T.C

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

PREOPERATİF VE POSTOPERATİF VARİKOSELLİ HASTALARDAN ALINAN SPERMİYUMLARIN ULTRASTRÜKTÜREL YAPISININ İNCELENMESİ

Muhamet AFŞİN

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Birgül OTLUDİL

DİYARBAKIR

HAZİRAN - 2016

T.C

DİCLE UNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

DİYARBAKIR

Muhamet AFŞİN tarafından yapılan "**Preoperatif ve Postoperatif Varikoselli Hastalardan Alınan Spermiyumların Ultrastrüktürel Yapısının İncelenmesi**" konulu bu çalışma , jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir

Jüri Üyesinin

Ünvanı Adı Soyadı

Başkan: Prof. Dr. Murat AKKUŞ

Üye: Prof.Dr. Rıdvan ŞEŞEN

Üye: Yrd.Doç.Dr. Birgül OTLUDİL

Üye: Yrd.Doç.Dr. Şahin TOPRAK

Üye: Yrd.Doç.Dr. Arif PARMAKSIZ

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 24 /06 /2016

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../...../201..

Doç.Dr. Mehmet YILDIRIM

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ

(MÜHÜR)

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca çalışmamın her aşamasında bilgi ve birikimiyle beni yönlendiren, yol gösteren ve her konuda desteğini esirgemeyen danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Birgül OTLUDİL'e teşekkür ederim.

Tezimin yapılabilmesi için her türlü imkanı sağlayan tezimin her aşamasında bilgi ve tecrübesinden faydalandığım Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim üyelerinden ve ikinci danışman hocam Prof. Dr. Murat AKKUŞ hocama teşekkür ederim.

Çalışmamın TUNEL ASSAY kısmını Akdeniz Üniversitesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalında yapmama vesile olan desteğini, bilgi ve birikimlerini esirgemeyen Dr. Güler Leyla SATI'ya ve Araştırma Görevlisi Bikem SOYGUR' a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın fotoğraf çekimleri için desteklerini esirgemeyen Dr. Tarık ÇİÇEK, ve doktora öğrencisi Uğur ŞEKER'e, tezimin yazım aşamasında ve grafiklerinin hazırlanmasında desteğini gördüğüm Yrd. Doç. Dr. Veysi KIZMAZ'a, Bilgisayar Öğretmeni Mahsun YERLİKAYA'ya ve çalışmamın verilerinin istatistiklerini yapan Yrd. Doç. Dr. İsmail YILDIZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez Çalışmam boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyen ve haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim eşim Zeynep AFŞİN ve kızım Büşra AFŞİN'e sonsuz teşkkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın 14-FF-15 no'lu projesine maddi destek sağlayan DÜBAP'a ve Dicle Üniversitesi Bilim, Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi' ne (DÜBTAM) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR I

İÇİNDEKİLER II

ÖZET VI

ABSTRACT VIII

ÇİZELGE LİSTESİ X

ŞEKİL LİSTESİ XI

KISALTMA ve SİMGELER XVIII

1.GİRİŞ 1

2. KAYNAK ÖZETLERİ 5

2.1. Testisler 5

2.1.1. Testis Embriyolojisi 5

2.1.2. Testis Anatomisi ve Fizyolojisi 6

2.1.3. Testis Histolojisi 7

2.1.3.1. Seminifer Tübüller 8

2.1.3.2. Sertoli Hücreleri 11

2.1.3.3. Spermatogenez 12

Spermatogoniyumlar 13

Spermiyogenezis 15

Akrozom Oluşması 16

Kuyruk Gelişmesi 16

Çekirdek Şekil ve Büyüklüğünün Değişmesi ile Birlikte Kromatin Yoğunlaşması 16

Artık Spermatid Sitoplazmasının Atılması 17

2.1.3.4. Spermiyumun Ultrstrüktürel Yapısı 17

2.1.4. İnterstisyel Doku (Leydig Hücreleri) 21

2.1.4.1. Testisin Damarları 22

2.1.5. Testis İçi Boşaltım Yolları 22
2.1.5.1. Tubuli Seminiferi Rekti 22
2.1.5.2. Rete Testis 23
2.1.5.3. Duktuli Efferentes 23
2.1.5.4. Duktus Epididimis 23
2.1.5.5. Duktus deferens 24
2.1.5.6. Duktus Ejakulatoryus 24
2.2. Yardımcı (Aksesuar) Üreme Bezleri 25
2.2.1. Seminal Veziküller 25
2.2.2. Prostat Bezi 25
2.2.3. Bulboüretral Bezler (Cowper Bezleri) 26
2.3. İnfertilite 26
2.3.1. Erkek İnfertilitesi 26
2.3.1.1. Hastanın Anamnezi 27
2.3.1.2. Hastanın Fizik Muayenesi 29
2.3.1.3. Laboratuvar Sonuçlarını Değerlendirme 29
Semenin Genel Özellikleri 29
Semenin Görnümü, Rengi ve Kokusu 29
Semenin Likefaksiyonu 30
Semenin Miktarı (Volümü) 30
Semenin pH'sı 30
Semenin Mikroskobik Özellikleri 31
3.3.1.4. Spermiyum Morfolojisinin Değerlendirilmesi 31
2.3.1.4. Radyolojik Değerlendirme 33
2.4.1. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM) 35
2.4.1.1. Spermiyumun Ultrastrüktürel Değerlendirmesi 36
2.4.1.2. Normal Spermiyumun Ultrastrüktürel Yapısı 36

2.4.1.3. Spermiyumun Ultrastrüktürel Bozuklukları 36
2.4.2. Floresans Mikroskobu 38
2.5. Apopitoz 38
2.6. Varikosel 39
2.6.1. Varikoselin Tarihçesi 39
2.6.2. Varikoselin Nedenleri (Etiyoloji ve Patofizyoloji) 40
2.6.3. Varikoselde Tanı ve Değerlendirme 41
2.6.4. Subklinik varikosel 42
2.6.5. Varikosel Tedavisi 42
2.6.6. Varikoselektomi (Varikosel Ameliyatı) Komplikasyonları 43
2.6.7. Varikoselektomi Sonuçları 43
2.6.8. Varikosel Tedavisi Sonrası İzlem 43
2.7. Önceki Çalışmalar 44
3. MATERYAL ve METOT 51
3.1. Tezin Yöntemi 51
3.2. Semenin Toplanması 51
3.3. Semenin Makroskobik İncelenmesi 51
3.4. Semenin Mikroskobik İncelenmesi 52
3.5. Spermiyum Konsantrasyonu ve Motilitesinin Hesaplanması 52
3.6. Morfolojik Değerlendirme 53
3.6.1. Işık Mikroskobu için Spermac Boyama Metodu 53
3.7. Transmisyon Elektron Mikroskobunda Doku Takip Aşamaları 54
3.8. TUNEL Assay (terminal dutp nick-end labeling) Metodunun Aşamaları 55
3.9. Kullanılan Aletler 56
3.10. Kullanılan kimyasal maddeler 56
3.11. Solusyonların (Karışımların) Hazırlanması 57

3.11.1. PBS (Phosphate Buffered Saline) Hazırlanması 57
3.11.2. PBS-Sukroz Çözeltisinin Hazırlanması 57
3.11.3. Formalinin Hazırlaması 58
3.11.4. Permeabilizasyon Solüsyonunun Hazırlanması 58
3.11.5. TUNEL Solüsyonunun Hazırlanması 58
3.11.6. TUNEL Negatif Kontrol Solsyonunun Hazırlanması 58
3.12. İstatistiksel Analiz 58
4. ARAŞTIRMA BULGULARI 59
4.1. Spermiyum Konsantrasyonu (Sayı) ve Motilite (Hareket) Bulguları 59
4.2. Spermiyumların Morfolojik Bulguları 66
4.3.1. Ameliyat öncesi Elektron Mikroskobu Bulguları 81
4.4. TUNEL Assay Bulguları 92
4.4.1. Spermiyumların DNA Fragmentasyon İndexi (DNA Kırıkları) %'leri 93
5. TARTIŞMA VE SONUÇ 101
6. KAYNAKLAR 115
EKLER 125
ÖZGEÇMİŞ 130

ÖZET

PREOPERATİF VE POSTOPERATİF VARİKOSELLİ HASTALARDAN ALINAN SPERMİYUMLARIN ULTRASTRÜKTÜREL YAPISININ İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

Muhamet AFŞİN

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

2016

Varikosel; pleksus pampiniformisteki testiküler venlerin aşırı dilate olmaları ve kıvrımlı bir hal almaları olarak tanımlanan, erkek infertilitesinin etiyolojisinde cerrahi olarak düzeltilebilir önemli bir faktördür. Varikosel erişkin erkeklerin % 15-20'sinde, primer infertiliteye sahip erkeklerin % 35-40'ında ve sekonder infertiliteye sahip erkeklerin ise yaklaşık % 60-80'inde tespit edilmiştir.

Bu çalışmanın amacı, üroloji polikliniğine kasık ağrısı, infertilite, testislerde şişme ve sarkma gibi şikayetlerle başvuran ve tetkikler sonucu varikosel tanısı konan hastalardan ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası 3. ay, 6. ay ve 12. ayda alınacak olan semendeki spermyiumların sayı, hareket, morfoloji ve DNA fregmantasyonları incelenerek varikosel ameliyatının spermiyum parametrelerine olan etkisi araştırılmıştır. Semen örnekleri varikosel tanısı konulmuş toplam 40 hastadan elde edildi. Örnekler ortalama 3 günlük cinsel perhizden sonra mastürbasyonla toplandı. Likefaksiyondan sonra, semen analizi WHO kriterlerine göre Makler kamerası yardımıyla yapılarak spermiyumların sayı ve hareketlerine bakıldı. Spermiyum morfolojisi spermac boyama tekniği kullanılarak değerlendirildi. Spermiyumların ultrastrüktürel yapısı elektron mikroskobu ile DNA fregmantasyon indexi TUNEL yöntemiyle değerlendirildi.

Bu çalışmada yaşları15-30 arasında olan 40 hastanın yaş ortalaması 22 olarak bulunmuştur. Ameliyat öncesi spermiyumların konsantrasyon ortalaması 45.25 milyon/ml iken, ameliyat sonrası 3. ayda 48.85 milyon/ml, 6. ayda 51.72 milyon/ml ve 12. ayda 49.63 milyon/ml olarak tespit edilmiştir. Varikoselektomi öncesi A+B hareketli spermiyum ortalaması % 35.5 iken, varikoselektomi sonrası 3. ayda % 42.65, 6. ayda % 43 ve 12. ayda % 44 olarak bulundu.

Morfolojik değerlendirmenin başlıca amacı normal ve anormal spermiyumların ayırt edilmesidir. Çalışmamızda 40 hastanın normal spermiyum morfoloji ortalaması ameliyat öncesi % 3.15 iken, ameliyat sonrası 3. ayda % 3.20, 6. ayda % 2.97 ve 12. ayda % 3.27 bulunduğundan ameliyat öncesi ile sonrası arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Ultrastrüktürel

olarak dört ayrı grubu detaylı olarak incelediğimizde spermiyum morfolojisi açısından gruplar arasında önemsenmeyecek farklılıkların olduğunu tespit ettik. Özellikle spermiyum nukleusu, akrozomal kep, mitokondriyal düzen ve kuyruk yapısındaki mikrotübüller yapı ile fibriller düzen kıyaslanarak varikosel ameliyatının spermiyum morfolojisine olumlu bir etkisinin olmadığı gözlendi.

Çevresel şartlar spermatozoon DNA'sında meydana gelen hasarın artmasında rol oynamaktadır. Bu şartlar DNA'nın yapısında bozulmalara sebep olabilir, spermatogenez boyunca DNA tamirini engelleyebilir, azaltabilir ya da hücrede apopitoz oluşturabilir. Ameliyat öncesinde hastaların spermiyumlarının DNA fregmantasyon indexi (DFI %) ortalaması % 20.57 iken, ameliyat sonrası 3. ayda % 17.27, 6. ayda % 15.5 ve 12. ayda % 15.3 bulunduğundan ameliyat öncesi ve sonrası arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi.

Sonuç olarak ameliyat öncesi ve sonrası varikoselli hastaların spermiyumlarının sayı, haraket, morfoloji ve DNA kırıklarını incelediğimizde, ameliyat sonrası DNA kırıklarının az da olsa düzeldiğini sayı ve hareketin de artığını gözlemledik. Spermiyumlarda sayısal artış olmasına rağmen morfolojik yapısının hiç değişmediği ancak hareketin ise anlamlı bir artış gösterdiğini saptadık. Bu bulgularımızın; gelecekte yapılacak varikosel ile ilgili araşatırmalara yol gösterebileceği inancındayız.

Anahtar Kelimeler: Varikosel, Spermiyum, Morfoloji, Ultrastrüktür, DNA Fregmantasyon İndeksi

ABSTRACT

PREOPERATIVE AND POSTOPERATIVE EXAMINATION OF ULTRASTRUCTURAL COMPOSITION OF SPERMIUM TAKEN FROM PATIENTS WHO HAVE VARICOCELE

PhD THESIS

Muhamet AFŞİN

DEPARTMENT OF BIOLOGY

INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

UNIVERSITY OF DICLE

2016

Varicocele is defined as an excessive dilation and tortuous shape of testicular veins in plexus pampiniformis and it is an important factor in the etiology of male infertility which can be surgically improved. Clinically, varicocele is diagnosed in 15-20% of adult males, 35-40% of males who has primer infertility and 60-80 % of males with secondary infertility.

The aim of this study is to investigate the effect of varicocele operation on spermium parameters and examine the number, movement, morphology and DNA fragmantation of spermiums in semen taken before and after 3rd, 6th and 12nd months from the patients who admitted to hospital with groin pain, infertility, swelling and sag in the testicles complaints. Semen samples were obtained from 40 patients. Samples were collected by masturbation after 3 days of sexual abstinence. The number and movement of spermiums were evaluated according to the WHO criteria by Makler camera after liquefaction. The spermium morphology was examined by using of spermac painting technique. The ultrastructural morphology of spermium were investigated with transmission electron microscope and TUNEL technique was used to assess the structure of DNA fragmantetion index.

The patients median age was 22 (15-30). While the preoperative average concentration of spermium was deteremined as 45.25 Million/ml, the postoperative average concentrations were detected as 48.85 at 3rd month, 51.72 Million/ml at 6th month and 49.63 Million/ml at 12nd month. Before varicocelectomy A+B motil sperm count was 35.5%, after varicocelectomy, the spermium counts were found as 42.65%, 43% and 44% at 3rd, 6th, 12nd months, respectively.

The main purpose of morphological evaluation is to distinguish normal and abnormal spermium. In our study, there were no significant difference between preoperation and postoperation normal spermium morphology because, while normal spermium morphology average before operation was 3.15%, after operation the average were 3.20%, 2.97%, 3.27% at 3rd, 6th and 12nd months respectively. We found minor differences in sperm morphology between groups when we examined the four different groups ultrastructurally. It was found that varicocele surgery did not make any positive impact on spermium morphology, especially, when we consider the spermium nucleus, acrosome, mitochondria and microtubules on tail structure.

Environmental factors are play a role in increase of spermium DNA damage. This factors can cause disruption in DNA structure, disrupt or decrease DNA repair mechanism through out spermatogenesis or cause apoptosis in the cell. While DNA fregmantation index average level (DFI %) was 20.57 % before surgery, after operation it was 17.27% at 3rd month, 15.5% at 6th

month and 15.3% at 12nd month. According to these results it could be suggested that there was a significant statistical difference between preoperation and postoperation periods.

Consequently, before and after operation when we evaluated the number, morphology and DNA fragmentation of the varicocele patients' spermium, it was observed a slight improvement in DNA fragmentation and increase in counts and mobility. We detected that although there was an increase in spermium counts, there was no morphological change in spermium structure but there was a significant increase in mobility of spermium. These findings; we believe that these findings can be guide to future research about varicocele.

Keywords: Varicocele, Spermium, Morphology, Ultrastructure, DNA Fregmantation Index.

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge No **Sayfa**

Çizelge 2.1. Kadın ve erkekte fertiliteyi etkileyen faktörler 28

Çizelge 2.2. Semen analizinde terminoloji 34

Çizelge 2.3. Semen analizi referans değerleri 35

Çizelge 4.1. Çalışmaya alınan hastaların yaşı, semenin volümü, pH, sayı ve hareket %'lerinin aritmetik ortalaması, standart sapması, minimum-maximum değerleri ve P değerinin büyüklüğü 62

Çizelge 4.2. Çalışmaya alınan hastaların normal morfoloji , anormal morfoloji, baş anomalisi, akrozom anomalisi, boyun anomalisi, kuyruk anomalisi ve mixt (karışık) anomali değerleri ve P değerinin büyüklüğü 70

Çizelge 4.3. Çalışmaya alınan hastaların DNA fregmantasyon indexi %'lerinin aritmetik ortalaması, standart sapması, minimum-maximum değerleri ve P değerinin büyükülüğü 94

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No **Sayfa**

Şekil 2.1. Erkek genital sistemi; testis ve epididimisin genital sistemdeki diğer bölümlerden farklılıkları ve testiküler lobüllerin bağlantıları gösterilmektedir 8

Şekil 2.2. Testis içi ve testis dışı erkek genital sisteme ait kanallar 10

Şekil 2.3. Testiste seminifer tübüller A: Genel görünüm; B: Bir semininfer tübülün enine kesiti 10

Şekil 2.4. Seminifer tübülde yer alan spermatojenik hücreler ve bunların sertoli hücreleri ile ilişkileri 11

Şekil 2.5. Spermiyogenez sırasında bir spermatidin spermatozoona dönüşüm aşamaları ve olgun bir spermiyumun şematik görünümü 15

Şekil 2.6. Spermiyum kuyruğunda silia ve flagella yapısı 20

Şekil 2.7. İnsan spermiyumunun şematik gösterimi 21

Şekil 2.8. Sağlıklı erkeğe ait ejakülat spermiyumu ve elektron mikroskop büyütmesi X 17000 37

Şekil 2.9. Varikosel olgusunun şematik gösterimi 41

Şekil 3.1. Makler kamerası ve makler kamerasının spermiyum sayımı sırasında kullanım şekli 53

Şekil 4.1. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların yaş ortalaması 63

Şekil 4.2. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların dönemlere göre ortalama semen miktarlarının dağılımı 63

Şekil 4.3. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların dönemlere göre ortalama pH dağılımı 64

Şekil 4.4. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların spermiyum konsantrasyon ortalamalarının dönemlere göre dağılımı 64

Şekil 4.5. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların A+B hareketli spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı 65

Şekil 4.6. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların C hareketli spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı 65

Şekil 4.7. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların D hareketli spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı 66

Şekil 4. 8. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların normal morfoloji gösteren spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı 71

Şekil 4. 9. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların anormal morfoloji gösteren spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı 71

Şekil 4.10. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların anormal morfolojili baş anomalisi gösteren spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı 72

Şekil 4.11. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların anormal morfolojili akrozom anomalisi gösteren spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı 72

Şekil 4.12. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların anormal morfolojili boyun anomalisi gösteren spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı 73

Şekil 4.13. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların anormal morfolojili kuyruk anomalisi gösteren spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı 73

Şekil 4.14. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların anormal morfolojili mixt (karışık) anomalisi gösteren spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı 74

Şekil 4.15. Ameliyat öncesi spermiyum morfolojileri; kuyruksuz (ok başı), baş ile boyun aynı aks üzerinde değil (ok), baş etrafında dolanan kuyruk (yıldız), yuvarlak ve büyük akrozomlu (üçgen) spermiyumlar, (Spermac Stain, X100) 75

Şekil 4.16. Ameliyat öncesi spermiyum morfolojileri; çift başlı (ok), akrozomsuz, boyunda sitoplazmik artıklı küçük baş (ok başı), küçük akrozomlu (yıldız) spermiyumlar, (Spermac Stain, X100) 75

Şekil 4.17. Ameliyat öncesi spermiyum morfolojileri; amorf başlı (üçgen), küçük akrozomlu (ok başı), boyunda sitoplazmik artık ve kırık boyun (ok) olan spermiyumlar, (Spermac Stain, X100) 76

Şekil 4.18. Ameliyat sonrası 3. ay spermiyum morfolojileri; çift kuyruklu (ok başı), kırık boyunlu ve büyük akrozomlu (ok), kuyruk dolanmış (yıldız) spermiyumlar, (Spermac Stain, X100) 76

Şekil 4.19. Ameliyat sonrası 3. ay spermiyum morfolojileri; priform baş, armut biçimli (ok başı), yuvarlak ve akrozomu büyük spermiyum (ok), uzun başlı (elonge) spermiyumlar (üçgen), (Spermac Stain, X100) 77

Şekil 4.20. Ameliyat sonrası 3. ay spermiyum morfolojileri; çift başlı (ok), priform (armut biçimli) baş (ok başı), akrozomsuz, küçük başlı ve boyunda sitoplazmik droplet (ok) içeren spermiyum, (Spermac Stain, X100) 77

Şekil 4.21. Ameliyat sonrası 6. ay spermiyum morfolojileri; çift kuyruklu (ok başı), tapered (ok), küçük akrozomlu (üçgen) spermiyumlar, (Spermac Stain, X100) 78

Şekil 4.22. Ameliyat sonrası 6. ay spermiyum morfolojileri; yuvarlak başlı (ok), küçük akrozomlu (ok başı), başsız (üçgen), amorf, şekilsiz başlı (yıldız) spermiyumlar, (Spermac Stain, X100) 78

Şekil 4.23. Ameliyat sonrası 6. ay spermiyum morfolojileri; tapered (sivri başlı) (ok), kıvrılmış kuyruk (yıldız), pinehead (başsız) (ok başı) spermiyumlar, (Spermac Stain, X100) 79

Şekil 4.24. Ameliyat sonrası 12. ay spermiyum morfolojileri, başsız ve kısa kuyruk (ok başı), küçük akrozomlu (ok), normalden büyük baş morfolojisine sahip bir spermiyum (yıldız), (Spermac Stain, X100) 79

Şekil 4.25. Ameliyat sonrası 12. ay spermiyum morfolojileri; tapared baş (ok), kırık boyunlu ve amorf baş (ok başı), yuvarlak baş ve boyunda sitoplazmik droplet (üçgen) içeren spermiyumlar, (Spermac Stain, X100) 80

Şekil 4.26. Ameliyat sonrası 12. ay spermiyum morfolojileri; tapared baş (ok), amorf baş (ok başı), priform baş (üçgen) içeren spermiyumlar, (Spermac Stain, X100) 80

Şekil 4.27. Varikosel ameliyatı öncesi elektron mikroskobu görüntüsü; çekirdek kondanse bir görünümde (yıldız), akrozomal kep bazı bölgelerde deformasyona uğramış (ok başı), boyun bölgesinde sitoplazmik droplet (üçgen), boyunda mitokondriler simetrik değil (ok) (Uranil astat-Kurşun sitrat, X25.000) 82

Şekil 4.28. Varikosel ameliyatı öncesi elektron mikroskobu görüntüsü; baş kısmında genetik materyal ve akrozom yok (yıldız), kuyrukta olağan bir aksone (ok) ve aksonemin çevresinde yer yer dejenere olmuş fibröz kılıf (ok başı) izlenmektedir (Uranil astat-Kurşun sitrat, X10 000) 82

Şekil 4.29. Varikosel ameliyatı öncesi elektron mikroskobu görüntüsü; kuyruğun enine kesitinde mikrotübül yapıları (ok), akrozomal kep normal şekilli ve devamlı, plazmalemma ve akrozomal membranlar birbiriyle paralel ve

uyumlu (üçgen), nukleusta küçük ve büyük vakuoller (yıldız) (Uranil astat-Kurşun sitrat, X15 000) 83

Şekil 4.30. Varikosel ameliyatı öncesi elektron mikroskobu görüntüsü; birbirinden ayrılmamış iki nukleusun tek baş içinde (yıldız), çekirdekte nüklear vakuoller (ok) (Uranil astat-Kurşun sitrat, X15 000) 83

Şekil 4.31. Varikosel ameliyatı öncesi elektron mikroskobu görüntüsü; boyunda sitoplazmik droplet (üçgen) ve mitokondriyal dejenerasyon (ok) (Uranil astat-Kurşun sitrat, X15 000) 84

Şekil 4.32. Varikosel ameliyatı öncesi elektron mikroskobu görüntüsü; boyun bölgesinde düzensiz dağılmış ve dejenere olmuş mitokondriler (ok başı), kuyruğun enine kesitinde mikrotübül yapıları (ok) (Uranil astat-Kurşun sitrat, X15 000) 84

Şekil 4.33. Varikosel ameliyatı sonrası 3. ay elektron mikroskobu görüntüsü; kuyruğun enine kesitinde 9+2 düzeninde mikrotübül yapıları merkezi mikrotübüller (ok) ve çevresel mikrotübüller (ok başı) (Uranil astat-Kurşun sitrat, X50 000) 86

Şekil 4.34. Varikosel ameliyatı sonrası 3. ay elektron mikroskobu görüntüsü; kuyruğun enine kesitinde 9+2 mikrotübül yapısı (ok), 9+2 mikrotübül düzeninden sapmalarla 9+0 mikrotübül yapısı (ok başı) (Uranil astat-Kurşun sitrat, X50 000) 86

Şekil 4.35. Varikosel ameliyatı sonrası 3. ay elektron mikroskobu görüntüsü; boyun ve kuyruk bölgesindemitokondriler (ok), akrozomal kep yer yer dejenere olmuş (üçgen), nukleusta vakuolleşme (yıldız), boyunda sitoplazmik artık (ok başı) (Uranil astat-Kurşun sitrat, X20 000) 87

Şekil 4.36. Varikosel ameliyatı sonrası 3. ay elektron mikroskobu görüntüsü; boyun bölgesinde düzensiz dizilmiş mitokondriler (ok), boyunda sitoplazmik artık (ok başı), çekirdek kondanse görünümde (yıldız), çekirdek etrafında akrozom yer almayan yuvarlak başlı (globozoospermi) spermiyum (üçgen) (Uranil astat-Kurşun sitrat, X15 000) 87

Şekil 4.37. Varikosel ameliyatı sonrası 3. ay elektron mikroskobu görüntüsü; boyun ve kuyruk bölgesinde normal şekilli ve boynun her iki tarafında simetrik mitokondriler (ok), aksonemal yapı düzgün şekilli (ok başı), başsız (pınehead) bir spermiyum hücresi (üçgen), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X15 000) 88

Şekil 4.38. Varikosel ameliyatı sonrası 6. ay elektron mikroskobu görüntüsü; boyun ve kuyruk bölgesinde simetrik dizilmiş mitokondriler (ok), kuyrukta aksonemal yapı (ok başı), baş bölgesinde akrozom ve membran yapısında dejenerasyonlar ve amorf başlı spermiyum (üçgen) (Uranil astat-Kurşun sitrat, X15 000) 88

Şekil 4.39. Varikosel ameliyatı sonrası 6. ay elektron mikroskobu görüntüsü; (ok), boyunda sitoplazmik droplet (ok başı), baş bölgesinde akrozom ve membran yapısında dejenerasyon (yıldız), spermiyum başının aksiyel olmayan bağlantısı (ok), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X10 000) 89

Şekil 4.40. Varikosel ameliyat sonrası 6. ay elektron mikroskobu görüntüsü; boyun ve kuyruk bölgesinde dizilmiş mitokondriler (ok), çekirdekte nükear vakuoller (yıldız), baş kısmında akrozomal kist (üçgen) ve stoplazmik artık (ok başı), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X12 000) 89

Şekil 4.41. Varikosel ameliyat sonrası 6. ay elektron mikroskobu görüntüsü; çift başlı spermiyum (ok başı), baş kısmında nüklear vakoulleşme (yıldız), kuyruğun enine kesitleri (ok), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X15 000) 90

Şekil 4.42. Varikosel ameliyatı sonrası 12. ay elektron mikroskobu görüntüsü; baş bölgesinde akrozom ve membran yapısında uyum (üçgen), boyun bölgesinde sitoplazmik droplet (yıldız), boyun ve kuyruk bölgesinde mitokondriler normal şekilli ve boynun her iki tarafında simetrik dizilmiş (ok), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X12 000) 90

Şekil 4.43. Varikosel ameliyatı sonrası 12. ay elektron mikroskobu görüntüsü; çekirdekte nüklear vakuolleşme (yıldız), akrozom membranı ile plazma membran bütünlüğünde bozulmalar (ok başı), kuyruğun enine kesitinde mikrotübül yapıları (ok), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X25 000) 91

Şekil 4.44. Varikosel ameliyatı sonrası 12. ay elektron mikroskobu görüntüsü; başsız bir spermiyum (yıldız), orta parçada simetrik olarak dizilmiş mitokondriler (ok), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X10 000) 91

Şekil 4.45. Varikosel ameliyat sonrası 12. ay elektron mikroskobu görüntüsü; boyun bölgesinde her iki tarafta simetrik olarak dizilmiş mitokondriler (ok), boyunda sitoplazmik artık (yıldız), baş bölgesinde akrozom ve membran bütünlüğü net değil, çekirdek heterokromatin görünümde (ok başı), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X15 000) 92

Şekil 4.46. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların spermiyumlarının DNA fregmantasyon indexi (DFI) ortalamasının dönemlere göre dağılımı 94

Şekil 4.47. Varikosel ameliyatı öncesi DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40) 95

Şekil 4.48. Varikosel ameliyatı öncesi DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40) 95

Şekil 4.49. Varikosel ameliyatı öncesi DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40) 96

Şekil 4.50. Varikosel ameliyatı sonrası 3. ay DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok), yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40) 96

Şekil 4.51. Varikosel ameliyatı sonrası 3. ay DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40) 97

Şekil 4.52. Varikosel ameliyatı sonrası 3. ay DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40) 97

Şekil 4.53. Varikosel ameliyatı sonrası 6. ay DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40) 98

Şekil 4.54. Varikosel ameliyatı sonrası 6. ay DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok) , (TUNEL Assay, X40) 98

Şekil 4.55. Varikosel ameliyatı sonrası 6. ay DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40) 99

Şekil 4.56. Varikosel ameliyatı sonrası 12. ay DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40) 99

Şekil 4.57. Varikosel ameliyatı sonrası 12. ay DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40) 100

Şekil 4.58. Varikosel ameliyatı sonrası 12. ay DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40) 100

KISALTMA ve SİMGELER

TBF :Testis belirleyici faktör

SRY :Sex Determining Region on Y(Y kromozomu üzerinde cinsiyeti belirleyen bölge)

HCG :İnsan Koryonik Gonadotropin

AMH :Antimüllerian Hormon

MIS :Müllerian İnhibitör Madde

FSH :Folikül Stimülan Hormon

ABP :Androjen Bağlayıcı Protein

GnRH :Gonadotropin Relasing Hormon

LH :Luteinizan Hormon

DNA :Deoksiribonükleik Asit

PAS :Peryodik Asit Shift

GER :Granüllü Endoplazmik Retikulum

ATP :Adenozintrifosfat

C amp :Siklik adenozinmonofosfat

DHT :DihidroTestosterone

WHO :World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

TEM :Transmisyon Elektron Mikroskobu

A^0 :Angstrone (birim)

AO :Akridine Orange

RNA :Ribonükleik Asit

FITC :Floresanizotiyosiyanat

ROT :Reaktif Oksijen Türevleri

TNFR :Tümör Nekrozis Faktör Reseptör

Fas L :Fas Ligandı

TRADD :TNFR-1 Associated Death Domain

FADD :Fas Associated Death Domain

M.S. :Milattan Sonra

IVF :İnvitro Fertilizasyon

ICSI :Intrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu

µl :Mikrolitre

µ :Mikron

TUNEL :Terminaldutpnick-endlabeling

Dak. :Dakika

Rpm :Revolution Perminute (Dakikadaki devir sayısı)

ml :Millilitre

PBS :Fosfat Buffer Saline

gr :Gram

TdT :Deoks inükleotidil Transferaz

DFI :DNA Fregmantasyon Indeksi

1.GİRİŞ

İnfertilite, en az bir yıl süre ile herhangi bir korunma yöntemi olmaksızın çiftlerin çocuk sahibi olamamaları olayıdır. İnfertilite çiftilerin yaklaşık yarısında erkeğe ait, yarısında ise kadına ait sebeplerle ortaya çıkmaktadır. Bunların % 30-50'sinde de etiyoloji saptanamamaktadır. Detaylı bir spermiyum analizi, infertil çifte yaklaşımda yapılması gereken ilk tetkiklerden biridir (Cengiz 2010).

Varikosel ve bununla birlikte görülen infertilite olguları yüzyıllardan beri bilinmektedir. Varikosel ilk olarak M.S. 1. yüzyılda Celcius tarafından tanımlanmıştır. Tarihsel gelişim sürecinde (testiküler atrofi, sertoli ve leydig hücrelerinin fonksiyonlarında azalma, infertilite ve semen parametreleri üzerindeki olumsuz etkisi gibi) birçok araştırmacı tarafından araştırılmıştır. "Günümüzde infertilite kliniklerine başvuran erkek hastaların önde gelen sorunlarından biridir" (Güzel ve ark. 20013, Pasqualotto ve ark. 2005).

Varikosel; pleksus pampiniformisteki testiküler venlerin aşırı dilate (genişlemiş) olmaları ve kıvrımlı bir hal alması olarak tanımlanan, erkek infertilitesinin etiyolojisinde cerrahi olarak düzeltilebilir önemli bir faktördür. Varikosel erişkin erkeklerin % 15-20'sinde, primer infertiliteye sahip erkeklerin % 35-40'ında ve sekonder infertiliteye sahip erkeklerin ise yaklaşık % 60-80'inde tespit edilmiştir (Vineeth ve ark. 2012, Çayan ve Kadıoğlu 2005, Yazdani ve ark. 2015). Bugün varikoselin üreme sistemi üzerine verdiği hasar ve oluşum mekanizması üzerine çok sayıda araştırma mevcuttur. Yapılan çalışmalarda, "testiküler venlerdeki kanın, testise geri akımı sonrasında mikro dolaşımı etkilemesiyle (testislerde sıcaklık artışına neden olması, genişleyen venlerde biriken kanda yüksek oranda bulunan bazı metabolitlerin olması ve oksijenlenmenin azalması gibi nedenlerden dolayı) spermiyumların sayı, hareket, morfolojik yapı ve kromozomal yapısının bozulmasına ve sonucunda dölleme kapasitesinin olumsuz etkilemesine neden olmaktadır" (Kilciler ve Erdemir 2014, Yazdani ve ark. 2015).Varikosel ergenlik çağında ortaya çıkmaya başladığı için üreme potansiyeli aktif olan kişilerde daha sık görülür. Dolaysıyla bu kişilerde varikosel teşhis edilip tedavi edilmezse testislerin gelişmesine engel olabildiği gibi testislerin zamanla küçülmesine ve spermiyum üretiminin olumsuz etkilenmesine sebep olabilir (Kilciler ve Erdemir 2014, Yazdani ve ark. 2015).

1.GİRİŞ

Varikosel, genetik yatkınlığı olan ve ayakta fazla duran bireylerde; kasıklarda ağrı, testislerde görüntü bozukluğu ve infertilite taraması sonucu ortaya çıkan bir rahatsızlıktır. Doğru tanı konularak mikro cerrahi yöntemiyle; genişlemiş, fonksiyonu bozulmuş venler bağlanırken, vena deferentialis, spermiyum kanalları, testis arterleri ve lenf damarları korunmalıdır (Kilciler ve Erdemir 2014).

Varikosel ameliyatı sonrası semen analizlerinde % 50 ile % 80 arasında iyileşme olduğu, % 20-69 oranında gebelik meydana geldiği, testis boyutlarında ve histolojisinde düzelme saptandığı çeşitli hasta grupları üzerinde yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Fakat bu oranlarda zaman içerisinde tekrar düşme görülebilir. Varikosel ameliyatından sonra hastaların çoğu doğal yollarla, geri kalanların önemli bir kısmı ise rahim içi aşılama (IUI) yöntemi ile çocuk sahibi olabilirler (Vineeth ve ark. 2012, Çayan ve Kadıoğlu 2005).

Semen analizinin konvansiyonel parametreleri olan sayı, hareket ve morfoloji; üreme potansiyelinin değerlendirilmesi açısından yetersiz kalmaktadır. Yakın dönemdeki çalışmalar spermiyumların genomik materyelindeki anormal organizasyonu ortaya koymuştur, bu durum da erkek infertilitesinin % 20'sinden sorumludur. Spermiyum DNA'sında apopitozun gösterilmesi, spermiyum kalitesini değerlendirmeye yardımcı olmaktadır. Varikosel, spermiyum sayısını, hareketini, morfolojisini, ultrastrüktürel yapısını ve DNA bütünlüğünü etkilemektedir. Bir takım faktörlerin etkisi ile spermiyum DNA'sında meydana gelen hasar sonucu, anormal embriyo gelişimi, düşük fertilizasyon, ve spontan düşük oluşmaktadır. Son yıllarda TUNEL yöntemi ile DNA fragmantasyonu olan spermiyumları saptayarak varikosel ameliyatının DNA kırıkları üzerindeki etkisini araştıran birçok çalışma yapılmıştır (Durmaz 2010, Türk ve ark. 2006).

Semen kalitesi, spermiyumların semen içerisindeki sayı, hareket ve morfolojisine göre değerlendirilir. Spermiyum morfolojisi, erkeğin çocuk sahibi olabilme potansiyelini en iyi biçimde gösteren kriterlerden biridir. Normal morfolojili spermiyum sayısı infertillere göre fertillerde daha yüksek olarak bulunmuştur. "Spermiyum morfolojisi erkek fertilitesinin değerlendirilmesinde önemli bir faktördür. İnfertilite olgularında, en önemli patolojik özelliklerinden biri normal semen morfolojisinden sapmadır" (Boğatekin 2011).

Bir spermiyum hücresinin oluşumu yaklaşık 90 günde tamamlandığı için, varikosel ameliyatından ortalama 3 ay sonra spermiyum hücreleri düzelmeye başlar (Çayan ve Kadıoğlu 2005). Bu sebeple çalışmamızda, varikosel teşhisi konulmuş, ameliyatına karar verilmiş ve varikosel ameliyatından sonra 3. ay 6. ay ve 12. ayda çalışmamıza dahil edilen hastaların spermiyumları incelendi. Şu ana kadar varikosel ve infertilite şikayeti ile ilgili yapılan çalışmalara baktığımızda varikoselin spermiyumların sayı, hareket ve morfolojik yapısını olumsuz etkilediği ile ilgili bir çok araştırma mevcuttur. Ameliyat öncesindeki semen analizi ile ameliyat sonrasındaki semen analizi karşılaştırıldığında sayı, hareket ve morfolojik yapı bakımından istatistiksel anlamda önemli bir düzelmenin olduğu şu ana kadar yapılan birçok araştırmanın ortak sonucu olduğunu görmekteyiz. Ama semen analizindeki bu düzelmenin neden kaynaklandığı ile ilgili literatürde herhangi bir çalışma yer almamaktadır. Yani spermiyumların morfolojik yapısı, hareketi ve sayısı hakkındaki çalışmalar dışında ne spermiyumların pre-op, post-op (3. ay, 6. ay, 12. ay) DNA fregmantasyonları, ne de elektron mikroskobu olarak membran bütünlüğü ve organel yapısı detaylı olarak incelenmemiştir.

Bu çalışmada, Diyarbakır Selahaddin Eyyubi Devlet Hastanesi Üroloji polikliniğine infertilite, kasık ağrısı, testislerde şişme ve sarkma gibi sorunlarla gelen ve varikosel tanısı konan hastalardan ameliyat öncesi ve sonrası alınan olan semen örneklerindeki spermiyumların sayı, hareket, morfoloji, ultrastrüktürel yapı ve DNA fragmentasyonları incelenerek varikosel ameliyatının spermiyum parametrelerine olan etkisi ve sağlayacağı yararların belirlenmesi amaçlanmıştır**.**

1.GİRİŞ

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Testisler

2.1.1. Testis Embriyolojisi

Gonadlar başlangıçta, genital veya gonadal şişkinlikler denilen kölomik epitelin proliferasyonu ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşmuş uzunlamasına şişlikler şeklinde görülür. Germ hücreleri gelişimin 6. haftasına kadar genital kıvrımlar içinde belirmez. İnsan embriyosunda, primordiyal germ hücreleri gelişimin erken evrelerinde yolk kesesi duvarında belirir. 5. haftanın başında primitif gonadlara ulaşır ve 6. haftada da genital kıvrımları işgal eder. Kıvrımlara gelemediği taktirde, gonadlar gelişemez. Gonadların over veya testise farklılaşmasında, primordiyal germ hücrelerinin belirleyici etkisi vardır (Sadler 2005).

Primordiyal germ hücreleri oldukça geniştir. Sferikal sex hücreleri, 4. hafta başında umbilikal kese (vitellüs veya yolk kesesi) duvarında allantoisin başlangıcına yakın yerde, endodermal hücrelerin arasında ortaya çıkarlar. Embriyonun katlanmaları esnasında, vitellus kesesinin dorsal parçası embriyo içerisine dahil olur. 6. hafta sonrasında primordiyal germ hücreleri altındaki mezenşim içerisine geçip gonadal kordonlara dahil olurlar. Primordiyal germ hücrelerinin göçü, *stella, fragilis* ve *BMP-4* genleri tarafından düzenlenmektedir (Sadler 2005).

Kromozomal ve genetik cinsiyet, X kromozomuna sahip oositin X veya Y kromozomu taşıyan spermiyum ile döllenmesine bağlıdır. 7. haftadan önce gonadların görünümü her iki cinste de birbiriyle benzerlik gösterdiğinden dolayı "farklanmamış gonadlar" olarak adlandırılırlar. Erkek fenotipinin gelişimi için bir Y kromozomu gereklidir. Testiküler farklılaşmayı sağlayan testis belirleyici faktör (TBF), Y kromozomunun kısa kolu tarafından düzenlenir. Bu faktörün etkisi ile primer sex kordonları seminifer tübüllere farklılaşırlar. Farklanmamış gonad dışta yer alan bir medulladan meydana gelmektedir. Eğer embriyo XX sex kromozomuna sahip ise, farklanmamış gonadın korteksi overe farklılaşır ve medullası geriler. Embriyo, XY sex kromozomuna sahip ise, medulla testise farklanır ve korteks gerileyerek dejenere olur. TBF, gonadal kordonları uyararak, onların farklanmamış gonadın medulla derinlerine doğru uzamasına sebep olur ve kordonlar burada dallanıp birbirleri ile anastomoz yaparlar. Böylece rete testis oluşmuş olur. "Gonadal kordonların ''seminiferöz

kordonlar'' yüzey epiteli ile olan bağlantıları tunika albuginea geliştikten sonra kaybolur. Kalın bir fibröz kapsül olan tunika albuginea'nın gelişimi testiküler gelişim için önemlidir. Seminifer kordonlar, seminifer tübüllere, tubuli rekti ve rete testise farklanırlar" (Moore ve Persaud 2009).

Seminifer tübüller, interstisyel hücreleri (leydig hücreleri) oluşturan mezenşimden ayrılırlar. 8. haftadan itibaren leydig hücreleri, ''testosteron ve androstenedione'' salgılamaya başlarlar. Bu androjenik hormonlar mezonefrik kanalların ve dış genital organlarının farklılaşması için uyarıcıdırlar. Testosteron üretimini insan koryonik gonadotripin (HCG) hormonu uyarır ve bu hormonun miktarı 2-3 aylık zaman diliminde en yüksek değerine ulaşır. Fetal testisler, testosteron dışında antimüllerian hormon (AMH) adı verilen bir hormonu da salgılamaktadır. Bu hormon, sertoli hücreleri tarafından salgılanır ve hormonun salgılanması ergenlik dönemine kadar devam eder. 8. haftada, fetal testisler tarafından üretilen testosteronun etkisi ile her bir mezonefrik kanalın proksimal kısımları kıvrıntılı bir hal alır ve epididimis oluşur. Mezonefroz ortadan kalktığında, mezonefrik kanallardan bazıları duktus efferentesi meydana getirirler. Duktus efferentes daha sonra duktus epididimis'e açılır. Epididimisin uç kısmındaki, mezonefrik kanalda duktus deferens meydana gelir. Yaklaşık 26. haftada testisler karın arka duvarından skrotuma inerler. Bu değişme, pelvis genişlemesi ve embriyo bedeninin uzaması ile birlikte meydana gelir. Testisler, karın boşluğu ve skrotum arasında dar bir geçitle geçiş yeri olan inguinal kanaldan geçerek skrotuma inerler (Moore ve Persaud 2009, Ross ve Pawlina 2006).

2.1.2. Testis Anatomisi ve Fizyolojisi

Testisler; skrotum içinde spermatik kord ile asılı duran ve birbirinden septum skroti ile ayrılmış bir çift bileşik tübüler bezlerdir. Testislerin bu anatomik özellikleri normal vücut ısısına göre 2-3 °C daha serin bir ortamda olmalarını sağlar. Bu düşük sıcaklık, testisin normal fonksiyonu ve spermatogenez için 34-35 °C'lik ısı gerekli olduğundan hayati önem taşır. Testisin vücut boşluğu dışında bulunmasına ek olarak, skrotumun yüzeyinde gerçekleşen terleme ve terin buharlaşması, testislerin daha soğuk bir ortamda kalmalarını sağlar (Kierszenbaum 2006).

Testisi besleyen damarların özel düzeni, testisin düşük sıcaklığının sağlanmasında eşit ölçüde öneme sahiptir. Skrotumdan aşağıya uzanan testiküler

arterler, testisten yukarıya uzanan ve pleksus pampiniformisi oluşturan karmaşık ven ağı ile çevrilidir. Pleksus pampiniformis ile testise geri dönen kan, testise doğru akan testiküler arter kanından daha soğuktur. Karşı akım, ısı değişim mekanizması ile arteriyal kan testise girmeden önce venöz kan tarafından soğutulur ve testislerde düşük sıcaklığın korunmasına yardımcı olur (Eroschenko 2013).

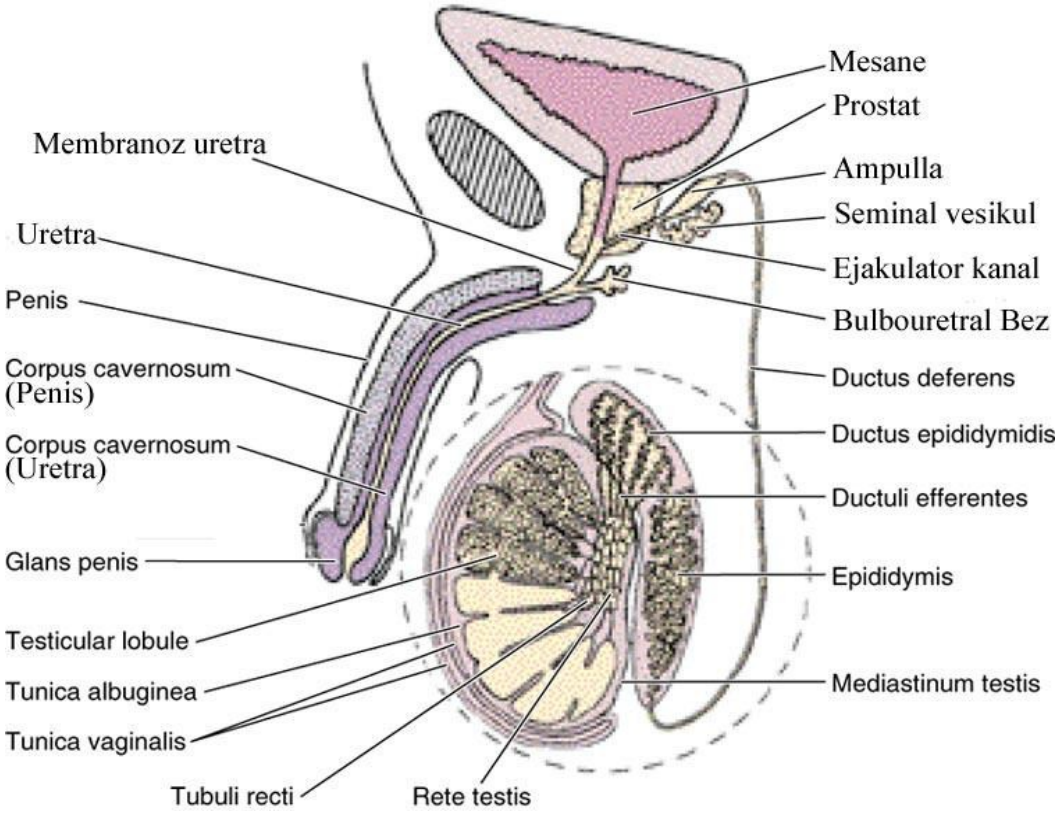
Testislerin biçimleri iki yandan biraz basık ve ovaldır, dış ve içte iki yüzü, ön ve arkada iki kenarı, üst ve altta iki ucu vardır. Her bir testisin uzunluğu 3,5-4,5 cm, genişliği 3-4 cm olup, ortalama ağırlığı 10-14 gr'dır. Uzun eksen vertikale yakın, fakat öne doğru biraz eğiktir. Testisin ön kenarı ile yan yüzleri çift yapraklı bir seröz zar olan tunika vaginalis testis ile örtülüdür (Şekil 2.1). Tunika vaginalis testisin iç yaprağı (lamina visseralis) ile dış yaprağı (lamina parietalis) arasında, periton boşluğuna bağlı bir seröz boşluk (kavitas serosa) bulunur (Tekelioğlu 2002).

"Testislerin ekzokrin fonksiyonu; embriyonal gelişim, eşeysel olgunlaşma ve olgun spermiyumların üretimi, endokrin fonksiyonu ise testosteron üretiminden sorumlu olan bir çift organdır. Embriyonal dönemde erkek fetusun normal gelişimi için testislerden salgılanan androjenler gereklidir. Ergenlik döneminden itibaren testislerden salgılanan testosteron hormonu spermiyum üretiminin başlamasını ve ikincil eşey karakterlerinin gelişimini sağlar" (Eroschenko 2013, Eşrefoğlu 2004). Erişkinlerde de spermiyum üretiminin devam etmesi, sekonder sex karakterlerinin korunması ve yardımcı bezlerin fonksiyonları testise bağımlıdır (Eşrefoğlu 2004).

2.1.3. Testis Histolojisi

Testisler, dıştan içe doğru üç tabakalı bir kapsül ile kuşatılmıştır. Kapsülün dış tabakası tunika vajinalis, orta tabakası tunika albuginea ve iç tabakası tunika vasküloza olarak isimlendirilir. Kapsülün en kalın ve belirgin tabakası yoğun bir fibroelastik bağ dokusu olan tunika albugineadır. Tunika albugineanın bağ dokusu, testisin arka yüzünde, yani rete testisin olduğu yerde kalınlaşarak ve her bir testis içerisine doğru uzanarak mediastinum testisi oluşturur (Şekil 2.2). Kapsülden testis içine doğru uzanan ince bağ dokusu uzantıları mediastinum testisten içeriye doğru uzanır ve testisleri her biri 1-4 adet olan sarmal yapılı seminifer tübüller içeren ve insanda sayıları 250-300'e ulaşan lobüllere (testiküler lopçuklar) ayırır (Eroschenko 2013). Testis lobülleri; kan

damarlarını, sinirleri ve leydig hücrelerini içeren gevşek bağ dokusu ile sarılı seminifer tübüllerden oluşur (Eşrefoğlu 2004).



Şekil 2. 1. Erkek genital sistemi; Testis ve epipdidimisin genital sitemdeki diğer bölümlerden farklılıkları ve testiküler lobüllerin bağlantıları gösterilmektedir (Junqueira ve Carneiro 2006, Şahin 2010)

2.1.3.1. Seminifer Tübüller

Seminifer tübüller, kıvrımlı bir yapıya sahip kanalcıklardan oluşur ve kör bir uçla başlarlar. Testislerden ayrılan bağ dokusu uzantıları testis lobüllerinin içerisine girerek bu kanalların etrafını çevreler. Bu bağ dokusu içerisinde interstisyel hücreler (ara hücreler) bulunur. "Bir testiste yaklaşık 250 lobül ve her bir lobülde de 1-4 adet seminifer tübül bulunur. Bundan dolayı bir testiste yaklaşık 250-1000 adet seminifer tübül olduğu tahmin edilmektedir" (Ross ve ark. 2003, Junqueıra ve Carneıro 2006).

Seminifer tübüller yaklaşık 30-80 cm uzunluğunda, 150-200 µm genişliğinde, iki ucu U biçiminde olan ve rete testisle sonlanan çok kıvrıntılı kanalcıklardır. Etrafı zengin kapillerle çevirli olup epitel ve altında tip I kollagen ile fibroblastların bulunduğu bağ dokusundan (tunika propriya) oluşurlar. Kıvrımlı bir yapıya sahip

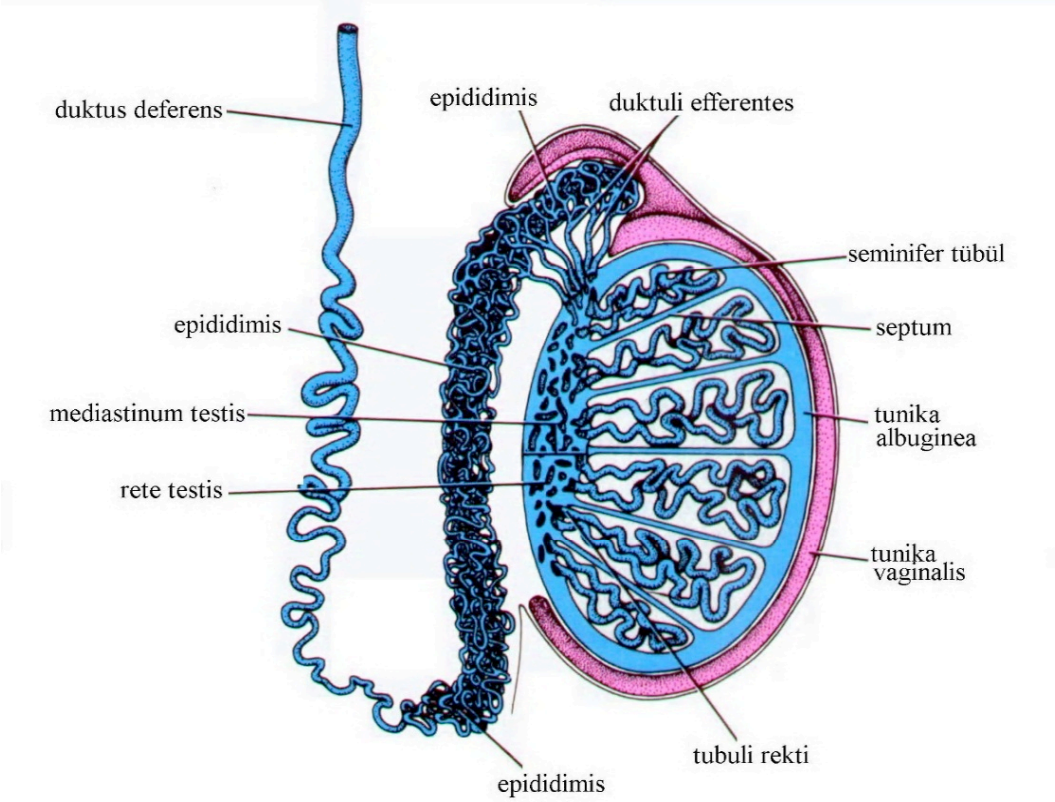
olan bu kanallar, sayıları 25-35 adet olan tubuli seminiferi rektiyi oluşturular. Tubuli seminiferi rekti, rete testisi, rete testisi ise duktus efferentes testisi oluşturur. Duktus efferentes, tunika albuginea'yı delerek epididimise geçer. Daha sonra spermatik kanallar; duktus epididimis, duktus deferens ve duktus ejakulatoryus olarak devam eder (Ross ve ark. 2003, Tutşi 2009) (Şekil 2.2).

