

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**ERKEK İNFERTİLİTESİ OLAN HASTALARDA SERUM VE
SEMİNAL PLAZMA ÇİNKO DÜZEYLERİNİN SPERM
PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. AYŞEN YÜCETÜRK**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. ÖZDEMİR HİMMETOĞLU**

**ANKARA
ARALIK 2011**

TEŞEKKÜR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı'ndaki uzmanlık eğitimim süresince çok değerli tecrübelerini hiçbir zaman esirgemeyen, mesleki eğitimime büyük katkıları olan tüm saygıdeğer hocalarıma, değerli çalışma arkadaşlarıma ve sevgili aileme teşekkür ederim

Bölüm başkanımız Prof. Dr. Anıl ONAN' a ve tez danışmanım Prof. Dr. Özdemir HİMMETOĞLU' na; tezin hazırlanma aşamasındaki yardım ve katkılarından dolayı Prof. Dr. Mehmet ERDEM, Prof. Dr. Ahmet ERDEM, Prof. Dr. Hatice PAŞAOĞLU, Doç. Dr. Lütfi TUNÇ hocalarıma teşekkür ederim. Ayrıca numunelerin çalışılmasında göstermiş oldukları yardımlar nedeniyle embriyolog Seyhan GÜMÜŞLÜ ve diğer embriyolog arkadaşlara teşekkür ederim. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tüp Bebek Merkezi çalışanlarına ve Tıbbi Biyokimya çalışanlarına da numunelerin toplanması ve çalışılması esnasında göstermiş oldukları yardımlar nedeniyle teşekkür ederim.

SAYGILARIMLA

Dr. Ayşen Yüçetürk

Aralık 2011

KISALTMALAR

BMI:	Body Mass İndeksi
FSH:	Folikül Stimulan Hormon
LH:	Lüteinizan Hormon
DHT:	Dihidrotestosteron
WHO:	Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)
YÜT:	Yardımcı Üreme Teknikleri
ATZS:	Astenoteratozoospermi
AZS:	Astenozoospermi
AAS:	Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi
Cu:	Bakır
Zn:	Çinko
SOD:	Süperoksit dismutaz
STD:	Seksüel geçişli hastalıklar
NZS:	Normozoospermi
OZS:	Oligozoospermi
Azoo:	Azoospermi
n:	Sayı
%:	Yüzde

SS:	Standart sapma
ROS:	Reaktif oksidatif türler
ESHRE:	European society of Human Reproduction and Embryology
ATP:	Adenozin trifosfat
PSA:	Prostat spesifik antijen
MAR:	Mikst antiglobülin reaksiyonu
PR:	Progresif
NP:	Nonprogresif
HOS:	Hipoozmotik şişme testi
RPR:	Revolutions Per Minute
PPM:	Milyondaki parçacık sayısı (Parts Per Million)
mM:	Mili Mol
MPa:	Megapascal
ng:	Nanogram
pg:	Pikogram
µm	Mikrometre
Kg:	Kilogram
µg:	Mikrogram
mg:	Miligram
mM:	Milimol

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1: İnsanda seminal plazmada bulunan maddeler ve konsantrasyonları.

Tablo 2.2: Erkek infertilitesine sebep olan “Konjenital” ve “Akkiz” nedenler ve etki mekanizmaları.

Tablo 4.1: Yaş, BMI, evlilik yaşı, evlilik süresi, korunmasız ilişki süresi, infertilite süresi, cinsel ilişki sıklığı, mastürbasyon sıklığı açısından ortalama değerler ve dağılımları.

Tablo 4.2: Olguların yaş gruplarının semen analizi sonuçlarına göre dağılımı.

Tablo 4.3: Hasta gruplarında gündelik alışkanlıkların dağılımının karşılaştırılması.

Tablo 4.4: Hasta gruplarının günlük sigara kullanım miktarları ve içme süreleri dağılımının karşılaştırılması.

Tablo 4.5: Hasta gruplarının infertilite süreleri ve BMI’ lerinin dağılımının karşılaştırılması.

Tablo 4.6: Hasta grupları arasında varikosel öyküsü ve ailede infertilite öyküsünün dağılımlarının karşılaştırılması.

Tablo 4.7: Çalışma grubunda infertilite tipi ve infertilite nedenlerinin dağılımı.

Tablo 4.8: Çalışma grubunun semen analizi, serum ve seminal plazma çinko düzeylerinin ortalama değerleri ve istatistiksel dağılımı.

Tablo 4.9: Hasta gruplarının ortalama hormon ölçüm değerlerinin karşılaştırılması.

Tablo 4.10: Semen analizi parametrelerinin hasta grupları arasında dağılımı.

- Tablo 4.11:** Hasta gruplarının ortalama serum ve seminal plazma çinko düzeylerinin karşılaştırılması.
- Tablo 4.12:** Semen analizi normal/ anormal olan gruplarda serum ve seminal plazmada çinko düzeylerinin karşılaştırılması.
- Tablo 4.13:** Semen analizinde spermin motil/ immotil olmasına göre oluşturulan gruplar arasında serum ve seminal plazmadaki çinko düzeylerinin karşılaştırılması.
- Tablo 4.14:** Sigara içen ve içmeyen gruplarda semen analizi parametrelerinin ve serum ve seminal plazma çinko düzeylerinin karşılaştırılması.
- Tablo 4.15:** Yaş gruplarına göre serum ve seminal plazma çinko düzeylerinin ve semen parametrelerinin ortalama değerlerinin dağılımı.
- Tablo 4.16:** Serum ve seminal plazma çinko düzeyi ile semen analizi parametrelerinin korelasyonu.
- Tablo 4.17:** Besin tüketim şekline göre serum ve seminal plazmadaki ortalama çinko düzeylerinin dağılımı.

İÇİNDEKİLER

Teşekkür.....	i
Kısaltmalar.....	ii
Tablolar dizini.....	iv
İçindekiler.....	vi
I. GİRİŞ.....	1
II. GENEL BİLGİLER	4
A. İnfertilite Tanımı, İnsidansı ve Etiyolojisi.....	4
A.1. Tanım ve İnsidans.....	4
A.2. Etiyoloji.....	4
B. Erkek İnfertilitesi	5
B. 1. Erkek Üreme Sistemi.....	5
B. 2. Spermatogenez.....	7
B. 3. Semen Genel Özellikleri.....	9
B. 4. Erkek İnfertilitesi Etiyolojisi.....	16
B. 5. Erkek İnfertilitesi Tanısı İçin Önerilen Testler	20
C. Eser Element Çinko.....	24
C. 1. İnsanda Çinko Metabolizması.....	24
C. 2. Çinko İçeren Gıdalar	25
C. 3. Çinko ve Üreme Sistemi.....	25
C. 4. Çinko Analizi.....	28

III. MATERYAL VE METOD.....	33
A. Hasta Seçimi.....	33
B. Çalışmamızda Kullanılan Yöntem.....	34
C. İstatistiksel Değerlendirme.....	37
IV. BULGULAR.....	38
V. TARTIŞMA.....	53
VI. SONUÇLAR.....	69
VII. ÖZET.....	73
VIII. SUMMARY.....	76
IX. KAYNAKLAR.....	79
X. EKLER.....	104
Ek 1: Çalışmamızdaki Hasta Gruplarının Serum ve Seminal Plazma Ortalama Çinko Düzeyi ile Literatürdeki Fertil ve İnfertil Olgulardaki Ortalama Çinko Düzeylerinin Dağılımı.....	104
Ek 2: Etik Kurul Onayı.....	105

I. GİRİŞ

Fertilite, Latince “fertilis” kelimesinden köken alır ve üretken olma halini ifade eder. Aynı zamanda sperm kalitesinin dölleyebilir özellikte olduğunu da gösterir (1).

Sağlıklı genç çiftlerde, 12 aylık süre içindeki gebelik beklentisi %85 dir. Bir menstrüel siklusta gebelik beklentisi yaklaşık olarak %15-25 dir. Aylık gebe kalma olasılığı korunmasız ilişkinin devam ettiği ilk yıl boyunca her ay düşmesine karşın; kümülatif gebelik oranları artar. Yedi siklus sonunda, fekundabilite %10 un altına düşer ve 12 siklus sonunda çiftlerin sadece % 3 ü gebe kalabilir (2).

Çocuk isteyen bir çift, 12 aylık korunmasız ve düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebelik elde edemiyorsa, infertil olarak kabul edilirler. İnfertilite evli çiftlerin yaklaşık olarak %10-15 inde görülür. İnfertilite etiyojisinde erkek faktörü %30 olguda tek başına, %20 olguda da kadın faktörü ile birlikte rol alır (2).

Reproduktif bozukluğu olmayan genç çiftlerde, infertilite değerlendirmesine başlamak için 1 yıl beklenmesi uygundur. Fertiliteyi azaltan durumlarda veya ileri maternal yaşı olanlarda erken değerlendirme gereklidir (3).

Sperm hücrelerinin, Van Leeuwenhoek tarafından 1677 yılında, mikroskop altında görülmesine kadar erkek infertilitesinde bir ilerleme olmamıştır (4). 1929 yılında, Macomber ve Sanders sperm sayımının kurallarını yayınlamış ve sonrasında infertil erkeklerin değerlendirilmesinde semen analizi esas alınmıştır (5). Semen hücresel olmayan kısmı üzerindeki çalışmalar ilk kez 1933 yılında

Huggins ve Johnson'ın semen biyokimyası ile ilgili yaptığı çalışmalar ile başlamıştır (6). Mann, sperm sayısının normal olması yanında seminal sıvının kimyasal komponentinin fertilizasyon için önemli olduğunu ilk kez 60'lı yıllarda göstermiştir (7).

Erkek infertilitesinin araştırılması için öncelikle fizik ve genital muayene, daha sonra da semen analizi ve serum hormonlarını içeren laboratuvar çalışmaları yapılır. Semen analizi, erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde ilk yapılması gereken laboratuvar testidir. Semen analizi **WHO (Dünya Sağlık Örgütü)** tarafından standardize edilmiştir. Semen analizi ejakülatın makroskopik incelenmesi yanında spermin konsantrasyonu, motilitesi ve morfolojisi gibi mikroskopik değerlendirmeleri de içerir. Aynı kişiden değişik zamanlarda yapılan semen analizlerinde farklı sonuçlar elde edilebilmektedir. Bunun nedeni spermatogenez sürecinin yaklaşık 2,5 ay olması ve bu sürecin çeşitli etkilerin altında olmasından kaynaklanmaktadır.

Semenin kalitesini etkileyen birçok element bulunmaktadır. Bu elementler arasında çinko, bakır, selenyum, magnezyum, kadmiyum, nikel, kalsiyum, alüminyum, kurşun, krom, molibden, gümüş, stronsiyum, manganez ve kalay gibi eser elementler sıkça sayılmakta; ve bunların vücut sıvılarındaki ve seminal plazmadaki düzeyleri son zamanlarda oldukça araştırılmaktadır.

Çinko bütün canlı organizmalarda bulunan ve insanların normal gelişmesinde ve seksüel olgunlaşmasında gerekli olan bir eser elementtir (8, 10, 74). Çinko aynı zamanda hücre membranının yapısının ve fonksiyonlarının yürütülmesinde de önemli rol oynar (11). Çinko ayrıca vücudun bütün

işlevlerinde fonksiyon gösteren 200 den fazla enzimin yapısında da rol alır. Birçok hormonun fonksiyonu için çinkonun gerekli olduğu bilinmektedir. Çinko bağışıklık sistemi, yaraların iyileşmesi, büyüme ve gelişme, saç uzaması, insülin üretimi, duyuşal fonksiyonlar (görme, koku, tat), cinsel fonksiyonlar ve doğurganlık için de gerekli olduğu bilinen bir mineraldir.

Bu araştırmada amacımız, açıklanamayan infertilite tanısı alan çiftlerin erkek olguları ile erkek infertilitesi tanısı alan olguların serum ve seminal plazma çinko düzeylerinin, sperm parametreleri üzerine etkisinin olup olmadığını değerlendirmek; ve bu yönden literatüre katkıda bulunmaktır. Ayrıca çalışmamız çinkonun serum ve seminal plazmadaki düzeyleri ile olguların yaşam tarzı, beslenme alışkanlıkları, cerrahi prosedürler, sigara kullanımlarını da dikkate alarak elde edilen sonuçlarının irdelenmesini de hedeflemektedir.

II. GENEL BİLGİLER

A. İNFERTİLİTE TANIMI, İNSİDANSI VE ETİYOLOJİSİ

A1. Tanım ve İnsidans:

İnfertilite, bir yıl boyunca korunmasız düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebelik olmamasıdır. İnfertilite insidansı %10-15 olarak bildirilmiştir (12). İnfertilite insidansı, 20-24 yaş arası %6 iken, 35 yaş üstünde %30 lara kadar çıkmaktadır (13).

Fekundabilite, bir menstrüel siklusta gebelik oluşma olasılığını belirtir ve normal çiftlerde %20-25 olarak bildirilmiştir. Fekundabilite infertilite tedavisinin başarı oranlarını yorumlamada kullanılır.

Fekundite, bir siklusun canlı doğumla sonuçlanma olasılığı olarak tanımlanmaktadır (12). Yedi menstrüel siklus sonunda fekundite % 10 un altına düşer ve çiftlerin sadece % 3 ü 12 siklus sonunda gebe kalabilir.

A2. Etiyoloji:

Başlıca infertilite nedenleri erkek faktörü (%35), tubal ve pelvik faktör (%35), ovulatuvar disfonksiyondur (%15). Yapılan tetkikler sonucunda herhangi bir neden saptanamayan olgular ise açıklanamayan infertil (%15) olarak kabul edilir (14). 7273 evli infertil çift üzerinde infertilite nedenine göre yapılan bir WHO çalışmasında, %41 oranında kadın, %24 oranında erkek, %24 oranında kadın ile erkek birlikte infertiliden sorumlu bulunmuştur. Hastaların % 11 inde ise infertilite nedeni gösterilememiştir (16).

ERKEK İNFERTİLİTESİ

B. 1. Erkek Üreme Sistemi:

Erkek üreme sistemi 4 yapıdan oluşmaktadır (19):

1. Gonadlar (Testis):

Testis, ekzokrin (sperm oluşumu) ve endokrin (testosteron yapımı) fonksiyonları olan; 4- 5 cm uzunlukta, 2. 5 cm genişlikte, 3 cm kalınlıkta ve 10-15 gr ağırlığında, ortalama 20 ml hacmi olan bir çift organdır.

Testiküler hacim ile sperm konsantrasyonu, FSH (Folikül Stimülan Hormon), LH (Lüteinizan Hormon) ve prolaktin düzeyleri arasında doğrusal bir ilişki olduğu gösterilmiştir (20).

Seminifer tübüller, testisin glandüler dokusudur ve ekzokrin fonksiyonundan sorumludurlar. Salgılama biçimi aktif holokrin olup, salgı materyali spermatositlerdir. Tek bir insan testisinde seminifer tübüllerin toplam uzunluğu 250 m kadardır (21, 22, 167). Seminifer tübüller içeriklerini rete testise boşaltırlar.

Sertoli hücreleri, bazal lamina üzerinde germ hücreleri arasına yerleşmiş, seminifer epitel boyunca uzanan piramidal hücrelerdir. Apikal yüzeylerinde spermatositlerin yerleşmesi için girintiler vardır. Peritubuler doku, sertoli hücreleri ve spermatogoniumlar arasında makro moleküllerin geçişini engelleyen zonula okludens bulunmaktadır (Kan-testis bariyeri) (20).

Leydig hücreleri, kan kapilleri çevresinde tek tek ya da gruplar halinde bulunan 15- 20 µm çapındaki hücrelerdir. Fetal yaşamda 4-5. ayda plasental

gonadotropinlerin etkisiyle gelişirler. Doğumdan sonra atrofiye uğrarlar. Puberte de ise LH uyarısıyla yeniden belirginleşirler.

2. Genital Boşaltım Kanalları:

Düz tübüller, rete testis ve duktus efferentesler intratestiküler boşaltıcı kanalları oluştururlar. Duktus epididimis, duktus deferens, duktus ejakulatorius ve üretra ise aksesuar kanallardır. Bu kanallar testisten penise kadar uzanırlar.

Epididim: 8-15 adet ductus eferentes birleşerek duktus epididimis adıyla tek bir kanal haline gelir. 4 cm uzunluğunda yumaklar halindeki bu yapı, açılıp düz hale getirildiğinde 6 m uzunluğa erişir. Duktus epididimisin görevi spermatozoanın transportu, depolanması ve maturasyonudur.

Duktus deferens: 2-3 mm kalınlığında, 35 cm uzunluğunda, lümen çapı 0,3- 0,5 mm olan tübüler bir yapıdır. Seminal vezikülden gelen kanalla birleşen duktus deferens **duktus ejakulatorius** adını alır. Bu kanal prostatik üretraya açılır. Fonksiyonu spermin transportu, fagositozu ve sekresyonudur.

3. Aksesuar Genital Bezler:

Seminal vezikül: Mesane ve prostatın arka yüzünde, rektuma komşu; 5 cm boyunda, 10-15 cm uzunluğunda, 2-2,5 cm genişliğinde bir yapıdır. Duktus ejakulatorius ile prostata bağlanır. Fruktoz, su, prostaglandin ve C vitamininden oluşan bazik bir salgısı vardır. Salgının esas görevi sperm motilitesini uyarmaktır. Ejakulasyonu izleyen dönemde semenin koagülasyonundan sorumlu substratları salgılar (29).

Prostat: Mesane boynundan başlayan ve arka üretrayı çepeçevre saran, 4x3x2 cm boyutunda bir bezdir. Fibromusküler bir kapsülü vardır. Ejekülatör

kanallar prostatı arkadan delerek içinden geçerler. Prostat sekresyonu parasempatik stimülasyon ile artar. Ejakulat volümünün %15-30 unu prostat salgısı oluşturur. Salgısı spermin hareketine yardımcı olur. Ayrıca, alkalen natürü sayesinde vajenin asit olan pH. sını nötralize eder. Sekresyonun içinde asit fosfataz, prostatik antibakteriyel faktör, sitrik asit, spermin, lipid, fruktoz, çinko, proteolitik enzimler, immunglobulinler, sodyum, klor ve bikarbonat bulunmaktadır.

Bulbo- Üretral Bezler (Cowper Bezleri): Prostatın altında ve üretranın iki yanında yer alan, bezelye büyüklüğünde bir çift salgı bezidir. Cinsel uyarılma ile birlikte üretra içine berrak, koyu ve mukus benzeri alkali bir sıvı salgılamaya başlarlar. Bu sayede idrarın asiditesini nötralize eder (34).

4. Penis ve Üretra:

Penis korpus spongioza, üretra ve 2 adet korpus kavernozumdan oluşur. Üretra çapı 8-9 mm. dir.

B. 2. Spermatogenez (34, 167):

Spermatogenez 46 kromozomlu spermatogoninin, 23 kromozomlu spermatozoaya dönüşüm sürecidir. Spermatogonium ve genç spermatositler seminifer tubulusların bazal tabakasında bulunurken; olgun spermatositler ve spermatidler sertoli hücrelerinde seminifer tübüllerin altında yer alan adluminal kompartmanda bulunurlar. Germinal hücreler, bazal membrandan lümene doğru farklılaşma sırasına göre dizilirler.

Primer spermatosit: Spermatogoniumlara komşu olup, lümene daha yakındırlar. Primer spermatositler oluşur oluşmaz 1.mayoz bölünmenin profaz evresine girer. Profaz evresi 22 gün sürer. Bu nedenle sayıca en çok görülen hücre tipi primer spermatositir. 46 (diploid) kromozom taşır.

Sekonder spermatosit: Primer spermatosit 1.mayozu tamamlayınca, 2 tane haploid yapıda sekonder spermatosit oluşur. Oluşan sekonder spermatositler 2.mayoza girerek, 23 haploid kromozom içeren **Spermatid'** leri meydana getirir. Bu evreye kadar olan değişim sürecine "**Spermatogenez**" denir. İki mayoz bölünme sonunda; 1 primer spermatositten, haploid kromozomlu 4 adet spermatid oluşur. Bu aşamalar için gerekli süre 64-74 gün arasındadır. Bunların ikisi 22+X, diğer ikisi de 22+Y kromozom düzenine sahiptirler.

Spermatogenezin başlaması için FSH; devamı içinse testosteron gereklidir. Spermatidten spermatozooya farklılaşma olayına "**Spermiogenezis**" denir. Spermiogenezis evreleri sırasıyla golgi fazı, başlık fazı, akrozom fazı ve olgunlaşma fazıdır. **Akrozom**, fertilizasyon için gerekli hyaluronidaz ve proakrozin gibi hidrolitik enzimler içermektedir. Ovumun fertilizasyonu sırasında, akrozomal membranın oosit plazma membranı ile birleşmesi sonucunda akrozom reaksiyonu oluşmakta ve enzimatik yapı serbestleşmektedir. **Olgunlaşma Fazı'** nda ise, lizozomdan zengin olan sertoli hücreleri, rezidü şeklindeki spermatid sitoplazmasını fagosite ederler.

Sperm kuyruğunda hareketin oluşumunu sağlayan temel yapı **Aksonem'**dir. Aksonem ikili mikrotübüllerden oluşmaktadır. Mikrotübüller **Dynein** olarak bilinen yapısal bir proteinden oluşmaktadır.

Spermiogenezi tamamlayan hücrelere “**Spermatozoa**” denir. Bunlar morfolojik olarak matür; ancak fonksiyonel olarak immatürdürler. Sperm motilitelerini epididimde kazanırlar. Epididim fonksiyonu için gerekli olan hormon dihidrotestosterondur. Epididime ait patolojiler, ejakülattaki sperm karakter ve işlevinde değişikliklere yol açarlar. Deneysel olarak, epididim başından alınan sperm ovumu fertilize edemezken; epididim kuyruk bölümünden alınan sperm fertilize edebilmektedir. Bu da sperm fertilizasyon yeteneklerini epididimde kazandıklarını göstermektedir (33). Sperm epididimden geçiş süresi yaklaşık olarak 2 gündür. Daha sonra rete testis sıvısıyla duktus deferense gelirler.

