



UFUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
[KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI]
[KLİNİK EMBRİYOLOJİ PROGRAMI]

[İNFERTİL VAKALARDA
SPERM DNA FRAGMENTASYON İNDEKSİ
VE SEMEN GALECTİN-3 MİKTARININ
TESPİT VE KORELASYONU]

[PELİN MENTEŞOĞLU]

[YÜKSEK LİSANS TEZİ]

ANKARA
[2018]



UFUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
[KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI]
[KLİNİK EMBRİYOLOJİ PROGRAMI]

[İNFERTİL VAKALARDA
SPERM DNA FRAGMENTASYON İNDEKSİ
VE SEMEN GALECTİN-3 MİKTARININ
TESPİT VE KORELASYONU]

[PELİN MENTEŞOĞLU]

[DANIŞMAN : GAMZE SİNEM ÇAĞLAR PROF. DR.]

[YÜKSEK LİSANS TEZİ]

ANKARA
2018

KABUL VE ONAY

Pelin MENTEŞOĞLU tarafından hazırlanan "İnfertil Vakalarda Sperm DNA Fragmentasyon İndeksi ve Semen GALECTİN-3 Miktarının Tespit ve Korelasyonu" başlıklı bu çalışma, 23.01.2018 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda başarılı bulunarak jürimiz tarafından BİTİRME TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Recai PABUÇCU

Danışman: Prof. Dr. Gamze Sinem ÇAĞLAR

Üye: Prof. Dr. Emel KOPTAGEL

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.



Prof. Dr. GÜRBÜZ ERDOĞAN

Enstitü Müdürü

BİLDİRİM

Hazırladığım tezin tamamen kendi çalışmam olduğunu ve her alıntıya kaynak gösterdiğimi taahhüt eder, tezimin kağıt ve elektronik kopyalarının Ufuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü arşivlerinde aşağıda belirttiğim koşullardan birine göre saklanmasına izin verdiğimi onaylarım:

(+) Tezimin/Raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir.

() Tezim/Raporum sadece Ufuk Üniversitesi yerleşkelerinden erişime açılabilir.

() Tezimin/Raporumun yıl süreyle erişime açılmasını istemiyorum. Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir.

[Tarih ve İmza]

[Öğrencinin Adı Soyadı]

İTHAF

**BU ÇALIŞMAYI SEVGİLİ ANNEM SERAP MENTEŞOĞLU VE BABAM TARIK
MENTEŞOĞLU'NA İTHAF EDİYORUM.**



TEŐEKKÜR

Tez çalışmam boyunca her koőulda yardımlarını esirgemeyen , tecrübeleri ile destek olan, sevgili danışman hocam Prof. Dr. GAMZE SİNEM ÇAĞLAR'a emeklerinden dolayı teőekkür ederim. Yüksek lisans eğitimim süresince teorik ve deneysel yönden altyapı oluőturmam ve tez çalıőmalarım için olanak sağlayan değerli hocam Prof. Dr.

RECAİ PABUÇCU'ya, mesleki eğitimime büyük katkıları olan, laboratuvar bilgi ve tecrübelerini bana aktaran sevgili Embriyolog SEMRA SERTYEL'e, tez çalıőmamın tamamlanmasındaki yardımlarından dolayı sevgili hocam Yrd. Doç. Dr. TUBA

ÇANDAR'a teőekkür ederim.

Yıllardır hiçbir fedakarlıktan kaçınmadan bugünlere gelmemi sağlayan, her zaman en büyük destekçilerim olan sevgili anneme, babama, kardeşlerim Begüm Menteşoğlu ve Tarkan Menteşoğlu'na sonsuz teőekkürü borç bilirim. Yüksek lisans hayatım boyunca bana her zaman destek olan değerli arkadaşım Cem Sancar'a teőekkür ederim.

ÖZET

[MENTEŞOĞLU, Pelin]. [İnfertil vakalarda sperm DNA fragmentasyon indeksi ve semen galectin-3 miktarının tespit ve korelasyonu], [Yüksek Lisans Tezi], Ankara, [2018].

Galektin-3, lektin ailesinden bir proteindir. Galektin-3 immün modülasyon ve kanser progresyonunda yeralsa da, erkek üreme sisteminde Galektin-3 ekspresyonunun etkileri araştırılmalıdır. Sertoli hücrelerinde spermatogenezi destekleyen Galektin-3'ün ve seminal plazmada prostazomlarda saptanması, bu proteinin spermatogenezis veya sperm fonksiyonu üzerindeki düzenleyici rolünü gösterir. Bu çalışma, infertil erkeklerin seminal plazmasındaki Galektin-3 düzeylerini tespit etmek için tasarlanmıştır. Tespit edilen Galektin-3'ün, temel semen parametreleri ve DNA fragmentasyonu ile korelasyonu, sperm kalitesi ve miktarı ile ilişkisini saptamak için yapıldı. Çalışma popülasyonu 152 infertil erkekte oluşmaktadır. Dışlama kriterleri şunlardır: tıbbi öykü / fizik muayene, subklinik genital enfeksiyonlar, kriyoterapi, kanser, varikosel, ağır sigara içenlerde (> 20 sigara / gün) anormallikler ve azoospermi. Semen örnekleri, 2-5 gün cinsel perhizden sonra mastürbasyon ile elde edildi ve steril kaplarda saklandı. Temel semen parametreleri DSÖ kriterlerine göre değerlendirildi (WHO, 2010). Toplam progresif sperm sayısı (TPMSS) hesaplandı [(toplam ejakülasyona giren sperm sayısı x progresif hareketli sperm) / 100]. Oligozoospermi sperm sayısı <15mil / ml olarak tanımlandı. Kalan örnek, daha önce tarif edildiği gibi DNA fragmentasyonunun saptanması için sitometri testi için kullanılmıştır (Erenpreisa ve ark., 2003). DNA fragmentasyon indeksi (DFI,%) anormal DNA konformasyonlu sperm hücrelerinin normal olanlara oranı olarak tanımlandı. Seminal plazmadaki Galektin-3, ticari olarak temin edilebilen bir kit (iSystem, Abbott) tarafından kemilüminesans reaksiyonu ile analiz edildi. Hastaların yaş ortalaması 34.67 ± 5.43 yıl (en az 24 maksimum 52) idi. Olguların% 16.4'ünde oligozoospermi vardı ve % 83.5'inde normozoospermi vardı (≥ 15 mil / ml). Oligozoospermi ve normozoospermi olan hastaların yaş ortalaması benzerdi ($p > 0.05$). Olguların ortalama DFI'sı % 24.27 idi. DFI, oligozoospermilerde normozoospermilere göre anlamlı olarak daha yüksekti, TPMSS ise normozoospermilere göre oligozoospermilerde anlamlı derecede düşüktü (% 25 vs. % 21, $p = 0.03$ ve 0.54 vs. 18.60×106 , $p < 0.001$). Vakaların Galektin-3 düzeyleri ortalaması 216 ng / mL (min 8.6 ng / mL -max 794 ng / mL), oligozoospermi grubunda 162 ng / mL ve normozoospermi grubunda 90 ng / mL idi ($p > 0.05$). Tüm hastaların verileri analiz edildiğinde, ne DFI ne de Galektin-3 seviyeleri, semen parametreleriyle korele değildi. Oligozoospermi grubunda Galektin-3 düzeyleri progresif hareketli sperm sayısı ile negatif korelasyon gösterdi ($r = -0.479$; $p = 0.024$). Daha önce yayınlanmış makalelerde Galektin-3, seminal plazma içinde prostasomlarda tanımlandı. Prostasomlar, sperm hareketliliğini arttırmak için intra prostasomal kalsiyum depolarının verilmesiyle sperm ile birleşir. Normozoospermi vakalarında konvansiyonel sperm analizi ve DFI'nin Galektin-3 seviyeleri ile korelasyon göstermemesine rağmen, bu çalışmanın sonuçları, seminal plazma Galektin-3 seviyelerinin, oligozoospermi grubunda progresif motilite ile negatif korelasyon olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, verilerimiz Galektin-3'ün sperm işlevindeki rolünü gösterebilir. Galektin-3'ün insan spermatogenezisindeki ve sperm fonksiyonundaki olası rolünü açıklığa kavuşturmak için daha büyük örneklerle gelecek çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler : Sperm, Galektin-3, DNA, Fragmentasyon, Prostasom

ABSTRACT

[MENTESOGLU, Pelin]. [Identification and correlation of sperm DNA fragmentation index and siren galectin-3 amount in infertile cases], [Master's Thesis] ANKARA, [2018].

Galectin-3 is a protein from a large growing family of animal lectins. Although Galectin-3 is involved in immunomodulation, and cancer progression, the implications of Galectin-3 expression in the male reproductive tract needs to be investigated. The detection of Galectin-3 in Sertoli cells, that support spermatogenesis, and in prostasomes in seminal plasma implies a regulatory role of this protein on spermatogenesis or sperm function. This study is designed to explore the levels of Galectin-3 in seminal plasma of infertile men. The correlation with basic semen parameters and DNA fragmentation were performed to identify the association with sperm quality and quantity. The study population is composed of 152 infertile men. Exclusion criteria is as follows: abnormalities in medical history/physical examination, subclinical genital infections, cryptorchidism, cancer, varicocele, heavy smokers (>20 cigarettes/day), and azoospermia. Semen samples were obtained by masturbation after 2–5 days of sexual abstinence and stored in sterile containers. Basic sperm parameters were evaluated according to World Health Organization criteria (WHO, 2010). Total progressive sperm count (TPMSC) were calculated [(total ejaculated sperm count x progressive motile sperm)/100]. Oligozoospermia were defined as sperm count <15mil/ml. The remaining sample were used for cytometry test for detection of DNA fragmentation as described earlier (Erenpreisa et al., 2003). DNA fragmentation index (DFI, %) were defined as the proportion of sperm cells with abnormal DNA conformation. Seminal plasma Galectin-3 were analysed by chemiluminescence reaction by a commercially available kit (Architect iSystem, Abbott). The mean age of the patients were 34.67 ± 5.43 years (minimum 24 maximum 52). 16.4% of cases had oligozoospermia and 83.5% had normozoospermia (≥ 15 mil/ml). The mean age of the patients with oligozoospermia and normozoospermia were similar ($p > 0.05$). The mean DFI of the cases were 24.27%. The DFI was significantly higher and TPMSC were significantly lower in oligozoospermia compared to normozoospermia group (25% vs 21%, $p = 0.03$ and 0.54×10^6 , $p < 0.001$; respectively). The mean Galectin 3 levels of all cases were 216 ng/mL (min 8.6 ng/mL -max 794 ng/mL), 162 ng/mL in oligozoospermiaspermia and 90 ng/mL in normozospermia group ($p > 0.05$). When data of all patients is analysed, neither DFI nor Galectin-3 levels were correlated with semen parameters like sperm count, motility, morphology, and TPMSC. In oligozoospermia group, Galectin-3 levels were found to be negatively correlated with progressive motile sperm count ($r = -0.479$; $p = 0.024$). In the previously published articles, Galectin-3 was identified in seminal plasma in prostasomes. And prostasomes fuse with sperm in vitro, to increase sperm motility by delivery of intra-prostasomal calcium stores. Although, conventional semen analysis and DFI were not correlated with Galectin-3 levels in normozoospermia cases, the results from this study shows that there is negative correlation of seminal plasma Galectin-3 levels with progressive motility in oligozoospermia group. Therefore, our data might indicate the role of Galectin-3 in sperm function. In order to clarify the possible role of Galectin-3 in human spermatogenesis and sperm function, future studies with larger samples are needed.