Seminifer tübüller çok sıralı bir epitel tabakası ile döşelidirler. Seminifer epiteli bir bazal membran ve bağ dokusu "kollajen lifler, fibroblastlar ve miyoid hücrelerden oluşan bir duvarla" çevrelenmiştir. "Miyoid hücreler hareketsiz spermiyumları rete testise ilerleten ritmik kasılma hareketleri yaparlar. Spermiyumlar epididimal kanaldan geçtikten sonra hareket yeteneklerini kazanırlar" (Kierszenbaum 2006). Seminifer tübülleri oluşturan bu epitele tohum epiteli (epitelyum seminalis) denir. Tohum epiteli ince bir bazal membran üzerine oturur (Moore ve Dalley 1995).

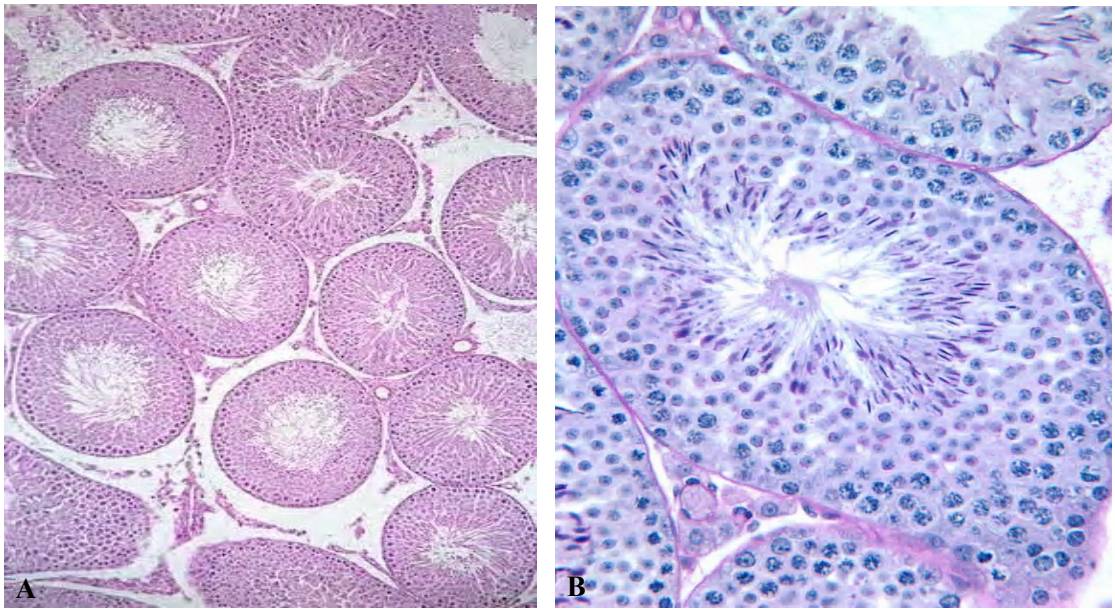
Seminifer tübül iki belirgin hücre populasyonunu içeren özelleşmiş seminifer epitel ve merkezi bir lümenden oluşur. Seminifer tübül lümeni; çoğalan spermatogenik (germ) seri hücreleri ve çoğalmayan sertoli hücrelerinden (destek hücreleri) oluşur. Destek hücreleri tek tiptir ve somatik sertoli hücreleri olarak bilinirler (Gartner ve Hiatt 2001, Eşrefoğlu 2004).

Spermatogenik hücreler, seminifer tübül duvarını döşeyen epiteldeki hücrelerin çoğunluğunu oluşturur. Bunlar belirli bir düzenle birbirini izleyen hücre jenerasyonlarından ibaret birçok sıralar halinde düzenlenmiştir. Hücreler olgunlaştıkça kanalcığın periferinden lümenine doğru yer değiştirdikleri için, hücre jenerasyonlarının en genci bazal membranın hemen üzerindedir ve lümene doğru gelişmekte olan hücreler yer alır. Sonuçta, seminifer tübül lümeninde olgun spermatozoonlar bulunur (Gartner ve Hiatt 2001, Koyuncu 2008).

Spermatogenik hücreler birbiri üzerine sıralanmış farklı gelişim aşamasında olan hücrelerdir (Eşrefoğlu 2004). Bu hücre grupları olan spermatogonia ve primer spermatositlerden itibaren bazalden çoğalarak yavaş yavaş yukarıya lümene hareket ederken farklılaşır ve sonuçta spermatozoonlara dönüşürler. Yani bazal bölümde spermatogonia ve primer spermatositler yer alırken; sekonder spermatositler, spermatidler ve spermatozoonlar ise adluminal (lümende) bölümde yer alırlar (Şekil 2.3). Spermatogenik hücrelerin biçimleri farklı olduğundan tübül lümeni düzensiz görünümlüdür (WHO 2002, Eşrefoğlu 2004).



Şekil 2.2. Testis içi ve testis dışı erkek genital sisteme ait kanallar (Tekelioğlu 2002, Koyuncu 2008)

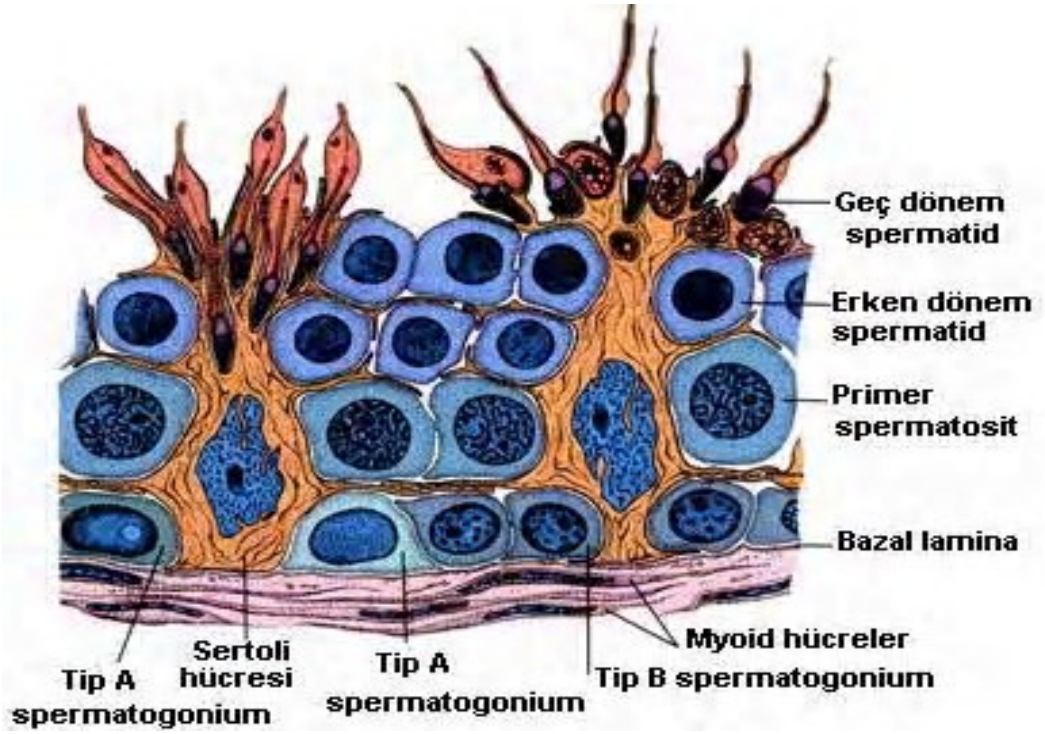


Şekil 2.3. Testiste seminifer tübüller A: Genel görünüm; B: Bir semininfer tübülün enine kesiti (Gartner ve Hiatt 2001, Koyuncu 2008)

2.1.3.2. Sertoli Hücreleri

Sertoli hücreleri, bazal laminadan seminifer tübül bazal lümenine doğru uzanan genellikle prizmatik hücrelerdir. Spermatogenik hücreleri sararak onların aralarındaki boşlukları apikal ve lateral uzantılarla doldururlar. (Kierszenbaum 2006, Şeftalioğlu 1998). Yan yüzleri spermatogenik hücrelere (tohum hücrelerine) uyum sağlayacak şekilde girintili çıkıntılıdır (Şekil 2.4). Enine kesitlerde zor seçilirler. Eozinofilik sitoplazmaları, bazala yerleşmiş bir veya iki çentikli oval çekirdekleri vardır ve çekirdekçik belirgindir (Erkoçak 1990, Tekelioğlu 2002). Sertoli hücreleri iyi bir hücre iskeletine (vimentin, aktin, mikrotübüller) sahiptir ve spermatogenik hücrelere göre daha dayanıklıdırlar. Sertoli hücrelerinin mitotik aktiviteleri olmadığından çoğalamazlar (Kierszenbaum 2006).

Sertoli hücreleri ergenlik dönemine kadar seminifer tübüllerin ana hücre tipidir. Ergenlik döneminden sonra, spermatogenik hücrelerin sayısında artış olacağından seminifer tübüllerinde oran itibariyle azalmaktadırlar. Yaş ilerleyince erkeklerde spermatogenik hücrelerin üretimi azalacağından, sertoli hücreleri tekrar seminifer epitelin dominant hücresi haline gelirler (Kierszenbaum 2006).



Şekil 2.4. Seminifer tübülde yer alan spermatogenik hücreler ve bunların sertoli hücreleri ile ilişkileri (Gartner ve Hiatt 2001, Tutşi 2009)

Sertoli Hücrelerinin Görevleri

- Sertoli hücreleri testislerin destek hücreleridir ve seminifer tübüller içerisinde spermatogenik hücreler arasında yerleşmişlerdir. Bu hücreler testislerde birçok önemli görevi yerine getirirler.
- Komşu sertoli hücrelerinin uzantıları birbirlerine sıkı bağlantılarla bağlanmıştır. Bu bağlantılar kan-testis bariyerini oluştururken epitel tabakayı bölmelere ayırır. Sertoli hücreleri bu bağlantılarla immünolojik koruma sağlarlar.
- Gelişen spermatidlerin korunmasında ve beslenmesinde görev alır ve bu hücrelere mekanik destek vererek hücrelerin lümene doğru hareketine aktif olarak katılırlar.
- Gelişen spermatidlerin fazla sitoplazmalarını (artık cisimler) ve bozulan germ hücrelerini fagosite ederler.
- Spermiyumların boşaltım kanalları içinde taşınması ve beslenmesi için gerekli olan fruktozca zengin testiküler sıvıyı salgılarlar.
- Testosterona bağlanarak, seminifer tübül lümeni içerisinde androjen bağlayıcı protein (ABP) üretimini ve salgılanmasını sağlarlar.
- Embriyogenez sırasında erkekte müller kanalının gelişimini baskılayan anti-müllerian hormonunun (AMH) üretimini ve salgılanmasını sağlarlar.
- Hipofiz bezinden FSH (Folikül Stimülan Hormonu) salgılanmasını düzenleyen inhibinin üretiminde ve salgılanmasında görevlidirler (Erkoçak 1990, Tekelioğlu 2002, Eroschenko 2013).

2.1.3.3. Spermatogenez

Spermatogenezis bir gelişme, özelleşme olgusu olup, farklanmamış spermatogoniyum hücrelerinin, ileri derecede özelleşmiş spermiyumlara dönüşmesi olayıdır (Ross ve ark. 2003).

"İnsanda bir spermatogoniyumdan olgun bir spermiyum oluşana kadar geçen süre yaklaşık 64-74 gündür" (Ross ve ark. 2003, Gartner ve Hıatt 1997). "Spermatogenezis ergenlik döneminden itibaren testosteron etkisiyle başlayıp ileri yaşlara kadar devam eder. Fakat 40 yaşından sonra bazı tübüllerde atrofi meydana

geldiği için spermatogenezis göstermeyen tübüllerin sayısı artmaya başlar. Ancak fonksiyonlarını yerine getiren tübüller, spermatogenezisi devam ettirdiklerinden spermatogenezis tamamen bitmez, yalnızca azalma gözlenir" (Tutşi 2009).

Spermatogenik hücreler seminifer tübül epitelinde bazaldan lümene doğru bir sıra halinde dizilirler. Bu diziliş basitten gelişmişliğe doğru spermatogoniyum, primer spermatosit, sekonder spermatosit, spermatid ve spermatozoon şeklindedir (Özdamar ve Çetin 2002, Koyuncu 2008) (Şekil 2.3, 2.5). Spermatogoniyumdan spermatozoon oluşumuna kadar erkek germ hücrelerinin gösterdiği histolojik sürece spermatogenez olarak adlandırılır. Spermatogenez, spermatositogenez, mayoz bölünme ve spermiyogenez olmak üzere üç evreye ayrılır (Gartner ve Hiatt 2001, Koyuncu 2008). Spermatositogenez spermatogoniyumların mitozla çoğalması ve primer spermatosite farklılaşması olayıdır. Mayoz bölünme sürecinde, primer spermatositin birinci mayoz bölünmeyi geçirmesiyle sekonder spermatosit; sekonder spermatositin de ikinci mayoz bölünmeyi geçirmesiyle spermatidler meydana gelir. Spermiyogenez, spermatidlerden spermatozoonların biçimlenmesi olayıdır. Hücreler birbirleriyle spermatogoniyumdan itibaren sitoplazma köprüleriyle bağlantılıdırlar. Bu sitoplazma devamlılığı farklılaşan spermatozoonun lümene atılmasına kadar devam eder. Böylece spermatogenik hücreler birbirleriyle iletişim halinde kalır ve gelişme de eş zamanlılık görülür (Gartner ve Hiatt 2001, Koyuncu 2008).

Spermatogoniyumlar

Spermatogoniyumlar seminifer tübülün bazal laminası ile direkt ilişkide olan, ışık mikroskobunda nukleusları belirgin olarak görünen, yaklaşık 12 μm çapında diploid (2n) germinal hücrelerdir. Ergenlik döneminden önce, seminifer tübülün epiteli az sayıda spermatogonia, çok sayıda sertoli hücresi içerirken, Ergenlik döneminden sonra hipotalamustan ve hipofizden salgılanan hormonların etkisiyle spermatogoniyumlar mitoz bölünme geçirerek tip A spermatogoniyumları oluştururlar (WHO 1992, Ross ve ark. 2003). "Tip A spermatogoniyumlar yaşam boyu devam eden spermatogeneziste rezerv kök hücre olarak görev alırlar. Tip A spermatogoniyum hücrelerinin bir bölümü mitoz bölünme geçirerek tip B spermatogoniyum hücrelerini oluştururlar. Tip B'ler ise mitoz bölünmeler geçirerek

primer spermatositleri meydana getirirler" (Makler 1980, Kadıoğlu ve ark. 2004, Tutşi 2009).

Koyu tip A spermatogoniyumlar; çekirdekleri heterokromatik bir yapıya sahip olup, seminifer tübülün bazal laminası üzerine oturmuş yassı çekirdekli hücrelerdir (Ross ve ark. 2003, Tutşi 2009). Kromatin içeriğine göre koyu ve açık olarak ayrılmakta olup, seminifer tübül epitelin kök ya da rezerv hücreleri olarak kabul edilmektedirler. "Hücre döngüsüne girmezler. Mitozla çoğalan bu hücreler açık tip A spermatogoniyumları meydana getirirler" (Ross ve ark. 2003, Gartner ve Hıatt 1997).

Açık tip A spermatogoniyumlar; koyu formları kadar açık formları da vardır. Açık Tip A spermatogoniyumlar koyu formlara benzerler, fakat çekirdekçikleri ökromatin tiptedir ve açık görüntü verirler. Testosteronun etkisi altında mitozla çoğalırlar. Hem sayılarını artırırlar hem de Tip B spermatogoniyumu oluştururlar (Şermin 1990).

Tip B spermatogoniyumlar; açık tip A spermatogoniyumlara benzerler, yuvarlak çekirdeğe sahiptirler. Bu hücreler mitoz bölünme geçirerek primer spermatositleri meydana getirirler (Gartner ve Hıatt 1997, Tutşi 2009).

Primer Spermatositler; spermatogoniyumların mitoz bölünmesiyle oluşurlar. Diploid sayıda kromozom ve 2n DNA'ya sahipler. Mayoz bölünmenin profaz safhasında izlenen kromatin yoğunlaşması sonucunda bu hücrelerin nukleuslarında kromatin iplikçikleri görülür. Bu şekilde gözlenen nukleusları ve geniş sitoplazmaları ile primer spermatositler kolayca tanınırlar (Eşrefoğlu 2004, Koyuncu 2008).

Sekonder Spermatositler; Primer spermatositlerin birinci mayoz bölünmesi sonucunda sekonder spermatositler meydana gelir. Haploid sayıda kromozom içerirler. Fakat DNA içeriği 2n'dir. Sekonder spermatositler çok geçmeden ikinci mayoz bölünmeye girdikleri için testis kesitlerinde bu hücrelere az rastlanır. (Şeftalioğlu 1998, Koyuncu 2008). Sekonder spermatositler primer spermatositlere oranla daha küçük hücrelerdir (Gartner ve Hıatt 1997).

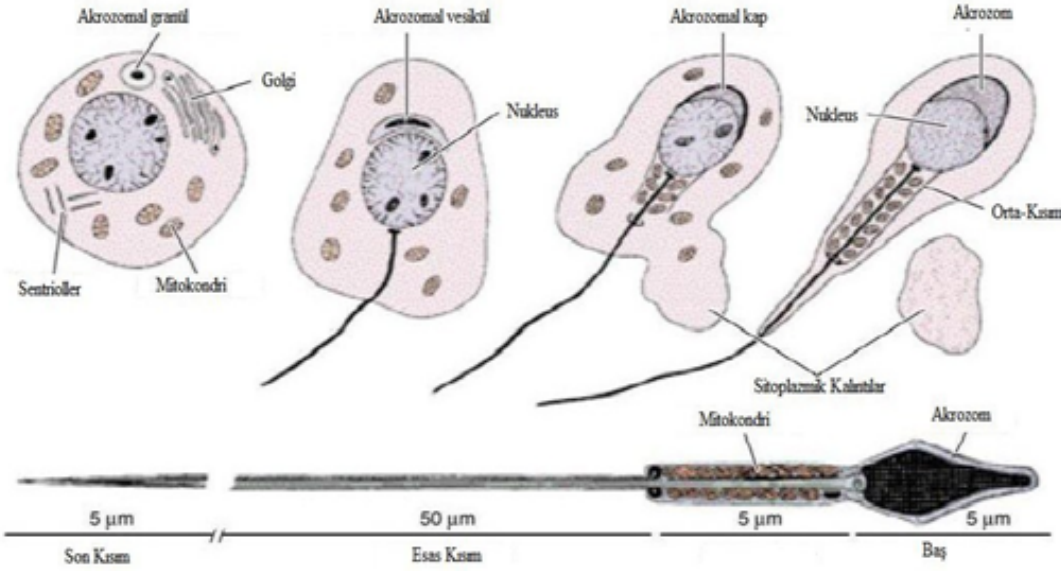
Spermatidler; Sekonder spermatositlerin ikinci mayoz bölünmesi sonucunda, primer veya sekonder spermatositlerden daha küçük olan dört adet spermatid adı verilen hücre oluşur. Bu hücreler (n) sayıda kromozom ve (n) sayıda DNA miktarına sahip olup

8 µm çapından küçük ve yuvarlak hücrelerdir. Spermatidler seminifer tübülün adlüminal kompartmanında gruplar halinde bulunurlar ve destekleyici sertoli hücrelerinin apikal kısımlarında ve lateral bölümlerinde plazmalemmanın yapmış olduğu girintilere yerleşmişlerdir. Spermatidler, spermiyogenez sonunda olgun germ hücreleri olan spermatozoonlara dönüşürler (Gartner ve Hıatt 1997, Şeftalioğlu 1998, Koyuncu 2008)

Spermiyogenezis

Spermiyogenezis, bir dönüşüm, farklılaşma olayı olup haploid spermatidlerin olgun spermiyuma dönüşmesidir (Ross ve ark. 2003, Tutşi 2009). "İnsanlarda spermiyogenezis 16-22 gün sürer. Bu dönüşüm olayında spermatid de; akrozom oluşması, kuyruk gelişmesi, çekirdek şekil ve büyüklüğünün değişmesi ile birlikte kromatin yoğunlaşması ve artık spermatid sitoplazmasının atılması gibi bir takım değişiklikler görülür" (Tutşi 2009) (Şekil 2.5).

Genç spermatidler oval çekirdekli, yaklaşık 60-65 µm çapında yuvarlak veya poligonal hücrelerdir. Sitoplazmalarında iyi gelişmiş bir golgi kompleksi, çok sayıda mitokondri, bir çift sentriol ve düzensiz şekilli bazofilik kromatid cisim bulunur. Spermiyogenezis sırasında bu organellerde değişiklikler gözlenir (Tutşi 2009).



Şekil 2.5. Spermiyogenez sırasında bir spermatidin spermatozoona dönüşüm aşamaları ve olgun bir spermiyumun şematik görünümü (Junqueira ve Carneiro 2006, Cengiz 2010)

Akrozom Oluşması

Akrozom gelişmesi; Golgi evresi, şapka evresi, akrozomal evre ve olgunlaşma evresi olmak üzere dört evreden oluşur. Spermiyogeneziste ilk farklılaşma golgi kompleksinde, PAS (Peryodik Asit Shift) pozitif proakrozom granülleri ile başlar (Şeftalioğlu 1998). Sonra bu granüller, büyük bir vezikül içinde toplanarak akrozom vezikülünü oluştururlar. (Ross ve ark. 2003, Tutşi 2009). Akrozom vezikülü spermatid çekirdeğinin ön kutbuna doğru hareket ederek çekirdek zarına yapışır. Akrozomun bu yapışma alanı, ileride spermatid çekirdeğinin uç kısmını oluşturur. Akrozomun vezikül zarı, çekirdek dış zarına yapıştığı bölgede, çekirdeğin % 40-70'lik kısmını kaplayacak şekilde yayılır ve çekirdeğin ön kısmını saran bir başlık oluşturur (Şekil 2.5). Çekirdeğin ön kısmında yerleşmiş olan akrozom granülü de başlık içinde yayılır ve ikisi birlikte akrozomu oluştururlar (Şeftalioğlu 1998, Tutşi 2009).

Kuyruk Gelişmesi

Akrozom meydana gelirken bir çift sentriol, spermiyum çekirdeğinin arka kutbuna hareket ederek proksimal ve distal sentriolleri meydana getirir. Distal sentriol bir bazal cisim gibi işlev görererek; spermatidin kuyruğunda ya flagellumunun merkezindeki aksonemi ya da merkez fibrillerini meydana getirir. Proksimal sentriol ise çekirdeğin arka kutbundaki derin bir yarığa gömülür ve spermatidin boyun kısmının yapısında yer alır (Şeftalioğlu 1998, Tutşi 2009).

"Flagellumun aksonemi gelişmesiyle beraber, üzerine bazı ek yapılar eklenir ve kuyruk zamanla ergin biçimini kazanır. Aksonem üzerine eklenen yapılar; 9 adet kalın, koyu dış fibriller, spermiyumun çekirdeği ile kuyruğunu birleştiren bağlantı parçası ve iki kolon ve bağlayıcı çubuktan oluşan fibröz tabakadan oluşur" (Şeftalioğlu 1998).

Çekirdek Şekil ve Büyüklüğünün Değişmesi ile Birlikte Kromatin Yoğunlaşması

Kuyruk gelişirken spermatid sitoplazmasında mikrotübüller, çekirdek etrafında manşet adı verilen bir yapıyı oluştururlar. Bu yapı, akrozomun posterior kenarında, hücre zarının etrafından başlayarak hücrenin arka kutbuna doğru uzanır. Manşetin oluşması ile beraber; çekirdek, akrozom ile birlikte spermatidin hücre zarına doğru hareket eder, yassılaşır, uzar ve kromatin sıkılaşır. Buna bağlı olarak spermatid uzamaya

başlar. Somatik histonlar (H1, H2A, H2B, H4), arjinin ve lizince zengin protaminlerle yer değiştirdiğinde nüklear yoğunlaşma oluşur (Kierszenbaum 2006, Şeftalioğlu 1998, Tutşi 2009). "Bu somatik histonların protaminlere dönüşümünden sonra, nükleozomlar kaybolur ve çekirdek materyalini yoğunlaştırmak için düz kromatin lifler yan yana dizilirler. Protamin proteinleri spermatid kromatinin kondensasyonunda önemli rol oynarlar" (Hofmann ve Hilsher 1991, Tutşi 2009).

Artık Spermatid Sitoplazmasının Atılması

Spermatid sitoplazması, ileride oluşacak spermiyum şekline uyarak onu dıştan sarar. Bu sırada, manşet kaybolur ve sitoplazmasındaki mitokondriler, flagellumun proksimal kısmının çevresinde heliks benzeri bir düzen oluştururlar. Lipidleri ve organelleri içeren spermatid sitoplazma artığı, spermiyumlar seminifer tübül lümenine salınırlarken spermiyumlardan ayrılır ve artık cisim olarak sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir. Farklılaşma işlemi sona eren spermiyumun seminifer tübül lümenine salınması olayına spermiyogenezis adı verilir. Yeni oluşan bu spermiyum hareketsiz olup henüz fertilizasyon yeteneğine sahip değildir (Gartner ve Hıatt 1997). "Meydana gelen spermiyumlar epididimise, sertoli hücreleri ve rete testis tarafından üretilen bir sıvı aracılığı ile aktarılırlar "(Şeftalioğlu 1998).

Spermiyum epididimise geldiğinde hareketsizdir, zamanla olgunlaşır ve fertilizasyon kapasitesi artar. Spermiyum olgunlaşıncaya kadar epididimis içindeki yolculuğu en az 10 gün en fazla 4-5 hafta olabilir. Bu sürede epididimisin lümen duvarından beslenir. Olgun hale geldiğinde duktus deferense, buradan da duktus ejakultoryusa ulaşır. Spermiyum epididimis ve duktus deferenste yaklaşık 1 ay fertil kalabilir. Bu sürede ejakulasyon olmazsa dejenere olup emilir. (Tutşi 2009, Aydos 2009).

2.1.3.4. Spermiyumun Ultrstrüktürel Yapısı

Spermiyum, kompleks fonksiyonlarını yerine getirebilmek için oldukça özelleşmiş bir morfolojiye sahiptir. Temel olarak iki kısımdan oluşur; enerji üretilmesinden ve hareketten sorumlu olan boyun ve kuyruk ile DNA'yı içeren ve oositin zona pellusidasını tanıyarak sperm-oosit birleşmesini sağlayan baş bölgesinden

oluşur. Bu iki temel bölge de kendi içlerinde fonksiyonlarına göre alt bölgelere ayrılmışlardır (Satı 2005).

Baş: Spermiyum başının fonksiyonları; DNA'yı içermesi, koruması ve oositin döllenmesi (fertilizasyon) sırasında DNA içeriğini oosite aktarmasıdır. Bunu gerçekleştirmek için; a) DNA erkek pronukleusunun oluşmasına kadar stabil bir formda tutulmalıdır, b) Spermiyum oositin etrafındaki tabakaları geçmeli ve oosite ulaşmalıdır, c) Spermiyum ve oosit tanınması için türe özgü bir mekânizma olmalıdır, d) Oosit membranı ile füzyon yeteneğinde olmalıdır. Spermiyum başı bu fonksiyonlarını gerçekleştirmek için az sayıda organele sahiptir, bu organeller nukleus dışında baş bölgesinde bulunan akrozom ve postakrozomal kılıftır. Spermiyum başının temel organizasyonu bütün memeli spermiyumlarında ortaktır. Ancak hem nukleusun hem de akrozomun dolayısıyla spermiyum başının şekli ve boyutu oldukça farklı olup türe özgüdür (Budak 2014, Satı 2005).

Akrozom: Spermiyum nukleusunun ön kısmını çevreleyen ve takke benzeri bir yapıya sahip olup membrana bağlı veziküldür. İnsan spermiyumunda akrozom göreceli olarak küçüktür ve nukleusun yaklaşık üçte ikisini kaplar. Dış akrozomal membran hemen hücre membranı altında uzanır ve akrozom şapkasının arka kenarlarında nüklear kılıfın üzerine uzanan iç akrozomal membran ile devam eder. İki membran birbirine paralel uzanır ve araları dar bir boşluk olan akrozomal matriks ile doludur. Bu matriks çok sayıda çesitli hidrolitik enzimleri içerir. Bunlardan en önemli iki tanesi ve en iyi tanımlananları "hyalüronidaz" ve "proakrozin" denilen inaktif zimojen formunda bulunan tripsin benzeri proteinaz "akrozin"dir . Bu tür zimojenlerin inaktif formları akrozomal matriksteki özgün (spesifik) inhibitörlerin (baskılayıcıların) kompleks oluşturmasıyla uyarılabilir. Akrozomal matriksteki diğer enzimler ise asit fosfataz, fosfolipazlar, N asetilglikozaminidaz ve kollajenaz'dır. Bu enzimler, fertilizasyonda önemli rol oynarlar (Budak 2014).

Boyun: Kısa olup, segmentli kolonlardan oluşan bağlantı parçası ve proksimal sentriolden meydana gelir. Başın hemen arkasında koyu bir kapitulum, gömülme çukuruna uyacak biçimde oturarak bağlantı parçasını oluşturur. Bu kapitulumdan, geriye doğru uzanan 1-1,5 μm uzunluğunda 9 segmentli kolon çıkar ve son kısımları, spermiyum kuyruğunun 9 kalın, koyu dış fibrilleri ile devam eder. Bağlantı parçasının

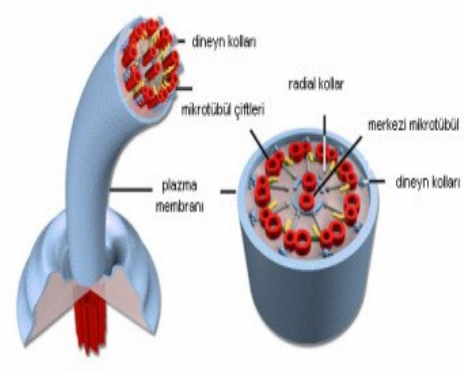
içinde kapitulum eklem yüzünün hemen altında enine yerleşmiş proksimal sentriol yapısı ergin spermatozoon bağlantı parçasında yoktur. Kuyruk aksoneminin ortadaki bir çift mikrotübülü, proksimal sentriole kadar uzanır (Şeftalioğlu 1998, Tutşi 2009).

Kuyruk: Spermiyumun kuyruk bölgesi, enerji üretim bölgesi olup, spermiyumun hareketinden sorumludur. Fertilizasyonun gerçekleşmesi için hareketlilik gerekli bir özelliktir. Spermiyum, ilk olarak ejakulasyon sırasında hareketli hale gelir ve hareketliliğe post ejakulasyonun erken dönemlerinden başlayıp, servikal mukusu, utero-tubal birleşimi geçmek ve oosite ulaşmak için ihtiyaç duyar (Satı 2005).

Spermiyun kuyruğu yaklaşık 55 μm uzunluktadır. Kuyruk boyun, orta parça, esas parça ve son (terminal) parça olmak üzere 4 ana parçadan meydana gelir. Her bir bölgenin fonksiyonuna bağlı olarak farklı yapısı vardır. Bu dört bölge, "aksonem" ve "dış yoğun fibriller" denilen iki yapı ile birlikte seyreder. Aksonem, kuyruğa hareketlilik, dış yoğun fibriller ise diklik sağlayan yapılardır (Satı 2005).

Aksonem: Aksonem ya da aksiyel filaman, spermiyumun kuyruğunun dört parçasında da mevcuttur ve kuyruğun motor parçasını oluşturur. Aksonem yapısı, tüm ökaryotik hücrelerde bulunan silya ve flagellum yapısına benzer; klasik 9+2 yapısını oluşturan iki adet merkezi mikrotübül ve eşit aralıklarla dizilmiş dokuz adet çevresel mikrotübül çiftinden oluşur (Şekil 2.6). Dokuz adet çevresel mikrotübül çifti saat yönünde birden dokuza kadar numaralanır. Bir numaralı çift, merkezdeki iki mikrotübüle dik olarak yerleşen tek tübüldür. Her bir mikrotübül çifti A subünitesi ve serbest uçları ile A subünitesine tutunan B subünitesinden oluşur. B subünitesi enine kesitte C şeklinde görülür (Pawlina ve ark. 2003, Satı 2005).

Dokuz adet çevresel mikrotübül çiftleri dairesel düzende birbirlerine nexin filamanlarıyla bağlanıp sabitlenmişlerdir. Mikrotübül çiftlerinin birbirleri üzerinden kayarak hareketini sağlayan mikrotübülle ilişkili motor proteinler iç ve dış dinein kolları şeklinde biçimlemiştir. Bu kollar, 24 nm'lik aralıklarla dizilirler ve pozisyonlarına göre "iç" ya da "dış dinein kolları" adını alırlar. Kuyruk hareketi sırasında bu kollar önemli role sahiptirler, mitokondrilerde oluşan kimyasal enerjiyi kinetik enerjiye çevirerek hareketi sağlarlar. Bu kolların temel molekülü Ca^{+2} Mg^{+} bağımlı ATP az izomer proteini olan "dinein"dir. Dinein kolları, komşu tübüllerin birbirine göreceli olarak kaymalarını sağlar ve aynı kas kasılmasında gözlenen kayan filamanlara benzer bir mekanizma ile kuyruk hareketi meydana gelir (Satı 2005).

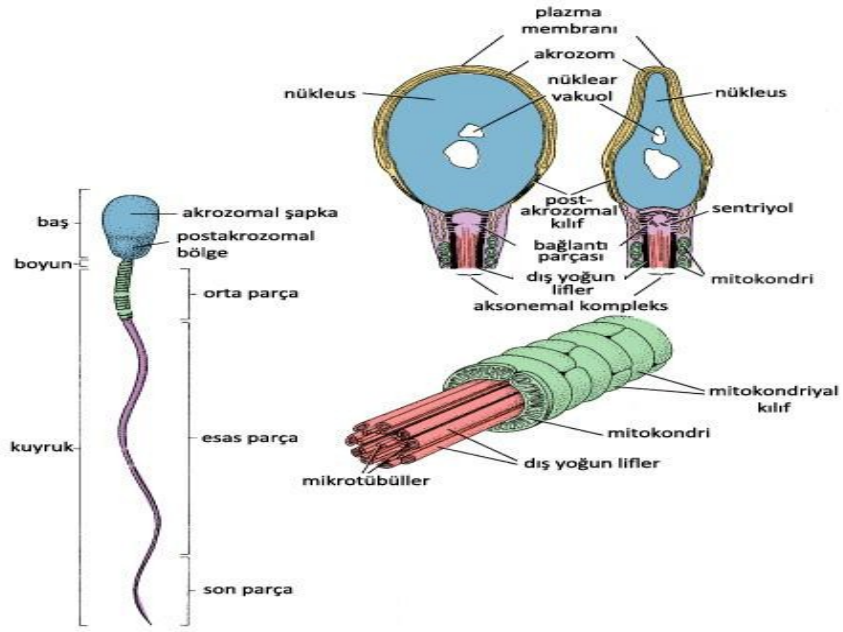


Şekil 2.6. Spermiyum kuyruğunda silia ve flagella yapısı (Michael ve Davidson 2008)

Dış Yoğun Fibriller: Kuyruğun hareketini sağlayan aksonem dışında bu hareketi düzenleyen, bazen de mikrotübüllerin kaymasından doğan harekete karşı koyup hareketin yoğunluğunu ve biçimini değiştiren ilave kılıflar vardır. Spermiyumun orta parçasında dokuzlu mikrotübül çiftlerinin dışında bu düzene uyacak bir biçimde dairesel yerleşmiş dokuz adet dış yoğun fibril bulunur (Pawlina ve ark. 2003, Satı 2005) (Şekil 2.7).

Dış yoğun fibriller, sisteinden yoğun keratin benzeri bir protein içerir ve geniş disülfit bağları ile bağlanmışlardır. Fibriller içerisinde kontraktil proteinler bulunmaz ancak ATPaz veya Ca bağlayıcı özellikleri bulunabilir. Bu durum hareket kontrolünde rolü olabileceğini gösterir. İnsan spermiyumunda maksimum kıvrılma esas parçanın dış yoğun fibrilin yoğun bölgesinde görülür. Bu sebeple, dış yoğun fibriller esnek olmayan çubuklar gibi davranır. Dış yoğun fibrillerin asimetrik dizilişi aksonemin farklı bölgelerinde zorlanmalar oluşturarak, flagellanın hareketini düzenler (Bilgiç 2007).

Orta Parça: Kuyruğun spermiyum başı ile aynı aks üzerinde olmasını sağlayan ve boynun ve orta parçanın her iki tarafında simetrik olarak dizilmiş mitokondrilerden meydana gelir. Mitokondriler, spermiyum hareketi için gerekli enerjiyi üretirler. İnsanda orta parça, yaklaşık 5-7 µm uzunluğunda, 1-1,5 µm çaptadır (Satı 2005, Tutşi 2009).



Şekil 2.7. İnsan spermiyumunun şematik gösterimi (Ross ve Romrell 2006, Şahin 2010)

Esas Parça: Bu parçada 9+2 düzenini oluşturan yapılar, fibröz tabaka ve bunun üzerinde de hücre zarı bulunur (Şekil 2.7). Fibröz kılıf, eş uzaklıktaki uzunlamasına kolonlardan çıkan dairesel iskelet tarafından oluşturulur. Elektron mikroskobunda kuyruğun enine kesiti gözlendiğinde, fibröz tabaka dorsal ve ventral uzunluğuna düzenlenmiş kolonlardan meydana gelir. Hem dış yoğun lifler, hem de fibröz kılıf, spermiyumun öne hareketi sırasında mikrotubüler kayma ve kıvrılma için sağlam bir iskelet oluşturan proteinlerden olan keratin içerir. Bu parçanın kalın koyu dış fibrilleri, annulustan itibaren son parçaya yaklaştıkça sayıları giderek azalır ve sonunda kaybolur. Esas parça, kuyruğun en uzun parçasıdır (Satı 2005, Tutşi 2009).

Son Parça: Bu parça dış yoğun lifler ve fibröz kılıfın erken sonlanmasından dolayı, sadece aksonem bulunan kuyruğun çok kısa bir parçasıdır. Son kısımda, ortada aksonem ve üzerinde hücre zarı bulunur (Satı 2005, Tutşi 2009).

2.1.4. İnterstisyel Doku (Leydig Hücreleri)

İnterstisyel doku testis ağırlığının yaklaşık % 30'unu oluşturur, bu doku içerisinde "leydig hücreleri, bağ doku elemanları, kılcal damarlar, lenf damarları ve sinirler" bulunur (Tekelioğlu 2002). Seminifer tübüllerin arasındaki boşluklar "kan

damarları, lenfatik kanallar veya sinüzoidler, makrofajlar ve androjen üreten leydig hücre grupları" tarafından doldurulmuştur. Leydig hücreleri, seminifer tübüller arasındaki üçgenlerde toplanırlar. Birçok steroid üreten hücre gibi, leydig hücreleri asidofil sitoplazmalarında lipid damlacıkları, İyi gelişmiş golgi kompleksi, düz endoplazmik retikulum ve karakteristik tübüler tip kristalı mitokondriler içerirler (Erkoçak 1990).

Puberteden sonra, bir siklik adenozin monofosfat (C amp) aracılı mekanizma tarafından luteinleştirici hormon (LH) ile uyarılmanın ardından, leydig hücreleri, 5 alfa redüktaz enzimi ile dihidrotestosteron'a dönüştürülebilen, testosteron üretir. Kanda bulunan testosteron miktarının yaklaşık % 95'i leydig hücreleri geri kalan miktarı ise adrenal korteks tarafından üretilir. Bu hücrelerde salgı granülü bulunmadığı için, üretilen testosteron ihtiyaca göre sentezlenip bekletilmeden kana verilir (Tekelioğlu 2002, Kierszenbaum 2006).

2.1.4.1. Testisin Damarları

Testisler arterlerini aorta abdominalisten alırlar. Arteria testikularis testisin arka kenarından bezin içine girer ve mediastinum testiste birçok dallar verir. Bu dallar septula testisleri izleyerek bezin her tarafına dağılır ve testis dokusunu besler. Testisler kansızlığa karşı oldukça duyarlıdırlar ve bu nedenle kansız kaldıklarında harap (atrofiye) olurlar (Şermin 1990, Koyuncu 2008).

Venler; duktus deferensin etrafında pleksus pampiniformis denilen bir ven ağı meydana getirirler. Venöz ağı meydana getiren venlerin (Pleksus pampiniformisi yapan venlerin) genişlemesi ile varikosel hastalığı meydana gelir. Varikoselin sol testiste daha fazla görülmesinin en önemli nedeni sol vena testikülaris'in dik bir açı ile sol vena renalise dökülmesidir (Snell 1998, April 1998, Koyuncu 2008).

2.1.5. Testis İçi Boşaltım Yolları

2.1.5.1. Tubuli Seminiferi Rekti

Tubuli seminiferi rekti testis içi boşaltım yollarından kısa ve düz olan borulardır. Testisin mediastinumunda yer alırlar. Bu tübüller, yapısal özellikleriyle

sertoli hücrelerine benzeyen tek katlı kübik epitel ile döşelidir. Seminifer tübüllerini rete testise bağlarlar (Kierszenbaum 2006).

2.1.5.2. Rete Testis

Testisin mediastinumu içinde düzensiz biçimde anastomozlaşan tek katlı kübik epitelle döşeli labirent şekilli kanallar halinde gözlenir. Kübik epitel hücreleri birkaç mikrovillus ve tek bir flagellum içerir (Erkoçak 1990). Fibroblastlar ve miyoid hücreler tarafından oluşturulan duvar, leydig hücresi kümeleri, damarlar ve geniş lenf kanalları ile kuşatılmıştır (Kierszenbaum 2006).

2.1.5.3. Duktuli Efferentes

Rete testisi duktus epididimise bağlayan ve sayıları 10-20 adet olan kısa borucuklardır. Efferent kanalcıklar, hareketsiz spermiyumların epididime doğru taşınmasına katkı sağlayan silli hücreleri ve lümendeki sıvının geri emilmesinde rol oynayan sterosilyalı esas hücreleri içeren prizmatik epitel ile döşelidir. Henüz hareket yeteneği kazanmamış olan spermatozoonların bu kanallarda ilerlemesi silyaların hareketi ve efferent kanalcıkları çevreleyen düz kas fibrillerinin kasılmaları sayesinde spermiyumların duktus epididimise hareket etmesine yardım eder (Tekelioğlu 2002, Kierszenbaum 2006). “Efferent kanalcıklar kendine özgü tarak biçiminde bir epitel ile döşelidir. Bu epitel sterosilyalı esas hücreler, silyalı hücreler ve bazal hücreler olmak üzere üç hücre tipinden oluşur. Epididime doğru vuruş yapan siller, gelen spermiyumları ileri doğru ilerletirler” (Kierszenbaum 2006).

2.1.5.4. Duktus Epididimis

Duktus Epididimis, içinde spermiyumların toplandığı, ejakülasyona kadar spermiyumların depolandığı ve olgunlaştığı dölleme yetenekleri için gerekli olan hareket etme yeteneklerini kazandıkları oldukça kıvrımlı ve 4-6 m uzunluğunda bir tübüldür. Spermiyumlar epididimise ulaştıklarında hareketsizdirler ve oositi dölleyebilmek için yetersizdirler. Bununla birlikte, dukutus epididimisin kıvrıntılı tübülleri içerisinden geçerken hareket yeteneği, zona pellusida proteinleri için membran reseptörleri, akrozom olgunlaşması ve oositi dölleyebilme özellikleri

kazanır. Epididimde spermiyumların olgunlaşma süresi 2-12 gündür (Eroschenko 2013, Kierszenbaum 2006).

Epididimis testisin arka kısmına yerleşmiştir. Epididim kanalı; baş, gövde ve kuyruk segmentlerine ayrılır. Bu kanalı kan damarları, düz kas hücreleri ve zengin sıkı bağ dokusu sarar. Epiteli uzun ve dallanmış sterosilyalı yalancı çok katlı prizmatiktir. Yalancı çok katlı prizmatik epitel sterosilyalı esas hücreler ve bazal hücre denilen iki ana hücre tipinden oluşur. Duktus epididimisin esas hücreleri, uzun mikrovillus veya sterosilyalar içerir ve spermiyumların testislerden taşınması sırasında efferent kanalcıklar tarafından emilmeyen testiküler sıvıyı geri emmeye devam eder (Eroschenko 2013). Ayrıca esas hücreler seminifer tübüllerde sertoli hücreleri tarafından uzaklaştırılamayan anormal veya dejenere olmuş spermiyum hücrelerini ve artık cisim kalıntılarını fagosite ederler. Duktus epididimisteki esas hücreler, spermiyumların dişi üreme yollarında depolanana kadar fertilizasyon yeteneğini inhibe eden siyalik asit ve glikoprotein üretirler. Esas hücreler, epididimis lümenine karnitin, siyalik asit, glikoprotein ve gliserilfosforilkolin salgılar. Bazal hücreler ise bazal lamina üzerine oturmuş birkaç organel içeren ve fonksiyonu tam olarak bilinmeyen hücrelerdir (Kierszenbaum 2006, Tekelioğlu 2002).

2.1.5.5. Duktus deferens

Uzunlamasına mukoza katlantıları içeren dar ve düzensiz bir lümen, ince bir mukoza, kalın bir kas tabakası ve adventisyaya sahiptir. Duktus deferensin lümeni stereosilyalı yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşeli olup altındaki gevşek fibroelastik bağ dokusu lümenine katlantılar yapar. Duktus deferens spermatik kordunun yapısına katılır ve üreteri çaprazladıktan sonra iğ şeklinde genişler ve prostata girmeden önce genişleyerek ampulla kısmını oluşturur. (Tekelioğlu 2002, Kierszenbaum 2006).

2.1.5.6. Duktus Ejakulatoryus

Basit prizmatik ve yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşelidir. Kanal duvarında kas tabakasına rastlanmaz ve epiteli fibröz bağ dokusu tabakası tarafından

kuşatılan düz bir kanaldır. Prostat içinde seyreder ve prostatik üretraya açılır (Tekelioğlu 2002, Kierszenbaum 2006).

2.2. Yardımcı (Aksesuar) Üreme Bezleri

Erkek üreme sisteminin yardımcı bezleri, seminal vezikül, prostat ve bulboüretral bezinden meydana gelmektedir. Bu yapılar doğrudan erkek üreme yolları ile bağlantılıdırlar ve spermiyumlarla karışan birçok salgı ürünü içeren, semen adı verilen sıvıyı üretirler (Eroschenko 2013). Seminal veziküller ve prostat bezi, seminal sıvının büyük çoğunluğunu üretir ve bu bezlerin fonksiyonu androjenler (testosteron ve DHT) tarafından düzenlenir (Kierszenbaum 2006).

2.2.1. Seminal Veziküller

Seminal vezikül androjene bağımlı organlardır. Her bir seminal vezikül üç bileşenden oluşur: (1) Dış bağ dokusu tabakası; (2) Orta dairesel ve uzunlamasına düz kas tabakası; (3) Tek katlı kübikten yalancı çok katlı prizmatiğe doğru değişen bir epitel ile döşenmiş olan iç tarafta yer alan katlantılı mukozadan oluşur. Mukozanın primer, sekonder ve tersiyer kıvrımlar yapması nedeni ile lümeni son derece düzensizdir. Prizmatik hücreler salgı granülleri içeren vezikülleri olan büyük bir golgi aygıtı ve protein sentezleyen hücre özelliği gösterirler. Seminal veziküller; semenin temel karbonhidrat bileşiği olan fruktoz gibi yüksek yoğunluktaki spermiyumu aktive edici kimyasalları içeren bir sıvı salgılar. İnsan seminal sıvısının % 50-70'lik bölümü bu bezin salgısıdır (Kierszenbaum 2006). Salgı, visköz ve sarımsıdır, semenin rengini verir. Bol fruktoz içerir. Fruktoz spermatozoonlar için besin kaynağıdır ve ejekülasyonla atılan spermiyumun motilitesi (hareket) için ana enerji kaynağıdır (Gartner ve Hiatt 2001, Kierszenbaum 2006).

2.2.2. Prostat Bezi

Erkek üreme sisteminin en büyük ve tek olan yardımcı genital bezidir. Bileşik tübülo-alveolar bir bezdir. Prostat bezi, tek katlı ya da yalancı çok katlı (psödostratifiye) prizmatik epitel ile döşelidir. Lümen glikoproteinden zengin ve bazen kalsiyum birikme alanı olan prostatik taşlar (corpora amilase) içerir. Hücreleri bol miktarda granüllü endoplazmik retikulum ve golgi aygıtına sahiptir. Mesanenin

hemen altında üretrayı çevreler. Bez salgısını kendi boşaltım kanallarıyla prostatik üretraya boşaltır. Prostat salgısı asit fosfataz, lipidler, proteolitik enzim, fibrinolizin ve sitrik asitten çok zengindir (Tekelioğlu 2002, Gartner ve Hiatt 2001, Koyuncu 2008). Bu sıvıda bulunan fibrinolizin enzimi ejakülasyondan sonra pıhtılaşmış semenin seyreltik olmasını sağlar. Ayrıca prostat bezi çinko, fosfolipid, spermin ve fosfataz da salgılar (Kierszenbaum 2006).

2.2.3. Bulboüretral Bezler (Cowper Bezleri)

Bulboüretral bezler mukus salgılayan bir epitel ile döşeli bileşik tubülo-alveolar bir çift bezdir. Bol miktarda galaktoz ve siyalik asit içeren salgısı penil üretraya boşaltılır. Bulboüretral bezler erotik uyarılma sırasında açık renkli, akışkan ve mukus benzeri bir salgı üretirler ve bu salgı penil üretra için kayganlaştırıcı bir fonksiyona sahiptir. Ejakülasyon sırasında, bulboüretral bezin salgısı penil üretra boyunca dışarı çıkan semenin diğer komponentlerinin önünde gider (Tekelioğlu 2002, Kierszenbaum 2006).

2.3. İnfertilite

Korunma yöntemleri kullanılmaksızın en az bir yıllık süre içerisinde çiftlerde fertilitenin gerçekleşmemesi durumudur. Bu tanıma göre evli çiftlerin yaklaşık % 15'i infertildir. Türkiye'de yaklaşık 1,5-2 milyon infertil çift olduğu tahmin edilmektedir (Yılmaz 2012).

Çiftler, gebelik için belli bir süreye ihtiyaç duyarlar. Normalde her ovulasyon döneminde yalnızca % 25 gebelik şansı vardır. Bu şans 6. ayda % 75, 12. ayda % 85 ve 24. ayda % 93 olarak kabul edilmektedir (Tursun 2013). İnfertilitenin % 40'ından kadın faktörü, % 40'ından erkek faktörü, % 20'sinden hem kadın hem erkek faktörü ya da açıklanamayan faktör sorumludur (Teskereci 2010).

2.3.1. Erkek İnfertilitesi

Erkek infertilitesinde tanıya; detaylı bir anamnez, iyi bir sistemik ve genital fizik muayene ve güvenilir laboratuvar bulgularıyla gidilmelidir. Erkek faktörünün

değerlendirilmesi belli bir sıraya göre yapılmalıdır. Bu sıralama aşağıdaki gibi olmalıdır.

2.3.1.1. Hastanın Anamnezi

İnfertilite nedeni ile başvuran hastalarda, öncelikle yeterli ve detaylı bir anamnez alınmalıdır.

A-Seksüel Anamnez

1-Doğum kontrolü yapılmadan cinsel ilişkinin süresi, sıklığı ve zamanlaması
2-Doğum kontrol yöntemleri
3-Potens, libido durumu
4-Pelvik ve retroperitonal ameliyatlar

B- Özgeçmişi

1-Testislerin skrotuma inme yaşı
2-Puberte yaşı
3-Jinekomasti
5-Vazektomi
6-Testis travması ve torsiyonu
7-Prostat ve mesane boynu ameliyatları
8-Ürogenital enfeksiyonlar
9-Böbrek hastalıkları, diabetes mellitus gibi sistemik hastalıklar
10-Ateşli, allerjik ve viral hastalıklar
11-Kabakulak orşit
12-Kullanılan antidepresif, antihipertansif ve uyuşturucu ilaçlar
13-Mesleki olarak çalışma ortamı (sıcak ortam, kimyasal maddelerle temas, radyasyonlu ortam)
14-Sigara, alkol, kahve alşıkanlığı ve beslenme durumu
15-Giyim ve kuşam tarzı
16-Daha önce infertilite nedeni ile gördüğü tedaviler
17-Soy geçmişi (konjenital anomaliler, kromozom bozuklukları, hormonal bozukluklar) (Teskereci 2010)

Çizelge 2. 1. Kadın ve erkekte fertiliteyi etkileyen faktörler (Teskereci 2010)

Kadın	Erkek
Konjenital ya da gelişimsel faktörler	**Yapısal ve hormonal bozukluklar**
-Anormal dış genitaller	-Konjenital ya da gelişimsel testiküler hasar
-İç genital yapının yokluğu	-Y kromozomu defekti
Ovarian faktörler	-Kriptorşidizm
-Anovulasyon	-Hipospadias
• Hipofiz-hipotalamik hormon bozukluğu	-Varikosel
• Adrenal gland bozukluğu	-Düşük testosteron seviyesi
• Hipotalamus-hipofiz-gonadal aksin bozukluğu	-Kabakulağın neden olduğu testiküler hasar
-Oral kontraseptifleri bıraktıktan sonra gelişen amenore	**Spermiyumun yapısındaki değişiklikler**
-Erken menopoz	-Sigara, eroin, amil nitrat ve bütil nitrata maruz kalma
Tubal ve peritoneal faktörler	**Spermiyum sayısının azaldığı durumlar**
-Azalmış tubal motilite	-Hipopitutarizm
-Tuba uterinanın fibrial kısmının olmaması	-Zayıflama ya da kronik hastalıklar
-Bir tubanın yokluğu	-Travma
-Tubal enfeksiyon	-Gonadotropik yetersizlik
-Tubal adhezyon	**Libidonun azaldığı durumlar**
Uterin faktörler	**Ereksiyon bozukluğunun olduğu durumlar**
-Gelişimsel anomaliler	-Alkol tüketimi antihipertansif ilaçların kullanımı
-Endometriyum ve miyometriyuma ait tömürler	**Diğer faktörler**
-Endometriozis	-Endokrin bozukluklar
Servikal faktörler	-Genetik bozukluklar
-Düşük miktar ve kalitede servikal mukus	-Psikolojik bozukluklar
Diğer faktörler	-Cinsel yolla bulaşan hastalıklar
-Diyabet, tiroid ve astım gibi kronik hastalıklar	-İş yerinde radyasyon ya da toksik maddelere (kurşun, civa, x ray) maruz kalma
-Cinsel yolla bulaşan hastalık öyküsü	-Skrotumun yüksek ısıya maruz kalması
-Pelvik inflamatuar hastalık öyküsü	-Vas deferens ve epididimisin yokluğu ya da tıkanıklığı
- Kilonun fazla ya da düşük olması	
-Sigara ve alkol tüketimi	
-Düşük yapmış olma	
-Stresli yaşam	

2.3.1.2. Hastanın Fizik Muayenesi

İnfertil hastanın fizik muayenesinde, genel bir fizik muayene ile bütün sistemlerin gözden geçirilmesi, özellikle genitoüriner sistemin ayrıntılı olarak incelenmesi gerekir. Ürolojik muayenenin en önemli bölümü testislerin muayenesidir. İnmemiş ve ektopik testisler araştırılmalıdır. Seminifer tübülleri puberte öncesi hasar görmüşlerse testisler küçük ve sert, puberte sonrası hasar görmüşlerse küçük ve yumuşaktırlar. Epididimis ve vas deferensin palpasyonu ile ortaya konulan düzensizlikler, sertlikler, kistik oluşumlar spermiyum taşınmasını engelleyen obstrüktif patolojilerin varlığını gösterebilir. Spermatik kordun hasta ayakta iken ve valsalva manevrası yapılarak varikoselin varlığı tespit edilebilir (WHO 2010).

