OBEZİTE MODELLEMESİ OLUŞTURULMUŞ FARELERDE SİSTEMİK VE SEMEN PLAZMASI OKSİDATİF HASAR PARAMETRELERİ İLİŞKİSİ

Ulzhan Abenova

181503105

Orcid: 0000-0001-8146-5624

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı
Klinik Embriyoloji Yüksek Lisans Programı
Danışman: Doç.Dr. Mustafa Erinç Sitar

İstanbul
T.C. Maltepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Ekim, 2021



JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Bu belge, Yükseköğretim Kurulu tarafından 19.01.2021 tarihli "*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*" ile bildirilen 6689 Sayılı Kişisel Verilerin Korunması Kanunu kapsamında gizlenmiştir.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYUM BEYANI

Bu belge, Yükseköğretim Kurulu tarafından 19.01.2021 tarihli "*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*" ile bildirilen 6689 Sayılı Kişisel Verilerin Korunması Kanunu kapsamında gizlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Bilgi birikimini ve hayat tecrübesini hiç esirgemeden bize aktaran Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı saygıdeğer hocam Profesör Doktor Mehmet Cıncık'a,

Öğrencisi olduğum için kendimi çok şanslı hissettiğim, engin bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım tez sorumluluğumu üstlenen Doç. Dr. Mustafa Erinç Sitar'a,

Tez çalışmam süresince kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan Can Necdet Altuner hocam'a,

Laboratuvar çalışmaları sürecinde kıymetli bilgi ve deneyimlerini paylaşan, ilgisini ve önerilerini göstermekten kaçınmayan Maltepe Üniversitesi Kanser ve Kök hücre Araştırma Merkezindeki hocalarım Prof. Dr. Ranan Gülhan Aktaş'a, Zeynep Akbulut'a ve Rana Kızılkaya'ya,

Çalışmam esnasında bana desteklerini esirgemeyen, değerli katkılarıyla işimi kolaylaştıran öğrenci arkadaşlarım Dilara Kolsan'a ve Arife Dilşad Akdağ'a

Çalışmamızın yapılmasında maddi destek ve gerekli ortam sağladığı için Maltepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri destek birimine

Her zaman sırtımı dayadığım, beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan tez yazımı esnasında da yardım eden sevgili eşim Dastan Temirbekov'a,

Yorulduğumda bana güç ve motivasyon kaynağı olan kızlarım Rabiya, Azhar ve Zere'ye,

Teşekkürü borç bilirim.

Ulzhan Abenova

Ekim, 2021

ÖZ

OBEZİTE MODELLEMESİ OLUŞTURULMUŞ FARELERDE SİSTEMİK VE SEMEN PLAZMASI OKSİDATİF HASAR PARAMETRELERİ İLİŞKİSİ

Ulzhan Abenova
Yüksek Lisans Tezi
Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı
Klinik Embriyoloji Yüksek Lisans Programı
Danışman: Doç. Dr. Mustafa Erinç Sitar
Maltepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, 2021

Bu çalışmanın amacı obezite modellemesi oluşturulmuş farelerde sistemik semen plazması oksidatif hasar parametreleri ilişkisinin incelenmesidir. Bu amaçla uluslararası literatür ve "reduction" prensibi dikkate alınarak erişkin yaşa gelmiş genç erkek C57BL/6J sağlıklı fareler her grupta 8'er fare olacak şekilde üç gurba ayırıldı. Gruplara ayırma randomizasyon yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. (Grup 1: Yüksek yağ içerikli diyet; Grup II: %30 sukroz ile beslenme diyeti, Grup III: Kontrol Grubu). Çalışmada sperm sayısı, anomalili sperm hacmi(yüzdesi mi?), NADP bağımlı izositrat dehidrogenaz, 8-iso-prostaglandin –F2 alfa ve paraoksonaz düzeyleri incelendi. Yapmış olduğumuz çalışma sonucunda doku homejanatında (homojenatında ve serumda kontrol grubunda paraoksonaz düzeyinin sukroz ve yüksek yağ içerikli diyetle beslenen fare grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük olduğu görülmüştür. Yine çalışma sonucunda kontrol ve sukroz grubunda semende paraoksonaz düzeyinin yüksek yağ içerikli diyetle beslenen gruba kıyasla anlamlı düzeyde düşük olduğu görüldü. Çalışmamızda aynı zamanda yüksek yağ içerikli diyetle beslenen grupta 8-iso-prostaglandin –F2 alfa değerinin doku homojenatı, serum ve semendeki değerlerinin kontrol ve sukroz grubuna kıyasla anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür. Yapmış olduğumuz çalışma sonucunda yüksek yağ içerikli ve sukroz içerikli diyetle beslenen grupta doku homojenatındaki NADP bağımlı izositrat dehidrogenaz değerinin kontrol grubuna kıyasla anlamlı oranda yüksek; yüksek yağ içerikli diyetle beslenen grupta serum NADP bağımlı izositrat dehidrogenaz değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek; yüksek yağ içerikli diyetle beslenen grupta semen NADP bağımlı izositrat dehidrogenaz değerlerinin kontrol ve sukroz grubundan farklı olarak anlamlı daha yüksek olduğu görüldü. 8-İso Prostaglandin F2 alfa düzeyi ile tomalamda toplam sperm sayısı arasında pozitif yönlü,

orta şiddette (r = .585); homojenat ve serum NADP bağımlı izositrat dehidrogenaz düzeyi ile tomalamda toplam sperm sayısı arasında pozitif yönlü ilişki tespit edilmiştir. Bu ilişki orta şiddette olup istatistiksel olarak anlamlı düzeyde görülmüştür.

Anahtar Sözcükler: İnfertilite, oksidatif stres, oksidatif stres parametreleri, erkek infertilitesi, antioksidanlar.

ABSTRACT

RELATIONSHIP BETWEEN SYSTEMIC AND SEMEN PLASMA OXYDATIVE DAMAGE PARAMETERS OF MICE WITH OBESITY MODELING

Ulzhan Abenova
Master Thesis
Department of Clinical Embryology
Clinical Embryology Programme
Advisor: Assoc. Prof. Mustafa Erinç Sitar
Maltepe University, Graduate School, 2021

The aim of our study was to examine the relationship between systemic and semen plasma oxidative damage parameters in mice with obesity modeling. For this purpose, taking into account the international literature and the principle of "reduction", young male C57BL/6J healthy mice of adult age were divided into three groups, 8 in each group, by randomization method (Group 1: High-fat diet; Group II: with 30% sucrose). nutritional diet, Group III: Control Group). In the study, sperm count, sperm volume with anomalies, NADP dependent isocitrate dehydrogenase, 8-iso-prostaglandin –F2 alpha and paraoxonase levels were examined. As a result of our study, it was observed that the level of paraoxonase in tissue homegenate and serum in the control group was significantly lower than the group fed with sucrose and high-fat diet. As a result of the study, it was observed that the paraoxonase level in the semen in the control and sucrose groups was significantly lower in the group fed with a high-fat diet. In our study, it was also observed that the 8-iso-prostaglandin –F2 alpha values in the group fed with a high-fat diet were significantly higher than the values in tissue homogenate, serum and semen compared to the control and sucrose groups. As a result of our study, the NADP dependent isocitrate dehydrogenase value in the tissue homogenate was significantly higher in the group fed with a high fat and sucrose diet compared to the control group; In the group fed with a high-fat diet, serum NADP dependent isocitrate dehydrogenase values were significantly higher than in the control group; Semen NADP dependent isocitrate dehydrogenase values were found to be significantly higher in the group fed with a high-fat diet compared to the control and sucrose groups. 8-Iso Prostaglandin F2 alpha level was positive and moderate ($r = .585$); A positive, moderate and significant relationship was found between homogenate and serum NADP dependent isocitrate dehydrogenase levels and total sperm count.

The aim of our study was to examine the relationship between systemic semen plasma oxidative damage parameters in mice with obesity modeling. For this purpose, taking into account the international literature and the principle of "reduction", young male C57BL/6J healthy mice of adult age were divided into three groups, 8 in each group, by randomization method (Group 1: High-fat diet; Group II: with 30% sucrose). nutritional diet, Group III: Control Group). In the study, sperm count, sperm volume with anomalies, NADP dependent isocitrate dehydrogenase, 8-iso-prostaglandin –F2 alpha, and paraoxonase levels were examined. As a result of our study, it was observed that the level of paraoxonase in tissue homogenates and serum in the control group was significantly lower than the group fed with sucrose and a high-fat diet. As a result of the study, it was observed that the paraoxonase level in the semen in the control and sucrose groups was significantly lower in the group fed with a high-fat diet. In our study, it was also observed that the 8-iso-prostaglandin –F2 alpha values in the group fed with a high-fat diet were significantly higher than the values in tissue homogenate, serum, and semen compared to the control and sucrose groups. As a result of our study, the NADP dependent isocitrate dehydrogenase value in the tissue homogenate was significantly higher in the group fed with a high fat and sucrose diet compared to the control group; In the group fed with a high-fat diet, serum NADP dependent isocitrate dehydrogenase values were significantly higher than in the control group; Semen NADP dependent isocitrate dehydrogenase values were found to be significantly higher in the group fed with a high-fat diet compared to the control and sucrose groups. 8-Iso Prostaglandin F2 alpha level was positive and moderate (r = .585); A positive, moderate and significant relationship was found between homogenate and serum NADP dependent isocitrate dehydrogenase levels and total sperm count.

Keywords: Infertility, oxydative stress, oxydative stress parameters, male infertility, antioxydants.

İÇİNDEKİLER

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI ii
ETİK İLKE VE KURALLARA UYUM BEYANI ii
TEŞEKKÜR ivii
ÖZ iv
ABSTRACT vii
İÇİNDEKİLER ix
TABLOLAR LİSTESİ xi
ŞEKİLLER LİSTESİ xiii
KISALTMALAR xiiii
ÖZGEÇMİŞ xiiiv
BÖLÜM 1. GİRİŞ 1
BÖLÜM 2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. Erkek Üreme Sistemi 4
2.1.1. Testis Anatomisi 5
2.1.2. Testis Embriyolojisi 7
2.1.3. Testis Histolojisi 10
2.1.4. Seminifer Tübüller 10
2.1.5. Sertoli hücreleri 10
2.1.6. Spermatojenik hücreler 13
2.1.6.1 Spermatogonyumlar 14
2.1.6.2 Spermatositler 14
2.1.6.3 Spermatidler 10
2.1.6.4. Spermatozoon 15
2.1.7. İnterstisyum 10
2.1.8. Rete Testis 10
2.1.9. Duktuli Efferentes 10
2.1.10. Epididimis 10
2.1.11. Duktus Deferens 10
2.1.12. Duktus Ejakulatoryus 10
2.1.13. Vezikula Seminalis 10
2.1.14. Prostat bezi 10
2.1.15. Bulboüretral Bezler (Cowper bezleri) 10
2.2. Spermatogenez 19
2.3. Erkek İnfertilitesi 20
2.3.1. Serbest Radikaller ve Fizyolojik Önemi 23
2.3.2. NADP Bağımlı İzositrat Dehidrogenaz 23
2.3.3. 8-İso Prostaglandin f2-alfa 23
2.3.4. Paraoksonaz 23

2.3.5. İnfertil Erkeklere İlişkin Değerlendirme 23
2.3.6. Sistem Muayenesi ve Hikaye Değerlendirmesi 23
2.3.7. Laboratuvar Değerlendirmeleri 23
2.3.8. Semen Analizi 23
2.3.9. Endokrin Testleri 23
2.3.10. Genetik Testler 23
2.3.11. Diğer Testler 23
2.4. Obezite 29
BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOD 31
3.1. Evren ve Örneklem 31
Çalışma 'Maltepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'una sunuldu ve etik kurul onayı alındı (Etik Kurul Onay Karar No:2019.10.01). Maltepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Destekleme Biriminden destek alınmıştır. 31
3.2. Veriler ve Toplanması 31
3.3. Verilerin Çözümlenmesi ve Yorumlanması 38
BÖLÜM 4. BULGULAR 39
BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ 44
KAYNAKÇA 47

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Non Alkolik Steatohepatit Klinik Araştırma Ağı Skorlama Sistemi (Benedict ve ark. 2017). 32

Tablo 2. Fibrozis Belirleme Sistemi 33

Tablo 3. Gruplara göre deney öncesi kiloların karşılaştırılması 39

Tablo 4. Gruplara göre deney sonrası kiloların karşılaştırılması 39

Tablo 5. Gruplara göre karaciğer ağırlıklarının karşılaştırılması 40

Tablo 6. Gruplara göre toma lamında TSS'nin karşılaştırılması 40

Tablo 7. Gruplara göre anomalili sperm oranının karşılaştırılması 40

Tablo 8. Gruplara göre paraoksonaz değerlerinin karşılaştırılması 41

Tablo 9. Gruplara göre 8-iso-prostaglandin –F2 alfa değerlerinin karşılaştırılması..... 41

Tablo 10. Gruplara göre NADPH değerlerinin karşılaştırılması 42

Tablo 11. Oksidatif stres parametreleri ile sperm kalite parametreleri arasındaki ilişki 43

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Erkek Üreme Sistemi Organları (Vikipedikatılımcıları 2020) 4

Şekil 2. Testis Anatomisi (Junqueıra L.C. ve ark. 2009) 5

Şekil 3. Farklılaşmamış Gonad (Sadler, 2005) 8

Şekil 4. Gonadların Dönüşüm Süreci (Sadler, 2005) 9

Şekil 5. Testisin histolojik yapısı. a) Testisin sagital kesiti, b) Testisin Hematoksilen-Eozin (H-E) ile boyanmış sagital kesiti (Ross ve Pawlina, 2011) 11

Şekil 6. Seminifer tübülde hücre bağlantı kompleksleri (Goones ve Roy, 2005) 13

Şekil 7. Spermin yapısı (Ross ve Pawlina, 2011) 15

Şekil 8. Spermatogenez Süreci (Junqueira ve ark. 1998) 19

Şekil 9. Reagent hazırlanması 37

KISALTMALAR

ABP : Androjen bağlayıcı protein

AMH :Antimüllerian Hormon

BKİ :Beden Kitle İndeksi

CAT :Katalaz

CBVDA : Konjenital Bilateral Vas Deferens Agenezisini

CFTR :Kistik fibrozis taşıyıcı test

DM :Diabetes mellitus

DNA :Deoksiribo nükleik asit

DSÖ :Dünya Sağlık Örgütü

EDTA :Etilendiamin tetraasetik asit

ELISA :Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay test

FBS :Fosfat tampon solüsyonu

FSH :Folikül uyarıcı hormon

GR :Glutatyon redüktaz

GSH-PX :Glutatyon peroksidaz

GST :Glutatyon S- transferaz

HCG :İnsan koryonik gonadotropin

HRP :Horseradish peroksidaz

HT :Hipertansiyon

H_2O_2 : Hidrojen peroksit

IDH2 :İzositrat dehidrogenaz

Kg :Kilogram

LDL :Düşük dansiteli lipoproteinler

MIS :Müllerian İnhibitör Madde

m^2 :Metrekare

NADP :Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

NASH :Non Alkolik Steatohepatit

NO :Nitrik oksit

OD :Optik dansite değeri

ONOO : Peroksinitrin anyonu

O2 :Süperoksit anyonu

O2 ˙Süperoksit

PON : Paroksonaz

RCS :Reaktif klor türleri

RNS : Reaktif nitrojen türleri

ROP : Reaktif oksijen ürünleri

ROS : Reaktif oksijen türleri

SOD : Süperoksit dismutaz

SOR : Süperoksit radikalleri

SRY :Y kromozomunun cinsiyet belirleyici alanı

TDF :Testis belirleyici faktör

TMB :Tetrametilbenzidin

TRUSG : Transektal Ultrasonografi

TSS : toplam sperm sayısı

8-iso-PGF2-α-8-iso-prostaglandin :F2 alfa

ÖZGEÇMİŞ

Ulzhan Abenova

Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı

Eğitim

Derece	*Yıl*	*Üniversite, Enstitü, Anabilim/Anasanat Dalı*
Y.Ls.	2021	Maltepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı
Ls.	2014	Kazak Ulusal Tıp Üniversitesi, Tıp Fakültesi Genel Tıp Anabilim Dalı
Lise	2009	Saryagash Mailygoja devlet lisesi/Kazakistan

İş/İstihdam

Yıl	*Görev*

İş deneyimi yok

Mesleki Birlik/Dernek Üyelikleri

Yıl	*Kurum*

-

Alınan Burs ve Ödüller

-

Yayınlar ve Diğer Bilimsel/Sanatsal Faaliyetler

-

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), daha 1998 yılında insanlardaki fazla kilo meselesinin 21. yüzyılın en onemli sağlık sorunu olacağını bildirmiştir. Türkiyede de dünya genelinde olduğu gibi obezitenin prevalansı yetişkinlerin yanı sıra pediatrik popülasyonda da giderek artmaktadır. Obezite hem kadın hem erkek faktörlü infertiliteyi arttırarak önemli bir reprodüktif sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (Craig ve ark., 2017).

Obezite ile birlikte sıklıkla eşlik eden dislipidemi, metabolik sendrom, insülin direnci, endotelyal disfonksiyon, hiperkoagülasyon ve hipertansiyon (HT) gibi patolojilerle etiyopatogenetik olarak yakından ilişkilidir (Monteiro ve Azevedo, 2010). Obezite sıklığının artmasına paralel olarak erkek infertilitesi ve sperm kalitesinin düşmesinin de sıklığının arttığı görülmüştür ve birçok araştırmalarda bu durum kanıtlanmıştır (Lamb ve ark., 2000). Obezitenin erkek fertilitesine ve semen parametrelerine kompleks ve çok faktörlü olduğu düşünülmektedir. Patogenezinde başlıca hormonal dengenin bozulması, libidoya etkisi, uyku apnesi, metabolik sendrom ve oksidatif stres gibi faktörler suçlanmaktaysa da bu konuda çok geniş çaplı araştırmalara ihtiyaç vardır (Craig ve ark., 2017).