Spermatozoa: 50-60 mikron uzunluğundadır. Baş, boyun, orta ve kuyruk olmak üzere dört kısımdan oluşur. Baş kısmının uzunluğu 5-6 mikron, genişliği 2.5- 3.5 mikrondur. Akrozom kısmı, başın %40- %70 ini oluşturmaktadır. Orta parçanın genişliği 1 mikron, uzunluğu 1.5 x baş uzunluğu kadardır. Kuyruk kısmının boyu 45 mikrondur. Orta parçadan daha incedir ve kıvrılmamış bir yapıdadır. Baş bölümünün büyük kısmını, içerisinde paternal DNA’ nın olduğu çekirdek kaplamaktadır.

B. 3. Semen Genel Özellikleri:

Semen; seminal plazma ve spermatozoadan oluşur. Spermatozoaların dışındaki kısım, seminal plazma olarak adlandırılır. Total volümün % 1 den azını spermatozoalar oluşturur. Ejakulat ortalama 3- 3,5 ml. dir. Bunun 1.5- 2 ml. si seminal vezikülden; 0.5 ml. si prostattan; 0.1- 0.2 ml. si Cowper ve Littre

bezlerinden gelir. Ejekülatın ilk bölümü spermden zengindir; sonraki kısımları ise seminal vezikül salgısından oluşur. Seminal sıvı visköz, nötral veya hafif alkali olup; içerdiği flavine bağlı olarak sarı renktedir. Bu madde semenin ultraviyole ışığında florans vermesini sağlar (26). İlk kısım sperm ve prostat salgısından; ikinci kısım ise seminal vezikül salgısından zengindir. Semen normal bir şekilde oluşabilmesi için, ejakulasyonda seminal vezikül, prostat, Cowper ve Littre bezlerinin sekresyonlarının birleşmesi gerekir (28).

Seminal plazmanın pH. sı 7,2- 7,8 dir. En önemli görevi spermatozoanın transportunu sağlamak ve vajenin pH. sını tamponlamaktır. Seminal plazmanın pH. sı 6,2 nin altına düştüğünde spermatozoa motilitesi azalmaya başlar. Semen hacmi az olduğunda da; yeterince tampon kapasitesi oluşturamayacağı için, spermatozoanın motilitesi azalır. Hacim fazla olduğunda ise spermatozoanın konsantrasyonu düşecektir. Spermatozoa ejakülatın ilk kısmında yer aldığından bu durum bir dezavantaj oluşturmaz (24).

Seminal plazma kompozisyonu mevsimsel olarak farklılık gösterebilmektedir. Ayrıca ejakülasyondan sonra, seminal plazmadaki enzim ve spermlerin metabolik aktivitesine bağlı olarak da, seminal plazmanın kompozisyonu değişmektedir. İnsan ejakülatının ilk bölümü, sperm ve prostatik bir sekresyon olan sitrik asit yönünden zengindir. Fruktoz, seminal veziküllerin majör sekretuar ürünüdür. Diğer vücut sıvılarından farklı olarak seminal plazma yüksek konsantrasyonlarda potasyum, çinko, sitrik asit, fruktoz, fosforilkolin, spermin, serbest amino asitler ve prostaglandinler içermektedir. Ayrıca önemli düzeylerde asit fosfataz, beta glukronidaz, laktik dehidrogenaz, alfa amilaz ve

prostat spesifik antijen (PSA) içermektedir (25). Ayrıca Ig G, Ig A, Ig E, Ig M, FSH, LH, antitripsin, glikoprotein, inhibin, insülin, kininojen, prolaktin, relaksin, steroid bağlayıcı proteinler ve kan grubu antijenlerini de içermektedir (27).

Semende spermatozoa dışındaki diğer hücresel elemanlar bazı patolojik koşullarda görülürler. Bunlar eritrosit, lökosit, makrofaj, epitel hücresi, sertoli hücresi ve prostatik hücrelerdir (30). Seminal sıvının içindeki maddeler, semenin fizikokimyasal özelliklerinin yanı sıra; spermatozoaların aktivitesini ve fertilizasyon yeteneğini de önemli ölçüde değiştirebilirler. Bu nedenle infertil bir olguda, semen analizi ile birlikte tüm bezlerin sekresyonları da değerlendirilmelidir (31, 111, 112).

Semeni Oluşturan Sekresyonlar ve Kaynakları:

Semeni oluşturan sekresyonlar ve seminal plazmadaki konsantrasyonları **Tablo 2.1** de verilmiştir.

1- Testis Sekresyonları:

Testisin sekresyonlarının semene katkısı miktar olarak azdır; ancak spermatozoaları içermesinden ötürü son derece önemlidir. Rete testis sıvısı androjenler ve androjen bağlayan proteinler açısından oldukça zengindir.

2- Epididim Sekresyonları:

Karnitin, inositol, gliserofosforilkolin, lipidler ve fosfolipidlerden oluşan bir sekresyonu vardır. **Karnitin (Tablo 2.1)** epididimde spermatozoanın içinde asetillenir. Asetilkarnitin spermatozoa için hazır bir enerji kaynağıdır. Sperm

motilitesinin ve fertilizasyon yeteneğinin kazanılması için epididimal sıvıda 60 milimol karnitin olmalıdır. Seminal sıvı karnitin düzeyleri testosteron etkisine bağlıdır. Karnitinin spermatozoanın membran geçirgenliğinde de rol oynadığı düşünülmektedir (32).

Spermatozoa, fertilizasyon öncesi, epididimde olgunlaşır. Epididimde çinko eksikliğine bağlı olarak, androjen sentez ve sekresyonunda bir bozulma olur. Buna sekonder olarak da spermde morfolojik değişiklikler ortaya çıkar (79, 80, 117, 138).

3- Seminal Vezikül Sekresyonları:

Seminal vezikül sekresyonları; semenin koagülasyonunda, spermin motilitesinde, sperm kromatinin stabilitesinin sağlanmasında ve kadın üreme sisteminin immün aktivitesinin baskılanmasında önemli role sahiptir.

Seminal vezikül fonksiyonun incelenmesinde kullanılan en yaygın biyokimyasal parametrelerden biri **Fruktoz (Tablo 2.1)** ölçümüdür. Fruktoz ile hareketli sperm sayısı arasında ters bir ilişki vardır. Bunun nedeni, ejakulasyondan sonra hareketli spermin fruktozu kullanılmasıdır (29, 36). Semende fruktoz yokluğu retrograd ejakulasyonu düşündürmelidir. Non- obstrüktif azospermisi olan olgularda, semen fruktozu yüksek olarak saptanır (35).

Ejakülator kanalın tıkanıklığına bağlı azospermi gelişen olgularda; serum testosteron düzeyi normal, seminal fruktoz düzeyi ise düşüktür. Seminal vezikül ve vas deferens yokluğunda ise düşük semen yoğunluğu (<0,5 mL), düşük pH, düşük fruktoz düzeyi ve normal serum FSH düzeyi saptanır (29).

Kalsiyum (Tablo 2.1); seminal vezikül, prostat ve epididim salgılarında bol miktarda bulunur. Kalsiyumun sperm maturasyonunun ve hareketliliğinin sağlanmasında önemli bir rolü vardır.

Seminal plazmada yüksek miktarlarda bulunan diğer bir element ise magnezyumdur (32). **Magnezyum (Tablo 2.1)**, enerji metabolizması ve nükleik asit sentezinde kofaktör olarak görev alır. Spermatogenezde ve sperm motilitesinde rol oynar. Seminal vezikül fonksiyonlarını değerlendirmek için kullanılır (38). Yapılan bir araştırmada, düşük seminal plazma magnezyum düzeylerinin prematür ejakülasyon ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca hücre içinde kalsiyum artışı ve nitrik oksit azalmasına bağlı olarak prematür ejakülasyon geliştiği belirtilmektedir (39, 129).

Ejakülasyon esnasında semen sıvı özelliğindedir. Seminal vezikül salgısı ile birleştiğinde koagüle olur. Seminal vezikülden salgılanan **Semenogelin I** koagülümün major komponentidir. Koagülüm elastik bir yapıdadır; bu nedenle spermiler içinde immotil olarak kalırlar. Koagülasyon bozukluğu sperm motilitesindeki bozulmanın da bir göstergesi olabilir (40). Fibrinojene benzer bir madde olan “**Vezikülaz**” da semende pıhtılaşmaya neden olmaktadır (42).

4- Prostat Sekresyonları:

Prostat seminal plazmanın başlıca anyonu olan sitrik asitin ana kaynağıdır. Prostat sıvısının osmotik dengesinin sürekliliği için **Sitrik asit (Tablo 2.1)** gereklidir. Sitrik asit, kalsiyum ve çinko gibi metallerle birleşerek bu maddelerin seminal sıvıya geçmesini sağlar (41).

Semendeki yüksek **Asit Fosfataz'** in nedeni prostat salgısıdır. Aynı zamanda prostat, vücutta **Çinko (Tablo 2.1)** içeriği en yüksek olan organdır (5-23mg/dL) (77). Seminal vezikül agenezi veya ejakülatör kanal tıkanıklıklarında prostat sekresyonları artar. Buna bağlı olarak da seminal asit fosfataz ve sitrik asit düzeylerinde bir artış olur. Asit fosfataz seviyesi ile sperm morfolojisi arasında da pozitif bir ilişki bulunmaktadır. Asit fosfataz seviyeleri yüksek olan erkeklerde, seminal plazma çinko seviyeleri de yüksektir. Bu da sperm morfolojisinde çinkonun fonksiyonel bir önemi olduğunu düşündürmektedir (78, 79, 80).

Likefaksiyon; normal bir semen örneğinde, 37 °C de, yaklaşık olarak 10-20 dakika içinde gerçekleşir. Likefaksiyon, normal prostat fonksiyonunun bir göstergesidir. Prostattan salgılanan fibrinolizin, fibrinokinaz ve aminopeptidaz gibi proteolitik enzimler likefaksiyondan sorumludur (41, 103). Likefaksiyonun olmaması prostat fonksiyonunun yetersiz olduğunu gösterir (41).

Prostat sıvısındaki kadar yüksek çinko seviyeleri "Trichomonas Vaginalis" i kolayca öldürebilmektedir. Bu da prostatik çinkonun antibakteriyel özelliğinin olabileceğini düşündürmektedir (81, 124).

5- Bulbo- Üretral Bez Sekresyonları:

Mukoproteinden zengin olan salgıları sayesinde üretranın lubrikasyonunu sağlarlar.

Tablo 2.1: İnsanda seminal plazmada bulunan maddeler ve konsantrasyonları (23):

MADDE	KONSANTRASYON
Sodyum	43-112 mM
Potasyum	14-28 mM
Kalsiyum	5-7 mM
Magnezyum	1,2-5 mM
Klorür	28-56 mM
Bikarbonat	8 mM
Fruktoz	2-33 mM
Glukoz	0,4 mM
Sorbitol	0,6 mM
İnozitol	3-3,5 mM
Laktik asit	2,2-5,6 mM
Pirüvik asit	3,4 mM
Sitrik asit	5,2-7,3 mM
Glutamik asit	6,5 mM
Askorbik asit	0,6 mM
Karnitin	0,2-1,3 mM
Asetilkarnitin	0,06-0,28 mM
Gliserofosfokolin	2,0-3,3 mM
Fosfokolin	14-21 mM
Spermin	3 mM
Spermidin	0,1 mM
Putresin	0,2 mM
Kreatin	1,5 mM
Arjinin	5,2 mM
Ergotionin	eser düzeyde
Ürik asit	0,1-0,4 mM
Protein	35-50 mg/ml

B. 4. Erkek İnfertilitesi Etiyolojisi:

Erkek infertilitesi nedenleri aşağıda gösterilmektedir. Bu nedenlerin pek çoğunun tanısı ancak dikkatli bir öyküyle konabilir. Bu nedenle erkek hastanın değerlendirilmesinde öykü çok önemlidir (**160**). Erkek infertilite tedavisinde başarı, indirekt olarak, kadının gebe kalması ile ölçülür (**15**).

Erkek infertilitesi nedenleri (178, 179) :

1. İdiyopatik erkek infertilitesi (% 31)
2. İnmemiş testis (% 7,8)
3. Ürogenital enfeksiyonlar (% 8,0)
4. Cinsel ve/ veya ejakülatuar disfonksiyon (% 5,9)
5. Sistemik hastalıklar (% 3,1)
6. Varikosel (% 15,6)
7. Hipogonadizm (% 8,9)
8. İmmünolojik faktörler (% 4,5)
9. Obstrüksiyonlar (% 1,7)
10. Diğer nedenler (% 5,5)

WHO parametrelerine göre sperm analizi terminolojilerinin tanımları ve nedenleri (17, 91):

1. **Aspermi:** Ejakülat yokluğu demektir. Aspermi yapan nedenler arasında retrograd ejakülasyon, vasküler nedenler, hormonal nedenler ve ereksiyon bozuklukları bulunmaktadır.

2. **Hipospermi:** Ejakulatın 2 ml. den az olması demektir. Hipospermi yapan nedenler arasında prostat, seminal vezikül ve vas deferensin enfeksiyonu; travma ve tümörlerinin yanı sıra; androjen eksikliği, ejakülatör kanalların tıkanıklıkları ve retrograd ejakülasyon da bulunmaktadır.
3. **Hiperspermi/ polizoospermi:** Sperm konsantrasyonunun sürekli olarak 250 milyon/ml. den fazla olmasıdır. Prostat ve seminal veziküllerin enfeksiyonunda veya cinsel ilişkinin seyrek olması durumunda görülür. Polizoospermik hastalarda akrozin aktivitesinin düşük olduğu ve akrozom reaksiyonunun gerçekleşemediği gösterilmiştir (105).
4. **Ejakulatta koagülasyon bozukluğu:** Ejakulatın koagüle olmaması durumudur. Seminal vezikül patolojilerinde görülür.
5. **Ejekülatta likefaksiyon bozukluğu:** Ejakulatın likefiye olmaması durumudur. Prostat ve bulbo- üretral bezin patolojilerinde görülür.
6. **Azospermi:** Ejakulatta sperm yokluğu demektir. Azospermi yapan nedenler arasında genetik bozukluklar, hormonal değişiklikler, germinal aplazi, bilateral vas deferens yokluğu ve ejakülatör kanallarda tıkanıklıklar sayılabilir.
7. **Oligozoospermi:** Sperm sayısının 15 milyon/ml. nin altında olmasıdır.
 - a. **Hafif Oligozoospermi:** Sperm sayısının 5-15 milyon/ml. nin arasında olmasıdır.
 - b. **Şiddetli Oligozoospermi:** Sperm sayısının 5 milyon/ml. nin altında olması demektir.

İdiyopatik olabildiği gibi; sistemik ve genital enfeksiyonlar, kromozomal bozukluklar, inmemiş testis, ilaçlar, kronik sistemik hastalıklar ve koit sıklığına bağlı olarak da gelişebilir.

8. Astenozoospermi: İleri hareketli spermatozoanın <%50 olması ya da ileri hızlı hareketli olanların <%25 olması anlamına gelir. Pek çok konjenital (Kartagener Sendromu) ve akkiz nedenlerle (enfeksiyon, ilaç, ısı) oluşabilir.

9. Teratozoospermi: Normal spermatozoa morfolojisinin belirli bir oranın altında (<%4) olması demektir. Teratozoospermi yapan nedenler arasında kromozomal bozukluklar, toksik maddeler, seminal kanallarda deformasyon ve epididim enfeksiyonu bulunmaktadır.

10. Astenoteratozoospermi: Spermilerin motilite ve morfolojik incelemesinin her ikisinin de normal sınırların altında olmasıdır.

11. Oligostenoteratozoospermi: Spermilerin sayı, motilite ve morfolojik incelemesinde üçünün birden normal sınırların altında olmasıdır.

12. Nekrozoospermi: Numunenin %25 den fazla ölü sperm hücresi içermesi anlamına gelir. İdiyopatik olabildiği gibi; toksik maddelerle temas, Kartagener Sendromu ve koit sıklığında azalma nedeniyle de oluşabilir.

Erkek infertilitesi sebepleri “Konjenital” ve “Akkiz” nedenler olarak da gruplandırılabilir. **Tablo 2.2** de bu nedenler ve infertilite mekanizmaları verilmiştir.

Tablo 2.2: Erkek infertilitesine sebep olan “Konjenital” ve Akkiz” nedenler ve etki mekanizmaları (Hargreave, 1994) (18, 161, 162).

KONJENİTAL(GENETİK) HASTALIKLAR	İNFERTİLİTE MEKANİZMASI
Kartagener Sendromu	İmmotil sperm
Kistik Fibrozis	İmmotil sperm, bilateral konjenital vaz deferens yokluğu
Androjen Reseptör Eksikliği	Genital malformasyon
Çöliak Hastalığı	Testiküler harabiyet
İnmemiş Testis	Testiküler harabiyet
ENFEKSİYON	İNFERTİLİTE MEKANİZMASI
Kabakulak	Testiküler atrofi ve sperm üretim defektleri
Tüberküloz, Gonore	Obstrüksiyon ve orşit
Klamidya	Obstrüksiyon
Tifo, İnfluenza, Brusella, Sifiliz	Orşit
ENDOKRİN HASTALIKLAR	İNFERTİLİTE MEKANİZMASI
Tirotoksikoz	Hormonal disfonksiyon
DM	Testiküler yet.ve erektile disfonksiyon
SİSTEMİK HASTALIKLAR	İNFERTİLİTE MEKANİZMASI
Hepatik yetmezlik	Hormonal disfonksiyon
Renal yetmezlik	Testiküler yetmezlik ve libido kaybı
SEKONDER TESTİKÜLER YETMEZLİK	İNFERTİLİTE MEKANİZMASI
Kromofob adenom	Hipofizer yetmez.+androjen eksikliği
Astrositom+ teratom+ sarkoidoz	Hipofizer yetmez.+androjen eksikliği
SOLUNUM YOLU HASTALIKLARI	İNFERTİLİTE MEKANİZMASI
Bronşiektazi, Kronik bronşit	İmmotil sperm
NÖROLOJİK HASTALIKLAR	İNFERTİLİTE MEKANİZMASI
Parapleji	Erektile disfonksiyon

TIBBİ TEDAVİ	İNFERTİLİTE MEKANİZMASI
KT/RT	Alkilleyici ajanlar ve RT geri dönüşümsüz testis harabiyeti yapar.
Simetidin	Reseptör düzeyinde androjen etkisinin inhibisyonu
Sülfazalin	Direkt toksisite
Spirolakton	Androjen antagonizasyonu
Nitrofurantoin	Direkt toksisite
Niridazol	Spermatogenezin inhibisyonu
Kolşisin	Spermatojenik toksisite
Antihipertansif ilaçlar/ Trankilizanlar	Eretil disfonksiyon

B. 5. Erkek İnfertilitesi Tanısı İçin Önerilen Testler

İnfertilitenin değerlendirilmesinde öncelikle detaylı bir tıbbi öykü alınmalı ve fizik muayene yapılmalıdır. Sonrasında ise semen analizi ve hormon profili (FSH, LH, Prolaktin, Testesteron, TSH) incelenmelidir. Bunların dışında erkek infertilitesinde kullanılan diğer tanı testleri şöyledir:

1. Sperm sayı ve motilite analizinde bilgisayar yardımlı sperm çözümleyicileri (CASA, Computer- Aided Sperm Analyser).
2. Antisperm antikorlarının değerlendirilmesinde kullanılan immünolojik testler:
 - i. MAR testi (Mixed Antiglobulin Reaction Test)
 - ii. IBT (Immunobead Test)

3. Sperm- servikal mukus etkileşimini değerlendiren testler: İn-vivo Test (postkoital test = Sims-Huhner Testi) veya İn-vitro Test (modifiye Miller- Kurzrok testi).
4. Ejekülasyon sonrası idrar örneğinin mikroskopik incelemesi: Ejekulat hacmi 1 ml. nin altında olduğunda, retrograd ejakülasyonu değerlendirmek için kullanılan bir yöntemdir.
5. Semen biyokimyasal analizi
6. Semen fonksiyon testleri: “Akrozomal Enzim Aktivitesi Tayini”, “Hipoosmotik Şişme Testi”, “Sperm Penetrasyon Testi”.
7. Genetik tarama: Karyotiplendirme ve Y kromozomu PCR analizi.

Semen Analizi:

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), daha önce çeşitli senelerde revize ettiği sperm analizi değerlendirme kılavuzunu, son olarak 2010 yılında yeniden düzenlemiştir (**Tablo 2.3**) (**37, 91, 92, 102, 179**).

Erkek faktörünün değerlendirilmesinde öncelikle, en az 4 hafta ara ile 2 semen analizinin yapılması gereklidir. Semen parametreleri fertil erkeklerde bile zaman içinde bazı değişiklikler gösterebilir (**93, 94, 95, 96, 101, 102**).

Semenin Toplanması: Genellikle 3- 5 günlük cinsel perhiz döneminden sonra yapılır. Semen örneğinin geniş ağızlı, kilitlenebilen cam kavanoz, petri kutusu veya poliprolen, polietilen kaplara; mastürbasyonla alınması tavsiye edilmektedir (**97**). Normal erkeklerde, her bir günlük abstinansta semen volümü 0,4 ml; semen konsantrasyonu ise 10-15 milyon/ml kadar artmaktadır. Bu artışın 5

güne kadar devam etmesi nedeniyle, semen analizlerinde cinsel perhiz süresinin 3-5 gün arasında olması önerilmektedir (98, 99, 100, 153, 154). Daha uzun perhiz sürelerinde ise semen volümünün ve yoğunluğunun artışı yanında; cansız, hareketsiz ve morfolojisi anormal sperm sayısında da bir artış olmaktadır (100).

WHO' nun semen analizi açısından daha önceki kılavuzlarında, semen analizinde biyokimyasal ve fonksiyon testleri olarak kullanılan “Hemizona İndeksi”, “HOS testi”, “Sperm Penetrasyon Assay”, sitrik asit ve asit fosfotaz incelemeleri yeni kriterlerde kullanılmamıştır (91, 92).

Sperm Sayı ve Motilitesinin Değerlendirilmesi: Manuel olarak Makler veya diğer sayım kamaraları ile değerlendirilebildiği gibi; video mikroskopik yöntem, bilgisayar sistemi (CASA) veya fotomikrografi (time-exposure ve multipl-exposure) ile değerlendirilebilir (110). Sağlıklı sonuç verebilmek için, 2 ayrı incelemede en az 200 sperm hücresinin hareket özellikleri değerlendirilmeli ve iki sonuç arasındaki fark %5 den fazla olmamalıdır.

