



T.C.
BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
KLİNİK EMBRİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

BEDEN KİTLE İNDEKSİNİN SPERM PARAMETRELERİNE VE
SPERM DNA FRAGMENTASYONUNA ETKİSİNİN
İNCELENMESİ

Semiye Elif ELKATMIŞ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Emre Salabaş

Haziran, 2020



T.C.

BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KLİNİK EMBRİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**BEDEN KİTLE İNDEKSİNİN SPERM PARAMETRELERİNE VE
SPERM DNA FRAGMENTASYONUNA ETKİSİNİN
İNCELENMESİ**

Semiye Elif ELKATMIŞ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Emre Salabaş

Haziran, 2020

TEZ ONAY SAYFASI



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı herhangi bir davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, çalışma ile elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kaynaklar listesi şeklinde eklediğimi, patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Semiye Elif ELKATMIŞ



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans programının başından itibaren verdiği tüm desteklerden ötürü Prof. Dr. Tülay İrez'e, tez çalışmam boyunca sağladığı katkılardan dolayı Dr. Öğr. Üyesi Emre Salabaş'a teşekkür ederim.

Bu süreçte yanımda olan, destekleriyle moral verip, işimi kolaylaştıran tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Her zaman varlıklarına şükrettiğim canım aileme; annem, babam ve kardeşlerime teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER

Sayfa No.

İÇ KAPAK

TEZ ONAY SAYFASI	iii
BEYAN	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLO LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	x
TÜRKÇE ÖZET VE ANAHTAR KELİMELEER	xii
İNGİLİZCE ÖZET VE ANAHTAR KELİMELEER	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Spermatogenez	3
2.1.1. Seminifer tübüller	4
2.1.2. Peritübüler miyoid hücreler	4
2.1.3. Leydig hücreleri.....	4
2.1.4. Sertoli hücreleri.....	5
2.1.5. Germ hücreleri	5
2.1.6. Kan-testis bariyeri.....	5
2.2. Sperm DNA Fragmantasyonu	6
2.3. Sperm DNA Fragmantasyonunun Analiz Yöntemleri	6
2.3.1. Tek hücre jel elektroforezi (COMET)	7
2.3.2. TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dutp nick-end labeling assay).....	7
2.3.3. In situ nick translasyon (ISNT).....	8
2.3.4. Sperm kromatin yapı analizi (SCSA)	8
2.3.5. Sperm kromatin dispersiyonu (SCD) analizi	9
2.3.6. Kromomisin A3 (CMA3) yöntemi	10
2.3.7. Akridin oranj (turuncu) (AO)	10
2.3.8. Anilin mavisi (AB)	10
2.3.9. Toludin mavisi (TB)	10
2.4. Obezite.....	11

2.4.1. Obezite etiyolojisi	11
2.4.2. Obezite epidemiyolojisi	12
2.4.3. Risk faktörleri	12
2.4.4. Obezitenin erkek fertilitesine etkileri	13
3. GEREÇ VE YÖNTEM	15
3.1. Çalışmanın Tasarımı.....	15
3.2. Çalışmada Uygulanan Yöntemler	15
3.2.1. Semen analizi.....	15
3.2.1.1. Makroskobik inceleme	16
3.2.1.2. Mikroskobik inceleme.....	16
3.2.2. Akridin oranj ile sperm DNA fragmantasyonunun değerlendirilmesi.....	18
3.2.3. Anilin mavisi ile sperm maturasyonunun gösterilmesi.....	18
3.2.4. Kromomisin A3 ile kromatin kondensasyonunun değerlendirilmesi	19
3.3. İstatistiksel Yöntemler.....	20
4. BULGULAR.....	21
5. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER.....	30
6. KAYNAKLAR	35
7. EKLER.....	42
8. ÖZGEÇMİŞ	48
9.İNTİHAL RAPORU	49

SİMGE/SEMBOL ve KISALTMALAR LİSTESİ

°C	Santigrat derece
µl	Mikrolitre
AB	Anilin Blue-Anilin Mavisi
AO	Akridin Orange-Akridin Turuncusu
CMA3	Kromimisin A3
TB	Toludin Blue- Toludin Mavisi
ml	Mililitre
mg	Miligram
M	Molar
mM	Milimolar
µm	Mikrometre
nm	Nanometre
cm	Santimetre
gr	Gram
kg	Kilogram
DNA	Deoksiribonükleik Asit
DFİ	DNA Fragmentasyon İndeksi
WHO	World Health Organization
IVF	İn Vitro Fertilizasyon
pH	Power of Hydrogen
SCD	Sperm Chromatin Dispersion- Sperm Kromatin Dispersiyonu
SCSA	Sperm Chromatin Structure Assay-Sperm Kromatin Yapı Analizi
ISNT	In Situ Nick Translation
TUNEL	Terminal Uridine Nick- End Labeling
COMET	Tek Hücre Jel Elektroforezi
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
OS	Oksidatif Stres
BKİ	Beden Kitle İndeksi
AMH	Anti-Müllerian Hormon
LH	Luteinleştirici Hormon
GnRH	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon

SHBG	Cinsiyet Hormonu Bağlayıcı Globülin
SRY	Cinsiyet Belirleyici Gen
SDF	Sperm DNA Fragmantasyonu
YÜT	Yardımcı Üreme Teknikleri
ICSI	İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu



TABLO LİSTESİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 3.1	Semen analizi için referans değerleri	16
Tablo 4.1	Gruplardaki bireylerin yaşlarının ve beden kitle indekslerinin değerleri	20
Tablo 4.2	1. ve 2. Grupların sperm konsantrasyon değerleri	20
Tablo 4.3	1. ve 3. Grupların sperm konsantrasyon değerleri	20
Tablo 4.4	1. ve 2. Grupların sperm motilite değerleri	21
Tablo 4.5	1. ve 3. Grupların sperm motilite değerleri	21
Tablo 4.6	1. ve 2. Grupların sperm morfoloji değerleri	21
Tablo 4.7	1. ve 3. Grupların sperm morfoloji değerleri	22
Tablo 4.8	1. ve 2. Grupların sperm DNA fragmantasyonu, maturasyonu ve kromatin kondensasyonu değerleri	22
Tablo 4.9	1. ve 3. Grupların sperm DNA fragmantasyonu, maturasyonu ve kromatin kondensasyonu değerleri	22
Tablo 4.10	İdeal kilolu (1), fazla kilolu (2) ve obez (3) grupların sperm konsantrasyon, motilite ve normal morfoloji değerlerinin karşılaştırılması	23
Tablo 4.11	İdeal kilolu (1), fazla kilolu (2) ve obez (3) grupların sperm DNA fragmantasyonu, maturasyonu ve kromatin kondensasyonu değerlerinin karşılaştırılması	23

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 2.1	Testiküler yapıya genel bakış	3
Şekil 2.2	COMET analizi floresan mikroskobu görüntüsü	7
Şekil 2.3	TUNEL testi floresan mikroskobu görüntüsü (solda boyanmayan hücreler SDF negatif, sağdaki boyanan hücre SDF pozitif)	7
Şekil 2.4	SCSA ile sperm kromatin analizi floresan mikroskobu görüntüsü	8
Şekil 2.5	SCD testi ile sperm görüntüleri (soldan sağa; intakt, az hasarlı ve yüksek hasarlı DNA)	9
Şekil 2.6	ABD’de 20-74 yaş aralığındaki kadın (açık noktalar) ve erkeklerin (kapalı noktalar), 1960–2012 yılları arasında aşırı kilolu (daireler), obez (kareler) ve morbid obez (elmaslar) prevalansındaki eğilimleri	11
Şekil 2.7	Obez erkeklerde fertilite azalmasına sebep olan faktörler	13
Şekil 3.1	Makler sayım çemberi ve spermin maklerdeki mikroskopik görünümü	15
Şekil 4.1	Grupların sperm konsantrasyon değerleri	24
Şekil 4.2	Grupların sperm motilite yüzdeleri	24
Şekil 4.3	Grupların normal sperm morfolojilerinin yüzdeleri	25

Şekil 4.4	Grupların sperm DNA fragmentasyonu, maturasyonu ve kromatin kondensasyonu yüzdeleri	25
Şekil 4.5	Anormal morfolojik yapıdaki spermleri gösterimi (100x immersiyon objektifi ışık mikroskobu görüntüsü)	26
Şekil 4.6	Akridin oranj boyamada sperm DNA fragmentasyonunun pozitif (turuncu-defektli) ve negatif (yeşil-normal) gösterimleri (100x immersiyon objektifi floresan mikroskobu görüntüsü)	26
Şekil 4.7	Anilin mavisi boyamada sperm maturasyon defektinin pozitif (mavi boyanan) ve negatif (boyanmayan) gösterimi (100x immersiyon objektifi ışık mikroskobu görüntüsü)	27
Şekil 4.8	Kromomisin A3 boyamada sperm kromatin kondensasyonunun pozitif (yeşil-kondanse) ve negatif (sarı-dekondanse) gösterimi (100x immersiyon objektifi floresan mikroskobu görüntüsü)	27

TÜRKÇE ÖZET VE ANAHTAR KELİMELELER

Elkatmış, S. E. (2020). Beden Kitle İndeksinin Sperm Parametrelerine ve Sperm Dna Fragmentasyonuna Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Biruni Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İstanbul.

Obezite, Dünya Sağlık Örgütü tarafından “Sağlığı bozacak ölçüde vücutta aşırı yağ birikmesi” olarak tanımlanmıştır. Giderek artan obezite oranları, obezitenin birçok hastalığa yol açması sebebiyle önemli bir sorun haline gelmiş, hormonal bozulmalara da sebep olarak, üreme fonksiyonunu da olumsuz yönde etkilemektedir. Sadece erkek kaynaklı ve çift kaynaklı infertilite, tüm infertilite vakalarının sırasıyla %30 ve %40’ını oluşturur. Erkek fertilitesi belirleyen en önemli sperm parametreleri semen hacmi, sperm konsantrasyonu, hareketlilik, ve morfolojidir. Bu tez çalışmasında, ideal kilolu (1. Grup), fazla kilolu (2. Grup) ve obez (3. Grup) bireylerde sperm parametreleri, maturasyonu ve DNA fragmentasyonu incelenmiş; fazla kilonun erkek üreme potansiyeline etkisi gösterilmiştir. Çalışma, Biruni Üniversite Hastanesi’ne semen analizi için başvuran hastalarda uygulandı. Her üç gruba da standart semen analizi yapıldı. DNA fragmentasyon testi için akridin oranj, maturasyon analizi için anilin mavisi, sperm kromatin kondensasyonu için kromomisin A3 (CMA3) boyama yöntemi kullanıldı. Yapılan çalışma sonucunda, fazla kilonun, sperm konsantrasyonunu (1. Grup: 55 milyon/ml, 2. Grup: 64,20 milyon/ml, 3. Grup: 47,65 milyon/ml; $p>0.1$) ve motilitesini (ileri hareket=1. Grup: %41, 2. Grup: %42,6, 3. Grup: %35,4; $p>0.1$) etkilemediği görülürken, sperm morfolojisini (normal=1. Grup: %4, 2. Grup: %4,9, 3. Grup: %3,1; $p<0.05$) sperm maturasyon bozukluklarını (anilin mavi=1. Grup: %42,4, 2. Grup: %41,8, 3. Grup: %67,8; $p<0.01$) ve DNA fragmentasyonunu (akridin oranj=1. Grup: %44,9, 2. Grup: %45,3, 3. Grup: %67,1; $p<0.01$) ise artırdığı görülmüştür. BKİ artışının konsantrasyon ve motilite üzerinde klinik anlamlı negatif bir etkisi bulunmasa bile, obez bireylerdeki SDF artışı ile sperm kalitesi bozulup, erkek fertilitesi olumsuz etkilenebilir.

Anahtar Kelimeler: Beden kitle indeksi, erkek infertilitesi, obezite, sperm DNA fragmentasyonu

İNGİLİZCE ÖZET VE ANAHTAR KELİMELEER

Elkatmış, S. E. (2020). Examination of the Effect of Body Mass Index on Sperm Parameters and Sperm DNA Fragmentation. Master Thesis, Biruni University Institute of Graduate Education, Istanbul.

Obesity is defined as “excessive fat accumulation in the body to the extent that it impairs health” by the World Health Organization. Increasing obesity rates have become an important problem since obesity causes many diseases. Since overweight causes hormonal disorders, it also negatively affects the reproductive function. The cause of infertility is male infertility and couple infertility in 30% and 40% of cases respectively. Major indicators of male infertility are semen volume, sperm concentration, motility, progression, morphology. In recent years, besides the effects of body mass index on sperm parameters, the effect of sperm cells on the molecular composition has been a matter of debate. In this thesis, sperm parameters, maturation and DNA fragmentation in ideal weight (1. Group), overweight (2. Group) and obese (3. Group) individuals were examined and the effect of weight on male reproductive potential was shown. The study was applied to patients who applied to Biruni University Hospital for semen analysis. Standard semen analysis was done in all three groups. Acridine orange was used for DNA fragmentation test, aniline blue was used for maturation analysis, and chromomycin A3 (CMA3) staining method was used for sperm chromatin condensation. As a result of the study, it was observed that overweight did not affect sperm concentration (1. Group: 55 milyon/ml, 2. Group: 64,20 milyon/ml, 3. Group: 47,65 milyon/ml; $p>0.1$) and motility (progressive motility=1. Group: %41, 2. Group: %42,6, 3. Group: %35,4; $p>0.1$), while it increased sperm morphology (normal=1. Group: %4, 2. Group: %4,9, 3. Group: %3,1; $p<0.05$), sperm maturation disorders (anilin blue=1. Group: %42,4, 2. Group: %41,8, 3. Group: %67,8; $p<0.01$) and DNA fragmentation (akridin orange=1. Group: %44,9, 2. Group: %45,3, 3. Group: %67,1; $p<0.01$). Even if the increase in BMI does not have a clinically significant negative effect on concentration and motility, sperm quality deteriorates and male fertility may be negatively affected by increased SDF in obese individuals.

Key words: Body mass index, male infertility, obesity, sperm DNA fragmentation

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Obezite, enerji dengesizliği ve aşırı yağ birikiminin neden olduğu, genetik, davranışsal, çevresel, fizyolojik, sosyal ve kültürel faktörlerin sonucudur. Obezite diyabet, kalp-damar hastalıkları ve bazı kanser türleri ile ilişkilerinin yanı sıra infertiliteyle de ilişkilidir (Eisenberg et al., 2014). Erkeklerle ilişkili infertilite oranı, infertil çiftlerin %45-50'sini oluştururken, erkek infertilitesini obeziteye bağlayan genişleyen bir kanıtlar bütünü vardır. Danimarkalı 1558 askeri inceleyen bir araştırmada, fazla kilolu erkeklerin sperm konsantrasyonunda %21 ve toplam sperm sayısında %24,9 değişme olduğu belirlendi (Jensen et al., 2004). Yaklaşık 13.000 erkekte oluşan örnek büyüklüğünü temsil eden 21 çalışmanın değerlendirilmesi sonucunda, obez erkeklerde, normal kilolu erkeklere kıyasla oligozoospermi veya azospermi oranlarının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Sermondade et al., 2013). BKİ'nin yanı sıra, bazı çalışmalarda sperm özellikleriyle ilişkileri araştırmak için bel ve kalça çevresi gibi vücut yağ dağılımı da dahil edildi. Yapılan bir çalışmada, infertilite problemi olmayan erkeklerde bel çevresinin semen hacmi ve total sperm sayısı ile ters korelasyon gösterdiği bulunmuştur (Eisenberg et al., 2014). Diğer bir çalışmada, infertil erkeklerin bel çevresinin progresif hareketli sperm sayısı ile negatif korelasyon gösterdiği bulunmuştur (Fejes et al., 2005). Ayrıca, obez ($BKİ > 33 \text{ kg} / \text{m}^2$) olan 43 erkekte, 3-4 aylık kilo verme programının toplam sperm sayısını ve semen hacmini arttırdığı gösterilmiştir (Håkonsen et al., 2011).

