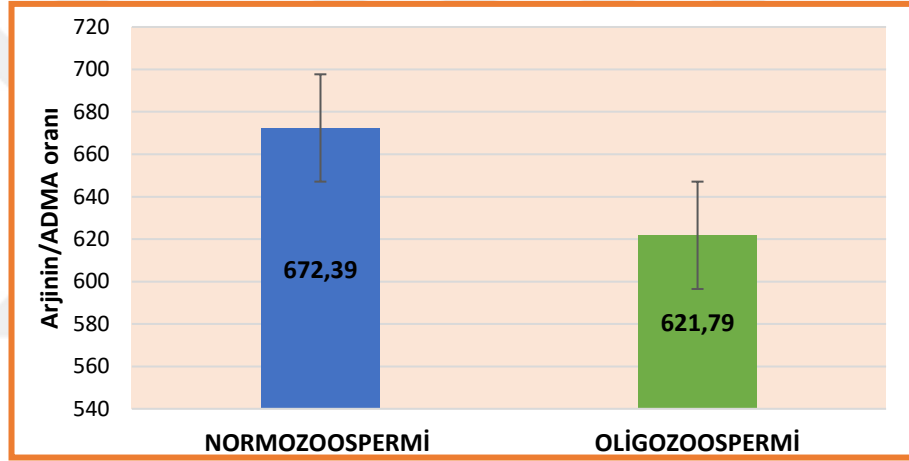
Şekil 3. 24. Normozoospermi ve oligozoospermi'e ait serum HArg düzeyleri



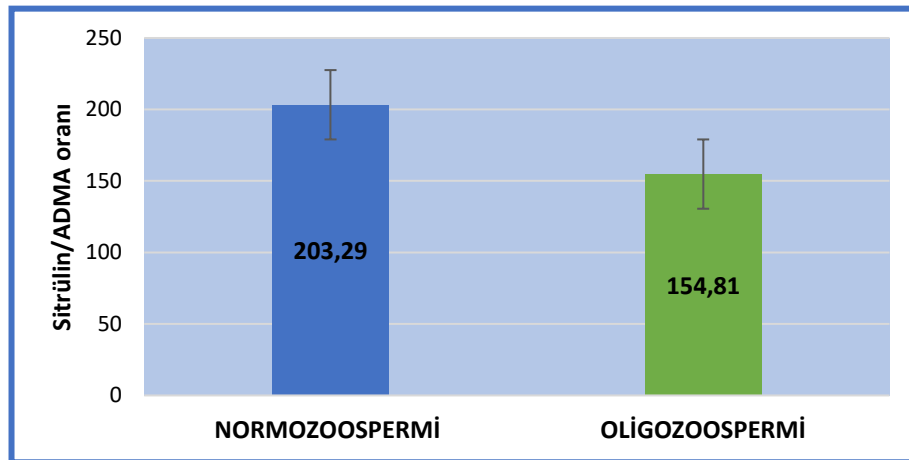
Şekil 3. 25. Normozoospermi ve oligozoospermi'e ait serum SDMA/ADMA düzeyleri



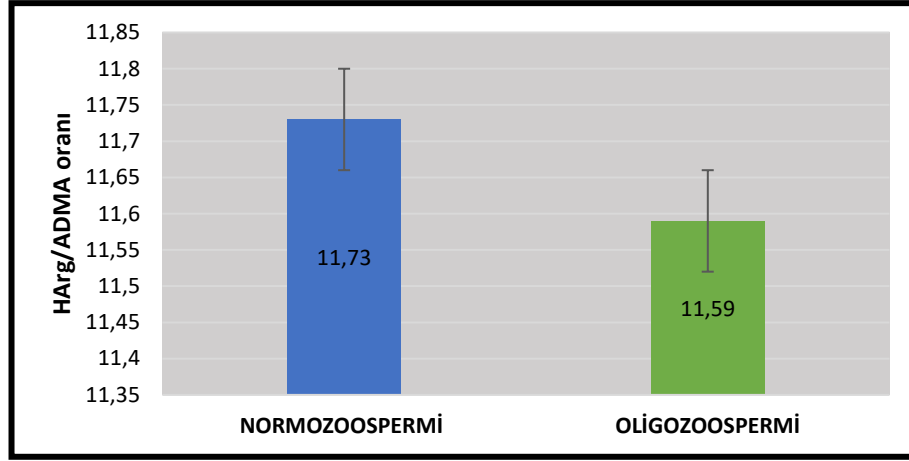
Şekil 3. 26. Normozoospermi ve oligozoospermi'e ait serum L-NMMA/ADMA düzeyleri



Şekil 3. 27. Normozoospermi ve oligozoospermi'e ait serum arjinin/ADMA düzeyleri



Şekil 3. 28. Normozoospermi ve oligozoospermi'e ait serum sitrulin/ADMA düzeyleri



Şekil 3. 29. Normozoospermi ve oligozoospermi'e ait serum HArg/ADMA düzeyleri

Çizelge 3. 4. Normozoospermi grubun ölçüm parametreleri ile semen parametreleri arasındaki korelasyon ve anlamlılık düzeyleri (n=30)

Semen Parametreleri	ADMA	SDMA	LNMA	Arjinin	Sitrulin	HArg	SDMA/ADMA	LNMA/ADMA	Arjinin/ADMA	Sitrulin/ADMA	HArg/ADMA
Yaş	0,469	0,352	0,167	0,593	0,775	0,758	0,238	0,044	0,906	0,862	0,962
pH	0,296	0,571	0,491	0,903	0,916	0,758	0,183	0,692	0,549	0,625	0,986
Volüme	0,155	0,994	0,482	0,959	0,210	0,492	0,366	0,016*	0,363	0,279	0,836
Konsantrasyon	0,217	0,174	0,571	0,730	0,678	0,335	0,730	0,353	0,610	0,366	0,658
Total Sayı	0,013*	0,090	0,728	0,752	0,480	0,128	0,966	0,010*	0,227	0,956	0,488
Motilite	0,189	0,300	0,312	0,838	0,101	0,061	0,920	0,608	0,519	0,214	0,174
Progresif Motilite	0,536	0,381	0,443	0,492	0,264	0,058	0,804	0,984	0,913	0,354	0,090
Non Progresif Motilite	0,157	0,794	0,655	0,275	0,335	0,840	0,441	0,290	0,097	0,564	0,417
İmmotilite	0,173	0,347	0,295	0,884	0,071	0,050	0,836	0,604	0,477	0,166	0,151
TPMSS	0,038*	0,116	0,672	0,642	0,444	0,072	0,938	0,042	0,391	0,835	0,276
Normal Sperm	0,445	0,511	0,375	0,963	0,781	0,566	0,843	0,063	0,640	0,919	0,353
Baş Anomalisi	0,983	0,977	0,225	0,856	0,614	0,372	0,803	0,201	0,867	0,674	0,359
Amorf Baş	0,222	0,230	0,018*	0,613	0,613	0,024*	0,966	0,387	0,721	0,372	0,052
Büyük Baş	0,061	0,008*	0,211	0,397	0,492	0,057	0,255	0,261	0,704	0,712	0,154
Küçük Baş	0,406	0,199	0,198	0,610	0,891	0,344	0,630	0,674	0,894	0,907	0,417
Uzun Baş	0,712	0,161	0,203	0,787	0,208	0,891	0,061	0,327	0,637	0,125	0,941
Multiple Baş	0,162	0,333	0,269	0,903	0,058	0,986	0,876	0,664	0,495	0,114	0,687
Boyun veya Kuyruk Anomalili Sperm	0,684	0,775	0,217	0,819	0,401	0,342	0,804	0,394	0,642	0,526	0,420
Boyun Orta Kısım Anomalisi	0,586	0,648	0,193	0,266	0,804	0,832	0,924	0,587	0,641	0,965	0,803
Kuyruk Anomalisi	0,349	0,422	0,991	0,567	0,848	0,484	0,297	0,351	0,365	0,894	0,589
Çift Kuyruk	0,913	0,175	0,733	0,433	0,340	0,391	0,243	0,768	0,562	0,272	0,405
Tail Stump	0,606	0,103	0,250	0,731	0,076	0,383	0,309	0,646	1,000	0,036*	0,456
Dag Defekt	0,455	0,534	0,752	0,078	0,251	0,301	0,346	0,343	0,099	0,345	0,331
Uzun Kuyruk	0,137	0,418	0,287	0,913	0,518	0,904	0,971	0,003*	0,339	0,984	0,658
Kısa Kuyruk	0,624	0,954	0,532	0,884	0,637	0,990	0,973	0,926	0,706	0,548	1,000
Tetratozoospermi İndeksi	0,534	0,288	0,663	0,253	0,914	0,537	0,253	0,338	0,254	0,954	0,652

(*p<0.05, **p<0.001)

Çizelge’de belirtildiği üzere normozoospermli bireylerin semen parametreleri ile ölçüm parametreleri düzeyleri arasındaki ilişkileri incelediğimizde; ADMA ile total sayı (p=0,013), TPMSS (p=0,038); SDMA ile büyük baş (p=0,008); HArg ile amorf baş (p=0,024);L-NMMA/ADMA oranı ile volüm(p=0,016), motilite (p=0,010), uzun kuyruk (p=0,003) ve Sitrulin/ADMA ile tail stump (p=0,036) aralarında önemli derecede korelasyon bulundu (Çizelge 3.4).

Çizelge 3. 5. Oligozoospermi grubun ölçüm parametreleri ile semen parametreleri arasındaki korelasyon ve anlamlılık düzeyleri (n=30)

Semen Parametreleri	ADMA	SDMA	LNMMMA	Arjinin	Sitrulin	HArg	SDMA/ADMA	LNMMMA/ADMA	Arjinin/ADMA	Sitrulin/ADMA	Harg/ADMA
Yaş	0,420	0,464	0,210	0,667	0,215	0,938	0,773	0,555	0,925	0,400	0,650
pH	0,601	0,720	0,154	0,419	0,040*	0,915	0,926	0,408	0,308	0,118	0,624
Volüme (ml)	0,088	0,514	0,028	0,096	0,269	0,848	0,518	0,282	0,424	0,786	0,224
Konsantrasyon (milyon/ml)	0,879	0,758	0,399	0,765	0,427	0,346	0,549	0,427	0,855	0,384	0,294
Total Sayı (milyon)	0,165	0,288	0,443	0,423	0,107	0,223	0,889	0,923	0,802	0,228	0,770
Motilite	0,749	0,585	0,884	0,329	0,561	0,771	0,264	0,839	0,439	0,690	0,625
Progrsif Motilite	0,548	0,823	0,687	0,506	0,852	0,797	0,363	0,817	0,776	0,969	0,532
Non Progresif Motilite	0,614	0,305	0,592	0,230	0,221	0,826	0,310	0,975	0,121	0,294	0,934
İmmotilite	0,749	0,585	0,884	0,329	0,561	0,771	0,264	0,839	0,439	0,690	0,625
TPMSS (Milyon)	0,113	0,278	0,252	0,669	0,148	0,326	0,813	0,802	0,789	0,299	0,997

(*p<0.05, **p<0.001)

Çizelgede belirlendiği üzere oligozoospermli bireylerin semen parametreleri ile ölçüm parametreleri düzeyleri arasındaki ilişkileri incelediğimizde sadece Sitrulin ile pH arasında (p=0,040) arasında önemli derecede korelasyon bulundu (Çizelge 3.5).

Çizelge 3. 6. Oligozoospermi grubuna ait ADMA, SDMA, L-NMMA, Arjinin, Sitrulin ve HArg Parametrelerinin Korelasyonu

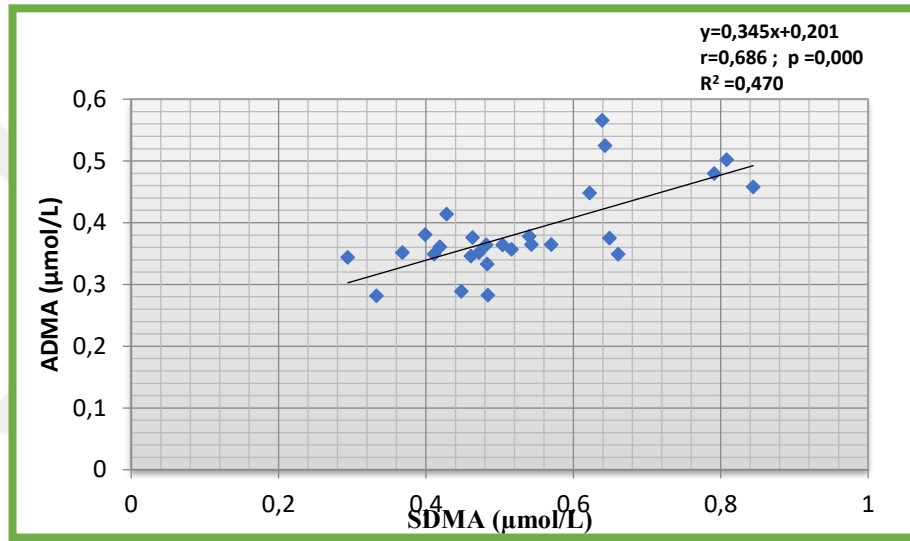
	Yaş	ADMA	SDMA	L-NMMA	Arjinin	Sitrulin	HArg
HArg	r	-0,016	NS	0,611**	NS	0,479*	NS
	p	0,938	NS	0,001	NS	0,011	NS
Sitrulin	r	NS	NS	NS	0,595**	NS	1
	p	NS	NS	NS	0,001	NS	
Arjinin	r	NS	0,392*	NS	0,458*	1	
	p	NS	0,043	NS	0,016		
L-NMMA	r	NS	0,419*	NS	1		
	p	NS	0,03	NS			
SDMA	r	NS	0,686**	1			
	p	NS	0,000				
ADMA	r	NS	1				
	p	NS					
Yaş	r	1					
	p						

(NS: Önemli değil, Korelasyon değerlendirmesinde korelasyon katsayısı (r); r: 0,00–0,24 arası zayıf, r:0,25–0,49 arası orta, r:0,50–0,74 arası güçlü, r:0,75–1,00 arası çok güçlü ilişki olduğu görülmektedir.

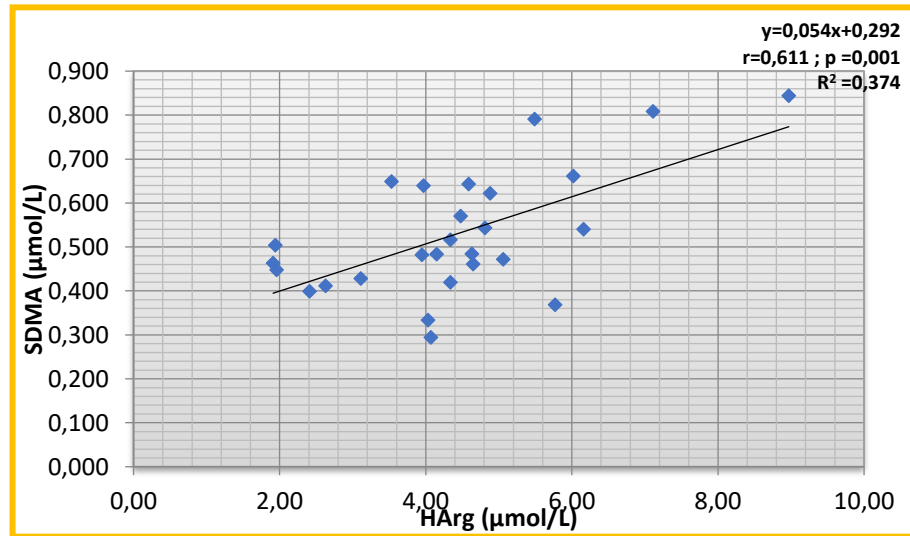
*p<0.05, **p<0.001, ADMA (µM/L): Asimetrik Dimetil Arjinin, SDMA (µM/L): Simetrik Dimetil Arjinin, L-NMMA (µM/L): NG Monometil Larjinin, HArg : Homoarjinin, µM/L).

