

T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**İN FERTİLİTE HASTALARINDAKİ KLİNİK DURUMLARIN  
(VARİKOSEL-AZOSPERMİ) ANTİOKSİDAN VE İNFLAMAZOM  
MEKANİZMA ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Eser ÖRDEK

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Bülent KATI

ŞANLIURFA

2020

T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

**İNFERİLİTE HASTALARINDAKİ KLİNİK DURUMLARIN  
(VARİKOSEL-AZOSPERMİ) ANTİOKSİDAN VE İNFLAMAZOM  
MEKANİZMA ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ  
DR. ESER ÖRDEK

TEZ DANIŞMANI  
DOÇ. DR. BÜLENT KATI

Bu tez, Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından  
200009 proje numarası ile desteklenmiştir.

**ŞANLIURFA**

**2020**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimime başladığım ilk günden itibaren ve tez çalışmamın her aşamasındaengin bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, her konuda fikir ve becerileri ile beni destekleyen tez danışmanım Sayın Doç.Dr. Bülent KATI'ya;

Zorlu uzmanlık eğitimim boyunca bana gerekli zamanı tanıyıp, bizi destekleyen, yaptığımız işin önemini tüm çalışanlara hissettirerek bizlere örnek olmakla kalmayıp önümüzü açan anabilim dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Halil ÇİFTÇİ'ye;

Eğitimime büyük katkıları olan, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım ve her zaman bana destek olan değerli hocalarım Prof. Dr. Ercan YENİ, Doç. Dr. Murat SAVAŞ, Doç. Dr. Yiğit AKIN, Doç. Dr. Eyyup Sabri PELİT, Dr. Öğr. Üyesi İsmail YAĞMUR ve Dr. Öğr. Üyesi Mehmet DEMİR'e;

Berber bu zorlu ve güzel süreçte pek çok şey paylaştığım, dostluk ve bilgileriyle bana mesleğimi sevdiren, değerli arkadaşlarım Dr. Öğr. Üyesi Mehmet BARBUROĞLU, Uzm. Dr. Esra AKGÜL, Uzm. Dr. Mehmet Oğur YILMAZ, Arş. Gör. Dr. Adem TUNÇEKİN, Arş. Gör. Dr. İbrahim Halil ALBAYRAK ve Dr. Edanur EKİNCİ'ye;

Tezim ile ilgili biyokimya çalışmalarında yardımını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Ataman GÖNEL, Sayın Doç. Dr. İsmail KOYUNCU ve asistanı Özgür YÜKSEKDAĞ'a;

Üroloji kliniği, spermiyogram ünitesi çalışanları ve ameliyathanede birlikte zevkle çalıştığım tüm personel ve sağlık çalışanlarıyla sekreter arkadaşlarıma;

Araştırma görevliliğimin başından sonuna kadar bilgi birikimi ve tecrübeleri ile bana yardımcı olan personel şubesi çalışanlarından Mehmet Murad ALKAN ve Tevrat ZERAY'a;

Tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olan, benden desteğini ve sabrını hiç esirgemeyen, canım annem Naciye ÖRDEK, babam Nasır ÖRDEK ve kardeşlerime

Sonsuz sevgi, teşekkür ve saygılarımla

Tezimi, hayata bakış açımın şekillenmesinde en büyük pay sahibi olan babam Nasır ÖRDEK'e armağan ediyorum.

**Dr. Eser ÖRDEK**

# İÇİNDEKİLER

# SAYFA NO

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLolar DİZİNİ	VII
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
RESİMLER DİZİNİ	IX
GRAFİKLER DİZİNİ	X
KISALTMALAR	XI
ÖZET	XV
ABSTRACT	XVII
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Erkek Üreme Sistemi Anatomisi	2
2.1.1. Penis	2
2.1.1.1. Penisin Vasküler Anatomisi ve Lenfatik Sistemi	3
2.1.1.2. Penisin Sinir Sistemi	4
2.1.2. Skrotum	4
2.1.2.1. Skrotum Vasküler Anatomisi	5
2.1.3. Testis Anatomisi	5
2.1.3.1. Testiküler Vasküler Anatomi	8
2.1.3.2. Kan Testis Bariyeri	9
2.1.4. Epididim	9
2.1.4.1. Epididim Vasküler Anatomisi	10
2.1.4.2. Epididim Fonksiyonu	10
2.1.5. Vaz Deferens	10
2.1.6. Seminal Veziküller	11
2.2. Erkek İnfertilitesi Epidemiyoloji Ve Etiyoloji, Genel Prensipler	12
2.2.1. Prognostik Faktörler ve Tanı Değerlendirmesi - Genel Prensipler	13
2.2.2. Tanısal Değerlendirme-Semen Analizi	14
2.2.3. Erkek İnfertilitesine Neden Olan Etkenler	15
2.2.3.1. Primer Spermatojenik Bozukluk	15
2.2.3.1.1. Tanısal Değerlendirme	16
2.2.3.1.2. Semen Analizi	17

2.2.3.1.3. Hormonal Değerlendirme	17
2.2.3.1.4. Ultrasonografi	17
2.2.3.1.5. Testis Biyopsisi	17
2.2.3.2. İnfertilitede Genetik Bozukluklar	18
2.2.3.2.1. Kromozomal Anormallikler	18
2.2.3.2.2. Cinsiyet Kromozom Anormallikleri	19
2.2.3.2.3. Sperm Kromozomal Anormallikleri	19
2.2.3.2.4. Genetik Bozukluklar	20
2.2.3.2.4.1. Kallmann Sendromu	20
2.2.3.2.4.2. Y Kromozomu Ve Erkek İnfertilitesi	20
2.2.3.2.4.3. Y Mikrodelesyon Testi	21
2.2.3.2.4.4. AZF Delesyonlarında Genetik Danışmanlık	21
2.2.3.3. Obstrüktif Azospermi	22
2.2.3.3.1. Sınıflandırma	22
2.2.3.3.1.1. İntratestiküler Obstrüksiyon	22
2.2.3.3.1.2. Epididimal Obstrüksiyon	22
2.2.3.3.1.3. Vas Deferens Obstrüksiyonu	22
2.2.3.3.1.4. Ejakülatuvar Duktus Obstrüksiyonu	23
2.2.3.3.1.5. Distal Seminal Kanalların Fonksiyonel Obstrüksiyonu	23
2.2.3.3.2. Tanısal Değerlendirme	23
2.2.3.3.2.1. Klinik Muayene	23
2.2.3.3.2.2. Semen analizi	24
2.2.3.3.2.3. Hormon seviyeleri	24
2.2.3.3.2.4. Testis biyopsisi	24
2.2.3.3.3. Hastalık Yönetimi	24
2.2.3.3.3.1. İntratestiküler Obstrüksiyon	24
2.2.3.3.3.2. Epididimal Tıkanıklık	24
2.2.3.4. Varikosel	25
2.2.3.4.1. Sınıflandırma	25
2.2.3.4.2. Tanısal Değerlendirme	25
2.2.3.4.3. Temel İlkeler	25
2.2.3.4.3.1. Varikosel ve Fertilite	25
2.2.3.4.3.2. Varikosektomi	26
2.2.3.4.3.3. Hastalık Yönetimi	26

2.2.3.5. Hipogonadizm	27
2.2.3.5.1. Epidemiyoloji Ve Etiyoloji	27
2.2.3.5.2. İdiyopatik Hipogonadotropik Hipogonadizm: Etiyoloji, Tanı Ve Tedavi Yönetimi	29
2.2.3.5.3. Hipergonadotropik Hipogonadizm: Etiyoloji, Tanı Ve Tedavi Yönetimi	29
2.2.3.5.4. İdiyopatik Erkek İnfertilitesi	30
2.2.3.5.4.1. Hastalık Yönetimi, Ampirik Tedaviler	30
2.3. İnsan Semen Analizi	30
2.3.1. Numune Toplama	31
2.3.2. İlk Makroskobik İnceleme	31
2.3.3. Semen Likefaksiyonu	33
2.3.4. Semen Viskozitesi	33
2.3.5. Ejakülataın Görünümü	33
2.3.6. Semen Hacmi	33
2.3.7. Semen pH'sı	34
2.3.8. İlk Mikroskobik İnceleme	34
2.3.9. Spermatozoanın Aglutinasyonu	35
2.3.10. Sperm Motilitesi	36
2.3.11. Sperm Hareketlerinin Sınıflandırılması	36
2.3.12. Sperm Vitalitesi	37
2.3.13. Sperm Sayısı	38
2.3.13.1. Düşük Sperm Sayıları: Kriptozoospermi Ve Şüpheli Azoospermi	38
2.3.14. Sperm Morfolojisi	39
2.3.15. Semen Parametrelerine Göre Kategoriler	41
2.3.15.1. Azoospermi	41
2.3.15.2. Oligospermi	44
2.3.16. İleri Sperm Testleri	44
2.3.16.1. Antisperm Antikor Testleri	44
2.3.16.2. Biyokimyasal Testler	45
2.3.16.3. Reaktif Oksijen Türlerinin Araştırılması	45
2.3.16.4. Sperm DNA Hasarı	46
2.3.16.5. Semende Lökositlerin Değerlendirilmesi	46
2.4. Erkekde Hipotalamo-Hipofizer-Gonadal Aks	46

2.5. Spermatogenezis	48
2.5.1. Mayoz Bölünme	49
2.5.2. Spermiogenez	51
2.5.3. Spermatogenezin Hormonal Stimülasyonu	52
2.6. Oksidatif Stres Ve Seminal Plazmada Oksidan-Antioksidan Moleküllerin Saptanması	52
2.6.1. Serbest Oksijen Radikallerinin Sperm Fizyolojisi Üzerine Etkileri	55
2.6.2. Oksidatif Stresin Sperm Kromatin Hasarı ve Sperm İşlevleri Üzerine Etkisi	55
2.6.3. Seminal Plazmadaki Antioksidanların Saptanması	57
2.6.4. Antioksidanlar ve Tedavide Kullanımı	58
2.7. Nlrp3 İnflamazom Etki Mekanizması Ve İnflamatuar Hastalıklar İle İlişkisi	59
2.7.1. NLRP3 İnflamazomunun Hazırlanması (Sinyal 1)	62
2.7.2. NLRP3 İnflamazomunun Etkinleştirilmesi (Sinyal 2)	63
2.7.2.1. İyonik Akış	63
2.7.2.1.1. K <sup>+</sup> Akışı	63
2.7.2.1.2. Ca <sup>+2</sup> Mobilizasyonu	64
2.7.2.1.3. Na <sup>+</sup> ve Cl <sup>-</sup> Akışı	64
2.7.2.1.4. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Mitokondriyal Disfonksiyon	64
2.7.2.1.5. Lizozomal Hasar	65
2.7.3. Kanonik Olmayan Enflamatuar Yol ve Alternatif Enflamatuar Yolun Aktivasyonu	65
2.7.3.1. Kanonik Olmayan Enflamatuar Yol	65
2.7.3.2. Alternatif İnflamazom Yolu	66
2.8. Üreme Biyolojisinde İnflamazom	69
2.9. İnfertil Erkeklerde Nlrp3 İnflamazom Proteininin Seminal Plazma Seviyesinin Semen Parametrelerinin Kalitesi İle İlişkisi	69
2.10. Varikoselin Patofizyolojisi Ve Nlrp3 İnflamazom İle İlişkisi	71
2.10.1. Varikosel ve İnfertilite	72
2.10.2. Varikoselin Testis Morfolojisi Üzerine Etkileri	73
2.10.3. Oksidatif Stresin Merkezi Rolü	73
2.10.4. Skrotal Hipertermi	74
2.10.5. Metabolitlerin Reflüsü	75
2.10.6. Testiküler Hipoksi	75
2.10.7. Varikosel İle İlişkili Oksidatif Stresin Sperm DNA Bütünlüğü Üzerindeki Etkisi	75
2.10.8. Varikosel ve Enflamazom İlişkisi	76
3. GEREÇ VE YÖNTEM	78

3.1. Kullanılan Araç-Gereçler	78
3.2. Yöntem	79
3.3. Analitik Metodlar	80
3.3.1. Total Antioksidan Kapasite (TAS) Tayini	80
3.3.1.1. Reaktifler	81
3.3.1.2. Prensipler	81
3.3.2. Total Oksidan Kapasite (TOS) Tayini	81
3.3.2.1. Reaktifler	82
3.3.2.2. Prensipler	82
3.3.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Tayini	82
3.3.4. NLRP3 ve İnterlökin-1 Beta Tayini	82
3.3.4.1. Testin Prensipleri	83
3.3.5. Reaktif Hazırlanması	83
3.3.6. Testin Prosedürü	83
4. BULGULAR	85
4.1. Hasta Gruplarının Serum Parametrelerinin Analizi	86
4.2. Hasta Gruplarının Sperm Parametrelerinin Analizi	89
5. TARTIŞMA	94
6. SONUÇ	102
7. KAYNAKLAR	103
8. EKLER	131
<b>Ek-1:</b> Etik Kurul Kararı	131
<b>Ek-2:</b> Turnitin Raporu	132

<b>Tablo-1:</b> Erkek infertilitesi nedenleri ve ilişkili faktörleri özetlemektedir	13
<b>Tablo-2:</b> WHO-2010-Normal spermiyogram özellikleri için referans aralıkları	14
<b>Tablo-3:</b> Testiküler defekt nedenleri	16
<b>Tablo-4:</b> Varikosel tedavileri ile ilişkili nüks ve komplikasyon oranları	27
<b>Tablo-5:</b> Erkek hipogonadizmiyle ilişkili bozukluklar	28
<b>Tablo-6:</b> Semen analizinin makroskopik değerlendirmesi	32
<b>Tablo-7:</b> Semen analizi için en düşük referans değerler	34
<b>Tablo-8:</b> Sperm analizinde terminoloji	35
<b>Tablo-9:</b> Sperm konsantrasyonuna göre sınıflama	38
<b>Tablo-10:</b> Oksijen ve azot kaynaklı reaktif bileşikler	53
<b>Tablo-111:</b> Seminal plazmadaki başlıca antioksidan sistem molekülleri	55
<b>Tablo-122:</b> Seminal plazmada sıklıkla ölçülen oksidan-antioksidan moleküller	58
<b>Tablo-13:</b> Hastaların serum ve sperm parametreleri minimum-maksimum, medyan ve ortalama değerleri	85
<b>Tablo-144:</b> Gruplar arası yaş dağılımı	85
<b>Tablo-155:</b> Grupların serum parametrelerinin ayrı ayrı ortalama ve medyan değerleri	87
<b>Tablo-16:</b> Grupların sperm parametrelerinin ayrı ayrı ortalama ve medyan değerleri	90
<b>Tablo-177:</b> Gruplar arası azo-spermiyogram ortalama ve medyan değerleri	92

<b>Şekil-1:</b> Penisi saran tabakalar	2
<b>Şekil-2:</b> İnsan penisinde vasküler sistemi gösteren şematik bir örnek.	3
<b>Şekil-3:</b> Skrotum katmanları	5
<b>Şekil-4:</b> Skrotal duvarın anatomik katları ve testiküler kapsül yapısı	6
<b>Şekil-5:</b> Testis ve epididim anatomisinin özeti	7
<b>Şekil-6:</b> Testis kan akımı	8
<b>Şekil-7:</b> Epididim ve ductus deferens	9
<b>Şekil-8:</b> Ejakülatuar kanallar	11
<b>Şekil-9:</b> Seminal veziküller, posteriordan görünüş	11
<b>Şekil-10:</b> Farklı sperm aglütinasyon derecelerinin şematik diyagramı	36
<b>Şekil-10:</b> Normal insan sperminin anatomik yapıları	40
<b>Şekil-11:</b> Normal ve defektif sperm formları Normal	41
<b>Şekil-18:</b> Azoospermi tanı ve tedavi algoritması	43
<b>Şekil-12:</b> Reprodüktif hormon aksı	47
<b>Şekil-13:</b> Hipotalamik-Hipofizer-Gonadal hormonal aks şeması	48
<b>Şekil-14:</b> Spermatogenezis, mitoz ve mayoz bölünme	50
<b>Şekil-15:</b> Erkek cinsiyette gametogenez	51
<b>Şekil-16:</b> Oksidatif stresin nedenleri	53
<b>Şekil-17:</b> İmmatür spermatozoanın SOR üretim mekanizması	54
<b>Şekil-20:</b> Yaşam tarzı ve oksidatif stres	57
<b>Şekil-21:</b> NLRP3 İnflamazom Aktivasyonu için İki Sinyal Modeli	61
<b>Şekil-22:</b> Non-Kanonik ve Alternatif NLRP3 İnflamazom Yolları için Aktivasyon Mekanizması	67
<b>Şekil-23:</b> NLRP3 inflamazom aracılı inflamasyon ve otofaji	68
<b>Şekil-24:</b> Testislerden venöz drenajın anatomisi	72
<b>Şekil-25:</b> Varikosel patofizyolojisinin temsili şekli	74

## RESİMLER DİZİNİ

## SAYFA NO

**Resim-1:** Sperm mikrofisi.

37

**Resim-2:** Morfolojik olarak “normal” spermatozoa

39



<b>Grafik-1:</b> İnsanda sperm üretim ve ejakulasyon zamanı	49
<b>Grafik-2:</b> Gruplar arası yaş dağılımı	86
<b>Grafik-3:</b> Serum IL-1 beta seviyesi gruplar arası dağılımı	88
<b>Grafik-4:</b> Serum NLRP3 seviyesi gruplar arası dağılımı	88
<b>Grafik-5:</b> Serum TOS seviyesi gruplar arası dağılımı	88
<b>Grafik-6:</b> Serum TAS seviyesi gruplar arası dağılımı	88
<b>Grafik-7:</b> Serum OSI seviyesi gruplar arası dağılımı	89
<b>Grafik-8:</b> Sperm IL-1 Beta seviyesi gruplar arası dağılımı	91
<b>Grafik-9:</b> Sperm NLRP3 seviyesi gruplar arası dağılımı	91
<b>Grafik-10:</b> Sperm TOS seviyesi gruplar arası dağılımı	91
<b>Grafik-11:</b> Sperm TAS seviyesi gruplar arası dağılımı	91
<b>Grafik-12:</b> Sperm OSI seviyesi gruplar arası dağılımı	92
<b>Grafik-13:</b> Gruplar arasındaki AZO-Spermiyogram değerlerin şematik gösterimi	93

## KISALTMALAR

<b>2APB</b>	: 2-aminoetoksi difenilborinat
<b>8-OHdG</b>	: 8-hidroksi-2' –deoksiguanozin
<b>ABTS</b>	: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sülfonik asit)
<b>AID</b>	: Donör semeniyle artifisyel inseminasyon
<b>AIM2</b>	: Absent-in-melanoma-2
<b>AMI</b>	: Akut miyokard infarktüsü
<b>ART</b>	: Yardımcı üreme teknikleri
<b>ASA</b>	: Antisperm antikorlar
<b>ASC</b>	: Kaspaz toplama alanı içeren apoptozla ilişkili benek benzeri protein
<b>ATP</b>	: Adenozin trifosfat
<b>AU</b>	: Arbitrary Units
<b>BRCC3</b>	: BRCA1/BRCA2-içeren kompleks 3
<b>Ca<sup>+2</sup></b>	: Kalsiyum
<b>cAMP</b>	: Siklik adenozin monofosfat
<b>CAPS</b>	: Kriyopirinle ilişkili periyodik sendromlar
<b>CaSR</b>	: Kalsiyum algılama reseptörü
<b>CBAVD</b>	: Konjenital bilateral vaz deferens agenezisi
<b>CFTR</b>	: Kistik fibrozis transmembran kondüktans regülatörü
<b>Cl<sup>-</sup></b>	: Klor
<b>CT / MRI</b>	: Bilgisayarlı tomografi/Manyetik rezonans görüntüleme
<b>CTL-C-type lectins</b>	: C-tipi lektinler
<b>DAMP</b>	: Hasar ilişkili moleküler pattern
<b>Dk</b>	: Dakika
<b>EAA</b>	: Avrupa androloji akademisi
<b>EDO</b>	: Ejekülatuar duktus obstruksiyonu
<b>ELISA</b>	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay-Enzim bağlantılı immünosorbent testi
<b>FADD</b>	: FAS aracılı ölüm domeini proteini
<b>FSH</b>	: Folikül uyarıcı hormon
<b>GnRH</b>	: Gonadotropin salgılatıcı hormon
<b>GPCR</b>	: G-protein-bağlı reseptör
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></b>	: Sülfürik asit

<b>Hcg</b>	: İnsan koryonik gonadotropin
<b>HHG</b>	: Hipotalamo-hipofizer-gonadal
<b>HMG</b>	: İnsan menopozal gonadotropin
<b>IBD</b>	: İnflamatuvar bağırsak hastalıkları
<b>ICSI</b>	: İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu
<b>IKK</b>	: İnhibitör NF- $\kappa$ B kinaz
<b>IL-1 beta</b>	: İnterlökin-1 beta
<b>IM</b>	: Hareketsizlik, İmmotilite
<b>IP3</b>	: İnositol 1,4,5-triphosphate
<b>IP3R</b>	: IP3 receptor:inositol trifosfat reseptörü
<b>IRAK-1</b>	: IL-1 receptor ilişkili kinaz
<b>IRF1</b>	: İnterferon düzenleyici transkripsiyon faktör 1
<b>IVF</b>	: İn vitro fertilizasyon
<b>iNOS</b>	: İndüklenmiş NO(nitrik oksit) sentaz
<b>AMM</b>	: JAB1/MPN/MOV34 metalloenzim
<b>JNK1</b>	: C-Jun N-terminal kinaz
<b>K<sup>+</sup></b>	: Potasyum
<b>L</b>	: Litre
<b>LH</b>	: Luteinize edici hormon
<b>LPS</b>	: Lipopolisakkarit
<b>LRR</b>	: Lösün açısından zengin tekrar alanları
<b>MESA</b>	: Mikrocerrahi epididimal sperm aspirasyonu
<b>MIS/AMH</b>	: Anti müllerian hormon
<b>mM</b>	: Mili mol
<b>MSU</b>	: Monosodyum urat
<b>mtDNA</b>	: Mitokondriyal DNA
<b>MyD88</b>	: Miyeloid farklılaşma birincil yanıtı <sup>88</sup>
<b>Na<sup>+</sup></b>	: Sodyum
<b>NaCl</b>	: Sodyum klorür
<b>NADH</b>	: Nikotinamid adenin dinükleotid
<b>NF-kappaB</b>	: Nükleer faktör-kappaB
<b>NLR</b>	: NOD like reseptör-NOD benzeri reseptör
<b>NLRP3</b>	: Pirin 3 alanı içeren NOD benzeri reseptör
<b>NOA</b>	: Non-obstrüktif azospermi

<b>NOD</b>	: Nükleotid-bağlı oligomerizasyon domain
<b>NP</b>	: Yerde hareket, Nonprogresif Motilite
<b>OAT</b>	: Oligo-asteno-teratozoospermi
<b>OH</b>	: Hidroksil
<b>OS</b>	: Oksidatif stres
<b>OSI</b>	: Oksidatif stres indeksi
<b>oxPAPC</b>	: Okside phospholipid 1-palmitoyl-2-arachidonoyl-sn-glycero-3 phosphorylcholine
<b>PAMP</b>	: Patojen ilişkili moleküler pattern
<b>PESA</b>	: Perkütan epididimal sperm aspirasyonu
<b>pH</b>	: Power of Hydrogen-Hidrojenin gücü
<b>PIP2</b>	: Phosphatidylinositol 4,5-bifosfat
<b>PKT</b>	: Post koital test
<b>PMN</b>	: Polimorfonükleer lökositler
<b>PR</b>	: İleri hareket, Progresif Motilite
<b>PRDXs</b>	: Peroksiredoksinler
<b>PRL</b>	: Prolaktin
<b>Procaspase-1</b>	: Prokaspaz 1
<b>Pro-IL-1</b>	: Pro-interlökin-1
<b>PRR</b>	: Pattern tanıma reseptörü
<b>RIPK1</b>	: Reseptörle etkileşen serin/treonin-protein kinaz 1
<b>ROS</b>	: Reaktif oksijen ürünleri
<b>SDF</b>	: Sperm DNA fragmantasyonu
<b>SHBG</b>	: Seks hormonu bağlayıcı globülin
<b>SLE</b>	: Sistemik lupus eritemozus
<b>SOR</b>	: Serbest oksijen radikalleri
<b>SSRI</b>	: Serotonin geri alım inhibitörleri
<b>T</b>	: Testosteron
<b>TAS</b>	: Total antioksidan seviye
<b>TOS</b>	: Total oksidatif seviye
<b>TESE</b>	: Testiküler sperm ekstraksiyonu
<b>TLR</b>	: Toll benzeri reseptörler
<b>TRIF</b>	: TIR-etki alanı içeren bağdaştırıcıyı indükleyen interferon-beta
<b>TRUS</b>	: Transrektal ultrason

<b>TUREJD</b>	: Transüretal ejakülatuar duktus rezeksiyonu
<b>USG</b>	: Ultrasonografi
<b>WHO</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>Zn</b>	: Çinko
<b>µM</b>	: Mikro mol
<b>µl</b>	: Mikro litre
<b>pg/ml</b>	: Pikogram/mililitre



## ÖZET

### İnfertilite Hastalarındaki Klinik Durumların (Varikosel-Azospermi) Antioksidan Ve İnflamazom Mekanizma Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması

Dr. Eser ÖRDEK

Üroloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi

**Giriş ve Amaç:** Gebelikle ilgili herhangi bir koruma önlemi olmaksızın 1 yıl süreyle düzenli cinsel ilişkiye rağmen çocuk sahibi olamayan çiftler için infertilite söz konusudur. Vücuttaki antioksidanlar ve serbest oksijen radikalleri arasındaki dengesizlik sonucu ortaya çıkan oksidatif stres, spermelere zarar vererek infertiliteye sebep olabilir. Varikoseli olan erkeklerde serum, testis ve semende serbest oksijen radikalleri artışı olduğu bilinmektedir. İnflamazom, inflamasyon üretme potansiyeli olan uyarıyı tanıyan ve buna yanıt olarak proinflamatuvar sitokinlerin üretimi ve salgılanmasından sorumlu süreci yöneten bir protein kompleksidir. Farklı tipte inflamazom yapıları bulunmakla birlikte son yıllarda tip 2 diyabet, insülin direnci ve obezite ile ilişkisi rapor edilen ana inflamazom, NLRP3 (Nod-like receptor pyrin domain-containing 3) inflamazomudur. Bu çalışmada, antioksidan mekanizmalarla birlikte, NLRP3 inflamazomu ve düzenleyici mekanizmalarının infertilite etyolojisi ile bağlantısını araştırmayı hedefledik.

**Metot:** Bu çalışmaya üniversitemiz etik kurulu onayı ile Eylül 2019 - Temmuz 2020 tarihleri arasında infertilite nedeniyle üroloji polikliniğimize başvuran 20-45 yaş arası erkek bireylerden belirlenen 4 ayrı hasta grubunun kriterlerine uyan rastgele toplam 88 hasta dahil edildi. Erkek hastalardan 21 gün ara ile 2 adet sperm numunesi alındı. Aynı şekilde çalışmaya dahil edilen katılımcılardan NLRP3 (Pirin 3 alanı içeren NOD benzeri reseptör), IL-1 beta (İnterlökin-1 beta), TAS (Total antioksidan seviye), TOS (Total oksidan seviye) ve OSİ (Oksidatif stres indeksi) düzeyleri çalışılmak üzere venöz (antekübital ven) kan örnekleri alındı. Bu değerlendirmeler sonucunda azospermi (-) / varikosel (-), azospermi (-) / varikosel (+), azospermi (+) / varikosel (-), azospermi (+) / varikosel (+) tanıları olan, her biri 22 bireyden oluşan 4 ayrı çalışma grubu sırayla Grup I, Grup II, Grup III ve Grup IV olarak adlandırıldı. Her hastanın serum ve sperm numunelerinde NLRP3, IL1-beta, TAS, TOS ve OSİ değerleri çalışıldı ve elde edilen veriler gruplar arasında karşılaştırıldı.

**Bulgular:** Çalışmaya dahil edilen hastaların herhangi kronik bir rahatsızlığı olmamakla birlikte tümü evli ve infertil olup, hastaların yaş ortalamasında anlamlı bir fark yoktu. Hastaların serum ve sperm parametrelerinden elde edilen veriler eşliğinde varikoseli ya da azospermisi olan hasta gruplarında NLRP3, IL-1 beta, TAS, TOS ve OSI değerleri, hem varikoseli hem de azospermisi olmayan hasta grubundan ( $p < 0.05$ ) anlamlı farklılık göstermiş olup daha yüksek saptandı. Oksidatif stres belirteçleri olan TAS, TOS ve OSI değerlerinin azospermik olan ve olmayan varikoselli hastalarda serum ve semen değerleri varikoseli ve azospermisi olmayan hastalara oranla her iki grubunda (varikosel + (azosperimk/non-azospermik) daha anlamlı şekilde yüksek olduğunu bulduk ( $p < 0.05$ ). NLRP3 inflamazomu serum ve semen değerleri azospermik ve varikoselli hastalarda anlamlı olarak azospermiden bağımsız ve varikoseli olmayan hastalara oranla daha yüksekti ( $p < 0.05$ ). Ancak azospermisi olmayan varikoselli hastalarda azospermiden bağımsız varikoseli olmayan hastalara kıyasla anlamlı bir yükselme saptanmadı ( $p > 0.05$ ).

**Sonuç:** Çalışmamızda IL-1 $\beta$  aracılı inflamatuvar yanıtların başlamasında görev alan multiprotein kompleks yapısındaki NLRP3 inflamazomu ve bu molekülün erkek infertilitesi ile olan ilişkisinin ele aldık. Elde ettiğimiz veriler ışığında incelediğimiz objektif parametrelerden serum ve sperm NLRP3, IL-1 $\beta$ , TAS, TOS ve OSI değerlerinin azospermi ve varikoseli olan infertil erkeklerde anlamlı derecede yüksek olduğunu tespit ettik. Bu çerçevede, NLRP3 molekülü inflamatuvar ve düzenleyici mekanizmalarda yeni potansiyel hedefleri temsil edebilir ve belki ileride infertilite tedavisinde ek fayda sağlayabilir. Özellikle varikoseli olan hastalarda yükselmesi infertilite tedavisinde varikosektomi tedavisinin gerekliliğine karar verebilmek açısından ve verilen medikal tedavilerle proinflamatuvar ortamı azaltmak için inflamozom ve oksidan molekül takibiyle düzenleyebilmek umut verici bir yaklaşım olacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** İnfertilite, antioksidan, azospermi, varikosel, NLRP3, IL-1 beta.

## ABSTRACT

### **Investigation of the Effects of Clinical Conditions (Varicocele-Azoospermia) on Antioxidant and Inflammatory Mechanism in Infertility Patients**

**Eser ÖRDEK, MD**

**Speciality Thesis, Department of Urology**

**Introduction and Purpose:** Infertility is a matter of concern for couples who cannot have children despite regular sexual intercourse for 1 year without any protection measures related to pregnancy. Oxidative stress caused by the imbalance between antioxidants and free oxygen radicals in the body can cause infertility by damaging the sperm. It is known that there is an increase in free oxygen radicals in serum, testes and semen in men with varicocele. Inflammasome, is a protein complex that recognizes stimuli that have the potential to produce inflammation, and governs the process responsible for the production and secretion of pro-inflammatory cytokines in response. Although there are different types of inflammasome structures, the main inflammasome, which has been reported to be associated with type 2 diabetes, insulin resistance and obesity in recent years, is NLRP3 (Nod-like receptor pyrin domain-containing 3). In this study, we aimed to investigate the connection between antioxidant mechanisms and NLRP3 inflammasome and regulatory mechanisms with the etiology of infertility.

**Methods:** A total of 88 randomly selected patients who met the criteria of 4 different patient groups between the ages of 20-45 who applied to our urology outpatient clinic due to infertility between September 2019 and July 2020 with the approval of the ethics committee of our university were included in this study. 2 sperm specimens were taken from male patients every 21 days. In the same way, venous blood (antecubital vein) samples were taken from the participants to study NLRP3 (Nod-like receptor pyrin domain-containing 3), IL-1 beta (Interleukin-1 beta), TAS (total antioxidant status), TOS (Total oxidant status), and OSI (Oxidative stress index) levels. As a result of these evaluations, four separate study groups, each consisting of 22 individuals, with diagnoses of azoospermia (-) / varicocele (-), azoospermia (-) / varicocele (+), azoospermia (+) / varicocele (-), azoospermia (+) / varicocele (+) were formed. The groups formed were named as Group I, Group II,

Group III and Group IV, respectively. NLRP3, IL1-beta, TAS, TOS and OSI values were studied in serum and sperm samples of each patient and the obtained data were compared between the groups.

**Findings:** Although the patients included in the study did not have any chronic disease, they were all married and infertile, and there was no significant difference in the mean age of the patients. With the data obtained from the serum and sperm parameters of the patients, NLRP3, IL-1 beta, TAS, TOS and OSI values in the patient groups with varicocele or azoospermia showed a significant difference compared to the patient group without varicocele and azoospermia and were found higher ( $p < 0.05$ ). In addition, we found that the oxidative stress markers TAS, TOS and OSI values we examined in infertile patients in our study were significantly higher in both groups (varicocele + (azoospermic / non-azoospermic)) in patients with and without azoospermic varicocele compared to patients with varicocele and no azoospermia ( $p < 0.05$ ). Serum and semen values of NLRP3, one of the main molecules of our study, were significantly higher in azoospermic and varicocele patients compared to patients without azoospermia and without varicocele ( $p < 0.05$ ). However, no significant increase was found in patients with varicocele without azoospermia compared to patients without varicocele independent of azoospermia ( $p > 0.05$ ).

**Conclusions:** In our study, we aimed to bring a new perspective to the inflammatory and antioxidant hypothesis in the etiology of infertility and to bring up new possible treatment goals. In this context, NLRP3 inflammasome, which is a multiprotein complex that plays a role in the initiation of IL-1 $\beta$  mediated inflammatory responses, and its relationship with male infertility were discussed. The quality of seminal fluid analysis may be reduced in inflammatory processes, particularly through increased pro-inflammatory process, increased oxidative stress products at the supraphysiological level, and pathological spermatogenesis. Effective fertility requires a fine balance between pro and anti-inflammatory mediators. Therefore, an imbalance in the inflammatory response during fertilization and spermiogenesis can lead to a process towards fertility failure. In the light of the data we obtained from our study, we found that among the objective parameters we examined, serum and sperm NLRP3, IL-1 $\beta$ , TAS, TOS and OSI values were significantly higher in infertile men with azoospermia and varicocele. In this context, the NLRP3 molecule may represent new potential targets in inflammatory and regulatory mechanisms and perhaps provide further benefit in future infertility treatment. Therefore, targeting inflammasome and oxidant molecule formation to reduce the proinflammatory environment would be a promising approach.

**Keywords:** Infertility, antioxidant, azoospermia, varicocele, NLRP3, IL-1 beta

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

İnfertilite, cinsel olarak aktif, kontraseptif olmayan bir çiftin, düzenli ve doğru bir şekilde uygulanan cinsel ilişkiye rağmen 1 yıl içinde kendiliğinden gebelik elde edememesidir.” (WHO, Dünya Sağlık Örgütü) (1). Çiftlerin yaklaşık %15'i ilk bir yıl içerisinde gebelik yaşayamaz ve infertilite için tıbbi tedavi aramaya başlar. Sekiz çiftten biri ilk çocuğu gebe kalmaya çalışırken, altı çiftten biri daha sonraki çocuğu gebe kalmaya çalışırken sorunlarla karşılaşır. Kadınların %3'ü istem dışı çocuksuz kalırken, fertil kadınların % 6'sı istedikleri kadar çocuk sahibi olamamaktadır (2).

Kısırlık hem erkekleri hem de kadınları etkiler. Gönüllü olarak çocuksuz olan çiftlerin %50'sinde anormal semen parametreleriyle birlikte erkek kısırlığı ile ilişkili bir faktör bulunur. Verimli bir eş, çiftin doğurganlık problemini telafi edebilir ve bu nedenle infertilite genellikle her iki eşin de aynı zamanda doğurganlığın azalması durumunda ortaya çıkar (1).

Vücuttaki antioksidanlar ile serbest oksijen radikalleri arasındaki dengesizlik sonucu ortaya çıkan oksidatif stres, spermelere zarar vermek yoluyla infertiliteye sebep olabilir. Varikoseli olan erkeklerde kan, testis ve semende serbest oksijen radikalleri artışı olduğu bilinen bir gerçektir. Oksidatif stres, spermde DNA hasarına yol açan asıl etiyolojik faktör olarak düşünülmektedir. Karnitin, arjinin gibi aminoasitlerin düzeyi infertilite hastalarında farklı gözlenmekle beraber bu ilaçlarla tedavide oligospermi ve azospermi üzerine etkileri bilinmektedir. Aynı şekilde son yıllarda yapılan çalışmalarda inflamasyon ve bazı kronik hastalıklar arasındaki ilişkiye vurgu yapılmakta olup, bu hastalıkların patogeneğinde aktifleşmiş inflamatuvar cevabın önemli bir yere sahip olduğu, pro-inflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin hücre ölümüne ve kronik inflamasyona neden olduğu belirtilmektedir. İnflamazom, inflamasyon üretme potansiyeli olan uyarıyı tanıyan ve buna yanıt olarak proinflatuar sitokinlerin üretimi ve salgılanmasından sorumlu süreci yöneten bir protein kompleksidir. Farklı tipte inflamazom yapıları bulunmakla birlikte son yıllarda ön plana çıkan tip 2 diyabet, insülin direnci ve obezite ile ilişkisi rapor edilen inflamazom, NLRP3 (Nod-like receptor pyrin domain-containing 3) inflamazomudur. Bu bağlamda, antioksidan mekanizmalarla birlikte, NLRP3 inflamazomu ve düzenleyici mekanizmalarının infertilite ile ilgili olabilecek ilişkisini araştırmayı hedefledik.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Erkek Üreme Sistemi Anatomisi

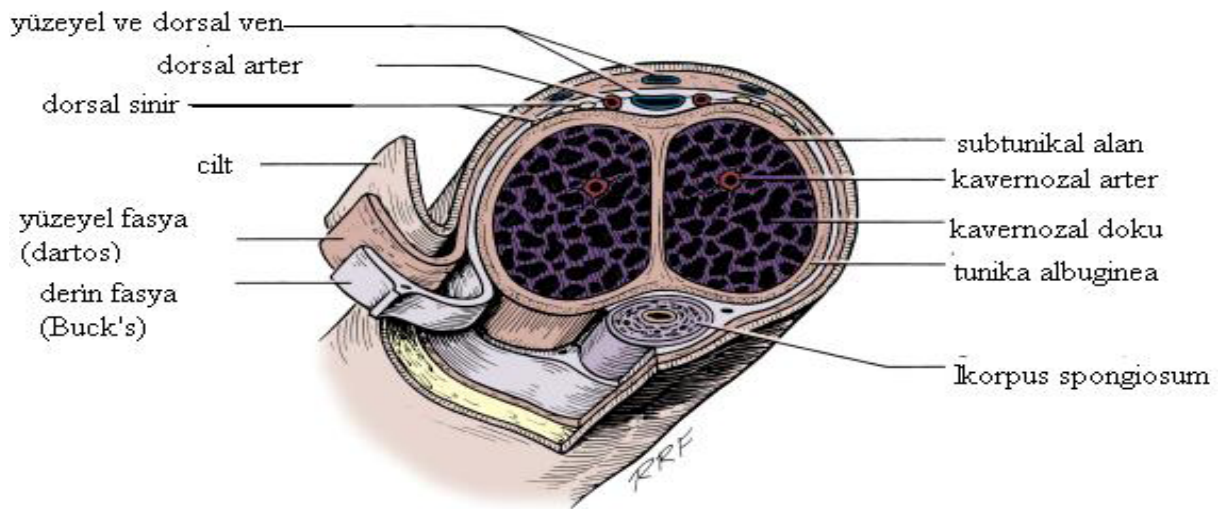
Erkek üreme sistemi organları iç ve dış genital organlar olmak üzere ikiye ayrılır.

**Dış genital organlar:** Penis ve skrotum.

**İç genital organlar:** Testis, epididim, funikulus spermaticus, duktus deferens, glandula vezikuloza, glandula prostaticus, glandula bulboüretalis, ejakulat ve duktus ejakulatorius.

#### 2.1.1. Penis

Korpus penis ve radiks penis olmak üzere iki parçadan oluşan penis, ligamentum fundiforme penis ve ligamentum suspensorium penis ile karın ön duvarına yapışmıştır. Radix penis, bulbus penis ve crus penis olarak iki kısımdan oluşur. Bulbus penis, korpus spongiosum penisin genişlemiş olan arka bölümüdür ve üretra bu kısmın içinde seyrederek. Crus penis ise, korpus kavernosum penisin arkasında bulunan bir çift erektil yapıdan oluşur. Korpus penis, bir adet korpus spongiosum ve iki adet korpus kavernosumdan oluşur. Erektile fonksiyona sahip bu yapılar içte tunika albuginea dışta ise derin penil fasya (Buck fasyası) ile sarılıdır. Korpus spongiosum distalde genişler ve glans penisi oluşturur. Penisi saran tabakalar dıştan içe doğru deri, superfisiyal fasya (Dartos tabakası), derin fasya (Buck fasyası), tunika albuginea olarak sıralanır (Şekil 1) (3).

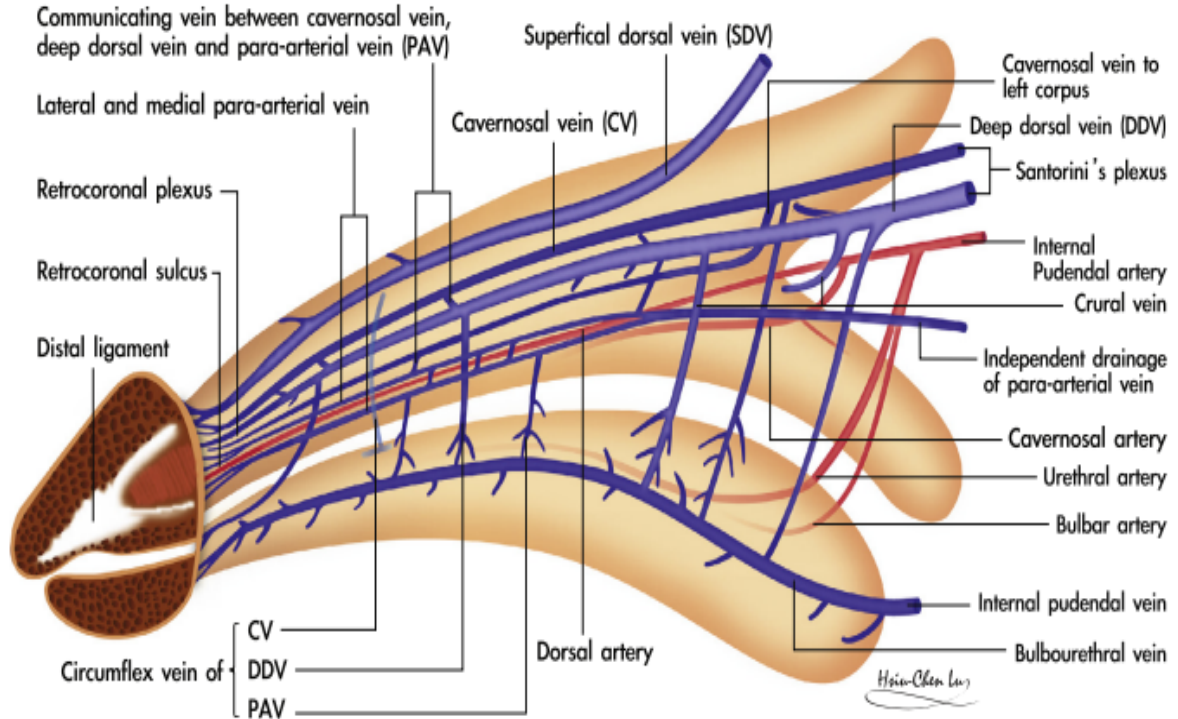


Şekil-1: Penisi saran tabakalar

### 2.1.1.1. Penisin Vasküler Anatomisi ve Lenfatik Sistemi

Penis derisi, erektil yapılardan bağımsız olarak femoral arterin eksternal pudental dallarından beslenir. Eksternal pudental arterden köken alan yüzeysel penil arter yüzeysel ve Buck fasyası arasında yer ilerler. Bu arter, veni ile beraber seyrederek ve penis derisini besler. Derin arter desteği ise internal iliak arterden köken alır. Bu arter öncelikle internal pudental arter dalını, ardından penil arter dalını verir. Ana penil arter erektil yapıları beslemek için 3 dala ayrılır; bulboüretal arter, kavernoözal arter ve dorsal penil arter. Kavernoözal arter direkt olarak korpus kavernozumları besler. Penil arter ise korpus kavernozumunda dorsal arter olarak devam eder. Korpus spongiosum proksimal olarak bulboüretal arter tarafından, penis şaftı boyunca da sirkümfleks arterler ile dorsal arterden kanlanır (Şekil 2).

Penisin deri lenfatikleri yüzeysel inguinal ve subinguinal lenf nodlarına drene olurlar. Glans penisin lenfatikleri ise subinguinal ve eksternal iliak lenf nodlarına boşalır. Derin lenfatikler ise hipogastrik ve common iliak lenf nodlarına drene olur (4).



Şekil-2: İnsan penisinde vasküler sistemi gösteren şematik bir örnek.

Üst yan görünüm. Derin dorsal ven medyan pozisyonundadır. Korpus kavernozumdan emissary venlerin ve korpus spongiosumdan sirkümfleks venlerin kanını alır. İki taraflı olarak her

dorsal arter, karşılık gelen medial ve lateral paraarteriyel venler arasında yer alır. İnternal pudental arter, bulburetral arter ve daha sonra korpus kavernozumun ana besleyici damarı olan kavernöz artere ve glans penisini besleyen dorsal artere bir dal verir (5).

### **2.1.1.2. Penisin Sinir Sistemi**

Penisin innervasyonu hem otonom hem de somatik sistem ile sağlanır. Spinal kord ve periferik ganglionlardan köken alan sempatik ve parasempatik lifler, kavernoza sinir aracılığı ile korpus spongiozum ve korpus kavernoza ulaşır. Somatik sinirler ise bulbokavernoza ve iskiokavernoza kasların kasılmasını sağlar ve penil duyunun iletilmesine yardımcı olur (6). Sempatik sinir lifleri medulla spinalisin alt torasik ve üst lomber bölgesinden çıktıktan sonra retroperitoneal olarak seyrederek. Bu lifler aortik bifürkasyonun altında yoğunlaşarak, superior hipogastrik pleksusu (Presakral sinir) oluşturur.

### **2.1.2. Skrotum**

Skrotum, penisin tabanından sarkan deri ve yüzeysel fasyadan oluşan bir kesedir. İçinde funikulus spermaticusun bir bölümü, testis ve epididim bulunan, kıl folikülleri barındıran, yağdan fakir, sebace ve ter bezlerinden zengin, torba şeklinde bir yapıdır. Dikey bir septum olan raphe yapısı, skrotumu her biri bir testis içeren sağ ve sol bölmelere ayırır. Dış skrotum, testisleri vücut dışına, spermin gelişimi ve depolanması için gerekli bir ortam olan vücut boşluğunun yaklaşık 3-4°C altındaki bir ortamda konumlandırır.

Aşağıdaki iki kas, dış koşullar çok soğuk olduğunda bu sıcaklığın korunmasına yardımcı olur.

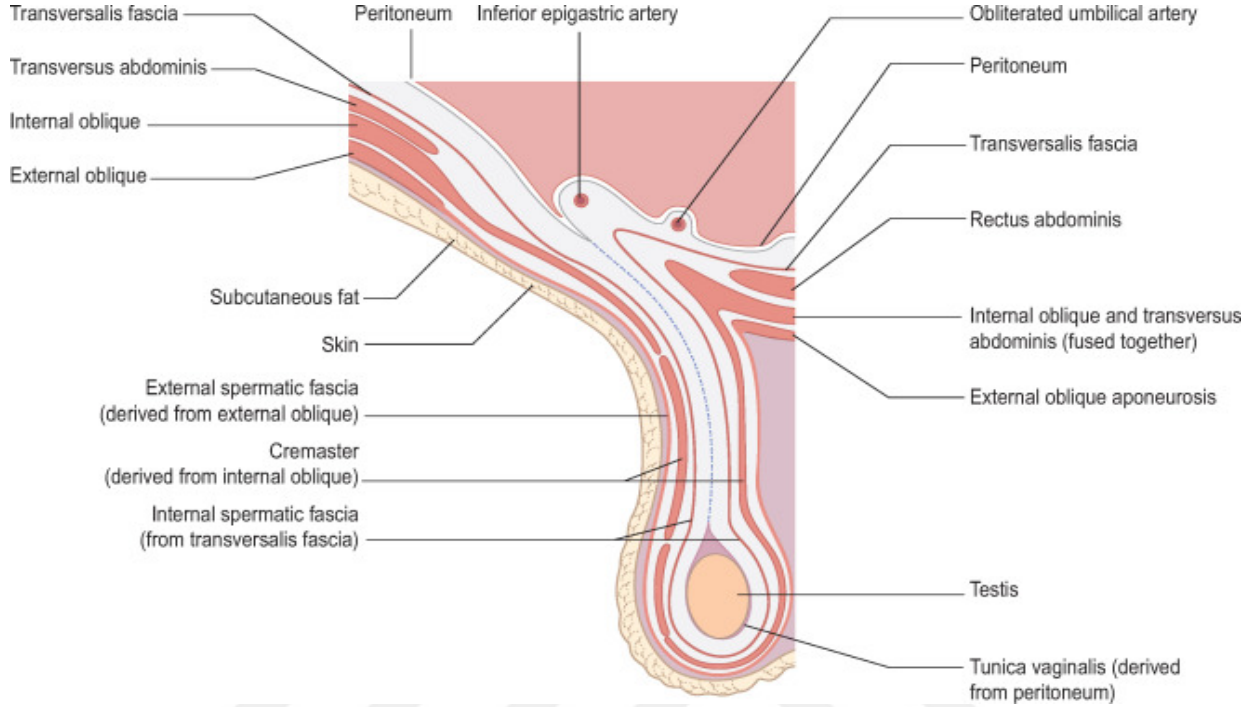
Dartos kası skrotum ve septumun yüzeysel fasyasında bulunur. Bu düz kasın kasılması skrotum derisinde kırışıklıklar oluşturur. Kremasterik kaslar internal oblik kaslardan skrotuma doğru uzanır.

Skrotum tabakaları dıştan içe doğru aşağıdaki şekilde sıralanmıştır: (Şekil 3).

- 1- Deri
- 2- Tunika dartos
- 3- Fasya spermatica eksterna; eksternal oblik fasyanın devamı niteliğindedir.
- 4- Fasya cremasterica ve musculus cremaster; internal oblik kasta kaynaklanır.

5- Fasya spermatica interna; transvers fasyanın devamı niteliğindedir.

6- Tunika vaginalis testisin pariyetal yaprağı olup visseral yaprağı testisi sarmalar.



Şekil-3: Skrotum katmanları (7)

### 2.1.2.1. Skrotum Vasküler Anatomisi

Skrotumun ön duvarı eksternal pudental damarlarla beslenir. İlioinguinal ve genitofemoral sinirlerle innerve edilir. Anterior duvarı besleyen damarlar ve sinirler skrotum kıvrımlarına paralel olarak seyrederek raphe katlantısını geçmezler. Bu nedenle tranvers ve raphe insizyonları kanamanın en az olduğu insizyonlardır. Skrotumun arka yüzü, perineal damarların ve sinirlerin posterior skrotal dallarıyla beslenir ve innerve edilir.

### 2.1.3. Testis Anatomisi

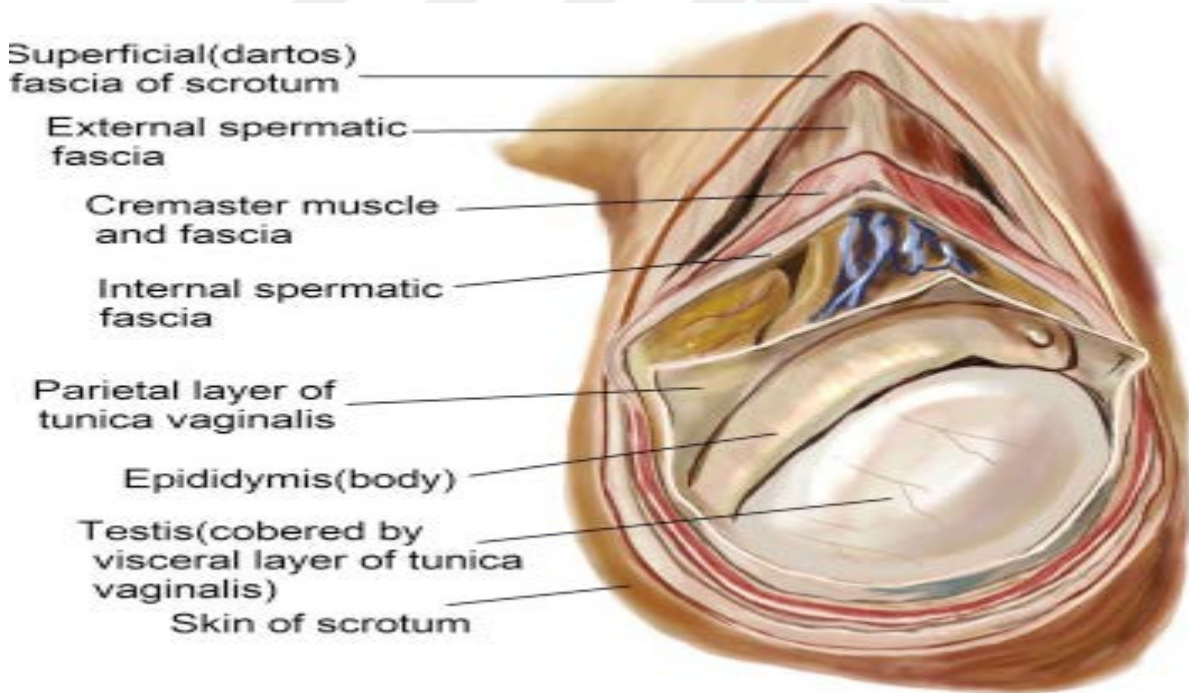
Sağlıklı erkeklerde testislerin hacmi 15-25 cc (8) ve uzunluğu 4.5-5.1 cm (9) olup ilerleyen yaşla birlikte boyutları azalmaktadır. Spermi üreten testisler için olması gereken sıcaklık, vücut sıcaklığından 2-3°C daha düşüktür. Optimum sıcaklık 34°C'dir.