2.3.1.3. Laboratuvar Sonuçlarını Değerlendirme

Semenin Genel Özellikleri

"Semen, spermatozoonlar (olgun germ hücresi) dışında epididimis, vas deferens, seminal vezikül, prostat, cowper ve üretral bezlerden gelen salgılardan oluşmaktadır. Seminal vezikülden gelen sıvı semen hacminin 3/5'ini oluşturur. Seminal sıvı spermiyumların temel besini olan fruktozu içerdiği gibi semenin koagülasyonunu sağlayan çeşitli maddeleri de bulundurur. Prostat salgısı semen hacminin 1/5'ini meydana getirir. Hafif asit özelliğinde olup bol miktarda sitrik asit içerir. Asit fosfataz ve proteolitik enzimler açısından da zengindir. Proteolitik enzimler koagule semenin sıvılaşmasını sağlar" (Taşçı ve Samastı 1997, Kayıkçı ve Ark. 2002).

Semenin Görnümü, Rengi ve Kokusu

Normal bir semen örneğinin görünümü vizkoz, mat, beyaz, opak, gri-krem renginde ve homojen bir görünümdedir, perhiz süresinin uzunluğuna bağlı olarak renk değişerek sarımsı olabilir. "Semen berrak bir görünümde olabilir, bu durum spermiyum konsantrasyonun ya çok düşük olduğunu ya da azoospermik olduğunu düşündürür. Semenin; yapışkan bir yapı göstermesi enfeksiyon belirtisidir, böyle durumlarda likefaksiyon süresi de uzar. Semen örneğinin kahverengimsi renkte olması eritrosit varlığını gösterir, beyaz görülmesi ise lökosit varlığını düşündürür" (Kayıkçı ve Ark.

2002, WHO 2010, Tutşi 2009). "Semenin kendine özgü kokusu perhiz süresine ve enfeksiyon varlığına bağlı olarak değişebilir" (Kayıkçı ve Ark. 2002, WHO 2010).

Semenin Likefaksiyonu

Laboratuvara gelen koagulum halindeki semen 37°C'lik etüv veya ısıtıcı yüzey üzerine konularak likefaksiyon gerçekleşene kadar beklenir. Semen likefaksiyonu, 15-60 dak. arasında değişir. Bazı durumlarda likefaksiyon gerçekleşmez veya semen kuagulumlu (yapışkan tortu) bir görünümde olur. Bu tür durumlar prostat bezinin fonksiyonlarındaki değişiklik semen likefikasyonunu etkiler. Semenin likefaksiyonuna yol açan enzimler prostat orjinli olan proteolitik enzimlerdir (fibrinolizin, fibrinokinaz, aminopeptidaz) (Kayıkçı ve Ark. 2002, Tutşi 2009).

Semenin Miktarı (Volümü)

Semen miktarı 1.5-7 ml arasında olmalıdır. Masturbasyon sırasında semenin tamamının alınmaması, volüm azlığına neden olduğu gibi spermiyumlarda sayı ve hareketin farklı çıkmasına da neden olmaktadır. Semenin volüm azlığı durumunda seminal kese yokluğu, ejakulatuar kanallardaki tıkanıklık veya retrograd ejakülasyon (semenin ejakulasyon sırasında mesaneye geçmesi) olma ihtimalini de düşünmek gerekir (Kayıkçı ve Ark. 2002, WHO 2010).

Semenin pH'sı

Semenin pH'sı prostat bezinin asit, seminal veziküllerin de alkali salgıları nedeniyle 7,2-8,0 arasında değişmektedir. Semen pH'sının 6,5-7'nin altında olması seminal veziküllerin yokluğunda, ejakulatuar duktus obstrüksiyonunda vaya prostatik sekresyon semene karışıtığı durumlarda görülür. (Kayıkçı ve Ark. 2002, Tutşi 2009).

Semen analizinin standardize edilmesi oldukça güç bir tetkiktir. Çünkü kişiden kişiye olduğu kadar aynı kişide bile cinsel perhiz süresi, ısı farklılığı, günün farklı saatleri, mevsimler, semen örneğinin verildiği yer, çalışma koşulları ve emosyonal duruma göre farklılık gösterebilir. Ayrıca tek bir semen analizi erkek fertilitesinin değerlendirilmesi için yeterli değildir. Avrupa Üroloji Derneği kılavularına göre, '' ilk semen örneği anormal ise ikincisinin istenmesi gerektiğini ve iki semen analizi

arasındaki sürenin 7 günden kısa ve 3 haftadan da uzun olmaması gerektiği bildirilmiştir". İki değerlendirme birbirine % 20 yakınlıkta ise ekstra bir semen analizi gerekmemektedir. Değerlendirme sonuçları birbirine % 20'nin üzerinde uzaklıkta ise testi tekrarlamak gerekir (Taşçı ve Samastı 1997, Kayıkçı ve Ark. 2002, WHO 2010).

Semenin Mikroskobik Özellikleri

Semenin mikroskobik incelenmesinde; spermiyum sayısı, hareket özellikleri, morfolojik yapı, aglütinasyonun (çökelme) olup olmadığı, immatür hücreler (olgunlaşmamış spermiyum hücreleri), lökosit varlığı ve vitalite araştırmaları yapılır. Semen etüvde likefiye olduktan sonra iyi karıştırılmış ve sulandırılmamış semen örneğinden 8-10 µl alınarak makler kamerasının merkezine konulur ve hemen üstü ikinci parça ile kapatılır. Motilitenin (hareket) değerlendirilmesi için en az 5 mikroskop alanında inceleme yapılmalıdır. Işık mikroskobunda en az 100 spermiyum sayılarak değerlendirme yapılır. "WHO kriterlerine göre her spermiyumun motilitesi A+B, C ya da D şeklinde derecelendirilir" (Kayıkçı ve Ark. 2002, Tutşi 2009).

A+B-ileri yavaş veya hızlı hareketli
C-yerinde hareketli
D-hareketsiz

"Normal bir örnekte A+B hareketli spermiyumların toplamı, hareketli spermiyumların % 32'sini, A hareketli spermiyum ise % 25'ini oluşturmalıdır. Bu iki şarttan herhangi biri sağlanamıyorsa **'Astenozoospermi'** olarak tanımlanır" (Tutşi 2009, WHO 2010) (Çizelge 2.3, 2.4).

"Hareketli ve hareketsiz spermiyumların sayılarının toplamı, toplam spermiyum sayısını verir. Spermiyum konsantrasyonu ml de 15 milyondan ya da toplam spermiyum sayısı 30 milyondan az ise **'Oligozoospermi'** olarak tanımlanır" (Tutşi 2009, WHO 2010) (Çizelge 2.3, 2.4).

3.3.1.4. Spermiyum Morfolojisinin Değerlendirilmesi

Son otuz yılda spermiyum konsantrasyonu ve hareketinin değerlendirme yöntemlerinde fazla bir ilerleme olmamasına karşın, spermiyum morfolojisi

değerlendirme yöntemlerinde önemli gelişmeler olmuştur. 1980 yılındaki ilk WHO (World Health Organizatıon) sınıflaması, spermiyum morfolojisinin değerlendirilmesi yönünde önemli bir adım olmuştur. Daha sonra Kruger ve Menkveld spermiyum morfolojisine yönelik kesin kriterleri tanımladılar. Bu klasifikasyonda spermiyum bir bütün olarak incelenmiştir (www.kaanaydos.com.tr).

Klasik spermiyogram parametreleri içerisinde en değerlisi spermiyum morfolojisidir. Ancak spermiyum morfolojisinin ışık mikroskobu ile boyalı preparatlardan değerlendirilmesi günümüzde tam olarak standardize edilmiş değildir. Çünkü birbirinden tamamen farklı sonuçlar veren iki farklı kriter günümüzde hala kullanılmaya devam etmektedir (Şahintürk 2000). WHO'nun tanımlamasına göre morfometrik analiz yapılmaksızın düzgün ve oval bir baş, düzgün orta parça ve kuyruk bulunması normal olarak kabul edilmektedir. Kruger kriterlerine göre morfolojileri sınır değerde olan spermiyumlar da anormal morfolojili kabul edilmekte, ancak morfometrik olarak normal değerleri taşıyan spermiyumlar normal olarak kabul edilmektedir Yani kısacası WHO ile Kruger'in kesin morfolojik kriterleri arasındaki en bariz fark normal veya anormal olarak sınıflandırılamayan ara spermiyum şekillerinin WHO kriterlerince normal kabul edilirken, Kruger kriterlerine göre anormal kabul edilmesidir (Kefi 2000, Kayıkıçı ve ark. 2002, Orhon 1996).

Kruger kesin kriterlerine göre; bir spermiyumun normal morfolojili olabilmesi için aşağıdaki parametrelere sahip olması gerekir.

- Spermiyum başı ovoid ve düzgün kontürlü olmalı, iyi sınırlanmış bir akrozomal kılıf içermelidir.
- Baş boyutları, 4-6 μ, 2-3 μ, 1.5 μ olmalıdır.
- Akrozom baş alanının % 40-70'ini kaplamalıdır.
- Akrozom altında kalan bölümlerin konturları düzgün olmalıdır.
- Boyun, orta parça ve kuyruk anomalisi olmamalıdır.
- Orta parça silindirik ve baş ile aynı aks üzerinde olmalıdır.
- Orta parçanın eni 1 μ, uzunluğu baş uzunluğunun 1.5 katı olmalıdır.
- Orta parça sitoplazmik artık içermemelidir.
- Kuyruk uniform, orta parçadan daha ince ve 45-55 μ uzunluğunda olmalıdır.

Kruger kriterlerine göre bir spermiyumun morfolojik analizi yapılırken, spermiyumun tümünün morfolojik yapısı değerlendirilmeli, değerlendirme esnasında hücre kümelerinin bulunduğu bölgelerdeki spermiyumlar dikkate alınmamalı, preparatın değişik bölgelerinde minimum 100 veya 200 spermiyum hücresi sayılarak değerlendirilmelidir (Kruger ve ark. 1986, Enginsu ve ark. 1995, Ok 2005, Orhon 1996).

WHO Kriterlerine göre bir spermiyumun normal morfolojili olabilmesi için aşağıdaki özelliklere sahip olması gerekir.

- Baş oval şekilli ve düzgün kenarlı olmalıdır. Başın eni boyunun 1/2-1/3'ü arasında olmalıdır.
- Akrozomal kısım baş yüzeyinin 1/3'ten fazlasını kaplamalıdır.
- Boyunda başın 1/2'sini geçen sitoplazmik artıklar normal kabul edilmelidir.
- Orta kısım silindir şekilli olmalı, eni boyunun 1/3'ten az olmamalıdır.
- Kuyruk silindir şeklinde olup kıvrım ve bükülme olmamalıdır. 35-45 mikron uzunluğunda ve düzgün bir dış yapıya sahip olmalıdır.

"1992 deki WHO sınıflamasında morfolojik olarak normal grubun yanı sıra dört sınıf halinde anomaliler sınıflandırılmış ve bir teratozoospermi indexi hazırlanmıştır'' (www.kaanaydos.com.tr, Kruger ve ark. 1986).

2.3.1.4. Radyolojik Değerlendirme

Skrotal renkli dopler ultrasonografi ile varikosel varlığı, transrektal ultrasonografi ile obstruktif patoloji araştırılmaktadır.

Çizelge 2.2. Semen analizinde terminoloji (WHO 2010, Koyuncu 2008, http/www.biyorad.com.tr)

Aspermi	Semenin olmaması
Hipospermi	Semen volümünün <1.5 ml olması
Hiperspermi	Semen volümünün >7 ml olması
Normozoospermi	Spermiyum sayısının, hareketinin ve şeklinin normal olması
Azoospermi	Semende hiç spermiyumun bulunmaması
Oligozoospermi	Spermiyum sayısının normal değerden düşük olması (<15 milyon/ml)
Polizoospermi	Spermiyum sayısının normalden fazla olması (>250 milyo/ml)
Astenozoospermi	Spermiyum hareketinin normal değerlerden düşük olması (A+B < % 32 veya A < % 25)
Teratozoospermi	Spermiyum morfolojisinin (şeklinin) normal değerlerden düşük olması(< % 4)
Oligoastenozoospermi	Spermiyum sayı ve hareketinin normal değerlerden düşük olması
Oligoastenoteratozoospermi (OAT)	Spermiyum sayı, hareket ve morfolojisinin normal değerlerden düşük olması
Nekrozoospermi	Semendeki tüm spermiyumların ölü olması
Hematospermi	Semende kan olması veya semenin kırmızı-kahverengi görünümde olması
Lökositospermi	Semende normalin üzerinde lökosit bulunması($>10^6$/ml)
Globozoospermi	Yuvarlak başlı ve akrozomsuz spermiyum hücrelerinin bulunması
Total immotil spermi	Semendeki tüm spermiyumların hareketsiz olması
Virtual azoospermi(Kriptozoospermi)	Kişiye ait bazı örneklerde çok az sayıda (<100 bin/ml) spermiyum saptanırkan, bazı örneklerde ise hiç spermiyum görülmemesi

Çizelge 2.3. Semen analizi referans değerleri (WHO 2010, Ok 2005)

Parametre	**Referans Aralığı**
Semen Hacmi	≥ 1.5 ml
pH	>7.2
Likefaksiyon	15-60 dk
Viskozite	<2 cm
Spaermiyum konsantrasyonu	≥ 15 milyon/ml
Total spermiyum sayısı	≥ 39 milyon/ml
Motilite(Hareket yüzdesi)	a+b≥ %32 veya a≥ %25 a+b (ileri yavaş veya hızlı hareketli) c (yerinde hareketli) d (hareketsiz)
Normal morfoloji	≥ %4 (Kruger kesin kriterleri) >%14(WHO,1999)
Lökosit	$<1x10^6$/ml
Vitalite	>% 58 veya üzerinde canlı spermiyum

2.4. Spermiyum Değerlendirmesinde İleri Mikroskobik Yöntemler

2.4.1. Transmisyon Elektron Mikroskobu (TEM)

Işık mikroskobu düzeyindeki spermiyum morfoloji değerlendirmeleri sınırlı bilgiler vermektedir. Işık mikroskobu ile daha detaylı incelemek amacıyla yapılan büyütmelerin artırılması ayırd etmeyi (rezolasyonu) azaltacağından incelenen doku ve örneğin ayrıntıları iyi seçilemez. Beyaz ışığın dalga boyu uzun olduğundan dolayı yüksek büyütmelerle incelenen doku ve örneğin görüntüsü net görülmez. Elektron mikroskobunda elde edilen görüntüler, elektron ışınlarıyla sağlanır. Elektron titreşimlerinin dalga boyu küçük (0,05 A^0) olduğundan mikroskobun çözümleme gücü fazladır. Bu nedenle elektron mikroskobunda canlı ve cansız materyallerin ince yapılarını incelemek mümkün olmaktadır. 1950 yılından beri moleküler ve makro moleküler seviyede hücrelerin ince yapıları TEM ile incelenmektedir. (Junqueira ve Carneiro 2006, Cengiz 2010).

2.4.1.1. Spermiyumun Ultrastrüktürel Değerlendirmesi

Spermiyumun ultrastrüktürel incelenmesi TEM ile yapılır ve ışık mikroskobunda görülemeyen spermiyuma ait bozukluklar görülebilir. TEM diagnostik amaçla kullanılır. Hücre içi yapıları gösterir. Işık mikroskobunda bükülme ya da kıvrılma gibi belirgin kuyruk anomalileri ile akrozom yokluğu tanımlanabilir. Mitokondri, dış yoğun fibriller ya da mikrotübüllere ait anomalilerin tespitinde TEM ile değerlendirilmelidir. Bu tür anomaliler ileri derecede hareket azalması ya da hiç hareketin olmaması ile sonuçlanabilir. Örneğin; kartagener sendromu (immotil silya), globozoospermi (çekirdek kılıfı, akrozom ve postakrozomal kılıfın olmaması) megalohead (spermin iri başlı olması) ve pinehead (başın nokta şeklinde veya başsız olması) gibi anomaliler TEM ile saptanabilir (Carlon ve ark. 1992, Cengiz 2010).

2.4.1.2. Normal Spermiyumun Ultrastrüktürel Yapısı

Elektron mikroskobunda spermiyumun ultrastrüktürel yapısı incelenirken aşağıdaki değerlendirmelere dikkat edilmelidir.

- Spermiyum tek ve plazma membranı tam olmalıdır.
- Sitoplazmik kalıntı olmamalıdır.
- Akrozomal kep devamlı ve normal pozisyonda, normal şekilli, normal boyutlarda ve yoğun içerikli olmalıdır.
- Nukleus normal şekilli, kromatini olgun ve yoğunlaşmış olmalıdır.
- Mitokondri normal şekilli ve düzgün yerleşimli olmalıdır.
- Dinein kolları, dış yoğun fibriller, fibröz kılıf yapısı ve aksonemal yapı normal olmalıdır.
- Kuyruğu oluşturan mikrotübüllerde 9+2 yapısı mevcut olmalıdır.
- Baş, boyun ve kuyruk aynı aks üzerinde yer almalıdır (Carlon ve ark. 1992, Cengiz 2010) (Şekil 2.8).

2.4.1.3. Spermiyumun Ultrastrüktürel Bozuklukları

Spermiyumun ultrastrüktürel bozuklukları “kuyruktaki dış yoğun fibriller, mikrotübüller ve mitokondrideki anomaliler” TEM incelemesiyle ortaya konulabilir.

Aksonemde mikrotübül bozukluğu ve ilişkili yapıların sayı anomalileri söz konusu olabilir. Bu tür durumlar 9+2 mikrotübül yapısından sapmaların ortaya çıkmasıyla hareketsiz spermiyum ile sonuçlanabilir. Globozoospermi, megalohead ve pinehead anomalilerine sahip spermiyumlarda ultrastrüktürel bozukluklar tespit edilmiştir (Carlon ve ark. 1992, Cengiz 2010).

I. Spermiyum, Baş Bölgesi

1-Nüklear vezikül

2-Akrozom

3-Nukleus

4-Akrozom sonrası bölge

II. Spermiyum, Boyun Bölgesi

5-Sitoplazmik droplet

6-Bağlantı kısmı,

başla aynı düzlemde

III. Spermiyum, Orta Parça

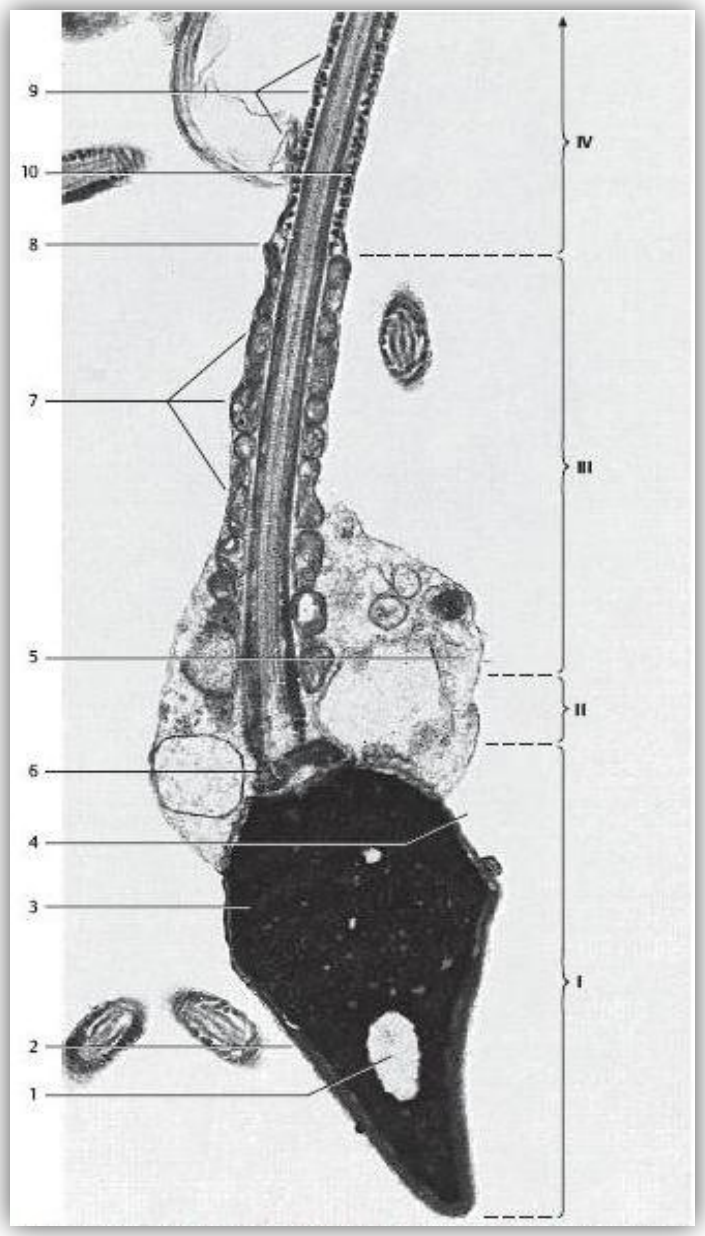
7-Mitokondri kılıfı

8-Halka

IV. Speriyum, Esas Parça

9-Fibröz kılıf

10-Aksonem



Şekil 2.8. Sağlıklı erkeğe ait ejakülat spermiyumu ve elektron mikroskop büyütmesi X17000, (Kuehnel 2003, Cengiz 2010)

2.4.2. Floresans Mikroskobu

1904 yılında Kokler'in ultraviyole illüminatörü keşfetmesi ve 1911'de Reichert'ın floresans mikroskobunu geliştirmesiyle, floresan materyal ve yöntemlerle hücre incelemelerinin yapılması konusunda büyük ilerlemeler olmuştur. Floresans, radyasyonla uyarılmış maddelerin ışımasıdır. A vitamini, B_2 vitamini ve porfirinler gibi bazı maddeler doğal floresans verirler. Doku ve hücrelere ilgisi olan diğer floresan bileşikler ise floresan boyalar olarak bilinirler. Floresan boyalar hücrenin kromatinindeki DNA'ya bağlanabildiklerinden, nukleusu görünür hale getirirler. En yaygın kullanılan boyalardan biri Akridin Orange (AO) dır. AO, DNA ve RNA ile bileşik yapabilir ve farklı renklerde floresans verir. Floresans veren bir boya florokrom olarak adlandırılır. Örneğin floresan izotiyosiyanat (FITC) mavi radyasyonla uyarılır ve yeşil floresans verir. Belli floresan maddeler uygun dalga boyundaki ışık altına tutulduğunda daha uzun dalga boyunda ışık yayarlar. Floresan maddeler karanlık bir zemin üzerinde parlak, ışıltılı parçacıklar şeklinde izlenir. Güçlü bir mor ötesi ışık kaynağının kullanıldığı bir mikroskopta araştırıcının gözlerini korumak için objektif merceklerinden sonra morötesi ışığı süzecek olan güçlü filtreler bulunmaktadır. Göz adaptasyonunu kolaylaştırması nedeniyle inceleme karanlık odada yapılmalıdır (Şahintürk 2000).

2.5. Apopitoz

Son yıllarda patoloji, genetik ve moleküler biyolojide yapılan araştırmalar bütün hücrelerin kendilerini öldürecek bir genetik yapıya sahip olduğunu ortaya koymuştur. Bu yapı yeni hücreler oluşurken var olan hücrelerin bir kısmının ölümüyle korunmaktadır. Hücre ölümleri apopitoz ve nekroz olmak üzere 2 çeşittir. Nekroz; fizyolojik olmayan etkiler sonucu gelişen ve yangıya neden olan hücre ölümüdür. Apopitoz ise çevre dokularda yangı olmaksızın tek hücreyi etkileyen fizyolojik olarak programlanmış hücre ölümüdür. Apopitotik hücrelerde plazma membranları sağlamken, nekrotik hücrelerde plazma membranları bütünlüğünü kaybeder. Apopitoz ultrastrüktürel olarak bir dizi morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerle karakterizedir. Apopitotik hücrelerde kromatin yoğunlaşması ile çekirdek ve sitoplazma membranlarının kaynaşması söz konusudur. Bu sürecin sonunda çekirdek

fregmantasyona uğrar ve tüm hücre fregmanları apopitotik cisimlere dönüşür (Durmaz 2010).

Yapılan araştırmalarda apopitozisin DNA hasarlanması ile ilişkisi olduğu ortaya konulmuştur. 1993 yılında Cohen ‘’timüs hücrelerinin direkt olarak apopitozu seçmediğini, hücre ölümüne neden olacak genleri oluşturarak ve fizyolojik mekanizmalarla regüle edilen bir hücre ölümü olduğunu belirtmiştir’’

Apopitoz ile ortaya çıkan germ hücre kaybı spermatogenez sırasında oluşan dominant bir süreçtir ve p53, p21, kaspaz, bcl-2 ve fas düzeylerince değişik yollarla ayarlanır. İnfertiliteye sebep olan birçok faktör spesifik mekanizmalarla apopitozise yol açar. Apopitoz ise DNA parçalanması ile gerçekleşir. Apopitoz organların sağlıklı fonksiyon görebilmeleri için doğal olarak meydana gelebildiği gibi, hormonal faktörler, ROT (reaktif oksijen türevleri), çevresel toksinler gibi faktörler tarafından da uyarılabilmektedir (Durmaz 2010).

2.6. Varikosel

Erkek infertilitesinin etyolojisinde rol oynayan en önemli faktörlerden biri olup, pleksus pampiniformisin ve vas deferensin yanındaki venlerin dilatasyonu olarak tanımlanır (Taşar ve ark. 1987). Varikosel her iki testiste görülebilir. Genellikle sol testiste görülme oranı % 85, sağ testiste görülme oranı ise % 15 civarındadır. Bir taraftaki varikosel genellikle diğer testisi de etkilemektedir. Varikosel testislerdeki kanı boşaltan venlerdeki (toplardamar) kapakçıkların işlevlerini yitirmesi sonucu damarların genişleyip varisleşmesidir. Testisten çıkan toplardamarların aşırı ve anormal olarak genişlemiş olması, testiste ısı etkisi ve beslenme bozukluğu sonucu spermiyum üreten hücreleri toksik bazı maddelerle karşı karşıya bırakır. Bu maddeler testis içinde olumsuz etki yarattığı için spermiyum oluşumunu kötü etkiler. Testislerin sonografik muayenesi ve damarsal araştırılması gerekir. Böyle bir durum cerrahi müdahale ile düzeltilir (Çek 1990).

2.6.1. Varikoselin Tarihçesi

Varikosel ve bununla birlikte görülen infertilite olguları yüzyıllardan beri bilinmektedir. “İlk varikosel ameliyatından günümüze kadar varikoselin tedavisi konusunda önemli ilerlemeler sağlanmıştır” (Kilciler ve Erdemir 2014). Varikosel ile

erkek infertilitesi arsındaki ilişki 19. asırdan beri bilinmektedir. 1856'da Curling varikoselin erkek infertilitesine neden olabileceğini ileri sürmüştür. Wilhelm (1937), Tulloch (1952), Davidson (1954), Scott ve Young (1961), Charny (1962), Hanley (1962); sol testisin venöz dolaşımında varikosel ile birlikte başka anomaliler olduğunu ve spermatogenezisi büyük ölçüde olumsuz etkilediğini dile getirmişlerdir (Taşar ve ark. 1986)

Varikosel ameliyatından sonra semen kalitesinde düzelme olduğunu ve gebelik oluştuğunu ilk defa Barwell (1885), Bennet (1889), Macomber ve Sanders (1929) rapor etmişlerdir. 1967 yılında Brawn ve ark. varikoselin infertiliteye yol açma nedenlerini dört yolla açıklamaya çalışmışlardır. Bunlar; skrotal ısı değişimi, venöz staz, oksijen azlığı, böbrek ve adrenalden toksik maddelerin atılımı, bütün bu faktörlere rağmen varikoselin infertilite etiyolojisindeki rolü halen tartışmalıdır (Taşar ve ark. 1986).

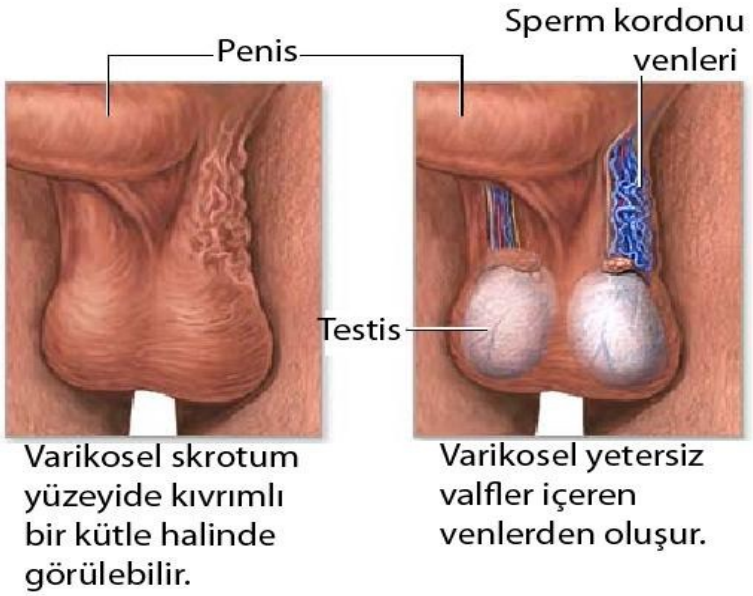
1955'te Tulloch'un bilateral varikoselektomi uyguladığı azoospermik bir hastada postoperatif dönemde spermiyum sayısının 27 milyon/ ml olduğunu ve eşinin gebe kaldığının rapor etmesi erkek infertilitesinin tedavisinde varikosel onarımına olan ilgi giderek artmıştır. O zamandan bu yana birçok araştırmacı varikosel ameliyatından sonra spermiyum kalitesinde düzelmeler olduğunu rapor etmişlerdir (Remzi ve ark.1987).

2.6.2. Varikoselin Nedenleri (Etiyoloji ve Patofizyoloji)

Varikoselin en önemli infertilite nedenlerinden biri olduğu hemen hemen bütün otörlerce kabul edilmesine rağmen bunun ne şekilde olduğu henüz net olarak ortaya konulamamıştır. "Etiyolojik olarak birçok faktör suçlanmakla birlikte günümüzde en bilinen ve kabul gören anatomik faktörlerdir. Sol spermatik venin sağa göre yaklaşık 8-10 cm daha uzun olması, sol spermatik venin sol renal vene dik bir açı ile açılması ve sol spermatik vendeki valvlerin (kapakçık) disfonksiyonudur" (Güzel ve ark. 2013).

Varikoselin semen parametreleri ve infertilite üzerine etkisi birçok fizyolojik mekanizma ile açıklanmıştır. Bu konuda ileri sürülen ve kabul gören görüşlerden bazıları; sokratal ve testiküler ısı artışı, venöz basınç artışı, hormonal işlev bozukluğu, epididimal disfonksiyon, akrozom reaksiyon bozuklukları, DNA hasarı, metabolize olmamış renal ve adrenel kaynaklı toksik maddelerin sol internal spermatik ven yoluyla retrograd akımı, kanın stazına bağlı hipoksemi ile dejenerasyonu, ve besin maddelerinin

transferine engel olan testis içi kan damarlarının kalınlaşması şeklinde sıralanabilir (Çek 1990).



Şekil 2.9. Varikosel olgusunun şematik gösterimi (Şahin 2010)

2.6.3. Varikoselde Tanı ve Değerlendirme

Varikoselli bir erkeğin rutin standart değerlendirmesi tıbbi ve üreme öyküsünü içeren bir anamnez, fizik muayene ve en az 2 semen analizi içermelidir. İki semen analizi arasındaki süre 7 günden az ve 3 haftadan uzun olmamalıdır. Güncel görüş varikoselin tanısında fizik muayenenin yeterli olduğu ve tanı için ek görüntüleme yöntemlerine gerek olmadığı şeklindedir. Fizik muayenenin yetersiz kaldığı ileri derece şişman hastalar, hidrosel varlığı, soğuk ortamlar, testislerde hassasiyet varlığı sebebiyle muayenesi tam yapılamayan durumlarda skrotal renkli dopler ultrasonografiye başvurulur (Çayan ve Kadıoğlu 2005, Taşçı ve Gürbüz 2004).

Hastalar üroloji kliniklerine başta skrotal şişlik, testiküler atrofi, testislerde ağrı, dolgunluk hissi ve ele gelen gözle görülebilen genişlemiş damarlar gibi belirtilerle başvurmaktadır. Fizik muayene ayakta veya yatarak yapılmalıdır. Fizik muayene bulgularına göre varikosel, aşağıdaki şekilde sınıflandırılır (Kilciler ve Erdemir 2014, Taşçı ve Gürbüz 2004). Buna göre;

Grade 1: Sadece valsalva manevrası ile teşhis edilebilen varikosel

Grade 2: Valsalva manevrası yapılmadan palpe edilebilen, ancak göz ile görülemeyen varikosel

Grade 3: Dinlenme anında ya da normal solunumla palpe etmeye gerek olmadan gözle görülebilen varikosel, "normal fizik muayene ile tanı konulabilen varikosellere, **'klinik varikosel'** denir" (Kilciler ve Erdemir 2014, Taşçı ve Gürbüz 2004).

2.6.4. Subklinik varikosel

Fizik muayenede, gerek istirahat, gerekse valsalva manevrası sırasında palpasyonla ve gözle varikosel tespit edilmediği zaman özel bir takım görüntüleme yöntemleriyle tanı konulamasına denir. Subklinik varikosel kavramı, tanı kriterleri ve tedavi endikasyonu klinik varikosele göre çok daha tartışmalıdır. "Subklinik varikoselin tedavi edilmesinin semen parametreleri ve gebelik oranları üzerindeki etkisi henüz ıspatlanmamıştır" (Güzel ve ark.2013).

2.6.5. Varikosel Tedavisi

Varikosel ameliyatında amaç, tüm internal spermatik ven dalları ve eksternal spermatik ven dallarını bağlamak, vas deferens ve damarlarını koruyarak bu yolla testiküler venöz drenajı sağlamak ve spermatik kordona ait lenf damarlarını ve arteri korumaktır. Varikosel tedavisinde uygulanan en iyi yöntemde; varikosel nüksünü minimuma düşürülmesi, arter ve lenflerin korunarak tüm dilate venlerin bağlanması, yapılacak işlemin uygun maliyete sahip olması, iyileşme sürecinin kısa olması, ameliyat sonrası hidrosel oluşumu gibi kompikasyon oranları en düşük ve ameliyat sonrası spermiyum parametrelerinde iyileşme ve nihai amaç olan gebelik oranlarını anlamlı düzeyde artırması beklenir (Oktar ve Ark. 2004, Kilciler ve Erdemir 2014, Güzel ve ark. 2013).

Günümüzde ideal yöntem olarak mikroskop kullanılarak uygulanan mikrocerrahi yöntemdir. "Bu yöntemi diğer yöntemlerle kıyasladığımızda mikrocerrahi yöntemin gerek amliyat sonrası nüks, hidrosel oluşumu ve testis atrofisi gibi komplikasyonlarda azalma gerekse de semen parametrelerindeki düzelme oranları açısından en etkili tekniğin mikrocerrahi yöntem olduğu bilinmektedir" (Kilciler ve Erdemir 2014, Oktar ve ark. 2004).

2.6.6. Varikoselektomi (Varikosel Ameliyatı) Komplikasyonları

Varikosel tedavisinin en önemli komplikasyonları hidrosel, arter bağlanması, testis atrofisi ve nükstür. Varikosel tedavisi öncesi bu tür riskler hastaya anlatılmalıdır. "Testiküler lenfatiklerin bağlanmasında oluşan hidrosel, varikosel ameliyatının en sık rastlanılan komplikasyonudur. Görülme sıklığı % 3-33 arasında değişmekle birlikte ortalama % 7-9 civarındadır. Mikroskop gibi optik büyütecin kullanılması hidrosel oluşumunu ciddi şekilde azaltmaktadır" (Oktar ve ark. 2004). "Mikroskop veya optik büyütecin kullanılması, ileride dilate olup nükse neden olabilecek küçük çaplı internal spermatik venlerin saptanmasına olanak sağlar. Çıplak gözle varikoselektomi uygulanan yöntemlerde varikosel nüksü % 15 civarındayken, mikroskop veya optik büyütecin kullanıldığı varikoselektomi serilerinde nüks yaklaşık % 1 civarında bildirilmektedir" (Kilciler ve Erdemir 2014, Oktar ve ark. 2004).

Testis atrofisi ve/veya spermatogenezde bozulma riskine yol açabilen testiküler arter yaralanması veya ligasyonu, varikoselektominin nadir görülen komplikasyonlarındandır. İnsanlarda, arter ligasyonu sonrası atrofi, kremasterik ve vazal arterlerin varlığı nedeniyle daha az gelişmektedir (Oktar ve ark. 2004, Kilciler ve Erdemir 2014).

2.6.7. Varikoselektomi Sonuçları

Günümüzde varikosel ameliyatının faydalı olup olmadığına ilişkin tartışmalar halen devam etmektedir. "Güncel literatürde varikosel ameliyatının semen kalitesi ve gebelik oranlarında iyileşme sağladığı yönünde artan sayıda çalışmaların bildirilmesiyle beraber daha fazla randomize ve prospektif kontrollü çalışmalara gereksinim vardır. Genel olarak varikosel ameliyatı sonrası hastaların semen parametrelerinde % 50-80 oranında iyileşmeye yol açmaktadır ve gebelik oranları % 20-69 arasında değiştiği bilinmektedir" (Çayan ve Kadıoğlu 2005, Albayrak 2004).

2.6.8. Varikosel Tedavisi Sonrası İzlem

"Varikosel tedavisi sonrası hastalar belli aralıklarla izlenmelidir. Semen analizleri tedavi sonrasında en az 1 yıl süreyle 3 ayda bir bakılmalıdır. Bununla birlikte varikosel ameliyatı sonrası izlem süresini belirlemede kadının yaşı ve over rezervi de dikkate alınmalıdır". (Çayan ve Kadıoğlu 2005, Albayrak 2004).

2.7. Önceki Çalışmalar

Çek (1990), yaptığı çalışmada başlıca yakınmaları varikoselin yarattığı kitle ve ağrı olan 20-21 yaş grubundaki 32 hastanın semen bulgularını sayı, hareket ve morfoloji yönünden incelemiştir. Ameliyat öncesi hastaların spermiyum ortalamasının 33.4 milyon, hareket ortalamasının % 34,9, normal morfolojilerinin ise % 72 olduğunu dile getirmiştir. Çalışmaya dahil edilen 32 hastadan 11'inde spermiyum sayısı 20 milyon/ml'nin altında iken, hareketlilik oranı % 60'ın altında kalan olgu sayısı ise 24 olarak belirlemiştir. Tüm hastalarda morfolojisi normal olan spermiyumların tamamı % 60 ya da daha fazla olduğu saptamıştır. Ameliyat sonrası 3. ay sonunda kontrolü yapılabilen 6 hastadan 3 tanesinde hem sayı, hem hareketlilik oranında düzelme görülürken, 2 hastada durumun değişmediğini, 1 hastada ise gerek sayı, gerekse hareketli hücre oranında gerileme görüldüğünü tespit etmiştir.

Enginsu ve ark. (1991), spermiyum morfolojisindeki herhangi bir defektin spermiyumun fertilizasyon yeteneğini ne oranda etkilediği ya da böyle bir defektin normal bir spermiyum populasyonunda hangi oranda bulunduğu belirsizliğini koruduğunu belirtmişlerdir. Fertilizasyonda olduğu gibi gebelik oranları da spermiyum morfolojisiyle doğrudan orantılıdır. Spermiyum morfolojisi hareket ve konsantasyondan bağımsız olarak spermiyumun fertilizasyon kapasitesini gösteren bir biyomarkırdır.

Singh ve ark. (1992), yaptıkları araştırmada yuvarlak baş defektine sahip spermiyumların çekirdeklerinde kromatin yapısının düzenli olmadığını, baş bölgesinde büyük vakuollerin tespit edildiğini ve bu anomalileri içeren spermiyumlarda akrozomun olmadığını belirtmişlerdir. Boyun ve kuyruk kısmında aksonem, mitokondri ve mikrotübüllerde yapısal bozuklukların gözlendiğini tespit etmişlerdir.

Özkara ve ark. (1994), ileri hareket bozukluğu olan 6 hastanın spermiyumlarının elektron mikroskobu tetkikinde başlıca iki yapı incelenmiştir. Bunlardan biri spermiyumun ultrastrüktürel yapısında baş ve kuyruk bölgelerinin incelendiğini, baş bölgesinde akrozomal membranlarda ayrılma, nüklear vakuolizasyon ve nüklear dekondasyona bakıldığını belirtmişlerdir. Kuyruğun enine kesitinde 9+2 periferik ve merkezi mikrotübül yapısının yanı sıra 9+2 periferik ve merkezi mikrotübül yapısından sapmalarla 9+0 mikrotübül yapılarının görüldüğünü, mitokondriyal ve fibröz kılıftaki

değişklikler gözlendiğini, aksonemde yapısal bozuklukların olduğunu, boyun bölgesinde ise sitoplazmik damlacık formasyonunun olduğunu belirtmişlerdir.

Mundy ve ark. (1995), yaptıkları çalışmada anormal spermiyum morfolojisinin erkek infertilitesinin en önemli faktörlerinden biri olduğunu belirtmişlerdir. Astenozoospermi (hareketi yetersiz olan spermiyumlar) vakalarında spermiyum morfolojisini değerlendirmişlerdir. Araştırmalarında elde ettikleri veriler, spermiyumun kuyruğundaki orta parça uzunluğunun kontrol gruplarına göre hareket yetersizliği olan vakalarda bariz bir şekilde daha kısa olduğunu gözlemlemişlerdir.

Hughes ve ark. (1996), yaptıkları çalışmada infertilite tanısı konulan erkeklerin spermiyumlarındaki DNA hasar oranı, kontrol grubundaki fertil erkeklerin spermiyumlarındaki DNA hasarından daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

Ekmekçioğlu ve ark. (1997), infertilite şikayatiyle kliniğe gelen 547 hastanın semen parametrelerindeki aylık ve mevsimlik değişklikleri araştırmışlardır. Semen parametrelerinde istatistiksel olarak farklılıklar olmamasına rağmen aylık ve mevsimlik değişikliklerin gözlendiğini belirtmişlerdir. Sonbaharda oligospermik vakalarda azalma olduğunu, semendeki spermiyum sayılarında artış olduğunu ve normal populasyonda aynı mevsimde döllenme oranının artması bu mevsimde semen kalitesinde bir atış olabileceğini düşündürmüştür.

Courtade ve ark. (1998), yaptıkları araştırmada izah edilemeyen astenozoospermia durumlarında periaksonemal bozukluklarla aksonemal bozuklukların sıkı ilişkide olduğunu ve spermiyumların hareketinin azalmasında aksonem bozukluklarının tek faktör olmadığını belirtmişlerdir.

Yalçın ve ark. (1999), yaptıkları çalışmada sol spermatik ven ligasyonu (varikosel ameliyatı) uyguladıkları 40 hasta ile bilateral (iki taraflı) ven ligasyonu uyguladıkları 60 hastanın spermiyogram değerlerindeki düzelme kıyaslandığında spermiyum sayısı, hareket ve morfolojilerindeki iyileşme oranlarını sırasıyla birinci grup için % 48.91, % 32.64, % 46.10, ikinci grup için ise % 179, % 64,37 ve % 69,28 olarak bulmuşlardır.

Mc Vicar ve ark. (2004), araştırmalarında çocuk sahibi olamayan erkekler ile fertil erkeklerin spermiyumlarındaki DNA kırıklarının daha fazla olduğunu, spermiyum başındaki vakuollerin yoğunluğu ve çekirdekteki kromatin dekondasyonunu

karşılaştırarak fertil erkeklerde spermiyum başına ait bu anomalilerin daha az olduğunu gözlemlemişlerdir.

Moustafa ve ark. (2004), yaptıkları araştırmada spermiyum konsantrasyonu düşük olan ve kötü spermiyum morfolojisi olan semen örneklerindeki spermiyumlarda DNA fregmantasyon indeksi yüzdesinin daha yüksek düzeyde olduğunu belirtmişlerdir.

McClure ve ark. (2004), yaptıkları araştırmada DNA fregmantasyonunun spermiyum kalitesi için bir kriter olması gerektiğini ifade etmişlerdir. Bu yönde yapılan çalışmalarda açıklanamayan infertilite olgularında TUNEL ile yapılan ölçümlerle spermiyum DNA fregmantasyonunun belirlenmesi erkek infertilitesnin teşhisinde önemli bir bulgu olduğunu belirtmişlerdir.

Chen ve ark. (2004), "2004 yılında yaptıkları çalışmada ilkbaharda diğer mevsimlere oranla daha yüksek spermiyum konsantrasyonu, daha yüksek hareket ve daha yüksek normal morfoloji yüzdesi elde etmişlerdir. Mevsimlerin, çevrenin ve beslenme durumunun spermiyum parametrelerini anlamlı oranda etkilediklerini belirtmişlerdir".

Ok (2005), "2005'te yaptığı çalışmada varikoselli hastalarda, yapısında aksonem, aksonemi çevreleyen kalın dış yoğun fibriller ve mitokondriyal tabaka yer alan orta parça defektlerinin ve harekelilikte önemli rol oynayan kuyruk anomalilerinin de spermiyum hareketliliğini etkileyebileceğini belirtmiştir".

Mitchell ve ark. (2006), varikoselli hastaların spermiyumları üzerinde yaptıkları elektron mikroskobu değerlendirmesinde kuyrukta fibröz kılıf yapısının bazı bölgelerde kesintisiz, bazı bölgelerde ise kesintiye uğradığını bozuk ve parçalı olduğunu gözlemlemişlerdir. Mikrotübül yapısının incelenmesinde de (9+2) mikrotübül yapısına sahip spermiyumlar olduğu gibi (9+2) mikrotübül yapısından sapmalarla (9+0, 9+1, 8+0) mikrotübül yapılarının gözlendiğini ve mikrotübül yapılarının dağınık yerleşimli olduğunu belirtmişlerdir.

Koyuncu (2008), yaşları 21 ile 38 arasında değişen, varikoselli 52 hastanın üzerinde çalışmıştır. Hastaların spermiyum sayısı 0.2-144 milyon/ml arasında değişirken, ortalama 36,5 milyon/ml olduğunu, A+B hareketli spermiyum ortalaması % 30,8', C hareketli spermiyum ortalaması % 12,9', D hareketli spermiyum ortalaması % 56 olarak bulmuştur. 52 hastanın 44'ünde (% 84,7) spermiyum morfolojisi anormal yapıda oldoğunu (teratozoospermia) ve bu hastalarda normal morfolojideki spermiyum

sayısı % 30'un altında olduğunu belirtmiştir Hastaların 2'sinde (% 3,8) spermiyumların tamamı anormal morfolojiye sahip olduğunu (tam teratozoospermia), tüm hastalarda normal spermiyum morfoloji ortalaması ise % 13, olarak tespit edilmiştir".

Goldstein ve ark. (2008), 272 varikoselli infertil erkeği yaşlarına göre 3 gruba (<30, 30-39, ve 40 yaş ve üzeri) ayırarak yaşın varikosel ameliyatı üzerindeki etkisini araştırmış ve tüm yaş gruplarında varikosel ameliyatının spermiyum konsantrasyonu, toplam spermiyum sayısı ve serum testosteronunda anlamlı artışlarla ilşkili olduğunu bildirmişlerdir. Sunulan çalışmada farklı yaş gruplarının ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası spermiyum konsantrasyonları ve morfolojileri arasında anlamlı bir fark ortaya konulmamıştır. Sadece spermiyum hareketi ile yaş arasında bir korelasyon saptanmış ve ilerleyen yaş ile spermiyum hareketliliğinde fizyolojik bir azalmanın olabileceği öne sürülmüştür.

Aydıner (2008), çalışmasında az sayıda normal görünümlü spermiyumların olduğunu belirtmiştir. Hücrelerin büyük bölümü baş bölgesinde sitoplazmik artıklar içeren elongating (uzun baş) spermatidti. Bu tip hücrelerin bir grubunda ise akrozomun çekirdekten uzaklaştığı subakrozomal bölgede sitoplazmik içeriğin arttığı dikkati çekmiştir. Yine bu grupta bazı spermiyumlarda çok sayıda erken apopitotik çekirdekli heterojenik kromatin dağılımı belirgin olarak gözlenirken bazı spermiyumlarda geç apopitotik bulgu belirtisi olan nüklear fregmantasyon saptanmıştır. Çok sayıda akrozom içermeyen, çekirdeğinde vakuoller bulunan makrosefalik globozoospermiler gözlenmiştir. Bazı hücrelerin baş bölgeleri tamamen normaldi, ancak boyun bölgelerinde sitoplazmik artıklar içeren bu hücrelerin geç spermatidler olduğu görülmüş ve bu artıklarda dev membransal vakuoller bulunduğu gözlenmiştir. Ayrıca yıkama sonrası grupta ortak akrozoma sahip, çekirdeklerinde vakuoller içeren çok sayıda spermiyum, akrozom iç zarının çekirdek içerisine invaginasyonu sonucu akrozomal kist içeren hücreler görüntülenmiştir. Yine bu grupta birçok hücrede spermiyum zarında düzensizlikler belirgin olarak dikkati çekmiştir. Hücrelerin kuyruk ultrastrüktüründe herhangi bir anomaliye rastlanmadığını belirtmiştir.

Cengiz (2010), yaptığı elektron mikroskobu incelemesinin varikosel ameliyatı öncesi grubunda akrozomal kepi normal şekilli, devamlı, başın ön kısmını % 60 oranında kaplayacak boyutta olduğunu belirtmiştir. Nukleus normal şekilli, olgun kromatinliyken, gözlenen mikrotübül yapılarının (9+2) yapısında veya (9+1, 9+0)

formasyonu şeklinde olduğunu gözlemiştir. Mitokondrilerin normal şekilli ve boyun kısmının her iki tarafında simetrik yerleşimli olduklarını ifade etmiştir.

Boğatekin (2011), semen örneklerini tek taraflı sol grade-3 varikosel tanısı konmuş, yaş ortalaması 21 olan, toplam 30 hastadan elde etmiştir. Ameliyat öncesi ve ameliyat edildikten 3 ay sonra spermiyum parametrelerine bakılmıştır. Likefaksiyondan sonra, semen analizi WHO kriterlerine göre Makler kamera ile yerine getirilmiştir. Spermiyum morfolojisi spermac boyama tekniği kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu çalışmada hastaların A hareketli spermiyum ortalaması ameliyat öncesi % 16.1', ameliyat sonrası % 22.3 olarak bulunmuştur. Hastaların B hareketli spermiyum ortalaması % 12.53'den, % 14.7'e yükselmiştir. Baş, boyun ve kuyruk anomalilerinde, ameliyat sonrasında baş kısmında % 69.30 ile anlamlı düzelme görülmüştür. Boyun % 12.7 kuyruk ise % 11.7 ile anlamlı bulunmamıştır. Tüm hastalarda normal spermiyum morfoloji ortalaması ise ameliyat öncesi % 3.6 iken ameliyat sonrasında % 6.22 olarak anlamlı bulunduğunu belirtmiştir.

Zümrütbaş ve ark. (2013), varikosel tanısı konulan ve yaş ortalaması 30.04 olan 45 hasta ile, kontrol grubunu oluşturan ve yaş ortalaması 28.3 olan 30 erkek birey üzerinde çalışmışlardır. Kruger incelemesinde normal morfolojideki spermiyum sayısı varikosel grubunda kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Varikosel grubunda, toplam spermiyum sayı ortalamasını 151.3 milyon, kontrol grubu sayı ortalamasını ise 478.6 milyon olarak bulmuşlardır. Toplam hareketli spermiyum sayısı varikosel grubunda % 73.8 iken, kontrol grubunda % 264.3, A+B hareketli spermiyum sayısı varikosel grubunda % 39.9 iken, kontrol grubunda % 53.3, hareketsiz (D) spermiyum oranı varikosel grubunda % 50.1 iken, kontrol grubunda % 38.3 olarak tespit edilmiştir. 45 varikoselli hastanın spermiyumlarının normal morfolojisi % 3.6 iken, kontrol grubunun normal morfoloji % 8.9, varikosel grubunda baş anomalisi, boyun anomalisi ve kuyruk anomalisi sırasıyla % 60.9, % 21.5, % 11.3 iken; kontrol grubunda % 56.0, % 20.7, % 8.8 olarak bulunmuştur. TUNEL yöntemi kullanılarak, varikosel grubu ile kontrol grubu spermiyumlarındaki DNA fregmantasyon indexinin değerlendirilmesi sonucu, varikosel grubunda DNA fregmantasyon indexi % 25, kontrol grubunda ise % 15 olarak tespit edilmiştir.

Yazdani ve ark. (2015), varikoselli 83 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada hastaları yaşları bakımından iki kategori olarak 30 yaş altı ve 30 yaş üstü olacak şekilde

ayırmışlardır. Bu hastaların varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası 6. ay ve 12. aydaki spermiyum parametreleri ve gebelik oranları karşılaştırılmıştır. 30 yaşın altındaki hastaların varikosel ameliyatı öncesi spermiyum konsantrasyonu 40.2 milyon/ml, ameliyattan sonraki 6. ayda 57.1 milyon/ml, 12. ayda 68.1 milyon/ml olarak bulunmuştur. Ameliyat öncesinde spermiyum hareket ortalamasının % 48.2, ameliyat sonrası 6. ayda 47.9, 12. ayda 56.6, ameliyat öncesinde anormal morfoloji gösteren spermiyumların sayısının % 62.7, ameliyat sonrası 6. ayda % 62.4, 12. ayda % 59.6 olduğunu belirtmişlerdir. 30 yaşın üzerindeki hastaların varikosel ameliyatı öncesi spermiyum konsantrasyonu 49.7 milyon/ml, ameliyattan sonraki 6. ayda 53.7 milyon/ml, 12. ayda 58.4 milyon/ml, ameliyat öncesinde spermiyumların hareket ortalamasının % 47.2, ameliyat sonrası 6. ayda % 52.7, 12. ayda % 53.2, ameliyat öncesinde anormal morfoloji gösteren spermiyumların sayısının % 61.3, ameliyat sonrası 6. ayda % 60.7, 12. ayda % 58 olduğunu belirtmişlerdir. Varikosel ameliyatından 1 yıl sonra 30 yaş altı ve 30 yaş üstü hastaları gebelik oranları karşılaştırıldığında sırasıyla % 51.1 ve % 44.7 olarak bulunmuştur. Her iki grubun semen parametreleri ve hamilelik oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığını ifade etmişlerdir.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Tezin Yöntemi

Çalışmamıza, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projesi (DÜBAP) tarafından desteklenen 14-FF-15 nolu proje onayı ve Tıp Fakültesi İnsan Araştırmaları Etik Kurulu'nun 30 /10 /2013 tarihli onayı ile karar alındıktan sonra başlandı.