Tablo 2.3: Semen analizi normal referans değerleri (WHO, 5. Baskı, 2010)
(37, 102, 179)

Görünüm	Homojen, gri- opak
Volüm (ml)	> 1, 5 (% 95 CI: 1,4- 1,7)
Ph	7, 2- 8. 0
Viskosite	< 3
Sperm sayısı (Spermatazoa / ml)	> 15 x 10 ⁶ (%95 CI: 12- 16)
Total sperm sayısı (Spermatazoa / ml)	> 39 x 10 ⁶ (% 95 CI: 33- 46)
Total Hareketlilik (progresif+ nonprogresif)	> % 40 (% 95 CI: 38- 42)
Progresif hareketlilik	% 32 (% 95 CI: 31- 34)
Progresif hareketli sperm sayısı (spermatazoa / ml)	> 3 x 10 ⁶
Morfoloji	>% 4 normal (% 95 CI: 3- 4)
Vitalite	> % 58 (% 95 CI: 55- 63)
Peroksidaz pozitif lökosit sayısı (x 10⁶/ ml)	< 1
İmmüno bead test	< % 50 partikülle kaplı sperm
MAR testi	< % 50 partikülle kaplı sperm
Çinko (mmol/ ejakülat)	> 2, 4
Fruktoz (mmol/ ejakülat)	> 13
Alfa – glukozidaz (nötral) (mU/ ejakülat)	>20

C. ESER ELEMENT ÇİNKO

C. 1. İnsanda Çinko Metabolizması:

Vücutta çok az bulunan bakır, çinko, selenyum, krom, mangan, kobalt gibi maddelere “eser element” denir. Bunların vücuttaki toplam ağırlığı 4 gramı geçmez. Vücuttaki miktarları genel olarak 100 µg/g. ın altındadır (43).

Erişkin bir insan vücudunda total 1,4- 2,4 gr. kadar bulunur. Günlük çinko ihtiyacı yaklaşık 15 mg. dır. Günlük 50 mg. dan daha fazla alındığında çinko toksisitesine neden olabilir. Eğer uzun süreli çinko kullanılacak ise, günlük olarak 20 mg. lık dozlarda alınması önerilir (44).

Çinko ince barsaktan absorbe edilir. Ancak, oral olarak alınan çinkonun %10-15 kadarı absorbe olur. Çinko vücuttan idrar ve feçesle atılır. Feçesteki çinkonun %10 u pankreas salgısından; geri kalanın büyük bir kısmı da safradan gelir. Günlük çinko kaybı; idrarla 500-700 µg., bir litre terle 1 mg kadardır. Seminal sıvıda çinko oldukça yüksek konsantrasyonda bulunur; her ejakulasyonda 1-1,7 mg çinko kaybedilir (46).

Çinko emilimini fitat, lifli besinler, selüloz, fosfat, kalsiyum, fosfor, oksalat, bakır, kadmiyum, inorganik demir, kalay, toprak ve kil azaltırken; protein, kazein, laktoz, şarap, D vitamini, D penisilamin, EDTA, lizin, sistein, glisin, histidin ise artırır (187).

Çinko kanda %84 ü albumine, %15 i α₂- makroglobuline ve %1 i de amino asitlere bağlı olarak taşınır. Çok az bir kısmı ise iyonik haldedir. Kandaki çinkonun %80 i eritrositlerdeki karbonik anhidraz enzimi içerisinde, %3 ü lökositlerde ve az miktarda da trombositlerin içerisinde (186).

Çinko vücutta saç (175 mg/ gr), tırnak (150 mg/ gr), semen (125 mg/ gr), kemik (101 mg/ gr), prostat (102 mg/ gr), karaciğer (55 mg/ gr), kas (33 mg/ gr), böbrek (54 mg/ gr), pankreas (21 mg/ gr), adrenal bezde (14 mg/ gr) yüksek miktarlarda bulunur (45, 188).

C. 2. Çinko İçeren Gıdalar:

İstiridye, kırmızı et, karaciğer, buğday tohumu, kabak çekirdeği, incir çekirdeği, çilek çekirdeği, altın çilek çekirdeği, keten tohumu, ısırgan tohumu, kuşburnu çekirdeği, üzüm çekirdeği, ayçiçeği çekirdeği, tüm tahıllar, badem, antep fıstığı, fındık ve süt gibi besinler iyi birer çinko kaynağıdır.

Bazı besinlerin 100 gramında bulunan çinko düzeyleri şöyledir:

istiridye 7 mg, karides 2.3 mg, balık 0.5 mg, sığır eti 5 mg, tavuk eti 1.1 mg, hindi eti 1.7 mg, karaciğer 7.8 mg, süt 0.35 mg, yoğurt 0.6 mg, peynir 2-4 mg, sütsüz çikolata 2 mg, kuru fasulye 3 mg, tam buğday 3 mg, bulgur 2.8 mg, pirinç 1.3 mg, mercimek 3.1 mg, makarna 1 mg, ekmek 2 mg, yumurta 1.5 mg, mısır 2.5 mg, brokoli 1 mg, havuç 0.4 mg, bezelye 0.7 mg, taze elma/ armut/ çilek/ kayısı/ şeftali/ üzüm/ kiraz 0.1 mg, incir 0.3 mg, badem 3.1 mg, ceviz/ fıstık 3 mg, fındık 2.4 mg. dır (185).

C. 3. Çinko ve Üreme Sistemi

Çinko, selenyum ve bakırla birlikte üreme fonksiyonlarında önemli görevleri olan eser elementlerden biridir. Çinkonun erkek reproduktif sistemi

üzerindeki etkileri uzun yıllardır incelenmektedir (Testiküler steroidogenez, Favier 1992, Hamdi ve ark. 1997; Testiküler gelişim, Hamdi ve ark. 1997; Spermatozoanın oksijen tüketimi, Eliasson ve ark. 1971; Nükleer kromatin kondensasyonu, Kvist. 1980; Akrozom reaksiyonu, Rizzo ve ark.1992; Akrosin aktivitesi, Steven ve ark. 1982; Sperm kromatin stabilizasyonu, Kvist ve ark.1990; Testosteron sentezi, Leake ve ark. 1984; Testosteronun 5 alfa DHT' a konversiyonu, Netter ve ark. 1981) (82).

Çinko normal testiküler gelişim için gereklidir. Germinal epitelin devamlılığından sorumludur. Çinko spermatogenezden sonra da, normal sperm fonksiyonlarının korunması için, gereklidir. Orak hücreli anemi, kronik alkolizm, idiopatik erkek infertilitesi, di-etil hekzil fitalat, fitalik asit toksisitesi gibi nedenler, çinkonun biyoyararlanımının azalmasına veya idrarda atılımının artmasına bağlı olarak çinko eksikliğine ve testis atrofisine neden olabilir (48, 52, 53, 54). Çinko eksikliği, testiküler diferansiasyonda önemi olan “Mülleryan İnhibe Edici Faktör” ün etkisini de bozar (55). Aynı zamanda hayvan çalışmalarında da, erkekte çinko eksikliğinin, gonadal disfonksiyon (48), testiküler ağırlıkta azalma ve seminifer tübüllerde küçülmeye yol açtığı saptanmıştır (49, 50, 51).

Gonad dokularında, nükleik asit ve protein sentezinde görev alan vital enzimlerin çoğu çinko metalloenzimleridir. Çinko DNA transkripsiyonunda, steroid reseptör ekspresyonunda ve protein sentezinde görev alan metalloenzimlerin kofaktörüdür (56, 57, 58, 59). Yapısında çinko bulunduran bazı **metalloenzimler** ve yer aldıkları reaksiyonlar şöyledir:

Karbonik anhidraz (CO_2 ve HCO_3 metabolizması), **Timidin kinaz** (nükleik asit ve protein sentezi), **DNA polimeraz** (nükleik asit ve protein sentezi), **RNA polimeraz** (nükleik asit ve protein sentezi), **Delta amino levunilikasit dehidrataz** (porfirin sentezi), **Glutamat dehidrogenaz** (amino asit deaminasyonu ve üre siklusu), **Ornitin transkarbomilaz** (amino asit deaminasyonu ve üre siklusu), **Gliseraldehit- 3- fosfat dehidrogenaz**, **glukokinaz** (glükoliz ve glukoneogenez), **Laktat dehidrogenaz** (glükoliz), **Alkol ve retinol dehidrogenaz** (alkol- retinaldehit dönüşümü), **Karboksiptidaz** (protein sindirimi, folat absorpsiyonu), **Aminoptidaz** (protein sindirimi, folat absorpsiyonu), **Superoksit dismutaz** (süperoksitlerin O_2 ve H_2O_2 ' ye dönüşümü) (59).

Sıçan spermatozoalarının kuyruk yapısının dış liflerinde sistein aminoasitleri vardır. Çinko bu aminoasitlerin -SH gruplarına bağlanır. Çinko eksikliği olan sıçan spermatidlerinde mitokondriyal düzensizlik, akrozom deformitesi, dekapasitasyon, aksonemal kompleks ve kuyruk yoğun liflerinde oluşum yetersizliği ve organizasyon bozukluğu gibi diğer defektlerin ortaya çıktığı gösterilmiştir (63, 64, 65).

Çinkonun, kalsiyum ve magnezyum konsantrasyonlarına bağlı olarak motiliteyi stimüle veya inhibe edebildiği gösterilmiştir (66). Yüksek çinko, kalsiyum ve magnezyum konsantrasyonunun, normal sperm yoğunluğu olan kişilerde, fertilitiyi bozduğu bildirilmiştir (67).

Spermdeki çinkonun, kromatinin kuarterner yapısının ve genomik entegrasyonunun korunmasında da fonksiyonu olduğu gösterilmiştir (70, 71, 72, 73, 83). Seminal plazmadaki çinkonun; spermatozoanın nükleer kromatin

dekondenzasyonunu ve akrozin aktivitesini etkilediği de bilinmektedir. Spermatozoanın nükleusunun pronukleusa dönüşebilmesi için, spermin oosite penetrasyonundan sonra kromatin çinko içeriğinin azalması gerekmektedir (71).

Yetersiz çinko ile beslenmenin oligo/azoospermi, impotans ve hipogonadizme yol açtığı ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (87).

Çinko eksikliğinin steroidogenezi baskıladığı gösterilmiştir (74). Bu baskılama; çinkonun steroid reseptörleri, androjen bağlayan proteinler ve androjen metabolizması üzerindeki etkisi nedeniyledir (75, 76).

Çinko eksikliğinde **ROS** (Reaktif Oksidatif Türler)' un neden olduğu oksidatif hasar artar. Aynı zamanda artan ROS düzeyleri de efektif seminal plazma çinko düzeyini azaltır (85).

Yüksek çinko düzeyleri spermin oksijen alımının azalmasına; sperm motilitesinin ve sperm başındaki mannoz reseptör fonksiyonunun azalmasına neden olmaktadır (90).

C. 4. Çinko Analizi

Eser elementlerin canlılardaki işlevlerini açıklayabilmek için, dokular ve vücut sıvılarında birçok araştırma yapılmıştır. Eser elementlerin araştırıldığı ortamlar başlıca kan olmak üzere çeşitli vücut sıvıları; tırnak ve saç örnekleri; karaciğer ve kemik dokusu gibi farklı doku örnekleridir.

Eser element analizinde güvenli sonuçlara ulaşmayı güçleştiren bazı sorunlar vardır (180, 181, 182):

- Analit konsantrasyonunun doğrudan analiz edilemeyecek kadar düşük olması;

- Analizi yapılacak elementin çok büyük bir örnekten ayrıştırılmasının gerekmesi;
- Numune hacminin düşük olması;
- Kontaminasyon. Numunenin alındığı çevrenin temizliği, örneği alan teknik elemanın temizliği, hastanın cildinin temizliği, laboratuara nakil ve örneğin muhafazası ile ilgili koşullar da numune sonucunu etkileyebilmektedir.

Ayrıca kan alma iğneleri, tüpler, tüp kapakları, kullanılan antikoagülanlar çinko analizini etkileyebilir. Özellikle ölçüm için alınan numune hacminin ve araştırılan eser elementlerin konsantrasyonlarının küçük olması, birkaç pikogramlık bir kontaminasyonun bile sonucu tamamen değiştirmesine neden olabilmektedir. Bazı reaktif bileşikler, su, cam malzeme ve laboratuvar ortamı bu sorunun kaynağı olabilmektedir. Bu faktörlere bağlı olarak da, sağlıklı bireylerin plazma veya serumunda tespit edilen eser element düzeylerinde ciddi uyumsuzluklar ortaya çıkabilmektedir.

Laboratuarlarda çalışılan **çinko testleri** iki gruba ayrılır. Birinci grupta plazma/ serum, kan hücresi, idrar ve tükürük numunelerinde çinko miktarı tayin edilir. İkinci grupta ise çinkoya bağlı metabolik fonksiyonlar test edilir. Bunlar alkalin fosfat, karbonik anhidraz, nükleosit fosforilaz ve ribonükleaz gibi enzimlerin enzim aktivasyonu ölçümü temel alınarak yapılır (**183, 187, 188, 190**).

- **Serum/ plazma çinko düzeyi:** Serum, plazmaya kıyasla % 16 daha fazla çinko içerir. Serum ya da plazmadaki değer o andaki vücut çinko düzeyini göstermekte yetersiz kalmaktadır.

- **Eritrosit çinko düzeyi:** Eritrositlerin ortalama yaşam süreleri 120 gündür. Bu sayede, vücudun uzun süreli çinko durumunu göstermede uygun bir yöntem olabilir.
- **Trombosit çinko düzeyi:** Yaşam süreleri eritrositlere göre daha kısa olduğu için akut değişiklikleri göstermede kullanılabilir. Ancak deneysel çinko eksikliğinde trombosit çinkosunun değişmediği gösterilmiştir.
- **Lökosit çinko düzeyi:** Nötrofillerin yarı ömrü 6-7 saat iken; monositlerin 1-3 gündür. Bunların çinko içerikleri polimorfonükleer lökositlere göre daha yüksektir. Saf hücre popülasyonunda ölçümler daha güvenilir sonuçlar vermektedir. Hata oranı yüksek olduğundan sık kullanılan bir yöntem değildir.
- **Saç çinko düzeyi:** Saç analizinde kirlilik, saç boyaları, şampuanlar, saçın alındığı bölge, saçın uzama hızı gibi faktörler yanıltıcı sonuçlara neden olabilir. Ancak saçtaki çinkonun kısa süreli değişimlerden etkilenmemesi; çabuk, kolay ve acısız toplanabilmesi nedeniyle saç numuneleri daha avantajlı görülmektedir.
- **İdrar çinko düzeyi:** Yirmi dört saatlik idrarda atılan çinko miktarı tanıda yardımcı olabilir. Ancak siroz, orak hücreli anemi, kronik böbrek hastalıklarında hiperzinküri olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.
- **Çinko bağımlı enzim aktivitesi:** Alkalen fosfataz, karboksipeptidaz, timidin kinaz gibi enzimler çinko eksikliğinden etkilenmektedir.

Günümüzde eser element analizlerinde kullanılan başlıca teknikler **AAS** (Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi), **ICP- OES** (İndüktif Eşleşmiş Plazma– Optik Emisyon Spektrometresi), **ICP- MS** (İndüktif Eşleşmiş Plazma– Kütle Spektrometresi) ve **NAA** (Nötrön Aktivasyon Analizi)’ dir.

Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi, eser elementlerin kantitatif tayininde sıklıkla tercih edilen bir yöntemdir. Birkaç elementin analizi aynı çözeltide; iyi bir duyarlılık ve doğrulukla; çok kısa bir sürede gerçekleştirilebilmektedir. Bunun yanında ucuz bir yöntem olması nedeniyle de tercih edilmektedir. Bu yöntemde elementleri ölçülebilir hale getirebilmek için, numune içindeki analit ısı enerjisi yardımıyla atomlarına ayrıştırılır. Genel olarak alev ve elektro termal atomlaştırma teknikleri kullanılır. Bu şekilde oluşan atomlar kendi karakteristik dalga boylarındaki ışığı absorbe ederler. Bu sayede elementin numunedeki konsantrasyonu hesaplanabilir.

Literatürde serum çinko düzeylerine ilişkin sonuçlar, ölçüm tekniklerinde ve kullanılan hasta popülasyonundaki farklılıklar nedeniyle çeşitlilik göstermektedir.

- **Literatürde fertil olgularda serum çinko düzeyi:**

6.3-1645 µg/L arasında (**38, 83, 113, 114, 115, 148, 149, 186**); 0.6–1.2 mg/L arasında (**116, 120, 184**); 11,31-15 µmol/L arasında (**157, 186**), 95±14 µgr/100 ml (**189**).

- **Literatürde infertil erkeklerde serum çinko düzeyi:**

7,13 mg/L (**116, 120**) ve 25,43 µmol/L (**157**)

- **Literatürde fertil erkeklerde seminal plazma çinko düzeyi:**

91-275 mg/L arasında (38, 67, 113, 114, 115, 116); 194-197.5 µg/L arasında (83, 119); 14.08 mg/100ml (117), 29.85 µmol/L (157), > 2.4 mmol/ejakulat (WHO, 5. baskı, 2010).

- **Literatürde infertil erkeklerde seminal plazma çinko düzeyi:**

200 µg/ml (118); 183.6mg/L (116); 32.77 µmol/ L (157); 10.32 mg/ 100ml (117) olarak bulunmuştur.

III. MATERYAL VE METOD

A. Hasta seçimi

Bu çalışma, Nisan 2011- Eylül 2011 tarihleri arasında “Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yardımcı Üreme Teknikleri Merkezi’ ne” çocuk istemi ile başvuran infertil erkek hastalar da yapıldı. Çalışmaya, açıklanamayan infertilite tanısı alan çiftlerin erkek olguları ile erkek infertilitesi tanısı alan olgular dahil edildi. Uygulanan çalışma önce “Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu’na” sunuldu ve etik kurul onayı alındı (**Ek-2**). Hastalara çalışma ile ilgili bilgi verildi ve bilgilendirilmiş rıza formu imzalatıldı.

Çalışmaya dahil edilen erkeklerden ayrıntılı bir anamnez alındı. Geçirdikleri hastalıklar, travmalar, maruz kaldıkları teratojen ve toksik maddeler, günlük alışkanlıkları, ilaç kullanımları ve eşlerinin infertilite öyküleri sorgulandı.

Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri: Çalışmaya hem primer hem de sekonder infertilite öyküsü olan hastalar dahil edildi.

Çalışmadan Çıkarılma Kriterleri: Sadece kadın faktörü nedeniyle infertilite öyküsü bulunan erkekler; şu anda hormon ya da çinko içeren ilaç kullanımı olan hastalar; bilinen genetik bozukluğu olan hastalar; testis kanseri öyküsü olan hastalar; orşiektomi yapılan hastalar; tedavi edilememiş diyabet, tiroid ve adrenal yetmezlik gibi hastalıkları olan erkekler çalışmaya dahil edilmediler.

Çalışmadaki Hasta Grupları: Çalışma grubumuzu oluşturan infertil erkek hastalar WHO 2010 kriterlerine göre, sperm sayısı baz alınarak, dört gruba ayrıldı. Sperm sayısı >15 milyon/ml olanlar, **NZS** (Normozoopermi); sperm

sayısı 5-15 milyon/ml arasında olanlar, **hafif OZS** (Oligozoospermi); sperm sayısı <5 milyon/ml arasında olanlar, **şiddetli OZS** (Oligozoospermi); ejakülatta sperm olmayan hastalar ise **AZO** (Azoospermi) olarak gruplandı. Ayrıca semen örnekleri kendi içinde normal/ anormal (normal= NZS, anormal= hafif OZS+ şiddetli OZS+ AZO); hareketli/ hareketsiz (hareketli= (+4)+(3)+(2) motilite, hareketsiz= total immotil) olarak 2 gruba ayrılarak da sonuçlar arasındaki ilişki incelendi.

B. Çalışmada kullanılan yöntem

1. Semen Analizi: Tüm semen örnekleri “Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Yardımcı Üreme Merkezi Androloji Laboratuvarı” ında hazırlandı. Hastalar 3-5 günlük cinsel perhiz sonrasında masturbasyon tekniği ile semen örneği verdiler. Numuneler tek kullanımlık, geniş ağızlı, 100 ml hacimli, pnömatik sistem steril idrar kaplarına alındı. Ejakulat, etüvde (Heraeus, Germany) 37 °C da likefiye olana kadar bekletildi. Likefaksiyon sonrasında WHO’ ya uygun olarak semen analizi yapıldı. Sperm sayı ve motilitesi, mikroskop (Leica DMLS) altında manuel olarak makler sayım kamerasında 20 lik büyütmede değerlendirildi.

2. Çinko analizi: Semen analizi sonrasında numuneler, santrifüj aletinde (Heraeus Instruments, Labofuge 400, Kendro Laboratory Products International Sales, Germany) 1700 RPM devirde, oda ısısında 10 dakika kadar santrifüj edildi. Seminal plazma kısımları tek kullanımlık pipetlerle (Falkon) alınarak; çinko düzeyi bakılana dek tek kullanımlık tüplerde (Falkon) -20 °C da buzdolabında saklandı. Serumda çinko düzeyini araştırmak amacıyla; eş zamanlı olarak

biyokimya tüplerine kan alındı. Kan alma işlemi tek kullanımlık enjektör iğne uçları yardımıyla, vakumlu kan alma sistemi kullanılarak yapıldı. Kanlar 30 dakika oda ısısında bırakılarak pıhtılaşması sağlandı. Daha sonra numuneler santrifüj aletinde (Heraeus Instruments Labofuge 400, Kendro Laboratory Products International Sales, Germany) 3500 RPM’ de 5 dakika kadar oda ısısında santrifüj edildi. Serum kısımları, tek kullanımlık pipetlerle (Falkon) alınarak; tek kullanımlık tüplerde (Falkon), çinko düzeyi bakılana dek -20 °C da buzdolabında saklandı.

