

**İDİYOPATİK İNFERTİL HASTALARDA SEMEN VE KAN PLAZMASINDA  
MALONDİALDEHİT- KATALAZ- GLUTATYON PEROKSİDAZ –  
SÜPEROKSİD DİSMUTAZ DÜZEYİ VE SEMEN PARAMETRELERİ İLE  
İLİŞKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**ÜROLOJİ ANABİLİM DALI**

**Dr. Hüseyin ÖZVEREN**

**TEZ DANIŞMANI: Doç. Dr. Mustafa GÜNEŞ**

**VAN 2015**

## TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasında yardım ve desteklerini esirgemeyen, çalışmamın tüm aşamalarında emeği olan değerli tez danışman hocam Doç.Dr. Mustafa GÜNEŞ'e; mesleki eğitimim süresince yanlarında çalışmakla gurur duyduğum klinik bilgi ve tecrübelerini paylaşarak yetişmemde büyük emekleri olan değerli hocalarım Doç.Dr.İlhan GEÇİT, Doç.Dr. Necip PİRİNCCI, Yrd.Doç.Dr. Mehmet KABA, Yrd.Doç.Dr. Kerem TAKEN'e; Tez çalışması süresince tüm ekibiyle bana destek olan Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Yrd.Doç.Dr. Ragıp BALAHOROĞLU'na; Çalışmalarım boyunca destek ve dostluklarını esirgemeyen Üroloji Anabilim dalı'ndan Kıdemlilerim; Op.Dr.T.Yekta KAYA , Opr.Dr.Recep ERYILMAZ, Opr.Dr. Özcan CANBEY'e, Yine mesai arkadaşlarım Dr. Alper AŞIK, Dr.Hüseyin EREN ,Dr.Murat DEMİR,Dr. Şeyhmuz ARAZ'a; Bölüm teknisyenimiz Özcan ÇALIŞ'a,bölüm sekreterimiz Nevzat GÜLLÜ'ye, Dostluk, arkadaşlık ve dayanışma içinde, özveri ve iyi niyetle birlikte çalıştığımız servis hemşiresi ve personeli çalışanlarına evlendiğimiz günden buyana her konuda olduğu gibi tez hazırlama sürecinde büyük bir özveri vesabır ile bana destek olan sevgili eşim Sevgi ÖZVEREN ve biricik oğlum Can Baran ÖZVEREN'e, bu günlere gelmemde büyük emekleri olan Annem ve Babam'a sonsuz saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

**Dr.Hüseyin ÖZVEREN**

## İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
TABLolar .....	iv
ÖZET .....	v
SUMMARY.....	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Erkek İnfertilitesi .....	3
2.1.1. Epidemiyoloji .....	3
2.1.2. Etiyoloji .....	3
2.1.2.1. Endokrin Nedenler .....	4
2.1.2.2. Spermatogenez Bozuklukları .....	5
2.1.2.3. Sperm iletim bozuklukları .....	7
2.1.2.4. Sperm fonksiyon bozuklukları:.....	7
2.1.2.5. İdiyopatik infertilite: .....	7
2.1.3. Tanı:.....	8
2.1.3.1. Anemnez: .....	8
2.1.3.2. Fizik Muayene .....	9
2.1.3.3. Laboratuvar:.....	9
2.2. Oksidatif Stres Sperm Kromatin Hasarı Ve Sperm Fonksiyonları .....	13
2.2.1. Semendeki Reaktif Oksijen Türleri Kaynakları .....	14
2.2.1.1. Spermatozoada Reaktif Oksijen Türleri Üretimi: .....	14
2.2.1.2. Lökositlerden Reaktif Oksijen Türleri Üretimi: .....	15

2.2.2. Antioksidan Savunma Sistemleri .....	16
2.2.2.1. Endojen Antioksidanlar: .....	16
2.2.3. Oksidatif Stres ve Sperm Üzerine Zararlı Etkileri .....	16
3. MATERYAL ve METOD .....	19
3.1. Hasta Seçimi: .....	19
3.2. Örneklerin Toplanması Ve Analizi .....	19
3.2.1. Semen Analizi: .....	19
3.2.2. Venöz Kan Analizi: .....	20
3.2.3. Süperoksid Disimutaz Analizi: .....	20
3.2.4. MDA Analizi : .....	21
3.2.5. Glutasyon Peroksidaz Analizi .....	21
3.2.6. Katalaz Analizi: .....	21
3.3. İstatiksel Analiz: .....	22
4. BULGULAR .....	23
5. TARTIŞMA .....	27
6. SONUÇ .....	31
7. KAYNAKLAR .....	33

## TABLULAR

<b>Tablo 1:</b> Erkek infertilitesi etyolojik faktörler .....	4
<b>Tablo 2:</b> 2010 WHO kriterlerine göre standart semen analiz değerlerinin genel tablosu	10
<b>Tablo 3:</b> Serbest oksijen radikalleri .....	13
<b>Tablo 4:</b> Tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları .....	23
<b>Tablo 5:</b> Özellikler için Hasta Kontrol ve Gruplarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları .....	24
<b>Tablo 6:</b> Kontrol Grubunda özellikler arası Pearson korelasyon katsayıları .....	25
<b>Tablo 7:</b> Hasta Grubunda özellikler arası Pearson korelasyon katsayıları .....	25
<b>Tablo 8:</b> Semende kontrol grubu.....	25
<b>Tablo 9:</b> Hasta grubu.....	26
<b>Tablo 10:</b> Tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları .....	26

## ÖZET

Biyolojik sistemlerde oksidatif denge bozulduğu zaman oksidatif stres ortaya çıkmaktadır. Lökospermi ve varikosel varlığında seminal plazmada oksidanların artışı, bu patolojilerin spermatozoalar üzerine olası zararlarını açıklamada kullanılan parametrelerden biridir. İnfertil olguların yaklaşık %25 'ini oluşturan idiyopatik İnfertilite'de ise spermyogram parametrelerindeki bozulmaları açıklamaya yönelik çalışmalar sürmektedir. Bu çalışmada infertil hastalarda kan ve semen plazmasında Süperoksid dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, malondialdehit gibi parametrelerin sperm parametreleri (sayı, hareket, morfoloji) ile olan ilişkisi ve bu ilişki üzerinden idiyopatik infertiliteyi açıklayabilecek bir mekanizmanın olabileceğini araştırmayı amaçladık.

Semen ve plazma örnekleri Yüzüncü Yıl Üniversitesi Dursun Odabaş Tıp Merkezi Üroloji Anabilim Dalı polikliniğine infertilite nedeniyle başvuran; varikosel, hormonal, lökospermi, obstruktif patolojilerin varlığı gibi bilinen bir nedene bağlı infertilite nedeni olmayan olgulardan alındı. İdiyopatik infertilite kriterlerine uygun 40 hasta değerlendirilmeye alındı. Kontrol grubu olarak son bir yıl içinde çocuk sahibi olan ve semen parametreleri WHO kriterlerine göre normal olan 20 fertil kişi alındı. Hasta ve kontrollerde kan ve seminal plazma Süperoksid dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve malondialdehit düzeyleri ölçüldü ve sperm parametreleri incelendi.

Üzerinde durulan özellikler için tanımlayıcı istatistikler; Ortalama, Standart Sapma, Minimum ve Maksimum değer olarak ifade edildi. Sürekli değişkenler bakımından grup ortalamalarını karşılaştırmada Student t testi yapılmıştır. Bu değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemede gruplarda ayrı ayrı olmak üzere Pearson korelasyon katsayıları hesaplandı. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi %5 ( $p < 0.01$ ) olarak alındı ve hesaplamalar için SPSS istatistik paket programı kullanıldı.

Hasta grubunda sperm sayısı, hareket ve morfoloji ölçümleri kontrol grubundan anlamlı şekilde düşük bulundu. Semende yapılan çalışmada hasta grubunda semen MDA düzeyi anlamlı şekilde yüksek katalaz düzeyi ise anlamlı şekilde düşük bulundu. Glutatyon peroksidaz ve Süperoksid dismutaz düzeyleri arasında kontrol grubu ve hasta grubu arasında anlamlı bir fark izlenmedi.

Bu çalışmanın sonuçlarına göre, idiyopatik infertil hasta grubunda, sperm parametrelerinde ki düşüklüğün MDA ve Katalaz düzeyi ile ilişkili olabileceği dşnld. Bu iki parametrenin idiyopatik infertilite ile ilgili daha net verilerin elde edilebilmesi için daha kapsamlı ve çok sayıda çalışmanın gerektiği kanaatindeyiz.

**Anahtar kelimeler:** İdiyopatik erkek infertilitesi, Süperoksit dismutaz, Katalaz, Glutatyon Peroksidaz, Malondialdehit, Sperm parametreleri

## SUMMARY

In biological systems when the oxidative balance is deteriorated, oxidative stress arises. The increase of oxidants in seminal plasma in the presence of leukocytospermia and varicocele is one of the arguments used to explain the potential losses of these pathologies on spermatozoas. As for the "idiopathic infertility" which forms approximately 25% of the infertility cases; there has been ongoing studies to explain deterioration in spermyogram parameters. In this study, we investigated the relationship of parameters such as superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, malatdehidrogenaz on blood and sperm plasma of infertile patients with the sperm parameters (quantity, movement, morphology) as well as the existence of a mechanism that explains this relationship over idiopathic infertility.

Infertility cases of known causes such as varicocele, hormonal, leukocytospermia and presence of obstructive pathology out of the Yuzuncu Yil University Dursun Odabaşı Medical Center Department of Urology admissions to the infertility clinic were excluded from the study. 40 patients that matches the criteria of idiopathic infertility were evaluated. Those who had children in the past year and whose semen parameters fit the WHO criteria were used as a control group of 20 people. Blood and seminal plasma superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and malatdehidrogenaz levels were measured in patient controls and spermparameters were examined. Descriptive statistics for the features emphasized were expressed as: Average, Standard Deviation, Minimum and Maximum value. In terms of the continuous variables, Student T test was performed for group comparisons. To determine the relationship between the given variables, Pearson correlation coefficients were calculated separately in the groups. Statistical Level of Significance was taken as 5% ( $p < 0.01$ ) in calculations and SPSS statistical software was used for the calculations.

Sperm motility and morphology measurements in the patient group was found significantly lower than the control group. The conducted semen study suggests that semen MDA level of patient group was found significantly higher whereas catalase level was significantly lower. Among the glutathione peroxidase and superoxide

dismutase levels, no significant difference was observed between the control group and the patient group.

According to the results of this study, in idiopathic infertile patients, it was concluded that the decrease in sperm parameters might possibly be associated with MDA and catalase levels. It was also concluded that further work be done in regards with the mentioned two parameters.

**Key words:** Idiopathic Male infertility, superoxide dismutase, catalase , glutathione,peroxidase,malondialdehyde , sperm parameters.

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnfertilite, cinsel yönden aktif ve kontrasepsiyon uygulamayan bir çiftin bir yıl içerisinde gebelik elde edememesi durumudur” (WHO).