BKİ'nin klasik sperm parametreleri üzerindeki etkilerinin yanı sıra, sperm hücrelerinin moleküler bileşimine etkisi de araştırma konusu olmaya başladı. Son yıllarda, Sperm DNA fragmentasyonu (SDF) hem doğal gebelik hem de yardımcı üreme tekniklerinde (YÜT) gebelik oranlarının öngörülmesinde önemli bir rol oynamıştır ve uygun tedavi başarılı gebelik olasılığını artırabilir (Tamburrino et al., 2012). SDF'nin nedenleri bilinmemekle birlikte, oksidatif stres (OS) gibi hipotezler, kromatin maturasyonundaki bozukluklar ve apoptoz önerilmiştir (Sakkas and Alvarez, 2010). Aitken and De Iuliis (2007) spermatozoada DNA parçalanmasının en yaygın nedeninin OS olduğunu göstermiştir. Obezitenin OS üzerindeki etkisini birkaç olası mekanizma açıklayabilir. Yağ dokusu ile yükselen yağ asitlerinin mitokondriyal ve peroksizomal oksidasyonu, oksidasyon reaksiyonlarında reaktif oksijen türleri (ROS) üretebilir. Mitokondriyal oksidatif fosforilasyon, mitokondride solunum zinciriyle

birlikte, süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzimlerin konsantrasyonunu ve aktivitesini yağ dokusuyla birlikte arttırarak serbest oksijen radikallerinin üretimine yol açar. OS, endotelyal disfonksiyon, vazodilatörlerin, özellikle nitrik oksidin biyoyararlanımındaki azalma ve endotel kaynaklı kasılma faktörlerindeki artış ile karakterize edilen proenflamatuvar bir durum ile ilişkilidir (Aitken and Koppers, 2011; Ferramosca et al., 2018).

Sağlıklı erkeklerde, DFİ %3 ila 5 arasındadır, %30 veya daha yüksek bir DFİ ise fertilitenin azalması ile ilişkilidir (Evenson and Wixon, 2006). Obezite ve fazla kilo, yüksek bir DFİ veya sperm hücrelerinde DNA / kromatin hasarı ile ilişkili bulunmuştur (Chavarro et al., 2010; Fariello et al., 2012).

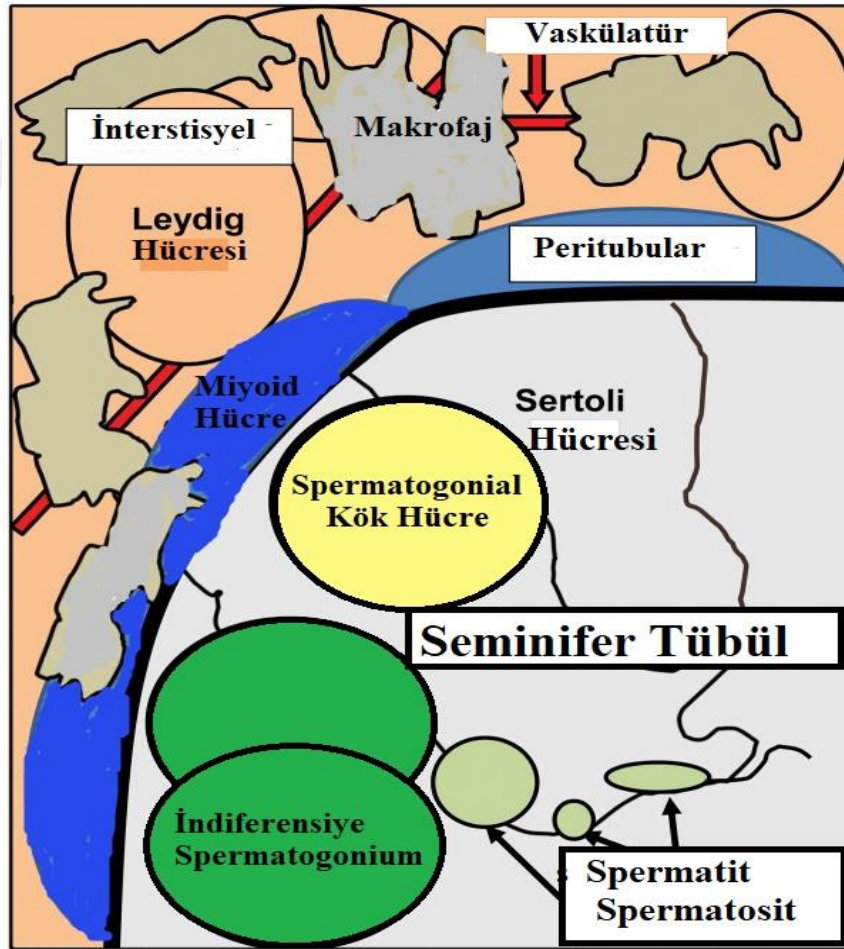
Bu çalışma, vücut ağırlığı ile erkek üreme potansiyeli ölçütleri arasındaki ilişkinin incelenmesi için yapılmıştır. Beden kitle indeksine göre hastaların sperm parametreleri ve sperm DNA hasarı karşılaştırmalı olarak incelenip, kilonun, erkek üreme potansiyeline etkisi gösterilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Spermatogenez

Spermatogenez, seminifer tübüllerde meydana gelen ve olgun erkek gametin üretimiyle sonuçlanan karmaşık bir süreci kapsar. Bu süreçler; spermatogoniaların proliferasyonu, spermatogoninin spermatozitlere farklılaşması, mayotik bölünen spermatozitlerin spermatit üretmeleri, yuvarlak spermatitlerin maturasyonu ve testiküler tübül lümenine olgun spermatozoanın salınımı şeklinde sıralanır (Turek, 2016).

Spermatogenezde önemli rol oynayan testiküler yapılar ve hücreler; seminifer tübüller, peritübüler miyoid hücreler, leydig hücreleri, sertoli hücreleri, germ hücreleri ve kan-testis bariyeridir.



Şekil 2.1: Testiküler yapıya genel bakış (Potter and DeFalco, 2017)

2.1.1. Seminifer tübüller

Yetişkin bir insan testisinin ortalama hacmi 30 ml'dir ve parankiması 200-300 lobüle bölünmüştür. Bu lobüllerin her biri, gerildiklerinde uzunlukları 70-80 cm olan ve testis başına toplam 250 metre uzunluğa sahip olan bir ila üç ilmek seminifer tübül içerir (Heller and Clermont, 1963; Heller, 1964; Turek, 2016). Seminifer tübüller testisin işlevsel birimidir ve organın üçte ikisini kaplar.

2.1.2. Peritübüler miyoid hücreler

Peritübüler miyoid hücreler, düz kas hücresine benzer özelliklere sahip büyük, düz mezenkimal hücrelerdir ve seminifer tübülleri desteklerler (Hermo et al., 1977). Temel fonksiyonlarından biri, aktin ve miyozinin kontraktil filamentleri kullanılarak hareketsiz spermatozoa içeren testis sıvısının rete testise itilmesidir (Schell et al., 2010). Ayrıca, fibronektin, kollajenler, proteoglikanlar ve entaktin salgılanmasıyla kan testis bariyerinin üretimi ve korunmasında da rol alır (Verhoeven et al., 2000).

2.1.3. Leydig hücreleri

Leydig hücreleri, genellikle kan damarları ve seminifer tübül arasındaki stratejik pozisyonlardaki kümelerde bulunur (Haider, 2004). Erkeklerde birincil testosteron kaynağı olarak işlevleriyle uyumlu ultra-yapısal özellikler gösterirler.

Leydig hücrelerinin, testis interstisyumundaki fibroblast benzeri veya mezenkimal hücrelerden farklılaştığı düşünülmektedir. İnsanlarda, farklılıkları, gelişim sırasında testosteron üretiminin trifazik modelini eşleştiren    dalga halinde gerçekleşir (Prince, 2001). Cinsiyet belirleyici gen (SRY) sinyalinin aşağı akım olayı olarak, ilk dalga 8-18. fetal haftalar arasında meydana gelir ve erkek sekonder cinsel farklılaşmadan sorumludur. İkinci dalga, eşzamanlı bir LH dalgalanmasına yanıt olarak doğumdan sonraki ilk 2-3 ayda meydana gelir. Bu dalga, hipotalamus, karaciğer ve prostatın hormonal baskısından sorumludur.     nc  dalga ise ergenlik döneminde hipotalamohipofizal gonadal ekseninin olgunlaşması ile tetiklenir (Svechnikov et al., 2010).

2.1.4. Sertoli hücreleri

Sertoli hücreleri, spermatogenezinin vazgeçilmez iletkenleri olarak kabul edilir ve yetişkin bir erkekte seminifer tübüllerin epitelyumunun %17-20'sini kaplar. Bunlar, bazal membran üzerine oturan taban ve seminifer tübüllerin lümenine işaret eden tepe noktası ile düzensiz şekil ve polarize hizalama sergilerler (Russell et al., 1990). Sertoli hücreleri testisin embriyolojisinde merkezi bir rol oynar. Gebeliğin altıncı haftasına kadar, insan primordial gonadı tamamen bipotensiyeldir. Sertoli hücrelerinin mezenkimal kökenli progenitör hücrelerden ayrılması, erkek gonadal gelişiminin işaretidir. Y kromozomunun veya daha spesifik olarak SRY geninin varlığı, bu bitmemiş organı testis farklılaşmasına doğru yönlendirir (Munger et al., 2013).

2.1.5. Germ hücreleri

Germ hücreleri, tek amacı spermatozoa formunu alıp, nesiller boyunca genetik ve epigenetik bilgi iletmek olan bir hücre ailesini içerir. Seminifer tübüllerin içinde bulunan germ hücreleri, daha az olgunlaşmış hücrelerin bazal bölmeyi işgal etmesi ve olgunlaştıkça adluminal bölmeye doğru ilerlemesiyle, oldukça organize bir şekilde dağıtılır (Amann, 2008). Gelişimin 3 ila 5 haftası arasında, sertoli hücrelerinin faktörlerinin yönlendirdiği şekilde gonositlere farklılaştıkları genital kabartı (gonadal ridge) göç ederler. Doğum ile 6. ay arasında gonositler, mitozla çoğaldıklarında, 5-7 yaşlarına kadar sessiz kalan spermatogonia olarak farklılaşacaktır. Ergenlikten başlayarak, proliferasyon sürecine paralel olarak, spermatogonia spermatozoaya doğru farklılaşma sürecine başlar (Paniagua and Nistal, 1984; Print and Loveland, 2000).

Spermatogonia, tüm diğer germ hücre tiplerinin diploid progenitörleridir ve iki görevi vardır; erkek gameti üretmek için süregelen mayoz bölünme ve yaşam boyunca daimî spermatozoa üretiminin devamı için tekrarlanan mitoz bölünme (Goossens and Tournaye, 2013).

2.1.6. Kan-testis bariyeri

Yüksek immünojenisiteleri ve spesifik metabolik talepleri nedeniyle, germ hücrelerinin sıkı bir şekilde düzenlenmiş mikro ortamda tutulmaları gerekir. Kan testis bariyeri, seminifer epiteli iki ayrı alanda, bazal ve adluminal kompartmanlarda bölen

ve maddelerin hücreler arası geçişini sınırlayan anatomik ve fonksiyonel bir bariyerdir (Cheng and Mruk, 2012).

2.2. Sperm DNA Fragmentasyonu

Spermatogenezin bir sonucu olarak her gün milyonlarca sperm üretilir. Sperm, bir haploid genomun babadan oosite transferini kolaylaştıran iyi tasarlanmış bir araçtır (Aitken and De Iuliis, 2009). Normal embriyonik gelişim, oosite bozulmamış ve tam bir genetik materyalin aktarımının sağlanmasına bağlıdır (Simon et al., 2014). Sözü edilen intakt genetik aktarım, sperm çekirdeğindeki DNA'nın küçük ve pozitif yüklü protamin isimli proteinlerle sıkıca paketlenmesiyle oluşan kompakt nükleer yapı sayesinde sağlanır (Oliva, 2006).

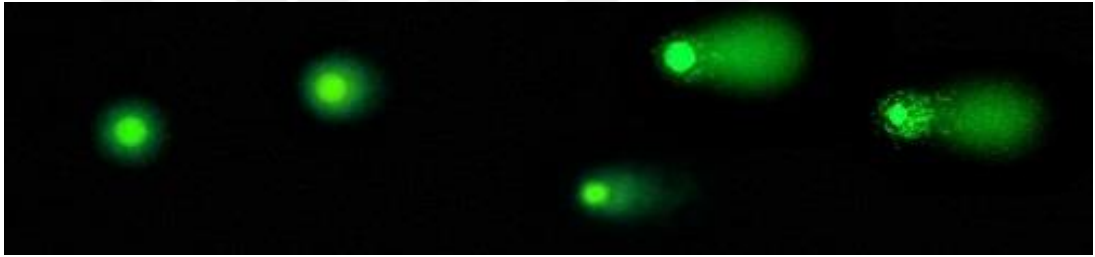
Sperm üzerinde etkili serbest radikallerin konsantrasyonu, antioksidan aktivite seviyesini aştığında oksidatif stres oluşur. Sperm kromatinin zayıf yapısal organizasyonu, spermi oksidatif stres kaynaklı DNA hasarına karşı savunmasız bırakarak spermde DNA fragmentasyonuna sebep olabilir (Aoki et al., 2005). Çalışmalar, seminal oksidatif stres ile başlayan sperm apoptozisine yol açabilecek bir olaylar dizisinin gerçekleşebileceğini göstermiştir (Aitken and Koppers, 2011). Bunların yanında, ilaç, ısı, radyasyon ve obezite de sperm DNA fragmentasyonuna neden olduğu bilinen faktörlerden bazılarıdır (Morris, 2002; Agarwal and Allamaneni, 2005; Aitken et al., 2005; Eisenberg et al., 2013). Spermde meydana gelen DNA fragmentasyonu, spermin zarar görmüş DNA'yı tamir edebilme yeteneği olmaması nedeniyle geri dönüşümsüzdür.

2.3. Sperm DNA Fragmentasyonunun Analiz Yöntemleri

Sperm kromatin ve DNA bütünlüğünün analizi için birtakım yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden başlıcaları; tek hücre jel elektroforezi (COMET), TUNEL, in situ nick translasyon (ISNT), sperm kromatin yapı analizi (SCSA), sperm kromatin dispersiyonu (SCD) analizi, kromomisin A3 (CMA3), akrinin turuncu (AO), anilin mavisi (AB) ve toluidin mavisi (TB) şeklinde sıralanabilir.

2.3.1. Tek hücre jel elektroforezi (COMET)

Sperm DNA fragmentasyonunu ölçmenin en basit yöntemlerinden biri olan COMET analizi, DNA'nın tek ve çift zincir kırılmalarını ölçmektedir (McKelvey-Martin et al., 1997). Testin prensibi, sperm nükleer DNA'sının, floresan bir boya kullanılarak görülebilen, yük ve büyüklük bazında bir elektrik alanında ayrılmasıdır. Ortaya çıkan görüntü kuyruklu yıldıza benzer. Boyanmanın yoğunluğu DNA parçalanma derecesini belirler (Ostling and Johanson, 1984). COMET analizi, nötr veya alkali bir ortamda gerçekleştirilebilir. Nötr pH tamponunda, sadece sarmal kırılmalar ölçülürken, alkali tamponda sarmal yapının çözülmesiyle tek ve çift zincirdeki kırılmalar ve alkali labil bölgeler, tespit edilebilir (Tarozzi et al., 2009). COMET analizi nispeten ucuzdur ve DNA parçalanmasını ölçmek için mevcut en hassas tekniklerden biridir. Ancak, tahlil nispeten yoğun işgücü gerektirir.



Şekil 2.2: COMET analizi floresan mikroskobu görüntüsü

2.3.2. TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling assay)

TUNEL testi, doğrudan sperm DNA fragmentasyonunu ölçmek için yaygın olarak bilinmektedir. DNA hasarını belirlerken çift ve tek zincir kırıkları incelemek için ayrı protokoller gerektiren diğer analizlerin aksine TUNEL testiyle, her iki zincirdeki kırılmalar eşzamanlı olarak tespit edilebilir (Fraser, 2004). TUNEL analizinde, flow (akış) sitometri protokollerinin kullanılması, çok sayıda hücrenin değerlendirilmesini mümkün kılar, böylece tekniğin tekrarlanabilirliğini ve doğruluğunu artırır. Test, boyanan hücrelerin (DNA fragmentasyonu olan) ve boyanmayan hücrelerin (DNA fragmentasyonu olmayan) manuel olarak sayıldığı ışık mikroskobu kullanılarak da analiz edilebilir (Shamsi et al., 2008).