Serum ve seminal plazma içerisindeki çinko miktarının analiz yöntemi olarak alevli “**Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi**” kullanıldı. Numune miktarlarının düşük olması ve yüksek proteinli yapıları nedeniyle örnekler seyreltilerek çalışıldı. Analiz sırasında kullanılan araç ve gereçlerin plastikten olmasına özen gösterildi. Numuneler, çinko incelemesinin yapılacağı gün, oda ısısında çözünmeye bırakıldı. Ardından, spektrofotometre (Shimatzu AA- 7000, Atomik Absorbsiyon Spektrofotometre cihazı, Koichi Tanaka Mass Spectrometry Research Laboratory, 1875, Kyoto, Japan) cihazında serum ve seminal plazmada ki çinko düzeylerine bakıldı. Spektrofotometre de çinko dalga boyu 213,9 (185,0-900,0) nm, slit 0,7 nm, lamba modu B6C-D2, low/peak 8 miliamper (0-40) olarak ayarlandı. Cihazın kalibrasyon standardı çinko için 999±2 mg/L olarak kabul edildi.

1000 ppm. lik çinko stokundan hazırlanan standartlar:

- 0,1 lik standart => 4900 µl saf su+ 100 µl stok
- 0,2 lik standart => 4800 µl saf su+ 200 µl stok

- 0,4 lik standart => 4600 µl saf su+ 400 µl stok
- 0,8 lik standart => 4200 µl saf su+ 800 µl stok

Bu kriterlere uygun olarak hazırlanan standartlar cihaza okutuldu. Kalibrasyon eğrisi 1' e ne kadar yakın olursa cihazın kalibrasyonu o kadar iyi olarak kabul edildi. Kalibrasyonun uygunluğunun saptanmasıyla birlikte cihaza Level I ve Level II kontroller okutuldu (Level I (alt sınır) : 4500 µl saf su + 500 µl kontrol; Level II (üst sınır) : 4500 µl saf su + 500 µl kontrol). Kontrol sonuçlarının istenilen aralıkta çıkmasına dikkat edildi. Kör ve hazırlanan çalışma standart çözeltileri ile cihaz kalibre edildikten sonra; kalibrasyon istenilen aralıkta ise, hastaların numuneleri hazırlandı. 500 µl serum/semen alınarak üzerine 4500 µl deiyonize saf su eklenerek, 1/10 oranında seyreltilmiş numuneler elde edildi. Cihazın lamba ve gaz ayarı yapıldıktan sonra numuneler okutuldu. Örnekler cihaza 4 kez verildi ve sonuçların ortalaması yazıcıdan alındı. Ayrıca, cihaz kalibrasyonunun doğruluğunu test etmek amacıyla kullanılan standart çözeltiler her 5 örnekte bir analiz edildi. Seminal plazma ve kan serumundaki çinko miktarları cihazın alev (flame) ünitesinde analiz edildi. Alev ünitesinde kullanılan havanın basıncı 0, 35 MPa, asetilen gazı 0, 09 MPa olarak ayarlandı. Elde edilen değerler µg/dl biriminde kabul edildi.

3. Hormon Analizi: Çalışmaya katılan hastaların hormon ölçümleri için biyokimya tüplerine kan alındı. Kan alma işlemi tek kullanımlık enjektör iğne uçları yardımıyla; vakumlu kan alma sistemi kullanılarak yapıldı. Numuneler santrifüj aletinde (ADVIA Centaur XP Immünoassay System, Siemens Healthcare Diagnostics Inc.) 3000 RPM' de 5 dakika kadar oda ısısında santrifüj

edildi. Elde edilen serumda hormon analizleri “Architect i2000” cihazında (Abbott Laboratories, Abbott Park, U.S.A.), kemilüminesans yöntemi kullanılarak çalışıldı.

C. İstatistiksel Değerlendirme:

Veriler toplandıktan sonra SPSS 15. 0 istatistik veri tabanına (Statistical Package for Social Science, Version 15 for Windows, Chicago, Illinois, 2006) aktarıldı. Hasta bilgileri ve semen analizi sonuçları SPSS dosyası içinde toplandı. Tablolarda kullanılan değerler, aksi belirtilmedikçe aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma olarak alındı. İstatistiklerin parametrik dağılım gösterip göstermemesine göre analizlerde, **Ki-kare, Tek Yönlü Varyans Analizi (Oneway Anova), Mann- Whitney U Testi, Student’s t Test, Independent Sample T test, Kruskal- Wallis Analizi, Spearman’ s Korelasyon Analiz’** leri kullanıldı. 0,05’den küçük p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

IV. BULGULAR

Çalışmamıza infertilite tanısı almış 101 erkek hasta dahil edildi. Hastaların yaş, BMI, evlilik yaşı, evlilik süresi, korunmasız ilişki süresi, infertilite süresi, cinsel ilişki sıklığı, mastürbasyon sıklığı açısından dağılımları Tablo 4.1 de gösterilmiştir.

Tablo 4.1: Yaş, BMI, evlilik yaşı, evlilik süresi, korunmasız ilişki süresi, infertilite süresi, cinsel ilişki sıklığı, mastürbasyon sıklığı açısından ortalama değerler ve dağılımları.

	Ortalama $\pm$ SS	İstatistiksel aralık
Yaş	32, 2 $\pm$ 6, 0	22, 0- 49, 0
BMI	26, 0 $\pm$ 3, 6	18, 3- 36, 9
Evlilik yaşı	26, 7 $\pm$ 4, 8	18, 0- 48, 0
Evlilik süresi (yıl)	6, 1 $\pm$ 5, 4	0, 50- 24, 0
Korunmasız ilişki süresi (ay)	51, 7 $\pm$ 53, 1	1, 0- 264, 0
İnfertilite süresi (ay)	51, 2 $\pm$ 53, 3	1, 0- 264, 0
Cinsel ilişki sıklığı (haftalık)	2, 7 $\pm$ 0, 8	1, 0- 6, 0
Masturbasyon sıklığı (haftalık)	0, 4 $\pm$ 1, 0	0, 0- 7, 0

Hasta gruplarının yaş ortalamalarının ve yaş gruplarının hasta grupları ile karşılaştırılmaları Tablo 4.2 de gösterilmiştir. AZO grubunun, diğer gruplara göre daha yaşlı olduğu ve gruplar arasındaki ortalama yaş farklarının istatistiksel olarak

anlamli olduğu bulunmuştur ($p=0,026$). Yaş grupları içinde hasta gruplarının dağılımının ise benzer olduğu saptanmıştır ($p>0,05$).

Tablo 4.2: Olguların yaş gruplarının semen analizi sonuçlarına göre dağılımı.

Yaş dağılımı	Sperm Grup				Toplam	P
	NZS	Hafif OZS	Şiddetli OZS	AZO		
Ortalama yaş (yıl)	31,2± 5,1	34,4± 6,1	30,9± 5,6	37,7± 8,0	32,2± 6,1	0,026[†]
20- 29 yaş	n 18	3	11	3	35	0,373*
	% 41,9	16,7	39,3	25,0	34,7	
30- 39 yaş	n 21	12	15	6	54	
	% 48,8	66,7	53,6	50,0	53,3	
40- 49 yaş	n 4	3	2	3	12	
	% 9,3	16,7	7,1	25,0	11,9	
Toplam	n 43	18	28	12	101	
	% 100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	

† Tek yönlü varyans analizi

*Exact Ki Kare testi

Olguların mesleki grupları arasındaki çeşitlilik nedeniyle, semen analizi sonuçlarına göre gruplar arasında istatistiksel bir değerlendirme yapılamamıştır.

Tablo 4.3 de hasta gruplarının gündelik alışkanlıklarına göre dağılımı karşılaştırılmıştır. Gruplar arasında gündelik alışkanlıklar açısından istatistiksel olarak bir fark saptanmamıştır.

Tablo 4.3: Hasta gruplarında gündelik alışkanlıkların dağılımının karşılaştırılması.

Gündelik Alışkanlıklar	Sperm Grubu								Toplam	
	Normo		Hafif OZS		Şiddetli OZS		AZO			
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Sigara	24	45,3	11	20,8	11	20,8	7	13,2	53	100,0
Alkol	1	50,0	0	0,0	1	50,0	0	0,0	2	100,0
Sigara + Alkol	0	0,0	0	0,0	1	100,0	0	0,0	1	100,0
Sauna/ Hamam	1	50,0	0	0,0	1	50,0	0	0,0	2	100,0
Dar giysi	1	33,3	1	33,3	0	0,0	1	33,4	3	100,0
Egzersiz	1	50,0	0	0,0	1	50,0	0	0,0	2	100,0
Yok	15	39,5	6	15,8	13	34,2	4	10,5	38	100,0
Toplam	43	42,6	18	17,8	28	27,7	12	11,9	101	100,0
Ki kare	10, 16									
P*	0, 92									

*Exact ki Kare testi

Hasta grupları arasındaki sigara kullanım alışkanlıkları Tablo 4.4 de karşılaştırılmıştır. Hasta grupları arasında sigara kullanımı miktarı ve süresi olarak istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Tablo 4.4: Hasta gruplarının günlük sigara kullanım miktarları ve içme süreleri dağılımının karşılaştırılması.

	NZS (n: 24)	Hafif OZS (n: 11)	Şiddetli OZS (n: 12)	AZO (n: 7)	P*
Sigara (adet / gün)	14,29± 8,22	16,90± 7,17	16,16± 7,58	14,57± 13,32	0, 832
Sigara (yıl)	10,37± 6,15	13,36± 5,31	12,16± 6,97	13,71± 5,93	0, 447

*Anova tek yönlü varyans analizi

Hasta gruplarının ortalama BMI ve infertilite sürelerinin dağılımı Tablo 4.5 de karşılaştırılmıştır. İnfertilite süresi ile semen analizi sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$). AZO grubundaki hastaların BMI' lerinin anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür ($p<0,05$).

Tablo 4.5: Hasta gruplarının infertilite süreleri ve BMI' lerinin dağılımının karşılaştırılması.

	NZS (n: 43)	Hafif OZS (n: 18)	Şiddetli OZS (n: 28)	AZO (n: 12)	P*
İnfertilite Süresi (ay)	40,62± 44,32	79,55± 71,36	42,07± 34,18	67,66± 72,87	0, 406
BMI	26,10± 2,97	25,76± 3,75	25,39± 3,61	27,52± 5,58	0, 030

* Anova analizi

Hasta gruplarının infertilite aile öyküsü, varikozel varlığı ve varikozel operasyon öyküsü açısından dağılımları Tablo 4.6 da karşılaştırılmıştır. İnfertilite aile öyküsü açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu, bu farkın şiddetli OZS grubundan kaynaklandığı saptanmıştır ($p=0,017$). Varikozel öyküsü ve varikozel operasyon öyküsü açısından gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Vaka sayılarının az olması nedeniyle, tabloda belirtilmeyen bazı bulgular ise şöyledir: Geçirilmiş genital bölge operasyon öyküsü açısından gruplar arasında farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). Sadece 1 hasta inmemiş testis operasyonu geçirmiştir. Bu olgu semen analizi açısından hafif OZS grubunda yer almaktadır. İnguinal herni nedeniyle opere olan 7 hastanın 1 tanesi NZS grubunda; 2 tanesi hafif OZS grubunda; 3 tanesi şiddetli OZS grubunda ve 1 tanesi de AZO grubunda yer almaktadır. AZO grubunda olan bir hastada testiküler biyopsi öyküsü vardı. Çalışmaya katılan 101 hastadan sadece birinde sekelsiz kabakulak orşiti, bir hastada geçirilmiş sekelsiz genital bölge enfeksiyonu öyküsü bulunmaktaydı. Her iki hasta da NZS grubunda yer alıyordu.

Tablo 4.6: Hasta grupları arasında varikozel öyküsü ve ailede infertilite öyküsünün dağılımlarının karşılaştırılması.

	Normo		Hafif OZS		Şiddetli OZS		AZO		Toplam		P*
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	
Ailede infertilite öyküsü	2	20,0	1	10,0	7	70,0	0	0,0	10	100	0,017
Varikozel varlığı	8	29,6	4	14,8	10	37,0	5	18,5	27	100	0,245
Varikozel operasyon öyküsü	7	30,4	4	17,4	8	34,8	4	17,4	23	100	0,507

*Exact Ki Kare testi

Hasta gruplarının infertilite nedenleri ve infertilite tipleri açısından dağılımları Tablo 4.7 de gösterilmiştir. Olguların %65 inde infertilite nedeninin erkek faktörü, %28,2 sinde ise açıklanamayan infertilite olduğu saptanmıştır. Olguları %5,9 unda erkek ve kadın faktörünün bir arada olduğu gözlenmiştir.

Tablo 4.7: Çalışma grubunda infertilite tipi ve infertilite nedenlerinin dağılımı.

		n	%
İnfertilite nedeni	Erkek	66	65,3
	Açıklanamayan	29	28,7
	Erkek + Kadın	6	5,9
İnfertilite tipi	Primer	83	82,2
	Sekonder	18	17,8

Hastaların ortalama semen analizi parametreleri ile serum ve seminal plazma çinko düzeyleri Tablo 4.8 de gösterilmiştir. Çalışmaya katılan hastaların ortalama serum çinko düzeyi 121,75 µg/dl, seminal plazma da ortalama çinko düzeyi ise 3952,91 µg/dl olarak bulunmuştur.

Tablo 4.8: Çalışma grubunun semen analizi, serum ve seminal plazma çinko düzeylerinin ortalama değerleri ve istatistiksel dağılımı.

	Ortalama ± SS	İstatistiksel Aralık
Sperm volümü (ml)	2,75± 1,29	0,5- 7,0
Sperm sayısı (x 10⁶/ml)	21,15± 24,75	0,0- 100,0
Total sperm sayısı (x 10⁶/ejakülasyon)	57,58± 77,61	0,0- 400,0
Total motil sperm yüzdesi (%)	43,69± 29,13	0,0- 93,0
+ 4 Motilite (%)	2,27± 5,90	0,0- 31,0
+ 3 Motilite (%)	34,49± 24,86	0,0- 83,0
+ 2 Motilite (%)	7,02± 7,08	0,0- 33,0
Lökosit (x 10⁶/ml)	2,06± 1,26	1,00- 4,00
Cinsel perhiz süresi (gün)	3,70± 0,79	3,00- 5,00
Serum Zn (µg/dl)	121,75± 119,94	63,0- 1291,0
Semen Zn (µg/dl)	3952,91± 1694,77	1310,0- 8327,0

Hasta gruplarının hormon ölçümlerinin ortalama değerleri Tablo 4.9 da gösterilmiştir. Serbest testosteron, total testosteron, FSH ve LH düzeylerinin AZO grubunda en düşük olduğu ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır.

Tablo 4.9: Hasta gruplarının ortalama hormon ölçüm değerlerinin karşılaştırılması.

	NZS (n= 43)	Hafif OZS (n= 18)	Şiddetli OZS (n= 28)	AZO (n= 12)	P*
FSH (IU/ L)	4,05± 2,80	6,29±4,99	8,47±6,99	13,82±11,24	0,00
LH (IU/ L)	4,07± 1,86	4,95±1,74	6,05±3,40	7,76±4,16	0,00
Prolaktin (ng/ ml)	7,09± 4,18	6,35±2,33	8,08±4,36	9,81±6,05	0,13
Serbest TESTOSTERON (pg/ ml)	12,93± 7,61	15,64±10,87	16,40±9,54	8,33±4,02	0,038
Total TESTESTERON (ng/ dl)	441,0±146,9	551,50±167,48	455,08±197,10	290,93±248,79	0,003

*Anova analizi

Hasta gruplarının semen analizi parametrelerinin dağılımı Tablo 4.10 da gösterilmiştir. Sperm volümü açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Sperm sayısı (/ml), total sperm sayısı, total motil sperm yüzdesi ve lökosit sayısında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$). Sperm sayısındaki farklılık NZS ile diğer tüm gruplar arasında ve hafif OZS ile diğer gruplar arasında olduğu gözlemlendi, Sperm

motilitesi karşılaştırıldığında; NZS ve hafif OZS gruplarının ortalama motilitelerinin şiddetli OZS ve AZO gruplarına göre daha fazla olduğu saptandı. Ortalama lökosit sayısının sperm sayısı ve motilitesinden bağımsız olarak gruplar arasında dağılım gösterdiği gözlenmiştir.

Tablo 4.10: Semen analizi parametrelerinin hasta grupları arasında dağılımı.

	NZS (n= 43)	Hafif OZS (n= 18)	Şiddetli OZS (n= 28)	AZO (n= 12)	P*
Sperm volümü (ml)	2,65± 1,07	3,22± 1,76	2,71± 1,15	2,46± 1,46	0,65
Sperm sayısı (x 10⁶ / ml)	44,56± 21,22	10,27± 2,78	1,26± 1,62	0,0± 0,0	0,00
Total sperm sayısı (x 10⁶ / ejakülat)	119,81± 84,01	32,00± 16,01	3,12± 3,75	0,0± 0,0	0,00
Total motil sperm yüzdesi (%)	65,46± 13,83	55,11± 12,16	21,64± 23,58	0,0± 0,0	0,00
Lökosit (x 10⁶ / ml)	1,79± 1,10	1,33± 0,84	2,43± 1,31	3,25± 1,21	0,00

*Kruskal- Wallis Testi ve Anova Scheffe testi

Hasta gruplarının ortalama serum ve seminal plazma çinko düzeyleri Tablo 4.11 de gösterilmiştir. Sperm sayısı azaldıkça serum ve seminal plazma çinko düzeylerinde bir azalma olduğu görülmüştür. Buna karşın; hasta grupları arasında çinko düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Ortalama serum ve seminal plazma çinko değerlerinin birbirine oranı; NZS için 0,03; hafif OZS için 0,02; şiddetli OZS için 0,03 ve AZO için 0,02 bulunmuştur. Gruplar arasında ortalama serum ve seminal plazma çinko değerlerinin birbirine oranı açısından bir fark saptanmamıştır.

Tablo 4.11: Hasta gruplarının ortalama serum ve seminal plazma çinko düzeylerinin karşılaştırılması.

NZS (n: 43)		Hafif OZS (n: 18)	Şiddetli OZS (n: 28)	AZO (n: 12)	P*
Serum Zn (µg/dl)	136,4±181,5	111,5± 19,0	114,9± 31,8	100,4±17,3	0,38
Semen Zn (µg/dl)	4064,3±1752,9	4251,9± 1533,9	3669,5± 709,8	3766,4±768,9	0,65

* Kruskal-Wallis Testi

Semen analizi normal ve anormal olan olgular (normal: NZS, anormal: hafif OZS+ şiddetli OZS+ AZO) ayrı gruplanarak ortalama serum ve seminal plazma çinko düzeyleri Tablo 4.12 de karşılaştırılmıştır. Her iki grubun serum ve seminal plazma çinko düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0,05$).

Tablo 4.12: Semen analizi normal/ anormal olan gruplarda serum ve seminal plazmada çinko düzeylerinin karşılaştırılması.

	Semen Analizi		P*
	Normal (n: 43)	Anormal (n: 58)	
Serum Zn (µg/ dl)	136, 42± 181, 53	110, 88± 26, 00	0, 64
Semen Zn (µg/ dl)	4064, 34± 1752, 95	3870, 29± 1660, 88	0, 67

* Kruskal- Wallis Test

Hastalar semen analizinde motil ve immotil sperm olanlar olarak iki gruba ayrılmış ve serum ve seminal plazma çinko düzeyleri Tablo 4.13 de karşılaştırılmıştır. Ortalama seminal plazma ve serum çinko düzeyleri arasında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır ($p > 0, 05$).

Tablo 4.13: Semen analizinde spermin motil/ immotil olmasına göre oluşturulan gruplar arasında serum ve seminal plazmadaki çinko düzeylerinin karşılaştırılması.

	Motilite		P*
	Hareketli (n: 76)	Hareketsiz (n: 25)	
Serum Zn (µg/ dl)	127, 16± 137, 32	105, 32± 25, 37	0, 06
Semen Zn (µg/ dl)	3988, 47± 1680, 14	3844, 80± 1769, 21	0, 79

* Kruskal- Wallis Test

Sigara kullanan hastalarda semen analizi parametrelerinin ve serum ve seminal plazma çinko düzeylerinin kullanmayan hastalarla karşılaştırılması Tablo 4.14 de gösterilmiştir. Ortalama sperm sayısı sigara kullanan grupta daha düşük olarak saptanmıştır. Bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Diğer semen parametreleri ile sigara kullanım durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. İleri motilitenin (+4) sigara kullanan grupta, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, daha düşük olduğu bulunmuştur. Sigara kullanan hastalarda serum çinko düzeylerinde bir artış olduğu saptanmıştır; ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p= 0,270$). Ortalama seminal plazma çinko düzeylerinin sigara kullananlar da daha yüksek olduğu ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0,05$).

Tablo 4.14: Sigara içen ve içmeyen gruplarda semen analizi parametrelerinin ve serum ve seminal plazma çinko düzeylerinin karşılaştırılması.

	Sigara		P*
	Evet (n: 54)	Hayır (n: 47)	
Sperm volümü (ml)	2,86± 1,28	2,62± 1,29	0,83
Sperm sayısı (x 10⁶/ml)	18,07± 18,20	24,69± 30,42	0,00
Total sperm sayısı (x 10⁶ / ejakülat)	48,07± 49,31	68,50± 100,32	0,00
Total motil sperm yüzdesi (%)	44,91± 28,14	42,29± 30,45	0,38
+ 4 motilite (%)	1,61± 4,71	3,043± 7,01	0,19
Lökosit (x 10⁶/ml)	2,11± 1,28	2,00± 1,25	0,50
Serum Zn (µg/dl)	134,09±162,55	107,57±21,08	0,27
Semen Zn (µg/dl)	4299,05±1746,49	3555,21±1558,0	0,03

*Independent sample T test

Olguların serum ve seminal plazma çinko düzeylerinin yaş gruplarına göre dağılımı Tablo 4.15 de gösterilmiştir. Yaş grupları ile serum ve seminal plazma çinko düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,005$).

Tablo 4.15: Yaş gruplarına göre serum ve seminal plazma çinko düzeylerinin ve semen parametrelerinin ortalama değerlerinin dağılımı.