ADMA değerleri SDMA ($r=0,686^{**}$; $p=0,000$) (Şekil 3.30), ile arasında pozitif yönde, güçlü korelasyon bulunur iken L-NMMA ($r=0,419^{*}$; $p=0,03$) ve Arjinin ($r=-0,392^{*}$; $p=0,043$) ile aralarında ise pozitif yönde orta derecede korelasyon bulundu. Serum SDMA seviyelerinin, HArg ($r=0,611^{**}$; $p=0,001$)(Şekil 3.31) ile arasında güçlü pozitif bir korelasyon bulundu.

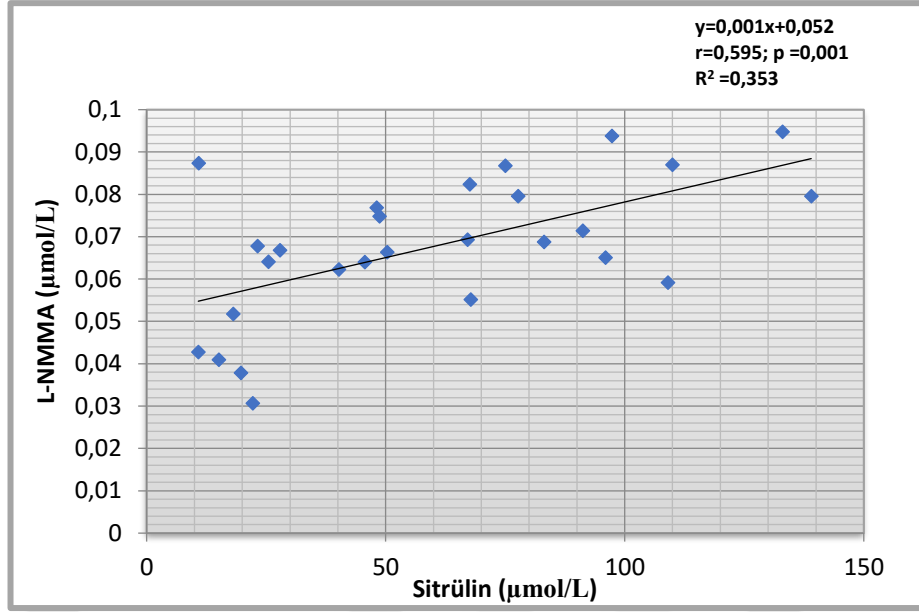
L-NMMA değeri ile Sitrulin ($r=0,595^{**}$; $p=0,001$)(Şekil 3.32) ile aralarında güçlü pozitif korelasyon bulunur iken Arjinin ($r=0,458^{*}$; $p=0,016$) arasında orta derecede pozitif korelasyon bulundu. Arjinin değeri ile HArg ($r=0,479^{*}$; $p=0,011$) arasında orta derecede pozitif korelasyon bulundu (Çizelge 3.6).



Şekil 3. 30. Oligozoospermi grubuna ait ADMA ve SDMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 3. 31. Oligozoospermi grubuna ait HArg ve SDMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 3. 32. Oligozoospermi grubuna ait Sitrulin ve L-NMMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği

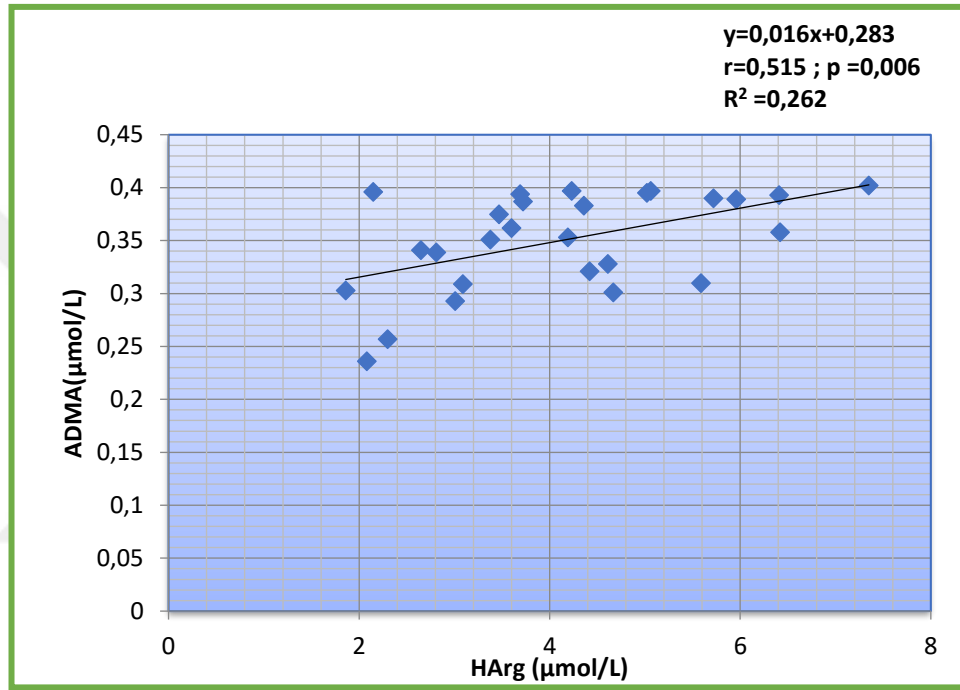
Çizelge 3. 7. Normozoospermi grubuna ait ADMA, SDMA, L-NMMA, Arjinin, Sitrulin ve HArg Parametrelerinin Korelasyonu

		Yaş	ADMA	SDMA	L-NMMA	Arjinin	Sitrulin	HArg
HArg	r	NS	0,515**	0,523**	0,698**	NS	NS	1
	p	NS	0,006	0,005	0,000	NS	NS	
Sitrulin	r	NS	NS	NS	-0,053	-0,143	1	
	p	NS	NS	NS	0,795	0,478		
Arjinin	r	NS	-0,072	0,400*	NS	1		
	p	NS	0,72	0,039	NS			
L-NMMA	r	-0,274	0,502**	0,457*	1			
	p	0,167	0,008	0,017				
SDMA	r	-0,186	NS	1				
	p	0,352	NS					
ADMA	r	NS	1					
	p	NS						
Yaş	r	1						
	p							

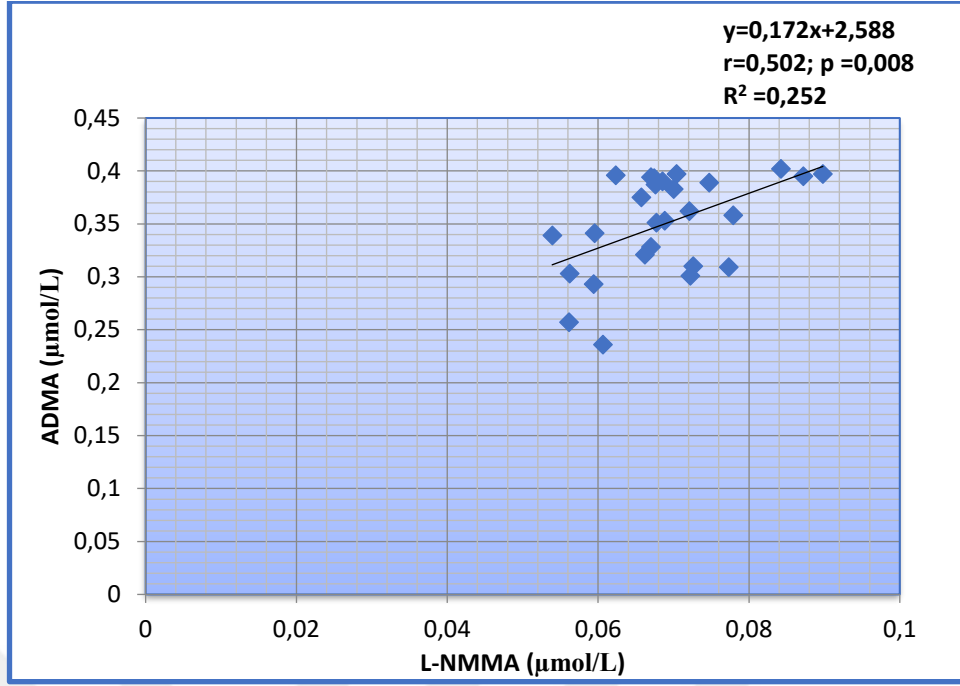
(NS: Önemli değil, Korelasyon değerlendirmesinde korelasyon katsayısı (r); r: 0,00–0,24 arası zayıf, r:0,25–0,49 arası orta, r:0,50–0,74 arası güçlü, r:0,75–1,00 arası çok güçlü ilişki olduğu görülmektedir. *p<0.05, **p<0.001, ADMA (µM/L): Asimetrik Dimetil Arjinin, SDMA (µM/L): Simetrik Dimetil Arjinin, L-NMMA (µM/L): NG Monometil Larjinin, HArg : Homoarjinin, µM/L).

Normozoospermi grubu ile yaş, ADMA, SDMA, L-NMMA, Arjinin, Sitrulin ve HArg değerleri arasındaki korelasyon ilişkisi Çizelge 3.7’de gösterilmektedir.

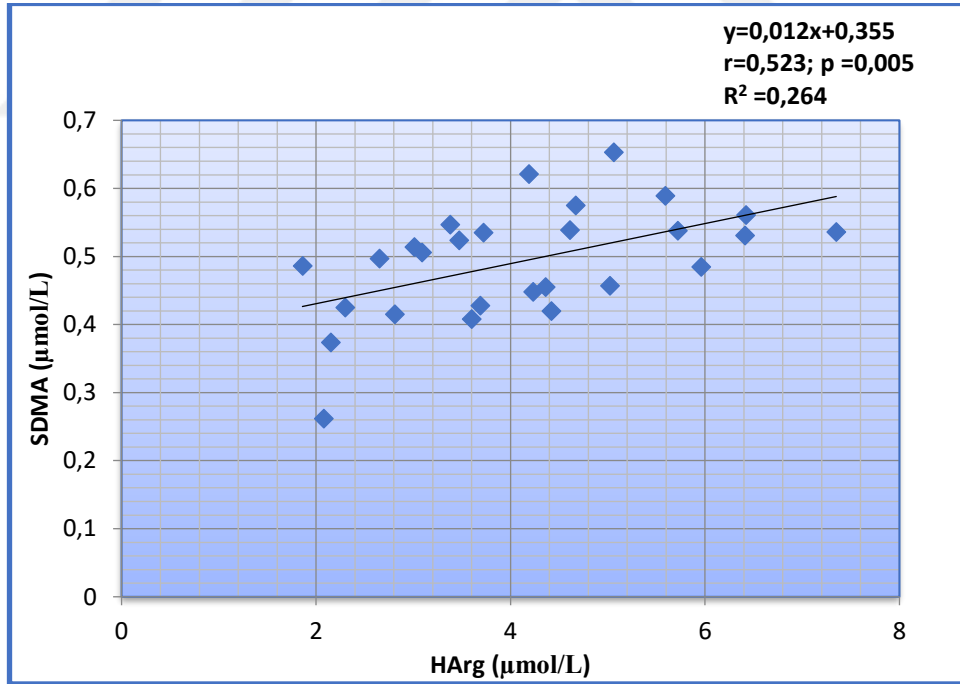
ADMA değerleri ile HArg ($r=0,515^{**}$; $p=0,006$)(Şekil 3.33)ve L-NMMA değeri ($r=0,502^{**}$; $p=0,008$)(Şekil 3.34) ile pozitif gl korelasyon bulundu.SDMA değeri ile HArg ($r=0,523^{**}$; $p=0,005$)(Şekil 3.35) arasında gl pozitif korelasyon gösterirken, Arjinin ($r=0,400^{*}$; $p=0,039$) ve L-NMMA ($r=0,457^{*}$; $p=0,017$) aralarında orta derecede pozitif korelasyon bulundu. L-NMMA değeri ile HArg değeri ($r=0,698^{**}$; $p= 0,000$) (Şekil 3.36) arasında çok gl pozitif korelasyon bulundu.



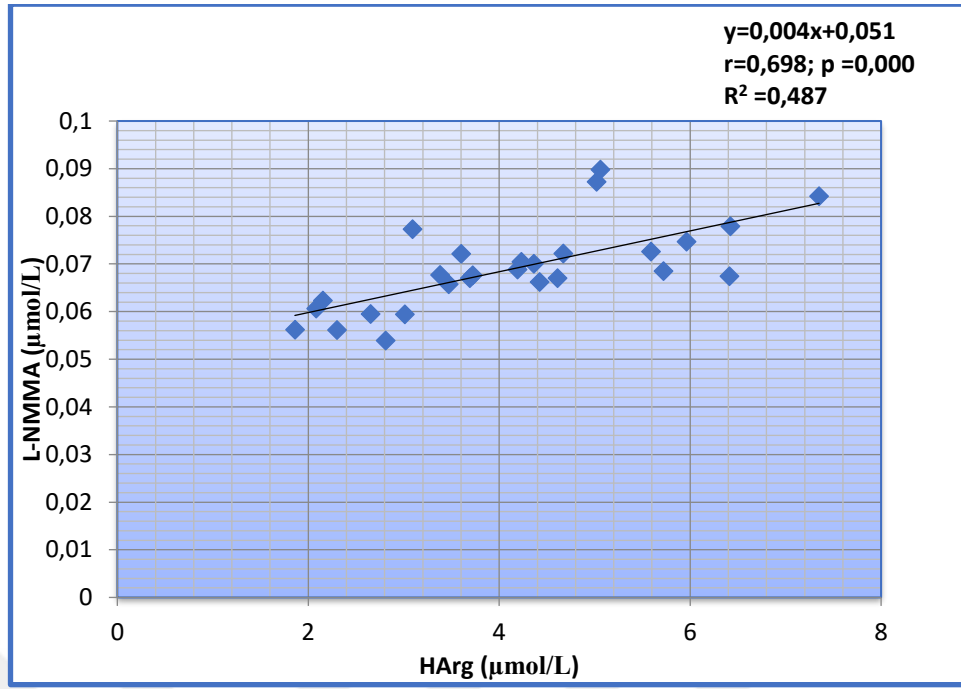
Şekil 3. 33. Normozoospermi grubuna ait ADMA ve HArg değerleri arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 3. 34. Normozoospermi grubuna ait ADMA ve L-NMMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 3. 35. Normozoospermi grubuna ait SDMA ve HArg değerleri arasındaki korelasyon grafiği