Testisler gelişimin 7-8. haftalarında Y kromozomu üzerinde yer alan (10) SRY geninin yönlendirmesi ile primordial germ hücrelerinden meydana gelirler (11).

Leydig ve sertoli hücreleri sırasıyla testosteron ve müllerian inhibe edici hormon (MIS/AMH) salgılamaya başlar (12). Testosteron Wolfian kanalını koruyarak MIS/AMH komşu müllerian kanalın dejenerasyonunu indükler (13). Regrese olan mezonefroz wolfian kanalı epididim, duktus deferens, ampulla ve seminal vezikülleri oluşturmak için gelişen gonad ile birleşir (14).

Skrotal duvar yedi kattan oluşur: Cilt, dartos, superfisiyal perineal fasya, eksternal spermatic fasya, internal spermatic fasya ve tunika vajinalisin pariyetal yaprağı (Şekil 4).

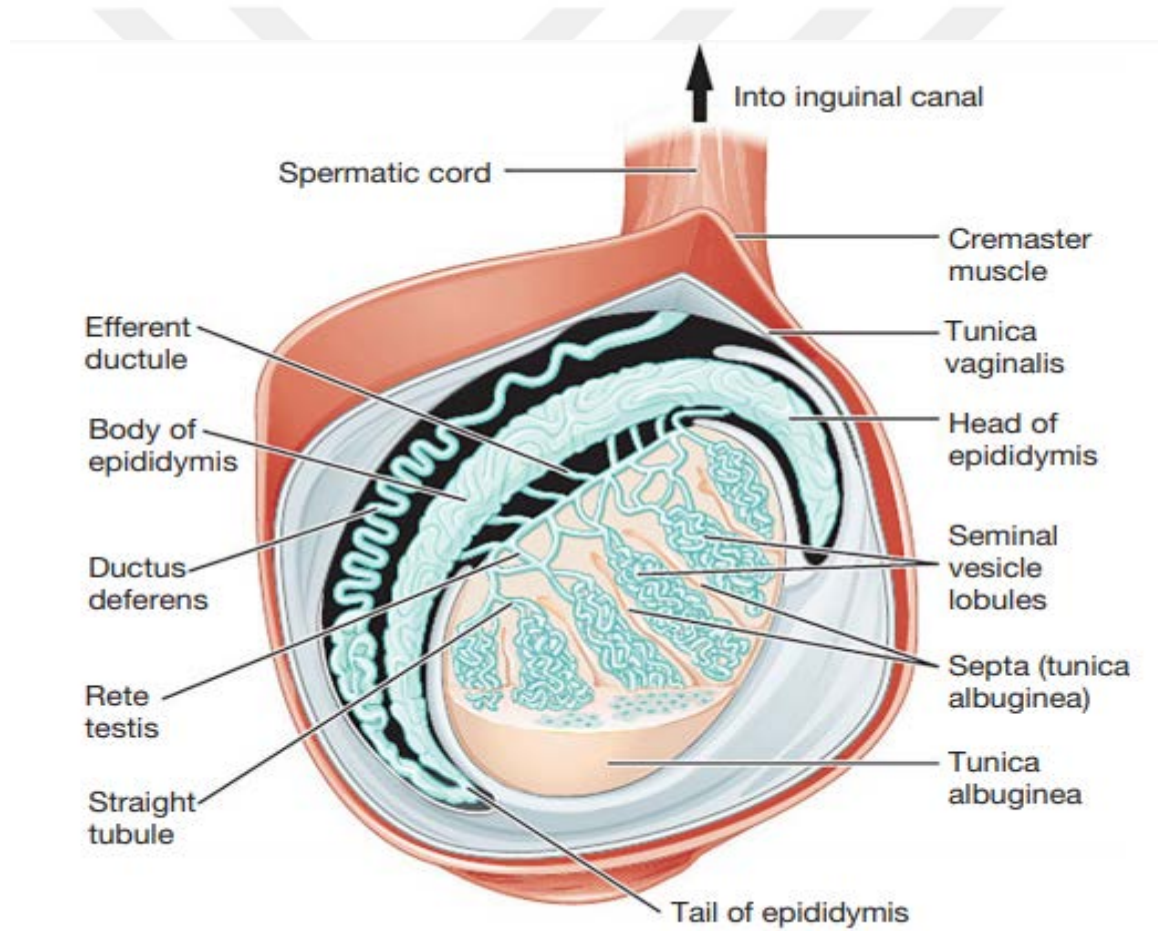
Testiküler kapsül skrotal katlardan ayrıdır ve kendisine ait üç tabakası vardır: tunika vajinalisin visseral tabakası, tunika albuginea ve tunika vasküloza (15). Tunika albuginea testisi lobüllere ayıran septasyonlar meydana getirir, kan akımı bu septasyonlar boyunca yayılır (15).



**Şekil-4:** Skrotal duvarın anatomik katları ve testiküler kapsül yapısı

Her iki testis de yaklaşık 800-1000 kadar seminifer tübüllerden meydana gelmiştir (Şekil 5). Bu seminifer tübüller sperm üretim alanlarıdır. Bu tübüllerden genellikle 1-3 tanesi, sayısı 200-300 arasında değişen her bir lobül içerisinde yerleşmiştir. Tübüllerin her biri yaklaşık 8 cm

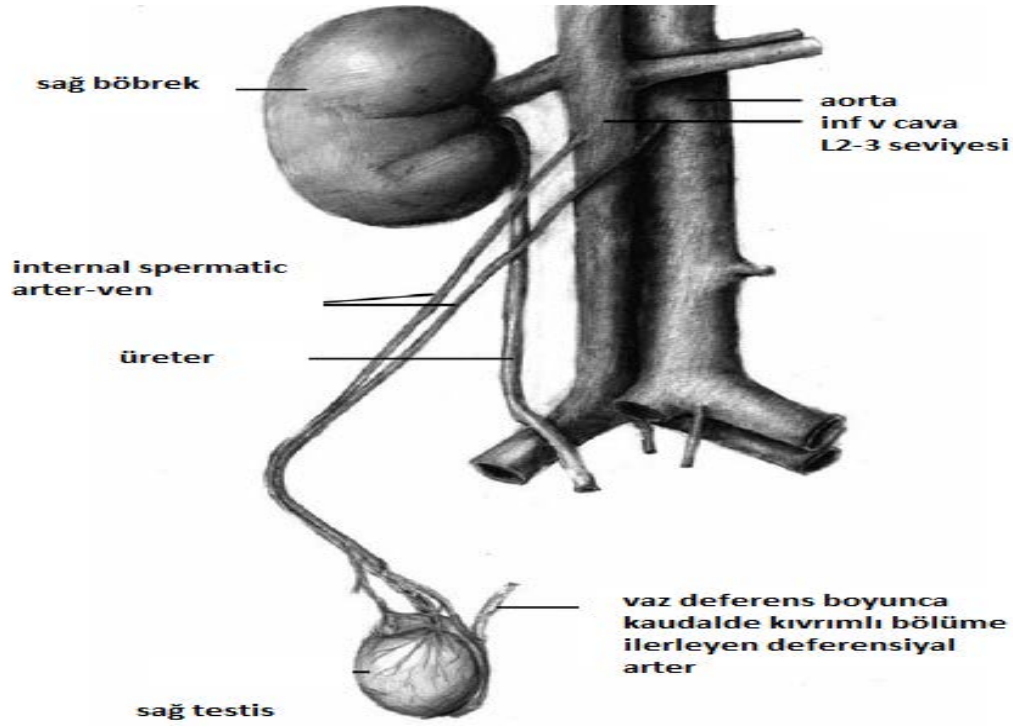
kadardır ve testis içersine kıvrılmış yapıdadır. Seminifer tübüller rete testise bağlanır. Rete testisten çıkan 8-20 adet duktuli efferentes epididim baş kısmına girerek epididim lobüllerini oluştururlar. Her lobül 15-20 cm boyunda, kıvrımlı tek bir tubulustan oluşur. Bunların tümü birleşerek, kıvrımlı bir epididim kanalı oluştururlar. Altı metre boyunda olan bu kanaldan kuyruğa doğru ilerledikçe çapı ve kalınlığı artarak duktus deferens oluşur. Vas deferens olarak da adlandırılan duktus deferens prostat bezine girmeden önce vas deferens ampullası denen bir dilatasyon gösterir. Prostatın her iki tarafında yer alan seminal veziküller, bu ampullanın prostat girişine açılırlar ve hem ampullanın hem de seminal vezikülün içerikleri ortak bir ejakülator kanal yoluyla prostat gövdesinden geçerek, prostatik üretraya boşalırlar. Seminal total ejakülatın %46-80'ini oluşturur (16 ). Prostat bezinden çıkan prostat kanalcıkları da ejakülator kanala açılmaktadır. Testisleri vücut dışına bağlayan halkanın son bölümü uretradır (17).



Şekil-5: Testis ve epididim anatomisinin özeti (18)

### 2.1.3.1. Testiküler Vasküler Anatomi

İnternal spermatic veya testiküler arter, deferansiyel arter ve eksternal spermatic veya kremasterik arterler testislerin ana damarlarıdır. Çalışmalara göre testiküler arter testisin alt ve üst pollelerini besleyen 1-3 adet dala sahiptir (19) (Şekil 6). Deferensiyel arterler inferior vezikal arterden dallanır ve epididimin kaudada yer alan kıvrımlı kısmına doğru spermatic kord içerisinde vaz deferens boyunca devam eder. Kremasterik arter inferior epigastrik arterden köken alır ve kremasterik fasya ve tunica vajinalis içerisinde superfisiyal olarak testisin yüzeyini ve spermatic kordu genişçe kaplamak üzere devam eder (20).



Şekil-6: Testis kan akımı (21)

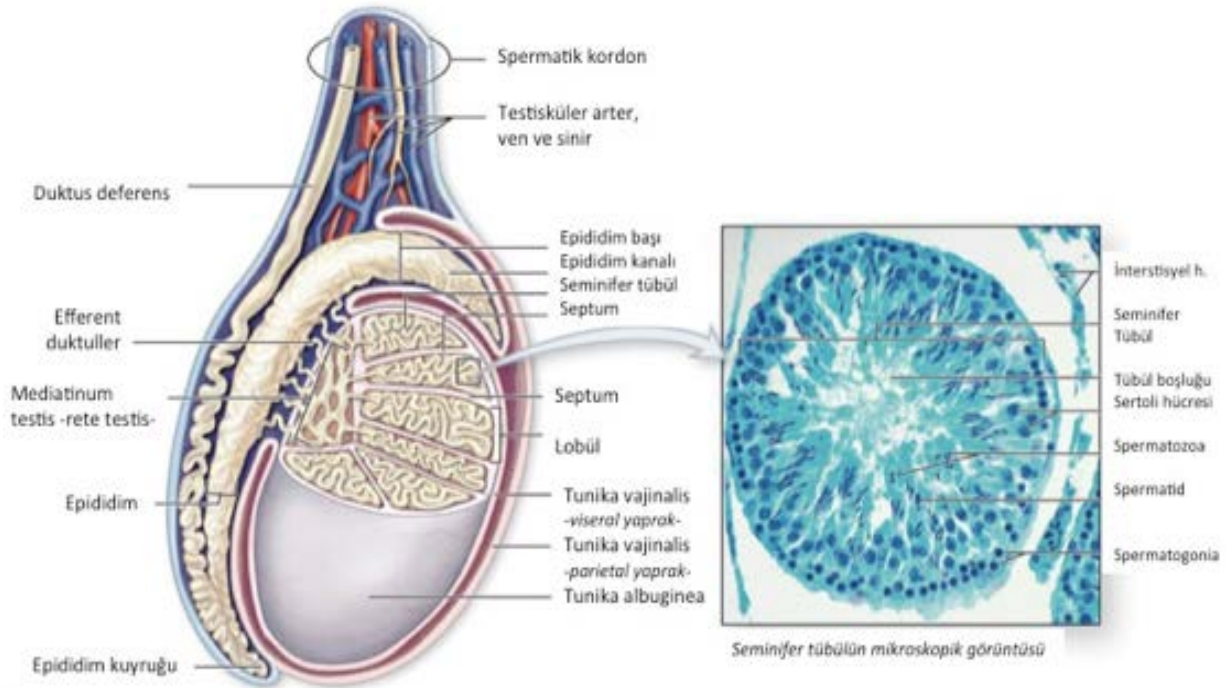
Venöz kanallar arterlerden bağımsız olarak devam eder ve tunika albugineanın yüzeyel venlerine ve mediastinum yakınında yer alan santral bir vene drene olurlar; bu venler pampiniform plexusu beslemektedir (22). Testis ve epididimin lenf akımı spermatic kord içerisinde lomber veya paraaortik lenf nodlarına gider (14).

### 2.1.3.2. Kan Testis Bariyeri

Testis sıvısının göreceli izolasyonu sertoli hücreleri arası sıkı bağlar tarafından oluşturulan kan-testis bariyeri tarafından sağlanır (23). Bu bariyer puberte sırasında oluşur ve bir daha bozulmaz. Kan testis bariyeri mayoz bölünme için tübüler ortamı optimize eder ve testis sıvısının immünolojik izolasyonu ise sekonder fayda olara ortaya çıkar (14). Bariyerde hasar olan erkeklerde kendi spermatozoalarına karşı antikor gelişir (14)

### 2.1.4. Epididim

Epididim, kuyruğu tamamının yarısını oluşturacak şekilde, 6-7 mm uzunluğunda tek bir kanaldır (Şekil 7). Rete testisten tunica albugineayı delerek çıkan 8-12 ductus efferents, lobüller halinde epididim başını oluşturur. Anatomi olarak 3 bölüme ayrılır: kaput-baş, korpus-gövde ve kauda-kuyruk.



Şekil-7: Epididim ve ductus deferens

#### **2.1.4.1. Epididim Vasküler Anatomisi**

Epididimin beslenmesi spermatik ve funiküler damarlardan olur (24). Spermatik arterden korpusu beslemek üzere bir intraabdominal dal ve kaputu beslemek üzere de bir inguinal dal ayrılır (24). Funiküler pedikülü; internal iliak arterin kendinden ya da sıklıkla superior vezikal arter olmak üzere bir dalından çıkan ve vaz deferens boyunca kauda üzerinde uzanan deferensiyal arter; ve veziküler arterden çıkan, vaz deferens ile kaudayı besleyen funiküler arter oluşturur.

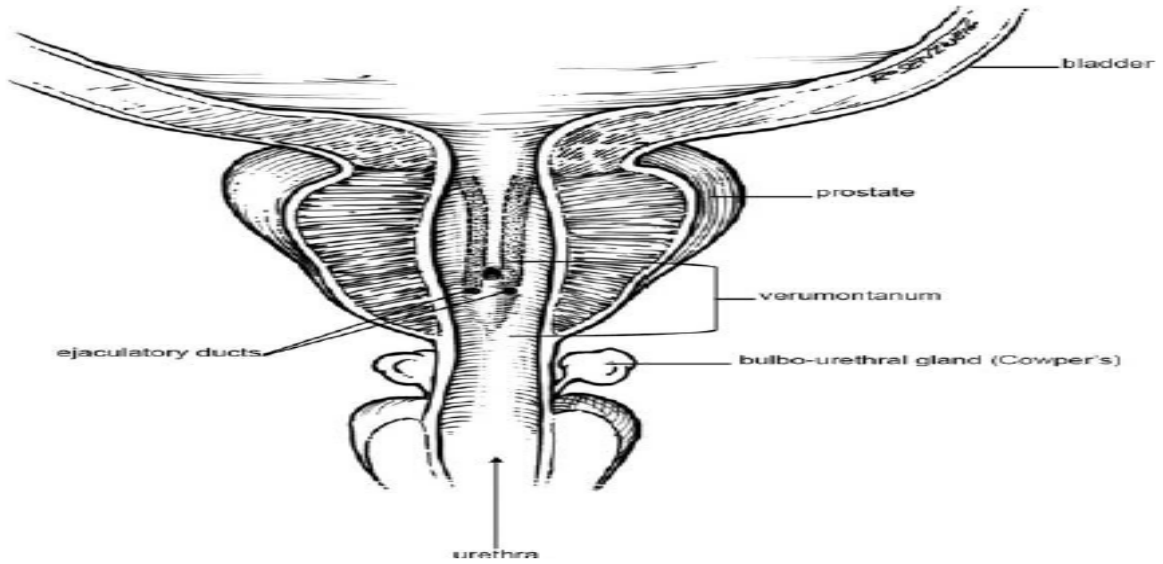
#### **2.1.4.2. Epididim Fonksiyonu**

Düz kas kontraksiyonlarıyla spermatozoa taşınmasının yanısıra epididimde spermatozoa depolanması ve maturasyonuna yardımcı olur. Epididim motilite ve fertilitate kapasitesinin gelişimiyle ilgili olduğu düşünülen proteinler de sentezleyip salgılar (25).

#### **2.1.5. Vaz Deferens**

Vaz deferensin fizik muayenesinde en önemli nokta mevcut olduklarının teyit edilmesidir. Kistik fibrozisli erkeklerin yaklaşık %95 inde konjenital bilateral vaz deferens agenezisi (CBAVD) görülür (26). Vaz deferens mezonefrozdaki ürogenital sinüse kadar uzanan mezonefrik kanaldan gelişir. Yaklaşık 45 cm uzunluğundaki vaz deferensler, kauda epididimden başlayıp inguinal kanaldan geçer ve mesanenin arkasında yerleşmiş olan seminal veziküller ile birleşerek ejakülatör kanalları oluşturduktan sonra prostatik üretraya açılır (27) (Şekil 8).

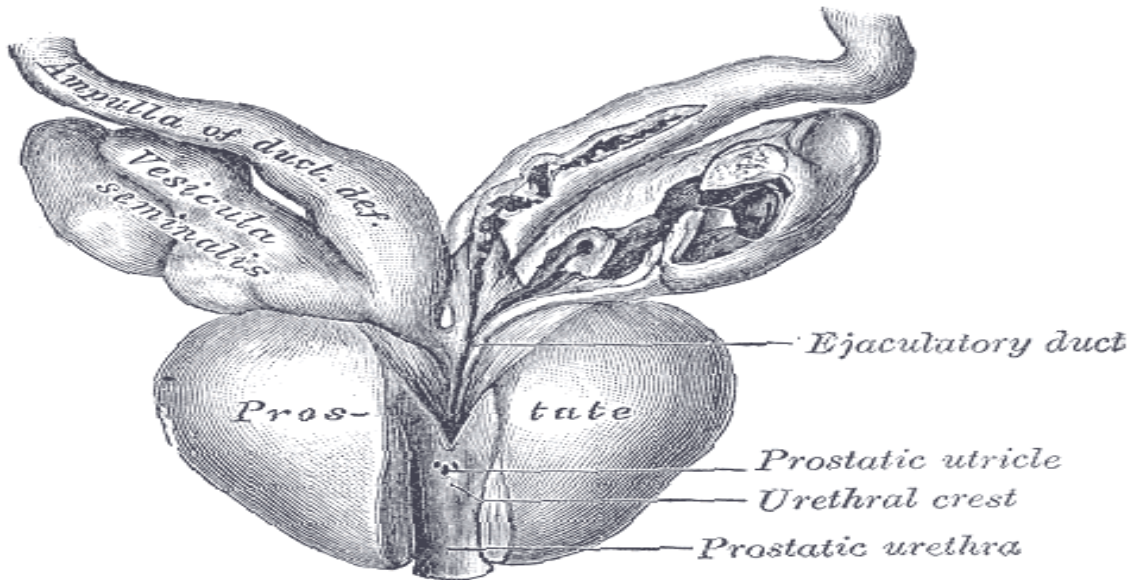
Histolojik olarak 2 parçaya ayrılır: yaklaşık 40 cm olan vazal bölüm ve distalde 5 cm lik kısmı oluşturan ampuller kısım. Vasküler beslenmesi internal iliak arterden çıkan deferensiyal arterden sağlanır. Venöz dönüş ise hipogastrik vene açılan deferensiyal ven ile sağlanmaktadır.



Şekil-8:Ejakülatuar kanallar (28)

### 2.1.6. Seminal Veziküller

Wolf kanalının kaudal ucundan önce bir dilatasyon, arkasından da içe katlantılar şeklinde seminal veziküller gelişir (29). Bebekler ve çocuklarda nispeten farklılaşmamış olup 16-18 yaşına geldiklerinde sekretuar aktiviteleri gelişir. Seminal veziküller ejakülator kanallara açılan dış salgı bezleridir (Şekil 9). Spermi proteinler enzimler früktoz ve diğer maddelerle beslerler. Toplam ejakulat volümün %46-80 ini oluştururlar (30).



Şekil-9: Seminal veziküller, posteriordan görünüş

Seminal veziküller beslenmelerini vezikülodeferensiyal arter yoluyla internal iliak arterden sağlar. Venöz dönüş ise prostatik plexus ve inferior vezikal plexus tarafından, internal iliak vende sonlanarak sağlanır. Seminal plazmanın sperm aglütinasyonunu önlediği, sperm plazma membranını stabilize ettiği, sperm kaybını azaltmak için koagulum oluşturduğu ve kadın genital sisteminde düz kas aktivitesini uyararak lenfositik reaksiyonları inhibe ettiği gösterilmiştir (31).

## 2.2. Erkek İnfertilitesi Epidemiyoloji Ve Etiyoloji, Genel Prensipler

Erkek fertilitesi aşağıdaki faktörlerden dolayı bozulabilir (1). (Tablo 1).

- Konjenital veya edinilmiş ürogenital anormallikler,
- Maligniteler,
- Ürogenital sistem enfeksiyonları,
- Artmış skrotal sıcaklık (örneğin varikozel sonucu),
- Endokrinolojik bozukluklar,
- Genetik anormallikler,
- İmmünolojik faktörler.

Olguların yaklaşık %30-40'ında erkek infertilitesine bağlı bir faktör bulunamamıştır ki bu da idiyopatik erkek infertilitesi olarak isimlendirilir. Bu erkekler genellikle daha önce fertilitayı etkileyen hastalık öyküsü göstermezler ve fizik muayene ile endokrin, genetik veya biyokimyasal laboratuvar testleri konusunda normal bulgulara sahiptirler. Bununla birlikte, spermogramın semen analizinde patolojik bulguları ortaya çıkarabilir.

**Tablo-1:** Erkek infertilitesi nedenleri ve ilişkili faktörleri özetlemektedir (10.469 hastada dağılım yüzdesi, EAU 2020 kılavuzu)

<b>Teşhis</b>	<b>Seçilmemiş hast.(n12,945)</b>	<b>Azoospermik hastalar(n=1,446)</b>
<b>Tümü</b>	100%	11.2%
<b>Bilinen infertilite nedenleri</b>	42.6%	42.6%
<b>Inmemiş testisler</b>	8.4	17.2
<b>Varikosel</b>	14.8	10.9
<b>Sperm otoantikörleri</b>	3.9	-
<b>Testiküler tümörler</b>	1.2	2.8
<b>Diğerleri</b>	5.0	1.2
<b>İdiyopatik infertilite</b>	30.0	13.3
<b>Hipogonadizm</b>	10.1	16.4
<b>Klinefelter's sendromu (47, XXY)</b>	2.6	13.7
<b>XX male</b>	0.1	0.6
<b>Nedeni bilinmeyen primer hipogonadizm</b>	2.3	0.8
<b>Sekonder hipogonadizm</b>	1.6	1.9
<b>Kallmann sendromu</b>	0.3	0.5
<b>İdiyopatik hipogonadotropik hipogonadizm</b>	0.4	0.4
<b>Hipofiz cerrahisi sonrası</b>	< 0.1	0.3
<b>Geç başlangıçlı hipogonadizm</b>	2.2	-
<b>Yapısal puberte gecikmesi</b>	1.4	-
<b>Diğerleri</b>	0.8	0.8
<b>Genel/sistemik hastalıklar</b>	2.2	0.5
<b>Malign hastalığa bağlı kriyoprezervasyon</b>	7.8	12.5
<b>Testiküler tümörler</b>	5.0	4.3
<b>Lenfoma</b>	1.5	4.6
<b>Lösemi</b>	0.7	2.2
<b>Sarkoma</b>	0.6	0.9
<b>Ereksiyon/ejakülasyon bozukluğu</b>	2.4	-
<b>Obstrüksiyon</b>	2.2	10.3
<b>Vazektomi</b>	0.9	5.3
<b>Kistik fibrozis (CBAVD)</b>	0.5	3.0
<b>Diğerleri</b>	0.8	1.9

İnfertiliteyi sınıflandırmak için her iki partner de aynı anda araştırılmalıdır. Bunun yanında ürogenital anormallikler için anormal semen parametreleri olan erkekler de dahil olmak üzere fertilite sorunları olan tüm erkek hastalar ayrıntılı bir şekilde incelenmelidir.

### **2.2.1. Prognostik Faktörler ve Tanı değerlendirmesi - Genel Prensipler**

Erkek infertilitesi için prognostik faktörler aşağıdaki gibi sıralanabilir.

- İnfertilite süresi,
- Primer veya sekonder infertilite durumu,
- Sperm analizinin sonuçları,
- Kadın partnerin yaşı ve doğurganlık durumu.

İki yıllık takip ve infertilitenin birincil nedenlerinden olan oligospermili infertil çiftlerde kümülatif gebelik oranı %27'dir (32). Kadın faktörün yaşı, yardımcı üremede sonucu etkileyen en önemli tek değişkendir (33). 25 yaşında bir kadınla karşılaştırıldığında, 35 yaşında bir kadının doğurganlık potansiyeli % 50'ye, 38 yaşında %25'e ve 40 yaşından sonra %5'in altına düşer.

### 2.2.2. Tanısal Değerlendirme-Semen Analizi

Tıbbi öykü ve fizik muayene ile skrotal ultrasonografi ve semen analizi dahil olmak üzere tüm erkeklerde standart yapılması gereken değerlendirmelerdir. Semen analizi referans değerlerle karşılaştırıldığında anormallikler gösteriyorsa kapsamlı bir androlojik inceleme belirtilir (Tablo 2). Önemli tedavi kararları semen analizinin sonuçlarına dayanmaktadır, bu nedenle tüm laboratuvar çalışmasının standartlaştırılması önemlidir. Ejakülat analizi DSÖ tarafından standartlaştırılmıştır ve İnsan Semeninin İncelenmesi ve İşlenmesi için DSÖ Laboratuvar El Kitabının hazırlanmasıyla yayımlanmıştır (34). Modern spermatolojinin bu yönergelere uyması gerektiği konusunda fikir birliği vardır.

**Tablo-2:** WHO-2010-Normal spermiyogram özellikleri için referans aralıkları (EAU 2020 kılavuzu)

Parametreler	Alt referans limiti (aralık)
Semen volümü (mL)	1.5 (1.4-1.7)
Toplam sperm sayısı ( $10^6$ /ejakülat)	39 (33-46)
Sperm konsantrasyonu ( $10^6$ /mL)	15 (12-16)
Total motilite (PR + NP)	40 (38-42)
Progresif motilite (PR, %)	32 (31-34)
Canlılık (canlı spermatozoa, %)	58 (55-63)
Sperm morfolojisi (normal formlar, %)	4 (3.0-4.0)
Diğer konsensus eşiği değerleri	
pH	> 7.2
Peroksidaz pozitif lökositler ( $10^6$ /mL)	< 1.0
İsteğe bağlı araştırmalar	
MAR testi (bağlı parçacıklar ile motil spermatozoa %)	< 50
Immunobead (bağlı parçacıklar ile motil spermatozoa)	< 50
Seminal çinko ( $\mu$ mol/ejakülat)	$\geq$ 2.4
Seminal fruktoz ( $\mu$ mol/ejakülat)	$\geq$ 13
Seminal nötral gikozidaz (mU/ejakülat)	$\geq$ 20

Semen analiz sıklığı: Semen analizi sonuçları WHO kriterlerine göre normale, bir test yaptırmak yeterlidir. Ancak en az iki testte sonuçlar anormalse, daha fazla androlojik araştırma yapılması önerilir.

Aşağıdaki tanımlamaları birbirinden ayırmak önemlidir.

- **Oligozoospermi:** <15 milyon spermatozoa / mL;
- **Astenozoospermi:** <% 32 progresif motil spermler;
- **Teratozoospermi:** <% 4 normal formlar.

Genellikle, üç anomali de aynı anda ortaya çıkarsa, bu da oligo-asteno-teratozoospermi (OAT) sendromu olarak tanımlanır. Azospermide olduğu gibi, ağır oligozoospermi vakalarında (spermatozoa <1 milyon / mL), erkek genital yolunun obstrüksiyonu ve genetik anormalliklerde artış insidansı mevcuttur.

### **2.2.3. Erkek İnfertilitesine Neden Olan Etkenler**

#### **2.2.3.1. Primer Spermatojenik Bozukluk**

**Etyoloji:** Testiküler defektin nedenleri aşağıdaki tabloda özetlenmiştir (Tablo 3).

**Tablo-3:** Testiküler defekt nedenleri (EAU 2020 kılavuzu)

<b>Faktörler</b>	<b>Nedenler</b>
<b>Konjenital</b>	<b>Anorşi</b>
	<b>Testiküler disgenezi / kriptorşidizm</b>
	<b>Genetik anomaliler (karyotip, Y-kromozom delesyonları)</b>
<b>Kazanılmış</b>	<b>Travma</b>
	<b>Testiküler torsiyon</b>
	<b>Enflamatuar formlar, özellikle kabakulak orşiti</b>
	<b>Ekzojen faktörler (ilaçlar, sitotoksik veya anabolic ilaçlar, radyasyon vs.)</b>
	<b>Sistemik hastalıklar (karaciğer sirozu, böbrek yetmezliği)</b>
	<b>Testiküler tümörler</b>
	<b>Varikosel</b>
	<b>Testislerin vaskülarizasyonunu tehlikeye atabilecek, testiküler atrofiye yol açabilecek cerrahi</b>
<b>İdiyopatik</b>	<b>Bilinmeyen sebepler</b>
	<b>Bilinmeyen patojenler</b>

#### 2.2.3.1.1. Tanısal Değerlendirme

Rutin araştırmalar semen analizini ve serum hormonal değerlendirmeyi içerir. Bireysel duruma bağlı olarak başka araştırmalar da yapmak gerekebilir. Testiküler yetmezliği olan erkek infertil bir hastanın öyküsü ve fizik muayenesinde tipik bulgular şunlardır.

- Kriptorşidizm (tek veya çift taraflı),
- Testis torsiyonu ve travması,
- Genitoüriner enfeksiyon,
- Çevresel toksinlere maruz kalma,
- Gonadotoksik ilaç (anabolik ilaçlar, SSRI'lar (serotonin geri alım inhibitörleri), vb.),
- Radyasyona veya sitotoksik ajanlara maruz kalma,
- Testis maligniteleri,
- Testiküler agenezi,
- Anormal sekonder cinsel özellikler,
- Jinekomasti,
- Anormal testis hacmi ve / veya tutarlılığı,

- Varikosel.

#### **2.2.3.1.2. Semen Analizi**

Non-obstrüktif azospermide (NOA) , semen analizi santrifüjlendikten sonra normal ejakülat hacmi ve azospermiyi gösterir. Önerilen bir yöntem, 15 dakika boyunca 3000 devirde semen numunesinin santrifüjlenmesi ve pelletin x200 büyütmesinde faz kontrast optikleri ile kapsamlı bir mikroskopik incelenmesidir. Tüm numuneler mikroskopik olarak boyanabilir ve yeniden incelenebilir (34).

#### **2.2.3.1.3. Hormonal Değerlendirme**

Testiküler defekti olan erkeklerde, genellikle yüksek seviyelerde folikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH) ile düşük testosteron seviyelerini içeren veya içermeyen hipergonadotropik hipogonadizm durumu bulunur. Genellikle, FSH seviyeleri spermatogonia sayısı ile ilişkilidir. Ve spermatogonia olmadığında veya belirgin şekilde azaldığında, FSH değerleri genellikle yükselir. Spermatogonia sayısı normal olduğunda, ancak spermatosit veya spermatid seviyesinde olgunlaşma durması varsa (matürasyon arresti), FSH değerleri genellikle normal aralıktadır. Ancak, bireysel bir hasta için, FSH seviyeleri spermatogenez durumunu kesin bir şekilde doğru olarak tahmin edemeyebilir, çünkü matürasyon arresti histolojisine sahip infertil erkekler normal FSH ve testis hacmine sahip olmalarına rağmen azospermik olabilirler (35,36).

#### **2.2.3.1.4. Ultrasonografi**

Fizik muayeneye ek olarak, skrotal bir USG (ultrasonografi), genital traktta obstrüksiyon belirtilerini bulmaya yardımcı olabilir (örn. Rete testisin dilatasyonu, kistik lezyonlarla genişlemiş epididim, vas deferens agenezisi veya testiküler disgenezisi ve testiküler tümörler, homojen olmayan testis). Semen hacmi düşük olan ve distal obstrüksiyondan şüphelenilen hastalar için transrektal ultrason (TRUS) yapılması gereklidir (37).

#### **2.2.3.1.5. Testis Biyopsisi**

Testiküler biyopsi NOA'nın klinik kanıtlanmış tanısı olan erkek infertil hastalarda intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) tedavisinin bir parçası olabilir. Burada testiküler sperm

ekstraksiyonu (TESE) tercih edilen yöntemdir. Ancak testislerde spermatogenez fokal olabilir, ve bu durumda NOA'lı erkeklerin yaklaşık %50'sinde spermatozoanın bulunabileceği ve ICSI için kullanılabileceği akılda tutulmalıdır.

Tanısal biyopsi yardımıyla saptanan testiküler histoloji ile testiküler sperm alımı ve ICSI sırasında olgun sperm hücrelerini bulma ihtimali arasında anlamlı bir korelasyon vardır (38,39). Bununla birlikte FSH, inhibin-B veya testis hacmi ve başarılı sperm alımı için herhangi bir eşik değeri bulunmamıştır. Komplet AZFa ve AZFb mikrolezyonları olduğunda, sperm bulma olasılığı neredeyse sıfırdır ve bu nedenle TESE prosedürleri yapılmaz, kontrendikedir.

### **2.2.3.2. İnfertilitede Genetik Bozukluklar**

Androloji ile ilgilenen tüm ürologların, infertilite tedavisi alan çiftlere doğru tavsiyelerde bulunabilmeleri için infertilite ile ilişkili genetik anormallikler hakkında bilgileri olmalıdır. Çok düşük sperm sayısı olan erkeklerde ve azospermi durumunda in vitro fertilizasyon (IVF), ICSI ve testislerden sperm toplama kullanılarak başarılı bir fertilité şansı sunulabilir. Ancak, infertil erkeklerin spermatozoası, genetik anormalliklerin bir sonraki kuşağa aktarılma riskini taşıyan artmış bir anöploidi, yapısal kromozomal anormallikler veya sperm DNA hasarı taşıyabilir. Günümüzde mevcut olan rutin klinik uygulama, periferal kan örneklerinden genomik DNA'nın taranmasına dayanmaktadır, ancak spermatozoada kromozomal anomalilerin taranması da mümkündür ve seçilmiş vakalarda uygulanabilir (40).

#### **2.2.3.2.1. Kromozomal Anormallikler**

Kromozom anormallikleri sayısal (örn. Trizomi) veya yapısal olabilir (örneğin, inversiyonlar veya translokasyonlar). 9,766 infertil erkek de dahil olmak üzere on bir yayından toplanan verilerin bir araştırmasında kromozom anormallikleri insidansı %5.8 olarak saptanmış (41). Bunlardan cinsiyet kromozom anormallikleri %4,2 ve otozomal anormallikler ise %1,5 idi. Karşılaştırıldığında, üç seriden toplanan verilerde anormallik insidansı % 0.38 olup, toplam 94.465 yeni doğan erkek bebek, 131'i (% 0.14) seks kromozom anomalili ve 232 (% 0.25) otozomal anormalili olarak saptandı (41). Testiküler defekt daha şiddetli hale geldiğinde kromozomal anormalliklerin de sıklığı artmaktadır. Spermatozoa sayısı <5 milyon/mL olan hastalar, genel popülasyona kıyasla esas olarak otozomal yapısal anormalliklerin on kat daha yüksek insidansını (%4) göstermektedir (42,43). NOA'lı erkekler ise, özellikle seks kromozomal

anomalileri için en yüksek risk altında olan popülasyonu oluşturur. Farklı sperm konsantrasyonu olan hastalarda kromozomal anormalliklerin sıklığına dayanarak, azospermi veya oligozoospermisi (spermatozoa <10 milyon / mL) olan erkeklerde karyotip analizi endikedir (43). Bu geniş seçim kriteri nispeten düşük özgüllük anlamına gelir. Ancak kromozomal anormalliklere bağlı advers olayların (örn. düşükler ve konjenital anomalisi olan çocuklar) maliyetlerinin dahil edildiği maliyet etkinliğini değerlendiren çalışmalara kadar geçerli bir eşik kalır (44). Ailede tekrarlayan spontan düşük, malformasyon veya mental retardasyon öyküsü varsa, sperm konsantrasyonundan bağımsız olarak mutlaka karyotip analizi istenmelidir.

#### **2.2.3.2.2. Cinsiyet Kromozom Anormallikleri (Klinefelter Sendromu Ve Varyantları [47, Xxy; 46, Xy / 47, Xxy Mozaizmi])**

Klinefelter sendromu, en sık görülen cinsiyet kromozom anomalisidir (45). Klinefelter sendromlu yetişkin erkeklerde germ hücrelerinden yoksun atrofik, sert testisler bulunur. Fenotipleri, normal olarak virilize olmuş bir erkekten çok, kadın cinsiyeti andıran tüy dağılımı, yetersiz vücut kılları ve geç epifiz kapanması nedeniyle uzun kollar ve bacaklar dahil olmak üzere androjen eksikliğine bağlı görünüm mevcuttur.

Leydig hücre fonksiyonu, Klinefelter sendromu olan erkeklerde sıklıkla bozulmaktadır (46). Testosteron seviyeleri normal veya düşük, östradiol seviyeleri normal veya yüksek olabilir, ancak FSH seviyeleri yüksektir. Düşük testosteron seviyelerine rağmen libido genellikle normaldir, ancak bu hastalar yaşlandıkça androjen replasman tedavisine ihtiyaç duyulabilir.

Azospermili hastalarda, TESE veya mikro-TESE, terapötik bir seçenek olarak önerilebilir, çünkü spermatozoa, vakaların yaklaşık %50'sinde bulunabilmektedir (47). TESE veya mikro-TESE'nin daha genç yaşta yapıldığında daha yüksek sperm geri kazanım oranları verdiğine dair artan kanıtlar vardır.

#### **2.2.3.2.3. Sperm Kromozomal Anormallikleri**

Sperm örnekleri, hem normal karyotipli hem de anomalili infertil erkeklerde çok renkli FISH tekniği kullanılarak kromozomal yapıları açısından incelenebilir. Spermde izlenen anöploid, özellikle cinsiyet kromozomu anöploidileri, spermatogenezde ciddi hasar (41,48,49) ve

translokasyonlarla ilişkili olabilir (50). Spermatozoanın FISH analizi sadece makrosefali gibi spesifik androloji koşulları için endikedir.

#### **2.2.3.2.4. Genetik Bozukluklar**

X'e bağlı genetik bozukluklar ve erkek fertilitesi: Her erkeğin sadece bir adet X kromozomu vardır. X'e bağlı resesif bozukluklar erkeklerde kendini gösterir. Bozukluklar kız cinsiyete aktarılırken, erkek cinsiyetlere aktarılmayacaktır.

##### **2.2.3.2.4.1. Kallmann Sendromu**

Kallmann sendromu olan hastalarda hipogonadotropik hipogonadizm ve anozmi vardır; ancak yüz asimetrisi, yarı damak, renk körlüğü, sağırılık, inmemiş testis ve tek taraflı böbrek aplazisi gibi diğer klinik özelliklere de sahip olabilir (49,50). Bu sendrom, X kromozomundaki Kalig-1 genindeki veya diğer birkaç otozomal gendeki mutasyona bağlı olabilir ve test edilmelidir. Bu hastalarda spermatogenez hormonal tedavi ile nispeten kolayca indüklenebilir (51).

##### **2.2.3.2.4.2. Y Kromozomu Ve Erkek İnfertilitesi**

Y kromozomundaki mikrolelesyonlar AZFa, AZFb ve AZFc olarak adlandırılır (52). Klinik olarak anlamlı delesyon işlemleri AZF bölgelerinin bir kısmını veya daha fazlasını kısmen veya tamamen etkiler. Ve ciddi oligozoospermi ve azosperminin en sık görülen moleküler genetik nedenidir (53).

Y kromozom mikrolelesyonlarının klinik etkileri.

Yq mikrolelesyonlarının klinik önemi aşağıdaki gibi özetlenebilir.

- Normozoospermik erkeklerde bulunmazlar, Y-delesyonları ve spermatojenik başarısızlık arasında açık bir neden-sonuç ilişkisi olduğunu kanıtlarlar (54).
- En yüksek Y delesyon sıklığı azospermik erkeklerde (% 8-12), daha sonra oligozoospermik (% 3-7) erkeklerde bulunur.
- Delesyon işlemleri sperm konsantrasyonu >5 milyon/mL olduğunda oldukça nadirdir (yaklaşık ~0.7%).

- AZFc delesyonları en yaygın görülenidir (% 65-70), ardından AZFb ve AZFb+c veya AZFa+b+c bölgelerinin Y delesyonları gelir (% 25-30). AZFa bölgesi delesyonları ise nadirdir (% 5).

- AZFa bölgesinin komplet delesyonu ciddi testiküler fenotip (Only Sertoli cell sendromu) ile ilişkiliyken, AZFb bölgesinin komplet delesyonu spermatojenik arrest ile ilişkilidir. AZFc bölgesinin komplet delesyonu ise, azospermiden oligozoospermiye kadar değişken bir fenotipe neden olur.

- Klasik (komplet) AZF delesyon işlemleri kriptorşidizm veya testis kanseri için bir risk oluşturmaz (55).

#### **2.2.3.2.4.3. Y Mikrodelesyon Testi**

AZF gen delesyon taraması için endikasyonlar sperm sayısına dayanır ve azospermi ile ciddi oligozoospermiyi (spermatozoa sayısı <5 milyon / mL) içerir. EAA (European Academy of Andrology) kılavuzları, klinik olarak ilgili delesyon işlemlerinin %95'inden fazlasını tespit edebilen bir dizi primer sağlar (56).

#### **2.2.3.2.4.4. AZF Delesyonlarında Genetik Danışmanlık**

Gebe kalındıktan sonra, herhangi bir Y delesyonu erkek çocuklara aktarılır ve bu nedenle genetik danışmanlık zorunlu hale gelir. Çoğu olguda, baba ve oğul aynı mikrodelesyona sahiptir (56), ancak bazen oğul daha geniş bir delesyona sahip olabilir. Spermatojenik başarısızlığın derecesi, farklı genetik arka plan ve üreme fonksiyonu için potansiyel toksisiteye sahip olabilen çevresel faktörlerin etkileri nedeniyle tamamen oğulda tahmin edilemez. Komplet AZFc delesyonu olan erkeklerin önemli bir kısmında spermatozoa, cinsiyet kromozomları için nullizomiktir (57) ve herhangi bir embriyo için 45, X0 Turner sendromu ve ambigus genitale organlar da dahil olmak üzere seks kromozom mozaikliği ile ilişkili diğer fenotipik anomaliler için potansiyel bir risk olduğunu gösterir (58). Bu teorik riske rağmen Yq mikrodelesyonlarından etkilenen erkeklerden doğan bebekler genellikle fenotipik olarak normaldir (56). Bu, azalmış implantasyon oranları ve 45,X0 karyotip taşıyan embriyoların kendiliğinden abortus olma riskinden kaynaklanıyor olabilir. ICSI bir Y mikrodelesyonu varlığında kullanıldığında, herhangi bir erkek çocuğun doğurganlık durumları açısından uzun süreli takibine ihtiyaç duyulmaktadır ve genç yaşta bu bireyden spermatozoanın kriyoprezervasyonu düşünülebilir.

### **2.2.3.3. Obstrüktif Azospermi**

Obstrüktif azospermi, semende spermatozoa ve spermatogenetik hücrelerin olmamasıyla birlikte, obstrüksiyona bağlı postejakülat idrarda da spermatozoa bulunmamasıdır. OA, NOA'dan daha az yaygındır ve azospermili erkeklerin yaklaşık %15-20'sinde görülür. OA'lı erkekler normal FSH, normal boyutta testisler ve epididimal dilatasyon ile başvururlar. Bazen vas deferens izlenmeyebilir (Vas Deferens'in, CBAVD veya Konjenital Tek Taraflı Yokluğu). Primer infertil erkeklerde obstrüksiyon sıklıkla epididimal düzeyde bulunur.

#### **2.2.3.3.1. Sınıflandırma**

##### **2.2.3.3.1.1. İntratestiküler Obstrüksiyon**

İntratestiküler obstrüksiyon OA olan erkeklerin %15'inde görülür (59). Konjenital formları, edinilmiş formlardan daha az yaygındır (enflamatuvar veya travma sonrası gibi).

##### **2.2.3.3.1.2. Epididimal Obstrüksiyon**

Epididimal obstrüksiyon, azospermik erkeklerin %30-67'sini etkileyen ve OA'nın en yaygın nedenidir (60). Konjenital epididimal obstrüksiyon genellikle vakaların %82'sinde CF geninin en az bir mutasyonu ile ilişkili olan CBAVD olarak ortaya çıkar (61). Konjenital epididimal obstrüksiyon formları arasında kronik sinopulmoner enfeksiyonlar bulunur (Young sendromu) (62). Akut (örneğin gonokokal) ve subklinik (örn., Klamidyal) epididimite ikincil olarak edinilmiş formlar en yaygın olanıdır (63). Diğer nedenler travma veya cerrahi müdahale olabilir (64).

##### **2.2.3.3.1.3. Vas Deferens Obstrüksiyonu**

Vas deferens tıkanıklığı vazektomi sonrası edinilen obstrüksiyonun en yaygın nedenidir (65). Bu erkeklerin yaklaşık % 2-6'sı vazektominin tersine çevrilmesini talep etmektedir. Aynı zamanda fitik onarımı sonrası da vasal obstrüksiyon görülebilir (66). En sık görülen konjenital vasal obstrüksiyon CF eşliğinde görülen CBAVD'dir. Tek taraflı agenezis veya kısmi defekt, sırasıyla % 80 ve % 26'sında kontralateral seminal kanal anomalileri veya renal agenezi ile ilişkilidir (67).

#### **2.2.3.3.1.4. Ejakülatuar Duktus Obstrüksiyonu**

Ejakülatuar kanal tıkanıklığı OA vakalarının %1-3'ünde bulunur ve kistik veya postenflamatuvar olarak sınıflandırılır. Kistik tıkanıklıklar genellikle konjenitaldir (yani, Mulleran kanal kisti veya ürogenital sinüs / ejakülatör kanal kistleri) ve tipik olarak orta hat yerleşimlidirler. Ürogenital sinüs anormalliklerinde ejakülatör kanallardan biri veya her ikisi kiste boşalır, Mullerian kanal anomalilerinde ejakülatör kanallar kist tarafından lateral olarak yer değiştirir ve sıkıştırılır (68). Paramedyan veya lateral intraprostatik kistler nadirdir [69]. Ejakülatuar kanalın enflamasyon sonrası tıkanıklıkları genellikle üretroprostatite sekonderdir (70). Ejakülatör kanalların konjenital veya edinilmiş komplet tıkanmaları genellikle düşük semen hacmi, azalmış veya olmayan seminal fruktoz ve asidik pH ile ilişkilidir. Seminal veziküller genellikle dilatedir (ön-arka çap >15 mm) (71).

#### **2.2.3.3.1.5. Distal Seminal Kanalların Fonksiyonel Obstrüksiyonu**

Distal seminal kanalların fonksiyonel obstrüksiyonu lokal nöropatiye bağlı olabilir (72). Bu anormallik genellikle ürodinamik işlev bozukluğu ile ilişkilidir. Bozulmuş sperm transportu idiyopatik veya seçici serotonin geri alım inhibitörü (SSRI) kullanımı ile de ilişkili olabilir.

#### **2.2.3.3.2. Tanısal Değerlendirme**

**Klinik geçmiş:** Klinik öykü alımı infertil erkeklerde fizik muayene ve tanı değerlendirmesini takip etmelidir.

##### **2.2.3.3.2.1. Klinik Muayene**

Klinik muayene infertil erkeklerin tanısal değerlendirmesi için önerileri takip etmelidir. OA, >15 mL'lik bir hacme sahip en az bir testis ile gösterilir, ancak bazı hastalarda daha küçük bir testis hacmi de bulunabilir:

- OA ve eşlik eden kısmi testis yetmezliği,
- Dilate epididim,
- Epididim veya vas deferens içindeki nodüller,
- Vaz agenezisi veya kısmi atrezisi.

#### **2.2.3.3.2.2. Semen analizi**

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, iki ila üç aylık bir aralıkta en az iki spermiyogram incelemesi yapılmalıdır. Azospermi, x400 büyütmede santrifüjlemeden sonra spermatozoanın saptanamaması anlamına gelir. Semen hacmi düşük olduğunda, ejakülasyon sonrası idrarda spermatozoa aranmalıdır. Semen smearlarda spermatozoa ve olgunlaşmamış germ hücrelerinin olmaması, komplet seminal kanal obstrüksiyonunu gösterir.

#### **2.2.3.3.2.3. Hormon seviyeleri**

Serum FSH seviyeleri normal saptanırken, azosperminin olası testiküler nedenleri dışlanmamalıdır. Primer spermatogenik yetmezliği olan erkeklerin %40'ında FSH seviyesi normaldir. İnhibin B'nin normal spermatogenezis için daha yüksek bir prediktif değeri olduğu görülmektedir (60).

#### **2.2.3.3.2.4. Testis biyopsisi**

Seçilen vakalarda testiküler biyopsinin spermatojenik yetmezliği dışladığı gösterilmiştir. Testiküler biyopsi, kriyoprezervasyon için testiküler spermatozoanın (yani TESE) ekstraksiyonu ile birleştirilmelidir.

#### **2.2.3.3.3. Hastalık Yönetimi**

##### **2.2.3.3.3.1. İntratestiküler Obstrüksiyon**

Bu hastalarda sadece TESE ile sperm alımı gerçekleşir ki bu nedenle önerilmektedir.

##### **2.2.3.3.3.2. Epididimal Tıkanıklık**

CBAVD olan erkeklerde mikrocerrahi epididimal sperm aspirasyonu (MESA) (73) endikedir. TESE ve PESA (perkütan epididimal sperm aspirasyonu) da uygulanabilir seçeneklerdir (74). Genellikle bir MESA prosedürü birkaç ICSI çevrimi için yeterli materyal sağlar (75). Ve yüksek gebelik ve fertilizasyon oranları ile sonuçlanır (76).

#### 2.2.3.4. Varikosel

Varikosel, aşağıdaki androlojik durumlarla ilişkili olabilecek yaygın bir genital anormalliktir.

- İpsilateral testis büyümesi ve gelişiminin başarısızlığı,
- Ağrı ve rahatsızlık belirtileri,
- Erkek infertilitesi,
- Hipogonadizm.

##### 2.2.3.4.1. Sınıflandırma

Aşağıdaki varikosel sınıflandırması klinik uygulamada yararlıdır.

- **Subklinik:** İstirahatte veya valsava manevrası sırasında palpe edilemez veya görünemez, ancak özel testler gösterilebilir (Doppler ultrasonografi çalışmaları ile).
- **Derece 1:** Valsava manevrası sırasında palpe edilebilir, ancak başka şekilde farkedilmez.
- **Derece 2:** İstirahatte palpe edilebilir, ancak görülemez.
- **Derece 3:** İstirahatte görünür ve palpe edilebilir.

##### 2.2.3.4.2. Tanısal Değerlendirme

Varikosel tanısı klinik muayene ile konur ve renkli Doppler USG analizi ile konfirme edilmelidir (1). Tedavinin antegrad veya retrograd skleroterapi veya embolizasyon ile yapıldığı merkezlerde, teşhis ayrıca röntgen ile de doğrulanabilir.

##### 2.2.3.4.3. Temel İlkeler

###### 2.2.3.4.3.1. Varikosel ve Fertilite

Varikosel, yetişkin erkek popülasyonunun %11.7'sinde ve anormal semen analizi olan erkeklerin de yaklaşık %25.4'ünde bulunan fiziksel bir anormalliktir (77). Erkek fertilitésinin azalması ile varikosel arasındaki kesin ilişki bilinmemektedir, ancak yakın zamanda yapılan bir

metaanaliz, genellikle cerrahi düzeltmeden sonra meni iyileşmesinin gözlemlendiğini göstermiştir (78). Ayrıca varikosektomi sperm DNA hasarını da tersine çevirebilir (79).

#### **2.2.3.4.3.2. Varikosektomi**

Varikozel onarımı onlarca yıldır tartışma konusudur. Sadece klinik varikozeli olan erkeklerde yapılan randomize kontrollü ve gözlemsel çalışmaların bir meta analizi, cerrahi varikosektominin, non-obstrüktif azospermili erkekler de dahil olmak üzere anormal semen parametreleri olan erkeklerde semen parametrelerini önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermiştir (80).

Yapılan randomize kontrollü çalışmalarda subklinik varikozeli olan erkeklerde varikozel onarımının spontan gebelik şansını artırmada etkisiz olduğu bulunmuştur (81). Ayrıca, esas olarak normal semen parametreleri olan varikozelli erkekleri içeren randomize çalışmalarda, takip-gözlem yerine tedavi edilmeleri lehine herhangi bir fayda bulunamamıştır.

Klinik varikozel, oligospermi ve başka türlü açıklanamayan infertilitesi olan erkeklerde tedaviyi gözlemlerle karşılaştıran beş çalışmanın alt grup analizlerinde, analizler 2.39 birleşik oran (odd ratio) ile tedaviyi desteklemiştir (82). Son zamanlarda yapılan bir meta-analizde, varikosektominin oligozoospermik erkeklerde ART (assisted reproductive techniques-yardımcı üreme teknikleri) sonrası sonuçları iyileştirebileceğini bildirmiştir.

#### **2.2.3.4.3.3. Hastalık Yönetimi**

Varikozel için çeşitli tedavi teknikleri mevcuttur (Tablo 4). Mevcut kanıtlar mikrocerrahi varikosektominin farklı varikosektomi teknikleri arasında en etkili yöntem olduğunu göstermektedir (83). Mikrocerrahi onarım diğer tekniklere göre daha az komplikasyon ve daha düşük nüks oranları ile sonuçlanır. Ancak bu prosedür ciddi bir mikrocerrahi eğitimi gerektirir. Nüks ve hidrosel gibi komplikasyonların meydana gelme olasılığı daha yüksek olmasına rağmen, diğer bazı teknikler hala uygulanabilir seçenekler olarak kabul edilmektedir.