	Yaş Grupları			P*
	20 - 29 yaş (n: 35)	30 - 39 yaş (n: 54)	40 - 49 yaş (n: 12)	
Serum Zn ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	145,82 $\pm$ 200,97	110,62 $\pm$ 23,09	101,58 $\pm$ 21,95	0,09
Semen Zn ($\mu\text{g}/\text{dl}$)	3880,54 $\pm$ 1449,64	4101,94 $\pm$ 1902,28	3493,33 $\pm$ 1350,71	0,23

* Anova tek yönlü varyans analizi

Serum ve seminal plazma çinko düzeyleri ile semen analizi parametreleri arasındaki korelasyon Tablo 4.16 da gösterilmiştir. Serum çinko düzeyi ile seminal plazma çinko düzeyi arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon bulunmuştur. Sperm volümü ve mililitredeki sperm sayısı ile total sperm sayısı arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon bulunmuştur. Total sperm sayısı ve mililitredeki sperm sayısı ile total motil sperm yüzdesi arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon saptanmıştır. Mililitredeki sperm sayısı ve total motil sperm yüzdesi ile lökosit sayısı arasında ise negatif yönde anlamlı bir korelasyon bulunmuştur.

Tablo 4.16: Serum ve seminal plazma çinko düzeyi ile semen analizi parametrelerinin korelasyonu.

Spearman's Korelasyonu		Serum Zn	Semen Zn	Sperm volümü (ml)	Sperm sayısı (x10 ⁶ /ml)	Total sperm sayısı	Total motil sperm yüzdesi	+ 4 motilite	Lökosit (x10 ⁶ /ml)
Serum Zn	R	1,000							
Semen Zn	R	,301**	1,000						
Sperm volümü (ml)	R	,137	,003	1,000					
Sperm sayısı (x 10 ⁶ / ml)	R	,123	,083	,062	1,000				
Total sperm sayısı	R	,164	,077	,268**	,957**	1,000			
Total motil sperm yüzdesi	R	,102	,011	,070	,781**	,767**	1,000		
+ 4 motilite	R	,025	,017	,033	,571**	,517**	,366**	1,00	
Lökosit (x 10 ⁶ / ml)	R	,077	,032	,013	-,347**	-,339**	-,450**	-,061	1,00

** Belirgin korelasyon $p < 0,05$; (+) pozitif korelasyon; (-) negatif korelasyon

Hastaların beslenme alışkanlıklarına göre serum ve seminal plazma çinko düzeylerinin dağılımı Tablo 4.17 de gösterilmiştir. Kırmızı et tüketimi az ve orta düzeyde olan olgularla, semen çinko düzeyi az ve orta olan olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır ($p < 0,05$). Sebze tüketimi az olan olgularda serum çinko düzeyi daha yüksek olarak bulunmuştur. Bu ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$). Yumurta tüketimi az ve çok düzeyde olan olguların semen çinko düzeyleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır ($p < 0,05$).

Tablo 4.17: Besin tüketim şekline göre serum ve seminal plazmadaki ortalama çinko düzeylerinin dağılımı.

Besin Grubu		Tüketim Miktarı				P*
		Az	Orta	Çok	Yeterli	
Süt ürünü	n	29	39	15	18	
	Serum Zn	154,51±220,026	105,71±19,13	113,33±17,38	110,72±32,23	0,38
	Semen Zn	3749,41±1511,67	3864,66±1859,12	4539,33±1675,1	3983,27±1643,8	0,51
Kırmızı et	n	23	37	20	21	
	Serum Zn	157,65±248,28	110,13±16,64	111,35±26,67	112,80±32,03	0,45
	Semen Zn	3353,21±1415,11	4617,27±1806,51	3542,95±1384,61	3829,61±1746,07	,018
Beyaz et	n	20	33	27	21	
	Serum Zn	105,40±29,69	144,36±207,12	108,96±16,67	118,23±27,37	0,60
	Semen Zn	3245,05±1727,25	3788,15±1575,22	4500,70±1746,3	4181,66±1608,3	0,06
Deniz ürünü	n	68	18	5	10	
	Serum Zn	126,98±14537	108,00±21,31	102,60±17,44	120,50±27,26	0,92
	Semen Zn	3893,79±1644,36	4006,38±2168,59	4320,20±1610,2	4075,00±1275,1	0,94
Sebze	n	13	28	37	23	
	Serum Zn	210,76±324,86	102,57±20,34	111,45±25,81	111,34±28,05	0,03
	Semen Zn	3954,23±1619,81	3589,46±1776,05	4527,08±1717,7	3470,95±1400,1	0,05
Tahıl	n	22	42	17	20	
	Serum Zn	166,81±252,37	105,88±20,24	118,05±29,36	108,65±24,74	0,25
	Semen Zn	4268,86±1567,78	3723,69±1890,29	3870,35±1369,6	4156,90±1681,8	0,61
Kuru yemiş	n	23	44	15	19	
	Serum Zn	160,04±247,42	113,45±26,19	113,86±20,08	100,84±24,44	0,37
	Semen Zn	3901,39±1624,42	4239,81±1763,08	3840,73±1641,3	3439,42±1648,5	0,38
Yumurta	n	14	31	30	26	
	Serum Zn	124,92±31,41	145,12±213,54	107,50±19,97	108,61±27,25	0,59
	Semen Zn	4719,35±1386,51	4060,96±1523,91	4336,33±1929,3	2968,96±1363,1	,003
Çikolata	n	51	22	19	9	
	Serum Zn	132,11±168,04	109,31±20,98	113,68±17,29	110,44±9,98	0,86
	Semen Zn	4007,56±1938,09	3673,31±1510,04	3878,73±1431,3	4483,22±1126,2	0,67

*Anova analizi

V. TARTIŞMA:

Semenin kalitesini belirleyen pek çok element vardır. Bunların vücut sıvılarındaki ve erkek infertilitesi açısından da seminal plazmadaki düzeyleri ilgi çekmekte ve son zamanlarda sıkça araştırılmaktadır. Bu elementlerden çinko, bakır, magnezyum, kadmiyum, nikel, kalsiyum, alüminyum, kurşun, krom, molibden, gümüş, stronsiyum, manganez ve kalayın semen üzerine etkileri ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır.

Vücutta çinko düzeyinin saptanmasına yönelik çeşitli analiz yöntemleri bulunmaktadır. Ancak bunlar yeterince güvenilir değildir. Beslenme bozukluklarında birden fazla eser elementin ve vitamin eksikliğinin etkileri beraber ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle insanlarda marjinal çinko eksikliğini; ve bu eksikliğin üreme fonksiyonlarına etkisini saptanmak zordur (168).

Bizim çalışmamızda, temelde, infertil erkelerde serum ve seminal plazma çinko düzeylerinin semen analizi parametreleri ile olan ilişkisinin araştırılması amaçlanmıştır. İnfertil olguların çinko düzeylerinin fertil popülasyonla da karşılaştırılması planlanmıştır. Ancak etik kurul onayı alınamaması nedeniyle çalışmada sadece infertil hasta grubu kullanılmıştır. 101 hastadan oluşan çalışma grubumuz semen analizindeki sperm sayısına göre kendi içinde dört alt gruba ayrılmıştır (NZS, hafif OZS, şiddetli OZS ve AZO). Bu gruplar arasında serum ve seminal plazma çinko düzeyleri açısından bir fark saptanmıştır; ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Çalışma grubumuzun içinde fertil popülasyonun bulunmaması nedeniyle de sonuçları fertilité sorunu olmayan (normal) grupla mukayesesi mümkün olmamıştır.

Çalışmamızdaki NZS grubunda serum çinko düzeyi diğer gruplardan daha yüksek olarak bulunmuştur. Seminal plazma çinko düzeyi ise hafif OZS grubunda diğerlerinden daha yüksek olarak saptanmıştır. Ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bununla birlikte çalışmamızda, serum çinko düzeyi ile seminal plazma çinko düzeyi arasında pozitif bir korelasyon olduğu görülmüştür.

Wong ve ark. (2001), fertil ve subfertil erkekler üzerinde yaptıkları bir çalışmada; kan çinko konsantrasyonu ile sperm konsantrasyonu, motilitesi ve morfolojisi arasında anlamlı bir ilişki olmadığını bulmuştur. Ayrıca seminal plazma çinko düzeyi ile sperm konsantrasyonu arasında da anlamlı bir ilişki bulunmamıştır (38).

Telisman ve ark. (2000), kurşun sanayisinde çalışan erkek işçilerle normal erkek popülasyonunu karşılaştırdıkları bir çalışmada; seminal plazmadaki çinko düzeyinin kurşun işçilerinde daha az olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca serum çinko düzeyi ile total ve canlı sperm sayısının pozitif korelasyon gösterdiği; morfolojik olarak normal olmayan sperm sayısının azalması arasında da anlamlı bir negatif korelasyon olduğunu bulmuştur (114).

Bu çalışmanın dışındaki pek çok çalışmada, özellikle seminal plazmadaki çinko düzeyleri ile sperm parametreleri arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir.

Okinyole ve ark.'nın (2010) Nijeryalı fertil ve infertil erkeklerde yaptığı bir çalışmada; serum çinko düzeyi oligozoospermik erkeklerde, azospermik ve kontrol gruplarıyla kıyaslandığında, daha yüksek olarak bulunmuştur. Bu çalışmada serum/ seminal plazma çinko oranlarında anlamlı bir farklılık tespit

edilmiştir. Oligozoospermik, normozoospermik ve azospermik bireylerde serum çinko düzeyinin seminal plazma çinko düzeyine oranı sırasıyla 1:1, 1:3, 1:4 şeklinde bulunmuştur. Bu oranlara bakıldığında, çinkonun serumdan alınıp seminal plazmaya salınımını sağlayan, prostatın fonksiyonunda bir bozukluk olduğunu düşünülebilir. Buna bağlı olarak da serumda çinko düzeyi artarken, seminal plazmadaki çinko düzeyi azalmış olabilir. Bu çalışmada, bizim çalışmamıza benzer şekilde seminal plazma çinko düzeyinin, serumdan daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Ayrıca serum çinko düzeyi ile sperm sayısı arasında, istatistiksel olarak anlamlı, ters bir korelasyon saptamışlardır. Benzer şekilde seminal plazma çinko düzeyi ile spermatozoanın canlılığı arasında da, istatistiksel olarak anlamlı, negatif bir korelasyon bulmuşlardır. Ancak infertil ve kontrol grubu erkekleri arasında, serum ve seminal plazma çinko düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (157). Okinyole ve ark.larının çalışmasında oligozoospermik hastalarda serum çinko düzeyinin azospermik ve kontrol grubundan daha yüksek çıkması; ve fertil/ infertil hastalar arasında bir farkın saptanmamış olması yoruma açıktır.

Chia ve ark. (116)'nın yaptığı bir çalışmada, infertil erkeklerde seminal plazma çinko düzeyi belirgin bir şekilde daha düşük saptanmıştır. Buna karşılık serum çinko düzeyleri arasında bir fark bulunmamıştır. Fertil ve infertil erkeklerin düşük seminal plazma çinko düzeyi ile sperm sayısı (/ml), sperm motilitesi ve viabilitesindeki azalma arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulmuşlardır.

Seminal plazmadaki çinkonun fonksiyonu ile ilgili veriler çinkonun fonksiyonunun daha çok motilite ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir.

Prostattan salgılanan çinkonun sperm motilitesi ile direkt ilişkisi olduğu bilinmektedir. Prostattan salınan çinko iyonlarının, seminal veziküllerden salınan **Semenogelin'** e bağlanması ile birlikte bir koagulum oluşur (Chaistitvanich ve Boonsaeng 1983; Lilja ve Laurell 1984, 1985). Oluşan koagulum elastik bir yapıdadır; bu nedenle spermier içinde immotil olarak kalır. Prostat spesifik antijen (PSA)' nin etkisiyle **Semenogelin'** in hidrolize olmasıyla birlikte çinko iyonlarının bir kısmı **Semenogelin'** den ayrılır. Ayrılan çinko iyonları PSA' ya bağlanır (Malm ve ark. 2000). Bu sayede koagulum likefiye olur (Lilja ve ark. 1987); ve sperm motilitesi yeniden başlar (**174, 175, 176, 177**).

Çinko ile ilişkili enzimler de sperm motilitesini etkiler. Sorbitol dehidrogenaz ve laktat dehidrogenaz enzimleri sperm motilitesinde fonksiyon gören birer çinko metalloenzimidir. Spermatozoada fruktozun enerji olarak kullanılmasında görev alırlar (**60, 61, 62**).

Çalışmamızdaki olguların semen analizi sonuçlarını motilite açısından hareketli ve hareketsiz olarak iki gruba ayırdığımızda; serum ve seminal plazma çinko düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır. Ancak hareketli grupta ortalama çinko düzeylerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Sadece serum çinko düzeyi ile +2 motilite arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır.

Seminal plazma çinko düzeyi çalışmalar arasında farklılık göstermektedir. Bazı çalışmalarda, serum ve seminal plazmadaki çinko düzeyi infertil grupta fertil gruptan daha düşük olarak saptanmıştır (**67, 69, 74, 82, 86, 116, 117, 118, 119,**

120, 122, 125, 130, 147). Bazı çalışmalarda ise her iki grup arasında anlamlı bir farklılık gösterilememiştir (**38, 43, 67, 69, 113, 122, 123**).

Yüksek seminal plazma çinko düzeylerinin semen parametrelerini etkilediğine dair çalışmalar da bulunmaktadır. Danscher ve ark.'nın (1978) infertil erkeklerde yaptığı bir çalışmada, yüksek seminal plazma çinko düzeyinin sperm motilitesinde azalma ile ilişkili olduğu saptanmıştır (**126**). Sorensen ve ark.'nın (1999) sağlıklı fertil erkeklerde yaptıkları bir çalışmada; yüksek seminal plazma çinko düzeyinin (>187 mg/L), hareketin kalitesi üzerinde (spermatozoanın progresif motilitesi) baskılayıcı bir etkisi olduğunu göstermişlerdir (**152**). Asthenospermik erkeklerde, seminal sıvının çinko düzeyi ile sperm motilite ve sayısı arasında pozitif bir ilişkinin varlığı bildirilmiştir (**68**). Fertil ve infertil erkeklerin karşılaştırıldığı bir çalışmada, çinkonun aşırı yüksek seviyelerinin asthenospermideki motilite bozukluğu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (**69**). Carreras ve ark. (1990) fertil ve infertil erkekler üzerinde yaptığı bir çalışmada, seminal plazma çinko düzeyini astenozoospermili olgularda diğer gruplardan (oligozoospermi, oligoastenozoospermi, azospermi, normozoospermi) daha yüksek olarak saptamışlardır (**147**). Ancak semendeki çinkonun motilite ile ilişkili olduğu göz önüne alındığında, astenozoospermili olgularda çinko düzeyinin yüksek çıkmasının çelişkili bir durum olduğu düşünülmektedir.

Motilite ile ilgili bazı çalışmalarda azospermik hastalar çalışma gruplarına dahil edilmemiştir. Dolayısıyla çalışmalar arasındaki farklılıkların çalışmalardaki infertil gruplar arasındaki farklılıklardan kaynaklanmış olabileceği düşünülebilir.

Pek çok çalışmada seminal plazma çinko konsantrasyonu ile sperm sayısı arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur (67, 69, 83, 88, 116, 119). Ancak anlamlı korelasyonun bulunmadığı çalışmalar da vardır (113, 121, 144, 145). Hatta seminal plazmadaki yüksek çinko düzeylerinin semen parametrelerini olumsuz yönde etkilediğine dair çalışmalar da bulunmaktadır (66, 146, 156). Çalışmalar arasındaki farklılıkların bir nedeni de, çinko konsantrasyonlarının ölçümünde kullanılan tekniklerin bazı farklılıklar gösteriyor olması olabilir. Örneğin; Lewis- Jones ve ark. (1996), azospermik hastaların alınmadığı 1178 hastadan oluşan çalışmada, seminal plazma ortalama çinko değerini infertil hastalarda 117,6 mg/L olarak bulmuştur (121). Bizim çalışmamızda ise infertil erkeklerde seminal plazma ortalama çinko düzeyi 3952,91 µg/dl olarak bulunmuştur.

Sigara kullanımı ile sperm motilitesi ve semen çinko düzeyleri arasında da bir ilişki bulunmaktadır (134, 135). Bu nedenle bireylerin sigara kullanımının, çalışmalarda ortalama değerler hesaplanırken göz önünde bulundurulmaması da çalışmaların sonuçları arasındaki farklılıkları açıklayabilir. Fertil ve infertil erkeklerde çinko düzeyinin karşılaştırıldığı pek çok çalışmada, bireylerin sigara kullanma durumları hakkında bir bilgi verilmemiştir (67, 121). Hassa ve ark.'nın (2006) infertil erkekler üzerinde yaptığı bir çalışmada, sadece sigara içimi ile ileri motilite arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır ($P = 0,042$) (137). Fertil ve infertil erkekler üzerinde yapılan karşılaştırmalı çalışmada da, sigara kullanımının sperm motilitesini azalttığı gösterilmiştir (116). Dikshit ve ark. (1987) hipofertil erkeklerde yaptıkları bir çalışmada sigara kullanımının sperm motilitesini

etkilemediğini ileri sürmüşlerdir (140). Kapawa ve ark. (2004) ise ratlarda yaptıkları bir çalışmada, sigara ile sperm motilitesinin ilişkili olmadığını göstermişlerdir (141).

Çinkonun spermatogenez üzerinde direkt etkisinin gösterildiği çeşitli çalışmalar da vardır. Hayvan çalışmalarında erkekte çinko eksikliğinin gonadal disfonksiyon (48), testiküler ağırlıkta azalma ve seminifer tübüllerde büzülmeye yol açtığı saptanmıştır (9, 50, 51). Gonad dokularında nükleik asit ve protein sentezinde görev alan vital enzimler çinko metalloenzimleridir (59). Dolayısıyla çinko fertilitenin sağlanmasında önemli bir rol oynamaktadır.

Çinko eksikliği ile sperm üretimi arasında dolaylı veya dolaysız çalışmalar, çinko idamesi ile sperm parametrelerinin ve fertilitenin düzelebileceğini düşündürmektedir. Gerçekten, yetersiz çinko ile beslenmenin oligozoospermi, impotans ve hipogonadizme yol açtığı ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (87). Ratlarda yapılan bir çalışmada; çinko eksikliğinde sperm dansitesi, viabilitesi, ve penetrasyon kapasitesinde bir azalma saptanmıştır (9).

İnfertil erkeklerde yapılan bir çalışma, çinko takviyesinin sperm motilitesi üzerine pozitif bir etkisi olduğunu göstermiştir (127). Subfertil idiopatik astenozoospermisi/ oligozoospermisi olan hastalara oral çinko uygulamasının, sperm sayısını ve hareketini artırdığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (74, 88).

Hunt ve ark., 1992' de sağlıklı erkekler üzerinde yaptıkları bir çalışmada, çinko takviyesiyle semen volümü ve testosteron konsantrasyonunda bir artış

saptamışken; seminal plazma çinko düzeylerinde bir değişiklik gözlemlenmemişlerdir (191).

Çinko replasmanı ile sperm sayısı ve ileri motilitesinde artış yanında; direkt konsepsiyon oranlarının arttığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (84, 116, 143, 151).

Tüm bu yayınların yanı sıra, sağlıklı erkeklerde yüksek miktarlarda folat ve çinko alımının ve takviyesinin semen kalitesi üzerinde anlamlı bir etkisinin olmadığı bildirilmiştir (155).

Benoff ve ark. (2000) fertil ve infertil erkeklerde yaptığı invitro bir çalışmada, spermin baş kısmında yer alan mannoz reseptörleri ile seminal plazma çinko düzeyleri arasında pozitif lineer bir ilişki saptamıştır. Varikoseli olan infertil erkeklerde seminal plazma çinko ve mannoz reseptör düzeyi düşük bulunmuştur. Bu hastalarda ortama çinko eklenmesi durumunda, spermin baş kısmında bulunan mannoz reseptör sayısında da bir düzelme olduğu gösterilmiştir (90). Bu tip dolaylı bulgular çinkonun spermatogenezi ve fertilizasyonu etkilediğini göstermektedir.

Çalışmamızda sperm morfolojisi çalışılmamıştır. İnfertil ve fertil erkeklerde yapılan çalışmalarda, seminal plazmanın çinko düzeyinin aşırı yüksekliği veya azlığında normal morfolojinin azaldığı gösterilmiştir (89, 117).

İnfertil erkeklerde daha çok gözlenen morfolojik anomalili spermiler süperoksit anyonlar üretirler. Bu anyonlar çinkoya bağlanarak seminal plazmada ki çinko düzeyinde azalmaya neden olurlar (116). Bu nedenle, seminal plazma ve serumdaki çinko düzeyleri ile semen analizi parametreleri arasındaki ilişkiyi

değerlendirirken sadece infertil erkeklerin kullanılması yetersiz olabilir Bizim çalışmamızın bazı sonuçlarının da istatistiksel olarak anlamlı olmamasının nedeni çalışma grubumuzun sadece infertil erkeklerden oluşmuş olması olabilir.

Çalışma grubumuzdaki infertil erkeklerin ortalama seminal plazma lökosit miktarı $2,05 \pm 1,26 \times 10^6/\text{ml}$ şeklinde bulunmuştur. NZS, hafif OZS, şiddetli OZS, AZO şeklinde hastaları gruplandırıdığımızda, lökosit sayısında giderek bir artış saptanmıştır. Bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ayrıca bu sıralamada hem serum hem de seminal plazma çinko düzeylerinde de bir azalma saptanmıştır. Ancak bu azalma, istatistiksel olarak anlamlı değildir. Çinkodaki azalmanın, lökositlerin neden olduğu ROS (reaktif oksidatif türler)' ların ortamdaki uzaklaştırılmasında çinkonun kullanılmasından dolayı olduğu düşünülmektedir. Çinko zinc finger içeren DNA bağlayıcı proteinler için bir metalloprotein kofaktörüdür. Çinko, aynı zamanda, Cu / Zn süperoksit dismutaz ve DNA hasarını onaran bazı proteinlerin (P53) yapısında da bulunmaktadır (89). Çinko eksikliğinde ROS' un neden olduğu oksidatif hasar artar. Aynı zamanda artan ROS düzeyleri de seminal plazmada ki efektif çinko düzeyini azaltır (85, 123, 127, 128). Ejakulasyon sonrasında anormal spermatozoolar ve lökositler tarafından üretilen süperoksit anyonlar çinko sayesinde ortamdaki uzaklaştırılırlar (170, 172).