Bu çalışma Diyarbakır Selahaddin Eyyubi Devlet Hastanesi Üroloji polikliniğine infertilite, kasık ağrısı, testislerde şişme ve sarkma gibi şikayetlerle gelen ve varikosel tanısı konulan, yaş aralığı 15 ile 30 arasında değişen 40 hastaya çalışma hakkında bilgi verilerek gönüllü onam formu doldurduldu ve hastalara imzalatıldı. Bu hastalardan alınan semen örneklerindeki spermiyumlar likefiye (çözüldükten) olduktan sonra WHO (World Health Organization) kriterleri esas alınarak iki grup altında incelendi. Birinci grup ameliyat öncesi (preoperatif) semen örneklerindeki spermiyumlar incelendi. İkinci grup ameliyat sonrası (postoperatif) 3. ay, 6. ay ve 12. ayda semen örneklerindeki spermiyumlar incelendi. Tüm grupların spermiyum örneklerinin sayı ve hareketi makler kamera ile ışık mikroskobunda değerlendirildi. Spermiyumların DNA fregmantasyonu için TUNEL Assay metodu kullanıldı. TEM (Jeol 1010 Tranmission Elektron Mikroskobu) ile spermiyumların membran bütünlüğü ve organellerin yapısı değerlendirildi.

3.2. Semenin Toplanması

Spermiyogram tetkiki için genellikle 2-7 günlük cinsel perhizle gelen varikoselli hastalardan; sabun, tükürük, krem ve benzeri maddeler kullanılmadan masturbasyon ile semen örnekleri, steril ve geniş ağızlı tek kullanımlık plastik kaplara alındı. Uzun perhiz süreleri özellikle spermiyum hareketliliğini azaltığından tavsiye edilmez.

3.3. Semenin Makroskobik İncelenmesi

Normal bir semen örneğinin görünümü mat, beyaz, opak-krem renkte ve homojen olup perhiz süresinin uzunluğuna bağlı olarak renk sarımsı hale gelebilir. Semen örneği bazen çok berrak bir görünümdedir, bu durum spermiyum konsantrasyonun ya çok düşük olduğunu ya da azoospermik bir örnek olduğunu düşündürür. Semen örneğinin kahverengimsi renkte olması eritrosit varlığını, beyaz görülmesi ise lökosit varlığını düşündürür. 5 veya 10 ml'lik pipetlerle ölçülen semen

volümü 1.5-7 ml arasında olmalıdır. Semenin tamamının alınmaması, volüm azlığına neden olduğu gibi spermiyum sayı ve hareketinin farklı çıkmasına da neden olmaktadır. (Kayıkçı ve Ark. 2002, WHO 2010, Tutşi 2009)

Laboratuvara gelen koagulum halindeki semen 37°C'lik etüvde likefaksiyon gerçekleşene kadar beklendi. Semen çözülüp sıvılaştıktan sonra mikroskobik değerlendirmeye alındı. Her semenin likefiye olduğu süre kayıt altına alındı. Semenin vizkozitesi ise 5 ml'lik pipetlerle alınıp tekrar örnek kabına boşaltılması ile ölçüldü. Semenin pipete yavaş doluşu ve akarken 2 cm'in üzerinde uzaması viskozitenin yüksek olduğunu gösterir. Yüksek viskozite enfeksiyon riski nedeniyle mutlaka not edilmesi gereken bir durumdur. Semenin pH'sı prostat bezinin asit, seminal veziküllerin de alkali salgıları nedeniyle 7,2-8,0 arasında değişmektedir. Semen pH'sı aralığı 6,1 ile 10,0 olan pH kağıtları ile ölçüldü. Semenin pH'sını ölçmek için pH-indicator paper kullanıldı. pH-indicator paper semene daldırılıp çıkarıldı ve 5 saniye içerisindeki renk değişimine bakılarak pH tesbiti yapıldı.

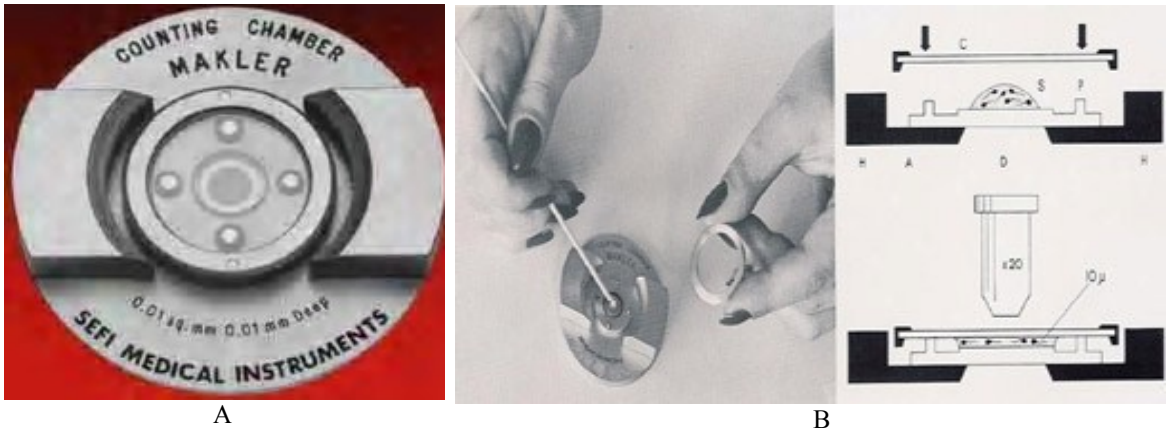
3.4. Semenin Mikroskobik İncelenmesi

Semen likefiye olduktan sonra WHO kriterlerine göre; semen örnekleri mikroskobik açıdan değerlendirildi. Öncelikle semen örneğinin pastör pipeti ile birkaç kez pipetlenerek homojenize olması sağlandı. Sayı ve hareket için steril pipetle yaklaşık 10 µl semen makler kamerasına yerleştirildi ve üzerine cam kapağı kapatıldı. Işık mikroskobunda X20'lik objektifle 10 karedeki spermiyumlar sayıldı (sperm sayısı yoğunluğuna göre 10 adet karedeki spermiyumlar ya da tüm kareli alan, eğer kareli alanda spermiyum sayısı 10'dan az ise tüm makler alanındaki spermiyumlar sayıldı) ve sonuç milyon (10^6) olarak ifade edildi. Spermiyum sayımı, sırasıyla ileri doğru hızlı ve yavaş hareketli spermiyumlar sayılır ve kaydedilir, daha sonra yerinde hareketli ve hareketsiz spermiyumlar sayılır ve kaydedilir. Sayım gecikirse spermiyumlar kameranın periferinden merkezine doğru hareket ettikleri için yanlış sonuç ortaya çıkacağından dolayı değerlendirme zamanında yapılmalıdır.

3.5. Spermiyum Konsantrasyonu ve Motilitesinin Hesaplanması

Spermiyum konsantrasyonunun sayımı makler kamerası metodu ile yapıldı (Şekil 3.1). Makler kamerası, üzerinde kareler bulunan bir düzlem ile onun üzerine oturtulduğunda, arada 10 µ'luk aralık kalan bir kapaktan oluşmaktadır. Böylece

spermiyumlar tek düzlem üzerinde bulunurlar. Kameranın merkezinde ise ebatları 0.1 x 0.1 mm olan 100 adet kareden oluşan alt parça bulunmaktadır. İyi karıştırılmış ve sulandırılmamış semen örneğinden küçük bir parça alınarak makler kameranın merkezine konulur ve hemen üstü ikinci parça ile kapatılır (Şekil 3.2). Makler kamerasında alt alta veya yan yana sütun oluşturacak biçimde sıralanan 10 karedeki spermiyumların toplamı 1 ml'deki spermiyum sayısını milyon (10^6) olarak verir (Koyuncu 2008).



A B

A-) Şekil 3.1. Makler kamerası **B-)** Makler kamerasının spermiyum sayımı sırasında kullanım şekli (Koyuncu 2008)

3.6. Morfolojik Değerlendirme

3.6.1. Işık Mikroskobu için Spermac Boyama Metodu

1-Likefiye olmuş semenden 10 µl temiz bir lam üzerine damlatıldı sonra başka bir lam yardımıyla ince ve homojen yayma yapıldı.

2-Yaymadan sonra preparatın kuruması için açık havada ve oda ısısında 20 dak. bekletildi.

3- Preparat spermac stain fiksatif solüsyonunda 5-15 dak. bekletildi.

4-Fiksatiften çıkarılan preparat 8-10 kez distile suya batırılıp kurutma kağıdı ile lamın ucundan fazla su süzüldü.

5-Preparat spermac A boyasıyla 1 dak. boyandı.

6-Preparat 8-10 kez distile suya batırılıp kurutma kağıdı ile lamın ucundan fazla su süzüldü.

7- Preparat spermac B boyası ile 1 dak. boyandı.

8- Preparat 8-10 kez distile suya batırılıp kurutma kağıdı ile lamın ucundan fazla su süzüldü.

9- Preparat Spermac C boyası ile 1 dak. boyandı.

10- Preparat 8-10 kez distile suya batırılıp kurutma kağıdı ile lamın ucundan fazla su süzüldü.

11- Preparat açık hava ve oda ısısında en az 20 dak. kuruması için bekletildi.

12-Preparat kuruduktan sonra ışık mikroskobunda X100 lük objektifte, immersiyon yağı kullanarak morfolojik değerlendirme yapıldı.

Spermiyum morfolojisinin değerlendirilmesinde Kruger'in kesin morfoloji kriterleri temel alındı. Morfoloji değerlendirmesi, Olympus CX31 marka ışık mikroskobunun X100'lük objektifi kullanılarak yapıldı. Her preparattan 100 adet spermiyum sayılarak, normal morfolojiye sahip spermiyumların yüzdesi belirlendi. Sayım aynı preparatın en az 5 farklı alanından yapıldı. Normal morfolojili spermiyum sayısı 5'ten az ise '**teratozoospermi**' olarak tanımlandı. Spermiyum morfolojileri Zeiss İmager A2 AİX10 ışık mikroskobunda ve Zen 2012 (blue edition) programıyla fotoğraflandı.

3.7. Transmisyon Elektron Mikroskobunda Doku Takip Aşamaları

1- Semen 60 dak inkübatörde. likefiye olması sağlandı.

2- 1500 rpm'de 15 dak. santrifüj edildi.

3- Süpernatant dökülerek altta çöken pelletin üzerine % 2,5'luk gluteraldehit bırakıldı ve +4°C bekletildi.

5- TEM değerlendirmesi için, gluteraldehitteki spermiyum örnekleri; osmik asitte 2 saat,

7- Tampon solusyonunda 10 dak.

8- İkinci defa tampon solusyonunda 10 dak.

9- Daha sonra sırasıyla % 50'lik alkolde 15 dak.

10- % 70'lik alkolde 15 dak.

11- % 86'lık alkolde 15 dak.

12- % 96'lık alkolde 15 dak.

13- % 100'lük alkolde 15 dak. bekletilerek tüm aşamalar +4°C uygulandı.

14- İkinci aşama ise oda sıcaklığında yapıldı.

15- Önce % 100'luk alkolde 15 dak.

16- Propilen oksitte 15 dak.

17-Propilen oksitte tekrar 15 dak. bekletildi.

18-Daha sonra Araldit CY 212 kiti ile hazırlanan gömme materyaline gömüldü.

19- Etüvde polimerize olması sağlandı.

20- Hazırlanan bloklardan yarı ince kesitler lam üzerine alınarak toluidin blue ile bayandı.

21- Olympus (CX 21) ışık mikroskobunda işaretlenen bölgelerden alınan ince kesitler bakır gridlere alınarak uranil asetat kurşun sitrat ile boyanıp Jeol 1010 Transmisyon elekton mikroskobunda değerlendirmeye alındı.

3.8. TUNEL Assay (terminal dutp nick-end labeling) Metodunun Aşamaları

1- Semen 60 dak. inkübatörde likefiye olması sağlandı.

2- Semenden pastör pipeti ile 2-3 cc falkon tüplere alındı.

3- Falkon tüplerdeki semenin üzerine 3-4 katı hacminde sperm wash solusyonu ilave edildi ve karışım sağlandı.

4- Falkon tüpü, sıcaklığı 25°C 1500 rpm'de 18 dak. santrifüj edilerek yıkama işlemi tamamlandı.

5- Poli- L-lizin lamların üzerine Pap-pen (hidrofobik kalem) ile çevrelenmiş bir alana üzerine 2-3 ml yıkanmış semen eklendi ve daha sonra 2-3 ml PBS-sukroz ilave edildi.

6- Slayd humidified chamber içinde 12-24 saat +4°C de inkübasyona bırakıldı. Böylece hücrelerin gece boyu poli-L-lizin kaplı lama yapışması sağlandı.

7- Slaydın üzerindeki karışım uzaklaştırıldı ve % 10'luk formalinden 2-5 ml damlatılarak oda ısısında 20 dak. fiksasyona bırakıldı.

8- Fiksasyon işleminden sonra fiksatif uzaklaştırıldı ve slaydlar 10-15 dak. oda ısısında kurumaya bırakıldı. Slaydlar +4°C'de bekletildi.

9- Slaydların PBS' te 2 seri 5'er dak. yıkama işlemi gerçekleştirildi.

10- Slaydlara H_2O_2 ilave edilerek 10 dak. laminal flow da bekletildi.

11- Slaydların PBS' te 2 seri 5'er dak. yıkama işlemi gerçekleştirildi.

12- Slaydlara permeabilizasyon solusyonu eklenerek -20°C'de 4 dak. bekletildi.

13- Slaydların PBS' te 2 seri 5'er dak. yıkama işlemi gerçekleştirildi.

14- TUNEL solusyonu eklenerek 37°C' de 1 saat bekletildi.

15- Slaydların PBS' te 2 seri 5'er dak. yıkama işlemi gerçekleştirildi.

16-Antifade ile kapatılarak 10-15 dak. sonra floresan mikroskopta 200 spermiyum hücresi sayılarak pozitif yeşil sinyal veren hücrelerin yüzdesi (%) belirlendi.

3.9. Kullanılan Aletler

Işık mikroskobu	(Olympus CX 31)
Transmisyon Elektron Mikroskobu	(Jeol 1010)
Santrifüj	(Nüve NF 400)
Mikrosantrifüj	(Heraeus Biofuge pico)
Hassas terazi	(Mettler AJ 100)
Buzdolabı	(Arçelik)
Etüv	(Nüve-EN 500)
Vorteks	(Nüve)
Işık Mikroskobu	(Zeiss İmager A2 AİX 10)
Floresan mikroskobu	(Olympus BX 61)
pH metre	(Beckman, Century SS-1)
Spermiyum sayma kamarası	(Makler, Self-Medical Instruments)
Mikropipet	(Eppendorf)
Otomatik steril pipet uçları	(Eppendorf ve Gilson)
pH-indicator paper	(Merk)
Pastör pipeti	
Falkon tüpler	
Poli L lizin kaplı lam	
Rodajlı lam-lamel	
Pap Pen (Hidrofobik kalem)	
Humidified chamber (nemli cam düzenek)	
Eppendorf tüpler (2 ml)	

3.10. Kullanılan kimyasal maddeler

PBS (Phosphate Buffered Saline)

PBS- Sukroz

Sukroz (Sakkaroz)

Pure-Sperm Wash (Spermiyum yıkama solusyonu)

Triton X 100

Sodyum Citrat

Antifade (kapatma medyumu)

Formaldehit

TUNEL Kiti (A P *In Situ* Cell Death Detection Kit)

Permeabilizasyon solusyonu

% 2,5'lük gluteraldehit

Osmik asit

Propilen oksit

Alkol (değişen %'ler)

Araldit CY 212 kiti

Bakır gridler

İmmersiyon yağı

Spermac Stain seti 50 ml (1 Fiksatif, üçlü boya seti Stain A, B, C) (Sperm Morphology Seti Ferti Pro)

3.11. Solusyonların (Karışımların) Hazırlanması

3.11.1. PBS (Phosphate Buffered Saline) Hazırlanması

Distile su	2 L
Sodyum Hidrojen Fosfat (Na2HPO4)	2,85 gr
Sodyum Klorür (NaCl)	16 gr
Potasyum Dihidrojen Fosfat	0,8 gr

Bir kap içerisinde karışım sağlandıktan sonra pH metre ile karışımın pH'sı 7,4 olana kadar 2 molar NaOH ilave edildi.

3.11.2. PBS-Sukroz Çözeltisinin Hazırlanması

Sukroz	11,25 gr
PBS	250 ml

ilave edilerek karışım hazırlandı.

3.11.3. Formalinin Hazırlaması

% 37 lik Formalin	5 ml
PBS-sukroz	45 ml

Bu maddeler karıştırulıp formalinin seyreltilmesi sağlanır. Finalde formalin % 3,7 olmaktadır.

3.11.4. Permeabilizasyon Solüsyonunun Hazırlanması

Distile Su	100 ml
Triton X100	100 µl
Sodyum Sitrat	0,1 gr

Bu maddeler balon joje içinde karışımı sağlanarak hazırlandı.

3.11.5. TUNEL Solüsyonunun Hazırlanması

1 µl enzim solüsyonu

9 µl label solusyonu

30 µl TUNEL dilusyon buffer ile 1:3 oranında karışım haline getirildi.

3.11.6. TUNEL Negatif Kontrol Solsyonunun Hazırlanması

20 µl label

20 µl TUNEL dilisyon buffer; 1:1 oranında karışım sağlandı.

3.12. İstatistiksel Analiz

Araştırma verilerimizin istatistiksel değerlendirmesinde IBM SPSS 21.0 for windows istatistik paket programı kullanıldı. Ölçümsel değişkenler ortalama ± standart sapma (SD) ile sunuldu. Kategorik değişkenler sayı ve yüzde (%) ile sunuldu. Verilerin normal dağılıma uyup uymadığına Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri ile bakıldı. Normal dağılım göstermeyen dört işlemli değişkenlerin karşılaştırılmasında Freadman testi uygulandı. Değişkenler arasındaki ilişki için spearman korelasyon analizi yapıldı. Hipotezler çift yönlü olup, $p \leq 0.05$ ise istatistiksel olarak anlamlı sonuç kabul edildi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Çalışmamız üroloji polikliniğine mayıs 2014 ile temmuz 2015 tarihleri arasında infertilite, kasık ağrısı, testislerde şişme ve sarkma gibi şikayetlerle gelen ve varikosel tanısı konulan, 40 hasta bilgilendirilerek gönüllü onam formu alındı. Çalışmaya katılmayı kabul eden hastalardan alınan semen örneklerindeki spermiyumlar likefiye olduktan sonra WHO kriterleri esas alınarak sayı ve hareketi makler kamera ile morfolojileri Kruger kesin kriterleri baz alınarak spermac stain boyama tekniği ile ışık mikroskobunda değerlendirildi. Spermiyumların DNA fregmantasyonu için TUNEL Assay metodu kullanıldı. TEM (Tranmission Elektron Mikroskobu) ile spermiyumların membran bütünlüğü ve organellerin yapısı değerlendirildi.

4.1. Spermiyum Konsantrasyonu (Sayı) ve Motilite (Hareket) Bulguları

Varikosel ameliyatı öncesi üroloji polikliniğine başvuran hastaların yaş aralığı 15-30 arasında değişmekteydi. Bu hastaların yaş ortalaması 22.05±3.8 idi (Şekil 4.1). Hastaların semen miktarı ameliyat öncesi 1.0 ile 5,7 ml arasında değişirken semen miktarı ortalaması 2.43±0.92 ml bulunmuştur (Şekil 4.2). Hastaların % 85'i (34) normal sınırlar içinde semen miktarına sahip iken, % 15'inde (6) ise semen miktarı anormal hacimde idi. Anormal hastaların hepsinde hipospermi (semen miktarının normalden az olması) gözlendi. Ameliyat öncesinde hastaların semen pH'ları 7.3-8.2 aralıklarında olup 40 hastanın pH ortalaması 7.60±0.23 olarak bulunmuştur (Şekil 4.3).

Ameliyat öncesinde hastaların spermiyum sayısı 1.1-122 milyon/ml arasında değişirken spermiyum ortalaması 45.25±34.83 milyon/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.4). Spermiyum sayısı 1.1-15 milyon/ml arasında olan hasta sayısı 8 (% 20), 15-122 milyon/ml arasında olan hasta sayısı ise 32 (% 80) idi.

Ameliyat öncesinde hastaların A+B hareketli spermiyumların oranı % 3-70 arasında değişirken, ortalaması % 35.5±14.71 olarak bulunmuştur (Şekil 4.5). A+B hareketli spermiyumların oranı % 32'nin altında olan hasta (astenozoospermi) sayısı 16 (% 40), A+B hareketli spermiyumların oranı normal olan hasta sayısı ise 24 (% 60) idi. C hareketli spermiyumların ortalaması % 23±9.72 (Şekil 4.6), hareketsiz spermiyumların ortalaması ise % 41.5 ±13.96 olarak bulunmuştur (Şekil 4.7).

Varikosel ameliyatı sonrası 3. ayda üroloji polikliniğine kontrole gelen hastaların semen miktarı 1.2-5.0 ml arasında değişirken semen miktarı ortalaması

2.66±0.90 ml bulunmuştur (Şekil 4.2). Hastaların % 92.5'i (37) normal sınırlar içinde semen miktarına sahip iken, % 7.5'inde (3) ise semen miktarı anormal hacimde idi. Anormal hastaların hepsinde hipospermi gözlendi. Ameliyat sonrası 3. ayda hastaların semen pH'ları 7.3-8.0 aralıklarında olup pH ortalaması 7.58±0.17 bulunmuştur (Şekil 4.3).

Ameliyat sonrası 3. ayda hastaların spermiyum sayısı 4-135 milyon/ml arasında değişirken, ortalaması 48.85±35.73 milyon/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.4). Spermiyum sayısı 4-15 milyon/ml arasında olan hasta sayısı 4 (%10), 15-135 milyon/ml arasında olan hasta sayısı 36 (% 90) idi.

Bu dönemdeki hastaların A+B hareketli spermiyumlarının oranı % 0-74 arasında değişirken, ortalaması ise % 42,5±16.79 olarak bulunmuştur (Şekil 4.5). A+B hareketli spermiyum oranı % 32'nin altında olan hasta (astenozoospermi) sayısı 7 (% 17.5), A+B hareketli spermiyum oranı normal olan hasta sayısı 33 (% 82.5) idi. C hareketli spermiyumların ortalaması % 19±6.58 (Şekil 4.6), hareketsiz spermiyumların ortalaması ise % 37.5±15.43 olarak bulunmuştur (Şekil 4.7).

Varikosel ameliyatı sonrası 6. ayda üroloji polikliniğine kontrole gelen hastaların yaş ortalaması 23.05±3.78 (Şekil 4.1), semen miktarı 1.0 ile 4.5 ml arasında değişirken semen miktarı ortalaması 2.79±0.81 ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.2). Hastaların % 97.5'i (39) normal sınırlar içinde semen miktarına sahip iken, % 2.5'inde (1) semen miktarı anormal hacimde idi. Anormal hacimdeki hastada hipospermi gözlendi. Varikosel ameliyatı sonrası 6. ayda hastaların semen pH'ları 7.2-8.0 aralıklarında değişirken pH ortalaması 7.56±0.15 olarak bulunmuştur (Şekil 4.3).

Varikosel ameliyatı sonrası 6. ayda hastaların spermiyum sayısı 5-143 milyon/ml arasında değişirken ortalaması 51.72±32.82 milyon/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.4). Spermiyum sayısı 5-15 milyon/ml arasında olan hasta sayısı 3 (% 7.5), 15-143 milyon/ml arasında olan hasta sayısı 37 (% 92.5) idi.

Bu dönemdeki hastaların A+B hareketli spermiyum oranı % 4-65 arasında değişirken, ortalaması % 43±13.52 olarak bulunmuştur (Şekil 4.5). A+B hareketli spermiyum oranı % 32'nin altında olan hasta (astenozoospermi) sayısı 7 (% 17.5), A+B hareketli spermiyum oranı normal olan hasta sayısı 33 (% 82.5) idi. C hareketli spermiyumların ortalaması % 20±5.89 (Şekil 4.6), hareketsiz spermiyumların ortalaması ise % 37±13.94 olarak bulunmuştur (Şekil 4.7).

Varikosel ameliyatı sonrası 12. ayda üroloji polikliniğine kontrole gelen hastaların semen miktarı 1.4-5.0 ml arasında değişirken semen miktarı ortalaması 2.75±0.78 ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.2). Hastaların % 97.5'i (39) normal sınırlar içinde semen miktarına sahip iken, % 2.5'inde (1) semen miktarı anormal hacimde idi. Anormal hacimdeki hastada hipospermi gözlendi. Hastaların semen pH'ları 7.2-8.0 aralıklarında değişirken pH ortalaması 7.57±0.11 olarak bulunmuştur (Şekil 4.3).

Ameliyat sonrası 12. ayda hastaların spermiyum sayısı 4-110 milyon/ml arasında değişirken, ortalaması 49.6±28.05 milyon/ml olarak bulunmuştur (Şekil 4.4). Spermiyum sayısı 4-15 milyon/ml arasında olan hasta sayısı 8 (% 20), 15-110 milyon/ml arasında olan hasta sayısı 32 (% 80) idi.

Ameliyat sonrası 12. aydaki hastaların A+B hareketli spermiyum oranı % 5-74 arasında değişirken, ortalaması % 44±14.75 olarak bulunmuştur (Şekil 4.5). A+B hareketli spermiyumların oranı % 32'nin altında olan hasta (astenozoospermi) sayısı 5 (% 12.5), A+B hareketli spermiyum oranı normal olan hasta sayısı 35 (% 87.5) idi. C hareketli spermiyumların ortalaması % 23±7.33 (Şekil 4.6), hareketsiz spermiyumların ortalaması % 33±12.74 olarak bulunmuştur (Şekil 4.7).

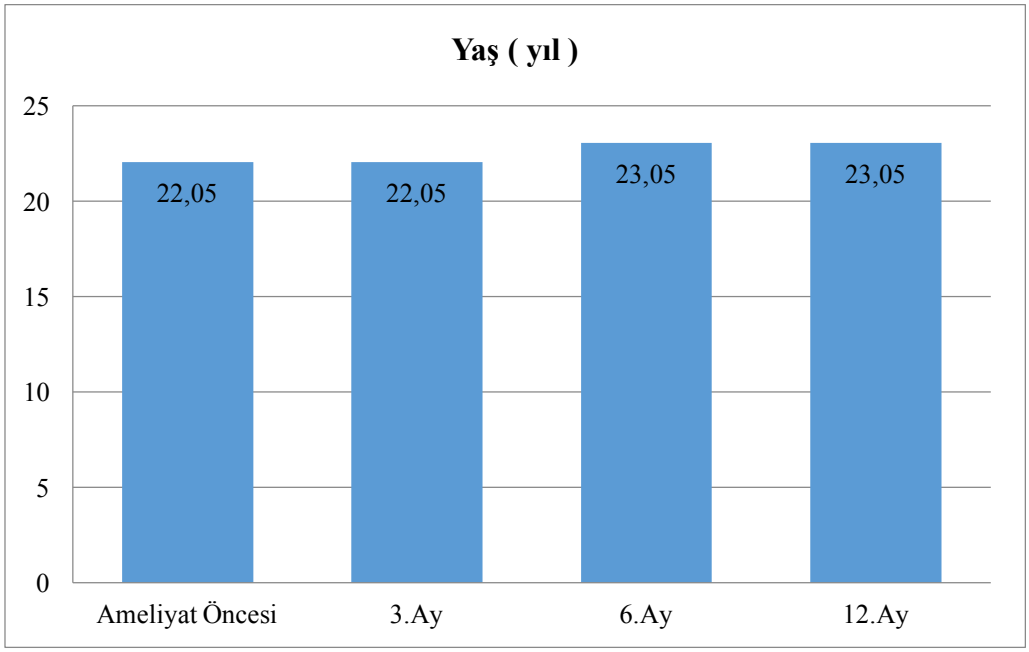
Tüm gruplardan elde edilen veriler karşılaştırıldığında hastaların yaş ortalamaları ($p<0.001$), semen volümleri ($p<0.05$), A+B hareket yüzdeleri ($p<0.05$) ve D hareket yüzdeleri ($p<0.05$) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. Varikosel ameliyatı öncesi ile sonrası arasında ortalama spermiyum sayılarında artış olduğu halde, tüm grupların spermiyum sayıları ($p>0.05$), C hareket yüzdeleri ($p>0.05$) ve pH ortalamaları ($p>0.05$) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

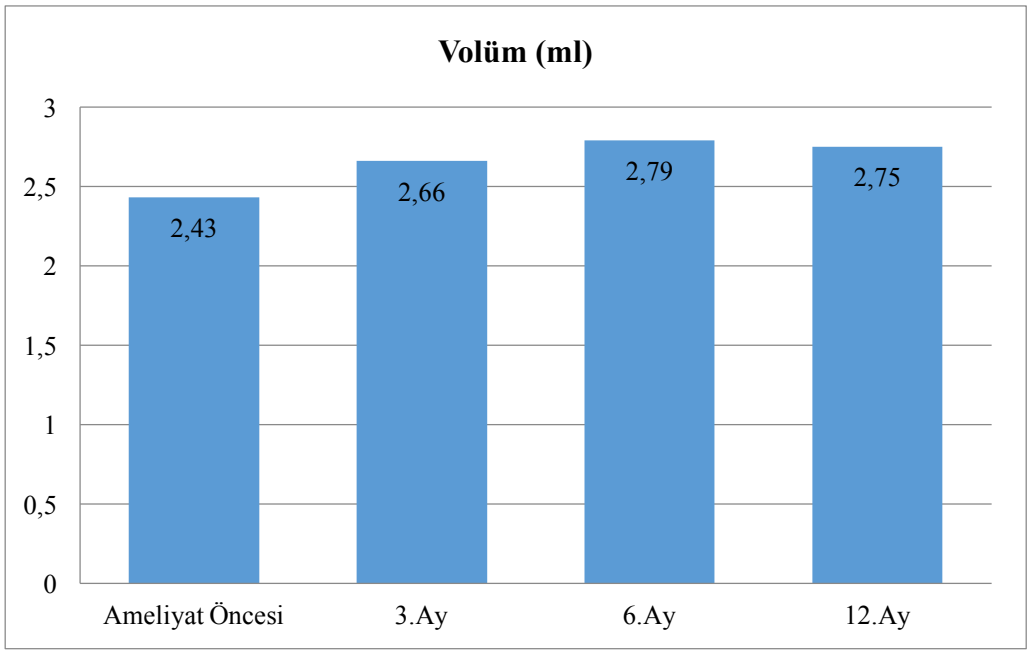
Çizelge 4. 1. Çalışmaya alınan hastaların yaşı, semenin volümü, pH, sayı ve hareket % lerinin aritmetik ortalaması, standart sapması, minimum-maximum değerleri ve P değerinin büyüklüğü

Parametreler	Ortalama±SD	Min-Mak	P değeri
Yaş A.Ö (yıl)	22.05±3.78	22(15-30)	P<0.001
Yaş 3. ay (yıl)	22.05±3.78	22(15-30)	
Yaş 6. ay (yıl)	23.05±3.78	23(16-31)	
Yaş 12. ay (yıl)	23.05±3.78	23(16-31)	
Volüm A.Ö (ml)	2.43±0.92	2.5(1.0-5.7)	P<0.05
Volüm 3. ay (ml)	2.66±0.90	2.75(1.2-5.0)	
Volüm 6. ay (ml)	2.76±0.81	3.0(1.0-4.5)	
Volüm 12. ay (ml)	2.75±0.78	3.0(1.4-5.0)	
pH A.Ö	7.63±0.22	7.6(7.3-8.2)	P>0.05
pH 3. ay	7.58±0.17	7.6(7.3-8.0)	
pH 6. ay	7.56±0.15	7.6(7.2-8.0)	
pH 12. ay	7.57±0.11	7.6(7.2-8.0)	
Sayı A.Ö (milyon/ml)	45.25±34.83	33.50(1.10-122)	P>0.05
Sayı 3. ay (milyon/ml)	48.85±35.73	38.0(4-135)	
Sayı 6. ay (milyon/ml)	51.72±32.82	38.5(5-143)	
Sayı 12. ay (milyon/ml)	49.63±28.05	46(4-110)	
Hareket A+B A.Ö (%)	35.5±14.71	34(3.0-70.0)	P<0.05
Hareket A+B 3. ay (%)	42.65±16.80	41(0-74.0)	
Hareket A+B 6. ay (%)	43.02±13.52	42(4.0-65.0)	
Hareket A+B 12. ay (%)	44.05±14.76	45(5.0-74.0)	
Hareket C A.Ö (%)	23.07±9.72	21.5(6.0-57.0)	P>0.05
Hareket C 3. ay (%)	19.82±6.58	18.5(5.0-38.0)	
Hareket C 6. ay (%)	20.07±5.90	20(8.0-32.0)	
Hareket C 12. ay (%)	23.37±7.33	23(10-46)	
Hareket D A.Ö (%)	41.42±13.96	39(15.0-76.0)	P<0.05
Hareket D 3. ay (%)	37.52±15.43	37(15.0-93.0)	
Hareket D 6. ay (%)	37.02±13.94	37(9.0-84.0)	
Hareket D 12. ay (%)	32.82±12.74	33(14.0-78.0)	

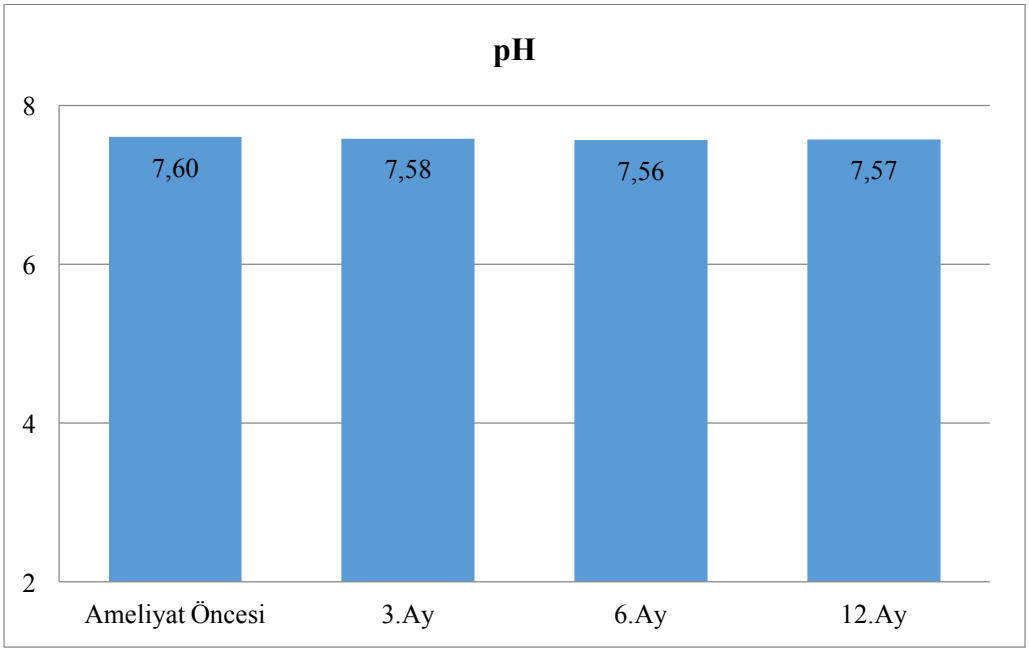
A.Ö: Ameliyat Öncesi, S D: Standart Sapma, Min: Minimum değer, Mak: Maksimum değer, P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ifade etmektedir.



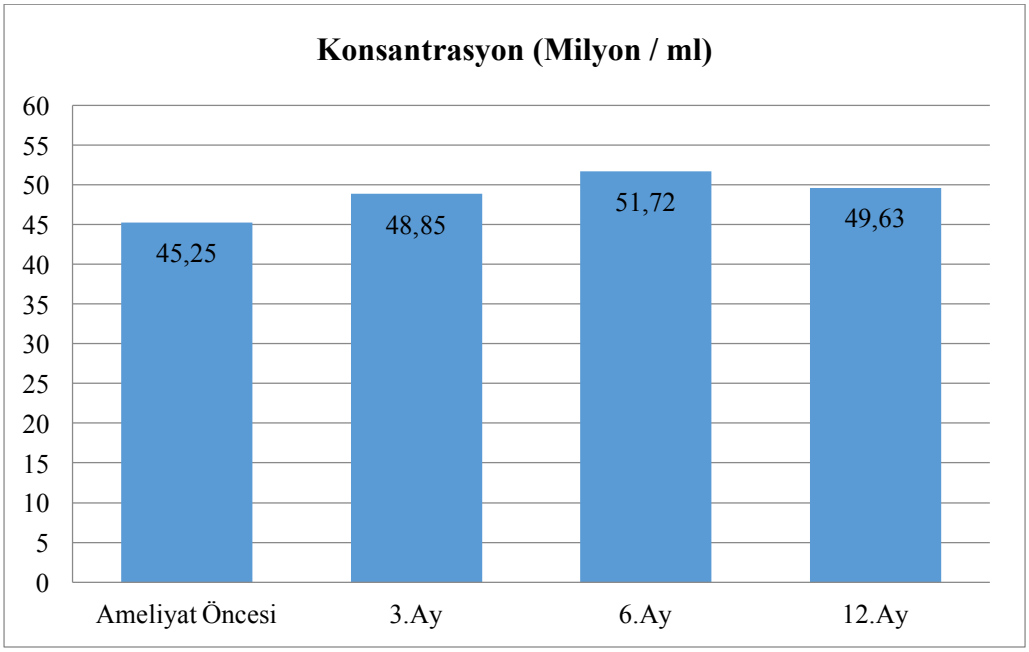
Şekil 4.1. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların yaş ortalaması (P<0.001)



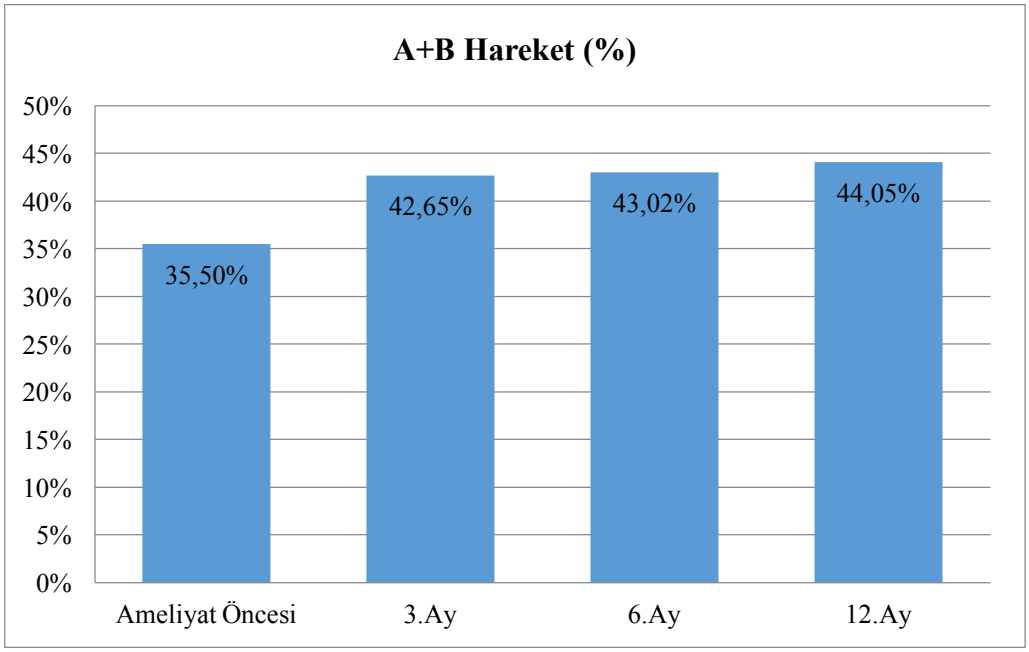
Şekil 4.2. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların dönemlere göre ortalama semen miktarlarının dağılımı (P<0.05)



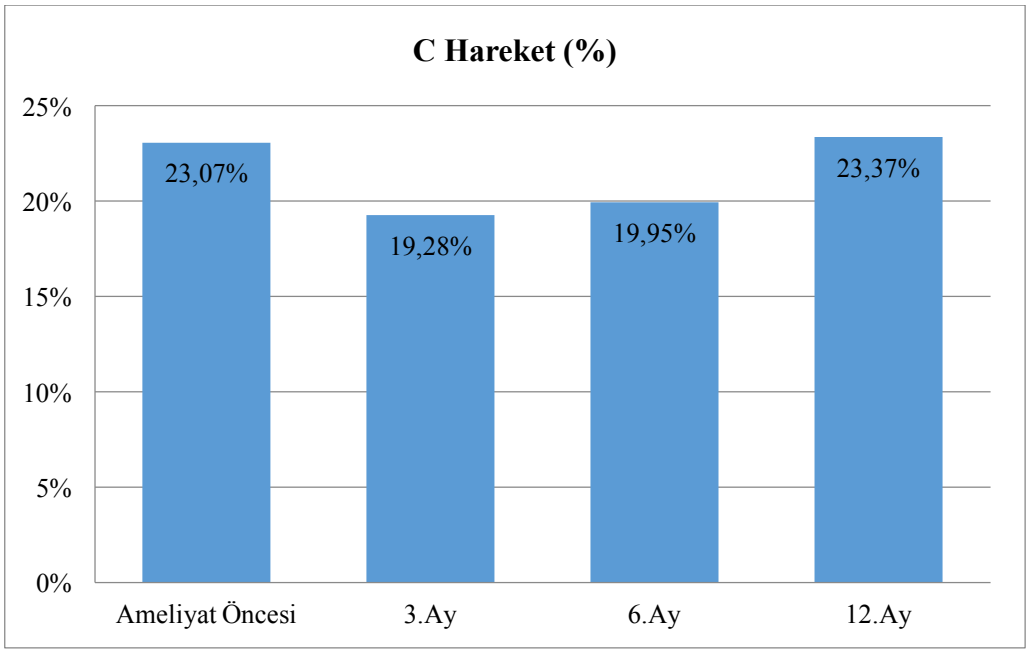
Şekil 4.3. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların dönemlere göre ortalama pH dağılımı (P>0.05)



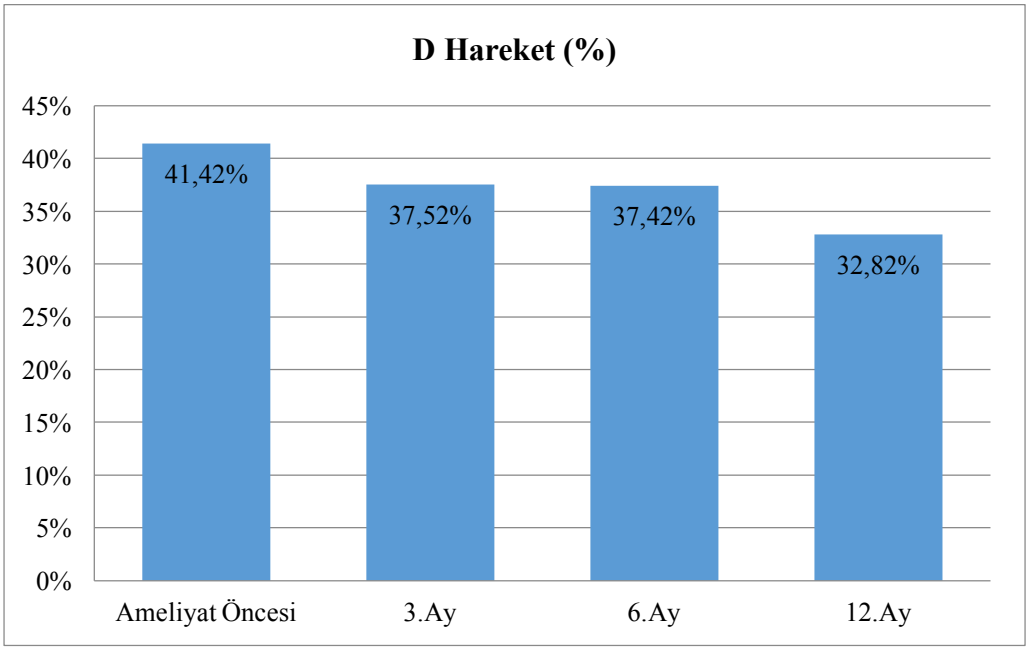
Şekil 4.4. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların spermiyum konsantrasyon ortalamalarının dönemlere göre dağılımı (P>0.05)



Şekil 4. 5. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların A+B hareketli spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı (P<0.05)



Şekil 4. 6. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların C hareketli spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı (P>0.05)



Şekil 4.7. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların D hareketli spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı (P<0.05)

4.2. Spermiyumların Morfolojik Bulguları

Günümüzde spermiyum morfolojisi incelenmesi için gereken minimum hücre sayısı 100 olarak kabul edilmektedir. Bu çalışmada, spermiyum morfolojisinin değerlendirilmesinde Kruger'in kesin kriterleri baz alınarak spermac stain boyama yöntemi kullanılmıştır. Boyama sonucu, spermiyum başındaki akrozom pembe, çekirdek koyu lacivert, kuyruk ise hafif pembemsi olarak boyanmıştır. Tanı koymada, spermiyum başı, akrozom yapısı, boyun ve kuyruk yapıları değerlendirilmiştir.

Varikosel ameliyatı öncesi spermiyumların morfolojik yapısının değerlendirilmesinde tüm hastaların spermiyumlarının normal morfoloji ortalaması % 3.15±2.99 (Şekil 4.8), anormal morfoloji gösteren spermiyumların ortalaması % 96.85±2.99 olarak bulunmuştur (Şekil 4.9), Ameliyat öncesi 7 (% 17.5) hastada spermiyumların morfolojisi % 4'ten büyük yani normozoospermi (normal morfoloji gösteren spermiyumlar) bulunurken, 33 (% 82.5) hastada ise teratozoospermi (anormal morfolojiye sahip spermiyumlar) tespit edilmiştir.

Değerlendirmeye aldığımız tüm spermiyumlarda anormal başa sahip spermiyumların ortalaması % 36.7±7.13 idi (Şekil 4.10). Spermiyumlarda baş anomalileri büyük baş, küçük baş, yuvarlak baş, armut (priform) şekilli baş, uzun (elonge) baş, uzun sivri (tapered) baş, amorf baş, çift baş ve başsız (pinhead)

şekillerindedir. Büyük baş anomalisi görülen spermiyumlarda, başın eni ve boyu normal spermiyumlara göre fazla olup yuvarlak bir görünümdedir (Şekil 4.24). Başın küçük olduğu spermiyumlarda, başın eni ve boyu normal spermiyumlara göre küçüktür (Şekil 4.20). Uzun baş (elonge) anomalisi görülen spermiyumlarda, başın eni uzunluğuna göre daralmıştır (Şekil 4.19). Armut şekilli (priform) baş anomalisi görülen spermiyumlarda, baş bölgesi uçta kalın olup boyun bölgesine doğru inceldiğinden armut şeklini almıştır (Şekil 4.20, 4.26). Tapered (sivri baş) baş ise spermiyumların başı uçlara doğru daralıp sivri bir görünüm kazanmıştır (Şekil.4.21, 4.23). Başsız (pinehead) spermiyumlarda ise baş yoktur veya nokta şeklindedir (Şekil.4.22, 4.23). Çift başlı spermiyumlarda, başlar birbirine yapışık olup tek bir kuyruk mevcuttur (Şekil.4.16, 4.20). Amorf baş anomalisi görülen spermiyumlarda, spermiyum başının görünümü bozulduğundan oval şekilli yapısı kaybolmuştur **(**Şekil.4.17, 4.26).

Çalışmamızdaki varikoselli hastaların spermiyumlarının tamamında akrozom anomalileri bulunmaktaydı ve 40 hastanın akrozom anomali ortalaması ameliyat öncesi dönemde % 21.4±7.12 olarak bulunmuştur (Şekil 4.11). Akrozomlarda; büyük akrozom, küçük akrozom, vakuollü akrozom ve akrozomun bulunmaması şeklinde anomaliler gözlenmiştir. Büyük akrozomlu spermiyumlarda, akrozom baş bölgesinin 2/3'ünden fazlasını (Şekil.4.15, 4.18), küçük akrozomlu spermiyumlarda, baş bölgesinin 2/5'inden daha azını kaplar (Şekil.4.16, 4.17). Başın ön ve yan bölgesinde bulunan akrozom, spermac stain ile yapılan boyama metodunda pembe olarak boyanır. Spermiyumların bazılarında çekirdek içinde açık bölgelerin olduğu açık alanlar nüklear vakuollerini olşturuyordu. Bazı spermiyumlarda ise, baş bölgesinin tamamen çekirdek tarafından doldurulduğu görülmekteydi. Bu tip spermiyumlar akrozomsuz spermiyum olarak tanımlandı (Şekil.4.16, 4.20).

Ameliyat öncesi incelenen varikoselli hastaların spermiyumlarının tamamında boyun anomalisi mevcuttu. Bu hastalarda, boyun anomalisi görülen spermiyumların ortalaması % 18.6±4.98 olarak bulunmuştur (Şekil 4.12). Boyun anomalileri ya kırık boyun (Şekil.4.15, 4.18) ya da boyun bölgesi üzerinde sitoplazmik artıkların (Şekil.4.16, 4.25) görülmesi şeklindeydi.

Çalışmaya dahil edilen hastaların spermiyumlarının tamamında kuyruk anomalisi mevcut olup ameliyat öncesi dönemde kuyruk anomalisine sahip spermiyumların ortalaması % 13.8±7.49 idi (Şekil 4.13). Spermiyumların kuyruk

anomalileri, kuyruğun uzunluğuna, kalınlığına, sayısına ve şekline göre değerlendirildi. Spermiyum kuyruğu kısa ise kısa kuyruk (Şekil 4.24), kuyruk kalınlığı normalden daha fazla kalın görünüyorsa kalın kuyruk olarak değerlendirildi. Çift kuyrukta ise, spermiyumun boynundan itibaren iki kuyruk çatallanmaktadır (Şekil 4.18, 4.21). Dağ defekti anomalisinde ise baş ortada yer alırken kuyruk, başın etrafında halka şeklinde görünmekteydi (Şekil 4.15, 4.18). Kuyruk anomalilerden biri de kuyruğun linear olmayıp kıvrık şeklinde olmasıdır (Şekil 4.23).

Bazı spermiyumlarda mixt anomali dediğimiz birden fazla anomalinin aynı spermiyum üzerinde görülmesi söz konusu olabilir. Yani bir spermiyum hem baş anomalisi hem akrozom hem de kuyruk anomalisi taşıyabilir. Ameliyat öncesi dönemde sadece 1 (% 2.5) hastada mixt anomali gözlenmezken, 39 (% 97.5) hastada mixt anomali gözlenmiştir. Ameliyat öncesinde mixt anomalisine sahip spermiyumların ortalaması % 6.3±3.25 olarak bulunmuştur (Şekil 4.14).

Ameliyat sonrası 3. ayda spermiyumların morfolojik yapısının değerlendirilmesinde tüm hastaların spermiyumlarının normal morfoloji ortalaması % 3.20±2.83 (Şekil 4.8), anormal morfoloji gösteren spermiyumların ortalaması % 96.80±2.83 olarak bulunmuştur (Şekil 4.9). Ameliyat öncesi 7 (% 17.5) hastada spermiyumların morfolojisi % 4'ten büyük yani normozoospermi bulunurken, 33 (% 82.5) hastada normal morfoloji % 4'ten küçük olduğu için teratozoospermi olarak değerlendirilmiştir. Ameliyat sonrası 3. ayda incelenen varikoselli hastaların tamamı baş anomalisine sahip spermiyum içeren semene sahipti. Bu gruptaki hastalarda baş anomalisi olan spermiyumlar toplam spermiyumların % 35.3±5.47'ünü oluşturmuştur (Şekil 4.10). Akrozom anomalisi % 20.3±5.27 (Şekil 4.11), boyun anomalisi % 17.5±3.92 (Şekil 4.12), kuyruk anomalisi % 15.3±5.74 (Şekil 4.13) ve mixt anomali % 8.4±3.41 olarak bulunmuştur (Şekil 4.8).

Varikosel amliyatı sonrası 6. ayda spermiyumların morfolojik yapısının değerlendirilmesinde tüm hastalarda normal morfoloji gösteren spermiyumların ortalaması % 2.97±2.61 (Şekil 4.8), anormal morfoloji gösteren spermiyumların ortalaması % 97.03±2.61 olarak bulunmuştur (Şekil 4.9), Ameliyat sonrası 6. ayda 6 (% 15) hastada spermiyumların morfolojisi % 4'ten büyük yani normozoospermi gösterirken, 34 (% 85) hastada ise teratozoospermi tespit edilmiştir. Ameliyat sonrası 6. ayda incelenen varikoselli hastaların tamamı baş, akrozom, boyun, kuyruk ve mixt

anomalilerine sahip spermiyum içeren semene sahipti. Bu gruptaki hastalarda baş anomalisi olan spermiyumlar toplam spermiyumların % 37.2±4.43'sini (Şekil 4.10) oluştururken, akrozom anomalisi % 19.1±4.44 (Şekil 4.11), boyun anomalisi % 16.7±4.50 (Şekil 4.12), kuyruk anomalisi % 17.2±4.60 (Şekil 4.13) ve mixt anomali % 6.9±3.25 (Şekil 4.14) olarak tespit edilmiştir.

Ameliyat sonrası 12. ayda spermiyumların morfolojik yapısının değerlendirilmesinde tüm hastaların normal morfoloji gösteren spermiyumların ortalaması % 3.27±2.50 iken (Şekil 4.8), anormal morfoloji gösteren spermiyumların ortalaması % 96.73±2.25 olarak bulunmuştur (Şekil 4.9). Ameliyat sonrası 12. ayda 7 (% 17.5) hastada spermiyumların morfolojisi % 4'ten büyük yani normozoospermi gösterirken, 33 (% 82.5) hastada ise spermiyumların morfolojisi % 4'ten küçük olduğu için teratozoospermi olarak değerlendirilmiştir. Ameliyat sonrası 12. ayda incelenen varikoselli hastaların semenlerinin tamamında spermiyumlarda baş, akrozom, boyun, kuyruk ve mixt anomalileri mevcuttu. Bu gruptaki hastalarda baş anomalisi olan spermiyumlar toplam spermiyumların % 37.0±3.94'sini (Şekil 4.10) oluştururken, akrozom anomalisi % 18.2±4.23'sini (Şekil 4.11), boyun anomalisi % 16.57±3.59'sini (Şekil 4.12), kuyruk anomalisi % 18.4±4.0'ünü (Şekil 4.13) ve mixt anomali % 6.55±2.85'ini (Şekil 4.14) oluşturmuştur.