Key Words : Sperm, Galectin-3, DNA, Fragmentation, Prostatom

SİMGE VE KISALTMALAR

AOT :	Acridine Orange Testi
COMET :	Tek Hücre Jel Elektroforezi
DFI :	DNA Fragmantasyon İndeksi
DNA :	Deoksiribonükleik Asit
DSÖ :	Dünya Sağlık Örgütü
DUTP :	The Terminal Deoxynucleotidyl Transferase - Mediated Deoxyuridine Triphosphate
IVF :	İn Vitro Fertilizasyon
ICSI :	Intra Sitoplazmik Sperm Enjeksiyonu
IUI :	Intra-uterin İnseminasyon
LSR :	Lipid Serbest Radikalleri
LPR :	Lipit Peroksit Radikalleri
ml:	Mililitre
µl:	Mikrolitre
NT:	In Situ Nick Translation testi
PYA :	Poliansature Yağ Asitleri
ROD :	Reaktif Oksijen Derivelere
SCD :	Sperm Chromatin Dispersion Test
SCSA : Testi)	Sperm Chromatin Structure Assay (Sperm Kromatin Bütünlüğü
TB:	Toluidine Blue
TUNEL :	Terminal Deoksitüklotidil Transferaz Aracılı 'Nick-End Labelling Testi
YÜT :	Yardımcı Üreme Teknikleri

Şekiller Dizini

Şekil 1. Sperm Kromatin Bütünlüğü Testi Görüntüsü	13
Şekil 2. Akridine Orange Testi Mikroskop Görüntüsü	14
Şekil 3. Aniline Mavisi Testi Mikroskop Görüntüsü	15
Şekil 4. TUNEL Testi Görüntüsü.....	15
Şekil 5. NT Testi Görüntüsü.....	16
Şekil 6. COMET Testi Görüntüsü.....	17

Tablolar Dizini

Tablo 1. Oksidan kaynakları ve antioksidan savunma sistemleri	9
Tablo 2. Sperm DNA Fragmantasyonu testleri..	18
Tablo 3. DFI'na göre IUI tedavisinde biyokimyasal gebelik, klinik gebelik, canlı doğum ve erken gebelik kayıpları.....	20
Tablo 4. Sperm DFI'na göre IVF ve ICSI uygulanan gruplarda fertilizasyon.....	21
Tablo 5. ICSI ve IVF tedavilerinde düşük ve yüksek DNA fragmantasyon oranlarının canlı doğum üzerinde etkisini gösteren meta-analiz sonuçları	23
Tablo 6. Hastaların yaş ve semen analizi sonuçları	29
Tablo 7. Tüm hastaların DFI ile Galectin-3 sonuçları.....	30
Tablo 8. Oligozoospermi ve normozoospermi gruplarının tüm parametreler açısından karşılaştırılması.....	31
Tablo 9. DFI ile semen analizi kriterleri korelasyonunu	33
Tablo 10. Galectin-3 ile hasta yaşı, DFI ve semen analizi sonuçlarının korelasyonu....	34
Tablo 11. Oligozoospermi grubunda Galectin-3 ile DSÖ kriterlerinin korelasyonu.....	35
Tablo 12. Normozoospermi grubu Galectin-3 değerleri ile diğer tüm parametrelerin karşılaştırılması.....	37

Grafikler Dizini

Grafik 1. İleri hareketli sperm – Galectin-3 korelasyonu36



İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	1
1. GİRİŞ.....	3
1.1 ARAŞTIRMANIN ÖNEMİ	3
1.2 ARAŞTIRMANIN AMACI	3
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1 İNFERTİLİTE	4
2.2 DSÖ KRİTERLERİNE GÖRE NORMAL KABUL EDİLEBİLEN SPERM PARAMETRELERİ (3).....	5
2.3 SPERM DNA FRAGMENTASYONU	6
2.4. SPERM DNA FRAGMENTASYONU NEDENLERİ.....	6
2.4.1.Çevresel Faktörler	6
2.4.2.Biyolojik Faktörler	7
2.5. SPERM DNAFRAGMENTASYONU TESTLERİ.....	12
2.5.1.Sperm Kromatin Bütünlüğü Testi (SCSA)	12
2.5.2.Acridine Orange Testi (AOT).....	13
2.5.3.Toluidine Mavisi Testi(TB),.....	14
2.5.4.Aniline Mavisi Testi	14
2.5.5.The Terminal Deoxynucleotidyl Transferase- Mediated Deoxyuridine	15
Triphosphate (dUTP) Nick End Labeling Testi (TUNEL)	15
2.5.6.In Situ Nick Translation testi (NT)	16
2.5.7.Tek Hücre Jel Elektroforezi Testi (COMET)	16
2.5.8.Sperm Kromatin Dağılım Testi (SCD).....	17
2.6. SPERM DNA FRAGMENTASYONU İNFERTİLİTEYE ETKİSİ VE ÖNEMİ.....	19
2.6.1. Konvansiyonel Semen Parametreleri ve DFI İlişkisi	19
2.6.2. IUI ve Spontan Gebelik ile DFI Arasındaki İlişki	19
2.6.3. IVF ve ICSI Uygulanan Hastalarda DFI Etkisi	20
2.7. GALECTİN-3	23
2.7.1. Galectin-3 ve Spermatogenez	24
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	26
3.1. SPERM DEĞERLENDİRİLMESİ İÇİN ÖRNEK ALIMI İŞLEMİ.....	26
3.2. SPERM DNA FRAGMENTASYONU TB YÖNTEMİ İLE TESPİTİ.....	26
3.3. GALECTİN 3 ANALİZİ.....	28

3.4. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER	28
4.BULGULAR.....	29
5.TARTIŞMA.....	38
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.	42
7. KAYNAKLAR.....	43
ÖZGEÇMİŞ	50



1. GİRİŞ

1.1 ARAŞTIRMANIN ÖNEMİ

Spermatogenezde rolü olduğu gösterilen lectin türevi olan Galectin-3 proteini ile ilgili insan çalışması literatürde mevcut değildir. Hayvan çalışmalarına dayanan bilgilerden elde edilen veriler Galectin-3 proteininin de spermatogenezde rolü olabileceğini desteklemektedir. Bu veriler ışığında infertil erkeklerde semen parametreleri, Galectin-3 proteini ve sperm DFI ve bu parametrelerin korelasyonu araştırılması planlanmaktadır.

1.2 ARAŞTIRMANIN AMACI

Bu çalışmada birincil amaç, sperm DNA kırıklarının ve Galectin-3 düzeylerinin infertil hasta popülasyonunda tespitidir. İkincil olarak, bu parametrelerin semen parametreleri ile korelasyonunun incelenmesi amaçlanmıştır. Son olarak da, sperm DNA kırıklarının ve Galectin-3 düzeylerinin ilişkili olup olmadığını tespit edilmesi planlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 İNFERTİLİTE

İnfertilite bir yıl boyunca çiftlerin herhangi bir korunma yöntemi kullanmadan düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebelik elde edememesi durumuna denir. İnfertilite problemi çiftlerin %10-15'ini etkileyen bir problemdir. Normalde bir çiftin her ovulasyon döneminde gebe kalma şansı %25'dir. Korunmayan çiftlerin %57'si ilk 3 ayda %72'si ilk 6 ayda %85'i ise 1 yılda gebe kalabilmektedir (1). Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT) infertil çiftlerin problemlerini yüksek başarı oranları ile gideren bir seçenektir. YÜT, IVF (in-vitro fertilizasyon) ve ICSI (mikroenjeksiyon) gibi tedavileri içerir. İlk başvuruda infertilite sebebi araştırılır ve çifte uygun tedavi yöntemleri seçilir. Günümüzde infertilite nedenlerinin % 20'si sadece erkek, % 40'ı sadece kadın , % 30'u hem kadın hem erkek faktörüdür. Bunun dışında kalan %10 ise erkek ve kadın ilk değerlendirmede normal çıkmasına rağmen hala gebelik elde edemeyen hastalar yani açıklanamayan infertilite grubundan oluşur (1). Açıklanamayan infertilite tanısı koyabilmek için sperm analizinin normal, kadının ovuluar ve Fallop tüplerinin patent, ek olarak da endometriyal patolojisinin olmadığı teyit edilir. Açıklanamayan infertilitesi olan çiftlerde standart testlerde bir anomalilik gözükmediği halde, sperm veya oosit fonksiyonunda anomalilik veya döllemede problemler, implantasyon ve embriyo gelişim bozukluklarına rastlanabilir. Ayrıca, artan kadın yaşı infertil çiftlerde olumsuz bir faktördür. Zamanla artan kadın yaşı çiftlerin gebelik ve fertilizasyon oranlarını düşürmektedir. Bu sebeple açıklanamayan infertilite hastalarında kadın yaşı göz önüne alınarak tedavi süreci çok ertelenmemelidir. Ek olarak, son yıllarda bu çiftlerde üstünde durulan diğer bir olumsuz faktör ise eşlik eden artmış sperm DNA fragmentasyonudur. Halen rutin olarak uygulanması önerilmese de, tespit edildiğinde yüksek sperm DNA fragmentasyon indeksi (DFI) tedavi sonucunu olumsuz etkileyen bir diğer faktördür (2). İnfertilite sebebi ile YÜT merkezlerine başvuran çiftlerde erkek değerlendirmesi için standart semen analizi ve muayene uygulanır. Hasta hikayesi detaylı alınır. Daha önce geçirilmiş operasyon hikayesi not edilir. Varikozel, enfeksiyon hastalıkları, ısıya ve radyasyona maruziyet bilinmelidir. Semen incelenmesi ilk basamaktır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterlerine göre semen analizi yapılır (3). Bu inceleme sperm hücresi sayısı, morfolojisi, motilitesi, aglutinasyonu, volümü gibi parametreleri içermektedir.