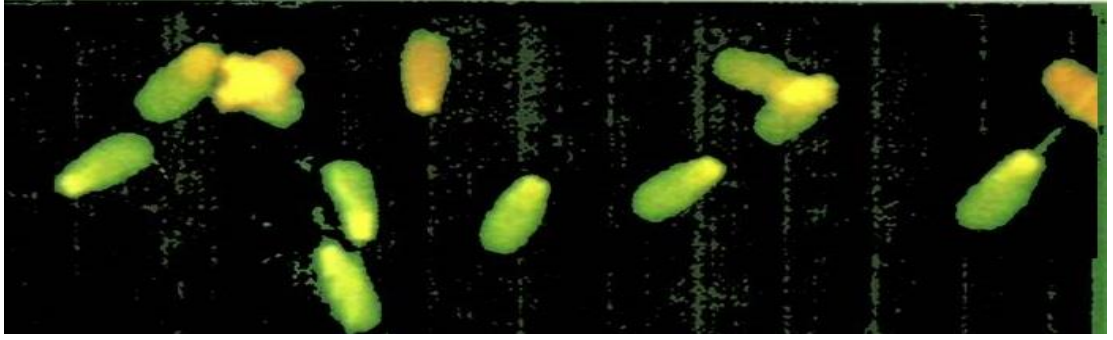
Şekil 2.3: TUNEL testi floresan mikroskobu görüntüsü (solda boyanmayan hücreler SDF negatif, sağdaki boyanan hücre SDF pozitif)

2.3.3. *In situ nick translasyon (ISNT)*

ISNT analizi, şablona bağlı DNA polimeraz I enzimi ile katalize edilen bir reaksiyona, tek zincirli DNA kırılmalarını biyotinlenmiş deoksiüridin trifosfatın (dUTP) katılımıyla ölçen TUNEL analizinin değiştirilmiş bir şeklidir (Shamsi et al., 2008). TUNEL analizinden farklı olarak, ISNT hem tek zincir hem de çift zincir kırılmalarında kullanılamaz; sadece tek zincir kırılmalarını tespit etmede kullanılır (Irvine et al., 2000).

2.3.4. *Sperm kromatin yapı analizi (SCSA)*

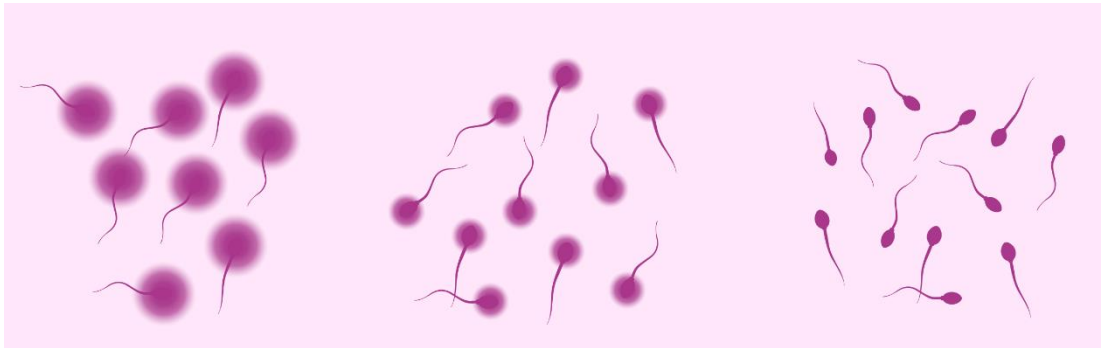
Erkek infertilitesini karakterize etmek için en yaygın kullanılan ticari testtir. Kimyasal olarak indüklenen (ısı/düşük pH'a maruziyet) DNA denatürasyonuna karşı sperm kromatininin dayanıklılığını belirlemek için kullanılan akış sitometrik bir yöntemdir. SCSA, spermin, ısıya veya aside bağlı DNA denatürasyonuna duyarlılığını ölçer. Akridin turuncu boyasıyla boyanarak yeşilden kırmızıya dönüşen floresan ışığı yayar. Akış sitometrisi kullanıldığından, numune başına çok sayıda spermin ölçülmesi mümkündür ve bu nedenle teknik, basit ve yüksek oranda tekrarlanabilir (Evenson and Jost, 2000). Ancak, canlı spermlerde DNA parçalanma derecesi hakkında bilgi vermez (Tarozzi et al., 2009). Ayrıca analiz için yüksek maliyetli ekipman gereklidir.



Şekil 2.4: SCSA ile sperm kromatin analizi floresan mikroskobu görüntüsü

2.3.5. Sperm kromatin dispersiyonu (SCD) analizi

Sperm kromatin dispersiyonu (SCD) testi, sperm DNA fragmentasyonunun analizi için basit ve ucuz bir yöntemdir. Parçalanmış DNA içeren spermelerin, asit denatürasyonu ve nükleer proteinlerin uzaklaştırılmasının ardından sperm agaroz jele yerleştirildiğinde, görülen karakteristik halo görüntüsünü oluşturamaması prensibine dayanır (Fernández et al., 2003). Testin metodolojisi şu adımları içerir: Sperm, bir slayt üzerinde bir agaroz matrisine daldırılır, DNA'yı denatüre etmek için bir asit çözeltisi ile arıtılır. Daha sonra da membranları ve proteinleri kaldırmak için lizis tamponuyla arıtılır. Floresan boyamanın ardından, DNA fragmentasyonu olmayan spermeler büyük halolar oluştururken, DNA fragmentasyonu içeren spermeler çok küçük halo oluştururlar veya hiç halo oluşturmazlar (Fernández and Gosálvez, 2002). Test, floresan duyarlılığı gerektirmediğinden ışık mikroskobu ile analiz edilmesi kolaydır, karmaşık ekipman kullanımı gerektirmez; androloji laboratuvarlarında bulunan cihazlarla yapılabilir.



Şekil 2.5: SCD testi ile sperm görüntüleri (soldan sağa; intact, az hasarlı ve yüksek hasarlı DNA)

2.3.6. Kromomisin A3 (CMA3) yöntemi

Kromomisin A3 (CMA3) bir aureolik asit tipi anti-tümör antibiyotiktir. CMA3, zayıf paketlenmiş ve protamin eksikliği olan DNA'nın dolaylı gözlenmesi esasına dayanan bir yöntemdir. CMA3, DNA replikasyonunu ve transkripsiyonunu inhibe etmek için guanin-sitozinden zengin bölgelere güçlü bir şekilde bağlanan Mg^{2+} gibi iki değerli katyonlarla dimerik kompleksler oluşturur (Murase et al., 2018).

2.3.7. Akridin oranj (turuncu) (AO)

AO testi, sperm nükleer DNA'sının asit ile denatüre edilerek, AO floresanının yeşilden (doğal DNA) turuncuya (denatüre DNA) renk dönüşümünü ölçer. Fluorokrom AO, tek zincirli DNA'ya bağlanan bir monomer olarak çift zincirli DNA'da araya girer. Doğal DNA floresanına bağlanan monomerik AO yeşil ışık saçarken, denatüre DNA üzerindeki toplanmış AO ise turuncu ışık saçır (Hoshi et al., 1996). AO analizi, SCSA ile benzer prensiplere dayansa da SCSA'ya göre daha basit ve düşük maliyetlidir. Ancak, hızlı renk kaybolması ve boyanmaların çıplak gözle yorumlanmasının güç oluşu ise testin negatif yönlerindendir (Chohan et al., 2006).

2.3.8. Anilin mavisi (AB)

Anilin mavisi, sperm kromatin yapısını değerlendirmek için kullanılan, lizin bakımından zengin histonlar ve arginin / sistein bakımından zengin protaminler arasında ayrım yapan asidik bir boyadır. Bu yöntem, lizin için spesifik bir pozitif reaksiyon sağlar ve insan spermlerinin temel nükleer protein bileşimindeki farklılıkları ortaya çıkarır (Sellami et al., 2013). Lizin bakımından zengin histonlar mavi boyanırken, arginin / sistein bakımdan zengin protaminler boyanma göstermez. Yüksek lizin içeren histonlar, kromatin kondensasyonunda defektlere sebep olabilir (Irez et al., 2015).

2.3.9. Toludin mavisi (TB)

TB, kromatinin metakromatik boyaması için kullanılan temel bir nükleer boyadır. Zayıf bir şekilde paketlenmiş kromatin veya hasarlı DNA içeren nukleustaki sperm DNA'nın fosfat kalıntıları bazik TB boya ile bağlanmaya yatkındır. Yöntem,

ışık mikroskobunda bakıldığında immatür spermin açık mavi renge boyanırken, matür spermin koyu mavi-mor renge boyanması prensibine dayanır (Kim et al., 2013; Hamidi et al., 2015).

2.4. Obezite

Obezite, Dünya Sağlık Örgütü tarafından “Sağlığı bozacak ölçüde vücutta aşırı yağ birikmesi” olarak tanımlanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü’nde önerilen sınıflandırmaya göre, Beden Kitle İndeksi (BKİ: kg / m²) 18.5-25 olan bireylerin normal, 25–30 olanlar fazla kilolu, 30-35 olanlar I. Derece obez, 35-40 olanlar II. Derece obez, 40’ın üzerinde olanlar ise III. Derece obez (morbid) olarak kabul edilir (WHO, 2016).

2.4.1. Obezite etiyolojisi

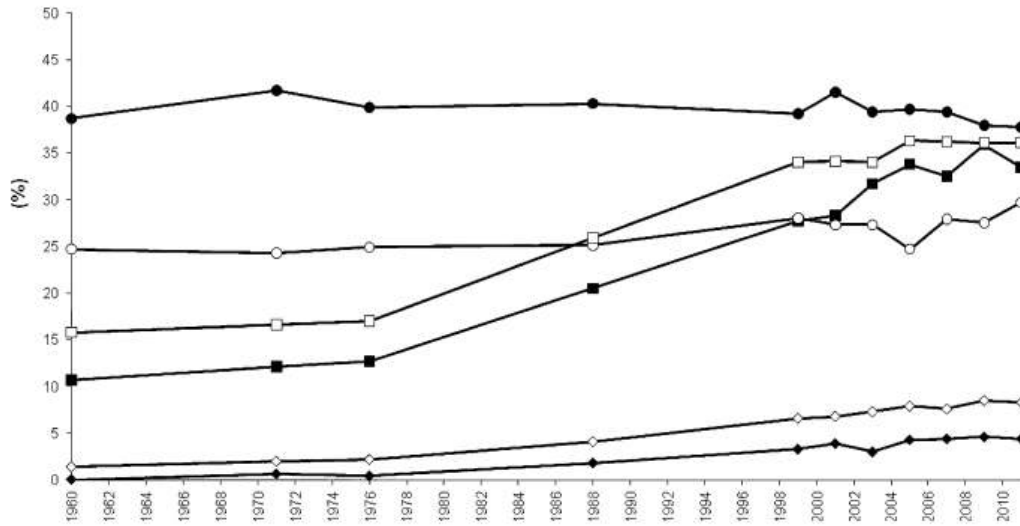
Obezite, enerji dengesizliği ve aşırı yağ birikiminin neden olduğu, genetik, davranışsal, çevresel, fizyolojik, sosyal ve kültürel faktörlerin sonucudur. Bu faktörlerin her birinin göreceli katkısı yoğun bir şekilde incelenmiştir. Dünya Sağlık Örgütü, davranışsal ve çevresel faktörlerin (yani, aşırı enerji alımıyla birlikte hareketsiz yaşam tarzları) öncelikli olarak şişmanlıktaki dramatik artıştan sorumlu olduğu sonucuna varmıştır.

Genotip-çevre etkileşimleri de obezitenin gelişmesinde rol oynamaktadır (Ravussin and Bogardus, 2000). Günlük enerji harcamasındaki (şiddetli fiziksel aktivite hariç) varyansın yaklaşık %40’ının genotip ile ilişkili olduğu tahmin edilmektedir (Bouchard and Tremblay, 1990). Bu nedenle, genetiğin vücut ağırlığı düzenlemesindeki rolünü belirleyen kanıtlar vardır.

Obezite, uzun bir süre boyunca enerji alımı ve enerji harcaması arasındaki dengesizliğe bağlı olarak gelişir. Neden, günlük enerji harcamasına göre fazla enerji alımı veya günlük enerji alımına göre düşük enerji harcaması olarak görülebilir.

2.4.2. Obezite epidemiyolojisi

Obezite, bugün dünya nüfusunun üçte birinden fazlasını etkileyen, karmaşık, çok faktörlü ve büyük ölçüde önlenabilir bir hastalıktır (Stevens et al., 2012). Uzun dönemli eğilim devam ederse, 2030 yılına kadar dünyadaki yetişkin nüfusunun %38'i fazla kilolu ve %20'si obez olacak (Kelly et al., 2005). ABD'de, daha önceki uzun dönemli eğilimlere dayanan en korkunç tahminler, yetişkinlerin %85'inden fazlasının 2030'da aşırı kilolu veya obez olduğuna işaret etmektedir (Wang et al., 2008). Çoğu gelişmiş ülkede, şişmanlayan nüfustaki artış sınırlansan da (Fleming et al., 2014), bu ülkelerin çoğunda çocuklar dahil, morbid obez artmaya devam etmektedir. Ayrıca, gelişmekte olan ülkelerde şişmanlık prevalansı, ABD seviyelerine doğru yükselmeye devam etmektedir.



Şekil 2.6: ABD’de 20-74 yaş aralığındaki kadın (açık noktalar) ve erkeklerin (kapalı noktalar), 1960–2012 yılları arasında aşırı kilolu (daireler), obez (kareler) ve morbid obez (elmaslar) prevalansındaki eğilimleri (Hruby and Hu, 2015)

2.4.3. Risk faktörleri

Obezite, bireyin vücut sistemleri ve psikososyal durumu üzerinde oluşturduğu etkilerden ötürü birçok sağlık problemine sebep olmaktadır. Bunlardan başlıcalarını şu şekilde sıralayabiliriz;

- İnsülin direnci
- Diyabet
- Hipertansiyon
- Kroner kalp hastalığı
- Hiperlipidemi – Hipertrigliseridemi
- Karaciğer yağlanması
- Kas-iskelet sistemi problemleri
- Solunum zorluğu
- İnfertilite
- Bazı kanser türleri
- Osteoartrit
- Uyku apnesi
- Ruhsal sorunlar (yeme bozuklukları)
- Toplumsal uyumsuzluklar

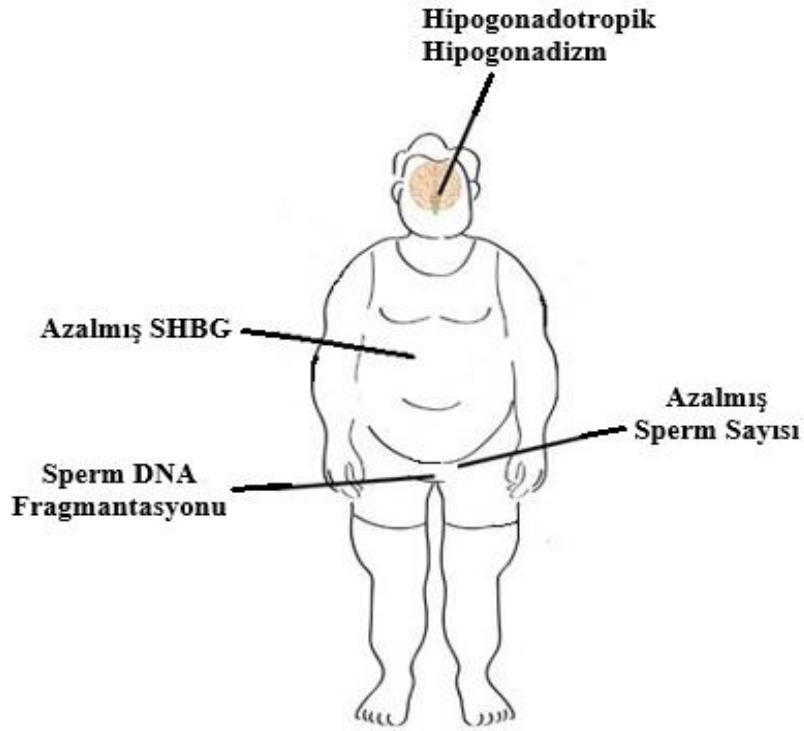
2.4.4. Obezitenin erkek fertilitésine etkileri

Obezite sadece klasik diyabet, kalp-damar hastalıkları, kanser ve artmış mortalite ile değil, aynı zamanda infertilite ile de ilişkilidir (Eisenberg et al., 2014; Katib, 2015). Kilo artışı, endokrin sorunlar, yüksek inflamatuvar mediatör seviyeleri, reaktif oksijen ürünleri (ROS) ve artmış testiküler sıcaklık gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla üreme fonksiyonunu olumsuz yönde etkiler (Sallmén et al., 2006; Palmer et al., 2012).

Erkek obezitesi hipogonadizm ile ilişkilidir. Oluşan hipogonadotropik hipogonadizm, karaciğer tarafından cinsiyet hormonu bağlayıcı globülin (SHBG) üretimindeki bir azalmanın ve hipofizer negatif geribildiriminin (negatif feedback) bir sonucu olabilir (MacDonald et al., 2009). Yaşam tarzı değişikliği ve bariatrik cerrahiyi değerlendiren çalışmalar, kilo vermenin erkek üreme fonksiyonu üzerindeki yararlı etkilerini doğrulamaktadır. Obeziteyi inceleyen 24 çalışmalık meta-analizde, BKİ'ndeki azalma ile testosteron artışının ilişkili olduğu gösterilmiştir (Corona et al., 2013).