Obezitenin diyabet hastalığı (DM) ve HT açısından da risk oluşturduğu ve bu hastalıkların da reprodüktif sistemi olumsuz etkilediği binmektedir (Guo ve ark. 2017), (Steger ve Rabe, 1997). Hayvan deney çalışmalarında obezitenin testosteron düzeyinde azalma ve spermatogenez yetersizliği gibi testiküler bozukluklara yol açtığı gösterilmiştir (Sanguinetti ve ark, 1995). Kasturi ve arkadaşları spermatozoon fonksiyonunu olumsuz etkileyen önemli faktörlerden biri metabolik sendrom sonucu ortaya çıkan oksidatif stres olduğunu belirtmişlerdir (Kasturi ve ark, 2008). Ozan ve ark (2014) tarafından yürütülen bir çalışmada sekiz haftalık süre boyunca % 20 fruktoz içeren içme suyu şeklindeki diyet verilen sıçanlarda testiste oksidatif stresin artığını bildirmişlerdir. Testiküler hücreler çoklu doymamış yağ asitleri bakımından zengin olmaları nedeniyle oksidatif strese daha hassastırlar (Kim ve ark, 2003).

Oksidatif stres normalde her organizmada bir birini dengeleyen ve sağlıklı organizma homeostazında önemli rol üstlenen oksidan - antioksidan sistem dengesinin oksidan süreçler leyhine bozulması sonucu lipid peroksidasyonu ve superoksit ürünlerinin organizmada fazla toplanıp hücrelerin hasarıyla sonuçlanması olarak tanımlanabilir (Wu ve ark. 2004). Oksidatif stresi arttıran; radyasyon, sigara, kronik enflamasyon, hiperglisemi gibi birçok dış ve iç faktörlerin içinde obezite de yer almaktadır (Çavdar ve ark 1997). Oksidatif stresin artması vücuttaki DNA, protein, lipid gibi biyomoleküllerin yapılarına destrüktif etki yaratarak oksidatif hasar oluşturmaktadır. Oksidatif hasar nedeniyle gelişen DNA yapısı onarılamazsa mutasyona neden olabilmektedir (Garrido ve ark. 2004).

Antioksidanlar, reaktif oksijen ürünlerinin (ROP) oluşmasını engelleyerek ve/veya oluşan radikalleri bertaraf ederek hücrelerin ve sistemlerin zarar görmesini engelleyen yapılardır (Oborna ve ark 2009). Vücutta koruyucu görevi olan bu moleküllerin özelliği şudur ki, kendi elektronlarını vererek serbest radikalleri nötralize ederken kendileri de serbest radikale dönüşmemektedirler (Oborna ve ark 2009). Organizmayı oksidatif stresten koruyan en önemli moleküller: süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon peroksidaz (GSH-PX), glutatyon redüktaz (GR), katalaz (CAT) ve sitokrom oksidaz olarak bilinir (Garrido ve ark. 2004). Bu enzimler vücuttaki oksidatif stresi ve antioksidan aktiviteyi göstermek için klinik pratikte kullanılmaktadır. Bunlardan en yaygın olarak kullanılan ve en iyi bilenenleri oksidatif stress düzeyini ölçmek için kullanılan NADP (Nikotinamid adenin dinukleotid fosfat) bağımlı izositrat dehidrogenaz (IDH2) ve 8-iso-prostaglandin –F2 alfa (8-iso-PGF2-α), ve antioksidan aktiviteyi ölçmek için kullanılan paroksonaz (PON) sayılmaktadır (Wu ver ark 2004).

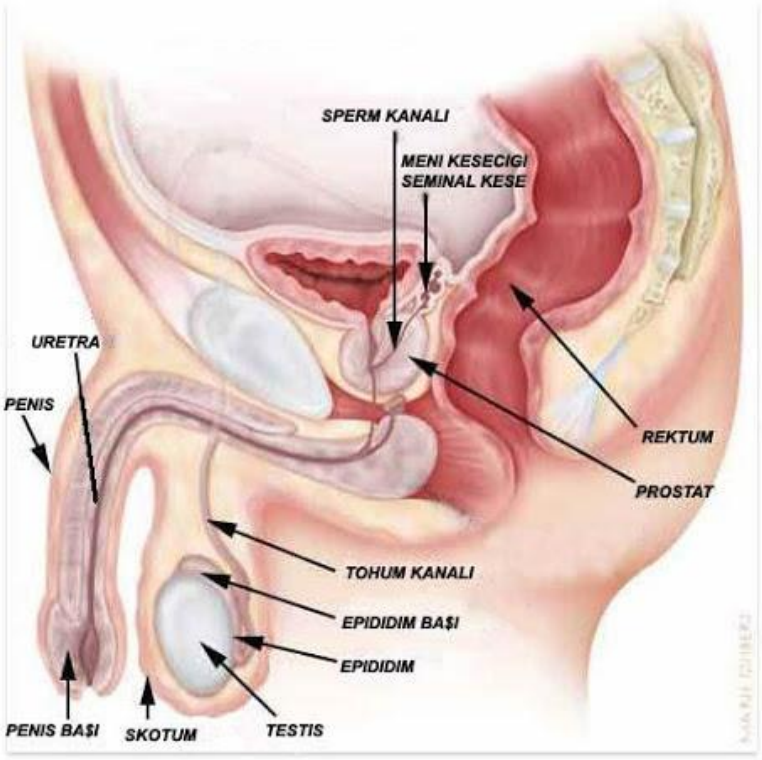
Obezitenin patofizyolojik etki mekanizmalarını hücresel ve moleküler düzeyde anlayabilmek ve yeni tedavi yöntemleri geliştirebilmek için hayvan modelleri üzerinde çalışılmaktadır. Deney hayvanlarında obezite modeli oluşturmak için sıklıkla genetik manipülasyon veya özel diyet modelleri kullanılmaktadır. Özel diyet modelleri derken en sık olarak yüksek fruktozlu diyet modelleri kullanılmaktadır, çünkü sebep oldukları patolojik değişikliklerin bakımından insana en yakın model olarak görülmektedir (Panchal ve ark, 2011).

Çalışmamızda obezitede oksidatif stres mekanizmalarının semen kalitesine ve fertiliteye etkisini fareler üzerinde araştırmayı amaçladık.

BÖLÜM 2. GENEL BİLGİLER

2.1. Erkek Üreme Sistemi

Erkek üreme sistemindeki üreme organları; (i) dış üreme organları ve (ii) iç üreme organları olarak iki sınıflandırma kapsamında incelenmektedir (Kierszenbaum, 2006).



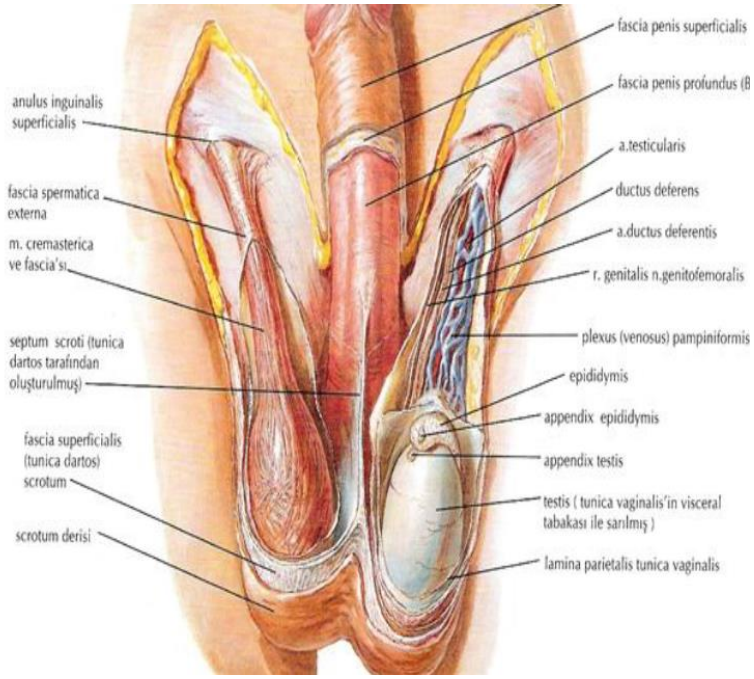
Şekil 1. Erkek Üreme Sistemi Organları (Vikipedikatılımcıları 2020)

Erkek üreme sisteminin dış üreme organları; penis ve scrotum'dur. Dış üreme organlarından olan penis içerisinde üç adet silindirik ve süngerimsi tabaka bulundurmaktadır. Bu tabakalardan ikisi kavpora kavernosa ve biri korpus spongiosum olarak adlandırılmaktadır. Korpus sopngiosumun içerisinde üretra seyretmektedir. Bu süngerimsi tabakanın içerisinde kan damarları ile sinirler yer almaktadır. Glans olarak adlandırılan penis ucu, sinir açısından oldukça zengin bir dokudur ve bu nedenle oldukça duyarlıdır (Kierszenbaum, 2006; Aktümsek, 2001; Özden, 2012).

Dış üreme organlarından bir diğeri olan skrotum; testisleri ve spermatik kodları içerisinde barındırmaktadır. Spermatik kodların içerisinde testisler asılı durmaktadır ve kan damarları, kas fibrinleri ve testislerden ayrışan spermatozooların geçiş yolları skrotum içerisinde yer almaktadır (Aktümsek, 2001; Özden, 2012).

2.1.1. Testis Anatomisi

Er bezi olarak da bilinen testisler, skrotumun içerisinde bulunan oval biçiminde çift yapılardır. Testislerin ortalama boyutları 4x2 ile 5x3 santimetre ağırlıkları 10 - 15 gram arasında değişmektedir. Yanlardan basık, oval görünümlü, iri badem büyüklüğünde olan testislerin posterior kısmı epididimis ile devamlılık sağlamaktadır. Testisler, erkek üreme sisteminin ana hücresi olan spermatazoonları yani erkek üreme hücrelerini ve erkek seks hormonu olarak adlandırılan androjenleri üretme görevi taşımaktadır. (Şekil 2).



Şekil 2. Testis Anatomisi (Junqueıra L.C. ve ark. 2009)

Testisler birbirlerinden skroal spetum vasıtası ile ayrılmaktadırlar. Testisler spermatik kort ile skrotum içerisinde asılı olarak yer almaktadırlar ve ovoid şekle sahiptirler. Genel olarak her bir testis yaklaşık olarak 25 ilâ 30 mililitre hacme sahiptir.

Her iki testis yaklaşık olarak birbirleri ile aynı büyüklüktedir ve fakat yapısal kaynaklı olarak sağ testis sol testise göre görece daha ağırdır ve sol testiste sağ testise göre görece daha aşağıda yer almaktadır (Arıncı ve Elhan, 1999).

Testisler, üreme sistemindeki temel görevlerini yerine getirebilmek için karın boşluğundan skrotuma doğru inme hareketini gerçekleştirmek zorundadır. Testislerin bu inişi sürecinde karın ön duvarında yer alan tabakalar da testisler ile birlikte sürüklenmektedir ve bu nedenle de testisler aşağıya doğru sarkan tabaka ile sarılıdır. Bu tabakanın katmanları; (i) deri, (ii) tunika dartos, (iii) fasia spermatika eksterna, (iv) fasia kremasterika, (v) fasia spermatika interna ve (vi) tunika vaginalis interna olarak adlandırılmaktadır (Borukoğlu, 2007). Testislerin karın boşluğundan skortuma doğru iniş hareketinde beraberinde taşıdıkları abdominal periton tabakası olarak adlandırılan tabaka mezotelyal hücreler ile döşenmiştir ve söz konusu tabakanın lamina visceralis ve lamina parietalis olamak üzere iki yaprağı bulunmaktadır (Limandal, 2013).

Testis yüzleri iç yan yüz [fasia medialis] ve dış yan yüz [fasia lateralis] şeklinde, testis kenarları ön kenar [margo anterior] ve arka kenar [margo posterior] şeklinde ve testis uçları da üst uç [ekstremites superior] ve alt uç [ekstremites inferior] şeklinde adlandırılmaktadır (Arıncı ve Elhan, 1999).

Testis üzerinde bir örtü görevi gören lamina visceralis tabakasının altında yer alan ve testisi dıştan saran tunika albuginea maviye yakın beyaz renkli fibröz nitelikli bir katmandır ve kollajen açısından zengin bir yapıya sahip olan kompakt bağ dokusu ile çevrilidir. Tunika albuginea tabakası testislerin arka yüzünde kalınlaşmaktadır ve kalın, vertikal bir bölme oluşturmaktadır. Bu kalın ve vertikal bölme mediastinum testis olarak adlandırılmaktadır ve organa damarların, sinirlerin girip çıktığı, rete testisi adı verilen kanalcıkların yer aldığı bölmedir (Gültekin, 2013).

Testislerin üst ucundan alt uçlarına kadar uzanan uzantılar septula testisi olarak adlandırılmaktadır. Septula testisleri testislerin derin kısımlarına doğru uzanmaktadırlar ve her bir testisi yaklaşık olarak iki yüz ilâ üç yüz adet piramit yapılı loblara ayırmaktadırlar. Söz konusu loblar lobuli testis olarak adlandırılmaktadır. Bu loblardan her biri bir ilâ dört adet sıkışık kıvrıntılı tübüller yer almaktadır ve genel olarak tüm organda toplamda altı yüz ile bin arasında tübül bulunmaktadır. Seminifer tübül olarak

adlandırılan bu yapıların her biri 30 – 80 santimetre uzunluğundadır ve spermatozoonların üretim yerleri olarak kabul edilmektedir. Tübüllerin gevşek bağ dokusunda yer alanları Leydig Hücreleri olarak adlandırılmaktadır ve Leydig Hücreleri ikincil seks karakterinin gelişiminden sorumlu olan testosteron hormon salgısını gerçekleştirirler. Bu hücrelerin sitoplazmalarında Reinke Kristalleri olarak adlandırılan karakteristik protein kristalleri bulunmaktadır (Snell, 2004).

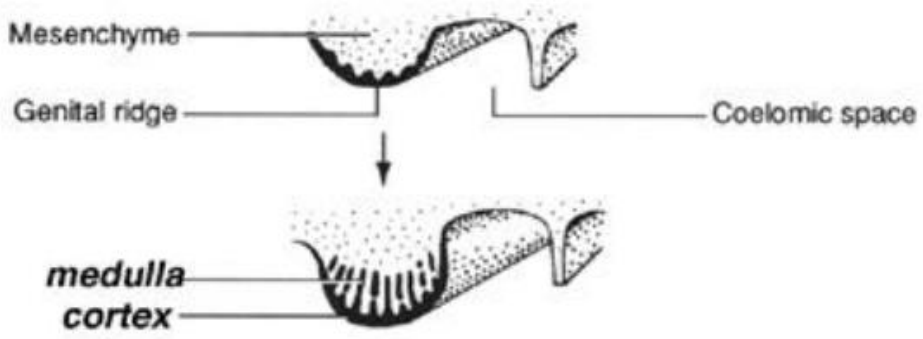
Testisin arka bölümünde seminifer tübüller birleşmektedir ve tübüli seminiferi rekti adı verilen düz kanalları (yaklaşık olarak 20 ilâ 30 arasında) oluşturmaktadır. Söz konusu kanallar mediastinum testise ulaşmakta ve burada Haller Ağı adı verilen bir kanal ağı oluşturmaktadır. Mediastinum testisinin üst ucunda bulunan ve Haller Ağı'ndan başlayan 12 - 10 adet arasındaki küçük kanallar [duktuli efferentes] tunika albugineadan geçerler ve epididimis kanalını oluştururlar (Yıldırım, 1999). Epididimis testistlerin dış ifraz kanallarının ilk bölümünü oluşturmaktadır ve spermiumlar epididimisin içerisinde fizyolojik olgunluğa erişim süreçlerini tamamlarlar.

Testis ve epididimisin beslenme kanalı aortanın bir dalı olan arteria testikülaristir. Testis ve epididimisin venöz drenajının gerçekleştirilmesi ise daktus defernsin anteriyoru süresince uzanan ve testiküler arteri çevreleyen venlerden oluşan bir ağ tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu venler, iç kasık halkasından geçerler ve birleşerek testikülarisi oluştururlar (Gültekin, 2013).

Testislerde yer alan lenf damarları funikulus spermatikusu izlerler ve bu yoldan da nodus lenfatikus, aorticus lateralis ve preaortisiler ile birleşirler.

2.1.2. Testis Embriyolojisi

Genetik açıdan ele alındığında bir embriyonun cinsiyeti döllenme sırasında belirlenmektedir. Ancak gelişim sürecinin yedinci haftasına kadar olan sürede gonadlar eril ya da dişi morfolojik özellikleri taşımamaktadır. Bu açıdan gelişimin başlangıcı erken dönemde hem eril hem de dişi cinsiyette birbirlerine benzemektedir. Bu nedenle, genital gelişimin bu dönemine farklılaşmamış evre ve farklılaşmamış evrede yer alan gonadlara da farklılaşmamış gonad (Şekil 3) adı verilmektedir (Sadler, 2005).