Semen analizi için örnek alınırken steriliteye dikkat edilmeli ve cinsel perhiz süresi 3-7 gün aralığında olmalıdır.

2.2 DSÖ KRİTERLERİNE GÖRE NORMAL KABUL EDİLEBİLEN SPERM PARAMETRELERİ (3)

- **Hacim** : 1,5 ml (1,4 - 1,7)
- **pH** : 7,2 - 8,0
- **Konsantrasyon** : 15 milyon / ml (12 - 16)
- **Total sperm konsantrasyonu** : 39 milyon / ejakülat (33 -46)
- **Progresif motilite** : %32 (31 - 34)
- **Total** (Progresif + non progresif) : % 40 (38 - 42)
- **Morfoloji** : % 4.0 (3.0 - 4.0)

Semen analizinde spermatozoa görülmemesi halinde 3000 devirde 15 dakika santrifüj edilerek tekrar mikroskop altında dikkatlice gözlemlenmelidir. Hala sperm hücresi bulunamayan vakalar azospermi olarak kabul edilir. Bunun dışında morfolojik olarak %4'ten az normal sperm hücresi var ise bunlara teratozoospermi denir. Sperm sayısı yukarıda belirtildiği gibi 1 ml başına 15 milyonun altında ise oligozoospermi, total motilite %40'dan az ise astenozoospermi olarak kabul edilir. Semen hacmi 1,5 ml az veya hiç ejakulat yok ise retrograt ejakulasyon veya kanal tıkanıklıkları göz önünde bulundurulur. DSÖ semen analiz kriterlerine ek olarak sperm fonksiyonlarını gösteren ileri analiz testleri de mevcuttur. İlk basamak ve rutin infertilite pratiğinde bu testler kullanılmamaktadır. Gerekli hastalarda seçilerek uygulanabilir.

Bu testler:

- Canlılık (vitalite) testi
- Sperm antikor Testi
- Mixed anti-globülin reaksiyon test

- Immunobead binding test
- Sperm penetrasyon testi
- Hemizona assay
- Hypoosmotik şişme testi

2.3 SPERM DNA FRAGMENTASYONU

DNA hasarı, sperm hücrelerinin genetik materyalinde biyolojik yada çevresel etkiler sonucu meydana gelen hasarlardır. Son günlerde sperm DNA fragmentasyonunun infertilitedeki rolü ile ilgili çok sayıda makale yayınlanmıştır. Özellikle açıklanamayan infertilite grubunda artmış DFI olumsuz etkisi tartışılmaktadır. Mevcut sperm DNA kırıkları, DNA onarım mekanizmalarıyla ve/veya oosit tarafından telafi edilemeyecek düzeyde ise gebelik oluşumunu ve erken embriyo gelişimini olumsuz etkiler (4).

2.4. SPERM DNA FRAGMENTASYONU NEDENLERİ

2.4.1.Çevresel Faktörler (5)

- Radyasyon maruziyeti,
- Sigara kullanımı,
- Kemoterapi,
- Yüksek ısıya maruziyet,
- Gonadatoksik ajanlar,

- Genital kanal enfeksiyonlar,
- Varikozel

2.4.2.Biyolojik Faktörler

Sperm DNA fragmantasyonu ile sonuçlanan 3 olay şu şekilde sıralanabilir; apoptozis, ROD ve anormal kromatin paketlenmesi.

a) Apoptozis

İki farklı hücre ölümü vardır: Nekroz ve Apoptozis. 1983 yılında Duke ve arkadaşları jel elektroforezi ile apoptozis endonükleazların aktive olarak karakteristik DNA kırıklarına neden olduğunu göstermiştir (6). Bu sayede apoptotik hücre ölümünün genetik kontrol edilen fizyolojik mekanizmalarla ortaya çıkan bir hücre ölümü olduğu ispatlanmıştır. Canlılarda hücre bölünmesinin önemi kadar hücre ölümünün de önemi büyüktür. Hücre sayısının kontrolü doku büyüklüğü homeostaz mekanizmasıyla kontrol edilir. Çok hücreli canlılarda istenmeyen hücrelerin ölümleri programlanmış bir eliminasyon mekanizmasıdır. Bir dokuda bulunması gereken hücre sayısı mitoz bölünme ve apoptozisin homeostazik dengesiyle korunur. Günde yaklaşık 1 milyon hücre apoptozis ile yok edilir ve yerlerine yeni hücreler yapılır. Bu hızda devam ettiği sürece 24 ayda bütün vücut ağırlığı yenilenmiş kabul edilir. Apoptotik hücreler sağlıklı dokular içinde homojen dağılmış bir biçimde bulunur.

Organizmada Apoptozun Rol Aldığı Fizyolojik Olaylar (6)

- Embriyogenez ve metamorfoz sürecinde (Müller ve Wolf Kanallarının oluşumu , Kalp gibi Bazı iç organların lümenlerinin oluşumu)
- Menstrual siklusta endometriyum hücrelerinde, menopozda folikül atrezisi, laktasyonun kesilmesinden sonra meme bezlerinin rejenerasyonu gibi olaylarda.

- T lenfositlerinin kontrolünde, immatür B lenfositlerinin gelişi gibi immun sistemin düzenlenmesinde.

Apopitozisin sebep olduğu biyokimyasal değişikliklerden biri de DNA fragmentasyonudur. Hedef proteinlerden biri olan DNA, endonükleaz ile çapraz bağ yapan bir proteindir. Kaspazlar bu proteini yıkarak endonükleazı serbestleştirirler. Çekirdek içine giren Ca^{+2} ve Mg^{+2} bağımlı endonükleaz, DNA kırıkları oluşturur. Kırıklar nükleozomların arasından mono veya oligonükleozomal olarak meydana gelir. 180 baz çifti ve katları şeklinde kırılma oluşur.

Spermatogenez ve Apopitoz

Spermatogenez sırasında, spermatid hücrelerinin gelişimi ve farklılaşımının yanısıra sperm hücrelerinin ölümü de görülür. Testiküler germ hücre apopitozisi fizyolojik ve devamlı olarak hayat boyu süre gelir. Apopitozisin spermatogenez sürecinde iki görevi vardır. Birincisi Sertoli hücreleri tarafından desteklenebilecek sayıda germ hücre popülasyonunu sınırlandırmak; ikincisi anormal spermatozoon hücreleri arasında eliminasyon yapmak ve sayılarını azaltmaktır. Apopitozis mekanizmasında bazen hatalar da görülebilir ve Sakkas 1999 (7) yılında apopitotik eliminasyon sonucu ejakülattaki spermatozoonda görülen apopitozisi abortif apopitozis olarak tanımlamış ve bazı hücrelerin apopitozisten kaçtığını öne sürmüştür.

Apopitozis hatalı genetik bilginin embriyoya geçmesini engelleyen son basamaktır. Özellikle testislerde spermatogoniumların %75'ini yok eden bir basamaktır. Bu hücreler işlev göremeyecek ya da hatalı sayılabilecek genetik materyale sahip hücrelerdir. Apoptozisten kaçan hücrelerin ejakulatta tesbiti artmış DFI olarak ifade edilir.

b) Reaktif Oksijen Derivelere (ROD)

Oksijen insan yaşamı için muazzam derecede gerekli bir moleküldür. Normal metabolik aktiviteler sırasında ortaya çıkan bazı ROD vücuda zarar verme potansiyeline sahiptirler (8). Genellikle serbest radikallerden oluşan ROD oksijen molekülüyle karşılaştıklarında kimyasal reaktivitesi daha yüksek olan oksijen formlarıdır (9) Serbest radikaller, dış atomik orbitallerinde bir veya daha fazla çift oluşturmamış elektron içeren yüksek enerjili, stabil olmayan bileşiklerdir. Bu çiftlenmemiş elektron serbest radikallere büyük

bir reaktiflik kazandırarak protein, lipid, DNA ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik zarar verirler. Son yapılan araştırmalar ışığında, bu serbest radikallerin yaşlanmayı teşvik ettiği ve ayrıca kalp-damar hastalıkları, çeşitli kanser türleri, katarakt, bağışıklık sisteminde zayıflama, sinir sistemi dejeneratif hastalıkları gibi birçok hastalığa sebep olduğuna dair bilgiler bulunmaktadır (8). Canlı hücrelerdeki oksijen metabolizması, çevre kirleticileri, radyasyon, pestisitler, çeşitli tıbbi tedavi yolları ve kontamine sular gibi birçok etmen kaçınılmaz bir şekilde ROD oluşumuna yol açmaktadır. Bu radikallerin başlıcaları; *tekli oksijen*, *süperoksit anyonu* (O_2^-), *hidroksi* (OH), *peroksi* (ROO) ve *alkali* (RO) radikalleridir (10). Reaktif oksijen türlerinin zararlarına karşılık vücuttaki farklı doğal savunma sistemleri serbest radikalleri kontrol altında tutmaktadır (8). Aşağıdaki çizelgede pre-oksidan faktörler ve antioksidan savunma sistemleri arasındaki denge gösterilmektedir (Tablo 1).