Danimarkalı 1558 askeri inceleyen bir araştırmada, fazla kilolu erkeklerin sperm konsantrasyonunda %21 ve toplam sperm sayısında %24,9 değişme olduğu belirlendi (Jensen et al., 2014). Yaklaşık 13.000 erkekte oluşan örnek büyüklüğünü temsil eden 21 çalışmanın değerlendirilmesi sonucunda, obez erkeklerde, normal kilolu erkeklere kıyasla oligozoospermi veya azoospermi oranlarının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Sermondade et al., 2012).

BKİ'nin klasik sperm parametreleri üzerindeki etkilerinin yanı sıra, sperm hücrelerinin moleküler bileşimine etkisi de son yıllarda tartışma konusu olmuştur. Bu, DNA fragmentasyon derecesi ve / veya oksidatif stres değerlendirilerek belirlenir. DNA fragmentasyon indeksi (DFİ) genellikle hamilelik başarısının bir göstergesi olarak kullanılır. Sağlıklı erkeklerde, DFİ %3 ila 5 arasındadır, %30 veya daha yüksek bir DFİ ise fertilitenin azalması ile ilişkilidir (Evenson, and Wixon, 2006). Obezite ve fazla kilo, yüksek DFİ veya sperm hücrelerinde DNA / kromatin hasarı ile ilişkili bulunmuştur (Chavarro et al., 2010; Fariello et al., 2012); spermin moleküler bileşimi üzerinde obeziteye bağlı bir etki olduğu öne sürülmüştür.



Şekil 2.7: Obez erkeklerde fertilité azalmasına sebep olan faktörler

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmanın Tasarımı

Çalışmamızda, Mayıs 2019-Aralık 2019 tarihleri arasında Biruni Üniversite Hastanesi Üroloji kliniğine başvuran ve semen analizi yapılan 18-45 yaş arası erkeklerin sperm parametreleri incelenmiştir. Başvuran erkekler, beden kitle indeksine göre; ideal kilolu (BKİ: 18.5-25), fazla kilolu (BKİ: 25-30) ve obez (BKİ: 30 ve üzeri) olacak şekilde 3 ayrı gruba ayrılmıştır.

Literatürde (Fariello vd., 2011) verilen parametrelerden, konsantrasyon değişkeni baz alındığında, normal ve obez grup için ortalama değerleri sırasıyla 80.5 ve 48.3, ortak SD (pool variance)=35, %80 power dikkate alınarak, R programında yapılan hesaplama sonucunda grup başına birey sayısının minimum 19 olması gerektiği hesaplandı. Bu power analiz sonucuna göre çalışma, her deney grubu için 20 kişi olmak üzere toplam 60 kişi ile yapılmıştır.

Tez yürütülmeden önce Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurul'una sunuldu ve 2019/28-11 sayı ve 30.04.2019 tarihli etik kurul onayı alındı.

3.2. Çalışmada Uygulanan Yöntemler

Sperm parametrelerini belirlemek için tüm gruplara standart semen analizi yapıldı. Sperm DNA fragmantasyon analizi için akrinin oranj testi, maturasyon analizi için anilin mavisi boyama, sperm kromatin kondensasyonu için kromomisin A3 (CMA3) boyama yöntemi kullanıldı.

3.2.1. Semen analizi

Hastanın 3 ile 5 gün arası cinsel perhiz süresinden sonra, özel olarak hazırlanmış odalarda mastürbasyon yoluyla geniş ağızlı ve poliprolen, polietilen kaplara semen örneği alınır. Alınan semen örneği, özel solüsyonlar ile yıkanarak plazma, ölü sperm ve diğer hücrelerden arındırılır ve Dünya Sağlık Örgütü'nün semen analizi parametrelerine göre makroskopik ve mikroskopik olarak incelenir.

3.2.1.1. Makroskopik inceleme

Sıvılaşma süresi: Akıcı olan ve vezikula seminalisin salgıladığı “protein kinaz” enziminin etkisiyle pıhtılaşan semen, ejakülasyon sonrası ortalama 15 dakika içerisinde kendiliğinden sıvılaşmalı, yani likefiye olmalıdır. Bu sürenin uzaması semen viskozitesinin arttığını gösterir ve istenmeyen bir durumdur.

Viskozite: Sperm sıvılaştıktan sonra pipetle çekilerek damlaması gözlemlenir. Normal spermin damla damla gelmesi gerekir. Eğer damla 2cm’den fazla uzayarak geliyorsa bu spermin kıvamının yoğunlaştığı yani visküz olduğu anlamına gelir. Spermin hızını ve konsantrasyonunu olumsuz etkileyebilen bir durumdur.

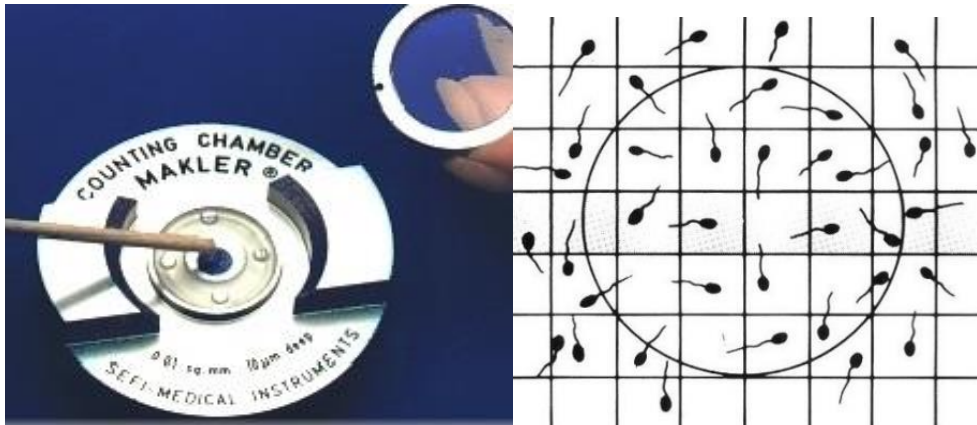
Renk: Normal semen homojen ve opaktır. Eritrosit varlığında kahverengi-kırmızı renkte görülebilir.

Hacim: Semen volümü en az 1.5 ml olmalıdır, daha altında olması meni kanallarındaki bir tıkanıklığı işaret ediyor olabilir.

pH: Normal semenin pH değeri 7.2-8.0 aralığında olmalıdır.

3.2.1.2. Mikroskopik inceleme

Konsantrasyon: Semen 1 mililitresinde (1ml, 1 cc) bulunan sperm sayısıdır. Normal kabul edilmesi için en az 15 milyon/ml olmalıdır. Total sperm sayısı, semen hacmi ile sperm konsantrasyonun çarpımıyla hesaplanır. Sperm sayımı için genellikle aynı anda motilitenin de gözlemlenebildiği Makler sayım çemberi kullanılır.



Şekil 3.1: Makler sayım çemberi ve spermin maklerdeki mikroskopik görünümü

Motilite: Sıvılaşmadan sonra yaklaşık 30 dakika içerisinde 200 sperm hücresi sayılarak, ileri hareketli, yerinde hareketli ve hareketsiz olmak üzere 3 sınıfa ayrıılıp motilite yüzdesi hesaplanır. İleri ve yerinde hareketli spermier toplamda %40'ın üzerinde ve/veya ileri hareketli spermier %32'nin üzerinde ise normal kabul edilir.

Lökosit: Semendeki lökosit miktarı 1 milyon/ml'den az olmalıdır.

Morfoloji: Sperm yapısı değerlendirilirken baş, boyun ve kuyruk anomalilerine göre sınıflandırma yapılarak yüzdeleri hesaplanır. Normal baş; oval, 2.5-3.5µm eninde, 4.0-5.0 µm boyunda olmalı ve akrozomal bölge başın %40-70'ini kaplamalıdır. Boyun ve orta parça 1.0µm'den küçük ve boyu baş uzunluğunun 1,5 katı olmalıdır. Kuyruk uzunluğu ise yaklaşık 45 µm, genişliği orta parçadan küçük, düz, kıvrılmamış ve kırılmamış olmalıdır. Sperm morfolojisi ile ilgili bozukluklar önemli infertilite nedenidir. Dünya Sağlık Örgütü'nün kriterlerine göre normal morfolojiye sahip sperm sayısı %4'ün altında olmamalıdır.

Tablo 3.1: Semen analizi için referans değerleri (WHO 2010)

PARAMETRE	REFERANS DEĞERİ
Volüm	>1.5 ml
pH	7.2-8.0
Viskozite	<2 cm
Lökosit	<1 milyon/ml
Konsantrasyon	>15x10 ⁶ /ml
Total Konsantrasyon	>39x10 ⁶
Total Motilite (İleri+Yerinde Hareket)	>%40
İleri Hareketlilik	>%32
Morfoloji	>%4 Normal
Vitalite (Canlı Sperm)	%58

3.2.2. Akridin oranj ile sperm DNA fragmentasyonunun değerlendirilmesi

Özel solüsyonlar ile yıkanarak plazma, ölü sperm ve diğer hücrelerden arındırılan semen örneğinden, 20 µl alınarak yayma preparat hazırlandı. Carnoy fiksatifinde yaklaşık 1 saat bekletildikten sonra, havada kurutulup akridin oranj boyasına alındı. Karanlık ortamda 5 dakika boyada bekletildikten sonra distile suyla yıkayıp floresan mikroskopunda 450-490 nm dalga boyunda incelendi Yeşil floresan görüntüsü veren sperm normal, sarı-turuncu floresan görüntüsü veren sperm ise hasarlı DNA'ya sahip olarak değerlendirilip, ortalama 100 sperm hücresi sayılarak DNA fragmentasyon yüzdesi hesaplandı.

Stok akridin oranj çözeltisi ve diğer solüsyonların hazırlanışı:

%1 AO distile suda hazırlanır (1gr AO/100 ml distile suda çözülür)

0,1 molar sitrik asit (19,212gr/ 1 litre distile su)

0,3 molar Na₂HPO₄.H₂O (47,991gr/ 1 litre distile su)

Carnoy fiksatifi:

Metanol.....75 ml

Asetik asit.....25 ml

Boya çözeltisi:

%1 Akridin Oranj.....25 ml

0,1 mol/l sitrik asit.....10 ml

0,3 M Na₂HPO₄.....300 µl

3.2.3. Anilin mavisi ile sperm maturasyonunun gösterilmesi

20 µl semen örneğinden hazırlanan yayma preparat, %2 glutaraldehit içinde yaklaşık 3 saat oda sıcaklığında fıkse edildi. Havada kurtulmasının ardından, %2 asetik asit ve %5 anilin mavisi içeren boya çözeltisinde 30 dakika boyandı. Distile suyla yıkandıktan sonra, mikroskopta ortalama 100 sperm hücresi sayılarak sperm

maturasyon yüzdesi hesaplandı. Maviye boyanmış hücreler maturasyon defektine uğramış, boyanmamış hücreler ise matür olarak değerlendirildi.

Anilin mavisinin hazırlanması:

5 gram toz asidik anilin mavisi boyası, 100 ml kaynamış distile su içerisinde çözdürülür. Soğumasının ardından %2 asetik asit eklenir. pH 3,5 olacak şekilde ayarlanır.

Gluteraldehit hazırlanması:

%25 gruteraldehit fiksatifidistile suyla %2 olacak şekilde seyreltilir. (8 ml gruteraldehit 92 ml su içerisine eklenir.)

3.2.4. Kromomisin A3 ile kromatin kondensasyonunun değerlendirilmesi

20 µl semen örneğinden hazırlanan yayma preparat havada kurutuldu. +4 °C’de carnoy fiksatifinde 5 dakika bekletildi. Fiksasyon sonrası yayma preparat MCI IIvane solüsyonu ile çalkalandı. CMA3 boyasıyla karanlık ortamda 20 dakika boyandıktan sonra, preparat tekrar MCI IIvane solüsyonunda yıkandı. Kuruyan preparat floresan mikroskobunda görüntülendi. Ortalama 100 sperm hücresi sayılarak sperm kromatin kondensasyon yüzdesi hesaplandı. Yeşil görüntü veren spermler kondanse DNA içeren sperm, sarı görüntü veren spermler dekonpanse sperm olarak değerlendirildi.

Kromomisin A3 boyasının hazırlanması:

CMA3.....0,25 mg

MCI IIvane.....1 ml

MCI IIvane solüsyonunun hazırlanması:

Disodyum Hidrojen Fosfat.....200 mM

Sitrik Asit.....100 mM

Carnoy fiksatif:

Metanol.....75 ml

Asetik asit.....25 ml

3.3. İstatistiksel Yöntemler

Çalışmada karşılaştırılma yapılırken, ikili gruplarda student's t testi ve pearson korelasyon analizi, üçlü gruplarda ANOVA kullanılmıştır.



4. BULGULAR

Yapılan prospektif kontrollü çalışmada, Mayıs 2019 ve Aralık 2019 tarihleri arasında Biruni Üniversitesi Hastanesi Üroloji kliniğine başvuran hastalardan beden kitle indeksine göre; 1. Grup: ideal kilolu (n:20), 2. Grup: fazla kilolu (n:20) ve 3. Grup: obez (n:20) şeklinde 3 ayrı grupta, sperm parametreleri, sperm DNA fragmentasyonu, sperm maturasyonu ve sperm kromatin kondensasyonu incelenerek, beden kitle indeksinin, erkek üreme potansiyeli üzerindeki etkisi araştırılmıştır.

Çalışma sonucunda, gruplar arasında yaş yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.1$). Çalışmamızda ortalama yaşlar yakın olduğundan, gruplar arası değerlerin karşılaştırmalarında yaşın etkisi olmamıştır.

Grupların sperm parametreleri karşılaştırıldığında, sperm sayısında hem 1. ve 2. Grup arasında (55 milyon/ml vs 64,20 milyon/ml; $p>0.1$) hem de 1. ve 3. Grup arasında (55 milyon/ml vs 47,65 milyon/ml; $p>0.1$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Spermin motilite parametrelerinin tümünde, hem 1. ve 2. Grup arasında (ileri: %41 vs %42,6, yerinde: %19,8 vs %19, hareketsiz: %39,2 vs %38,5; $p>0.1$) hem de 1. ve 3. Grup arasında (ileri: %41 vs %35,4, yerinde: %19,8 vs %20, hareketsiz: %39,2 vs %43,9; $p>0.1$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Sperm morfoloji değerlerini karşılaştırdığımızda ise, 1. ve 2. Grubun, normal sperm, baş ve boyun anomalisi değerlerinde istatistiksel anlamlılık bulunurken (normal: %4 vs %4,9, baş: %54,9 vs 20,8, boyun: %23,2 vs %16,1; $p<0.001$), kuyruk morfolojisi değerinde istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır (kuyruk: %17,8 vs %40,2; $p>0.1$). 1. ve 3. Grubun ikili karşılaştırılmasının sperm morfolojisi değerlerinde ise istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (normal: %4 vs %3,1, baş: %54,9 vs 53,2, boyun: %23,2 vs %27,4, kuyruk: %17,8 vs %16,2; $p>0.1$).

Grupların sperm DNA fragmentasyon indeksleri (DFİ) karşılaştırıldığında, 1. ve 2. Grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken (%44,9 vs %45,3; $p>0.1$), 1. ve 3. Grup arasında fark bulunmuştur (%44,9 vs %67,1; $p<0.01$).

Sperm maturasyonlarında, 1. ve 2. Grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmazken (%42,4 vs %41,8; $p>0.1$), 1. ve 3. Grup arasında fark bulunmuştur (%42,4 vs 67,8; $p<0.01$).

1. ve 2. Grup arasında sperm kromatin kondensasyonu değeri istatistiksel anlamlılık bulunmazken (%38,9 vs %45,3; $p>0.1$), 1. ve 3. Grup arasında istatistiksel anlamlılık bulunmuştur (%38,9 vs 65,2; $p<0.001$).

3 grup arası karşılaştırmada, sperm konsantrasyon ve motilitesi parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p>0.1$). Normal morfolojideki sperm sayıları arasındaki karşılaştırmada ise istatistiksel anlamlılık bulunmuştur ($p<0.05$). 3 grup arasında sperm DNA fragmentasyonu, sperm maturasyonu ve sperm kromatin kondensasyonu değerlerinde istatistiksel anlamlılık bulunmuştur ($p<0.01$).

Tablo 4.1: Gruplardaki bireylerin yaşlarının ve beden kitle indekslerinin değerleri

	1. Grup (ideal kilolu) ($\bar{x}\pm SD$)	2. Grup (fazla kilolu) ($\bar{x}\pm SD$)	3. Grup (obez) ($\bar{x}\pm SD$)	p
BKİ	22,97 $\pm$ 1,05	27,21 $\pm$ 1,01	33,11 $\pm$ 2,20	<0,001
Yaş	28,50 $\pm$ 6,19	31,05 $\pm$ 7,02	33,00 $\pm$ 6,31	0,101

Tablo 4.1’de görüldüğü gibi gruplar arasında yaş yönünden istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.1$).