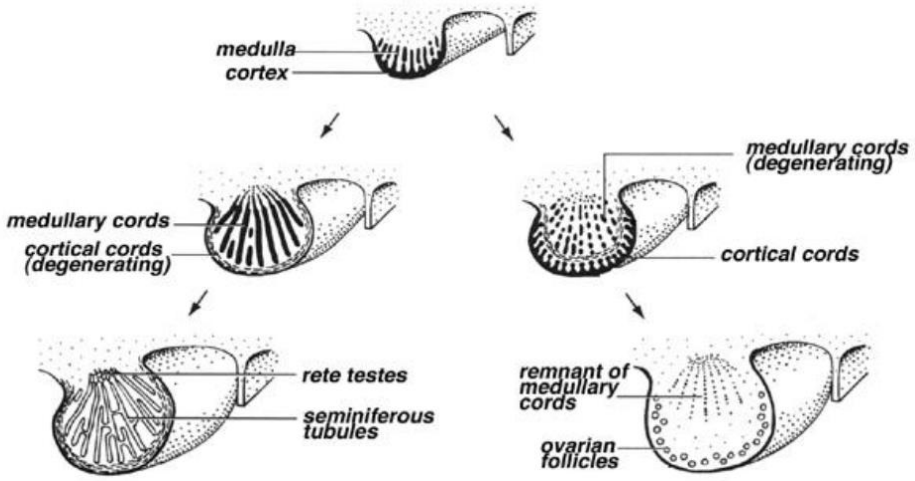


Şekil 3. Farklılaşmamış Gonad (Sadler, 2005)

Gonadların üç temel kaynak kökü bulunmaktadır. Bunlar aşağıdaki gibi sıralanmaktadır (Moore ve Persaud, 2009);

- Mezodermal Epitelyum olarak adlandırılan ve posterior abdominal duvarı döşeyen mezotel
- Embriyonik bağ dokusu olarak adlandırılan mezenşim
- İlkel cinsiyet hücreleri olarak adlandırılan primordiyal germ hücreleri

Gonadların gelişimin altıncı haftasına kadar germ hücreleri bulunmamaktadır. Parmak şekline sahip epitelyal kordonların gonodal kordonlar altında yer alan mezenşim içerisine doğru kısa sürede büyümeleri ile birlikte primer seks kordonlarına benzeyen bir görüntü ortaya çıkar. Gonadların farklılaşması sürecinde dış kısımda korteks iç kısımda ise medulla konumlanmıştır. Bu süreçte şayet embriyo XX [dişi] ise farklılaşmamış gonadın korteksi overe dönüşür ve medullasında gerileme yaşanır. Eğer embriyo XY [erkek] ise medulla testise dönüşüm sürecine girer ve korteks dejenere olur (Şekil 4).



Şekil 4. Gonadların Dönüşüm Süreci (Sadler, 2005)

Genetik olarak embriyo erkek ise [XY] genel olarak testisler gelişmektedir ve testislerin gelişim süreci koordineli bir seri genin indüksiyonu ile gerçekleşmektedir (Gültekin, 2013).

Erkek fenotipinin gelişim sürecinde Y kromozomunun sadece kısa kolu cinsiyet tayini açısından önemlidir çünkü testis belirleyici faktör (TDF – Testis Determining Factor) için gereken SRY geni (Sex Determining Region of the Y Cromozom) yani Y kromozomunun cinsiyet belirleyici bölgesi bu alanda bulunmaktadır (Ünlükal, 2011).

SRY'nin etkisi ile medüller bölgede bulunan hücreler sertoli hücreleri ile farklılık göstermeye başlarlar ve kortikal bölgede yer alan hücreler dejenerasyon sürecine girerler. Embriyo gelişiminin yedinci haftasında farklılaşmaya başlayan sertoli hücreleri testis kordonlarını oluşturma sürecine girerler. Bu süreçte, TDF testiküler farklılaşmayı desteklemektedir ve TDF'nin baskısı altında kalan primer seks kordonları seminifer tübüllere farklılaşmaktadır. TDF'nini kodlanmasını sağlayan Y kromozomunda var olan SRY geni sayesinde primitif olan cinsiyet kordonları testis ve medullar kordonların oluşturulmasını gerçekleştirmek için çoğalma süreçlerine medullanın derinliklerine doğru inerek devam ederler ve kordonlar burada dallanarak birbirleri ile anastomozlaşır ve rete testisini oluşturur. İleri gelişim süreçlerinde testisteki kordonların [gonodal kordonlar ve seminiferöz kordonlar] yüzeydeki epitel ile olan bağları yoğun bir fibröz ağ dokunun oluşmasını takiben [tunika albuginea] oradan kalkar. Gelişimin onikinci haftasında tunika albugineasa belirginleşir ki bu

belirginleşme erkek cinsiyetine sahip bir fatüs içi karakteristik bir özellik olarak kabul edilmektedir. Testis genişlemeye başlar ve genişlemiş testis, aşamalı olarak dejenerasyona uğrayan mezonefrozdan ayrışır ve kendi mezanteri olan mesorchiumda asılı hale gelir.

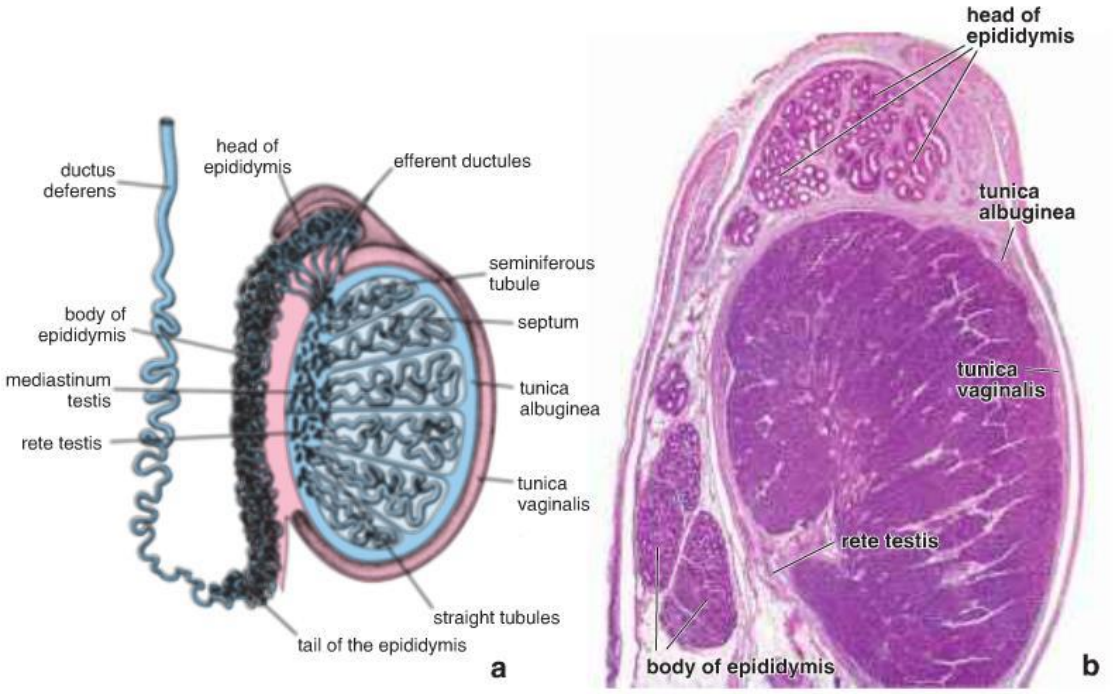
Gelişimin sekizinci haftasından itibaren hücrelerde androjenik hormonlar – testosteron ve androstenedione – üretilmeye başlanır. Söz konusu hormonlar mezonefrik kanallar vasıtası ile dış genitallerin erkek yönünde farklılaşmasını uyarma görevini üstlenirler. Gelişimin erken dönemindeki testosteron üretimi hCG (Human Coryonic Gonadotropin) ile kontrol edilirken gelişimin ilerleyen döneminde testosteron üretimi pitüiter gonadotropinler vasıtası ile kontrol edilmektedir (Moore ve Persaud, 2009). Testosteron salgısından hariç olarak fetal testisler AMH (Antimüllerian Hormon) veya MIS (Müllerian İnhibitör Madde) adı verilen bir hormon daha salgılamaktadır.

Embriyonun gelişim sürecinin beşinci – altıncı haftalarına kadar genital sistem farklılaşması oluşmadığı için gerek erkek gerek dişi embriyoların her ikisinde de wolffian ve müllerian kanallar olmak üzere iki çift genital kanal bulunmaktadır. Söz konusu kanallardan wolffian kanallar erkek üreme sisteminin gelişmesi sürecinde kritik öneme sahip iken, müllerian kanallar ise dişi üreme sisteminin gelişmesi sürecinde kritik öneme sahiptir. Gelişiminin altıncı haftası geçildikten sonra, embriyonun cinsiyetine göre salgılanan hormonlar vasıtası ile farklılaşmalar oluşmakta ve sekizinci haftada, fetal testislerin salgıladığı testosteron hormonun etkisi ile wolffian kanalın proksimal kısımları kıvrımlı bir hal alarak epididimisi oluşturmaktadır. Wolffian kanalların geride kalan diğer kısımları ise; duktus deferens, duktus ejakülatoriusudur.

2.1.3. Testis Histolojisi

Testisler ergenlik çağı itibaıyla spermatozoonların üretimi ile erkek eşey hormonu testosteronun sentezinden sorumlu, salgı ve hormon üretme özelliği taşıyan bir çift organdır. Embriyonik gelişim ve eşeysel olgunlaşma sürecinde de etkisi vardır. Testisi dıştan örten derindeki katmana tunika albuginea denir, bu katman testisin arka tarafında biraz kalınlaşır ve mediastinum testisi oluşturur. Mediastinum testis fibröz uzantılar şeklinde organın iç kısmına girer. Testisin kan damarları, lenf kanalları ve sinirleri bu tabaka içerisinde seyretmektedir. Tunika albuginea'nın kalınlaşarak

oluşturduğu mediastinum testisten uzanan ince bağ dokusu perdeleri testisi ortalama 250 civarında lobüle bölmektedir. Her bir lobülün içerisinde sayıları 1-4 kadar olan spermlerin üretildiği seminifer tübüller vardır. Seminifer tübüllerin arasındaki boşluğa interstisyel boşluk denmektedir ve kan damarlarını, lenf damarlarını, sinirleri, Leydig hücrelerini ve makrofajları barındırmaktadır (Şekil 5) (Paker, 1993; Eşrefoğlu, 2009).



Şekil 5. Testisin histolojik yapısı. a) Testisin sagital kesiti, b) Testisin Hematoksilen-Eozin (H-E) ile boyanmış sagital kesiti (Ross ve Pawlina, 2011)

2.1.4. Seminifer Tübüller

Seminifer tübüller 30-80 cm uzunluğunda ve ortalama 150-200 µm çapındaki bolca kıvrımlara sahip kanallardır. Başlangıç kısımlarında anastomoz gösteren kıvrımlar şeklinde iken, mediastinum'a doğru yaklaştıkça düz ve kısa tübüllere yani tubuli rekti'ye dönüşmektedirler. Tubuli rektiler ise rete testis adı verilen mediastinumda bulunan ve anastomozlaşan kanallara açılırlar. Seminifer tübüller seminifer epitel ve germinal epitel olarak isimlendirilen çok katlı bir epitel ile örtülüdür. Seminifer epitelde spermatojenik hücreler ve sertoli hücreleri olarak bilinen iki tür hücreler mevcuttur (Eşrefoğlu, 2009).

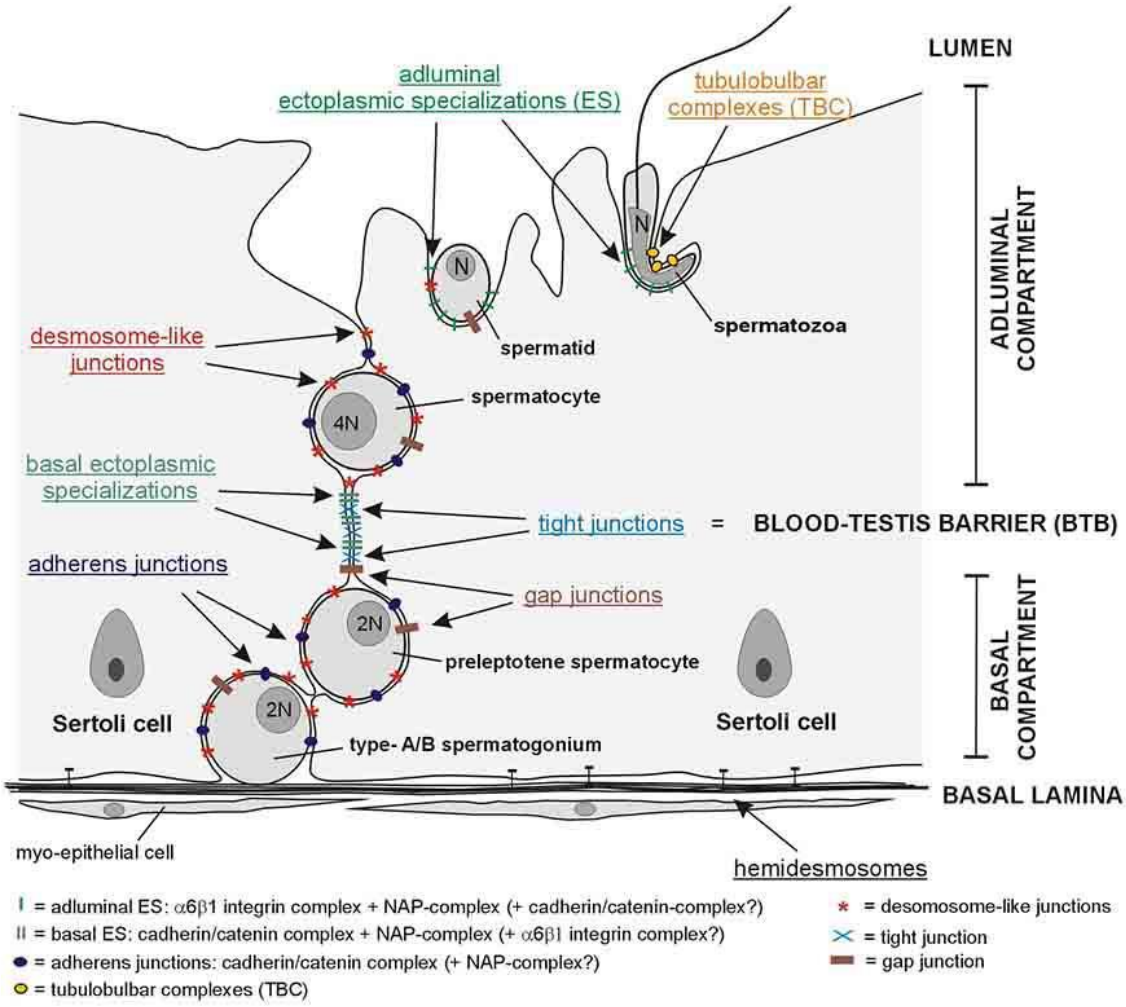
2.1.5. Sertoli hücreleri

Sertoli hücreleri bazaldan lümene doğru uzanmakta olan uzun, prizma tarzında büyük hücrelerdir. Bunlara destek hücreleri de denmektedir. Çeşitli gelişme aşamasındaki sperm hücrelerinin korunmasından ve beslenmesinden, sorumludurlar. Ayrıca farklılaşma ve olgunlaşma sürecinde kusurlu olan spermatojenik hücreleri fagosite ederek temizleme görevi de yapmaktadırlar. Puberte öncesi seminifer epitelin ağırlıklı hücre tipi iken puberte sonrası sayıca azalıp ve ileri yaşta tekrar baskın hal almaktadır. (Ross ve Pawlina, 2011).

Sertoli hücrelerinin sitoplazmalarında bulunan yoğun miktarda lipid damlacıkları, bol ve tübüler mitokondriler, bariz golgi kompleksi gelişmiş granüllü ve granülsüz endoplazmik retikulum, glikojen granülleri, primer ve sekonder lizozomlar, mikrotübüller ve mikrofilamentler, serbest ribozomlar, elektron mikroskobunda seçmek mümkündür (Eşrefoğlu, 2009).

İnsanlarda bazal sitoplazmada nukleus yakınında bulunan "Charcot-Böttcher" diye adlandırılan inklüzyon cisimcikleri de görülebilmektedir. Bu hüclerin uç kısmında gelişmekte olan spermatozoonların baş kısımları bulunur. Birbirlerine komşu sertoli hücreleri arasında pek çok zonula okklüdens tarzı bağlantı kompleksi mevcuttur. Bu sıkı bağlantı kompleksleri kan-testis bariyeri adı verilen interstisyel vasküler yapılarla seminifer tübüller arasındaki seçici bariyeri oluşturmaktadır. Ayrıca bu bariyer seminifer epiteli bazal ve adluminal bölümlere ayırmaktadır ve germ hücrelerinin kan ile gelen toksik kimyasallar, toksik ilaçlar gibi zararlı maddelere karşı korunmasını da sağlar. (Skinner ve Griswold, 2005). Kan-testis bariyerinin bir diğer özelliği ise immünoglobulinlerin seminifer tübüllere geçmesini engelleyerek haploid germ hücreleri ile bağışıklık sistem arasında oluşabilecek olumsuz etkileşimi engellemesidir. (Cormack, 2001; Ross ve Pawlina, 2011).

Sertoli hücreleri membranlarında zonula okklüdens'lerin yanı sıra tubulobular kompleksler, oluklu bağlantı kompleksleri, fokal bağlantılar, desmozomlar ve hemidesmozomlar da vardır (Şekil 6) (Kopera ve ark., 2010).



Şekil 6. Seminifer tübülde hücre bağlantı kompleksleri (Goones ve Roy, 2005)

Sertoli hücreleri androjenlere afinitesi yüksek olan androjen bağlayıcı protein (ABP) sentezlemektedir. ABP, luminal bölgede testosteron ve dihidrotestesteronların yoğun miktarda birikmesini sağlayarak sperm hücrelerinin olgunlaşmasına katkı sağlar. Ayrıca bu hücrelerde inhibin, transferin ve plazminojen aktivatör gibi folikül uyarıcı hormon (FSH) salınımını baskılayan moleküller de üretilmektedir (Kierszenbaum, 2006).

2.1.6. Spermatojenik hücreler

Spermatojenik hücreler istikrarlı bir şekilde bölünerek olgun spermlere farklılaşacak olan germ hücrelerdir. Seminifer tübüller 4-8 tabaka hücre içermektedirler. Bu germ hücreleri bazaldan lümene doğru; spermatogonyumlar, spermatositler, spermatidler, spermatozoon şeklinde olgunlaşmışlık sırasına göre yerleşmişlerdir.

Aşağıda bu hücreler hakında kısaca açıklama getirilmişltir.