**Tablo-4:** Varikozel tedavileri ile ilişkili nüks ve komplikasyon oranları (EAU 2020 kılavuzu)

Tedavi	Rekürrens/ persistans %	Komplikasyon oranları
Antegrad skleroterapi	9	Komplikasyon oranı %0.3-2.2:testiküler atrofi,scrotal hematoma,epididimit,sol yan eritem
Retrograd skleroterapi	9.8	Kontrast madde reaksiyonu, yan ağrısı,kalıcı tromboflebit,vasküler perforasyon
Retrograd embolizasyon	3.8-10	Tromboflebit,kanama hematoma,enfeksiyon,venöz perforasyon,hidroset,redayolojik komplikasyon(örn:kontrast maddeye reaksiyon),coil'lerin yanlış yer değiştirmesi veya migrasyonu,retroperitoneal kanama,fibroz,ureter tıkanıklığına bağlı ağrı
<b>Açık cerrahi</b>		
Scrotal cerrahi	-	Testiküler atrofi,devaskularizasyon riski olan arteriyel hasar ve testiküler kangren, skrotal hematoma, postoperatif hidroset
İnguinal yaklaşım	13.3	Testis damarının bir dalını kaçırma olasılığı
Yüksek ligasyon	29	% 5-10 hidroset insidansı (< 1%).
Mikrocerrahi inguinal veya subinguinal	0.8-4	Postop hidroset, arter yaralanması,scrotal hematoma
Laparoskopik	3-7	Testis arteri ve lenf damarlarında yaralanma;bağırsak, vasküler ve sinir hasarı; pulmoner emboli; peritonit;kanama;sağ omuzda postop ağrı;pnömoskrotum; yara enfeksiyonu

### 2.2.3.5. Hipogonadizm

Hipogonadizm genel olarak spermatogenez ve/veya testosteron sentezini etkileyebilecek bozulmuş testis fonksiyonu ile karakterizedir. Hipogonadizm belirtileri androjen eksikliğinin derecesine ve bu durumun sekonder seks karakterlerinin pubertal gelişiminden önce veya sonra gelişip gelişmediğine bağlıdır.

#### 2.2.3.5.1. Epidemiyoloji Ve Etiyoloji

Erkek hipogonadizminin etiyolojik ve patogenetik mekanizmaları üç ana kategoride incelenebilir:

- Testiküler yetmezliğe bağlı primer (hipergonadotropik) hipogonadizm.
- Yetersiz gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) ve/veya gonadotropinlerin (FSH, LH) salgılanmasının neden olduğu ikincil (hipogonadotropik) hipogonadizm.
- Androjen duyarsızlığı (son organ direnci).

Bu üç kategorideki en yaygın sebepler aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 5).

**Tablo-5:** Erkek hipogonadizmiyle ilişkili bozukluklar (84)

<b>Primer (hipergonadotropik) hipogonadizm (testiküler yetmezlik)</b>
Anorşi
İnmemiş testis
Klinefelter sendromu
Y-kromozom mikrolelesyonu
Sayısal ve yapısal kromozomal anomaliler
Travma, testiküler torsiyon, orşit
İyatrojenik (cerrahi, ilaçlar, radyasyon veya sitostatik ilaçlar)
Ekzojen faktörler (toksinler, ısı veya mesleki tehlikeler)
Sistemik hastalıklar (karaciğer sirozu veya böbrek yetmezliği)
Testiküler tümörler
Varikosel
İdiyopatik (örn: geç başlangıçlı hipogonadizm)
<b>Sekonder (hipogonadotropik) hipogonadizm (sekonder testiküler yetmezlik)</b>
Konjenital
İdiyopatik hipogonadotropik hipogonadizm
Normosmic
Hiposmik / anosmik (Kallman sendromu)
Edinilmiş (aşağıdaki bölgelerdeki tümörler)
Diensefalon (kraniyofarenjiyom veya meningioma)
Hipotalamus veya hipofiz
Empty sella sendromu
Granülatöz hastalıklar
Kafatası tabanı kırıkları
Hipotalamik bölgede iskemik veya hemorajik lezyonlar
Hiperprolaktinemi
İlaçlar/anabolik steroidler, radyoterapi
Hedef organ androjen direnci
Testiküler feminizasyon
Reifenstein sendromu

### **2.2.3.5.2. İdiyopatik Hipogonadotropik Hipogonadizm: Etiyoloji, Tanı Ve Tedavi Yönetimi**

İdiyopatik hipogonadotropik hipogonadizm, hipotalamik-hipofizer-gonadal aksın anatomik veya fonksiyonel anormallikleri olmadan düşük gonadotropin ve seks steroid seviyeleri ile karakterizedir (85). İdiyopatik hipogonadotropik hipogonadizm izole edilmiş bir durum olabilir veya anozmi / hipozmi ile ilişkili de olabilir (Kallmann sendromu). Gonadotropin eksikliğine neden olan genetik faktörler hipotalamik veya hipofiz seviyesinde rol alabilir. Aday genlerdeki mutasyonlar (X'e bağlı veya otozomal) konjenital vakaların yaklaşık ~%30'u olup (86) yardımcı üreme tedavileri öncesinde taranmalıdır. Edinilmiş hipogonadotropik hipogonadizme çeşitli ilaçlar, hormonlar, anabolik steroidler veya tümörler de neden olabilir. Bununla birlikte, sperm üretiminin uyarılması, rekombinant FSH ile kombine edilmiş hCG (human chorionic gonadotropin), idrar son derece saflaştırılmış FSH veya HMG (human menopausal gonadotropins) ile tedavi gerektirir (87). Hipogonadotropik hipogonadizm başlangıçta hipotalamik ise, hCG tedavisine bir alternatif tedavi pulsatil GnRH'dir (88).

### **2.2.3.5.3. Hipergonadotropik Hipogonadizm: Etiyoloji, Tanı Ve Tedavi Yönetimi**

Testiküler yetmezliği olan erkeklerde birçok durum hipergonadotropik hipogonadizm ile ilişkilidir (Tablo-5). Tablo'da listelenen sebeplerin çoğu sadece testislerin üreme fonksiyonunu etkiler, böylece serum FSH seviyesi yükselir. Bununla birlikte, infertilitesi olan erkeklerin Leydig hücre fonksiyon bozukluğu geliştirme riski daha yüksek olduğu bildirilirken (89), Klinefelter sendromlu erkekler genellikle yüksek LH değerleri gösterir ve yaşlanma ile hipoandrojenizm belirtileri geliştirir (90).

Hipergonadotropik hipogonadizmin laboratuvar tanısı, yüksek düzeyde FSH, azalmış serum testosteron ve artmış LH seviyelerine dayanır (86). Testosteron düzeyleri, seks hormonu bağlayıcı globülinin (SHBG) serum konsantrasyonu dikkate alınarak değerlendirilmelidir. Toplam testosteron, albümin ve SHBG seviyelerine göre serbest ve biyoyararlanabilen testosteron hesaplanabilir. Diurnal varyasyon nedeniyle, testosteron değerlendirmesi için kan örnekleri sabah saat 10.00'dan önce alınmalıdır.

Genellikle, ebeveynliği düşünen çiftlere veya erkek infertilitesi durumunda androjen replasman tedavisi verilmemelidir. Testosteron, LH ve FSH'nin hipofiz üretimini baskılar, bu

nedenle infertilite için replasman tedavisi verilmemelidir. Obez erkeklerde, testosteronun aromataz enzimi tarafından östradiole dönüştürülmesi nedeniyle testosteron seviyeleri düşük bulunabilir (91). Anti-östrojenler ve aromataz inhibitörleri, bu hastalarda FSH ve LH'yi yükseltebilir ve kilo vermenin yanında potansiyel olarak sperm kalitesini artırabilirler.

#### **2.2.3.5.4. İdiyopatik Erkek İnfertilitesi**

İnfertil erkeklerin en az % 44'ünde belirgin bir infertilite nedeni bulunamamıştır (92).

##### **2.2.3.5.4.1. Hastalık Yönetimi, Ampirik Tedaviler**

İdiyopatik erkek infertilitesi olan hastalarda yaşam tarzı değişikliği düşünülmelidir (93,94). İdiyopatik erkek infertilitesinin çok çeşitli ampirik ilaç tedavileri kullanılmıştır, ancak ampirik bir yaklaşım için çok az bilimsel kanıt vardır (93). Klomifen sitrat ve tamoksifen idiyopatik OAT'de yaygın olarak kullanılmaktadır: bir meta-analiz sperm kalitesinde ve spontan gebelik oranlarında bir miktar iyileşme rapor etmiştir (95). Androjenler, bromokriptin,  $\alpha$ -blokerler, sistemik kortikosteroidler ve magnezyum takviyesi, OAT sendromunun tedavisinde etkili değildir. Gonadotropinler (HMG / rFSH / hpFSH), idiyopatik erkek faktörü doğurganlığında gebelik oranları ve canlı doğum açısından faydalı olsa da, yüksek bias eğilimi ve heterojenlik riski göz önüne alındığında kullanımları dikkatli olmalıdır (96).

Oral antioksidan alan erkekler, Cochrane analizinde IVF hastalarında sperm parametrelerinde (97) ve canlı doğum oranlarında anlamlı bir artış göstermiştir (98). Doğal gebelik konusunda antioksidanların rolü daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyar.

### **2.3. İnsan Semen Analizi**

Semen analizi, bir erkeğin fertilité potansiyelinin tespit edilmesindeki en önemli parametrelerden birisidir. İnfertilite şikayeti ile başvuran bir erkeğin değerlendirilmesinde, semenin laboratuvar şartlarında uygun şekilde incelenmesinin, önemli bir rolü vardır. Ancak, azoospermi olması durumunda, semen analizinin, hastaların fertil ya da infertil olduğunu ayırt etmesi başarısız hale gelmektedir. Semen analizi ile, spermatozoanın, seminal plazmanın ve sperm dışı hücrelerin özellikleri gibi birçok parametre değerlendirilebilir. Ejakülasyon esnasında semen, spermatozoanın konsantre süspansiyonundan meydana getirilir, iki epididimde depolanır, aksesuar

cinsel organlardan gelen sıvı salgılarıyla karışır ve seyreltilmiş olur. Semen genellikle birkaç bolus şeklinde vücut dışına atılır. Vazektomi öncesi ve sonrası semen hacimlerinin karşılaştırılması, semen volümünün yaklaşık %90'ının aksesuar bezlerden (99), esas olarak prostat ve seminal veziküllerden, az miktarlarda da bulbouretral bezler (Cowper bezi) ve epididimlerden gelen salgılardan oluştuğunu göstermektedir.

Semen numunesi başlıca ölçülebilir iki özelliğe sahiptir.

- Total spermatozoa sayısı. Testislerden sperm üretimi ve post-testiküler duktal sisteminin açık olduğunu gösterir.

- Farklı aksesuar bezler tarafından katkı sağlanan toplam sıvı hacmi: Bezlerin salgılama aktivitesini gösterir.

Spermatozoanın vitalite, motilite, morfoloji gibi özellikleri ve seminal sıvının bileşimi de sperm fonksiyonu için önem arz eder. Cinsel birleşme sırasında ejakülatın ilk kısmını oluşturan spermden zengin prostat fraksiyonu, vajinaya doğru yayılan servikal mukusla temas ederken (100), sıvının geri kalan kısmı vajinada bir havuz halinde yer edinir.

### **2.3.1. Numune Toplama**

- Semen ortam sıcaklığındaki değişikliklere maruziyetini azaltmak, numunenin alınmasıyla analizi arasındaki zamanı kontrol etmek amacıyla numunenin laboratuvarın yakınındaki özel bir ortamda verilmesi önerilir.

- Numune en az iki, en çok yedi günlük cinsel perhizden sonra verilmelidir.

### **2.3.2. İlk Makroskobik İnceleme**

Semen analizi, likefaksiyondan hemen sonra basit inspeksiyonla başlamalıdır. Dehidratasyon veya ısı değişikliğinin semen kalitesini olumsuz yönde etkilemesinden kaçınmak için, ejakülasyondan sonra tercihen 30 dakika, en fazla bir saat içinde analiz yapılmalıdır (Tablo 6).

**Tablo-6:** Semen analizinin makroskopik değerlendirmesi (Campbell-Walsh Üroloji, 10.baskı)

PARAMETRELER	NORMAL DEğERLER	PROBLEM	KLİNİK ANLAMI
pH	7,8	Asidik: <6.5-7	Düşük hacim ve koagüle olmaması da eşlik ediyorsa konjenital bilateral vaz deferens agenezisi
Koagülasyon / likefaksiyon	Oda sıcaklığında 20 dk da koagüle ve likefiye olur	Koagülasyon olmaması Uzamış likefaksiyon	Konjenital seminal vzeikül agenezisi Azalmış prostat sekresyonu
Renk	Beyaz gri, inci beyazı	Sarı renk Kırmızı kahverengi	Sarılık,ilaçlar,karotonemi Üretral kanamaya sekonder hematospermi, tümörler, inflamasyon
Viskozite	4 mm uzayabilir	>6mm Uzama yok	Düşük motilite eşlik ediyorsa önemli
Hacim	2-4 ml	0 (aspermi) <2ml (hipospermi) >4ml	Retrograd ejakülasyon Yanlış örnek alımı, parsiyel retrograd ejakülasyon,kısa seksüel abtinens süresi Uzun seksüel abtinens süresi

### **2.3.3. Semen Likefaksiyonu**

Toplama kabına ejakülasyonun hemen ardından sperm numunesi, oda sıcaklığında birkaç dakika içinde genellikle likefaksiyona uğramaya başlar. Likefaksiyon devam ederken semen daha homojen ve neredeyse su gibi bir hal alır. Numunenin tümü oda sıcaklığında genellikle 15 dakika içinde likefiye olur, bu durum nadiren 60 dakika veya daha uzun zaman alabilmektedir.

### **2.3.4. Semen Viskozitesi**

Likefaksiyondan sonra semen, dikkatlice, geniş kalibreli (yaklaşık 1,5 mm çapında) tek kullanımlık plastik pipet içinden aspire edilerek, yerçekimiyle damlamaya bırakıldığında oluşan iplikçığı gözleyerek, numunenin viskozitesi tahmin edilebilir. Normal semen pipetten belirgin küçük damlalar şeklinde düşerken, viskozite anormal ise damla 2 cm'den uzun iplikçikler oluşturarak belirti verir.

### **2.3.5. Ejakülataın Görünümü**

Normal likefiye olmuş semen numunesi homojen, gri-opalesan bir görünüme sahiptir. Sperm yoğunluğu çok düşükse, daha az opak bir görünüm alabilir; rengi de farklılaşabilir: örn: eritrositler mevcutsa (hemospermi) kırmızı-kahverengi veya hasta ikterikse veya bazı vitaminler veya ilaçlar alıyorsa sarı renk olabilir.

### **2.3.6. Semen Hacmi**

Ejakülat hacmine başlıca katkı seminal veziküller ve prostat glandından, daha az miktarda ise bulbouretral bezler ve epididimlerden üretilir. Hacmin doğru saptanması, semenin her türlü değerlendirmesi için kritiktir. Semen hacminin alt referans sınırı 1,5 ml'dir. Düşük semen hacmi; ejakülatör kanallarda obstrüksiyonun veya seminal veziküllerin de yeterince gelişmediği bir durum olan doğumsal bilateral vaz deferens agenezisinin karakteristik bir belirtisidir (101,102) (Tablo 7).

**Tablo-7:** Semen analizi için en düşük referans değerler (5.persentil ve %95 güvenlik aralıkları) (WHO,2010)

<b>PARAMATRELER</b>	<b>EN DÜŞÜK REFERANS DEĞER</b>
Semen volümü (ml)	1.5 (1.4-1.7)
Total sperm sayısı ( $10^6$ )	39 (33-46)
Sperm konsantrasyonu ( $10^6$ /ml)	15 (12-16)
Total motilite (PR+NP, %)	40 (38-42)
Progressive motilite (PR, %)	32 (31-34)
Vitalite (canlı sperm, %)	58 (55-63)
Sperm morfolojisi (normal formlar, %)	4 (3.0-4.0)
pH	>7,2
Peroksidaz-pozitif lökosit ( $10^6$ per ml)	<1,0
MAR testi (%)	<50
Immunobead testi (%)	<50
Seminal çinko ( $\mu$ mol/ejakülat)	>2,4
Seminal früktoz ( $\mu$ mol/ejakülat)	>13
Seminal nötral glikozidaz (mU/ejakülat)	>20

### 2.3.7. Semen pH'sı

Semen pH'sı, başlıca alkalin seminal vezikül salgısıyla, asidik prostat salgısı olan farklı aksesuar bez salgılarının pH değerleri arasındaki dengeyi temsil eder. pH, likefaksiyondan sonra sabit bir sürede, tercihen 30 dakika geçtikten sonra ölçülmelidir. Fertil erkeklerin seminal pH'sına ait halen az sayıda referans değer bulunmasına rağmen alt eşik için uzlaşma değeri 7,2'dir. Düşük hacim ve sperm sayılı bir semen numunesinin pH'sı 7,0'dan daha düşükse; ejakülatör kanal obstrüksiyonu veya seminal veziküllerin de yeterince gelişemediği bir durum olan doğumsal bilateral vaz deferens agenezisi izlenebilir (101,102).

### 2.3.8. İlk Mikroskopik İnceleme

Taze semen numunesinin boyanmamış preparatlarının incelenmesi için, bir faz kontrast mikroskobu kullanılması tavsiye edilir. Numunenin ilk mikroskopik incelenmesinde preparat, toplam x100 büyütme altında taranır.

Bu gözden geçirmede aşağıdakiler ortaya konabilir.

- mukus iplikçik oluşumu,
- sperm agregasyonu ve aglütinasyonu,

• spermatozoa dışında hücrelerin varlığı, ör: epitel hücreleri (lökositler ve immatür germ hücreleri) ve izole sperm başları veya kuyrukları.

Preparat daha sonra toplam x200 veya x400 büyütme altında tekrar gözlenmelidir. Böylece.

• sperm motilitesi değerlendirilmiş olur.  
• sperm sayısının doğru değerlendirilmesi için gerekli seyreltme oranı belirlenmiş olur (Tablo 8).

**Tablo-8:** Sperm analizinde terminoloji

TERİM	ANLAMI
Normozospermi	Referans değerlerle tanımlanan normal ejakülat
Oligozoospermi	Referans değerden düşük sperm konsantrasyonu
Asthenozoospermi	Hareketlilik için referans değerden daha düşük değer
Teratozoospermi	Morfoloji için referans değerden daha düşük değer
Oligoasthenoteratozoospermi	Her üç değişkenin de bozukluğuna işaret eder
Azoospermi	Ejakülatta hiç spermatozoa bulunmaması
Aspermia	Hiç ejakülat elde edilememesi

### 2.3.9. Spermatozoanın Aglutinasyonu

Aglutinasyon spesifik olarak hareketli spermatozoanın birbirlerine baş-başa, kuyruk-kuyruğa veya karışık şekilde yapışması anlamına gelir. Başları, kuyrukları veya orta kısımlarıyla birbirine yapışmış hareketli spermatozoalar kayıt altına alınmalıdır (Resim 1).

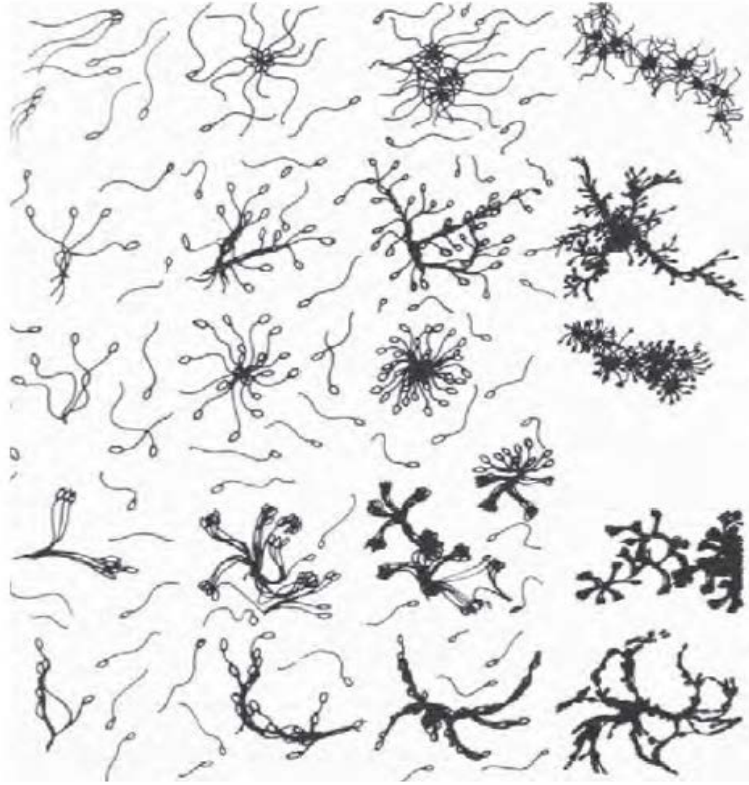
A. Baş - başa

B. Kuyruk - kuyruğa  
(başların serbest ve  
aglutinatlardan uzak  
olduğu görülmektedir)

C. Kuyruk ucu - kuyruk  
ucuna

D. Kamçı (baş - başa  
ve kuyruk - kuyruğa.  
Aglütinasyonlar açıkça  
seçilmiyor)

E. Yumaklaşmış (başlar  
kuyruklar birbirlerine  
karışmış. Kuyruk -  
kuyruğa aglutinasyon  
nedeniyle başlar açıkça  
seçilmiyor)



**Şekil-10:** Farklı sperm aglutinasyon derecelerinin şematik diyagramı (Rose ve ark. dan tıpkı basım (1976), Wiley-Blackwell'in izniyle)

### 2.3.10. Sperm Motilitesi

Spermin ileri hareketlilik derecesinin gebelik oranlarıyla olan ilişkisi bilinen bir gerçektir (103,104).

### 2.3.11. Sperm Hareketlerinin Sınıflandırılması

İleri veya yerinde hareketli olan spermatozoayı hareketsiz olanlardan ayırt eden basit bir hareketlilik derecelendirme sistemi tavsiye edilir. Her spermatozoanın hareketliliği aşağıdaki gibi derecelendirilir.

• **İleri hareket (Progresif Motilite; PR):** hızdan bağımsız olarak doğrusal veya geniş bir daire içinde aktif olarak hareket eden spermatozoalar.

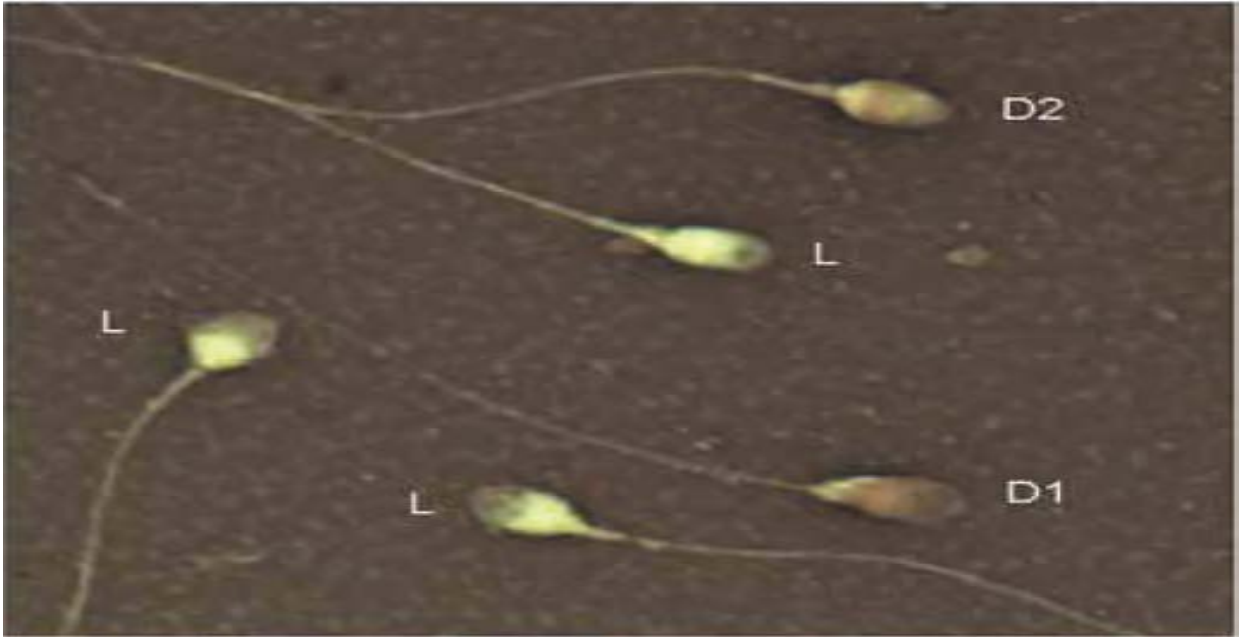
• **Yerinde hareket (Nonprogresif Motilite; NP):** ileriye doğru hareketin olmadığı tüm diğer hareketlilik kalıpları, örn: küçük daireler halinde yüzme, başı yerinden güçlükle oynatan kamçısal hareket veya yalnızca kuyruğun kamçısal hareketi gözlenebilir.

- **Hareketsizlik (İmmotilite; IM):** hareketin olmaması.

**Toplam hareketlilik için alt referans sınırı (PR+NP):** % 40 (5. yüzdelerde, % 95 CI 38–42). İleri hareket (PR) için alt referans sınırı : % 32 (5. yüzdeler, % 95 CI 31–34).

### 2.3.12. Sperm Vitalitesi

Hücre membranlarının bütünlüğüyle belirlenen spermelerin canlılık derecesi rutin olarak numunelerin hepsinde belirlenebilirse de, ileriye doğru hareketli spermelerin yaklaşık %40'dan az olduğu numunelerde vitalite özellikle önem arz eder. Ölü, nekrotik hücrelerin yüzdesinin hareketsiz spermatozoa yüzdesini geçmemesi gerektiğinden, bu test motilite değerlendirmesinin doğruluğunu da kontrol edebilen bir testtir. Vitalitenin referans alt sınırı (membranı sağlam sperm) % 58'dir (5. yüzdelerde, % 95 CI 55–63). Canlı, ancak hareketsiz hücrelerin yüksek oranda olması, bazen sperm kuyruğunda yapısal kusurların bir işareti olabilir (105). Hareketsiz ve canlı olmayan hücreler ise (nekrozoospermi) epididim patolojisinin göstergesi olabilir (106) (Resim 1).



**Resim-1:** Sperm mikrofotografisi.

Kırmızı (D1) veya pembe başlı (D2) spermelerin ölü (membran hasarlı), beyaz (L) veya hafif pembe başlı spermelerin ise canlı (membranı sağlam) olduğu düşünülür ( TG Cooper'ın izniyle gösterilen mikrofotografi).

### 2.3.13. Sperm Sayısı

Toplanan ejakülattaki toplam sperm sayısı ile sperm konsantrasyonu, gebeliğe kadar geçen süre (107) ve gebelik oranlarıyla ilişkili olup, gebe kalmanın belirleyici faktörlerindendir (104).

“Toplam sperm sayısı” ile “sperm konsantrasyonu” terimleri eşanlamlı değildir. (Tablo 9). Sperm konsantrasyonu, birim semen hacmindeki spermatozoa sayısına işaret ederken, spermatozoa sayısı ve onları seyrelten sıvı hacminin bir fonksiyonudur. Toplam sperm sayısı ise, tüm ejakülat içindeki toplam spermatozoa sayısını ifade ettiği gibi, sperm konsantrasyonunun semen volümüyle çarpımı sonucu elde edilir.

**Tablo-9:** Sperm konsantrasyonuna göre sınıflama

Azospermi	0
Şiddetli oligospermi	<1
Orta oligospermi	1-5
Hafif oligospermi	5-20
Normospermi	>15

Sperm konsantrasyonu için en düşük referans değer  $15 \times 10^6/\text{ml}$ 'dir. Total sperm sayısı ise sperm konsantrasyonunun tüm ejakülat volümüyle çarpılması sonucu hesaplanır ve en düşük referans değeri  $39 \times 10^6$ 'dır.

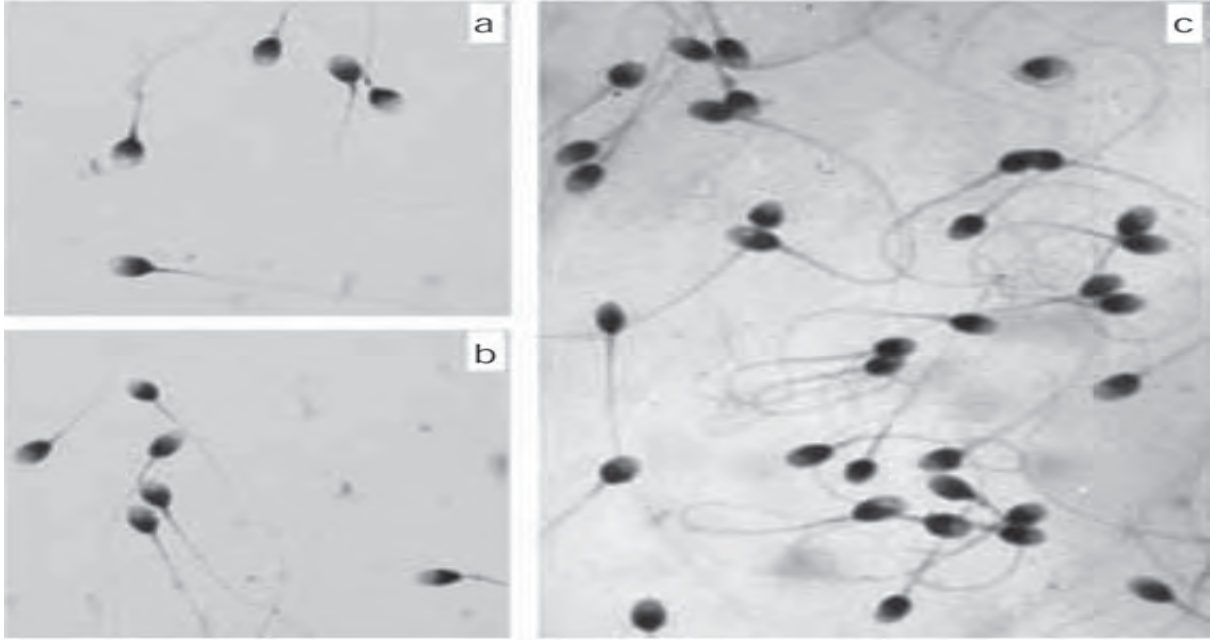
#### 2.3.13.1. Düşük Sperm Sayıları: Kriptozoospermi Ve Şüpheli Azoospermi

Aynı numuneden alınan 2 eş örneğin ıslak preparatında sperm gözlenmemişse, azospermiden kuşkulmalıdır. Tanımlamanın değişmesi gerektiği ileri sürülmüş olmasına rağmen (108) azospermi, tanı ve tedavinin temeli veya sperm yokluğunun kökenini tanımlamaktan ziyade, ejakülatın bir tanımıdır. Santrifüjlenen numunenin sedimentinde hiç sperm bulunmadığında, azospermi teriminin kullanılabilceği genellikle kabul gören bir durumdur (109).

### 2.3.14. Sperm Morfolojisi

İnsan spermlerinin değişken morfolojisi değerlendirmeyi zor kılmakla beraber, kadın reproduktif sisteminden, özellikle postkoital endoservikal mukustan (110) ve yine zona pellusida yüzeyinden alınan (111) spermilerin gözlenmesi, fertilizasyon potansiyeline sahip (morfolojik olarak normal) spermilerin görünümünü tanımlamaya yardımcı olmuştur. Morfolojik olarak “normal” spermatozoa: (Resim 2).

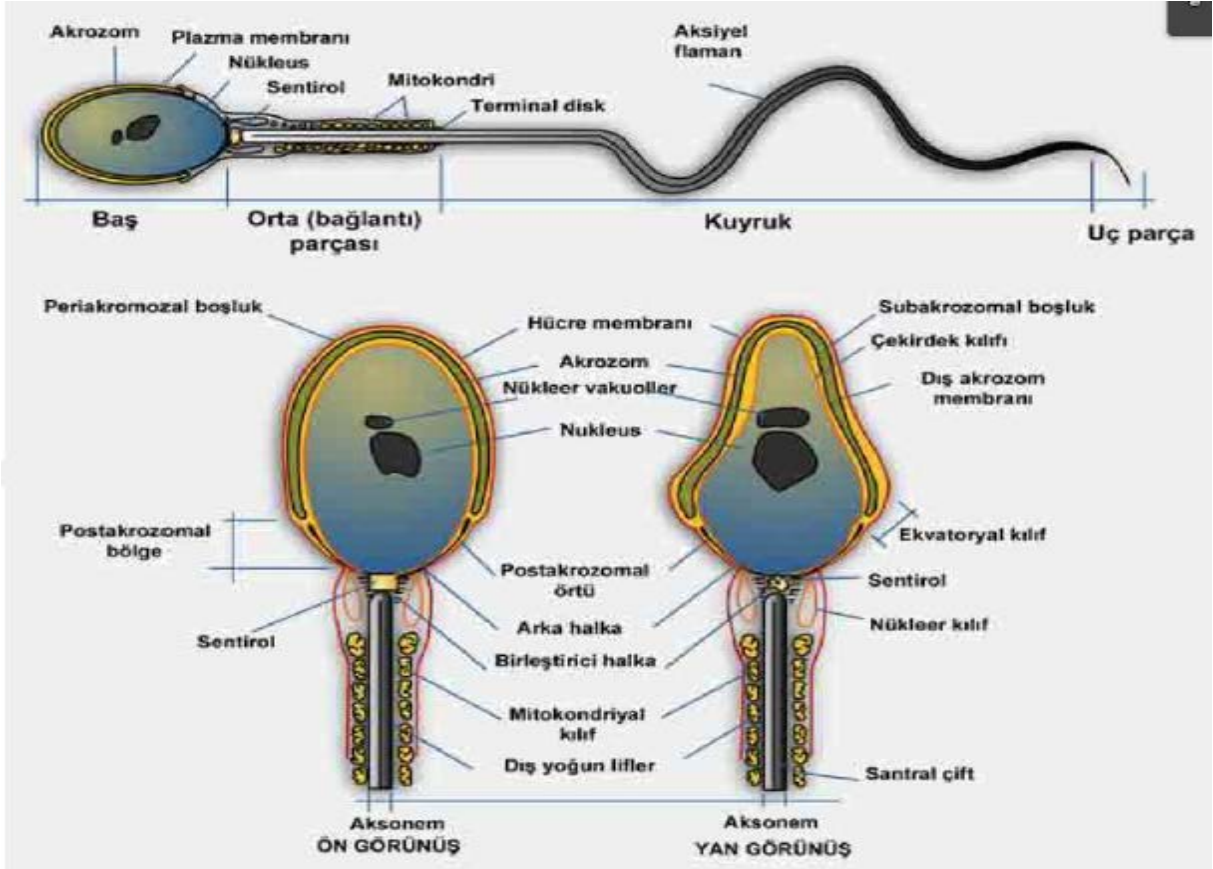
Resim 2 a, b) *İn vitro* ortamda zona pellusida’dan alınmış ve Shorr boyasıyla boyanmış spermiler. (c) Postkoital endoservikal mukustan alınmış ve Papanicolaou boyasıyla boyanmış spermiler. Sperm başı, orta segmenti veya gövdesinde çok az sayıda defekt gözlenmekte. Kuyruklar kıvrımlı olabilmesine rağmen keskin açılar oluşturmamakta.



**Resim-2:** Morfolojik olarak “normal” spermatozoa. (a,b)Liu ve ark.dan alıntı (2003) Avrupa İnsan Üreme ve Embriyolojisi Derneği (European Society of Human Reproduction and Embryology) izniyle. (c) Menkveld ve Kruger'den alıntı (1990) Lippincott Williams ve Wilkins'in izniyle]

Spermilerin morfolojik olarak normal olup olmadığını değerlendirirken, aşığıdaki kriterler uygulanmalıdır (112,113).

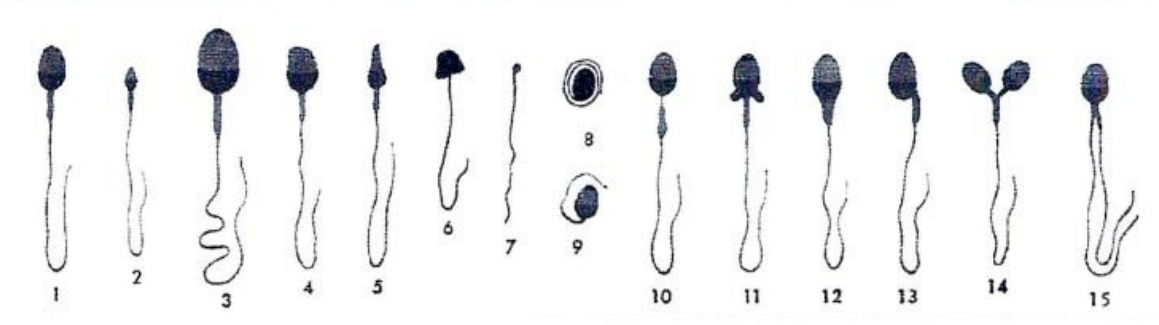
Sperm; bir baş, boyun, orta parça, ana parça ve son parçadan ibarettir. Spermin normal kabul edilebilmesi için, baş ve kuyruğunun normal olması gerekir (Şekil 10).



**Şekil-10:** Normal insan spermının anatomik yapıları

Sperm başı düzgün, düzenli sınırlı ve genellikle oval şekilli olmalıdır. Baş alanının yaklaşık % 40–70’ini kaplayan iyi tanımlanmış bir akrozom bölgesi mevcut olmalıdır (114). Orta parça ince, düzenli sınırlı ve yaklaşık sperm başı uzunluğunda olmalıdır. Orta parçanın ana eksenini sperm başının ana eksenine aynı hizada olmalıdır. Ana parça, uzunluğu boyunca aynı genişlikte olmalı, orta parçadan ince ve yaklaşık 45 µm uzunlukta olmalıdır.

İnsan semen numuneleri farklı şekil bozuklukları olan spermier içermektedir (Şekil 11). Defektif spermatogenez ve bazı epididim patolojileri sıklıkla anormal şekilli sperm yüzdelerinin artışıyla ilişkilidir. Anormal spermier, anomalilerin tiplerine bağlı olarak genellikle düşük bir gebelik potansiyeline sahiptir ve DNA’ları da anormal olabilir. Morfolojik defektler; artmış bir DNA parçalanma süreci (115), yapısal kromozom anormallikleri (116), immatür kromatin ve anöploidi (117) insidansında artışla ilişkilendirilmiştir. Normal formlu sperm hücreleri için en düşük referans değeri %4’tür.



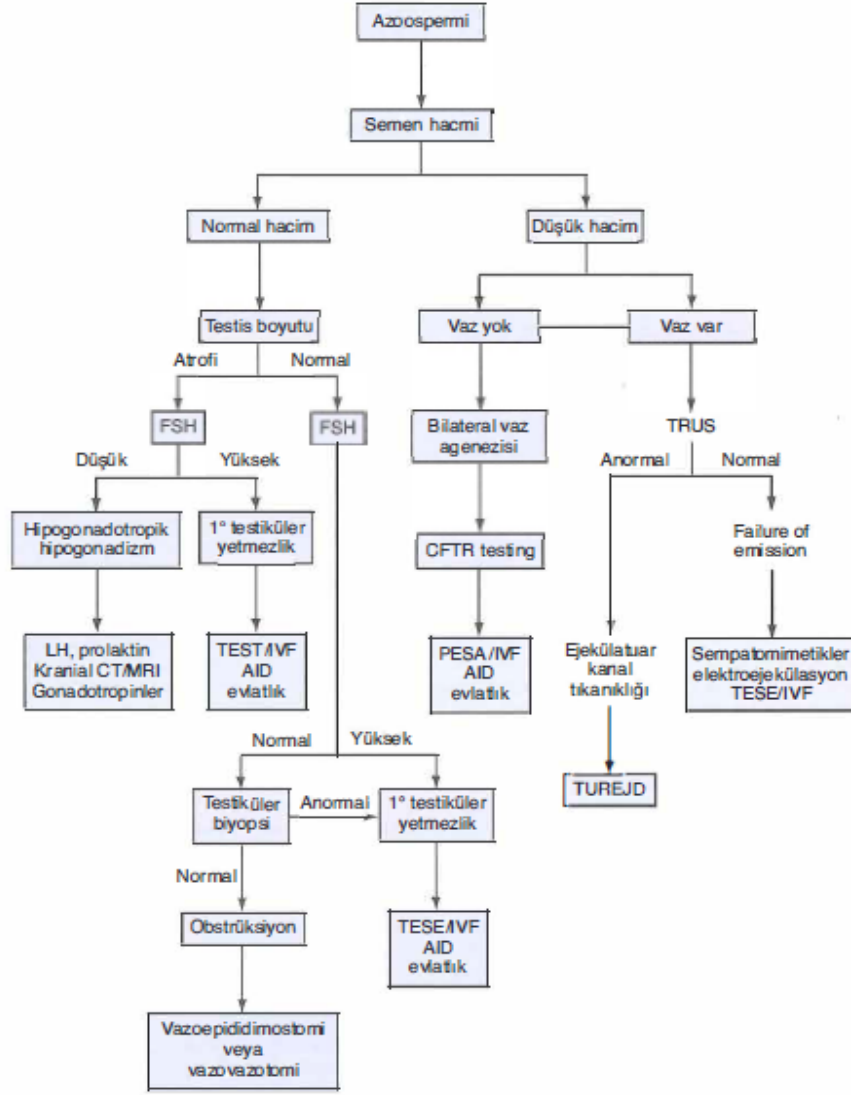
**Şekil-11:** Normal ve defektif sperm formları Normal (no:1) ve defektli sperm formları (no:2-15)

### 2.3.15. Semen Parametrelerine Göre Kategoriler

#### 2.3.15.1. Azoospermi

Azoospermi, ejakülatta sperm olmaması olarak tanımlanır ve infertil erkeklerin yaklaşık %10 ile 15'inde saptanır (118). İleri tanı testlerine geçilmeden önce, en az iki ayrı santrifüj edilmiş semen örneğiyle, azospermi tanısı doğrulanmalı ve oligospermi durumu ekarte edilmelidir. Santrifüj edilmiş spesmen içinde, eser miktarda bile sperm bulunması, CBVDA gibi komplet duktal tıkanıklık nedenlerini ekarte ettirir ve ıcsı için sperm kriyoprezervasyonuna izin verir.

Azoosperminin çok sayıda sebebi olsa da, etiyolojiler temel olarak üç kategoriye ayrılabilir: pretestiküler, testiküler ve post-testiküler sebeplerdir. Sebepler genellikle, semen volümü (az veya normal), testis volümü, vaz deferensin durumu ve serum FSH düzeylerine göre de sıralanabilir (Tablo 10).



**Şekil-10:** Azoospermi tanı ve tedavi algoritması (AID: donör semeniyle artifisyel inseminasyon, CFTR: kistik fibrozis transmembran kondüktans regülatörü, CT/MRI: bilgisayarlı tomografi/manyetik rezonans görüntüleme, FSH: folikül stimülan hormon, İVF: in vitro fertilizasyon, LH: luteinizan hormon, PESA: perkütan epididimal sperm aspirasyonu, TESE: testiküler sperm ekstraksiyonu, TRUS: transrektal ultrason, TUREJD: transüretral ejakülatuar duktus rezeksiyonu), (EAU 2020 kılavuzu).

Pretestiküler sebepler, sekonder testiküler yetmezlik olarak da isimlendirilir ve genellikle endokrinolojik patolojilere bağlı meydana gelirler. Konjenital (Kallman sendromu) veya kazanılmış hipogonadotropik hipogonadizme bağlı ortaya çıkabilirler.

Testiküler etyolojiler, primer testiküler yetmezlik olarak da bilinir ve intrinsek spermatogenez bozukluklarına bağlıdır. Testis biyopsisinin patolojik incelemesi, Y kromozomu

mikrodelesyonu veya kromozomal anormallikler gibi genetik nedenleri, varikosele bağlı testiküler hasarı, ilaçların ve çevresel gonadotoksik etkileri sorumlu olan idiyopatik infertiliteden ayırt etmeye yardımcı olur.

Azoospermi vakalarının %40'ını oluşturan post testiküler patolojiler, ejakülatuar disfonksiyon ve genital trakt obstruksiyonundan oluşmaktadır (119). Pretestiküler ve posttestiküler patolojiler tedaviye daha iyi cevap vererek fertilitenin sağlanmasında daha ılımlı iken, testiküler patolojilerde başarı oranları bu derecede yüz güldürücü değildir.

Hem primer hem de sekonder testiküler yetmezlikte testis volümü ileri derecede küçüktür, ancak, bu durumlar birbirinden FSH, LH, testosteron ve prolaktin düzeyi gibi endokrin testlerle ayrılabilir. Normal düzeyin iki katından fazla olmak üzere yüksek serum FSH düzeyleri, primer testiküler yetmezlik ile uyumludur ve obstruktif etyolojileri ekarte etmek için testis biyopsisi yapılmasına gerek yoktur.

Azoospermi ile birlikte primer testiküler yetmezlik, genellikle non obstruktif azoospermi (NOA) olarak adlandırılır ve ICSI uygulamak üzere testiküler sperm ekstraksiyonu en iyi tedavi modalitesini oluşturur. Çeşitli karşıt görüşler olsa da serum FSH düzeyindeki yükselmenin sperm elde etme başarısı için belirleyici olmadığı gösterilmiştir (120,121,122). Testis boyutu normal, vaz deferens palpable ve serum FSH düzeyleri normal olan hastalarda, genital trakt obstruksiyonunu maturasyon arresti gibi spermatogenez bozukluklarından ayırt etmek için testis biyopsisi gereklidir.

Obstruktif azoospermi vakalarında testis biyopsisinin normal olması, obstruksiyon için patognomoniktir. Genital trakt obstruksiyonu, rete testis, efferent duktuslar, epididim, vaz deferens veya ejakülatuar duktusları gibi sperm taşıma sisteminin herhangi bir kısmında meydana gelebilir. Epididim veya vaz deferens noktasındaki obstruksiyonlar, epididimal obstruksiyon için vazo epididimostomi, vazal obstruksiyon için vazovazostomi yapılmak suretiyle, mikrocerrahi yapılarak başarılı bir şekilde tedavi edilebilir. Obstruktif azoospermi ve buna bağlı infertilitenin en sık nedeni vazektomidir.

Düşük semen hacmi ve palpable vaz deferens ile birlikte azoospermi olması, genellikle ejakülatuar duktus obstruksiyonu (EDO) ile ilişkilidir, ancak küçük bir kısmında ejakülatuar disfonksiyon da görülebilir. Retrograd ejakülasyon gibi ejakülasyon bozukluklaunda, sıklıkla

oligospermiye eşlik eden düşük semen hacmi ve ejakülasyon sonrası idrarda sperm görülecektir. Düşük volümü, asidik pH'sı olan ve semen fruktozu olmayan hastalarda EDO düşünülmelidir.

### **2.3.15.2. Oligospermi**

Oligospermi, sperm dansitesinin 15 milyon/ml'nin altında olması olarak tanımlanmaktadır. Azoosperminin aksine, oligospermi yapan sebepler çok fazla sayıdadır ve etyoloji genellikle idiyopatiktir. Sperm konsantrasyonu 10 milyon/ml'nin üzerinde olan hastalarda, endokrinopatiler nadir olarak görülürler ve testosteron ve FSH gibi rutin endokrin testler, bu düzeyin altındaki hastalarda uygulanmalıdır (123). Hafif veya orta dereceli oligospermide testis biyopsisi endikasyonu yoktur, ancak, sperm konsantrasyonu 1 milyon /ml'nin altında ve öykü ya da fizik muayeneye dayanarak duktus obstruksiyonu düşünülen hastalarda testis biyopsisi ihtiyaç durumunda yapılabilir.

### **2.3.16. İleri Sperm Testleri**

#### **2.3.16.1. Antisperm Antikor Testleri**

Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar, testisler için bir bariyer meydana getirir ve immün sistemin mayoz bölünme sonrasında germinal hücreler ile yakın temasının önüne geçer. Fakat testis torsiyonu, vazektomi ve testiküler travma gibi durumlarda, bu özellikli bariyer hasar görebilir ve spermilere karşı antisperm antikorlar (ASA) olarak isimlendirilen bir immün yanıt gelişebilir. Bu antisperm antikorlar, sperm aglutine edici, sperm immobilize edici ve spermotoksik olmak üzere birkaç çeşit olabilir.

Fertil erkeklerin yaklaşık %2'sinde ASA görülürken, infertil erkeklerde bu oran %10'lara kadar çıkabilmektedir (124). Artmış sperm aglutinasyonu veya anormal PKT (post koital test), ASA varlığının bir göstergesi olabilir. Direk ASA testi, sperme bağlı immüno globinleri ortaya çıkarır. Indirek testler ise dolaşımdaki ASA'nın biyolojik aktivitesini saptar. İmmünolojik olmayan faktörlere bağlı olarak yanlış pozitiflikler izlenebilir (125).

### 2.3.16.2. Biyokimyasal Testler

Akrozin zona pellusida glikoproteinlerine karşı lektin benzeri karbonhidrat bağlayıcı etki gösteren bir proteaz enzimidir. Düşük akrozin aktivitesi düşük sperm sayısı, düşük motilite ve anormal morfoloji ile alakalıdır (126).

Kromatin stabilitesi için ve fertilizasyon esnasında baş-kuyruk ayrılması için çinko elementine ihtiyaç duyulur. Ejekülat başına referans değeri 13 mmoldür (DSÖ). Çinkonun sperm parametreleri üzerine olan etkileri çelişkili sonuçlarla raporlanmıştır. Ancak diyetle çinko takviyesi verilmesi sperm parametrelerini iyileştirmemektedir (127).

Seminal veziküller sperm için taşıma ortamı olan seminal sıvı oluşumu ve fruktoz üretimi yaparak sperm beslenmesinde önemli rol üstlenir. Semendeki fruktoz düzeyleri ve sperm hareketliliği arasında doğrusal bir orantı ve ilişki vardır (128). Azalmış seminal vezikül fonksiyonundan şüphe edildiği takdirde semen früktoz testi yapılabilir. Ancak günümüzde önerilen test TRUS ile seminal veziküllerin yapısının analiz edilmesi şeklindedir.

L-karnitin epididim tarafından salgılanarak ve seminal plazmada serum düzeylerinin 10 katına dek konsantre edilir. Oligoastenospermik erkek hastalarda düşük L-karnitin seviyelerine rastlanmıştır (129). Epidimden sonraki obstrüksiyonlarda çok düşük L-karnitin seviyeleri saptanırken, intratestiküler obstrüksiyonlarda L-karnitin düzeyleri normaldir (127).

### 2.3.16.3. Reaktif Oksijen Türlerinin Araştırılması

Reaktif oksijen ürünlerinin (ROS) suprafizyolojik seviyede oluşturulması ve kreatin fosfokinaz gibi sitoplazmik enzimlerin yüksek aktivitelerinin varlığı, orta parçada aşırı miktarda rezidüel sitoplazması olan anormal spermilere işaret edebilir (130,131).

Reaktif oksijen türleri, oksijenin metabolitleri olup süperoksit anyonu, hidrojen peroksit, hidroksil ve hidroperoksil radikalleri ile nitrik oksiti içermektedir. Aşırı miktarlarda oluştukları takdirde; hücre lipidleri, proteinleri ve DNA'sına oksidatif hasar oluşturarak patolojik değişiklikleri başlatabilirler (132). Hücrelerin çoğunda ya enzimatik (süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz) ya da enzimatik olmayan antioksidan sistemler (ürik asit, askorbik asit,  $\alpha$ - tokoferol) mevcuttur. Bu savunma mekanizmaları aşıldığında, sperm ve

fonksiyonları bozulabilmektedir (133). Yüksek miktarlarda ROS üretimi, peroksidatif hasar ve sperm fonksiyonlarında kayba, hem nükleer hem de mitokondriyal genomlarda DNA hasarına neden olabilmektedir (134).

#### **2.3.16.4. Sperm DNA Hasarı**

Sperm DNA hasarı ilk olarak 1993'te tanımlanmıştır. O zamandan beri infertil erkeklerde ek yardımcı test olarak araştırılmaktadır. Spermatozoanın kromatinleri, protaminler arasındaki disülfid çapraz köprüleriyle sıkıca paketlenmiş bir yapıdır ve böylece nükleer başlık ve DNA parçacıkları strese korunur. DNA hasarı multifaktöriyel olup etyolojisi hakkında protamin defekti, DNA paketlenmesini veya stabilleşmesini etkileyen mutasyonlar gibi teoriler mevcuttur (127). Sigara, kemoterapotik ajanlar, testiküler maligniteler ve diğer sistemik kanserler gibi birçok etkenin DNA hasarı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. DNA hasarı, özellikle düşük sperm konsantrasyonu, düşük sperm motilitesi, lökositospermi ve oksidatif stres olmak üzere kötü semen parametreleri ile yakın ilişkilidir (127,135,136).