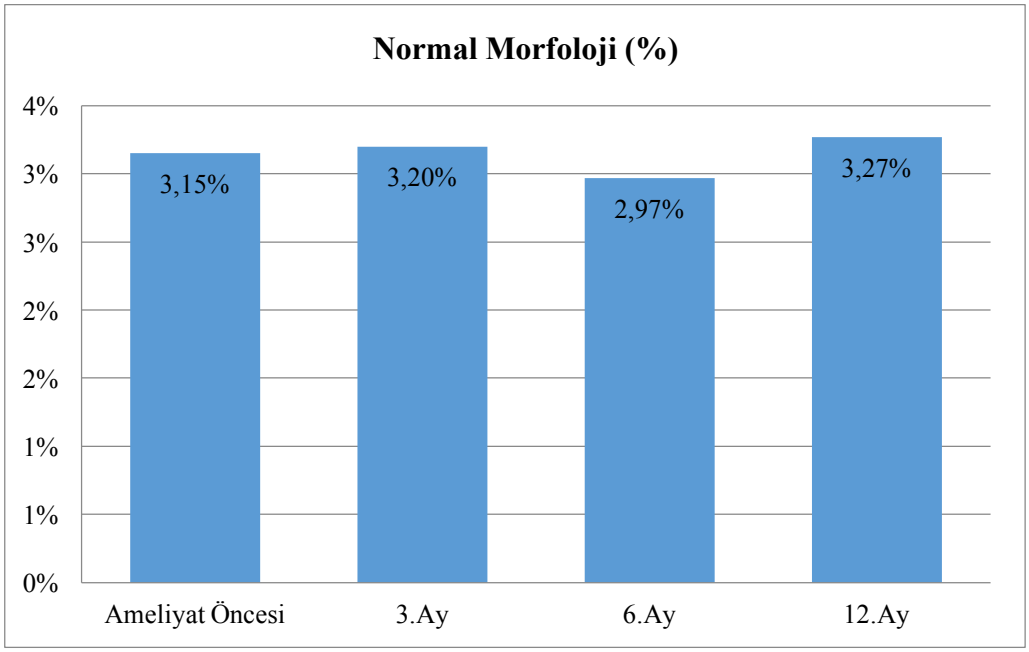
Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası tüm grupların spermiyum morfolojileri istatistiksel olarak değerlendirildiğinde normal morfoloji ($p>0.05$), anormal morfoloji ($p>0.05$), baş anomalisi ($p>0.05$), boyun anomalisi ($p>0.05$) olduğundan ameliyat öncesi ve sonrasındaki dönemlerde anlamlı bir fark bulunmamıştır. Akrozom anomalisi ($p<0.05$), mixt (karışık) anomali ($p<0.05$) ve kuyruk anomalisi ($p<0.001$) olduğundan ameliyat öncesi ile sonrası arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

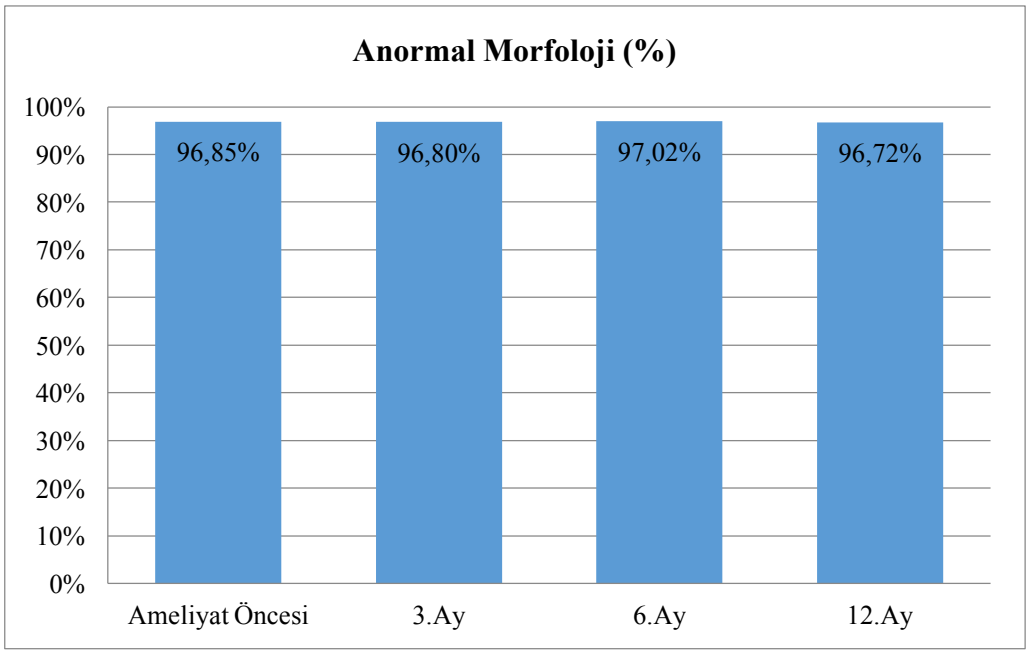
Çizelge 4.2. Çalışmaya alınan hastaların normal morfoloji, anormal morfoloji, baş anomalisi, akrozom anomalisi, boyun anomalisi, kuyruk anomalisi ve mixt (karışık) anomali değerleri ve P değerinin büyüklüğü

Parametreler	Ortalama±SD	Min-Mak değer	P değeri
Normal Morfoloji A.Ö (%)	3.15±3.0	2(0-12.0)	P>0.05
Normal Morfoloji 3. ay (%)	3.20±2.83	2(0.13.0)	
Normal Morfoloji 6. ay (%)	2.97±2.61	2(0-13.0)	
Normal Morfoloji 12. ay (%)	3.27±2.50	3(1.0-10.0)	
Anormal Morfoloji A.Ö (%)	96.85±2.99	98(88.0-100.0)	P>0.05
Anormal Morfoloji 3. ay (%)	96.80±2.83	98(87.0-100.0)	
Anormal Morfoloji 6. ay (%)	97.02±2.61	98(87.0-100.0)	
Anormal Morfoloji 12. ay (%)	96.90±2.25	97(90.0-99.0)	
Baş Anomalisi A.Ö (%)	36.67±7.13	37(23.0-53.0)	P>0.05
Baş Anomalisi 3. ay (%)	35.35±5.47	35(25.0-48.0)	
Baş Anomalisi 6. ay (%)	37.27±4.43	38(25.0-45.0)	
Baş Anomalisi 12. ay (%)	37.05±3.94	37(30.0-48.0)	
Akrozom Anomalisi A.Ö (%)	21.45±7.12	21(8.0-38.0)	P<0.05
Akrozom Anomalisi 3. ay (%)	20.3±5.27	21(7.0-32.0)	
Akrozom Anomalisi 6. ay (%)	19.17±4.43	18.5(8.0-29.0)	
Akrozom Anomalisi 12.ay (%)	18.2±4.23	18(11.0-29.0)	
Boyun Anomalisi A.Ö (%)	18.6±4.98	19.5(9.0-28.0)	P>0.05
Boyun Anomalisi 3. ay (%)	17.57±3.92	18(9.0-26.0)	
Boyun Anomalisi 6. ay (%)	16.67±4.50	16(11.0-32.0)	
Boyun Anomalisi 12. ay (%)	16.57±3.59	16.5(10.0-26.0)	
Kuyruk Anomalisi A.Ö (%)	13.82±7.49	12(5.0-45.0)	P<0.001
Kuyruk Anomalisi 3. ay (%)	15.35±5.74	14(8.0-33.0)	
Kuyruk Anomalisi 6. ay (%)	17.22±4.59	17.5(8.0-27.0)	
Kuyruk Anomalisi 12. ay (%)	18.4±3.99	19(9.0-26.0)	
Mixt Anomali A.Ö (%)	6.32±3.25	6.5(0-14.0)	P<0.05
Mixt Anomali 3. ay (%)	8.4±3.41	8(3.0-17.0)	
Mixt Anomali 6. ay (%)	6.87±3.25	6.5(0-16.0)	
Mixt Anomali 12. ay (%)	6.55±2.85	6(3.0-15.0)	

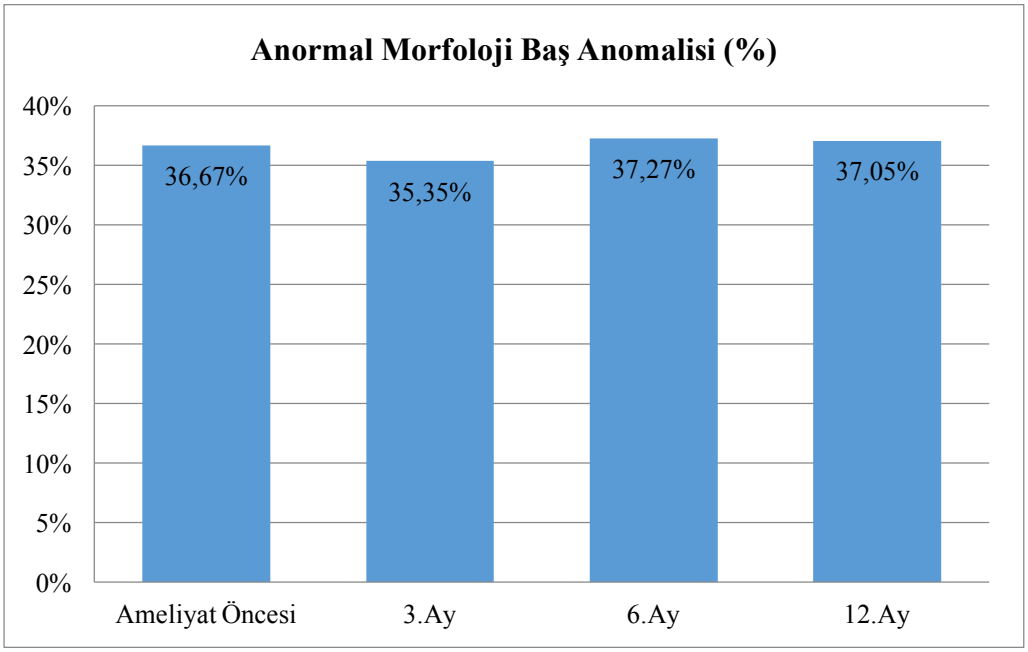
A.Ö: Ameliyat Öncesi, S D: Standart Sapma, Min: Minimum değer, Mak: Maksimum değer, P<0,05 istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ifade etmektedir.



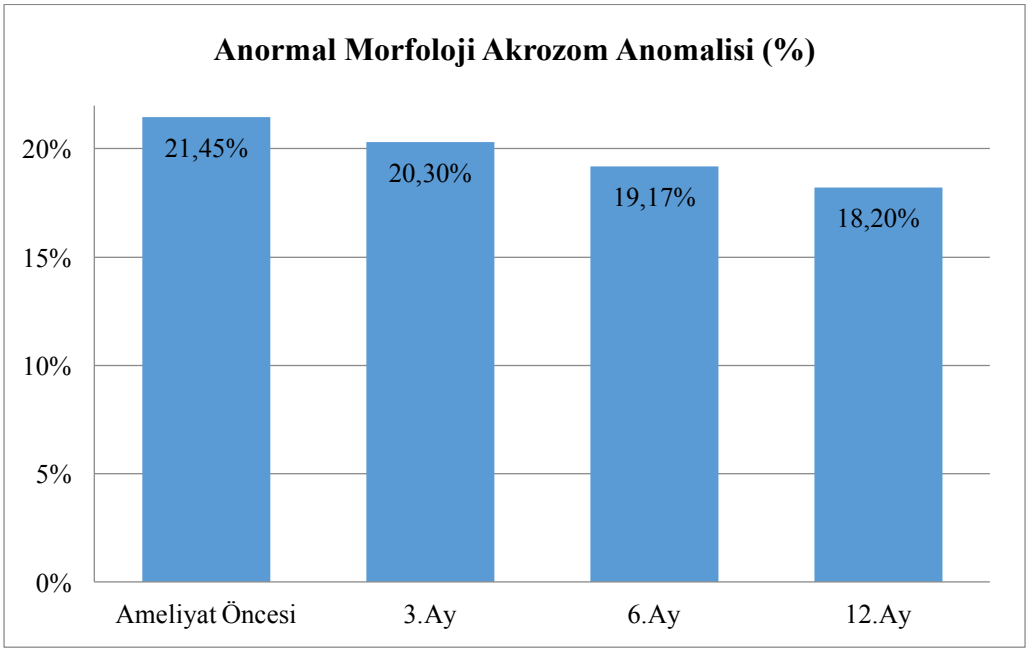
Şekil 4. 8. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların normal morfoloji gösteren spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı (P>0.05)



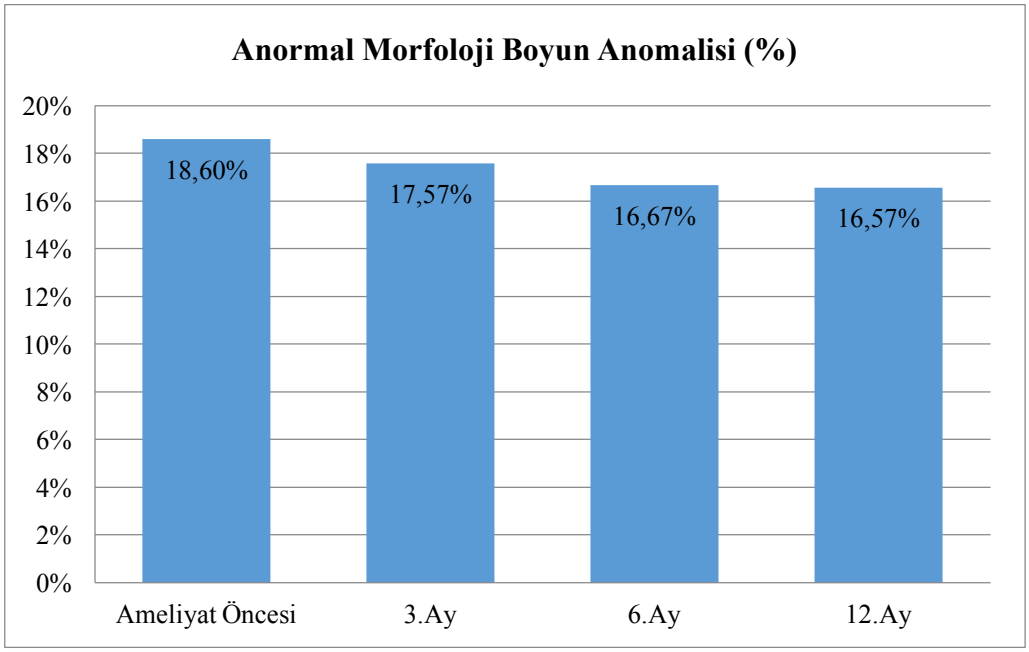
Şekil 4. 9. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların anormal morfoloji gösteren spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı (P>0.05)



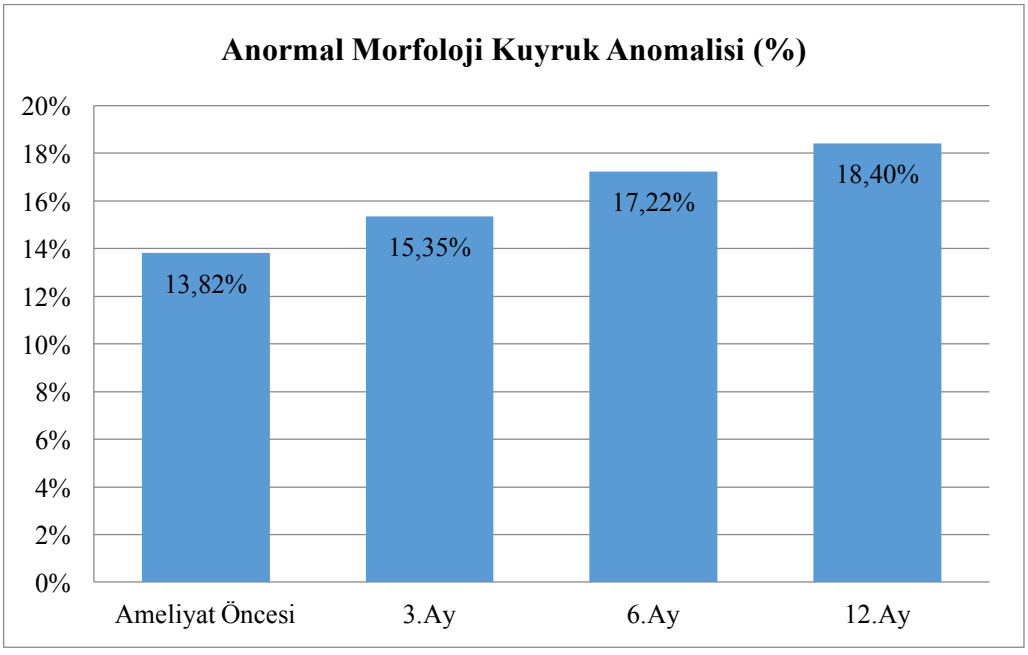
Şekil 4.10. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların anormal morfolojili baş anomalisi gösteren spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı (P>0.05)



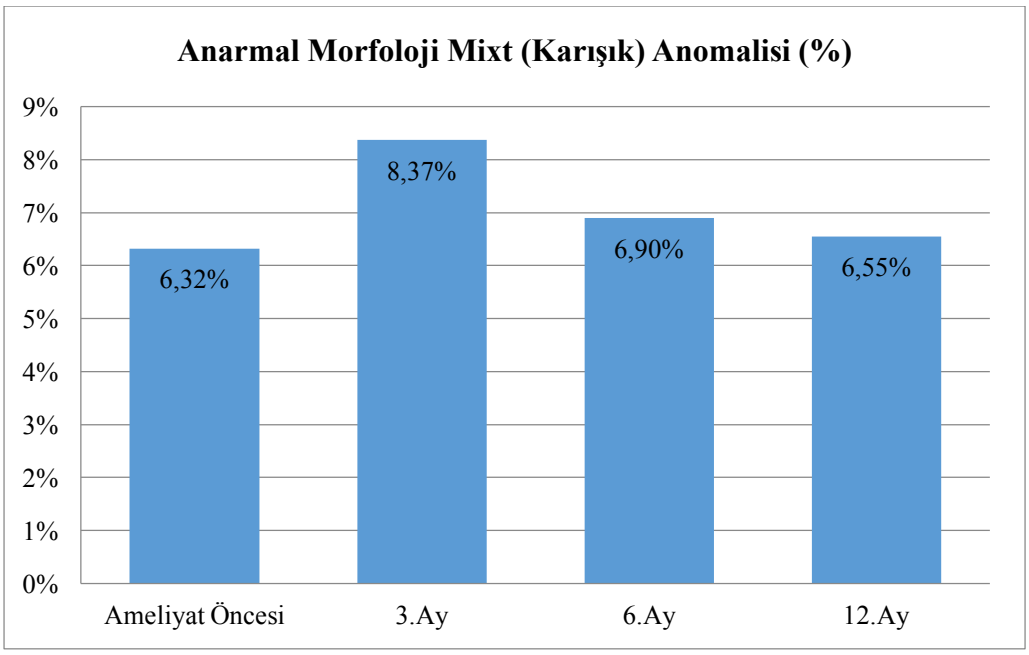
Şekil 4.11. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların anormal morfolojili akrozom anomalisi gösteren spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı (P<0.05)



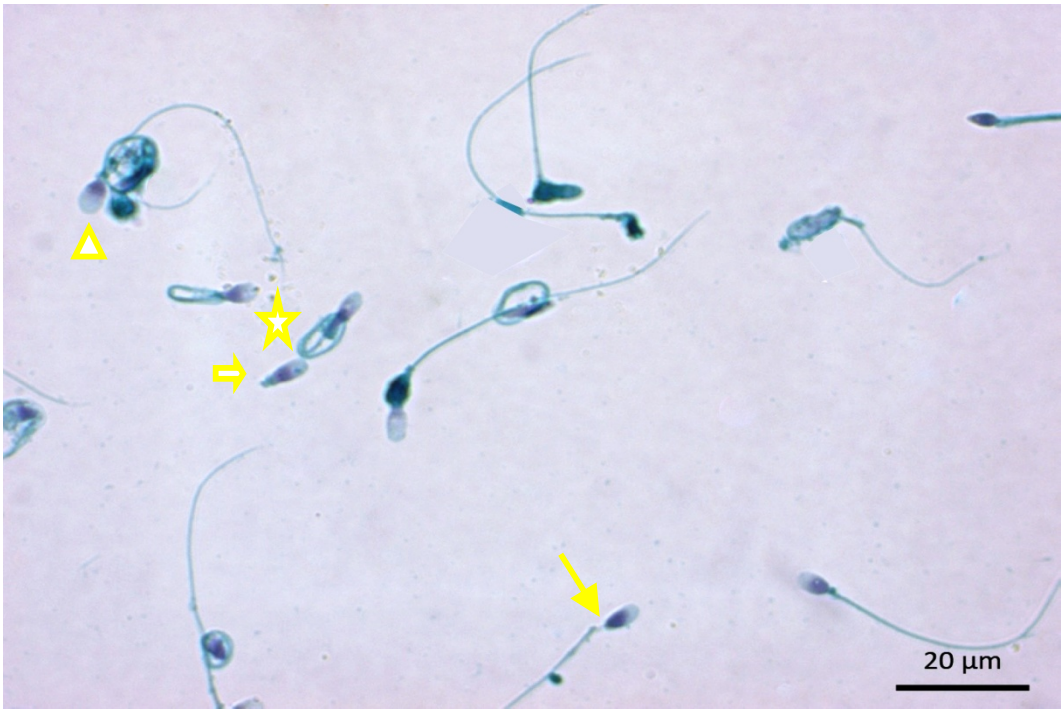
Şekil 4.12. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların anormal morfolojili boyun anomalisi gösteren spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı (P>0.05)



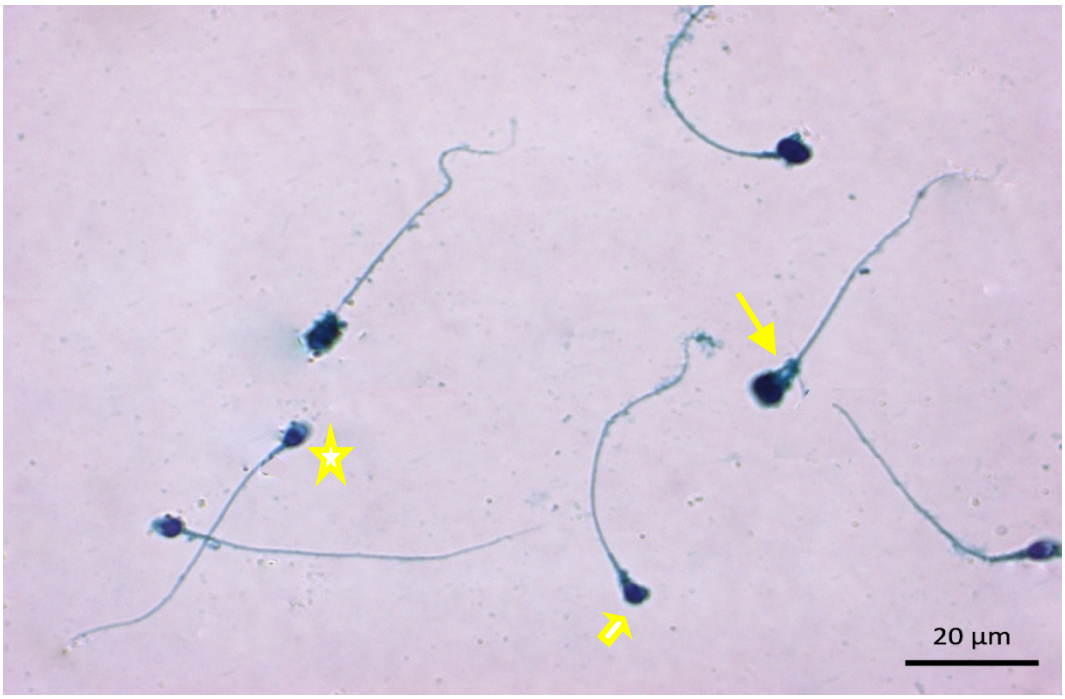
Şekil 4.13. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların anormal morfolojili kuyruk anomalisi gösteren spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı (P<0.001)



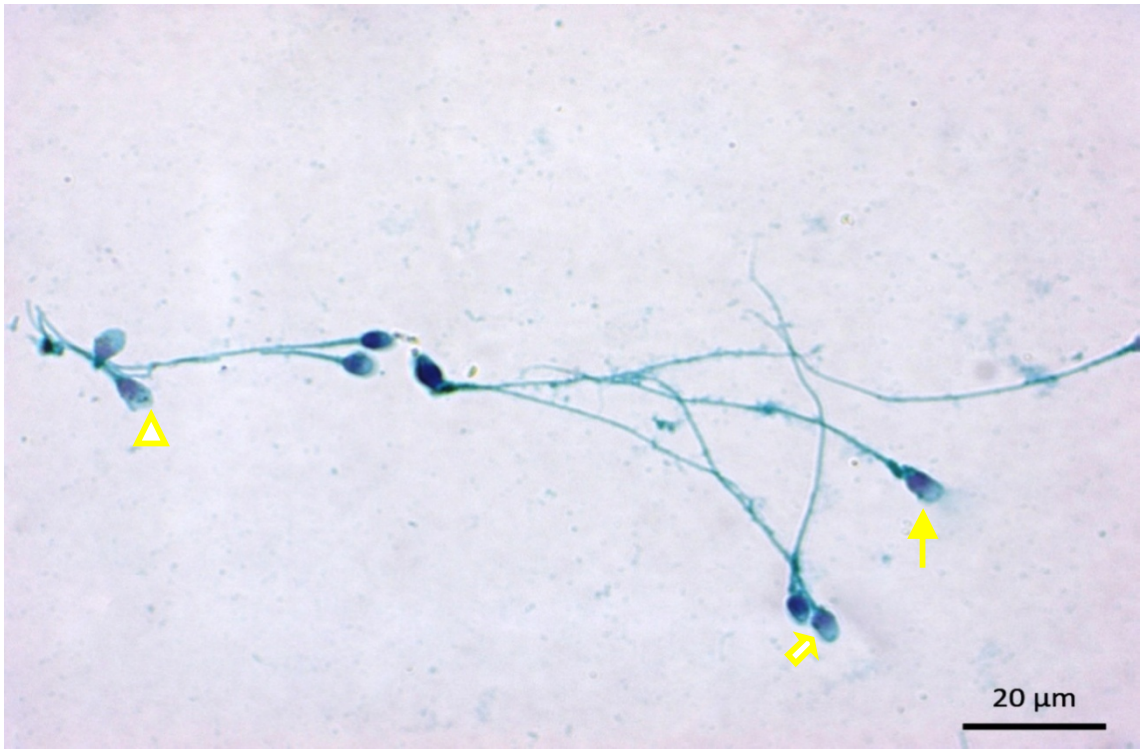
Şekil 4.14. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların anormal morfolojili mixt (karışık) anomalisi gösteren spermiyum ortalamalarının dönemlere göre dağılımı ($P<0.05$)



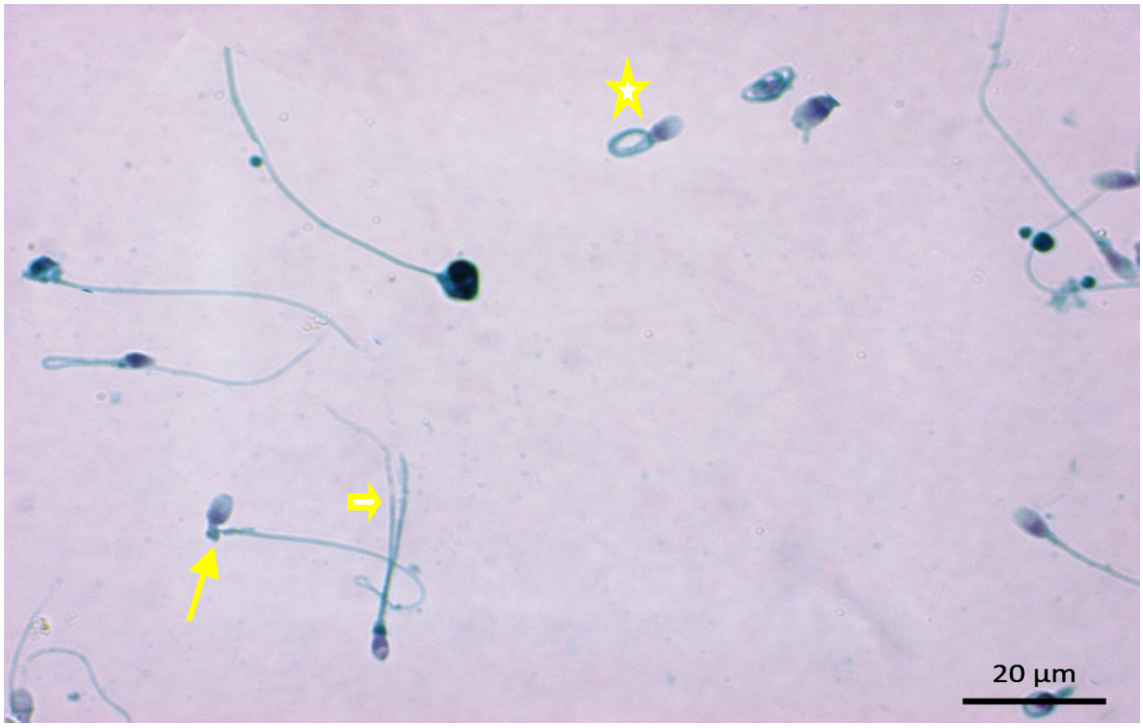
Şekil 4. 15. Ameliyat öncesi spermiyum morfolojileri; Kuyruksuz (ok başı), baş ile boyun aynı aks üzerinde değil (ok), baş etrafında dolanan kuyruk (yıldız), yuvarlak ve büyük akrozomlu spermiyum (üçgen),(Spermac Stain, X100)



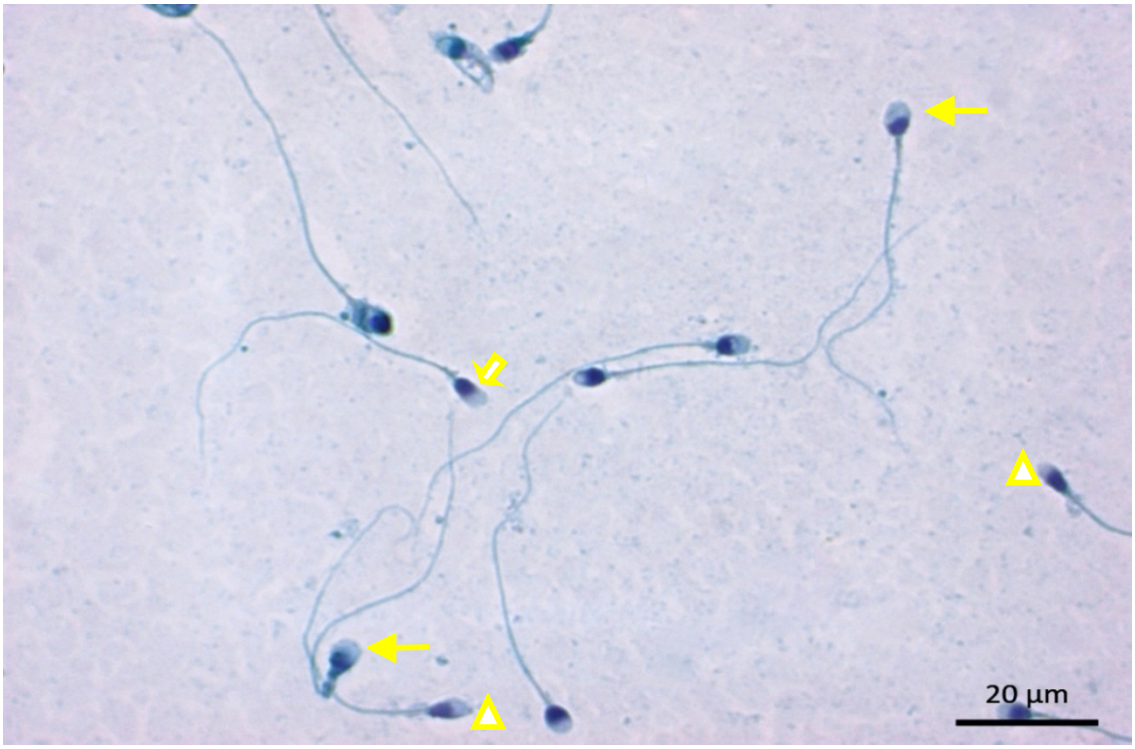
Şekil 4.16. Ameliyat öncesi spermiyum morfolojileri; çift başlı (ok), akrozomsuz, boyunda stoplazmik artıklı küçük baş (ok başı), küçük akrozomlu (yıldız) spermiyum, (Spermac Stain, X100)



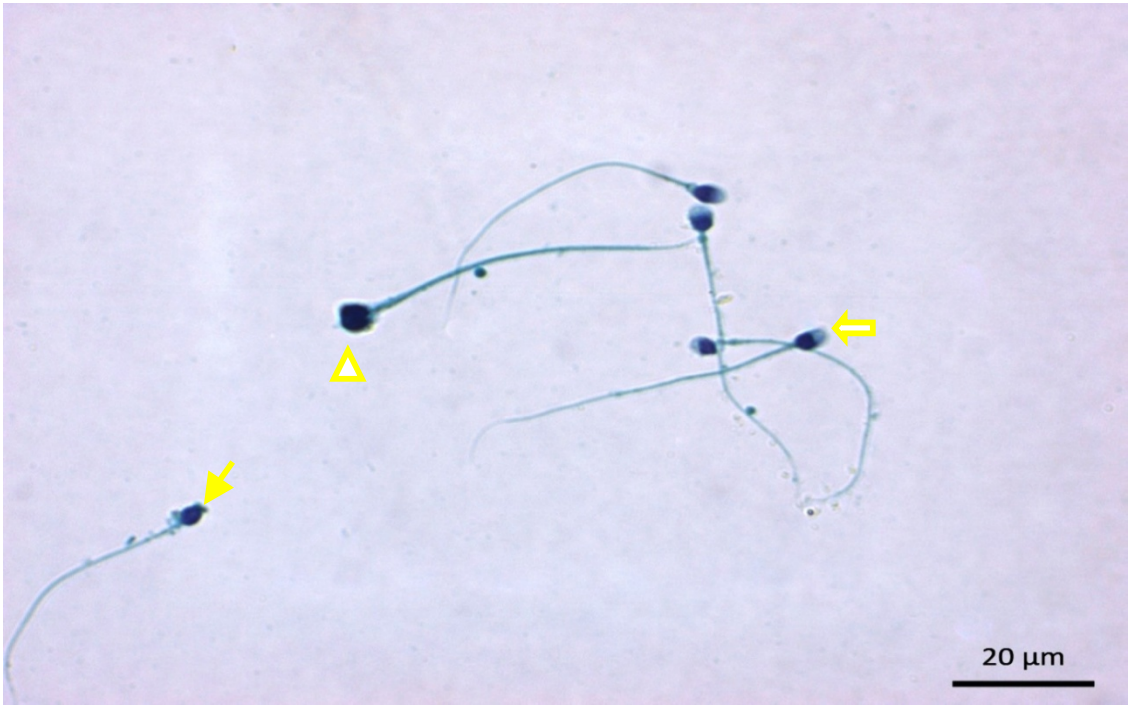
Şekil 4.17. Ameliyat öncesi spermiyum morfolojileri; amorf başlı (üçgen), küçük akrozomlu (ok başı), boyunda stoplazmik artık ve kırık boynlu (ok) spermiyumlar, (Spermac Stain, X100)



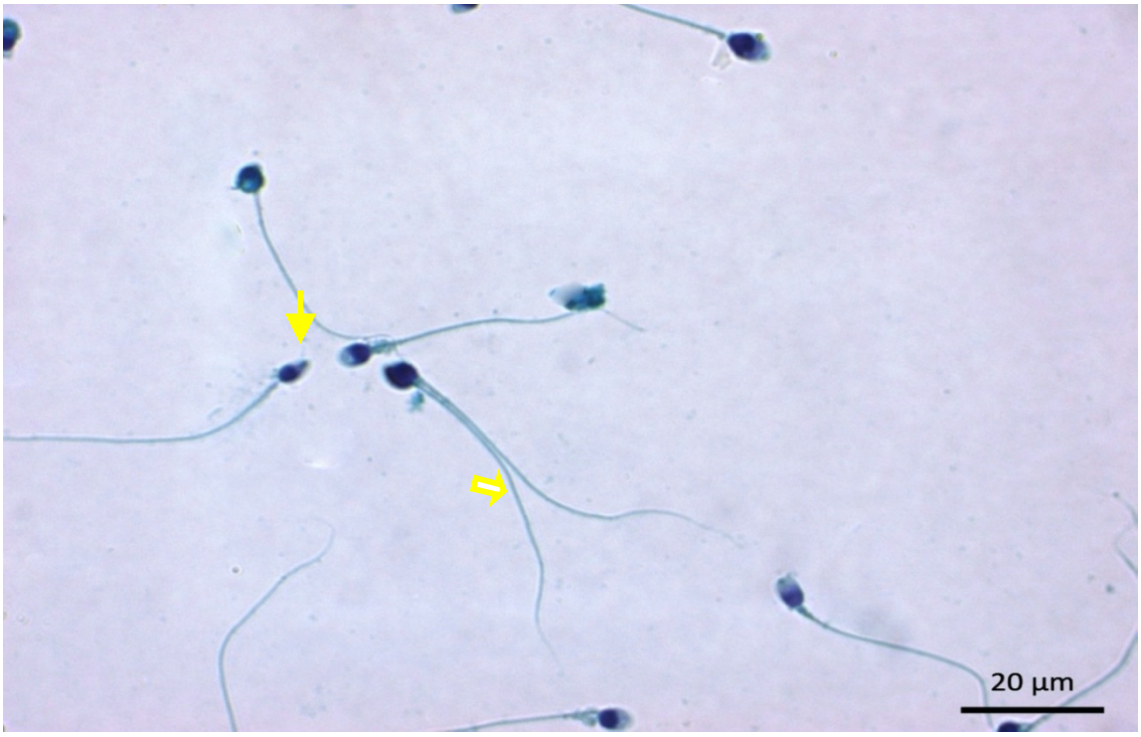
Şekil 4.18. Ameliyat sonrası 3. ay spermiyum morfolojileri; çift kuyruklu (ok başı), kırık boyunlu ve büyük akrozomlu (ok), kuyruk dolanmış (yıldız) spermiyumlar, (Spermac Stain, X100)



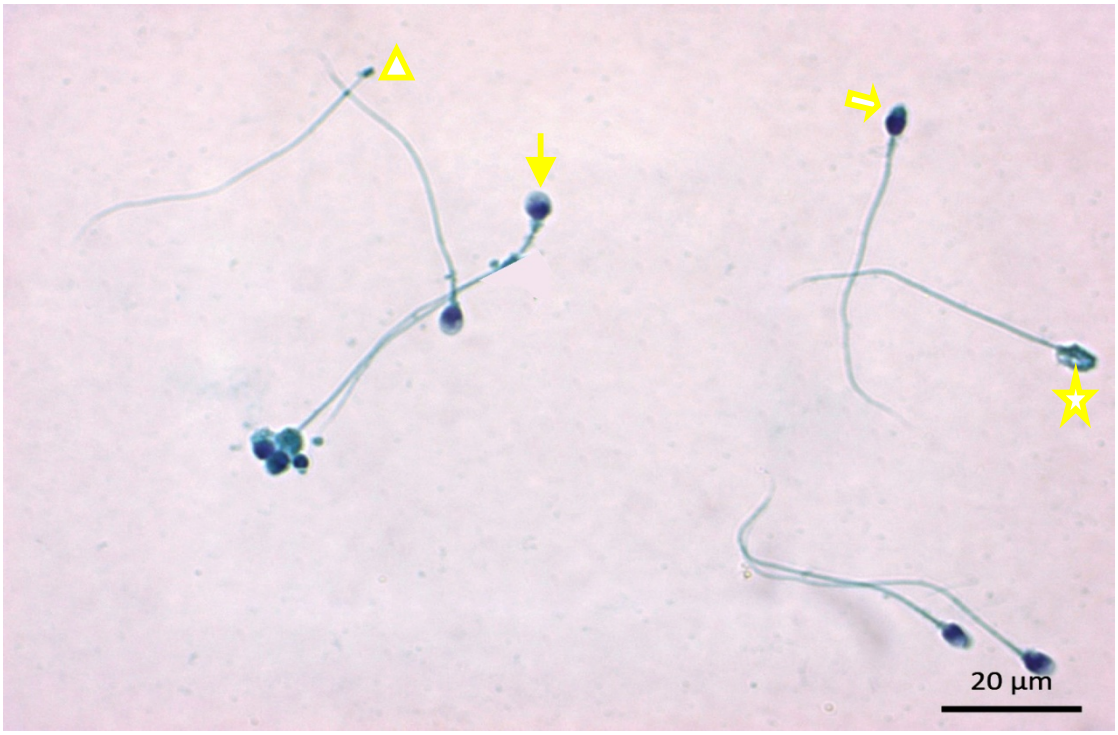
Şekil 4.19. Ameliyat sonrası 3. ay spermiyum morfolojileri; priform baş (armut biçimli) (ok başı), yuvarlak ve akrozomu büyük spermiyum (ok), uzun başlı (elonge) spermiyumlar (üçgen), (Spermac Stain, X100)



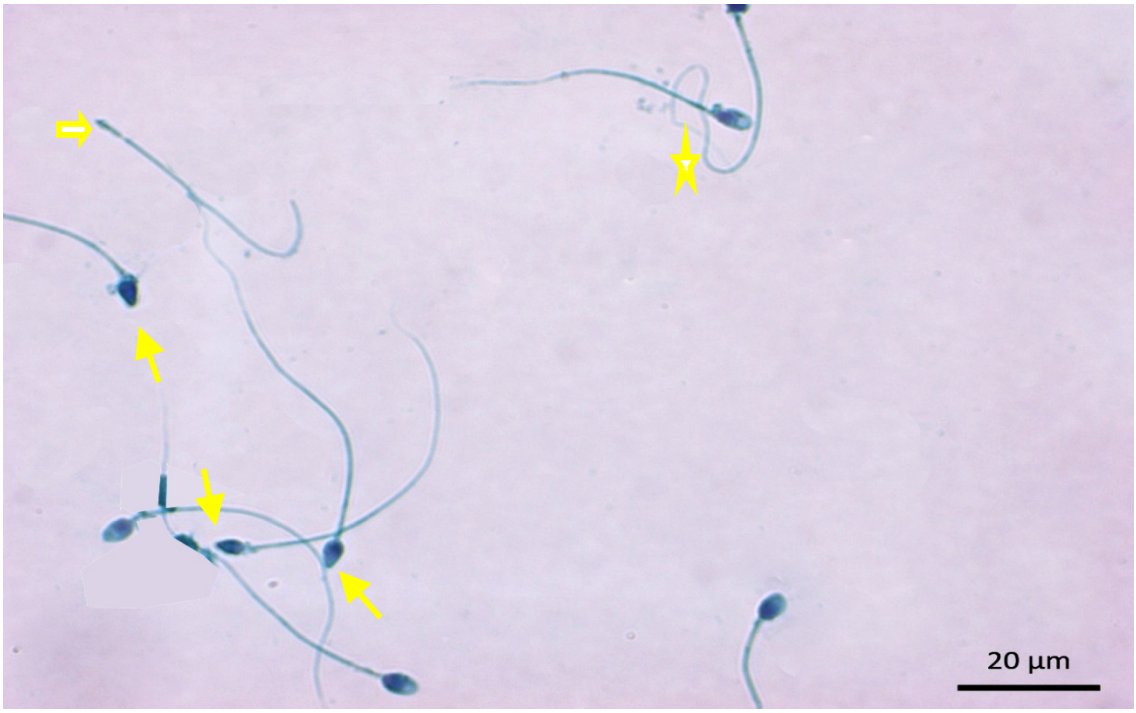
Şekil 4. 20. Ameliyat sonrası 3. ay spermiyum morfolojileri; çift başlı (üçgen), priform (armut biçimli) baş (ok başı), akrozomsuz, küçük başlı ve boyunda sitoplazmik droplet (ok) içeren spermiyum, (Spermac Stain, X100**)**



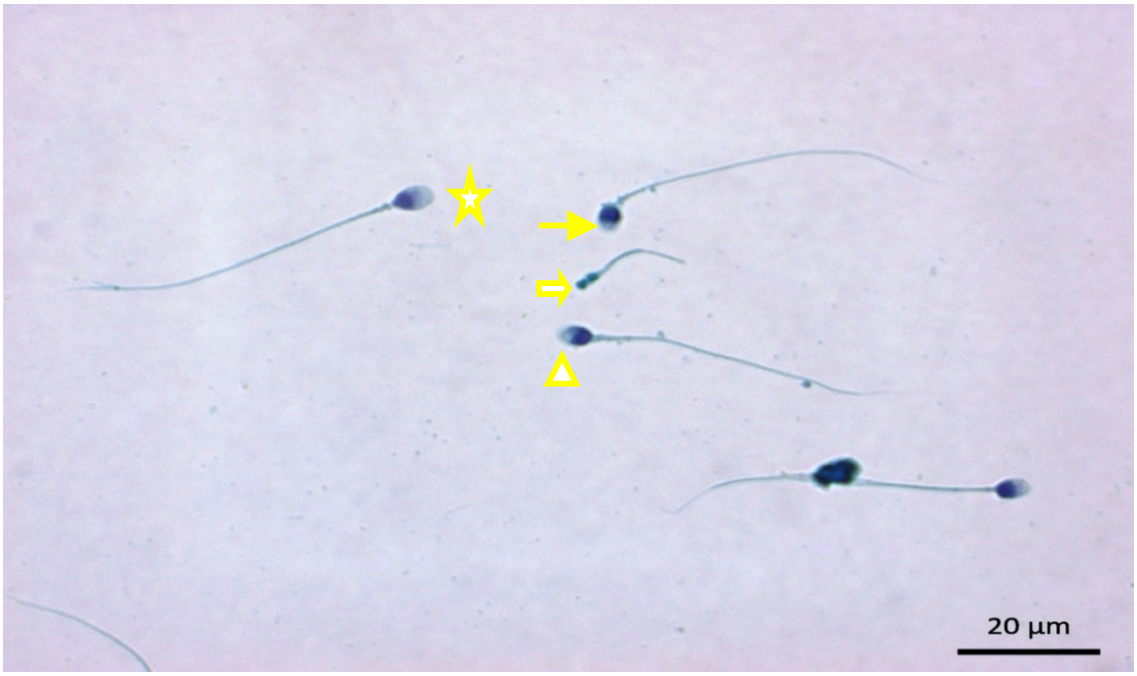
Şekil 4. 21. Ameliyat sonrası 6. ay spermiyum morfolojileri; çift kuyruklu (ok başı), tapered (uzun, sivri) baş (ok) spermiyum, (Spermac Stain, X100)



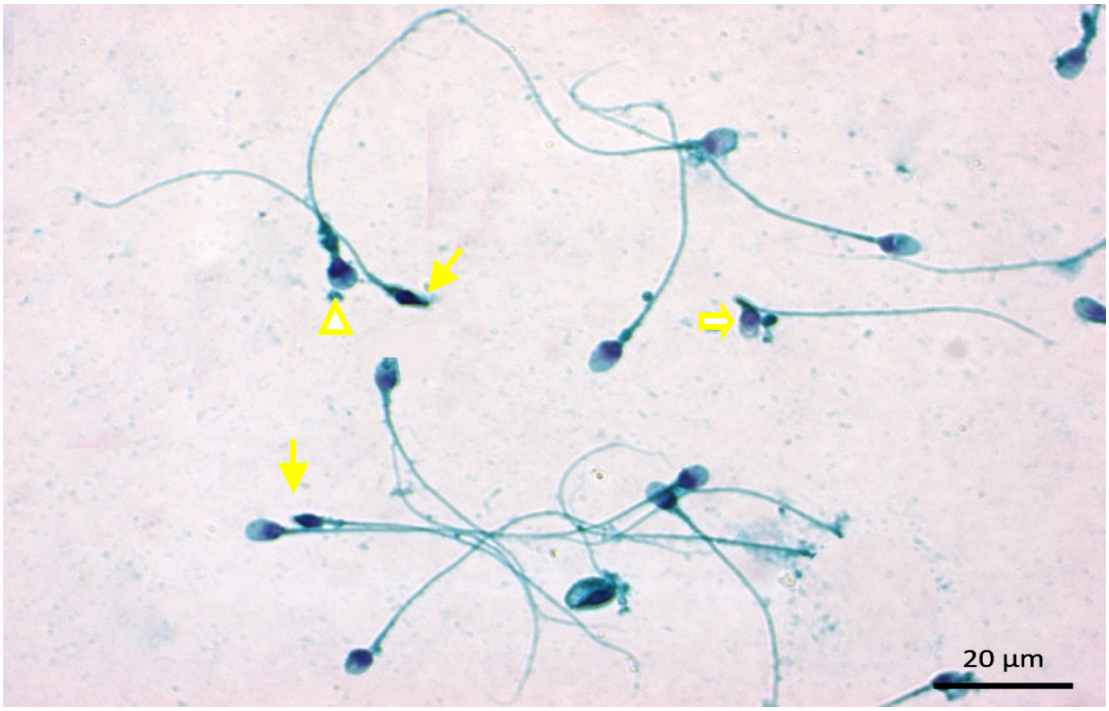
Şekil 4. 22. Ameliyat sonrası 6. ay spermiyum morfolojileri; yuvarlak başlı (ok), küçük akrozomlu (ok başı), başsız (üçgen), amorf, şekilsiz başlı (yıldız) spermiyumlar, (Spermac Stain, X100)



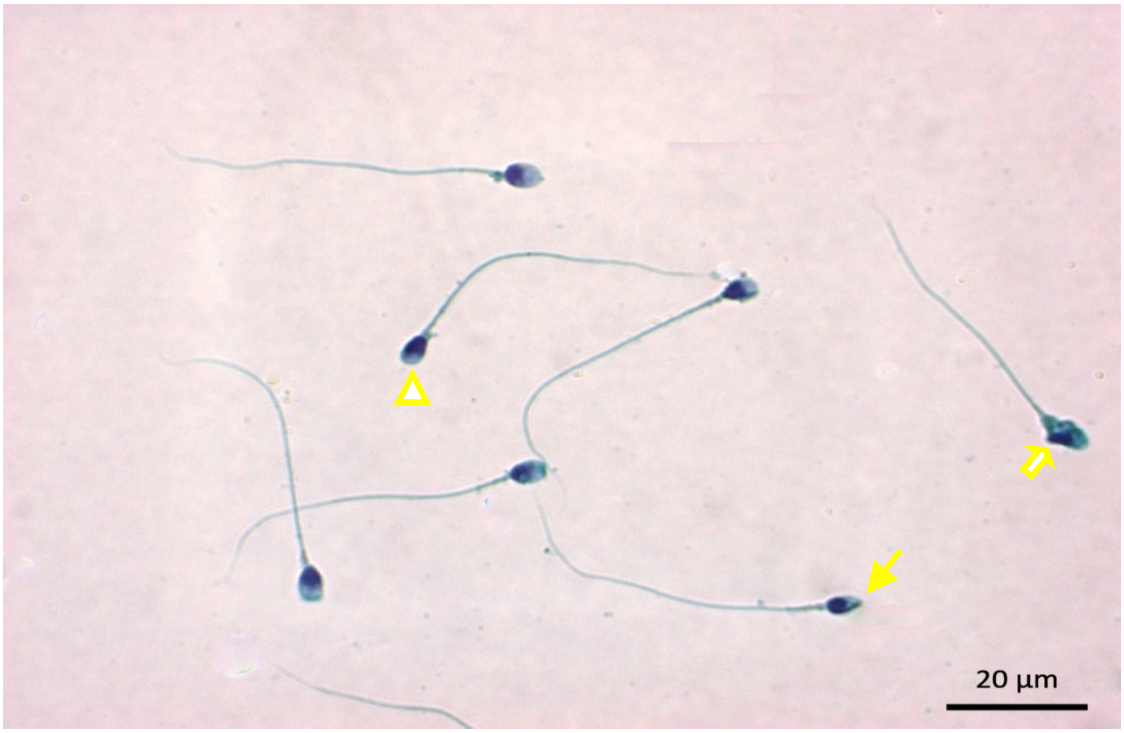
Şekil 4. 23. Ameliyat sonrası 6. ay spermiyum morfolojileri; tapered (sivri başlı) (ok), kıvrılmış kuyruk (yıldız), pinehead (başsız) (ok başı) spermiyumlar, (Spermac Stain, X100)



Şekil 4. 24. Ameliyat sonrası 12. ay spermiyum morfolojileri, başsız ve kısa kuyruk (ok başı), küçük akrozomlu (ok), normal morfolojiye sahip spermiyum (yıldız), (Spermac Stain, X100)



Şekil 4.25. Ameliyat sonrası 12. ay spermiyum morfolojileri; tapared baş (ok), kırık boyunlu ve amorf baş (ok başı), yuvarlak baş ve boyunda stoplazmik droplet (üçgen) içeren spermiyumlar, (Spermac Stain, X100)



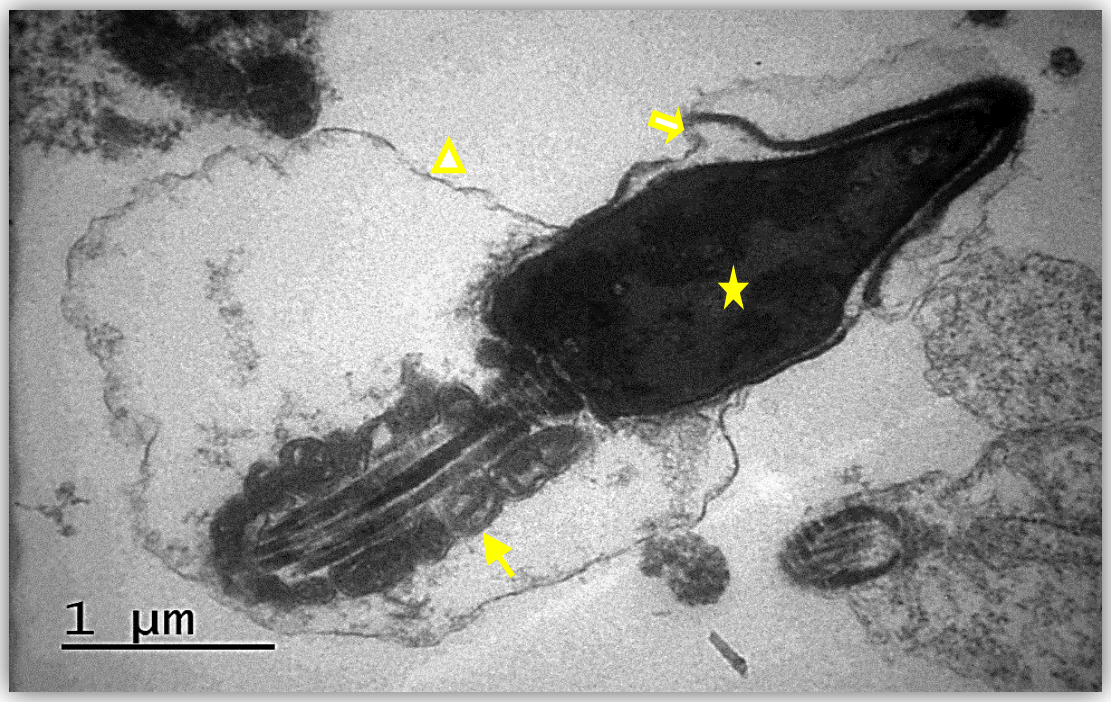
Şekil 4.26. Ameliyat sonrası 12. ay spermiyum morfolojileri; tapared baş (ok), amorf baş (ok başı), priform baş (üçgen) içeren spermiyumlar, (Spermac Stain, X100)

4.3. Elektron Mikroskobu Bulguları

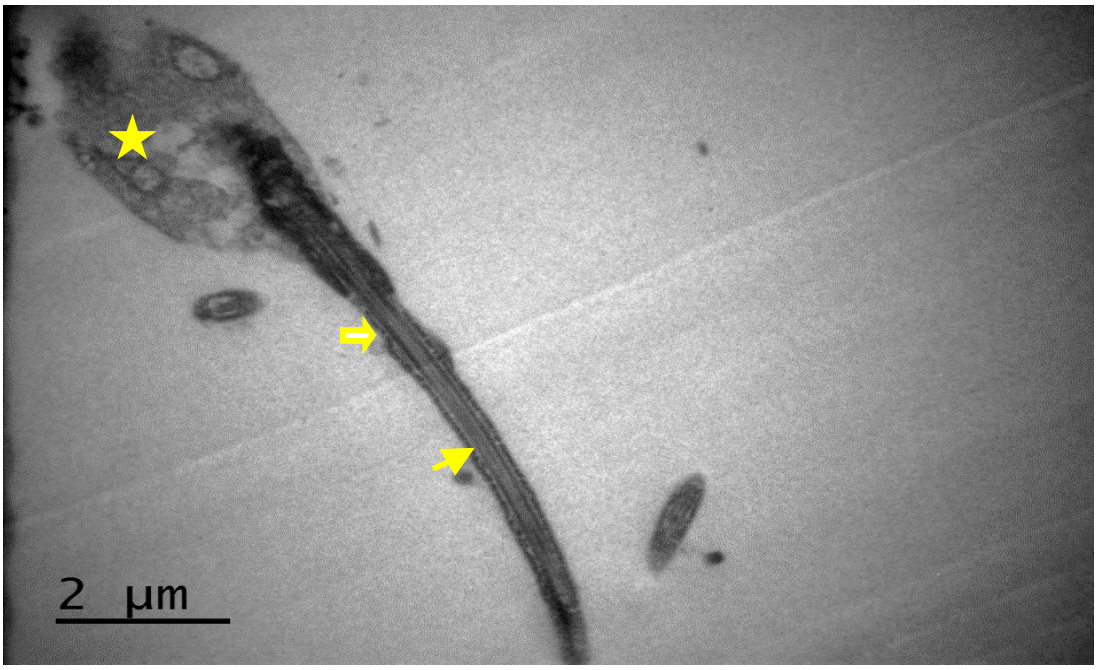
Çalışmaya dahil edilen varikoselli hastalardan alınan spermiyumlar bir dizi işlemden geçirilerek rutin elektron mikroskobu protokolü uygulanmış ve elde edilen gridler elektron mikroskobunda incelenmiştir. Elektron mikroskobu değerlendirmesinde spermiyumların hücre membran yapısı, akrozomal kep kısmı, baş bölgesinde vakuol varlığı ve başın anatomik görünümü, nukleusta kromatin yoğunluğu, boyun bölgesinde sitoplazmik droplet ve mitokondriyal yapı, orta kısım ve kuyrukta aksonemal düzen, mikrotübüllerin görünmü ve fibröz kılıf yapısı gibi hücresel elemanlar incelemeye alınmıştır.