Çiftlerin yaklaşık %25’i 1 yıl içerisinde gebelik elde edememektedirler. İnfertilite hem erkeği hem de kadını etkileyen bir durumdur. İstemelerine rağmen çocuk sahibi olamayan infertil çiftlerin %50’sinde erkeğe ait nedenler bulunur. Eğer infertiliteden sorumlu sadece bir faktör söz konusuysa, fertil olan eş diğerinin durumunu kompanse edebilir. Ancak çoğu çiftte %20, erkek ve kadına ait faktörler bir arada bulunur. İnfertilite, her iki eşin de subfertil ya da fertilitelerinin azalmış olması durumlarında belirgin hale gelir.

Erkek faktörün normal olduğunu söyleyebilmek için yeterli sayı, hareketlilik ve morfolojide spermlerin varlığı, spermlerin gerekli akrozom reaksiyonu gerçekleştirip oositlerin zona pellusida tabakasına bağlanmaları ve zigotun fertilizasyonu gerekmektedir. Bu aşamalarda oluşabilecek herhangi bir bozukluk infertilite nedeni olabilmektedir(28-29).Varikozel, hormonal, obstruktif ve immünolojik patolojiler gibi infertiliteye yol açabilecek birçok durum tanımlanmakla beraber, olguların yaklaşık %25’i idiyopatik olarak kabul edilmektedir.(48-14)

İdiyopatik infertil olgularda patofizyolojiyi ortaya koymak, tanısal ve klinik uygulamalarda sonuç alıcı, düşük maliyetli ve güvenilir modalitelere ulaşabilmek için hücresel ve moleküler düzeyde çalışmalar sürdürülmektedir(38)

İnfertilite patogenezinde oksidatif stresin rolü çeşitli araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır.

Testiküler doku, sperm hücreleri ve lökositler tarafından üretilen reaktif oksijen türlerinin (ROT), seminal plazmada oksidatif stresi artırabileceği bildirilmiştir(51)

Reaktif oksijen türleri’nin (ROT) sperm hücrelerini hiperaktivasyonunda, kapasitasyonunda ve akrozom reaksiyonlarında fizyolojik rolü olduğu bilinse de, seminal plazmadaki miktarlarının artışı oksidatif hasara neden olabilmektedir(15) Sperm hücrelerinin plazma membranlarının yüksek oranda çoklu doymamış yağ asitlerinden oluşması nedeniyle ROT ‘lerin indüklediği hasarlara çok duyarlı oldukları

belirtilmiştir.(17) Oksidatif hasar sperm membranında fonksiyon bozukluğuna ve anormal morfolojik sperm oluşumlarına neden olabilmektedir [15]. Klinik alışmalarda ROT etimi ile fertilizasyon arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır.Sperm hücrelerinin normal fizyolojik işlevlerinin sürdürülmesinde prooksidan/antioksidan dengenin sağlanması çok önemlidir. insan sperm hücrelerinde ve seminal plazmada aşırı ROT etimi çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemler tarafından engellenmektedir. Seminal plazmada süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz/glutatyon reduktaz ve katalaz (CAT) gibi çoğu hücre ve hücre sıvısında da bulunan antioksidan enzimler bulunmaktadır [8]. Sperm, yardımcı üreme organları, epididim ve testisler tarafından üretilen SOD ve CAT'ın sperm motilitesinin sürdürülmesindeki önemi vurgulanmıştır [16] . idiyopatik infertil hastaların seminal plazmasında çeşitli antioksidan sistemlerin yetersiz olduğu saptanmıştır(9) Bunlar arasında SOD, CAT, glutatyon S-transferaz (GST), GSH ve selenyum sayılabilir. Ancak literatürde bu antioksidan parametrelerin idiyopatik infertil hastalarda beraber değerlendirildiği ve bunların birbirleri ile ilişliklerinin araştırıldığı yeterli çalışma dikkati çekmemektedir. Bu antioksidan sistemlerin beraber bakılmasının ve değerlendirilmesinin hastaların etiyopatogenezinde antioksidan savunma sisteminin rolünün ortaya çıkarılmasında daha fazla katkıda bulunabilir.

Lökospermi ve varikozel varlığında seminal plazmada oksidanların artışı,bu patolojilerin spermatozoalar üzerine olası zararlarını açıklamada kullanılan parametrelerden biridir.Bu çalışmada idiyopatik infertil hastalarda kanda ve semen plazmasında Süperoksit dismutaz Katalaz Glutatyon Peroksidaz gibi oksidan ve MDA gibi antioksidan düzeylerini çalıştık, ve bunun sperm parametreleri ile olan ilişkisini ve bu ilişki üzerinden idiyopatik infertiliteyi açıklayabilecek mekanizmaları literatür eşliğinde tartışmaya çalıştık.

## **2. GENEL BİLGİLER**

### **2.1. Erkek İnfertilitesi**

#### **2.1.1. Epidemiyoloji**

Çiftlerin yaklaşık %25'i 1 yıl içerisinde gebelik elde edememektedirler, bunların da %15'i infertilite için medikal tedavi arayışında olup, %5'i istemelerine rağmen çocuk sahibi olamamaktadırlar. İnfertilite hem erkeği hem de kadını etkileyen bir durumdur. WHO yaptığı bir çalışmada erkek ve kadınların eşit oranda (Erkek%45, Kadın%47) fonksiyonel üreme anormalliğine sahip olduğu ve erkeklerin %6'sında azospermi ve kadınların %16'sında over yetmezliği gibi fertilitiyi ciddi şekilde etkileyen tanılarının bulunduğu saptanmıştır.(37).Genel olarak infertilitenin 1/3'ünden erkek,1/3'ünden kadın ve kalan 1/3'ünden hem erkek hem kadın birlikte sorumlu tutulabilir.

Eğer infertiliteden sorumlu sadece bir faktör söz konusuysa, fertil olan eş diğerinin durumunu kompanse edebilir. Ancak çoğu çiftte, erkek ve kadına ait faktörler bir arada bulunur. İnfertilite, her iki eşin de subfertil ya da fertilitelerinin azalmış olması durumlarında belirgin hale gelir.

#### **2.1.2. Etiyoloji**

Erkek fertilitesinde azalma; konjenital ya da kazanılmış ürogenital bozukluklardan, genital sistem enfeksiyonlarından, skrotal ısı artımından (varikosel), endokrin bozukluklardan, genetik hastalıklardan ve immünolojik faktörlerden kaynaklanabilir. Olguların %60-75'inde sorumlu bir faktör bulunmaz (idiyopatik erkek infertilitesi). Böyle erkekler fertilitate problemiyle ilgili olabilecek geçmişe ait bir hikaye vermeksizin, normal fizik muayene bulguları ve endokrin laboratuvar sonuçlarıyla başvururlar.

Semen analizinde spermatozoa sayısında azalma (oligozoospermi), motilite azalması (astenozoospermi) ve morfolojik incelemede çok sayıda anormal form (teratozoospermi) görülür.

Genellikle bu bozukluklar bir arada bulunur ve oligo-asteno-teratozoospermi (OAT) sendromu şeklinde tanımlanır. Erkek subfertilitesinin başlıca etyolojik nedenleri Tablo 1’de özetlenmiştir.

**Tablo 1:** Erkek infertilitesi etyolojik faktörler

Cinsel faktörler	% 1.7
Ürogenital enfeksiyonlar	% 6.6
Konjenital anomaliler	% 1.1
Kazanılmış faktörler	% 2.6
varikosel	% 12.3
endokrin	% 0.6
İmmünolojik faktörler	% 3.1
Diğer hastalıklar	% 3
İdiyopatik semen bozuklukları	% 75.1

İzah edilemeyen erkek infertilitesine kronik stres, çevresel kirlenmeye bağlı endokrin bozukluklar, oksidatif stres (ROS) ve genetik bozukluklar gibi çeşitli faktörler neden olabilir

#### **2.1.2.1. Endokrin Nedenler**

Hipogonadizmin, hipogonadotropik ve hipergonadotropik olmak üzere iki tipi vardır.

Hipogonadotropik hipogonadizm nedenleri; idiyopatik, Kallmann sendromu, Prader-Willi sendromu, Laurence-Moon-Bardet-Biedle sendromu gibi doğumsal nedenler, puberte gecikmesi, aşırı egzersiz, travma, granülatöz hastalıklar, yer kaplayan tümörler ve hipofiz adenomu ve psikojenik stres gibi edinsel nedenlerdir.

Hipergonadotropik hipogonadizm nedenleri anorşi veya cerrahi kastrasyon, Klinefelter sendromu, testis tümörleri, osteoporoz ve karaciğer sirozu gibi sistemik

hastalıklardır. Ayrıca androjene duyarsızlık durumlarında testiküler feminizasyon ve Reifenstein sendromu düşünölmelidir.

### 2.1.2.2. Spermatogenez Bozuklukları

**Kromozom bozuklukları:** Klinefelter Sendromu (47 XXY),XX Male,XXY Sendromu,Noonan Sendromu,Y kromozom mikredelesyonları ve diğer kromozal anomaliler

**Bilateral Anorşi ve Kriptorşidizm:** Kriptorşidizm(inmemiş testis) yeni doğanda yaklaşık olarak %2.7 olarak görölen ve 1 yaşında %0.8 oranına düşen nispeten sık görölen bir durumdur.Semen parametrelerinde düşmeye,testis boyutlarında azalmaya serum FSH ve serum inhibin düzeylerinde yükselmeye yol açarak subfertiliteye yol açtığı bilinmektedir.Tek taraflı inmemiş testis de infertilite oranı uygun zamanda tedavi edilse dahi, testis deki doğumsal anormalliklerden dolayı %20 oranında görölmektedir.İki taraflı inmemiş testislerde bu oran %70'lere varabilmektedir.

**Torsiyon:** Bilateral olması definitis testis yetmezliği nedeni iken unilateral olması tartışmalıdır.

**Varikosel:** Varikosel, aşağıda belirtilen çeşitli androlojik bulgulara yol açan ve sık görölen bir hastalıktır:

- Varikoselli tarafta (ipsilateral) testis büyüme ve gelişiminde gerileme
- Skrotal ağrı ve rahatsızlık gibi semptomlar
- İnfertilite

Varikosel erişkin erkek popülasyonun % 2-20'sinde görölen bir anormalliktir (25-35). Bozuk semen analizine sahip erkeklerin % 25'inde varikosel saptanması, infertil erkeklerde daha sıklıkla göröldüğünü göstermektedir(37)

Varikosel ile erkek infertilite arasındaki ilişki tam olarak bilinmemesine rağmen, WHO verilerine göre varikoselin fertilité üzerine etkileri semen anomalileri (sperm sayısı, motilité ve morfolojide bozulma), testiküler volümde azalma ve Leydig hücre fonksiyonunda azalmayla ilişkilidir.

### **Sertoli Cell Only Sendromu(SCOS):**

SCOS normal ya da yüksek FSH düzeyleri olan hastalarda saptanabilir (13-59). Hastalar genellikle azospermi ve normal ejakulat hacmi, artmış FSH düzeyleri, normal testosteron, luteinizan hormon (LH) ve prolaktin düzeyleri, normal sekonder seksüel karakterler ve bilateral küçük testisler ile karşımıza çıkarlar. LH ve testosteron düzeylerinin sadece klinik olarak hipogonadizm bulguları bulunan hastalarda araştırılması önerilir.

### **Orşit:**

Puberte sonrası orşitte testisküler atrofi gelişebilir. Bilateral olursa %50 infertilite riski mevcuttur.