#### **2.3.16.5. Semende Lökositlerin Değerlendirilmesi**

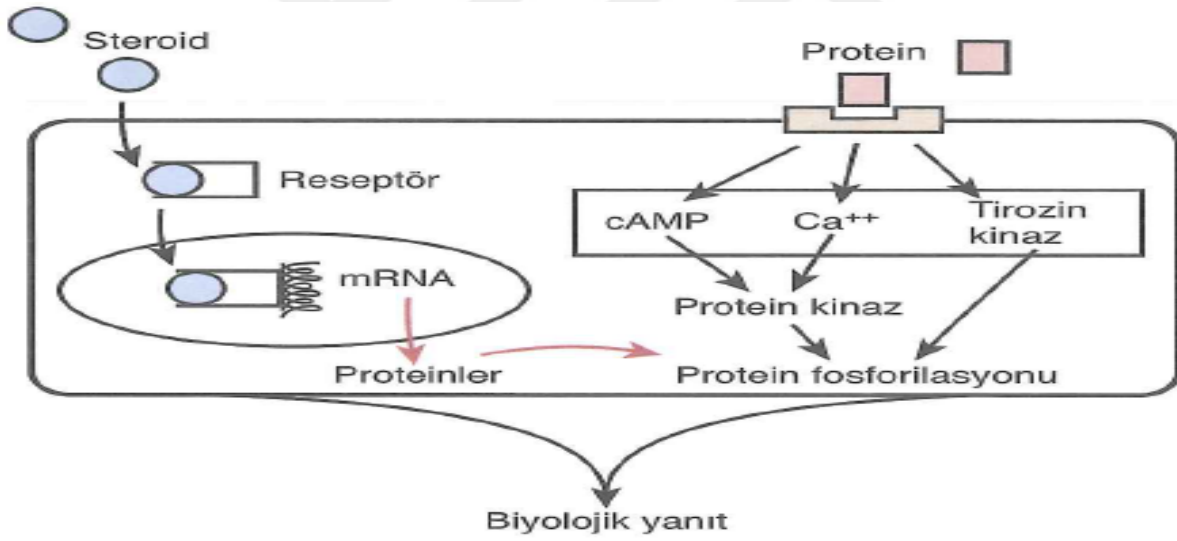
Özellikle polimorfonükleer lökositler (PMN, nötrofiller) olmak üzere, lökositlere insan ejakülatında çoğu zaman rastlanmaktadır (137). Semen örneğinde önde gelen lökosit formu peroksidaz pozitif granülositler olduğundan, başlangıçtaki tarama tekniği olarak peroksidaz aktivitesinin rutin olarak analiz edilmesi faydalı olacaktır. Fertil erkeklerin semeninde peroksidaz pozitif hücreler için bir referans değer olarak  $1,0 \times 10^6$  peroksidaz pozitif hücre/ml şeklinde kabul edilmektedir.

### **2.4. Erkeklerde Hipotalamo-Hipofizer-Gonadal Aks**

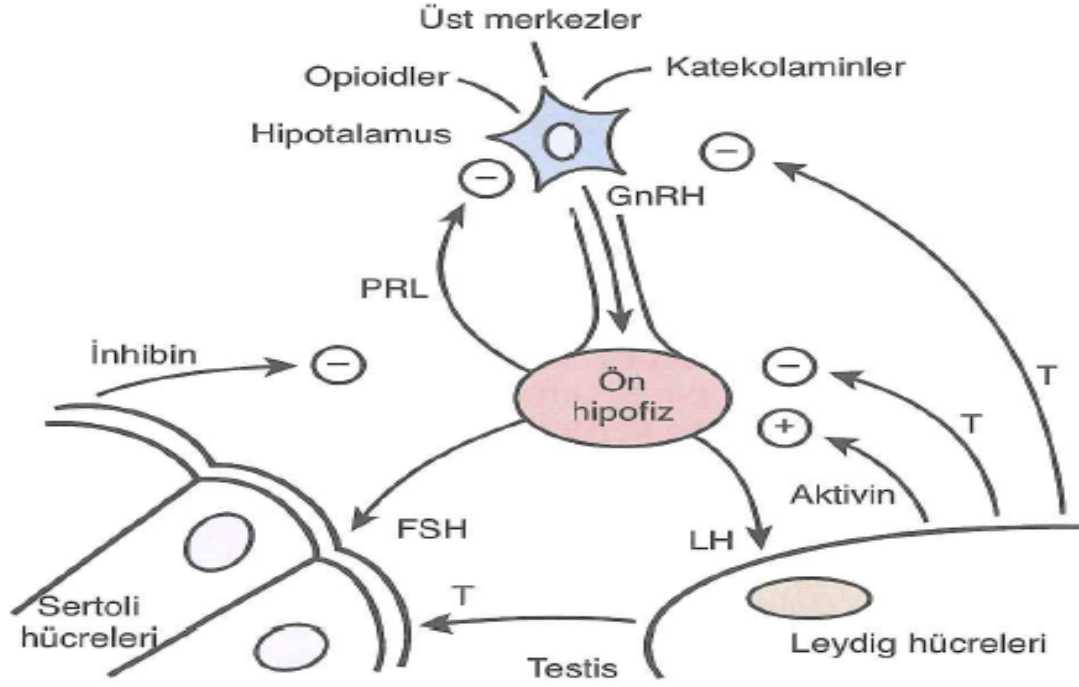
Erkeklerde hipotalamo-hipofizer-gonadal (HHG) aksın temelde iki görevi vardır. Birincisi reproduktif performans için gerekli olan seks hormonlarının fizyolojik miktarlarda üretim ve salgılanmasını kontrol etmek iken, ikincisi insanların neslini devam ettirebilmek için gerekli olan sağlıklı spermatogenetik hücrelerin üretimi ve olgunlaşmasını sağlamaktır. Erkeklerde; hipotalamus, ön hipofiz ve testisler olmak üzere aksın üç önemli komponenti bulunmaktadır. Bu üç komponent birçok endokrin, parakrin ve otokrin etki ile birbirlerini etkileyebilmektedir. HHG aksın cinsiyetler arasında farklılık göstermesi, yaşamın değişik zamanlarında fonksiyonlarında

artma veya azalma olması, mevsimsel değişkenlerden etkilenmesi ve günün farklı saatlerinde fonksiyonel aktivitede farklılıklar göstermesi (sirkadiyen ritm), bu hormonal aks ile ilgili olan çalışmaları daha da zor hale sokmaktadır. Genel bilgi olarak hipotalamustan gonadotropin serbestleştici hormon (GnRH) salgılanmakta, kısa bir portal dolaşımla yüksek konsantrasyonlarda n hipofizde yerleşmiş reseptörler aracılığı ile gonadotropik hücreleri uyarmakta ve bu hücrelerden FSH ve LH salgılanmaktadır.

LH testislerdeki Leydig hücrelerini uyarak testosteron (T) salınımına neden olurken, FSH sertoli hücrelerini uyarak başta seks-hormon bağlayıcı globülin ve inhibin olmak üzere çeşitli moleküllerin salgılanmasına rol oynamaktadır. Ayrıca spermatogenezin başlatılması ve devam ettirilmesinde de ana rol üstlenmektedir. Hipotalamus, hipofiz ve testislerden salınan hormon ve diğer hormonal yapıda olmayan moleküller arasında mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılamamış negatif ve pozitif feedbackler olduğu gibi hücrelerarası ve hücre içi birçok parakrin ve otokrin etkileşim söz konusudur (şekil 12,13).



şekil-12: Reprodiktif hormon aksı (138).



**Şekil-13:**Hipotalamik-Hipofizer-Gonadal hormonal aks şeması (+, pozitif feed back; -, negatif feed back; FSH, folikül stimulan hor-mon; GnRH, gonadotropin serbestleştirici hormon; LH, lüteinizan hormon; PRL, prolaktin; T, testesteron) (139).

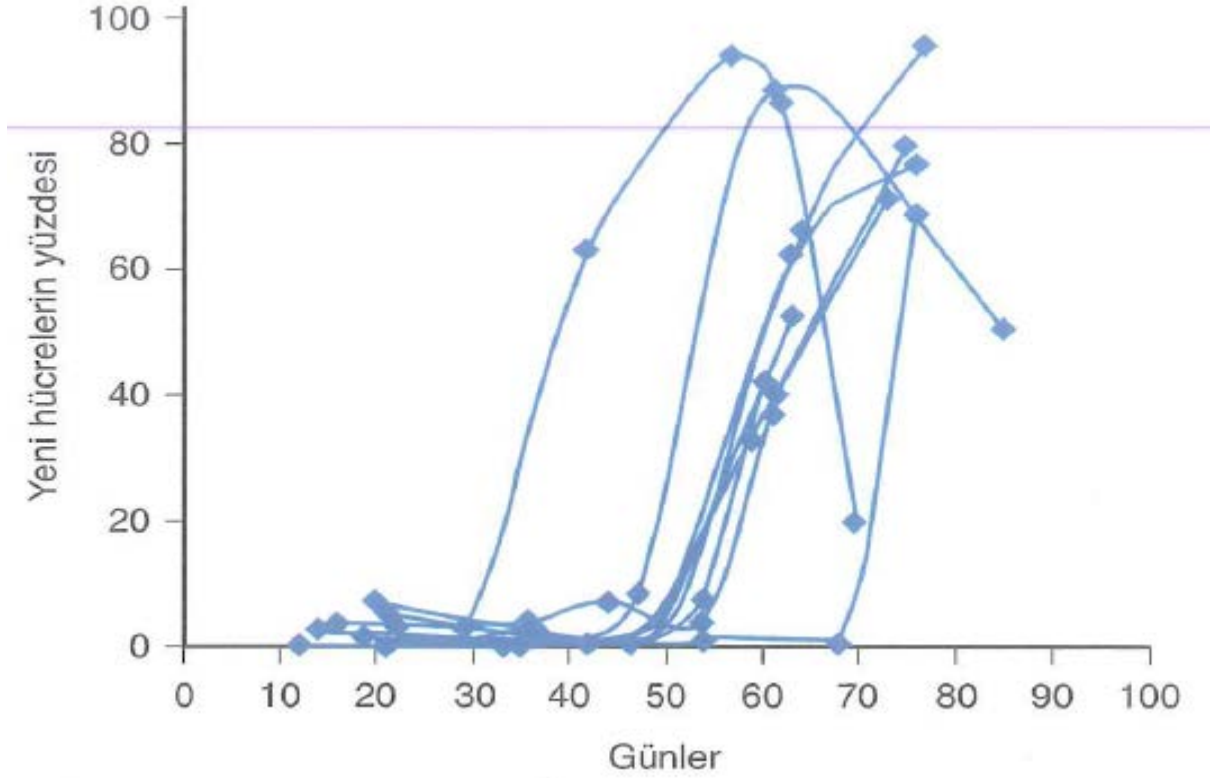
## 2.5. Spermatogenezis

Spermatogenez, DNA üretiminde ve germ hücre farklılaşmasında özelleşmiş olan önemli derecede karmaşık bir süreçtir. Daha önceki çalışmalarda spermatogenezin, insanlarda 64 günde tamamlandığı gösterilmiştir (140). Son yapılan in vivo çalışmalarda, ejakulattaki sperm üretimi için geçen toplam süre 42-76 gün olarak gösterilmişse de bu süre kişiden kişiye değişkenlik göstermektedir (141) (Grafik 1). Spermatogenez çeşitli fazlar içermektedir.

1-proliferatif fazda spermatogonyular yenilenmek üzere bölünürler veya gametleri oluşturacak hücelere farklılaşırlar,

2-mayotik fazda haploid spermatidlerin oluşumu ile sonuçlanan germ hücre bölünmeleri oluşur,

3-spermiogenez fazında ise oluşan spermatidler olgun spermatozoaları oluşturmak üzere iyice farklılaşırlar (142,143).



**Grafik-1:** İnsanda sperm üretim ve ejakulasyon zamanı

İki hafta boyunca, glinde iki kez 50 ml oral işaretlenmiş sıvı verilen, normal semen kalitesine sahip 11 kişinin kombine spermatosit eğrisi gösterilmiştir. Yeni ejakule edilmiş spermler, işaretli sıvı verilmesinden 42 gün kadar sonra bulunmuştur ve kişiler arasında sperm üretimi ve ejakulasyon sürelerinde belirgin farklılıklar olduğu ortaya çıkmıştır (141).

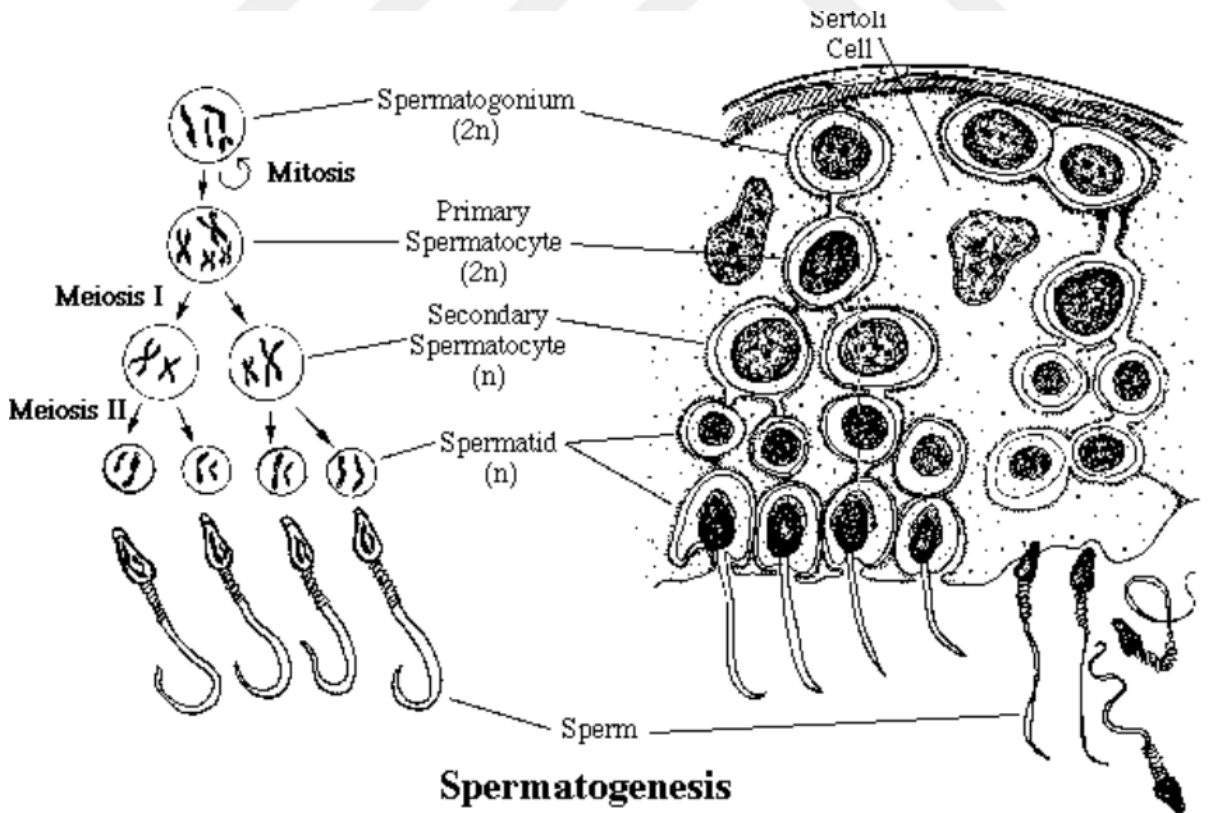
Spermatogenez siklusu; primitif (ilkel) spermatogonyal kök hücrelerinde meydana gelen ve daha sonraki germ hücrelerini oluşturacak hücre bölünmelerini içermektedir. Herhangi bir zamanda, germinal epitelyumda aynı anda farklı spermatogenez aşamasındaki hücreler birlikte bulunurlar ve bu hücreler morfolojik evrelerine göre tanımlanırlar. İnsanlarda seminifer tubülün tek bir noktasında spermatogenez incelendiğinde sabit bir biçimde, altı adet hücresel evre biçimi saptanır (144).

### 2.5.1. Mayoz Bölünme

Somatik hücreler genellikle genetik olarak aynı hücrelerin olduğu mitöz bölünme ile çoğalırlar. Germ hücreleri ise çoğalmanın sağlanması için genetik materyalin ikiye bölündüğü mayoz bölünme ile çoğalır. Mayoz bölünme, doğal seleksiyonu etkileyen oldukça zengin genetik

çeşitliliğe yol açar. Mitoz bölünmede gerçekleşen hücre replikasyonu; genetik materyalin, kromozomların duplikasyonu, çekirdek içi sarmalın açılması ve kromozomlar ile sitoplazmanın oluşan kardeş hücrelere eşit dağılımı gibi olayların kusursuz olarak düzenli bir biçimde organize edilmesi ile oluşur. Mitoz ve mayoz bölünme arasındaki en önemli fark, tek bir DNA duplikasyonunu mitozda tek bir hücre bölünmesi izlerken, mayozda iki hücre bölünmesi izler (dört adet yavru hücre oluşur). Bu nedenle mayoz bölünmede oluşan evlat hücreler ana hücrenin yarısı kadar kromozom içerirler. Böylece diploid (2n) olan ana hücre haploid (n) olan yavru gamete dönüşür.

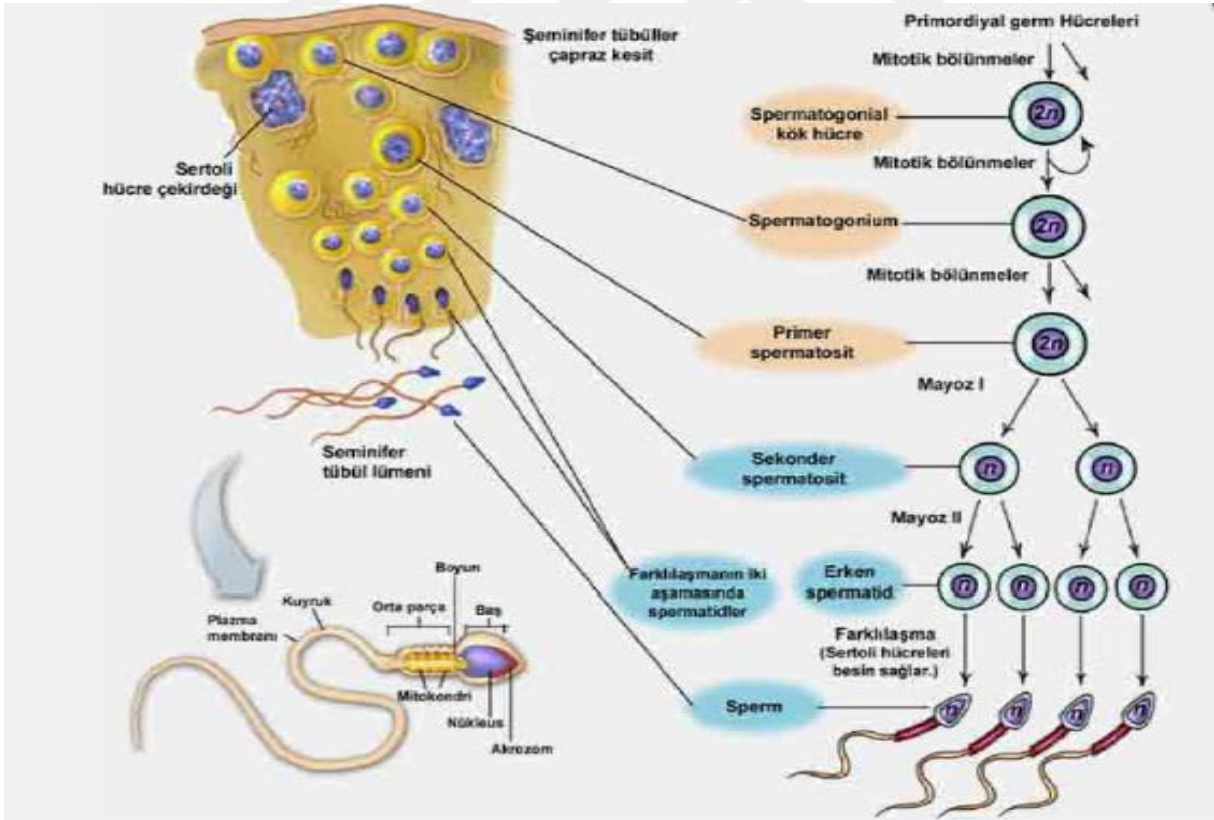
Spermatogenez, seminifer tubül lüminal kompartmanında tip B spermatogonyumun primer spermasıti oluşturmak üzere mitotik olarak bölünmesi ile başlar. Olgunlaşmış spermatositler mayoz bölünmeye uğrayan ilk germ hücreleridir (145). Bu süreçte, mayotik hücre bölünmesini tipik mitotik küçülme bölünmesi takip eder ve haploid kromozom içeren yavru hücreler oluşur. Bu yavru hücreler kromozomal yeniden yapılanma sonucunda genetik olarak birbirinden farklı bilgiler taşırlar. Spermatogenezin son basamağında oluşan hücre spermatid'dir (Şekil 14).



Şekil-14:Spermatogenezis, mitoz ve mayoz bölünme

## 2.5.2. Spermiogenez

Spermiogenezde yuvarlak yapıli spermatidler spermatozoalara olgunlaşırlar (Şekil 15). Bu aşamada hücre bölünmesi oluşmaz ancak spermatid çekirdeği ve sitoplazmasında önemli değişiklikler ortaya çıkar. Bu değişiklikler arasında sitoplazma kaybı, sitoplazmik organellerin yer değiştirmesi, golgi cisimciğinden akrozomun oluşumu, sentriolden flagellum oluşumu, hücre çekirdeğinde hacmin %10'una kadar sıkışma ve mitokondrielerin sperm or-ta kısmına yerleşimi bulunmaktadır (145). Spermatid hücre çekirdeği, kromozomların yoğunlaşması ile yuvarlak bir yapıdan asimetrik sferik bir yapıya dönüşür. Ayrıca kromozomal yapı, kromozomal proteinler, çekirdek çevresi hücre iskeleti yapısı, çekirdek içi mikrotübüller, subakrozomal aktin ve sertoli hücreleri ile ilişkiler gibi birçok hücrenel durumda da değişimler ortaya çıkar. Spermatid uzamasının tamamlanmasıyla, sertoli hücresi sitoplazmik uzantıları giderek geri çekilerek gelişmekte olan sperm çevreleyip sonunda tubül lümeni içeri-sine atılmasını sağlar. Matür sperm; bir gram testis dokusu başına saniyede 300 kadar sayıda özenle üretilmiş, dikkat çekici derecede küçük sitoplazmaya sahip hücredir.



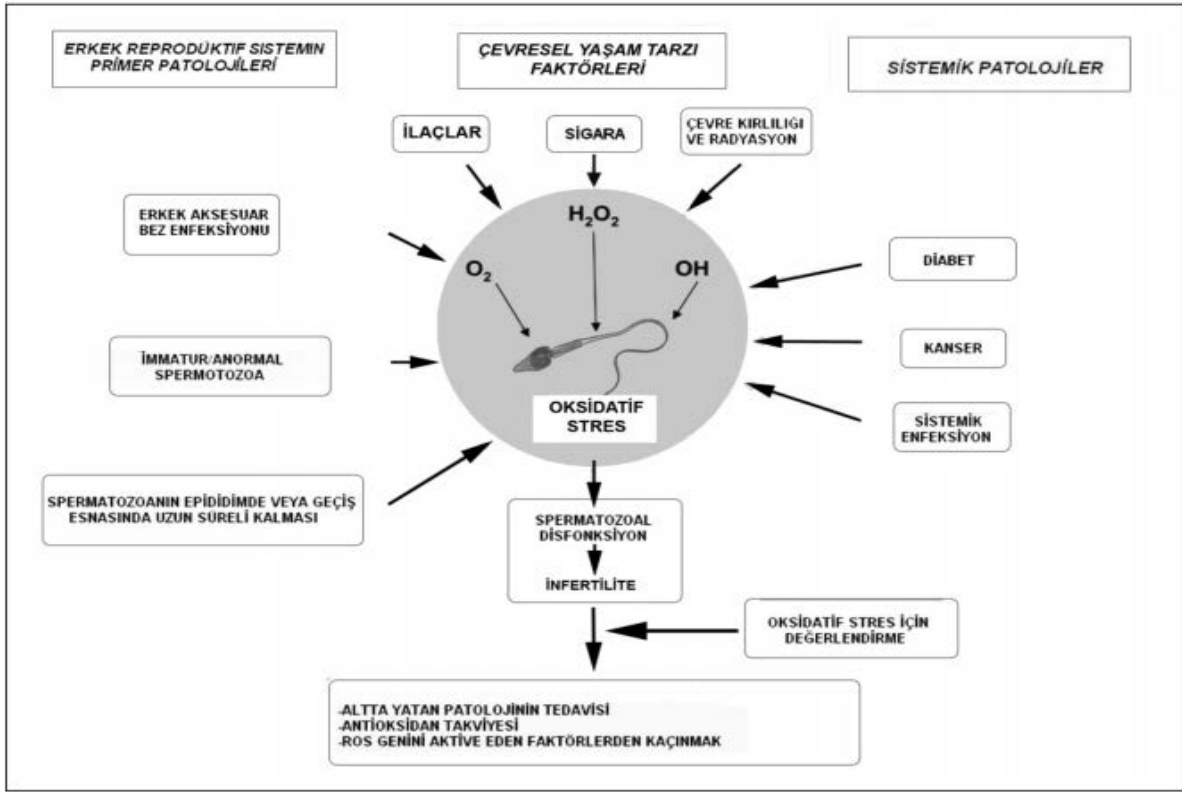
Şekil-15: Erkek cinsiyette gametogenez

### 2.5.3. Spermatogenezin Hormonal Stimülasyonu

Spermatogenez, başlıca ön hipofiz bezi tarafından salgılanan hormonlar olan LH, FSH ile Leydig hücrelerinden salgılanan testosteronun ile kontrol edilir (146). Bunun yanısıra Sertoli hücrelerinden salgılanan östrojen ve ön hipofizden sekrete edilen Growth hormonu da, spermiyogenez ve testislerin arka plandaki metabolik fonksiyonlarının kontrolünde önemli rol oynarlar (147).

## 2.6. Oksidatif Stres Ve Seminal Plazmada Oksidan-Antioksidan Moleküllerin Saptanması

Oksijen canlılar için hayati önemi olan bir moleküldür ve hücrede enerji üretim süreçlerinde kullanılır. Son yörüngelerinde eşleşmemiş bir elektron taşıyan atom ve moleküller "serbest radikaller" olarak isimlendirilir. Ömürleri çok kısa olan ve kararsız bir yapı gösteren bu bileşikler, bir an önce kararlı hale ulaşabilmek için etrafındaki moleküllerle reaksiyona girmek adına uğraşırlar (148,149). Bu nedenle, yüksek miktarda reaktiftirler ve pek çok moleküle etkileşerek onları kararsız hale getirip parçalanmalarına yol açarlar (148,149). Günümüzde yapılan çalışmalar göstermiştir ki; erkek üreme sisteminin primer patolojileri (Erkek aksesuar bez enfeksiyonları, immatür / anormal spermatozoa, spermatozoanın epididim veya geçiş esnasında uzun süreli kalması), sistemik patolojiler (Diabetes Mellitus, kanser, enfeksiyon) ve çevresel yaşam tarzı faktörleri (Sigara, radyasyon, çevre kirliliği, ilaçlar) serbest oksijen radikallerinin yüksek seviyede olmasına neden olmaktadır (Şekil 16) (150). Bu durum sperm kalite ve işlevinde olumsuz etkilere neden olmaktadır (151.152). Serbest radikaller hücrelerimizde DNA'ya, proteinlere ve lipidlere etki ederek zarar verir. Serbest radikallerin oluşum hızı ve bunların antioksidanlar tarafından nötralize edilme hızı arasında bir denge bulunması vücutta istenen bir durumdur. Böylece, canlı hücreler serbest radikallerin olumsuz etkilerinden korunmuş olur. Eğer bu denge serbest radikaller lehine bozulursa, yani yapımdan daha yavaş nötralizasyon gerçekleşirse, hücrede serbest radikaller suprafizyolojik düzeyde artmaya başlar. Serbest radikallerin normal sağlıklı hücrelerde artışı ve hücre fonksiyonları üzerinde yaptıkları olumsuz etkiye "oksidatif stres" denir (153).



**Şekil-16:** Oksidatif stresin nedenleri (Kaynak: Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları Ve Tedavisi, 2013 Türk Androloji Derneği)

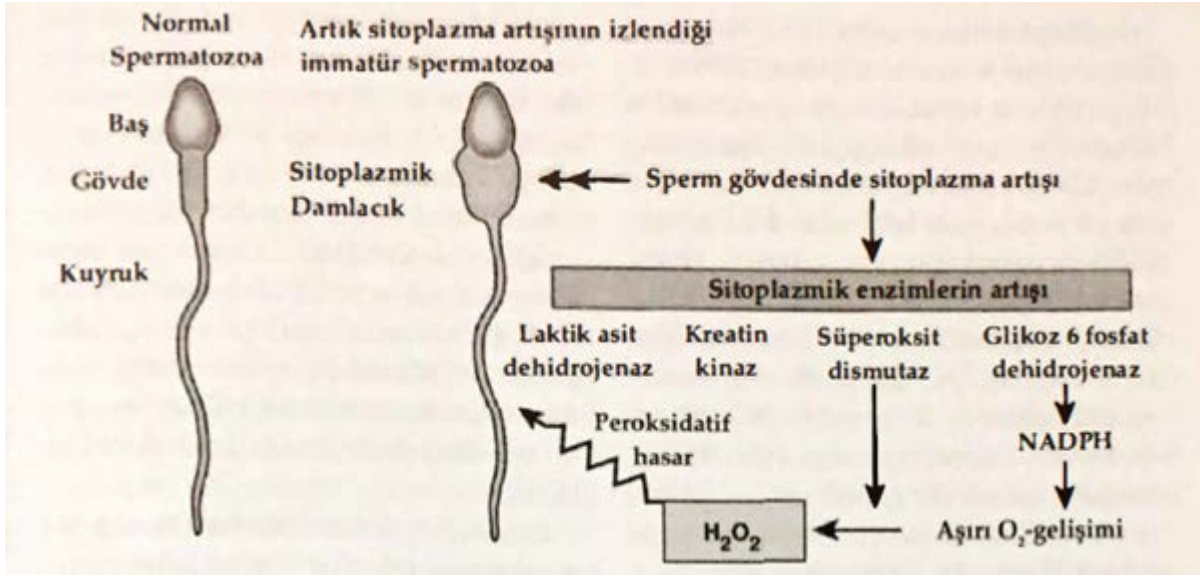
Aerobik organizmalarda serbest radikallerin çoğu oksijen ve azot kaynaklıdır (Tablo 11). Reaktif oksijen türleri ve azot kaynaklı radikaller fizyolojik olarak az miktarda üretildiklerinde sperm matürasyonu, kapasitasyonu, hiperaktivasyonu, akrozom reaksiyonu ve oosit-sperm füzyonu ve benzeri birçok fizyolojik mekanizmada ciddi rol üstlenirler (154,155).

**Tablo-11:** Oksijen ve azot kaynaklı reaktif bileşikler

Radikaller	Radikal olmayanlar
Hidroksil	Hidrojen peroksit
Alkoksil	Singlet oksijen
Peroksil	Ozon
Süperoksit	Hipoklorik asit
Nitrik oksit	Lipit hidroperoksit
Azot dioksit	Peroksinitrit

Sperm kendisine has yapısal bileşimi nedeniyle oksidatif hasara karşı özellikle duyarlıdır. Sperm hücre membranı yüksek oranda doymamış yağ asidi içerir ve bunların reaktif oksijen

ürünleri ile peroksidasyona uğraması sonucu membran bütünlüğünde bozulma meydana gelmeye başlar. İmmatür spermatozoa ve seminal lökositler reaktif oksijen ürünleri için ana rezervlerdir. İmmatür spermatozoada ROS, hücre membranındaki ve mitokondrideki enzim seviyeleri oranında üretilir (Şekil 17). (156). Seminal lökositlerde NADPH oksidaz üzerinden  $H_2O_2$  üretilir.  $H_2O_2$  en toksik SOR türü olup membrandan geçerek hücre çekirdek ve organellerine zarar verebilir. Yapılan bir sürü araştırma oksidatif stresin sperm fonksiyonu ve neticede fertilitiyi etkileyen önemli bir parametre olduğunu ortaya koymuştur (157).



**Şekil-17:** İmmatür spermatozoanın SOR üretim mekanizması (Kaynak: Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları Ve Tedavisi, 2013 Türk Androloji Derneği)

Seminal sıvı erkek üreme yollarındaki glandların fizyolojik bir salgısıdır. Seminal plazmayı başlıca seminal veziküllerin, prostat ve bulboüretal glandların salgıları oluşturur. Seminal plazma hormonal, enzimatik ve yüzey modifiye edici olaylar aracılığı ile spermatozoanın matürasyonunda ve taşınmasında önemli rol oynar (158). Seminal plazmanın organik içerikleri sperm metabolizmasının, pH ve osmolaritesinin sürdürülmesinde önemlidir ve bu içerikler arasında proteinler memelilerde sperm fonksiyonlarına en önemli katkıyı sağlarlar. Seminal plazma proteinlerinin çoğu seminal vezikülün sekretuar ürünüdür (158). Seminal plazma ROS ile indüklenmiş hasara karşı spermatozoayı koruyabilmek için güçlü bir antioksidan kapasiteye sahiptir (154). Bu koruyucu sistem ROS' a bağlı zincirleme reaksiyonu durduran, oksidan radikalleri toplayan veya nötralize eden antioksidan moleküller içerir. Bu antioksidan moleküller epididim, seminal vezikül ve prostat tarafından sentezlenir. Seminal sıvıdaki başlıca antioksidanlar aşağıdaki tablo'da (Tablo 12 ) gösterilmiştir.

**Tablo-121:** Seminal plazmadaki başlıca antioksidan sistem molekülleri

Enzimatik antioksidanlar	Enzimatik olmayan antioksidanlar		
	Suda çözünen radikal tutucular	Yağda çözünen radikal tutucular	Metal iyonlarını bağlayan proteinler
Katalaz	Glutasyon	E vitamini	Albumin
Süperoksit dizmutaz	Askorbik asit	A vitamini	Transferrin
Glutasyon peroksidaz	Ürat	Ubikinol	Laktoferrin
Glutasyon redüktaz	Sistein		Seruloplazmin
	Taurin		
	Hipotaurin		
	Piruvat		

### 2.6.1. Serbest Oksijen Radikallerinin Sperm Fizyolojisi Üzerine Etkileri

SOR, sperm matürasyona ulaşabilmesi için elzemdir. Düşük düzeydeki SOR fertilizasyon, kapasitasyon, hiperaktivasyon, motilite ve akrozomal reaksiyon gibi olaylar için gereklidir (159,160). Kapasitasyonun başlangıç evresinde hücre içi kalsiyum konsantrasyonu artmaya ve reaktif oksijen ürünleri oluşur. Daha sonra cAMP konsantrasyonu artar ve hiperaktivasyon olarak bilinen sperm ileri derecede hareketlilik kazandığı evre başlar. Yalnızca kapasitasyonunu tamamlamış olan sperm yüksek motiliteye ulaşabilir ve akrozomal reaksiyonu gerçekleştirip fertilite yeteneği kazanabilir. Çok sayıda hayvan ve insan modelli çalışma SOR'un sperm kapasitasyonunu desteklediğini bildirmiştir (161). SOR'nin fizyolojik düzeyini bilmek infertilite etyolojisinde idiyopatik erkek faktörünün rolünü anlamada önemli olacak gibi görünmektedir (162).

### 2.6.2. Oksidatif Stresin Sperm Kromatin Hasarı ve Sperm İşlevleri Üzerine Etkisi

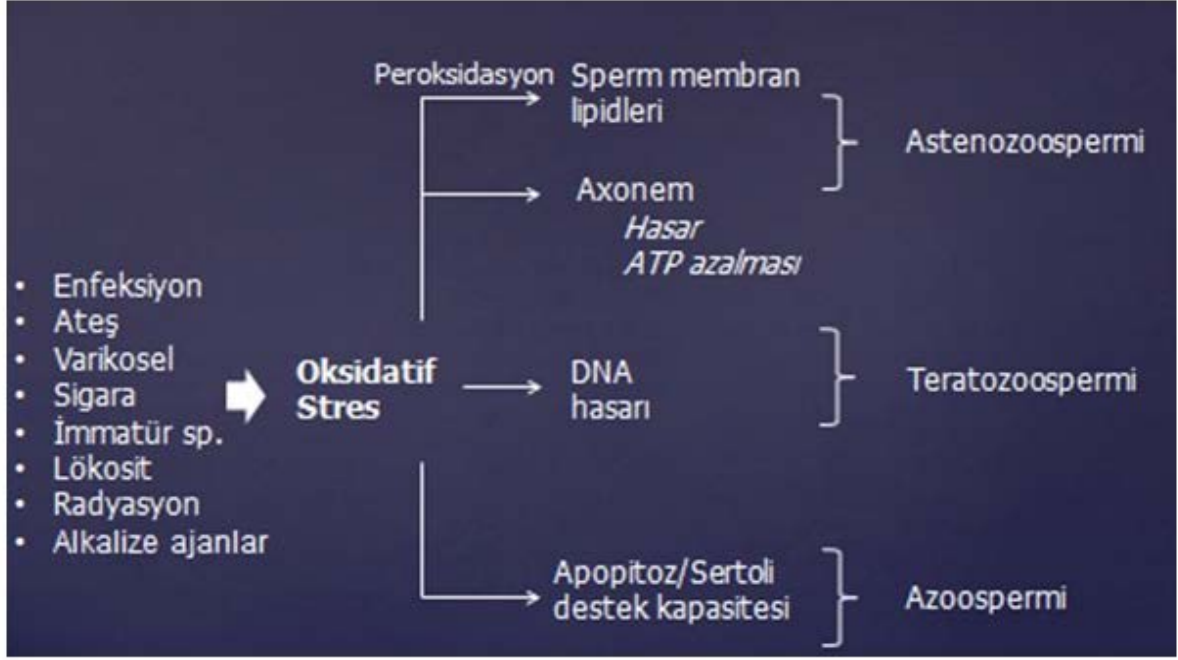
Kanıtlar yüksek düzey SOR'nin testiste matür spermatozoadaki DNA'yı da içeren çok sayıda hücresel elementte hücresel hasara yol açtığını göstermektedir. DNA oksidasyonu neticesinde ortaya çıkan bir yan ürün olan 8-hidroksi- 2-deoksiguanozinin oksidatif DNA hasarında biyomarker olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir (163). Nükleer faktör-kappaB (NF-kappaB) ekspresyonu, indüklenmiş NO sentaz (iNOS) ve 8-hidroksi-2' -deoksiguanozin (8-OHdG) oksidatif hasarın biyolojik göstergeleridir ve varikoseli olan infertil hastalarda

seviyelerinde anlamlı artış görülmüştür. Bu durum varikoselde ortaya çıkan oksidatif stresin erkek infertilitesi ile ilişkili olabileceğini ortaya koymaktadır (164).

DNA'daki hasar düzeyi düşük olduğu zaman spermatozoa kendini tamir etme imkanı bulabilir. Ancak, hasar ileri seviyede olduğunda apoptozis ve embriyoda parçalanma meydana gelmektedir (165). Sperm örneklerinin yüksek oranda hasarlı DNA içerdiği infertilite vakalarında düşük fertilitite hızı ile embriyo bölünmesinde ve kalitesinde düşüklük olduğu bildirilmiştir. Y kromozomunda delesyona yol açan DNA hasarı sonraki erkek çocuklarda kısırlığa yol açabilir. Sperm DNA'sındaki hasar infertil çiftlerin tedavisinde artarak kullanılan üreme teknolojisinde kritik bir faktördür (166,167).

ROS aynı zamanda mitokondri DNA'sını nükleer DNA'ya göre daha yüksek oranda etkileyebilmektedir. Bu hasarın infertiliteyi de içine alan çok sayıda patolojinin sebebi olduğu düşünülmektedir. Mitokondride ROS üreten elektron taşıma zincirinin DNA'ya daha yakın olması, yetersiz DNA tamir mekanizmaları, histon proteinlerinin olmaması neticesinde daha az kompakt bir DNA'nın olması ve böylece serbest radikallere daha fazla maruz olunması mitokondri DNA'sının daha hassas ve korunmasız hale gelmesinin sebepleridir (168).

Serbest oksijen radikallerinin artması veya antioksidan aktivitenin yetersiz kalması sonucu seminal oksidatif stres gelişir ve bu durum da sperm fonksiyonları ile birebir koreledir (Tablo 13) Peroksiredoksinler (PRDXs) insan semeninde bol miktarda bulunan ROS-bağımlı sinyal modülatörü ve ROS temizleyicisi olarak hareket eden antioksidan enzimlerdir. İnfertil erkeklerde PRDX1 ve PRDX6 düzeylerinde düşük ve peroksiredoksinlerin yüksek tiol oksidasyonu saptanmış olup bu da sperm fonksiyonlarında azalma ve sperm DNA bütünlüğünde bozulma ile ilişkilidir. Oksidatif strese karşı, insan spermının korunmasında PRDXs önemli rol oynar (169). Kronik stres nedeniyle oluşan oksidatif stres ve inflamasyon, germ hücrelerini azaltmakta ve sperm sayısında azalmaya yol açmaktadır (170).



**Şekil-20:** Yaşam tarzı ve oksidatif stres. Yaşam tarzıyla ilgili birçok faktör spermde toksik ROS ürünlerinin artmasına neden olur. Bunlar da oksidatif stres mekanizması ile sperm kalitesini olumsuz etkiler. Bu olumsuz etkileri sperm analizinde sayı, hareket ya da normal şekillerde azalma olarak gözleriz (Kaynak: Oxidative stress and male reproductive health. Asian J Androl. 2014 Jan-Feb;16(1):31-8.).

### 2.6.3. Seminal Plazmadaki Antioksidanların Saptanması

Antioksidanlar, radikal oluşumunu sınırlama, tetiklenen biyokimyasal reaksiyonların kırılmasına neden olma, oluşan radikalleri yok etme ve zarar görmüş molekülleri düzeltme ya da temizleme gibi çeşitli mekanizmalarla etkilerini ortaya koyabilirler. Antioksidan sistem; enzimleri suda ya da yağda çözünen radikal tutucularını ve metal iyonlarını bağlayan proteinleri kapsar (Tablo 14). Çeşitli araştırmalarda total antioksidan kapasite ölçümünün erkek faktör infertilitesinde değerlendirmede önemli bir gösterge olabileceği ortaya konmuştur (171,172).

**Tablo-132:** Seminal plazmada sıklıkla ölçülen oksidan-antioksidan moleküller

<b>Prooksidanlar</b>	<b>Antioksidanlar</b>
Oksidatif stres göstergeleri 1.Lipit peroksidasyonu: Malondialdehit 8-izoprostan 2.Protein oksidasyonu: Protein karbonil grupları 3.DNA oksidasyonu: 8-hidroksideoksiguanozin	1.Total antioksidan kapasite 2.Non-enzimatik antioksidanlar: Glutasyon Total tiyol E vit C vit Eser elementler(çinko) 3.Enzimatik antioksidanlar: Katalaz
Nitrozatif stres göstergeleri: 1.Nitrit ve nitrat 2.Nitrotirozin	Süperoksit dismutaz Glutasyon

#### **2.6.4. Antioksidanlar ve Tedavide Kullanımı**

Antioksidanlar, bazı hastalıkların oluşmasında tetikleyici rol oynayan "oksidatif stres" sonucu açığa çıkan serbest radikallerin oluşmasını engellemekle görevli bir takım moleküllerdir (173). Savunma sistemleri genellikle enzimatik olmakla birlikte kimyasal serbest oksijen radikallerini temizleyici moleküller de savunmada rol alabilmektedir.

Seminal plazmadaki total antioksidan kapasite, oksidatif stres oluşumunda önemli bir etkidir. İnfertil erkeklerde bu kapasite fertil olanlara göre daha zayıftır. Ancak oksidatif stres gelişmesinde antioksidan kapasitedeki düşüklükten çok, aşırı oksijen radikalleri üretiminin neden olduğu düşünülmektedir (174,175).

Yapılan çalışmalarda antioksidanların spermatozoayı SOR üreten anormal spermatozoalardan koruduğu, DNA fragmantasyonunu engellediği, sigara içen erkeklerde semen kalitesini arttırdığı, erken sperm matürasyonunu engellediği ve spermatozoayı destekleyerek yardımcı üreme tekniklerinin başarısını arttırdığı kanıtlanmıştır. Seminal plazmada süperoksit dismutaz, katalaz, glutasyon peroksidaz ve glutasyon redüktaza ek olarak askorbat, urat, vitamin E,

piruvat, glutatyon, alburnin, vitamin A, ubikinol ve hipotaurin gibi enzimatik olmayan antioksidanlar vardır.

## 2.7. Nlrp3 İnflamazom Etki Mekanizması Ve İnflamatuar Hastalıklar İle İlişkisi

İnsanlarda görülen neredeyse tüm hastalıklar inflamasyonla güçlü bir şekilde ilişkilidir ve kesin mekanizmanın derinlemesine anlaşılması tedavi için yararlı olabilir. NLRP3 proteini, procaspase-1 ve ASC'den (Apoptosis-associated speck-like protein containing a caspase-recruitment domain) oluşan NLRP3 (NLR family pyrin domain containing 3) enflamozomu, inflamasyonun düzenlenmesinde hayati bir rol oynar.

İlk kez 2002 yılında Martinon ve arkadaşları tarafından tanımlanan inflamazomlar (176,177), güçlü inflammatuar moleküllerin aktivasyonuna aracılık eden bir protein sitozolik kompleksler sınıfıdır. Bu moleküller, çeşitli patojenlere karşı doğuştan gelen bağışıklık sisteminin ayrılmaz parçalarıdır. Aynı şekilde çok sayıda proinflammatuar sitokin ekspresyonunu, olgunlaşmasını ve salınmasını teşvik eden ve bir dizi inflammatuar cevabı tetikleyen hücrel enfeksiyonlar veya stresörler üzerine aktive edilirler (178,179).

NLRP3 inflamazomunun anormal aktivasyonu, Cryopyrin ilişkili periyodik sendromlar, Alzheimer tipi demans hastalığı, tip 2 diyabet ve ateroskleroza içeren çeşitli inflammatuar bozukluklarla ilişkilidir. NLRP3 inflamazomu, çeşitli uyaranlarla aktive edilir. İyon akışı, mitokondriyal disfonksiyon, reaktif oksijen türlerinin üretimi ve lizozomal membran hasarı dahil olmak üzere çoklu moleküler ve hücrel olayların NLRP3 molekülünün aktivasyonunu tetiklediği gösterilmiştir.

Toll like reseptörler (TLR), C-tipi lektinler (CTL-C-type lectins) ve galektinler içeren yeni tanımlanmış bir tip tanıma reseptörleri olan NOD (Nucleotide-binding oligomerization domain) like reseptörleri (NLRs), patojenik mikroorganizmaları ve diğer endojen veya ekzojen patojenleri saptamak için doğal bağışıklık sistemine aracılık eder ve inflamazom sisteminin de önemli bir parçasıdır (180,181). Bu moleküller sitoplazma içinde bulunurlar ve patojen ya da çeşitli hasarlara bağlı moleküler paternleri (PAMP-DAMP) tanırlar (PAMPs-Pathogen-associated molecular pattern molecules/DAMPs-damage-associated molecular pattern) (182,183).

Enflamozomları oluşturduğu onaylanmış beş PRR (Pattern-recognition receptor) üyesi vardır. Nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı (NOD), lösin açısından zengin tekrar alanları (LRR-leucine-rich repeat) içeren protein, NLR ailesi üyeleri NLRP1, NLRP3 ve NLRC4 ile ayrıca AIM2 (Absent-in-melanoma 2) ve pyrin (184,185). Ek olarak, NLRP2, NLRP6, NLRP7, NLRP12 ve IFI16 gibi diğer PRR üyelerinin de enflamozomları oluşturduğu bildirilmiştir (186,187).

Bu enflamozomlar arasında NLRP3 inflamazomu, hem bağışıklık tepkilerini şekillendirmede hem de birçok yaygın enflamatuvar hastalıkta bağırsak homeostazının bütünlüğünü düzenlemede önemli bir rol üstlenir (188,189).

Doğuştan gelen bağışıklık sistemi, konakçı savunma sisteminin ilk hattıdır ve kodlanmış tanıma reseptörleri olan PRR'lerin etkileşimi sonucunda patojenler, ölü hücreler veya çevresel inflamatuvarlar gibi zararlı uyarılara yanıt olarak aktive olur (190). PRR'ler, endojen stres tarafından üretilen patojene bağlı moleküler paternler-PAMP veya hasara bağlı oluşan moleküler paternler-DAMP olarak adlandırılan benzersiz mikrobiyal bileşenlerin varlığını tanır ve mikrobiyal enfeksiyonu ortadan kaldırmak ve hasarlı dokuları onarmak için enflamatuvar akım yollarını tetikler.

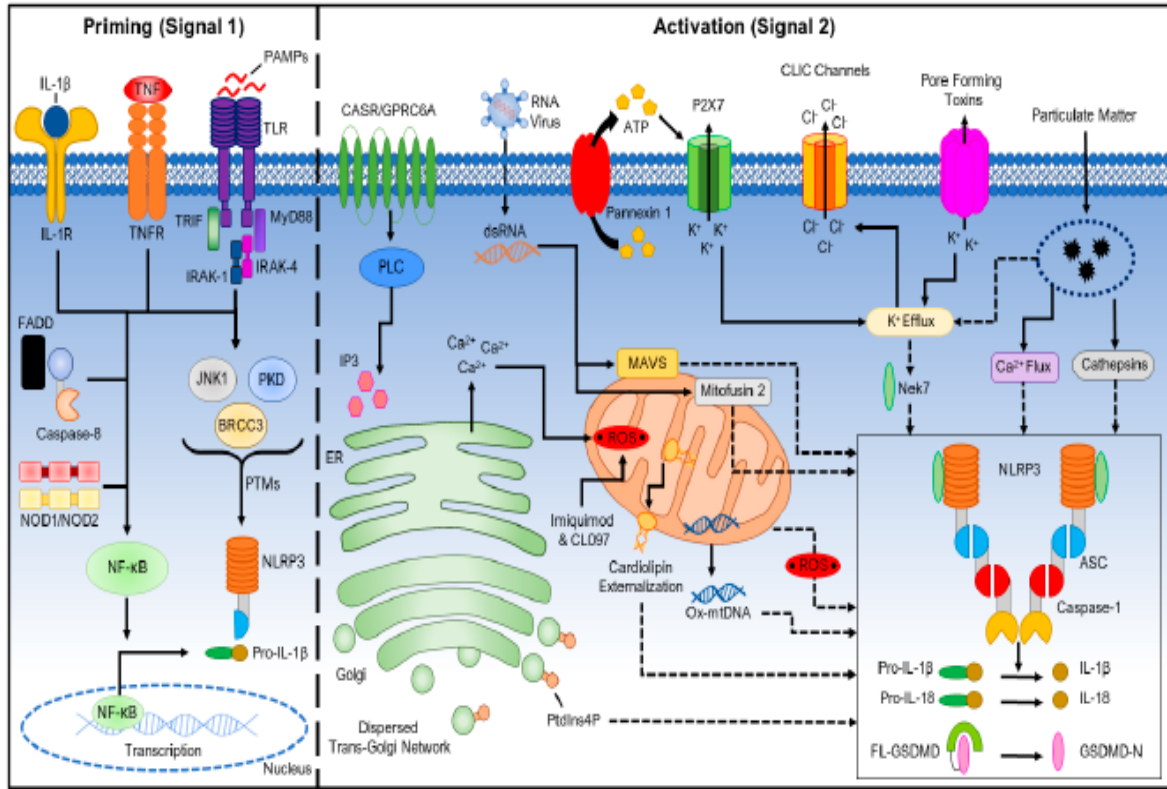
Enflamatuvar kaspaz-1'i aktive eden bir grup hücre içi multimerik protein kompleksi olan enflamozomların aktivasyonu, majör bir enflamatuvar yoldur (191). Bir inflamazom, DAMP'lere veya PAMP'lere yanıt olarak pro-kaspaz-1 aktive edici bir platform oluşturmak için oligomerize olan bir sensör proteini (PRR) ile tanımlanır.

Kaspaz-1, bir inflamasyon oluşmaya başladığında otokatalitik aktivasyon yoluyla aktive edilir. Aktif kaspaz-1, pro-IL-1 (pro-interlökin-1) ve pro-IL-18 (pro-interlökin-18) sitokinlerini olgun ve biyolojik olarak aktif formlarına ayırır (192,193). Aktif kaspaz-1 ayrıca, Gasdermin D'yi (GSDMD) ayırır, böylece piroptoz olarak adlandırılan bir litik, inflamasyon önleyici hücre ölümünü tetikler (194, 195, 196, 197).

NLRP3 inflamazomu bakteriyel, fungal ve viral enfeksiyonlara karşı konak immün savunma sisteminde kritik bir rol oynar (198, 199, 200, 201). Bununla birlikte, NLRP3 inflamazomu kontrolsüz olduğunda, kriyopirinle ilişkili periyodik sendromlar (CAPS- Cryopyrin-associated periodic syndromes), Alzheimer hastalığı, tip 2 diyabet, gut, otoenflamatuvar hastalıklar

ve ateroskleroz dahil olmak üzere, çeşitli enflamatuvar bozuklukların patogeneğinde etkilidir (202,203).

NLRP3 inflamazomu, yapısal ve kimyasal olarak farklı olan çok çeşitli uyarılar tarafından aktive edildiği için NLRP3'ün doğrudan bu uyarılara bağlanması olası değildir (204). Bunun yerine, NLRP3'ün uyarılarının neden olduğu ortak bir hüresel olayı algılaması önerilir. Ancak bu hüresel olayın kimliği hala tartışmalıdır. Şu anda, NLRP3 inflamazom aktivasyonu için iki sinyalli bir model geçerlidir (Resim 4).



**Şekil-21:** NLRP3 İnflamazom Aktivasyonu için İki Sinyal Modeli.

Hazırlama sinyali (sinyal 1, sol), mikrobiyal bileşenler veya endojen sitokinler tarafından sağlanır. Transkripsiyon faktörü NF-κB ve sonrasında NLRP3 ve pro-interlökin-1'in upregülasyonu sağlanır. Kaspaz-8 ve FAS aracılı ölüm domeini proteini (FADD- FAS-mediated death domain protein) ve NOD1 / 2, NF-κB yolunun düzenlenmesi adımıında yer alır. NLRP3, etkinleştirilmesini takiben çeşitli değişikliklere uğrar. Aktivasyon sinyali (sinyal 2, sağ), hücre dışı ATP, gözenek oluşturucu toksinler, RNA virüsleri ve partikül madde gibi çeşitli uyarılarla sağlanır. İyonik akış, mitokondriyal disfonksiyon, reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi ve lizozomal hasar dahil olmak üzere çoklu moleküler veya hüresel olayların NLRP3 inflamazomunu aktive ettiği gösterilmiştir (205).

### 2.7.1. NLRP3 İnflamazomunun Hazırlanması (Sinyal 1)

Makrofajlar için sadece NLRP3 aktivatörlerinin varlığı, inflamazom aktivasyonunu indüklemek için yetersizdir ve aktivasyonun gerçekleşmesi için bir priming sinyale (Sinyal 1) ihtiyaç vardır (206). Makrofajlar öncelikle TLR'ler, NLR'ler (örn. NOD1 ve NOD2) için ligandlar veya NF- $\kappa$ B transkripsiyon faktörünü aktive eden sitokin reseptörleri gibi primer uyarılara maruz bırakılmalıdır. NF- $\kappa$ B, istirahat koşulları altında inflamasyon aktivasyonunu başlatmak için yetersiz konsantrasyonlarda olduğu düşünülen NLRP3 ve istirahat makrofajlarında yapısal olarak ifade edilmeyen pro-IL-1 ekspresyonunu düzenler (206). Ayrıca NF- $\kappa$ B'nin hem sinyal molekülleri MyD88 (Myeloid differentiation primary response 88) hem de TRIF (TIR-domain-containing adapter-inducing interferon-beta) sinyalleme yolu, TLR ligandlarına yanıt olarak NLRP3 ve pro-IL-1'in uyarılmasını düzenler (206).