Çalışmamızda lökosit sayısı sigara içen grupta sigara kullanmayan gruptan daha yüksek olarak bulunmuştur. Ancak bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı değildir. Sigara gibi toksik faktörlerin etkisiyle lökositosperminin

arttığına dair çalışmalar bulunmaktadır (171). Semendeki lökositlerin bir nedeni de subklinik genital enfeksiyonlardır (124).

Varikoselin genel popülasyondaki prevalansı %15 dir. Subfertil erkek popülasyonunda ise %40 a kadar çıkabilmektedir (163). Anormal semen analizi olan erkeklerin %25 in de varikosele görülmektedir. Varikosele bağlı olarak semen anormallikleri, azalmış testiküler hacim ve Leydig hücre fonksiyonlarında azalma saptanmıştır. Varikoselin fizyopatolojisinde çeşitli hipotezlerden bahsedilmektedir. Bunların başlıca kabul görenleri venöz hidrostatik basınç artışı, testiküler ısı artışı ve venöz reflüdür. Buna bağlı olarak gelişen oksidatif stres, ROS artışı, DNA hasarı ve ağır metal birikimi çinko ile ilişkili olduğu düşünülen mekanizmalardır (169).

Çalışmamıza katılan infertil olguların % 26,7 sinde varikosele ve % 22.8 inde varikosele nedeniyle operasyon öyküsü saptanmıştır. Çalışmamızda, varikosele olan hastalarda ortalama serum çinko düzeyi; varikosele olmayan hastalardan ve çalışma grubumuzun ortalama çinko düzeyinden daha düşük olarak saptanmıştır. Varikosele olan hastalarda, ortalama seminal plazma çinko düzeyi, varikosele olmayan bireylerden daha düşük olarak bulunmuştur. Ancak bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı değildir.

Sigaranın içinde, tütünün yanmasıyla ortaya çıkan, mutajen ve karsinojen olduğu düşünülen 4000 civarında madde bulunmaktadır. Sigaradaki nikotinin spermatozoa üzerinde pro-oksidan etki gösterdiği; hücre membranında bozulmaya

neden olduğu; ve hatta DNA fragmantasyonunu arttırdığı düşünölmektedir (133, 136, 139, 173).

Bizim çalışmamızda; sigara kullanan hastalarda sadece semen çinko düzeylerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Sigara kullanan bireylerin seminal plazmasında artan ROS' lara bağılı olarak, prostat sekresyonlarının çinko içeriğinin de artmış olabileceğı düşünölmektedir. Ayrıca sigaradaki toksinler nedeniyle hücrelerde membran stabilizasyonu bozulmaktadır. Buna bağılı olarak da serumda iyonize formda taşınan çinko miktarında bir artış olmuş olabilir. Bunun yanı sıra sigara dumanının toksik metabolitleri spermatogenezi bozarak, anormal spermatozoa üretimine neden olurlar. Anormal spermatozoolar ise birer ROS kaynağı olarak çalışırlar (47, 91). Üretilen bu süperoksit anyonlar da çinko sayesinde ortamdan uzaklaştırılırlar.

Sonuçlarımız literatürdeki çalışmalarla kıyaslandığında bazı farklılıklar göstermektedir. Yapılan çalışmalarda, sigara içen grubun seminal plazma çinko düzeyi, sigara kullanmayan gruptan daha düşük olarak saptanmıştır (117, 142). Bunun aşağıda bahsedilen nedenlerden kaynaklanmış olabileceğini düşünmekteyiz. Bizim çalışmamıza sadece infertilite tanısı alan erkekler dahil edilmiştir; ve kontrol grubumuz bulunmamaktadır. Dolayısıyla sonuçlarımız tüm populasyonu yansıtmamaktadır. Ayrıca numunelerin hazırlanma ve çalışılma yöntemlerinde bazı farklılıklar bulunmaktadır. Literatürde olduğı gibi, biz de erkeklerin sigara içme durumlarına göre semen analizi sonuçlarını birbirleriyle kıyasladık. Ancak pasif içiciliğın de yaygın olduğı ölkemizde bu sınıflandırmanın güvenilirliğı yoruma açıktır. Bu nedenle sigara içen bireylerin sperm analizlerinin,

sigarayı bıraktıktan sonraki semen analizi sonuçlarıyla karşılaştırılacağı bir çalışmanın; hastanın bireysel durumunu gözlemlemede daha anlamlı olacağına inanmaktayız.

Çalışma grubumuzdaki yaş dağılımına baktığımızda; azospermik hastaların, istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde, daha yaşlı oldukları bulunmuştur. Çalışmamızdaki olguların ortalama serum çinko düzeyleri 20-29 yaş grubunda en yüksek olup; yaşla birlikte azaldığı gözlemlendi. Seminal plazma ortalama çinko düzeyi ise 30-39 yaş grubunda en yüksek iken; 40-49 yaş grubunda en düşük olarak bulunmuştur. Yaşlanmanın çinko üzerinden sperm yapımı ile ilişkisini gösteren bir çalışma bildirilmemiştir.

Yaşlanmanın spermatogenez üzerine etkileri hakkında çok fazla bilgi yoktur. Ancak araştırma sonuçlarına göre, artan yaşla birlikte sperm üretim fonksiyonları üzerinde çok ciddi bir azalma olmadığı düşünülür. Yaşlı erkeklerde, genç erkeklerle kıyaslandığında, testis başına günlük sperm üretimde % 30 oranında bir azalma olduğu görülmüştür (164). Aynı zamanda erektil disfonksiyonlarda da yaşla birlikte bir artış olmaktadır (167).

Ülkemizde sanayileşmedeki artışa bağlı olarak açığa çıkan zararlı kimyasalların miktarı artmaktadır. Tüm doğa kirlenmekte ve tüm canlılar etkilenmektedir. Sanayide çalışan işçilerin kimyasallara maruziyeti ile ilişkili çalışmalar sınırlıdır (131, 132, 150). Çalışmamızda ki olguların mesleki grupları arasındaki çeşitlilik nedeniyle, semen analizi sonuçlarına göre gruplar arasında istatistiksel bir değerlendirme yapılamamıştır. Bu nedenle, riskli meslek

gruplarının belirlenmesi ve fertilite koruyucu önlemlerin alınabilmesine yönelik daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır.

Hasta gruplarında BMI' leri karşılaştırıldığında; gruplar arasında fark olduğu bulunmuştur. BMI' nin ≥ 30 kg/m² olduğu durumlarda sistemik hastalıklarda artış, testis volümünde küçülme ve spermatogenezde yetersizlikler saptanmaktadır (18).

Erdemir ve ark.' nın (2011) ratlarda yaptığı bir çalışmada, obeziteye bağlı serum testosteron düzeylerinde azalma ve oksidatif strese ise bir artış olduğu gösterilmiştir (192). Fernandez ve ark.' nın (2011), ratlarda yaptıkları başka bir çalışmada ise; obezitenin sperm motilitesini azalttığını; ancak diğer parametreleri etkilemediğini bulmuşlardır (196).

Pham ve ark.' nın (2011) infertil erkekler üzerinde yaptığı bir çalışmada, BMI normal ve obez olan bireyler arasında, total motil sperm sayısı ve gebelik oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır (193). Lotti ve ark. (2011) ile Rybar ve ark.' nın (2011) infertil erkekler üzerinde yaptıkları çalışmalarda, yüksek BMI ile testis, seminal vezikül ve epididim anormallikleri ve semen parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır (194, 195). Bütün bu bulguların yanında obezitenin Çinko üzerinden bir etkisinin olup olmadığı bilinmemektedir.

New Mexico Aging Process Çalışması, Baltimore Longitudinal Yaşlanma çalışması (2001) ve Massachusetts Male Aging çalışması (2002)' nda artan yaşla birlikte testosteron düzeylerinin azaldığı; FSH ve LH konsantrasyonlarının ise

yükselişte olduğunu göstermektedir (164, 165, 166, 167). Literatürde serum çinko düzeyi ile FSH, LH, testosteron düzeyleri arasında bir ilişki olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (157). Ancak bizim çalışmamızda, serum çinko düzeyi ile hem FSH hem de testosteron düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon bulunmamıştır.

Çinko eksikliğinin steroidogenezi baskıladığı gösterilmiştir (74). Androjen metabolizmasına etkisi yanında steroid reseptörleri ve androjen bağlayan proteinler üzerinde de bir etkisi vardır (75, 76).

Çinko; 5 alfa redüktaz aktivitesinde de rol almaktadır. Serum çinkosunun düşüklüğünde hem testosteron metabolizması hem de seminal plazma çinko düzeyi etkilenmektedir (74, 88). Çinko takviyesinin hayvanlarda ve erkeklerde serum testosteron düzeyini arttırdığına dair çalışmalar bulunmaktadır. Bunun nedeni çinkonun, steroidogenezi uyarması, c-AMP' yi aktive etmesi olabilir (151, 158, 159).

Vücutta çinko eksikliği daha çok, diyetle alımın azlığına veya çinkonun biyoyararlanımının bozulmasına bağlı olarak ortaya çıkar. Çinkodan zengin besinler kırmızı et, karaciğer, yumurta, bazı deniz ürünleri ve yağlı tohumlardır. Meyve, sebze ve tahıllarda çinko düzeyleri düşüktür. Çinko eksikliği çoğunlukla hayvansal besin kaynaklarının kısıtlı olduğu, bitki ve tahıl ağırlıklı beslenen kırsal bölgelerde görülmektedir (168). Vejetaryen diyetlerde çinko eksikliği çok yaygındır. Bunun nedeni, temel olarak yüksek tahıl içerikli vejetaryen diyetlerde bulunan ve organik asitlerden oluşan fitatlardır. Bu fitatlar çinkoyu tutar ve emilemez hale getirir.

Bizim çalışmamızda; kırmızı et tüketimi az ve orta düzeyde olan olgular ile semen çinko düzeyi az ve orta olanlar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Benzer şekilde yumurta tüketimi az ve çok düzeyde olan olguların semen çinko düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır. Sebze tüketimi az olan bireylerin serum çinko düzeyleri ise diğerlerinden daha yüksek olarak bulunmuştur. Bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ancak çalışmamızda yapılan sınıflandırma, subjektif ölçeklere dayanmaktadır; hastaların ankete verdikleri yanıtlar doğrultusunda değerlendirme yapılmıştır.

Literatürde besin tüketimi ile semen kalitesi üzerinde yapılmış birkaç gözlemsel çalışma bulunmaktadır. Mendiola ve ark. (2009), fertil ve infertil erkeklerde yaptıkları bir çalışmada, et ve süt tüketimindeki artışın semen kalitesini negatif yönde etkilediğini; bazı meyve ve sebzelerin ise semen kalitesini arttırdığını bulmuştur. Lewis ve ark.'nın (2006) infertil erkekler üzerinde yaptığı bir çalışmada, sebze ve meyve tüketiminin infertil erkeklerde kontrol gruplarından daha az olduğunu bulmuştur. Ayrıca, diyetle antioksidan alımı az olan grupta sperm motilitesinin de daha az olduğunu bulmuşlardır (104). Beslenme alışkanlıkları ve bununla ilişkili çinko düzeylerinin sperm kalitesine etkilerini gösteren bir çalışma bulunmamaktadır.

Netice olarak; bu çalışmanın en önemli sınırlayıcı faktörü, sadece infertil hastalara uygulanmış olması ve genel popülasyonun verilerini yansıtmıyor olmasıdır. Bu nedenle; fertilité üzerinde etkisi olan ve birbirleriyle etkileşim

içinde olan diğ r eser elementlerin de incelendiği; sağlıklı kontrol gruplarının da olduğu, daha geniş olgu serili, prospektif çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



VI. SONUÇLAR

Erkek reproduktif sistemi üzerinde, özellikle semen kalitesi üzerinde çevresel faktörlerin etkisi günümüzde sıklıkla tartışılan bir konu haline gelmiştir. Bu prospektif randomize çalışmada; eser elementlerden çinkonun semen analizi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışmamızda sperm morfolojisi çalışılmamış sadece WHO, 2010 kriterlerine göre semen analizi yapılmıştır. Aynı etnik kökenden gelen toplam 101 erkek hasta değerlendirilip aşağıdaki sonuçlar bulunmuştur:

1. Olguların meslek grupları arasındaki çeşitlilik nedeniyle, semen analizi sonuçlarında, gruplar arasında istatistiksel bir değerlendirme yapılamamıştır.
2. Olgular arasında yüksek ateşli hastalık, kabakulak orşiti, geçirilmiş genital bölge enfeksiyonu açısından farklılık saptanmamıştır.
3. AZO grubunun, diğer gruplara göre daha yaşlı olduğu ve gruplar arasındaki ortalama yaş farklarının istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur ($p=0,026$). Yaş grupları içinde hasta gruplarının dağılımının ise benzer olduğu saptanmıştır ($p>0,05$).
4. Hasta grupları arasında gündelik alışkanlıklar açısından istatistiksel olarak bir fark saptanmamıştır.
5. İnfertilite süresi ile semen analizi sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

6. Olguların %65 inde infertilite nedeninin erkek faktörü, % 28,2 sinde ise açıklanamayan infertilite olduğu saptanmıştır. Olguların %5,9 unda erkek ve kadın faktörünün bir arada olduğu gözlenmiştir.
7. İnfertilite aile öyküsü açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu, bu farkın şiddetli OZS grubundan kaynaklandığı saptanmıştır ($p= 0,017$).
8. Çalışma grubumuzun ortalama BMI $26\pm3,6$ dır. AZO grubundaki hastaların BMI' lerinin anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür.
9. Serbest testosteron, total testosteron, FSH ve LH düzeylerinin AZO grubunda en düşük olduğu; ve bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır.
10. Varikosel öyküsü ve varikosel operasyon öyküsü açısından gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.
11. Sperm volümü açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır. Sperm sayısı (/ml), total sperm sayısı, total motil sperm yüzdesi ve lökosit sayısında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu gözlenmiştir ($p<0,05$).
12. NZS ve hafif OZS gruplarının ortalama motilitelerinin şiddetli OZS ve AZO gruplarına göre daha fazla olduğu saptandı.
13. Ortalama sperm sayısı sigara kullanan grupta daha düşük olarak saptanmıştır. Bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Diğer semen parametreleri ile sigara kullanım durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

14. Çalışmaya katılan hastaların ortalama serum çinko düzeyi 121,75 µg/dl, seminal plazma da ortalama çinko düzeyi ise 3952,91 µg/dl olarak bulunmuştur.
15. Sperm sayısı azaldıkça serum ve seminal plazma çinko düzeylerinde bir azalma olduğu görülmüştür. Buna karşın; hasta grupları arasında çinko düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.
16. Sigara kullanan hastalarda serum çinko düzeylerinde bir artış olduğu saptanmıştır; ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0,270$). Ortalama seminal plazma çinko düzeylerinin sigara kullananlarda daha yüksek olduğu; ve aradaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ($p<0,05$).
17. Yaş grupları ile serum ve seminal plazma çinko düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p>0,05$).
18. Semen analizi sonuçları normal/ anormal olarak iki gruba ayrıldığında, her iki grubun serum ve seminal plazma çinko düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0, 05$).
19. Varikosel (+) hastalarda ortalama serum ve seminal plazma çinko düzeyi, varikosel (-) hastalardan ve çalışma grubumuzun ortalama çinko düzeyinden daha düşük değere sahiptir. Ancak bu veriler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.
20. Motilite açısından olgular hareketli/ hareketsiz olarak iki gruba ayrıldığında, çinko seviyelerinde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır.

Sadece serum çinko düzeyi ile +2 motilite arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır.

- 21.** Serum çinko düzeyi ile seminal plazma çinko düzeyi arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon bulunmuştur.
- 22.** Sperm volümü ve mililitredeki sperm sayısı ile total sperm sayısı arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon bulunmuştur. Total sperm sayısı ve mililitredeki sperm sayısı ile total motil sperm yüzdesi arasında pozitif yönde anlamlı bir korelasyon saptanmıştır. Mililitredeki sperm sayısı ve total motil sperm yüzdesi ile lökosit sayısı arasında ise negatif yönde anlamlı bir korelasyon bulunmuştur.
- 23.** Kırmızı et tüketimi az ve orta düzeyde olan olgularla, semen çinko düzeyi az ve orta olan olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır ($p<0,05$). Sebze tüketimi az olan olgularda serum çinko düzeyi daha yüksek olarak bulunmuştur. Bu ilişki istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Yumurta tüketimi az ve çok düzeyde olan olguların semen çinko düzeyleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmıştır ($p<0,05$).

VII. ÖZET

İnfertilite giderek daha sık izlenen bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Ancak yardımcı üreme teknikleriyle elde edilen başarı; halen doğru teşhis ve yerinde tedavi endikasyonlarına bağlıdır.

İnfertil erkeğin değerlendirilmesine öykü alınması ile başlanmalı ve fertilitiyi etkileyecek alanlara özellikle dikkat edilmelidir (cinsel ilişki sıklığı ve zamanlaması, infertilite süresi ve önceki fertilitate öyküsü, çocukluk hastalıkları ve gelişim öyküsü, sistemik hastalıklar ve önceki cerrahiler, cinsel yolla bulaşan hastalıklar, gonadal toksinler gibi). Hikaye alımını takiben fizik muayene yapılmalıdır (penis muayenesi, testis, epididim, ve vaz palpasyonu, testis volüm ölçümü, varikozel muayenesi ve parmakla rektal tuşe gibi). Sonrasında infertile tedavi planının yapılabilmesi için, semen analizi ve hormon profilinin bakıldığı laboratuvar çalışmaları yapılır.

Bazı eser elementlerin spermatogenez ve testiküler gelişim açısından gerekli olduğu bilinmektedir. İnsan seminal plazmasındaki çinko konsantrasyonu, diğer dokulardan daha yüksektir. Semende, spermatozoanın fizyolojisinde ve testisin gelişiminde çinko önemli bir role sahiptir. Eksikliğinde gonadal disfonksiyon, testiküler volümde azalma, sekonder seksüel karakterlerde yetersiz gelişim, antioksidan savunma mekanizmalarında bozulma ve seminifer tübüllerde atrofi tespit edilir.

Sigara sperm miktarı, konsantrasyonu ve motilitesi gibi bir çok sperm parametresinde bozulmaya neden olmakta ve bu da erkekte ki fertilizasyon potansiyelini azaltmaktadır.

Bu çalışmanın amacı infertil erkeklerde serum ve seminal plazmadaki çinko düzeyi ile sperm parametreleri arasındaki ilişkiyi incelemektir. Ayrıca sigara kullanımının sperm parametreleri, serum ve seminal plazma çinko düzeyleri üzerindeki etkisi de incelenmiştir. Çalışmaya merkezimize başvuran 101 infertil erkek hasta dahil edilmiştir. Semen analizi sonrasında olgulardan serum ve seminal plazma örnekleri alınarak, atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile çinko düzeylerine bakılmıştır. Elde edilen bulgular bireylerin semen analizi ve serum hormon düzeyleri ile karşılaştırılarak, aralarındaki etkileşim ve erkek infertilitesi üzerindeki sonuçları incelenmiştir. Ortalama serum çinko düzeyi normozoospermik erkeklerde daha yüksek bulunmuştur. Ortalama seminal plazma çinko düzeyi ise hafif oligozoospermi grubunda daha yüksek iken; şiddetli oligozoospermi ve azospermi grubunda daha düşük olarak saptanmıştır. Ancak bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmemiştir. Bununla birlikte, serum çinko düzeyi ile seminal plazma çinko düzeyi arasında pozitif bir korelasyon görülmektedir. Serum ve seminal plazma çinko düzeyi ile sperm hareketi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$); ancak ortalama çinko düzeylerine baktığımızda hareketli grupta çinko düzeylerinin daha yüksek olduğu görülmüştür. Sadece serum çinko düzeyi ile + 2 motilite arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır. Sigara kullanan hastalarda serum çinko düzeylerinde bir artış olduğu tesbit edilmiş; ancak bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı

değerlendirilmemiştir. Sigara kullanan bireylerde seminal plazmadaki çinko düzeylerinde de bir artış saptanmıştır ve bu bulgu istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Sonuç olarak, çinko eksikliğinin sperm kalitesinde azalma ve idiyopatik erkek infertilitesi ile ilişkili olabileceği yönünde değerlendirmeye ulaşılmıştır.



VII. SUMMARY

Infertility has become a widely encountered health issue. But success in artificial reproductive technology still depends critically on right diagnosis and treatment indications.

The evaluation of infertile men is initiated by obtaining detailed history with particular emphasis on factors that may affect fertility (coital frequency and timing, duration of infertility and previous fertility, childhood illnesses and developmental history, systemic illnesses and previous surgeries, sexual history including sexually transmitted infections and exposure to gonadal toxins). This should be followed by a physical examination (examination of secondary sex characteristics and the penis, palpation of both the testes, epididymides and vasa, measurement of testicular volume, presence of a varicocele and digital rectal examination). Following this, the seminal evaluation and hormonal studies should be done in order to make clinical decisions regarding the strategy for infertility treatment.

Several trace elements have been shown to be essential for testicular development and spermatogenesis. The concentration of zinc in human plasma is higher than in other tissues. In human semen, Zn plays an important role in spermatozoa physiology and testes development. Therefore its deficiency has been implicated in gonadal dysfunction, a decreased testicular weight, inadequate development of secondary sexual characteristics, impaired antioxidant defences and atrophy of seminiferous tubules.

Smoking impairs most of the sperm parameters including sperm counting, concentration and motility. These eventually lead to a decrease in the fertilizing potential of men.