4.3.1. Ameliyat öncesi Elektron Mikroskobu Bulguları

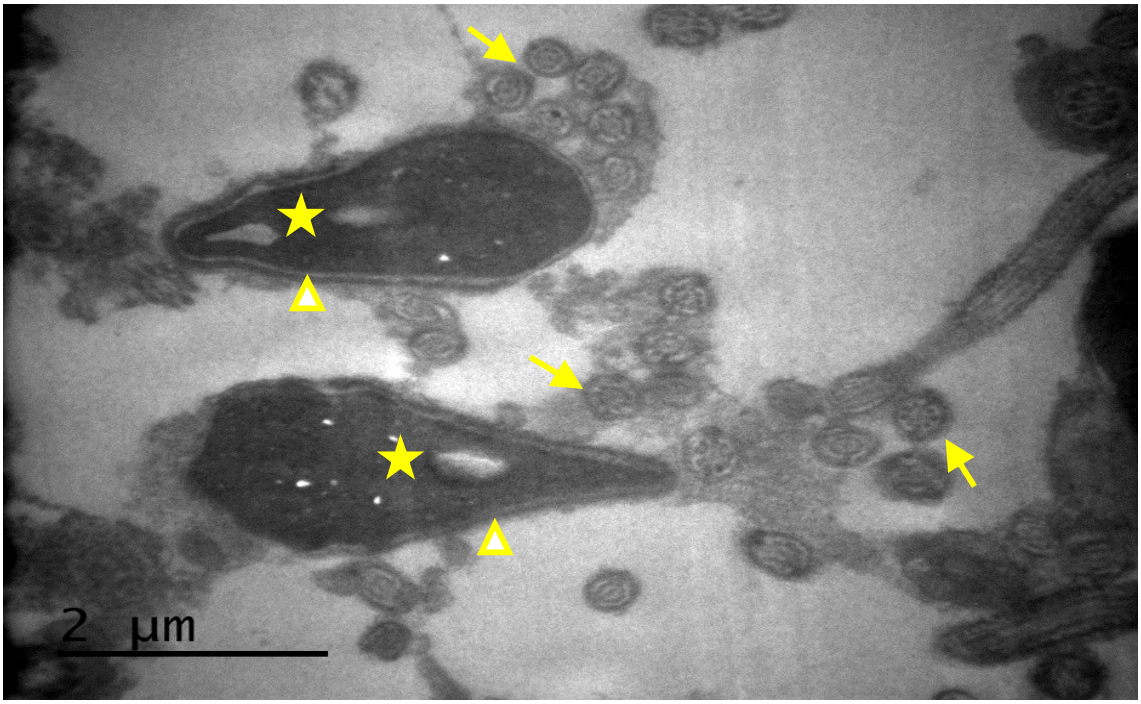
Ameliyat öncesinde varikoselli hastalardan alınan spermiyumların elektron mikroskobu değerlendirmesinde spermiyum hücrelerinin morfolojik yapıları detaylı olarak incelenmiştir Genel olarak hücre membranında ve akrozomal yapıda dejenerasyonlar görülürken, bazı spermiyum hücrelerinde plazmalemma ve akrozomal membranlar birbirine uyumlu, bazı örneklerde ise akrozomal vezikül ve plazmalemmada ayrılmalar gözlenmiştir (Şekil 4.27). Gerek kondensasyon yetersizliğine bağlı olarak gerekse kromozom bozukluklarına bağlı olarak spermiyum başları içinde dejenerasyon alanları ve vakuolleşmeler görülmüştür (Şekil 4.29). Boyun bölgesinde sitoplazmik artık birikimi ve simetrik olmayan düzensiz dağılmış mitokondriyal dejenerasyonlar (Şekil.4.27), kuyruğun enine kesitinde (9+2) mikrotübül yapısı ve 9+2 mikrotübül yapısından sapmış (9+1, 9+0) yapılar (Şekil 4.32) ile bunların çevresindeki dış yoğun fibril yapısını açık olarak gösteren spermiyum örnekleri gözlenmiştir. Kuyrukta düzgün aksonem ve fibröz kılıf yapıları olduğu gibi dejeneresyona uğramış yapılarda mevcuttur (Şekil 4.28). Baş ve boyun bölgesindeki dejenere yapılar ve yoğun sitoplazmik artık (Şekil 4.31) ile beraber şişkin akrozomal kesecikler ve düzensiz nüklear yapılar tespit edilmiştir.



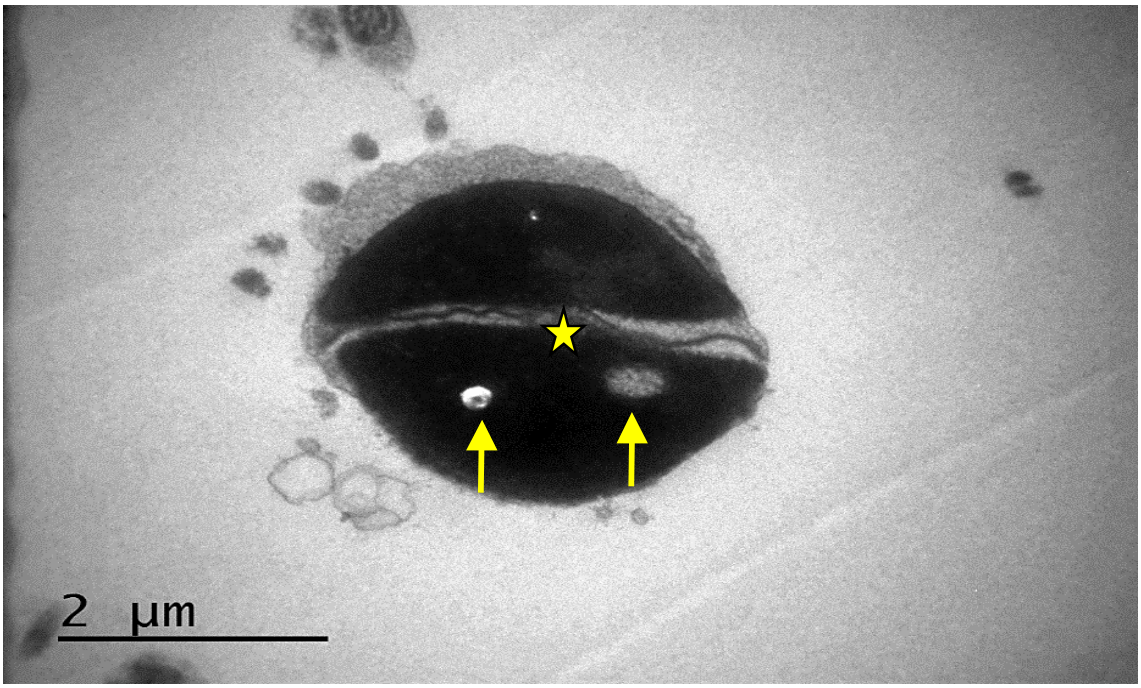
Şekil 4.27. Varikosel ameliyatı öncesi elektron mikroskobu görüntüsü; çekirdek kondanse bir görünümde (yıldız) akrozomal kep bazı bölgelerde deformasyona uğramış (ok başı), boyun bölgesinde sitoplazmik droplet (üçgen), boyunda mitokondriler simetrik değil (ok), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X25 000)



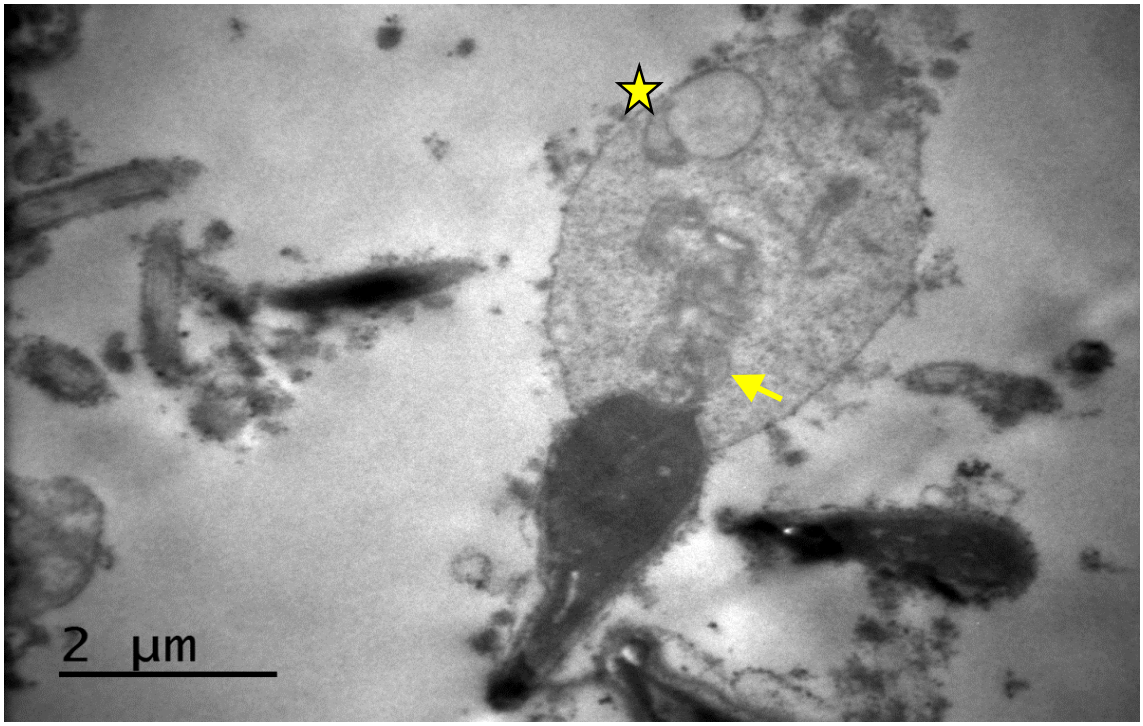
Şekil 4.28. Varikosel ameliyat öncesi elektron mikroskobu görüntüsü; baş kısmında genetik materyal ve akrozom yok (yıldız), kuyrukta olağan bir aksonem (ok) ve aksonemin çevresinde yer yer dejenere olmuş fibröz kılıf (ok başı) izlenmekte, (Uranil astat-Kurşun sitrat, X10 000)



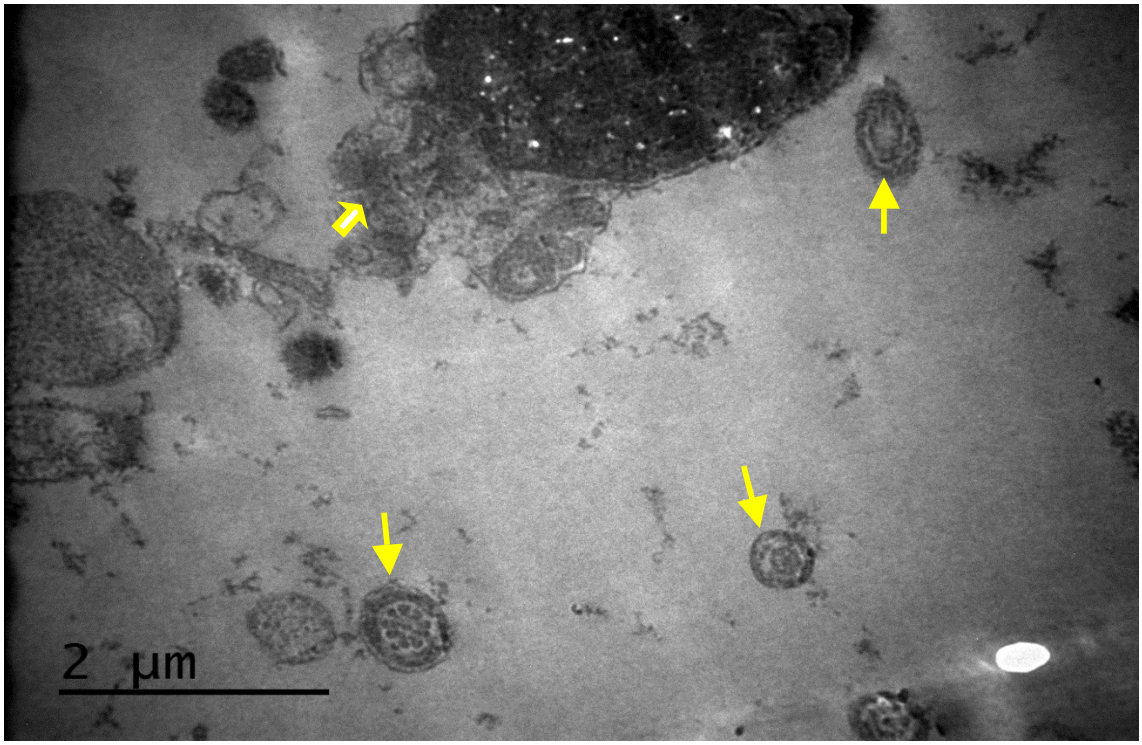
Şekil 4.29. Varikosel ameliyat öncesi elektron mikroskobu görüntüsü; kuyruğun enine kesitinde mikrotübül yapıları (ok), akrozomal kep normal şekilli ve devamlı, plazmalemma ve akrozomal membranlar uyumlu (üçgen), nukleusta küçük ve büyük vakuoller (yıldız), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X15 000)



Şekil 4.30. Varikosel ameliyatı öncesi elektron mikroskobu görüntüsü; birbirinden ayrılmamış iki nukleusu tek baş içinde mevcut (yıldız), çekirdekte nüklear vakuoller (ok), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X15 000)



Şekil 4.31. Varikosel ameliyatı öncesi elektron mikroskobu görüntüsü; boyunda sitoplazmik droplet (yıldız) ve mitokondriyal dejenerasyon (ok), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X15 000)

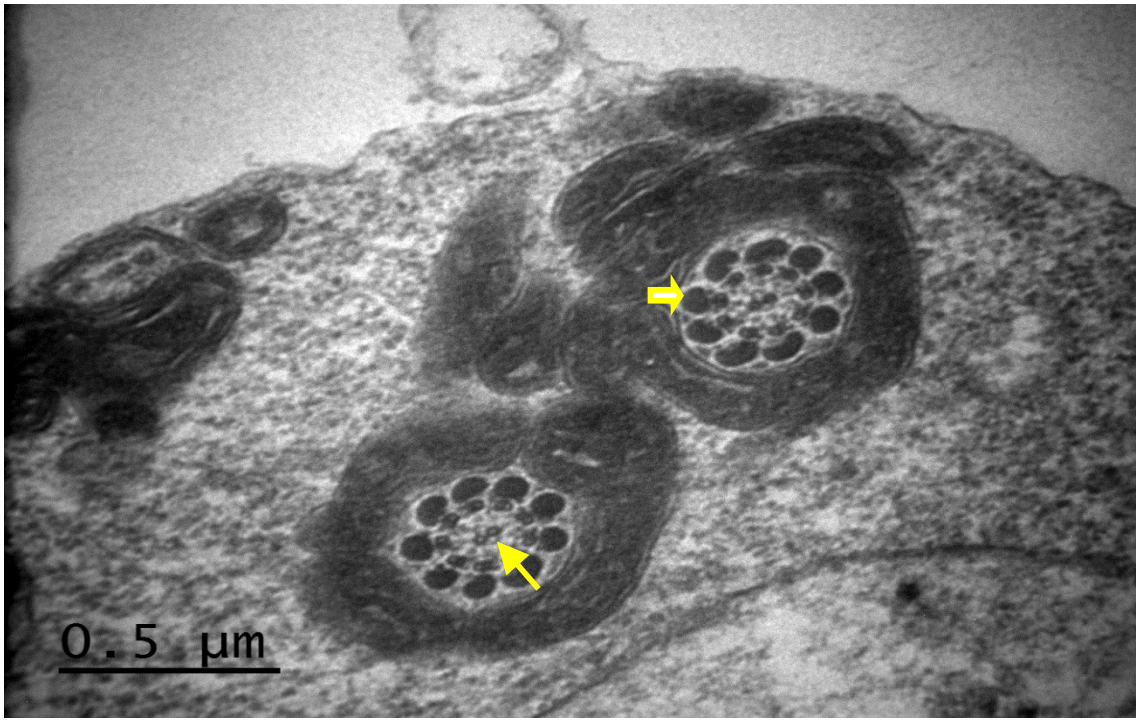


Şekil 4.32. Varikosel ameliyatı öncesi elektron mikroskobu görüntüsü; boyun bölgesinde düzensiz dağılmış ve dejenere olmuş mitokondriler (ok başı), kuyruğun enine kesitinde mikrotübül yapıları (ok) (Uranil astat-Kurşun sitrat, X15 000)

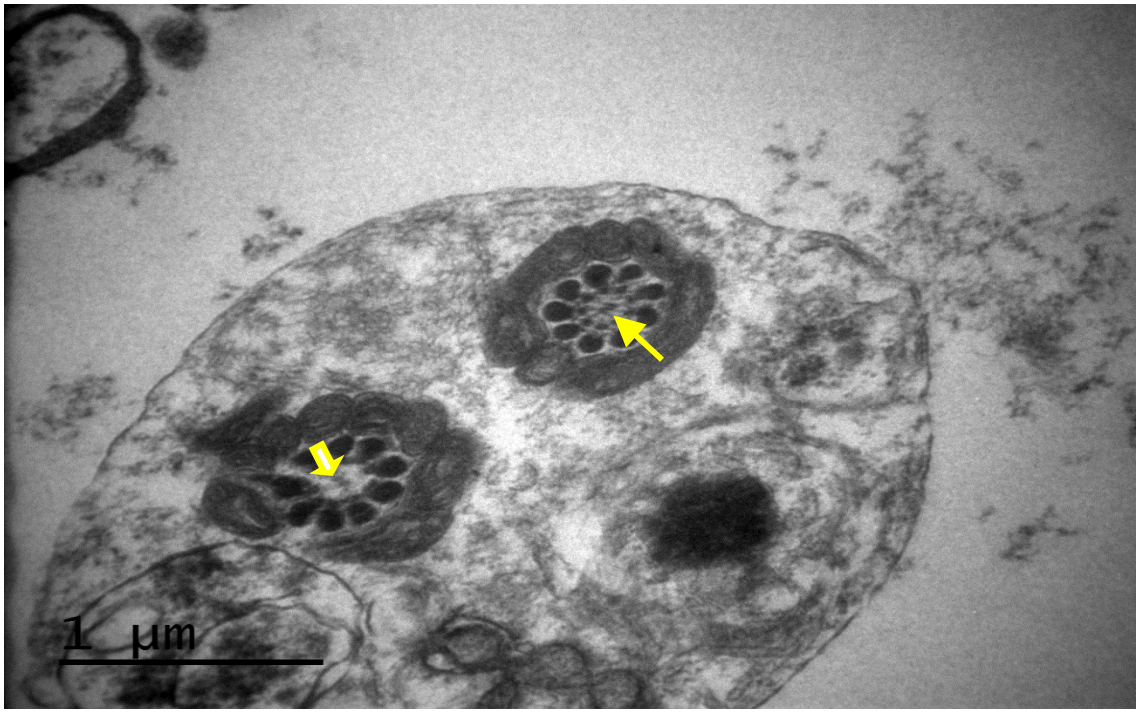
4.3.2. Ameliyat Sonrası Elektron Mikroskobu Bulguları

Ameliyat sonrası grubunda yapılan elektron mikroskobu incelemesinde genel olarak spermiyumların akrozomal kep kısmı normal şekilli, devamlı ve başın ön kısmını % 40–70 oranında kaplayacak boyutlarda ve yoğun içeriğe sahip iken, bazılarında ise akrozomal kısım normalden az ve akrozom ile plazmalemma birbiriyle uyumsuz olduğu ve yer yer dejenerasyonların oluştuğu gözlenmiştir (Şekil 4.35). Nukleusta vakuolleşme gösterenler olduğu gibi olgun kromatinli olanlarda izlendi. Kuyruktaki aksonemal yapıda ameliyat öncesi grubuna göre düzelme olduğu gibi, fibröz kılıf yapılarında da pozitif bir ilerleme görüldü (Şekil 4.37). Gözlenen mikrotübül yapılarının bazılarında (9+2) yapısı görülürken (Şekil 4.33), bazılarında da (9+2) yapısından sapmalar da mevcuttu (Şekil 4.34). Mitokondriler normal şekilli ve spermiyum boyunlarının her iki tarafında simetrik ve düzgün yerleşimliydi (Şekil 4.37, 4.40).

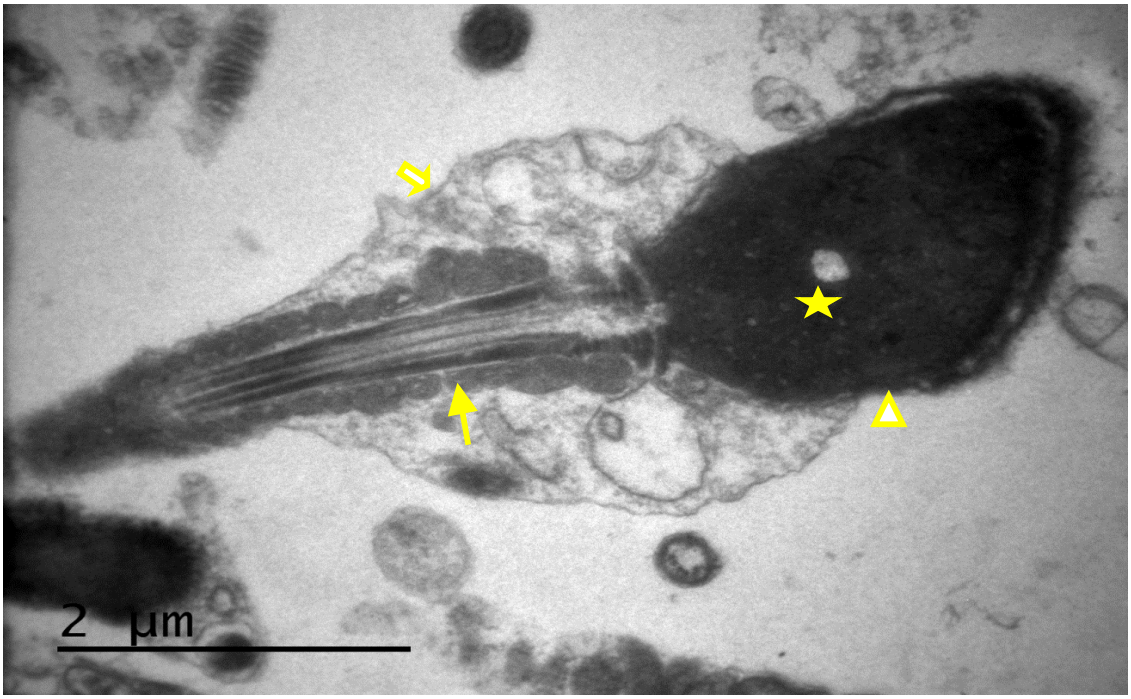
Bununla birlikte normal spermiyum morfolojisine sahip spermiyumların yanında anormal morfolojili spermiyumlarda mevcuttu. Bazı spermiyumlarda baş bölgesini kaplayan dağınık akrozomal bölgeler (Şekil 4.39, 4.43), bazılarında ise baş ile boyun aynı aks üzerinde değildi (Şekil 4.39). Boyunda sitoplazmik kalıntılar ve amorf baş birçok spermiyumda gözlendi (Şekil 4.38, 4.39). Mitokondrileri dağınık ve düzensiz yerleşimli olan spermiyumlar da tesbit edildi (Şekil 4.36).



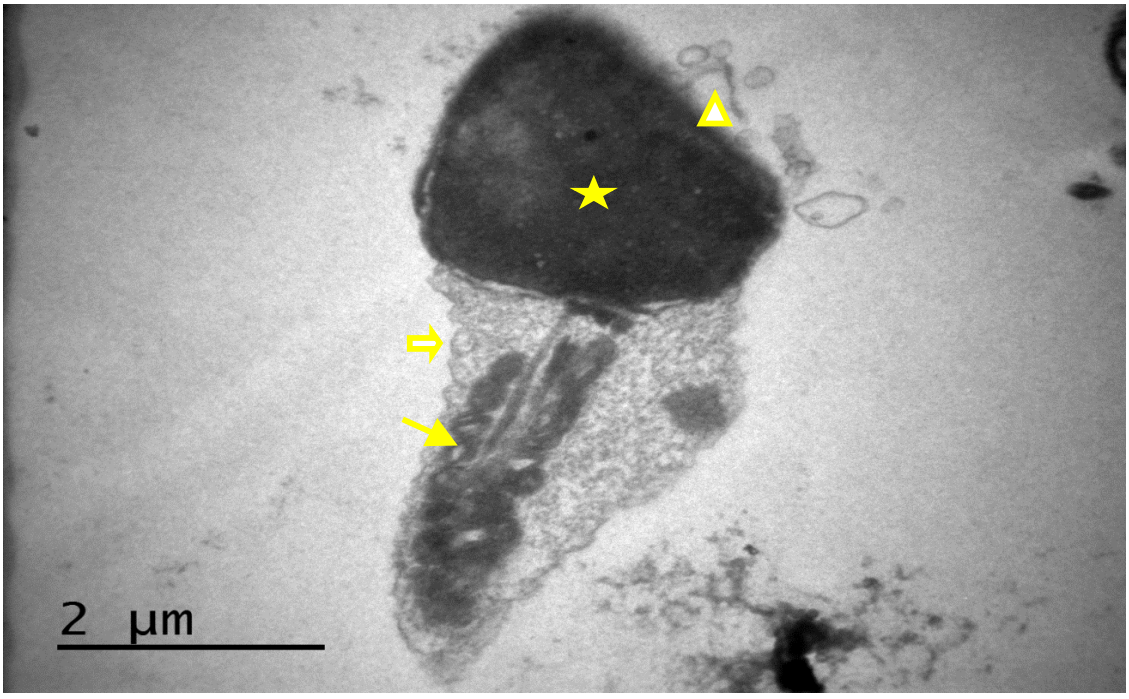
Şekil 4.33. Varikosel ameliyatı sonrası 3. ay elektron mikroskobu görüntüsü; kuyruğun enine kesitinde 9+2 düzeninde merkezi mikrotübüller (ok) ve çevresel mikrotübüller (ok başı) (Uranil astat-Kurşun sitrat, X50 000)



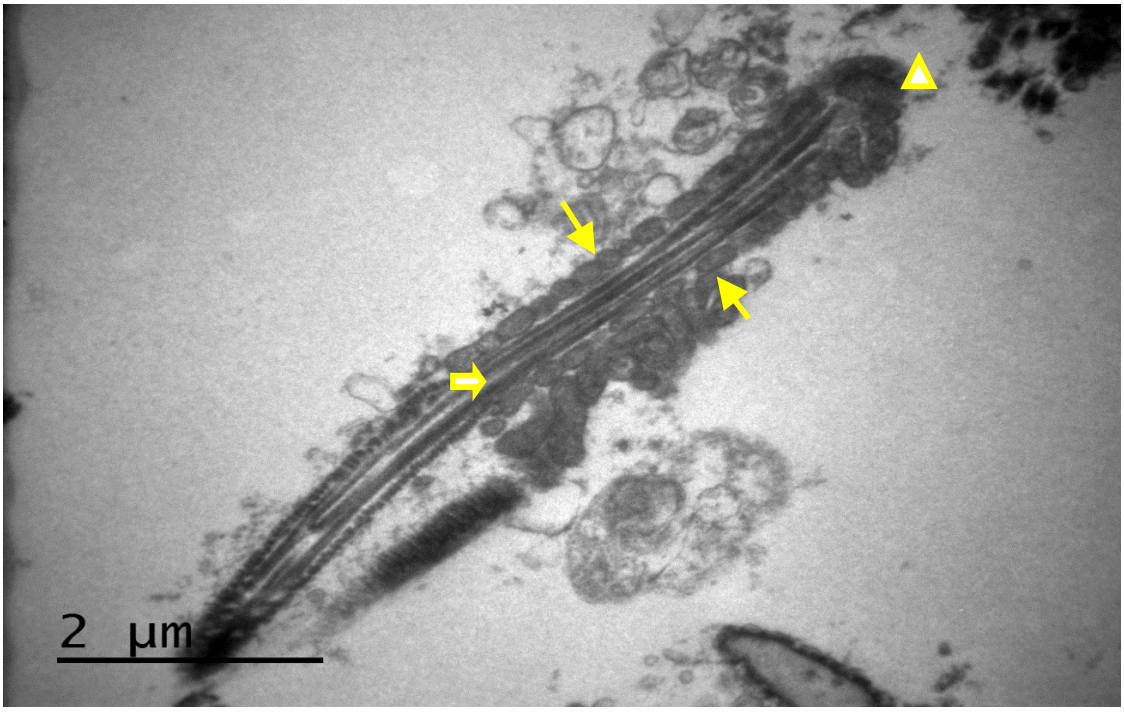
Şekil 4.34. Varikosel ameliyatı sonrası 3. ay elektron mikroskobu görüntüsü; kuyruğun enine kesitinde 9+2 mikrotübül yapısı (ok), 9+2 mikrotübül düzeninden sapmalarla 9+0 mikrotübül yapısı (ok başı), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X50 000)



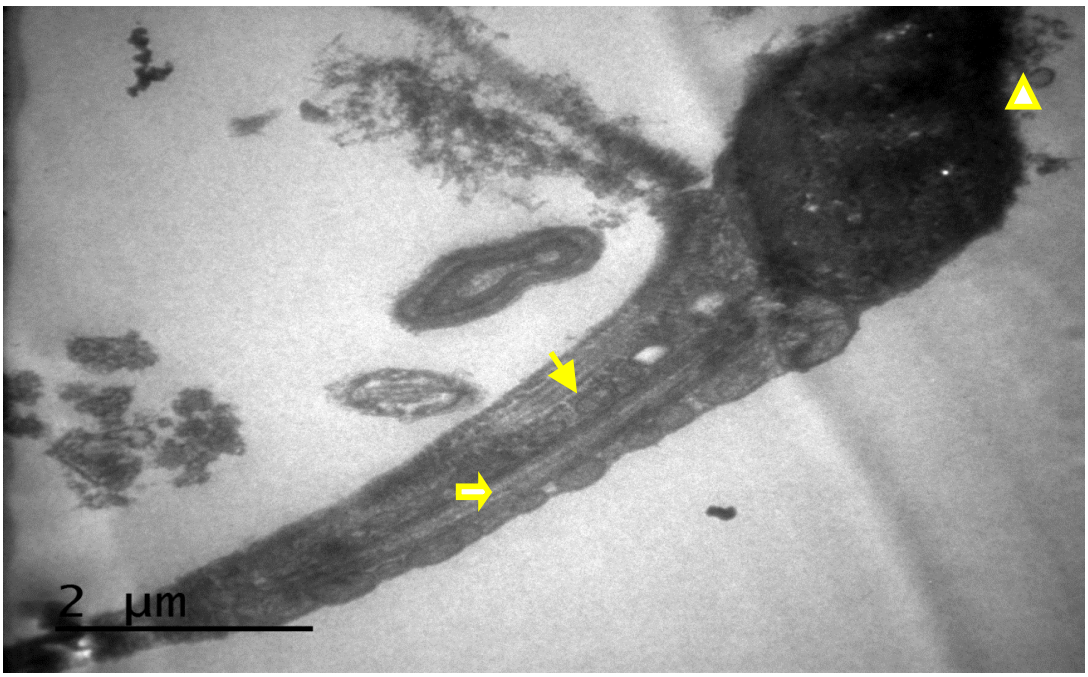
Şekil 4.35. Varikosel ameliyatı sonrası 3. ay elektron mikroskobu görüntüsü; boyun ve kuyruk bölgesinde mitokondriler (ok), akrozomal kep yer yer dejenerasyona uğramış (üçgen), nukleusta vakuolleşme (yıldız), boyunda sitoplazmik artık (ok başı), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X20 000)



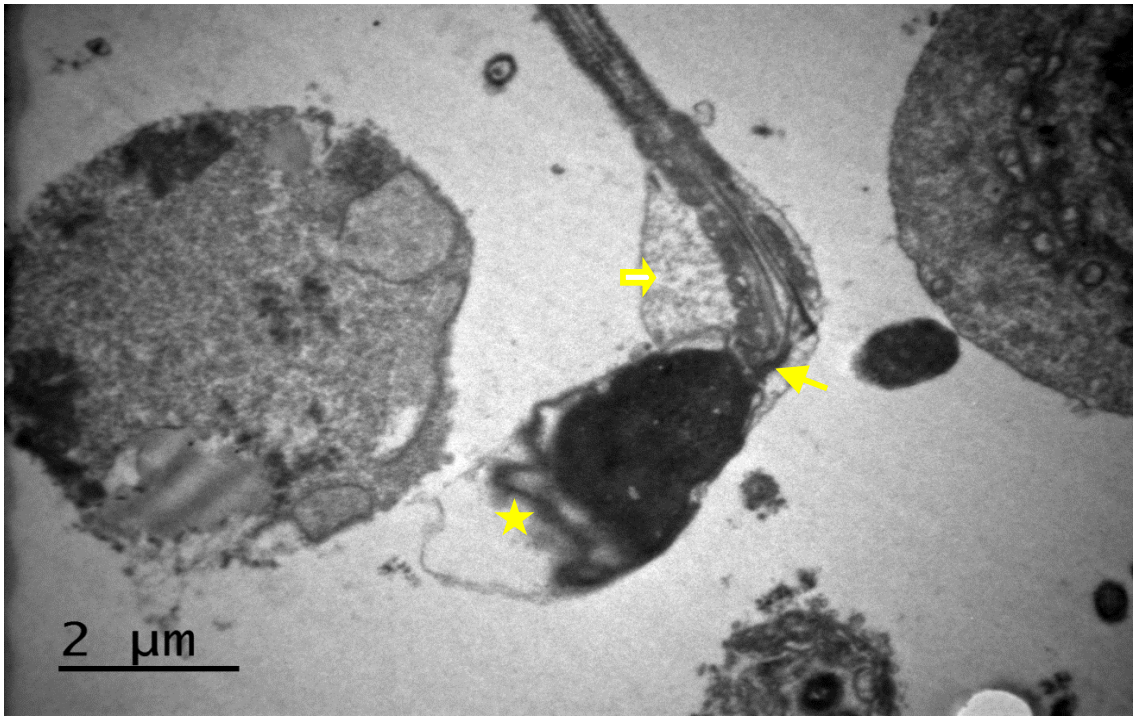
Şekil 4.36. Varikosel ameliyatı sonrası 3. ay elektron mikroskobu görüntüsü; boyun bölgesinde düzensiz dizilmiş mitokondriler (ok), boyunda sitoplazmik artık (ok başı), çekirdek kondanse görünümde (yıldız), çekirdek etrafında akrozomu olmayan yuvarlak başlı (globozoospermi) spermiyum (üçgen) , (Uranil astat-Kurşun sitrat, X15 000)



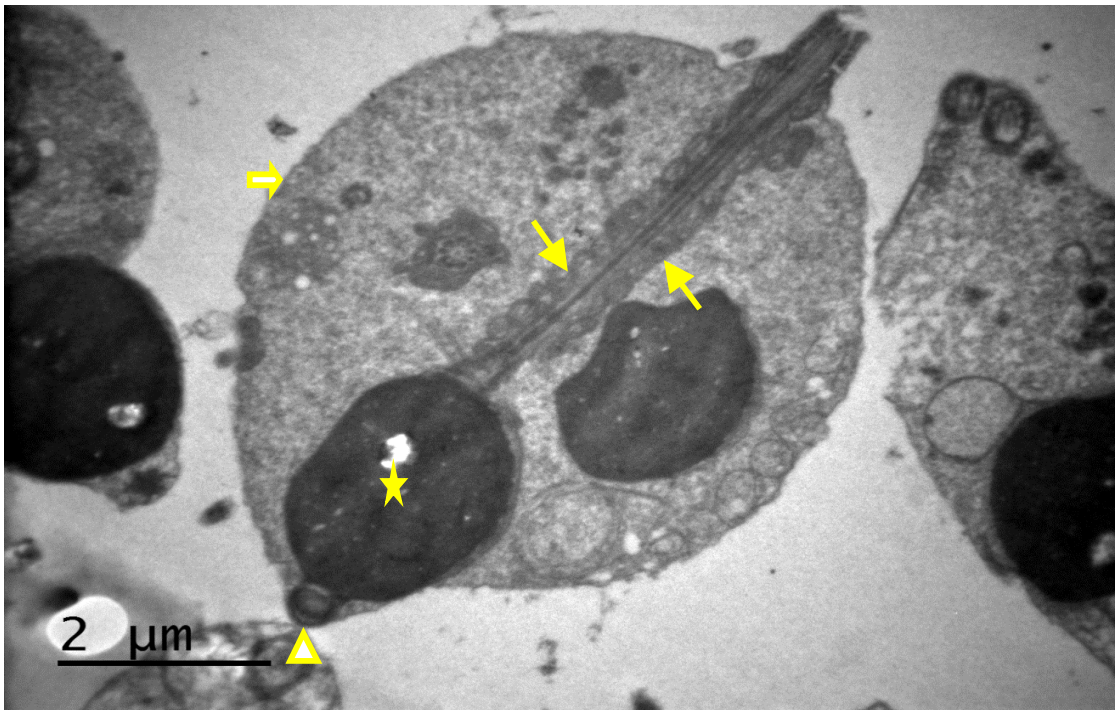
Şekil 4.37. Varikosel ameliyatı sonrası 3. ay elektron mikroskobu görüntüsü; boyun ve kuyruk bölgesinde normal şekilli ve boynun her iki tarafında simetrik dizilmiş mitokondriler (ok), aksonemal yapısı düzgün şekilli (ok başı), başsız (pinehead) bir spermiyum hücresi (üçgen), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X15 000)



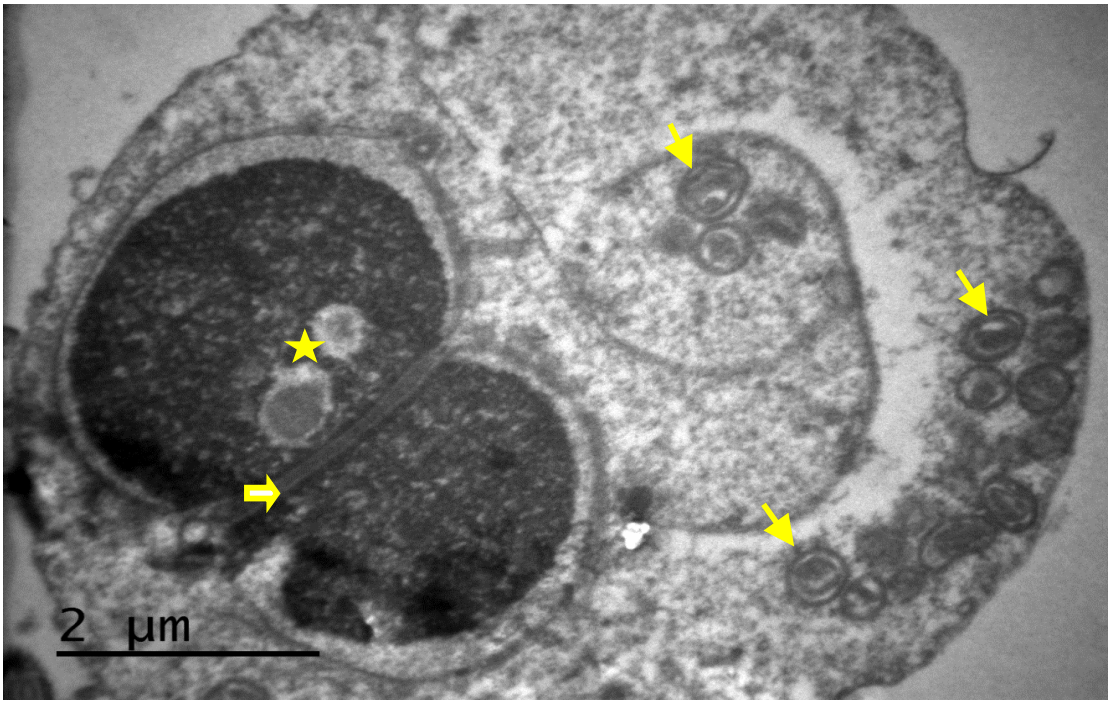
Şekil 4.38. Varikosel ameliyatı sonrası 6. ay elektron mikroskobu görüntüsü; boyun ve kuyruk bölgesinde simetrik dizilmiş mitokondriler (ok), kuyrukta aksonemal yapı (ok başı), baş bölgesinde akrozom ve membran yapısında dejenerasyonlar ve amorf başlı spermiyum (üçgen), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X15 000)



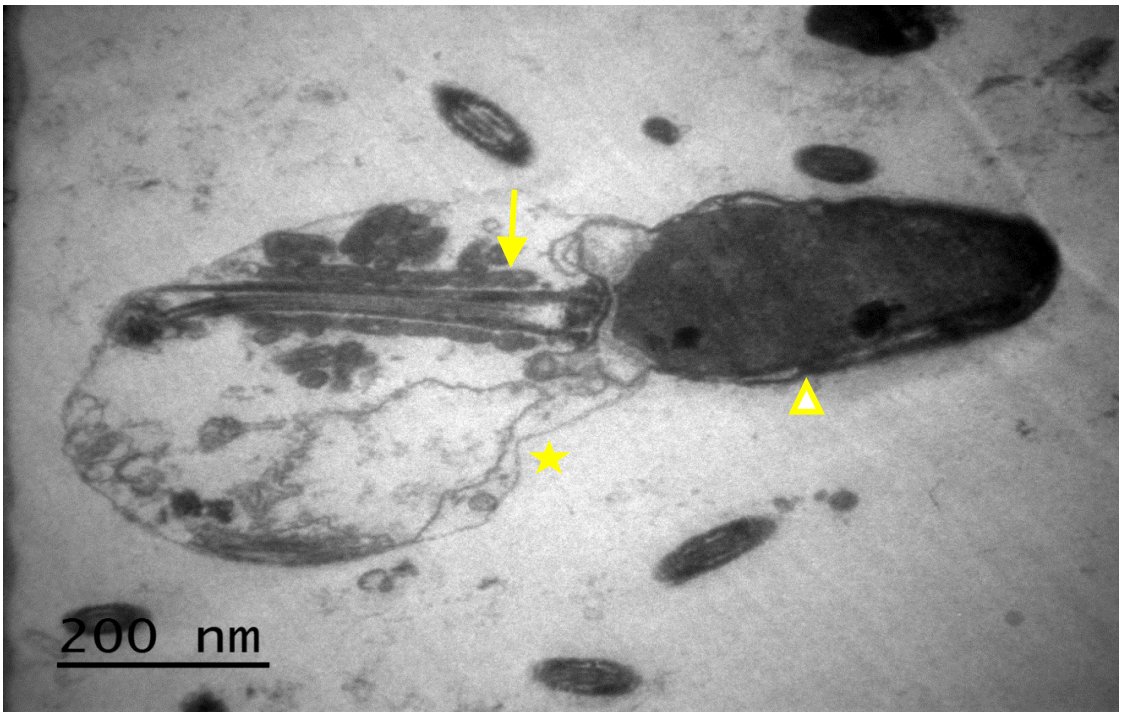
Şekil 4.39. Varikosel ameliyatı sonrası 6. ay elektron mikroskobu görüntüsü; boyunda sitoplazmik droplet (ok başı), baş bölgesinde akrozom ve membran yapısında dejenerasyon (yıldız), spermiyum başının aksiyel olmayan bağlantısı, kırık boyun (ok), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X10 000)



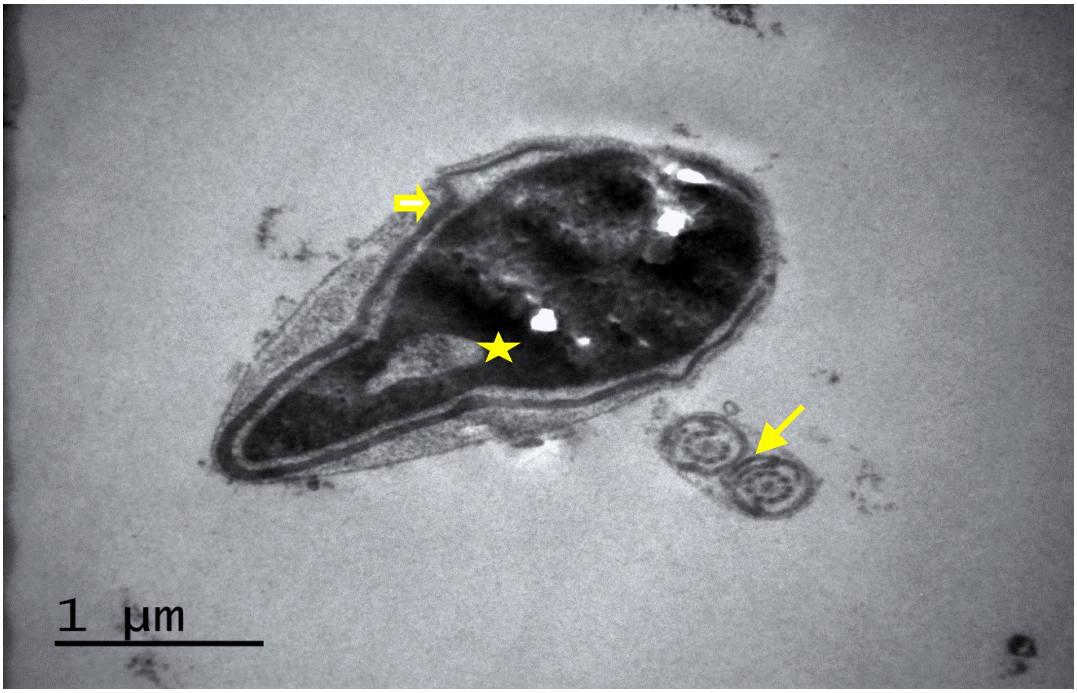
Şekil 4.40. Varikosel ameliyat sonrası 6. ay elektron mikroskobu görüntüsü; boyun ve kuyruk bölgesinde dizilmiş mitokondriler (ok), çekirdekte nükear vakuoller (yıldız), baş kısmında akrozomal kist (üçgen) ve stoplazmik artık (ok başı) (Uranil astat-Kurşun sitrat, X12 000)



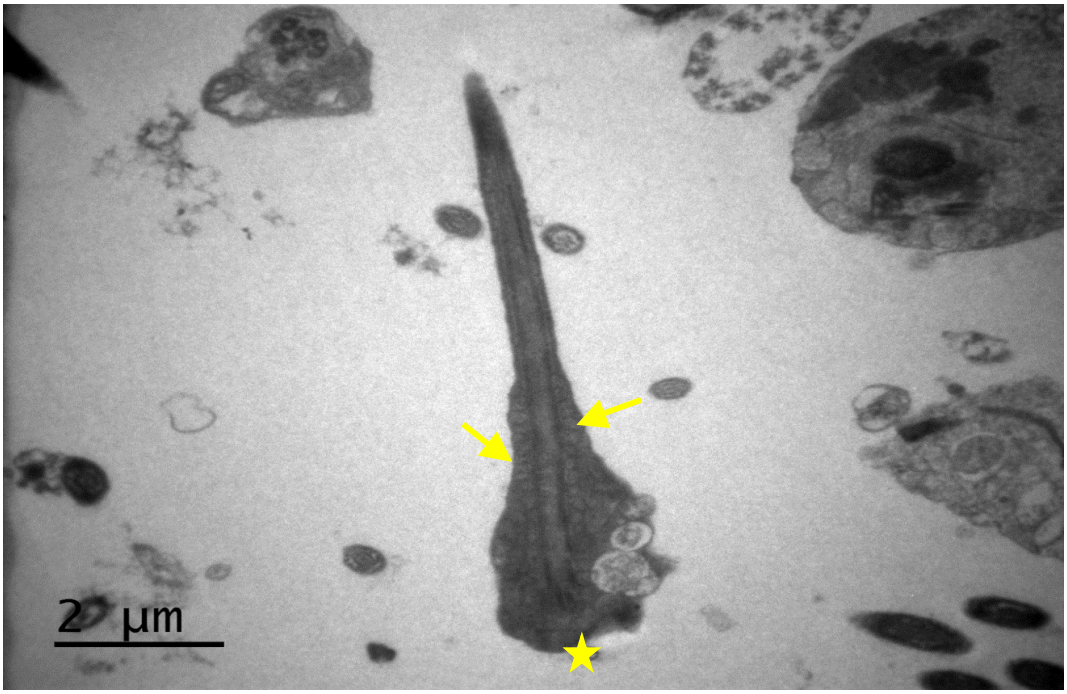
Şekil 4.41. Varikosel ameliyatı sonrası 6. ay elektron mikroskobu görüntüsü; çift başlı spermiyum hücresi (ok başı), baş kısmında nüklear vakoulleşme (yıldız), kuyruğun enine kesitleri (ok) (Uranil astat-Kurşun sitrat, X15 000)



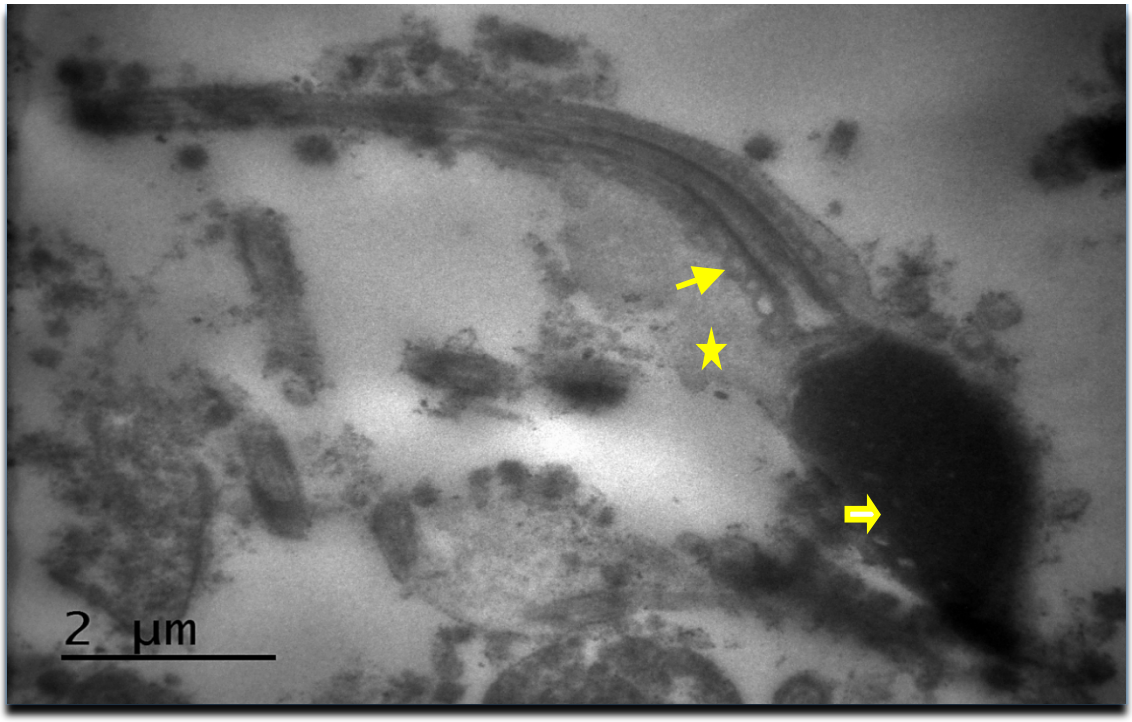
Şekil 4.42. Varikosel ameliyatı sonrası 12. ay elektron mikroskobu görüntüsü; baş bölgesinde akrozom ve membran yapısında uyum (üçgen), boyun bölgesinde sitoplazmik droplet (yıldız), boyun ve kuyruk bölgesinde mitokondriler normal şekilli ve boynun her iki tarafında simetrik dizilimi (ok), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X12 000)



Şekil 4.43. Varikosel ameliyatı sonrası 12. ay elektron mikroskobu görüntüsü; çekirdekte nüklear vakuolleşme (yıldız), akrozom membranı ile plazma membran bütünlüğünde bozulmalar (ok başı), kuyruğun enine kesitinde mikrotübül yapıları (ok) (Uranil astat-Kurşun sitrat, X25 000)



Şekil 4.44. Varikosel ameliyatı sonrası 12. ay elektron mikroskobu görüntüsü; başsız bir spermiyum (yıldız), orta parçada simetrik olarak dizilmiş mitokondriler (ok), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X10 000)



Şekil 4.45. Varikosel ameliyatı sonrası 12. ay elektron mikroskobu görüntüsü; boyun bölgesinde her iki tarafta simetrik olarak dizilmiş mitokondriler (ok), boyunda sitoplazmik artık (yıldız), baş bölgesinde akrozom ve membran bütünlüğü net değil, çekirdek heterkromatin görünümde (ok başı), (Uranil astat-Kurşun sitrat, X15 000)

4.4. TUNEL Assay Bulguları

TUNEL Assay yöntemi esas olarak apopitoz sırasında meydana gelen DNA kırıklarını ölçmek için gelişitirilen bir yöntemdir. DNA kırıklarının 3' -OH ucu reaksiyonunu katalizleyen exojen terminal deoksinükleotidiltransferaz (TdT) enzimi bağlanarak işaretlenir. Bu kısma (tek ve çift DNA zincir kırıkları) biyotinlenmiş Uridintrifosfat (Dutp) bağlanır. Biyotinlenmiş DNA streptavidin ile birleşerek suda çözünmeyen renkli bir görüntü ortaya çıkarır. Buradan yola çıkarak TUNEL kiti ile boyanmış ve boyama yaygınlığının derecesine göre spermiyum hücreleri 4 ayrı grup altında sınıflandırıldı. Hiç sinyal (yeşil sinyal vermeyen) vermeyen, düşük derecede yeşil sinyal veren, orta derecede yeşil sinyal veren ve yüksek derecede pozitif yeşil sinyal veren şeklinde değerlendirilerek fotoğraflandı.