Tablo 4.2: 1. ve 2. Grupların sperm konsantrasyon değerleri

	1. Grup ($\bar{x}\pm SD$)	2. Grup ($\bar{x}\pm SD$)	p
Konsantrasyon	55,00 $\pm$ 34,84	64,20 $\pm$ 40,66	>0,1

Tablo 4.3: 1. ve 3. Grupların sperm konsantrasyon değerleri

	1. Grup ($\bar{x}\pm SD$)	3. Grup ($\bar{x}\pm SD$)	p
Konsantrasyon	55,00 $\pm$ 34,84	47,65 $\pm$ 27,39	>0,1

Tablo 4.2 ve 4.3'te grupların sperm konsantrasyon değerlerinin ortalaması verilmiştir. Grupların ikili karşılaştırılmasında hem 1. ve 2. Grup arasında ($p>0.1$) hem de 1. ve 3. Grup arasında ($p>0.1$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4.4: 1. ve 2. Grupların sperm motilite değerleri

Motilite	1. Grup ($\bar{x}\pm SD$)	2. Grup ($\bar{x}\pm SD$)	p
İleri	41,00±16,98	42,60±16,06	>0,1
Yerinde	19,80±9,03	19,00±8,04	>0,1
Hareketsiz	39,20±12,24	38,55±12,39	>0,1

Tablo 4.5: 1. ve 3. Grupların sperm motilite değerleri

Motilite	1. Grup ($\bar{x}\pm SD$)	3. Grup ($\bar{x}\pm SD$)	p
İleri	41,00±16,98	35,45±18,29	>0,1
Yerinde	19,80±9,03	20,60±8,61	>0,1
Hareketsiz	39,20±12,24	43,96±18,03	>0,1

Tablo 4.4 ve 4.5'te sperm motilite değerlerinin ortalaması verilmiştir. Grupların ikili karşılaştırılmasında hem 1. ve 2. Grup arasında ($p>0.1$) hem de 1. ve 3. Grup arasında ($p>0.1$) istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Tablo 4.6: 1. ve 2. Grupların sperm morfoloji değerleri

Morfoloji	1. Grup ($\bar{x}\pm SD$)	2. Grup ($\bar{x}\pm SD$)	p
Normal	4,00±1,89	4,90±2,15	<0,001
Baş	54,90±10,87	20,80±7,95	<0,001
Boyun	23,25±5,75	16,15±6,02	<0,001
Kuyruk	17,85±7,54	40,75±23,26	>0,1

Tablo 4.7: 1. ve 3. Grupların sperm morfoloji değerleri

Morfoloji	1. Grup ($\bar{x} \pm SD$)	3. Grup ($\bar{x} \pm SD$)	p
Normal	4,00 $\pm$ 1,89	3,15 $\pm$ 1,60	>0,1
Baş	54,90 $\pm$ 10,87	53,20 $\pm$ 8,90	>0,1
Boyun	23,25 $\pm$ 5,75	27,40 $\pm$ 7,74	>0,1
Kuyruk	17,85 $\pm$ 7,54	16,25 $\pm$ 5,13	>0,1

Tablo 4.6 ve 4.7’de sperm morfoloji değerlerinin ortalaması verilmiştir. 1. ve 2. Grubun ikili karşılaştırılmasında, normal sperm, baş ve boyun anomalisi değerlerinde istatistiksel anlamlılık bulunurken ($p < 0.001$), kuyruk morfolojisi değerinde istatistiksel anlamlılık bulunmamıştır. 1. ve 3. Grubun ikili karşılaştırılmasında ise sperm morfolojisi değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0,1$).

Tablo 4.8: 1. ve 2. Grupların sperm DNA fragmentasyonu, maturasyonu ve kromatin kondensasyonu değerleri

	1. Grup ($\bar{x} \pm SD$)	2. Grup ($\bar{x} \pm SD$)	p
Akridin Oranj (+)	44,95 $\pm$ 28,77	45,35 $\pm$ 21,50	>0,1
Anilin Mavi (+)	42,45 $\pm$ 27,35	41,80 $\pm$ 24,63	>0,1
Kromomisin A3 (+)	38,90 $\pm$ 23,39	45,35 $\pm$ 21,50	>0,1

Tablo 4.9: 1. ve 3. Grupların sperm DNA fragmentasyonu, maturasyonu ve kromatin kondensasyonu değerleri

	1. Grup ($\bar{x} \pm SD$)	3. Grup ($\bar{x} \pm SD$)	p
Akridin Oranj (+)	44,95 $\pm$ 28,77	67,15 $\pm$ 19,86	0,002
Anilin Mavi (+)	42,45 $\pm$ 27,35	67,80 $\pm$ 19,99	0,007
Kromomisin A3 (+)	38,90 $\pm$ 23,39	65,25 $\pm$ 17,79	<0,001

Tablo 4.8 ve 4.9’da sperm DNA fragmentasyonu, maturasyonu ve kromatin kondensasyonu değerlerinin ortalamaları verilmiştir. 1. ve 2. Grubun ikili karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır. 1. ve 3. Grubun ikili karşılaştırılmasında ise sperm DNA fragmentasyonu ($p < 0.01$), sperm

maturasyonu ($p<0.01$) ve sperm kromatin kondensasyonu ($p<0.001$) değerlerinde istatistiksel anlamlılık bulunmuştur.

Tablo 4.10: İdeal kilolu (1), fazla kilolu (2) ve obez (3) grupların sperm konsantrasyon, motilite ve normal morfoloji değerlerinin karşılaştırılması

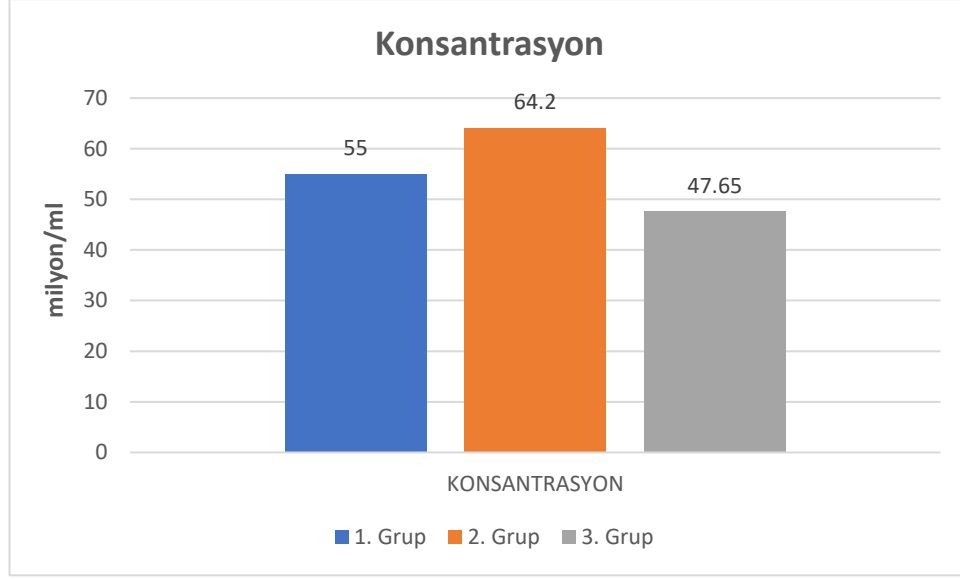
Gruplar Arası Karşılaştırma	1. Grup ($\bar{x}\pm SD$)	2. Grup ($\bar{x}\pm SD$)	3. Grup ($\bar{x}\pm SD$)	F	Sig. (p)
Konsantrasyon	55,00 $\pm$ 34,84	64,20 $\pm$ 40,66	47,65 $\pm$ 27,39	1,141	0,327
Motilite İleri	41,00 $\pm$ 16,98	42,60 $\pm$ 16,06	35,45 $\pm$ 18,29	0,959	0,389
Motilite Yerde	19,80 $\pm$ 9,03	19,00 $\pm$ 8,04	20,60 $\pm$ 8,61	0,174	0,840
Morfoloji Normal	4,00 $\pm$ 1,89	4,90 $\pm$ 2,15	3,15 $\pm$ 1,60*	4,272	0,019

Tablo 4.10’da yapılan karşılaştırmaya göre; 3 grup arasında sperm konsantrasyon ve motilite parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p>0.1$). Normal morfolojideki sperm sayıları arasındaki karşılaştırmada ise istatistiksel anlamlılık bulunmuştur ($p<0.05$).

Tablo 4.11: İdeal kilolu (1), fazla kilolu (2) ve obez (3) grupların sperm DNA fragmentasyonu, maturasyonu ve kromatin kondensasyonu değerlerinin karşılaştırılması

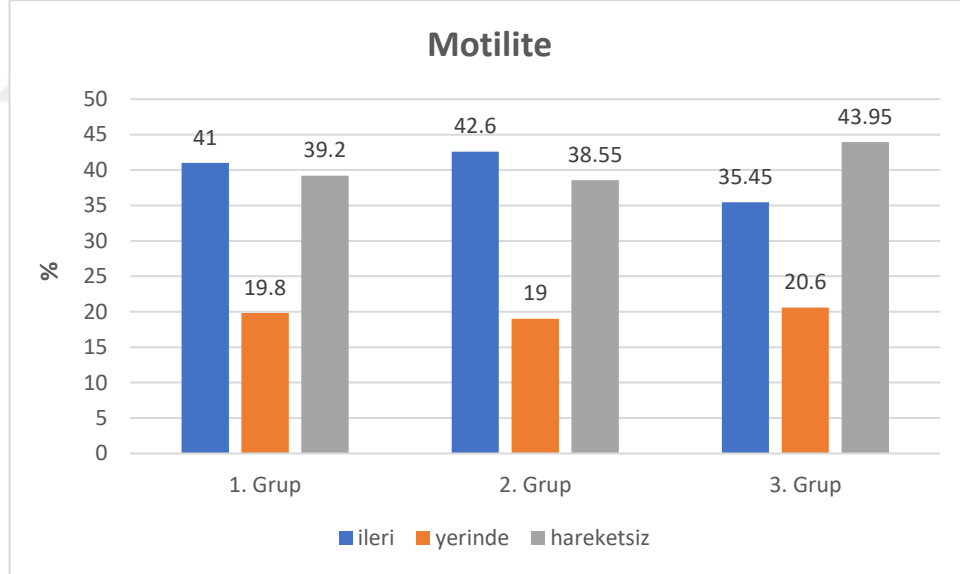
Gruplar Arası Karşılaştırma	1. Grup ($\bar{x}\pm SD$)	2. Grup ($\bar{x}\pm SD$)	3. Grup ($\bar{x}\pm SD$)	F	Sig. (p)
Akridin Oranj (+)	44,95 $\pm$ 28,77	45,35 $\pm$ 21,50	67,15 $\pm$ 19,86*	5,749	0,005
Anilin Mavi (+)	42,45 $\pm$ 27,35	41,80 $\pm$ 24,63	67,80 $\pm$ 19,99*	7,517	0,001
Kromomisin A3 (+)	38,90 $\pm$ 23,39	45,35 $\pm$ 21,50	65,25 $\pm$ 17,79*	8,536	0,001

Tablo 4.11’de yapılan karşılaştırmaya göre, 3 grup arasında sperm DNA fragmentasyonu, sperm maturasyonu ve sperm kromatin kondensasyonu değerlerinde istatistiksel anlamlılık bulunmuştur ($p<0.01$).



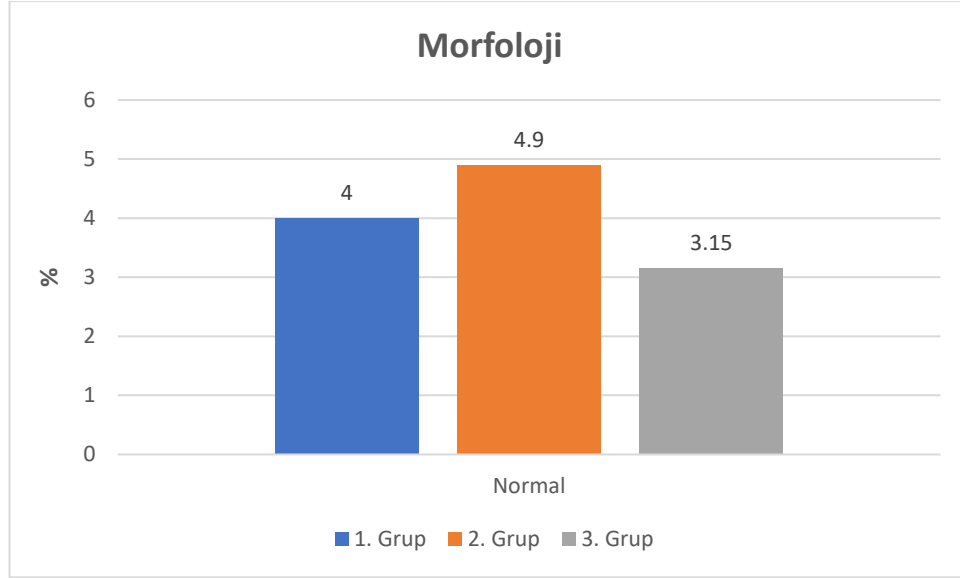
Şekil 4.1: Grupların sperm konsantrasyon değerleri

Şekil 4.1’de görüldüğü gibi grupların konsantrasyon değerleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Beden kitle indeksi arasındaki farklılıkların, sperm konsantrasyonuna etki etmediği görülmüştür.



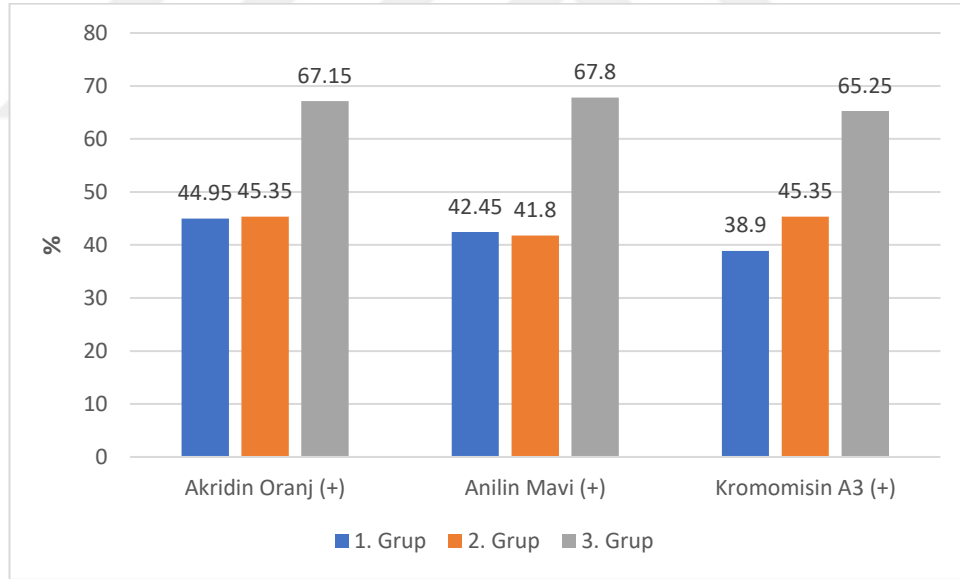
Şekil 4.2: Grupların sperm motilite yüzdeleri

Grupların sperm motilite yüzdeleri birbirine yakın bulunmuştur. Beden kitle indeksindeki farklılığın sperm hareketini etkilemediği görülmüştür.



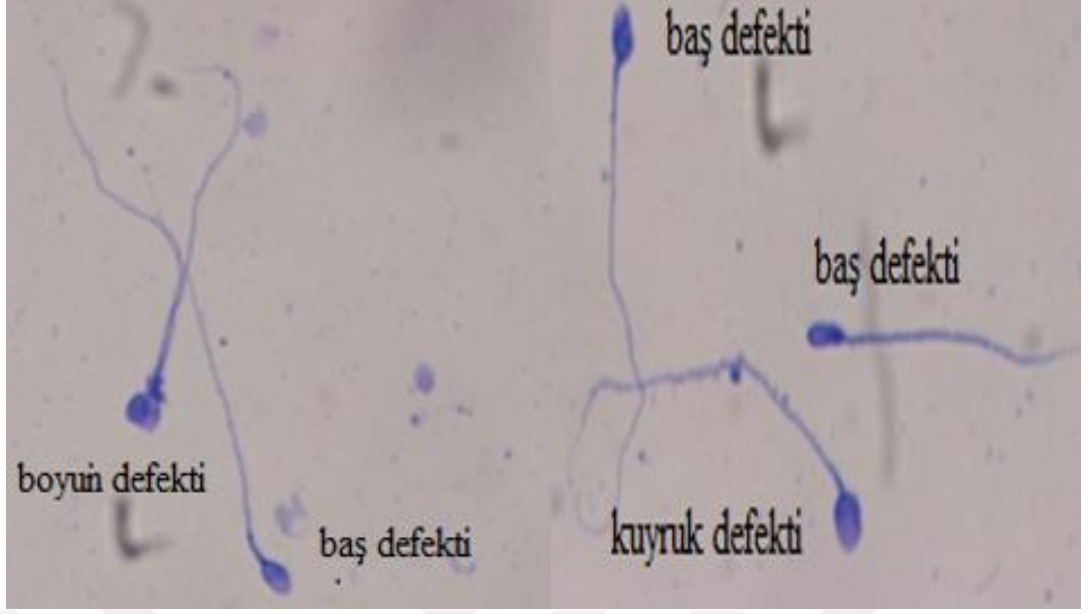
Şekil 4.3: Grupların normal sperm morfolojilerinin yüzdeleri

Normal sperm morfolojisi yüzdesi obez grupta ortalama %4'ün altında bulunmuştur. Obezitenin, sperm morfolojisini etkilediği görülmüştür.