The primary objective of the present study was to assess the relationship between zinc levels in serum and seminal plasma and sperm quality in infertile men. Also the effects of the smoking on the sperm parameters and serum and seminal plasma zinc levels are determined. One hundred and one infertile men were recruited. After semen analysis, the patients' blood and seminal plasma zinc levels were determined by atomic absorption spectroscopy. The results were correlated with the patients' spermiogram and serum hormonal levels in order to determine their relationship and significance in male infertility. The mean serum concentration of zinc was higher in normozoospermic males and lower in azoospermic males when compared to other groups. Also the mean seminal plasma zinc level was higher in mild oligozoospermic patients and lower in severe oligozoospermic and azoospermic patients. But no significant differences were observed. However a significant positive correlation was observed between serum Zn and seminal Zn levels. No significant relation was established between the serum and seminal plasma zinc level and the motility of spermatozoa. But a trend was observed for a higher zinc levels in serum and semen of the cases whose sperms were motile. And also, a significant positive correlation was observed between serum Zn and +2 motility of the spermatozoa. The geometric means of the serum zinc concentration were insignificantly high in the smoking infertile group. A significant trend was observed for higher zinc levels in seminal plasma

of the smokers compared with nonsmokers. In conclusion, poor zinc nutrition may be an important risk factor for low quality of sperm and idiopathic male infertility.



IX. KAYNAKLAR

1. Gnalp İ. Fertilit  ve Sterilit , Modern roloji Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, Ankara, S:1013-1043, 1975.
2. Howards S.S. Treatment of Male Infertility, New England J Med 1995; 332:312-17.
3. Turek P.J. Male Infertility. Smith' s General Urology, Tanagho EA. Mc Aninch JW. Appleton Lange. 2000; 750-87.
4. Elliasson R. Biochemical analyses of human semen in the study of physiology and pathophysiology of the male accessory genital glands. Fertil Steril 19(3):344-49, 1968.
5. Zavos P.M. Seminal parameters of ejaculates collected from oligospermic and normospermic patients via masturbations. Fertil Steril. 44:517-20, 1985
6. James W.O., David F. Semen Analysis, Male Infertility, Urologic Clinics of North America, 14(3), 1987.
7. Mann T. Biochemistry of semen and of the male reproductive tract. Monography 2nd. Ed. ,Methuen, London, 1964
8. Sverdloff R.S., Overstreet J.W. ,Sokol R.Z. ,Rajfer J. Infertility in the male. An. Int. Med. 103 (opt. 1): 906-919, 1985

9. Guanglin X., Zhiyu Q., The experiment study of the influence of lack of zinc on reproductive system of big rat. Study of Trace Element and Health 2000;4:5-7, 12.
10. Skannhan K.P., Skandhan S., Mehta Y.B. Semen electrolytes's normal and infertile subjects II. Zinc. Experientia. 34/11 ;1476, 1978
11. Halsted J.A., Smith J.C.: Plasma zinc in health and disease. The Lancet 322-324, 1970
12. Speroff L. and Marc A. Fritz.(Eds') Clinical Gynecological Endocrinology and Infertility. Seventh Edition, LWW. 2008:1114-1133
13. Abma J.C., Chandra A., Mosher W.D., Peterson L.S. and Piccinino L.J. Fertility, Family Planning and Women's Health: new data from the 1995 National Survey of Family Growth. Vital Health Stat 1997;23:1-114
14. Mosher W.D., Pratt W.F. Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. Fertil Steril.1991; 56(2):192-193
15. Orhon E. İnfertil erkeklerin standart araştırma, tanı ve tedavileri için Dünya Sağlık Örgütü el kitabı, 2000: 1-5
16. Rowe P.J., Hargreave T.B., Mellows H.J., Comhaire F.H. (eds). World Health Organization: WHO manual for the standardized investigation and diagnosis of the infertile couple (1993). Cambridge, Cambridge University Press.
17. Yaman S., Müftüoğlu Y.Z., Anafarta K, Bedük Y. Erkek İnfertilitesi. Üroloji, Ankara, Güneş Kitabevi, 1990:483-508.

18. Günalp S., Orhon E., Özgür K.,Seçkin B., Tarcan T., Türk Androloji Rehberi, 2004:4-5
19. Paker Ş. Histoloji. İkinci baskı. Uludağ Üniversitesi Basımevi. 1993.
20. Jensen C.E., Wiswedel K., et al. Prospective study of hormonal and semen profiles in marathon runners. Fertil Steril 1995;64(6): 1189-1197
21. Junqueira C.L., Carneiro J., Kcley O.R. Basic Histology 8th edition. Çev. Aytekin Y. Barış Kitabevi. İstanbul. 1993
22. Ganong W.F., Review of medical physiology. 16th edition. Appletoia and Lange, California, p: 387-408. 1993
23. Setchell B.P., Maddocks S. The Male Reoroductive System. 1994
24. Lens J.W. The Spermatozoon. Brass M., Lens J.W., Piederiet M.H., Laboratory aspects of in vitro fertilization, Organon pres.1996.
25. Knobil E., Neill J.D. The Physiology of Reproduction. Raven Pres, Ltd. new York, 1994: 1063-1175
26. Bibbins PE, Hokanson JA, Ward JB, et al. Incidence of sperm with Two Fluorescent bodies in men with impaired fertility. Fertil Steril 1992; 57(2):402-408.
27. Gonzales F.G., Kortebani G., Mazzolli A.B. Leukocyto-spermia and function of the seminal vesicles on seminal quality. Fertil Steril 1992;57(5): 1058-1065

28. Strasinger S.K., Lorenzo M.S. Urinalysis and Body Fluid 4th ed. F.A. Davis Company, Philadelphia, 2001.
29. Gonzales G.F. Function of seminal vesicles and their role on male fertility. Asian J Androl 2001; 3:251-258.
30. Jequier A.M., Crichton J.P. Semen analysis, blackwell scientific publications USA. P: 1-145, 1986.
31. Alexander N.J. Male evaluation and semen analysis in gynecology and obstetrics. Saunders, Michigan, P: 460-482, 1983.
32. Önvural B., Önvural A. Seminal plazma biyokimyası ve klinik değerlendirilmesi. İzmir, 1995.
33. Bostofte E., Bagger P., Michael A. Fertility prognosis for infertile men: results of follow-up study of semen analysis in infertile men from two different populations evaluated by the cox regression model. Fertil Steril 1990; 54(6): 1100-6.
34. Tanagho E.A., McAnich J.W. Smith' s General Urology. Lange, Prentice Hall International Inc., 1992: 1-16, 669-675.
35. Buckett W.M., Lewis-Jones D.I. Fructose concentrations in seminal plasma from men with nonobstructive azoospermia. Arch. Androl 2002; 48:23-27.
36. Gonzales G.F., Villena A. True corrected seminal fructose level: a better marker of the function of seminal vesicles in infertile men. International Journal of Andrology 2001; 24: 255-260.

37. World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction. 5th. Edition. Cambridge: Cambridge University Press, 2010.
38. Wong W.Y., Flik G., Groenen PMW, Swinkels DW, Thomas CMG, Copius-Peereboom JHJ, et al. The impact of calcium, magnesium, zinc, and copper in blood and seminal plasma on semen parameters in men. *Reproductive Toxicology* 2001; 15: 131-136.
39. Omu A.E., Al-Bader A.A., Dashti H., Oriowo M.A. Magnesium in human semen: possible role in premature ejaculation. *Arch Androl* 2001; 46 (1):59-66.
40. Lundwall A., Bjartell A., Olsson A.Y., Malm J. Semenogelin I and II, the predominant human seminal plasma proteins, are also expressed in non-genital tissues. *Mol Hum Reprod* 2002; 8 (9):805-810.
41. Patrick C. Campbell's Urology, 8th ed. Saunders Company, Philadelphia, 2002.
42. Singer R., Sagin M., Levinsky H., Allalouf D. Andrological parameters in man with high sperm counts and possible correlation with age. *Arch Androl* 1990; 24:107-111.
43. Çalışır K., Özkök Y., Kilciler M., Gökalp A., Göktaş S., Yıldız M., Erduran D. Fertil ve infertil Erkeklerde Seminal Plazma Bakır, Çinko, Selenyum ve Kadmiyum Düzeylerinin Değerlendirilmesi. *Türk Üroloji Dergisi* (1996) Cilt:22, Sayı:3:287-293.

44. Solomons N.W. Biological availability of zinc in humans. *Amer. J. Clin. Nort.* 35:1048-1075, 1982.
45. Fahim M.S., Ibrahim H.H., Girgis S.M., Essa H.A., Hanafi S. Value of intraprostatic injection of zinc and vitamin C and of ultrasound application in infertile men with chronic prostatitis. *Archives of Andrology.* 14: 81-87, 1985
46. Spencer H., Rosaff B., Felstein. Metabolism of zinc in man. *Radiation Res.* 24:432, 1965.
47. Chapvil M. Effect of zinc on cells and biomembrans. *Med. Clin. Nort. Amer.* 60(4):799-812, 1976.
48. Prasad A.S. Trace metals in growth and sexual maturation. In: *Metabolism of Trace Metals in Man.*(Eds)M.Rennert and W.Y.Chan:CRC Press.Boca Raton, FL pp 79-97, 1984.
49. Miller M.J., Fischer M.I., Elcoate P.V., Mavson C. The effects of dietary zinc deficiency on the reproductive system of male rats. *Can J. Biochem. Physiol.* 1958; 36:557-569
50. Saxena R., Bedwal R.R., Mathur R.S., Biochemistry of testes of rats fed on zinc deficient diets. *Trace Elem. Med.* 1991;8:138-142.
51. Taneja S.K., Nirmal Histopathology of testes of mice fed on zinc deficient diet. *Indian J explo. Biol* 1980; 18:1411-1414

52. Foster P.M.D., Thomas L.V., Cook M.V., Gangolli S.D. Study of the testicular effects and the changes in zinc excretion produced by some n-alkyl phthalate in the rat. Toxic appl. Pharmac. 1980;54:392-398
53. Gangolli S.D. Testicular effects of phlate esters. Environ Health Perspect 1989;45:77-84
54. Oishi S., Hirage K. Testicular atrophy induced by di (2-ethylhexyl) phthalate: Effect of zinc supplement. Toxic appl. Pharmac 1983; 70: 43-48
55. Budzic G.P., Houston J.M., Ikawa H., Donahoc P.K. The role of zinc in Mullerian Duct regression. Endocrinology 1982; 110:1521-1525
56. Jaiswal A., Joshi P., Kumar M.V. Panda J.n., Singh L.N. Angiotensin converting enzyme in the testes and epididymus of mammals. Andrologia 1984; 16: 410-416.
57. Reeves P.G. and O' Dell B.L. An experimental study of the effects of zinc on the activity of angiotensin converting enzyme activity: comparative effects on lung and testes. J. Nutr. 1981;118: 622-626.
58. Valletti P.A., Aqualino D.R., Druckwich E., Isai-Morris C.H., Dufau M.L., Lovenberg W. Endocrinological control and cellular localizations of rat testicular angiotensin converting enzyme(Ec 3.4.25.1) Endocrinology 1985;116:2519-2522.
59. Prasad A.S., Oberleas D. Ribonuclease and deoxyribonuclease activities in zinc deficient tissues. J Lab.Clin.Med 1973; 82:461-466

60. Dhanda O.P., Rao R, Razdan M.N., Sorbitol dehydrogenase and Hyaluronidase activity in buffalo semen. Indian J.expl. Biol. 1981;19: 286-289
61. Eliasson R., Virgi N., LDH-c4 in human seminal plasma and its relationship to testicular function. II.Clinical aspects. Int J Androl. 1985;8 : 201-203
62. Machado de- Domenech E.M, Domenech C.E., Aoki A., Blanco A. Association of the testicular lactate dehydrogenase isoenzyme with a special type of mitochondria Biol Reprod. 6 (1972) 136-147.
63. Baccetti B., Pallini V., And Brunni A.G.The accessory fibers of sperm III. High sulfur and low sulfur components in mammals and cephalods. J Ultrastruct Res 57(1976b) 289-303
64. Dinsdale D., Williams R.B. Ultrastructural changes in the sperm tail of zinc deficient rats J comp Path 1980;90:559-566
65. Wallace E., Calvin H.I, Salgo M.P., Denis D.E., Ploetz K. Normals levels of zinc and sulphdrylsin morphologically abnormal population of spermatozoa from moderately zinc deficient rats. Gamete res 1984;9:375-386
66. Stegmayr B., Ronquist G. Stimulation of sperm progressive motility by organelles in human seminal plasma. Scand J Urol Nephrol 1982;16:85-91
67. Umeyama T.H., Ischikawa H., Takeshima S., Hoshii S., Koiso K. A comparative study of seminal trace elements in fertile and infertile men Fertil Steril 1986;46:494-499.

68. Skandhan K., Skandhan S., Melita Y.B. Semen electrolytes in normal and fertile subjects II. Zinc. *Experientia* 1978;34:1476-1477.
69. Carreras A., Mendoza C. Zinc levels in seminal plasma of fertile and infertile men *Andrologia* 1990;22:279-283
70. Blazak W.F., Overstreet W. Instability of nuclear chromatin in the ejaculated spermatozoa of fertile men *J Reprod Fertil* 1982; 65: 331-339
71. Huret J.L. Nuclear chromatin decondensation of human sperm: a review *Arch Androl* 1986; 16: 97-108
72. Kvist U., Bjordahl L., Kjellberg S. Sperm nuclear zinc, chromatin stability in fertile men and male fertility *Scanning Microsc.* 1987;1: 1241-1247
73. Kvist U., Kjellberg S., Bjordahl L., Hammar M., Roomans G.M. Zinc in sperm chromatin and chromatin stability in fertile men and men in barren unions. *Scand J Urol Nephrol* 1988; 22: 1-6.
74. Hartoma T.R., Nahoul K., Netter A. Zinc, plasma androgens and male sterility *Lancet* 1977; 2: 278-279
75. Abbasi A.A., Prasad A.S., Rabbani P., DuMouchelle E. Experimental zinc deficiency in man: Effect on Testicular function *J Lab clin Med* 1980;96:544-550

76. Taneja S.K., Khang H., Chopra P. Effect of testosterone propionate on cytochemical profile of epididymis of zinc deficient rats. J expl Biol 1986;24:676-678.
77. Byar P.D. Zinc in male accessory organs: Distribution and hormonal response, in : Male Accessory Organs: Structure and Function in Mammals, Ed D. Brandes. Academic Press, Newyork, pp 161-171: 1974
78. Upadhyaya M., Hibbard B.n., Walker S.M., Seminal Acid phosphatase in relation to fertility. Acta Obstet Gynecol Scand. 1986; 65:49-52
79. Mann T., Lutwak- Mann C.A. Male reproductive function and semen. Themes and trends in Physiology, Biochemistry and Investigative Andrology. Springer, Berlin, 1981.
80. Fransworth W. Physiology and biochemistry, in: Scientific Foundations of Urology, Eds. G Chisholm, I Williams. William Heineman Medical books, L.T.d., London , pp.126-137,1982.
81. Langley J., Goldsmid J., Davies N., Veneral trichomoniasis: Role in men Genitourin Med 1987;64:264-267
82. Mankad M., Sathawara N.G., Doshi H., Saiyed H.N., Kumar S. Seminal plasma zinc concentration and α -glucosidase activity with respect to semen quality. Biol Trace Elem Res 2006;110:97-106.

83. Xu Bo, Chia S.E, Tsakok M., Ong C.N, Trace elements in blood and seminal plasma and their relationship to sperm quality. *Reproductive Toxicology*, 1993, Vol. 7, pp.613-618
84. Ebisch I.M.W., Thomas C.M.G., Peters W.H.M., Braat D.D., Steegers Theunissen R.P.M. The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. *Human Reproduction Update*, Vol.13 No.2 pp.163-174, 2007.
85. Zago M.P., Oteiza P.I. The antioxidant properties of zinc: interactions with iron and antioxidants. *Free Radical Biol Med* 2001; 31:266-74.
86. Eggert-Kruse W., Zwick E.M., Batschulat K., Rohr G., Armbruster F.P., Petzoldt D., et al. Are zinc levels in seminal plasma associated with seminal leukocytes and other determinants of semen quality? *Fertility and Sterility* 2002; 77 (2): 260-269.
87. Wong W.Y., Thomas C.M., Merkus J.M., Zielhuis G.A., Steegers-Theunissen R.P. Male factor subfertility: possible causes and the impact of nutritional factors. *Fertility and Sterility* 2000; 73 (3): 435-442.
88. Stankovic H., Mlacak-Devic D. Zinc and copper in human semen. *Clin Chim Acta* 1976; 70: 123-6.
89. Sanada S., Yoshida O., Zinc concentrations and total amount of zinc in seminal plasma of infertile men with special reference to prostatic secretory function. *Hinyokika Kyo* 1985; 11:1971-87

90. Benoff S., Cooper G. W., Centola G. M., Jacob A., Hershlag A., Hurley I. R. Metal ions and human sperm mannose receptors, *Andrologia* 32, 317–329 (2000).
91. World Health Organization, (1999). WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. Cambridge University Press. Fourth Edition, p 1-50.
92. Cooper T.G., Noonan E., Eckardstein S.V., Auger J., H.W. Gordon Baker, Hermann M. Behre, Trine B. Haugen, Kruger T., Wang C., Mbizvo M., and Vogelsong K. World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Human Reprod Update*. 2009; Vol.00, No.0. pp.1-15.
93. Poland M.L., Moghissi K.S., Giblin P.T., Ager J.W., Olson J.M. Variation of semen measures within normal men. *Fertil Steril*. 1985; 44:396-340
94. Tielemans E., Heederik D., Burdorf A., Loomis D., Habbema D.F. Intraindividual variability and redundancy of semen parameters. *Epidemiology*. 1999; 8:99-103
95. Chen Z., Toth T., Godfrey-Bailey L., Mercedat N., Schiff I., Hauser R. Seasonal variation and age-related changes in human semen parameters. *J Androl*. 2003; 24:226-231
96. Andolz P., Bielsa M.A., Andolz A. Circannual variation in human semen parameters. *Int J Androl*. 2001; 24:226-231
97. Taşçı A.İ., Samastı M. İnfertilitede laboratuvar ve uygulamalar. Hayat Sağlık ve Sosyal Hizmetler Vakfı Yayınları. İstanbul, 1997.

98. McClure R.D. Male infertility. In: Smith's General Urology. Tanagho EA, McAninch JV (Ed). Appleton-Lange Meed. San Fransisko, 681, 1992.
99. Tyler J.P, Crockett N.G, Driscoll G.L. Studies of human seminal parameters with frequent ejaculation. I. Clinical characteristics, Clin Reprod Fertil. 1982; 1:273-285
100. Pellestor F., Girardet A., Andreo B. Effect of long abstinens periods on human sperm quality. Int J Fertil Menopausal Stud. 1994; 39:278-281
101. Guzick D.S., Overstreet J.W., Factor-Litvak P., Brazil C.K., Nakajima S.T., Coutifaris C., Carson S.A., Cisneros P., Steinkampf M.P., Hill J.A., Xu D., Vogel D.L. Sperm morphology, motility and concentration in fertile and infertile men, New Engl J Med. 2001; 345: 1388-1393
102. Cooper T.G., Noonan E., Von Eckardstein S., et al. World Health Organization reference values for human semen characteristics. Hum Reprod Update 2010; 16:231
103. Amelar R.D. Coagulation, liquefaction and viscosity of human semen. J Urol 1962, 87: 187-190.
104. Lewis V., Kochman L., Herko R., Brewer E., Andolina G., Song G. Dietary antioxidants and sperm quality in infertile men. American Society of Reproductive Medicine Annual Meeting, New Orleans, LA, October 21–25. Fertil Steril 2006;86:s364.
105. Schill W.B., Topfer-Petersen E., Heissler E. The sperm acrosome functional and clinical aspects. Hum Reprod 3:139, 1988.

106. Enginsu M.E., Domoulin J.C.M., Pieters M., et al. Evaluation of human sperm morphology using strict criteria after Diff-Ouik staining: correlation of morphology with fertilization in vitro. Hum Reprod 6:854,1991.
107. Kruger T.F., Acosta A.A., Simmons K.F., et al: Predictive value of abnormal sperm morphology in in-vitro fertilization. Fertil Steril 1988;49:112-7.
108. Dadoune J.P. Ultrastructural abnormalities of human sperm. Hum Rep 3:311, 1988.
109. Johnston R.C., Clarke G.N., et al. Assessment of the sperm quality analyzer. Fertil Steril 1995; 63(5): 1071-1076.
110. Ginsburg K.A., Armant D.R. The influence of chamber characteristics on the reliability of sperm concentration and movement measurements obtained by manual and videomicrographic analysis. Fertil Steril 1990;53(5): 882-887.
111. Fuse H., Okumura M., Sakamoto M., et al. Acrosome-reacted sperm in infertile and fertile men using the triple-stain technique. Archs Androl 1993;30: 41-45.
112. World Health Organization. Laboratory manual for examination of human semen and semen-cervical mucus interaction. The Pres Syndicate of the Univercity of Cambridge, Cambridge, 1987.
113. Stanwell-Smith R., Thompson S.G., Haines A.P., Ward R.J., Cashmore G., Stedronska J., Hendry W.F. A comparative study of zinc, copper, cadmium, and lead levels in fertile and infertile men. Fertil Steril. 1983 Nov;40(5): 670-7.

114. Telisman S., Cvitkovic P., Jurasovic J., Pizent A., Gavella M., Rocic B. Semen quality and reproductive endocrine function in relation to biomarkers of lead, cadmium, zinc, and copper in men. *Environ Health Perspect.* 2000 Jan;108(1):45-53.
115. Kahraman S. Erkeklerde kan ve seminal plazmada çinko, bakır, kurşun, ve kadmiyum düzeylerinin sperm parametreleri üzerine etkisi. Tıpta uzmanlık tezi. Eskişehir: Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,2008.
116. Chia S.E., Ong C.N., Chua L.H., Ho L.M., Tay S.K. Comparison of zinc concentrations in blood and seminal plasma and the various sperm parameters between fertile and infertile men. *J Androl.* 2000 Jan-Feb;21(1):53-7
117. Colagar A.H., Marzony E.T., Chaichi M.J., Zinc levels in seminal plasma are associated with sperm quality in fertile and infertile men, *Nutrition Research* 29 (2009) 82-88
118. Carpino A., Siciliano L., Petrone M.F., Stefano C.D., Aquaila S., Ando S., Low seminal zinc bound to high molecular weight proteins in asthenozoospermic patients: evidence of increased sperm zinc content in oligoasthenozoospermic patients. *Human Reproduction* vol. 13 no. 1 pp.111-114, 1998.
119. Fuse H., Kazama T., Ohta S., Fujiuchi Y. Relationship between zinc concentrations in seminal plasma and various sperm parameters. *Int Urol Nephrol* 1999, 31:401-408.