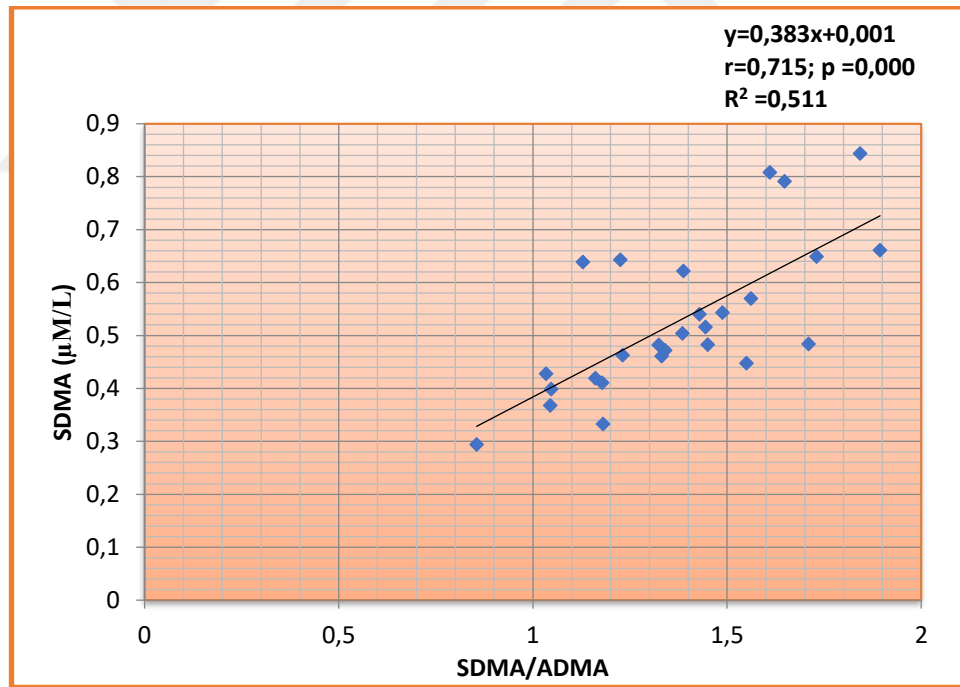


Şekil 3. 36. Normozoospermi grubuna ait L-NMMA ve HArg değerleri arasındaki korelasyon grafiği

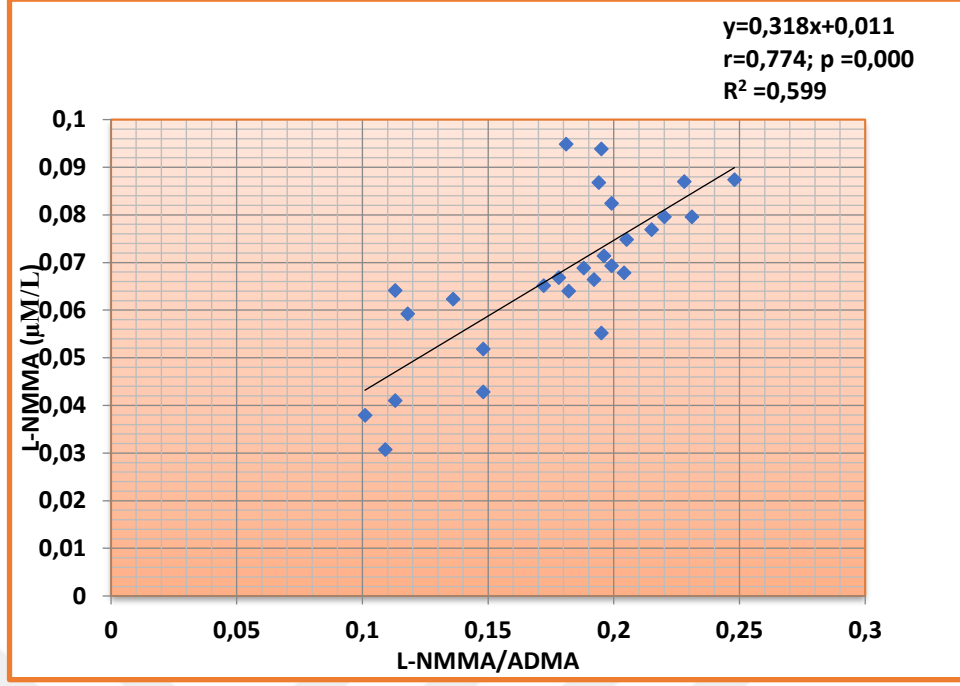
Çizelge 3. 8. Oligozoospermi grubuna ait SDMA/ADMA, L-NMMA/ADMA, Arjinin/ADMA, Sitrulin/ADMA ve HArg/ADMA Parametrelerinin Korelasyonu						
		SDMA/ADMA	LNMMA/ADMA	Arjinin/ADMA	Sitrulin/ADMA	HArg/ADMA
Yaş	r	NS	NS	NS	NS	-0,091
	p	NS	NS	NS	NS	0,65
ADMA	r	-0,003	-0,231	-0,169	NS	-0,156
	p	0,987	0,246	0,399	NS	1,437
SDMA	r	0,715**	-0,37	NS	NS	NS
	p	0,000	0,057	NS	NS	NS
LNMMA	r	-0,279	0,774**	NS	0,509**	-0,081
	p	0,159	0,000	0,131	0,007	0,688
Arjinin	r	-0,262	NS	0,833**	NS	NS
	p	0,187	NS	0,000	NS	NS
Sitrulin	r	-0,02	NS	-0,085	0,952**	NS
	p	0,919	NS	0,675	0,000	NS
HArg	r	0,463*	-0,082	NS	NS	0,864**
	p	0,015	0,686	NS	NS	0,000

(NS: Önemli değil, Korelasyon değerlendirmesinde korelasyon katsayısı (r); r: 0,00–0,24 arası zayıf, r:0,25–0,49 arası orta, r:0,50–0,74 arası güçlü, r:0,75–1,00 arası çok güçlü ilişki olduğu görülmektedir. *p<0.05, **p<0.001, ADMA (µM/L): Asimetrik Dimetil Arjinin, SDMA (µM/L): Simetrik Dimetil Arjinin, L-NMMA (µM/L): NG Monometil Larjinin, HArg : Homoarjinin, µM/L)

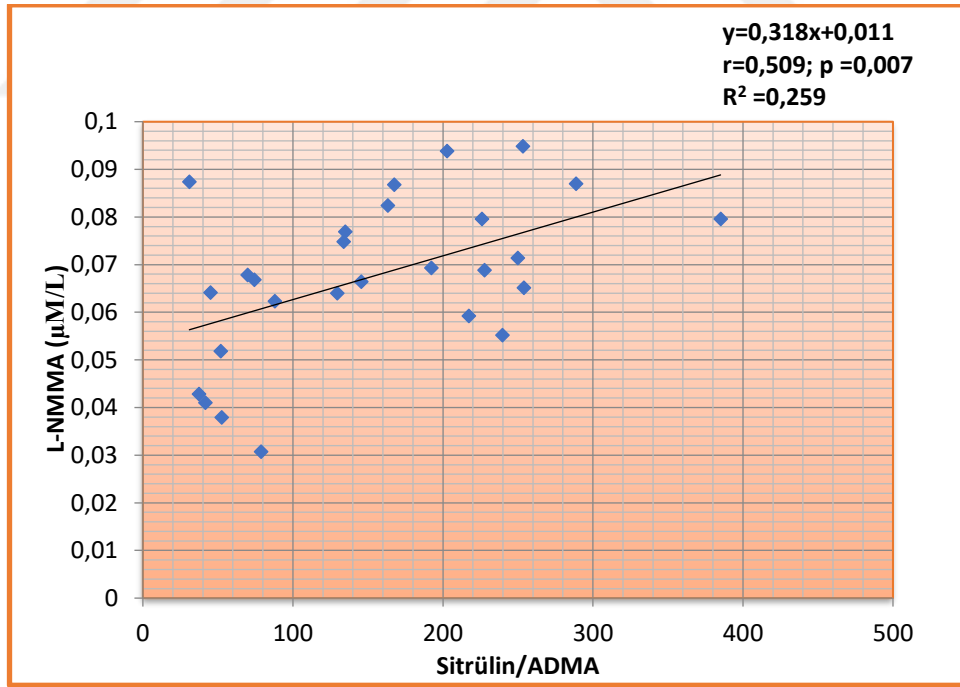
Oligozoospermi grubu ile yaş, ADMA, SDMA, L-NMMA, Arjinin, Sitrulin ve HArg değerleri ile SDMA/ADMA, L-NMMA/ADMA, Arjinin/ADMA, Sitrulin/ADMA ve HArg/ADMA oranları arasındaki korelasyon ilişkisi Çizelge 3.8’de gösterilmektedir. SDMA değeri ile SDMA/ADMA oranı ($r=0,715^{**}$; $p=0,000$) (Şekil 3.37) arasında çok güçlü pozitif korelasyon bulundu. L-NMMA değeri ile L-NMMA/ADMA oranı ($r=0,774^{**}$; $p=0,000$) (Şekil 3.32) ve Sitrulin/ADMA oranı ($r=0,509^{**}$; $p=0,007$) (Şekil 3.38) ile arasında çok güçlü pozitif korelasyon bulundu. Arjinin değeri ile Arjinin/ADMA oranı ($r=0,833^{**}$; $p=0,000$) (Şekil 3.40) arasında çok güçlü korelasyon görüldü. Sitrulin değerleri ile Sitrulin/ADMA oranı ($r=0,952^{**}$; $p=0,000$) (Şekil 3.41) arasında çok güçlü pozitif korelasyon bulundu. HArg değerleri ile HArg/ADMA oranı ($r=0,864^{**}$; $p=0,000$) (Şekil 3.42) arasında çok güçlü pozitif korelasyon bulunur iken SDMA/ADMA ($r=0,463^{*}$; $p=0,015$) arasında güçlü korelasyon bulundu.



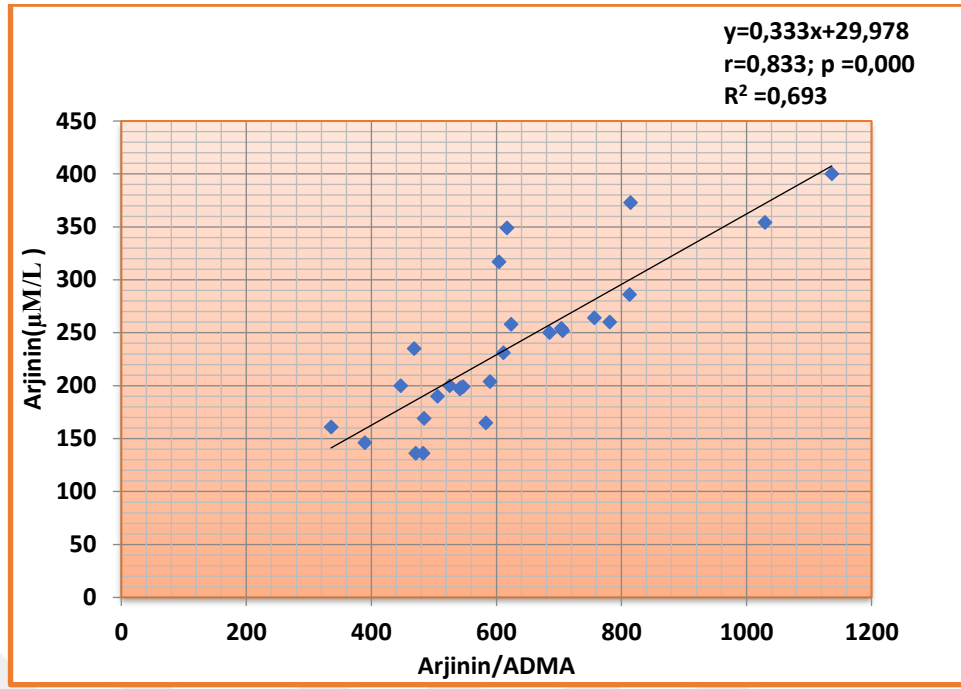
Şekil 3. 37. Oligozoospermi grubuna ait SDMA ve SDMA/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği



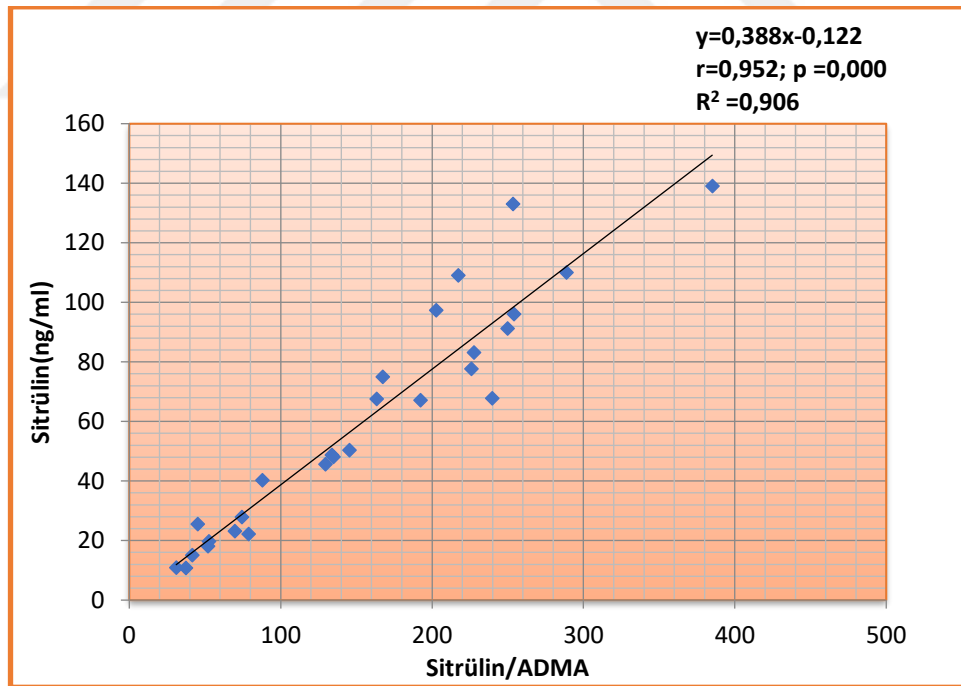
Şekil 3. 38. Oligozoospermi grubuna ait L-NMMA ve L-NMMA/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği



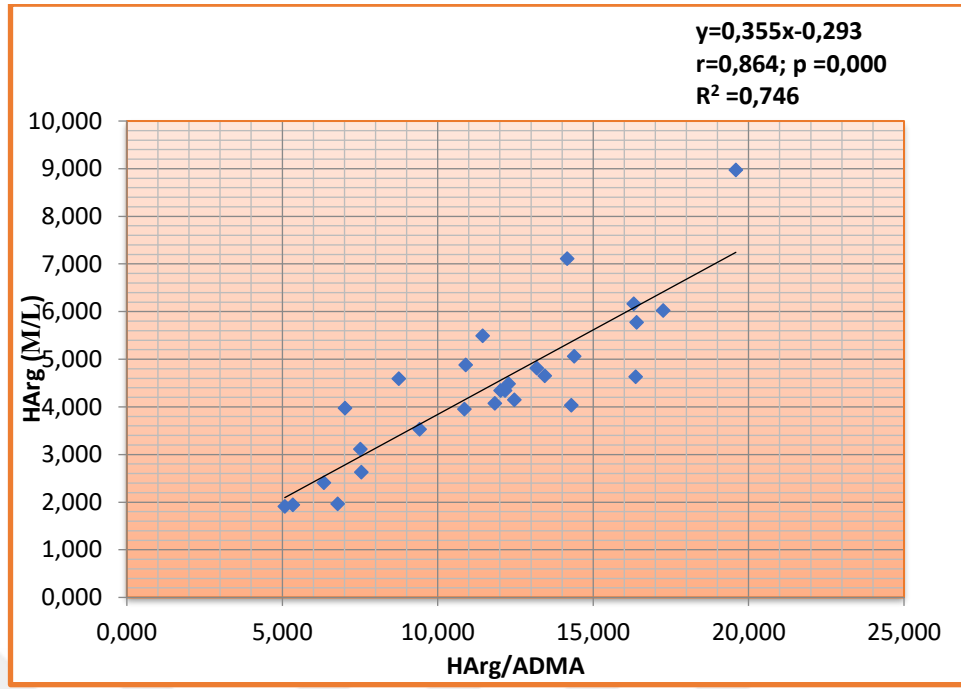
Şekil 3. 39. Oligozoospermi grubuna ait L-NMMA ve Sitrülin/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 3. 40. Oligozoospermi grubuna ait Arjinin ve Arjinin/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 3. 41. Oligozoospermi grubuna ait Sitrulin ve Sitrulin/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 3. 42. Oligozoospermi grubuna ait HArg ve HArg/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği

Çizelge 3. 9. Normozoospermi grubuna ait SDMA/ADMA, L-NMMA/ADMA, Arjinin/ADMA, Sitrulin/ADMA ve HArg/ADMA Parametrelerinin Korelasyonu

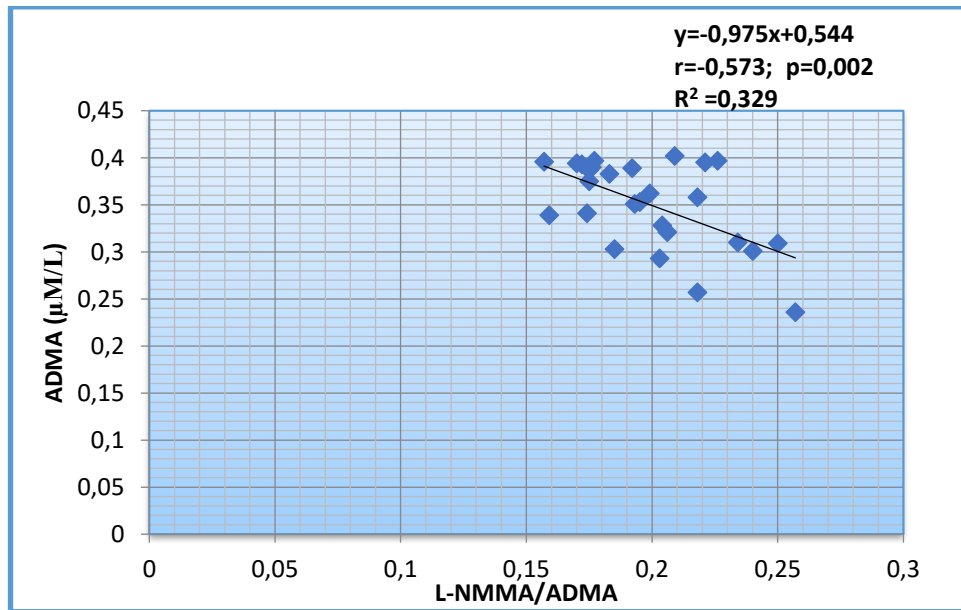
		SDMA/ADMA	L-NMMA/ADMA	Arjinin/ADMA	Sitrulin/ADMA	HArg/ADMA
Yaş	r	-0,235	-0,390*	NS	NS	-0,01
	p	0,238	0,044	NS	NS	0,962
ADMA	r	-0,456*	-0,573**	-0,646**	NS	NS
	p	0,017	0,002	0,000	NS	NS
SDMA	r	0,722**	NS	NS	-0,023	0,513**
	p	0,000	NS	NS	0,91	0,006
LNMMA	r	NS	0,411*	-0,082	-0,209	0,602**
	p	NS	0,033	0,686	0,295	0,001
Arjinin	r	0,429*	NS	0,804**	-0,102	0,385*
	p	0,026	NS	0,000	0,613	0,048
Sitrulin	r	-0,214	-0,432*	-0,313	0,949**	NS
	p	0,284	0,025	0,111	0,000	NS
HArg	r	NS	NS	-0,085	-0,003	0,936**
	p	NS	NS	0,674	0,988	0,000

(NS: Önemli değil, Korelasyon değerlendirmesinde korelasyon katsayısı (r); r: 0,00–0,24 arası zayıf, r:0,25–0,49 arası orta, r:0,50–0,74 arası güçlü, r:0,75–1,00 arası çok güçlü ilişki olduğu görülmektedir.

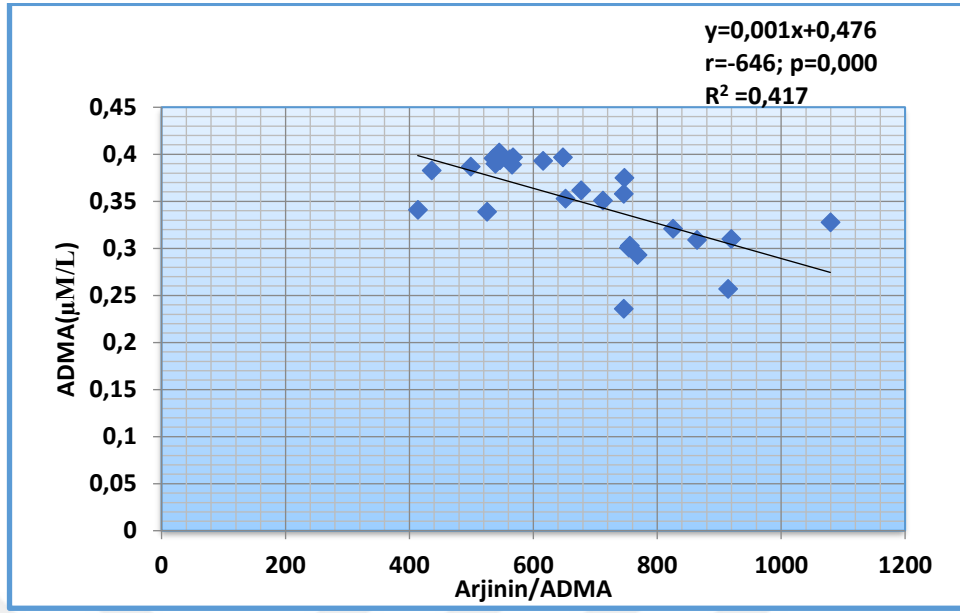
*p<0.05, **p<0.001, ADMA (µM/L): Asimetrik Dimetil Arjinin, SDMA (µM/L): Simetrik Dimetil Arjinin, L-NMMA (µM/L): NG Monometil Larjinin, HArg : Homoarjinin, µM/L)

Normozoospermi grubu ile yaş, ADMA, SDMA, L-NMMA, Arjinin, Sitrulin ve HArg değerleri ile SDMA/ADMA, L-NMMA/ADMA, Arjinin/ADMA, Sitrulin/ADMA ve HArg/ADMA oranları arasındaki korelasyon ilişkisi Çizelge 3.9’de gösterilmektedir. Çizelge 3.9’da görüldüğü gibi yaş ile L-NMMA/ADMA oranı ($r=-0,390^*$; $p=0,044$) arasında orta negatif korelasyon bulundu.

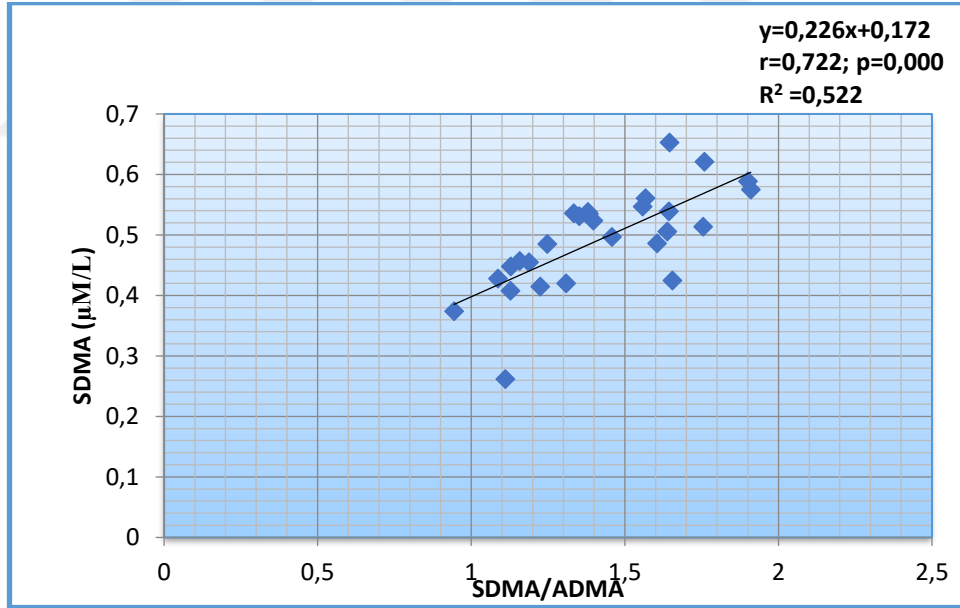
ADMA değeri ile L-NMMA/ADMA oranı ($r=-0,573^{**}$; $p=0,002$) (Şekil 3.43) ve Arjinin/ADMA oranı ($r=-0,646^{**}$; $p=0,000$) (Şekil 3.44) arasında güçlü negatif korelasyon bulunurken, SDMA/ADMA oranı ($r=-0,456^*$, $p=0,017$) arasında negatif orta derecede korelasyon bulundu. SDMA değeri ile SDMA/ADMA oranı ($r=0,722^{**}$; $p=0,002$) (Şekil 3.45) arasında çok güçlü ve HArg/ADMA ($r=0,513^{**}$; $p=0,006$) (Şekil 3.46) arasında güçlü pozitif korelasyon bulundu. L-NMMA değeri ile HArg/ADMA oranı ($r=0,602^{**}$; $p=0,001$) (Şekil 3.47) arasında çok güçlü ve L-NMMA/ADMA ($r=0,411^*$; $p=0,033$) arasında güçlü pozitif korelasyon bulundu. Arjinin değeri ile Arjinin/ADMA oranı ($r=0,804^{**}$; $p=0,000$) (Şekil 3.48) arasında çok güçlü ve SDMA/ADMA oranı ($r=0,429^*$; $p=0,026$), HArg/ADMA ($r=0,385^*$; $p=0,048$) arasında güçlü pozitif korelasyon görüldü. Sitrulin değerleri ile Sitrulin/ADMA oranı ($r=0,949^{**}$; $p=0,000$) (Şekil 3.49) arasında çok güçlü pozitif, L-NMMA/ADMA ($r=-0,432^*$; $p=0,025$) arasında negatif orta derecede korelasyon bulundu. HArg değerleri ile HArg/ADMA oranı ($r=0,936^{**}$; $p=0,000$) (Şekil 3.50) arasında güçlü pozitif korelasyon bulundu.



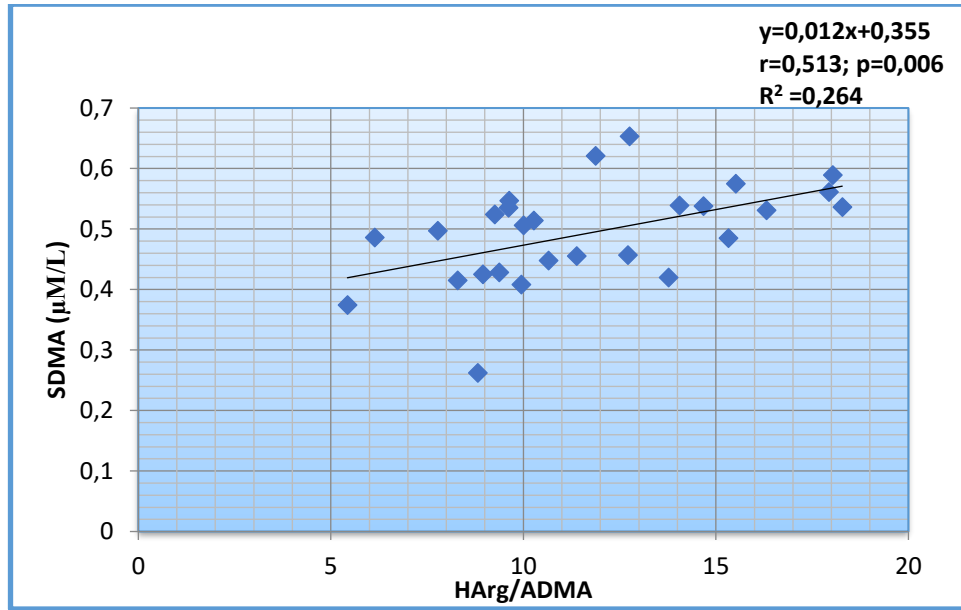
Şekil 3. 43. Normozoospermi grubuna ait ADMA ve L-NMMA/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği



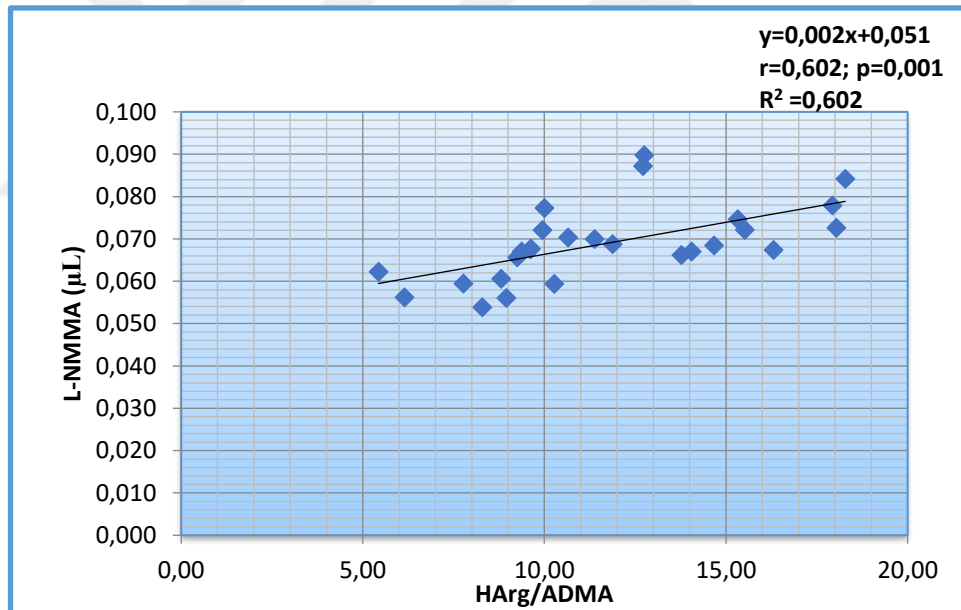
Şekil 3. 44. Normozoospermi grubuna ait ADMA ve Arjinin/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği



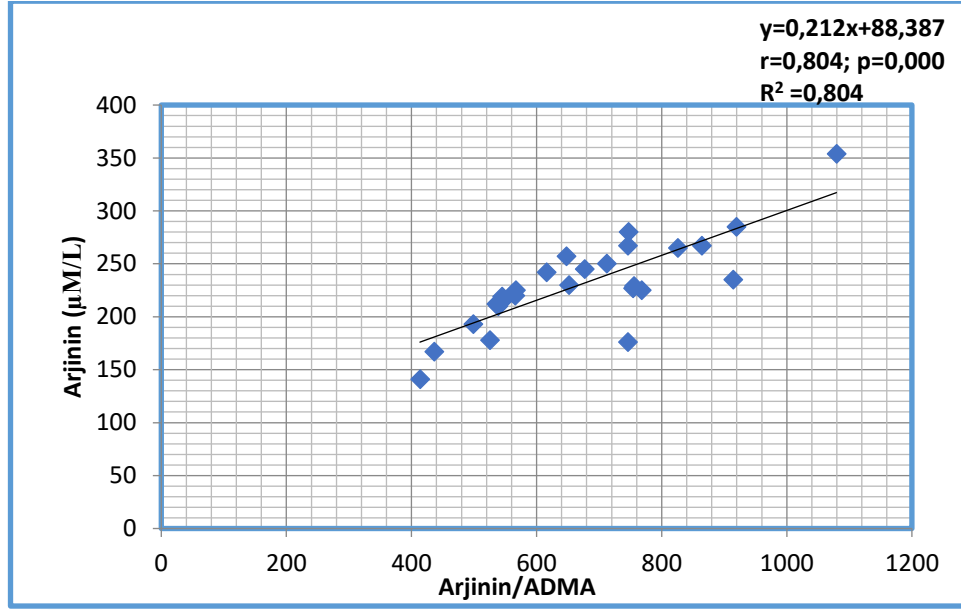
Şekil 3. 45. Normozoospermi grubuna ait SDMA ve SDMA/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği



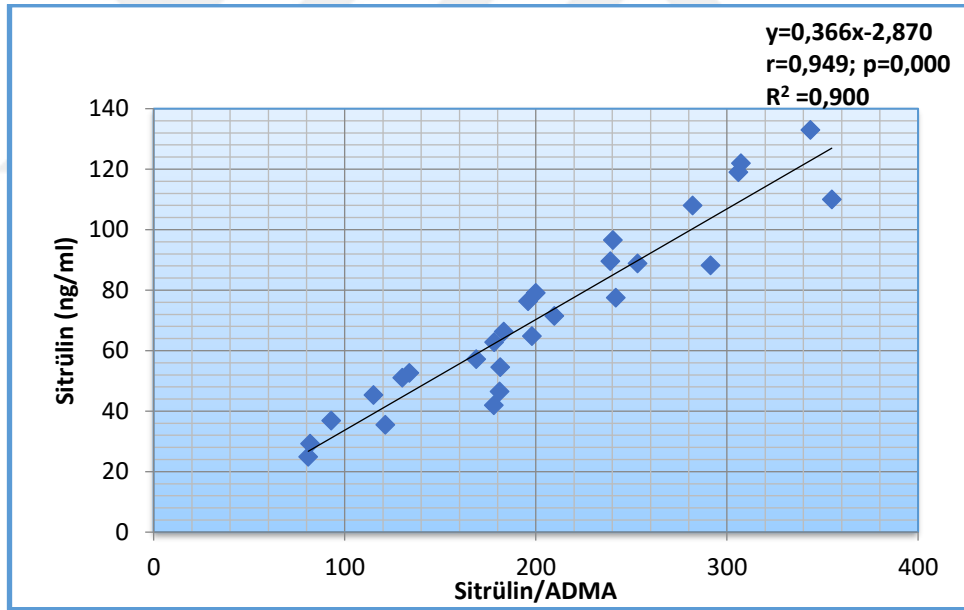
Şekil 3. 46. Normozoospermi grubuna ait SDMA ve HArg/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği



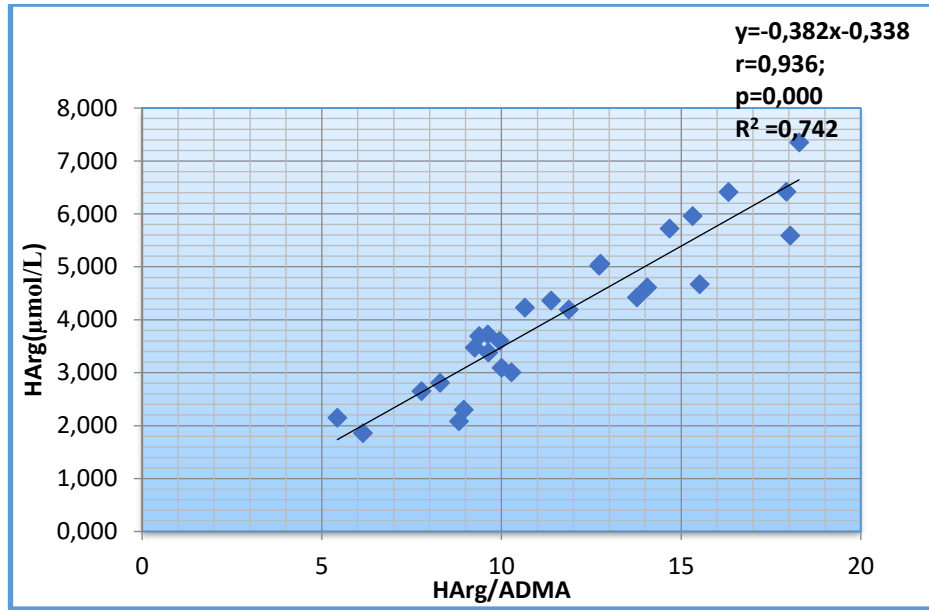
Şekil 3. 47. Normozoospermi grubuna ait L-NMMA ve HArg/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 3. 48. Normozoospermi grubuna ait Arjinin ve Arjinin/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği

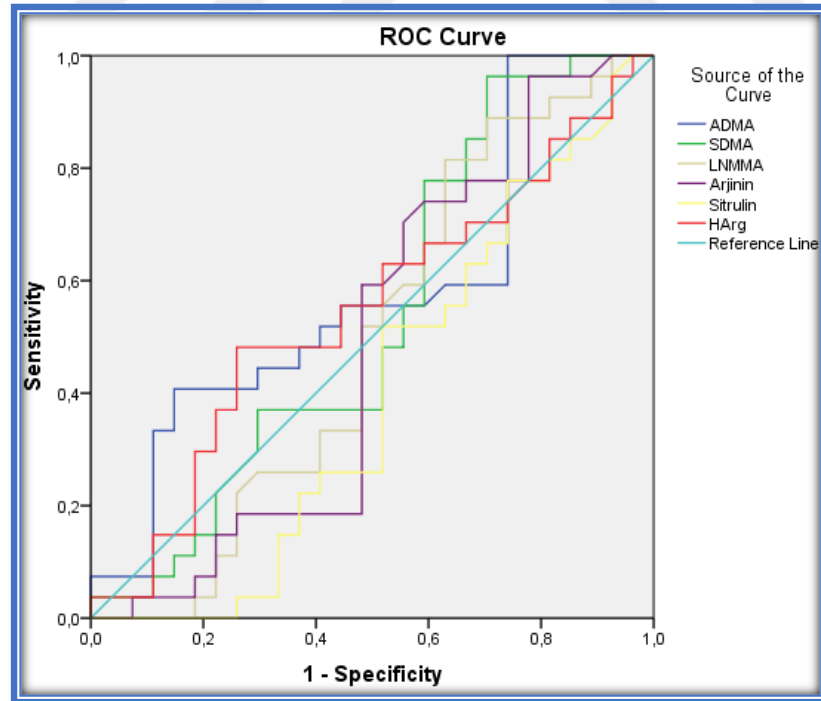


Şekil 3. 49. Normozoospermi grubuna ait Sitrulin ve Sitrulin/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği



Şekil 3. 50. Normozoospermi grubuna ait HArg ve HArg/ADMA değerleri arasındaki korelasyon grafiği

Normozoospermi ve oligozoospermi tanısı koydurma sınır değerlerini belirlemek için ROC (Receiver Operating Characteristic) analizi yapıldı. Bu değerlendirmeye ait sonuçlar Şekil 3.51’de sunuldu.



Şekil 3. 51. Normozoospermi ve oligozoospermi gruplarının Metil Arjinin düzeyleri ile ön tanı koydurucu ROC eğrisi

Bu analiz üzerinden yapılan değerlendirmede normozoospermi ve oligozoospermi gruplarının Metil Arjinin düzeyleri ile ön tanı koydurmada en başarılı yöntem olarak eğri altında kalan alanın en fazla ve güven aralığının en dar olması gereklidir. Çalışmamızda ADMA düzeylerindeki sınır 0,363 $\mu\text{M/L}$ iken bunun üstündeki değerler oligozoospermili, bunun altındaki değerler normozoospermi bireyine ait kan serum örnekleridir.

Çizelge 3. 10. Normozoospermi ve oligozoospermi gruplarının Metil Arjinin düzeyleri ile ön tanı koydurucu sınır değerleri ve bunlara ait veriler

Parametreler	Doğruluk	Sınır Değer	p	Sensitif (%)	Specifity (%)
ADMA	58,0	0,363	0,316	55,6	44,4
SDMA	53,6	0,501	0,647	48,1	51,9
L-NMMA	49,2	0,068	0,924	51,9	48,1
Arjinin	48,4	228	0,836	51,9	48,1
Sitrulin	39,6	65,60	0,192	48,1	51,9
HArg	54,5	4,285	0,568	55,6	44,4

Çalışmamızda normozoospermi ve oligozoospermi gruplarının Metil Arjinin düzeyleri ile ön tanı koymada en yüksek doğruluk alanı %58 ve sınır değer 0,363 $\mu\text{M/L}$ ADMA düzeyine aittir. Doğruluk alanı en yüksekte en düşük'e sırası ile ADMA, HArg, SDMA, L-NMMA, Arjinin ve Sitrulin bulundu ( izelge 3.10) (şekil 3.50).

4.TARTIŞMA

Erkeklerde infertilite, oniki ay bir erkeğin normal bir kadın ile korunmaksızın cinsel ilişkiye girmesine rağmen çocuk sahibi olmaması olarak tanımlanmaktadır. Evli çiftlerde %10-15 oranında infertilite görülmektedir. İnfertiliteye sebep olan faktör dikkate alınırsa kadına ait, erkeğe ait ve açıklanamayan nedenler olmak üzere 3 ana başlık altında incelenmektedir (Lee ve ark 2001). İnfertilite nedenlerini araştırmak için gonad ve spermin fonksiyon üzerine yapılan çalışmalar son yıllarda artış göstermektedir. Erkek infertilitesinde sperm fonksiyon bozukluğu çevresel, fizyolojik ve genetik birçok faktör etkilidir (Aitken ve Clarkson 1987, Carlsen ve ark 1992, Cummins ve ark 1994, Agarwal ve Allamaneni^o 2011).

Erkek ürogenital sisteminde çok yönlü birçok fonksiyonun düzenlenmesini sağlayan serbest radikallerden biri olan NO'tır. Ürogenital sistemin epitelyum hücreleri tarafından üretilen NO, penis ereksiyonunu, sperm motilitesini, hiperaktivasyonda, kapasitasyon, akrozom reaksiyonu ve metabolizmasını düzenlemektedir (McCann ve ark 1999, Revelli ve ark 1999).

ADMA, son yıllarda birçok fonksiyon üzerinde düzenleyici rol oynayan nitrik oksit (NO)'i inhibe etmesi nedeniyle en çok çalışma yapılan moleküllerden biri haline gelmiştir. Birçok hastalığın teşhisinde özellikle kardiyovasküller hastalıkların belirteçi olabilir mi? sorusuna cevap aranmaktadır. Ayrıca ADMA sentezinde ve yıkımından sorumlu enzimler çeşitli hastalıklarda aktivite değiştirdiği bildirilmektedir. ADMA düzeyindeki artış ve azalışlar PRMT1 aktivitesini etkilediğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır. Son yapılan çalışmalarda ise ADMA'nın endotel disfonksiyonuna sebep olduğunu bildirilmiştir. Bu sebepten dolayı pek çok hastalığın patogenetizinde endotel disfonksiyonuna sebep olması ADMA seviyesi önemi bir kez daha ortaya konulmuştur. Sadece ADMA değil ADMA ve metilenmiş arjinin türevlerinin önemini bir kez daha artırmıştır (Alacam ve ark 2013). Çalışmamızda, oligozoospermi grubunun ADMA düzeyleri normozoospermi grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu bulundu. Çalışmamızın sonucunda erkeklerde sperm sayısı azaldıkça ADMA seviyesinde artış gösterdiği görüldü.

Erkek infertilite sebebi damar endotelinden kaynaklı NO ve NO sentezi için gerekli olan NOS enziminin yarışmalı inhibitörü olan ADMA'dan kaynaklı olabilir. Erkek genital sistem birçok damar ağı tarafından beslenmektedir. Damar endotelinden salgılanan NO'nun damarların üzerine etkisinin olduğu bilinmektedir. NO sentezinin

düzenli ve gerekli miktarda olması vücudumuzdaki sistemler açısından oldukça önemlidir. Nitrik oksit sentezi için gerekli olan NOS enziminin yarışmalı inhibitörü olan ADMA, NO sentezinin kontrolünde önemli bir role sahiptir. ADMA miktarında artış meydana geldiğinde NO düzeyi azalmaktadır. Bu sebeple de kan damar sisteminde bazı değişiklikler meydana gelmektedir (Boger ve ark 2000). Vasküler endotelde gerçekleşen bu reaksiyonda ADMA, NOS aktivitesini inhibe ederek L-Arjininin hücre içine alınımını engeller. NO'nun fonksiyonu; vasküler homeostazın sağlanmasıdır. Ortamda NO azaldığında, endotel homeostaz vazokonstriksiyon lehine bozulur ve endotelyal disfonksiyon başlar (Endemann ve Schiffrin 2004). Çalışmamızda oligozoospermli bireylerin ADMA düzeylerindeki artış ile NO sentezinin inhibe edebileceğine ve bu azalmanın endotel hasarına sebep olabileceğini düşünmekteyiz. Bununla birlikte NO konsantrasyonları infertilite üzerine olan etkilerini araştıran farklı çalışmalar da mevcuttur. Çalışmamızda Oligozoospermi hastalarının ADMA miktarındaki artış NO düzeyindeki azalma ile birlikte kan damar sisteminde bazı değişiklikler olabileceği ve infertiliteye sebep olabileceği düşüncesindeyiz.

Varikosel infertiliteye neden olan spermatogenezi etkileyen en yaygın nedenlerden biridir. Kiziler ve arkadaşları 2015 yılında varikoseli olan hastaların ameliyat öncesi sperm sayısı ml'de 37.76 ± 6.96 ve ameliyat sonrası 38.41 ± 6.99 hastaların periferik kan plazmasındaki ADMA, NO konsantrasyonlarını karşılaştırdıkları çalışmalarında, varikosel hastaların ameliyat öncesi ADMA konsantrasyonlarını, ameliyat sonrasına göre istatistiksel olarak yüksek, NO konsantrasyonlarını ise istatistiksel olarak düşük bulmuşlardır (Kiziler ve ark 2015). Çalışmamızdaki normozoospermli bireyler ile çalışmalarında ameliyat öncesine ve sonrasındaki ADMA değerleri daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamızda ilerleyen zamanlarda NO değeri ile ADMA ilişkisi ortaya konulabilir.

Kemirgen ve insan plazmasında gerçekleştirilen çalışmalarda ADMA seviyesinin artışı ile reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışı ilişkilendirilmiştir. ROS üretimindeki artış ile meydana gelen vasküler dokudaki oksidatif stresin ADMA seviyesinde artışa sebep olabileceği üzerinde araştırmalar yapılmıştır (Boger ve ark 2000) (Sydow ve Münzel 2003). Oksidatif stresin ADMA'yı metabolize eden DDAH enzimin aktivitesini azalttığına dair gittikçe artan kanıtlar mevcuttur (Leiper ve ark 1999). Bu sebeple yükselen ADMA miktarının bir oksidatif stres markırı olduğu düşünülür. Yüksek ADMA miktarının sebep olduğu, eNOS 'ın ürünü NO yerine,

süperoksit radikalleri yönünde sonuçlanması, ADMA'nın oksidatif strese katkıda bulunabileceğini desteklemiştir (Sydow ve Münzel 2003). Bizde bu bilgiler ışığında, Oligozoospermi bireylerinden alınan kan serumunda yüksek ADMA seviyesinden dolayı oluşan oksidatif stresin endotel hasarına sebebi ile sperm sayısında azalmaya sebep olabileceğini düşünmekteyiz.