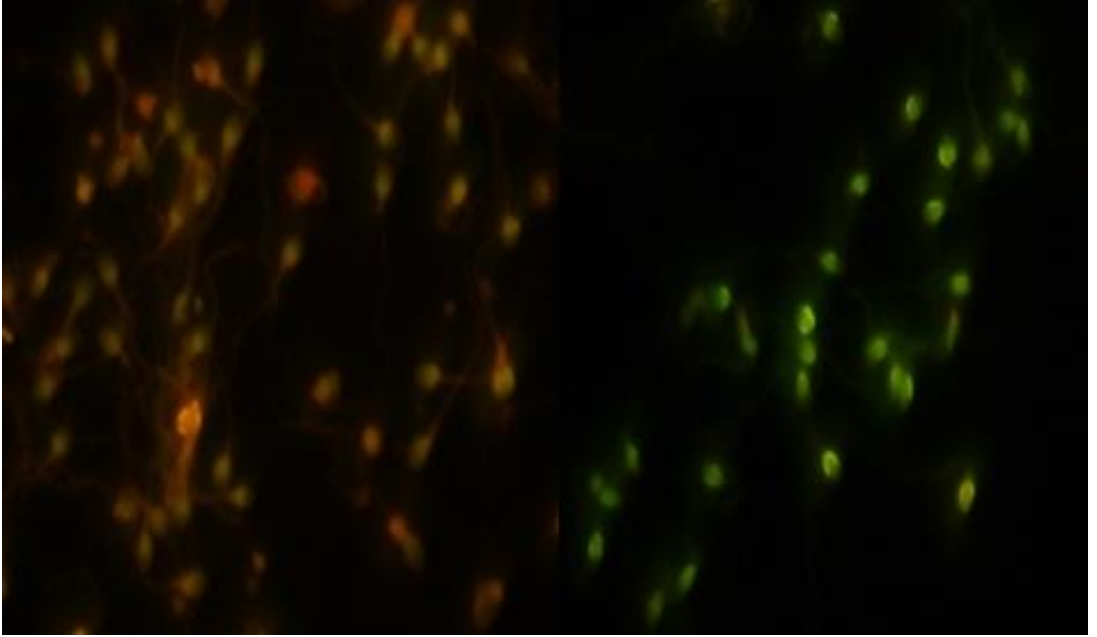


Şekil 4.4: Grupların sperm DNA fragmentasyonu, maturasyonu ve kromatin kondensasyonu yüzdeleri

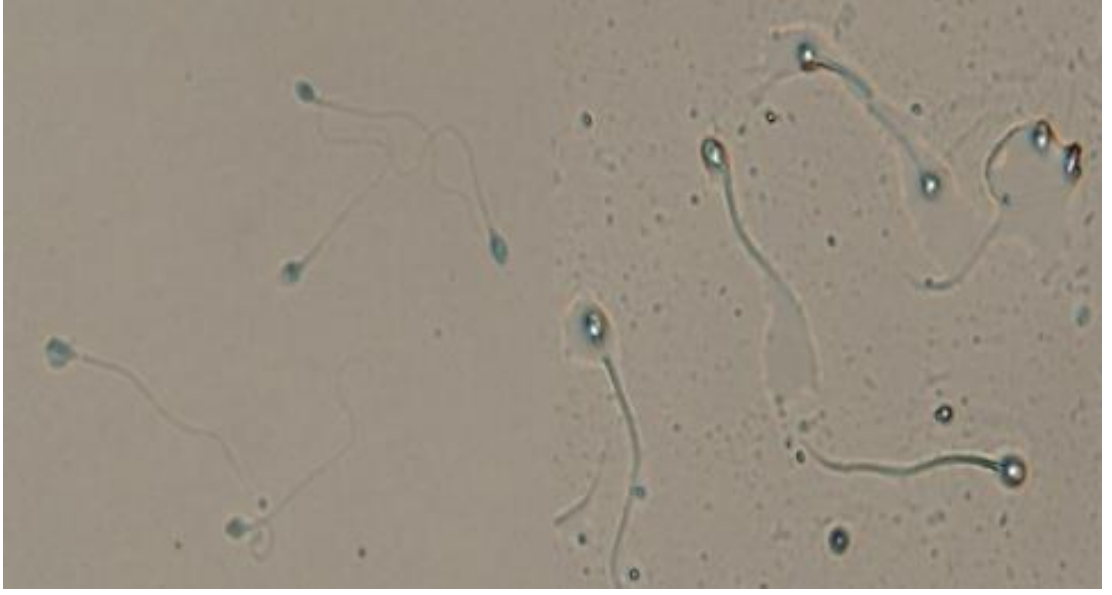
Obez gruptaki bireylerde, diğer gruplara göre sperm DNA fragmentasyonu, maturasyonu ve kromatin kondensasyonu yüzdeleri yüksek bulunmuştur. Fazla kilonun, sperm DNA fragmentasyonunu ve sperm maturasyon bozukluklarını artırdığı görülmüştür.



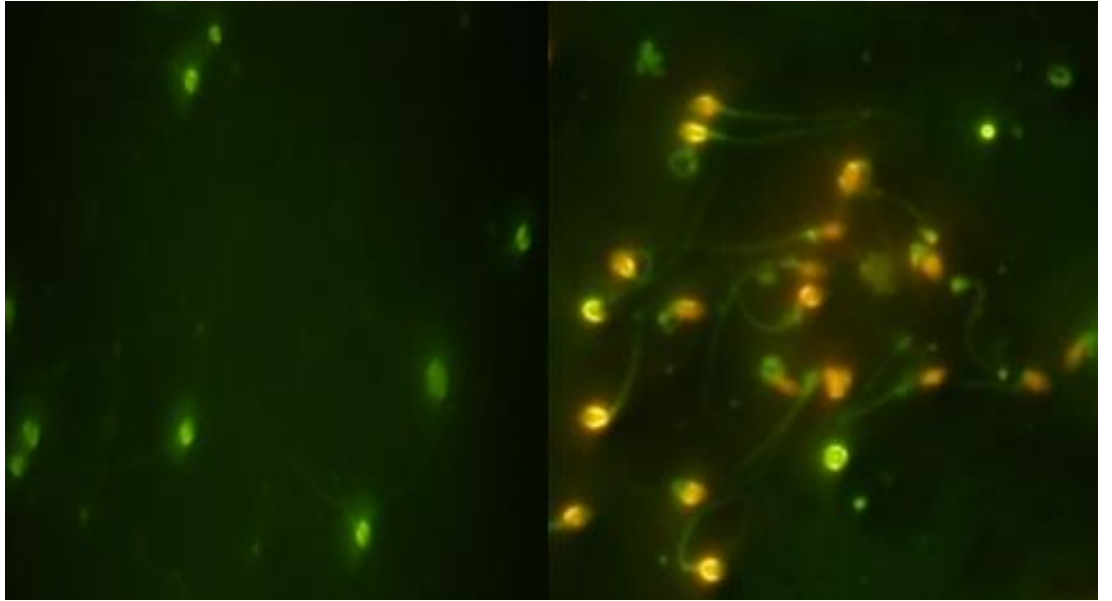
Şekil 4.5: Anormal morfolojik yapıdaki spermilerin gösterimi (100x immersiyon objektifi ışık mikroskobu görüntüsü)



Şekil 4.6: Akridin oranj boyamada sperm DNA fragmentasyonunun pozitif (turuncu-defekli) ve negatif (yeşil-normal) gösterimleri (100x immersiyon objektifi floresan mikroskobu görüntüsü)



Şekil 4.7: Anilin mavisi boyamada sperm maturasyon defektinin pozitif (mavi boyanan) ve negatif (boyanmayan) gösterimi (100x immersiyon objektifi ışık mikroskobu görüntüsü)



Şekil 4.8: Kromomisin A3 boyamada sperm kromatin kondensasyonunun pozitif (yeşil-kondanse) ve negatif (sarı-dekondanse) gösterimi (100x immersiyon objektifi floresan mikroskobu görüntüsü)

5. TARTIŞMA, SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1. Tartışma

Obezite salgını, artan bir halk sağlığı problemidir. Obezitenin neden olduğu sorunların çoğu somatik sağlık üzerindeyken, son veriler üreme sağlığının da etkilenebileceğini göstermektedir. Kilo artışı, endokrin sorunlar, yüksek inflamatuvar mediatör seviyeleri, reaktif oksijen ürünleri (ROS) ve artmış testiküler sıcaklık gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla üreme fonksiyonunu olumsuz yönde etkiler (Sallmén et al., 2006; Palmer et al., 2012). İnfertilite, tüm çiftlerin %15'ini etkilediğinden, potansiyel olarak değiştirilebilir risk faktörlerinin tanımlanmasıyla hastaların üreme hedeflerine daha kolay ulaşmaları sağlanabilir. Ayrıca, obezite oranları arttıkça bu oranların üreme sağlığı üzerine etkilerini belirleme ihtiyacı doğmuştur. BKİ ve semen kalitesi arasındaki ilişkiyi inceleyerek, kilonun erkek fertilitesi üzerindeki etkilerini belirlemeye çalıştık.

Çalışmamızda, beden kitle indeksine göre ayrılan grupların arasında sperm konsantrasyonu ve motilite açısından istatistiki anlamlı bir ilişki bulunamadı. Obez gruptaki bireylerin sperm konsantrasyonu ortalaması, ideal kilodaki bireylere göre daha düşük olsa da (55 milyon/ml vs 47,65 milyon/ml; $p>0.1$) arada anlamlı fark bulunamadı (bkz: tablo 4.3). Benzer şekilde motilite değerlerini karşılaştırdığımızda, obez grubun ileri hareket yüzdesi ideal kilodaki gruba göre daha düşük olsa da (ileri: %41 vs %35,4; $p>0.1$) %32'nin (normal sınırlarda) üzerinde olduğundan hafif obez ve fazla kiloluluğun spermin motilitesi üzerindeki etkisinin klinik olarak anlamlı olmadığını söyleyebiliriz. Yapılan çalışmalarda, Hammiche et al. (2012) yüksek beden kitle indeksinin sperm konsantrasyonu ve motilitesi üzerinde olumsuz bir etki buldular. Bununla birlikte, Jensen et al. (2004) ve Koloszar et al. (2005) yaptıkları çalışmalarda, BKİ ve sperm konsantrasyonu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulamamışlardır. Beden kitle indeksi ile sperm parametreleri arasındaki ilişkiyi araştıran meta analizlerine baktığımızda; MacDonald et al. (2009) herhangi bir ilişki bulamadı ancak analizin konu aldığı çalışma sayısı sınırlıydı. Sermondade et al.'in (2013) yaklaşık 13.000 erkekten oluşan örnek büyüklüğünü temsil eden 21 çalışmanın değerlendirilmesi sonucunda obez erkeklerin, ideal kilolu erkeklere kıyasla oligozoospermi veya azoospermi açısından daha yüksek oranlara sahip olduğu

gösterilmiştir. Kısacası yüksek BKİ'nin sperm üretimini etkileyebileceği gösterilmiştir. Andersen et al. (2015) BKİ ve sperm konsantrasyonu, toplam sperm sayısı, progresif sperm motilitesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ters korelasyon gözlemledi. Ayrıca, BKİ ve total testosteron, SHBG, inhibin B ve AMH serum seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif bir ilişki buldular. Yapılan bu çalışmaları değerlendirdiğimizde, gruplardaki bireylerin fiziksel aktivitelerini bilmediğimizi belirtmek önemlidir. Katılımcıların egzersiz alışkanlıkları göz önüne alındığında, daha titiz çalışmaların semen parametrelerini etkileyebileceği düşünülebilir. Gerçekten de literatür, egzersizin semen parametreleri ve serum testosteron düzeyleri gibi hipotalamik-hipofiz-gonadal hormon düzeylerini iyileştirebileceğini düşündürmektedir (Safarineiad et al., 2009; Hakonsen et al., 2011; Bobbert et al., 2012). Ayrıca çalışmamızda, obez gruptaki bireylerin BKİ ortalaması 33,11 bulunmuştur (bkz: tablo 4.1); yani çoğunluğun I. Sınıf obez gruptan oluştuğu söylenebilir. Daha yüksek BKİ oranlarına sahip, II. ve III. Sınıf obezlerde sperm konsantrasyonu ve motilitesi negatif etkilenebilir. Nitekim Andersen et al. (2015) semen kalitesinde belirgin farklılıkları en çok beden kitle indeksi 35 kg / m² üzerinde olan erkeklerde saptamıştır.

Çalışmamızdaki grupların sperm morfolojisini değerlendirdiğimizde obez grubun normal sperm morfolojisinin ortalama değerini %3,15 bulduk (bkz: tablo 4.10). Andersen et al. (2015) benzer sonuçlara ulaşmış, BKİ ile normal sperm morfolojisi arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif ilişki gözlemlemiştir. Macdonald et al. (2013) Yeni Zelanda erkeklerinde BKİ'nin, semen parametreleri ve üreme hormonları arasındaki ilişkiyi incelediler ve sadece normal sperm morfolojisiyle ilgili negatif bir korelasyon bulmuştur. Shayeb et al. (2011) çalışmamızla benzer sonuçlara ulaşmıştır; obez erkeklerin ideal kilolu erkeklere kıyasla normal sperm morfolojisini daha düşük bulurken, sperm konsantrasyonu ve motilitesi ile BKİ arasında bir ilişki görülmemiştir. Aggerholm et al. (2008) beş ayrı çalışmayı birleştirmiş ve farklı BKİ grupları arasında semen parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gösterememiştir, ancak bu çalışmaya morfoloji dahil edilmemiştir. Genel olarak, BKİ ve sperm parametreleri ilişkisini inceleyen çalışmalar incelendiğinde, sperm morfolojisinin dahil edildiği çalışma sayısının az olması sebebiyle, obezitenin sperm morfolojisi üzerindeki etkisi net değildir.

Sperm DNA fragmentasyonu (SDF) ve sperm maturasyonu açısından üç grup arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur (akridin oranj: $p<0.01$, anilin mavisi: $p<0.01$, CMA3: $p<0.01$; bkz: tablo 4.11). Kort et al. (2006) yaptıkları çalışmada BKİ ve SDF arasındaki ilişkiyi SCSA ile değerlendirmiş ve benzer sonuçlara ulaşmıştır ($p<0.05$). İnfertilite kliniğine başvuran 483 erkekle yapılan bir çalışmada COMET kullanılarak BKİ ile DFİ arasında anlamlı ilişki bulunmuş; obez erkeklerde SDF oranları ideal kilolu erkeklere göre daha yüksek bulunmuştur (Chavarro et al., 2010). Dupont et al. (2013) TUNEL yöntemiyle yaptığı çalışmada obezitenin infertil hastalarda sperm DNA hasarına sebep olduğu gösterilirken; aynı yöntemle yapılan başka bir çalışmada ise BKİ ve SDF arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı (Tunc et al., 2010). Hakonsen et al.'ın (2011) 14 haftalık bir kilo verme programına katılan erkeklerle yapılan çalışmasında, kilo kaybı ile toplam sperm sayısında artış gözlemlerken, DFİ'de anlamlı bir fark görülmemiştir.

Yüksek seviyelerde sperm DNA fragmentasyonu düşük oranları ile ilişkili bulunmuştur. Robinson et al., (2012), 14'ü prospektif olan 16 kohort çalışmasını (2969 çift) dahil ettikleri meta analizinde, çalışmaların sekizinde akridin oranj testi, altısında TUNEL yöntemi ve ikisinde COMET kullanılmıştır. Bu meta analizi sonucunda, yüksek DNA hasarı olan hastalarda, düşük DNA hasarı olanlara kıyasla düşük yapma oranlarında önemli bir artış göstermişlerdir ($p<0.0001$). Osman et al., (2015) SDF'nin IVF ve ICSI sonrası canlı doğum oranlarına etkisini araştıran meta analizi sonucunda, yardımcı üreme teknikleri uygulanan çiftlerde, genel olarak yüksek SDF olanlara kıyasla düşük SDF olanların canlı doğum oranlarında anlamlı bir artış gözlemlemiştir ($p=0.0005$).