Kabakulak orşiti genelde tek taraflı izlenir, ancak nadiren bilateral olabilir. İki taraflı tutulumun infertiliteye yol açabileceği göz önünde bulundurulmalı ve erken etkin tedavi başlanmalıdır.

### **Myotonik Distrofi:**

Yetişkin dönemlerde kas atrofileri, katarakt ve endokrinopatilerle seyreden otozomal dominant geçişli bir hastalıktır. Testis atrofisi, sperm kapasitasyonunda defekt ve akrozom kaybına yol açar.

### **Gonodotoksinler:**

Değişik mesleklere özgü spesifik gonadotoksinler tanımlanmıştır. Bunlar değişik pestisitler organofosfatlar, organoklorinler (örneğin DDT), karbamatlar (örneğin karbaril), fumigantlar, herbisitler ve fungusitlerdir. Tedavi stratejisi bu etkenlerden uzak

kalma ya da korunmadır. Erkek infertilitesinde endüstriyel ve tarımsal gonadotoksinlere maruz kalımın en aza indirgenmesiyle infertilite riski azaltılabilir.

### **2.1.2.3. Sperm iletim bozuklukları**

**Duktal obstruksiyon:** Obstruktif azoosperminin en sık nedenleri vaz agenezisi ve epididimal

agenezidir.

**Ejekülasyon problemleri:** Retrograd ejakülasyon, anejekülasyon

**Seksüel bozukluklar:** Erektile disfonksiyon, prematur ejakülasyon ve aşırı cinsel aktivite

**Penis Anomalileri:** Hipospadias, epispadias ve ciddi penil kurvatur bozuklukları

### **2.1.2.4. Sperm fonksiyon bozuklukları:**

**İmmunolojik infertilite:** Spermin kan-testis bariyerini aşarak immün sistemle karşılaşması ile kanda antisperm antikorları(ASA) oluşabilir. Testis torsiyonu, testis travması, kriptorşidizm, genital enfeksiyonlar, testisküler biyopsi veya vazektomi sonrası oluşabilir.

**Ultrastrüktürel Anomaliler:** Defektler dış dens fiberde, mikrotubüllerde mitokondri ve spermatozoa başında olabilir.

### **2.2.2.5. İdiyopatik infertilite:**

İnfertilitesi olan çoğu erkek hastada oligo-asteno-teratozoospermi (OAT) sendromu bulunur. İnfertil erkeklerin %40-75'inde OAT dışında gösterilebilir bir neden bulunamamıştır.

Böyle hastaların semen parametreleri geniş bir aralık içerisinde değişen bozulmalar gösterir. İzole bozukluklar çok daha az sıklıkta görülür. Hikaye ve fizik muayene genellikle belirleyici değildir. Hormonal sonuçlar tipik olarak normal bulunur(48)

### **2.1.3. Tanı:**

Hasta değerlendirilmesinde altta yatan faktörlerin ortaya çıkarılması hedeflenmektedir.

#### **2.1.3.1. Anemnez:**

Anemnez alınırken dikkat edilmesi gereken noktalar: medikal tedavi ve yaşam tarzı değişiklikleri ile düzeltilebilecek patolojileri saptamak, infertiliteye sebep olabilecek eş zamanlı hastalıklar ve gelecek nesilleri etkileyebilecek genetik hastalıkların tespitine dayanmaktadır.

Anemnezde erkek ve kadının ayrı ayrı önceki ve şimdiki fertilitate statüsü araştırılmalı, çiftlerin yaşı ve korunmasız cinsel ilişki süresi sorgulanmalıdır. Fertilitate potansiyelini negatif yönde etkileyebilecek faktörler; kadının yaşının 35'in üzerinde olması, daha önceden bilinen infertilite öyküsü, inmemiş testis, testis kanseri, kemoterapi, endometriyozis pelvik inflamatuvar hastalık gibi organik bozuklukların olmasıdır.

İdiyopatik infertilitede başarıyı etkileyecek en önemli faktörlerden birisi infertilite süresi olup infertilitenin primer veya sekonder olduğu erkek ve kadın partner için ayrı ayrı sorgulanmalıdır. Daha önceden infertilite nedeni ile geçirilmiş ameliyatlara, reçete edilmiş ilaçlar ve yardımcı üreme teknikleri öğrenilmelidir.

İnfertilite nedeniyle başvuran çiftlerin % 5 'inde cinsel disfonksiyon bulunmaktadır. Cinsel öyküde ejakülasyonun olup olmadığı, ilişkinin sıklığı ve zamanlaması sorgulanmalıdır. Ayrıca erkek erektil disfonksiyonunun olup olmadığı öğrenilmelidir.

Erkek partnere ejakülatın miktarı ve natürü sorulmalıdır. Ejekülat ciddi azalması hipogonadizm ile ilişkili olabileceği gibi ejakülat hacminin düşük olması ayrıca şeffaf ve çok akışkan olması seminal vezikül patolojisi, ejakülatuar kanal patolojisi veya kistik fibrozu düşündürmelidir.

İnmemiş testis yenidoğan ve 1 yaşında olan erkek çocukların %0.8'inde görülen ve fertilitate statüsünü etkileyen bir patolojidir. Tek taraflı inmemiş testis öyküsü bulunan erkeklerin %50'si çift taraflı inmemiş testis öyküsü bulunan erkeklerin ise %90'ı subfertilidir.

### **2.1.3.2. Fizik Muayene**

Sekonder seks karakterleri,jinekomasti(prolaktin yüksekliğinde,androjen - östrojen imbalansında görülebilir) varikosel(1. derece: Valsalva manevrası sırasında palpe edilebilen varikosel, 2. derece: Valsalva manevrası yapılmadan palpasyon ile saptanabilen varikosel, 3. derece: Valsalvasız uzaktan, gözle görülebilen varikoseldir ),skrotum testis ve ekleri(atrofi,kriptoorşitizm ve kronik epididimal endurasyonlar)penis muayenesi(hypospadias-epispadias ,mikropenis gibi anomaliler)parmak ile rektal muayene ve görme alanı muayenesi(hipofiz patolojileri için anlam taşıyabilir)yapılır.

### **2.1.3.3. Laboratuvar:**

**A Başlangıç Değerlendirilmeleri:** Bu kapsamda hormonal testler ve semen analizi yapılır.

#### **a-Semen analizi:**

Erkek fertilitatesinin değerlendirilmesinde semen incelemesinin klinik değeri daha önceleri sorgulanmış olmasına rağmen, son zamanlarda erkek fertilitate değerlendirilmesinde altın standart fonksiyonunu geri kazanmıştır.Fertilitate değerlendirilmesine temel olarak ayrıntılı bir öykü, fizik muayene ve en az 2 semen incelenmesi ile başlanması kabul görmüştür.Eğer ilk semen incelenmesi güvenilir ve

WHO(Dünya Sağlık Örgütü) kriterlerine göre normal ise ikinci teste gerek duyulmayabilir.

Semen analizi normal değilse, androlojik muayene gerekir. Tedaviyle ilgili önemli kararların alınması halen esas olarak semen analizine dayanmakta olduğu için, laboratuvar çalışmalarının da standardize edilmesi arzulanır. Ejakulat analizi WHO tarafından standardize edilerek, kurslar ve WHO Laboratory Manual for Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction yayınıyla sürekli olarak yaygınlaştırılmaya çalışılmıştır.

**Tablo 2:** 2010 WHO kriterlerine göre standart semen analiz değerlerinin genel tablosu

ph	7.0-8.0
volüm	$\geq 1.5.0$ mL
sperm konsantrasyonu	$\geq 15$ milyon/mL
motilite	$\geq \% 40$ hareketli
morfoloji	: $\geq \% 4$
canlılık	$> \%50$ spermatozoa
lökosit	$< 1$ milyon/ml
immunbead testi	: $< \%50$ partikül bağlanmış spermatozoa
MAR testi	$< \%50$ partikül bağlanmış spermatozoa

\*Kruger ve Menkfeld kriterlerine göre değerlendirim \*\*MAR = Mixed antiglobulin reaction Semen analiz sıklığı; eğer değerler WHO kriterlerine göre normal

gelmişse, tek test yeterli kabul edilmelidir. Sadece, en az iki testin de anormal bulunması durumunda, ileri androlojik araştırma gerekir.

### **b. Hormonal değerlendirme:**

İnfertil olguların %3 'ünde primer endokrin bir neden bulunmaktadır. Sperm sayısının 10 milyon/ml ve altında olduğu durumlarda FSH, LH, Testesteron ve Prolaktin başta olmak üzere hormon profilinin değerlendirilmesi önerilmektedir.

Genellikle FSH düzeyleri, spermatogonia sayısı ile koreledir. Bu hücrelerin olmadığı ya da belirgin olarak azaldığı durumlarda, FSH düzeyleri genellikle yükselir. Spermatogonia sayısının normal fakat komplet spermatozoid ya da spermatozoid blokajının bulunduğu durumlarda FSH düzeyleri normal sınırlardadır. Ancak, tek bir hasta bazında, FSH düzeyleri spermatogenez durumu hakkında tam bir öngörü sağlamaz.

Önveriler, düşük inhibin B düzeyleri ve spermatogenetik hasar arasında daha güçlü bir korelasyon ortaya koymuşlardır. Bu gün için inhibin B'nin rutin değerlendirmesi önerilmemektedir.

### **B- İleri Değerlendirmeler:**

#### **Antisperm Antikor(ASA):**

Direkt olarak immünobead ve MAR, indirekt olarak ise serumda ölçülebilir. >%20-50 bağlanma pozitif olarak kabul edilir. fertillerde %2 infertillerde %10 oranında saptanabilmektedir. Motilite bozukluklarında, aglutinasyon açıklanamayan infertilite durumlarında ASA istem endikasyonu vardır.

#### **Lökosit boyama:**

Görüldüğü düşünülen lökositler 1/3 hastada gerçek pyospermi, geri kalanlarda ise aslında inmatür spermallerdir. Boyama monoklonal Ab ve immunohistokimya kombinasyonu ile yapılabilmektedir.

#### **Ultrastruktürel inceleme:**

Düşük motilite ve yüksek viabilite varsa yapılmalıdır.

### **Vazografi:**

Temel amaç azospermi ve normal testisküler biyopsi varlığında olası obstruksiyonu ortaya çıkarmaktır, rekonstruktif cerrahi ile eş zamanlı yapılmalıdır.

### **Ultrasonografi(Scrotal-transrektal-abdominal):**

Konjenital veya edinsel yapısal anomaliler ve düşük volüm ölçümlerinde yeri vardır.

### **Venografi:**

Tanı ve potansiyel olarak tedavi amaçlı yapılır.

### **Sperm Fonksiyon Testleri:**

**post koital test(PCT);** sperm-servikal mukus interaksyonu

**akrozom reaksiyon;** akrozom reaksiyon testleri, kapasitasyon sonrasında spontan akrozom reaksiyonuna giden sperm yüzdesi(normali <%5) ve inducing agent sonrası akrozom reaksiyonuna giden sperm yüzdesi(normali>%15-40)bakılarak saptanır.

**Sperm penetration assay(SPA);** zonası çıkarılmış hamster yumurtasına sperm penetrasyonunu ölçer. Bu yüzden sperm-zona etkileşimi bozukluğunu ölçemez.