2.1.6.1. Spermatogonyumlar

Spermatogonyumlar bazal bölümde yerleşen bazal laminayla sıkıca ilişkili olan hücrelerdir. Sertoli hücreleri arasındaki oklüdenslerin altında yerleştikleri için kan-testis bariyerinin dışında kalıyorlar. 3 temel spermatogonyum tipi vardır. Tip A spermatogonyumlar semiferöz epidelin kök hücreleridirler. Belirgin bazofilik ve ince granüler kromatinli oval nükleus barındırmaktadırlar. Puberteden itibaren mitoz bölünmeleri geçirerek koyu ve açık tip A spermatogoniyumlara dönüşürler. Özellikle açık boyanan Tip A spermatogonyumlar mitotik bölünmeler sonucunda farklılaşarak Tip B spermatogonyumlara dönüşürler. Bunlar santral yerleşimli küresel tarzda nukleolusa sahiptirler. (Ross ve Pawlina, 2011).

2.1.6.2. Spermatositler

Tip B spermatogonyumların mitoz bölünmeleri sonucunda meydana gelen primer spermatositler üretim fazını tamamladıktan sonra mayoz bölünmenin profaz aşamasına geçerler. Profaz aşamasının diakinez safhasına kadarki tüm alt fazlarını atlatırlar ve diakinez safhasına ulaşırlar. Krossing over gerçekleşir ve kromozomlar ayrılır. Birinci mayoz bölünmenin sonucunda oluşan ikincil spermatositler 2n DNA ve 23 kromozom (22+X ya da 22+Y) içermektedir. İnterfaz aşamasında çok kısa kalıp hemen mayoz bölünmeye geçtikleri için testis kesitlerinde ikincil spermatositler zor görülürler. (Kaya ve ark., 2006; Ross ve Pawlina, 2011).

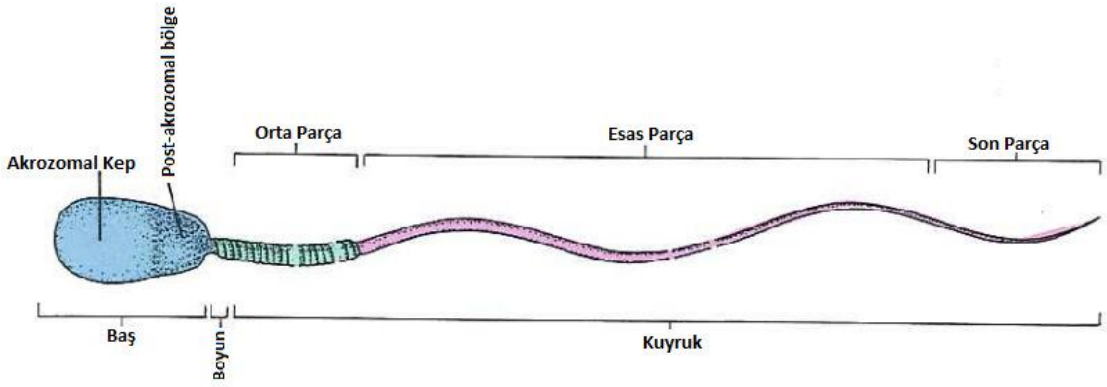
2.1.6.3. Spermatidler

Spermatidler sekonder spermatositlerin ikinci mayozu sonucunda karşımıza çıkmaktadır. Diğer hücrelerden farklı olarak boyutları daha küçüktür, yoğunlaşmış kromatin bölgeleri taşıyan nukleusları vardır. Bu hücreler spermiyogenez olarak da bilinen farklılaşma aşamasını geçirmek suretiyle metamorfoz'a uğrarlar ve akrozom bu süreçte oluşur, kuyruk oluşur ve sitoplazmanın büyük bir kısmı kaybedilir, nukleus yoğunlaşır ve uzar. Spermatidin olgun sperme dönüşmesi "golgi fazı", "şapka fazı", "akrozomal faz" ve "olgunlaşma fazı" olmak üzere 4 fazdan geçmektedir. Bu fazlar

spermatidlerin özel bağlantılar sayesinde sertoli hücre membranına iyice bağlandığında gerçekleşir.

2.1.6.4. Spermatozoon

Spermatozoon artık olgunlaşmış bir germ hücresidir. İnsanlarda spermatogonyum safhasından itibaren spermatozoona dönüşüp olgunlaşana kadarki süre yaklaşık 64 gündür ve bu sürece spermatogenezis adı verilmektedir. Olgun bir spermatozoon'da sırasıyla baş, orta parça ve kuyruk olarak adlandırılan 3 ana kısmı vardır. Spermin baş ve kuyruğu plazma membranı ile kaplıdır. Baş, akrozom ile sarılmış nukleustan ibarettir. Nukleus yayvanlaşmıştır ve kromatinden zengindir. Nukleusun ön yarısı akrozom ile örtülüdür. Akrozom aslında özelleşmiş bir lizozomdur ve akrozin olarak denilen proteazlar, hyalurodinaz, asit fosfataz, gibi çeşitli litik enzimler barındırır. Spermin orta parçası, bir çift sentriole sahiptir ve baş ve kuyruğu bir birine bağlamaktadır. Orta parçada ayrıca sarmal şeklinde dizilmiş mitokondriler de vardır. Kuyruk parçası esas kuyruk ve son parça olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Mikrotübüler aksonema ve dış yoğun lifler olarak isimlendirilen sperm boynundaki bağlantı parçasından ve kuyruk boyunca uzanan dokuz tane uzunlamasına filamanlardan meydana gelir. (Kaya ve ark., 2006; Ross ve Pawlina, 2011).



Şekil 7. Spermin yapısı (Ross ve Pawlina, 2011)

2.1.7. İnterstisyum

Testisin seminiferöz tübülleri arasında kalan kan ve lenf damarları, bağ dokusu elemanları, sinirler, ve Leydig hücreleri içeren alanlara interstisyum adı verilmektedir.

Testiküler kapillerler pencereli tipte oldukları için kandaki protein gibi iri moleküllerin de kolayca interstisyel alana geçmesine olanak sağlar. İnterstisyel alan lenf damarları açısından zengindir. (Kaya ve ark., 2006; Ross ve Pawlina, 2011).

Testisin interstisyel hücrelerine Leydig hücreleri adı verilir. Leydig hücreleri testesteron ürettikleri için sekonder eşey karakterlerinin oluşumunda önemlidir. Testosteron sentezi leydig hücresinin mitokondri ve agranüler Endoplazmik retikulumdaki enzimler sayesinde olmaktadır. (Kierszenbaum, 2006; Ross ve Pawlina, 2011).

2.1.8. Rete Testis

Mediastinumda yerleşmekte olan rete testis yoğun vasküler yapıya ve birbirleriyle anastomozlaşan tübüler yapıdadır. Bu şekilde tubulus ağı meydana getirmektedir. Bu tubulus ağı sonra tubuli rekti dediğimiz düz seminifer tübüllere dönüşür. Spermler tubuli rekti ve rete testisten genellikle çok hızlı geçtiği için mikroskop kesitlerinde lümende spermlere nadir rastlanmaktadır (Paker, 1999; Eşrefoğlu, 2009).

2.1.9. Duktuli Efferentes

Rete testisi epididimise bağlayan duktus eferentis yaklaşık 20 adet kıvrımlı kanallardan meydana gelmektedir. İç yüzü yalancı çok katlı prizmatik epitel ile örtülüdür. Bu kanallar kıvrımlanmaları sayesinde konik bir şekil almaktadır ve bu konik yapıların bazalında efferent kanallar epididimis kanalına açılmaktadır (Ross ve Pawlina, 2011).

Efferent kanalların epitelinde prizmatik ve kübik yapılı hücreler yer almaktadır. Prizmatik hücreleri silialı iken kubik hücrelerinin üzerinde bol miktarda mikrovillus bulunmaktadır. Bazal membranın hemen yanındaki kübik bazal hücreler diğer hücrelere farklılaşabilme özelliği taşıyan kök hücrelerdir. dönülebilme özelliğine sahip kök hücrelerdir (Paker, 1999; Eşrefoğlu, 2009).

2.1.10. Epididimis

Epididimis baş, gövde ve kuyruk olmak üzere 3 ana kısımdan oluşmaktadır.

Epididimis'in baş kısmında duktus efferent var iken gövde ve kuyruk kısmında duktus epididimis yer almaktadır. Yalancı çok tabakalı stersilialı prizmatik epitelyum ile kaplıdır. Bazal hücreler kök hücre özelliği taşımaktadır (Paker, 1999; Ross ve Pawlina, 2011).

Olgunlaşmış sperm hücreleri duktus epididimiste hareket kabiliyeti kazanmaktadır. Bununla birlikte duktus efferentes tarafından emilemeyen, sertoli hücreleri tarafından sindirilmemiş residuel cisimlerin ve deformasyona uğramış spermlerin fagositoz yoluyla temizlenmesi bu kanalda gerçekleşmektedir. Ana hücreleri sperm gelişimini sağlayan siyalik asit, gliserofosfokolin ve glikoproteinleri sentezlerler (Ross ve Pawlina, 2011).

2.1.11. Duktus Deferens

Kalın duvarlı ve kalın ve musküler duvarlı olan duktus deferens epididimis'in devamı dır. Testisin arka yüzünden alt tarafa doğru ilerileyip spermatik kanalın devamı olarak batın boşluğundan geçerek mesane hizasında genişleme yaparak ampullayı oluşturur sonrasında devam ederek prostat içinde üretraya açılır. Duktus deferens'in epitel örtüsü çok katlı yalancı prizmatik epitel olup hücrelerinin çoğunun yüzeyinde sterisiliumlar vardır. Mukoza, kanal içine doğru katlantılar yapdığından lümen girintili çıkıntılı görünüme sahiptir. (Ross ve Pawlina, 2011).

2.1.12. Duktus Ejakulatoryus

Duktus ejakulatoryus ortalama 1cm uzunluğunda, basit primaztik epitel ile örtülü, düz ve kısa bir kanaldır. Duktus ejakulatoryus prostat'a girerek içinden prostatik üretraya açılmaktadır. Duktur deferensteki gibi mukozal lümene doğru katlantılar yaparak kıvrımlar oluşturmaktadır. Duktus deferensten farklı olarak duvarında düz kaslar yoktur (Skinner ve Griswold, 2005).

2.1.13. Vesikula Seminalis

Vezikula seminalis tubuloalveloar yapıdaki lümeinde kıvrımları olan yaklaşık 15 cm uzunluğundaki bir çift bezdir. Oldukça ince katmanlardan oluşan mukoza petek şeklinde bir görünüme sahiptir. Vezikula seminalis'in lümeni çok katlı yalancı epitel ile

örtülüdür. Granüler Endoplazmik retikul ve golgi kompleksi bakımından zengindir. Kandaki testosteron düzeyine bağlı olarak epitel yüksekliği değişkenlik göstermektedir. Hücrelerin bazıları tek bir flagellüma sahip iken bazıları mikrovillusa sahiptir. Hücreler bol miktarda salgı granülleri içermektedirler. (Tekelioğlu, 2002; Skinner ve Griswold, 2005; Ovalle ve Nahirney, 2009). Vezikulanın içindeki bezler yapışkan, sarı-beyaz renkli, spermatozoonları aktifleştiren sitrat, prostoglandinler, İnozitol ve çeşitli proteinler içeren bir salgı salgılamaktadır. Bu salgılar spermatozoonların hareketi için kullanılmak üzere bol miktarda fruktoz içetmektedir. İnsan ejakülatının %70'lik kısmı bu bezin salgısıdır (Tekelioğlu, 2002).

2.1.14. Prostat Bezi

İnsan prostat bezi yaklaşık olarak 20 gram civarında kestane büyüklüğünde retroperitoneal yerleşimli yapıdır. Prostat yaklaşık olarak 30-50 dallanmış kanalları prostatik üretraya açılan tubuloalveolar bezden meydana gelmektedir. 3 ayrı bölgeden oluşmakta olup bunlardan ilki prostat hacminin %25'lik kısmını kaplayan çok katlı yalancı epitel ile kaplı santral bölgedir (santral kuşak). İkinci bölge ise prostatın %70'lik kısmını oluşturan periferik bölgedir. Prostat kanserleri en çok bu bölgeden meydana gelmektedir. Son bölge ise geçiş bölgesi olup beniğn prostat hiperplazilerinin çoğu bu bölgeden kaynaklanmaktadır (Tekelioğlu, 2002; Ovalle ve Nahirney, 2009).

Ejakülat sıvısının ortalama %15'ini prostat bezi salgılamakta olup bol miktarda asit fosfataz, amilaz ve fibrinolizin içermektedir (Tekelioğlu, 2002).

2.1.15. Bulboüretral Bezler (Cowper Bezleri)

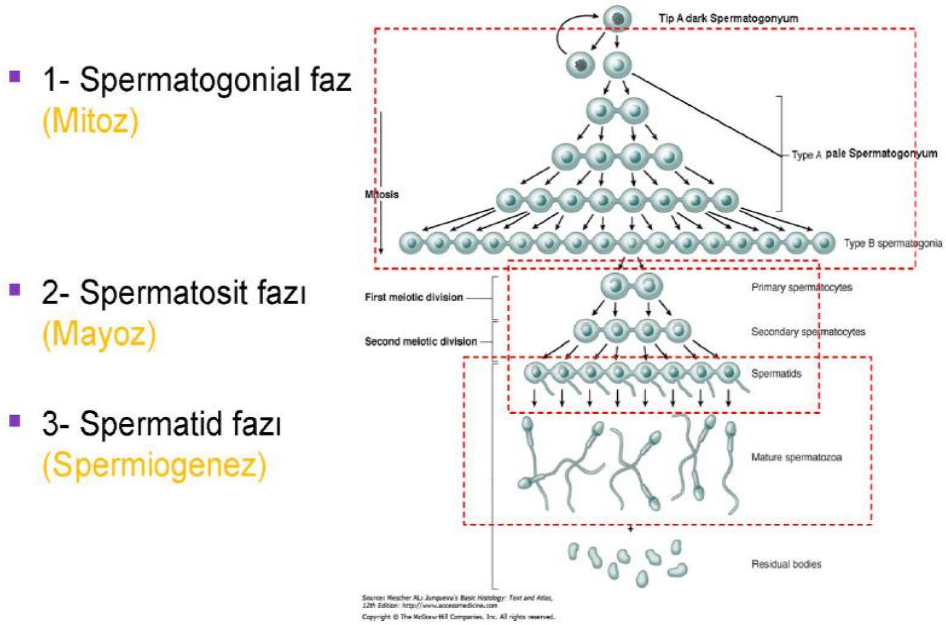
Çapları 3-5cm civarında olan bulboüretral bezler üretranın membranöz kısmının proksimalinde yerleşmişlerdir. Bu bezler mukus üreten tek katlı silindirik epitel ile örtülüdürler. Düz ve çizgili kasları, fibbroblastları ve kapsülü vardır. Bu bez kayganlaştırıcı etkisi olan şeffaf sıvı salgılamaktadır (Tekelioğlu, 2002; Skinner ve Griswold, 2005).

2.2. Spermatogenez

FSH ve lüteinizan hormon tarafından kontrol edilen spermatogenez, testosteron ile uyarılan ve östrojen ya da progesteron hormonları inhibe edilmektedir. Spermatogenezi kontrol eden lüteinizan hormon Leydig Hücrelerini uyarıcı görevi görmekte ve testosteron üretimini sağlamaktadır (El-Sokkary, 2001). Diğer kontrol

hormonu olan folükül stimulan hormon ise sertoli hücrelerini uyarmakta ve siklik adenozin monofosfat üretimini hızlandırmaktadır (Koh ve Pim, 2006).

Spermatogenez temel olarak üç evreye sahiptir. Bunlar; (i) mitoz bölünmenin sürdüğü spermatogonial evre (ii) mayoz bölünmenin gerçekleştiği spermatosit evre ve (iii) bölünme olmayan spermatid evre (Şekil 8)



Şekil 8. Spermatogenez Süreci (Junqueira ve ark. 1998)

Spermatogenez sperm üretim sürecidir ve bu süreç pubertede mitoz bölünmeler ile başlamaktadır. Bu hücreler birinci mayoz bölünmeye kadar primer spermatosit olarak adlandırılırken birinci mayozdan sonra ikincil spermatosit olarak bilinirler. İkinci mayoz bölünme evresini atlattıktan sonra ise içerisinde 23 adet kromozom içeren

spermatit olarak isimlendirilen hücreleri meydana getirirler ve bu oluşum sonucunda spermatogenez sonuçlanmış olur. Spermatogenezin bitmesinin ardından sperm oluşumunun son aşaması olan spermiyogenez evresi başlar. Bu evrede hücre bölünmesi yoktur. Spermin olgunlaşmasının tamamladığı bu evrede spermatitlerden farklılaşan spermler seminifer tübüllerin lümenine doğru ileriletilmektedir (Janqueira ve Carneior, 2009).

2.3. Erkek İnfertilitesi

Erkek infertilitesi değerlendirilirken belirlenmiş amaçların üzerinde yoğunlaşılması gereklidir. Özellikle infertilitenin öncelikli sebeplerinin tanımlanması ve düzeltilmesi önemlidir. Belirlenmiş amaçlara yönelik olarak yürütülecek süreçler kapsamında öncelikle infertilite nedir? sorusunun yanıtının doğru verilmesi önem arz etmektedir.

İnfertilite en temel anlamda, bir yıl süresince düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebeliğin oluşmaması durumu olarak tanımlanmaktadır. Normal olarak değerlendirilen çiftler kapsamında yapılan araştırmalar kapsamında korunmasız olarak gerçekleştirilen cinsel ilişkilerin % 60 ilâ % 75'inin ilk altı aylık periyotta ve % 90'ının da ilk bir yıllık periyotta gebelik ile sonuçlandığı sonucuna varılmıştır (Tietze ve ark., 1950; Spira, 1986). Gebelik ile ilgili yürütülen araştırmalar kapsamında, çok az sayıda çiftin ise korunmasız ve düzenli cinsel ilişkinin birinci yılı ilâ ikinci yılı arasında gebelik sonucuna ulaştığı sonucuna varılmıştır. Bu nedenle de DSÖ, infertilite tanısının konulması noktasında iki yıl düzenli ve korunmasız cinsel ilişkiye girilmesini önermektedir.