Tablo 1. Oksidan kaynakları ve antioksidan savunma sistemleri (8)

Oksidan	Antioksidan
Sigara Dumanı	Süperoksit Dismutaz
Egzersiz	Katalaz
Ateşli Hastalıklar	Glutatiyon
Radyasyon	Ubikinon
Çoklu Doymamış Yağ Asitleri ile zengin bir diyet	Selenyum
İskemi	Ürik asit
Karsinojenler	E – C vitamini

Oksidan-antioksidan dengesi bozulduğunda oksidatif stres ortaya çıkmaktadır. ROD iki gruba ayrılır: Oksijen merkezli radikaller ve radikal olmayan oksijen türleri

Oksijen Merkezli Radikaller

- Süperoksit ($O_2^{\bullet-}$)
- Hidroksil (OH^{\bullet})
- Peroksil (RO_2^{\bullet})

- Lipid peroksil (LOO•)

Radikal Olmayan Oksijen Türleri

- Hidrojen Peroksik (H₂O₂)
- Hipokloroz Asit (HOCl)
- Ozon (O₃)
- Single Oksijen

ROD'nin Biyomoleküller Etkileri

Lipid: Lipitler biyomoleküller arasında serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olanıdır. Hücre membranlarındaki kolesterol ve poliansatüre (doymamış) yağ asitleri (PYA) serbest radikallerle kolayca reaksiyona girer, lipit peroksidasyonu oluşturur. Hücre membranlarında lipit serbest radikalleri (LSR) ve lipit peroksit radikallerinin (LPR) oluşması, reaktif oksijen türlerinin (ROD) neden olduğu hücre hasarının önemli bir özelliği olarak kabul edilir.

Protein: Proteinler serbest radikallere karşı yağ asitlerinden daha az hassastırlar. Proteinlerin serbest radikal zararından etkilenme derecesi amino asit bağlanma şekillerine bağlıdır. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerden kolaylıkla etkilenirler.

Karbonhidratlar: Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisiyle çeşitli ürünler meydana gelir ve çeşitli patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar.

Nükleik Asit ve DNA: İyonize edici radyasyonla oluşan serbest radikaller DNA'nın yapısal bütünlüğünü etkiler ve hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Hidroksil radikali (OH•) deoksiriboz ve bazlarla kolayca reaksiyona girer ve değişikliklere yol açar. Aktive olmuş nötrofillerden kaynaklanan hidrojen peroksit (H₂O₂) membranlardan kolayca geçer ve hücre çekirdeğine ulaşır. Sonunda DNA kalıcı "oksidatif hasara" uğrar. Eğer hidroksil radikalleri DNA'ya yakın oluşursa, purin ve pirimidin bazlarına saldırarak mutasyonlara ve hatta hücre ölümüne sebep olabilirler.

Lökositler: Erkek semeninde lökositöz enfeksiyonu işaret eden bir gösterge olarak kabul edilir. Normalde lökositler infertil erkeklerde hücrelerin %10 – 20'si oranında bulunur. Semendeki lökositlerin kaynağı epididim ve prostattır. Nadiren de olsa fertil bireylerde de lökosit görülme ihtimali vardır. Lökositlerin %60-70'ini polimorf nükleuslu nötrofiller oluşturur. Mikroorganizmalara karşı mücadele verirken ortama süperoksit anyonu ($O_2 \bullet^-$) salarlar ki bu da diğer ROD ve iyonlarla reaksiyona girerek ya da dismutasyon ile hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH\bullet$) veya hipoklorid gibi diğer toksik maddelerin oluşmasına neden olur. Lökosit, spermatozoona göre 100 kat daha fazla ROD üretebilir.

Serbest oksijen radikallerinin üretimi, semeninde lökosit bulunan bireylerde anlamlı olarak daha fazladır. Sağlıklı semen örneği ve yüksek lökosit içeren semen örneği karşılaştırıldığında DNA hasarı anlamlı derecede artış gösterir. Eğer semende lökosit konsantrasyonu 3 milyon/ml'yi geçerse fertilizasyonda anlamlı bozulma gözlenir.

Spermatozoon: ROD'nin ikinci kaynağı spermatozoonun kendisidir. Erken evre spermatozoonlar, yuvarlak ve uzamış spermatidler aynı düzeyde ROD yaparlar. Epididimdeki henüz maturasyonunu tamamlamamış spermatozoon yüksek oranda ROD üretmektedirler. Matürasyonu bozulan spermatozoon spermiyogenezin son evresinde fazla sitoplazma artığını atamaz. Sonuçta spermatozoon normalden daha fazla ROD yapar ve oksidatif stres belirtileri verir. Zaten ROD düzeyi yüksek olan semenlerde glukoz-6-fosfat dehidrogenaz aktivitesi de artmıştır. Bu enzim sitoplazmik artığın fazla olduğu semen örneklerinde yükselmektedir .

ROD, Sperm ve DNA Hasarı Arasındaki İlişki

Sperm membranında çok miktarda doymamış yağ asidi vardır. Sitoplazmalarında az miktarda antioksidan maddeler bulunur dolayısıyla ROD'e karşı hedef haline gelmektedir. DNA Reaktif türevleri karşılaşması sonucu DNA üzerinde kırıkların oluşmasına, DNA-Protein hatalı bağlanmasına, Pürin-Pirimidin değişikliklerine sebebiyet verebilir. Buna karşılık sperm DNA'sının paketlenmesindeki protaminlerin varlığı ROD'e karşı koruma sağlamaktadır.

c) Anormal Kromatin Paketlenmesi

Ökaryotlarda en sıkı paketlenen genetik materyal sperm DNA'sıdır. Somatik hücrelerden en az 6 kat daha fazla sıkılaştırılmıştır. Sperm hücrelerindeki kromatin katlanması somatik hücrelerden farklıdır. Spermiyogenezis esnasında nükleer histon proteinleri önce yerini ara proteinlere sonra ise protaminlere bırakır. DNA boyutu itibariyle sperm baş kısmına sığamayacağından protaminler sayesinde halkasal bir şekil alır ve sperm başına yerleşir. Katlanmalar düzenli olmadığı takdirde spermlerin işlevini düzgün görmesi olumsuz etkilenir. Kromatin katlanma evresini düzgün tamamlayamayan sperm hücreleri DNA fragmentasyonuna sahip spermler olarak adlandırılır (11).

2.5. SPERM DNA FRAGMENTASYONU TESTLERİ

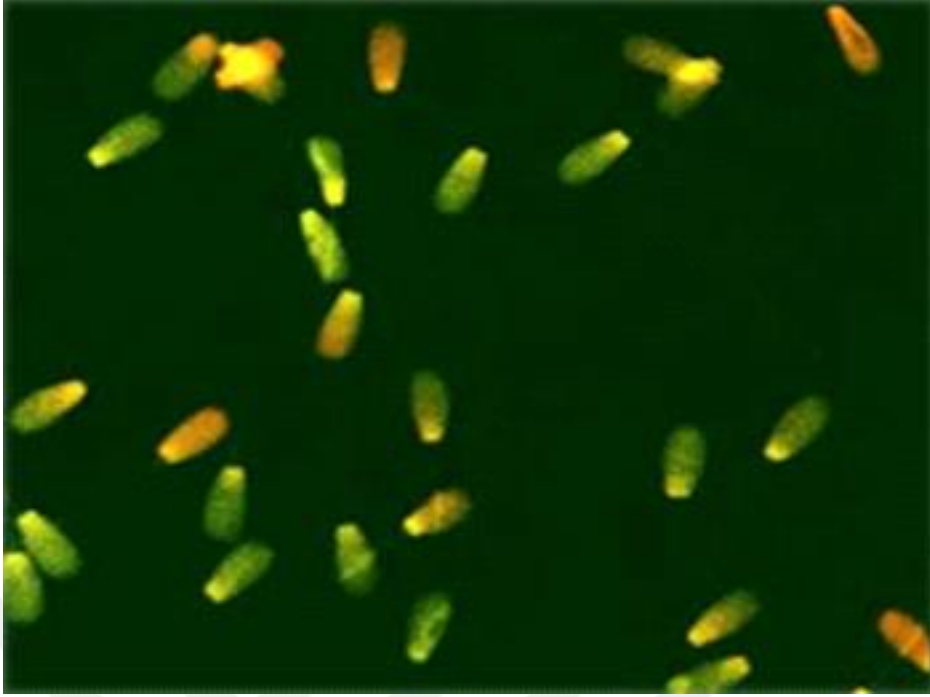
Sperm DNA Fragmentasyonu testleri direkt ve indirekt yöntemler olmak üzere ikiye ayrılır.

- i) Direkt yöntemler: Direkt olarak DNA kırıklarının tespit eder: Tunel ve Comet Assay, In situ nick translation (12).
- ii) İndirekt yöntemler : Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA), Sperm Chromatin Dispersion Test (SCD), Acridine orange test (12).

2.5.1.Sperm Kromatin Bütünlüğü Testi (SCSA)

25 yıl önce keşfedilmiş bir yöntemdir. Anormal kromatin yapısındaki DNA normal kromatin yapısına sahip olanlara göre ısıya ve asite karşı daha dayanıksızdır. SCSA akridin oranj testinin bazı özelliklerini kullanır. Asitle indüklenmiş olan sperm hücrelerinin DNA'sının duyarlılığını ölçmektedir.(13)

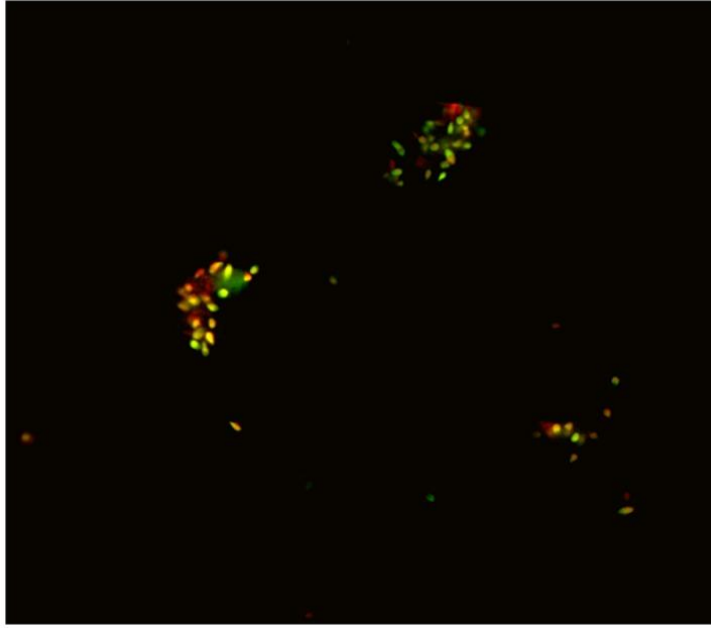
DNA Fragmentasyonu bulunan spermler, Normal DNA bütünlüğüne sahip spermlere göre daha fazla boya alır. Flow Sitometrisi ile boya alan spermler almayan spermlerden tek tek ayırt edilip bilgisayar programı ile bir grafik üzerinde gösterilir ve buradan Hasarlı DNA'ya sahip spermlerin yüzdesi belirlenir.