**Hemizona assay ;** Herhangibir zona ikiye ayrılır ve bir parçasına hasta, diğerine fertil donör sperminin bağlanmasına bakılır

**Sperm Viability Assays;** Non motil spermlerin canlı ölü ayrımını yapar

### **ROS analizleri(Reactive Oxygen Species):**

Süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil radikalleri gibi ROS'ları ölçer. ROS hem sperm hem de daha fazla olmak üzere lökosit kaynaklı olabilir. ROS'lar bir yandan yararlı (kapasitasyon/hiperaktivasyon) iken diğer yandan zararlı fonksiyonlara sahiptirler. ROS lipid membranlarda peroksidatif hasarı indükler, ayrıca

metabolizma,morfoloji,motilite, fertilizasyon kapasitesine etkir.Ayrıca bunlar infertiliteye yol açabileceği gibi infertilite sonucuda gelişebilir.

**Genetik testler:** Karyotipik anomaliler,Ymikrodelesyonları ve otozomal mutasyonlar araştırılır.

**Testis biyopsisi:** Tanısal biyopsi testis volümü ve FSH düzeyi normal,vazı olan azoospermik olgularda yapılır.

## 2.2. Oksidatif Stres Sperm Kromatin Hasarı Ve Sperm Fonksiyonları

Serbest radikallerin 1970'lere kadar canlılarda olmadığı düşünölmekteydi. Ancak süperoksid dismutazın keşfi, memeli canlılarda serbest radikallerin fizyolojik bir ürün olduğunu gösterdi ve bu konu ile ilgili çalışmaları başlattı(55)

Reaktif oksijen türleri olarak tanımlanan grup serbest radikal sınıfına ait oksitleyici ajanlardır. Bunlar tablo da gösterilmiştir

**Tablo 3:** Serbest oksijen radikalleri

Süper oksid anyonu	O <sub>2</sub> -
Hidroperoksit	HO <sub>2</sub> -
Hidroksil	OH-
Yalın Oksijen	O-
Peroksik(R:Lipid)	: ROO-

Oksijen yaşamı desteklemek için gereklidir.Oksijenin metabolitleri olan reaktif oksijen türleri hücre fonksiyonu düzenlenmesinde rol alırken,bu metabolitlerin fazlalığı hücre fonksiyon ve yaşamını tehlikeye atabilir.Üretilen reaktif oksijen türleri antioksidan sistem tarafından inaktive edilmeli ve normal fonksiyonunu idame etmek için gerekli olan düşük miktarlarda tutulmalıdır.Oksidanlar antioksidanları sayıca geçerse oksidatif stres gelişir ve patolojik etkiye neden olur.(40-56)

İnsan üreme sisteminde reaktif oksijen türleri üretimi ve bunları temizleyen antioksidan sistem arasında bir denge mevcuttur. Böyle bir denge sonucu reaktif oksijen türleri minimal düzeyde tutulur ve bu seviye sperm kapasitasyonu,akrozom reaksiyonu ve sperm-oosit füzyonu gibi normal sperm fonksiyonlarının düzenlenmesinde gereklidir(5-24)

Antioksidan sistemlerin yetersiz kalması yanında, semende aşırı reaktif oksijen türleri üretimi spermatozoa ve seminal sıvıdaki antioksidan mekanizmalarını aşabilir ve oksidatif strese yol açabilir.(49-50-51)

Oksidatif stres varikosel, kronik prostatit gibi ürolojik patolojilerde gelişebilir. Sperm fonksiyonları üzerine olan patolojide rol oynayabilir.(26-43) İnfertil erkeklerin %25 ile%40'ında semende yüksek miktarda reaktif oksijen türleri saptanması bu konuya olan ilgiyi artırmaktadır.(20-42)

### **2.2.1. Semendeki Reaktif Oksijen Türleri Kaynakları**

Erkek semenindeki seminal lökositler ve morfolojik olarak anormal spermatozoalar reaktif oksijen türlerinin ana kaynağıdır(6-32)

#### **2.2.1.1. Spermatozoada Reaktif Oksijen Türleri Üretimi:**

Spermden oluşan reaktif oksijen türleri üretiminin seviyesi semende ki spermin kalitesi ile ters ilişkilidir.(22) Spermatogenez bozulduğunda stoplazmik atım mekanizması yetersiz çalışır.Bunun sonucunda spermatozoa germinal epitelyumdan fazla stoplazma içerir şekilde atılır.Reaktif oksijen türleri spermden (intraselüler) ve peroksidaz pozitif lökositlerden(ekstraselüler) üretilir.İntraselüler üretimin sadece 1/3 kısmı seminal plazmaya verilir.(44)İntraselüler üretimin büyük kısmı defektif spermatogeneze bağlı aşırı stoplazma içeren mitokondriden zengin sperm parçasında NADH'ya bağlanan oksiredüktaz üzerinden yapılır.

Fazla sitoplazma taşıyan spermatozoa , sitozolik bir enzim olan glikoz 6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) tarafından yönlendirilen bir yol üzerinden fazla reaktif oksijen türlerinin üretimini gerçekleştirir.G6PD sitozolde bulunan pentoz fosfat (heksoz monofosfat şantı) yolunda glikozun kullanımını kontrol eder.Bu yoldan glikoz

oksidasyonu yapılır ve indirgeyici özellikte olan NADPH oksidaz olarak bilinen enzim sistemi bunu reaktif oksijen türleri üretimi için elektron kaynağı olarak kullanır. Bu sistem ile sperm plazma membranı seviyesinde reaktif oksijen türleri üretilir (kaynak ana kitap). NADH'a bağlı oksiredüktaz ile mitokondride reaktif oksijen türleri üretilir. İnsan spermatozoasındaki esas oksijen radikali süperoksid anyonudur ( $O_2^-$ ). Süperoksid dismutaz bu anyonu  $O_2^- + O_2 + 2H = H_2O_2 + O_2$  denkleminde gösterildiği gibi temizler. Fakat demir ve bakır gibi ileri derecede zararlı hidroksil (OH) radikaline dönüşebilir. Ayrıca Fenton reaksiyonu ile  $H_2O_2$ 'den hidroksil radikali üretilebilir. Hidroksil radikali lipid peroksidaz sisteminin güçlü bir başlatıcısıdır.

Bu konuda diğer bir hipotez ise plazma membranından geçen  $H_2O_2$ , G6PD enzimini inhibe ederek NADPH üretimini bozmasıdır. Bunun sonucunda spermin antioksidan mekanizması azalır ve membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu artar. (23)

#### **2.2.1.2. Lökositlerden Reaktif Oksijen Türleri Üretimi:**

Peroksidaz pozitif lökositler semedeki oksijen radikallerinin ana kaynağıdır. (kaynak) Bu grup polimorf nüveli lökosit (PNL) ve makrofajları içerir. PNL'nin büyük kısmı prostat ve seminal veziküllerden gelmektedir. İnfeksiyon gibi uyarılar sonucu NADH üretimi artar ve lökositlerin myeloperoksidaz sistemi aktifleşir. Bunun sonucu yüksek seviyede oksijen radikali salınımı gerçekleşir. Oksidatif patlama olarak da tanımlanan bu durumun etkin bir antimikrobik savunma olduğu düşünülmektedir (47)

Lökospermi durumunda üretilen fazla reaktif oksijen türlerinin sperm hasarına neden olduğu düşünülür. Ancak lökosit konsantrasyonu normal standartlarda olanlarda da oksidatif strese bağlı sperm hasarı oluşabilir. (52) Lökositlerin sperm fonksiyonlarına olan etkisi , sayısı, aktivasyon durumu, radikal üretme seviyesi ve semene katılma noktasına bağlıdır. Lökosit infeksiyonu in vivo şartlarda erkek infertilitesine majör etkiye sahip olmayabilir, ancak in-vitro şartlarda fertilizasyona olumsuz etkisi vardır (11).

İnflamasyonun toksik etkisinde reaktif oksijen türleri sitokinler etkileşim göstermektedirler.

Lökospermili veya lökospermisiz subfertil erkeklerde reaktif oksijen türleri, interlökin 1 ve interlökin reseptör antogonist aşırı üretimi saptanmıştır. Bu bulgu, aksesuar gland infeksiyonunda sperm kalitesine olan etkinin lokal veya lökositlerden olan sitokin üretimi ile oksijen radikallerinin sonucu olduğu düşünülmektedir.

### **2.2.2. Antioksidan Savunma Sistemleri**

Canlı organizmada değişik metabolik yollar ile serbest radikal üretimi devam ettiğinden organizma kendini savunmak için bu toksik ürünlere karşı antioksidan savunma sistemleri geliştirmiştir. Savunma mekanizmaları genelde enzimatik olmak ile beraber kimyasal serbest oksijen radikallerini tutucu (temizleyici) moleküllerde savunmada rol almaktadır.

#### **2.2.2.1. Endojen Antioksidanlar:**

Enzimatik ve non enzimatik olarak iki alt grup içinde değerlendirilirler.

**a-**Enzimatik antioksidanlar, sitokrom oksidaz sistemi, süperoksid dismutaz, glutatyon enzimleri olarak sayılabilir.

**b-**Enzimatik olmayan antioksidanlar ; E vitamini, karoten, askorbik asit, demir ve bakır bağlayan proteinler olarak sayılabilir.

Seminal plazmadaki total antioksidan kapasite, oksidatif stres gelişmesinde önemli bir parametredir. infertil erkeklerde bu kapasite fertillere göre düşüktür. Ancak oksidatif stres gelişmesinde antioksidan kapasitedeki düşüklükten öte, aşırı aşırı oksijen radikalleri üretiminin neden olduğu sanılmaktadır. (64)

#### **2.2.3. Oksidatif Stres ve Sperm Üzerine Zararlı Etkileri**

Oksijen radikallerinin fizyolojik miktarı bazı sperm fonksiyonlarının düzenlenmesinde olumlu etki yapar. Bu miktarlarda sperm zona pellusidaya bağlanmasını artırırken, sperm kapasitasyonunu uyarır ve hiperaktivasyonu sağlar. Akrozom reaksiyonunu ve oosit füzyon kabiliyetini de artırmaktadır. (4)

Aşırı oksijen radikali üretimi, spermatozoa ve seminal plazmanın antioksidan savunma mekanizmalarını geçen kiritik seviyeye gelirse oksidatif strese neden olur.Lipidler, proteinler, nükleik asitler, şekerler gibi tüm hücrel yapılar oksidatif stresin hedefidir. Oksidatif stres ile olan hasar reaktif oksijen türlerinin yapısı, miktarı ile ilgili olduğu kadar, bunlarla olan temas süresi, oksijen radikalleri temizleyicileri ,etraf dokudaki iyon ve proteinler, oksijen basıncı ve ısı ile de ilgilidir.