İnfertilite kavramı ile tanımlanan olgular incelendiğinde, bu olguların % 20'sinde erkek eşin infertiliteden tek başına sorumlu olduğu, % 30 ilâ % 40 arasında değişen bir oranla da kadın eşe eşlik eden bir patoloji olduğu görülmektedir (Poland et al., 1985). Bu sonuçlar kapsamında infertilitenin yaklaşık yarısının erkek eş kaynaklı olduğu sonucuna varılabilmektedir.

DSÖ tarafından kabul edilmiş erkek infertilitesi etyolojisinde rol oynayan faktörler (Rowe et al., 1993):

- Ejakülatuar disfonksiyon
- İmmünolojik sebepler
- Aksesuar bezlerin enfeksiyonu
- İzole seminal plazma anomalileri
- İatrojenik sebepler
- Sistematik sebepler
- testiküler hasar
- Konjenital anomaliler
- Varikosel
- Endokrin kaynaklı sebepler
- İdiopatik oligozoospermi
- İdiopatik teratozoospermi
- Obstrüktif kriptozoospermi
- İdiopatik azoospermia

2.3.1. Serbest Radikaller ve fizyolojik önemi

Her ejakulatın süperoksit radikaller (SOR) ile kontamine olduğu varsayılmaktadır. Yakın zamana kadar SOR'un insan spermatozoasına toksik etki yarattığı düşünülmekte idi. Ancak, günümüzde düşük miktarda SOR'un spermatozoanın fertilizasyon kabiliyetlerini olumlu etkilediğine dair güçlü kanıtlar vardır. Sınırlı miktardaki SOR'un akrozom reaksiyonu, fertilizasyon, kapasitasyon hiperaktivasyon için gerekli olduğu tespit edilmiştir. Süperoksit (O2-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2) yüksek düzeyde reaktif olan, komşu moleküllerle kolay etkileşime giren ve hücre organellerinde oksidatif stres hasarını başlatabilen metabolitlerdir (Garrido ve ark. 2004). Spermatozoanın az miktarda hidrojen peroksitte bekletilmesi; sperm

hiperaktivasyonu, kapasitasyonu, akrozom reaksiyonu ve oosit füzyonu gibi süreçleri indüklediği bilinmektedir. Ayrıca akrozom reaksiyonunu arttırmada süperoksit anyonun da etkisi olduğu gösterilmiştir. Ek olarak SOR sperm-oosit etkileşiminde de etkindir(Agarwal ve ark. 2007).

Bir diğer radikal molekül olan nitrik oksit (NO) azot kaynaklı bir serbest radikaldir. Peroksinitrit anyonu (ONOO-) üreme ve fertilizasyonda önemli rol oynamaktadır (Tablo 1). Serbest radikaller erkek fertilitesi üzerinde önemli role sahiptir. NO'nun normal spermin hareketi ve de zonaya birleşmesini engelleyen zararlı etkileri de gösterilmiştir (Wu ve ark. 2004).

İnsan spermatozoasındaki en önemli oksijen radikali süperoksid anyonudur (O2-). SOD bu anyonu O2- + O2- + 2H = H_2O_2 + O2 şekilde temizler. Ancak, demir ve bakır gibi elementlerin çok olduğu veya oksidatif stresi tetikleyen faktörlerin arttığı ortamlarda H_2O_2 ve O_2 reaksiyona girerek ileri derecede zararlı hidroksil radikaline dönüşebilir (Wu ve ark. 2004). Oksidatif strese bağlı olarak spermde fonksiyon kaybının serbest radikallerin haddinden fazla üretimiyle ilgili olduğu gösterilmiştir (Sanocka ve ark. 1996).

2.3.2. NADP bağımlı izositrat dehidrogenaz

Sağlıklı semende spermatozoa'nun yanı sıra lökositler ve epitel hücreleri gibi çeşitli hücreler bulunur. Semende bulunan SOR'un başlıca kaynağı aslında lökositler ve spermatozoa'dur. Sitoplazmik damlacıklar, sperm kalitesinin düşmesi ile SOR miktarının artması arasındaki bağlantıyı ortaya koymaktadır. Yanlış spermiyogenezin sonucu gelişen sitoplazmik damlacıklar, SOR'un asıl kaynağıdır (Garrido ve ark. 2004). Burada SOR iki yolla üretilebilir: plazma membranında bulunan nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz ve mitokondride bulunan NADPH bağımlı oksidoredüktaz sistemi. NADH'a bağlı oksidoredüktaz ile mitokondride reaktif oksijen türleri sentezlenir. NADP+ bağımlı izositrat dehidrojenaz (IDH2), mitokondriyal ve sitozolik oksidatif dengenin korunması için kritik olan NADPH oluşumunda önemli bir rol oynar. Malat dehidrogenaz ailesi içerisinde yer alan malik enzimler (ME) NAD(P) bağımlı olup sitozol ve mitokondride bulunurlar. Bu enzimler, malatın oksidatif dekarboksilasyonunu gerçekleştirerek pirüvat, NAD(P)H ve CO_2 oluştururlar (Yang ve ark. 2002).

2.3.3. 8-izo Prostaglandin F2-alfa

Plazmada izoprostanlar hem serbest hem de lipoproteine bağlı durumda dolaşır. F2-izoprostanın en bol bulunanı (8-iso-PGF2-a ve oksidatif stres ve endojen lipid peroksidasyonunun ölçümünde güvenilir bir parametre olarak kabul edilmiştir (Moore ve ark. 1998). Kan, semen gibi biyolojik sıvılarda 8-iso-PGF2a ölçümleri bu ortamlardaki oksidan stresinin ortamdaki in vivo nicel bir indeksini sağlayabilir (Moore ve ark. 1998).

2.3.4. Paraoksonaz

PON, Ca2+ bağımlı bir enzimdir. Etki mekanizması tam olarak aydınlatılamamıştır. PON'in serum lipoproteinlerinin oksidatif bozunmasına karşı koruyucu bir rol üstlendiği bilinmektedir. Dolaşımdaki yüksek yoğunluklu lipoprotein partiküllerinin bir spektrumunun bir bileşenidir ve oksitlenmiş fosfolipidleri ve kolesterol ester hidroperoksitlerini hidrolize edebilir. PON'un anti oksidan aktivitenin in vivo ortamdaki güvenilir bir biyolojik markeri olduğu günümüzde tartışmasız hale gelmiştir (Laplaud ve ark. 1998).

2.3.5. İnfertil Erkeklere İlişkin Değerlendirme

Erkek infertilitesinin değerlendirilmesi sürecinde, tıbbi hikâyenin dinlenmesi, infertilite nedenlerine yönelik belirlemenin yapılması için fiziki muayenenin yapılması, temel laboratuvar testlerinin gerçekleştirilmesi gibi birçok yöntem ve yaklaşım kullanılmaktadır. Bu noktada en önemli kullanılan yaklaşım, ilk başta etkin, hızlı, maliyeti gözeten ve noninvaziv bir yaklaşım olmasıdır. Erkek infertilitesinin değerlendirilmesi aşaması, doğru bir tanının koyulması ve etkin bir tedavi planının hayata geçirilebilmesi noktasında, daha farklı tetkikleri içerebilmektedir. Bu tetkiler / yöntemler; semen analizi, endokrin testleri, genetik testler ve diğer testler şeklinde sınıflandırılmaktadır.

2.3.6. Sistem Muayenesi ve Hikâye Değerlendirmesi

İnfertilitenin değerlendirilmesi aşamasında öncelikle üremeye yönelik hasta

hikâyesi detaylı bir şekilde dinlenmelidir ve sonrasında on beşer gün ara ile semen analizi yapılmalıdır.

Hasta üreme öyküsü dinlenirken aşağıda yer alan başlıklara ilişkin cevapların mutlak surette alınması, tanı ve tedavi süreci açısından önem arz etmektedir (Gazvani et al., 2000);

- Var ise önceki fertilizasyonun durumu ve infertilitenin süresi
- Cinsel ilişki sıklığı ve cinsel ilişki zamanlaması
- Var olan sistematik hastalıkların belirlenmesi ve geçirilen ameliyatlara ilişkin bilgi
- Çocukluk döneminde geçirilen hastalıklar, çocukluk ve puberte dönemi gelişimi
- Cinsel yolla bulaşan hastalık geçmişi
- Gonadal toksinlere maruz kalmaya ilişkin bilgiler

İlk değerlendirme sürecinde, üreme öyküsüne ilişkin şüphe çeken bir durum ya da semen analizi sonuçları kapsamında bir bozukluk saptanması durumunda ileri tetkiklerin yapılması gerekmektedir. İleri tetkikler sürecinde medikal üreme öyküsünün alınması şarttır. Bu süreçte ayrıca, fizik muayene sonuçları ile birlikte on beş günden daha az olmayan aralıklar ile yapılan semen analizi sonuçları birlikte değerlendirilmeli ve ek testler bu kapsamda talep edilmelidir.

Sistem muayenesi ve hikâye değerlendirme sürecinde üreme hikâyesi oldukça önemlidir. Hastanın mevcut ve önceki eşlerine ilişkin değerlendirmenin yapılması, hastanın mevcut ya da daha önceki eşlerini gebe bırakma öyküsü, infertilitenin süresi, üremenin zamanlanması için yöntemler ve varsa önceden kullanılan doğum kontrolüne ilişkin yöntemlerin detaylı bir şekilde öğrenilmesi gerekmektedir. Bu süreçte infertilitenin sınıflandırılmasına yönelik bilgiler toplanır. Sınıflandırma, primer infertilite ve sekonder infertilite şeklinde yapılmaktadır. Primer infertilite olarak adlandırılan ve hastanın daha önceki ve mevcut hiçbir eşini gebe bırakmaması durumu olarak tanımlanırken, sekonder infertilite ise mevcut ya da daha önceki eşlerden

herhangi birinin gebelik yaşaması durumuna verilen isimdir. En basit anlamda infertilite sınıflandırması olan bu sınıflandırma ayırıcı tanının konulması esnasında fayda sağlamaktadır. Çünkü, özellikle sekonder infertilite olarak sınıflandırılan infertilelerde üreme sisteminin embriyolojik olarak normal bir gelişime sahip olduğu sonucuna varılmaktadır. Bu noktada, birçok farklı nedenle; puberte sonrası kabakulak, testis torsiyonu ve ya travmatik durumlar kapsamda fertilite oluştuğu düşünülmektedir. Bu nedenlerin yanı sıra infertilite üzerinde etkili olan faktörleri aşağıdaki gibi sıralamak mümkündür (Sexton ve Jarow, 1997; Velazquez ve Bellabarba Arata, 1997);

- Cerrahi girişimler (skrotal, inguinal ya da reroperitoneal girişimler) kanallarda obstrüksiyona neden olabilmektedir ve bu kapsamda spermin emisyonu veya ejakülasyonu bozulabilmektedir.

- Testis kanserinin varlığı nedeni ile yapılan klasik retroperitoneal olarak adlandırılan işlemde lenfadenektomi sempatik sinir yaralanması ile sonuçlanabilmektedir.

- Mesane boynu cerrahisi ile transüretral prostat rezeksiyonu da keza mesane boyunda yetmezlik oluşturabilmekte ve retrograd ejakulasyona sebep olabilmektedir.

- Erişkinlik döneminde geçirilen sistematik hastalıklar nedeni ile fertilite etkilenebilmektedir.

- Tiroid hastalıkları kapsamında hem steroid hormona ilişkin metabolizma hem de spermin kalitesi etkilenebilmekte ve subfertilite ile birlikte ortaya çıkabilmektedir.

Sistem muayenesi ve hikâye değerlendirme sürecinde gerçekleştirilen fiziki muayene evresinde öncelikle genel bir muayene yapılmaktadır. Genel muayene öncelikle genital bölgeye yoğunlaşmaktadır ve fakat daha kapsamlı bir şekilde de genel muayene yapılabilmektedir. Bu kapsamda, vücut genelinde ortaya çıkan azalmış kıllanma, jinekomasti ya da önükoid yapıya ilişkin bulgular, virilizasyonun yeterli olup olmadığı, androjenin eksik olmasından kaynaklı durumlara dair ipuçlarını vermektedir. Özellikle bu bölgelerde ortaya çıkan anomalilier, östrojen hormonunun testosteron

hormonuna oranının bozuk olması, adrenal disfonksiyon gibi durumlar yeterli olmayan virilizasyona kadar ulaşan genetik sendromlara ilişkin değerlendirme gerekmektedir.

Fiziki muayene kapsamındaki genital muayenede özellikle fallusun özenle incelenmesi gerekmektedir. Bu kapsamda, skrotumun dikkatli incelenmesi esastır. Bu inceleme genital muayenenin en önemli kısmı olarak değerlendirilmektedir. Testiste yer alan kremaster kasının gevşemesi önemlidir ve bu noktada bu gevşemeye yardımcı olması amacı ile sıcak bir odada muayene yapılmalı ve muayene ayakta ve supin pozisyonda gerçekleştirilmelidir (Kolettis ve Sabanegh, 2001). Ayrıca, testis kanserinin varlığının belirlenmesi noktasında testis yüzeyinin kıvamının değerlendirilmesi ve kitle varlığına ilişkin şüphenin ekarte edilmesi noktasında özenli bir şekilde palpe edilmelidir (Kolettis ve Sabanegh, 2001).

2.3.7. Laboratuvar Değerlendirmeleri

Erkek infertilitesine yönelik değerlendirmeler kapsamında bir diğer önemli aşama laboratuvar değerlendirmelerine ilişkin aşamalardır. Bu kapsamda, semen analizi, endokrin analizi, genetik testler ve diğer testler değerlendirilmelidir.

2.3.8. Semen Analizi

Semen analizi, erkek fertilite potansiyelinin belirlenmesi noktasındaki kilit analizlerden bir tanesidir. İnfertilite nedenli olarak başvuruda bulunan bir erkeğe yönelik olarak semenin laboratuvar ortamından uygun şartlar altında incelenmesi son derece önemlidir. Ancak, azosperminin var olması durumunda, semen analizi hastaların infertil ya da fertil olup olmadığının ayrışmasına yönelik kararın verilmesi noktasında yetersiz kalmaktadır. Semen kalitesinin bozulması eş zamanlı olarak konsepsiyon olasılığının da azaldığı anlamına gelmektedir ve fakat tamamen kaybolmadığının da altının çizilmesi bu noktada önemlidir.

Semen analizi, spermatozoanın ve seminal plazma olarak adlandırılan plazmanın sperm dışı hücrelerin sahip oldukları özellikleri gibi farklı birçok parametrenin değerlendirilmesine olanak sağlar. Sperm analizi kapsamında toplama öncesinde iki ilâ yedi gün arasında cinsel perhiz yapılması şarttır. Bu perhizden sonra en az yedi gün olmak üzere iki örnek alınmalı ve bu iki örnek incelenmelidir. Bu noktada, mümkün

olan en uzun süreli cinsel perhiz önerilmektedir. Cinsel perhiz süresinin uzun olmasının temel nedeni, cinsel perhizde geçen her geçen günün sperm konsantrasyonu % 25 oranında artmaktadır (Carlsen ve ark., 200).

Semen analizi kapsamında bir diğer önemi nokta, bazı erkek hastalarda olması beklenen şekilde ereksiyonun gerçekleşmediği ve ejakülasyonun olmadığı durumlardır. Böyle bir durum ile karşı karşıya kalındığında, semen analizine yönelik işlemin başlamasından otuz ilâ altmış dakika önce fosfodiesteraz inhibitörü gibi yardımcı ilaçların oral olarak hastaya verilmesi gerekmektedir.

Semen analizi kapsamında örnek alındıktan ve laboratuvara iletildikten sonraki bir saat içerisinde incelenmesi gerekmektedir. Ayrıca, iki saat sonra başlayan bir analiz sürecinde motilitenin anlamlı bir şekilde azaldığı görülmektedir. Bu kapsamda, örnek üzerinde gerçekleştirilecek bazı testlere ilişkin parametreler gecikmeden etkilenmektedir. Sonuç olarak beklenen, semen analizinin hızlı bir şekilde gerçekleştirilmesidir.

Semen analizi kapsamında analizler makroskobik ve mikroskobik olmak üzere iki sınıfta gerçekleştirilmektedir. Makroskobik değerlendirmede normal insan semeni ile örnek arasındaki farklılıklar karşılaştırılmaktadır. Bilindiği gibi normal insan semeni, sarı – yeşil renkli ya da kirli beyaza yakın bir renge sahiptir. Sıvı mat görünümlüdür ve genellikle otuz dakika içerisinde likefiye olan bir spesimene sahiptir. Semen analizinin makroskobik değerlendirilmesi sürecinde kullanılan viskozite terimi, alınan örneğin sıvı durumunun tanımlanmasına ilişkin kullanılan bir terimdir. Viskositenin artmasının belirlenmesi noktasında infertilite ile ilişkilendirilmektedir.

Semen analizinin mikroskobik değerlendirilmesi sürecinde DSÖ tarafından belirlenen referans değerleri önem arz etmektedir. DSÖ tarafından belirlenen kriterlere göre, sperm sayısının en az 15 milyon / ml olması beklenmektedir. Semen analizindeki örnekte yer alan sayının bu sayının altında olması oligospermi olarak değerlendirilmektedir ve bu azalışın tam anlamı ile nedeni belirlenememiştir. Ancak, oligospermiye sıklıkla varikoselin neden olduğu bilinmektedir ve özellikle sperm sayısının 10 milyon / ml değerinin altında olması durumunda serum testosteron ile FSH düzeylerinin değerlendirilmesi önerilmektedir. Bazı durumlarda, ejakulatta

spermatozoanın hiç ortaya çıkmadığı görülmektedir. Bu durum azoospermi olarak adlandırılır.

2.3.9. Endokrin Testleri

İnfertilite durumlarında erkeklerin yaklaşık % 3 oranında endokrinopatinin mevcut olduğu bilinmektedir (Sigman ve Jarow, 1997). Bu nedenle endokrin testleri önemli testlerdir. Endokrin testleri için endikasyonun olduğu hastalarda öncelikle başlangıç endokrin değerlendirilmesi yapılmalıdır. Bu kapsamda serum FSH ve serum testosteron düzeylerinin belirlenmesine yönelik testler uygulanmalıdır. Testosteron düzeylerinin gün içerisinde normal olarak değerlendirilen aktivitelerinin düşük düzeyde seyir ettiği sabah saatlerinde temin edilmesi önemlidir.