Şekil 1. Sperm Kromatin Bütünlüğü Testi görüntüsü (13)

2.5.2.Acridine Orange Testi (AOT)

Acridine orange nükleik asitlere özgü katyonik floresan bir boyadır. Çiftzincirli DNA'ya bağlandığında ortaya çıkan göstergeler ile mRNA ya da tek sarmal DNA'ya bağlandığında ortaya çıkan göstergelerin farklı olması prensibine dayanır. Bu tekniğin tespitinde floresan mikroskop kullanılır. Teknik hızlı basit ve ucuz bir yöntemdir fakat renk ayrımının kolay yapılamamasından ve renklerin bozulmasından dolayı güvenilirliği düşüktür (14) (15).



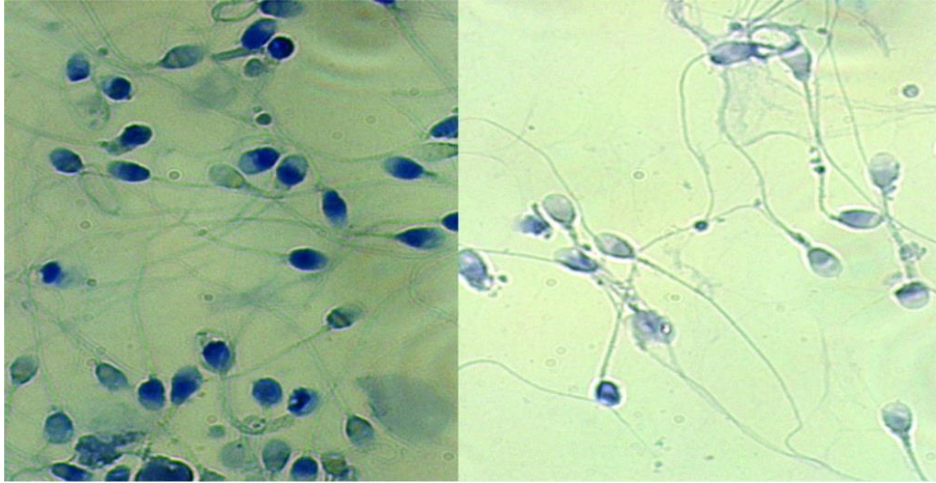
Şekil 2. Akridine Orange Testi mikroskop görüntüsü. (16)

2.5.3.Toluidine Mavisi Testi(TB),

TB anormal paketlenmiş kromatinlerin tespitinde bütünlüğü bozulmuş kromatinler arasına girerek sperm hücrelerinin mavi renge boyanmasına sebep olur. DNA fragmantasyonuna sahip olmayan sperm hücrelerine göre hasarlı olanların fosfat rezidüleri boyalara daha duyarlıdır. Bundan dolayı hasarlı spermeler ışık mikroskopunda koyu mavi gözükecektir. (15)

2.5.4.Aniline Mavisi Testi

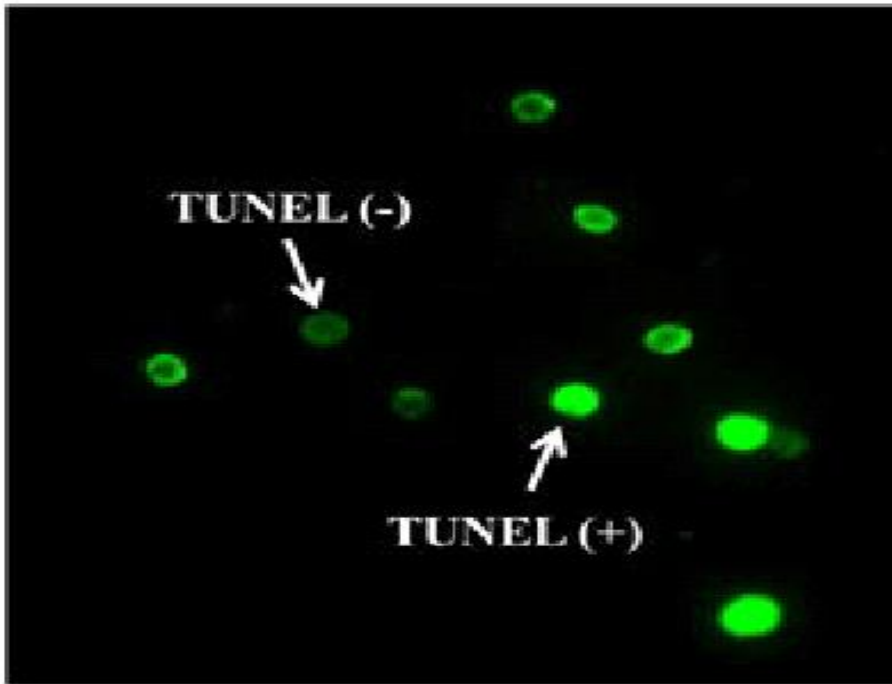
Anilin blue asidik bir kimyasal yapıya sahiptir. Kromatin bütünlüğü bozulmuş spermeler rezidüel histonların ortaya çıkmasına sebep olur. Bu histonlar kromatin paketlenmesini olumsuz etkiler dolayısıyla anilin mavisi gibi boyalara duyarlılığı artırır. Hasarlı spermelerin mavi gözükmesine sebep olur (17).



Şekil 3. Aniline mavisi testi mikroskop görüntüsü (18).

2.5.5. The Terminal Deoxynucleotidyl Transferase- Mediated Deoxyuridine Triphosphate (dUTP) Nick End Labeling Testi (TUNEL)

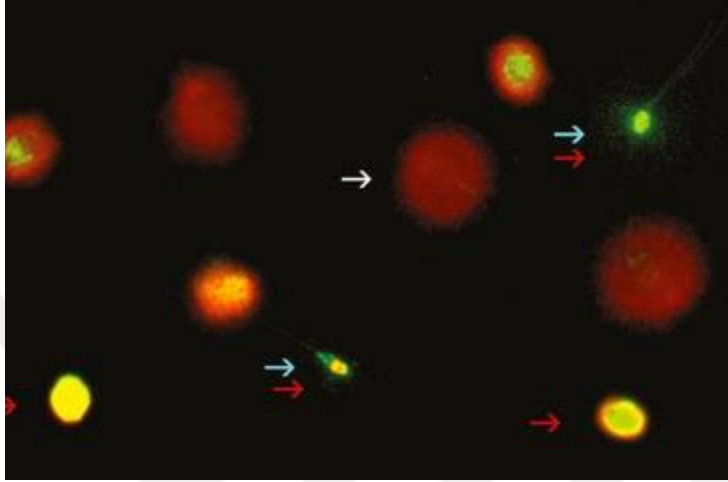
Tek veya çift zincir DNA kırıklarına tdt enziminin katalize ettiği bir reaksiyon ile DUTP birleştirilir ve bu şekilde işaretlenen spermeler hasarlı kabul edilir. Toplam sperm popülasyonuna göre oranlanarak DFI belirlenir.



Şekil 4. TUNEL Testi Görüntüsü (19)

2.5.6. In Situ Nick Translation testi (NT)

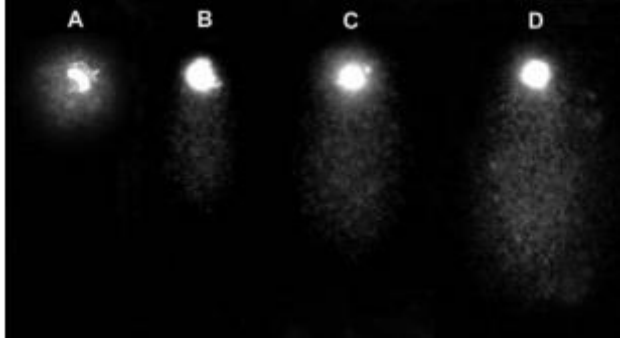
NT, TUNEL ile benzer bir mekanizmaya dayanır. DUTP'ın fragmantasyonları DNA'lar ile birleşmesi ilkesiyle çalışır. TUNEL yönteminin aksine sadece tek zincir DNA kırıklarını gösterir. Düşük hassasiyetli bir testtir ve basit kullanımlıdır.



Şekil 5. NT Testi görüntüsü (20)

2.5.7. Tek Hücre Jel Elektroforezi Testi (COMET)

Comet Direkt DNA hasarı tespit yöntemlerinden biridir. Yoğunluğu azaltılan spermiler agaroz jele yerleştirilip floresan DNA bağlayan boya eklenmiş elektroforetik bir gradient ile etkileşime maruz bırakılır. Sonra da düşük molekül ağırlığına sahip olan DNA parçaları elektroforez sırasında harekete geçer ve kuyruklu yıldız görüntüsü oluşturur. Yüksek molekül ağırlıklı, yani sperm DNA bütünlüğü bozulmamış DNA'lar hareket etmez. DNA kırığına sahip spermelerde kuyruk uzunluğu artar ve floresan bütünlüğü görüntülenerek değerlendirilir.



Şekil 6. COMET Görüntüsü (21)

2.5.8.Sperm Kromatin Dağılım Testi (SCD)

Sperm Kromatin Ayrılma testi sperm DNA fragmantasyonu tespitinde direkt yöntemlerdendir ve yoğunlaştırma prensibine dayanır. Bozulmamış spermier agaroz matriks jele yerleştirilir ve denatüre olmasını sağlamak için asit solüsyon eklenir. Sonra sperm membranı ve proteinlerinin ortamdan uzaklaştırılması için bir tampon daha eklenir Bu solüsyondan sonra nükleotid santral bir kor etrafında ayrılmış DNA halkalarına bağlı periferal bir halo görüntüsü oluşturur. Normal DNA hasarına sahip spermier geniş halo oluşturur diğerleri ise küçük halolar oluşturur ve total spermierden DNA hasarlı olanlar oranlanarak DFI tespit edilir.