Oksidatif stres sperm fonksiyon bozukluğunda önemli rol oynamaktadır.Reaktif oksijen türlerinin artmış düzeyi ve/veya total enzimatik olmayan antioksidan düzeyindeki düşme sperm plazma membranında artmış lipid peroksidasyonu ile beraberdir.(54)

Lipidi peroksidasyonu sperm plazma membranının akıcılığına zarar verir ve sonucunda oosit füzyonu yeteneği kaybına yol açar.Lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan malon dialdehid spermatozoaya olan oksidatif hasarı ölçmede kullanılan bir parametredir.Bazı çalışmalar orta kısım anomalisi ile birlikte olan lipid peroksidasyonunun,sperm sayısı ,sperm motilitesi,akrozom reaksiyonu zayıflaması ile fertilizasyon kabiliyetinde azalma ile birlikte olduğunu göstermiştir(24-57).Reaktif oksijen türevleri spermden (intraselüler) ve peroksidaz pozitif lökositlerden(ekstraselüler) üretilir. İntraselüler üretimin büyük kısmı defektif spermatogeneze bağlı aşırı sitoplazma içeren mitokondriden zengin sperm orta parçasından yapılır. Bu durum immatür spermler ile matür spermlerin birlikte seminifer tübülde epididime olan yolculuğu matür spermlerde reaktif oksijen türleri ile olan hasara yol açmaktadır.

İdiyopatik infertilite tanısına sahip erkeklerin %25-40'ında yüksek oksijen radikali düzeyi saptanmıştır.Bu bulgu sperm plazma membranı lipid peroksidasyonunun erkek infertilitesinde anahtar bir role sahip olabileceğini düşündürmektedir(kaynak). İn vitro fertilizasyon(İVF) tedavisinde düşük fertilizasyon oranına sahip oligospermik erkeklerin yarısında reaktif oksijen türleri miktarı normal fertil sınırın üzerinde çıkmıştır.Bu infertilitede erkek kaynaklı patolojilerin serbest radikaller ile olan bağlantısına tipik bir örnek olarak gösterilebilir(2)

Reaktif oksijen türlerinin artışı ve azalmış sperm motilitesi arasında ilişki vardır.Bu ilişki sperm-oosit füzyonu için gerekli olan membran akışkanlığındaki azalma

ile birlikte olan aksonemal protein fosforilizasyonu ve sperm immobilitesine yol açan oluşumlar dizisine bağlı olabilir.(19)

Spermatozoa DNA'sı oksidatif hasardan etkilenebilir. İki faktör DNA'yı korumaktadır.Sperm DNA'sının kendine özgü sıkı paketlenmesi ve seminal plazmadaki antioksidanlar sperm reaktif oksijen türlerine maruz bırakılınca tüm bazlarda modifikasyon, eksilmeler, bazdan yoksun bölgelerin oluşması, çatı kayması,DNA çapraz linkleri ve kromozal yeni yapılanmalar şeklinde sperm DNA hasarı oluşmaktadır. Oksidatif stres aynı zamanda tek veya çift taraflı DNA sarmalında kırılma ile yüksek oranda birliktedir. İntrastoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI) yönteminin kullanılması ile birlikte erkek infertilitesinde hızlı bir ilerleme sağlanmakla birlikte sperm DNA hasarı göz önüne alınmadı.DNA hasarlı spermilerin ICSI yönteminde kullanılması fertilizasyon başarısızlığı, erken embriyo ölümü, spontan abortus sıklığı gibi istenmeyen sonuçlara sebep olabilmektedir. DNA hasarı ve sperm plazma membranı hasarı birlikteliği sık olduğundan bu spermier ile IVF veya IUI yönteminde fertilizasyon sağlanması güçtür.Böylece doğal olarak hasarlı spermier saf dışı kalmış olurdu.ICSI yönteminde ise bu doğal bariyer aşılmaktadır.Lopes ve arkadaşları, sperm DNA hasarı %25 den fazla olan erkeklerde ICSI ile fertilizasyon oranının %20'den az olacağını belirtmişlerdir(35). Buda sperm hasarının ICSI sonrasında bile problem yarattığını göstermektedir.Bununla birlikte ciddi DNA hasarlı spermierin ICSI sonrası fertilizaasyon için hala yedek bir kapasitelerinin olabileceği bildirilmiştir.(3-59).Normospermik infertil erkeklerde DNA hasarı %43 olarak saptanırken, anormal sperm parametresine sahip olgularda bu oran%62 olarak saptanmış,bununla birlikte kontrol grubunda ise DNA hasarı ile karşılaşılmamıştır.(7) Bu bulgu ,DNA hasarının infertilitede ne derece rol oynadığını kanıttır.Oksidatif stres ve buna bağlı oluşabilen DNA hasarı fertilizasyonda ciddi bir problem olarak durmaktadır.

### **3. MATERYAL ve METOD**

#### **3.1. Hasta Seçimi:**

Çalışmamıza 1 ağustos 2014 ile 31 aralık 2014 tarihleri arasında Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji polikliniğine eşi sağlıklı olup infertilite nedeniyle başvuran yaşları 20 ile 40 arasında değişen, bilinen bir infertilite nedeni olmayan 40 hasta alındı.

Hastaların fertilitate potansiyellerini etkileyecek faktörlerinde sorgulandığı detaylı bir anemnez sonrasında Genital muayeneleri yapıldı, testisküler patolojiler açısından skrotal dopler istendi, FSH,LH, Prolaktin ve Testesteron'dan oluşan hormon profilleri bakıldı.Çalışma gruplarına kriptorşidizmi, vazektomisi, anormal karaciğer ve hormon testleri olan, sigara ve alkol kullanan bireyler dahil edilmedi.Bireylerin son üç aydır folik asit, glutatyon, E ve C vitamini, selenyum, çinko takviyesi almayanlar arasından seçildi.Varikosel, inmemiş testis,hormonal patoloji,lökospermi ve/veya obstruktif patoloji düşündürecek infertil gruplar çalışmaya alınmadı.Ayrıca WHO 2010 kriterlerine uygun şekilde 10 gün aralıklarla iki adet semen analizi bakıldı.

Son bir yıl içinde çocuk sahibi olan semen parametreleri WHO 2010 kriterlerine göre normal olan yine yaşları 20-40 arasında değişen 20 gönüllü kontrol grubu olarak seçildi.

#### **3.2. Örneklerin Toplanması Ve Analizi**

##### **3.2.1. Semen Analizi:**

Her hastadan 10 gün ara ile iki adet semen örneği alındı.İki örnek arasında %20 den fazla fark olması durumunda üçüncü bir semen örneği hastalardan alındı.Semen örnekleri en az 3 günlük en çok 7 günlük cinsel perhiz sonrası usulüne uygun olarak toplandı.Alınan semen örnekleri 37 derecede likefiye olduktan sonra WHO 2010 kriterlerine göre değerlendirildi.Sperm morfolojisi sayı ve hareketine bakıldı.sperm morfolojisi gimsa boyama ile sayı ve hareket ise makler kamera ile değerlendirildi.

Semen örnekleri 2010 WHO kriterlerine göre değerlendirilmesi sonrası likefasyonu takiben 10 dakika 1800 g de santrifüj edilerek supernatan kısmı Katalaz ,süperoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz ve MDA çalışmak üzere -80 derecede tutuldu

### **3.2.2. Venöz Kan Analizi:**

Çalışmaya katılanlardan antekübital venden sabah 9 da 5-7 cc arası peiriferik venöz kan alındı.Serum örnekleri kuru tüplere alınan tam kan örneklerinin oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 3500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmesi ile elde edildi. Katalaz, süperoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz ve MDA çalışmak üzere -80 derecede tutuldu.

### **3.2.3. Süperoksid Disimutaz Analizi:**

Ölçümde serum ve sperm örnekleri kullanıldı. Her ikisi içinde metotlar aynıdır. Serum örnekleri kuru tüplere alınan tam kan örneklerinin oda sıcaklığında 30 dk bekletildikten sonra 3500 rpm de 5 dk santrifüj edilmesi ile elde edildi. Sperm örnekleri ise; sperm gönüllülerden temin edildikten sonra 1800 g de 10 dk santrifüj edildi ve üstte kalan semen plazması ölçüm için kullanılmak üzere ayrıldı.

Semen plazması'na 5 kat dilüe edecek şekilde fosfat tamponu eklendi (pH 7,2). Tüm numuneler eşit hacimde numunelere ayrılarak, çalışma gününe kadar -80 0C'de saklandı.

Sun Yi ve ark.larının spektrofotometrik yöntemi (58) kullanılarak ölçülmüştür. Süperoksid dismutaz enzim aktivitesinin ölçüm prensibi ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksid anyonunun, nitro blue tetrazoliumu (NBT) indirgeyerek renkli formazon bileşiği oluşturması esasına dayanmaktadır .

Ölçüm prosedürü: Bir kör tüpü ve herbir numune için 5 mL boş tüp hazırlanır. Tüplere 2.450 mL assay çözültisi eklenir. Numune tüplerine 0.5 mL numune pipetlenir, kör tüpüne ise 0,5 mL distile su pipetlenir. Tüplere 50 µ xantin oksidaz eklenerek 1 saat 25 C'de inkübe edilir ve oluşan renkli birleşik 560 nm dalga boyunda köre karşı okutularak absorbansları kayıt edilir.

### **3.2.4. MDA Analizi :**

MDA düzeyleri Okhawa ve arklarının MDA'nın thiobarbitürik asitle reaksiyonuna dayanan spektrofotometrik yöntemi (40) ile ölçülmüştür. Sonuçlar numunelerde protein miktarı ölçülerek nmol/ gr protein olarak verildi.

Deney prosedürü: Her bir numune, standart ve kör için 10 mL ağız kapaklı temiz tüp temin edilir. Tüp tüplere 200 µL sodyum dodesil sülfat konulur, üzerlerine 1,5 mL asetik asit, 1,5 mL TBA pipetlenir.

Numune tüplerine 100 µL numune, standart tüpüne 100 µL standart ve kör tüpüne 100 µL distile su pipetlenerek 1 saat kaynar su banyosunda inkübe edilir. Tüpler soğuk su altında soğutulduktan sonra 1000 µL distile su ve son olarak 5 mL n-butanol/piridin karışımı eklenir ve oluşan renkli kompleksin 532 nm dalga boyundaki absorbansı kayıt edilir.

### **3.2.5. Glutatyon Peroksidaz Analizi**

GSH-Px enzim aktivitesinin ölçümü, Hidrojen peroksit varlığında NADPH'in NADP<sup>+</sup>'ye yükseltgenmesi sırasındaki absorbans azalmasının 340 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak yapıldı.(19)

Deney Prosedürü: Her bir numune ve kör için 5 mL temiz tüp temin edilir. Tüplere 2,650 mL modifiye GPx tamponu, 100 µL GSH , 100 µL NADPH pipetlenir. Numune tüplerine 20 µL numune kör tüpüne ise 20 µL distile su ilave edildikten sonra her bir tüpe 10 µL glutatyon redüktaz pipetlenir ve 37 0C'de 30 dk inkübasyona bırakılır. İnkübasyondan sonra 100 µL hidrojen peroksit eklenerek 340 nm dalga boyunda ölçüm yapılır.

### **3.2.6. Katalaz Analizi:**

Katalaz enzim aktivitesi, substratı olan hidrojen peroksit etki etmesiyle azalan absorbansın 240 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle elde edilmiştir. (12- 27 ) Sonuçlar numunelerdeki protein düzeyi ölçülerek doku için U/ mg protein ve hemolizat için U/ gr Hb olarak verildi.

Deney Prosedürü: Kör tüpüne 3 mL %30 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>+fasfat tamponu eklenir numune tüplerine ise aynı tampondan 2,99 mL ve 10 µL numune konularak 240 nm dalga boyundaki absorbansları kayıt edilir.