Sperm DNA fragmentasyonu, hem doğal gebelik hem de in vitro fertilizasyon (IVF) için gebelik başarısında önemli bir belirteçtir. Yüksek derecede DNA hasarı, infertilite riskinin arttığına işaretler. (Twigg et al., 1998; Seli and Sakkas, 2005). Yine de BKİ ve sperm DNA hasarı arasındaki ilişki, standart semen parametrelerinden daha az araştırılmış olsa da mevcut sonuçlar bize BKİ ve DFİ arasında anlamlı pozitif korelasyon olduğunu göstermektedir. Bu da aşırı kilo ve obezitenin, standart parametreleri (sperm konsantrasyonu ve motilitesi) etkilemese bile DFİ üzerinden semen kalitesini düşürebileceğini düşündürmektedir.

Birkaç mekanizma yüksek bir BKİ'nin sperm parametreleri üzerindeki zararlı etkilerini açıklayabilir. Çalışmalarda obezitenin, insülin direnci ve dislipidemi gibi sebeplerinin, artmış oksidatif stres ile ilişkili olduğunu belirtmiştir (Dandona et al., 2005; Davi and Falco, 2005). Oksidatif stres (OS), sperm kalitesini bozduğu için erkek faktörü subfertilitesinin bağımsız bir belirteçidir (Ebisch et al., 2008). Bir rat çalışmasında, obezitenin OS'yi arttırarak sperm hareketliliğini düşürdüğünü ve DNA fragmentasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Bakos et al., 2011). Yani obezite, oksidatif stresi arttırabilir ve artan OS sperm DNA fragmentasyonuna yol açar.

Ayrıca, fazla kilo ve obezitenin, leydig ve sertoli hücre fonksiyonlarını bozarak, GnRH-LH / FSH ritmini etkileyip seks hormonlarının salınımını, sperm üretimi ve olgunlaşmasını etkilediği gösterilmiştir (Hammoud et al., 2008). Sonuç olarak, yüksek BKİ oranı, düşük total testosteron, SHBG, inhibin B seviyeleri ve yüksek serum estradiol seviyeleri ile ilişkilidir (Jensen et al., 2004; Chavarro et al., 2010). Ek olarak, fazla kilolu ve obez erkeklerde daha yüksek olan serum leptin, bozulmuş sperm kalitesinin bir nedeni olan testosteron sentezini inhibe eder (Hofny et al., 2010). Bunlara rağmen, kilo kaybının obez erkeklerde testosteron seviyelerini normalleştirdiği bilinirken, bunun sperm kalitesini de geri kazanıp kazanmadığı net olarak bilinmemektedir (Globerman et al., 2005).

BKİ ve semen parametreleri ilişkisinin incelendiği bu çalışmanın sonuçları, daha önce yayınlanmış çalışmaların bulgularına katkıda bulunmaktadır. 43 obez erkekte halihazırda yapılan bir kilo kaybı denemesi, toplam sperm sayısında istatistiksel olarak anlamlı artışlarla olumlu sonuçlanmıştır (Hakonsen et al., 2011). Bu nedenle gelecekteki araştırmalar, erkeklerde kilo verme ve yaşam tarzı değişikliği sonrasında, DFİ gibi diğer semen kalitesi ölçümlerinin incelenmesi de klinik olarak fayda sağlayacaktır.

5.2. Sonuç ve Öneriler

Erkek obezitesi, sperm DNA hasarı riski ve spermin normal morfolojisinin azalması ve dolayısıyla sperm kalitesinin düşmesi ile ilişkilidir. BKİ'nin konsantrasyon ve motilite üzerinde klinik anlamlı negatif bir etkisi bulunmasa bile SDF'nin artması sperm kalitesini düşürebileceğinden, fazla kilo ve obezitenin erkek fertilitasını olumsuz etkileyebileceği düşünülmektedir.

Yüksek sperm DNA hasarı yardımcı ürüme tekniklerinde canlı doğum oranlarını düşürür ve abortus ihtimalini yükseltir. SDF semen kalitesini belirlemede önemli bir belirteçtir. Kilo normalizasyonunun sperm DNA bütünlüğünü iyileştirip iyileştiremeyeceği de ayrıca araştırılmalıdır.

Kilo kaybı ve yaşam değişikliğinin semen kalitesi üzerindeki etkisi hala büyük ölçüde araştırılmamıştır. Bariatrik cerrahinin yaygınlaştığı günümüzde, sadece az kalori alımı ile olan kilo kaybı ile egzersiz ve yaşam tarzı modifikasyonları ile gerçekleştirilen kilo kaybı arasında bir fark olup olmadığı araştırılmalıdır. Subfertil çiftlerde kilo veren erkeklerin çocuk sahibi olma oranları hakkında bilgi verecek çalışmalara da ihtiyaç vardır; mevcut veriler bu soruya cevap verememektedir.



6. KAYNAKLAR

- Agarwal, A., & Allamaneni, S. S. (2005). Sperm DNA damage assessment: a test whose time has come. *Fertility and sterility*, 84(4), 850-853.
- Aggerholm, A. S., Thulstrup, A. M., Toft, G., Ramlau-Hansen, C. H., & Bonde, J. P. (2008). Is overweight a risk factor for reduced semen quality and altered serum sex hormone profile?. *Fertility and sterility*, 90(3), 619-626.
- Aitken, R. J., Bennetts, L. E., Sawyer, D., Wiklendt, A. M., & King, B. V. (2005). Impact of radio frequency electromagnetic radiation on DNA integrity in the male germline. *International journal of andrology*, 28(3), 171-179.
- Aitken, R. J., & De Iuliis, G. N. (2007). Origins and consequences of DNA damage in male germ cells. *Reproductive biomedicine online*, 14(6), 727-733.
- Aitken, R. J., & De Iuliis, G. N. (2009). On the possible origins of DNA damage in human spermatozoa. *MHR: Basic science of reproductive medicine*, 16(1), 3-13.
- Aitken, R. J., & Koppers, A. J. (2011). Apoptosis and DNA damage in human spermatozoa. *Asian journal of andrology*, 13(1), 36.
- Amann, R. P. (2008). The cycle of the seminiferous epithelium in humans: a need to revisit?. *Journal of andrology*, 29(5), 469-487.
- Andersen, J. M., Herning, H., Aschim, E. L., Hjelmæsæth, J., Mala, T., Hanevik, H. I., ... & Witczak, O. (2015). Body mass index is associated with impaired semen characteristics and reduced levels of anti-müllerian hormone across a wide weight range. *PloS one*, 10(6), e0130210.
- Aoki, V. W., Moskovtsev, S. I., Willis, J., Liu, L., Mullen, J. B. M., & Carrell, D. T. (2005). DNA integrity is compromised in protamine-deficient human sperm. *Journal of Andrology*, 26(6), 741-748.
- Bakos, H. W., Mitchell, M., Setchell, B. P., & Lane, M. (2011). The effect of paternal diet-induced obesity on sperm function and fertilization in a mouse model. *International journal of andrology*, 34(5pt1), 402-410.
- Bobbert, T., Mai, K., Brechtel, L., Schulte, H. M., Weger, B., Pfeiffer, A. F. H., ... & Diederich, S. (2012). Leptin and endocrine parameters in marathon runners. *International journal of sports medicine*, 33(03), 244-248.
- Bouchard, C., & Tremblay, A. (1990). Genetic effects in human energy expenditure components. *International journal of obesity*, 14, 49-55.
- Chavarro, J. E., Toth, T. L., Wright, D. L., Meeker, J. D., & Hauser, R. (2010). Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic. *Fertility and sterility*, 93(7), 2222-2231.
- Cheng, C. Y., & Mruk, D. D. (2012). The blood-testis barrier and its implications for male contraception. *Pharmacological reviews*, 64(1), 16-64.
- Chohan, K. R., Griffin, J. T., Lafromboise, M., De Jonge, C. J., & Carrell, D. T. (2006). Comparison of chromatin assays for DNA fragmentation evaluation in human sperm. *Journal of andrology*, 27(1), 53-59.

- Cooper, T. G., Noonan, E., Von Eckardstein, S., Auger, J., Baker, H. W., Behre, H. M., ... & Vogelsohn, K. M. (2010). World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Human reproduction update*, 16(3), 231-245.
- Corona, G., Rastrelli, G., Monami, M., Saad, F., Luconi, M., Lucchese, M., ... & Maggi, M. (2013). Body weight loss reverts obesity-associated hypogonadotropic hypogonadism: a systematic review and meta-analysis. *European Journal of Endocrinology*, 168(6), 829-843.
- Dandona, P., Aljada, A., Chaudhuri, A., Mohanty, P., & Garg, R. (2005). Metabolic syndrome: a comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation. *Circulation*, 111(11), 1448-1454.
- Davi, G., & Falco, A. (2005). Oxidant stress, inflammation and atherogenesis. *Lupus*, 14(9), 760-764.
- Dupont, C., Faure, C., Sermondade, N., Boubaya, M., Eustache, F., Clément, P., ... & Benzacken, B. (2013). Obesity leads to higher risk of sperm DNA damage in infertile patients. *Asian journal of andrology*, 15(5), 622.
- Ebisch, I. M., Thomas, C. M., Wetzels, A. M., Willemsen, W. N., Sweep, F. C., & Steegers-Theunissen, R. P. (2008). Review of the role of the plasminogen activator system and vascular endothelial growth factor in subfertility. *Fertility and Sterility*, 90(6), 2340-2350.
- Eisenberg, M. L., Kim, S., Chen, Z., Sundaram, R., Schisterman, E. F., & Buck Louis, G. M. (2013). The relationship between male BMI and waist circumference on semen quality: data from the LIFE study. *Human reproduction*, 29(2), 193-200.
- Esteves, S. C. (2014). Clinical relevance of routine semen analysis and controversies surrounding the 2010 World Health Organization criteria for semen examination. *International braz j urol*, 40(4), 433-453.
- Evenson, D., & Jost, L. (2000). Sperm chromatin structure assay is useful for fertility assessment. *Methods in Cell Science*, 22(2-3), 169-189.
- Evenson, D., & Wixon, R. (2006). Meta-analysis of sperm DNA fragmentation using the sperm chromatin structure assay. *Reproductive biomedicine online*, 12(4), 466-472.
- Fariello, R. M., Pariz, J. R., Spaine, D. M., Cedenho, A. P., Bertolla, R. P., & Fraietta, R. (2012). Association between obesity and alteration of sperm DNA integrity and mitochondrial activity. *BJU international*, 110(6), 863-867.
- Fejes, I., Koloszar, S., Szöllo" si, J., Zavaczki, Z., & Pal, A. (2005). Is semen quality affected by male body fat distribution?. *Andrologia*, 37(5), 155-159.
- Fernández, J. L., & Gosálvez, J. (2002). Application of FISH to detect DNA damage. In *In Situ Detection of DNA Damage* (pp. 203-216). Humana Press.
- Fernández, J. L., Muriel, L., Rivero, M. T., Goyanes, V., Vazquez, R., & Alvarez, J. G. (2003). The sperm chromatin dispersion test: a simple method for the determination of sperm DNA fragmentation. *Journal of andrology*, 24(1), 59-66.

- Ferramosca, A., Di Giacomo, M., Moscatelli, N., & Zara, V. (2018). Obesity and male infertility: role of fatty acids in the modulation of sperm energetic metabolism. *European journal of lipid science and technology*, 120(4), 1700451.
- Fleming, N. M., Robinson, T., Thomson, M., Graetz, B., Margono, N., ... & Abraham, J. P. (2014). Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The lancet*, 384(9945), 766-781.
- Fraser, L. (2004). Structural damage to nuclear DNA in mammalian spermatozoa: its evaluation techniques and relationship with male infertility. *Pol J Vet Sci*, 7(4), 311-321.
- Globerman, H., Shen-Orr, Z., Karnieli, E., Aloni, Y., & Charuzi, I. (2005). Inhibin B in men with severe obesity and after weight reduction following gastroplasty. *Endocrine research*, 31(1), 17-26.
- Goossens, E., & Tournaye, H. (2013). Adult stem cells in the human testis. In *Seminars in reproductive medicine* (Vol. 31, No. 01, pp. 039-048). Thieme Medical Publishers.
- Haider, S. G. (2004). Cell biology of Leydig cells in the testis. *Int Rev Cytol*, 233(4), 181-241.
- Hakonsen, L. B., Thulstrup, A. M., Aggerholm, A. S., Olsen, J., Bonde, J. P., Andersen, C. Y., ... & Ramlau-Hansen, C. H. (2011). Does weight loss improve semen quality and reproductive hormones? Results from a cohort of severely obese men. *Reproductive health*, 8(1), 24.
- Hamidi, J., Frainais, C., Amar, E., Bailly, E., Clément, P., & Ménéz, Y. (2015). A double-blinded comparison of in situ TUNEL and aniline blue versus flow cytometry acridine orange for the determination of sperm DNA fragmentation and nucleus decondensation state index. *Zygote*, 23(4), 556-562.
- Hammiche, F., Laven, J. S., Twigt, J. M., Boellaard, W. P., Steegers, E. A., & Steegers-Theunissen, R. P. (2012). Body mass index and central adiposity are associated with sperm quality in men of subfertile couples. *Human reproduction*, 27(8), 2365-2372.
- Hammoud, A. O., Wilde, N., Gibson, M., Parks, A., Carrell, D. T., & Meikle, A. W. (2008). Male obesity and alteration in sperm parameters. *Fertility and sterility*, 90(6), 2222-2225.
- Heller, C. G. (1964). Kinetics of the germinal epithelium. *Recent Prog Horm Res*, 20, 545-745.
- Heller, C. G., & Clermont, Y. (1963). Spermatogenesis in man: an estimate of its duration. *Science*, 140(3563), 184-186.
- Hermo, L., Lalli, M., & Clermont, Y. (1977). Arrangement of connective tissue components in the walls of seminiferous tubules of man and monkey. *American Journal of Anatomy*, 148(4), 433-445.

- Hofny, E. R., Ali, M. E., Abdel-Hafez, H. Z., Kamal, E. E. D., Mohamed, E. E., El-Azeem, H. G. A., & Mostafa, T. (2010). Semen parameters and hormonal profile in obese fertile and infertile males. *Fertility and sterility*, 94(2), 581-584.
- Hoshi, K., Katayose, H., Yanagida, K., Kimura, Y., & Sato, A. (1996). The relationship between acridine orange fluorescence of sperm nuclei and the fertilizing ability of human sperm. *Fertility and sterility*, 66(4), 634-639.
- Hruby, A., & Hu, F. B. (2015). The epidemiology of obesity: a big picture. *Pharmacoeconomics*, 33(7), 673-689.
- Irez, T., Sahmay, S., Ocal, P., Goymen, A., Senol, H., Erol, N., ... & Guralp, O. (2015). Investigation of the association between the outcomes of sperm chromatin condensation and decondensation tests, and assisted reproduction techniques. *Andrologia*, 47(4), 438-447.
- Irvine, D. S., Twigg, J. P., Gordon, E. L., Fulton, N., Milne, P. A., & Aitken, R. J. (2000). DNA integrity in human spermatozoa: relationships with semen quality. *Journal of andrology*, 21(1), 33-44.
- Jensen, T. K., Andersson, A. M., Jørgensen, N., Andersen, A. G., Carlsen, E., & Skakkebaek, N. E. (2004). Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men. *Fertility and sterility*, 82(4), 863-870.
- Katib, A. (2015). Mechanisms linking obesity to male infertility. *Central European journal of urology*, 68(1), 79.
- Kelly, T., Yang, W., Chen, C. S., Reynolds, K., & He, J. (2008). Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *International journal of obesity*, 32(9), 1431.
- Kim, H. S., Kang, M. J., Kim, S. A., Oh, S. K., Kim, H., Ku, S. Y., ... & Choi, Y. M. (2013). The utility of sperm DNA damage assay using toluidine blue and aniline blue staining in routine semen analysis. *Clinical and experimental reproductive medicine*, 40(1), 23-28.
- Koloszar, S., Fejes, I., Zavaczki, Z., Daru, J., Szöllösi, J., & Pal, A. (2005). Effect of body weight on sperm concentration in normozoospermic males. *Archives of andrology*, 51(4), 299-304.
- Kort, H. I., Massey, J. B., Elsner, C. W., Mitchell-Leef, D., Shapiro, D. B., Witt, M. A., & Roudebush, W. E. (2006). Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. *Journal of andrology*, 27(3), 450-452.
- MacDonald, A., Herbison, G. P., Showell, M., & Farquhar, C. M. (2009). The impact of body mass index on semen parameters and reproductive hormones in human males: a systematic review with meta-analysis. *Human reproduction update*, 16(3), 293-311.
- Macdonald, A. A., Stewart, A. W., & Farquhar, C. M. (2013). Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones in New Zealand men: a cross-sectional study in fertility clinics. *Human reproduction*, 28(12), 3178-3187.