Lewis ve arkadaşları 1996 yılında yapmış oldukları çalışmalarında, insan spermatozoasında eNOS ve nNOS'un varlığını tespit etmişler, bunlarında otokrin bir şekilde sperm motilitesi üzerindeki düzenleyici etkisini kanıtlamışlardır (Lewis ve ark 1996). Bazı çalışmalarda NO seviyesi infertil bireylerde daha fazla olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur. Amiri ve arkadaşları 2006 yılında yapmış oldukları çalışmalarında, infertil erkeklerin ejakulat plazmasındaki NO seviyelerinin fertil erkeklerden daha yüksek olduğunu bildirmişlerdir. Ejakulat plazmasındaki artan NO miktarı, sperm motilitesinde ve canlılığını azaltmaya neden olmaktadır. Yüksek serbest radikalının üretimini ve bunun sonucu olarak meydana gelen oksidatif strese uzun süreli maruz kalınmasının ve bunun da sperm motilitesinin azalmasında önemli patolojik etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir (Amiri ve ark 2006).

Karakaya 2012 yılında yapmış olduğu çalışmada ejakulat örneklerinde, NO'nın son ürünü olan nitrit/nitrat düzeylerini normozoospermi bireylerinin örneklerine göre oligozoospermi ve astenozoospermi bireylerine ait örneklerinden daha yüksek olduğunu bildirmiştir. Oligozoospermi olgularında nitrit/nitrat konsantrasyonundaki bu artış, spermatogenez sürecinde yüksek oranda ROS'a maruz kaldığını ve bu durumun da sperm sayısında şiddetli ölçüde azalmaya neden olduğunu ortaya koymuştur (Karakaya 2012).

Balercia ve arkadaşları 2004 yılında yapmış oldukları çalışmalarında, normozoospermi olan bireylerden alınan semedeki sperm hücrelerinin kinetik özellikleri ile NO konsantrasyonunun bir ilişki halinde olduğunu vurgulamışlardır. Normozoospermi bireylerdeki NO konsantrasyonlarının, astenozoospermi bireylerinden önemli derecede düşük olduğunu belirlemişlerdir. NO konsantrasyonu ile total sperm motilitesinin yüzdesi arasında negatif bir korelasyon tespit etmişlerdir (Balercia ve ark 2004).

Ayrıca infertilite nedenlerinin belirlenmesinde NOS, spermatozoa'yı lipit peroksidaz hasarından koruyabilen NO sentezlemek zorundadır. NO sentezinin öncüsü olarak içinde L-arjinin kullanılır. Bazı çalışmalarda L-arjinin sperm sayısını ve hareketliliğini artırabildiğini göstermiştir (Eskiocak ve ark 2006, Manssor ve ark

2019). Özellikle stres sperm üretim yollarındaki arjinin düzeyini düşürdüğü bulunmuştur. Arjinin takviyesi her zaman değil ancak oligosperm seviyesindeki infertil hastalarda kısırlık etkili bir tedavi olarak bilinmektedir Sperm sayısı 20 milyon/ml'den az ise arjinin takviyesi yarar sağlama olasılığı daha düşüktür (Eskiocak ve ark 2006). Çalışmamızda Arjinin düzeyleri oligozoospermi hastalarda $236.44 \pm 72.69 \mu\text{M/L}$ iken normozoospermi bireylerde ise $230.96 \pm 42,31 \mu\text{M/L}$ olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda iki grup arasındaki arjinin değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,737$). Hasta grubu sayılarının daha da artırıldığı ileri çalışmalarda infertil sebebi ile Arginin ya da metil arjinin bileşenlerinin ilişkileri tek tek incelenip ortaya konulabilir.

ADMA'nın plazma konsantrasyonları vasküler hastalığı olan hastalarda daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Anderstam ve ark 1997, Böger ve ark 1997, Böger ve ark 1998, Fleck ve ark 2003) (NOS kompleksi, L-arjinin'i L-sitruline dönütürerek NO üretimini kontrol eder ve spermatogenezin otokrin ve parakrin düzenlenmesinde rol oynar. Fleck ve arkadaşları 2003 yılında yapmış oldukları çalışmada 26 sağlıklı kontrol grubu ve 221 kronik böbrek yetmezliği olan hasta grubunda yaptıkları çalışmalarında, kontrol grubunun plazma ADMA ve SDMA düzeylerini ($0,66 \mu\text{M}$; $0,49 \mu\text{M}$) hasta grubundan ($1,04 \mu\text{M}$; $2,69 \mu\text{M}$) anlamlı olarak düşük bulmuşlardır (Fleck ve ark 2003).

Yılmaz ve arkadaşları 2005 yılında yaptıkları çalışmada, 27 böbrek transplantı yapılan hasta grubu ve 27 sağlıklı kontrol grubu üzerinde yapılan bir çalışmada; hasta grubunda ADMA düzeyi $4.42 \mu\text{mol/L}$ ve kontrol grubunda ise $0,78 \mu\text{mol/L}$ olarak bulmuşlardır (Yılmaz ve ark 2005).

Nishiyama ve arkadaşları 2010 yılında, 50 iskemik inme hastaları ve 116 sağlıklı kontrol grubu ile yaptığı bir çalışmada; ADMA düzeylerini iskemik inmeli hastalarda $0.461 \mu\text{M/mL}$ ve kontrol grubunda $0.433 \mu\text{M/mL}$ olarak tespit etmişlerdir (Nishiyama ve ark 2010) Altuntaş ve arkadaşları 2017 yılında yapmış oldukları çalışmada, 30 akut iskemik inme hasta grubu ve 30 sağlıklı kontrol grubunda ADMA düzeylerini iskemik inmelilerde $0.7199 \mu\text{M/mL}$ ve kontrol grubunda $0.5205 \mu\text{M/mL}$ olarak bulmuşlardır (Altuntaş ve ark 2017). Çalışmamızda hasta grubunda ADMA düzeyi kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu.

Kielstein ve arkadaşları 2002 yılında yaptıkları bir çalışmada; 24 ileri yaş (ortalama yaş 69) sağlıklı bireyin plazma ADMA düzeylerini $2.77 \mu\text{mol/L}$, 24 ileri yaş hipertansif hasta (ortalama yaş 70) grubunda $3,53 \mu\text{mol/L}$ ve 24 sağlıklı genç (ortalama

yaş 25) grubunda ise 1,30 $\mu\text{mol/L}$ olarak bulmuşlardır. Renal hemodinamik durum ve plazma ADMA ölçüldüğü bu çalışmada; azalmış renal perfüzyon ve artmış kan basıncıyla beraber, yaşlanan bireylerde ADMA düzeylerinin de anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir. Çalışmada; plazma SDMA, L-Arjinin, homosistein düzeylerinde ise istatistiksel olarak bir değişiklik bulunmamıştır (Kielstein ve ark 2002).

Zoccali ve arkadaşları 2002 yılında diyaliz hastaları üzerinde yapılan bir çalışmada, ADMA'nın C-reaktif protein (CRP) ve B-natriüretik Peptid (BNP) ile birlikte aterosklerotik komplikasyonların önlenmesi ve saptanmasında kullanılabileceği bildirilmiştir (Zoccali ve ark 2002).

Teerlink 2007 yılında yapmış olduğu araştırmasında; ADMA'nın, kromatografik yöntem ile ölçümünün güvenilirliği ve tekrarlanabilirliğinin yüksek olduğunu bildirmiştir (Teerlink 2007). Çalışmamız AB SCIEX API 3200 marka Sıvı Kromatografi–Tandem Kütle Spektrometre (LC-MS/MS) cihazı kullanılmıştır.

Tain ve Hsu 2017 yılında yapmış oldukları çalışmalarında ADMA ve SDMA birçok hastalıkta toksik olduğunu ve birçok klinik çalışmalarda hastalık tedavisinde ADMA/SDMA seviyesinin düşürülme yöntemleri üzerinde çalışıldığını bildirmişlerdir (Tain ve Hsu 2017).

Birçok çalışmada klinik bulgulara çok az SDMA dan bahsetmekte iken, daha fazla ADMA dan bahsetmektedirler (Kielstein ve ark 2006, Schulze ve ark 2010, Lakhani ve ark 2011, Tenderenda-Banasiuk ve ark 2013, Weinberg ve ark 2014). Ama bazı çalışmalarda ise akut böbrek yetmezliğinde SDMA'nın belirleyici bir belirteç olduğunu ifade etmişlerdir (Kielstein ve ark 2006). Çalışmamızda olduğu gibi bazı çalışmalarda ADMA seviyesi ile SDMA seviyesini aynı anda verilmiştir (Kielstein ve ark 2011). Çalışmamızda ADMA seviyesi gibi SDMA seviyeside oligozoospermi hasta grubunda istatistiksel açıdan önemli olmayan bir yükseklik bulundu (Çizelge 3,2). Ayrıca verilerimizde; ADMA ile SDMA arasında normozoospermi bireylerinde önemli bir korelasyon ilişkisi bulunmaz iken (Çizelge 3.4), oligozoospermi bireylerinde ise pozitif güçlü bir korelasyon bulundu ($r=0,686$; $p=0,000$) (Çizelge 3.3).

Birçok çalışmada NO'un biyo yararlılığını artırmak için L-arjinin ve L-sitrulin takviyesi ile ADMA seviyesi düşürüldüğü ifade edilmiştir (Tain ve ark 2013, Chien ve ark 2014, Tain ve ark 2014). Çalışmamızda ADMA ile Sitrulin düzeyleri arasında hem normozoospermi hem de oligozoospermi bireylerinde korelasyon ilişkisine rastlanmadı. ADMA ile Arjinin düzeyleri arasında normozoospermi bireylerinde

negatif, oligozoospermli bireylerde ise pozitif yönde güçlü bir korelasyona rastlandı ($r=0.392$; $p=0,043$) (Çizelge 3.6-7).

Literatürde infertile ve ADMA arasındaki ilişkiyi anlamaya yönelik çalışmalar yapılmıştır; ancak oligozoospermli bireylerin kan örneklerine yönelik ADMA seviyeleri ile ilgili olarak henüz bir çalışma yapılmamış olmasından dolayı yaptığımız bu çalışma ilk olma özelliği taşımaktadır. Sonuç olarak oligozoospermi ile ADMA arasında oldukça önemli bir ilişki vardır. Literatürde yapılan çalışmalarda da görüldüğü gibi, infertil bireylerde semen analizi yapılmadan infertilite tanısı konulması ve sebeplerinin erken tanısında ve tedavi sürecinin belirlenmesinde metil arjininlerin önemli belirteç parametreleri olarak rutinde ölçülebileceği kanaatindeyiz

Erbayram 2018 yılında yapmış olduğu çalışmada 40 oligozoospermli ve 40 normozoospermli bireylerin sperm spesifik tiyoredoksin redüktaz3 (SPT_{rx}R-3), testis spesifik protein-101 (TEX101) ile semen parametreleri aralarında önemli korelasyon ilişkisi bulmuşlardır (Erbayram 2018). Çalışmamızda ise oligozoospermli bireylerin semen parametrelerinden sadece pH ile Sitrulin arasında ($p=0,040$) arasında (Çizelge 3.5), normozoospermli bireylerin ise ADMA ile total sayı ($p=0,013$), TPMSS ($p=0,038$); SDMA ile büyük baş ($p=0,008$); HArg ile amorf baş ($p=0,024$); L-NMMA/ADMA oranı ile volüm($p=0,016$), motilite ($p=0,010$), uzun kuyruk ($p=0,003$) ve Sitrulin/ADMA ile tail Stump ($p=0,036$) aralarında önemli derecede korelasyon bulundu (Çizelge 3.4).

Çalışmamızda normozoospermi ve oligozoospermi gruplarına ait ölçüm değerleri üzerinde yapılan ROC analizinde Metil Arjinin düzeyleri ortaya koyarak normozoospermli ve oligozoospermli ayırmada en değerli parametrenin ADMA düzeyi olduğu bulundu. Normozoospermli ve oligozoospermli bireylerin kan serumlarında ADMA düzeyinin kesim noktası $0,363 \mu\text{M/L}$ olarak tespit edildi (Çizelge 3.10). Çalışmamızda en düşük sperm konsantrasyonuna ait bireyin ($0,5$ milyon/ml)'de ADMA seviyesi $0,480 \mu\text{M/L}$ iken en yüksek sperm konsantrasyonuna ait bireyin (90 milyon/ml)'de ise $0,341 \mu\text{M/L}$ bulundu. Çalışmamızda gösteriyor ki doğruluk alanı %58 olmasına rağmen ADMA seviyesi $0,363 \mu\text{M/L}$ üzerinde olan bireyin oligozoospermi ön tanısına katkı sağlayacaktır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Üroloji polikliniğine infertilite nedeniyle başvuran ve Androloji laboratuvarında spermiyogram analizi sonucuna göre, normozoospermi (15 milyon/ml ve üzeri) ve oligozoospermi (15 milyon/ml altı) tanısı konmuş bireylerin üzerinde yapılmıştır. Çalışmaya spermiyogram sonucunu etkileyen ilaç kullanan hastalar, spermiyogram sonucu normozoospermi ve oligozoospermi'li olmayan bireyler hipertansiyon, koroner arter hastalığı, diyabet, böbrek hastalığı ve malignite öyküsü olan hastalar dahil edilmemiştir. Kontrol grubu ise sağlıklı ve Androloji laboratuvarında spermiyogram analizi sonucuna göre normozoospermi tanısı alan 30 bireylerden oluşturulmuştur. Bu gruplardan alınan kan örneklerinden elde edilen serumlar Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi biyokimya laboratuvarında bulunan LC-MS/MS cihazı ile metil arjinin türevleri ölçüldü. Ölçüm yapılan parametreler arasında oranlar hesaplandı ve tüm veriler SPSS21 programında istatistiksel olarak değerlendirildi.

Sonuç olarak çalışmamızda serum örneklerinde, ADMA değerlerine bakıldığında normozoospermi örneklerine kıyasla oligozoospermi gruplarında ADMA konsantrasyonunun arttığı belirlendi. Oligozoospermi ve Normozoospermi aralarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Oligozoospermi grubuna ait verilerde SDMA ile ADMA, HArg ile SDMA, Sitrulin ile L-NMMA arasında güçlü bir korelasyon pozitif yönde bir ilişkisine rastlandı.

Normozoospermi grubunda ise HArg ile ADMA, Harg ile SDMA, HArg ile L-NMMA ve L-NMMA ile ADMA arasında pozitif yönde çok güçlü korelasyon bulundu. Elde edilen serum örneklerinde, NO'un ürünü olan sitrulin değerlerine bakıldığında normozoospermi örneklerine kıyasla oligozoospermi gruplarında sitrulin konsantrasyonunun azaldığı belirlendi.

İleriki çalışmalarda bireylerde NO'in spermin kapasitasyonu ve fertilizasyondaki rolünü daha iyi anlayabilmek adına ADMA ile NO ve diğer izoformunun da (nNOS) araştırılmasının invivo olarak ortaya konulmasının faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.

Yaptığımız literatür taraması ile bu bilgiler ışığında, oligozoospermi ile ADMA arasında önemli bir ilişki vardır. Oligozoospermi insanların yaşam kalitesi üzerinde olumsuz birçok etkisi bulunan, tanı ve tedavisi geciktiğinde insan hayatını

etkileyen önemli bir sağlık sorunudur. İnfertil bireylerde semen analizi yapılmadan infertilite tanısı konulması ve sebeplerinin erken tanısında ve tedavi sürecinin belirlenmesinde metil arjininlerin önemli belirteç parametreleri olarak rutinde ölçülebileceği kanaatindeyiz.