Prolaktin düzeyinin ölçülmesi de endokrin testleri kapsamında yer almaktadır. Testler sonunda prolaktin düzeyi persistan olarak yükselim eğilimde ise, öncelikle görme alanı testi yapılmalı ve eş zamanlı olarak da hipofizer fossanın MR yöntemi ile görüntülenmesi ve hipofizde bir tümörün olup olmadığı değerlendirilmelidir.

Endokrin testleri kapsamında elde edilen anailizler kapsamında östrojen hormonunun yüksek çıkması durumu ile karşılaşıldığında klinik anlamda, jinekomasti, libidonun azalması, erektil disfonksiyon ve ayrıca testosteron düzeyinin düşük çıkması durumu ortaya çıkabilir.

2.3.10. Genetik Testler

Genetik testler olarak adlandırılan testler, infertilitenin etiyolojisinin araştırılmasına yönelik testlerdir ve bu testlerin sonunda hastayı gelecek dönemde bekleyen potansiyel sorunların belirlenmesi noktasında önemlidir. Ayrıca genetik testler olarak adlandırılan bu testler, varikosel onarımı ile sperm ekstraksiyonu yöntemleri kapsamında elde edilmesi muhtemel faydanın tahminine yönelik de veri sağlamaktadır.

İnfertil olarak değerlendirilen erkek hastalar için uygulanan genetik testler (Ratbi ve ark., 2007);

- Non obstruktif azoospermi ve ağır oligospermi değerlendirilmesinde kullanılan karyotip ve mikrodelesyon testi

- Konjenital Bilateral Vas Deferens Agenezisini (CBVDA) bağlı obstruktif azoospermi değerlendirilmesinde kullanılan kistik fibrozis taşıyıcı test (CFTR).

2.3.11. Diğer Testler

İnfertil erkeklere yönelik uygulanan diğer testler kapsamında kullanılan görüntüleme çalışmaları TRUSG [Transektal Ultrasonografi], skrotal ultrason, abdominal ulstrason, vazografi ve venografik olarak sıralanmaktadır. Bunun haricinde, gerekli görülen durumlarda testis biyopsisi de uygulanan testler arasındadır.

2.4. Obezite

Obezite kelimesi Latince "yemekten dolayı" anlamına gelen "*obesiteus*" sözcüğünden türemiştir. İngilizcede ise obezite; aşırı şişmanlık, fazla yüklenme anlamlarına gelmektedir (Donohoue, 2004).

Obezite, vücutta aşırı yağ depolanması neticesinde ortaya çıkan, bir enerji metabolizması bozukluğudur. Bu bağlamda obezite, kalori alımıyla kullanımı arasındaki dengesizlik sonucunda ortaya çıkan bir durum olup tüketilenden daha fazla enerjinin istikrarlı biçimde alınması obezitenin en önemli nedenidir (Donohoue, 2004).

DSÖ, vücut kompozisyonunda sağlığı negatif yönde etkileyecek seviyede yağ miktarının artışı şeklinde tanımlamıştır (WHO, 2000). Vücut yağ oranı yaygın olarak "Beden Kitle İndeksi" (BKİ) ile değerlendirilmektedir. Beden kitle indeksinin hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılır:

BKİ = Vücut ağırlığı (kg)/Boy (m^2)

Obezite olgularının büyük kısmında altta yatan bir patoloji bulunmaz. Bu tür olgular "basit obezite", "ekzojen obezite" olarak adlandırılmaktadır. Çoğunlukla insanlarda aşırı kalori alımı ve kullanım azlığı birliktedir. Bilhassa şehir merkezlerinde yaşayan insanların beslenme alışkanlıklarına "batılılaşma tipi" diyet olarak adlandırılabilen basit karbonhidrat ve yağ açısından zengin olan fast-food tipi besinlerin okullarda, eğlence alanlarında, evlerde televizyon ve bilgisayar başında fazlaca yer verilmesi obezite için bilinen en önemli risk faktörleri arasındadır (Raine ve ark., 2001).

Endokrin, genetik yahut diğer nedenlerin etiyopatogenezde rol alması durumunda “sekonder obezite”, “endojen obezite”den söz edilir (Raine et al., 2001). Obezite genellikle pozitif enerji dengesi neticesinde ortaya çıkmakla birlikte etiyolojisinde farklılıklar ve buna bağlı olarak bulguların aynı olmamasından ötürü çeşitli şekillerde sınıflandırılmaktadır (Arslan, 1996).

BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOD

3.1. Evren ve Örneklem

Çalışma 'Maltepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'una sunuldu ve etik kurul onayı alındı (Etik Kurul Onay Karar No:2019.10.01). Maltepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Destekleme Biriminden destek alınmıştır.

Uluslar arası literatür ve "reduction" prensibi dikkate alınarak erişkin yaşa gelmiş genç erkek C57BL/6J sağlıklı fareler, her grupta 8 adet olacak şekilde, randomizasyon yöntemi ile üç gruba aydıldı;

Grup I - yüksek yağ oranlı diyet (D12492) (Mu ve ark. 2009),

Grup II -% 30 sukroz ile beslenme diyeti ve

Grup III- kontrol grubu

Ortam ısısı 21-23 ^{o}C derecede rutin şartlarında, hayvan refah birimi ve veteriner hekimler gözetiminde hayvanların bakımları yapıldı. Üç gruba ayrılan hayvanların 4'erli kafesler içerisinde ve toplamda 6 kafeste bakımları ve beslenmeleri yapıldı. Deneme süresi 16 hafta olacak şekilde planlandı. Odaların günlük ısı/nem takipleri,12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngüsü sağlandı ve her hafta düzenli kilo takipleri yapıldı.

Her gruptaki hayvanlara özgü beslenme programı oluşturuldu; birinci grup hayvanlara yüksek yağ oranlı diyet ve çeşme suyu, ikinci gruptaki hayvanlara %30 sukrozlu diyet ve çeşme suyu ve üçüncü kontrol grubuna ise normal pelet yemi ve çeşme suyu verildi.

3.2. Veriler ve Toplanması

Araştırmamıza dahil edilen deneklerin her biri tek tek incelenerek sağlıklı olduğu kontrol edildi, kilosu ölçülüp önceden hazırlanan excel dosyasına düzenli bir takvim içerisinde kaydedildi. Her hayvanın vücut ağırlığı ve takip sürecindeki değişimi tek tek ölçüldü ve değişim yüzdeleri hesaplandı. Hesaplamak için aşağıda verilen

formül kullanıldı (Yılmaz, 2015). Vücut ağırlık değişim yüzdesi (%): (son ağırlık – ilk ağırlık) x 100 / son ağırlık.

Üç gruba ayrılan farelerin ilk grubuna yüksek yağ oranlı diyet (Mu ve ark. 2009), ikinci grup farelerine % 30 sukroz ile besleme ve kontrol grubundaki farelere ise normal pelet yemi kullanıldı. Çalışma grubundaki hayvanlar obezite modeli oluştururken davranışları, beslenmeleri ve kiloları takip edildi. Fareler en az 12 hafta beslendikten ve obezite oluşturma sürecini tamamladıktan sonra deneklerin tamamına anestezi altında epididimden sperm analizi, karaciğer dokusundan histopatolojik görüntüleme ve sistemik dolaşımdan da kan örneklemesi yapıldı.

Karaciğerden alınan dokular histopatolojik görüntüleme için fikse edildi. Yüksek yağlı diyetle indüklenen hepatosteatozu değerlendirmek amacıyla deneklerden karaciğer dokuları çıkartılarak %10'luk formalinde bekletildi. Dokular rutin takibe alınarak parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan kesitler alınarak hemotoksileneozin ile boyandı. Ayrıca fibrozisi değerlendirmek için massontrikrom boyası yapıldı.

Histopatolojik skorlama Non Alkolik Steatohepatit (NASH) Klinik Araştırma Ağı Skorlama Sistemine ve Fibrozis belirleme sistemine göre yapılacaktır (Tablo 1) (Benedict ve ark. 2017).

Tablo 1. Non Alkolik Steatohepatit Klinik Araştırma Ağı Skorlama Sistemi (Benedict ve ark. 2017).

Steatoz		**Lobular İnflamasyon**		**Hepoatosellüler Balonlaşma**	
0	<%5	**0**	Yok	**0**	Yok
1	%5-33	**1**	<2 odak / x 20 alan	**1**	Hafif (az)
2	%34-66	**2**	2-4 odak /x 20 alan	**2**	Orta (belirgin)
3	>%66	**3**	>4 odak / x 20 alan		

Tablo2. Fibrozis Belirleme Sistemi

0	Yok
1a	Hafif Zone 3 perisinusoidal fibrozis (ipucu gerektirir)
1b	Orta (yoğun) 3 perisinusoidal fibrozis
1c	Sadece portal fibrozis
2	Zone 3 perisinusoidal fibrozis ile periportal fibrozis
3	Köprüleşme fibrozisi
4	Siroz

Serum örneğinden bakılan parametreler:

1. NADP bağımlı izositrat Dehidrogenaz (ELISA)

2. 8-iso-prostaglandin –F2 alfa (ELISA)

3. Paroksonaz (ELISA)

Epididimden elde edilen sperm hücrelerinin mikroskopik incelemesi yapıldı ve elde edilen tüm nitel ve nicel veriler excel dosyasına işlendi.

Elde edilen sperma örneğinin bir bölümü eozin nigrozin boyamasi ile boyandı ve mikroskop altında spermatozoonların ölü-canlı incelemesi ve sayımı yapıldı (Björndahl ve ark. 2003). Sperma örneğinin kalan yarısı Hancock solüsyonu kullanılarak tespit edildi ve froti hazırlandı.

Eosin-Nigrozin Boyama yapılması için önce distile su ile %3'lük sodyum sitrat solüsyonu hazırlandı. Solüsyon 63^0C sıcaklıkta 25 dakika inkübe edildi. Ardından solüsyon ikiye bölünerek ilk 50 mL'lik solüsyona 1 gr. eozin, diğer 50 mL'lik solüsyona ise 3 g nigrozin eklendi. Elde edilen karışımlar 63 °C'de 30 dakika inkübe edildi ve sonrasında birbirine karıştırıldı.

Her farenin epididimis kuyruğuna birer adet denk gelecek şekilde 200 µL Fosfat tampon solüsyonu (phospate buffer saline, PBS) hazırlandı ve epididimis kuyrukları 5-

6 defa makas yardımıyla çıkarılarak PBS damlaları içinde 35,5 °C'de 30 dakika bekletildi. Bu şekilde spermanın PBS içine difüzyonuna olanak sağlandı ve süre bitiminde kauda epididimisin doku parçaları ortamdan uzaklaştırıldı. Böylelikle sperma süspansiyonu elde edilmiş oldu.

Solüsyon hazır olduğunda sperma ile eosin-nigrozin mikropipet ile aynı miktarda alınarak lamda karıştırıldı. Sonra froti çekilip ışık mikroskobu altında 100‟lük objektifte ortamdaki spermatozoonların ölü-canlı sayımları yapıldı.

Ölü-canlı spermatozoon belirlenmesi Somfai ve arkadaşlarının (Somfai ve ark. 2002) belirlediği çerçeveler dahilinde yapıldı. Burada spermlerin boya tutma derecesine göre ölü, canlı ve yarı boyalı olarak ayırıldı. Her sperma örneğinden en az 200 adet olmak üzere spermatozoon sayımı yapıldı.

Hancock Metodu (Sıvı Fikzasyon Yöntemi) 150 mL saline solüsyonu, 62.5 mL formalin (%37), 150 mL tampon çözeltisi ve 500 mL bidistile su ile Hancock solüsyonu hazırlandı (Schafer ve Holzmann, 2000). Bu solüsyondan 1 mL pipetle çekilip üzerine 10 µL taze sperma eklendi ve mikropipet ile karıştırıldı. Sonrasında mikropipet ile elde edilen karışımdan 5 µL çekilerek lama damlatıldı ve üzeri lamel ile kapatıldı. Ardından faz-kontrast mikroskobu ile normal-anormal spermatozoon sayımı yapıldı.

Mikroskop altında inceleyerek spermatozoonların arasından anomalili olanlarını ve ne tür anomali olduğu belirlendi. Sayımlar yapıldı ve veriler kaydedildi. Her sperma örneğinden en az 200 adet spermatozoon incelemeye alındı. Anormal spermatozoonlar baş anomalisi, orta parça anomalisi, „S‟ şekilli ve kuyruk anomalisi olarak ayırt edildi. Sayımları da buna gore yapıldı.

Ayrıca ELISA yöntemiyle semendeki, serumdaki ve karaciğerden alından doku homojenatındaki oksitatif hasar ve antioksidan aktivite belirteçleri ölçüldü ve kaydedildi.

Oksidatif stres markerleri olarak elde edilmesi kolay ve güvenilir bir oksidatif hasar marker olduğu için ---NADP bağımlı IDH2 ve 8-iso-PGF2α ele alındı. NADP bağımlı IDH2, hücre içinde mitokondriyal matriste bulunan, ileri Krebs döngüsünde görev alan, $NADP^+$ ile ilgili bir enzimdir. Azalmış glutatyona, glutatyon ve

peroksiredoksinin yenilenmeleri için gerekli $NADP^+$ sağlama görevi üstlenir. Klinik pratikte oksidatif hasar belirteci olarak kullanılmaktadır (Lee ve ark 2002).

8-iso-PGF2α; arakidonik asidin siklooksijenazsızperoksidasyonu sonucu ortaya çıkan bir ürün olup tespit edilmesi kolay ve güvenilir bir oksiatif hasar belirteci olarak bilinmektedir. Kronik durumların yanında ağır multi-travmave subaraknoid beyin kanaması gibi akut durumlarda dahiprognostik önem taşıdığı gösterilmiştir (Pan ve ark 2017).

PON enzimi antioksidan aktiviteyi yansıtan bir parametre olarak ele alınmaktadır. PON kuvvetli kolinesteraz inhibitörü olan paraoksonu hidrolize uğratabilen, arildialkilfostataz sınıfı bir ester hidrolaz enzimidir olarak karşımıza çıkmaktadır. Fareler dahil tüm memelilerde olduğu bilinmektedir. PON enzimi düşük dansiteli lipoproteinleri (LDL) oksidasyondan korumaktadır. Ayrıca birtakım radikalleri nötralize etme gücü sayesinde antioksidan olarak bilinmektedir (Azarsız ve Sönmez, 2000). Güçlü antioksidan etkisi sayesinde koroner arter hastalığı, ateroskleroz gibi hastalıklara karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (Azarsız ve Sönmez 2000). Pratikte antioksidan aktiviteyi yansıtan önemli bir belirteç olarak kullanılmaktadır.

ELISA test yöntemi

ELİSA testleri araştırma amaçlı üretilen SinoGenClon Biothech fare ELISA kiti (HangZhou, Çin) ile yapıldı. Üç çeşit ELISA kiti kullanıldı (NADP bağımlı IDH2, 8-iso-PGF2a ve PON) ve üçünün de hazırlanması ve uygulama süreci aynı şekilde yürütüldü.

Prensip: Fare NADP bağımlı IDH2, 8-iso-PGF2a ve PON'un kantitatif seviyesini ölçmek için hazırlanmış spesifik ELİSA kitleri temin edildi. Mikrotitre plate'e afinitesi yüksek saflaştırılmış spesifik antikor ile kaplamak için, solid faz antikor oluşturuldu, ardından kuyucuklara NADP bağımlı IDH2 veya 8-iso-PGF2a veya PON eklendi, antikor-antijen-enzim-antikor kompleksini oluşturmak için spesifik antikor işaretli horseradish Peroksidaz (HRP) ile birleştirilir. İyice yıkandıktan sonra tetrametilbenzidin (TMB) substrat solüsyonu eklendi, TMB substratı enzim katalizli HRP'de mavi renk alır, reaksiyon bir durdurma solüsyonunun eklenmesiyle

sonlandırıldı. 450 nm'de kolorimetrik okuma yapıldı. Okumadan sonra standart sonuçlarının konsantrasyon eğrisine göre örneklerin sonuçları tespit edildi.

Numune hazırlanması

1. Serum. Kullanıma uygun EDTA veya antikoagülan olarak sitrat plazma, 2000 rpm hızında 20 dakika santrifüjlendi. Süpernatant kaldırıldı, eğer çökelti görülürse tekrar santrifüjlendi. Fazla geciktirmeden test için kullanıldı veya numuneleri -20°C 'de saklandı. Tekrarlanan dondurma çözmelerden kaçınılmaya çalışıldı. Çözüldükten sonra kullanmadan önce numune tekrar santrifüjlendi.

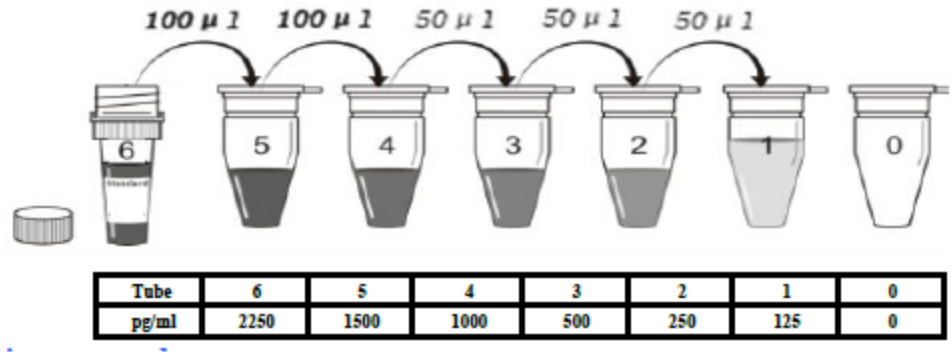
2**. Semen.** Meniyi steril bir kapta topladık. Seminal plazmayı ayırmak için 4000 x g'de 10 dakika santrifüjledik. Süpernatantı temiz tüpe geçirdik ve hemen test için kullandık veya -20°C 'de sakladık.