### **3.3. İstatiksel Analiz:**

Üzerinde durulan özellikler için tanımlayıcı istatistikler; Ortalama, Standart Sapma, Minimum ve Maksimum değer olarak ifade edildi. Bu özellikler bakımından gruplara göre yapılacak karşılaştırmalarda Student t testi kullanıldı. Özellikler arası ilişkileri belirlemede Pearson veya Spearman korelasyon katsayısı hesaplandı. Hesaplamalarda istatistik anlamlılık düzeyi %5 olarak ele alındı(**p<0.01**) ve hesaplamalar için SPSS istatistik paket programından yararlanıldı.

#### 4. BULGULAR

Çalışma kriterlerine uygun kırk infertil hasta belirlendi. Hasta grubu yaş ortalaması 30,95+/-4,86 yaş aralığı dağılımı 20-40 yıl;kontrol grubu için belirlenen kriterlere uygun 20 kişi yaş ortalaması30.90+/-

4,83 yaş aralığı 20-40 yıldır. İki grup arasında ki yaş farkı istatistiksel olarak anlamsızdır.(p:0.955)(tablo4)

Hasta ve kontrol grupları için seminal parametreler tablo 4'de belirtildi.Hasta grubunda motilite total sperm sayısı ve morfoloji anlamlı derecede düşük bulundu(p:0,01).

**Tablo 4:**Tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

		Ort.	Std. Sap.	Min.	Mak	p
Tot. Sperm (milyon)	Hasta	67,07	68,182	0	300	0,01
	Kontrol	215,00	118,743	60	450	
	Genel	115,57	111,655	0	450	
Hareket (%)	Hasta	23,17	20,578	0	60	0,01
	Kontrol	47,00	10,809	35	70	
	Genel	30,98	21,131	0	70	
Morfoloji (%)	Hasta	50,73	29,274	0	80	0,01
	Kontrol	69,00	9,119	50	80	
	Genel	56,72	25,931	0	80	
Yaş (yıl)	Hasta	30,98	4,896	21	40	0,955
	Kontrol	30,90	4,833	20	40	
	Genel	30,95	4,835	20	40	

Süperoksid dismutaz,glutasyon peroksidaz,katalaz ve malondialdehit için serum plazma sonuçları tablo 5'de belirtildi, semen sonuçları aynı parametreler için tablo 10'da belirtildi.İncelenen parametreler içerisinde semende ve kan plazmasında katalaz kontrol

grubunda anlamlı şekilde yüksek bulundu(tablo 5 ve tablo 10 katalaz seviyesi fertil grup için anlamlı derecede yüksek  $p < 0.01$ ).Malondialdehit(MDA) semen ve kan plazmasında anlamlı şekilde infertil grupta yüksek bulundu.(tablo5 ve tablo 10 MDA seviyesi infertil grup için anlamlı derecede yüksek  $p < 0.01$ ) Ayrıca hasta grubu semen analizinde MDA 'daki yükseklik katalaz düzeyinde ki düşüklük ile ilişkilendirildi.(tablo 9 )

Süperoksit dismutaz ve glutatyon Peroksidaz için semen plazmasında yapılan ölçümde anlamlı fark izlenmedi ( $p > 0.01$  tablo:10).Süperoksid dismutaz için serum plazmasında ölçülen değerler arasında fertil ve infertil grup arasında fark yoktu(  $p > 0.01$  tablo:5).Glutatyon peroksidaz için serum plazmasında yapılan ölçümde fertil grupta anlamlı derecede yüksek bulundu.( $p < 0.01$  tablo 5)

**Tablo 5:** Özellikler için Hasta Kontrol ve Gruplarına göre tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

		N	Ort.	St. Sap.	Min.	Mak.	p
Serum MDA	Kontrol	20	7,027	2,0111	4,3	12,0	<b>,001</b>
	Hasta	40	10,783	2,8940	4,2	15,7	
	Genel	60	9,531	3,1667	4,2	15,7	
Serum SOD	Kontrol	20	8,8590	2,02336	5,14	13,41	,908
	Hasta	40	8,9451	2,98786	3,53	17,32	
	Genel	60	8,9164	2,68722	3,53	17,32	
Serum Katalaz	Kontrol	20	66,91433	15,300093	43,635	98,412	<b>,001</b>
	Hasta	40	15,38145	4,228935	8,419	26,353	
	Genel	60	32,55907	26,217390	8,419	98,412	
Serum Gpx	Kontrol	20	304,14118	200,864744	46,872	804,640	<b>,001</b>
	Hasta	40	89,70481	30,178563	35,539	154,916	
	Genel	60	161,18360	154,876190	35,539	804,640	

**Tablo 6:** Kontrol Grubunda özellikler arası Pearson korelasyon katsayıları

	Serum MDA	Serum SOD	Serum Katalaz	Serum Gpx
Serum MDA	1			
Serum SOD	,438	1		
Serum Katalaz	,590**	,052	1	
Serum Gpx	-,085	,109	-,318	1

\* p<0.05 ; \*\* p<0.01

**Tablo 7:** Hasta Grubunda özellikler arası Pearson korelasyon katsayıları

	Serum MDA	Serum SOD	Serum Katalaz	Serum Gpx
Serum MDA	1			
Serum SOD	,055	1		
Serum Katalaz	,026	-,193	1	
Serum Gpx	-,362*	,093	-,190	1

\* p<0.05 ; \*\* p<0.01

**Tablo 8:** Semende kontrol grubu

	SemanMD A	SemanSO D	SemenKatala z	SemenGp x
SemanMD A	1			
SemanSOD	,387	1		
SemenKatal az	-,124	-,012	1	
SemenGpx	,046	-,190	,365	1

\*: p<0.05, \*\*:p<0.01

**Tablo 9:** Hasta grubu

	SemanMD A	SemanSO D	SemenKatla z	SemenGp x
SemanMD A	1			
SemanSOD	-,264	1		
SemenKatla z	-,314*	-,154	1	
SemenGpx	-,153	,047	-,053	1

\*: p<0.05, \*\*:p<0.01

**Tablo 10:** Tanımlayıcı istatistikler ve karşılaştırma sonuçları

		<i>N</i>	<i>Mean</i>	<i>Std. Sap.</i>	<i>Min.</i>	<i>Mak</i>	
<i>SemenMDA</i>	<i>Kontrol</i>	20	,9520	,41292	,37	1,76	<b>,001</b>
	<i>Hasta</i>	40	2,9319	1,43872	1,09	7,35	
	<i>Total</i>	60	2,2720	1,51956	,37	7,35	
<i>SemenSOD</i>	<i>Kontrol</i>	20	3,3045	1,73632	1,07	6,24	<b>,214</b>
	<i>Hasta</i>	40	2,6899	1,80888	,68	9,66	
	<i>Total</i>	60	2,8948	1,79418	,68	9,66	
<i>SemenKatalaz</i>	<i>Kontrol</i>	20	18,3100	4,0799	10,1807	25,6093	<b>,001</b>
	<i>Hasta</i>	40	10,8451	2,7417	6,4320	17,2340	
	<i>Total</i>	60	13,3334	4,78748	6,4320	25,6093	
<i>SemenGpx</i>	<i>Kontrol</i>	20	9,4675	2,57027	6,18	14,63	<b>,225</b>
	<i>Hasta</i>	40	8,0246	4,92621	3,20	24,00	
	<i>Total</i>	60	8,5056	4,31731	3,20	24,00	

## 5. TARTIŞMA

İnsanın nefes alma ve yeme-içme güdülerinden sonra gelen en önemli güdüsü üremedir.Üstelik, Türkiye gibi ataerkil toplumlarda çocuk sahibi olamamak ,kişinin psikososyal statüsünü etkilemektedir.Çocuk sahibi olmak yalnızca biyolojik bir devamlılık sağlamamakta, aynı zaman da çocuklarımız ile olan psikososyal etkileşim yoluyla nesiller arası devamlılık da sağlanmaktadır.Tüm bunlar göz önüne alındığında infertilitenin kişisel ve toplumsal bazda önemi apaçık ortadır.

İnfertilite son 12 aylık zaman diliminde korumasız cinsel birleşmeye rağmen spontan konsepsiyonun olmaması olarak tanımlanır.

Erkek infertilitesine yaklaşımda en büyük değişim, tek başına erkeğin değerlendirilmesinden çok problemin bir çift problemi olarak ele alınması ve tedavinin her iki eşi de kapsamasının gerekliliğinin genel kanı olarak kabul görmesidir.WHO yaptığı bir çalışmada erkek ve kadınların eşit oranda (Erkek%45, Kadın%47)fonksiyonel üreme anormalliğine sahip olduğu ve erkeklerin %6'sında azospermi ve kadınların %16'sında over yetmezliği gibi fertilitiyi ciddi şekilde etkileyen tanılarının bulunduğu saptanmıştır.(37).Genel olarak infertilitenin 1/3'ünden erkek,1/3'ünden kadın ve kalan 1/3'ünden hem erkek hem kadın birlikte sorumlu tutulabilir.

Erkek infertilitesinde'ki son yıllardaki tanıya yönelik ilerlemelere karşın hala erkeklerin %20'sinden fazlasında tanı konulamamaktadır; ve bu olgular idiyopatik infertilite olarak tanımlanmaktadır.

Kliniğimizde çalışmamız boyunca üroloji polikliniğine başvuran 180 infertil hastanın 40'ında(%22) idiyopatik infertilite tanısı konup çalışmamıza dahil edildi.

İnfertilite ile başvuran hastaların semen analizinde genellikle semen parametrelerinde belirgin bozulmalar izlenmektedir.Ancak buna karşın önemli bir hasta grubunda etyolojik neden ortaya konamamaktadır.Özellikle idiyopatik infertil grupta tedavi başarısını yükseltmek için patofizyolojiyi açığa çıkarmak önemlidir.Bu bağlamda hücresel ve moleküler düzeyde pek çok çalışma yapılmaktadır.(1-39-52-53)

Üzerinde çalışılan önemli konulardan biride reaktif oksijen türevleri ve sperm parametre bozukluklarıdır.Son yıllarda infertilite üzerine yoğunlaşan çalışmalar, herhangi bir neden tespit edilemeyen idiyopatik infertilitede serbest oksijen radikallerinin (SOR) önemi bir rolü olduğunu göstermiştir(8). Bu konu popüler bir konudur ve ayrıntılı olarak ele alınmaya başlanmıştır.

Spermatozoada nasıl hayatın devamı için oksijen gerekli ise ,normal şartlarda serbest oksijen radikalleri(SOR) de hıcre faliyetinin devamı için gereklidir.Diğer taraftan oksijen yıkım ürünü olan SOR hücre yaşamı için zararlı etkiler ortaya koyabilir.(21)

Her ejakulatın SOR ile kontamine olduğu varsayılmaktadır.Semende spermatozoa, lökoist ve epitel gibi farklı hücreler bulunur.Bu hücreler içinde serbest oksijen radikallerinin (SOR) başlıca kaynağını spermatozoa ve lökositler oluşturur. Ejekulatta hidrojen peroksit(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), süperoksit anyonu(O<sub>2</sub>-), hidroksil iyon(HO-), peroksil iyonu(ROO-) en sık tespit edilen serbest oksijen radikalleridir.