Caspase-8, NF- $\kappa$ B transkripsiyonu ve translokasyonunun indüksiyonunu teşvik etmek için hazırlamayı takiben NF- $\kappa$ B aktivasyonu için önemli bir element olan IKK (Inhibitor of NF- $\kappa$ B kinase) kompleksi ile etkileşime girer (207).

FADD'nin, NF- $\kappa$ B sinyalleme yolunda ikili bir rolü vardır, çünkü aynı zamanda apoptozu teşvik ederek NF- $\kappa$ B aktivasyonunu bastırıldığı bildirilmektedir (208). Hazırlama sinyalinin, NLRP3 ve pro-IL1'i upregüle ederek, NLRP3 enflamozom aktivasyonunda esas olarak transkripsiyonel bir rol oynadığı düşünülmektedir (206).

Hızlı bir hazırlama prosedüründe lipopolisakkaritlerle akut bağlanma, NLRP3 indüksiyonu olmadan NLRP3 inflamazom aktivasyonunu artırır (209,210).

TLR'lerin ve MyD88'in akış yönünde sinyal veren bir molekül olan IL-1 reseptörü ile ilişkili kinaz 1 (IRAK-1- IL-1 receptor associated kinase), bu transkripsiyondan bağımsız bu hızlı kullanıma hazırlamaya aracılık eder (211,212). Ayrıca NLRP3, LRR alanında ubiquitinedir. Ve hazırlama sinyalleri, NLRP3 inflamazom aktivasyonunu teşvik etmek için Zn<sup>+2</sup> metaloproteaz içeren bir JAMM (JAB1/MPN/MOV34 metalloenzymes) alanı olan deubiquitinating enzim BRCC3 (BRCC36 in humans) yoluyla deubiquitinasyonunu indükler (213,214). Hazırlama sinyalleri NLRP3'ün kendi kendine birleşme ve inflamatuvar aktivasyon için kritik bir olay olan JNK1 (c-Jun N-terminal kinase) aracılı NLRP3 fosforilasyonunu tetikler (215). Ek olarak, yakın tarihli bir çalışma, TLR4'ün aşağı akış yönündeki hazırlama sinyallerinin, NLRP3 enflamozom

aktivasyonunda gerekli olan mitokondriyal DNA sentezini indüklemek için transkripsiyonel faktör IRF1'i (Interferon regulatory transcription factor 1) aktive ettiğini göstermiştir (216). Sonuç olarak, hazırlama sinyalleri, transkripsiyona bağımlı ve bağımsız yollardan NLRP3 inflamazom aktivasyonunu düzenler (Resim 4).

## **2.7.2. NLRP3 İnflamazomunun Etkinleştirilmesi (Sinyal 2)**

NLRP3 hazırlama adımından sonra ATP, K<sup>+</sup> iyonoforlar, hem, çeşitli partiküller, patojene bağlı RNA ve bakteriyel, fungal toksinler dahil olmak üzere çok çeşitli uyaranlarla aktive edilebilir (217,218,219,220,221,222). Şu anda iyonik akış, mitokondriyal disfonksiyon, ROS üretimi ve lizozomal membran hasarı dahil NLRP3 uyaranları tarafından uyarılan çoklu moleküler ve hücrel sinyal olaylarının NLRP3 enflamozomunu aktive ettiği gösterilmiştir (Resim 4).

### **2.7.2.1 İyonik Akış**

NLRP3 uyaranları tedavi edilen hücrelerdeki K<sup>+</sup> efflux, Ca<sup>+2</sup> mobilizasyonu, Cl<sup>-</sup> efflux ve Na<sup>+</sup> akışını içeren NLRP3 enflamozomunun aktive edilmesinde rol oynayan iyonik akım olaylarını indükler.

#### **2.7.2.1.1. K<sup>+</sup> Akışı**

K<sup>+</sup> çıkışı, çoğu NLRP3 uyarımı ile tedavi edilen hücrelerde meydana gelen yaygın bir iyonik olay olarak bilinmektedir. K<sup>+</sup> 'nın sitozolik akışının, IL-1 olgunlaşmasına aracılık ettiği ve şu anda NLRP3 uyarımı olarak bilinen inflamazomların keşfi ile ilgili çalışmalarda ATP veya nigerisine yanıt olarak makrofajlardan ve monositlerden salındığı bulunmuştur (223,224,225,226).

Tek başına K<sup>+</sup> çıkışı, NLRP3'ü aktive edebilir ve yüksek hücre dışı K<sup>+</sup> konsantrasyonu, NLRP3 enflamozomunun aktivasyonunu bloke edebilir (227,228). Bu nedenle, hücre içi K<sup>+</sup>'nın azalmasının NLRP3 inflamazom aktivasyonu için ortak tetikleyici olduğu düşünülmektedir (227). Ayrıca, kaspaz-11 aracılı kanonik olmayan enflamozom yolağında NLRP3 aktivasyonu için K<sup>+</sup> çıkışı gereklidir. Ek olarak potasyum akışı IL-1 olgunlaşmasını destekleyen Ca<sup>+2</sup> bağımsız fosfolipaz A2'nin aktivasyonuna yol açar (229). Özet olarak, çalışmalardaki bulgular K<sup>+</sup> efflux'un NLRP3 inflamazom aktivasyonu için yeterli olduğunu, ancak gerekli olmadığını göstermektedir.

### 2.7.2.1.2. Ca<sup>2+</sup> Mobilizasyonu

NLRP3 inflamazom aktivasyonunda Ca<sup>2+</sup> mobilizasyonunun rolü, birçok hücre içi sinyal yolunda yaygın olmasına rağmen tartışmalıdır (230). ATP, nigerisin ve partikül madde gibi çoklu NLRP3 uyarılarının hücre içi Ca<sup>2+</sup> konsantrasyonundaki değişiklikleri indüklediği gösterilmiştir (231). Birden fazla Ca<sup>2+</sup> kaynağının, NLRP3 inflamazom aktivasyonu sürecinde hücre içi Ca<sup>2+</sup> artışına katkıda bulunduğu bildirilmiştir.

Fosfolipaz C, GPCR'lerin (G-protein-coupled receptors) CaSR (calcium-sensing receptor) ve GPRC6A gibi NLRP3 uyarıları ile uyarılması üzerine aktive edilir ve daha sonra IP3 (inositol 1,4,5-triphosphate) üretmek için PIP2'yi (phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate) hidrolize eder (231). IP3 daha sonra, IP3 reseptörü olarak adlandırılan bir ligand kapılı iyon kanalı yoluyla endoplazmik retikulum lümeninden sitozole Ca<sup>2+</sup> akışını indükler (231). Ayrıca IP3R'nin (IP3 receptor) 2APB (2-aminoetoksi difenilborinat) tarafından inhibisyonu Ca<sup>2+</sup> akışını ve NLRP3 aktivasyonunu önler (232). Kaynağından bağımsız olarak, bu uyarı kaynaklı sitozolik Ca<sup>2+</sup> artışının NLRP3 inflamazom aktivasyonu için kritik olduğu gösterilmiştir. Özetle, Ca<sup>2+</sup> mobilizasyonu NLRP3 inflamazom aktivasyonu için gerekli olmayabilir, ancak belirli koşullar altında NLRP3 inflamazom aktivasyonunda düzenleyici bir rol oynayabilir.

### 2.7.2.1.3. Na<sup>+</sup> ve Cl<sup>-</sup> Akışı

Na<sup>+</sup> akımı ve Cl<sup>-</sup> çıkışı, NLRP3 inflamazom aktivasyonunda rol oynayan iki ek iyonik olaydır. Hücre dışı Na<sup>+</sup>'yı azaltarak Na<sup>+</sup> akışını engellemek NLRP3 inflamazom aktivasyonunu inhibe eder (227). Na<sup>+</sup> iyonoforları tarafından indüklenen tek başına Na<sup>+</sup> akışı, NLRP3 inflamazomunu aktive edemez (227). Bu nedenle Na<sup>+</sup> akımı, muhtemelen uyarıların neden olduğu K<sup>+</sup> akışını regüle ederek, NLRP3 inflamazom aktivasyonunda düzenleyici bir rol oynar.

### 2.7.2.1.4. Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ve Mitokondriyal Disfonksiyon

NLRP3 inflamazom aktivasyonunda ROS ve mitokondrinin rolü hala tartışmalıdır. Çoğu NLRP3 uyarımı, tedavi edilen hücrelerde ROS indükleyebildiğinden, ROS, NLRP3 inflamazom aktivasyonu için ortak sinyal olarak değerlendirilmiştir. Ve lizozomal NADPH oksidazın başlangıçta ROS üretiminin kaynağı olduğu düşünülmüştür (233,234). Mitokondrilerin, solunum

fonksiyonları yoluyla ROS ürettiği bilinen başka bir kaynaktır ve ROS üretimi yoluyla da enflamozom aktivasyonu ile ilişkili oldukları bildirilmektedir.

Nakahira ve ark. LPS ve ATP'ye yanıt olarak NLRP3 inflamazom aktivasyonu için disfonksiyonel mitokondriden üretilen mtROS'un gerekli olduğunu ve mtDNA'nın hem NLRP3 hem de mtROS-bağımlı bir şekilde sitozole salındığını bulmuştur (235). Benzer şekilde Shimada ve ark. mtDNA'nın hem NLRP3 hem de AIM2 ile etkileşime girmesine rağmen, oksitlenmiş mtDNA'nın NLRP3 inflamazom aktivasyonu için özellikle gerekli olduğunu öne sürmüştür (236). Bu bulgular, mitokondrinin NLRP3 inflamazomunun montajı için köprü görevi olarak işlev görebileceğini düşündürmektedir.

#### **2.7.2.1.5. Lizozomal Hasar**

MSU (Monosodium urate), silika, asbest, amiloid, kolesterol ve kalsiyum kristalleri gibi partiküler maddeler, makrofajlarda NLRP3 enflamozom aktivasyonunu indükler (233, 237, 238, 239, 240, 241, 242). Partikül madde fagositozdan sonra lizozomlara zarar verir, bu da lizozomal içeriklerin sitozole sızmasına neden olur. Lizozomal bozulma, partikül madde tarafından NLRP3 inflamazom aktivasyonu için kritik bir adım gibi görünmektedir, çünkü lizozomların doğrudan Leu-Leu-OMe tarafından rüptüre edilmesi NLRP3 inflamazom aktivasyonunu tetikleyebilir (238).

### **2.7.3. Kanonik Olmayan Enflamatuvar Yol ve Alternatif Enflamatuvar Yolun Aktivasyonu**

#### **2.7.3.1. Kanonik Olmayan Enflamatuvar Yol**

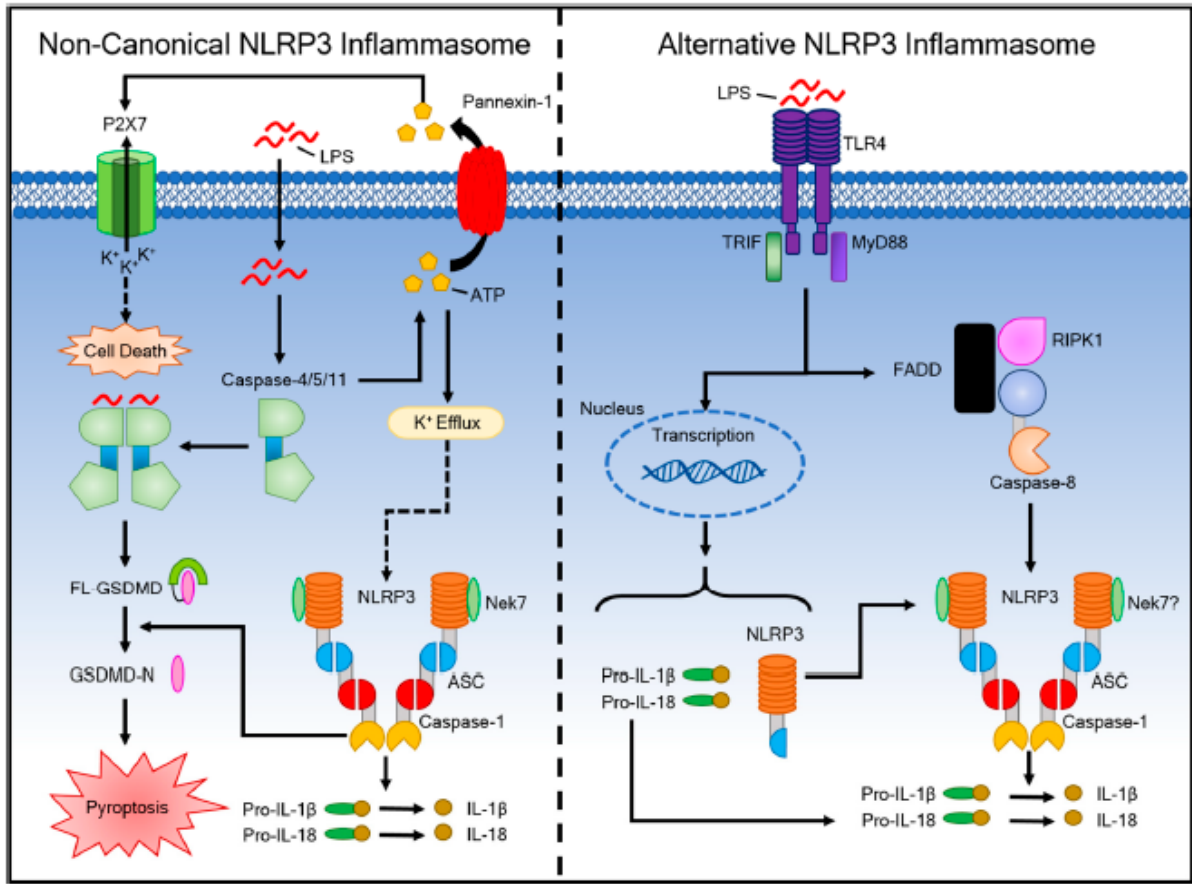
Sitoplazmik LPS'nin TLR4 sinyallemesinden bağımsız olarak endotoksik şok ortaya çıkarmak için yeterli olduğu keşfedilmiştir (243,244). Bu yola kanonik olmayan inflamazom yolu denir ve gram negatif bakterilere cevap verirken gram pozitif bakterilere cevap vermez (Resim 5). Bu kanonik olmayan inflamazom, hücre yüzeyi TLR4'ü atlamak için evrimleşen patojenlere ilişkin ek bir savunma tabakasını temsil eder. Kanonik olmayan enflamozom, kaspaz-1 yerine insanlarda kaspaz 4-5 ve farelerde kaspaz-11 içerir (245,246). Bu kaspazlar, doğrudan LPS'ye bağlanarak TLR4'ten bağımsız olarak hücre içi LPS'yi algılar (247).

Kaspazlar-4 /5 / 11, GSDMD'nin işlenmesiyle piroptozu ve hücreden ATP'yi serbest bırakan bir protein kanalı olan pannexin-1'i indükler (196, 248, 249). Bu hücre dışı ATP, K<sup>+</sup> akışını tetikleyen bir gözenek açan bir ATP-geçitli katyon seçici kanal olan P2X7R'yi aktive eder (250).

Okside oxPAPC (phospholipid 1-palmitoyl-2-arachidonoyl-sn-glycero-3-phosphorylcholine), makrofajlarda kaspaz-4 veya kaspaz-11'e doğrudan bağlanarak LPS bağlanmasıyla rekabet ettiği LPS kaynaklı piroptozu inhibe eder (251).

### **2.7.3.2. Alternatif İnflamazom Yolu**

Kanonik veya kanonik olmayan yollardan farklı olarak alternatif bir yolun işlev gördüğü gözlemlenmiştir (Resim 5). İnsan kan monositleri, kaspaz-1'i aktive etmek ve IL-1'in olgunlaşması ve sekresyonunu indüklemek için LPS stimülasyonunu takiben ikincil uyarılara ihtiyaç duymaz (252,253). Alternatif inflamazom yolu, K<sup>+</sup> efflux gerektirmez, ASC benek oluşumunu indükler veya daha sonraki piroptozu yol açar (254).

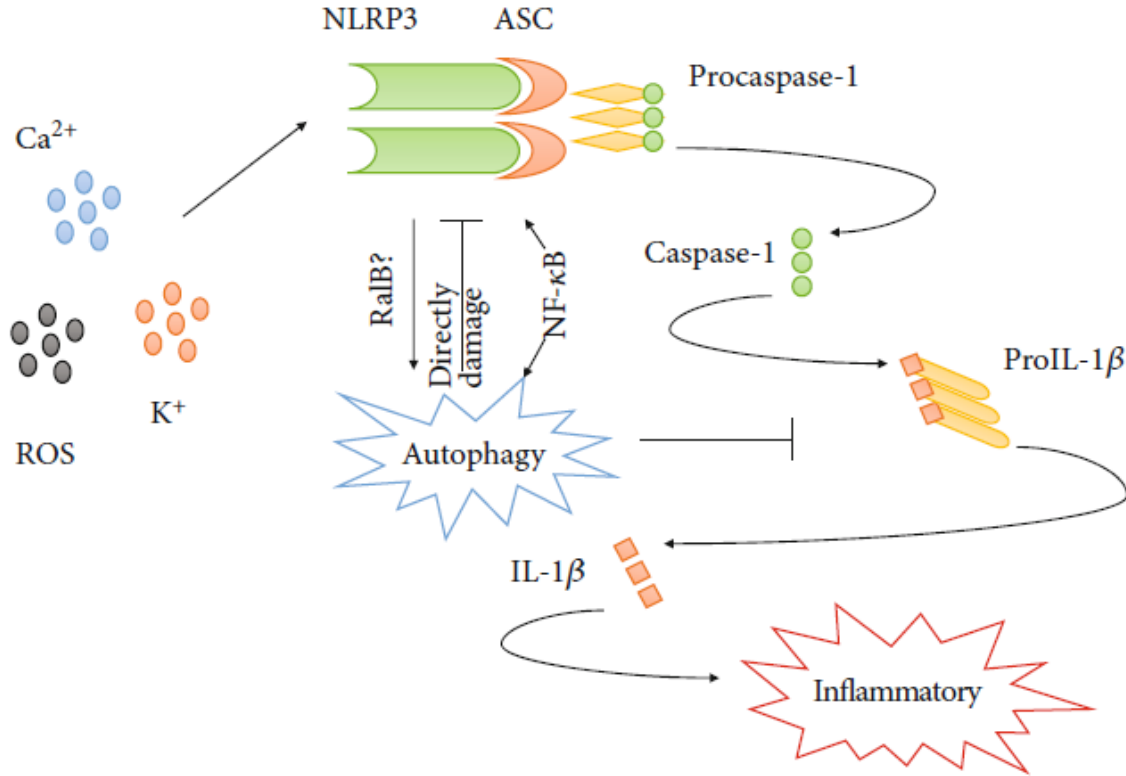


**Şekil-22:** Non-Kanonik ve Alternatif NLRP3 İnflamazom Yolları için Aktivasyon Mekanizması.

Non-Kanonik NLRP3 inflamazom aktivasyonu (solda), transfeksiyon veya enfeksiyon yoluyla sitozole LPS internalizasyonu ile indüklenir. Kaspaz-11/4/5, GSDMD'nin yarılması yoluyla piroptozu indükler. Bu durum aynı zamanda ATP'yi serbest bırakmak ve NLRP3 inflamazom düzeneğini ve IL-1'in salınmasını sağlayan K akışını indüklemek için kaspaz-11 yoluyla pannexin-1'i aktive eder. Alternatif NLRP3 inflamazomu (sağda), LPS'ye yanıt olarak insan monositlerinde aktive edilir ve aktivasyonu için RIPK1(receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1- reseptörle etkileşen serin / treonin-protein kinaz 1), FADD ve kaspaz-8 gerektirir. Bu yol K<sup>+</sup> akışından bağımsızdır ve piroptozu neden olmaz (205).

NLRP3 inflamazomu son on yılda en yoğun şekilde araştırılan inflamazom tipi olmuştur. NLRP3, bağışıklık sisteminin yanıtlarını değiştirmek suretiyle veya bağırsak homeostazının bütünlüğünü düzenleyerek çeşitli inflamatuvar hastalıklarda hayati bir rol oynar. NLRP3'ün aktive edilmesinde ROS, K<sup>+</sup> akışı ve Ca<sup>2+</sup> sinyallerinin rolü fikir birliği ile savunulmuştur. Ancak spesifik mekanizma hala belirsizliğini korumaktadır. Önemli bir fizyolojik süreç olarak otofaji, NLRP3 inflamazomu ile de güçlü bir şekilde ilişkilidir. NLRP3 ve otofajinin karmaşık bir ilişkisi

vardır ve bu ilişkinin araştırılması inflamasyon mekanizmasını anlamak için yardımcı olacaktır (Resim 6). NLRP3 inflamazomu, enflamasyon ile ilişkili birçok hastalığın tedavisi için umut verici bir hedef olarak kabul edilir.



**Şekil-23:** NLRP3 inflamazom aracılı inflamasyon ve otofaji.

NLRP3 inflamazom aracılı inflamasyon ve otofajinin karmaşık ve çift yönlü düzenleyici etkileri vardır.  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$  veya ROS tarafından stimüle edildikten sonra, NLRP3 inflamazomu etkinleştirilir ve aktif kaspaz-1 üretmek için procaspase-1'i aktive eder, bu da sitokin öncüsü pro-IL1 $\beta$  veya diğer proenflamatuar sitokinleri olgun ve biyolojik olarak aktif formlara dönüştürerek bir dizi enflamatuar yanıtı ve piroptotik hücre ölümünü tetikler. Bununla birlikte, bu işlem NLRP3 inflamazomunun zarar görmesi yoluyla otofaji tarafından düzenlenebilir ve kesilebilir. Ayrıca NLRP3, G-proteini RalB'in aktivasyonu yoluyla hücre otofajisini teşvik edebilir (255).

AMI (akut miyokard infarktüsü), SLE (sistemik lupus eritemozus) , IBD (inflamatuvar bağırsak hastalıkları), Crohn hastalığı, bakteriyel enfeksiyonlar, göz hastalıkları gibi bir sürü hastalıkta NLRP3 inflamazomunun patolojik süreçlerin düzenlenmesinde kritik bir rol oynadığı varsayılmaktadır (256 ,257, 258, 259, 260, 261, 262, 263).

Çeşitli NLRP3 inflamazom inhibitörleri geliştirilmesine rağmen, bunlar henüz FDA tarafından onaylanmamakla beraber iyileştirici etkilerinin doğrulanması için daha fazla temel ve klinik araştırmalara ihtiyaç vardır. NLRP3 inflamazomunun mekanizması üzerine derinlemesine araştırmalar ile, NLRP3 inflamazomunun kendisinin daha kesin bir mekanizmasının ve otofaji ile ilişkisinin ortaya çıkacağına ve daha spesifik ve etkili inhibitörlerin kullanılacağına inanıyoruz.

## **2.8. Üreme Biyolojisinde İnflamazom**

Son çalışmalar göstermiştir ki inflamazom ve inflamatuvar süreçler infertilite gibi üreme biyolojisiyle ilişkilidir. Üreme biyolojisi bağlamında inflamasyon kadın (264) ve erkek infertilitesi (265,266), fetal büyüme (267), endometriozis (268), preeklampsi (269), gestasyonel diyabet (270), perinatal depresyon (271), plasental inflamasyon (272), erken doğumlar (273) ve üreme yaşlanması gibi alanlarda incelenmiştir (274) .

Etkili fertilizasyon, pro ve anti-enflamatuar araçlar arasında hassas bir denge gerektirir. Bu nedenle, fertilizasyon ve erken embriyogenez sırasında enflamatuar yanıtta bir dengesizlik fertilite başarısızlığına yönelik bir sürece sebebiyet verebilir (275). Bunun yanında erkek fertilitesinde testislerde immün yanıtta NLRP3 inflamozomu için de bir rol tanımlanmıştır (276).

Ek olarak, omurilik yaralanması olan hastaların sperminde, enflamatöz proteinlerin yükseldiği (265 ) ve enflamatöz protein ekspresyonundaki bu artışın da, ASC'nin inhibisyonu ve sperm hareketliliğinin azalması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (265).

Sonuç olarak, ister kadın ister erkek üreme biyolojisini içeriyor olsun, şimdiye kadar yayınlanan veriler, başarılı üreme olasılığını artırmak için pro-enflamatuar proteinlere karşı yeterli bir anti-enflamatuar protein oranının korunmasının kritik olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, proinflamatuvar ortamı azaltmak için inflamozom oluşumunu hedeflemek umut verici bir yaklaşım olacaktır.

## **2.9. İnfertil Erkeklerde Nlrp3 İnflamazom Proteininin Seminal Plazma Seviyesinin Semen Parametrelerinin Kalitesi İle İlişkisi**

NLRP3 inflamazomu artropati gibi romatolojik hastalıklar, iskemik kalp ve böbrek hastalıkları, çeşitli vasküler hastalıklar, diyabet ve obezite, Alzheimer demansı gibi birçok

hastalığın patogeneğinde de rol oynamaktadır (277). Son birkaç yılda yapılan çalışmalarda inflamazom aktivasyonunun ve bunun sonucunda kan ve seminal plazmada proinflamatuvar sitokinlerin yükselmesinin, erkeklerde bozulmuş spermatogenezise yol açtığı gösterilmiştir (278, 279, 280). Lökosit aktivasyonunun desteklenmesi, belki de infertilite ve inflamasyon arasındaki ilişkinin temel anahtar rol oynayıcısı olabilir (281,282). Artmış sitokinler sertoli hücre fonksiyonunu etkiler ve testisteki sitokin seviyelerinde değişikliklere neden olarak spermatogenez etkileyebilir. Seminal plazmada bulunan NLRP3 proteini, artmış lökositospermi ve infertil erkeklerde kötü sperm kalitesi ile ilişkili olabilir. Bu durum aynı zamanda infertil çiftlerin intrauterin inseminasyon, in vitro fertilizasyon ve intra-sitoplazmik inseminasyon gibi farklı yardımcı üreme teknikleri sonrasında oluşan gebeliklerini de etkileyebilir.

Özellikle, üreme ile ilgili bezlerin salgı kapasitesinin bozulması, sperm akışının obstrüksiyonu, artmış pro-inflamatuvar süreç, suprafizyolojik düzeyde artmış oksidatif stres ürünleri ve patolojik spermatogenez yoluyla inflamatuvar süreçlerde seminal sıvı analizinin kalitesi düşebilir (283,284).

2013 yılında La Vignera ve arkadaşları tarafından gözden geçirilen semen inflamasyonu göstergelerinde çeşitli parametreler öne sürülmüş ve erkek genital organlarının enflamatuvar sürecine katılan enzimlere (285) ve sitokinlere (286) bağlanmıştır. Bir grup araştırmacı ise NLRP3 inflamazom proteininin fertilite için “fizyolojik düşük inflamasyon seviyesi” olarak önemini vurgulamıştır (280).

IL1 alfa'yı (287) korumak adına düşük IL-1beta seviyeleriyle birlikte Sertoli hücre üretimi için düşük NLRP3 seviyesinin gerekli olduğu ileri sürülmüştür. Ancak, daha yüksek inflamazom ekspresyonu, IL-1beta ve IL-18 gibi daha yüksek seviyedeki inflamazom aktivasyon sitokinleri ile sonuçlanacaktır (288) Ve bu durumda testislerde lökosit infiltrasyonu, hücre ölüm sinyali ve kaspaz-1 aktivasyonu gibi enflamatuvar bir süreç oluşturan proinflamatuvar sinyaller olarak ortaya çıkacaktır (289, 290, 291).

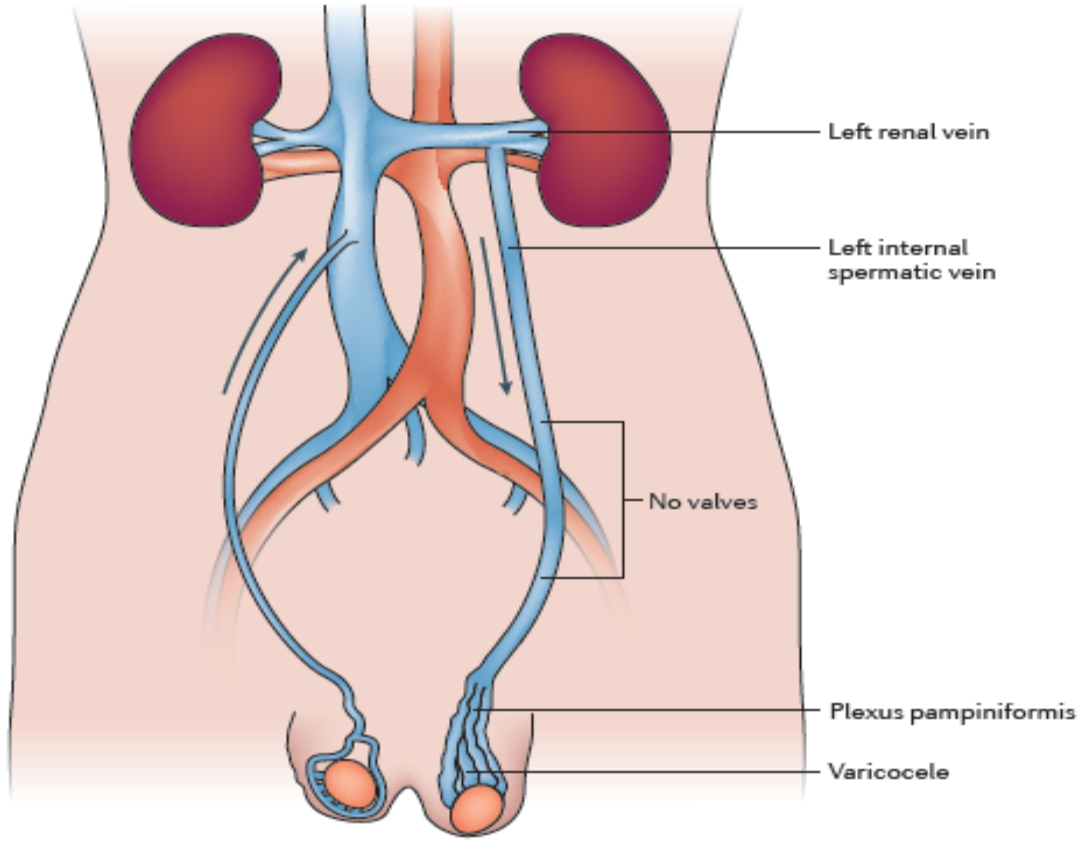
Şimdiye kadar, inflamazom ile ilgili araştırmaların birincil odağı, öncelikle monositler, makrofajlar, granülositler, dendritik hücreler, epitel hücreleri ve osteoblastlarda eksprese edilen sitoplazmik bir protein olan NLRP3 tarafından oluşturulmuştur (292). Miyeloid hücrelerdeki NLRP3 ekspresyonu diğer epitelyal ve Sertoli hücrelerinde de (280) yüksek derecede indüklenebilir durumdadır (293). Bu durum enflamatuvar süreçler için bir biyobelirteç olarak

NLRP3 miktarının avantajını sağlar ve NLRP3'ün hedef molekül olması, sperm hücresi miktarı ve kalitesinde iyileşme için önem kazanır (265).

## **2.10.Varikoselin Patofizyolojisi Ve Nlrp3 İnflamazom İle İlişkisi**

Varikosel, erkek infertilitesinin en yaygın düzeltilebilir nedenidir, ancak varikoseli olan tüm erkekler bu durumdan eşit olarak etkilenmezler. Varikosel kaynaklı infertilitenin patofizyolojisi hala tanımlanamamıştır. Kanıtlar oksidatif stresin merkezi bir faktör olduğunu düşündürürken, diğer mekanizmalar muhtemelen skrotal hipertermi, metabolitlerin reflüsü, hipoksi ve kadmiyum birikimi ile birlikte son yıllarda enflamasyonu da içerir. Bunun yanında endokrin ve testiküler parakrin bozukluklar, toksik maddelerin birikmesi, genetik bozukluklar ve otoimmünite, germ hücrelerinin proliferasyonunun ve apoptozun azalması gibi spermatogenezin bozulmasına ilişkin çeşitli hipotezler öne sürülmüştür.

Varikosel, pampiniform pleksusun kıvrımlı damarlarının anormal şekilde dilate olmuş bir koleksiyonudur. Bu damarlar ağı testislerin ve birleşimlerinin tek bir gonadal vene, internal spermatic vene boşaltılmasını sağlar. Varikosel insidansı genel popülasyonda % 4.4-22.6, primer infertilitesi olan erkeklerde % 21-41 ve sekonder infertilitesi olan erkeklerde % 75-81'dir (294). Sol gonadal ven sol renal vene daha dik açıyla drene olduğundan, genellikle sol tarafta oluşur, bu da sol testis venöz kollarında sağdan daha yüksek hidrostatik basınç ile sonuçlanır (Şekil 18). Klinik varikosel, spermatic kordun pampiniform pleksusunda anormal dilate ve kıvrımlı damarların izlenmesi olarak tanımlanır ve palpasyon bulgularına göre derecelendirilir (Şekil 18).



**Şekil-24:** Testislerden venöz drenajın anatomisi

Varikosel, kanın internal spermatic vene geri akmasıyla ortaya çıkar ve bu da pampiniform pleksusta damarların vasküler genişlemesine neden olur. Venöz kan geri akışının konjenital yetmezlik veya venöz valv yokluğundan kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca sol tarafta spermatic venin sol renal vene daha dik açıyla drene olduğundan hidrostatik basınç bu tarafta daha yüksektir. Ve varikosel bu yüzden çoğunlukla sol tarafta meydana gelir (Kaynak: Varicocele and male infertility, Nature Reviews Urology volume 14, pages523–533(2017)).

Varikoseller asemptomatik olabilir veya skrotumda kolik şeklinde ağrı eşlik edebilir. Muhtemelen artmış skrotal sıcaklığa bağlı germ hücre kaybına ikincil olarak testiküler atrofi de görülebilir (295).

### **2.10.1. Varikosel ve İnfertilite**

Varikosel ve infertilite arasındaki bağlantıyı destekleyen ilk kanıt 1952'de Tulloch tarafından yayınlanmıştır (296). Bu çalışmada Tulloch, azospermili bir erkekte varikosel

onarımının nasıl doğal bir kontrasepsiyonla sonuçlandığını anlattı. O zamandan beri varikosel ve infertilite arasındaki bağlantıyı destekleyen epidemiyolojik kanıtlar önemli ölçüde arttı. Bununla birlikte, varikoseli olan birçok erkek hala fertilitasını koruyabilmektedir. Ve etkilenen erkeklerin en az %45'i normal sperm kalitesine sahip olabilmektedir (297). Varikosel ve infertilite arasındaki kesin ilişki hala tam olarak açıklanamamış olsa da, varikosel sperm konsantrasyonunu, motilitesini, morfolojisini ve ayrıca sperm DNA bütünlüğünü olumsuz yönde etkileyebilir.

Varikoselin spermatogenezi bozabileceği uzun yıllardır bilinmesine rağmen, bu bilgi varikosel ve infertilite arasındaki ilişkiyi açıklamak için yeterli olmamıştır (298). Varikosel patofizyolojisi hakkında son 10 yılda yayınlanan kapsamlı incelemelere göre, endokrin ve testiküler parakrin bozukluklar, artmış sıcaklık ve ısı stresi, testiküler hipoksi, oksidatif stres, toksik madde birikimi, genetik bozukluklar ve otoimmünite dahil olmak üzere spermatogenezin bozulmasına neden olarak germ hücrelerinin proliferasyonunun azalmasına ve apoptoza yol açmaktadır (299). Varikosel ayrıca artan sperm DNA hasarı ile ilişkilidir ve bu sperm patolojisi varikosel aracılı oksidatif strese ikincil olabilir.

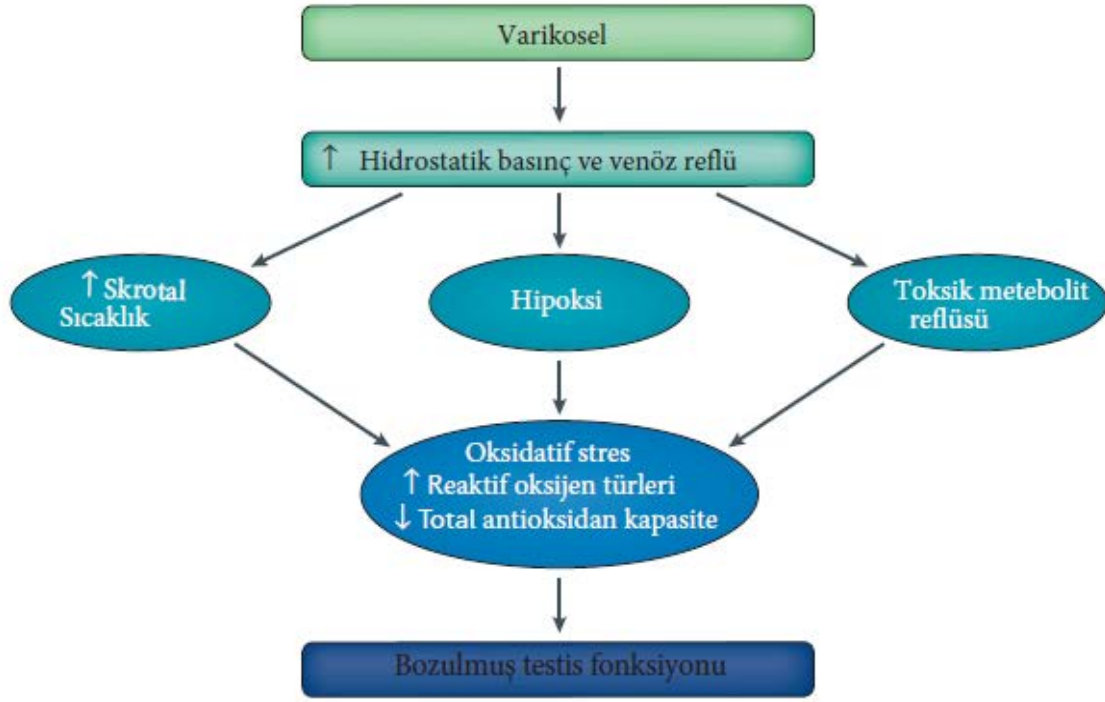
### **2.10.2. Varikoselin Testis Morfolojisi Üzerine Etkileri**

İnfertil erkekler arasındaki yüksek varikosel insidansı genellikle testislerde histolojik değişiklikler, testiküler hipotrofi ve semen parametrelerindeki bozulma ile ilişkilidir (300,301). Varikoseli taşıyan testislerde, matürasyon arresti, artmış Leydig hücreleri, kalınlaşmış tübüler bazal membranlar ve lümenleri daralmış interstisyel kan damarı duvarları ile interstisyel fibröz doku birikiminin arttığını gösteren depresif bir spermatogenez olduğu gösterilmiştir (302). Önceki çalışmalar, değişmiş germ hücre apoptozunun ve inflamatuvar süreçlerin insanda varikosel ile ilişkili infertilitede rol oynayabileceğini öne sürmüştür (303,304).

### **2.10.3. Oksidatif Stresin Merkezi Rolü**

Varikosel kaynaklı erkek infertilitesinin arkasındaki patofizyoloji karmaşıktır; ancak, oksidatif stres (OS) çok önemli bir rol oynamaktadır. OS, reaktif oksijen türleri (ROS) ve antioksidanların tamponlama kapasitesi arasındaki dengede bir bozulmayı yansıtır. Birçok çalışma OS'in sperm membranı ve DNA'da peroksidatif hasarı indükleyebileceğini, spermatogenezi bozabileceğini ve sperm hareketliliğini azaltabildiğini göstermiştir (305,306). OS'yi destekleyebilen patofizyolojik mekanizmalar arasında skrotal hipertermi, metabolitlerin reflüsü,

testiküler hipoksi ve kadmiyum birikimi bulunur (Resim 7). Varikoselin patofizyolojisi henüz tam olarak belirlenememiş olsa da, testiküler ısının artması veya testislerde artan kan akışına maruziyetin Reaktif Oksijen Türlerini (ROS) suprafizyolojik düzeylerde arttırdığı ve antioksidan enzimlerin aktivitesini baskıladığı gösterilmiştir (307,308).



**Şekil-25:** Varikosel patofizyolojisinin temsili şekli.

Oksidatif stresin artması, erkek fertilité potansiyelinin azalmasında anahtar bir olay olmaya devam etmektedir (Kaynak: Varicocele and male infertility, Nature Reviews Urology volume 14, pages523–533(2017)).

#### **2.10.4. Skrotal Hipertermi**

Varikoseli olan erkeklerde, pampiniform pleksusa retrograd venöz kan akışı skrotal ve intratestiküler sıcaklıkta bir artışa neden olabilir, bu durum daha fazla ROS üretmek için anormal bir şekilde spermatozoa ve lökositleri indükler (306). Isı stresi ayrıca antioksidan seviyelerinde azalmaya ve antioksidan enzim ekspresyonunun down regülasyonuna neden olabilir (309). Testis sıcaklığının kronik yüksek seyretmesinin testis fonksiyonunun bozulması için ana faktör olduğu kriptorşidizmde ROS'da benzer bir artış gözlenmesiyle paralellik göstermiştir (310). Ayrıca, çeşitli

hayvan modellerinde, skrotal hiperterminin androjen üretimini olumsuz yönde etkileyebileceğini, germ hücre apoptozunu artırabileceğini ve ısı şok proteinlerinin ekspresyonunu azaltabildiğini göstermiştir (311).

### **2.10.5. Metabolitlerin Reflüsü**

Varikoseli olan erkeklerde venografi, adrenal veya renal metabolitlerin geri akışında bir artışa yol açabilen retrograd akışta bir artış olduğunu göstermiştir (312). Artmış katekolamin düzeylerinin, vazokonstriksiyonun etkileri ile spermatogenezi ve hormonal seviyelerini bozduğu düşünülmektedir (313). Prostaglandin, serotonin ve nitrik oksit gibi diğer mediatörlerin de varikoseli olan hastaların spermatik venlerinde arttığı gösterilmiştir. Bununla birlikte, testis fonksiyonunu ve fertilitiyi değiştirmedeki doğrudan rolleri belirsizdir ve her zaman net olarak gösterilememiştir (314).

### **2.10.6. Testiküler Hipoksi**

Varikosellerde bozulmuş venöz kan akışı, varikoseli olan sıçanların testiküler dokularında HIF-1 $\alpha$  (hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ ) ekspresyonundaki bir artışla desteklenen lokal testis hipoksisi de oluşturabilir (315). HIF-1 $\alpha$ , hipoksi altında hücresel hayatın devamlılığını desteklemek için çoklu gen transkripsiyonunu ve translasyonunu modüle ederken (316), son çalışmalar HIF-1 $\alpha$ 'nın dekompanse veya uzamış hipoksi durumunda kök hücre proliferasyonunu çelişkili bir şekilde azaltabileceğini düşündürmektedir (317). Yakın zamanda yapılan bir proteomik analiz çalışması, HIF-1 $\alpha$ 'nın tek taraflı varikoseli olan erkeklerde ısı şoku proteinlerinin ekspresyonunu down regüle ettiğini göstermiştir. Bu çalışma ayrıca, oksidatif fosforilasyon proteinlerinin ekspresyonunun azaldığını ve NADH'nin (nicotinamide adenine dinucleotide) aşırı üretiminin arttığını gösterdi. Bu da etkilenen erkeklerden alınan spermatozoanın mitokondriyal verimi ve redoks yeteneklerini bozduğunu düşündürmektedir (318).

### **2.10.7. Varikosel İle İlişkili Oksidatif Stresin Sperm DNA Bütünlüğü Üzerindeki Etkisi**

Sperm DNA fragmantasyonu (SDF) varikosel kaynaklı infertilitedeki en önemli bulgulardan biridir. Hem tek hem de çift zincirli DNA fragmantasyonunu içeren SDF'nin, ROS üretimi ile yakın ilişkili olduğu yaygın olarak gözlemlenmiştir (319). Çoklu sistematik çalışmalarda, varikoseli olan erkeklerde SDF oranları sağlıklı kontrol gruplarına göre anlamlı

olarak daha yüksek saptanmış (320,321). Ayrıca, 1.200'den fazla hastayı kapsayan 20'den fazla çalışmanın yakın tarihli bir incelemesi, varikoselin cerrahi olarak düzeltilmesinin ameliyat sonrası 3-12 ay içinde SDF oranlarını önemli ölçüde azalttığını bildirmiştir (322). Diğer veriler varikosektominin OS belirteçlerindeki ve diğer gelişmiş sperm fonksiyonlarındaki gelişmelerle ilişkili olduğunu ve varikosel, OS ve SDF arasındaki ilişkiyi vurguladığını göstermiştir (323).

### **2.10.8. Varikosel ve Enflamozom İlişkisi**

Varikosel, multifaktöriyel etiyojisi olan erkek infertilitesinin bilinen düzeltilebilir en yaygın nedenidir. Enflamasyon, varikoseli takiben testis dokusunda meydana gelen karakteristik bir patolojik olaydır. Varikoselli testislerde, venöz göllenmeye bağlı oluşan sıcaklık artış stresi, testis dokusu üzerinde spermatogenez bozukluğu, reaktif oksijen türleri (ROS) ve apoptoz üretiminde artış gibi istenmeyen olumsuz etkilere neden olur (324). Öte yandan, dilate pampiniform pleksusta venöz kan akışının yavaşlaması arteriyel kan akışını bozarak oksijenlenmeyi kısıtlar ve böylece testis hipoksisine yol açabilen beslenme bozukluklarına sebep olur (298).

Varikoselin, IL-1 (interlökin-1), IL-6, IL-8 ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- $\alpha$ ) gibi pro-enflamatuar ve enflamatuar sitokin salınımını uyardığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (325,326). Vücutta enflamasyon nekroz veya piroptosis ile tetiklenebilir. Öte yandan, patojenlerin ve hücre fragmanlarının, ATP'nin reseptör aracılı algılanmasında ve ayrıca enflamozom adı verilen hücre içi multiprotein kompleksinin aktivasyonunda yer alır.

İnflamozomların farklı alt tipleri mevcut olup, bir multiprotein kompleksini temsil eder. Enflamozomlar pro-IL-1 ve IL-18'i aktif formlarına dönüştüren Kaspaz-1'i aktive ederek etki ederler. Farklı enflamozom türleri (NLRP1, NLRP2, NLRP3 ve AIM) arasında, Nod-like reseptör ailesinin (NALP3) rolü ve düzenlenmesi ayrıntılı incelenmiştir.

Yapılan bazı araştırmalarda kemirgenlerin ve primatların testislerinde, Sertoli hücrelerinin NLRP3 ekspresyonundan sorumlu olduğu ve NLRP3 ekspresyonundaki değişikliğin fertilitiyi olumsuz yönde etkileyebileceği vurgulanmıştır (327). Örneğin yapılan çalışmalarda omurilik hasarından (SCI-spinal cord injury) yedi gün sonra, ratların testis dokusunda NLRP3 mRNA seviyesinin arttığı gözlenmiştir (328). Ek olarak, SCI'li hastaların seminal plazmasında NLRP3 bileşenlerinin (ASC, kaspaz-1, IL-1 $\beta$  ve IL-18) aşırı ekspresyonu tanımlanırken, önceki

alışmalar bu hastalarda anormal semen kalitesinden enflamozomların sorumlu olduğunu göstermiştir (329).

Son zamanlarda yapılan araştırmalarda varikoselize ratların testis dokusunda ifade edilen NLRP3 kompleksinin bir antioksidan olarak Resveratrol tarafından ekspresyonunun azaltılabileceği gösterilmiştir (330). Varikosel seyrinde bazı pro-enflamatuar sitokinlerin varlığı nedeniyle, varikosel hastalarının semeninde NLRP3 inflamazom bileşenlerin var olabileceğini ve hipoksi yoluna ek olarak varikosel patogenezinde enflamatuar olayların yer aldığı varsayılmaktadır. Yapılan bu çalışmalardan elde edilen bulgular, NLRP3 aktivasyonunun varikoseli olan erkek hastalarda gerçekleştiğini ve varikosel hastalarında oluşan patolojik prosedürden sorumlu olabileceğini düşündürmektedir (331).

şu anda, NLRP3'n varikoselin başlangıcıyla veya bu gonadal hastalık sırasında ortaya çıkan patolojik hasarların sonucu ile nedensel olarak ilişkili olup olmadığı tam olarak net değildir. İnfertil varikosel hastalarında enflamatuar sürecin aktivasyonunun mekanizmasını belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Kullanılan Araç-Gereçler

Çalışmamız Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya AR-GE (Araştırma-Geliştirme) Laboratuvarında kullanılan cihazlardan yararlanılarak yapılmıştır.

Santrifüj (Hettich Universal 30 RF)  
Spektroflorometre (Thermo Fisher Scientific, Finland)  
Derin dondurucu -80 °C (Thermo)  
Vorteks (Nüve, NM 110 model, Türkiye)  
Otomatik biyokimya analizörü (Aeroset, USA)  
Mikroplate Washer (BIORAD, Fransa)  
Microsantrifüj (ISOLAB)  
Etüv (Mettler, Germany)  
1000,100,10 µl'lik pipet makinesi (Brand marka)  
300 ve 50 µl'lik çoklu pipet makinesi (Brand marka)  
Steril semen toplama kabı  
Lam  
Ph kağıdı  
Kronometre  
Dikey Sale  
Spermac Stain Fixatuer  
Spermac Stain Colorant A  
Spermac Stain Colorant B  
Spermac Stain Colorant C  
Kurutma kağıdı  
Olympus CX21 Binokuler Mikroskop  
Enjektör  
Biyokimya Cihazı (Roche(Almanya)/Cobas İntegra 800)  
Soğutmalı Santrifüj  
Manyetik Karıştırıcı  
Distile su cihazı

Deiyonize su cihazı

Hassas terazi

### 3.2. Yöntem

Çalışmanın yapılabilmesi için Harran Üniversitesi Etik Kurulu'na çalışma hakkında ayrıntılı bilgi verilerek 05.08.2019 tarih ve 09 no'lu oturum, 33 sayılı kararı ile onay alındı. Çalışmamız Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma Koordinasyon Kurulu tarafından 200009 no'lu proje kararı ile desteklenmiştir.

Çalışmamız Eylül 2019 - Temmuz 2020 tarihleri arasında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Üroloji Anabilim Dalı-Androloji Polikliniğine, infertilite nedeniyle başvuran erkek bireylere çalışmayla ilgili ayrıntılı bilgi verildikten sonra çalışmaya katılıp katılmayacakları soruldu. Çalışmaya katılmayı kabul edenlere aydınlatılmış onam formu okutuldu, dolduruldu ve belirlenen 4 ayrı hasta grubunun kriterlerine uyan rastgele toplam 88 hasta çalışmaya dahil edildi.

Hastaların fertilitte potansiyellerini etkileyebilecek faktörleri de içeren detaylı öyküleri elde edildi. Genital konjenital ve/veya edinsel malformasyonlar ile sekonder seks karakterlerine dikkat edilerek fizik muayeneleri yapıldı. Ayrıntılı anamnez ve fizik muayene sonrası erkek faktör infertiliteyi araştırmak için hastalardan 21 gün ara ile 2 adet spermogram istendi. Semen örnekleri en az 3 günlük cinsel perhiz sonrası steril toplama kabına kayganlaştırıcı jel kullanılmadan mastürbasyon yöntemi ile alındı. Alındıktan hemen sonra 37°C'deki etüve yerleştirildi. 45 dakika dinlendirildikten sonra otomatik pipet yardımı ile hacmi hesaplandı. Makler kameraya bir damla damlatılarak mikroskopta x20 büyütmede incelenerek volüm, sayı, motilite, morfoloji ve lökosit düzeyine bakıldı.

Çalışmaya evli, 1 yıldır korunmasız, düzenli cinsel ilişkiye rağmen çocuk sahibi olamayan 20-45 yaş arası çiftlerden erkek bireyler dahil edildi. Semende anlamlı düzeyde lökosit tespit edilen hastalar, 45 yaş üstü bireyler, aktif epididimorşit ya da üriner sistem enfeksiyonu olan hastalar ile inmemiş testis, testiküler torsiyon, testis travması ve tümör hikayesi olan hastaları, pentoksifilin, vitamin, preparatları ve kronik sigara kullanan hastalar semen oksidatif parametreleri etkilenebileceğinden çalışma dışı bırakıldı. Semen örnekleri 2 ml'lik ependorf

tüplere alınarak dakikada 3000 devir olacak şekilde 15 dakika santrifüj edildikten sonra -80°C’de saklandı.

Aynı şekilde çalışmaya dahil edilen katılımcılardan en az 12 saatlik açlık sonrası sabah 08:00 ile 11:00 saatleri arasında NLRP3, IL1-beta, TAS, TOS, OSİ düzeyleri çalışılmak üzere venöz (antekübital ven) kan örnekleri alındı. Serum analizleri için alınan kan örnekleri pıhtı aktivatörü içeren jel seperatörlü kuru biyokimya tüplerine hemoliz oluşturmadan boşaltıldı. Biyokimya tüplerine alınan kanlar pıhtılaşması için oda sıcaklığında 30 dakika bekletildikten sonra 4000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilerek serum örnekleri ayrıldı. Elde edilen serum örnekleri bekletilmeden -80°C’de analiz yapılmaya kadar saklandı.

Bu değerlendirmeler sonucunda azospermi (-) / varikosel (-), azospermi (-) / varikosel (+), azospermi (+) / varikosel (-), azospermi (+) / varikosel (+) tanıları olan, her biri 22 bireyden oluşan 4 ayrı çalışma grubu oluşturuldu. Oluşturulan gruplar sırayla Grup I, Grup II, Grup III ve Grup IV olarak adlandırıldı.

Sperm ve kan toplama prosedürü tamamlandıktan sonra analizden hemen önce dondurulmuş örnekler aşamalı olarak çözdürüldü. Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarı’nda her hastanın serum ve sperm numunelerinde NLRP3, IL1-beta, TAS, TOS ve OSİ çalışıldı.