3. Doku örnekleri. Örnekler alındıktan sonra ağırlıkları ölçüldü. PBS(pH7.2-7.4) ile seyreltildi. Sıvı nitrojen ile hızla donduruldu. Numuneler çözüldükten sonra 2-8 ℃'de muhafaza edildi. Manüel olarak homojenize edildi, 20 dakika 2000 rpm hızında santrifüjlendi. Süpernatantı çıkarıldı ve test için kullanılmaya hazır hale getirildi.

Reaktiflerin hazırlanması

1. **Yıkama Solüsyonu (1x).** Eğer konsentratta kristaller oluşmuşsa, oda sıcaklığına ısıtılıp kristaller çözülene kadar hafifçe karıştırıldı. Yıkama solüsyonu distile suda seyreltilerek 600 ml yıkama solüsyonu elde edildi.
2. **Standart**

Standardın seyreltilmesi: Her bir tüpe pipetle 50 uL standart bir seyreltici damlatıldı. Beşinci tüpe 100µL standart (2250 pg/mL) pipetlendi. Beşinci tüpten 100µL çekip dördüncüye konuldu. Dördüncü tüpten 50µl çekip üçüncü tüpe pipetlendi. Aynı şekilde üçüncüden ikinciye ve ikinciden birinciye 50'şer µL pipetlenerek seyreltme serileri oluşturuldu (Şekil 9). Seyreltilmemiş Standart, yüksek standart (2250 pg/mL) olarak hizmet eder. Örnek Seyreltici, sıfır standart 0 pg/mL) olarak değerlendirildi.



Tube	6	5	4	3	2	1	0
pg/ml	2250	1500	1000	500	250	125	0

Şekil 9. Reagent hazırlanması

Test prosedürü:

Adım 1: Tüm reaktifler, çalışma standartları, kör ve numuneleri önceki bölümlerde belirtildiği gibi hazırlandı.

Adım 2: Kullanılacak kuyuların sayısını belirleyerek gerketiği kadar kuyuyu hazırlayıp ve kalan kuyuları ve kurutucuyu poşete geri koyup ve ziploc'u kapatıldı, kullanılmayan kuyuları 4°C'de saklandı.

Adım 3 : Test edilecek standart kuyucuğa 50 uL standart pipetlendi. Test edilen örnek kuyucuğa 40 uL örnek seyreltici pipetlendi, daha sonra 10 µL test edilen örnek (numune son seyreltme 5 defa seyreltmedir) eklendi, kuyucuklara örnekler pipetlendi. Bu sırada kuyucuk duvarına mümkün olduğunca dokunmamamaya çalışıldı ve hafifçe karıştırıldı.

Adım 4: İnkübe etme: yapışkan şerit ile örtüldü ve, 37 ℃'de 30 dakika inkübe edildi.

Adım 5: Sıvının işlenmesi: Yıkama solüsyonu distile su ile 30 kat seyreltildi.

Adım 6: Yıkama: Yapışkan şerit açıldı, sıvı çıkarıldı, yıkama büferi her kuyucuğa pipetlendi. 30 saniye boyunca bekletiltip boşaltıldı. 5 kez tekrarlandı.

Adım 7: Enzim eklenmesi: Boş kuyucuk hariç her kuyucuğa HRP-Konjugat reagent 50µl pipetlendi.

Adım 8: İnkübasyon: 4 ile çalıştırma

Adım 9: Yıkama: 6 ile çalıştırma.

Adım 10: Boyama: Her kuyucuğa 50 uL Kromojen Solüsyonu A ve 50 uL Kromojen Solüsyonu B pipetlendi. 37 ℃'de 15 dakika boyunca tutuldu.

Adım 11: Reaksiyonun durdurulması: Her kuyucuğa 50 µL durdurma Solüsyonunu pipetlendi(mavi renk sarıya dönüşür).

Adım 12: Hesaplama: boş kuyucuk sıfır olarak alındı. Durdurma çözeltisini pipetledikten sonra 15 dakika içinde 450 nm'de absorbansı okundu.

Sonuçların hesaplanması:

Standart konsantrasyonu yatay olarak alındı, dikey için optik dansite (OD) değeri alındı, standart eğri grafik kağıdına çizildi, Numune eğrisi ile numune OD değerine göre karşılık gelen konsantrasyon bulundu, seyreltme çarpanıyla çarpıldı veya standart konsantrasyon ve OD değeri ile standart eğrinin düz çizgi regresyon denklemi hesaplandı. Denklemdeki numune OD değeri, numune konsantrasyonunu hesaplandı, seyreltme faktörü ile çarpıldı, sonuç numunenin gerçek konsantrasyonu olarak değerlendirildi.

3.3. Verilerin Çözümlenmesi ve Yorumlanması

Verilerin çözümlenmesi ve yorumlanması için biyoistatistiksel incelemeler yapıldı. Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan en düşük, en yüksek, frekans ve oran değerleri kullanıldı. Değişkenlerin normal dağılımı Kolmogorov-Simirnov ve ShapiroWilk testleri ile değerlendirildi. Gruplar arasında farklılık olup olmadığını belirlemek için One Way ANOVA testi uygulandı. Gruplar arası fark saptandığında ise farklılığın hangi gruptan kaynaklandığını tespit etmek için Post-Hoc Çoklu Karşılaştırma Yöntemleri (Tukey, Scheffe) kullanıldı. Elde edilen sonuçlar %95 ($p<0.05$) anlamlılık düzeyinde değerlendirildi.

BÖLÜM 4. BULGULAR

Gruplara göre deney öncesi kilo değerleri açısından farklılık olup olmadığını tespit etmek için yapılan One Way ANOVA analizi sonucunda anlamlı fark olmadığı ($p>0.05$) görüldü (Tablo 2).

Tablo 3. Gruplara göre deney öncesi kilonun karşılaştırılması

	N	$\bar{x} \pm ss$	F	P
Kontrol	7	31.38±3.22	.335	.719
Sukroz grubu	8	30.85±2.89		
Yüksek yağ grubu	8	29.96±4.01		
Toplam	23	30.70±3.31		

Gruplara göre deney sonrası kilo açısında fark olup olmadığını belirlemek için yapılan One Way ANOVA (Post-Hoc, Scheffe) analizi sonucunda yüksek yağ grubundaki farelerin deney sonrası kilolarının sukroz grubundaki farelere göre anlamlı şekilde yüksek olduğu görüldü ($p<0.05$) (Tablo 3).

Tablo 4. Gruplara göre deney sonrası kilonun karşılaştırılması

		N	$\bar{x} \pm ss$	F	P
Son kilo	Kontrol	4	31.82±3.51	5.946	.011
	Sukroz grubu	8	31.10±4.81[a]		
	Yüksek yağ grubu	8	42.33±9.50[a]		
	Toplam	20	35.74±8.62		

* Aynı harfler arasında anlamlı fark vardır.

Gruplar arasında karaciğer ağırlığı açısından farklılık olup olmadığını tespit etmek için yapılan One Way ANOVA (Post-Hoc, Scheffe) analizi sonucunda kontrol grubundaki farelerin karaciğer ağırlığının sukroz ve yüksek yağ grubundakilere göre anlamlı şekilde düşük olduğu ($p<0.05$) görüldü (Tablo 4).

Tablo 5. Gruplara göre karaciğer ağırlığının karşılaştırılması

	N	x̄ ± ss	F	P
Kontrol	7	201.71±3.40[a,b]	10.610	.001
Sukroz grubu	8	217.50±7.87[a]		
Yüksek yağ grubu	8	216.87±9.23[b]		
Toplam	23	212.47±10.15		

* Aynı harfler arasında anlamlı fark vardır.

Gruplara göre tomalamda TSS açısından farklılık olup olmadığını tespit etmek için yapılan tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA) neticesinde yüksek yağ oranlı diyetle beslenen gruptaki sıçanlarda tomalamda TSS'nin daha yüksek olduğu, ancak gruplar arasında anlamlı fark olmadığı görüldü (p>0.05) (Tablo 5).

Tablo 6. Gruplara göre tomalamda TSS'nin karşılaştırılması

	N	x̄ ± ss	F	P
Kontrol	5	2.07±1.04	2.079	.154
Sukroz grubu	8	2.73±.78		
Yüksek yağ grubu	8	3.20±1.10		
Toplam	21	2.75±1.02		

Gruplara göre anomalili sperm oranı açısından farklılık olup olmadığını tespit etmek için yapılan One Way ANOVA neticesinde gruplar arasında anlamlı fark olmadığı (p>0.05) görüldü (Tablo 6).

Tablo 7. Gruplara göre anomalili sperm oranının karşılaştırılması

	N	x̄ ± ss	F	P
Kontrol	7	15.78±7.58	.036	.964
Sukroz grubu	8	15.18±1.85		
Yüksek yağ grubu	8	15.12±4.84		
Toplam	23	15.34±4.93		

Gruplara göre PON değerleri açısından farklılık olup olmadığını tespit etmek için yapılan One Way ANOVA (Post-Hoc, Scheffe) analizi sonucunda PON-Homojenat, Kan ve Semen değerlerinde anlamlı fark olduğu görüldü. Doku homojenatındaki farklılığın kontrol grubu ile sukroz ve yüksek yağ grubu arasında

olduğu ve kontrol grubunda PON değerinin anlamlı şekilde düşük olduğu ($p<0.05$); serumda PON düzeyi açısından farklılığın kontrol grubu ile sukroz ve yüksek yağ grubu arasında olduğu ve kontrol grubunda PON değerinin anlamlı şekilde düşük olduğu ($p<0.05$); semendeki PON değeri açısından farklılığın yüksek yağ grubu ile kontrol ve sukroz grubu arasında olduğu ve yüksek yağ grubunda PON düzeyinin anlamlı şekilde daha yüksek olduğu ($p<0.001$) (Tablo 7) görülmüştür.

Tablo 8. Gruplara göre paraoksonaz değerlerinin karşılaştırılması

		N	$\bar{x} \pm ss$	F	P
PON (Homojenat)	Kontrol	7	$.10\pm.02^{a,b}$	4.075	.033
	Sukroz grubu	8	$.14\pm.03^{b}$		
	Yüksek yağ grubu	8	$.14\pm.01^{a}$		
PON (Serum)	Kontrol	7	$.09\pm.01^{a,b}$	7.658	.003
	Sukroz grubu	8	$.12\pm.01^{b}$		
	Yüksek yağ grubu	8	$.12\pm.02^{a}$		
PON (Semen)	Kontrol	7	$.28\pm.03^{a}$	13.080	.000
	Sukroz grubu	8	$.29\pm.08^{b}$		
	Yüksek yağ grubu	8	$.50\pm.13^{a,b}$		

* Aynı harfler arasında anlamlı fark vardır.

Gruplar arasında 8-iso-PGF2-α değerleri açısından farklılık olup olmadığını belirlemek için yapılan One Way ANOVA (Post-Hoc, Scheffe) analizi sonucunda yüksek yağ içerikli diyetle beslenen grupta 8-iso-PGF2-α değerinin doku homojenatı, serum ve semendeki değerlerinin kontrol ve sukroz grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu görüldü (Tablo 8).

Tablo 9. Gruplara göre 8-iso-prostaglandin –F2 alfa değerlerinin karşılaştırılması

		N	$\bar{x} \pm ss$	F	P
8-İso Pgn F2α (Homojenat)	Kontrol	7	$.11\pm.01^{a}$	19.808	.000
	Sukroz grubu	8	$.13\pm.01^{b}$		
	Yüksek yağ grubu	8	$.17\pm.01^{a,b}$		
8 İso Pgn F2α (Serum)	Kontrol	7	$.17\pm.03^{a}$	5.469	.013
	Sukroz grubu	8	$.18\pm.07^{b}$		
	Yüksek yağ grubu	8	$.28\pm.09^{a,b}$		
8-İso Pgn F2α **(**Semen)	Kontrol	7	$.28\pm.08^{a}$	27.641	.000
	Sukroz grubu	8	$.26\pm.06^{b}$		
	Yüksek yağ grubu	8	$.50\pm.05^{a,b}$		

* Aynı harfler arasında anlamlı fark vardır.

Gruplar arasında NADP bağımlı IDH2 değerleri açısından farklılık olup olmadığını belirlemek için yapılan One Way ANOVA (Post-Hoc, Scheffe) analizi sonucunda yüksek yağ içerikli ve sukroz içerikli diyetle beslenen grupta doku homojenatındaki NADP bağımlı IDH2 değerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek ($p<0.05$); yüksek yağ içerikli diyetle beslenen grupta serum NADP bağımlı IDH2 değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek ($p<0.05$); yüksek yağ içerikli diyetle beslenen grupta semen NADP bağımlı IDH değerlerinin kontrol ve sukroz grubuna göre anlamlı şekilde yüksek ($p<0.05$) olduğu görüldü (Tablo 9).

Tablo 10. Gruplara göre NADP bağımlı IDH değerlerinin karşılaştırılması

		N	$\bar{x} \pm ss$	F	P
NADP bağımlı IDH2_Homojenat	Kontrol	7	$.15\pm.02^{a,b}$	10.159	.001
	Sukroz grubu	8	$.23\pm.03^{a}$		
	Yüksek yağ grubu	8	$.26\pm.06^{b}$		
NADP bağımlı IDH2 _Serum	Kontrol	7	$.20\pm.02^{a}$	6.018	.009
	Sukroz grubu	8	$.29\pm.09$		
	Yüksek yağ grubu	8	$.40\pm.15^{a}$		
NADP bağımlı IDH2_Semen	Kontrol	7	$.36\pm.05^{a}$	11.179	.001
	Sukroz grubu	8	$.36\pm.17^{b}$		
	Yüksek yağ grubu	8	$.60\pm.06^{a,b}$		

* Aynı harfler arasında anlamlı fark vardır.

Oksidatif stres parametreleri ile sperm kalite parametreleri arasında ilişki olup olmadığını tespit etmek için yapılan Spearman's Korelasyon analizi sonucunda serum 8-İso Pgn F2 alfa düzeyi ile tomalamda TSS arasında pozitif yönlü, orta şiddette ($r = .585$); homojenat ve serum NADP bağımlı IDH2 düzeyi ile tomalamda TSS arasında pozitif yönlü, orta şiddette ve anlamlı bir ilişki saptanmıştır (Tablo 10). Diğer bir ifadeyle 8-İso Pgn F2 alfa ve NADP bağımlı IDH2 düzeyi arttıkça tomalamda TSS de artmaktadır.

Tablo 11. Oksidatif stres parametreleri ile sperm kalite parametreleri arasındaki ilişki

		Tomalamda TSS	Anomali_Yüzde
PON (Homojenat)	r	.293	-.286
	p	.197	.185
PON (Serum)	r	.223	-.114
	p	.331	.604
PON (Semen)	r	.212	-.063
	p	.356	.774
8-İso Pgn F2 alfa (Homojenat)	r	.292	.009
	p	.199	.966
8-İso Pgn F2 alfa (Serum)	r	.585**	.078
	p	.005	.724
8-İso Pgn F2 alfa (Semen)	r	.325	-.020
	p	.151	.927
NADP bağımlı IDH2 (Homojenat)	r	.476*	.106
	p	.029	.630
NADP bağımlı IDH2 (Serum)	r	.494*	-.071
	p	.023	.746
NADP bağımlı IDH2 (Semen)	r	.109	-.164
	p	.640	.455

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Obezite günümüz dünyasında gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde en önemli sağlık sorunlarından birisi olarak değerlendirilmektedir. Vücutta yağ dokusunun aşırı birikimi olarak tanımlanmakta olan obezitenin karaciğer hücrelerinde yağ asidi artışı sebebiyle yağlı karaciğere neden olduğu bilinmektedir. Yapılan pek çok çalışmada obezite ve yağlı karaciğer oluşumu arasında poztitif yönlü bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Tominaga ve ark., 1995; Qian ve Fan, 2005; Angulo, 2007; Fabrini ve ark., 2010; Polyzos ve ark., 2019). Yapmış olduğumuz çalışma sonucunda yüksek yağ içerikli diyetle beslenen sıçanlarda deney sonrası vücut ağırlığının sukroz içerikli diyetle beslenen gruba ve kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu görüldü. Yine yapmış olduğumuz çalışma sonucunda kontrol grubundaki sıçanlarda karaciğer ağırlığının sukroz ve yüksek yağ içerikli diyetle beslenen gruptaki farelere göre anlamlı şekilde düşük olduğu saptandı.

Gruplara göre tomalamda TSS açısından farklılık olup olmadığını tespit etmek için yapılan tek yönlü varyans analizi (One Way ANOVA) neticesinde yüksek yağ oranlı diyetle beslenen gruptaki sıçanlarda toma lamında TSS'nin daha yüksek olduğu, ancak gruplar arasında anlamlı fark olmadığı görüldü ($p>0.05$). Yapmış olduğumuz çalışmada aynı zamanda gruplarda sperm anomalisi oranının ortalama %15.34 olduğu görülmüş olup gruplar arasında anlamlı fark saptanmadı. Erkeklerde obezitenin endokrin bozukluklara neden olduğu ve bu durum neticesinde de üreme kapasitesinin etkilenebildiği bilinmektedir (Thomsen ve ark., 2014). Fakat BKİ'nin semen kalitesi üzerindeki etkisiyle ilgili yapılmış olan çalışmalardan elde edilen sonuçlar net değildir. Danimarka'da 612 infertil çift üzerinde gerçekleştirilen bir araştırmada erkek eşlerin BKİ değeri ile konvansiyonel sperm sayısı, seminal volüm ve motilite arasında anlamlı bir ilişki olmadığı bildirilmiştir. Aynı zamanda BKİ'nin yardımcı üreme teknikleri üzerine de negatif etkisinin bulunmadığı bildirilmiştir (Thomsen ve ark., 2014). Hayvan modellerinde diyet kaynaklı erkek obezitesinin sperm motilite ve sayısında azalmaya neden olduğu, epididimal sperm transit zamanını artırdığı, normal morfolojideki sperm oranını azalttığı bildirilmiştir (Fernandez ve ark., 2011; 8,9). Bununla birlikte konuyla ilgili gerçekleştirilen bir başka çalışmada 16 hafta boyunca yağ açısından zengin diyetle beslenen kemirgenlerde sperm motilitesinin etkilenmediği bildirilmiştir (Palmer ve ark.,

2011). İnsanlar üzerinde gerçekleştirilen çalışmalardan elde edilen sonuçlar çelişkilidir. Konu üzerine gerçekleştirilen ve 35 çalışmanın değerlendirildiği bir metaanaliz çalışmasında yalnızca 13 olguda ileri doğru sperm motilitesinde azalma olduğu, 29 yayından dokuzunda normal morfolojideki sperm sayısının azaldığı bildirilmiştir (McPherson ve Lane, 2015). Yakın tarihli olan ve 21 çalışmanın değerlendirildiği bir başka derleme çalışmasında aşırı kilo ve obezitenin düşük sperm sayısı (oligoozospermi) ve sperm yokluğu (azoospermi) ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Sermondade ve ark., 2013).