DFI tespiti amacı ile yapılan bu testlerin prensipleri, yöntemler arasındaki farklar, avantaj ve dezavantajları Tablo 2’de özetlenmiştir.

Tablo 2. Sperm DNA Fragmantasyonu testleri (22) (23).

	Prensip	Yöntem	Avantaj	Dezavantaj
SCSA	DNA denatürasyonu na duyarlılık	Akım sitomerisi	Standardize olması,duyarlılığı yüksek, klinik olarak önemli	Özel ekipman gerektirir
AOT	DNA denatürasyonu na duyarlılık	Floresan mikroskopisi	Basit ve ucuz	Kişiler arası değerlendirme farkı ve diğer testlerle korele değil
TUNEL	Tek ve çift zincir kırıkları	Akım sitometrisi, Floresan mikroskopisi	Duyarlılığı yüksek, klinik olarak önemli	Özel ekipman gerektirir, Laboratuvarlar arası değerlendirme farklılıkları
COMET	Tek ve çift zincir kırıkları	Tek hücre elektroforezi , Floresan mikroskopisi	Duyarlılığı yüksek, kantitatif bir test	Zaman alıcı, standardize olmamış
ANİLİN MAVİ BOYAMASI	Lizin rezidülerini ve artık histonları boyar	Parlak alan mikroskopisi	Basit ve ucuz	Kişiler arası farklılıklar, Heterojen boyama
TOLUIDİN MAVİ BOYAMASI	Fosfat rezidülerini boyar	Parlak alan mikroskopisi	Basit ve ucuz	Laboratuvarlar arası değerlendirme farklılıkları,heterojen boyama

2.6. SPERM DNA FRAGMENTASYONU İNFERTİLİTEYE ETKİSİ VE ÖNEMİ

2.6.1. Konvansiyonel Semen Parametreleri ve DFI İlişkisi

İn-vivo ve in-vitro örneklerde sperm konsantrasyonu, motilitesi ve morfolojisi, fertilizasyon oranı ile kolerebilir (24). Sperm DNA hasarının olumsuz klinik sonuçlarla bağlantılı olabileceğine dair biriken kanıtlar ışığında, sperm kromatin bütünlüğünün incelenmesi, androloji laboratuvarlarında tanısal önemli bir araç olarak kullanılmaktadır.

Son yıllarda, sperm DNA hasarı ile semen parametreleri arasındaki korelasyonun dokümente edilmesine yönelik pek çok çalışma yapılmıştır. Çalışmalarda semen parametreleri ve DFI arasında ters korelasyon dikkat çekicidir (24). Özellikle normal morfolojideki spermatozoa yüzdesi ile DFI arasında anlamlı negatif korelasyon tespit edilmiştir (24). SCSA ile yapılan çalışmalarda DFI ile semen parametreleri arasında zayıf korelasyon bulunmuştur (24). İlk değerlendirmede açıklanamayan infertilite tanısı alan hastalarda konvansiyonel semen analizi normal olsa da, bu erkekler de sperm DNA içeriği bozuk olup, yüksek DFI'ye sahip olabilirler (25). DSÖ cut-off değerlerinin üstünde semen analiz sonuçlarına sahip erkeklerin yüzde 25-40%'ında bile DFI %20-30 olup infertil oldukları bildirilmiştir (26). Son yıllarda bu konu ile ilgili yapılmış pek çok çalışma mevcuttur. Konvansiyonel değerlendirmede bakılan sperm konsantrasyonu, motilite ve morfoloji ile sperm DNA fragmentasyonu arasında ters ilişki olduğunu gösteren çalışmaların yanında (27-28); bu ilişkinin olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (29-30).

2.6.2. IUI ve Spontan Gebelik ile DFI Arasındaki İlişki

DFI testi bir çiftin doğal yoldan gebe kalma şansını öngören değerli bir testtir. Meta-analiz sonuçlarına göre SCSA ile bakılan DFI yüksek ise doğal yoldan gebe kalma şansı oldukça azalmaktadır (OR 7.01 95% CI 3.68-13.36) (31). DFI test sonucu %20-30 arasında ise doğal yoldan gebe kalma şansı azalırken, %30 üstünde olan vakalarda bu şans yok denecek kadar azdır (26). DFI'nin IUI ile gebe kalma oranlarını oldukça düşürdüğü gözükmemektedir (32). Başka bir çalışmada IUI uygulanan hastalarda gebe

kalmayı engelleyen DFI oranı %12'dir. DFI oranı yüksek olan hastalarda IUI'da biyokimyasal gebelik, klinik gebelik ve doğum oranlarında istatistiksel anlamlı bozulma olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmada TUNEL yöntemi ile SDF oranı %12 üstünde olduğunda IUI ile gebelik elde edilemediği gibi (33); başka bir çalışmada SCSSA yöntemi ile bakılan SDF oranı %30 üstünde ise klinik gebelik ve doğum oranlarının azaldığı bilinmektedir (25) (Tablo 3). Aşılama ve spontan gebelik denemeleri yüksek DFI'dan fazlasıyla etkilenmekte ve olumsuz sonuçlar doğurabilmektedir.

Tablo 3. DFI'nın IUI tedavisinde biyokimyasal gebelik, klinik gebelik, canlı doğum ve erken gebelik kayıpları üzerindeki etkisi (32)

	IUI	
	DFI<%30	DFI>%30
Siklus Başlangıcı (n)	321	66
Biyokimyasal Gebelik (n)	77	2
Klinik Gebelik	76	2
Doğum	61	1
Gebelik Kaybı	14	0

Bu veriler göz önüne alındığında açıklanamayan infertilite veya IUI başarısızlığı olan çiftlerde SDF testi yapılması tedavi planı oluşturulması açısından önemlidir (4).

2.6.3. IVF ve ICSI Uygulanan Hastalarda DFI Etkisi

a) Fertilizasyon Üzerindeki Etkisi

IVF, birçok sperm hücresinin yumurtaya kendilerinin yüzerek ulaşmaları için embriyolog tarafından hazırlanan dish'e bırakılmasıdır. Sperm ve yumurta bir gece boyunca inkübasyona bırakılır ve ertesi gün fertilizasyon kontrolü yapılır. ICSI ise yüzdürme işlemlerinden geçmiş sperm hücrelerinin morfolojik seçimi yapıldıktan sonra

yalnız bir spermin yumurtaya enjekte edilmesidir. Bu sebeple ICSI'de sperm parametlerinden morfoloji ve motilitenin etkisi azaltılmış olur. Yapılan birçok çalışmada da DFI'nın ICSI'de anlamlı bir etkisi olmadığı IVF'de ise herhangi bir eleme yöntemi olmadan kullanılan spermelerden dolayı DFI'nın etkisi olduğu ortaya konulmuştur (34). Ahmadi ve Ng (1999) (35) yaptıkları çalışmada yüksek DFI'nın fertilizasyon oranını etkilemediğini fakat blasta gitme oranlarının azaldığını göstermiştir. Prospektif çok merkezli bir çalışma ile SCD yöntemi kullanılarak 62 infertil birey ile yapılan çalışmada DNA hasarının fertilizasyona etki sınırı %18 olarak belirlenmiştir (36) (Tablo 4). Lopes ve ark. (1998) yaptıkları bir çalışmada, sperm DNA fragmentasyonu %40'dan büyük olduğu durumlarda fertilizasyon oranını etkilemediği ama %40'dan az olduğu durumlarda ise fertilizasyonu artırdığı belirlenmiştir (37).

Tablo 4. Sperm DFI'nın IVF ve ICSI uygulanan gruplarda fertilizasyon ile ilişkileri (36).

Sperm DNA Fragmentasyon oranı	Coefficient	%95 Confidence interval
<18 %	0	-
>18 %	-5.52	-10.67 , -0.37

b) Embriyo Gelişimi Üzerine Etkisi

Benchaib ve ark. (2003) yaptıkları bir araştırmada, DFI ile embriyo kalitesi arasında doğru bir orantının olmadığı tespit edilmiştir. (21).

c) Klinik Gebelik ve Canlı Doğum Üzerindeki Etkisi

IVF hastalarında hem klinik gebelik hem de canlı doğum oranları olumsuz etkilenmektedir (39). İki sistemik derlemede, SDF ile konvansiyonel IVF sonuçları arasında orta derecede bir ilişki gösterilmiştir (40-41). Dokuz çalışmada yüksek SDF ile (6 çalışma TUNEL yöntemi, 3 çalışma SCSA) IVF uygulamasında gebelik oranlarında düşüş gösterilmiştir (OR 1.57 %95CI 1.18-2.07) (40). ICSI siklusları için yüksek SDF'nin etkilerine bakıldığında gebelik oranlarında fark olmadığı (OR 1.14 %95 CI 0.86-1.54) söylenebilir (40). Bunu destekleyen bir meta-analizde de yüksek

SDF ile IVF’de gebelik oranları azalsa da, ICSI’de fark gösterilememiştir (42). Canlı doğum oranlarını inceleyen sistemik derleme ve meta-analizde ise yüksek SDF oranları IVF’de canlı doğum oranlarını etkilese de ICSI hastalarında bu olumsuz etki görülmemiştir (43). Bu sonuçlar göz önüne alındığında yüksek SDF olan erkeklerde, ICSI potansiyel tedavi opsiyonu olarak sunulmuştur. Ancak bu meta-analize dahil olan çalışmalarda SDF farklı analiz yöntemleri ve farklı eşik değerlere göre değerlendirilmiştir.



Tablo 5. ICSI ve IVF tedavilerinde düşük ve yüksek DNA fragmantasyon oranlarının canlı doğum üzerinde etkisi meta-analiz verileri (44).