### **3.3. Analitik Metodlar**

#### **3.3.1. Total Antioksidan Kapasite (TAS) Tayini**

Örneklerin total antioksidan seviye (TAS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitleler kullanılarak ölçüldü. Ölçüm yöntemi örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS\* [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sülfonik asit)] katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox Equivalent/L olarak ifade edildi (332). Dokulardaki TAS sonuçları Trolox Equivalent/L olarak ifade edildi (Rel Assay Diagnostics lot: HN20106A).

### 3.3.1.1. Reaktifler

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metoddur.

**Reaktif 1:** 10 mM o-Dianisidine ve 45 AM  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 75mM Clark tamponu (pH=1,8) içerisinde çözülerek hazırlandı.

**Reaktif 2:** 75 mM Clark tamponu (pH=1,8) içerisinde ise 7,5mM hidrojen peroksit karıştırılarak hazırlandı.

### 3.3.1.2. Prensip

Fenton tipi reaksiyon oluşturarak  $\text{OH}^-$  (hidroksil) radikalini meydana getiren hidrojen peroksit ile  $\text{Fe}^{2+}$ -o-dianisidine kompleksidir. Düşük pH'da bu güçlü reaktif oksijen türü indirgenerek renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girer ve sarı kahverengi dianisidyl radikallerini oluştururlar. Dianisidyl radikalleri ise daha ileri oksidasyon tepkimelerine girerek renk oluşumunu artırmaktadır. Ancak bu oksidasyon tepkimelerini engelleyerek renk oluşumunu önleyen örneklerdeki antioksidanlardır. Otomatik analizörde ölçülen bu tepkime spektrofotometrik olarak netice vermektedir (333,334).

### 3.3.2. Total Oksidan Kapasite (TOS) Tayini

Örneklerin toplam oksidan status (TOS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm, testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyona kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanıldı. Sonuçlar  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  (hidrojen peroksit) Equivalent/ L olarak ifade edildi (335) (Rel Assay Diagnostics lot: OK201150).

Örneklerin toplam oksidan status (TOS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm, testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyona kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanıldı. Sonuçlar  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Equivalent/ L olarak ifade edildi (335).

### 3.3.2.1. Reaktifler

Tam otomatik kolorimetrik bir yöntem olup Erel tarafından geliştirilmiştir.

**Reaktif 1:** Ana solüsyon hazırlanırken, 140 mM'lık NaCl çözeltisi içerisine 25 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözülür. Önce %10 oranında gliserol ana solüsyonda çözülüp daha sonra 250 µM Xlenorange toplam volümde çözülerek hazırlandı.

**Reaktif 2:** Reaktif hazırlanırken önce 10 mM o-Dianisidine dihydrochloride daha sonra 5 mM amonyom ferröz sülfat ana solüsyon içeriside çözüldü.

### 3.3.2.2. Prensip

İyon-o-dianisidine kompleksini ferrik iyonla oksitleyen örnekte bulunan oksidanlar ferrözdür. Gliserol ise ortamda bulunur ve bu reaksiyonun hızını yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Xylenorange ile ferrik iyonlar asidik ortamda renkli bir kompleks oluştururlar. Rengin şiddeti, örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olup, spektrofotometrik olarak ölçülmektedir.

### 3.3.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Tayini

Oksidatif Stresin bir göstergesi olarak gösterilen Oksidatif Stres İndeksi (OSİ), Toplam Oksidan Status/Seviye (TOS) düzeylerinin Toplam Antioksidan Status/Seviye (TAS) düzeylerine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilir. Örneklerin Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplanırken TAS düzeyleri 10 ile çarpılarak TOS düzeyleri ile birimler eşitlenir. Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edildi.

TOS, µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Equiv. / L.

OSİ = \_\_\_\_\_

TAS, mmol trolox Equiv. / L. X 10

### 3.3.4. NLRP3 ve İnterlökin-1 Beta Tayini

NLRP3 ve İnterlökin-1 Beta düzeyi immünokimyasal bir metod olan yarışmalı enzim İmmünoassay yöntemi ile çalışıldı. Bunun için ticari ELISA kiti (NLRP3 ELİSA Lot:202006 / İnterlökin-1 Beta ELİSA LOT:202006) kullanıldı.

### 3.3.4.1. Testin Prensibi

Bu kit bir enzim bağlantılı immünosorbent testidir (ELISA). Plaka, insan NLRP3 antikoru ile önceden kaplanmıştır. Numunede bulunan NLRP3 eklenir ve kuyucuklar üzerine kaplanmış antikorlara bağlanır. Daha sonra biyotinlenmiş insan NLRP3 antikoru eklenir ve NLRP3'e bağlanır. Ardından Streptavidin-HRP eklenir ve biyotinlenmiş NLRP3 antikoruna bağlanır. İnkübasyondan sonra, bağlanmamış Streptavidin-HRP, bir yıkama adımı sırasında yıkanır. Substrat solüsyonu daha sonra eklenir ve insan NLRP3 miktarı ile orantılı olarak renk gelişir. Reaksiyon, asidik durdurma çözeltisinin eklenmesiyle sonlandırılır ve absorban, 450 nm'de ölçülür.

### 3.3.5. Reaktif Hazırlanma

Tüm reaktifler kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirilmelidir.

**Standart hazırlama:** 400 pg / ml standart stok solüsyonu oluşturmak için 120µl standardı (800pg / ml) 120µl standart seyreltici ile sulandırdık. Seyreltmeden önce standard nazikçe karıştırılarak 15 dakika beklendi. Standart stok solüsyonunu (400 pg / ml) 1: 2 standart seyreltici ile 200pg / ml, 100pg / ml, 50pg / ml ve 25pg / ml solüsyonlar üretmek için seri olarak seyrelterek çift standart noktaları hazırladık. Standart seyreltici, sıfır standart (0 pg / ml) olarak işlev görür. Kalan herhangi bir çözelti -20 ° C'de dondurulmalı ve bir ay içinde kullanılabilir.

**Yıkama Tamponu Hazırlama:** 500 ml 1x yıkama tamponu elde etmek için 20 ml yıkama tamponu konsantresini 25x deiyonize veya damıtılmış suya seyreltin. Konsantrede kristaller oluşmuşsa kristaller tamamen çözülene kadar yavaşça karıştırın.

### 3.3.6. Testin Prosedürü

Tüm reaktifleri, standart solüsyonları ve örnekleri talimatlara göre hazırladık. Kullanmadan önce tüm reaktifleri oda sıcaklığına getirdik.

Standart kuyucuğa 50µl standart ekledik (Not: Standart kuyuya antikor eklenmez, çünkü standart çözelti biyotinlenmiş antikor içerir).

Numune kuyucuklarına 40 µl numune ekleyip, ardından numune kuyucuklarına 10 µl anti-NLRP3 antikoru eklendi. Ardından numune kuyucuklarına ve standart kuyucuklara 50 µl streptavidin-HRP ekledik. İyice karıştırıp, plakayı bir mühürleyici ile örttükten sonra 37 ° C'de 60 dakika inkübe edildi.

Sızdırmazlığı çıkardıktan sonra plakayı 5 kez yıkama tamponuyla yıkadık. Kuyuları her yıkama için 30 saniye ile 1 dakika arasında en az 0,35 ml yıkama tamponu ile yıkadık.

Her kuyucuğa 50 µl substrat solüsyonu A ekleyip ve ardından her kuyucuğa 50 µl substrate solution B ekleyip plakayı yeni bir mühürleyici ile kapatarak 37 ° C'de karanlıkta 10 dakika inkübe edildi.

Her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi ve iyice karıştırıldı. Renk hemen sarıya döner.

Stop çözeltisi eklendikten hemen sonra bir mikropilaka okuyucu içinde 450 nm'de absorbans değerleri alındı.

#### 4. BULGULAR

Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan en düşük, en yüksek değerleri kullanılmıştır. Değişkenlerin dağılımı Kolmogorov Simirnov test ile ölçüldü. Nicel bağımsız verilerin analizinde Kruskal-Wallis, Mann-Whitney U testleri kullanıldı. Analizlerde SPSS 26.0 programı kullanılmıştır.

**Tablo-14:** Hastaların serum ve sperm parametreleri minimum-maksimum, medyan ve ortalama değerleri

	Min-Mak	Medyan	Ort.±ss
Yaş	21.00 - 43.00	30.00	30.80 ± 5.27
<b>Serum</b>			
IL-1 Beta (pg/ml)	3.04 - 41.20	15.76	17.92 ± 7.36
NLRP3 (pg/ml)	1.38 - 8.44	4.56	4.55 ± 1.24
TOS (mmol/ L)	8.60 - 19.50	12.40	13.14 ± 2.67
TAS (mmol/ L)	0.56 - 1.54	1.07	1.10 ± 0.21
OSI (AU)	0.67 - 3.19	1.18	1.27 ± 0.44
<b>Sperm</b>			
IL-1 Beta (pg/ml)	12.50 - 76.70	30.85	33.31 ± 11.48
NLRP3 (pg/ml)	1.55 - 15.90	7.16	7.60 ± 3.08
TOS (mmol/ L)	4.19 - 23.51	13.21	13.32 ± 4.60
TAS mmol/ L)	0.15 - 1.85	1.02	1.03 ± 0.33
OSI (AU)	0.31 - 7.69	1.32	1.53 ± 1.04
AZO-Spremiyogram (10 <sup>6</sup> /ML)	0.00 - 40.00	0.00	4.46 ± 8.73

Grup 1, grup 2, grup 3 ve grup 4 arasında hastaların yaşı anlamlı ( $p > 0.05$ ) farklılık göstermemiştir (Tablo 14).

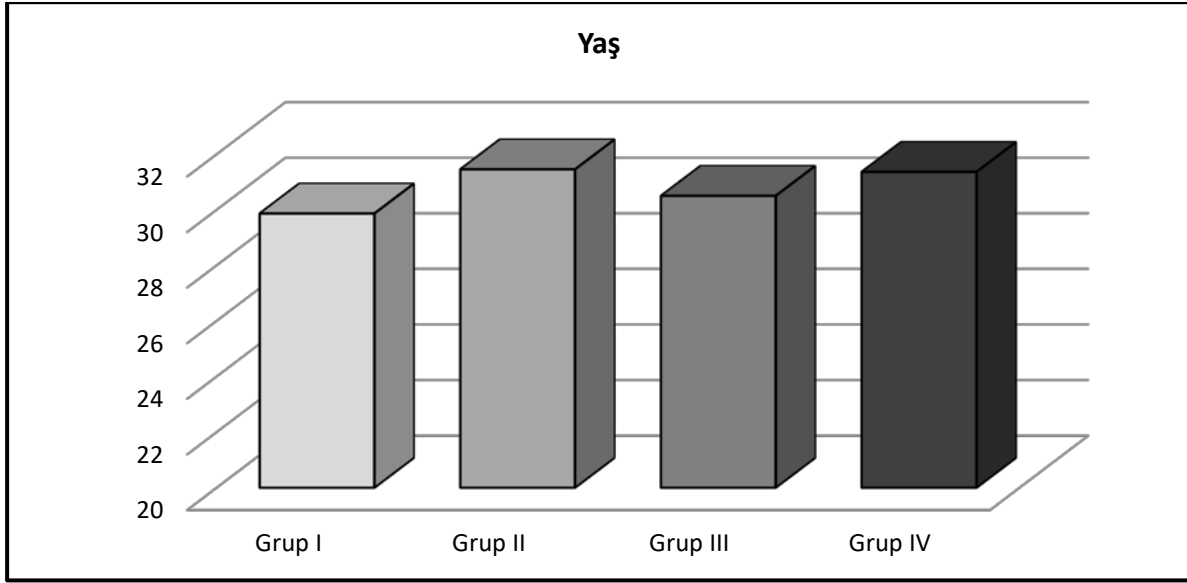
**Tablo-154:** Gruplar arası yaş dağılımı

	Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	p	
Yaş	Ort.±ss	29.9 ± 5.1	31.5 ± 5.5	30.5 ± 4.9	31.4 ± 5.8	0.723 <sup>K</sup>
	Medyan	29.5	30.5	29.0	30.0	

Grup I AZO (-) & VAR (-) / Grup II AZO (-) & VAR (+)

Grup III AZO (+) & VAR (-) / Grup IV AZO (+) & VAR (+)

<sup>K</sup>Kruskal-wallis



**Grafik-2:** Gruplar arası yaş dağılımı

#### 4.1. Hasta Gruplarının Serum Parametrelerinin Analizi

Grup IV, grup III ve grup II de Serum IL-1 Beta değeri grup I den anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Grup IV, grup III ve grup II arasında ise Serum IL-1 Beta değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) olarak farklılık göstermemiştir (Tablo 15).

Grup IV'de Serum NLRP3 değeri grup I ve grup III'den anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Grup IV ile grup II arasında Serum NLRP3 değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) olarak farklılık göstermemiştir. Grup III, grup II ve grup I arasında Serum NLRP3 değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) olarak farklılık göstermemiştir (Tablo 15).

Grup IV, grup III, grup II'de Serum TOS değeri grup I'den anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Grup IV, grup III, grup II arasında Serum TOS değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) olarak farklılık göstermemiştir (Tablo 15).

Grup IV, grup III, grup II'de Serum TAS değeri grup I'den anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Grup IV, grup III'de Serum TAS değeri grup II'den anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Grup IV ve grup III arasında Serum TAS değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) olarak farklılık göstermemiştir (Tablo 15).

Grup IV, grup III, grup II’de Serum OSI değeri grup I’den anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Grup IV, grup III de Serum OSI değeri grup II’den anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Grup IV ve grup III arasında Serum OSI değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) olarak farklılık göstermemiştir (Tablo 15).

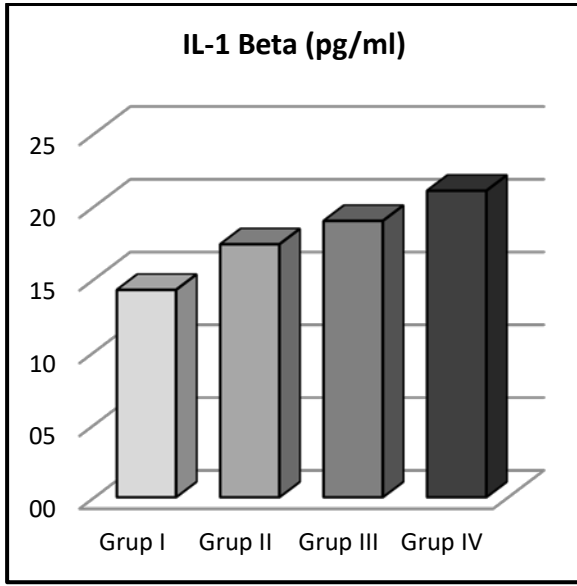
**Tablo-165:** Grupların serum parametrelerinin ayrı ayrı ortalama ve medyan değerleri

		Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	p
<b>Serum</b>						
IL-1 Beta (pg/ml)	Ort.±ss	14.2 ± 5.4	17.4 ± 5.5	19.0 ± 5.6	21.1 ± 10.3	<b>0.041</b> <sup>K</sup>
	Medyan	14.2 <sup>234</sup>	15.8	16.7	20.8	
NLRP3 (pg/ml)	Ort.±ss	4.1 ± 1.0	4.7 ± 1.2	4.2 ± 1.2	5.2 ± 1.3	<b>0.022</b> <sup>K</sup>
	Medyan	4.2 <sup>4</sup>	4.8	4.3 <sup>4</sup>	4.8	
TOS (mmol/ L)	Ort.±ss	10.5 ± 1.1	14.0 ± 2.3	13.3 ± 2.0	14.8 ± 2.9	<b>0.000</b> <sup>K</sup>
	Medyan	10.3 <sup>234</sup>	14.5	12.6	15.2	
TAS (mmol/ L)	Ort.±ss	1.31 ± 0.12	1.17 ± 0.17	0.96 ± 0.17	0.94 ± 0.14	<b>0.000</b> <sup>K</sup>
	Medyan	1.3 <sup>234</sup>	1.2 <sup>34</sup>	1.0	1.0	
OSI (AU)	Ort.±ss	0.81 ± 0.11	1.23 ± 0.31	1.42 ± 0.31	1.61 ± 0.47	<b>0.000</b> <sup>K</sup>
	Medyan	0.8 <sup>234</sup>	1.2 <sup>34</sup>	1.4	1.6	

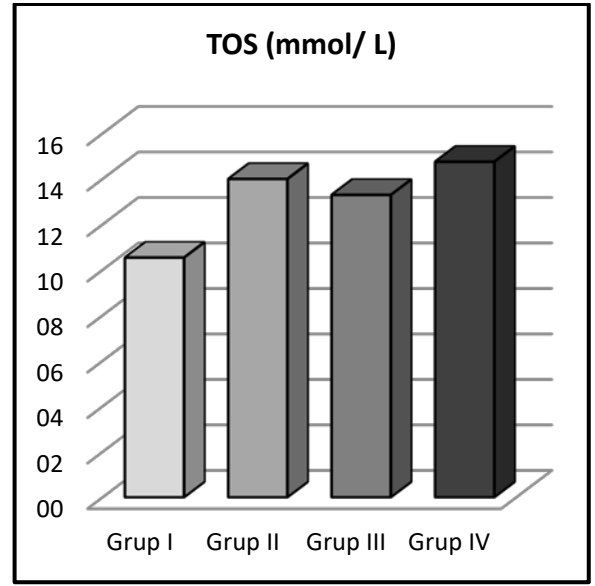
Grup I AZO (-) & VAR (-) / Grup II AZO (-) & VAR (+)

Grup III AZO (+) & VAR (-) / Grup IV AZO (+) & VAR (+)

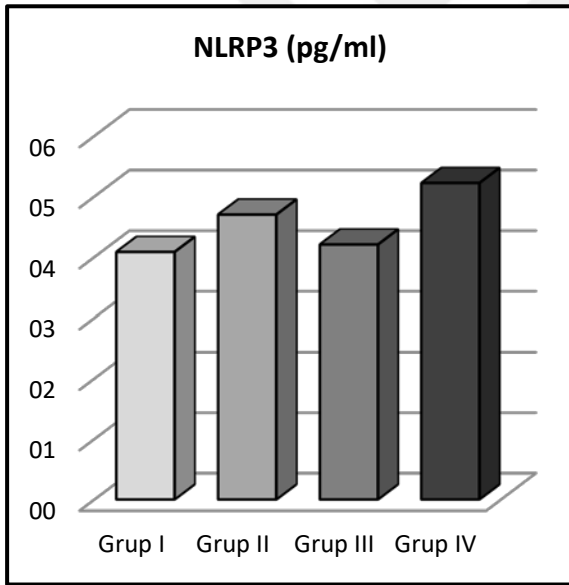
<sup>K</sup> Kruskal-wallis / <sup>2</sup> Grup II ile fark  $p < 0.053 Grup III ile fark  $p < 0.054 Grup IV ile fark  $p < 0.05$ )$$



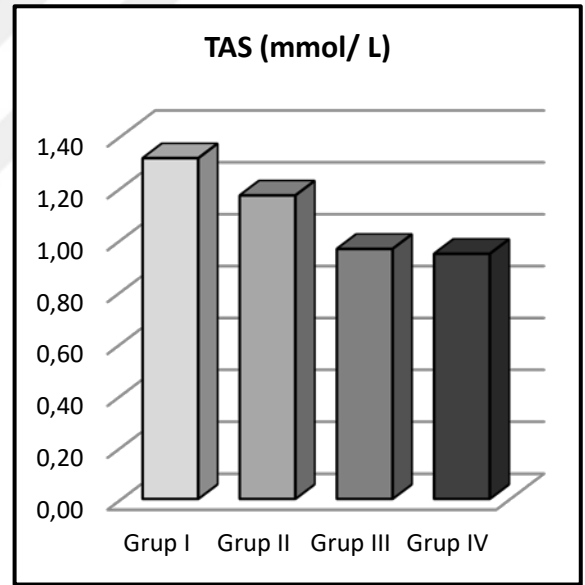
**Grafik-3:** Serum IL-1 beta seviyesi gruplar arası dağılımı



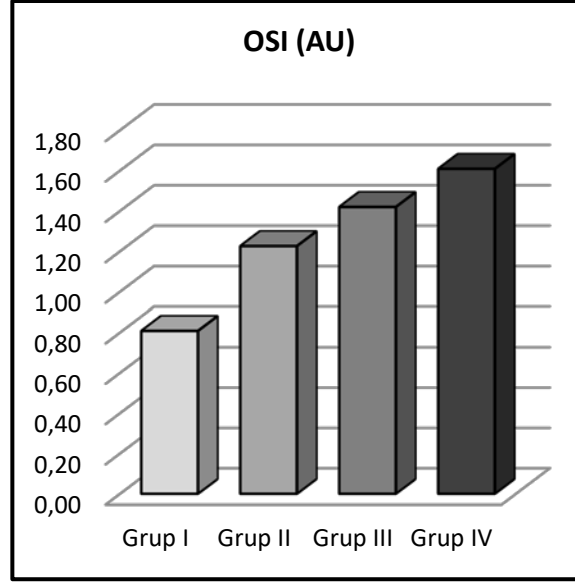
**Grafik-5:** Serum TOS seviyesi gruplar arası dağılımı



**Grafik-4:** Serum NLRP3 seviyesi gruplar arası dağılımı



**Grafik-6:** Serum TAS seviyesi gruplar arası dağılımı



**Grafik-7:** Serum OSI seviyesi gruplar arası dağılımı

#### 4.2. Hasta Gruplarının Sperm Parametrelerinin Analizi

Grup IV, grup III, grup II'de Sperm IL-1 Beta değeri grup I'den anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Grup IV'de Sperm IL-1 Beta değeri grup III den anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Grup IV ile grup II arasında Sperm IL-1 Beta değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) olarak farklılık göstermemiştir. Grup III ile grup II arasında Sperm IL-1 Beta değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) olarak farklılık göstermemiştir (Tablo 16).

Grup IV'de Sperm NLRP3 değeri grup I ve grup III'den anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Grup IV ile grup II arasında Sperm NLRP3 değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) olarak farklılık göstermemiştir. Grup III, grup II ve grup I arasında Sperm NLRP3 değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) olarak farklılık göstermemiştir (Tablo 16).

Grup IV, grup III, grup II'de Sperm TOS değeri grup I'den anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Grup IV'de Sperm TOS değeri grup II ve grup III'den anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Grup III, grup II arasında Sperm TOS değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) olarak farklılık göstermemiştir (Tablo 16).

Grup IV, grup III, grup II'de Sperm TAS değeri grup I'den anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Grup IV, grup III, grup II arasında Sperm TAS değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) olarak farklılık göstermemiştir (Tablo 16).

Grup IV, grup III, grup II de Sperm OSI değeri grup I'den anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Grup IV'de Sperm OSI değeri grup II den anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha yüksekti. Grup IV ve grup III arasında Sperm OSI değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) olarak farklılık göstermemiştir. Grup II ve grup III arasında Sperm OSI değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) olarak farklılık göstermemiştir (Tablo 16).

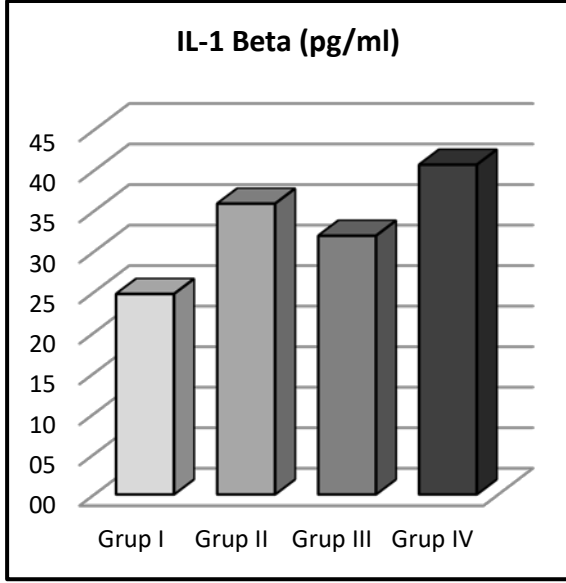
**Tablo-17:** Grupların sperm parametrelerinin ayrı ayrı ortalama ve medyan değerleri

		Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	p
<b>Sperm</b>						
IL-1 Beta (pg/ml)	Ort.±ss	24.7 ± 5.6	35.9 ± 10.2	31.9 ± 9.1	40.7 ± 13.5	<b>0.000</b> <sup>K</sup>
	Medyan	24.3 <sup>234</sup>	35.3	28.4 <sup>4</sup>	40.3	
NLRP3 (pg/ml)	Ort.±ss	6.2 ± 2.4	8.1 ± 3.0	6.4 ± 1.8	9.8 ± 3.5	<b>0.002</b> <sup>K</sup>
	Medyan	5.8 <sup>4</sup>	7.8	6.8 <sup>4</sup>	10.1	
TOS (mmol/ L)	Ort.±ss	9.2 ± 1.4	13.3 ± 4.3	13.5 ± 4.8	17.2 ± 3.2	<b>0.000</b> <sup>K</sup>
	Medyan	9.1 <sup>234</sup>	14.6 <sup>4</sup>	13.9 <sup>4</sup>	16.8	
TAS mmol/ L)	Ort.±ss	1.38 ± 0.19	0.98 ± 0.19	0.89 ± 0.39	0.88 ± 0.19	<b>0.000</b> <sup>K</sup>
	Medyan	1.3 <sup>234</sup>	1.0	0.8	0.9	
OSI (AU)	Ort.±ss	0.68 ± 0.16	1.38 ± 0.45	2.00 ± 1.58	2.08 ± 0.67	<b>0.000</b> <sup>K</sup>
	Medyan	0.7 <sup>234</sup>	1.3 <sup>4</sup>	1.5	1.9	

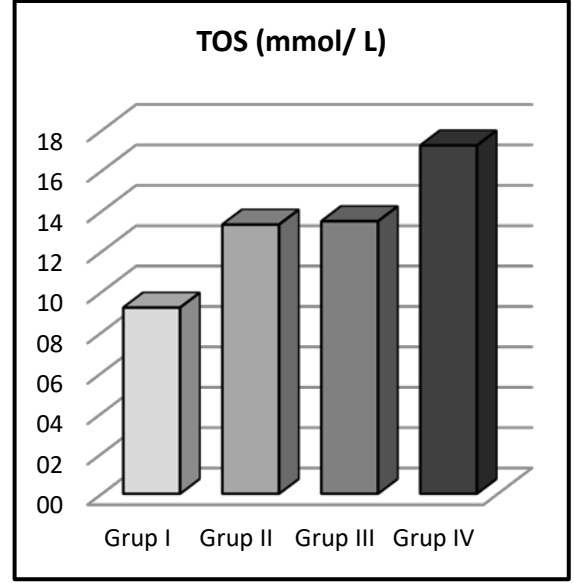
Grup I AZO (-) & VAR (-) / Grup II AZO (-) & VAR (+)

Grup III AZO (+) & VAR (-) / Grup IV AZO (+) & VAR (+)

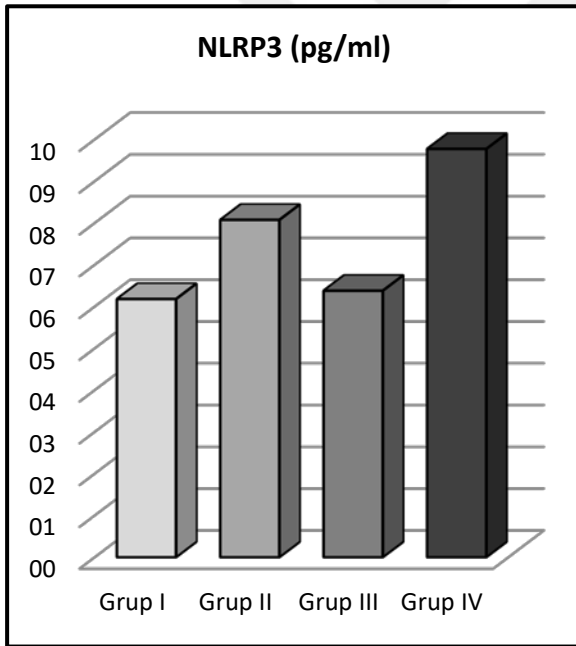
<sup>K</sup> Kruskal-wallis / <sup>2</sup> Grup II ile fark  $p < 0.05$ ) / <sup>3</sup> Grup III ile fark  $p < 0.05$ ) / <sup>4</sup> Grup IV ile fark  $p < 0.05$ )



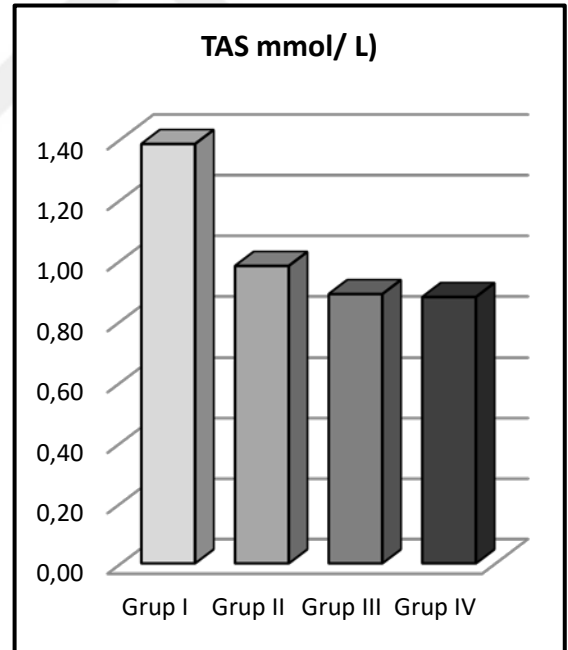
**Grafik-8:** Sperm IL-1 Beta seviyesi gruplar arası dağılımı



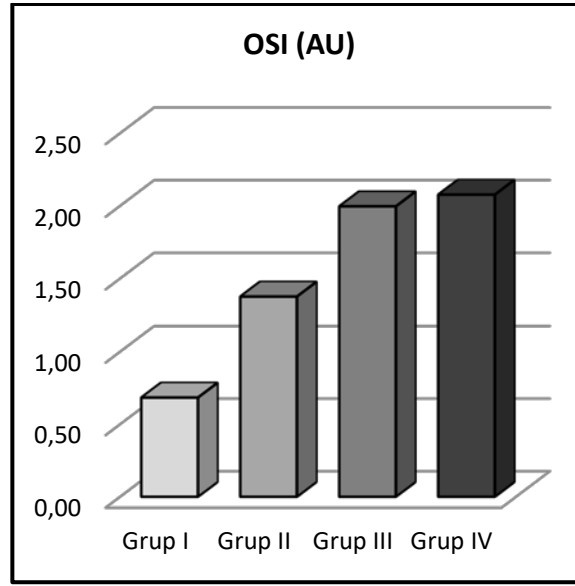
**Grafik-10:** Sperm TOS seviyesi gruplar arası dağılımı



**Grafik-9:** Sperm NLRP3 seviyesi gruplar arası dağılımı



**Grafik-11:** Sperm TAS seviyesi gruplar arası dağılımı



**Grafik-12:** Sperm OSI seviyesi gruplar arası dağılımı

Grup IV ve grup III'de AZO-Spremiyogram ( $10^6/\text{ML}$ ) değeri grup I'den anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha düşüktü. Grup IV ve grup III'de AZO-Spremiyogram ( $10^6/\text{ML}$ ) değeri grup II'den anlamlı ( $p < 0.05$ ) olarak daha düşüktü. Grup IV ve grup III arasında AZO-Spremiyogram ( $10^6/\text{ML}$ ) değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) olarak farklılık göstermemiştir. Grup I ve grup II arasında AZO-Spremiyogram ( $10^6/\text{ML}$ ) değeri anlamlı ( $p > 0.05$ ) olarak farklılık göstermemiştir (Tablo 17).

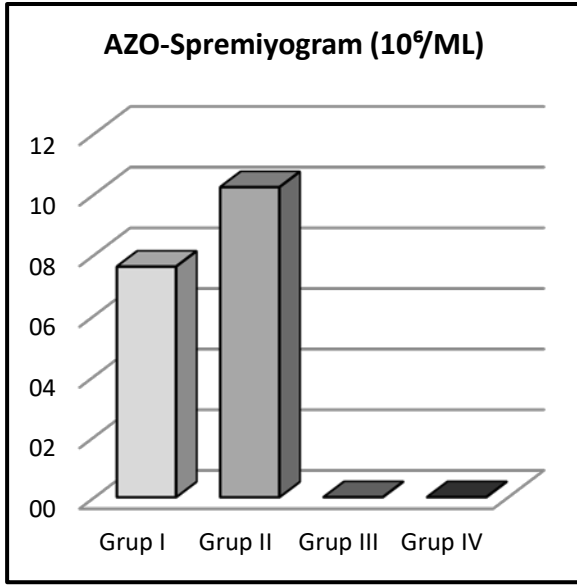
**Tablo-187:** Gruplar arası azo-spermiyogram ortalama ve medyan değerleri

		Grup I	Grup II	Grup III	Grup IV	p
AZO-Spremiyogram ( $10^6/\text{ML}$ )	Ort.±ss	7.6 ± 8.8	10.2 ± 12.3	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	0.000 <sup>K</sup>
	Medyan	4.45 <sup>34</sup>	2.65 <sup>34</sup>	0.0	0.0	

Grup I AZO (-) & VAR (-) / Grup II AZO (-) & VAR (+)

Grup III AZO (+) & VAR (-) / Grup IV AZO (+) & VAR (+)

<sup>K</sup> Kruskal-wallis / <sup>3</sup> Grup III ile fark  $p < 0.05$  / <sup>4</sup> Grup IV ile fark  $p < 0.05$ )



**Grafik-13:** Gruplar arasındaki AZO-Spremiyogram değerlerin şematik gösterimi

## 5. TARTIŞMA

İnsanların nefes alma ve beslenme ihtiyaçlarından sonra gelen en önemli içgüdülerinden birisi de üremedir. Kaldı ki, Türkiye gibi ataerkil toplumlarda çocuk sahibi olamamak, kişinin psikososyal statüsünü olumsuz yönlerde etkileyebilmektedir. Reprodüktif devamlılık insan psikolojisinde, neslinin devam ettirilmesine yönelik içgüdüsel bir eylemdir. Tüm bunlar kapsamlıca değerlendirildiğinde infertilitenin kişisel ve toplumsal konularda önemi bir kez daha anlaşılmaktadır.

“İnfertilite, cinsel olarak aktif, herhangi bir doğum kontrol yöntemi kullanmamış bir çiftin, düzenli ve doğru bir şekilde uygulanan cinsel ilişkiye rağmen 1 yıl içerisinde kendiliğinden gebelik elde edememesidir ” (WHO, Dünya Sağlık Örgütü) (1).

Son yıllarda infertilite tedavisine yaklaşımda öne çıkan, erkek faktörünün tek başına değil de, incelemenin bir çift sorunu olarak ele alınması ve gerekirse tedavinin her iki partneri de kapsayacak şekilde gözden geçirilmesidir. Dünya Sağlık Örgütü yaptığı bir çalışmada, çiftlerde hemen hemen eşit oranda (erkek %45, kadın %47) fonksiyonel üreme bozukluklarına sahip olduğunu ve erkeklerin yaklaşık %6-10'unda azospermi, kadınların ise %16'sında over yetmezliği gibi fertilitiyi olumsuz etkileyen patolojilerin bulunduğunu ortaya koymuştur (336). Genel olarak infertilitenin 1/3'ünden erkek faktör, 1/3'ünden kadın faktör ve kalan 1/3'ünden ise çiftler birlikte sorumlu tutulmaktadır. İnfertilitede son yıllardaki tanıya yönelik gelişmelere rağmen hala erkeklerin %20'sinden fazlasında net bir tanı konulamamaktadır ve bu olgular idiyopatik infertilite olarak tanımlanmaktadır.

İnfertilite sık görülen bir sorun olmakla birlikte çiftlerin yaklaşık %13-15'ini etkilemektedir. Bilinen bir üreme patolojisinin olmadığı durumlarda 1 yıl süreyle korunmasız düzenli ve doğru cinsel ilişkiye rağmen gebelik oluşmadıysa çiftlerin de onayıyla değerlendirme ve gerekirse tedaviye başlanmalıdır. Değerlendirme, çiftlerin talepleri, yaşı, infertilite süreleri ve durumu (primer/sekonder), ayrıntılı anamnez ve fizik muayenedeki özel durumlar göz önünde bulundurularak yapılır. İnfertil çiftin ilk değerlendirmesinde reproduktif fizyolojinin her komponenti (erkek ve kadın genital sistem anatomi ve fizyolojisi) anormallikleri tanımlanmak üzere değerlendirilir. Erkek faktör değerlendirmesi, detaylı anamnez ve fizik muayene sonrasında, en az iki en çok yedi günlük cinsel perhize uyarak 2 adet 3-4 hafta arayla yapılmış semen analizini içermelidir (34).

Kısırlık ile başvuran erkek hastaların semen analizinde genellikle % 90 oranında sperm parametrelerinde belirgin bozulmalar izlenmektedir (337). Özellikle etyolojisi bilinmeyen erkek infertilitesinde, sorunun patofizyolojisini açığa çıkarmak için hücresel ve moleküler düzeyde çalışmaların artması, gelecekte infertilitenin bilinmeyen yönlerini açığa kavuşturma açısından önem arz etmektedir.

Üzerinde çalışılan önemli konulardan biri de serbest oksijen radikalleri ve semen parametre bozuklukları olup bu bağlamda infertilitede serbest oksijen radikallerinin (SOR) önemli bir rolü olduğu anlaşılmaktadır (338).

Vücuttaki antioksidanlar ile serbest oksijen radikalleri arasındaki dengesizlik sonucu ortaya çıkan oksidatif stres, spermelere zarar vermek yoluyla infertiliteye sebep olmaktadır (339).

Varikosel, multifaktöriyel etiyolojisi olan erkek infertilitesinin bilinen en yaygın nedenidir. İnfertilite ile başvuran erkeklerde fizik muayene sırasında varikosel açısından da dikkatlice değerlendirilmeli ve gerekirse radyolojik yöntemlere başvurulmalıdır. Varikosel insidansı genel popülasyonda % 4.4-22.6, primer infertilitesi olan erkeklerde % 21-41 ve sekonder infertilitesi olan erkeklerde % 75-81'dir (294). Bu gonadal hastalık, testiküler venöz pleksusun patolojik dilatasyonu olarak tanımlanır ve testis dokusundaki patolojik problemlerle ilişkilidir. Tipik olarak, sol tarafta daha sık görülür (340).

Varikosel, ayrıca anormal spermatozoa üretimine yol açan normal spermatogenez sürecine de olumsuz etki edebilir (341, 342).

Özellikle sekonder infertilitede payı büyük olan varikoselin bunu çeşitli mekanizmalar üzerinden yaptığı farz edilmektedir. Varikosel hastalığında, venöz göllenmeye bağlı oluşan sıcaklık artış stresi, testis dokusu üzerinde spermatogenez bozukluğu, reaktif oksijen türleri (ROS) ve apoptoz üretiminde artış gibi istenmeyen olumsuz etkilere neden olur (305).

Öte yandan, dilate pampiniform pleksusta venöz kan akışının yavaşlaması arteriyel kan akışını bozarak oksijenlenmeyi kısıtlar ve böylece testis hipoksisine yol açabilen beslenme bozukluklarına sebep olur (298).

Enflamasyon, varikoseli takiben testis dokusunda meydana gelen karakteristik bir patolojik olaydır. Varikoselin, İnterlökin-1 (IL-1), IL-6, IL-8 ve tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- $\alpha$ ) gibi pro-enflamatuar ve enflamatuar sitokin salınımını uyardığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (325,326).

Varikoseli olan erkeklerde kan, testis ve semende serbest oksijen radikalleri artışı olduğu bilinen bir gerçektir (338). Oksidatif stres, spermde DNA hasarına yol açan asıl etiyolojik faktör olarak düşünülmektedir (343, 344, 345). Karnitin, arjinin gibi aminoasitlerin düzeyi inferilitite hastalarında farklı gözlenmekle beraber bu ilaçlarla tedavide oligospermi ve azospermi üzerine olumlu etkileri bilinmektedir (346, 347, 348, 349).

Sperm öncülü spermatozoa hücrelerinde hayati devamlılık için oksijen gerekli olduğu kadar, normal şartlarda serbest oksijen radikallerine de (SOR) hücrel faaliyetlerin devamı için ihtiyaç vardır (350). Diğer taraftan suprafizyolojik düzeyde artmış oksidatif stres ürünleri, patolojik spermatogenez yoluyla seminal sıvı analizinin kalitesini düşürebilir.

Ejakülata SOR ile kontamine olduğu düşünülmektedir. Normal bir semen örneğinde spermatozoa, lökosit ve epitel gibi farklı hücreler bulunur. Bu hücreler içinde serbest oksijen radikallerinin başlıca kaynağını spermatozoa ve lökositler oluşturur. Ejakülatta hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), süperoksit anyonu (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hidroksil iyonu (HO<sup>-</sup>), peroksil iyonu (ROO<sup>-</sup>) en sık tespit edilen serbest oksijen radikalleridir (351).

Yapılan çalışmalarda antioksidan moleküllerin spermatozoa hücrelerini serbest oksijen radikalleri üreten anormal spermatozoalardan koruduğu, lökositlerin ürünü olan serbest oksijen radikallerini temizlediği, DNA fragmantasyonlarını önlediği, sigara içen bireylerde sperm kalitesini artırdığı, erken sperm olgunlaşmalarını önlediği kanıtlanmıştır.

Seminal plazmada süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaza ek olarak askorbik asit, urat, E vitamini, piruvat, glutatyon, albumin, A vitamini, ubikinol ve hipotaurin gibi non-enzimatik antioksidanlar da bulunmaktadır (351).

İnfertil hastalardan semen parametreleri bozuk olanların seminal plazmasında çeşitli antioksidan sistemlerin yetersiz olduğu anlaşılmıştır (351).

Ayrıca son yıllarda yapılan çalışmalarda inflamasyon ve bazı kronik hastalıklar arasındaki ilişkiye vurgu yapılmakta olup, bu hastalıkların patogenezinde aktifleşmiş inflamatuvar cevabın önemli bir yere sahip olduğu, pro-inflamatuvar sitokinlerin ve kemokinlerin hücre ölümüne ve kronik inflamasyona neden olduğu belirtilmektedir (178, 179, 352). Erkek gonadda sitokinler fizyolojik olarak üretilir ve normal fonksiyonunda yer alır. Sonuç olarak, seminal plazmanın doğal bileşenleri olarak da görünmeleri gerekir (353).

Moretti E. Ve arkadaşları, farklı klinik infertilite tanılarındaki semen özelliklerinin seminal plazmada saptanan PMN elastaz, IL-6, IL-8, IL-1b ve TNFa düzeyleri ile ilişkili olup olmadığını araştırmış ve idiyopatik infertilite (grup I), enfeksiyonlu varikozel (grup II), varikozel (grup III), enfeksiyonlar (grup IV), kontroller (grup V) olarak 68 hasta üzerinde incelemede bulunmuşlar. Çalışma sonucunda idiyopatik infertiliteye sahip hastalarda semen kalitesinde değişiklik ve normal inflamatuvar mediyatör seviyeleri gözlenmiş. Ayrıca genitoüriner enfeksiyon ve varikozelin, spermatogenezde zararlı bir rol oynayabilen enflamatuvar bir etkiye neden olduğu sonucuna ulaşmışlar (326).

İnflamazom, inflamasyon üretme potansiyeli olan uyaranları tanıyan ve buna yanıt olarak proinflamatuvar sitokinlerin üretimi ve salgılanmasından sorumlu süreci yöneten bir protein kompleksidir. Farklı tipte inflamazom yapıları bulunmakla birlikte son yıllarda ön plana çıkan tip 2 diyabet, insülin direnci ve obezite ile ilişkisi rapor edilen inflamazom, NLRP3 (Nod-like receptor pyrin domain-containing 3 ) inflamazomudur.

NLRP3 (NOD benzeri reseptör ailesi, 3 içeren pirin alanı) enflamozomu, Kaspaz-1'in aktivasyonu ve inflamatuvar sitokinlerin olgunlaşması yoluyla enfeksiyon ve hücre stresine karşı doğuştan gelen bağışıklık sistemini ve tepkilerini düzenleyen bir multiprotein kompleksidir (354). NLRP3 inflamazomu aynı zamanda artropati gibi romatolojik hastalıklar, iskemik kalp ve böbrek hastalıkları, çeşitli vasküler hastalıklar, diyabet ve obezite, Alzheimer demansı gibi birçok hastalığın patogenezinde de rol oynamaktadır (203).

Son birkaç yılda yapılan çalışmalarda inflamazom aktivasyonunun ve bunun sonucunda kan ve seminal plazmada proinflamatuvar sitokinlerin yükselmesinin, erkeklerde bozulmuş spermatogenezise yol açtığı gösterilmiştir (278, 279, 280). Lökosit aktivasyonunun desteklenmesi, belki de infertilite ve inflamasyon arasındaki ilişkinin temel anahtar rol oynayıcısı olabilir (281, 282).

Artmış sitokinler sertoli hücre fonksiyonunu etkiler ve testisteki sitokin seviyelerinde değişikliklere neden olarak spermatogenezi etkileyebilir. Lökosperminin sperm parametrelerinde bozukluğa yol açabileceği mekanizmalardan biri de, ejakülasyon esnasında ya da ejakülasyon sonrasında aktif sitokinler yoluyla oluşan reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu sperm hasarı ile ilgilidir (281, 355).

Seminal plazmada bulunan NLRP3 proteini, artmış lökositospermi, infertil erkeklerde kötü sperm kalitesi ile ilişkili olabilir. Bu durum aynı zamanda infertil çiftlerin intrauterin inseminasyon, in vitro fertilizasyon ve intra-sitoplazmik inseminasyon gibi farklı yardımcı üreme teknikleri sonrasında oluşan gebeliklerini de etkileyebilir.

Erkek üreme sistemiyle inflamasyon arasındaki ilişkinin araştırılması, infertilite ile ilgili gelişmelere neden olmuştur. Bu durum daha çok neden-sonuç ilişkisi olarak tanımlanmıştır.

Özellikle, üreme ile ilgili bezlerin salgı kapasitesinin bozulması, sperm akışının obstrüksiyonu, artmış pro-inflamatuar süreç, suprafizyolojik düzeyde artmış oksidatif stres ürünleri ve patolojik spermatogenez yoluyla inflamatuvar süreçlerde seminal sıvı analizinin kalitesi düşebilir (283, 284).

Şimdiye kadar, inflamazom ile ilgili araştırmaların birincil odağı, öncelikle monositler, makrofajlar, granüositler, dendritik hücreler, epitel hücreleri ve osteoblastlarda eksprese edilen sitoplazmik bir protein olan NLRP3 tarafından oluşturulmuştur (292). Miyeloid hücrelerdeki NLRP3 ekspresyonu diğer epitelyal ve Sertoli hücrelerinde de (280) yüksek derecede indüklenebilir durumdadır (293). Bu nedenle, lökosit sayısı her zaman gerçek bir inflamasyon görüntüsü vermeyebilir, çünkü geniş hücre yelpazesi tepki verme yeteneğine sahiptir ve bu da inflamatuvar araçların kaynağı olarak kabul edilir. Bu durum inflamatuvar süreçler için bir biyobelirteç olarak NLRP3 miktarının avantajını sağlar ve NLRP3'ün hedef molekül olması, sperm hücresi miktarı ve kalitesinde iyileşme için önem kazanır (265).

Çalışmamızda infertilite etyolojisinde inflamazom ve antioksidan hipotezine yeni bir bakış açısı kazandırabilmek ve olası yeni tedavi hedeflerini gündeme getirebilmeyi amaçladık. Bu bağlamda özellikle IL-1 $\beta$  aracılı inflamatuvar yanıtların başlamasında görev alan multiprotein kompleks yapısındaki NLRP3 inflamazomu ve bu molekülün erkek infertilitesi ile olan ilişkisini ele aldık.

Özellikle artmış pro-inflamatuar süreç, suprafizyolojik düzeyde artmış oksidatif stres ürünleri ve patolojik spermatogenez yoluyla inflamatuvar süreçlerde seminal sıvı analizinin kalitesi düşebilir. Etkili fertilitate, pro ve anti-enflamatuar araçlar arasında ince bir denge gerektirir. Bu nedenle, fertilizasyon ve spermiyogenez sırasında enflamatuar yanıtta bir dengesizlik fertilitate başarısızlığına yönelik bir sürece sebebiyet verebilir.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler ışığında incelediğimiz objektif parametrelerden serum ve sperm NLRP3, IL-1 $\beta$ , TAS, TOS ve OSI gibi hücre içi oksidatif stresi belirleyici marker değerlerinin azospermi ve varikoseli olan infertil erkeklerde ne durumdan etkilendiğini araştırdık. Bu çalışmayı yaparken azospermik ve klinik varikosel durumu olan ve olmayan infertil hastaları gruplandırarak bu hücresel stresi belirleyen faktörlerin nelere bağlı olarak değişebileceğini anlamaya çalıştık.

Bununla ilgili Curtin JF ve ark. ile Erfani M. N. ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmada varikoselin infertil hastalarda serbest oksijen radikallerini arttırdığı ve aynı zamanda antioksidan enzimlerin aktivitesinin baskılandığı gösterilmiş (305, 307, 324). Bizim çalışmamızdaki infertil hastalarda baktığımız oksidatif stres belirteçleri olan TAS, TOS ve OSI değerlerinin azospermik olan ve olmayan varikoselli hastalarda serum ve semen değerleri varikoseli ve azospermisi olmayan hastalara oranla her iki grubunda (varikosel + (azosperimik/non-azospermik) daha anlamlı şekilde yüksek olduğunu bulduk. Bu da bize varikoselin tek başına infertil hasta serum ve semen değerlerinde azospermi durumundan bağımsız olarak oksidatif stres markerlarını arttırdığını gösterdi.

İnflamazom mekanizması hücre içi proinflamatuvar sürecin bir belirtisi olmakla birlikte en sık kullanılan inflamazom markerı NLRP3 olarak bilinmektedir (255). Bununla ilgili yapılan özellikle Tip 2 Diyabet, ateroskleroz, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, obezite ve gut gibi metabolik bozukluklarda rol oynadığını belirten çalışmalar mevcut olup anlamlı olarak bu hastalıkların da patofizyolojisinde rol aldığı, özellikle bu hastalıklarda NLRP3 inflamazomu aracılığı ile IL-1 $\beta$  ve benzeri sitokinleri aktive edip üretimini arttırdığı ve böylece inflamasyona sebep olabileceği düşünülmüştür (256, 257, 258). Bizim çalışmamızda da NLRP3 ile birlikte bakılan IL-1 $\beta$ 'nın beraber olacak şekilde inflamasyon durumunda hareket ettiğini gözlemledik.

Younis N.A. ve ark.'nın yakın zamanda yapmış oldukları çalışmada ELISA yöntemini kullanarak infertil erkeklerde NLRP3 proteininin seminal plazma düzeyini belirlemeye çalışmış ve

çalışma ortalama NLRP3  $5,12 \pm 1,18$  ng / ml olduğunu ve bunun kısır erkeklerde inflamatuvar bir durumu yansıtabileceğini bildirmiştir (356).

Biz de çalışmamızı daha kapsamlı şekilde hastaların serum ve semen analizlerinde çalışarak NLRP3'ün infertil erkeklerde varikosel ve azospermi durumuna bağlı olarak nasıl bir yanıt gösterdiğini anlamaya çalıştık. Çalışmamızda NLRP3 serum ve semen değerleri azospermik ve varikoselli hastalarda anlamlı olarak azospermiden bağımsız ve varikoseli olmayan hastalara oranla daha yüksekti. Ancak azospermisi olmayan varikoselli hastalarda azospermiden bağımsız varikoseli olmayan hastalara kıyasla anlamlı bir yükselme saptanmadı. Bu da bize varikoselin yanında azospermi durumunun anlamlı şekilde NLRP3 düzeyini arttırdığı ve dolayısı ile bu proinflamatuvar molekülün azospermik ve varikoselli hastalarda daha önem kazandığını göstermiş oldu. Ayrıca bu NLRP3 değerlerinin serum ve semen analizinde paralellik göstermesi semen dışında sadece serum değerlendirmesinde bile bizlere bu inflamasyon süreci hakkında bilgi verebileceğini göstermiş oldu. Çünkü çalışmaya dahil ettiğimiz hastalarımızın bilinen herhangi bir kronik, genetik veya metabolik rahatsızlığı mevcut değildi.

Baazam M. ve arkadaşlarının yapmış olduğu 32 varikoselli hasta çalışmasında normal hastalara kıyasla seminal plazmadaki İnterlökin-1b (IL-1b), IL-18 ve kaspaz-1 konsantrasyonları, ELISA ile ölçülüp değerlendirilmiş. Bu çalışmadan elde ettikleri bulgular, NLRP3 aktivasyonunun varikoselde meydana geldiğini ve varikosel hastalarında oluşan patolojik işlemde sorumlu olabileceğinden bahsedip NLRP3 inflammasom aktivasyon sürecinin detayları henüz açıklığa kavuşturulmadığını ve NLRP3'ün nedensel olarak varikoselin başlangıcıyla mı yoksa bu gonadal hastalık seyrinde ortaya çıkan patolojik hasarların bir sonucu mu olduğunun net olmadığını belirtmişlerdir (330,331). Bizim çalışmamızda da meni ve serumda bakılan azospermik ve varikoselli hastalarda (Grup 4) NLRP3 değerinin varikoseli olmayan gruplara kıyasla (GRUP 1-3) yüksek olması ve varikoseli olan ancak azospermisi olmayan (grup 2) den anlamlı bir yükseklikte olmaması azosperminin varikosele kıyasla bu proinflamatuvar süreci çok fazla etkilemediği kanısına varabilmekteyiz.

Şahin Z. ve arkadaşlarının yapmış olduğu varikoselin testis dokusundaki IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  proteinlerinin seviyeleri üzerindeki etkisini deneysel bir sıçan modelinde çalışmışlar ve özellikle 11 ve 13 haftalık varikosel oluşturulan rat gruplarında testis hasarına neden olduğunu, varikoselin ilerlemesi ile IL-1 $\alpha$  ekspresyonu, Sertoli hücrelerinde, spermatogonia'da, birincil spermatositlerde, spermatidlerde ve Leydig hücrelerinde geçici olarak arttığını, IL-1 $\beta$  ekspresyonu, sahte ameliyat

edilen sıçanlarda Leydig hücrelerinde görülmüş. Ve IL-1 $\beta$  ekspresyonu yine özellikle Leydig hücrelerinde, Sertoli hücrelerinde ve spermatogonia'da varikoselin ilerlemesi üzerine de artmış olduğunu bulmuşlar. Sonuç olarak IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$ 'nın testis fonksiyonunun düzenleyicileri olabileceğini, varikozel gibi belirli patolojik durumlar, bu tür proinflatuar sitokinlerin ekspresyonlarında bir artışa neden olduğunu belirtip varikozelde artan IL-1 $\alpha$  ve IL-1 $\beta$  ekspresyonu, dengeyi inflammatuar ve immün yanıtlar lehine değiştirebilip testis dokusunda erkek kısırlığına neden olabilecek zararlı etkilere neden olabileceğini savunmuşlardır (357).