4.4.1. Spermiyumların DNA Fragmentasyon İndexi (DNA Kırıkları) %'leri

DNA fregmantasyonu, TUNEL kiti (*In Situ* Cell Death Detection Kit) kullanılıp TUNEL Assay protokolü uygulanmış ve Olympus BX51 floresans mikroskop kullanılarak X40 ve X60 büyütme ile 200 spermiyum hücresi sayılmış olup DNA fregmantasyonu olan hücreler "TUNEL pozitif" olarak kaydedilmiş ve fotoğraflanmıştır.

Ameliyat öncesi dönemde hastaların spermiyumlarının DNA fregmantasyon indexi (DFI %) oranı % 12-31 arasında değişirken, ortalaması ise % 20.57±4.60 bulunmuştur. DNA fregmantasyon indexi % 15'ten fazla olan hasta sayısı 37 (% 92.5) iken, DNA fregmantasyon indexi % 15'ten az olan hasta sayısı 3 (% 7.5) olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3, Şekil 4.46).

Ameliyat sonrası 3. aydaki hastaların spermiyumlarının DNA fregmantasyon indexi % 9-27 aralığında olup, ortalaması ise % 17.27±3.65 bulunmuştur. DNA fregmantasyon indexi % 15'ten fazla olan hasta sayısı 32 (% 80) iken, DNA fregmantasyon indexi % 15'ten az olan hasta sayısı 8 (% 20) olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3, Şekil 4.46).

Varikosele ameliyatı sonrası 6. aydaki hastaların spermiyumlarının DNA fregmantasyon indexi % 8-25 aralığında olup, ortalaması ise % 15.52±3.23 bulunmuştur. DNA fregmatasyon indexi % 15'ten fazla olan hasta sayısı 26 (% 65) iken DNA fregmantasyon indexi % 15'ten az olan hasta sayısı 14 (% 35) olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3, Şekil 4.46).

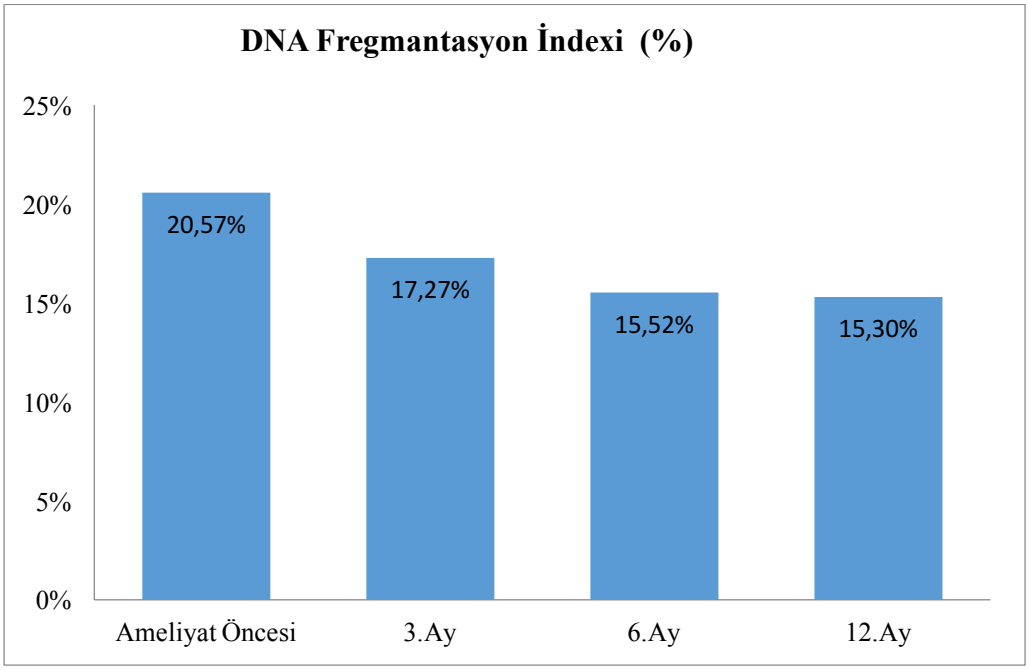
Ameliyat sonrası 12. aydaki hastaların spermiyumlarının DNA fregmantasyon indexi % 9-24 aralığında olup, ortalaması ise % 15.30±3.63 bulunmuştur. DNA fregmantasyon indexi % 15'ten fazla olan hasta sayısı 25 (% 62.5) iken DNA fregmantasyon indexi % 15'ten az olan hasta sayısı 15 (% 37.5) olarak bulunmuştur (Çizelge 4.3, Şekil 4.46).

Ameliyat öncesi ile ameliyat sonrasındaki DNA fragmentasyon indexi %'leri karşılaştırıldığında DNA fregmantasyon indexi oranında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldüğü gibi ($p<0.001$), ameliyat sonrasındaki 3. ay, 6. ay ve 12. ay arasında da DNA fregmantasyon indexi oranında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür ($p<0.001$).

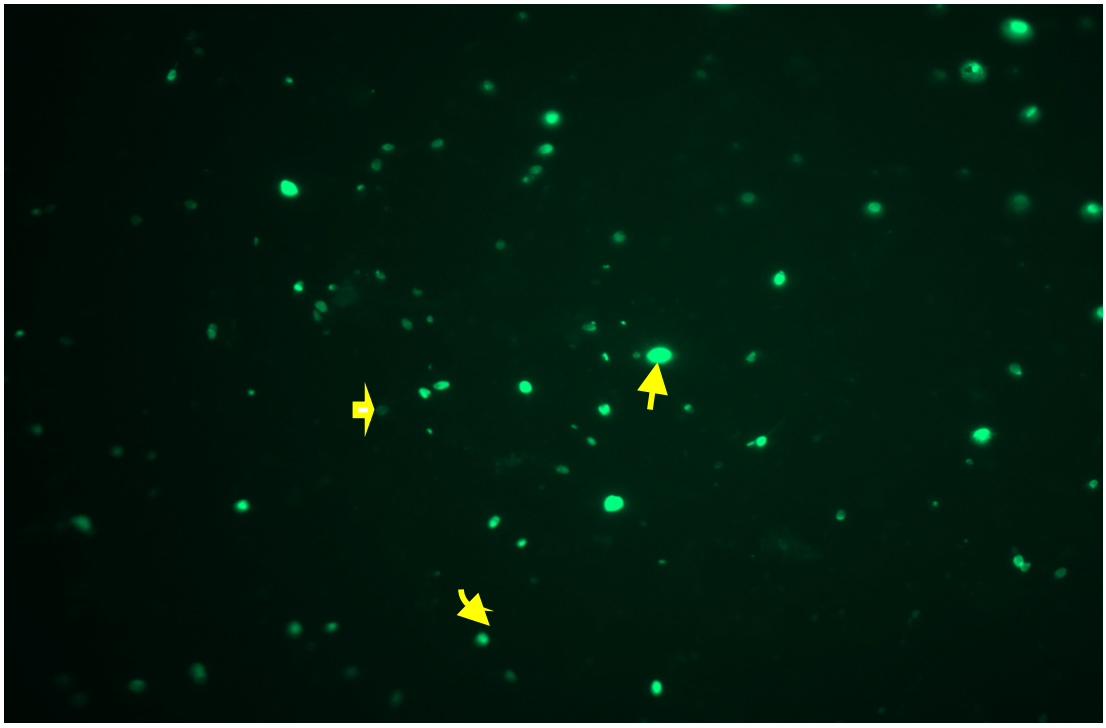
Çizelge 4. 3. Çalışmaya alınan hastaların DNA fregmantasyon indexi % lerinin aritmetik ortalaması, standart sapması, minimum-maksimum değerleri ve P değerinin büyüklüğü

Parametreler	Ortalama±SD	Min-Mak değer	P değeri
DFI A. Ö (%)	20.57±4.60	21(12.0-32.0)	P<0.001
DFI 3. ay (%)	17.27±3.65	17(9.0-27.0)	
DFI 6. ay (%)	15.52±3.23	15(8.0-25.0)	
DFI 12. ay (%)	15.30±3.63	15(9.0-24.0)	

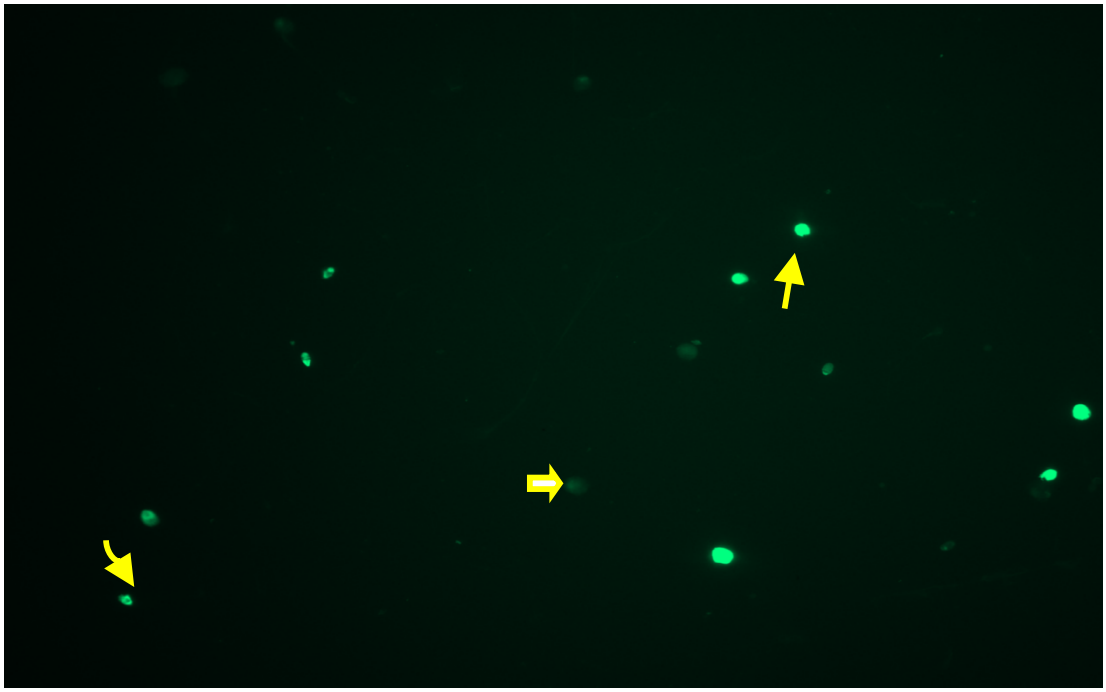
DFI: DNA Fregmantasyon Indeksi, A.Ö: Ameliyat Öncesi, S D: Standart Sapma, Min: Minimum değer, Mak: Maksimum değer, P<0,001 istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ifade etmektedir.



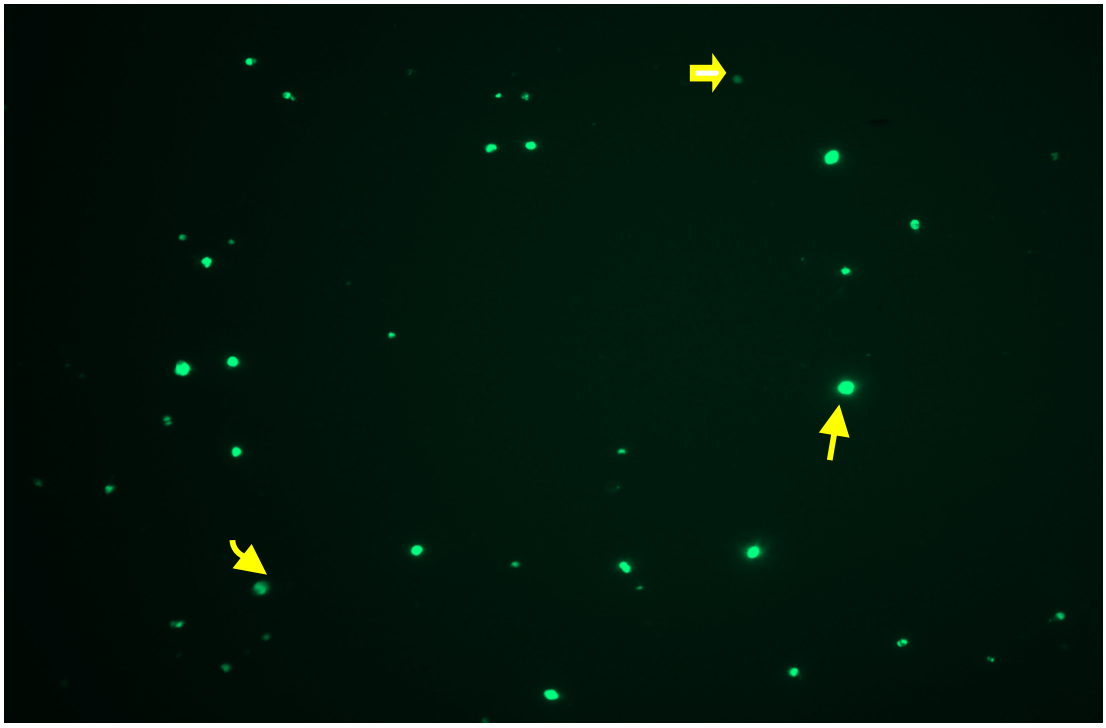
Şekil 4.46. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların spermiyumlarının DNA fregmantasyon indexi ortalamasının dönemlere göre dağılımı (P<0.001)



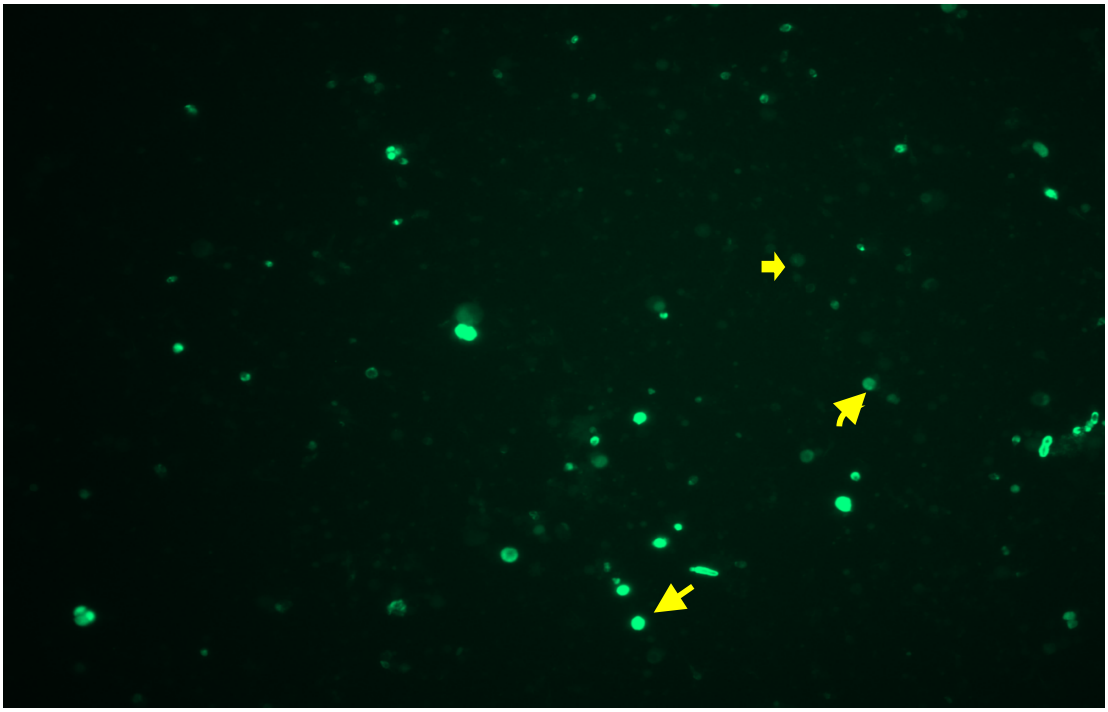
Şekil 4.47. Varikosel ameliyatı öncesi DNA Fregmantasyon Indeksi (DFI); hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40)



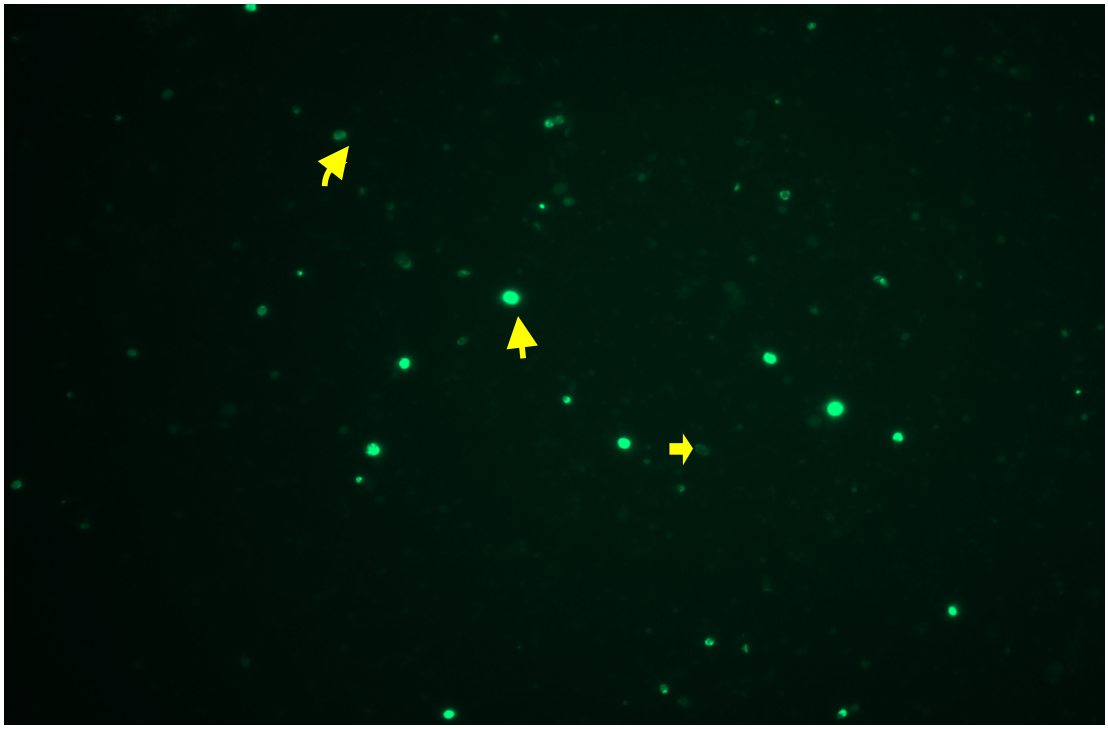
Şekil 4.48. Varikosel ameliyatı öncesi DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı) , düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40)



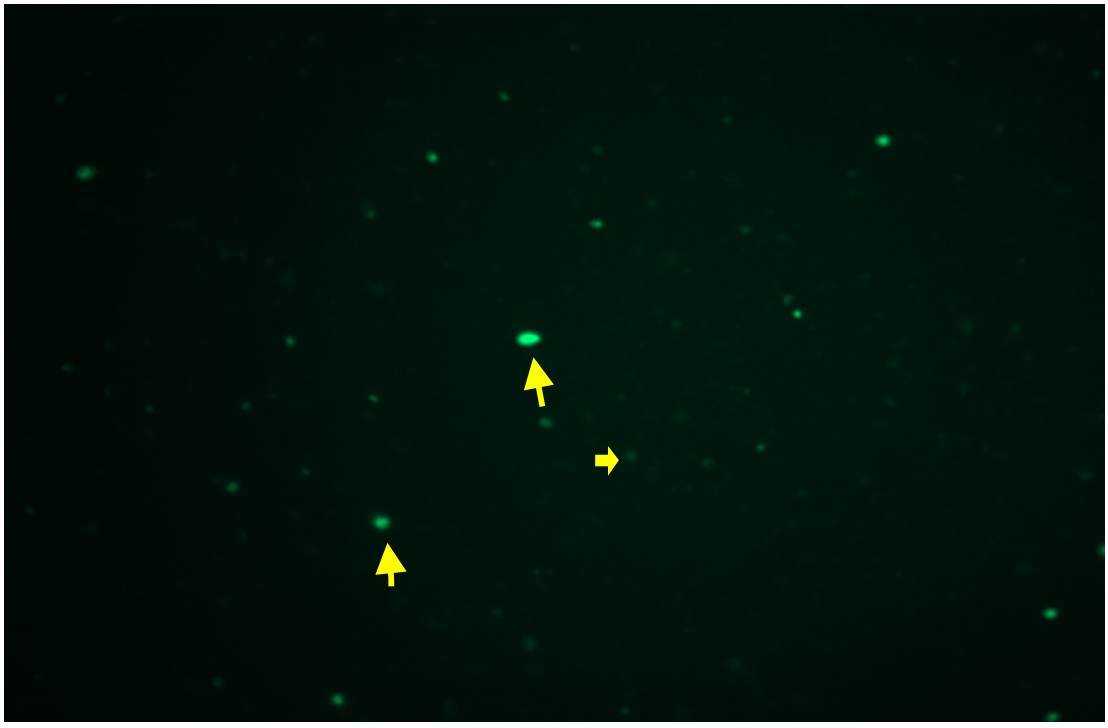
Şekil 4.49. Varikosel ameliyatı öncesi DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40)



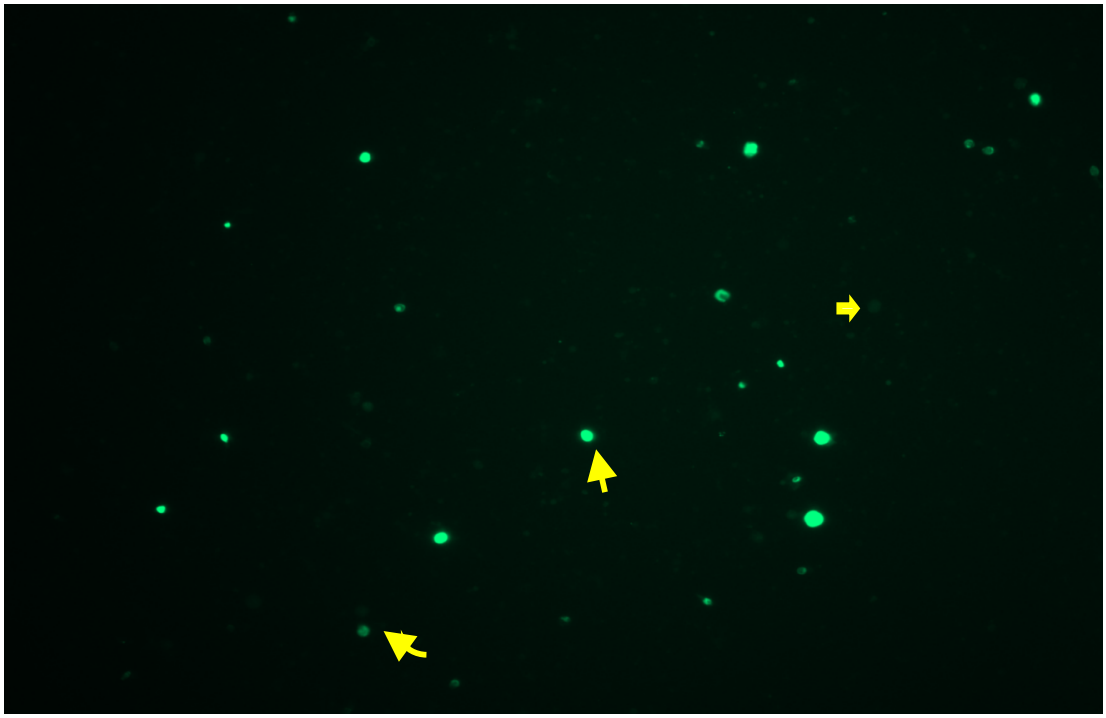
Şekil 4.50. Varikosel ameliyatı sonrası 3. ay DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok), yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40)



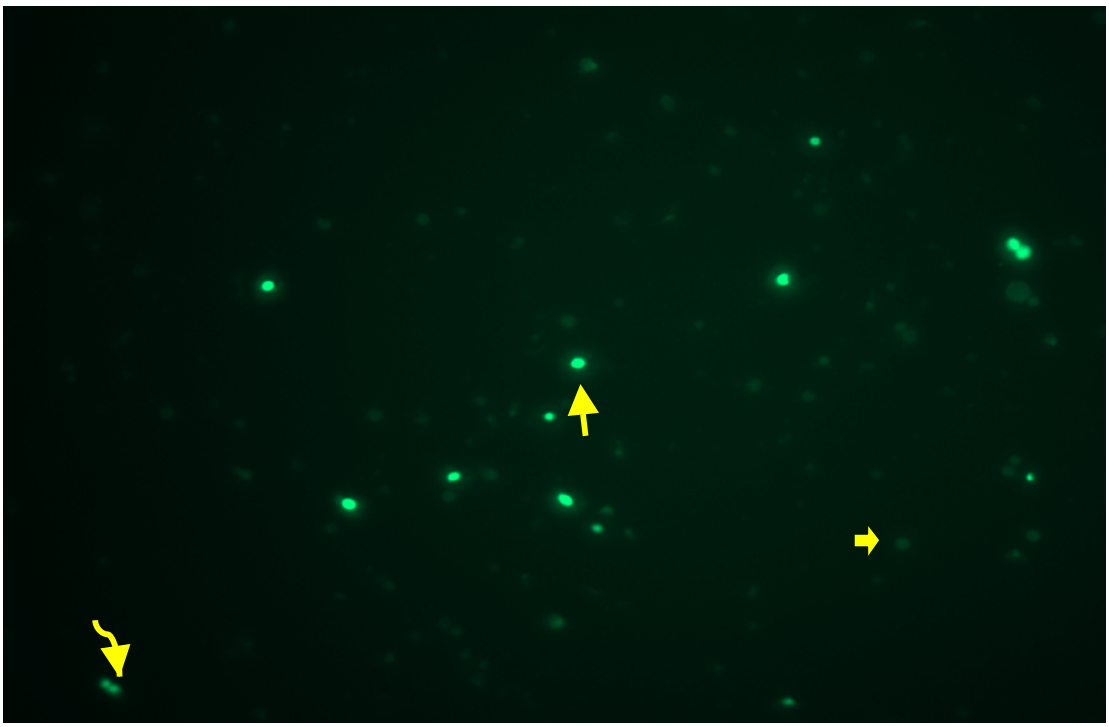
Şekil 4.51. Varikosel ameliyatı sonrası 3. ay DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40)



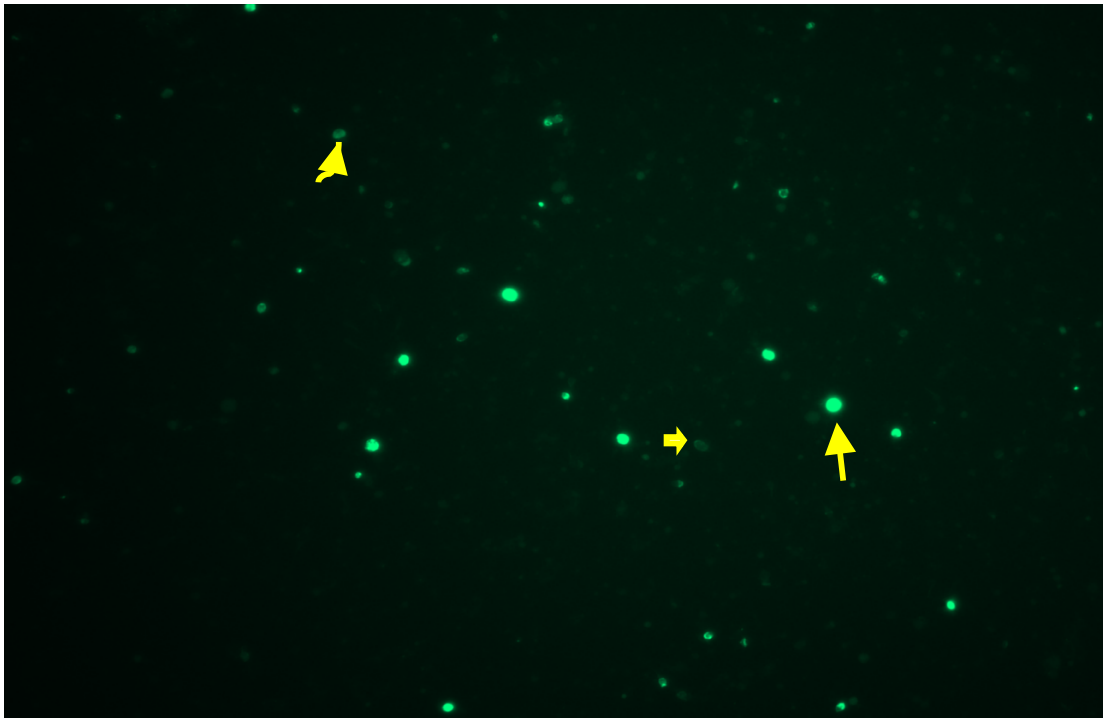
Şekil 4.52. Varikosel ameliyatı sonrası 3. ay DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40)



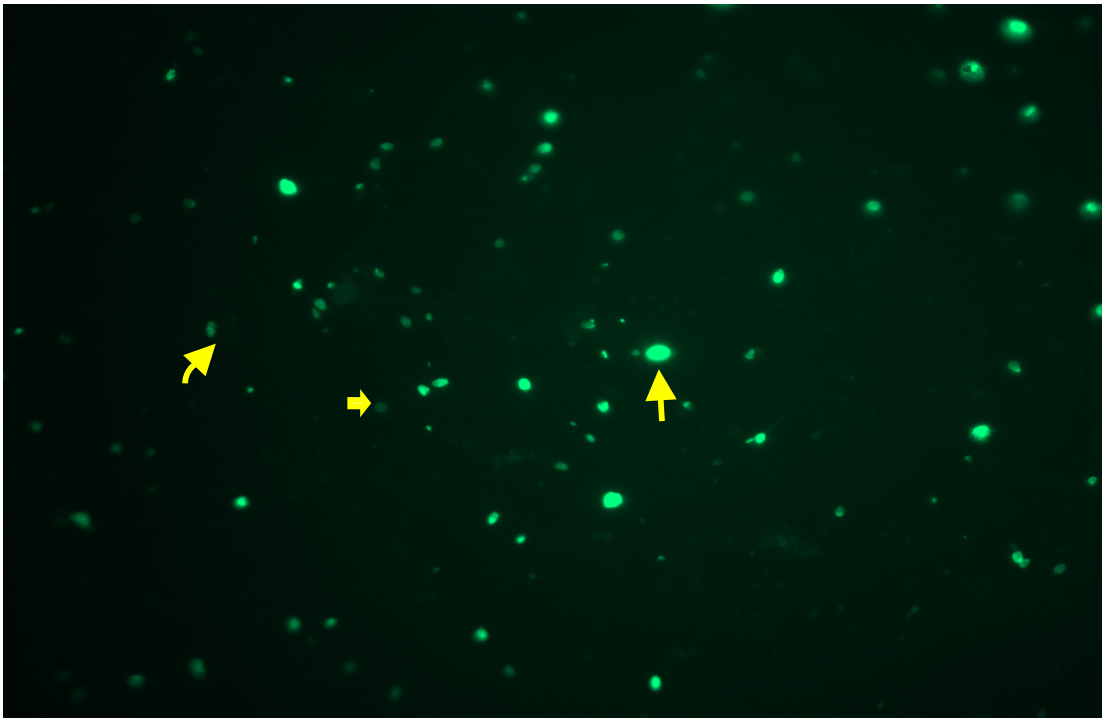
Şekil 4.53. Varikosel ameliyatı sonrası 6. ay DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40)



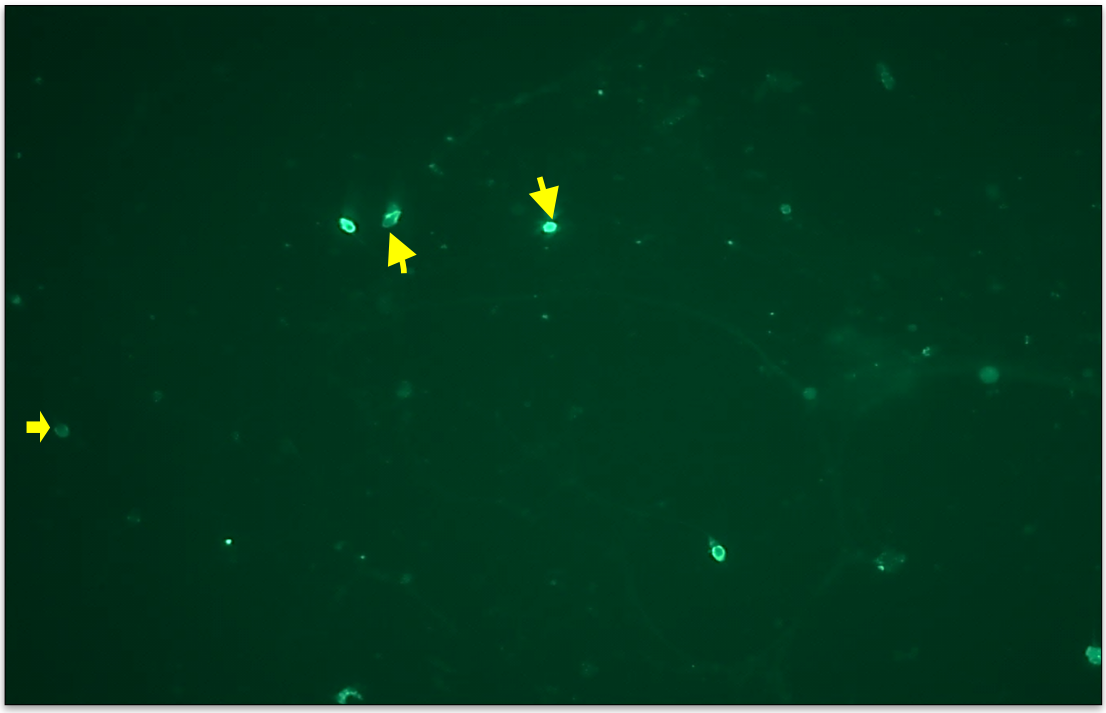
Şekil 4.54. Varikosel ameliyatı sonrası 6. ay DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40)



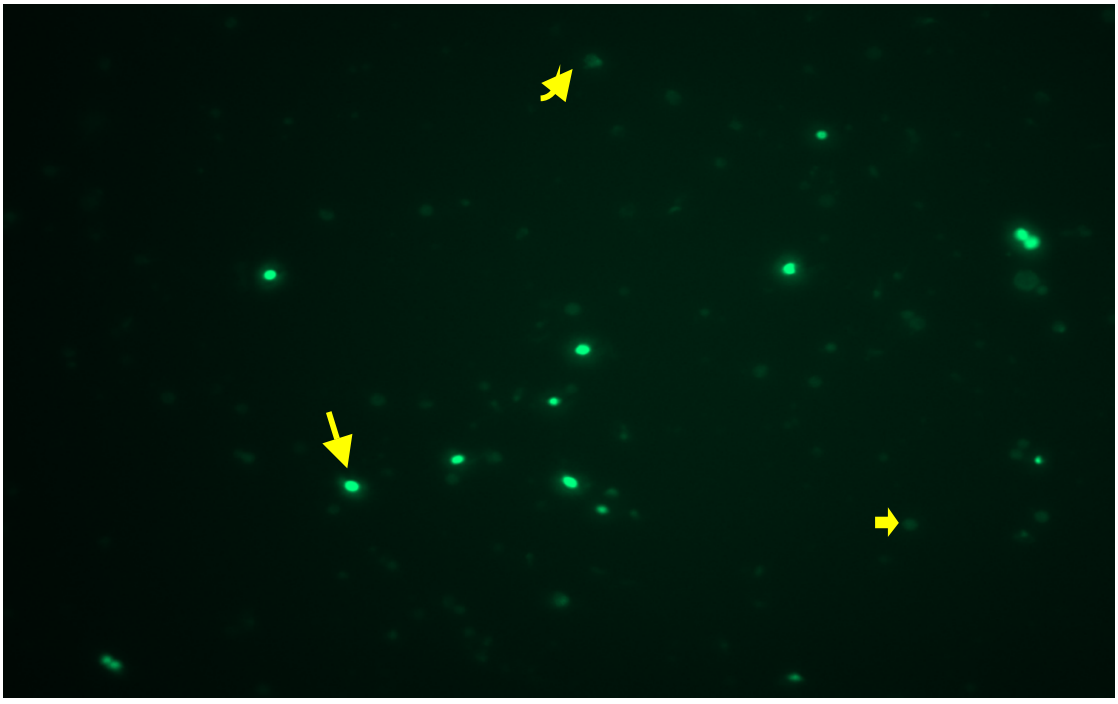
Şekil 4.55. Varikosel ameliyatı sonrası 6. ay DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40)



Şekil 4.56. Varikosel ameliyatı sonrası 12. ay DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40)



Şekil 4.57. Varikosel ameliyatı sonrası 12. ay DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40)



Şekil 4.58. Varikosel ameliyatı sonrası 12. ay DFI; hiç sinyal vermeyen (ok başı), düşük ve orta derecede sinyal veren (kıvrılmış ok) ve yüksek derecede pozitif sinyal veren spermiyum hücreleri (ok), (TUNEL Assay, X40)

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

"Endüstri ve teknolojinin gelişmesi hayatı kolaylaştırdığı gibi çevresel faktörlerle insan sağlığını tehdit etmektedir. Özellikle çevresel faktörlere duyarlı bir yapıya sahip olan üreme sistemi bu durumdan fazlaca etkilenir. Erkek faktörü, infertilite nedenlerinin yaklaşık yarısını oluşturmaktadır" (Demirci ve Potur 2014). Erkek infertilitesinin en önemli faktörlerinden biri varikoseldir. Varikoselde, testisten çıkan toplardamarların valf yetersizliğine bağlı olarak genişlemesinden dolayı, testiste ısı artışı, beslenme bozukluğu sonucu testis tübül hücrelerinde spermiyum oluşumu olumsuz etkilenir. Varikosel, testis hasarı sonucu testis gelişiminde gerilemeye ve spermetogenezi bozarak infertiliteye neden olabilir. Varikosel infertilite üzerine olan etkileri semen anomalisi, testiküler volümde azalma ve leydig hücre fonksiyonunda bozulmayla ilişkilidir (Çayan ve Kadıoğlu 2005).

Varikosel ilerleyici bir lezyon olduğundan, varikoselin varlığı infertilite potansiyeli taşımakta ve zamanla fertilite kaybıyla sonuçlanabilmektedir. Bundan dolayı özellikle ergenlik dönemiyle beraber görülmeye başlanan varikoselin seyri izlenmeli ve testis dokusuna fazla zarar vermeden erken operasyon önerilmelidir. "Varikosel kişiden kişiye farklılık gösterse de spermiyum yapısını, sayısını ve hareketliliğini değişik şekillerde olumsuz etkileyebilmektedir. Bazen tüm spermiyum parametrelerini olumsuz etkileyebileceği gibi, bazen de sadece sayı, sadece hareket veya sadece şekil bozukluğuna yol açabilmektedir" (Şahin 2010).

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre (WHO), "normal semen analizi olan erkekler arasında varikosel oranı % 11.7 olarak bildirilirken bu oranın anormal semen analizi olan erkekler arasında % 25.4 kadar olduğu tespit edilmiştir" (WHO 1992). "Varikoselli erkeklerin semen analizlerinin değerlendirilmesinde, olguların % 90'ında harekette azalma, % 65'inde spermiyum konsantrasyonunda 20 milyon/ml altına düşme gösterilmiştir. Varikosel, düşünüldüğü gibi her olguda infertiliteye yol açmamakta ve varikosel patolojisine sahip olguların % 80'in fertil olduğu bilinmektedir" (Dohle 2008). Yani bizim üzerinde araştırmalar yaptığımız grup % 20'lik kesimdir. "Bu arada varikoselin sadece erişkin yaşta fertilite sorunlarına yol açmadığı, çocukluk döneminde de görüldüğü ve bu hali ile progresif hasar oluşturarak infertiliteye neden olabildiği de bilinmektedir. Bununla iligili olarak yaşları 2-19 arasında değişen toplam 4052 vakanın değerlendirildiği bir çalışmada varikosel oranı 2-6 yaş arası çocuklarda % 0.79, 7-10 yaş

arası çocuklarda % 0.96, 11-14 yaş arası çocuklarda % 7.8 ve 15-19 yaşları arasındaki çocuklarda % 14.1 oranlarında saptanmıştır" (Kilciler ve Erdemir 2014, Akbay ve ark. 2000). Varikosel erkeklerde küçük yaştan itibaren görülmeye başlar, özellikle ergenlik çağından itibaren testislerde spermiyum üretimini olumsuz etkilediğinden dolayı erkek infertilitesinin önemli sebeplerinden biri haline gelmiştir.

Aşçı ve ark. (2003), yaptıkları çalışmada varikosel teşhisi konulmuş, yaş aralığı 13-41 arasında değişen 71 hastanın yaş ortalamasını 25, Çek (1990), varikoseli olan ve yaş aralığı 20-21 arasında olan 32 hastanın yaş ortalamasını 21.5, Boğatekin (2011) varikosel ameliyatı olacak 30 hastanın yaş ortalamasını 21 olarak belirtmişlerdir. Zümrütbaş ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada varikoselli 45 hastanın yaş ortalamasını 30.04, Koyuncu (2008), varikosel ameliyatı olan yaşları 21-38 arasında değişen 52 hastanın yaş ortalamasını 30, Nuhoğlu (2004), varikoselli 56 hasta ile yaptığı çalışmada yaş ortalamasını 29 olarak bildirmişlerdir. Çalışmamızda, sol grade-3 varikosel teşhisi konulmuş 40 hastanın yaşları 15-30 arasında değişirken, hastaların yaş ortalaması 22 olarak bulunmuştur. Bu yaş grubundaki hastaların üroloji kliniğine başvurma nedenlerine bakıldığında; kasık bölgesinde ağrı ve şişkinlik, testislerde sarkma ve infertilite şikayetleri yer almaktadır.

Varikoselin esas göstergesi semen anormallikleridir. Yapılan literatür araştırmalarında varikosel ameliyatı sonrası hastaların yaklaşık % 60-70'inde spermiyum sayı ve hareketinde düzelme olduğu görülmektedir. Kıbar ve ark. (2002), "yaptıkları çalışmada ameliyat öncesi spermiyum konsantrasyonları 20 milyon/ml altında olan 58 hastanın 44'ünde (% 75.8) ameliyat sonrası düzelme olduğunu tespit etmişlerdir. Spermiyum hareketi düşük olan 68 hastanın ise ortalama spermiyum hareketleri % 23.2'den % 45.1'e yükselmiş olup, 40 (% 58.8) hastada olumlu anlamda bir artış olduğunu tespit etmişlerdir". Aşçı ve ark.(2003), 64 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada; ameliyat öncesi semen volümünü 3.17 ml, spermiyum sayısını 21.58 milyon/ml, hareketini % 46.71 olarak bulmuşlardır. Ameliyat sonrası semen volümünü 3.18 ml, spermiyum sayısını 26.38 milyon/ml, hareketini ise % 54.64 olarak tespit etmişlerdir. Tatlışen ve ark. (1990), yaptıkları çalışmada 40 hastanın 31'inde (% 77,5) varikosel ameliyatı sonrası spermiyumların sayı, hareket ve morfolojisinin değişik oranlarda düzeldiğini, ameliyat öncesi 40 hastanın spermiyumlarının konsantrasyon ortalamasının 15,45 milyon/ml iken, ameliyat sonrası 28,64 milyon/ml' ye yükseldiğini

bildirmişlerdir. Yine ameliyat öncesi dönemde A+B hareketli spermiyumların ortalaması % 22,27 iken, ameliyat sonrası dönemde % 30,36'ya çıkmıştır. Normal morfoloji ise ameliyat öncesi % 65 iken, ameliyat sonrası % 67,27'ye yükselmiştir. Düzelme görülen 31 hastanın 9'unun (% 22,5) eşinde gebelik tespit edilmiştir. Akıncı ve ark. (1994), "yaptıkları çalışmada varikosel ameliyatı öncesi spermiyum sayısı ortalamasının 42,2 milyon/ml iken, ameliyat sonrasında 79,1 milyon/ml'ye çıktığını belirtmişlerdir".

Bu çalışmada, ameliyat öncesi 40 hastanın spermiyum sayı ortalaması 45.25 milyon/ml iken, ameliyat sonrası 3. ayda 48.85 milyon/ml, 6. ayda 51.72 mlyon/ml ve 12. ayda ise 49.63 milyon/ml olarak bulunmuştur. Varikosel ameliyatı öncesinde 32 hastanın spermiyum sayısı 15 milyon/ml'den fazla iken, 8 hastanın spermiyum sayısı 15 milyon/ ml'den daha az olduğu tespit edilmiştir. Ameliyat sonrasındaki 3. ayda 4 hastanın, 6. ayda 3 hastanın ve 12. ayda ise 8 hastanın spermiyum sayısı 15 milyon/ ml'den daha az bulunmuştur. Bu bulgular ışığında elde ettiğimiz sonuçlara baktığımızda varikoselli hastalarda ameliyat öncesi ve sonrasında spermiyum sayıları arasında olumlu anlamda bir düzelmenin olduğunu, fakat ameliyat sonrasındaki dönemlerde ise spermiyum sayılarında dalgalı bir seyirin izlendiğini gözlemledik. Dolayısıyla varikosel ameliyatı öncesi ve sonrasında elde ettiğimiz spermiyum sayılarındaki artış Aşçı ve ark. ile Tatlışen ve ark. yaptıkları çalışmalarla benzer sonuçlar verdiğini görmekteyiz.

Boğatekin (2011), "yaptığı çalışmada sol grade-3 varikosel tanısı konulmuş yaş ortalaması 21 olan 30 hastadan ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası 3. ayda spermiyum parametrelerine bakmıştır". 30 hastanın spermiyum sayısının ameliyat öncesi ortalamasının 46,96 milyon/ml olduğunu, ameliyat sonrası 52,33 milyon/ml'ye yükseldiğini bildirmiştir. Varikosel ameliyatı öncesi A+B hareketli spermiyum sayısı % 28,69 iken, varikosel ameliyatı sonrası % 37,36'ya çıkmıştır. C hareketli spermiyumlar ameliyat öncesi % 24,86'dan, ameliyat sonrası % 25,74'e yükseldiğini, D hareketsiz spermiyumların ise ameliyat öncesi % 46,90'dan ameliyat sonrası % 41,96'ya düştüğünü bildirmiştir.

Çek (1990), yaptığı çalışmada başlıca yakınmaları varikoselin yarattığı kitle ve ağrı olan 20-21 yaş grubundaki 32 hastanın semen bulgularını sayı, hareket ve morfoloji yönünden incelemiştir. Varikosel ameliyatı öncesi hastaların spermiyum sayı ortalamasının 33.4 milyon/ml, A+B hareketli spermiyum ortalamasının % 34,9, normal

morfolojinin ise % 72 olduğunu belirtmiştir. Çalışmaya dahil edilen 32 hastadan 11'inde spermiyum sayısı 20 milyon/ml'nin altında iken, hareketlilik oranı % 60'ın altında kalan hasta sayısını 24 olarak bildirmiştir. Tüm hastalarda morfolojisi normal olan spermiyumların tamamının % 60 ya da daha fazla olduğunu saptamışlardır. Ameliyat sonrası 3. ay sonunda kontrolü yapılabilen 6 hastadan 3 tanesinde hem sayı, hem hareketlilik oranında düzelme görülürken, 2 hastada durumun değişmediğini, 1 hastada ise gerek sayı, gerekse hareketli hücre oranında gerileme görüldüğünü tespit etmiştir.

Kamal (2001), 159 varikoselli hasta üzerinde yaptığı çalışmada hastaları spermiyum sayısı bakımından 5 milyon/ml üzeri ve 5 milyon/ml altı olarak iki gruba ayırmıştır. Çalışmada, 5 milyon üzeri grupta spermiyumların hareket oranı % 25,9 iken, 5 milyon altı grupta spermiyumların hareket oranının % 8,1 olduğunu belirtmişlerdir. Akıncı ve ark. (1994), "yaptıkları çalışmada varikosel ameliyatı öncesi spermiyum hareketinin % 29'larda olduğunu, ameliyat sonrası % 57'lere yükseldiğini gözlemişlerdir. Oligospermik hastalar arasında ise, ameliyat öncesi spermiyumların hareketinin % 44.26 iken, ameliyat sonrasında % 45.66'ya yükseldiğini belirtmişlerdir".

Çalışmamızda varikoselli hastaların A+B hareketli spermiyum ortalaması ameliyat öncesi % 35.5 iken, ameliyat sonrası 3. ayda % 42.65'e, 6. ayda % 43.02'ye ve 12. ayda ise % 44.05'e yükselmiştir. Varikosel ameliyatı öncesinde A+B hareketli spermiyumları % 32'nin altında olan hasta sayısı 16 iken, ameliyat sonrası 3. ayda 7, 6. ayda 3 ve 12. ayda ise 5 olarak tespit edilmiştir. Yani varikosel operasyonunun spermiyumların hareket kabiliyetini artırdığını, ameliyat öncesi ve sonrası hareket yüzdeleri arasındaki yükselmeye bakarak görmemiz mümkündür. Çalışmamızda, ameliyat sonrası 3. ay, 6. ay ve 12. aydaki spermiyumların hareket oranlarında artış olmasına karşın, istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığını tespit ettik. Varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası hastaların spermiyumlarının hareket düzeyleri karşılaştırıldığında, elde ettiğmiz verilerin daha önce bu alanda yapılan çalışmalarla paralel olduğunu görmekteyiz.

Detaylı bir semen analizi, infertilitenin araştırılmasında oldukça önemlidir. Semenin kalitesi, spermiyumların sayı, hareket ve morfolojisine göre değerlendirilir. Spermiyum morfolojisi, infertilite durumunu en iyi biçimde gösteren parametredir. "Varikoselli hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda spermiyumlar, normal ve anormal morfolojili olarak değerlendirilmiştir" (Erimşah ve ark. 2008). Daha önce yapılan

çalışmaların çoğunda spermiyumların ameliyat öncesi ve sonrası normal ve anormal morfoloji şeklinde teşhis edilirken, çalışmamızda anormal morfoloji gösteren spermiyumları ayrıntılı bir şekilde inceledik. Yaptığımız incelemeye göre anormal morfolojiye sahip spermiyumları baş, akrozom, boyun, kuyruk ve mixt anomaliler şeklinde ameliyat öncesi ve sonrasında karşılaştırma imkanı bulduk.

Boğatekin (2011), yaptığı çalışmada varikosel tanısı konulmuş 30 hastanın ameliyat öncesi normal morfoloji gösteren spermiyum ortalaması % 3.07 iken, ameliyat sonrası 3. ayda % 6.22'ye yükseldiğini bildirmiştir. Çayan ve ark. (2001), oligozoospermik vakalar üzerinde yaptıkları çalışmada, varikosel ameliyatı öncesi anormal morfolojili spermiyum oranı % 45.3 iken, ameliyat sonrası % 43.7 ile anlamlı bulunmamıştır. Aşçı ve ark. (2003), 64 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, varikosel ameliyatı öncesi normal spermiyum morfolojisi % 74.14 iken, ameliyat sonrası normal spermiyum morfolojisini % 76.62'ye yükseldiğini tespit etmişlerdir. Tatlışen ve ark. (1990), yaptıkları çalışmada 40 hastanın normal spermiyum morfolojisinin ameliyat öncesi dönemde % 3,63 iken, ameliyat sonrası dönemde % 6,26'ya çıktığını bildirmişlerdir. Anormal morfolojiye sahip olan spermiyum baş anomalisi ameliyat öncesi ve sonrası sırasıyla % 76,23'ten % 69,56'ya düşerken, boyun anomalisinin % 10,43'ten % 12,06'ya ve kuyruk anomalisinin % 10,90'dan % 11,70'e yükseldiğini saptamışlardır. Çalışmamızda 40 hastanın ameliyat öncesinde spermiyumlarının normal morfoloji ortalaması % 3.15 iken, anormal morfoloji gösteren spermiyumların ortalaması % 96.85 olarak bulunmuştur. Ameliyat öncesi dönemde anormal morfoloji gösteren spermiyumların baş anomalisi ortalaması % 36.67, akrozom anomalisi ortalaması % 21.45, boyun anomalisi ortalaması % 18.6, kuyruk anomalisi ortalaması % 13.82 ve mixt anomalisi ortalaması % 6.3 olarak bulunmuştur.

Ameliyat sonrası 3. ayda spermiyumların normal morfoloji ortalaması % 3.20 iken, anormal morfoloji gösteren spermiyumların ortalaması % 96.80 olarak bulunmuştur. Anormal morfoloji gösteren spermiyumların sırasıyla baş anomalisi ortalaması % 35.30, akrozom anomalisi ortalaması % 20.3, boyun anomalisi ortalaması % 17.57, kuyruk anomalisi ortalaması % 15.35 ve mixt anomalisi ortalaması % 8.37 olarak tespit edilmiştir. Ameliyat sonrası 6. ayda spermiyumların normal morfoloji ortalaması % 2.97 iken, anormal morfoloji gösteren spermiyumların ortalaması % 97.03 bulunmuştur. Anormal morfoloji gösteren spermiyumların sırasıyla baş anomalisi

ortalaması % 37.27, akrozom anomalisi ortalaması % 19.17, boyun anomalisi ortalaması % 16.67, kuyruk anomalisi ortalaması % 17.22 ve mixt anomalisi ortalaması % 6.9 olarak saptanmıştır. Ameliyat sonrası 12. ayda spermiyumların normal morfoloji ortalaması % 3.27 iken, anormal morfoloji gösteren spermiyumların ortalaması % 96.73 olarak bulunmuştur. Anormal morfoloji gösteren spermiyumların sırasıyla baş anomalisi ortalaması % 37.05, akrozom anomalisi ortalaması % 18.2, boyun anomalisi ortalaması % 16.57, kuyruk anomalisi ortalaması % 18.4 ve mixt anomalisi ortalaması % 6.55 olarak tespit edilmiştir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar literatürde kruger kriterleri dikkate alınarak yapılan morfolojik çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

Kıbar ve ark. (2002) varikosel ameliyatının spermiyum hücresinin hareket ve konsantrasyonunu olumlu yönde etkilediğini belirtirken, morfolojik bozuklukları anlamlı oranda etkilemediğini rapor etmişlerdir. Bu çalışmaya dahil edilen 40 hastadan varikosel ameliyatı öncesinde 33 hastada teratozoospermi (anormal morfolojili spermiyumlar) görülürken, ameliyat sonrası 3. ayda 33, 6. ayda 34 ve 12. ayda da 33 hastada teratozoospermi görülmüştür. Çalışmamızda kruger kriterlerine göre değerlendirilen spermiyum morfolojisinin bir bölümünde düzelme görülürken, bir başka bölümünde ise anomalilerde artış olduğu saptadık. Örneğin; baş, akrozom ve boyuna ait morfolojik bozukluklarda ameliyat öncesi ve sonrası arasında dönemsel olarak hafif azalma görülürken, kuyruk defektleri ve immatür formların oranlarında da artış olduğunu gözlemledik. Dolaysıyla Kıbar ve ark. belirttiği gibi varikosel ameliyatının spermiyumların morfolojik yapısı üzerinde olumlu anlamda bir etkisinin olmadığını görmekteyiz.