Yapılan çalışmalar da antioksidanların spermatozoayı serbest oksijen radikalleri üreten anormal spermatozoalardan koruduğu, lökositlerin ürettiği serbest oksijen radikallerini temizlediği, DNA kırılmalarını önlediği, sigara içenlerde semen kalitesini artırdığı, soğğun spermatozoaya olan etkisini azalttığı, erken sperm olgunlaşmasını önlediği gösterilmiştir.Seminal plazmada süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaza ilaveten askorbat, urat, vitamin E, piruvat, glutatyon, albumin, vitamin A, ubikinol ve hipotaurin gibi enzimatik olmayan antioksidanlarda vardır.

Erkek infertilitesi ile ilgili yapılan çalışmalarda anti-oksidan sistemler ile oksidatif hasara bağlı spermde ki hasarların antioksidan sistem ile ilişkili olduğunu belirten çeşitli ve çelişkili bulgular mevcuttur(8-10-29-51).İdiyopatik infertil hastaların seminal plazmasında çeşitli anti oksidan sistemlerin yetersiz olduğu anlaşılmıştır.Bununla birlikte literatür bilgilerimiz genellikle aynı popülasyon içerisinde bireysel farklı anti-oksidanların birlikte değerlendirildiği ve bunların birbiri ile ilişkilerinin incelendiği çok fazla çalışma yoktur.Bu çerçevede kanda ve seminal plazmada katalaz, süperoksit dismutaz,glutatyon peroksidaz ve malondialdehit aktivitelerinin incelenmesi ve bunların semen parametreleri ile ilişkilendirilerek

araştırılması amacıyla Van ve çevre illerden idiyopatik erkek infertilitesi tanısı alan hastalarda sözü geçen parametreleri incelemeyi amaçladık. Bu parametrelerin incelenmesi oksidan -antioksidan dengesi ile hastalık patogenezi arasında ki ilişkiyi belirlemeye yardımcı olabilir.

Çalışmamızda ele alınan süperoksid dismutaz ve katalaz enzimleri seminal plazmadaki önemli oranda bulunan antioksidan enzimlerdir. Daha önceki pek çok çalışmada seminal plazmada süperoksid dismutaz ve katalaz düzeyinde düşmenin oksijen radikallerini artırdığı ve bununda semen parametrelerinde düşme ile seyrettiği gösterilmiştir. Kobayashi ve arkadaşları semen plazmasında süperoksid dismutaz düzeyinde düşme ile sperm motilitesinde azalma arasında ilişki olduğunu ortaya koymuşlardır(33). Kurpitz ve arkadaşları sperm motilitesi ile semen süperoksid dismutaz arasında pozitif ilişki olduğunu tespit etmişlerdir.(34) Zarghami-Khosrowbeygi (63) infertil hasta grubunda katalaz aktivitesini ve total antioksidan kapasitenin(TAC) kontrol grubuna göre düşük olduğu, süperoksid dismutaz aktivitesinin ise değişmediğini belirtmişlerdir. Katalaz aktivitesi ve TAC düzeyleri ile sperm motilitesi ve morfolojisi arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Bunun yanı sıra Sanocka ve arkadaşları idiyopatik infertil bireyler ile fertil bireyler arasında seminal plazma süperoksid dismutaz ve katalaz aktivitelerinin değişmediğini belirtmişlerdir(46). Ülkemizde yapılan bir çalışmada Öner iyidoğan ve arkadaşları infertil grubunda sperm motilitesi ile süperoksid dismutaz düzeyi arasında bir ilişki saptamamıştır(31). Alkan ve arkadaşları(8) süperoksid dismutaz ve katalaz aktivitelerinin idiyopatik infertil grupta fertil gruba oran ile azaldığını tespit etmişlerdir. Yine ülkemizde 2005 yılında Şanlı Urfada yapılan bir çalışmada halil çiftçi ve arkadaşları semen plazmasında total oksidan-total antioksidan düzeyleri çalışmış olup idiyopatik infertil grup ile fertil grup arasında anlamlı bir fark bulamamıştır.(18)

Biz yaptığımız çalışmada antioksidan enzimlerden katalaz ,süperoksid dismutaz, glutatyon peroksidaz oksidan olarak malondialdehit aktivitesini hem semen plazmasında hem kan plazmasında ölçtük. Çalışmamızda süperoksid dismutaz ve glutatyon peroksidaz düzeyi idiyopatik infertil grup ve fertil grup arasında semen plazmasında anlamlı bir fark bulunmadı; her iki parametre için  $p > 0.01$  ölçüldü. Serum plazmasında infertil ve fertil grup arasında süperoksid dismutaz için bir fark bulunmadı ( $p > 0.01$ ); glutatyon peroksidaz seviyesi ise fertil grupta yaklaşık 7 kat daha fazla idi (

$p < 0,01$  ). Bunun yanı sıra katalaz düzeyi ile malondialdehit düzeyinin semen plazmasında iki grup arasında anlamlı derecede farklı olduğu izlendi (  $p < 0.001$  )

Katalaz primer antioksidan koruma komponentlerinden biridir ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'yi H<sub>2</sub>O'ya çevirir.

Süperoksit'ten kökenlenen H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> üretimini katalizleyerek reaktif oksijen türevlerini detoksifiye eder. Çalışmamızda katalaz seviyesinin infertil grupta hem semen plazmasında hem kan plazmasında fertil grup ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük olduğu görüldü (  $p < 0.001$  ). Buda bize idiyopatik infertilite'de katalaz seviyesindeki düşüklüğün sperm hücre hasarının bir göstergesi olabileceğini düşündürmektedir.

Serbest oksijen radikalleri özellikle doymamış yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidasyonuna yol açarlar. Lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan son ürün malondialdehit olup stabil bir bileşiktir ve lipid peroksidasyonunun indirekt göstergesidir(62). Dolayısıyla lipid peroksidasyonu serbest oksijen radikallerinin yarattığı hasarın bir göstergesidir. Çalışmamızda malondialdehit düzeyinin infertil grup semen ve kan plazmasında fertil gruba oran ile anlamlı derecede yüksek olduğu izlendi (  $p < 0.001$  ). Benzer bir çalışma Peltola ve arkadaşları tarafından sıçanlarda kriptorşitik testisler üzerinde yapmış ve kriptorşitik testislerde MDA düzeyini yüksek bulmuşlardır.(45) Sonuç olarak malondialdehit düzeyi, serbest oksijen radikalleri ile süregelen hücre hasarının iyi bir göstergesi olabilir.

Gerek hücre içi gerek hücre dışı oluşan oksijen radikallerinin önemli bir kısmı; antioksidan sistem tarafından etkisizleştirilir. Bu bağlamda oksidan sistem ve antioksidan sistem arasında bir denge söz konusudur. Bu dengenin oksidan baskının artışı yönünde bozulması, hücrelerin veya organizmaların hasarı ile sonuçlanabilir. Çalışmamızda malondialdehit(MDA) düzeyinin infertil grup semen ve serum plazma örneklerinde artmış olması yine katalaz düzeyinin ise MDA ile ilişkili olarak azalmış olması nedeni ile idiyopatik infertil grup da bu dengenin oksidan lehine değiştiği kanaatini uyandırdı.

## 6. SONUÇ

Serbest oksijen radikalleri en dış yörüngede tek sayıda eşleşmemiş elektron içeren ve moleküler oksijenden kaynaklanan atom ve moleküllerdir. Bu konfigürasyonları nedeni ile çok aktif ve kararsız bileşiklerdir. Normalde hücre içinde çok küçük konsantrasyonlarda bulunan serbest oksijen radikalleri özellikle membran ve nükleik asitlerdeki anahtar moleküller ile reaksiyona girerek direkt hücre hasarı yaptıkları gibi otokatalitik reaksiyonları başlatarak yeni radikallerin oluşumunda yol açıp zincirleme reaksiyonlara neden olurlar. Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), süperoksit anyonu ( $O_2^-$ ), hidroksil iyonu ( $HO^-$ ) ve peroksil iyonu ( $ROO^-$ ) en sık tespit edilen serbest oksijen radikalleri olup bu radikaller hücrelerin çeşitli organellerinde ki oksidatif enzimler tarafından katalize edilen reaksiyon sırasında oluşurlar. Bu serbest oksijen radikalleri hücrelerde bazı enzim sistemleri tarafından etkisiz hale getirilirler. Bu enzim sistemlerinin önemlileri süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz'dır.

Sperm hücresi spermatozoa , plazma membranında ki fazla doymamış yağ asidi nedeniyle serbest oksijen radikallerinin (SOR) etkisine son derece duyarlıdır. Bu antioksidan enzimler spermatozoa da süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalazdır.

Son yıllarda erkek infertilitesi ile ilgili bilgilerimiz giderek artmaktadır. Sebebi açıklanamayan erkek infertilitesinde önemli bir neden oksidatif stresdir. Bununla birlikte oksidatif stres erkek infertilitesinin sebeplerinden yalnızca biridir. Oksidatif stres oksidan-antioksidan dengesinin antioksidanlar lehine bozulması durumudur. Bizim çalışmamızda semen parametrelerinde morfoloji, motilite ve total sperm sayısı bakımında fertil grup ve infertil grup arasında anlamlı fark mevcuttu ( $p < 0.001$ ). Semende önemli bir antioksidan enzim olan katalaz çalışmamızda idiyopatik infertil grupta fertil gruba göre anlamlı derecede düşük bulundu ( $p < 0.001$ ). Buna karşın malondialdehit düzeyi idiyopatik infertil grupta hem semen örneklerinde hem serum örneklerinde anlamlı derecede yüksek idi ( $p < 0.001$ ). Ayrıca tablo 9 da görüldüğü gibi idiyopatik infertil grupta MDA düzeyindeki artış ile katalaz düzeyindeki düşüklük arasında pozitif bir korelasyon saptandı.

Çalışmamızın sonucunda oksidatif stresin infertilite ile ilişkili olabileceği aynı

zamanda sperm parametrelerinden morfoloji, motilite ve total sperm sayısı ile korele olduğu sonucuna ulaştığ. Ancak bunla birlikte oksidatif stresin ve antioksidanların aydınlatılmasına yönelik daha fazla çalışma yapılmalıdır.

## 7. KAYNAKLAR

1-Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril* 2003; 79(4):829-43

2-Aitken RJ, Buckingham D, West K, Wu FC, Zikopoulos K, Richardson DW: Differential contribution of leucocytes and spermatozoa to the generation of reactive oxygen species in the ejaculates of oligozoospermic patients and fertile donors. *J Reprod Fertil* 1992;94:451-462

3-Aitken RJ, Harkiss D, Knox W, Paterson M, Irvine DS: A novel signal transduction cascade in capacitating human spermatozoa characterised by a redox-regulated, cAMP- mediated induction of tyrosine phosphorylation. *J Cell Sci* 1998; 111:645-656

4-Aitken RJ, Paterson M, Fisher H, Buckingham DW, Van Duin M, Redox regulation of tyrosine phosphorylation in human spermatozoa and its role in the control of human sperm function. *J Cell Sci* 1995;108:2017-2025

5--Aitken RJ: The human spermatozoon- a cell in crisis? *J Reprod Fertil* 1999;115:1-7(17)

6-Aitken RJ, West KM: Analysis of the relationship between reactive oxygen species production and leucocyte infiltration in fractions of human semen separated on Percoll gradients. *Int J Androl* 1990;13:433-451

7-Aleh RA, Agarwal A, Nelson DR, Nada EA, El-Tonsy MH, Alvarez JG, Thomas AJ Jr, Sharma RK: Increased sperm nuclear DNA damage in normozoospermic infertile men: a prospective study. *Fertil Steril* 2002;78:313-318

8-Alkan I, Şimşek F, Haklar G, et al. Reactive oxygen species production by the spermatozoa of patients with idiopathic infertility: relationship to seminal plasma anti oxidants. *J Urol* 1997;157:140-143

9-Aydemir B, Onaran I, Kiziler AR, et al. Increased oxidative damage of sperm and seminal plasma in men with idiopathic infertility is higher in patients with glutathione S-transferase Mu-1 null genotype. *Asian J Androl* 2007; 9: 108-115.