5.2. Öneriler

Hastalıkların patogenezi anılabilmek ve bunları tedavi ile ilişkilendirmek, yeni tedavi protokollerinin geliştirilmesi ve hatta hastalıklar oluşmadan sağlıklı kişilerin risk faktörlerinin elimine edilmesi açısından bu biyomarkırların biyokimyasal fonksiyonlarının ve önemlerinin anlaşılabilmesi son derece mühim ve araştırılması gereken bir konu olarak karşımıza çıkmaktadır.

Metil arjinin türevlerinin araştırmalarında önemli ilerlemeler kaydedilmesine rağmen, rutin olarak ADMA ve SDMA parametrelerinin aynı anda ölçmek için basit ve hassas bir yöntem ihtiyacı vardır. İnfertiliteye sebep olan hedef organlarda ADMA ve SDMA seviyesinin ölçülmesi günümüz teknolojisinde zor olmaktadır. İnfertil bireylerde hem hedef organdan elde edilen semen örneklerinden hem de kan serumlarından elde edilen örneklerin ADMA seviyesi karşılaştırmalı olarak ortaya konulması gereklidir. Metillenmiş arjinin türevlerinin tanısallı performansını belirlemek için farklı hasta popülasyonlarında ve geniş çalışma gruplarında yapılacak daha ileri çalışmalara ihtiyacı vardır. Çünkü, bu belirteçlerin vücut sıvı düzeylerindeki herhangi bir artış erkek infertilitesinin erken tanısında kullanılabilecektir.

ADMA, homoarjinin ve sperm düzeylerinin değışkenliğı ve nasıl bir rol izlediğı yapılacak ilave çalışmalarla daha da netleşecek, hastalıklar için spesifik belirteç olarak laboratuvarlarda kullanılabılır olacaktır. Ayrıca sadece serumda değil doku düzeyinde de araştırmalara ihtiyacı vardır. HArg takviyesi de dahil olmak üzere, HArg'nın insanlarda klinik olarak bazı etkilere sahip olup olmadığı ya da arjinin glisin aminotransferaz (AGAT) aktivitesi gibi bazı patofizyolojik süreçlerde yeni bir belirteç olarak kullanılıp kullanılamayacağı konusunu açıklayabilmek için yapılacak ek çalışmalara ihtiyacı vardır. Bu gruplara ait hasta sayıları artırılarak daha fazla sayıda katılımcı ile yapılacak çalışmaların da yine sperm sayısının bu ilişkileri daha net olarak saptayacağını söyleyebiliriz.

Sonuç olarak çalışmamızda, oligozoospermili bireylerde normozoospermi bireylere göre ADMA seviyesinde %8,57 oranında bir azalış görülmektedir. Spermelerde meydana gelen değışikliklerde ADMA seviyesindeki değışikliğın önemli

rol oynadığı düşüncesindeyiz. Normozoospermiye göre oligozoospermi örneklerinde arjinin homaarjinin ve sitrulin değęerlerinde de istatistiksel açıdan önemli olmayan farklılıklar gözlendi. Hasta sayısının daha da artırılarak bu parametrelerin yeniden değęerlendirilmesinin faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.



6. KAYNAKLAR

- Agarwal A, Allamaneni[®] SS, 2011. Free radicals and male reproduction. J Indian Med Assoc, 109, 184-7.
- Aitken RJ, Clarkson JS, 1987. Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. Reproduction, 81, 2, 459-69.
- Alacam H, Avci B, Şaliş O, Dilek A, Kozan A, Mertoğlu C, Şahin M, Okuyucu A, 2013. Does ADMA affect the oxidant/antioxidant balance in rats? Turkish Journal of Medical Sciences, 43, 3, 405-10.
- Altintas R, Ediz C, Celik H, Camtosun A, Tasdemir C, Tanbek K, Tekin S, Colak C, Alan C, 2016. The effect of varicocoelectomy on the relationship of oxidative stress in peripheral and internal spermatic vein with semen parameters. Andrology, 4, 3, 442-6.
- Altuntaş E, Bengü AŞ, Kiraz ZK, Mertoğlu C, Dalar L, Usalp S, Ciftci C, 2017. Association between Newly Diagnosed Essential Hypertension, Smoking, Asymmetric Dimethylarginine and ischemia-Modified Albumin. ISTANBUL MEDICAL JOURNAL, 18, 2, 86-90.
- Amanak K, Karaöz B, Sevil Ü, 2014. Modern Yaşamın İnfertilite Üzerine Etkisi. TAF Preventive Medicine Bulletin, 13, 4.
- Amiri I, Sheike N, Najafi R, 2006. Nitric oxide level in seminal plasma of fertile and infertile males and its correlation with sperm parameters. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences, 14, 4, 197-202.
- Anderstam B, Katzarski K, Bergström J, 1997. Serum levels of NG, NG-dimethyl-L-arginine, a potential endogenous nitric oxide inhibitor in dialysis patients. Journal of the American Society of Nephrology, 8, 9, 1437-42.
- Arıncı K, Elhan A, 1995. Anatomi Cilt I. Güneş Kitabevi, Ankara.
- Atalık K, Doğan N, 1997. Nitrik oksit ve fizyolojik etkileri. Genel Tıp Derg, 7, 3, 167-9.
- Aydos K, 2007. Erkek infertilitesi. Temel Üroloji, 3, 967-1011.
- Aydos SE, Bal MG, Yükselen I, Aydos K, Sunguroğlu A, Yükselten Y, 2002. Azoospermi etyolojisinde sertoli hücresi enerji metabolizması bozuklukları. Yeni Üroloji Dergisi, 11, 2, 34-9.
- Balercia G, Moretti S, Vignini A, Magagnini M, Mantero F, Boscaro M, Ricciardo-Lamonica G, Mazzanti L, 2004. Role of nitric oxide concentrations on human sperm motility. Journal of Andrology, 25, 2, 245-9.
- Barbul A, 1986. Arginine: biochemistry, physiology, and therapeutic implications. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition, 10, 2, 227-38.
- Benli S, 2010. İnfertil kadınlarda depresyon ve anksiyete durumu ve ilişkili faktörler, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Billecke SS, D'Alecy LG, Platel R, Whitesall SE, Jamerson KA, Perlman RL, Gadegbeku CA, 2009. Blood content of asymmetric dimethylarginine: new insights into its dysregulation in renal disease. Nephrology Dialysis Transplantation, 24, 2, 489-96.
- Billecke SS, Louis GA, Marcovitz PA, 2009. Zhili Shao, MD, PhD Stanley L. Hazen, MD, PhD* WH Wilson Tang, MD. Nephrol Dial Transplant, 24, 489-96.
- Boger RH, Sydow K, Borlak Jr, Thum T, Lenzen H, Schubert B, Tsikas D, Bode-Boger SM, 2000. LDL cholesterol upregulates synthesis of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. Circulation research, 87, 2, 99-105.
- Böger RH, Bode-Böger SM, Szuba A, Tsao PS, Chan JR, Tangphao O, Blaschke TF, Cooke JP, 1998. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk factor for endothelial dysfunction: its role in hypercholesterolemia. Circulation, 98, 18, 1842-7.

- Böger RH, Bode-Böger SM, Thiele W, Junker W, Alexander K, Frölich JrC, 1997. Biochemical evidence for impaired nitric oxide synthesis in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation*, 95, 8, 2068-74.
- Böger RH, Sullivan LM, Schwedhelm E, Wang TJ, Maas R, Benjamin EJ, Schulze F, Xanthakis V, Benndorf RA, Vasan RS, 2009. Plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) and incidence of cardiovascular disease and mortality in the community. *Circulation*, 119, 12, 1592.
- Burgner D, Rockett K, Ackerman H, Hull J, Usen S, Pinder M, Kwiatkowski D, 2003. Haplotypic relationship between SNP and microsatellite markers at the NOS2A locus in two populations. *Genes & Immunity*, 4, 7, 506-14.
- Carcillo JA, 2003. Does arginine become a “near” essential amino acid during sepsis? *Critical care medicine*, 31, 2, 657-9.
- Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, Skakkebaek NE, 1992. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *Bmj*, 305, 6854, 609-13.
- Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR, 2005. *Biochemistry*, Lippincott Williams & Wilkins, p.
- Chan N, Chan J, 2002. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a potential link between endothelial dysfunction and cardiovascular diseases in insulin resistance syndrome? *Diabetologia*, 45, 12, 1609-16.
- Charitidou C, Farmakiotis D, Zournatzi V, Pidonia I, Pegiou T, Karamanis N, Hatzistilianou M, Katsikis I, Panidis D, 2008. The administration of estrogens, combined with anti-androgens, has beneficial effects on the hormonal features and asymmetric dimethyl-arginine levels, in women with the polycystic ovary syndrome. *Atherosclerosis*, 196, 2, 958-65.
- Cheng CY, Mruk DD, (2010). *The biology of spermatogenesis: the past, present and future*, The Royal Society.
- Chien S-J, Lin K-M, Kuo H-C, Huang C-F, Lin Y-J, Huang L-T, Tain Y-L, 2014. Two different approaches to restore renal nitric oxide and prevent hypertension in young spontaneously hypertensive rats: l-citrulline and nitrate. *Translational Research*, 163, 1, 43-52.
- Cocks T, Angus J, 1983. Endothelium-dependent relaxation of coronary arteries by noradrenaline and serotonin. *Nature*, 305, 5935, 627-30.
- Cooke JP, 1997. Derangements of the nitric oxide synthase pathway, L-arginine, and cardiovascular diseases. *Circulation*, 96, 379-82.
- Cooke JP, Tsao PS, 1997. Arginine: a new therapy for atherosclerosis? *Circulation*, 95, 2, 311-2.
- Cummins JM, Jequier AM, Kan R, 1994. Molecular biology of human male infertility: links with aging, mitochondrial genetics, and oxidative stress? *Molecular reproduction and development*, 37, 3, 345-62.
- Demirci N, 2014. Erkek Fertilitesi ve Riskli Yaşam Biçimi Davranışları.
- Di IG, Chiandetti L, Gucciardi A, Moret V, Naturale M, Giordano G, 2010. Simultaneous quantitative determination of N (G), N (G)-dimethyl-L-arginine or asymmetric dimethylarginine and related pathway's metabolites in biological fluids by ultrahigh-performance liquid chromatography/electrospray ionization-tandem mass spectrometry. *Analytica chimica acta*, 677, 2, 140-8.
- Du Plessis SS, Kashou AH, Benjamin DJ, Yadav SP, Agarwal A, 2011. Proteomics: a subcellular look at spermatozoa. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 9, 1, 36.
- Dunson DB, Baird DD, Colombo B, 2004. Increased infertility with age in men and women. *Obstetrics & Gynecology*, 103, 1, 51-6.
- Dweik RA, 2007. The lung in the balance: arginine, methylated arginines, and nitric oxide. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, 292, 1, L15-L7.

- Endemann DH, Schiffrin EL, 2004. Nitric oxide, oxidative excess, and vascular complications of diabetes mellitus. *Current hypertension reports*, 6, 2, 85-9.
- Erbayram FZ, 2018. Erkek Bireylerin Açıklanamayan İnfertiliteğinde Tiyoredoksin Mekanizması Ve Testis- ifade Protein 101 Düzeyleri, Selçuk Üniversitesi Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
- Erdemir F, Fırat F, Gençten Y, 2011. Sperm morfolojisinin değerlendirilmesi ve klinik önemi. *Türk Urol Sem*, 2, 11-7.
- Eskiocak S, Gozen A, Taskiran A, Kilic A, Eskiocak M, Gulen S, 2006. Effect of psychological stress on the L-arginine-nitric oxide pathway and semen quality. *Brazilian journal of medical and biological research*, 39, 5, 581-8.
- Fleck C, Schweitzer F, Karge E, Busch M, Stein G, 2003. Serum concentrations of asymmetric (ADMA) and symmetric (SDMA) dimethylarginine in patients with chronic kidney diseases. *Clinica Chimica Acta*, 336, 1-2, 1-12.
- Förstermann U, Gath I, Schwarz P, Closs EI, Kleinert H, 1995. Isoforms of nitric oxide synthase: properties, cellular distribution and expressional control. *Biochemical pharmacology*, 50, 9, 1321-32.
- Gilroy AM, 2014. Prometheus: Atlas de anatom a/Anne M. Gilroy, Brian R. MacPherson, Lawrence M. Ross.
- Gnoth C, Godehardt D, Godehardt E, Frank-Herrmann P, Freundl G, 2003. Time to pregnancy: results of the German prospective study and impact on the management of infertility. *Human reproduction*, 18, 9, 1959-66.
- Hamada A, C Esteves S, Agarwal A, 2011. The role of contemporary andrology in unraveling the mystery of unexplained male infertility. *The Open Reproductive Science Journal*, 3, 1.
- Hoogendijk C, Kruger T, Menkveld R, 2010. Spermatozonun Anatomisi ve Moleküler Morfolojisi. Erkek İnfertilitesi Teşhis ve Tedavi Kitabı Editörler: Oehninger SC, Kruger TF. Çeviri editörü: Kilciler M. Habitat Yayıncılık, İstanbul, 1-8.
- Kadioğlu A, 2011. Who laboratuvar El kitabı. 5. İnsan semeninin incelenmesi ve işlemlerden geçirilmesi. *Türk Üroloji Derneği*, 1-50.
- Karakaya H, 2012. İnsan normospermi, oligospermi ve astenospermi grupları arasında nitrik oksit sentetaz (NOS) izoformlarının etkisi, İstanbul Bilim Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Keskin M, Budak S, İlbey YÖ, 2016. İdiopatik erkek infertilitesi güncel medikal tedavi yaklaşımı. *Androloji Bülteni*, 18, 64, 40-3.
- Kianpour M, Nematbakhsh M, Ahmadi SM, 2015. Asymmetric dimethylarginine (ADMA), nitric oxide metabolite, and estradiol levels in serum and peritoneal fluid in women with endometriosis. *Iranian journal of nursing and midwifery research*, 20, 4, 484.
- Kielstein JT, Böger RH, Bode-Böger SM, Frölich JC, Haller H, Ritz E, Fliser D, 2002. Marked increase of asymmetric dimethylarginine in patients with incipient primary chronic renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology*, 13, 1, 170-6.
- Kielstein JT, Salpeter SR, Bode-Boeger SM, Cooke JP, Fliser D, 2006. Symmetric dimethylarginine (SDMA) as endogenous marker of renal function—a meta-analysis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 21, 9, 2446-51.
- Kielstein JT, Veldink H, Martens-Lobenhoffer J, Haller H, Burg M, Lorenzen JM, Lichtinghagen R, Bode-Böger SM, Kliem V, 2011. SDMA is an early marker of change in GFR after living-related kidney donation. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 26, 1, 324-8.
- Kimoto M, Tsuji H, Ogawa T, Sasaoka K, 1993. Detection of NG, NG-dimethylarginine dimethylaminohydrolase in the nitric oxide-generating systems of rats using monoclonal antibody. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 300, 2, 657-62.