Yapmış olduğumuz çalışma sonucunda doku homejanatında ve serumda kontrol grubunda paraoksonaz düzeyinin sukroz ve yüksek yağ içerikli diyetle beslenen gruba göre anlamlı şekilde düşük olduğu görüldü. Yine çalışma sonucunda kontrol ve sukroz grubunda semende paraoksonaz düzeyinin yüksek yağ içerikli diyetle beslenen gruba göre anlamlı şekilde düşük olduğu görüldü. Çalışmamızda aynı zamanda yüksek yağ içerikli diyetle beslenen grupta 8-iso-PGF2-α değerinin doku homojenatı, serum ve semendeki değerlerinin kontrol ve sukroz grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu görüldü. Yapmış olduğumuz çalışma sonucunda yüksek yağ içerikli ve sukroz içerikli diyetle beslenen grupta doku homojenatındaki NADP bağımlı IDH2 değerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek; yüksek yağ içerikli diyetle beslenen grupta serum NADP bağımlı IDH2 değerlerinin kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek; yüksek yağ içerikli diyetle beslenen grupta semen NADP bağımlı IDH2 değerlerinin kontrol ve sukroz grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu görüldü. Çalışmamızda aynı zamanda 8-iso-PGF2-α düzeyi ile tomalamda TSS arasında pozitif yönlü, orta şiddette ($r = .585$); homojenat ve serum NADP bağımlı IDH2 düzeyi ile toma lamında TSS arasında pozitif yönlü, orta şiddette ve anlamlı bir ilişki saptanmıştır. Paraoksonaz, lipid peroksitleri metabolize ederek düşük yoğunluklu lipoproteinler üzerinde birikimlerini önleyen yüksek yoğunluklu lipoproteinlere bağlı bir esterazdır. Ayrıca çeşitli organofosfor bileşiklerini hidrolize eder. PON'un fosfolipid ve kolesteril-ester hidroperoksitleri hidrolize etme ve böylece lipoproteinleri oksidatif modifikasyona karşı korumadaki rolü göz önüne alındığında, PON'un ateroskleroz/koroner arter hastalığı gelişme riskinin bir göstergesi olabileceği sonucuna varılabilir. Son çalışmalar ayrıca PON aktivitesinin endokrin bozuklukları da dahil olmak üzere çeşitli bozukluklarla

ilişkili olduğunu göstermiştir (Tarcin ve Yavuz, 2011). İnsan vücudunda gelişen oksidatif stresin aynı zamanda inflamasyonun indikatörü olarak güvenle kullanılabilecek önemli belirteçlerden biri 8-iso-PGF2α'dır. 8-iso-PGF2α, aslında araşidonik asidin lipid peroksidasyon yan ürünüdür (Van't Erve ve ark., 2017). Yapılan Çalışmalarda 8-iso-PGF2α'i oksidatif hasarın çok önemli biyobelirteci olduğu gösterilmiştir (Skenderi ve ark., 2018). Obez erkeklerde sperm fonksiyonunda bozulmaya yol açan faktörlerden bir diğeri de reaktif oksijen türlerinin aşırı neden olduğu oksidatif strestir. Obezite ve beraberinde meydana gelen metabolik değişiklikler vücuttaki NADPH oksidazlardan süperoksit üretimini, oksidatif fosforilasyonu tetiklemektedir. Bununla birlikte gliseraldehid oksidasyon, protein kinaz C aktivasyonu ve poliol ve hekzosamin yolakları gibi çoklu biyokimyasal mekanizmaları tetikleyerek sistemik oksidatif strese neden olabilir (Patel ve ark., 2007).

Yapmış olduğumuz çalışmadan elde edilen sonuçlar dikkate alındığında obezitenin semen kalite parametreleri ile ile anlamlı bir ilişkisinin olmadığı, buna karşın oksidatif stres parametreleriyle pozitif yönlü bir ilişkinin olduğu söylenebilir.

KAYNAKÇA

Agarwal A, Prabhakaran SA, Sikka SC. Clinical relevance of oxidative stress in patients with male factor infertility: evidence-based analysis. *AUA Update Series 2007;26:1- 12*

Aktümsek A. (2001). *Anatomi ve Fizyoloji (İnsan Biyolojisi)*. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım.

Angulo, P. (2007). Obesity and nonalcoholic fatty liver disease. *Nutrition reviews*, *65*(suppl_1), S57-S63

Arıncı, K., Elhan A. (1999). *Anatomi*, Cilt: 1-2, Ankara. Güneş Kitabevi.

Burukoğlu, D. (2007). *"Kadmiyumun Sıçan Testinde Oluşturduğu Toksisitede Çinkonun Koruyucu Etkilerinin Işık ve Elekron Mikroskop ile İncelenmesi",* Yayımlanmamış Doktora Tezi Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.

Carlsen, E., Petersen, J. H., Andersson, A. M., & Skakkebaek, N. E. (2004). Effects of ejaculatory frequency and season on variations in semen quality. *Fertility and sterility*, *82*(2), 358-366.

Cormack DH. (2001). *Essential Histology,* 6th ed. USA: Lippincott Williams & Wilkins

Çavdar C, Sifil A, Çamsar T. (1997), Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi;6(3-4):92-5.*

Donohoue PA. (2004). Obesity. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. *Nelson Textbook of Pediatrics* 17 th ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2004: 173- 177

Duale, N., Steffensen, I. L., Andersen, J., Brevik, A., Brunborg, G., & Lindeman, B. (2014). Impaired sperm chromatin integrity in obese mice. *Andrology*, *2*(2), 234-243.

El-Sokkary G.H. (2001). "Qnatitative Study on the Effects of Chronic Ethanol Administration on the Testis of Adult Male Rat" *Neuro Endocrinol Lett.*, 22 (2): 93-99

Eşrefoğlu M. (2009). *Özel Histoloji*. Malatya, Medipres Yayıncılık

Fabbrini, E., Sullivan, S., & Klein, S. (2010). Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications. *Hepatology*, *51*(2), 679-689.

Fernandez, C. D., Bellentani, F. F., Fernandes, G. S., Perobelli, J. E., Favareto, A. P. A., Nascimento, A. F., ... & Kempinas, W. D. (2011). Diet-induced obesity in rats leads to a decrease in sperm motility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, *9*(1), 1-10.

Garrido N, Meseguer M, Simon C, Pellicer A, Remohi J. Prooxidative and anti-oxidative imbalance in human semen and its relation with male fertility. *Asian J Androl 2004;6(1):59-65.*

Gazvani, M. R., Wilson, E. D. A., Richmond, D. H., Howard, P. J., Kingsland, C. R., & Lewis-Jones, D. I. (2000). Role of mitotic control in spermatogenesis. *Fertility and sterility*, *74*(2), 251-256.

Goosens S, Roy F. (2005). Cadherin-Mediated Cell- Cell Adhesion In The Testis. *Frontiers in Bioscience,* 10, 398- 419

Gültekin B. (2013). "*Sisplatin Toksisitesinin Sıçan Testisinde Yarattığı Histolojik Değişimlere Çinkonun Etkisinin Araştırılması (Deneysel Çalışma)",* Yayımlanmamış Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya

Himes, J. H., & Dietz, W. H. (1994). Guidelines for overweight in adolescent preventive services: recommendations from an expert committee. *The American journal of clinical nutrition*, *59*(2), 307-316.

Janqueira L.C., Carneior, J. (2009). *Temel Histoloji* Solakoğlu, S., Aytekin Y., (çev.) İstanbul. Nobel tıp Kitabevleri.

Junqueira L.C. , Carneiro J. , Kelley R .O. , (1998) , '22. Bölüm Erkek Üreme Sistemi', 'Basic Histology 8th edition', Aytekin Y., Barış Kitabevi.

Junqueira LC, Carneiro J. Temel histoloji (10. Baskı), Aytekin ve Solakoğlu, Nobel Tıp Kitabevi, Ġstanbul 2009, 135.

Karabulut H, Gülay MŞ. 2016. Serbest radikaller. MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg. 4(1): 50-59.

Kaya M, Polat S, Mete UÖ, Tap Ö, Özgür H. (2006). *Özel Histoloji Ders Notları.* Adana, Ç.Ü. Tıp Fakültesi Yayınları

Kierszenbaum, A.L. (2006). Histoloji ve hücre biyolojisi patolojiye giriş. *Demir R (Çeviri Editörü), Ankara: Palme Yayıncılık.*

Koh P.O., Kim, M.O. (2006). "Ethanol Ezposure Decreases Cell Proliferation and İncreases Apoptosis in Rat Tests" *J.Vet Medicine Science,* 68 (10): 1013-107

Kolettis, P.N. and Sabanegh, E.S. (2001). "Significant Medical Pathology Discovered During A Male Infertility Evaluation." J Urol, 166 (1): 178-80

Kopera I, Bilinska BC, Cheng Y, Mruk D. (2010). Sertoli–germ cell junctions in the testis: a review of recent data. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, 365, 1593–605

Laplaud PM, Dantoine T, Chapman MJ. (1998). Paraoxonase as a risk marker for cardiovascular disease: facts and hypotheses. *Clin Chem Lab Med. Jun;36(7):431-41. doi: 10.1515/CCLM.1998.073. PMID: 9746266.*

Limandal Ç. (2013). *"Siklofosfamid Kaynaklı Sıçan Gonadotoksisitesinde E Vitamininin Olası Rolünün İmmunohihstokimyasal Yöntemlerle Araştırılması"*, Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Necmettin Erbakan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya

McPherson, N. O., & Lane, M. (2015). Male obesity and subfertility, is it really about increased adiposity?. *Asian journal of andrology*, *17*(3), 450

Moore K.L., Persaud T.V.N. (2009). *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi*. Dalçık, H. ve Yıldırım M. (çev.) İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri.

Moore K, Roberts LJ II (1998): Measurement of lipid peroxidation. *Free Radic Res;28:659– 671*

Oborna I, Fingerova H, Novotny J, Brezinova J, Svobodova M, Aziz N. (2009). Reactive oxygen species in human semen in relation to leukocyte contamination. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub; 153(1):53-7*

Ovalle WK, Nahirney PC. (2009). *Netter Temel Histoloji*. Çeviri: Müftüoğlu S. Ankara, Güneş Tıp Kitabevleri

Özden, M. (2012). Anatomi ve Fizyoloji. Ankara: Özkan matbaacılık; 406-409.

Paker Ş. (1993). *Histoloji,* 2. Baskı. Bursa, Uludağ Üniversitesi Basımevi

Palmer, N. O., Fullston, T., Mitchell, M., Setchell, B. P., & Lane, M. (2011). SIRT6 in mouse spermatogenesis is modulated by diet-induced obesity. *Reproduction, Fertility and Development*, *23*(7), 929-939

Patel, C., Ghanim, H., Ravishankar, S., Sia, C. L., Viswanathan, P., Mohanty, P., & Dandona, P. (2007). Prolonged reactive oxygen species generation and nuclear factor-κB activation after a high-fat, high-carbohydrate meal in the obese. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *92*(11), 4476-4479.

Poland, M. L., Moghissi, K. S., Giblin, P. T., Ager, J. W., & Olson, J. M. (1985). Variation of semen measures within normal men. *Fertility and sterility*, *44*(3), 396-400.

Polyzos, S. A., Kountouras, J., & Mantzoros, C. S. (2019). Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: from pathophysiology to therapeutics. *Metabolism*, *92*, 82-97.

Qian, Y., & Fan, J. G. (2005). Obesity, fatty liver and liver cancer. *Hepatobiliary & pancreatic diseases international: HBPD INT*, *4*(2), 173-177.

Raine JE, Donaldson MDC, Gregory JW, Savage MO. (2001). Obesity. In: Raine JE, Donaldson MDC, Gregory JW, Savage MO (eds), Practical Endocrinology and Diabetes in Children, United Kingdom: *Blackwell Science*, 161- 171

Ratbi, I., Legendre, M., Niel, F., Martin, J., Soufir, J. C., Izard, V., & Girodon, E. (2007). Detection of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene rearrangements enriches the mutation spectrum in congenital bilateral absence of the vas deferens and impacts on genetic counselling. *Human Reproduction*, *22*(5), 1285-1291.

Ross MH, Pawlina W. (2011). *Histology: A Text And Atlas,* 6th ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins

Rowe, P.J., Comhaire, F., Hargreave, T. Mellows, H. (1993). *WHO Manuel for the Standardized Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple*. Cambrdige. Press Syndicate of the University of Cambridge.

Sadler, T.W. (2005). *Langman's Medikal Embriyoloji*. Başaklar A.C. (çev.) Ankara, Palme Yayıncılık

Sanocka D, (1996), Miesel R, Jedrerzejczak P, Kurpısz M. Oxidative Stres and Male Infertility. *J Androl, 7(4):449-454.*

Schafer S, Holzmann A. (2000) The use of transmigration and Spermac^{TM} stain to avaluate epididymal cat spermatozoa. *Animal Reproduction Science, 59(3-4), 201-211.*

Sermondade, N., Faure, C., Fezeu, L., Shayeb, A. G., Bonde, J. P., Jensen, T. K., ... & Czernichow, S. (2013). BMI in relation to sperm count: an updated systematic review and collaborative meta-analysis. *Human reproduction update*, *19*(3), 221-231

Sexton, W.J. and Jarow J.P. (1997). "Effect Of Diabetes Mellitus Upon Male Reproductive Function". *Urology*, 49 (4): 508-513

Sigman, M. and "Jarow, J.P. (1997). Endocrine Evaluation Of Infertile Men". *Urology*, 50 (5): 659-64

Skenderi, K. P., Tsironi, M., Lazaropoulou, C., Anastasiou, C. A., Matalas, A. L., Kanavaki, I., ... & Chrousos, G. P. (2008). Changes in free radical generation and antioxidant capacity during ultramarathon foot race. *European journal of clinical investigation*, *38*(3), 159-165

Skinner M, Griswold M. (2005). *Sertoli Cell Biology* .USA: Elsevier Academic press.

Snell, R.S. (2004). *Klinik Anatomi,* Ankara. Nobel Tıp Kitabevi.

Somfai T, (2002). Bodo SZ, Nagy SZ, Gocza E, Ivancsics J, Kovacs A. Simultaneous Evaluation of Viability and Acrosome Integrity of Mouse Spermatozoa Using Light Microscopy. *Biotechnic & Hıstochemistry 2002, 77(3), 117-120.*

Spira, A. (1986). "Epidemiology of Human Re-Production", *Hum Reprod*, 1 (2): 111-115

Steger, R. W., & Rabe, M. B. (1997). The effect of diabetes mellitus on endocrine and reproductive function. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, *214*(1), 1-10.

Tarcin, O., & Yavuz, D. G. (2011). Paraoxonase 1 activity in endocrine diseases/Endokrin hastaliklarda paraoksonaz 1 enzim aktivitesi. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*, 33-39.

Tekelioğlu M. (2002). *Özel Histoloji, İnce Yapı ve Gelişme*. Ankara, Antıp A.Ş

Thomsen L, Humaidan P, Bungum L, Bungum M. (2014). The impact of male overweight on semen quality and outcome of assisted reproduction. Asian J Androl, 16:749-54.

Tietze, C.; Guttmacher, A.F. ve Rubin, S. (1950). "Time Required for Conception in 1727 Planned Pregnancies" *Fertil Steril*, 1950, 1(4): 338-346

Tominaga, K., Kurata, J. H., Chen, Y. K., Fujimoto, E., Miyagawa, S., Abe, I., & Kusano, Y. (1995). Prevalence of fatty liver in Japanese children and relationship to obesity. *Digestive diseases and sciences*, *40*(9), 2002-2009.

Ünlükal, N. (2011). "Profonefos ve MCPA'nın Testise Etkilerinin Ultrastrüktürel Düzeyde İncelenmesi" Ankara Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Ankara.

van't Erve, T. J., Kadiiska, M. B., London, S. J., & Mason, R. P. (2017). Classifying oxidative stress by F2-isoprostane levels across human diseases: A meta-analysis. *Redox biology*, *12*, 582-599.

Velazquez, E.M. and Bellabarba Arata, G. (1997) "Effects Of Thyroid Status On Pituitary Gonadotropin And Testicular Reserve In Men". *Arch Androl*, 38 (1): 85-92.

Vikipedi katılımcıları (2020). Erkek üreme organları. *Vikipedi, Özgür Ansiklopedi*. Erişim tarihi 19.58, Ağustos 30, 2021 url://tr.wikipedia.org/w/index.php?title=Erkek_%C3%BCreme_organlar%C4%B1&oldid=21753375

Wu TP, (2004), Huang BM, Tsai HC, Lui MC, Liu MY. Effects of nitric oxide on human spermatozoa activity, fertilization and Mouse embryonic development. *Arch Androl;50(3):173-9.*

Yang Z, Zhang H, Hung HC, Kuo CC, Tsai LC, Yuan HS, Chou WY. (2002), Structural studies of the pigeon cytosolic NADP+ -dependent malic enzyme. *Prot Scien;11:332-341.*

Yıldırım, M. (1999). *İnsan Anatomisi: Sistematik Temel Bilgiler, Klinik Özellikler*, TUS Çalışma Soruları ve Yanıtları, Ankara. Nobel Tıp Kitabevi