**10-** Aydemir B, Onaran I, Kiziler AR, et al. The influence of oxidative damage on viscosity of seminal fluid in infertile men. *J Androl* 2008; 29: 41-46.

**11-** Baker HW, Brindle , Irvine DS, Aitken RJ: Protective effect of antioxidants on the impairment of sperm motility by activated polymorphonuclear leukocytes. *Fertil Steril* 1996;65:411-419

**12-** Beers RF, Sizer I.W. A spectrophotometer method of measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J. Biol Chem.* 1952; 195:133-140,

**13-** Bergmann M, Behre HM, Nieschlag E. Serum FSH and testicular morphology in male infertility. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1994;40:133-136.

**14-** Campell AJ, Irvine DS. Male infertility and intracytoplasmic sperm injection(ICSI). *Br Med Bull* 2000; 56(3):616-629

**15-** Christova Y, James PS, Jones R. Lipid diffusion in sperm plasma membranes exposed to peroxidative injury from oxygen free radicals. *Mol Reprod Dev* 2004; 68: 365-372.

**16-** Chen H, Chow PH, Cheng SK, et al. Male genital tract antioxidant enzymes: their source, function in the female, and ability to preserve sperm DNA integrity in the golden hamster. *J Androl* 2003; 24: 704-711

**17-** Cross AR, Jones OT. Enzymic mechanisms of superoxide production. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1057: 281-298.

**18-** Çiftçi H İdiyopatik infertil hastalarda kan ve seminal plazmada toplam antioksidan kapasite ve toplam peroksit düzeylerinin semen parametreleri ile ilişkisi *2005*;32

**19-** Donald E. Paglia and William N. Valentina. Studies on the quantitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. & Clin Med.* 70 , July 1967; pp 158-169

**20-** De Lamirande E, Gagnon C: Impact of reactive oxygen species on spermatozoa :a balancing act between beneficial and detrimental effects. *Hum Reprod* 1995;10:15-21

**21-** De Lamirande E, Gagnon C: Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: a balancing act between beneficial and detrimental effects. *Hum Reprod* 1995;10:15-21.

**22-**Gomez E, Irvine DS, Aitken RJ:Evaluation of a spectrophotometric assay for the measurement of malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals in human spermatozoa: Relationships with semen quality and sperm function. *Int J Androl* 1998; 21:81-94

**23-**Griveau JF,Dumont E,Renard P,Callegrì JP,Le Lannou D:Reactive oxygen species, lipid peroxidation and enzymatic defence systems in human spermatozoa. *J Reprod Fertil* 1995; 103:17-26

**24-**Griveau JF,Le Lannou D:Reactive oxygen species and human spermatozoa.*Int J Androl* 1997;20:61-69

**25-**Hargreave TB. Varicocele. In: Hargreave, TB ed. Berlin: Springer-Verlag, 1994.

**26-**Hendin BN,Kolettis PN,Sharma RK,Potss JM,Nelson DR, Thomas AJ Jr.,Agarwal A:Varicocele is associated with elevated spermatozoal reactive oxygen species production and diminished seminal plasma antioxidant capacity. *J Urol* 1999;161:1831-1834

**27-**Hugo Abei. Methods of enzymatic analysis. Bergmeyer Ed. Catalase, 4 th . Edn. Newyork Academic pres. 1963; pp:672-683

**28-**Hull MG, Glazener CM,Keliy NJ, et al.Population study of causes treatment and outcome of infertility.*Br Med J* 1985;291:1693-1697

**29-**Hull MG; Willams JA, Ray B,Mc Laughlin EA, Akande VA, Ford WC. The contribution of subtle oocyte or sperm dysfunction affecting fertilization in endometriosis-associated or unexplained infertility: a controlled comparison with tubal infertility and use of donor spermatozoa.*Hum Reprod* 1998;13:1825-1830

**30-**Hsieh YY, Sun YL, Chang CC, Lee YS, Tsai HD, Lin CS. Superoxide dismutase activities of spermatozoa and seminal plasma are not correlated with male infertility. *J Clin Lab Anal* 2002; 16: 127-131.

**31-**Iwasaki A and Gagnon C: Formation reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients. *Fertil. Steril*,57:409, 1992

**32-**Kessopoulou E, Tomlinson MJ, Barratt CL, Bolton AE, Cooke ID: Origin of reactive oxygen species in human semen: spermatozoa or leucocytes? *J Reprod Fertil* 1992 ;94:463-470

**33-**Kobayashi T, Miyazaki T, Natori M, Nozava S, Protective role of superoxide dismutase in human sperm motility: superoxide dismutase activity and lipid peroxide in human seminal plasma and spermatozoa. *Hum Reprod* 1991;6:987-991

**34-**Kurpisz M, Miesel R, Sanocka D, Jedrzejczak P, Seminal plasma can be a predictive factor for male infertility. *Hum Reprod* 1996; 11:1223-1226

**35-** Kursh ED. What is the incidence of varicocele in a fertile population? *Fertil Steril* 1987;48:510-511.

**36-**Lopes S, Sun JG, Jurisicova A, Meriano J, Casper RF: Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation is increased in poor-quality semen samples and correlates with failed fertilization in intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1998;69:528-532

**37-**Nieschlag E, Hertle L, Fishedick A, Behre HM. Treatment of varicocele: counselling as effective as occlusion of the vena spermatica. *Hum Reprod* 1995;10:347-353.

**38-**Oehninger S. Pathophysiology of oligoasthenospermia: Are we improving in the diagnosis. *Reprod biomed online* 2003;7(4):433-439

**39-** Oehninger S. Pathophysiology of oligoasthenospermia: Are we improving in the diagnosis. *Reprod biomed online* 2003;7(4):433-439

**40-**Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbitric acid reaction. *Anal Biochem.* 1979; 95:351-358

**41-**Öner İyidoğan Y, Genç S, Koçak H, Akkuş E. Seminal plazma süperoksit dismutaz ve total antioksidan düzeylerinin erkek infertilitesine etkileri. *Türk Üroloji Dergisi* 2003;29:296-300

**42-**Padron OF ,Brackett NL,Sharma RK,Lynne CM,Thomas AJ Jr., Agarwal A: Seminal reactive oxygen species, sperm motility and morphology in men with spinal cord injury.Fertil Steril 1997;67:1115-1120

**43-**Pasqualato FF,Sharma RK,Potts JM,Nelson DR,Thomas AJ,Agarwal A:Seminal oxidative stress in patients with choronic prostatitis. Urology 2000;55:881-885

**44-**Plante M, De Lamirande E, Gagnon C:Reactive oxygen species released by activated neutrophils, but not by deficient spermatozoa , are sufficient to affect normal sperm motility.Fertil Steril 1994;62:387-393

**45:** Peltola V. Huhtaniemi I,Ahutupa M:Abdominal position of the rat testis in associated with high level of lipid peroxidation.Biol Reprod. 3:1146,1995

**46-**Sanocka D, Miesel R, Jedrzejczak P,Kurpisz MK Oxidative stress and male infertility. J Androl 1996;17:449-454(39)

**47-**Saren M, Beck-Speier I, Fellerhoff B, Bauer G: Phagocytic killing of microorganisms by radical processes:consequences of the reaction of hydroxyl radicals with chloride yielding chlorine atoms. Free Radic Biol Med 1999 ;26:482-490(24)

**48-**Sigman M, Jarrow JP,Male infertility,in Campell Urology.(Eds. Walsh PC,Retik AB,Vaughan ED,Wain AJ).ed 18 Saunders Philadelphia,2002; Vol:2 1475-1515(14ve kayank 2)

**49-**Sikka SC, Rajesekaran M, Hellstrom WJG: Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. J Androl 1995;16:464-468(18)

**50-**Sikka SC: Relative impact of oxidative stress on male reproductive function.Curr Med Chem 2001;8:851-862(18-16)

**51-**Sharma RK, Agarwal A: Role of reactive oxygen species in male infertility.Urology 1996;48:835-850(18-4)

**52-**Sharma RK, Pasqualotto AE, Nelson DR, Thomas AJ Jr, Agarwal A: Relationship between seminal white blood cell counts and oxidative stress in men treated at an infertility clinic.J Androl 2001;22:575-583(25)

- 53-**Sies H. Strategie of antioxidant defense. Eur J Biochem 1993;215(2):213-219
- 54-**Smith R,Vantman D,Ponce J,Escobar J, Lissi E:Total antioxidant capacity of human seminal plasma.Hum Reprod 1996;11:1655-1660(29)
- 55-**Southorn PA,Powis G: Free radicals in medicine.II.Involvement in human disease.Mayo Clin Proc 1988;63:390-408(15)
- 56-**Spiteller SC:Relative impact of oxidative stress on male reproductive function.Curr Med Chem 2001;8:851-862(16)
- 57-**Sukcharoen N, Keith J,Irvine DS,Aitken RJ:Prediction of the in-vitro-fertilizasyon(IVF) potential of humanspermatozoa using sperm function tests:teh effect of the delay between testing and IVF.Hum Reprod 1996;11:1030-1034(30)
- 58:** Sun Yi, Larry W. Oberley, Ying Li. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. Clin Chem. 1988; 3413:497-500
- 59-**Turek PJ, Kim M, Gilbaugh JH 3rd, Lipshultz LI. The clinical characteristics of 82 patients with Sertoli cell-only testis histology. Fertil Steril 1995;64:1197-1200. (13)
- 60-**Twigg J,Irvine DS,Houston P,Fulton N,Michael L,Aitken RJ:Iatrogenic DNA damage induced in human spermatozoa during sperm preparation: protective significance of seminal plasma.Mol Hum Reprod 1998;4:439-445(34)
- 61-**Üroloji masa üstü başvuru kitabı. Erkek İnfertilitesi 2010;4:115 (36)
- 62-**Wang Y. Sharma RK, Agarwal A:Effect of cryopreservation and sperm concentration on lipid peroksidation in human semen.Urology 50:409,1997
- 63-** Zarghami N ,Khosrowbeygi A. Levels of oxidative stres biomarkers in seminal plasma and their relationship with seminal praameters.BMC Clinical Pathology 2007; 7:6.
- 64-**Zini A,De Lamirande E, Gagnon C: Reactive oxygen species in semen of infetile patients:levels of superoxide dismutase-and-catalase-like activities in seminal plasma and spermatozoa.İnt J ANDROL 1993;16:183-191(27)