Bizim çalışmamızda da NLRP3 gibi IL1- $\beta$  menide ve serum değerleri tüm gruplarda çalışıldı ve serum değerleri tek başına varikoseli olan hastalar (Grup 2-4) azospermi durumundan bağımsız olarak azospermi ve varikoseli (Grup 1) olmayan hastalara göre anlamlı derecede yüksek çıkarken, azospermisi olan ancak varikoseli olmayan hastalarda da (Grup 3) Grup 1'e göre anlamlı olarak yüksekti. Meni değerlerinde ölçülen IL1- $\beta$  ise serumdaki gibi tek başına varikoseli olan hastalar (Grup 2-4) azospermi durumundan bağımsız olarak azospermi ve varikoseli (Grup 1) olmayan hastalara göre anlamlı derecede yüksek çıkarken azospermisi olup varikoseli olan veya olmayan gruplar (Grup 3-4) azospermik varikoseli olmayan gruba (Grup 2) kıyasla anlamlı fark saptanmadı. Burada da menide IL1- $\beta$  değerinin varikozel durumu ile anlamlı bir şekilde artmış olduğunu gördük.

## 6. SONUÇ

Sonuç olarak, NLRP3 ve bununla bağlantılı IL1- $\beta$  molekülü, inflamatuvar ve düzenleyici mekanizmalarda infertilitenin açıklanabilir veya açıklanamayan mekanizmalarını kıyaslama veya öngöründe kullanılabilmeyle beraber; meni ve serum değerlerinin birbiri ile orantılı ve kıyaslanabilir olması bu moleküllerinin kullanılabilirliğini arttırmaktadır.

İnfertilite hastalarını araştırırken belirli sınıflandırmalar yapabilmeyi ve bunları değerlendirebilmeyi mümkün kılabilen bu çalışmamız ile geliştirilecek antiinflamatuvar veya antioksidan ilaçların, proinflamatuvar ortamı azaltmak için inflamozom ve oksidan molekül oluşumunu azaltmasını hedeflemek umut verici bir yaklaşım olacaktır. Ayrıca hastalardaki varikozel derecesinin ne miktarda inflamozom mekanizmaya etki ettiği belirlenerek cerrahi gereklilik durumunu da belirleme açısından infertil varikozelli erkeklerde tedavi kararı açısından yol gösterebilir olacağı kanaatindeyiz. Bu çalışma, infertil erkeklerde NLRP3 proteininin seminal plazma ve kan serum seviyesini azospermi ve varikozel durumuna göre sınıflandırılmış infertil erkeklerdeki ELISA yöntemi kullanarak belirleyen ilk çalışmadır. Gelecekteki infertilite tedavi yaklaşımlarını ve başarısını belirleyeceğine inanmakta ve ek olarak birçok çalışmaya zaman içinde ihtiyaç duyulacağını da düşünmekteyiz.

## 7. KAYNAKLAR

1. WHO, WHO Manual for the Standardized Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple. Cambridge University Press: Cambridge 2000;
2. Greenhall, E., et al. The prevalence of subfertility: a review of the current confusion and a report of two new studies. *Fertil Steril*, 1990; 54: 978-9.
3. Alp T VF. Erkek seksüel disfonksiyonu. Nobel Kitabevi. 2000;31-8.
4. Sam D. Graham TEK. Anatomy of The Penis Glenn's Urologic Surgery, Seventh Edition. 2010;465-6.
5. Molodysky et al. Penile vascular surgery for treating erectile dysfunction: Current role and future direction. *Arab Journal of Urology*, 2013; 11:254-66.
6. Brooks JD. Anatomy of the lower urinary tract and male genitalia. Campbell-Walsh Urology 9th ed Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier. 2007;
7. S. Jacob MBBS MS (Anatomy) içinde, İnsan Anatomisi 2008;
8. Prader A. Testicular size: assessment and clinical importance. *Triangle* 1966;7:240-3.
9. Tishler PV. Diameter of testicles. *N Engl J Med* 1971;285:1489-90.
10. Sinclair AH. New genes for boys. *Am J Hum Genet* 1995;57: 998-1001.
11. Hutson JM, Hasthorpe S, Heyns CF. Anatomical and functional aspects of testicular descent and cryptorchidism. *Endocr Rev* 1997;18:259-80.
12. Warne GL. Advances and challenges with intersex disorders. *Reprod Fertil Dev* 1998;10:79-85.
13. Hutson JM, Hasthorpe S. Abnormalities of testicular descent. *Cell Tissue Res* 2005;322:155-8.
14. Setchell BP, Maddocks S, Brooks DE. Anatomy, vasculature, innervation, and fluids of the male reproductive tract, New York: Raven Press, 1994; 2(1):
15. Davis JR, Langford GA, Kirby PJ. The testicular capsule, Vol. 1: Development, anatomy, and physiology. New York: Academic Press, 1970;
16. Lundquist F. Studies on the biochemistry of human semen. *Acta physiologica*. 1949;17(1):44-54.
17. Setchell B. Anatomy, vasculature, innervation and fluids of the male reproductive tract. The physiology of reproduction. 1988;
18. OpenStax College tarafından, Wikimedia Commons aracılığıyla. Patel. Anatomy and physiology of chronic scrotal pain. *Transl Androl Urol* May,2017;6(1):51-6.

19. Mostafa T, Labib I, El-Khayat Y, et al. Human testicular arterial supply: gross anatomy, corrosion cast, and radiologic study. *Fertil Steril* 2008; 90(6):2226–30.
20. Lee LM, Johnson HW, McLoughlin MG. Microdissection and radiographic studies of the arterial vasculature of the human testes. *J Pediatr Surg* 1984;19:297–301.
21. Glenn's Urologic Surgery, Seventh Edition. Chapter 62: Anatomy of the Testis
22. Setchell BP. Testicular blood supply, lymphatic drainage, and secretion of fluid, Vol. 1: Development, anatomy, and physiology. New York: Academic Press, 1970;
23. Waites GM, Gladwell RT. Physiological significance of fluid secretion in the testis and blood-testis barrier. *Physiol Rev* 1982;62:624–71.
24. Clavert A, Cranz C, Brun B. Epididymal vascularization and microvascularization. In: Bollack C, Clavert A, eds. *Progress in reproductive biology*, Vol. 8. Basel: S. Karger, 1981:48–57.
25. Jones R, Brown CR, Von Glos KI, et al. Hormonal regulation of protein synthesis in the rat epididymis. Characterization of androgen-dependent and testicular fluid-dependent proteins. *Biochem J* 1980;188:667–76.
26. Chillon M, Casals T, Mercier B, et al. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *N Engl J Med* 1995;332:1475–80.
27. Vendrely E. Structure and histophysiology of the human vas deferens. In: Bollack C, Clavert A, eds. *Progress in reproductive biology and medicine*, Vol. 12: Seminal vesicles and fertility. Basel: S. Karger, 1985;8–17.
28. Goldstein M.'den uyarlanmıştır. Erkek infertilitesinin ve diğer skrotal bozuklukların cerrahi tedavisi. *Campbell üroloji*, 8. basım. Philadelphia: WB Saunders, 2002; 1532–87.
29. Hatier R, Grignon G, Guedenet JC. Development of the seminal vesicles. In: Bollack C, Clavert A, eds. *Progress in reproductive biology and medicine*, Vol. 12: Seminal vesicles and fertility. Basel: S. Karger, 1985;4–7.
30. Lundquist F. Studies on the biochemistry of human semen; the viscosimetric determination of hyaluronidase. *Acta Physiol Scand* 1949;17:44–54.
31. Clavert A, Gabriel-Robez O, Montagnon D. Physiological role of the seminal vesicle. In: Bollack C, Clavert A, eds. *Progress in reproductive biology and medicine*, Vol. 12: Seminal vesicles and fertility. Basel: S. Karger, 1985;80–94.
32. Snick, H.K., et al. The spontaneous pregnancy prognosis in untreated subfertile couples: the Walcheren primary care study. *Hum Reprod*, 1997; 12: 1582-3.
33. Rowe, T. Fertility and a woman's age. *J Reprod Med*, 2006; 51: 157-8.

34. WHO, WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, in 5th edn. 2010;
35. Hauser, R., et al. Fertility in cases of hypergonadotropic azoospermia. *Fertil Steril*, 1995; 63: 631-2.
36. Martin-du-Pan, R.C., et al. Increased follicle stimulating hormone in infertile men. Is increased plasma FSH always due to damaged germinal epithelium? *Hum Reprod*, 1995; 10: 1940-1.
37. Lotti, F., et al. Ultrasound of the male genital tract in relation to male reproductive health. *Human Reprod Update*, 2015; 21: 56-7.
38. Abdel-Meguid, T.A. Predictors of sperm recovery and azoospermia relapse in men with nonobstructive azoospermia after varicocele repair. *J Urol*, 2012; 187: 222-3.
39. Kim, E.D., et al. Testis biopsies frequently demonstrate sperm in men with azoospermia and significantly elevated follicle-stimulating hormone levels. *J Urol*, 1997; 157: 144-5.
40. Carrell, D.T. The clinical implementation of sperm chromosome aneuploidy testing: pitfalls and promises. *J Androl*, 2008; 29: 124-5.
41. Johnson, M.D. Genetic risks of intracytoplasmic sperm injection in the treatment of male infertility: recommendations for genetic counseling and screening. *Fertil Steril*, 1998; 70: 397-8.
42. Clementini, E., et al. Prevalence of chromosomal abnormalities in 2078 infertile couples referred for assisted reproductive techniques. *Hum Reprod*, 2005; 20: 437-8.
43. Vincent, M.C., et al. Cytogenetic investigations of infertile men with low sperm counts: a 25-year experience. *J Androl*, 2002; 23: 18-9.
44. Dul, E.C., et al. The prevalence of chromosomal abnormalities in subgroups of infertile men. *Hum Reprod*, 2012; 27: 36-7.
45. Davila Garza, S.A., et al. Reproductive outcomes in patients with male infertility because of Klinefelter's syndrome, Kartagener's syndrome, round-head sperm, dysplasia fibrous sheath, and 'stump' tail sperm: an updated literature review. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2013; 25: 229-30.
46. Wang, C., et al. Hormonal studies in Klinefelter's syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1975; 4: 399-400.
47. Aksglaede, L., et al. Testicular function and fertility in men with Klinefelter syndrome: a review. *Eur J Endocrinol*, 2013; 168: 67-8.
48. Gianaroli, L., et al. Frequency of aneuploidy in sperm from patients with extremely severe male factor infertility. *Hum Reprod*, 2005; 20: 2140-1

49. Tempest, H.G., et al. Cytogenetic risks in chromosomally normal infertile men. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2009; 21: 223-4.
50. Baccetti, B., et al. Ultrastructural studies of spermatozoa from infertile males with Robertsonian translocations and 18, X, Y aneuploidies. *Hum Reprod*, 2005; 20: 2295-9.
51. Miyagawa, Y., et al. Outcome of gonadotropin therapy for male hypogonadotropic hypogonadism at university affiliated male infertility centers: a 30-year retrospective study. *J Urol*, 2005; 173: 2072-3.
52. Vogt, P.H., et al. Human Y chromosome azoospermia factors (AZF) mapped to different subregions in Yq11. *Hum Mol Genet*, 1996; 5: 933-4.
53. Krausz, C., et al. Spermatogenic failure and the Y chromosome. *Hum Genet*, 2017; 136: 637-8.
54. Krausz, C., et al. The Y chromosome and male fertility and infertility. *Int J Androl*, 2003. 26: 70.
55. Krausz, C., et al. Y chromosome and male infertility: update, *Front Biosci*, 2006; 11: 3049-50.
56. Krausz, C., et al. EAA/EMQN best practice guidelines for molecular diagnosis of Y-chromosomal microdeletions: state-of-the-art 2013. *Andrology*, 2014; 2: 5-6.
57. Le Bourhis, C., et al. Y chromosome microdeletions and germinal mosaicism in infertile males. *Mol Hum Reprod*, 2000; 6: 688-9.
58. Patsalis, P.C., et al. Effects of transmission of Y chromosome AZFc deletions. *Lancet*, 2002. 360: 1222-3.
59. Hendry, W., Azoospermia and surgery for testicular obstruction. In: Hargreave TB (ed). *Male Infertility*, in Hargreave TB (ed). *Male Infertility*. Springer Verlag: Berlin. 1997;
60. Pierik, F.H., et al. Serum inhibin B as a marker of spermatogenesis. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998; 83: 3110-1.
61. Oates, R.D., et al. The genetic basis of congenital bilateral absence of the vas deferens and cystic fibrosis. *J Androl*, 1994; 15: 1-2.
62. Handelsman, D.J., et al. Young's syndrome. Obstructive azoospermia and chronic sinopulmonary infections. *N Engl J Med*, 1984; 310: 3-4.
63. Silber, S.J., et al. Microscopic vasectomy reversal 30 years later: a summary of 4010 cases by the same surgeon. *J Androl*, 2004; 25: 845-6.
64. Jarvi, K., et al. Adverse effects on vasoepididymostomy outcomes for men with concomitant abnormalities in the prostate and seminal vesicle. *J Urol*, 1998; 160: 1410-1.

65. Schoysman, R. Vaso-epididymostomy--a survey of techniques and results with considerations of delay of appearance of spermatozoa after surgery. *Acta Eur Fertil*, 1990; 21: 239-40.
66. Shin, D., et al. Herniorrhaphy with polypropylene mesh causing inguinal vasal obstruction: a preventable cause of obstructive azoospermia. *Ann Surg*, 2005; 241: 553-4.
67. Schlegel, P.N., et al. Urogenital anomalies in men with congenital absence of the vas deferens. *J Urol*, 1996; 155: 1644-5.
68. Schuhrke, T.D., et al. Prostatic utricle cysts (mullerian duct cysts). *J Urol*, 1978; 119: 765-6.
69. Surya, B.V., et al. Cysts of the seminal vesicles: diagnosis and management. *Br J Urol*, No abstract available. 1988; 62: 491-2.
70. Schroeder-Printzen, I., et al. Surgical therapy in infertile men with ejaculatory duct obstruction: technique and outcome of a standardized surgical approach. *Hum Reprod*, 2000; 15: 1364-5.
71. Kuligowska, E., et al. Male infertility: role of transrectal US in diagnosis and management. *Radiology*, 1992; 185: 353-4.
72. Colpi, G.M., et al. Functional voiding disturbances of the ampullo-vesicular seminal tract: a cause of male infertility. *Acta Eur Fertil*, 1987; 18: 165-6.
73. Silber, S.J., et al. Pregnancy with sperm aspiration from the proximal head of the epididymis: a new treatment for congenital absence of the vas deferens. *Fertil Steril*, 1988; 50: 525-6.
74. Esteves, S.C., et al. Sperm retrieval techniques for assisted reproduction. *Int Braz J Urol*, 2011; 37: 570-1.
75. Schroeder-Printzen, I., et al. Microsurgical epididymal sperm aspiration: aspirate analysis and straws available after cryopreservation in patients with non-reconstructable obstructive azoospermia. MESA/TESE Group Giessen. *Hum Reprod*, 2000; 15: 2531-2.
76. Van Peperstraten, A., et al. Techniques for surgical retrieval of sperm prior to ICSI for azoospermia. *Cochrane Database Syst Rev*, 2006; CD002807.
77. The influence of varicocele on parameters of fertility in a large group of men presenting to infertility clinics. World Health Organization. *Fertil Steril*, 1992; 57: 1289-90.
78. Agarwal, A., et al. Efficacy of varicocelectomy in improving semen parameters: new meta-analytical approach. *Urology*, 2007; 70: 532-3.
79. Zini, A., et al. Are varicoceles associated with increased deoxyribonucleic acid fragmentation? *Fertil Steril*, 2011; 96: 1283-4.

- 80.** Esteves, S.C., et al. Outcome of varicocele repair in men with nonobstructive azoospermia: Systematic review and meta-analysis. *Asian J Androl*, 2016; 18: 246-7.
- 81.** Yamamoto, M., et al. Effect of varicocelectomy on sperm parameters and pregnancy rate in patients with subclinical varicocele: a randomized prospective controlled study. *J Urol*, 1996; 155: 1636-7.
- 82.** Kroese, A.C., et al. Surgery or embolization for varicoceles in subfertile men. *Cochrane Database Syst Rev*, 2012; 10: 479-80
- 83.** Ding, H., et al. Open non-microsurgical, laparoscopic or open microsurgical varicocelectomy for male infertility: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BJU Int*, 2012; 110: 1536-7.
- 84.** Andrology, In: Nieschlag E, Behre HM and Nieschlag S (eds). Male reproductive health and dysfunction, in *Male reproductive health and dysfunction*. Springer Verlag: Berlin. 2010;
- 85.** Bianco, S.D., et al. The genetic and molecular basis of idiopathic hypogonadotropic hypogonadism. *Nat Rev Endocrinol*, 2009; 5: 569-70.
- 86.** Krausz, C. Genetic aspects of male infertility. *Eur Urol Rev*, 2009; 3-4.
- 87.** Dwyer, A.A., et al. Gonadotrophin replacement for induction of fertility in hypogonadal men. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2015; 29: 91-2.
- 88.** Schopohl, J., et al. Comparison of gonadotropin-releasing hormone and gonadotropin therapy in male patients with idiopathic hypothalamic hypogonadism. *Fertil Steril*, 1991; 56: 1143-4.
- 89.** Andersson, A.M., et al. Impaired Leydig cell function in infertile men: a study of 357 idiopathic infertile men and 318 proven fertile controls. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004; 89: 3161-2.
- 90.** Lanfranco, F., et al. Klinefelter's syndrome. *Lancet*, 2004; 364: 273-4.
- 91.** Finkelstein, J., Androgens and bone metabolism. In: Nieschlag E, Behre HM (eds). *Testosterone: Action, Deficiency, Substitution*. in *Testosterone: Action, Deficiency, Substitution*. Springer Verlag: Berlin. 1998; 2: 187-8.
- 92.** Pierik, F.H., et al. The advantages of standardized evaluation of male infertility. *Int J Androl*, 2000; 23: 340-1.
- 93.** Tournaye, H., et al. Concepts in diagnosis and therapy for male reproductive impairment. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2017; 5: 554-5.

94. Salas-Huetos, A., et al. Dietary patterns, foods and nutrients in male fertility parameters and fecundability: a systematic review of observational studies. *Hum Reprod Update*, 2017; 23: 371-2.
95. Chua, M.E., et al. Revisiting oestrogen antagonists (clomiphene or tamoxifen) as medical empiric therapy for idiopathic male infertility: a meta-analysis. *Andrology*, 2013; 1: 749-50.
96. Santi, D., et al. FSH treatment of male idiopathic infertility improves pregnancy rate: A metaanalysis. *Endocr Connect*, 2015; 4: 46-7.
97. Imamovic Kumalic, S., et al. Review of clinical trials on effects of oral antioxidants on basic semen and other parameters in idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. [Review]. *Biomed Res Int*, 2014; 426951-2.
98. Showell, M.G., et al. Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*, 2014; 12: 7411-2.
99. Weiske WH Minimal invasive Vasektomie mittels Fulgurationstechnik. Erfahrungen bei 1000 Patienten in 12 Jahren. *Urologe*, 1994; 34:448-52.
100. Sobrero AJ, MacLeod J The immediate postcoital test. *Fertility and Sterility*, 1962; 13:184-9.
101. Weiske WH et al. Clinical findings in congenital absence of the vasa deferentia. *Andrologia*, 2000; 32:13-8.
102. Von Eckardstein S et al. Seminal plasma characteristics as indicators of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in men with obstructive azoospermia. *Fertility and Sterility*, 2000; 73:1226-31.
103. Zinaman MJ et al. Semen quality and human fertility: a prospective study with healthy couples. *Journal of Andrology*, 2000; 21:145-53.
104. Larsen L et al. Computer-assisted semen analysis parameters as predictors for fertility of men from the general population. The Danish First Pregnancy Planner Study Team. *Human Reproduction*, 2000; 15:1562-7.
105. Chemes HE, Rawe YV Sperm pathology: a step beyond descriptive morphology. Origin, characterization and fertility potential of abnormal sperm phenotypes in infertile men. *Human Reproduction Update*, 2003; 9:405-28.
106. Correa-Perez JR et al. Clinical management of men producing ejaculates characterized by high levels of dead sperm and altered seminal plasma factors consistent with epididymal necropermia. *Fertility and Sterility*, 2004; 81:1148-50.

107. Slama R et al. Time to pregnancy and semen parameters: a cross-sectional study among fertile couples from four European cities. *Human Reproduction*, 2002; 17:503-15.
108. Ezeh UI, Moore HM Redefining azoospermia and its implications. *Fertility and Sterility*, 2001; 75:213-4.
109. Eliasson R Basic semen analysis. In: Matson P, ed. *Current topics in andrology*. Perth, Ladybrook Publishing: 2003; 35-89.
110. Menkveld R et al. The evaluation of morphological characteristics of human spermatozoa according to stricter criteria. *Human Reproduction*, 1990; 5:586-92.
111. Liu DY, Baker HWG Morphology of spermatozoa bound to the zona pellucida of human oocytes that failed to fertilize in vitro. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1992; 94:71-84.
112. Kruger TF et al. Sperm morphologic features as a prognostic factor in in-vitro fertilization. *Fertility and Sterility*, 1986; 46:1118-23.
113. Coetzee K et al. Predictive value of normal sperm morphology: a structured literature review. *Human Reproduction Update*, 1998; 4:73-82.
114. Menkveld R et al. Semen parameters, including WHO and strict criteria morphology, in a fertile and subfertile population: an effort towards standardization of in-vivo thresholds. *Human Reproduction*, 2001; 16:1165-71.
115. Gandini L et al. Study of apoptotic DNA fragmentation in human spermatozoa. *Human Reproduction*, 2000; 15:830-9.
116. Lee JD et al. Analysis of chromosome constitution of human spermatozoa with normal and aberrant head morphologies after injection into mouse oocytes. *Human Reproduction*, 1996; 11:1942-4.
117. Martin RH et al. A comparison of the frequency of sperm chromosome abnormalities in men with mild, moderate, and severe oligozoospermia. *Biology of Reproduction*, 2003; 69:535-9.
118. Jarow, Espeland, Lipshultz, Jarow JP, Espeland MA, Lipshultz LI: Evaluation of the azoospermic patient. *J Urol* 1989; 142:62-5.
119. Amerikan Üroloji Birliği [AUA] ve Amerikan Üreme Tıbbı Topluluğu [ASRM] En iyi Uygulama Komiteleri, 2006;
120. Vermaeue et al, 2004. Vermaeue V, Krikilion A, Verheyen G, et al: Outcome of testicular sperm recovery and ICSI in patients with non-obstructive azoospermia with a history of orchidopexy. *Hum Reprod* 2004; 19(10):2307-12.

121. Hibi et al, 2005. Hibi H, Ohori T, Yamada Y, et al: Probability of sperm recovery in non-obstructive azoospermic patients presenting with testes volume less than 10 ml/FSH level exceeding 20 mIU/ml. *Arch Androl* 2005; 51(3):225-31.
122. Harris, Sandlow, Harris SE, Sandlow JI: Sperm acquisition in nonobstructive azoospermia: what are the options?. *Urol Clin North Am* 2008; 35(2):236-7.
123. Sigman, Jarow, Sigman M, Jarow JP: Endocrine evaluation of infertile men. *Urology* 1997; 50(5):659-64.
124. Guzick et al, 2001. Guzick DS, et al: Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. *N Engl J Med* 2001; 345(19):1388-93.
125. Francavilla et al, Francavilla F, Santucci R, Barbonetti A, et al: Naturally occurring antisperm antibodies in men: interference with fertility and clinical implications. An update. 2007;
126. Xu, Zhan, Xu SP, Zhan BE: Analysis of relationship between semen quality and sperm acrosin activity. 2006;
127. Agarwal, Said, Agarwal A, Said TM: Carnitines and male infertility. *Reprod Biomed Online* 2004; 8(4):376- 84.
128. Lewis-Jones, Aird, Biljan, Kingsland, Lewis-Jones DI, Aird IA, Biljan MM, Kingsland CR: Effects of sperm activity on zinc and fructose concentrations in seminal plasma. *Hum Reprod* 1996; 11(11):2465-7.
129. Sigman, Glass, Campagnone, Pryor, Sigman M, Glass S, Campagnone J, Pryor JL: Carnitine for the treatment of idiopathic asthenospermia: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Fertil Steril* 2006; 85(5):1409- 14.
130. Gomez E et al. Development of an image analysis system to monitor the retention of residual cytoplasm by human spermatozoa: correlation with biochemical markers of the cytoplasmic space, oxidative stress, and sperm function. *Journal of Andrology*, 1996; 17:276- 87.
131. Aitken RJ et al. Oxidative stress in the male germ line and its role in the aetiology of male infertility and genetic disease. *Reproductive Biomedicine Online*, 2003; 7:65-70.
132. Henkel R et al. Influence of deoxyribonucleic acid damage on fertilization and pregnancy. *Fertility and Sterility*, 2004; 81:965-72.
133. Agarwal A et al. Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reproductive Biomedicine Online*, 2004; 8:616-27.
134. Sawyer DE et al. Quantitative analysis of gene-specific DNA damage in humanspermatozoa. *Mutation Research*, 2003; 529:21-34.

135. Erenpreiss et al, Erenpreiss J, et al: Effect of leukocytospermia on sperm DNA integrity: a negative effect in abnormal semen samples. *J Androl* 2002; 23(5):717-23.
136. Zini, Libman, Zini A, Libman J: Sperm DNA damage: importance in the era of assisted reproduction. *Curr Opin Urol* 2006; 16(6):428-34.
137. Johanisson E et al. Evaluation of “round cells” in semen analysis: a comparative study. *Human Reproduction Update*, 2000; 6:404-12.
138. Turek PJ. Male infertility: Tanagho EA, McAninch JC, editors. *Smith's urology*. Stamford, CT: Appleton & Lange; [chapter 44-1 ]'den düzenlenerek alınmıştır. 2008; 16:
139. Turek PJ. Male infertility: Tanagho EA, McAninch JC, editors. *Smith's urology*. Stamford, CT: Appleton & Lange; (chapter 44-2). 2008; 16:
140. Clermont, Clermont Y: Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol Rev* 1972; 52:198-236.
141. Misell et al, 2006. Misell LM, Holochwost D, Boban D, et al: A stable isotope/mass spectrometric method for measuring the kinetics of human spermatogenesis in vivo. *J Urol* 2006; 175:242-6.
142. Steinberger, Steinberger E: Molecular mechanisms concerned with hormonal effects on the seminiferous tubule and endocrine relationships at puberty in the male. In: Spilman CH, Lobl TJ, Kirton KT, et al ed. *Regulatory mechanisms of male reproductive physiology*, Amsterdam: Excerpta Medica; 1976:29-34.
143. De Kretser, Kerr, de Kretser DM, Kerr JB: *The cytology of the testis*. New York, Raven Press, 1988;
144. Heller, Clermont, Heller CG, Clermont Y: Kinetics of the germinal epithelium in man. *Rec Prog Horm Res* 1964; 20:545-75.
145. Kerr, de Kretser, Kerr JB, de Kretser DM: *The cytology of the human testis*. In: Burger H, de Kretser D, ed. *The testis*, New York: Raven Press; 1981:141-69.
146. Corradi PF, Corradi RB, Greene LW. *Physiology of the Hypothalamic Pituitary Gonadal Axis in the Male*. *Urol Clin North Am* 2016;43:151–62.
147. Tatem AJ, Beilan J, Kovac JR, Lipshultz LI. *Management of Anabolic Steroid-Induced Infertility: Novel Strategies for Fertility Maintenance and Recovery*. *World J Mens Health* 2019;37:16-7.
148. Uysal M. Serbest radikaller ve oksidatif stres. *Biyokimya Eds( )*: Gürdöl F, ademoğlu E. Nobel tıp kitapçevleri İstanbul, 2010; 2: 647-52.
149. Tremellen k. *Oxidative stress and male infertility-a clinical perspective*. *Hum reprod update*.2008;14:243-58.

- 150.** Agarwal A, Prabhakaran SA, Sikka SC. Clinical relevance of oxidative stress in patients with male factor infertility: evidence-based analysis. *AUA Update Series*. 2007;26:1-12.
- 151.** Hampl R, Drabkova P, Kand'ar R, Stepan J. Impact of oxidative stress on male infertility. *Ceska Gynekol*. 2012;77:241-5.
- 152.** Sharma RK, Agarwal A. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology* 1996;48:835-50.
- 153.** Gomez E, Buckingham DW, Brindle J. Development of an image analysis system to monitor the retention of residual cytoplasm by human spermatozoa: correlation with biochemical markers of the cytoplasmic space, oxidative stress, and sperm function. *J androl*.1996;17:276-7.
- 154.** Mancini A, Festa R, Silvestrini A, Nicolotti N, Di Donna V, La Torre G, Pontecorvi A, Meucci E. Hormonal regulation of total antioxidant capacity in seminal plasma. *J Androl*. 2009;30:534-40.
- 155.** Kothari S, Thompson A, Agarwal A, du Plessis SS. Free radicals: Their beneficial and detrimental effects on sperm function. *Indian J Exp Biol*. 2010;48:425-35.
- 156.** Agarwal A, Saleh RA. *Urol Clin N Am*. 2002;29:817-27.
- 157.** Armstrong JS, Rajasekaran M, Chamulitrat W. Characterization of reactive oxygen species induced effects on human spermatozoa movement and energy metabolism. *Free Radic Biol Med*. 1999;26:869-70.
- 158.** Muino-Blanco T, Perez-Pe R, Cebrian-Perez C. Seminal plasma proteins and sperm resistance to stress. *Reprod Dom Anim*. 2008;43:18-31.
- 159.** Griveau JF and Le Lannou D: Reactive oxygen species and human spermatozoa: physiology and pathology. *Int J Androl*. 1997;20:61-2.
- 160.** Agarwal A, Nallella KP, Allamaneni SS. Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reprod Biomed Online*. 2004;8:616-7.
- 161.** De Lamirande E, Leclerc P and Gagnon C. Capacitation as a regulatory event that primes spermatozoa for the acrosome reaction and fertilization. *Mol Hum Reprod* 1997;3:175-8.
- 162.** Kodama H, Kuribayashi Y And Gagnon C. Effect of sperm lipid peroxidation on fertilization. *J androl*. 1996;17:151-2.
- 163.** Helbock HJ, Beckman KB, Shigenaga MK. DNA oxidation matters: the HPLC electrochemical detection assay of 8-oxo-deoxyguanosine and 8-oxo-guanine. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1998;95:288-9.
- 164.** Tuğcu V, Gedikbaşı A, Mutlu B, Güner E, Uhri M, Andican G, Ozbek E, Taşçı AI. Increased testicular 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) and inducible nitric oxide

- synthetase (iNOS) and nuclear factor KB (NF-KB) expressions in experimental rat varicocele. *Arch Ital Urol Androl.* 2010;82:148-53.
165. Sakkas D, Umer F, Bizzaro D. Sperm nuclear DNA damage and altered chromatin structure: effect on fertilization and embryo development. *Hum Reprod* 1998;13:11-2.
  166. Sakkas D, Seli E, Bizzaro D. Abnormal spermatozoa in the ejaculate: abortive apoptosis and faulty nuclear remodelling during spermatogenesis. *Reprod Biomed Online.*2003;7:428-9.
  167. Alvarez JG, Sharma RK, Ollero M. Increased DNA damage in sperm from leukocytospermic semen samples as determined by the sperm chromatin structure assay. *Fertil steril* 2002;78:319-20.
  168. Yakes FM and Van Houten B. Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94:514-5.
  169. Gong S, San Gabriel MC, Zini A, Chan P, O'Flaherty C. Low Amounts and High Thiol Oxidation of Peroxiredoxins in Spermatozoa from Infertile Men. *J Androl.* 2012;5-6.
  170. Nirupama M, Devaki M, Nirupama R, Yajurvedi HN. Chronic intermittent stress-induced alterations in the spermatogenesis and anti-oxidant status of the testis are irreversible in albino rat. *J physiol biochem* 2012;21-2.
  171. Adeel AL, Jahan S, Subhan F, Alam W, Bibi R. Total anti-oxidant status: a biochemical predictor of human male infertility. *Andrologia.* 2011;44:20-5.
  172. Mahfouz R, Sharma R, Sharma D, Sabanegh E, Agarwal A. Diagnostic value of the total antioxidant capacity (TAC) in human seminal plasma. *Fertil Steril.* 2009;91:805-11.
  173. Niederberger C. Re: The role of sperm oxidative stress in male infertility and the significance of oral antioxidant therapy. *J Urol.* 2012;187:1377-8.
  174. Showell MG, Brown J, Yazdani A, Stankiewicz MT, Hart RJ. Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev.* 2011;19:7411-2.
  175. Bansal AK, Bilaspuri GS. Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Vet Med Int.* 2010;7-8.
  176. S. R. Ali, M. Karin, and V. Nizet, "Signaling cascades and inflammasome activation in microbial infections," *Inflammasome*, 2016; 2(1):
  177. I. Jorgensen and E. A. Miao, "Pyroptotic cell death defends against intracellular pathogens," *Immunological Reviews*, vol. 2015;265(1): 130–42.
  178. K. Schroder and J. Tschopp, "The inflammasomes," *Cell*, 2010; 140(6): 821–32.

- 179.** H. Yaribeygi, N. Katsiki, A. E. Butler, and A. Sahebkar, “Effects of antidiabetic drugs on NLRP3 inflammasome activity, with a focus on diabetic kidneys,” *Drug Discovery Today*, 2019; 24(1): 256–62.
- 180.** C. Bourgeois and K. Kuchler, “Fungal pathogens—a sweet and sour treat for toll-like receptors,” *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2012;2: 142-3.
- 181.** B. Z. Shao, Z. Q. Xu, B. Z. Han, D. F. Su, and C. Liu, “NLRP3 inflammasome and its inhibitors: a review,” *Frontiers in Pharmacology*, 2015; 6: 262-3.
- 182.** G. Y. Chen and G. Nunez, “Inflammasomes in intestinal inflammation and cancer,” *Gastroenterology*, 2011; 141(6): 1986–99.
- 183.** T. Prochnicki and E. Latz, “Inflammasomes on the crossroads of innate immune recognition and metabolic control,” *Cell Metabolism*, 2017; 26(1): 71–93.
- 184.** Sharma, D.; Kanneganti, T.-D. The cell biology of inflammasomes: Mechanisms of inflammasome activation and regulation. *J. Cell Biol.* 2016; 213: 617–29.
- 185.** Lamkanfi, M.; Dixit, V.M. Mechanisms and Functions of Inflammasomes. *Cell* 2014; 157:1013–22.
- 186.** Elinav, E.; Strowig, T.; Kau, A.L.; Henao-Mejia, J.; Thaiss, C.A.; Booth, C.J.; Peaper, D.R.; Bertin, J.; Eisenbarth, S.C.; Gordon, J.I.; et al. NLRP6 inflammasome regulates colonic microbial ecology and risk for colitis. *Cell* 2011; 145: 745–57.
- 187.** Vladimer, G.I.; Weng, D.; Paquette, S.W.M.; Vanaja, S.K.; Rathinam, V.A.K.; Aune, M.H.; Conlon, J.E.; Burbage, J.J.; Proulx, M.K.; Liu, Q.; et al. The NLRP12 inflammasome recognizes *Yersinia pestis*. *Immunity* 2012; 37: 96–107.
- 188.** C. Pellegrini, L. Antonioli, G. Lopez-Castejon, C. Blandizzi, and M. Fornai, “Canonical and non-canonical activation of NLRP3 inflammasome at the crossroad between immune tolerance and intestinal inflammation,” *Frontiers in Immunology*, 2017; 8: 36-7.
- 189.** E. Elinav, J. Henao-Mejia, and R. A. Flavell, “Integrative inflammasome activity in the regulation of intestinal mucosal immune responses,” *Mucosal Immunol*, 2013; 6(1): 4–13.
- 190.** Takeuchi, O.; Akira, S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell* 2010; 140: 805–20.
- 191.** Franchi, L.; Eigenbrod, T.; Muñoz-Planillo, R.; Nuñez, G. The Inflammasome: A Caspase-1 Activation Platform Regulating Immune Responses and Disease Pathogenesis. *Nat. Immunol.* 2009; 10: 241-2.
- 192.** Manji, G.A.; Wang, L.; Geddes, B.J.; Brown, M.; Merriam, S.; Al-Garawi, A.; Mak, S.; Lora, J.M.; Briskin, M.; Jurman, M.; et al. PYPAF1, a PYRIN-containing Apaf1-like

- protein that assembles with ASC and regulates activation of NF-kappa B. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 11570–5.
- 193.** Martinon, F.; Burns, K.; Tschopp, J. The Inflammasome: A Molecular Platform Triggering Activation of Inflammatory Caspases and Processing of proIL-1 $\beta$ . *Mol. Cell* 2002; 10: 417–26.
- 194.** Fink, S.L.; Cookson, B.T. Caspase-1-dependent pore formation during pyroptosis leads to osmotic lysis of infected host macrophages. *Cell. Microbiol.* 2006; 8: 1812–25.
- 195.** Shi, J.; Zhao, Y.; Wang, K.; Shi, X.; Wang, Y.; Huang, H.; Zhuang, Y.; Cai, T.; Wang, F.; Shao, F. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature* 2015; 526: 660–5.
- 196.** Kayagaki, N.; Stowe, I.B.; Lee, B.L.; O'Rourke, K.; Anderson, K.; Warming, S.; Cuellar, T.; Haley, B.; Roose-Girma, M.; Phung, Q.T.; et al. Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling. *Nature* 2015; 526: 666–71.
- 197.** He, W.; Wan, H.; Hu, L.; Chen, P.; Wang, X.; Huang, Z.; Yang, Z.-H.; Zhong, C.-Q.; Han, J. Gasdermin D is an executor of pyroptosis and required for interleukin-1 $\beta$  secretion. *Cell Res.* 2015; 25: 1285–98.
- 198.** Thomas, P.G.; Dash, P.; Aldridge, J.R.; Ellebedy, A.H.; Reynolds, C.; Funk, A.J.; Martin, W.J.; Lamkanfi, M.; Webby, R.J.; Boyd, K.L.; et al. The intracellular sensor NLRP3 mediates key innate and healing responses to influenza A virus via the regulation of caspase-1. *Immunity* 2009; 30: 566–75.
- 199.** Allen, I.C.; Scull, M.A.; Moore, C.B.; Holl, E.K.; McElvania-TeKippe, E.; Taxman, D.J.; Guthrie, E.H.; Pickles, R.J.; Ting, J.P.-Y. The NLRP3 inflammasome mediates in vivo innate immunity to influenza A virus through recognition of viral RNA. *Immunity* 2009; 30: 556–65.
- 200.** Gross, O.; Poeck, H.; Bscheider, M.; Dostert, C.; Hanneschläger, N.; Endres, S.; Hartmann, G.; Tardivel, A.; Schweighöfer, E.; Tybulewicz, V.; et al. Syk kinase signalling couples to the Nlrp3 inflammasome for anti-fungal host defence. *Nature* 2009; 459: 433–6.
- 201.** Kanneganti, T.-D.; Body-Malapel, M.; Amer, A.; Park, J.-H.; Whitfield, J.; Franchi, L.; Taraporewala, Z.F.; Miller, D.; Patton, J.T.; Inohara, N.; et al. Critical role for Cryopyrin/Nalp3 in activation of caspase-1 in response to viral infection and double-stranded RNA. *J. Biol. Chem.* 2006; 281: 36560–8.
- 202.** Menu, P.; Vince, J.E. The NLRP3 inflammasome in health and disease: The good, the bad and the ugly. *Clin. Exp. Immunol.* 2011; 166: 1–15.

- 203.** Guo, H.; Callaway, J.B.; Ting, J.P.-Y. Inflammasomes: Mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat. Med.* 2015;21: 677–87.
- 204.** Lamkanfi, M.; Kanneganti, T.-D. Nlrp3: An immune sensor of cellular stress and infection. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2010; 42: 792–5.
- 205.** Nathan Kelley, Devon Jeltema, Yanhui Duan and Yuan He. The NLRP3 Inflammasome: An Overview of Mechanisms of Activation and Regulation. *Int. J. Mol. Sci.* 2019; 20: 3328-9.
- 206.** Bauernfeind, F.G.; Horvath, G.; Stutz, A.; Alnemri, E.S.; MacDonald, K.; Speert, D.; Fernandes-Alnemri, T.; Wu, J.; Monks, B.G.; Fitzgerald, K.A.; et al. Cutting Edge: NF- $\kappa$ B Activating Pattern Recognition and Cytokine Receptors License NLRP3 Inflammasome Activation by Regulating NLRP3 Expression. *J. Immunol.* 2009; 183: 787–91.
- 207.** Lemmers, B.; Salmena, L.; Bidère, N.; Su, H.; Matysiak-Zablocki, E.; Murakami, K.; Ohashi, P.S.; Jurisicova, A.; Lenardo, M.; Hakem, R.; et al. Essential Role for Caspase-8 in Toll-like Receptors and NF- $\kappa$ B Signaling. *J. Biol. Chem.* 2007; 282: 7416–23.
- 208.** Ranjan, K.; Pathak, C. FADD regulates NF- $\kappa$ B activation and promotes ubiquitination of cFLIPL to induce apoptosis. *Sci. Rep.* 2016; 6: 22787-8.
- 209.** Juliana, C.; Fernandes-Alnemri, T.; Kang, S.; Farias, A.; Qin, F.; Alnemri, E.S. Non-transcriptional Priming and Deubiquitination Regulate NLRP3 Inflammasome Activation. *J. Biol. Chem.* 2012; 287: 36617–22.
- 210.** Schroder, K.; Sagulenko, V.; Zamoshnikova, A.; Richards, A.A.; Cridland, J.A.; Irvine, K.M.; Stacey, K.J.; Sweet, M.J. Acute lipopolysaccharide priming boosts inflammasome activation independently of inflammasome sensor induction. *Immunobiology* 2012; 217, 1325–9.
- 211.** Lin, K.-M.; Hu, W.; Troutman, T.D.; Jennings, M.; Brewer, T.; Li, X.; Nanda, S.; Cohen, P.; Thomas, J.A.; Pasare, C. IRAK-1 bypasses priming and directly links TLRs to rapid NLRP3 inflammasome activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2014; 111: 775–80.
- 212.** Fernandes-Alnemri, T.; Kang, S.; Anderson, C.; Sagara, J.; Fitzgerald, K.A.; Alnemri, E.S. Toll-Like Receptor Signaling Licenses IRAK1 For Rapid Activation Of The NLRP3 Inflammasome. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 2013; 191: 3995–9.
- 213.** Lopez-Castejon, G.; Luheshi, N.M.; Compan, V.; High, S.; Whitehead, R.C.; Flitsch, S.; Kirov, A.; Prudovsky, I.; Swanton, E.; Brough, D. Deubiquitinases regulate the activity of caspase-1 and interleukin-1beta secretion via assembly of the inflammasome. *J. Biol. Chem.* 2013; 288: 2721–33.

- 214.** Py, B.F.; Kim, M.-S.; Vakifahmetoglu-Norberg, H.; Yuan, J. Deubiquitination of NLRP3 by BRCC3 critically regulates inflammasome activity. *Mol. Cell* 2013; 49: 331–8.
- 215.** Song, N.; Liu, Z.-S.; Xue, W.; Bai, Z.-F.; Wang, Q.-Y.; Dai, J.; Liu, X.; Huang, Y.-J.; Cai, H.; Zhan, X.-Y.; et al. NLRP3 Phosphorylation Is an Essential Priming Event for Inflammasome Activation. *Mol. Cell* 2017; 68: 185–97.
- 216.** Zhong, Z.; Liang, S.; Sanchez-Lopez, E.; He, F.; Shalapour, S.; Lin, X.; Wong, J.; Ding, S.; Seki, E.; Schnabl, B.; et al. New mitochondrial DNA synthesis enables NLRP3 inflammasome activation. *Nature* 2018; 560: 198–203.
- 217.** Greaney, A.J.; Leppla, S.H.; Moayeri, M. Bacterial Exotoxins and the Inflammasome. *Front. Immunol.* 2015; 6: 570-1.
- 218.** Lee, M.-S.; Kwon, H.; Lee, E.-Y.; Kim, D.-J.; Park, J.-H.; Tesh, V.L.; Oh, T.-K.; Kim, M.H. Shiga Toxins Activate the NLRP3 Inflammasome Pathway To Promote Both Production of the Proinflammatory Cytokine Interleukin-1beta and Apoptotic Cell Death. *Infect. Immun.* 2016; 84: 172–86.
- 219.** Kasper, L.; König, A.; Koenig, P.-A.; Gresnigt, M.S.; Westman, J.; Drummond, R.A.; Lionakis, M.S.; Groß, O.; Ruland, J.; Naglik, J.R.; et al. The fungal peptide toxin Candidalysin activates the NLRP3 inflammasome and causes cytolysis in mononuclear phagocytes. *Nat. Commun.* 2018; 9: 4260-1.
- 220.** Rogiers, O.; Frising, U.C.; Kucharíková, S.; Jabra-Rizk, M.A.; Loo, G.v.; Dijck, P.V.; Wullaert, A. Candidalysin Crucially Contributes to Nlrp3 Inflammasome Activation by *Candida albicans* Hyphae. *mBio* 2019; 10: 2221-8.
- 221.** Skeldon, A.; Saleh, M. The Inflammasomes: Molecular Effectors of Host Resistance Against Bacterial, Viral, Parasitic, and Fungal Infections. *Front. Microbiol.* 2011; 2: 15-6.
- 222.** Mathur, A.; Feng, S.; Hayward, J.A.; Ngo, C.; Fox, D.; Atmosukarto, I.I.; Price, J.D.; Schauer, K.; Märklbauer, E.; Robertson, A.A.B.; et al. A multicomponent toxin from *Bacillus cereus* incites inflammation and shapes host outcome via the NLRP3 inflammasome. *Nat. Microbiol.* 2019; 4: 362-3.
- 223.** Mariathasan, S.; Weiss, D.S.; Newton, K.; McBride, J.; O'Rourke, K.; Roose-Girma, M.; Lee, W.P.; Weinrauch, Y.; Monack, D.M.; Dixit, V.M. Cryopyrin activates the inflammasome in response to toxins and ATP. *Nature* 2006; 440: 228–32.
- 224.** Perregaux, D.; Gabel, C.A. Interleukin-1 beta maturation and release in response to ATP and nigericin. Evidence that potassium depletion mediated by these agents is a necessary and common feature of their activity. *J. Biol. Chem.* 1994; 269: 15195–203.

- 225.** Walev, I.; Klein, J.; Husmann, M.; Valeva, A.; Strauch, S.; Wirtz, H.; Weichel, O.; Bhakdi, S. Potassium Regulates IL-1 $\beta$  Processing Via Calcium-Independent Phospholipase A2. *J. Immunol.* 2000; 164: 5120–4.
- 226.** Walev, I.; Reske, K.; Palmer, M.; Valeva, A.; Bhakdi, S. Potassium-inhibited processing of IL-1 $\beta$  in human monocytes. *EMBO J.* 1995; 14: 1607–14.
- 227.** Muñoz-Planillo, R.; Kuffa, P.; Martínez-Colón, G.; Smith, B.L.; Rajendiran, T.M.; Núñez, G. K<sup>+</sup> efflux is the common trigger of NLRP3 inflammasome activation by bacterial toxins and particulate matter. *Immunity* 2013; 38: 1142–53.
- 228.** Pétrilli, V.; Papin, S.; Dostert, C.; Mayor, A.; Martinon, F.; Tschopp, J. Activation of the NALP3 inflammasome is triggered by low intracellular potassium concentration. *Cell Death Differ.* 2007; 14: 1583–9.
- 229.** Andrei, C. C. Dazzi, L. Lotti, M.-R. Torrisi, G. Chimini, and A. Rubartelli. 1999. The secretory route of the leaderless protein interleukin 1 $\beta$  involves exocytosis of endolysosome-related vesicles. *Mol. Biol. Cell* 10:1463. Clapham, D.E. Calcium signaling. *Cell* 2007; 131: 1047–58.
- 230.** Murakami, T.; Ockinger, J.; Yu, J.; Byles, V.; McColl, A.; Hofer, A.M.; Horng, T. Critical role for calcium mobilization in activation of the NLRP3 inflammasome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2012;109: 11282–7.
- 231.** Lee, G.-S.; Subramanian, N.; Kim, A.I.; Aksentijevich, I.; Goldbach-Mansky, R.; Sacks, D.B.; Germain, R.N.; Kastner, D.L.; Chae, J.J. The calcium-sensing receptor regulates the NLRP3 inflammasome through Ca<sup>2+</sup> and cAMP. *Nature* 2012; 492: 123–7.
- 232.** Dostert, C.; Pétrilli, V.; Bruggen, R.V.; Steele, C.; Mossman, B.T.; Tschopp, J. Innate Immune Activation Through Nalp3 Inflammasome Sensing of Asbestos and Silica. *Science* 2008; 320: 674–7.
- 233.** Cruz, C.M.; Rinna, A.; Forman, H.J.; Ventura, A.L.M.; Persechini, P.M.; Ojcius, D.M. ATP activates a reactive oxygen species-dependent oxidative stress response and secretion of proinflammatory cytokines in macrophages. *J. Biol. Chem.* 2007; 282: 2871–9.
- 234.** Nakahira, K.; Haspel, J.A.; Rathinam, V.A.K.; Lee, S.-J.; Dolinay, T.; Lam, H.C.; Englert, J.A.; Rabinovitch, M.; Cernadas, M.; Kim, H.P.; et al. Autophagy proteins regulate innate immune responses by inhibiting the release of mitochondrial DNA mediated by the NALP3 inflammasome. *Nat. Immunol.* 2011; 12: 222–30.

- 235.** Shimada, K.; Crother, T.R.; Karlin, J.; Dagvadorj, J.; Chiba, N.; Chen, S.; Ramanujan, V.K.; Wolf, A.J.; Vergnes, L.; Ojcius, D.M.; et al. Oxidized Mitochondrial DNA Activates the NLRP3 Inflammasome during Apoptosis. *Immunity* 2012;36: 401–14.
- 236.** Martinon, F.; Pétrilli, V.; Mayor, A.; Tardivel, A.; Tschopp, J. Gout-associated uric acid crystals activate the NALP3 inflammasome. *Nature* 2006; 440: 237–41.
- 237.** Hornung, V.; Bauernfeind, F.; Halle, A.; Samstad, E.O.; Kono, H.; Rock, K.L.; Fitzgerald, K.A.; Latz, E. Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phagosomal destabilization. *Nat. Immunol.* 2008; 9: 847–56.
- 238.** Duewell, P.; Kono, H.; Rayner, K.J.; Sirois, C.M.; Vladimer, G.; Bauernfeind, F.G.; Abela, G.S.; Franchi, L.; Nuñez, G.; Schnurr, M.; et al. NLRP3 inflammasomes are required for atherogenesis and activated by cholesterol crystals. *Nature* 2010; 464: 1357–61.
- 239.** Cassel, S.L.; Eisenbarth, S.C.; Iyer, S.S.; Sadler, J.J.; Colegio, O.R.; Tephly, L.A.; Carter, A.B.; Rothman, P.B.; Flavell, R.A.; Sutterwala, F.S. The Nalp3 inflammasome is essential for the development of silicosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2008; 105: 9035–40.
- 240.** Halle, A.; Hornung, V.; Petzold, G.C.; Stewart, C.R.; Monks, B.G.; Reinheckel, T.; Fitzgerald, K.A.; Latz, E.; Moore, K.J.; Golenbock, D.T. The NALP3 inflammasome is involved in the innate immune response to amyloid-beta. *Nat. Immunol.* 2008; 9: 857–65.
- 241.** Kool, M.; Pétrilli, V.; De Smedt, T.; Rolaz, A.; Hammad, H.; van Nimwegen, M.; Bergen, I.M.; Castillo, R.; Lambrecht, B.N.; Tschopp, J. Cutting edge: Alum adjuvant stimulates inflammatory dendritic cells through activation of the NALP3 inflammasome. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 2008; 181: 3755–9.
- 242.** Hagar, J.A.; Powell, D.A.; Aachoui, Y.; Ernst, R.K.; Miao, E.A. Cytoplasmic LPS Activates Caspase-11: Implications in TLR4-Independent Endotoxic Shock. *Science* 2013; 341: 1250–3.
- 243.** Kayagaki, N.; Wong, M.T.; Stowe, I.B.; Ramani, S.R.; Gonzalez, L.C.; Akashi-Takamura, S.; Miyake, K.; Zhang, J.; Lee, W.P.; Muszyński, A.; et al. Noncanonical Inflammasome Activation by Intracellular LPS Independent of TLR4. *Science* 2013; 341: 1246–9.
- 244.** Kayagaki, N.; Warming, S.; Lamkanfi, M.; Walle, L.V.; Louie, S.; Dong, J.; Newton, K.; Qu, Y.; Liu, J.; Heldens, S.; et al. Non-canonical inflammasome activation targets caspase-11. *Nature* 2011; 479: 117–21.