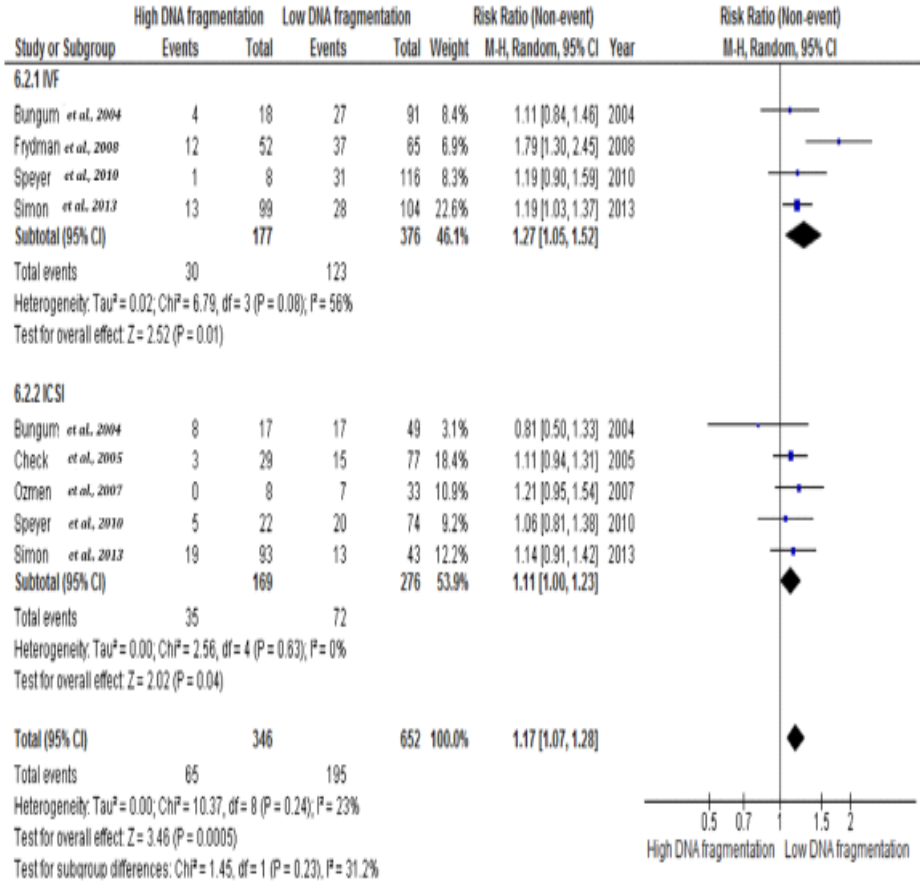


Figure 2 Live birth rate in high and low sperm DNA fragmentation groups. ICSI = intracytoplasmic sperm injection.

2.7. GALECTİN-3

Galectin-3 beta-galaktozit bağlayan lektin türevi bir proteindir. Hücre etkileşimleri, kanser progresyonu, bulaşıcı organizmaların patogenezi ve immunomodulasyonda rol oynar. Erkek üreme sisteminde; testis, epididimis, vaz deferens, prostat, seminal vezikül ve sperm protein özütlerinde ~ 30 kDa galectin-3 proteini tespit edilmiştir (45). Seminal plazmada; eriyebilir halde bulunur. Prostatta prostasomlar tarafından salgılanan kolesterolce zengin ejakulasyon sırasında seminal plazmaya dahil olan bir protein olarak bulunur. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda memelilerde bulunan 15 çeşit Galectin

belirlenmiştir. Hücresel lokalizasyonuna, konsantrasyona,veya posttranslasyonel modifikasyona bağlı olarak farklı özellikler gösterebilirler. Galectin-3 bunlardan en yaygın karakterize edilenlerdendir. Hücre içi çoğalması, hücre-hücre yapışması, apoptoz, immunomodulasyon, hücre-hücre dışı matriks adezyonu, tümör progresyonu, patojen konakçı etkileşimleri, mRNA ekleme gibi işlevlerde görev alır (45).

Galectin-3 proteini, prostazomların yüzeylerine yapışık bir şekilde bulunur. Prostazomlar sperm hücrelerinin ana bileşenleridir ve prostazom sayısı sperm hücre sayısının yaklaşık iki katıdır. Dolayısıyla bir ejakülasyonda milyonlarca sperm dışarı atılırken milyarlarca da prostazom onlara eklenmiş olur (46). Prostazomların iki temel fonksiyonel rolü vardır;

- 1) Kadın üreme sisteminde sperm işlevlerinin ve immün baskılayıcı sistemin güçlendirilmesi.
- 2) Prostazomlar laboratuvar ortamında spermle bir aradayken intra-prostozomal kalsiyum eklenmesiyle spermin hareketinde artış olduğu ve spermin olgunlaşmasını geciktirdiği bilinir.

Prostazomların diğer görevleri ise nötrofillerdeki oksidatif patlamayı inhibe etmek, lökositlerdeki fagositozu önlemek ve sperm hücrelerini kadın immün sistemine karşı savunmaktır. Prostazomların sperm fonksiyonunu düzenleme ve kadın immün sisteminden spermi koruma görevini Galectin-3 üstlenir.

2.7.1. Galectin-3 ve Spermatogenez

Galectin-3 salınımı spermatogenezis sırasında FSH başta olmak üzere bir çok hormon tarafından kontrol edilir. Yapılan bir çalışmada sıçan, insan ve domuz testislerinde Galectin-3 ekspresyonu gözlemlenmiştir. Galectin-3 sertoli hücrelerinde bulunur. Galectin-3 salınımı testislerde 31 Kda boyutundadır. Testiküler Galectin-3'ün işlevi araştırılmaya devam edilmekle birlikte germ hücrelerinin ölümünden 1 ay sonra tetiklendiği düşünüldüğünde potansiyel germ hücre kurtarıcı ve yeniden oluşturucu görevi olduğu tahmin edilmektedir. Galectin-3 domuz ve sıçan testisinde sertoli

hücrelerinde FSH'ın pozitif kontrolü altında salınmaktadır. Bu gözlemler Galectin-3'ün sağkalım öncesi rolü ile uygun olduğunu göstermektedir (47).



3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmaya Dahil Edilme/Dışlanma Kriterleri ve Hasta Seçimi: Araştırmada oluşturulan hasta grubu, semen analizi için kliniğe başvuran hastalardan seçilen erkek gönüllülerden oluşturulmuştur. Gönüllüler 18 yaşından büyük, 55 yaşından küçük olarak seçilmiştir. Bireylere onay formu imzalatılmıştır. Gönüllülerin erektil disfonksiyon, azospermi olması halinde bu kişiler araştırmaya dahil edilmemiştir. İnfertilite tedavi süreci başlamış olan çiftlerden alınan semen örnekleri araştırma amacı ile kullanılmamıştır.

3.1. SPERM DEĞERLENDİRİLMESİ İÇİN ÖRNEK ALIMI İŞLEMİ

Güvenilir sonuçlara ulaşabilmek için ilk basamak örneğin doğru alınmasıdır. Örneği klinikte almak en doğru seçenektir. Mecbur kalmadıkça dışarıdan getirilmemiştir. Klinikte steril bir şekilde saklanan örnek kabına hastanın bilgileri cam kalem ile yazılmıştır. Örnek masturbasyon ile verilmiştir. Diğer yöntemler klinik bulguları etkileyebilir. Örnek kabının dışına taşırılmaması önemlidir ve ejakülatın tamamı kabin içine bırakılıp sıkıca kapatılmış olmalıdır. Kişinin psikolojik olarak rahat ve güvende hissetmesi sağlanmıştır. Özel durumlarda hasta dışarıdan örnek getirecek ise örnek kabının ışık geçirmeyecek bir şekilde muhafaza edilerek maksimum 30 dakika içinde kliniğe getirilmesi gerektiği belirtilmiştir. Tüm hastalar için gerekli olan cinsel perhiz süresi 3 - 5 gün olarak kabul edilmiştir.

Örnek alındıktan sonra 20-30 dakika kadar oda sıcaklığında likefaksiyon için bekletilmiştir. Daha sonra bir pipet yardımı ile homojenizasyon yapılmıştır. Makler kamarası ile sayılmıştır. Hasta ismi, örnek verilme tarihi, saati, perhiz süresi, sperm sayısı, ejakulat hacmi, morfolojisi, motilitesi not edilmiştir (3). Daha sonra DNA Fragmantasyonu indeksi için aşağıda anlatılan tespit yöntemi kullanılmıştır.

3.2. SPERM DNA FRAGMENTASYONU TB YÖNTEMİ İLE TESPİTİ

a) Boyama işlemi basamakları

Kaptaki semenden pipet yardımı ile bir damla alınarak lam üzerine damlatılmıştır. Başka bir lam yardımı ile 45 derecelik açı oluşturulup lamı çekerek yayma işlemi gerçekleştirilmiştir. Preperat oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruduktan sonra

ilk olarak fiksatif ile dolu olan şaleye bırakılıp, 30 dakika boyunca buzdolabında tutulmuştur. Çıkarıldıktan sonra HCL dolu şaleye bırakılıp, 5 dakika yine buzdolabında bekletilmiştir. Daha sonra 3 adet distile su ile dolu olan şalelerden 2 şer dakika bekletilerek geçirilmiştir. Bu arındırma işleminden sonra ise TB ile dolu olan şaleye bırakılıp 5 dakika boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Son olarak distile su ile yıkanarak oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruduktan sonra kontrast ışık mikroskopunda 1000X Büyütmede immersiyon yağı ile bakılmıştır. Görüntüdeki spermillerden her kişi için en az 300 olacak şekilde sayılmıştır. Hasarlı olan (koyu boyanmışlar), yüzdelik hesaplanarak not edilmiştir. Bu işlem tüm hasta grubuna uygulanmıştır.

b) Toluidine Blue yöntemi gereken malzemeler;

- 1) Aseton
- 2) %96 extra saf ethanol
- 3) Toluidine blue
- 4) Hidroklorik asit (HCl)
- 5) Disodyum hidrojen fosfat dihidrat (Na_2HPO_4)
- 6) Distile su
- 7) Lam - lamel
- 8) Kontrast ışık mikroskobu
- 9) İmmersiyon yağı
- 10) 7 adet şale

c) Malzemelerin Hazırlanışı;

1) Fiksatif : 25 ml %96 lık ethanol ile 25 ml aseton şale içerisinde homojenize edilir. +4 derecede muhafaza edilmiştir.

2) HCL: 50 ml distile su ile 5ml HCl şale içerisinde homojenize edilir. +4 derecede saklanmıştır.