- Kimoto M, Whitley GSJ, Tsuji H, Ogawa T, 1995. Detection of NG, NG-dimethylarginine dimethylaminohydrolase in human tissues using a monoclonal antibody. *The Journal of Biochemistry*, 117, 2, 237-8.
- Kırca N, Pasinlioğlu T, 2013. İnfertilite tedavisinde karşılaşılan psikososyal sorunlar. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, 5, 2, 162-78.
- Kiziler AR, Aydemir B, Guzel S, Yazici CM, Gulyasar T, Malkoc E, Acar A, 2015. Comparison of before and after varicocele surgery levels of trace elements, nitric oxide, asymmetric dimethylarginine and malondialdehyde in the seminal plasma and peripheral and spermatic veins. *Biological trace element research*, 167, 2, 172-8.
- Lajer M, Tarnow L, Jorsal A, Teerlink T, Parving H-H, Rossing P, 2008. Plasma concentration of asymmetric dimethylarginine (ADMA) predicts cardiovascular morbidity and mortality in type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy. *Diabetes Care*, 31, 4, 747-52.
- Lakhani K, Kay A, Leiper J, Barry JA, Hardiman PJ, 2011. Symmetric dimethylarginine (SDMA) is raised in women with polycystic ovary syndrome: a pilot study. *Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 31, 5, 417-9.
- Lee T-Y, Sun G-H, Chao S-C, 2001. The effect of an infertility diagnosis on the distress, marital and sexual satisfaction between husbands and wives in Taiwan. *Human reproduction*, 16, 8, 1762-7.
- Leiper JM, Maria JS, Chubb A, Macallister RJ, Charles IG, Whitley GSJ, Vallance P, 1999. Identification of two human dimethylarginine dimethylaminohydrolases with distinct tissue distributions and homology with microbial arginine deiminases. *Biochemical Journal*, 343, 1, 209-14.
- Lewis S, Donnelly E, Sterling E, Kennedy M, Thompson W, Chakravarthy U, 1996. Nitric oxide synthase and nitrite production in human spermatozoa: evidence that endogenous nitric oxide is beneficial to sperm motility. *Molecular Human Reproduction*, 2, 873-8.
- Li N, Worthmann H, Deb M, Chen S, Weissenborn K, 2011. Nitric oxide (NO) and asymmetric dimethylarginine (ADMA): their pathophysiological role and involvement in intracerebral hemorrhage. *Neurological research*, 33, 5, 541-8.
- Lluch P, Torondel B, Medina P, Segarra G, del Olmo JA, Serra MA, Rodrigo JM, 2004. Plasma concentrations of nitric oxide and asymmetric dimethylarginine in human alcoholic cirrhosis. *Journal of hepatology*, 41, 1, 55-9.
- Lu T-M, Ding Y-A, Leu H-B, Yin W-H, Sheu WH-H, Chu K-M, 2004. Effect of rosuvastatin on plasma levels of asymmetric dimethylarginine in patients with hypercholesterolemia. *The American journal of cardiology*, 94, 2, 157-61.
- Manssor ARJ, Al-Mahdawi ZMM, Hadi AM, 2019. The effect of L-Arginine of treatment for infertile men on semen parameters. *Tikrit Journal of Pure Science*, 24, 5, 1-4.
- Marletta MA, 1994. Nitric oxide synthase: aspects concerning structure and catalysis.
- Mawhinney M, Mariotti A, 2013. Physiology, pathology and pharmacology of the male reproductive system. *Periodontology 2000*, 61, 1, 232-51.
- McBride AE, Silver PA, 2001. State of the arg: protein methylation at arginine comes of age. *Cell*, 106, 1, 5-8.
- McCann S, Mastronardi C, Walczewska A, Karanth S, Rettori V, Yu W, 1999. The role of nitric oxide in reproduction. *Brazilian journal of medical and biological research*, 32, 11, 1367-79.
- McNamara DM, Holubkov R, Postava L, Ramani R, Janosko K, Mathier M, MacGowan GA, Murali S, Feldman AM, London B, 2003. Effect of the Asp298 variant of endothelial nitric oxide synthase on survival for patients with congestive heart failure. *Circulation*, 107, 12, 1598-602.
- Moncada S, 1991. Nitric oxide: physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol rev*, 43, 109-42.

- Mookerjee RP, Dalton RN, Davies NA, Hodges SJ, Turner C, Williams R, Jalan R, 2007. Inflammation is an important determinant of levels of the endogenous nitric oxide synthase inhibitor asymmetric dimethylarginine (ADMA) in acute liver failure. *Liver Transplantation*, 13, 3, 400-5.
- Moore KL, Dalley AF, Agur AM, 2013. *Clinically oriented anatomy*, Lippincott Williams & Wilkins, p.
- Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG, 2018. *The Developing Human-E-Book: Clinically Oriented Embryology*, Elsevier Health Sciences, p.
- Mosher WD, Pratt WF, 1991. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. *Fertility and sterility*, 56, 2, 192-3.
- Mruk DD, Cheng CY, 2004. Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. *Endocrine reviews*, 25, 5, 747-806.
- Napoli C, Ignarro LJ, 2001. Nitric oxide and atherosclerosis. *Nitric oxide*, 5, 2, 88-97.
- Nathan C, 1992. Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *The FASEB journal*, 6, 12, 3051-64.
- Netter FH, Dalley AF, Cumhur M, 2002. *İnsan anatomisi atlası*, Palme Yayıncılık, p.
- Nishiyama Y, Ueda M, Katsura K-i, Otsuka T, Abe A, Nagayama H, Katayama Y, 2010. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a possible risk marker for ischemic stroke. *Journal of the neurological sciences*, 290, 1-2, 12-5.
- Nussler AK, Billiar TR, 1993. Inflammation, immunoregulation, and inducible nitric oxide synthase. *Journal of leukocyte biology*, 54, 2, 171-8.
- O'Donnell L, Nicholls PK, O'Bryan MK, McLachlan RI, Stanton PG, 2011. Spermiation: the process of sperm release. *Spermatogenesis*, 1, 1, 14-35.
- Organization WH, 2010. *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen*.
- Ozgurtas T, Oktenli C, Dede M, Tapan S, Kenar L, Sanisoglu SY, Yesilova Z, Yenen MC, Erbil MK, Baser I, 2008. Metformin and oral contraceptive treatments reduced circulating asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS). *Atherosclerosis*, 200, 2, 336-44.
- P Mathur P, Francispillai M, Vaithinathan S, Agarwal A, 2011. NF- κ B in Male Reproduction: A Boon or a Bane? *The Open Reproductive Science Journal*, 3, 1.
- Päivä H, Laakso J, Laine H, Laaksonen R, Knuuti J, Raitakari OT, 2002. Plasma asymmetric dimethylarginine and hyperemic myocardial blood flow in young subjects with borderline hypertension or familial hypercholesterolemia. *Journal of the American College of Cardiology*, 40, 7, 1241-7.
- Palmer RM, Ferrige A, Moncada S, 1987. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 327, 6122, 524-6.
- Pfeifer S, Butts S, Fossum G, Gracia C, La Barbera A, Mersereau J, Odem R, Paulson R, Penzias A, Pisarska M, 2017. Optimizing natural fertility: a committee opinion. *Fertility and Sterility*, 107, 1, 52-8.
- Pinborg A, Hougaard C, Nyboe Andersen A, Molbo D, Schmidt L, 2009. Prospective longitudinal cohort study on cumulative 5-year delivery and adoption rates among 1338 couples initiating infertility treatment. *Human Reproduction*, 24, 4, 991-9.
- Reece JB, Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Minorsky PV, Jackson RB, 2014. *Campbell biology*. s 1309, Pearson Boston, MA, p.
- Revelli A, Soldati G, Costamagna C, Pellerey O, Aldieri E, Massobrio M, Bosia A, Ghigo D, 1999. Follicular fluid proteins stimulate nitric oxide (NO) synthesis in human sperm: a possible role for NO in acrosomal reaction. *Journal of cellular physiology*, 178, 1, 85-92.
- Richard S, Bianchi N, Bianchi M, Peltomäki P, Lothe R, Pavicic W, 2004. Ethnic variation in the prevalence of AZF deletions in testicular cancer. *Mutation*

- Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 554, 1-2, 45-51.
- Rosselli M, Keller R, Dubey RK, 1998. Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. *Human reproduction update*, 4, 1, 3-24.
- Rutstein SO, Shah IH, 2004. Infecundity, infertility, and childlessness in developing countries. 9, ORC Macro, MEASURE DHS, p.
- Schulze F, Carter AM, Schwedhelm E, Ajjan R, Maas R, von Holten R-A, Atzler D, Grant PJ, Böger RH, 2010. Symmetric dimethylarginine predicts all-cause mortality following ischemic stroke. *Atherosclerosis*, 208, 2, 518-23.
- Selçuk MT, Selçuk H, Temizhan A, Maden O, Ulupinar H, Baysal E, Duru E, Şaşmaz A, 2008. The effect of plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) level and L-arginine/ADMA ratio on the development of coronary collaterals. *Archives of the Turkish Society of Cardiology*, 36, 3, 150-5.
- Sydow K, Münzel T, 2003. ADMA and oxidative stress. *Atherosclerosis Supplements*, 4, 4, 41-51.
- Tain Y-L, Lee W-C, Hsu C-N, Lee W-C, Huang L-T, Lee C-T, Lin C-Y, 2013. Asymmetric dimethylarginine is associated with developmental programming of adult kidney disease and hypertension in offspring of streptozotocin-treated mothers. *PLoS One*, 8, 2.
- Tain Y, Sheen J, Chen C, Yu H, Tiao M, Kuo H, Huang L, 2014. Maternal citrulline supplementation prevents prenatal dexamethasone-induced programmed hypertension. *Free radical research*, 48, 5, 580-6.
- Tain YL, Hsu CN, 2017. Toxic dimethylarginines: asymmetric dimethylarginine (ADMA) and symmetric dimethylarginine (SDMA). *Toxins*, 9, 3, 92.
- Taşçı E, Bolsoy N, Kavlak O, Yücesoy F, 2008. İnfertil kadınlarda evlilik uyumu. *Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi*, 5, 2, 105-10.
- Teerlink T, 2007. HPLC analysis of ADMA and other methylated L-arginine analogs in biological fluids. *Journal of Chromatography B*, 851, 1-2, 21-9.
- Tenderenda-Banasiuk E, Wasilewska A, Taranta-Janusz K, Korzeniecka-Kozerska A, 2013. Asymmetric and symmetric dimethylarginine in adolescents with hyperuricemia. *Disease markers*, 35, 5, 407-12.
- Tran CT, Fox MF, Vallance P, Leiper JM, 2000. Chromosomal localization, gene structure, and expression pattern of DDAH1: comparison with DDAH2 and implications for evolutionary origins. *Genomics*, 68, 1, 101-5.
- Valkonen V-P, Päivä H, Salonen JT, Lakka TA, Lehtimäki T, Laakso J, Laaksonen R, 2001. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *The Lancet*, 358, 9299, 2127-8.
- Vallance P, Leiper J, 2004. Cardiovascular biology of the asymmetric dimethylarginine: dimethylarginine dimethylaminohydrolase pathway. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 24, 6, 1023-30.
- Vayena E, Rowe PJ, Griffin PD, 2002. Current Practices and Controversies in Assisted Reproduction: Report of a Meeting... Geneva, Switzerland, 17-21 September 2001, Department of Reproductive Health and Research, Family and Community Health ..., p.
- Wahbi N, Dalton R, Turner C, Denton M, Abbs I, Swaminathan R, 2001. Dimethylarginines in chronic renal failure. *Journal of clinical pathology*, 54, 6, 470-3.
- Wang X, Chen C, Wang L, Chen D, Guang W, French J, Group RHS, 2003. Conception, early pregnancy loss, and time to clinical pregnancy: a population-based prospective study. *Fertility and sterility*, 79, 3, 577-84.
- Weinberg JB, Yeo TW, Mukemba JP, Florence SM, Volkheimer AD, Wang H, Chen Y, Rubach M, Granger DL, Mwaikambo ED, 2014. Dimethylarginines: endogenous inhibitors of

- nitric oxide synthesis in children with falciparum malaria. The Journal of infectious diseases, 210, 6, 913-22.
- Yan W, 2009. Male infertility caused by spermiogenic defects: lessons from gene knockouts. Molecular and cellular endocrinology, 306, 1-2, 24-32.
- Yavuz HU, 2006. Arjinin ve Egzersiz Spor Bilimleri Dergisi, 17, 3, 143-57.
- Yildirim AO, Bulau P, Zakrzewicz D, Kitowska KE, Weissmann N, Grimminger F, Morty RE, Eickelberg O, 2006. Increased protein arginine methylation in chronic hypoxia: role of protein arginine methyltransferases. American journal of respiratory cell and molecular biology, 35, 4, 436-43.
- Yilmaz MI, Saglam M, Caglar K, Cakir E, Ozgurtas T, Sonmez A, Eyileten T, Yenicesu M, Acikel C, Oguz Y, 2005. Endothelial functions improve with decrease in asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels after renal transplantation. Transplantation, 80, 12, 1660-6.
- Yoo J-H, Lee S-C, 2001. Elevated levels of plasma homocyst (e) ine and asymmetric dimethylarginine in elderly patients with stroke. Atherosclerosis, 158, 2, 425-30.
- Yumru A, 2011. Öndeş B. İnfertil çiftle yaklaşım ve in vitro fertilizasyon'a doğru hasta seçimi. JAREM, 1, 2, 57-60.
- Zhang H, Wang S, Zhang S, Wang T, Deng X, 2014. Increasing trend of prevalence of infertility in Beijing. Chinese medical journal, 127, 4, 691-5.
- Zoccali C, Mallamaci F, Maas R, Benedetto FA, Tripepi G, Malatino LS, Cataliotti A, Bellanuova I, Böger R, Investigators C, 2002. Left ventricular hypertrophy, cardiac remodeling and asymmetric dimethylarginine (ADMA) in hemodialysis patients. Kidney international, 62, 1, 339-45.

7. EKLER

Ek-A Etik Kurul Kararı.



T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

YEREL ETİK KURULU KARARLARI

Toplantı Sayısı: 2019/02

Toplantı Tarihi : 20.03.2019

Karar Sayısı 2019/36 S.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim dalı öğretim üyesi Doç.Dr.Abdullah SİVRİKAYA'nın "Fertil ve Infertil Bireylerde Metil Arjinin Düzeyleri" başlıklı araştırmasının değerlendirilme talebi ile ilgili 08.03.2019 tarihli dilekçesi ve ekleri görüşüldü.

Yapılan inceleme ve görüşmelerden sonra; Doç.Dr.Abdullah SİVRİKAYA'nın "Fertil ve Infertil Bireylerde Metil Arjinin Düzeyleri" adlı araştırmasının kabulüne oy birliği ile karar verildi.
Yardımcı Araştırmacılar: Yasin SAYGIN, Duygu DURSUNOĞLU, Mehmet KAYNAR.



8. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

- **Adı Soyadı** : YASİN SAYGIN
- **Doğum Yeri** : SEYDİŞEHİR
- **Tarihi** : 09.06.1985
- **Uyruğu** : TC
- **Ev Adresi** : HOCACİHAN MAH. BAŞAKCI SOK.
BAŞAK APT NO:8/10
SELÇUKLU/KONYA
- **Tel:** : 05395543558
- **Email** : yasinsaygin@hotmail.com
- **Medeni Hali** : EVLİ

ÖĞRENİM DURUMU

Selçuk Üniversitesi Tıbbi Biyokimya ABD - Tezli Yüksek Lisans

Konya Selçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Tezsiz Yüksek Lisans

Konya Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü

Konya Karatay Toki Anadolu Lisesi

YABANCI DİL VE DÜZEYİ

İngilizce-orta düzeyde

İŞ TECRÜBESİ

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi /Tıbbi Biyokimya Laboratuvarı / Biyolog

SERTİFİKALAR

Bilgisayar İşletmenlik Sertifikası (200 Saatlik)

İş ve Meslek Danışmanlığı Sertifikası (Sakarya Üniversitesi Sausem Kurumu)

LC-MS/MS (Sıvı Kromatografisi Kütle Spektrometresi) Sistemleri Yazılım, Donanım ve Temel Kullanım Sertifikası)

HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi) Sistemleri Yazılım, Donanım ve Temel Kullanım Sertifikası)