- 245.** Baker, P.J.; Boucher, D.; Bierschenk, D.; Tebartz, C.; Whitney, P.G.; D’Silva, D.B.; Tanzer, M.C.; Monteleone, M.; Robertson, A.A.B.; Cooper, M.A.; et al. NLRP3 inflammasome activation downstream of cytoplasmic LPS recognition by both caspase-4 and caspase-5. *Eur. J. Immunol.* 2015; 45: 2918–26.
- 246.** Shi, J.; Zhao, Y.; Wang, Y.; Gao, W.; Ding, J.; Li, P.; Hu, L.; Shao, F. Inflammatory caspases are innate immune receptors for intracellular LPS. *Nature* 2014; 514: 187–92.
- 247.** Yang, D.; He, Y.; Muñoz-Planillo, R.; Liu, Q.; Núñez, G. Caspase-11 Requires the Pannexin-1 Channel and the Purinergic P2X7 Pore to Mediate Pyroptosis and Endotoxic Shock. *Immunity* 2015; 43: 923–32.
- 248.** Pelegrin, P.; Surprenant, A. Pannexin-1 mediates large pore formation and interleukin-1beta release by the ATP-gated P2X7 receptor. *EMBO J.* 2006; 25: 5071–82.
- 249.** Alves, L.A.; de Melo Reis, R.A.; de Souza, C.A.M.; de Freitas, M.S.; Teixeira, P.C.N.; Neto Moreira Ferreira, D.; Xavier, R.F. The P2X7 receptor: Shifting from a low- to a high-conductance channel—An enigmatic phenomenon? *Biochim. Biophys. Acta BBA-Biomembr.* 2014; 1838: 2578–87.
- 250.** Chu, L.H.; Indramohan, M.; Ratsimandresy, R.A.; Gangopadhyay, A.; Morris, E.P.; Monack, D.M.; Dorfleutner, A.; Stehlik, C. The oxidized phospholipid oxPAPC protects from septic shock by targeting the non-canonical inflammasome in macrophages. *Nat. Commun.* 2018; 9: 996-7.
- 251.** Piccini, A.; Carta, S.; Tassi, S.; Lasiglié, D.; Fossati, G.; Rubartelli, A. ATP is released by monocytes stimulated with pathogen-sensing receptor ligands and induces IL-1 $\beta$  and IL-18 secretion in an autocrine way. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2008; 105: 8067–72.
- 252.** Netea, M.G.; Nold-Petry, C.A.; Nold, M.F.; Joosten, L.A.B.; Opitz, B.; van der Meer, J.H.M.; van de Veerdonk, F.L.; Ferwerda, G.; Heinhuis, B.; Devesa, I.; et al. Differential requirement for the activation of the inflammasome for processing and release of IL-1beta in monocytes and macrophages. *Blood* 2009; 113: 2324–35.
- 253.** Gaidt, M.M.; Ebert, T.S.; Chauhan, D.; Schmidt, T.; Schmid-Burgk, J.L.; Rapino, F.; Robertson, A.A.B.; Cooper, M.A.; Graf, T.; Hornung, V. Human Monocytes Engage an Alternative Inflammasome Pathway. *Immunity* 2016; 44: 833–46.
- 254.** Zheng Wang et al. NLRP3 Inflammasome and Inflammatory Diseases. *Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Volume Article ID 4063562, 11 pages. 2020;
- 255.** O. Sandanger, T. Ranheim, L. E. Vinge et al., “The NLRP3 inflammasome is up-regulated in cardiac fibroblasts and mediates myocardial ischaemia-reperfusion injury,” *Cardiovascular Research*, 2013; 99(1): 164–74.

- 256.** J. Zhao, H. Wang, Y. Huang et al., “Lupus nephritis: glycogen synthase kinase 3 $\beta$  promotion of renal damage through activation of the NLRP3 inflammasome in lupus-prone mice,” *Arthritis & Rheumatology*, 2015; 67(4): 1036–44.
- 257.** A. C. Villani, M. Lemire, G. Fortin et al., “Common variants in the NLRP3 region contribute to Crohn's disease susceptibility,” *Nature Genetics*, 2009; 41(1): 71–6.
- 258.** G. J. Lewis, D. C. O. Massey, H. Zhang et al., “Genetic association between NLRP3 variants and Crohn's disease does not replicate in a large UK panel,” *Inflammatory Bowel Diseases*, 2011; 17(6):1387–91.
- 259.** L. Mao, A. Kitani, M. Similuk et al., “Loss-of-function CARD8 mutation causes NLRP3 inflammasome activation and Crohn's disease,” *Journal of Clinical Investigation*, 2018; 128(5): 1793–806.
- 260.** R. Munoz-Planillo, L. Franchi, L. S. Miller, and G. Nunez, “A critical role for hemolysins and bacterial lipoproteins in *Staphylococcus aureus*-induced activation of the Nlrp3 inflammasome,” *The Journal of Immunology*, 2009; 183(6): 3942–8.
- 261.** W. A. Tseng, T. Thein, K. Kinnunen et al., “NLRP3 inflammasome activation in retinal pigment epithelial cells by lysosomal destabilization: implications for age-related macular degeneration,” *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2013; 54(1) 110–20.
- 262.** W. Chi, F. Li, H. Chen et al., “Caspase-8 promotes NLRP1/NLRP3 inflammasome activation and IL-1 production in acute glaucoma,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014; 111(30): 11181–6.
- 263.** Witkin SS, Bierhals K, Linhares I, Normand N, Dieterle S, Neuer A. Genetic polymorphism in an inflammasome component, cervical mycoplasma detection and female infertility in women undergoing in vitro fertilization. *J Reprod Immunol.* 2010; 84:171–5.
- 264.** IbrahimE, Castle SM, Aballa TC, Keane RW, De Rivero Vaccari JP, Lynne CM, et al. Neutralization of ASC improves sperm motility in men with spinal cord injury. *Hum Reprod.* 2014; 29:2368–73.
- 265.** IbrahimE, Lynne CM, Brackett NL. Male fertility following spinal cord injury: an update. *Andrology.* 2016; 4:13–26.
- 266.** Brien ME, Duval C, Palacios J, Boufaied I, Hudon-Thibeault AA, Nadeau-Vallee M, et al. Uric acid crystals induce placental inflammation and alter trophoblast function via an IL-1-dependent pathway: implications for fetal growth restriction. *J Immunol.* 2017; 198:443–51.

- 267.** Bullon P, Navarro JM. Inflammasome as a key pathogenic mechanism in endometriosis. *Curr Drug Targets*. 2017; 18:997–1002.
- 268.** Tamura K, Ishikawa G, Yoshie M, Ohneda W, Nakai A, Takeshita T, et al. Glibenclamide inhibits NLRP3 inflammasome-mediated IL-1beta secretion in human trophoblasts. *J Pharmacol Sci*. 2017; 135:89–95.
- 269.** Lappas M. Activation of inflammasomes in adipose tissue of women with gestational diabetes. *Mol Cell Endocrinol*. 2014; 382:74–83.
- 270.** Leff-Gelman P, Mancilla-Herrera I, Flores-Ramos M, Cruz-Fuentes C, Reyes- Grajeda JP, Garcia-Cuetara Mdel P, et al. The immune system and the role of inflammation in perinatal depression. *Neurosci Bull*. 2016; 32:398–420.
- 271.** Shirasuna K, Usui F, Karasawa T, Kimura H, Kawashima A, Mizukami H, et al. Nanosilica-induced placental inflammation and pregnancy complications: different roles of the inflammasome components NLRP3 and ASC. *Nanotoxicology*. 2015; 9:554–67.
- 272.** Winship A, Dimitriadis E. Interleukin-11 induces preterm birth and modulates decidual inflammasome gene expression in mice. *Placenta*. 2017; 50:99–101.
- 273.** Raval AP, Martinez CC, Mejias NH, De Rivero Vaccari JP. Sexual dimorphism in inflammasome-containing extracellular vesicles and the regulation of innate immunity in the brain of reproductive senescent females. *Neurochem Int*. 2019; 127:29–37.
- 274.** Dahm-Kahler P, Ghahremani M, Lind AK, Sundfeldt K, Brannstrom M. Monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), its receptor, and macrophages in the perifollicular stroma during the human ovulatory process. *Fertil Steril*. 2009; 91:231–9.
- 275.** Walenta L, Schmid N, Schwarzer JU, Kohn FM, Urbanski HF, Behr R, et al. NLRP3 in somatic non-immune cells of rodent and primate testes. *Reproduction*. 2018;156:231–8.
- 276.** Guo H, Callaway JB, Ting JP-Y. Inflammasomes: mechanism of action, role in disease, and therapeutics. *Nat Med*. 2015;21(7):677-87.
- 277.** Ibrahim E, Zhang X, Aballa T, et al. Inflammasome Inactivation Improves Sperm Motility In Men With Spinal Cord Injury. *Juro*. 2013;189(4):773-4.
- 278.** Jurewicz M, Ibrahim E, Attia G, Roberge S, Lynne C, Brackett N. Inflammasome activation in men with abnormal semen quality. *Fertil Steril*. 2014;102(3):9-10.
- 279.** Hayrabyan S, Todorova K, Jabeen A, et al. Sertoli cells have a functional NALP3 inflammasome that can modulate autophagy and cytokine production. *Sci Rep*. 2016;6(1):188-96.

- 280.** Omu AE, Al-Qattan F, Al-Abdul- Hadi FM, Fatinikun MT, Fernandes S. Seminal immune response in infertile men with leukocytospermia: Effect on antioxidant activity. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 1999;86(2):195- 202.
- 281.** Fraczek M, Szumala-Kakol A, Dworacki G, Sanocka D, Kurpisz M. *In vitro* reconstruction of inflammatory reaction in human semen: Effect on sperm DNA fragmentation. *J Reprod Immunol.* 2013;100(1):76-85.
- 282.** La Vignera S, Vicari E, Condorelli RA, D'Agata R, Calogero AE. Male accessory gland infection and sperm parameters (review). *Int J Androl.* 2011;34(5 PART 2).
- 283.** La Vignera S, Condorelli RA, Vicari E, *et al.* Markers of semen inflammation: Supplementary semen analysis? *J Reprod Immunol.* 2013;100(1):2-10.
- 284.** Atig F, Raffa M, Habib BA, Kerkeni A, Saad A, Ajina M. Impact of seminal trace element and glutathione levels on semen quality of Tunisian infertile men. *BMC Urol.* 2012;12:2- 9.
- 285.** Havrylyuk A, Chopyak V, Boyko Y, Kril I, Kurpisz M. Cytokines in the blood and semen of infertile patients. *Cent Eur J Immunol.* 2015;40(3):337-44.
- 286.** Fettelschoss A, Kistowska M, LeibundGut-Landmann S, *et al.* Inflammasome activation and IL-1 target IL-1 for secretion as opposed to surface expression. *Proc Natl Acad Sci.* 2011;108(44):18055-60.
- 287.** Martinon F, Burns K, Tschopp J. The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL- $\beta$ . *Mol Cell.* 2002;10(2):417- 26.
- 288.** Inoue M, Williams KL, Gunn MD, Shinohara ML. NLRP3 inflammasome induces chemotactic immune cell migration to the CNS in experimental autoimmune encephalomyelitis. *Proc Natl Acad Sci.* 2012;109(26):10480- 5.
- 289.** Abal M. Characterizing the contribution of inflammasome-derived exosomes in the activation of the immune response. *Ann Transl Med.* 2017;5(7):172-3.
- 290.** Minutoli L, Antonuccio P, Irrera N, *et al.* NLRP3 Inflammasome Involvement in the Organ Damage and Impaired Spermatogenesis Induced by Testicular Ischemia and Reperfusion in Mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 2015;355(3):370-80.
- 291.** Feldmann J, Prieur A-M, Quartier P, *et al.* Chronic Infantile Neurological Cutaneous and Articular Syndrome Is Caused by Mutations in CIAS1, a Gene Highly Expressed in Polymorphonuclear Cells and Chondrocytes. *Am J Hum Genet.* 2002;71(1):198-203.
- 292.** Guarda G, Zenger M, Yazdi AS, *et al.* Differential Expression of NLRP3 among Hematopoietic Cells. *J Immunol.* 2011;186(4):2529-34.

- 293.** Gorelick JI, Goldstein M Loss of fertility in men with varicocele. 5. *Fertil Steril* 1993; 59: 613-6.
- 294.** Lipshultz, L. I., & Corriere, J. N. Progressive testicular atrophy in the varicocele patient. *The Journal of Urology*, 1977; 117(2), 175–6.
- 295.** Tulloch, W. S. Consideration of sterility; subfertility in the male. *Edinb. Med. J.* 1952; 59: 29–34.
- 296.** Damsgaard, J., Joensen, U. N., Carlsen, E., Erenpreiss, J., Blomberg Jensen, M., Matulevicius, V., Jorgensen, N. Varicocele is associated with impaired semen quality and reproductive hormone levels: A study of 7035 healthy young men from six European countries. *European Urology*, 2016; 70(6): 1019–29.
- 297.** Shiraishi K, Matsuyama H, Takihara H Pathophysiology of varicocele in male infertility in the era of assisted reproductive technology. *Int J Urol* 2012; 19: 538-50.
- 298.** Oztürk Mİ, Koca O, Keleş MO, Yılmaz S, Karaman MI Increased 8. sperm DNA damage in experimental rat varicocele model and the beneficial effect of varicocelectomy. *Int J Fertil Steril* 2012; 6: 95-100.
- 299.** Hassan A, el-Nashar EM, Mostafa T Programmed cell death in 9. varicocele-bearing testes. *Andrologia* 2009; 41: 39-45.
- 300.** Diamond DA, Zurakowski D, Bauer SB, Borer JG, Peters CA, et al. 10. Relationship of varicocele grade and testicular hypotrophy to semen parameters in adolescents. *J Urol* 2007; 178: 1584-8.
- 301.** Abdelrahim F, Mostafa A, Hamdy A, Mabrouk M, El-Kholy M, et al. 11. Testicular morphology and function in varicocele patients: pre-operative and post-operative histopathology. *Br J Urol* 1993; 72: 643-47.
- 302.** Barqawi A, Caruso A, Meacham RB Experimental varicocele 13. induces testicular germ cell apoptosis in the rat. *J Urol* 2004; 171: 501-3.
- 303.** Lin WW, Lamb DJ, Lipshultz LI, Kim ED Demonstration of testicular apoptosis in human male infertility states using a DNA laddering technique. *Int Urol Nephrol* 1999; 31: 361-70.
- 304.** Erfani Majd, N., Sadeghi, N., Tavalae, M., Tabandeh, M. R., & Nasr- Esfahani, M. H. Evaluation of oxidative stress in testis and sperm of rat following induced varicocele. *Urology Journal*, 2019; 16(3):
- 305.** Ko, E. Y., Sabanegh, E. S., & Agarwal, A. Male infertility testing: Reactive oxygen species and antioxidant capacity. *Fertility and Sterility*, 2014; 102(6); 1518–27.

- 306.** Curtin JF, Donovan M, Cotter TG Regulation and measurement 51. of oxidative stress in apoptosis. *J Immunol Meth* 2002; 265: 49-72.
- 307.** Ikeda M, Kodama H, Fukuda J, Shimizu Y, Murata M, et al. Role 52. of radical oxygen species in rat testicular germ cell apoptosis induced by heat stress. *Biol Reprod* 1999;61: 393-9.
- 308.** Tawadrous, G. A., Aziz, A. A., & Mostafa, T. Seminal soluble fas relationship with oxidative stress in infertile men with varicocele. *Urology*, 2013; 82(4): 820–3.
- 309.** Smith, R., Kaune, H., Parodi, D., Madariaga, M., Morales, I., Ríos, R., & Castro, A. Extent of sperm DNA damage in spermatozoa from men examined for infertility. Relationship with oxidative stress. *Revista Medica De Chile*, 2007; 135(3): 279–86.
- 310.** Shiraishi, K., Takihara, H., & Matsuyama, H. Elevated scrotal temperature, but not varicocele grade, reflects testicular oxidative stress-mediated apoptosis. *World Journal of Urology*, 2010; 28(3): 359–64.
- 311.** Comhaire, F., & Kunnen, M. Selective retrograde venography of the internal spermatic vein: A conclusive approach to the diagnosis of varicocele. *Andrologia*, 1976; 8(1): 11–24.
- 312.** Comhaire, F., & Vermeulen, A. Varicocele sterility: Cortisol and catecholamines. *Fertility and Sterility*, 1974; 25(1): 88–95.
- 313.** Tian, L., Han, H., Lei, H.-E., Qian, X.-S., Feng, S.-J., & Zhang, X.-D. Significant alterations of 6-keto prostaglandin F1a and NO levels in spermatic vein plexus patients with varicocele. *Andrologia*, 2018; 50: 12993-4.
- 314.** Hu, W., Zhou, P.-H., Zhang, X.-B., Xu, C.-G., & Wang, W. Roles of adrenomedullin and hypoxia-inducible factor 1 alpha in patients with varicocele. *Andrologia*, 2015; 47(8): 951–7.
- 315.** Greijer, A. E., & van der Wall, E. The role of hypoxia inducible factor 1 (HIF-1) in hypoxia induced apoptosis. *Journal of Clinical Pathology*, 2004; 57(10): 1009–14.
- 316.** Wang, H., Sun, Y., Wang, L., Xu, C., Yang, Q., Liu, B., & Liu, Z. Hypoxia-induced apoptosis in the bilateral testes of rats with leftsided varicocele: A new way to think about the varicocele. *Journal of Andrology*, 2010; 31(3): 299–305.
- 317.** Swain, N., Samanta, L., Agarwal, A., Kumar, S., Dixit, A., Gopalan, B., ... Baskaran, S. Aberrant upregulation of compensatory redox molecular machines may contribute to sperm dysfunction in infertile men with unilateral varicocele: A proteomic insight. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2019; 32(8): 504–21.

- 318.** Abdelbaki, S. A., Sabry, J. H., Al-Adl, A. M., & Sabry, H. H. The impact of coexisting sperm DNA fragmentation and seminal oxidative stress on the outcome of varicocelectomy in infertile patients: A prospective controlled study. *Arab Journal of Urology*, 2017; 15(2): 131–9.
- 319.** Wang, Y.-J., Zhang, R.-Q., Lin, Y.-J., Zhang, R.-G., & Zhang, W.-L. Relationship between varicocele and sperm DNA damage and the effect of varicocele repair: A meta-analysis. *Reproductive Biomedicine Online*, 2012; 25(3): 307–14.
- 320.** Zini, A., & Dohle, G. Are varicoceles associated with increased deoxyribonucleic acid fragmentation? *Fertility and Sterility*, 2011; 96(6): 1283–7.
- 321.** Roque, M., & Esteves, S. C. Effect of varicocele repair on sperm DNA fragmentation: A review. *International Urology and Nephrology*, 2018; 50(4): 583–603.
- 322.** Mostafa, T., Nabil, N., Rashed, L., Abo-Sief, A. F., & Eissa, H. H. Seminal SIRT1-oxidative stress relationship in infertile oligoasthenoteratozoospermic men with varicocele after its surgical repair. *Andrologia*, 2020; 52(1): 134-56.
- 323.** Erfani Majd N, Sadeghi N, Tavalae M, Tabandeh MR, Nasr-Esfahani MH. Evaluation of Oxidative stress in testis and sperm of rat following induced varicocele. *Urol J*. 2019; 16(3): 300-6.
- 324.** Nallella KP, Allamaneni SS, Pasqualotto FF, Sharma RK, Thomas AJ Jr, Agarwal A. Relationship of interleukin-6 with semen characteristics and oxidative stress in patients with varicocele. *Urology*. 2004; 64(5): 1010-3.
- 325.** Moretti E, Cosci I, Spreafico A, Serchi T, Cuppone AM, Collodel G. Semen characteristics and inflammatory mediators in infertile men with different clinical diagnoses. *Int J Androl*. 2009; 32(6): 637-46.
- 326.** Walenta L, Schmid N, Schwarzer JU, Köhn FM, Urbanski HF, Behr R, et al. NLRP3 in somatic non-immune cells of rodent and primate testes. *Reproduction*. 2018; 156(3): 231-8.
- 327.** Bazrafkan M, Nikmehr B, Shahverdi A, Hosseini, Hassani F, Poorhassan M, et al. Lipid peroxidation and its role in the expression of NLRP1a and NLRP3 genes in testicular tissue of male rats: A model of spinal cord injury. *Iran Biomed J*. 2018; 22(3): 151-9.
- 328.** Zhang X, Ibrahim E, de Rivero Vaccari JP, Lotocki G, Aballa TC, Dietrich WD, et al. Involvement of the inflammasome in abnormal semen quality of men with spinal cord injury. *Fertil Steril*. 2013; 99(1): 118-24.

- 329.** Hajipour E, Mashayekhi FJ, Mosayebi G, Baazm M, Zendedel A. Resveratrol decreases apoptosis and NLRP3 complex expressions in experimental varicocele rat model. *Iran J Basic Med Sci.* 2018; 21(2): 225-9.
- 330.** Baazm M, Ghafarizadeh AA, Noshad Kamran AR, Beyer C, Zendedel A. Presence of the NLRP3 inflammasome components in semen of varicocele patients. *Int J Fertil Steril.* 2020; 14(1): 46-50.
- 331.** Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry.* 2004; 37: 277–85
- 332.** Erel Ö. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clinical Biochemistry,* 2004; 37:277-85.
- 333.** Erel Ö. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry,* 2005;38:1103-11.
- 334.** Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005;38(12):1103-11.
- 335.** Nieschlag E, Hertle L, Fishedick A, Behre HM. Treatment of varicocele: counselling as effective as occlusion of the vena spermatica. *Hum Reprod* 1995;10:347-53.
- 336.** Sabra SM, Al-Harbi MS. An influential relationship of seminal fluid microbial infections and infertility, Taif Region, KSA. *World J Med Sci.* 2014; 10:32–7.
- 337.** 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;157:140-3.
- 338.** Aitken RJ, Smith TB, Jobling MS, Baker MA, De Luliis GN. Oxidative stress and male reproductive health. *Asian J Androl.* 2014;16(1):31-8.
- 339.** Naughton CK, Nangia AK, Agarwal A. Pathophysiology of varicoceles in male infertility. *Hum Reprod Update.* 2001; 7(5): 473-81.
- 340.** Marmar JL. The pathophysiology of varicoceles in the light of current molecular and genetic information. *Hum Reprod Update.* 2001; 7(5): 461-72.
- 341.** Hauser R, Paz G, Botchan A, Yogev L, Yavetz H. Varicocele and male infertility: part II: varicocele: effect on sperm functions. *Hum Reprod Update.* 2001; 7(5): 482-5.
- 342.** Aitken RJ, De Luliis GN. On the possible origins of DNA damage in human spermatozoa. *Mol Hum Reprod* 2010;16(1):3-13.

- 343.** Jones R, Mann T, Sherins RJ. Adverse effects of peroxidized lipid on human spermatozoa. *Proc R Soc Lond B Biol Sc* 1978;201(1145): 413-7.
- 344.** Jones R, Mann T, Sherins R. Peroxidative breakdown of phospholipids in human spermatozoa, spermicidal properties of fatty acid peroxides, and protective action of seminal plasma. *Fertil Steril* 1979;31(5):531-7.
- 345.** Wang N, Qian HY, Zhou XQ Li YB, Sun ZW. Mitochondrial energy metabolism dysfunction involved in reproductive toxicity of mice caused by endosulfan and protective effects of vitamin E. *Ecotoxicol Envi-ron Saf.* 2012;82:96-103.
- 346.** Greco E, Iacobelli M, Rienzi L, Ubaldi F, Ferrero S, Tesarik J. Reduction of the incidence of sperm DNA fragmentation by oral antio-xidant treatment. *J Androl* 2005;26:349-53.
- 347.** Balercia G, Buldreghini E, Vignini A, Tiano L, Paggi F, Amoroso S. Coenzyme Q10 treatment in infertile men with idiopathic asthenozoospermia: a placebo-controlled, double-blind randomized trial. *Fertil Steril.* 2009;91:1785-92.
- 348.** Blackman MR, Wang C, Swerdloff RS. The role of carnitine in the male reproductive system. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1033:177-88.
- 349.** 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.
- 350.** Seminal plazmada oksidan ve antioksidanların saptanması, Türk Androloji Derneği, Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları Ve Tedavisi Kitabı, 2013;
- 351.** Hedger M, Klug J, Fröhlich S, et al. Regulatory cytokine expression and interstitial fluid formation in the normal and inflamed rat testis are under Leydig cell control. *J Androl* 2005; 26: 379-86.
- 352.** Maegawa M, Kamada M, Irahara M, et al. A repertoire of cytokines in human seminal plasma. *J Reprod Immunol* 2002; 54: 33-42.
- 353.** Elliott EI, Sutterwala FS. Initiation and perpetuation of NLRP3 inflammasome activation and assembly. *Immunol Rev.* 2015;265(1):35-52.
- 354.** Jiang L, Zheng T, Huang J, et al. Association of semen cytokines with reactive oxygen species and histone transition abnormalities. *J Assist Reprod Genet.* 2016;33(9):1239- 46.
- 355.** Nuha A. Younis ve ark., Association of Seminal Plasma Level of NLRP3 Inflammasome Protein with Quality of Seminal Fluid Parameters Among Infertile Men, *Iraqi Journal Of Embryos and Infertility Researches* 2018; 8(2):
- 356.** Zeliha Sahin , Ciler Celik-Ozenci, Gokhan Akkoyunlu, Emin Turkay Korgun, Nuray Acar, Tibet Erdogru, Ramazan Demir, Ismail Ustunel Increased expression of

interleukin-1alpha and interleukin-1beta is associated with experimental varicocele Fertil Steril 2006 Apr;85(1):1265-75.



## 8. EKLER

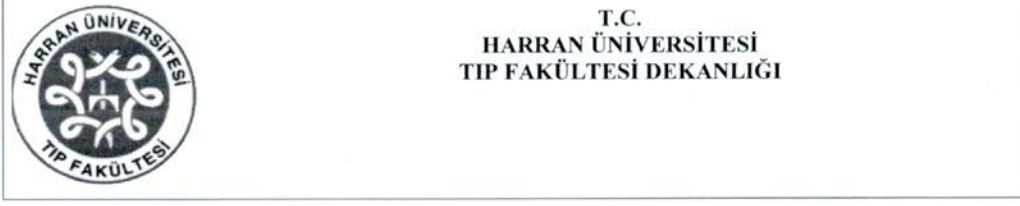
### Ek-1: Etik Kurul Kararı

**Evrak Tarih ve Sayısı: 24/06/2020-E.23136**

<b>HARRAN ÜNİVERSİTESİ</b> <b>TIP FAKÜLTESİ</b> <b>Mezuniyet Sonrası Eğitim Koordinasyon Kurulu Kararı</b>	
<b>TARİH</b>	: 23.06.2020
<b>OTURUM</b>	: 09
<b>SAAT</b>	: 11:00

20/09/04	<p><b>Karar:</b> 27.03.2019 tarih, 03 nolu oturum ve 05 sayılı Kurul Kararımız ile Anabilim Dalı Akademik Kurul Kararı doğrultusunda onaylanan “<b>İnfertilite Hastalarında Aminoasit/Karnitin Profilinin Araştırılması</b>” başlığı ile 09.06.2020 tarih, 08 nolu oturum ve 07 sayılı kararımız ile Tez Değerlendirme ve Bilim Sınavına girmesi için Dekanlık Makamına gönderilen ve yetersiz bulunması nedeniyle 6 ay uzatma alan Fakültemiz Cerrahi Tıp Bilimleri Bölümü Üroloji Anabilim Dalı Uzmanlık Öğrencisi Dr. Eser ÖRDEK’in Anabilim Dalı akademik kurul kararı doğrultusunda tez tez başlığının; “<b>İnfertilite Hastalarındaki Klinik Durumların (Varikozel-Azospermi) Aminoasit-Karnitin Profili ve Antioksidan, İnflamasyon Mekanizma Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması</b>” olarak değiştirilmesinin uygun olduğuna, durumun Dekanlık Makamına, Anabilim Dalı Başkanlığına ve ilgililere tebliğ edilmesine,</p> <p style="text-align: center;">Oybirliğiyle/oyçokluğuyla karar verilmiştir.</p> <p style="text-align: center;"><b>ASLI GİBİDİR</b> <b>Prof. Dr. Recep DEMİRBAĞ</b> <b>MSEKK. Başkanı</b></p>
----------	---

## Ek-2: Turnittin Raporu



### TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU VE BEYAN BELGESİ

#### Öğrencinin

T.C. : 41563325964

Adı, Soyadı : Eser ÖRDEK

Anabilim Dalı: Üroloji

Tezin Adı : İnfertilite Hastalarındaki Klinik Durumların (Varikosel-Azospermi) Antioksidan Ve İnflamazom Mekanizma Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması

### MEZUNİYET SONRASI EĞİTİM KOORDİNASYON KURULU BAŞKANLIĞINA

Yukarıda başlığı belirtilen “İnfertilite Hastalarındaki Klinik Durumların (Varikosel-Azospermi) Antioksidan Ve İnflamazom Mekanizma Üzerindeki Etkilerinin Araştırılması” çalışmamın; *kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç* kısımlarından oluşan toplam 132 sayfalık kısmına ilişkin, 17/11/2020 tarihinde şahsım/ danışmanım tarafından “TURNITTIN” adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, benzerlik oranı %19’tir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç,
- 2- Kaynakça hariç
- 3- Alıntılar hariç
- 4- 6 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Yukarıda bilgileri verilen tezin, Mezuniyet Sonrası Eğitim Koordinasyon Kurulu tarafından kabul edilen Uzmanlık Tezinin orijinallik raporu alınması uygulama esasları ile belirlenen azami benzerlik oranlarını aşmadığımı ve bütün bilgilerin, akademik kurallara uygun olarak toplanıp sunulduğunu, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçları andığımı, blok şeklinde alıntılar yapmadığımı ve tüm alıntılarım bilimsel atıf kuralları çerçevesinde kaynağını gösterdiğimi, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi ile Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesinin 8. maddesinde yer alan etik ihlallerden her hangi birisinin yer almadığımı, etik ihlal tespiti halinde, tüm hukuki yasal işlemleri kabul ediyorum.

Gereğini saygılarımla arz ederim. 17/11/2020.....

#### Tezi Hazırlayan Uzmanlık Öğrencisinin

Adı-Soyadı: Eser ÖRDEK

İmzası:

Yukarıda yer alan raporun ve beyanın doğruluğunu onaylarım...../...../2020.....

#### Danışmanın

Unvanı-Adı-Soyadı: Doç. Dr. Bülent KATI

İmzası:

Not: Tezde benzerlik oranı %25’ten yüksek olmamalıdır.

## Turnitin Orjinallik Raporu

İşleme kondu: 17-Kas-2020 15:38 +03  
 NUMARA: 1448881780  
 Kelime Sayısı: 22923  
 Gönderildi: 1

Benzerlik Endeksi  
**%19**

**Kaynağa göre Benzerlik**  
 İnternet Sources: %17  
 Yayınlar: %6  
 Öğrenci Ödevleri: %9

TEZ Eser Ördek tarafından

4% match (06-Eyl-2019 tarihli internet)

[https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44261/9789750011245\\_tur.pdf](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44261/9789750011245_tur.pdf)

2% match (23-May-2019 tarihli öğrenci ödevleri)

Submitted to Harran Üniversitesi on 2019-05-23

1% match (05-Eki-2020 tarihli internet)

<http://devecimd.com/my-library/guencel-ueroloji-tued-2018>

1% match (05-Nis-2018 tarihli öğrenci ödevleri)

Submitted to Bahçeşehir University on 2018-04-05

< 1% match (30-Haz-2016 tarihli internet)

<http://docplayer.biz.tr/258876-Dunya-saglik-orgutu-kriterlerine-gore-standart-semen-analizi-standard-semen-analysis-criteria-of-world-health-organization.html>

< 1% match (08-Eki-2019 tarihli öğrenci ödevleri)

Submitted to Bitlis Fren A niversitesi on 2019-10-08

< 1% match (13-Haz-2016 tarihli internet)

<http://kutuphane.pamukkale.edu.tr/katalog/0045624.pdf>

< 1% match (06-Kas-2019 tarihli internet)

[http://www.kaanavdos.com.tr/pdf/eau\\_infertilite\\_kilavuzu.pdf](http://www.kaanavdos.com.tr/pdf/eau_infertilite_kilavuzu.pdf)

< 1% match (31-Mar-2019 tarihli internet)

<http://www.turkiyeesru.org/esruDATA/userfiles/file/EAU-2017-kitap.pdf>

< 1% match (01-Eki-2020 tarihli internet)

[http://acikerisim.baskent.edu.tr/bitstream/handle/11727/2407/Dr.Erhan%20%C5%9EEEN\\_TEZ.pdf?isAllowed=y&sequence=1](http://acikerisim.baskent.edu.tr/bitstream/handle/11727/2407/Dr.Erhan%20%C5%9EEEN_TEZ.pdf?isAllowed=y&sequence=1)

< 1% match (08-Eyl-2016 tarihli internet)

<http://www.turkiyeklinikleri.com/article/en-varikosel-ve-oksidatif-stres-63179.html>

< 1% match (17-Haz-2015 tarihli internet)

<http://www.uroturk.org.tr/urolojiData/Books/106/24-30.pdf>

< 1% match (15-Tem-2015 tarihli internet)

<http://acikerisim.istanbulbilim.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/11446/188/Skolyoz%20Cerrahisi%20Ge%C3%A7iren%20Hastalar%C4%B1%20ve%20Tedavileri.pdf?isAllowed=y>

< 1% match (10-May-2020 tarihli internet)

<https://utcd.org.tr/wp-content/uploads/2017/12/ureme-endokrinolojisi-teknikleri-ve-cerrahisi.pdf>

< 1% match (16-May-2016 tarihli internet)

<http://docplayer.biz.tr/5104370-Prematur- ejakulasyonla-hormonal-degerler-ve-kronik-prostatit-indeksinin-iliskisi.html>

< 1% match (08-Ara-2019 tarihli internet)

<http://uroturk.org.tr/urolojiData/Document/251201811393-2TUDEAU2017GUJOLINEKitabi.pdf>

< 1% match (28-Haz-2017 tarihli internet)

<http://gennedir.blogspot.com/>

< 1% match (24-Kas-2019 tarihli internet)

[http://www.kaanavdos.com.tr/azoospermi\\_guncel.html](http://www.kaanavdos.com.tr/azoospermi_guncel.html)

< 1% match (08-Nis-2016 tarihli internet)

<http://derginark.ulakbim.gov.tr/arsiv/article/download/5000072551/5000066798>

< 1% match (10-Haz-2016 tarihli internet)

[http://webders.net/serbest-radikaller\\_ve-oksidatif-stres-ders-59-1996q2.html](http://webders.net/serbest-radikaller_ve-oksidatif-stres-ders-59-1996q2.html)

< 1% match (11-Haz-2018 tarihli öğrenci ödevleri)

Submitted to Recep Tayyip Erdoğan University on 2018-06-11

< 1% match (12-Mar-2016 tarihli internet)

<http://acikerisim.deu.edu.tr/xmlui/bitstream/handle/12345/12837/352661.pdf?isAllowed=y&sequence=1>

< 1% match (08-Ara-2019 tarihli internet)

<http://uroturk.org.tr/urolojiData/Document/18102019155949-avrunaurolojidermegicenkilavuzlari.pdf>

< 1% match (15-Oca-2020 tarihli internet)

<http://portal.citius.technology/images/10/upload/2018Cilt-7Sayi-1.pdf2018926221525.pdf>

< 1% match (15-Haz-2016 tarihli internet)

<http://www.erzurumflas.com/kadin-ve-erekte-kisirlik-nedenleri/>

< 1% match (15-Kas-2019 tarihli internet) <a href="https://saaglikbilimleri.biruni.edu.tr/wp-content/uploads/2019/06/Klinik-Embriyoloji-Dilara-KONK.pdf">https://saaglikbilimleri.biruni.edu.tr/wp-content/uploads/2019/06/Klinik-Embriyoloji-Dilara-KONK.pdf</a>
< 1% match (yayınlar) Ceren Sahin, Feyza Arıcıoğlu, "Future Directions of Cytokine Hypothesis in Depression: "NLRP3 inflamazomu", Klinik Psikofarmakoloji Bülteni-Bulletin of Clinical Psychopharmacology, 2016
< 1% match (15-Haz-2020 tarihli internet) <a href="http://nek.istanbul.edu.tr:4444/ekos/TEZ/60034.pdf">http://nek.istanbul.edu.tr:4444/ekos/TEZ/60034.pdf</a>
< 1% match (08-Ara-2019 tarihli internet) <a href="http://uroturk.org.tr/urolojiData/Books/589/guncel-uroloji-2-baski.pdf">http://uroturk.org.tr/urolojiData/Books/589/guncel-uroloji-2-baski.pdf</a>
< 1% match (06-Ara-2015 tarihli internet) <a href="http://cms.galenos.com.tr/FileIssue/6/828/article/138-141-TR.pdf">http://cms.galenos.com.tr/FileIssue/6/828/article/138-141-TR.pdf</a>
< 1% match (18-Haz-2020 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Gaziantep Aniversitesi on 2020-06-18
< 1% match (24-Oca-2016 tarihli internet) <a href="http://www.iris-interaktif.com/kitap/k4.pdf">http://www.iris-interaktif.com/kitap/k4.pdf</a>
< 1% match (14-May-2019 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Harran Üniversitesi on 2019-05-14
< 1% match (02-Oca-2020 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Ondokuz Mayıs Üniversitesi on 2020-01-02
< 1% match (18-Tem-2020 tarihli internet) <a href="https://www.scandinos-publiations.com/10.3892/ijmm.2018.4043">https://www.scandinos-publiations.com/10.3892/ijmm.2018.4043</a>
< 1% match (yayınlar) ÇOLAK, Alkin, ALAGÖL, Ayşin, PAMUKÇU, Zafer and TURAN, Nesrin, "Alt ekstremitte kırığı cerrahisinde epidural veya sürekli spinal anesteziye infüzyon veya hasta kontrollü yöntemle eklenen sufentanilin etkisi", LOGOS Yayıncılık, 2008.
< 1% match (28-May-2020 tarihli internet) <a href="https://fffsdata01prod.blob.core.windows.net/articles/files/496226/pubmed-zip_versions/1/,package-entries/fendo-11-00008/fendo-11-00008.pdf?rsid=attachment%3B+filename%2A%3DUTF-8%27%27fendo-11-00008.pdf&amp;se=2020-05-28T20%3A03%3A26Z&amp;sig=KCZFW86J0HA%2FHvN8Y0UkcY8bzYbSCUfoetYIamzsooU%3D&amp;sp=r&amp;sr=b&amp;sv=2015-12-11">https://fffsdata01prod.blob.core.windows.net/articles/files/496226/pubmed-zip_versions/1/,package-entries/fendo-11-00008/fendo-11-00008.pdf?rsid=attachment%3B+filename%2A%3DUTF-8%27%27fendo-11-00008.pdf&amp;se=2020-05-28T20%3A03%3A26Z&amp;sig=KCZFW86J0HA%2FHvN8Y0UkcY8bzYbSCUfoetYIamzsooU%3D&amp;sp=r&amp;sr=b&amp;sv=2015-12-11</a>
< 1% match (08-Şub-2015 tarihli internet) <a href="http://www.bircocukistivorum.com/tr/?Sayfa=Detay&amp;Id=96">http://www.bircocukistivorum.com/tr/?Sayfa=Detay&amp;Id=96</a>
< 1% match (20-May-2019 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Selçuk Üniversitesi on 2019-05-20
< 1% match (16-Şub-2019 tarihli internet) <a href="http://www.bad.org.tr/documents/12_usk_2014.pdf">http://www.bad.org.tr/documents/12_usk_2014.pdf</a>
< 1% match (29-Kas-2018 tarihli internet) <a href="https://studylibtr.com/doc/1445982/iki-u-%C3%A7u-bozukluk-manik-d%C3%B6nem-hastalar%C4%B1nda-oksitatif-meta...">https://studylibtr.com/doc/1445982/iki-u-%C3%A7u-bozukluk-manik-d%C3%B6nem-hastalar%C4%B1nda-oksitatif-meta...</a>
< 1% match (09-Ara-2015 tarihli internet) <a href="http://acikerisim.baskent.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/baskent/1797/TEZ.pdf?sequence=2&amp;isAllowed=y">http://acikerisim.baskent.edu.tr:8080/xmlui/bitstream/handle/baskent/1797/TEZ.pdf?sequence=2&amp;isAllowed=y</a>
< 1% match (28-Ağu-2015 tarihli internet) <a href="http://www.researchgate.net/publication/242358146_Organik_Solventler_ile_alian_ilerde_Paraoxonaz_1_ve_Arilesteraz_Aktivite_Dzeyleri">http://www.researchgate.net/publication/242358146_Organik_Solventler_ile_alian_ilerde_Paraoxonaz_1_ve_Arilesteraz_Aktivite_Dzeyleri</a>
< 1% match (28-Mar-2018 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Gaziantep Aniversitesi on 2018-03-28
< 1% match (11-Haz-2015 tarihli internet) <a href="http://www.istanbulsaaglik.gov.tr/w/tez/pdf/genel_cerrahi/dr_seyfi_emir.pdf">http://www.istanbulsaaglik.gov.tr/w/tez/pdf/genel_cerrahi/dr_seyfi_emir.pdf</a>
< 1% match (29-Eki-2020 tarihli internet) <a href="https://www.nature.com/articles/s41577-019-0165-0?code=b7832655-1b23-4a37-9d48-470e856dbfc9&amp;error=cookies_not_supported">https://www.nature.com/articles/s41577-019-0165-0?code=b7832655-1b23-4a37-9d48-470e856dbfc9&amp;error=cookies_not_supported</a>
< 1% match (30-Haz-2018 tarihli internet) <a href="http://uroweb.org/wp-content/uploads/EAU-Extended-Guidelines-2015-Edn.pdf">http://uroweb.org/wp-content/uploads/EAU-Extended-Guidelines-2015-Edn.pdf</a>
< 1% match (09-Nis-2015 tarihli internet) <a href="http://www.kadin.gundemi.info/testisler-orchis-didyms.html">http://www.kadin.gundemi.info/testisler-orchis-didyms.html</a>
< 1% match (27-Tem-2010 tarihli internet) <a href="http://jksms.kams.or.kr/2006/pdf/04315.pdf">http://jksms.kams.or.kr/2006/pdf/04315.pdf</a>
< 1% match (01-Haz-2015 tarihli internet) <a href="http://www.istanbulsaaglik.gov.tr/w/tez/pdf/uroloji/dr_mehmet_emin_ozyalvacli.pdf">http://www.istanbulsaaglik.gov.tr/w/tez/pdf/uroloji/dr_mehmet_emin_ozyalvacli.pdf</a>
< 1% match (27-Haz-2019 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Erçives Aniversitesi on 2019-06-27
< 1% match (22-Mar-2016 tarihli internet) <a href="http://www.cce-online.org/materiale_cic/846_2_3/7223_oxidative/article.htm">http://www.cce-online.org/materiale_cic/846_2_3/7223_oxidative/article.htm</a>
< 1% match (yayınlar) Alici, Demet, Feridun Bulbul, Osman Virit, Ahmet Unal, Abdurrahman Altındag, Gökay Alpaak, Hayri Alici, Berna Ermis, Mustafa Orkmez, Seyithan Taysi, and Haluk Savas, "Evaluation of oxidative metabolism and oxidative DNA damage in patients with obsessive-compulsive disorder - Obsessive-compulsive disorder", Psychiatry and Clinical Neurosciences, 2015.

< 1% match (yayınlar) Mehmet Esref Alkis, Mehmet Zulkuf Akdag, Suleyman Dasdaq, Korkut Yegin, Veysi Akpolat, "Single-strand DNA breaks and oxidative changes in rat testes exposed to radiofrequency radiation emitted from cellular phones", <i>Biotechnology &amp; Biotechnological Equipment</i> , 2019
< 1% match (14-May-2018 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Bahcesehir University on 2018-05-14
< 1% match (07-Ağu-2020 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to (school name not available) on 2020-08-07
< 1% match () <a href="http://hdl.handle.net/11607/3405">http://hdl.handle.net/11607/3405</a>
< 1% match (19-Haz-2015 tarihli internet) <a href="http://library.cu.edu.tr/tezler/6628.pdf">http://library.cu.edu.tr/tezler/6628.pdf</a>
< 1% match (22-Mar-2017 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Harran Üniversitesi on 2017-03-22
< 1% match (21-Nis-2020 tarihli internet) <a href="http://derginark.org.tr/tr/download/issue-file/18499">http://derginark.org.tr/tr/download/issue-file/18499</a>
< 1% match () <a href="https://escholarship.org/uc/item/8716z58b">https://escholarship.org/uc/item/8716z58b</a>
< 1% match (26-Haz-2020 tarihli internet) <a href="https://fr.slideshare.net/innovatifkimyadergisi/innovatif-kimya-dergisi-savi-22">https://fr.slideshare.net/innovatifkimyadergisi/innovatif-kimya-dergisi-savi-22</a>
< 1% match (12-Nis-2016 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Beykent Üniversitesi on 2016-04-12
< 1% match (09-Kas-2018 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Marmara University on 2018-11-09
< 1% match (23-Ara-2015 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Beykent Üniversitesi on 2015-12-23
< 1% match (14-Eki-2018 tarihli internet) <a href="http://noropsikiyatriarsivi.com/sayilar/435/buyuk/194-198.pdf">http://noropsikiyatriarsivi.com/sayilar/435/buyuk/194-198.pdf</a>
< 1% match (13-Eki-2020 tarihli internet) <a href="https://pesquisa.bvsalud.org/glm/?lang=en%2Cau%3A%22Martins+Neto%2C+Viviana%22&amp;q=au%3A%22Munhoz%2C+Alexandre+Mendonca%22">https://pesquisa.bvsalud.org/glm/?lang=en%2Cau%3A%22Martins+Neto%2C+Viviana%22&amp;q=au%3A%22Munhoz%2C+Alexandre+Mendonca%22</a>
< 1% match (yayınlar) KUTLUYURDU, Başak, DEMİRGAN, Serdar, SİTİLCİ, Abdullah Tolga, TOTOZ, Tolga, COLAK, Mustafa Ferhat, SEVDİ, Mehmet Salih, SOLAK KUMAS, Sezen, TOZAN, Emine and DEMİRGAN, Ebru Burcu, "İnguinal Herni Nedeni ile Opere Edilen Hastalarda Postoperatif Analjezi Sağlamak İçin Yara Yerine İnfiltrate Edilen Bupivakain ve Levobupivakainin Karşılaştırılması", <i>Loğos Yayıncılık</i> , 2015.
< 1% match (17-Mar-2015 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Kafkas Üniversitesi on 2015-03-17
< 1% match (17-Eki-2018 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Isik University on 2018-10-17
< 1% match (08-Tem-2019 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Hacettepe University on 2019-07-08
< 1% match (29-Ara-2017 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Istanbul Bilgi University on 2017-12-29
< 1% match (12-May-2016 tarihli internet) <a href="http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/anestezi_reanimasyon/dr_betul_sen.pdf">http://www.istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/anestezi_reanimasyon/dr_betul_sen.pdf</a>
< 1% match (02-Kas-2018 tarihli internet) <a href="http://krishikosh.egrnth.ac.in/bitstream/1/2041337/1/CCS109.pdf">http://krishikosh.egrnth.ac.in/bitstream/1/2041337/1/CCS109.pdf</a>
< 1% match (09-Ağu-2013 tarihli internet) <a href="http://www.journalagent.com/x4/download_fulltext.asp?ndir=kafkas&amp;nlng=tur&amp;un=KJMS-52714">http://www.journalagent.com/x4/download_fulltext.asp?ndir=kafkas&amp;nlng=tur&amp;un=KJMS-52714</a>
< 1% match (yayınlar) "EUROANAESTHESIA 2006: Annual Meeting of the European Society of Anaesthesiology, Madrid, Spain, June 3-6, 2006", <i>European Journal of Anaesthesiology</i> , 06/2006
< 1% match (15-Mar-2016 tarihli internet) <a href="http://www.dent.sgs.edu.tr/yayinlarimiz/proje/pdf/7.pdf">http://www.dent.sgs.edu.tr/yayinlarimiz/proje/pdf/7.pdf</a>
< 1% match (23-Haz-2019 tarihli internet) <a href="https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/106547/130255585.pdf?isAllowed=y&amp;sequence=1">https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/106547/130255585.pdf?isAllowed=y&amp;sequence=1</a>
< 1% match (27-Oca-2019 tarihli internet) <a href="http://travma.org/coursePhoto.aspx?courseID=2087&amp;courseType=1&amp;menu=36">http://travma.org/coursePhoto.aspx?courseID=2087&amp;courseType=1&amp;menu=36</a>
< 1% match (08-Şub-2020 tarihli internet) <a href="https://www.blogente.com/abts-teac-vontemi-metodu-nedir/">https://www.blogente.com/abts-teac-vontemi-metodu-nedir/</a>
< 1% match (07-Ara-2019 tarihli internet) <a href="https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00744932/document">https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00744932/document</a>

< 1% match () <a href="https://pure.wlster.ac.uk/ws/files/77750820/OJCR_MS_ID_000556_final_21_nov.pdf">https://pure.wlster.ac.uk/ws/files/77750820/OJCR_MS_ID_000556_final_21_nov.pdf</a>
< 1% match (22-Eki-2020 tarihli internet) <a href="https://www.semanticscholar.org/author/H.-Zhang/46702315">https://www.semanticscholar.org/author/H.-Zhang/46702315</a>
< 1% match (07-Kas-2019 tarihli internet) <a href="http://ijqpec.co.uk/wp-content/uploads/2018/04/VOL14_CUDES2018.pdf">http://ijqpec.co.uk/wp-content/uploads/2018/04/VOL14_CUDES2018.pdf</a>
< 1% match (07-Kas-2019 tarihli öğrenci ödevleri) Submitted to Bahcesehir University on 2019-11-07
< 1% match (03-May-2019 tarihli internet) <a href="http://aott.org.tr/files/journals/1/articles/3243/public/3243-4121-1-PB.pdf">http://aott.org.tr/files/journals/1/articles/3243/public/3243-4121-1-PB.pdf</a>
< 1% match (03-Oca-2019 tarihli internet) <a href="http://www.azkurs.org/journal-of-clinical-and-analytical-medicine.html">http://www.azkurs.org/journal-of-clinical-and-analytical-medicine.html</a>
< 1% match () <a href="https://kclpure.kcl.ac.uk/ws/files/12936362/Studentthesis-Hsuan-Hwai_Lin_2012.pdf">https://kclpure.kcl.ac.uk/ws/files/12936362/Studentthesis-Hsuan-Hwai_Lin_2012.pdf</a>
< 1% match (28-Ara-2016 tarihli internet) <a href="http://dergipark.ulakbim.gov.tr/firattip/article/view/5000051650/0">http://dergipark.ulakbim.gov.tr/firattip/article/view/5000051650/0</a>
< 1% match (20-Eki-2020 tarihli internet) <a href="https://epilepsivehayat.com/kutuphane/beynimiz-tanivalim/hipofiz-bezi/">https://epilepsivehayat.com/kutuphane/beynimiz-tanivalim/hipofiz-bezi/</a>
< 1% match (yayınlar) Hamit Yasar Ellidag, Nurullah Bulbulcu, Esin Eren, Sedat Abusoglu, Evren Akgol, Mustafa Cetiner, Necat Yilmaz, "Ischemia-Modified Albumin: Could It Be a New Oxidative Stress Biomarker for Colorectal Carcinoma?", Gut and Liver, 2013
< 1% match (29-Oca-2020 tarihli internet) <a href="https://es.scribd.com/document/6867895/%C4%B0thalat-Mevzuat%C4%B1-Di%C4%9Fer">https://es.scribd.com/document/6867895/%C4%B0thalat-Mevzuat%C4%B1-Di%C4%9Fer</a>
< 1% match (11-Mar-2020 tarihli internet) <a href="https://worldwidescience.org/topicpages/l/lj-1+receptor+il-1r1.html">https://worldwidescience.org/topicpages/l/lj-1+receptor+il-1r1.html</a>
< 1% match (11-Ağu-2019 tarihli internet) <a href="https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/15569527.2014.918138">https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/15569527.2014.918138</a>
< 1% match (31-Eki-2016 tarihli internet) <a href="http://www.sudieshare.net/ihramcizade/malatya-vresinde-yetilen-kays-tohumlarında-amigdalin-miktarnn-hplc-yntemiyile-belirlenmesi-329142">http://www.sudieshare.net/ihramcizade/malatya-vresinde-yetilen-kays-tohumlarında-amigdalin-miktarnn-hplc-yntemiyile-belirlenmesi-329142</a>
< 1% match (01-Kas-2020 tarihli internet) <a href="https://www.journalagent.com/tpa/pdfs/TPA_55_2_131_138.pdf">https://www.journalagent.com/tpa/pdfs/TPA_55_2_131_138.pdf</a>
< 1% match (02-Eki-2020 tarihli internet) <a href="https://www.scandinos-publications.com/10.3892/etm.2020.8575">https://www.scandinos-publications.com/10.3892/etm.2020.8575</a>
< 1% match () <a href="http://hdl.handle.net/1866/8460">http://hdl.handle.net/1866/8460</a>
< 1% match (05-Tem-2020 tarihli internet) <a href="http://dspace.marmara.edu.tr/xmlui/handle/11424/37196?locale-attribute=de">http://dspace.marmara.edu.tr/xmlui/handle/11424/37196?locale-attribute=de</a>
< 1% match (07-Haz-2020 tarihli internet) <a href="http://www.bio-connectdiagnostics.be/assays/elisa-kit-for-alkaline-phosphatase-placental-alkp/seb219hu/sfid/1076594">http://www.bio-connectdiagnostics.be/assays/elisa-kit-for-alkaline-phosphatase-placental-alkp/seb219hu/sfid/1076594</a>
< 1% match (02-Eki-2011 tarihli internet) <a href="http://ahjjs-kor.amc.seoul.kr/cme/thesis/view.do?paperId=67189&amp;hpCd=D154&amp;cPage=2">http://ahjjs-kor.amc.seoul.kr/cme/thesis/view.do?paperId=67189&amp;hpCd=D154&amp;cPage=2</a>
< 1% match (yayınlar) CANATAROĞLU, Abdullah, ÖZBEK, Süleyman and GÜDEN, Ahmet, "Romatoid artrit anemi sıklığı ve patogenezi", TUBITAK, 2002.
< 1% match (yayınlar) COMBA, Bahat, ÖTO, Gökhan, MİS, Leyla, ÖZDEMİR, Hülya and COMBA, Arzu, "Effects of Borax on Inflammation, Haematological Parameters and Total Oxidant-Antioxidant Status in Rats Applied 3-Methylcholanthrene", Kafkas Üniversitesi, 2016.
< 1% match (yayınlar) PAKETÇİ, Ahi, BOZAYKUT, Abdulkadir, PAKETÇİ, Cem and GÖNÜL, SEZER, Rabia, "İki Yaş Altı Çocuklarda Sigara Mâruzyeti ve Tekrarlayan Bronşiyolit Atakları Arasındaki İlişkinin İncelenmesi", Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 2016.
< 1% match (05-Kas-2020 tarihli internet) <a href="https://www.romanianjournalcardiology.ro/wp-content/uploads/2018/10/supp-RRC-2018.pdf">https://www.romanianjournalcardiology.ro/wp-content/uploads/2018/10/supp-RRC-2018.pdf</a>
< 1% match (yayınlar) "Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015
< 1% match (11-Kas-2020 tarihli internet) <a href="https://www.seicukmedj.org/tr-tr/search-article-makale-arama/us/">https://www.seicukmedj.org/tr-tr/search-article-makale-arama/us/</a>
< 1% match () <a href="https://repositorio-aberto.up.pt/handle/10216/77147">https://repositorio-aberto.up.pt/handle/10216/77147</a>
< 1% match (yayınlar)