- McKelvey-Martin, V. J., Melia, N., Walsh, I. K., Johnston, S. R., Hughes, C. M., Lewis, S. E. M., & Thompson, W. (1997). Two potential clinical applications of the alkaline single-cell gel electrophoresis assay:(1) human bladder washings and transitional cell carcinoma of the bladder; and (2) human sperm and male infertility. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 375(2), 93-104.
- Morris, I. D. (2002). Sperm DNA damage and cancer treatment 1. *International journal of andrology*, 25(5), 255-261.
- Munger, S. C., Natarajan, A., Looger, L. L., Ohler, U., & Capel, B. (2013). Fine time course expression analysis identifies cascades of activation and repression and maps a putative regulator of mammalian sex determination. *PLoS genetics*, 9(7), e1003630.
- Murase, H., Noguchi, T., & Sasaki, S. (2018). Evaluation of simultaneous binding of Chromomycin A3 to the multiple sites of DNA by the new restriction enzyme assay. *Bioorganic & medicinal chemistry letters*, 28(10), 1832-1835.
- Oliva, R. (2006). Protamines and male infertility. *Human reproduction update*, 12(4), 417-435.
- Osman, A., Alsomait, H., Seshadri, S., El-Toukhy, T., & Khalaf, Y. (2015). The effect of sperm DNA fragmentation on live birth rate after IVF or ICSI: a systematic review and meta-analysis. *Reproductive biomedicine online*, 30(2), 120-127.
- Ostling, G., & Johanson, K. J. (1984). Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and biophysical research communications*, 123(1), 291-298.
- Palmer, N. O., Bakos, H. W., Fullston, T., & Lane, M. (2012). Impact of obesity on male fertility, sperm function and molecular composition. *Spermatogenesis*, 2(4), 253-263.
- Paniagua, R., & Nistal, M. (1984). Morphological and histometric study of human spermatogonia from birth to the onset of puberty. *Journal of anatomy*, 139(Pt 3), 535.
- Potter, S. J., & DeFalco, T. (2017). Role of the testis interstitial compartment in spermatogonial stem cell function. *Reproduction*, 153(4), R151-R162.
- Prince, F. P. (2001). The triphasic nature of Leydig cell development in humans, and comments on nomenclature. *The Journal of endocrinology*, 168(2), 213-216.
- Print, C. G., & Loveland, K. L. (2000). Germ cell suicide: new insights into apoptosis during spermatogenesis. *Bioessays*, 22(5), 423-430.
- Ravussin, E., & Bogardus, C. (2000). Energy balance and weight regulation: genetics versus environment. *British Journal of Nutrition*, 83(S1), S17-S20.
- Robinson, L., Gallos, I. D., Conner, S. J., Rajkhowa, M., Miller, D., Lewis, S., ... & Coomarasamy, A. (2012). The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates: a systematic review and meta-analysis. *Human reproduction*, 27(10), 2908-2917.

- Russell, L. D., Ren, H. P., Hikim, I. S., Schulze, W., & Hikim, A. P. S. (1990). A comparative study in twelve mammalian species of volume densities, volumes, and numerical densities of selected testis components, emphasizing those related to the Sertoli cell. *American Journal of Anatomy*, 188(1), 21-30.
- Safarinejad, M. R., Azma, K., & Kolahi, A. A. (2009). The effects of intensive, long-term treadmill running on reproductive hormones, hypothalamus-pituitary-testis axis, and semen quality: a randomized controlled study. *Journal of Endocrinology*, 200(3), 259.
- Sakkas, D., & Alvarez, J. G. (2010). Sperm DNA fragmentation: mechanisms of origin, impact on reproductive outcome, and analysis. *Fertility and sterility*, 93(4), 1027-1036.
- Sallmén, M., Sandler, D. P., Hoppin, J. A., Blair, A., & Baird, D. D. (2006). Reduced fertility among overweight and obese men. *Epidemiology*, 520-523.
- Schell, C., Albrecht, M., Spillner, S., Mayer, C., Kunz, L., Kohn, F. M., ... & Mayerhofer, A. (2010). 15-Deoxy- Δ^{12-14} -prostaglandin-J2 induces hypertrophy and loss of contractility in human testicular peritubular cells: implications for human male fertility. *Endocrinology*, 151(3), 1257-1268.
- Seli, E., & Sakkas, D. (2005). Spermatozoal nuclear determinants of reproductive outcome: implications for ART. *Human reproduction update*, 11(4), 337-349.
- Sellami, A., Chakroun, N., Ben Zarrouk, S., Sellami, H., Kebaili, S., Rebai, T., & Keskes, L. (2013). Assessment of chromatin maturity in human spermatozoa: useful aniline blue assay for routine diagnosis of male infertility. *Advances in urology*, 2013.
- Sermondade, N., Faure, C., Fezeu, L., Shayeb, A. G., Bonde, J. P., Jensen, T. K., ... & Chavarro, J. E. (2012). BMI in relation to sperm count: an updated systematic review and collaborative meta-analysis. *Human reproduction update*, 19(3), 221-231.
- Shamsi, M. B., Kumar, R., & Dada, R. (2008). Evaluation of nuclear DNA damage in human spermatozoa in men opting for assisted reproduction. *Indian Journal of Medical Research*, 127(2).
- Shayeb, A. G., Harrild, K., Mathers, E., & Bhattacharya, S. (2011). An exploration of the association between male body mass index and semen quality. *Reproductive biomedicine online*, 23(6), 717-723.
- Simon, L., Murphy, K., Shamsi, M. B., Liu, L., Emery, B., Aston, K. I., ... & Carrell, D. T. (2014). Paternal influence of sperm DNA integrity on early embryonic development. *Human Reproduction*, 29(11), 2402-2412.
- Stevens, G. A., Singh, G. M., Lu, Y., Danaei, G., Lin, J. K., Finucane, M. M., ... & Paciorek, C. J. (2012). National, regional, and global trends in adult overweight and obesity prevalences. *Population health metrics*, 10(1), 22.
- Svechnikov, K., Landreh, L., Weisser, J., Izzo, G., Colón, E., Svechnikova, I., & Söder, O. (2010). Origin, development and regulation of human Leydig cells. *Hormone research in paediatrics*, 73(2), 93-101.

- Tamburrino, L., Marchiani, S., Montoya, M., Marino, F. E., Natali, I., Cambi, M., ... & Muratori, M. (2012). Mechanisms and clinical correlates of sperm DNA damage. *Asian journal of andrology*, 14(1), 24.
- Tarozzi, N., Nadalini, M., Stronati, A., Bizzaro, D., Dal Prato, L., Coticchio, G., & Borini, A. (2009). Anomalies in sperm chromatin packaging: implications for assisted reproduction techniques. *Reproductive biomedicine online*, 18(4), 486-495.
- Tunc, O., Bakos, H. W., & Tremellen, K. (2011). Impact of body mass index on seminal oxidative stress. *Andrologia*, 43(2), 121-128.
- Turek P. Male reproductive physiology. In: Campbell-Walsh urology 11th ed. Wein AJ, Kavoussi LR, Partin AW, Peters CA, editors. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2016. p. 516-37.
- Twigg, J., Fulton, N., Gomez, E., Irvine, D. S., & Aitken, R. J. (1998). Analysis of the impact of intracellular reactive oxygen species generation on the structural and functional integrity of human spermatozoa: lipid peroxidation, DNA fragmentation and effectiveness of antioxidants. *Human reproduction (Oxford, England)*, 13(6), 1429-1436.
- Verhoeven, G., Hoebe, E., & De, K. G. (2000). Peritubular cell-Sertoli cell interactions: factors involved in PmodS activity. *Andrologia*, 32(1), 42-45.
- Wang, Y., Beydoun, M. A., Liang, L., Caballero, B., & Kumanyika, S. K. (2008). Will all Americans become overweight or obese? Estimating the progression and cost of the US obesity epidemic. *Obesity*, 16(10), 2323-2330.
- World Health Organization. Obesity and overweight. Fact Sheet. (2016), <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>.

7. EKLER

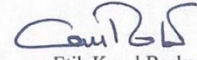
Ek 1: Etik Kurul Onayı

Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu

30.04.2019

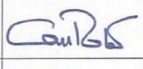
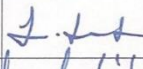
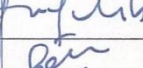
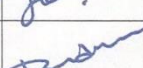
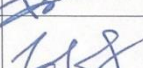
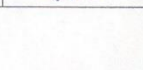
Sayın Dr.ÖğrÜyesi.Emre SALABAŞ

Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu yapılan inceleme sonucunda planladığı “**Beden Kitle İndeksinin Sperm Parametrelerine ve Sperm DNA Fragmentasyonuna Etkisinin İncelenmesi**” isimli araştırmanızın kurulumuzun 30.04.2019 tarihli toplantısında etik yönden uygun olduğuna karar verilmiştir.



Etik Kurul Başkanı
Prof.Dr.Can Polat EYİĞÜN

T.C.
BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI

Tarih: 30.04.2019 Toplantı Sayısı:28	Karar No: 2019/28-11 Dr.Öğr.Üyesi.Emre SALABAŞ'ın planladığı "Beden Kitle İndeksinin Sperm Parametrelerine ve Sperm DNA Fragmentasyonuna Etkisinin İncelenmesi" konulu araştırma incelendi, yapılan inceleme sonucunda araştırmanın etik yönden uygun olduğuna karar verildi.			
ÜYELER				
Adı soyadı	Alanı	Bölümü	Katılım	İmza
Prof.Dr.Can Polat EYİĞÜN	Tıp Fakültesi	Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.D	Etik Kurul Başkanı	
Prof.Dr.Leman ŞENTURAN	Sağlık Bilimleri Fakültesi	Hemşirelik Bölümü	Etik Kurul Başkan Yardımcısı	
Prof.Dr.Fatma ÇELİK	Sağlık Bilimleri Fakültesi	Beslenme ve Diyetetik Bölümü	Üye	
Doç.Dr.Şölen HİMMETOĞLU	Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya A.D.	Raportör	
Doç.Dr.Burcu KARADUMAN	Diş Hekimliği Fakültesi	Periodontoloji A.D.	Üye	
Dr.Öğr.Üyesi Zeynep HOŞBAY	Sağlık Bilimleri Fakültesi	Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Bölümü	Üye	
Dr.Öğr.Üyesi. Ayşe Dilşad YAKUT	Eğitim Fakültesi	Özel Eğitim	Üye	

Ek 2: Hastane İzin Belgesi

BİRÜNİ

ÜNİVERSİTE HASTANESİ

Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığına;

Biruni Üniversite Hastanesi Dr. Öğr. Üyesi Emre SALABAŞ'ın yürütücüsü olduğu, Biruni Üniversitesi Klinik Embriyoloji TezliYüksek Lisans Programı öğrencisi Semiye Elif ELKATMIŞ'ın araştırmacısı olduğu "Beden kitle indeksinin sperm parametrelerine ve sperm DNA fragmantasyonuna etkisinin incelenmesi" isimli tez çalışmasında, hastanemiz üroloji polikliniğine gelen hastaların semen örneklerinin, çalışma sonrası atık materyallerinin tez çalışmasında kullanılması tarafımdan uygun görülmüştür.

BİRÜNİ ÜNİVERSİTE HASTANESİ
SAĞLIK EĞİTİMİ UYG. ve ARAŞTIRMALARI
Dr. Öğr. Üyesi Türkan ÜZÜM
Mesul Müdür
Dip.Tes.No:94324 Kurum Kodu: 349977



Ek 3: Gönüllü Onam Formu

BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ

“GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR” İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırma Projesinin Adı: ‘Beden kitle indeksinin sperm parametrelerine ve sperm DNA fragmantasyonuna etkisinin incelenmesi’

Sizi, ‘Beden Kitle İndeksinin Sperm Parametrelerine ve Sperm DNA Fragmantasyonuna Etkisinin İncelenmesi’ başlıklı bir araştırmaya davet ediyoruz. Bu araştırmaya katılıp katılmama kararını vermeden önce, araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını bilmeniz gerekmektedir. Bu nedenle bu formun okunup anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız. Eğer anlayamadığınız ve sizin için açık olmayan şeyler varsa, ya da daha fazla bilgi isterseniz bize sorunuz. Bu anket çalışmasına katılmak tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır. Çalışmaya katılmama hakkına sahipsiniz. Çalışma hakkında tam olarak bilgi sahibi olduktan sonra ve sorularınız cevaplandıktan sonra eğer katılmak isterseniz sizden bu formu imzalamanız istenecektir. Bu formlardan elde edilecek bilgiler tamamen araştırma amacı ile kullanılacaktır.

Sorumlu Araştırmacı: Dr. Öğr. Üyesi Emre Salabaş

Çalışmanın amacı nedir; benden başka kaç kişi bu çalışmaya katılacak?

Sizi davet ettiğimiz çalışmanın amacı vücut ağırlığı ile erkek üreme potansiyeli ölçütleri arasındaki ilişkiyi incelemektir. Çalışmanın ortalama altı ay sürmesi ve yaklaşık 60 kişinin katılması planlanmaktadır.

Bu çalışmaya katılmalı mıyım?

Bu çalışmada yer alıp almamak tamamen size bağlıdır. Şu anda bu formu imzalarsanız bile istediğiniz herhangi bir zamanda bir neden göstermeksizin çalışmayı bırakmakta özgürsünüz. Eğer katılmak istemez iseniz veya çalışmadan ayrılırsanız, vermiş olduğunuz semen örneğinin analiziyle ilgili süreç rutin olarak devam edecek ve işlem sonucunuzu yine planlanan tarihte almış olabileceksiniz. Kısacası bu çalışmaya katılıp katılmamanız analiz sürecini pozitif ya da negatif herhangi bir şekilde etkilemeyecektir.

Bu çalışmaya katılmamanın maliyeti nedir?

Bu çalışmaya katılmanız halinde herhangi bir maddi sorumluluk altına girmeyeceksiniz.

Kişisel bilgilerim nasıl kullanılacak?

Araştırma sorumlusu, kişisel bilgilerinizi, araştırmayı ve istatistiksel analizleri yürütmek için kullanacaktır ancak kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır. Yalnızca gereği halinde, sizinle ilgili bilgileri etik kurullar ya da resmi makamlar inceleyebilir. Çalışma sonuçları çalışma bitiminde yalnızca bu araştırmada olmak üzere tıbbi literatürde yayınlanabilecektir ancak kimliğiniz açıklanmayacaktır.

Daha fazla bilgi için kime başvurabilirim?

Çalışma ile ilgili ek bilgiye gereksiniminiz olduğunuzda aşağıdaki kişi ile lütfen iletişime geçiniz.

ADI : Semiye Elif Elkatmış

GÖREVİ : Diğer Araştırmacı

TELEFON : 05373735747

Biruni Üniversitesi'nde Semiye Elif Elkatmış tarafından tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı ve ilgili metni okudum.

Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim.

Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum. Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir neden göstermeden araştırmadan çekilebilirim. *(Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim)*. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

Araştırmadan elde edilen benimle ilgili kişisel bilgilerin gizliliğinin korunacağını biliyorum.

Araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sorun ile karşılaştığımda; Semiye Elif Elkatmış'ı 05373735747 nolu telefondan arayabileceğimi biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın, gönüllülük içerisinde katılmayı kabul ediyorum.

Katılımcı

Adı, soyadı:

Tel:

İmza:

8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Semiye Elif ELKATMIŞ

Doğum Tarihi ve Yeri: 07.08.1993, İstanbul

Öğrenim Durumu: Lisans

Derece	Okul Adı ve Bölümü	Mezuniyet Yılı
Lise	Özel Gökkuşuğu Lisesi	2011
Lisans	İstanbul Üniversitesi, Genetik ve Biyomühendislik	2016

9.İNTİHAL RAPORU

BEDEN KİTLE İNDEKSİNİN SPERM PARAMETRELERİNE VE SPERM DNA FRAGMENTASYONUNA ETKİSİNİN İNCELENMESİ

ORJİNALLIK RAPORU

%8

BENZERLİK ENDEKSİ

%3

İNTERNET
KAYNAKLARI

%3

YAYINLAR

%5

ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Eastern Mediterranean University Öğrenci Ödevi	%2
2	acikerisim.pau.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
3	Submitted to Inonu University Öğrenci Ödevi	%1
4	GÖKSU, Sıtkı, KOÇOĞLU, Hasan, GÜNGÖR, Gülen and ELMACIOĞLU, M. Ali. "Çocuklarda sevofluranin iki değişik konsantrasyondaki etkilerinin halotanla karşılaştırılması", TUBITAK, 2001. Yayın	%1
5	acikerisim.aku.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
6	Catarina Almeida. "Obesidade e Infertilidade Masculina", Repositório Aberto da Universidade do Porto, 2014.	<%1