Morfolojik incelemenin amacı, normal ve anormal yapıdaki spermiyumların ayırt edilmesidir. “Morfolojik bozukluğun fertilite ile sıkı bir ilişkisi olduğu, anormal yapıdaki spermiyumların fertilite yeteneklerinin olmadığı veya az olduğu tespit edilmiştir” (Kadıoğlu ve ark.2004). Çalışmamızda varikoselli hastaların tamamında kruger kriterlerine göre baş, akrozom, boyun ve kuyruk anomalilerine sahip spermiyumlar bulunmaktaydı. Varikosel ameliyatı sonrasındaki dönemlerde de morfolojik anlamda bu anomalilerde anlamlı bir düzelmenin olmadığını kruger kriterleri baz alınarak yapılan daha öncaki çalışmalarla benzer sonuçların ortaya çıktığını tespit ettik.

"Erkeklerde infertilite nedenleri araştırılmasında Avrupa Üroloji Derneği kılavuzlarında 7057 hastanın değerlendirilmesi sonrası infertilitede en büyük nedenin idiyopatik olduğu bunu % 12.3' lük oranla varikoselin izlediği anlaşılmaktadır" (Dohle 2008, Kilciler ve Erdemir 2014). "Amerikan Üroloji Derneği kılavuzlarında da, varikoselin infetilite etiyolojisindeki oranı % 27 olarak belirtilmektedir. Literatürdeki başka çalışmalarda da erkekler arasında infertilite sebepleri içerisinde idiyopatik sebepler dışlandığında etiyolojideki en sık nedenin varikosel olduğu anlaşılmaktadır" (Goldstein ve ark. 2008, Kilciler ve Erdemir 2014). Yapılan araştırmalarda spermiyumların hareket oranı azaldıkça ve anormal morfolojili spermiyumların oranı arttıkça fertilizasyonun azaldığı gösterilmiştir. Genel olarak spermiyum konsantrasyonu ml'de 10-20 milyondan az ve hareket % 30-40'ın altına düştüğünde fertilizasyon oranları azalmaktadır (Kefi 2000). Yukarıdaki sonuçlara göre varikosel, erkek infertilitesinde cerrahi girişimle tedavi edilebilen bir faktördür.

Günümüzde varikosel ameliyatının faydalı olup olmadığına ilişkin tartışmalar halen devam etmektedir. Güncel literatürde her ne kadar infertil hastalarda varikosel ameliyatının yapılması konusunda fikir birliği oluşmaya başlamış ise de, farklı kılavuzlarda farklı yaklaşımlar söz konusudur. Örneğin AUA (Amerika Üroloji Birliği) kılavuzlarında; "palpable varikosel varlığı, anormal semen parametreleri varlığı, dökümante edilmiş infertililte varlığı, kadın partnerin normal olması veya düzeltilebilir infertililtesinin olması durumlarının tümünün varlığında varikosel ameliyatı önerilmektedir". EAU (Avrupa Üroloji Birliği) kılavızlarında ise, "progresif testiküler gelişim bozukluğu varlığı olan adölesanlar, klinik varikoseli olan ve 2 yıldır süren açıklanamayan infertilite varlığında varikoselektomi önerilirken, normal semen analizi olan ve subklinik varikoselli infertil hastalarda varikosel ameliyatı önerilmemektedir". Buna karşın Birleşik Krallık kılavuzlarına göre, "infertil hastalarda varikoselektomi hiçbir şartta önerilmemektedir". (Erdemir ve Kilciler 2014) Varikoselli hastalar üzerinde yaptığımız çalışmada diğer spermiyum parametrelerinden farklı olarak yani spermiyumların hareket ve konsantrasyonunda varikosel ameliyatı sonrasında düzelme görülürken, spermiyumların morfolojileri ameliyat öncesi ve sonrasında herhangi bir düzelmenin olmadığını ve elde ettiğimiz sonuçların daha önce varikoselli hastalar üzerinde yapılan çalışmalarla benzer sonuçlar ortaya çıktığını görmekteyiz.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yaptığımız literatür araştırmasında varikosel ameliyatının spermiyum morfolojisi üzerindeki etkisi konusunda ortak bir fikrin oluşmadığı görülmektedir. Kilciler ve Erdemir (2014), "yılında yayınladıkları varikosel kılavuzunda; toplam 14 çalışmada 2166 olgunun değerlendirilmesi sonucu elde edilen verilerde, 6 çalışmada varikosel ameliyatı sonrası morfolojinin düzeldiği, 7 çalışmada düzelmediği ve 1 çalışmada da değişken sonuçların alındığı yönünde görüş bildirmişlerdir". Yukarıdaki sonuçları toparlayacak olursak varikosel operasyonunun spermiyum sayı ve hareketinde artış yaptığı konusunda araştırmacıların genel olarak aynı fikirde oldukları, ancak bu ortak görüşün spermiyum morfolojisi konusunda sağlanamadığı anlaşılmaktadır. Bu tartışmaları azaltmak veya varikosel ameliyatı konusunda fikir birliğine ulaşmak için daha fazla sayıda hastayı içeren çalışmalara ihtiyaç duyulduğu kanaatindeyiz.

Çalışmamızda varikosel teşhisi konulmuş ve varikosel ameliyatı yapılmış hastaların ameliyat öncesi ve sonrası spermiyumları hem kruger kriterlerine göre ışık mikroskobunda, hem de ultrastrüktürel yapı olarak elektron mikroskobunda incelenmiştir. Böylece varikoselli hastaların varikosel ameliyatı öncesi ve sonrası spermiyumlarının morfolojik yapılarının incelenmesiyle, spermiyuma ait hücresel düzeyde ne tür farklılıkların ortaya çıktığını karşılaştırma imkanı bulduk. Elde ettiğimiz bulgular varikosel ameliyatı öncesi ve sonrasında spermiyum ultrastrüktürel yapılarının, yani spermiyumun morfolojik yapısında bariz bir farkın oluşmadığını tespit ettik.

Kruger ve ark. (1988), "yaptığı ultrastrüktürel morfoloji değerlendirmesine göre normal bir spermiyum hücresinde, spermiyum baş bölgesinin % 40-70'ini kapsayan bir akrozomal bölge olmalıdır. Boyun kısmı; ince, genişliği 1µm'den az, boyu baş uzunluğunun 1.5 katı kadar ve başa aksiyel olarak bağlanmalıdır". Sitoplazmik artıklar normal baş alanının yarısından azdır. Kuyruk düz, boyun kısmından ince, kıvrılmamış, yaklaşık 45-55 µm uzunlukta olmalı ve bu özelliklere sahip spermiyum morfolojisi toplam spermiyumların % 4 ve üzeri oranda olması gerekir şeklinde tanımlanmıştır. Bu çalışmada, spermiyum hücresinin ultrastrüktürel olarak baş, akrozom, boyun ve kuyruk bölgeleri ayrıntılı olarak incelendi. Baş bölgesinde akrozomal membranlarda ayrılmalara, nüklear vakuolizasyona bakıldı. Kuyruk yapısında, 9+2 çevresel ve merkezi mikrotübül yapısının yanısıra mitokondrilerde ve fibröz kılıf yapısındaki değşiklikler gözlendi. Boyun bölgesinde ise, mitokondrilerin dizilişi ve sitoplazmik

artık birikimi araştırılarak varikosel ameliyatı öncesi ve sonrasında bu morfolojik yapılarda anlamlı bir düzelmenin olmadığı gözlendi.

Elektron mikroskobu incelememizde ameliyat öncesinde genel itibariyle örnekler arasında farklılıklar olmakla birlikte akrozomal kepin normal şekilli ve devamlı olup başın % 40-60'ını kaplayan örnekler olduğu gibi akrozomal kepin yer yer kesintiye uğradığını ve plazma membranıyla ile paralellik göstermediğini ve başın 2/5'ten daha az bir kısmını kaplayan örnekleri de gözlemledik. Ameliyat sonrası hasta grubunda, nukleusta vakuolleşmenin yoğun gözlendiği, olgun kromatin yapısına sahip olan spermiyum hücrelerinin yanı sıra kromatin yapısı dekondanse olan spermiyumların da bulunduğunu gözlemledik. Genel itibariyle bazı spermiyumlarda nuklear yapının çift veya vakuollü olduğunu, akrozomal yapının yer yer kesintiye uğradığını tespit ettik. Baş ve boyun bölgesinde yoğun olarak sitoplazmik artıkların varlığını gözlemledik. Mitokondrinin boyun bölgesinde her iki tarafta simetrik olabildiği gibi, dağınık ve düzensiz bir dağılım gösteren örnekleri de tespit ettik. Kuyrukta mikrotübüllerin (9+2) yapısındaki sapmaları (9+0, 8+0 9+1) dışında, mikrotübül yapılarının dağınık yerleşimli olduğunu gözlemledik. Aksonem yapısının ve fibröz kılıfın bazı bölgelerde devamlı olduğunu, bazı bölgelerde ise parçalandığını ve displaziye uğradığını tespit ettik. Spermiyumların elektron mikroskobu sonuçları değerlendirildiğinde, beklendiği üzere farklı varyasyonların ortaya çıkması spermiyum populasyonunun çeşitliliğini yansıtması bakımından önemlidir.

Hofmann ve Hilsher'in (1991), yaptığı çalışmada, varikosel ameliyatı öncesinde spermiyum hücrelerinin morfolojik yapılarında akrozom, aksonem, kuyruk, mitokondri ve mikrotübüllerde yapısal bozukluklar ile birlikte spermiyumun baş bölgesinde büyük nuklear vakuollere rastlandığını, spermiyum hücrelerinin bu morfolojik anomalilerinin yapılan incelemede varikosel ameliyatı sonrasında tekrar gözlendiğini belirtmişlerdir. Mitchell ve ark. (2006), varikoselli hastaların spermiyumları üzerinde yaptıkları elektron mikroskobu değerlendirmesinde, kuyruktaki fibröz kılıfın bazı bölgelerde devamlı iken, bazı bölgelerde bozuk ve parçalı olduğunu gözlemlemişler. Mikrotübül yapısının incelenmesinde (9+2) yapısından sapmalar (9+0, 8+0) ile birlikte mikrotübül yapılarının dağınık yerleşimli olduğunu belirtmişlerdir. Genel olarak çalışmamızda ultrastüktürel olarak elde ettiğimiz sonuçların Hofmann ve Hilsher ile Mitchell ve ark. yaptıkları çalışmalarla uyumlu olduğu görülmektedir.

Visco ve ark. (2010), 40 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada spermiyum hücresini hem ışık mikroskobunda, hem de elektron mikroskobunda inceleyerek morfolojik olarak karşılaştırmışlardır. Baş anomalileri ve boyunda sitoplazmik artıkların hem ışık mikroskobunda, hem de elektron mikroskobunda anlamlı bir benzerlik görülürken, orta parça ve kuyruk defektleri arasındaki karşılaştırmada herhangi bir benzerliğin bulunmadığını belirtmişlerdir. Çünkü orta parçadaki mitokondrileşme ve kuyruktaki mikrotübüller yapının ışık mikroskobunda değerlendirilemediğini ifade etmişlerdir. Franco ve ark. (2012), 66 infertil hastanın semen analizi morfolojik olarak değerlendirildiğinde, spermiyumların % 1.04±0.96'ü normal, % 30±17.8'ü geniş nüklear vakuollu olduklarını ve insan spermiyumunda geniş nüklear vakuol varlığının anormal kromatin paketlenmesini gösterdiğini belirtmişlerdir. Dolayısıyla elektron mikroskobunda görülen ve baş bölgesinde bulunan nüklear vakuolleri, DNA hasarının işareti olarak değerlendirmişlerdir. Çalışmamızda, ışık mikroskobuyla kruger kriterlerini baz alarak yaptığımız incelemede elde ettiğimiz morfolojik anomalilerle, elektron mikroskobunda elde ettiğimiz morfolojik anomalilerin birbiriyle paralellik arz ettiğini gözlemledik. Işık mikroskobunda tespit edilen baş defektleri, akrozom anomalileri, boyunda stoplazmik artıklar gibi morfolojik anomalileri elektron mikroskobundaki incelemede de gözlemledik. Fakat ışık mikroskobunda görülemeyen spermiyumun hareketinden sorumlu olan yapılar örneğin; mitokondrilerin düzeni, mikrotübüllerin görünümü, fibröz kılıf yapısı ve axonemal yapıları elektron mikroskobunda değerlendirerek varikosel ameliyatının spermiyumun morfolojik yapısı üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığını tespit ettik.

Cengiz (2010), yaptığı elektron mikroskobu incelemesinde, varikosel ameliyatı öncesi grubunda akrozomal kepin normal şekilli, devamlı, başın ön kısmını % 60 oranında kaplayacak boyutta olduğunu belirtmiştir. Nukleus normal şekilli, olgun kromatinliyken, kuyrukta gözlenen mikrotübül yapılarının (9+2) yapısında veya (9+1, 9+0) formasyonu şeklinde olduğunu gözlemiştir. Mitokondrilerin normal şekilli ve boynun her iki tarafında simetrik yerleşimli olduğunu ifade etmiştir. Varikosel ameliyatı öncesini ve sonrasını karşılaştırdığımızda ultrastrüktürel olarak bazı parametrelerde düzelmenin olduğunu gözlemledik. Örneğin; boyun bölgesindeki mitokondrilerin ameliyat sonrasında hem düzgün ve normal şekilli olduğunu, hem de boynun her iki tarafında simetrik olarak dizildiğini, aynı şekilde kuyrukta yer alan mikrotübül

yapısındaki sapmaların minimuma indiğini, aksonem yapısının ve fibröz kılıf yapısındaki parçalı deformasyonların da azaldığını tespit ettik. Fakat morfolojik anlamda yani spermiyum hücresinin genel görünümü bakımından ameliyat öncesi ile sonrası arasında anlamlı bir farkı tespit edemedik.

Varikoselin spermiyum apopitozuna olan ilişkisinin araştırıldığı birçok ultrastrüktürel çalışmada spermiyumda sitoplazmik artıkların varlığı, düzensiz nüklear kromatin biçimi, nüklear kromatin parçalanması, apopitotik cisimcikler içeren yoğun yuvarlağımsı tomurcuklanma gösteren nukleuslu spermiyumlar, nüklear kromatin içinde vakuollerin bulunuşu ve bu vakuollerin bazılarının içindeki membransal cisimlerin varlığı ile tanımlanmıştır (Baccetti ve ark.1996).

Araştırmacılar DNA hasarını, DNA fregmantasyon indeksi (DFI) şeklinde ölçmüş ve sonuçta % DFI'nın normal spermiyum parametresine sahip infertil erkeklerde, fertil erkeklere kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğunu saptamışlardır. Normospermik infertil bireyler ile spermiyum parametreleri normal sınırlar içerisinde olmayan infertil erkekler arasında ise anlamlı bir fark saptayamamışlardır. Bu sonuçların ışığında araştırmacılar spermiyum DNA kalitesinin semen parametreleri normal olan, idiyopatik infertilite tanısı konulmuş infertil bireyler için yol göstereceğini bildirmişlerdir (Sharma ve ark.2002, Durmaz 2010).

Spermiyum DNA hasarının hangi faktörlerden dolayı ortaya çıktığı tam olarak izah edilebilmiş değilse de çeşitli iç (protamin eksikliği, artmış ROT düzeyi, apopitoz) ve dış nedenlerden (testikülerhipertermi, çevresel toksinler) dolayı spermiyum DNA'sında farklı düzeyde hasarlar meydana geldiği düşünülmektedir. Spermiyum DNA hasarının, erkek infertilitesi ve bozulmuş spermatogenez ile ilişkili olduğu biliniyor ise de, fertil bireylerde de az da olsa tespit edilebilecek düzeyde DNA hasarının olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (Zini ve Libman 2006. Türk ve ark. 2006).

Barosso ve ark. (2000), yaptıkları bir çalışmada hareketi fazla olan spermiyum örnekleri ile hareketi az olan spermiyum örnekleri DNA kırıkları açısından kıyaslandığında DNA fregmantasyonlu spermiyumların oranının, hareketi az olan spermiyum örneklerinden daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Budak (2014), yaptığı araştırmada infertil erkeklerin spermiyumlarındaki DNA hasar oranının, fertil erkeklerin spermiyumlarındaki DNA hasar oranından daha yüksek bulunduğunu belirtmiştir.

Sıddıghı ve ark. (2004), bir çalışmada açıklanamayan infertilitesi olan erkek hastalar değerlendirildiğinde, fregmante DNA'ya sahip spermiyum ve apopitotik ve nekrotik spermiyum içeren vakalarda başarısız döllenme, sancılı gebelik süreci ve düşük oranının daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Moustafa ve ark. (2004), yaptıkları çalışmada düşük spermiyum konsantrasyonu ve normal morfolojiye sahip spermiyum sayısı az olan semen örneklerinde, DNA kırkları araştırılmış ve bu iki parametreye sahip olan spermiyumlarda DNA fregmantasyon indeksi yüzdesinin daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. McClure ve ark. (2004), yaptıkları çalışmada klasik semen parametreleri içerisinde olmayan DNA fregmantasyonu tespitinin spermiyum kalitesi için iyi bir ölçüt olması gerektiğini ifade etmişlerdir. Aydıner (2008), yaptığı çalışmada spermiyum hücrelerinde DNA fregmantasyonlarını en aza indirgemek için semenleri çeşitli yıkama metodlarıyla yıkandıktan sonra yıkama öncesi ve sonrası DNA fregmantasyon durumu karşılaştırdığında yıkama sonrası hazırlanan örneklerde yıkama öncesine göre nekrotik, apopitotik ve sitoplazmik artık bulunan spermiyumların anlamlı derecede azaldığını saptamıştır.

Wang ve ark. (2012), 240 varikoselli hasta ve 176 normal sağlıklı birey üzerinde yaptıkları çalışmada, DNA fregmantasyon indexi varikoselli hastalarda % 9.84 oranında tespit edilirken, varikoselli hastalar normal sağlıklı bireylere göre daha fazla spermiyum DNA hasarı içerdiklerini bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar 177 varikoselli hastaya varikosel ameliyatı uygulayarak DNA hasarının % 3.37 gibi bir oranla düzelme olduğunu tespit etmişlerdir. Literatürdeki araştırmalarda varikosel ameliyatının bazı hastaların spermiyum parametrelerinde herhangi bir düzelmeye yol açmadığı halde intrauterin inseminasyon (aşılama) geçiren çiftlerin hamilelikteki ve canlı doğum oranındaki artışı varikosel ameliyatının spermiyum DNA hasarını azltmasıyla ilişkilendirilmiştir. Çalışmamızda varikoselli hastalardan elde ettiğimiz spermiyumlardaki DNA kırıklarını TUNEL yöntemiyle belirleyerek, varikosel ameliyatının spermiyum DNA'sı üzerindeki etkisini inceledik. Varikosel ameliyatı öncesi 40 hastanın DNA fregmantasyon indexi % 20.5 iken, ameliyat sonrası 3. ayda % 17.2, 6. ayda % 15.5 ve 12. ayda % 15.3 bulunmuştur. Elde ettiğimiz sonuçlar varikosel ameliyatı öncesi ve sonrasında DNA fregmantasyon indexi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir düzelmenin meydana geldiğini ve çalışmamızın Wang ve ark.'nın yaptıkları çalışmayla benzer sonuçlarda olduğunu gözlemledik.

Literatürlerdeki çalışmalarda tamamen normal semen parametrelerine sahip erkeklerin infertil olması durumunda, altta yatan olası nedenin anormal spermiyum DNA'sı olabileceğini ifade etmişlerdir. DNA'daki kırıklar erkek infertilitesi için gösterge olarak değerlendirilirken çok sayda çalışma yüksek düzeyde DNA hasarının düşük fertilizasyon oranı, artmış abortus (düşük) oranı ve YÜT (Yardımcı Üreme Teknikleri) sonrası artmış gebelik kaybı ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Somatik hücrelerin aksine, spermiyumda histonların % 85'i protamin proteinleri ile yer değiştirmiştir. Düşük seviyede protamin içeren spermiyum, yüksek oranda histon proteini içereceğinden DNA hasarına daha duyarlı hale gelecektir. Protamin eksikliği ve protamin paketlenme yetersizliği infertil erkeklerde gözlenmiştir. Defektif spermatogenezis bu erkeklerdeki histon-protamin oranının değişmesi sebebiyle olabilir. "Ek olarak bazı çalışmalar spermiyum protaminizasyonu ile DNA hasarı arasında yakın ilişki olduğunu da göstermiştir" (Tarozzi ve ark. 2007, Simon ve ark. 2014). TUNEL tekniği apopitotik olduğuna inanılan semendeki spermiyum popülasyonunun tanımlanması, varikoselli hastaların spermiyumlarındaki DNA kırıklarının azalması ile IVF sonuçları arasında yaptığımız literatür taramasında korelasyon bulunmuştur. Bunun yanında TUNEL assay ile spermiyum konsantrasyonu, hareketi ve morfolojisi arasında da yüksek olmamakla beraber korelasyon mevcuttur. Çalışmamızda varikoselli hastalardan elde edilen spermiyumların DNA fregmantasyon indexi ile çalışmaya dahil edilen hastaların yaşı, spermiyum sayıları, hareketleri ve morfolojileri arasında korelasyon bulunmamıştır.

Her varikoseli olan hasta tedavi adayı değildir. Avrupa Üroloji Derneği (EAU) ve Amerikan Üroloji Derneği (AUA) kılavuzlarına bakıldığında "varikosel üzerine geçmiş yıllarda yapılan çalışmaların sonuçlarına göre; varikoselin palpable olması, çiftin bilinen infertilitesinin bulunması, kadın partnerin fertilitesinin normal olması ve anormal semen parametrelerinin olması gibi endikasyonlar göz önünde bulundurularak tedavi gerçekleştirilmelidir". Rutinde kullanılan spermiyogram analizi, infetilite teşhisi koymada yetersiz kalmaktadır. Bundan dolayı spermiyum parametrelerine ilaveten kolaylıkla uygulanabilecek ve DNA hasarını doğru bir şekilde belirleyebilecek TUNEL gibi yöntemlerin pratikte kullanımının yaygınlaştırılmasıyla infertilite tedavisinde bir adım daha ileriye gitmemize vesile olacaktır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sonuç olarak varikosel ameliyatı öncesi ve sonrasında hasta spermiyumlarını sayı, haraket, morfoloji ve DNA kırıkları açısından incelediğimizde, ameliyat sonrası DNA kırıklarının anlamlı oranda düzeldiğini, sayı ve hareketin ise artığını gözlemledik. Spermiyumların sayı ve hareketinde anlamlı bir artış görülmesine rağmen morfolojik yapılarının hiç değişmediğini tespit ettik. Bu bulgularımızın; gelecekte yapılacak araştırmalara yol gösterebileceği inancındayız.

6. KAYNAKLAR

Akbay, E., Cayan, S., Doruk, E., Duce, M. N., Bozlu, M. 2000. The prevalance of varicocele and varicocele-related testicular atrophy in Turkish children and adolescents. ***BJU International,*** 86(4):490-3.

Akıncı, M., Macit, F., Aytekin, D., Aras, H. 1994. Varikosel bilateral testis biopsisi ve hormonal ilişkiler. ***Türk üroloji dergisi***, Cilt 7 S: 275- 282.

Albayrak, S. 2004. Varikoselektomide postoperatif izlem ve cerrahi sonrası yaklaşım. Erkek Reproduktif Hastalıklar ve Tedavisi.(Editörler, Kadıoğlu, A., Çayan, S., Semerci, B.) Türk Androloji Derneği Yayını, Sayfa 473-479.

April, E. W. 1998. Klinik Anatomi. (Çeviri Editörü: Yıldırım, M.), Nobel Tıp Kitabevleri, 3. baskı 425-461. İstanbul.

Arıncı, K., Elhan, A. 1997. Anatomi 1.cilt 2.baskı. Güneş Kitapevi, 417-720. Ankara.

Aşçı, R., Sarıkaya, Ş., Büyükalpelli, R., Yılmaz, A.F., Yıldız, S. 2003. The role of ultrasonography the diagnosis and management of varicocele.Erişim: (www.Turk Uroloji Dergisi.com), Erişim Tarihi: 04.04.2016.

Aydıner, F. 2008. Sperm kriyoprezervasyonu sonrası apoptozun değerlendirilmesi. Yüksek lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim dalı, İzmir. 127.

Aydos, K. 2009. İnfertil erkeğin değerlendirilmesi. Erişim: (http://www.kaanaydos.net/). Erişim Tarihi: 15.09.2015.

Baccetti, B., Collodel, G. Piomboni, P. 1996. Apoptosis in human ejaculated sperm cells. Journal of Submicroscopy. ***Cytology and Pathology,*** 28(4):587-596.

Barroso, G., Morshedi, M., Oehninger, S. 2000. Analysis of DNA fragmentation, plasma membrane translocation of phosphatidyl serine and oxidative stress in human spermatozoa. ***Human Reproductıon,*** 15(6):1338-1344.

Bilgiç, E. 2007. Normal normospermik fertil erkeklerde spermiyumun antijenik yapısı ve bu yapının varikoselli hastalardaki değişiminin incelenmesi ışık mikroskobu düzeyinde immunohistokimyasal çalışma. Uzmanlık Tezi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Ankara.

6. KAYNAKLAR

Boğatekin, M.C. 2011. Varikoselli hastalarda ameliyat öncesi ve sonrası sperm morfolojisi değerlendirmesi. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Elazığ. 68.

Budak, Ö. 2014. Sperm parametreleri ile sperm DNA fregmantasyonu ve kromozom anomalilerinin karşılaştırılması. Kocaeli Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli. 161.

Carlon, N., Navarro, A., Giorgetti, C., Roulier, R., 1992. Quantified ultrastructural study of sperm in unexplained failure of in vitro fertilization. ***J Assist Reprod Genet***, 9(5):475-481.

Cengiz, F. 2010. Şiddetli erkek kısırlığına sebep olan morfolojik sperm bozukluklarının ışık mikroskobu, hareketli sperm organel morfolojisi değerlendirme ve transmisyon elektron mikroskobu yöntemleri ile incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Edirne. 87.

Courtade, M., Lagorce, C., Bujan, L., Caratero, C. 1998. Clinical characteristics and light and transmission microscopic sperm defects of infertile men with persistent unexplained asthenozoospermia, ***Fertility and Sterility,*** 70(2):297-304.

Çayan, S., Lee, D., Black, L.D. 2001. Response to varicocelectomy in oligospermic men with and infertility. ***Urology***, 57(3):530-535.

Çayan, S., Kadıoğlu, A., 2005. Current approaches ın the dıagnosıs and treatment of varıcocele, ***Türk Üroloji Dergisi***, 31 (1): 57-63.

Çek, M. 1990. Semen Fındıngs ın Grade III Varicocele, ***Türk Üroloji Dergisi***. 16(2): 171-172

Chen, Z., Toth, T., Godfrey-Bailey, L., Schiff, I., Hauser, R. 2004. Impact of seasonal variation, age and smoking status on human semen parameters. The Massachusetts General Hospital experience, J. Exp. Clin. ***Assist Reprod,*** 1-2.

Demirci, N., Potur, D.C. 2014. Male fertility and risky life style behaviors, ***Florance Nitinghale Hemşirelik Dergisi***, 22(1): 39-45.

Dohle, G.R. 2008. EAU Kılavuzları. ***Male İnfertility.***

Durmaz, A. 2010. İnfertil erkeklerdeki sperm DNA hasarının comet assay ile tayini. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Adana. 133.

Ekmekçioğlu, O., Tatlışen, A., Karacagil. 1997. Monthly and seasonal varıatıons of seminal parametres. ***Türk Üroloji Dergisi***, cilt 23,101-108.

Enginsu, M.E., Dumoulin, J., Piteres, M. 1991. Evaluation of human sperm morfhology using criteria after diff-quick staining: corelation with fertilization in vitro. ***Human raproductıon,*** 6(6):854-858.

Enginsu, M.E., Günalp, S., Orhon, E.,1995. Sperm morfoloji atlası.Türkiye infertilite vakfı yayınları, 13.

Erkoçak, A. 1990. Özel Histoloji. Ankara üniversitesi tıp fakültesi yayınları, 2. Baskı 166-194. Ankara.

Erişim: www.kaanaydos.com.tr (Spermiyum Morfolojisinin Değerlendirilmesi). Erişim Erişim Tarihi: 21.04.2016.

Erişim: (http/www.biyorad.com.tr), Semen Analizinin Değerlendirilme Kriterleri., Erişim Tarihi: 06.10.2015.

Erişim: (www. Journalagent.com), Erişim Tarihi: 21.03.2016.

Erişim: (http://www.mdconsult.com) Varikosel olgusunun şematik gösterimi. Erişim Tarihi: 11.10 2015.

Eroschenko, V. P. 2013. DiFore's Atlas of Histology with Functional Correlations 12/E. Lippincott Williams &Wilkins 2001 Market Street. PA 19103, Yayın no: 785, Sayfa: 603. Philadelphia.

Eşrefoğlu, M. 2004. Renkli Resimli Genel ve Özel Histoloji. Sayfa: 356. Malatya.

Franco, J.G., Mauri, A.L., Petersen, C.G., Massaro, F.C., Silva, L.F.I., Felipe, V., Cavagna, M., Pontes, A., Barruffi, R.L.R., Oliveira, J.B.A., Vagnini, L.D. 2012. İnsan spermatozoasında geniş nükleer vakuol abnormal kromatin paketlenmesini gösterir. ***İnternational Journal Androloji***, 35:461-451.

Gartner, L.P., Hıatt, J.L. 1997. Color Text book of Histology. Lippincott Williams & Wilkins. W.B. Saunders company, Sayfa: 403-421.London

6. KAYNAKLAR

Gartner, L.P., Hıatt, J.L. 2001. Color Text book of Histology. Lippincott Williams & Wilkins. W.B. Saunders company, Sayfa: 439. Baltimore.

Geçit, İ., Benli, E., Güneş, M., Pirinççi, N., Keleş, İ., Ceylan, K. 2011. Varikosel tanısında renkli doppler ultrasonografinin fizik muyaneye katkısının değerlendirilmesi. ***Tıp Araştırmaları Dergisi***, 9(3): 180-184.

Görür, S., Çayan, S. 2010. Varikosel patofizyolojisinde güncel durum. ***Androloji Bülteni,*** 37-40.

Güzel, Ö., Tunce, A., Aslan, Y., Atan, A. 2013. Varikoselde Güncel Görüşler. Erkek Üreme Sağlığı.Erişim: (www.Journelagent.com) Erişim Tarihi: 10.01.2015.

Hofmann, N., Hilsher, B. 1991. Use of aniline blue to ases chromatin condesation in morphologically normal spermatozoa in normal and infertile men. ***Human Reprouctıon***, 979-982.

Hughes, C.M., Lewis, S.E.M., McKelvey-Martin, V.J., Thompson, W. A. 1996. Comparison of base line and induced DNA damage in human sperm from fertile and infertile man, using a modified comet assay. ***Mol. Hum. Reprod***, 2(8) 613–619.

Junqueıra, L.C., Carneıro, J. 2006. Temel Histoloji Text & Atlas. (Çeviri Editörleri; Aytekin, Y., Solakoğlu, S.) 10. baskı. Nobel Tıp Kitapevleri, 431-438. Ankara.

Kadıoğlu, A., Çayan, S., Semerci, B. 2004. Erkek Reprodüktif Sistem Hastalıkları ve Tedavisi. Türk Androloji Derneği Yayınları, İstanbul.

Kadıoğlu, A., Çayan, S., Aydos, K., Aşçı, R., Alıcı, B., 2004. Türk Androloji Derneği Varikosel Kılavuzu. ***Türk Androloji Derneği Yayını***, Sayfa 115. İstanbul.

Kadıoğlu, A., Çayan, S., Aydos, K., Aşçı, R., Alıcı, B. Varikosel Kılavuzı. Türk Androloji Derneği Yayını, Erişim(www.androloji.org.tr) Erişim Tarihi: 15.02.2016.

Kalem, H. 2011. Erkek infertilitesinde sperm apoptozunun intrauterin inseminasyon (IUI) ve intrastoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) sonuçlarına etkisi. Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji-Embryoloji Anabilim Dalı, İstanbul. 81.

Kamal, K.M. 2001. Microsurgical varicocelectomy in the o assisted repruductive technology influence of initial semen quality on pregnancy rates. ***Fertility and Sterility***, 75(5): 1013-1016.

Kayıkçı, M.L., Çam, H.K., Akman, Y., Erol, A. 2002. Erkek İnfertilitesinin Değerlendirmesinde Semen Analzinin Özellikleri ve Rolü. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi, 4(3): 35-38. Düzce.

Kefi, A. 2000. Erkek infertilitesinde sperm morfolojisinin Kruger'in kesin kriterlerine göre değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, İzmir. 50.

Kendirici, M., Miroğlu, C. 2004. Varikosel patofizyolojisi. (Editörler: Kadıoğlu, A.,

Kierszenbaum, A.L. MD. PHD. 2006. Histologyand Cell Biology. Sophie Davis Biyomedikal Eğitim Okulu, New York Tıp Okulu, Şehir Üniversitesi, Sayfa 607. New York.

Kilciler, M., Erdemir, F. 2014. Varikosel. 2014 habitat yayıncılık. ISBN: 987-605-4084-26-5 Erisim: (http://www.habitat yayıcılık.com), (www.medical park.com), Erişim Tarihi: 10.10.2015.

Koyuncu, İ. 2008. Varikoselli hastalarda spermiyum morfolojisinin değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri. 55.

Kruger, T.F., Menkveld, R., Stander, F.S., Lambard, C.J., Van der Merwe, J.P., Vanzyl, J.A., Smith, K. 1986. Sperm morphology features as a prognostic factor in vitrofertilization. ***Fertility and Sterility***, 46(6):1118-1123.

Kruger, T.F., Ackermann,S.B., Simmons, K.F., Swanson, R.J., Brugo, S.S. 1987. A quick, reliable staining technique for human sperm morphology. ***Archives of Andrology***, 18(3):275-277.

Kruger, T.F., Acosta, A.A., Simmons, K.F., Swanson, R.J., Matta, J.F., Oehninger, S. 1988. Predictive value of abnormal sperm morphology invitrofertilization. ***Fertililty and Sterility***, 49(1):112-117.

Kuehnel, W. 2003. Color Atlas of Cytology, Histology, and Microscopic Anatomy. Page: 386-387.

Kuyumcuoğlu, U., Eryıldırım, B. 2004. Varikoselde Tedavi Endikasyonları. Erkek Reproduktif Hastalıklar ve Tedavisi. (Editörler, Kadıoğlu, A., Çayan, S., Semerci, B.) Türk Androloji Derneği Yayını, Sayfa 458-462.

Makler, A. 1980. The improve mikrometer chamber for rapid sperm countand motility evaluation. ***Fertility and Sterility***, 33(3):337-8.

Mc Clure, N. McVicar, C.M.,Williamson, K., Dalzell, L.H., Lewis, S.E. 2004. Incidence of Fas positivity and deoxyribonucleicacid double-stranded breaks in human ejaculated sperm. ***Fertil Steril***, 81(1): 767 -774.

Mitchell, V., Rives, N., Albert, M., Peers, M.C., Selva, J., Clavier, B., Escudier, E., Escalier, D. 2006. Outcome of ICSI with ejaculated sperm in a series of men with distinct ultrastructural flagella abnormalities. ***Hum Reproductıon*** 21(8):2065-74.

Moore, K.L., Dalley, A.F. 1995. Clinically Oriented Anatomy. Williams &Wilkins, Inted. 278281, 307-313.

Moore, K.L.,Persaud, T.V.N. 2009. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. (Çeviri Editörleri Dalçık, H., Yıldırım, M.) . 8.Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.

Moustafa, M.H., Sharma, R.K., Thornton, J., Mascha, E., Abdel-Hafez, M.A., Thomas, A.J. Agarwal, A. 2004. Relationship between ROS production, apoptosis and DNA denaturation in spermatozoa from patients examined for infertility. ***Human Reproductıon***, 19(1): 129-138.

Mundy, A.J., Ryder, T.A., Edmonds, D.K. 1995. Asthenozoospermia and the human sperm mid-piece. ***Human Reproductıon***, 10(1):116-119.

Nuhoğlu, B., Göçen, A., Ersoy, E., Ayyıldız, A., Fidan, V., Germiyanoğlu, C. 2004. Subinguinal mikrocerrahi ve inguinal varikoselektominin semen ve hormon parametrelerine etkilerinin karşılaştırılması. 1 yıllık izlenim. ***Türk Üroloji Dergisi***, 30 (3): 302-307.

Ok, E. 2005. Asthenozoospermia olgularında semen analizi ve sperm defektlerinin faz kontrast mikroskobu ile ortaya konması. Doktora Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir. 48.

Oktar, T., Ahmedov, I., Kadıoğlu, A. 2004. Varikosel Tedavisi. Erkek Reproduktif Hastalıklar ve Tedavisi. (Editörler, Kadıoğlu, A., Çayan, S., Semerci, B.) Türk Androloji Derneği Yayını, Sayfa 463-472.

Orhon, E. 1996. Sperm morfoloji atlası. Türkiye İnfertilite Vakfı Yayınları, 4:8-17.

Özdamar, S., Çetin, N., Sorkun, H. Genel Embriyoloji. Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları 4-15. Kayseri.

Özkara, H., Gülgün, C., Alıcı, B., Akkuş, E., Aytekin, Y., Hattat, H. The role of the electron microscopy in isolated asthenospermia.Erişim: (www.Turk Uroloji Dergisi.com) Erişim Tarihi: 12.03.2016.

Pasqualotto, F.F., Lucon, A.M., Goes, P.M., Hallak, J., Sobreiro, B., Pasqualotto, E.B., Arap, S. 2005. (Çeviri; Başlar, M. Testiküler Histolojiye göre varikoselektomi sonrası testiküler büyüme, sperm konsantrasyonu, motilite yüzdesi ve gebelik sonucu. ***Fertility and Sterility,***. 83(2): 362-666.

Ross, M.H., Kaye, G.I., Pawlina, W. 2003. Histology Text and Atlas. 4.th edition, Lippincott Williams &Wilkins. Sayfa: 689-696, Philadelphia.

Ross, H.M., Romrell, J.L. 2006. Histology: a text and atlas. Section 21: Male reproductive system. 2nd edition. Sayfa: 603-625.

Ross, M.H., Pawlina, W. 2006. Histology A Textand Atlas. 5. The edition, Philadelphia.

Sadler, T.W. 2005. Langman's Medikal Embriyoloji. (Çeviri Editörü: Başaklar, A.C.) 9. baskı, Palme Yayıncılık, Ankara. 506.

Satı, G. L. 2005. İnsan sperminde kromozomal yapı anomalileri ile hücresel olgunlaşmanın ilişkisi. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Antalya. 77.

Seçkin, İ., Erimşah, S., Uludağ, S., İrez, T. 2008. Sperm Morfolojisi ve Kromatin Kondemsasyon Defektleri Arasındaki Korelasyon. ***Cerrahpaşa Tıp Dergisi***, 39(4):128-135.

Sharma, R.K., Saleh, R.A., Agarwal, A., Nelson, D.R., Nada, E.A., El-Tonsy, M.H., Alvarez, J.G. 2002. Increased sperm nuclear DNA damage in normozoospermic infertile men: a prospective study. ***Fertil-Steril***; 78(2): 313- 318.

Sıddıghı, W., Patton, J., Jacobson, A., Kıng, Pj. 2004. Correlation of sperm parameters with apoptosis assessed by dual fluorescence DNA integrity assay. ***Archives of Andrology***, 50(4): 311–314.

Simon, L., Liu, L., Murphy, K., Ge, S. Çeviri editörleri: Akıncıoğlu, E., Altay, B. 2014. Reprodüktif tedavi alan çiftlerde, sperm DNA hasarı ve sperm nükleer protein içeriği tahlillerinden üçünün karşılaştırmalı analizi. ***Human raproductıon***, 29:904-17.

Singh, G. 1992. Ultrastructural features of round-headed human sperm. ***Int J Fertil***. 37(2):99-102

Snell, R.S. 1998. Tıp Fakültesi Öğrencileri için Fonksiyonel Anatomi. (Çeviri Editörü: Yıldırım, M.), Nobel Tıp Kitabevleri ve Yüce Yayımcılık, 2. Baskı 316-320, 357-361. İstanbul.

Şahin, E. 2010. Varikosel olgularında sperm dondurma-çözme işlemini (kriyoprezervasyon) zamana bağlı olarak sperm parametreleri ince yapısı ve hücre ölümü üzerine etkileri. Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul. 66.

Şahintürk, V. 2000. Subfertil erkeklerin sperm morfolojilerinin ışık mikroskobik ve floresan yöntemlerle incelenmesi. Doktora tezi, Osman Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir. 83.

Şeftalioğlu, A. 1998. Genel İnsan Embriyolojisi. 3.baskı, Ankara Tıp Teknik Yayıncılık.

Şermin, P. 1990. Histoloji. Uludağ Üniversitesi Yayınları, 1. Baskı: 260-287.

Tarozzi, N., Bizzaro, D., Flamigni, D., Borini, A. 2007. Clinical relevance of sperm DNA damage in assisted reproduction. ***Reproductive BioMedicine Online***, (www. Rbmonline.com.)14(6):746-757.

Taşar, Ç., Gürpınar, T., Remzi, D. 1987. Varicoselectomy results ın 500 male infertılıty cases who have varıcocele whıch were seen ın our clınıc. ***Türk Üroloji Dergisi***, 12(3): 421-426. İstanbul.

Taşçı, A. İ., Samastı, M. 1997. İnfertilitede laboratuvar ve uygulamalar. Tıp dizisi 1 hayat sağlık ve sosyal hizmetler vakfı yayınları. 1-33.

Taşçı, A., Gürbüz, N. 2004. Varikoselin Tanısı. Erkek Reproduktif Hastalıklar ve Tedavisi.(Editörler, Kadıoğlu, A., Çayan, S., Semerci, B.) Türk Androloji Derneği Yayını, Sayfa 447-457.

Tatlışen, A., Karacagil. M., Gülmez, İ., Kesekçi. S. 1990. The effect of varicocelecyomy on infertility. ***Türk Üroloji Dergisi***, 16(1): 121-125.

Tekelioğlu, M. 2002. Özel Histoloji. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, 1. Baskı 231-244, Ankara.

Teskereci, G. 2010. İnfertilite tedavisi gören çiftlerde yaşam tarzının yaşam kalitesine etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Antalya.

Tursun, T.S. 2013. İntrauterin inseminasyon (IUI) uygulanan hastalarda 2010 Dünya sağlık örgütü (WHO) kriterlerine göre sperm parametrelerinin gebelik oranlarına etkileri. Uzmanlık Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi, Konya. 47.

Tutşi, Y. 2009. Anti host uygulaması sonucu sperm membran fonksiyonel bütünlüğünün ışık ve elektron mikroskop düzeyde incelenmesi. Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır. 85.

Türk, G., Aksu, E.H., Bozkurt, T., 2006. Spermatozoon DNA'sı Hasarı. ***Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi,*** 20(1): 85-95.

Ünal, D., Yeni, E., Verit, A., Erel, Ö. 2001. Fertil ve infertil erkeklerde sperm parametrelerinin seminal plazma kreatin fosfokinaz ve kolesterol düzeyleriyle birlikteliği. ***Türk Üroloji Dergisi,*** 27 (3): 316-322.

Vineeth, V.S., Suttur, S., Sreenivasa, G., Usah, R., D. 2012. High incidence of sperm dysfunction in a varicocele infertile man: Case report. ***Asian Pasific Journal of Reproduction,*** 1(1): 63-66. India.

Visco, V., Raffa, S., Jlenia, E., Delfino, M., Imbrogno, N., Torrisi, M. R., Mazilli, F. 2010. Morphological sperm defects analyzed by light microscopy and transmission electron microscopy and their correlation with sperm motility. ***International journal of Urology***, 17(3),259-266.

6. KAYNAKLAR

WHO. 1992. The influence of varicocele on parametres of fertility in a large group of men presenting to infertility clinics. ***Fertil Steril***, 57:1289-1293

WHO 1999. Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th edition Cambridge University Press, Cambridge.

WHO 2002. Laboratuvar el kitabı İnsan semeni ve sperm-servikal mukus etkileşimi değerlendirilmesi. (Çeviri editörü: Günalp, S.), Tıp Teknik Kitabevi, 4. baskı, Ankara 2002:76.

WHO 2010. Laboratuvar El Kitabı İnsan semeninin incelenmesi ve işlemlerden geçirilmesi. (Çeviri Editörü: Kadıoğlu, A.) 5.baskı, Türk Üroloji Derneği, İstanbul.

Yalçın, C., Baydinç, C., Yeni, E., Yılmaz,M., Bilgiç, İ., Saydere, T. 1999. Bilateral varicocelectomy in inferertılıty management. ***Türk Üroloji dergisi*** 23(2): 370-375.

Yazdani, M., Hadi, M., Abbasi, H., Nourimahdavi, K., Khalighinejad, P., Mirsattari, A., Hadi,A. 2015. Efficacy of varicocele repair in different age groups. ***Isfahan Universıty of Medical sciences, Urology***, 86(2):273-275.

Yılmaz, T. Ş. 2012. İnfertil çiftlerin infertilite stresiyle başa çıkma yöntemleri. Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul. 142.

Ying, J.W., Rong,Q., Yan,J. L., Rong, G., Weİ, L. 2012. Relationship between varicocele and sperm DNA damage and the effect of varicocele repair: a meta-analysis. ***Reproductive Bio Medicine Online***. (www,scincedirect.com) 25(3): 307-314.

Zini, A., Blumenfeld, A., Libman, J., Willis, J. 2004. Beneficial effect of microsurgical varicocelectomy on human sperm DNA integrity. ***Human Reproductıon,*** 20(4): 1018-1021.

Zümrütbaş, A.E., Gülpınar, Ö., Mermerkaya, M., Süer, E., Yaman, Ö. 2013. The effect of varicocele on sperm morphology and DNA maturıty: does acridine orange staining facilitate diagnosis. ***Turkish Journal of Urology***; 39(3):165-166

EKLER

EK 1

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ ONAM FORMU

Varikosel; tüm erkeklerin %15-20'sinde ve kısırlık sorunu ile başvuranların % 40'ında saptanan ve testislerdeki kanı boşaltan toplardamarların çeşitli nedenlerle genişleyerek varisleşmesidir. Varikoselin belirtileri testislerden bacağa yayılan ağrı, testislerde küçülme, gözle görülebilen genişlemiş damarlar ve sıcak ortamda skrotumda (testis torbası) belirginleşen kıvrımlı damar yapısı ile elle hissedilebileceği gibi kısırlık için yapılan spermiyogram testlerinden de teşhis konulabilir. Varikosel ergenlik çağında ortaya çıkmaya başladığı için üreme potansiyeli aktif olan kişilerde daha sık görülür. Dolaysıyla bu kişilerde varikosel teşhis edilip tedavi edilmezse testislerin gelişmesine engel olabilir. Hastalığın herhangi bir ilaç tedavisi yoktur, tek tedavi yöntemi ameliyattır. Varikosel ameliyatı sonrasında spermiyum parametrelerinde belirgin bir düzelme olduğuna ilişkin şu ana kadar yapılan bütün araştırmaların ortak görüşüdür. Fakat bu düzelmenin spermiyumun hücresel boyutunda nasıl bir değişikliğe yol açtığı ile ilgili herhangi bir çalışma mevcut değildir. Bir spermiyum hücresinin yapılmaya başlanması ile olgunlaşıp depo edilmesi arasında kabaca 90 gün gerektiğinden varikosel ameliyatından 3 ay sonra spermiyum hücrelerine ait bozukluklar düzelmeye başlar. Bu sebeple ameliyat sonrası dönemde 3.ay 6.ay ve 12. ayda çalışmamıza dahil edilecek hastaların spermiyumları incelenecektir. Bu çalışmanın amacı kısırlık şikayetiyle Dicle Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji kliniğine başvuran ve varikosel tanısı konan hastalardan ameliyat öncesi ve ameliyat sonrası alınacak olan spermium örneklerinin DNA fregmantasyonları, spermiumların morfolojik yapısı ve elektron mikroskobu altında ince kesitleri incelenecektir.

Bir varikosel hastası olarak yukarıda doktorumun / araştırmacının bana anlattığı bilgiler ışığında araştırmaya dahil olmayı kabul ettiğimi, alınacak olan spermium örneklerinden DNA fregmantasyonları, spermiumların morfolojik yapısı ve elektron mikroskobu altında ince kesitlerinin incelenmesinin tarafımca bir sakıncası olmadığını, bu araştırmadan istemediğim taktirde spermiumlarımın çalışmada kullanılmayacağını, istediğim anda araştırmadan çıkabileceğimi beyan ederim.

HASTANIN **Araştırıcının adı, soyadı**

Adı Soyadı: Biyolog Muhamet AFŞİN
İMZA: Tel: 0505 4814453

E mail: afsin.muhammet21@hotmail.com

Adresi:

Tel: Tarih:…./….201

EK- 2

EKLER

KLİNİK ARAŞTIRMADA KULLANILACAK HASTA DEĞERLENDİRME FORMU

HASTA BİLGİ FORMU

A. KİMLİK VE ADRES BİLGİLERİ:

Adı, Soyadı : **Tarih ….…./201**

Doğum Yeri ve Yılı :

Dosya No :

Mesleği :

Eğitim Durumu :

Sigara / Alkol kullanımı :

İletişim Adresi ve/veya Telefonu:

B. ÖZGEÇMİŞİ:

Başvuru Zamanı :

Tanı :

Cinsel perhiz süresi :

C-HASTAYA AİT FİZİK MUAYENE VE LABORATUVAR BULGULARI:

İlk makroskobik değerlendirme

-Likefaksiyon :

-Görünüm :

-Hacim :

-Viskozite :

-pH :

Mikroskobik testler;

Motilite :

Morfoloji :

Konsantrasyon :

D- MUAYENE BULGULARI:

EK 3:

SEMEN ANALİZİ DEĞERLENDİRME FORMU

Adı Soyadı :	Kabul Tarihi :
Yaş :	Hasta No :

			REFERANS ARALIĞI*
CİNSEL PERHİZ SÜRESİ	:		(2-7 gün)
SEMEN VOLÜMÜ	:		(1.4-7 ml)
LİKEFEKSİYON SÜRESİ	:		(<60 dk)
VİSKOZİTE	:		(-)
pH	:		(>7.2)
RENK	:		(opak-beyaz/gri)
AGLÜTİNASYON	:		(-)
LÖKOSİT	:		($<1x10^6$)
İMMATÜR HÜCRE		:	($<5x10^6$)
SPERM SAYISI (ml'de)	:		($<15x10^6$)
TOTAL MOTİL SPERM KONS.	:		
MOTİLİTE			
Progressive motility PR (A+B)	:		(A+B>%32)
Yerinde Hareketli NP (C)	:		
Total motility PR+NP (A+B+C)	:		(A+B+C>%40)
Hareketsiz	:		
VİTALİTE (EOZİN Y)	:% canlılık		(>%58)

YORUM VE KARAR:

*DÜNYA SAĞLIK ÖRGÜTÜNÜN NORMAL SEMEN PARAMETRELERİ REFERANS OLARAK ALINMIŞTIR.

EK 4:

SPERMİYUM MARFOLOJİ DEĞERLENDİRME FORMU

Adı Soyadı:	Kabul Tarihi :
Yaş :	Hasta No :

NORMAL SPERM: %

BAŞ ŞEKİL ANOMALİSİ: %

Pin-head	%	Çift	%
Büyükbaş	%	Amorf	%
Küçükbaş	%	Elonge	%
Tapered	%	Piriform	%
Yuvarlak	%	Vakoul	%
		Diğer	%

AKRAZOM ANOMALİSİ: %

Küçük	%	Akrozomsuz	%
Büyük	%	Aberan	%
Vakoul	%	Ayrılmış	%
		Diğer	%

NÜKLEUS ANOMALİSİ

MID-PIECE ANOMALİSİ: %

İnce	%	Amorf	%
Kalın	%	Bend	%
Sitoplazmik Droplet	%	Nonaxiyal	%
		Diğer	%

KUYRUK ANOMALİSİ: %

Kuyruksuz	%	Dag	%
Çift	%	Coiled	%
Kalın	%	Droplet	%
Kısa	%	Diğer	%

MİKST ANOMALİ : %

İMMATÜR FORM :

SINIFLANDIRILAMAYAN :

YORUM VE KARAR :

*DEĞERLENDİRME, KRUGER STRİCT KRİTERLERİNE GÖRE YAPILMIŞTIR.

(REFERANS ARALIĞI :NormalMorfoloji>%4)

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Muhamet AFŞİN

Doğum Yeri: Kulp

Doğum Tarihi: 20.12.1978

Medeni Hali: Evli

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise: Atatürk Sağlık Meslek Lisesi KONYA-1999

Lisans: Dicle Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü-2004

Yüksek Lisans: Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü Anabilim Dalı-2010

Doktora: Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü Anabilim Dalı-2016

Çalıştığı /Kurmlar ve Yıl: Diyarbakır Çocuk Hastalıkları Hastanesi 2001-2008, Diyarbakır Kadın Doğum ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi 2008-

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS / DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI İNTİHAL RAPORU FORMU

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ	
ADI VE SOYADI	Muhamet AFŞİN
ÖĞRENCİ NO	10-A01-603
EĞİTİM – ÖĞRETİM YILI	2015-2016
YARIYIL	☐ Güz ☒Bahar
ANABİLİM DALI	Biyoloji
PROGRAM	☐ Yüksek Lisans ☒ Doktora ☐Tezsiz Yüksek Lisans (Dönem Projesi)
TEZ KONUSU	Preoperatif ve postoperatif varikoselli hastalardan alınan spermiyumların ultrastrüktürel yapısının incelenmesi
İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ	
RAPOR TÜRÜ	☐Tez Savunma Sınavı Öncesi ☒Tez Savunma Sınavı Sonrası
SAYFA SAYISI	145
BENZERLİK ORANI	% 12
RAPORLAMA TARİHİ	28/07/2016

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, sonuç ve tartışma kısımlarından oluşan toplam 145 sayfalık kısmına ilişkin, 28/07/2016 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 12 'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

☐Kabul/Onay sayfaları hariç,
☒Kaynakça hariç
☒Alıntılar hariç/dâhil
☐Diğer

Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Programlarda Tez Çalışması İntihal Raporu Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edilmesi durumunda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Muhamet AFŞİN

28/07/2016

Yrd. Doç. Dr. Birgül OTLUDİL
Tez Danışmanı

28/07/2016

Prof. Dr. A. Selçuk ERTEKİN
Anabilim Dalı Başkanı