120. Chia S.E., Ong C.N., Lee S.T., Tsakok F.H. Blood concentrations of lead, cadmium, mercury, zinc, and copper and human semen parameters Arch Androl. 1992 Sep-Oct;29(2):177-83.
121. Lewis-Jones D.I., Aird I.A., Biljan M.M., Kingsland C.R. Effects of sperm activity on zinc and fructose concentrations in seminal plasma. Hum Reprod 1996, 11:2465-7.
122. Bakalczuk S., Robak-Cholubek D., Jakiel G., Krasucki W. Level of zinc and magnesium in semen taken from male partners of married infertile couples. Ginekol Pol 1994;65:67-70.
123. Bagchi D., Vuchetich P.J., Bagchi M., Tran M.X., Krohn R.L., Ray S.D., et al. Protective effects of zinc salts on TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation, glutathione depletion, DNA damage and peritoneal macrophage activation in mice. Gen Pharmacol 1998;30: 43-50.
124. Colleen S., Mardh P.A., Schytz A. Magnesium and zinc in seminal fluid of healthy males and patients with non-acute prostatitis with and without gonorrhoea. Scand J Urol Nephrol 1975;9:192-7
125. Zhao R.P., Xiong C.L. Zinc content analysis in serum, seminal plasma and spermatozoa of asthenozoospermic and oligoasthenozoospermic patients. Zhonghua Nan Ke Xue 2005;11:680-2.
126. Danscher G., Hammen R., Fjerdingsstad E., Rebbe H. Zinc content of human ejaculate and the motility of sperm cells. Int J Androl 1978;1:576-81.

127. Deng C.H., Zheng B., She SF. A clinical study of biological zinc for the treatment of male infertility with chronic prostatitis. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2005;11:127-9.
128. Powell S.R. The antioxidant properties of zinc. *J Nutr* 2000;130:1447S-54S.
129. Aiken R.J. Molecular mechanism regulating human sperm function. *Mol Hum Reprod* 1993;3:169-73.
130. Saaranen M., Suistomaa U., Kantola M., Saarikoski S., Vanha-Perttula T. Lead, magnesium, selenium and zinc in human seminal fluid: comparison with semen parameters and fertility. *Hum Reprod*. 1987 Aug;2(6):475-9.
131. Omu A.E., Dashtu H., Mohammed A.T., Mattappallil A.B., 1995. Significance of trace elements in seminal plasma of infertile men. *Nutrition* 11 suppl 5 502-505.
132. Chia S.E., Xu B., Ong C.N., Tsakok F.M., Lee S.T. 1994 Effect of cadmium and cigarette smoking on human semen quality. *International Journal of Fertility and Menopausal Studies* 39 292-298.
133. Gaur D.S., Talekar M., Pathak V.P. Effect of cigarette smoking on semen quality of infertile men. *Singapore Med J*. 2007 Feb;48(2):119-23.
134. Vine M.F. Smoking and male reproduction: a review. *Int J Androl* 1996;19:323-337.
135. Chia S.E, Ong C.N. Effects of cigarette smoking on human semen quality. *Arch Androl* 1994;33:163-168.

136. Osser S. Semen quality of smoking and non smoking men in infertile couples in a Swedish population. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 1992;71:215-218.
137. Hassa H., Yildirim A., Can C., Turgut M., Tanir H.M., Senses T., Sahin Mutlu F. Effect of smoking on semen parameters of men attending an infertility clinic. *Clin Exp Obstet Gynecol.* 2006;33(1):19-22.
138. Godfrey B. Sperm morfology in smokers. *Lancet* 1981, 1:948.
139. Sofitikis N., Miyagewa I., Dimitriadis D. Effects of smoking on testicular function, semen quality and sperm fertilizing capacity. *J Urol* 1995; 154:1030-1034.
140. Dikshit R.K., Buch J.G., Mansuri S.M. Effect of tobacco consumption on semen quality of a population of hypofertile males. *Fertil Steril.* 1987 Aug; 48(2): 334-336.
141. Kapawa A., Giannakis D., Tsoukanelis K., Kanakas N., Baltogiannis D., Agapitos E., at all. Effect of paternal cigarette smoking on testicular function, sperm fertilizing capacity, embryonic development and blastocyst capacity for implantation in rats. *Andrologia* 2004; 36: 57-68.
142. Oldereid N.B., Thomassen Y., Purvis K. Seminal plasma lead, cadmium and zinc in relation to tobacco consumption. *Int J Androl.* 1994;17: 24–28.
143. Favier A.E. The role of zinc in reproduction: hormonal mechanisms. *Biol Trace Elem Res.* 1992; 32: 363-82.

144. Huang Y.L., Tseng W.C., Cheng S.Y., Lin T.H. Trace elements and lipid peroxidation in human seminal plasma. *Biol Trace Elem Res.* 2000 Sep;76(3):207-15.
145. Abou-Shakra F.R., Ward N.I., Everard D.M. The role of trace elements in male infertility. *Fertil Steril.* 1989 Aug;52(2):307-10.
146. Kvist U. Importance of spermatozoal zinc as temporary inhibitor of sperm nuclear chromatin decondensation agabeylity in man. *Acta Physiol Scand* 1980, 109:79.
147. Carreras A., Mendoza C. Zinc levels in seminal plasma of fertile and infertile men. *Andrologia.* 1990 May-Jun;22(3):279-83.
148. Iyengar V., Woittiez J. Trace elements in human clinical specimens: evaluation of literature data to identify reference values. *Clin. Chem.* 1988; 34: 474-81.
149. Minoia C., Sabbioni E., Apostoli P., Pietra R., Pozzoli L., Galorini M. et al, Trace element reference values in tissues from inhabitants of the European Community I. A study of 46 elements in urine, blood and serum of Italian subjets. *Sci. Total Environ.* 1990; 95:89-105
150. Meeker J.D., Rossano M.G., Protas B., Diamond M., Puscheck E., Daly D. et al, Cadmium, lead, and other metals in relation to semen quality: Human evidence for MOlybdenum as a male reproductive toxicant. *Environmental Health Perspectives*, Vol. 116, no. 11, November 2008, 1473-79.

151. Kumar N., Verma R.P., Singh L.P., Varshney V.P., Dash R.S. Effect of different levels and sources of zinc supplementation on quantitative and qualitative semen attributes and serum testosterone level in crossbred cattle (Bos indicus x Bos taurus) bulls. *Reprod. Nutr Dev* 2006;6:663-75
152. Sorensen M.B., Bergdahl I.A., Hjollund N.H., Bonde J.P., Stoltenberg M., Ernst E. Zinc, magnesium and calcium in human seminal fluid: relations to other semen parameters and fertility. *Mol Hum Reprod* 1994;4:331-7.
153. Elzanaty S., Malm J., Giwercman A. Duration of sexual abstinence: epididymal and accessory sex gland secretions and their relationship to sperm motility, *Human Reproduction*, vol. 20, no. 1, pp. 221-225, 2005
154. Kvist U. and Bjorndahl L. (eds) (2002) *ESHRE Monographs: Manual on basic semen analysis*. Oxford University Press, pp 1-24.
155. Eskenazi B., Kidd S.A., Marks A.R., Slotter E., Block G., Wyrobek A.J. antioxidant intake is associated with semen quality in healthy men. *Human Reproduction* Vol. 20, No. 4 pp. 1006-1012, 2005.
156. Sorensen M.B., Meredini S., Gorm D., Ernst E. Chelation of intracellular zinc ions affects human sperm cell motility. *Molecular Human Reproduction* vol.5 no.4. pp.338-341, 1999
157. Okinyole O., Abbiyesoku F.M., Oguntibeju O.O., Arowojolu A.O., Truter E.J.. the impact of blood and seminal plasma zinc and copper concentrations on spermogram and hormonal changes in infertile Nigerian men. *Original Research*, vol.11 no.2, pp.83-97,2011.

158. Netter A., Hartoma R., Nahail K., 1981, Effects of zinc administration on plasma testosterone and dihydrotestosterone and sperm count. *Archives of Andrology* 7, 69-73.
159. Diamond I., Swenerton H., Hurley LS. Testicular and esophageal lesions in zinc deficient rats and their reversibility. *Journal of Nutrition*, 1971, 177-84.
160. World Health Organization (1987). Towards more objectivity in diagnosis and management of male infertility. *Int. J. Androl. Suppl.* 7.
161. Colpi G.M., Casella E., Zanollo A., Ballerini G., Balerna M., Campana A., Lange A. (1987). Functional voiding disturbances of ampullo-vesicular seminal tract: a cause of male infertility. *Acta Eur. Fertil.*, 18: 165-179.
162. Sexton W.J., Jarow J.P. (1997). Effect of diabetes mellitus upon male reproductive function. *Urology*. 49:5-8-513.
163. Pryor J.L., Howard S.S. Varicocele. *Urol Clin North Am* 14-499, 1987.
164. Johnson L., Petty C.S., Neaves W.B. Influence of age on sperm production and testicular weights in men. *J. Reprod. Fertil* 70: 211, 1984.
165. Harman S.M., Metter E.J., Tobin J.D. et al. Longitudinal effects of aging on serum total and free testosterone levels in healthy men. *Baltimore Longitudinal Study of Aging, J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86:724, 2001.
166. Feldman H.A., Longcope C., Derby C.A., et al. Age trends in the level of serum testosterone and other hormones in middle aged men: Longitudinal results from the Massachusetts male aging study. *J. Clin. Endocrinol Metab* 87:589, 2002.

167. Strauss III J. F., Barbieri R.L. Yen and Jaffe' s Reproductive Endocrinology, 2006.
168. Erdem A., Himmetoğlu Ö. Çinko ve üreme sistemi, Güneş Medikal Dergileri, Kadın Doğum Dergisi, Mayıs 1997, s.50-55
169. MacLeod J., Seminal cytology in the presence of varicocele. Fertil steril 1965; 16:735-757.
170. Barratt C.L.R., Bolton A., Cooke I., Functional significance of white blood cells in the male and female reproductive tract. Hum. Reprod 1990; 5:639-48.
171. Close C., Roberts P., Berger R., Cigarettes, alcohol and marijuana are related to pyospermia in infertile men. J. Urol 1990;144:900-2.
172. Anderson D. Infectious viruses and semen: sexual transmission and ART risks. Program book of the 29th annual postgraduate program at the Annual Meeting of the American Society For Reproductive Medicine, Boston, Massachusetts 1996; Course 5: Male Reproduction for the year 2000: State of the art considerations, p 113-23.
173. Arabi M., Shareghi B., Anti-fertility effect of nicotine .; Zhonghua Nan Ke Xue 2005;11:323-30.
174. Yoshida K., Kawano N., Yoshiike M., Yoshida M., Iwamoto T., Morisawa M., Physiological roles of semenogelin I and zinc in sperm motility and semen coagulation on ejaculation in humans.
175. Chaistitvanich N., Boonsaeng V., Molecular structure of human seminal coagulum: the role of disulfide bonds. Andrologia, 1983;15:446-451.

176. Lilja H., Oldbring J., Rannevic G., Laurell G.B., Seminal vesicle-secreted proteins and their reactions during gelation and liquefaction of human semen. J. Clin. Invest. 1987;80:281-285.
177. Malm J., Hellman J., Hogg P., Lilja H., Enzymatic action of prostate-specific antigen (PSA or hK3): substrate specificity and regulation by Zn (2+), a tight binding inhibitor. Prostate 2000;45:132-139.
178. Hauser R., Temple-Smith P.D., Southwick G.J., et al. Fertility in cases of hypergonadotropik azoospermia. Fertil steril 1995 Mar;63(3):631-6.
179. Dohle G.R., Diemer T., Giwercman A., Jungwirth A., Kopa Z., Krausz C., Guidelines on male infertility. European Association of Urology, 2010.p.7
180. Anand V.D., White J.M., Nino H.V. "Some Aspects of Specimen Collection and Stability in Trace Elements Analysis of Body Fluids", Clinical Chemistry, 1975, 21:595-602
181. Burtis C.A. ve Ashwood E.R. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 1999. W. B. Saunders Company, Philadelphia
182. Robertson D.E. Contamination Problems in Trace Element Analysis and Ultrapurification, Marcel Dekker, New York, 1972.
183. Skoog D.A., Holler F.J., Nieman T.A. Principles of Instrumental Analysis, Harcourt Brace & Company, Florida, 1998.
184. Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics: Use and Assessment of Clinical Laboratory Results, TH Boks, Frankfurt, 1998.
185. Paul ve Soutge, 1988. 1. Ulusal çinko kongresi (Prof. Dr. Ayşe Baysal)

186. Tapiero H, Tew KD. Trace elements in human physiology and pathology: zinc and metallothioneins. *Biomed Pharmacother* 2003; 57:399-411.
187. Saner S. Beslenme ve beslenme bozuklukları; besin gereksinimleri. In: Neyzi O, Ertuğrul T, eds. *Pediatric-Cilt 1*. 3rd ed. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2002:167-182.
188. Hambidge KM, Walravens PA. Trace elements in nutrition. In: Brenemann's Practice of Pediatrics, Vincent C. Kelley(ed), Harper and Row, Publishers. Philadelphia, 1981, Vol 1,pp1-15.
189. Smith J.C., Holbrock J.T., Danford D.E. Analysis and evaluation of zinc and copper in human plasma and serum. *J Am Coll Nutr* 1985;4:627-38.
190. Brown K.H., Peerson J.M., Rivera J., Allen L.H. Effect of supplemental zinc on the growth and serum zinc concentrations of prepubertal children: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr* 2002;75:1062-71.
191. Hunt C.D., Johnson P.E., Herbel J.and Mullen L.K. Effects of dietary zinc depletion on seminal volume and zinc loss, serum testosterone concentrations, and sperm morphology in young men. *American Journal of Clinical Nutrition*, Vol 56, 148-157, Copyright © 1992 by The American Society for Clinical Nutrition, Inc
192. Erdemir F., Atilgan D., Markoc F., Boztepe O., Suha-Parlaktas B., Sahin S. The Effect of Diet Induced Obesity on Testicular Tissue and Serum Oxidative Stress Parameters. *Actas Urol Esp*. 2011 Sep 27.

193. Pham K.N., Sandlow J.I. The Effect of Body Mass Index on the Outcomes of Varicocelectomy. *J Urol*. 2011 Nov 16
194. Lotti F., Corona G., Colpi G.M., Filimberti E., Degli Innocenti S., Mancini M., Elevated Body Mass Index correlates with Higher Seminal Plasma Interleukin 8 Levels and Ultrasonographic Abnormalities of the Prostate in Men attending an Andrology Clinic for Infertility. *J Endocrinol Invest*. 2011 Jul 7.
195. Rybar R., Kopecka V., Prinosilova P., Markova P., Rubes J. Male obesity and age in relationship to semen parameters and sperm chromatin integrity. *Andrologia*. 2011 Aug;43(4):286-91.
196. Fernandez C.D., Bellentani F.F., Fernandes G.S., Perobelli J.E., Favareto A.P., Nascimento A.F. Diet-induced obesity in rats leads to a decrease in sperm motility. *Reprod Biol Endocrinol*. 2011 Mar 11;9:32.

Ek 1: Çalışmamızdaki hasta gruplarının serum ve seminal plazma ortalama çinko düzeyi ile literatürdeki fertil ve infertil olgularda ki ortalama çinko düzeylerinin dağılımı:

Çinko Düzeyi	Bizim Çalışmamız	Literatürdeki Fertil olgular	Literatürdeki İnfertil olgular
Serum	NZS : 136,42±181,5 µg/dl Hafif OZS : 111,55±19,02 µg/dl Şiddetli OZS : 114,92±31,81 µg/dl AZO : 100,41±17,27 µg/dl Genel : 121,75±119,94 µg/dl	877 µg/L (113) 1352 µg/L (38) 960 µg/L (114) 1645 µg/L (115) 6,2 µg/L (83) 7,57mg/L (116,120) 6,4 µg/L (148) 6,3 µg/L (149) 11,31µmol/L (157) 0,6 – 1,2 mg/L (184) 15 µmol/L (186) 95±14 µgr/100 ml (189)	7,13mg/L (116,120) 25,43µmol/L (157)
Seminal Plazma	NZS : 4064,34±1752,95 µg/dl Hafif OZS : 4251,94±1533,96 µg/dl Şiddetli OZS : 3669,46±1709,8 µg/dl AZO : 3766,41±1768,9 µg/dl Genel : 3952,91±1694,7 µg/dl	120 mg/L (113) 91 mg/L (38) 146 mg/L (114) 135 mg/L (115) 124 mg/L (67) 275 mg/L (116) 14,08 mg/100ml (117) 197,5 µg/L (83) 194 µg/ml (119) 29,85 µmol/L (157) >2.4 mmol/ ejakulat(179)	10,32 mg/100ml (117) 183,6mg/L (116) 200 µg/ml (118) 32,77 µmol/L (157)

1mg: 1000 µg; 1lt: 10 dl; 1µg/ dl: 0,153 µmol/ L

Ek 2:

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
DEĞERLENDİRME FORMU**

DEĞERLENDİRME KURULUNUN ADI	Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
AÇIK ADRES	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara
TELEFON	0312 202 69 58
FAKS	0312 202 46 73
E-POSTA	tipetikkurul@gazi.edu.tr

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Erkek infertilitesinde çinkonun rolü		
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr. Özdemir HİMMETOĞLU		
	UZMANLIK TEZİ/AKADEMİK AMAÇLI	UZMANLIK TEZİ ☒	AKADEMİK AMAÇLI ☐	
		DİĞER ☐	☐ İLAÇ DIŞI GİRİŞİMSSEL: ☒ İLAÇ DIŞI GİRİŞİMSSEL OLMAYAN (C.3) Rutin takip ve tedavi sırasında elde edilmiş materyallerle yapılan araştırmalar	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon No	Dili
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
	BİL. GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı			Açıklama
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	☒		
	SİGORTA	☐		

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 144	Toplantı tarihi: 11.05.2011
	Üniversitemiz Tıp Fakültesinde Prof.Dr. Özdemir Himmetoğlu'nun sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıdaki künyede kayıtlı başvuru bilgileri verilen, Uzmanlık Tezi klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve çalışmanın gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına G.Ü.T.F. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir.	

ETİK KURUL BİLGİLERİ						
ÇALIŞMA ESASI	Dünya Tıp Birliği Helsinki Bildirgesinin son versiyonu, İyi Klinik Uygulamaları (Uluslararası ICH-GCP) kılavuzu ve bununla ilgili 2001/20/EC ve 2005/28/EC sayılı Avrupa Birliği direktifleri, Biyoloji ve Tıbbın uygulanması bakımından İnsan Hakları ve İnsan haysiyetinin korunması sözleşmesi ve İnsan Hakları ve Biyotıp Sözleşmesinin onaylanmasının uygun bulunduğu dair kanun (9.12.2003 tarihli 25311 sayılı Resmi Gazete), 2547 sayılı Yükseköğretim Kanunu (06.11.1981 tarihli 17506 sayılı Resmi Gazete), Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik , İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu					
	ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Prof.Dr.Canan ULUOĞLU					
	ETİK KURUL ÜYELERİ					
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	İlişki *	Katılım **	İmza
Prof.Dr.Canan ULUOĞLU BAŞKAN	Tıbbi Farmakoloji	G.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Doç.Dr.Arzu BAKIRTAŞ BAŞKAN YRD.	Çocuk Sağ.ve Hast. Çocuk Allerji	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	
Prof.Dr.Gonca AKBULUT RAPORTÖR	Fizyoloji	G.Ü.T.F Fizyoloji A.D.	K	E ☐ H ☒	E ☒ H ☐	

Prof.Dr.Fusun BOZKIRLI ÜYE	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	G.Ü.T.F Anest.ve Rea. A.D	K	E ☐ H ☒ E ☒ H ☐	
Prof.Dr.Emin TÜRKÖZ ÜYE	Restoratif Diş Tedavisi ve Endodonti	G.Ü.D.F Restoratif Diş Ted. ve Endodonti A.D	E	E ☐ H ☒ E ☒ H ☐	
Prof.Dr.Seyhan ERSAN ÜYE	Farmasötik Kimya	G.Ü.E.F (Ecz.Mes.Bil.) Farmasötik Kimya	K	E ☐ H ☒ E ☒ H ☐	
Prof.Dr.Sefer AYCAN ÜYE	Halk Sağlığı	G.Ü.T.F Halk Sağlığı A.D	E	E ☐ H ☒ E ☐ H ☒	Katılmadı
Prof.Dr.Mustafa KAVUTÇU ÜYE	Tıbbi Biyokimya	G.Ü.T.F Tıbbi Biyokimya A.D	E	E ☐ H ☒ E ☒ H ☐	
Prof.Dr.Öznur LBOYUNAĞA ÜYE	Radyoloji	G.Ü.T.F Radyoloji A.D	K	E ☐ H ☒ E ☒ H ☐	
Prof.Dr.Galip GÜZ ÜYE	İç Hastalıkları Erişkin Nefroloji	G.Ü.T.F İç Hastalıkları A.D.	E	E ☐ H ☒ E ☒ H ☐	
Prof.Dr.Aylar POYRAZ ÜYE	Tıbbi Patoloji	G.Ü.T.F Tıbbi Patoloji A.D	K	E ☐ H ☒ E ☒ H ☐	
Doç.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Etiği ve Tıp Tarihi	G.Ü.T.F Tıp Etiği ve Tıp Tarihi A.D	K	E ☐ H ☒ E ☒ H ☐	
Doç.Dr.Birol DEMİREL ÜYE	Adli Tıp	G.Ü.T.F Adli Tıp A.D.	E	E ☐ H ☒ E ☒ H ☐	
Doç.Dr.Metin YILMAZ ÜYE	Kulak-Burun-Boğaz Hast.	Kulak-Burun- Boğaz Hast. A.D	E	E ☐ H ☒ E ☒ H ☐	
Huk.Müş.Adem GELİR ÜYE	Hukuk Müşavirliği	Rektörlük Hukuk Müşavirliği	E	E ☐ H ☒ E ☒ H ☐	
Emine ŞEKER ÜYE	Sivil Temsilci	Sivil Temsilci	K	E ☐ H ☒ E ☐ H ☒	Katılmadı

* :Araştırma ile İlişki
** :Toplantıda Bulunma