3) Toluidine blue tamponu : 500ml distile suyun içine 14,2 gr Na_2HPO_4 ile 9,6 gr sitrikasit eklenip homojenize edilip, oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

4) Toluidine blue (%5lik) : 47,5ml tampon ile 2,5 ml toluidine blue boyası şale içinde karıştırılıp, homojenize edilip, oda sıcaklığında muhafaza edilmiştir.

3.3. GALECTİN 3 ANALİZİ

Galectin-3 analizi klinik değerlendirmeye birlikte insan serumu, EDTA plazması, semende Galectin-3'ün kantitatif tayini için kullanılır. Bir Kemilüminesans mikropartikül immünolojik tetkiktir. Numune ve M3/38 anti-galectin-3 kaplı paramanyetik mikropartiküller birleştirilerek yapılmıştır. Numunede bulunan Galectin-3, anti Galectin-3 kaplı mikropartiküllere bağlanır. Yıkamanın ardından, 87B5 anti Galectin-3 akridinyum işaretli konjugatı eklenerek bir reaksiyon karışımı elde edilmiştir. Başka bir yıkama döngüsünün ardından, reaksiyon karışımına Pre-Trigger ve Trigger çözeltileri ilave edilmiştir. Ortaya çıkan kemilüminesans reaksiyon bağıl ışık birimleri olarak ölçülmüştür. Numunedeki Galectin-3 miktarı ile ARCHİTECT iSystem (U.S.A. Philadelphia , Malwern) optik sistemi tarafından saptanan reaksiyon bağıl ışık birimleri arasında doğrudan bir ilişki vardır.

3.4. İSTATİSTİKSEL YÖNTEMLER

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS (Statistical Package Social Sciences) 22.0 istatistik paket programı kullanılmıştır. Niceliksel verilerden normal dağılıma uyan değişkenler için ortalama ve standart sapma, normal dağılıma uymayan değişkenler için ise medyan (minimum - maksimum) değerleri verilmiştir. Nicel verilerin normal dağılıma uygunluğunu değerlendirmek amacıyla Kolmogrov Smirrov testi uygulanmıştır. Bu test sonucunda karşılaştırmalar için normal dağılan verilerde Student t Test normal dağılmayan verilerde Mann Whitney U testi kullanılmıştır. Değişkenler arasındaki ilişki Spearman korelasyon analizi ile değerlendirilmiştir. Bütün istatistiksel analizlerde önemlilik seviyesi olarak $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

4.BULGULAR

Çalışma süresince infertilite nedeni ile kliniğe başvuran 152 hastanın semen analizi incelenmiştir. İncelenen hastaların yaş ortalaması 34.67 ± 5.43 (minimum 24, maximum 52) dir. Hastaların yaş ve semen analiz sonuçları Tablo 6' da verilmiştir.

Tablo 6. Hastaların yaş ve semen analizi sonuçları

	Ortalama	Standart Sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum
Yaş (Yıl)	34.67	5.43	34.00	24	52
Ejekulat Hacmi (ml)	3.15	1.14	3.00	1	6
Toplam ejakulattaki sperm sayı ($\times 10^6$)	169.00	138.25	127.75	3.40	715
Sperm sayısı (10^6 /ml)	53.85	41.29	46.00	1.2	156
Motilite (%)	59.93	18.85	65.50	0	87
Normal Morfoloji (%)	3.35	2.33	3.00	0	10
Baş Anomalisi (%)	84,49	5,23	85.00	64	95
Boyun Anomalisi (%)	5.86	3.36	5.00	0	18
Kuyruk Anomalisi (%)	4.97	3.19	4.00	0	14
Sitoplazmik Droplet (%)	2.74	1.69	2.00	1	9
İleri hareketli sperm sayısı (%)	13.45	9.08	13.00	0	40
TPMSS ($\times 10^6$ /eje)	28.12	34.99	15.18	0	214.5

TPMSS: Toplam progresif motil sperm sayısı.

Tablo 7. Tüm hastaların DFI analizi ile Galectin-3 analizi sonuçları

	Ortalama	Standart Sapma	Ortanca	Minimum	Maksimum
Toplam Sayılan sperm hücresi sayısı (10^6)	234.67	145.47	200.00	100	800
DFI (%)	24.27	10.74	22.25	6	66.3
Galectin-3 (ng/ml)	216.19	153.17	178.45	8.6	794.4

DFI: DNA Fragmentasyon İndeksi.

Hastalardan 25'inin sperm sayısı $<15\text{mil/ml}$ 127'sinin sperm sayısı $\geq 15\text{mil/ml}$ 'dir. Oligozoospermi grubu ($< 15\text{mil/ml}$) yaş ortalaması 34.87 ± 5.21 , normozoospermi grubu ($>15\text{mil/ml}$ 'dir) yaş ortalaması 33.62 ± 6.55 'dir. Gruplar arasında yaş ortalamaları yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktur ($p:0.336$).

Tablo 8. Oligozoospermi ve normozoospermi gruplarının tüm parametreler açısından değerlendirilmesi

	Oligozoospermi (n:25)	Normozoospermi (n:127)	P
Yaş (Yıl) (Ortalama± SD)	33.62±6.55	34.87±5.20	0.336
Ejekulat Hacmi (ml) (Ortalama± SD)	2.88±1.01	3.21±1.16	0.207
DFI (%) Ortanca (min-max)	25 (12-66.3)	21.25 (6-51)	0.032*
Sperm sayısı (10⁶/ml) Ortanca (min-max)	8 (1.2-14)	56 (15-156)	<0.001*
Motilite (%) Ortanca (min-max)	50 (0-80)	67 (9-87)	0.002
Normal Morfoloji (%) Ortanca (min-max)	1 (0-6)	4 (0-10)	0.002
Baş Anomalisi (%) Ortanca (min-max)	85 (76-95)	85 (64-94)	0.523
Boyun Anomalisi (%) Ortanca (min-max)	5.5 (3-18)	5 (0-18)	0.361
Kuyruk Anomalisi (%)	4 (1-12)	4 (0-14)	0.492

Ortanca (min-max)			
Sitoplazmik Droplet (%)	1.5 (1-3)	2 (1-9)	0.176
Ortanca (min-max)			
Galectin-3 (ng/ml)	162.20 (12.5-547.1)	90.00 (7-186)	0.386
Ortanca (min-max)			
İleri hareketli sperm sayısı (Ortalama± SD)	7.61±8.59	14.54±8.78	0.001
Toplam ejakulattaki sperm sayısı	21 (3.4-56)	180 (27-715)	<0.001
Ortanca (min-max)			
TPMSS (%)	0.54 (0-8.40)	18.60 (0-214.5)	<0.001
Ortanca (min-max)			

DFI: DNA Fragmantasyon İndeksi

TPMSS: Toplam progresif motil sperm sayısı.

*p<0.05: istatistiksel anlamlı

Oligozoospermi grubunda DFI, normozoospermi grubuna göre yüksek istatistiksel anlamlı bulunmuştur (tablo 3) (%25 vs %21,25) (p değeri : 0.032).

Oligozoospermi grubunda motilite, normozoospermi grubuna göre istatistiksel anlamlı düşüktür. (%50 vs %67)(p değeri: 0.002)

Oligozoospermi grubunda normozoospermi grubuna göre normal morfolojili sperm oranı istatistiksel anlamlı düşüktür. (%1 vs %4) (p değeri: 0.002)

Oligozoospermi grubunda ileri hareketli motil spermilerin oranı %7.61 iken normozoospermi grubunda bu oran %14.54 olarak bulunmuştur. (p değeri: 0.001)

Toplam Motil Sperm Sayısı (TPMSS) parametresi açısından 2 grup karşılaştırıldığında normozoospermi grubunda oligozoospermi grubuna göre TPMSS istatistiksel olarak anlamlı yüksektir. (%18,60 vs % 0,54)(p değeri:0,001)

Tüm hastaların verilerine DFI ile konvansiyonel semen analizi korelasyonunu araştırmak üzere Spearman's rho analizi uygulanmıştır. Yaş ve tüm semen parametreleri analize konduğunda DFI ile ilişkili korelasyon bulunamamıştır (Tablo 9).

Tablo 9. DFI ile semen analizi kriterleri korelasyonunu

	Spearman's rho	
	Fragmantasyon Yüzdesi	
	R	P
Yaş (Yıl)	0.012	0.892
Ejerkulat Hacimi (ml)	-0.131	0.116
Sperm sayısı (mil/ml)	-0.146	0.077
Motilite	-0.160	0.052
Normal Morfoloji	-0.085	0.362
Baş Anomalisi	0.040	0.669
Boyun Anomalisi	-0.163	0.078
Kuyruk Anomalisi	0.056	0.553
Stoplazmik Droplet	-0.029	0.867
Galectin-3	0.112	0.173
İleri hareketli sperm sayısı	-0.139	0.094
Toplam ejakulattaki sayısı	-0.158	0.061
TPMSS	-0.193	0.022

TPMSS: Toplam progresif motil sperm sayısı.

Tüm hastaların verilerine DFI, yaş ve konvansiyonel semen analizinin Galectin-3 ile korelasyonunu araştırmak üzere verilere Spearman's rho analizi uygulanmıştır. Yaş ve tüm semen parametreleri analize konduğunda Galectin-3 ile ilişkili korelasyon bulunamamıştır (Tablo 10). Ancak oligozoospermi grubunda Galectin-3 değerleri ileri hareketli sperm sayısı ile negatif koreledir (Tablo 11, Grafik 1). Aynı korelasyon normozoospermi grubunda izlenmemiştir.

Tablo 10. Galectin-3 ile diğer tüm parametrelerin karşılaştırılması

	Spearman's rho	
	Galectin-3	
	R	P
Yaş	0.008	0.932
Ejekulat Hacimi (ml)	-0.081	0.336
Sayılan sperm	-0.090	0.279
DFI	0.112	0.173
Sperm sayısı	-0.004	0.961
Motilite	-0.018	0.828
Normal Morfoloji	-0.079	0.396
Baş Anomalisi	0.007	0.939
Boyun Anomalisi	-0.005	0.954
Kuyruk Anomalisi	0.114	0.223
Stoplazmik Droplet	-0.062	0.720
İleri hareketli sperm sayısı	-0.030	0.723
Toplam ejakulattaki sayısı	-0.054	0.527
TPMSS	-0.035	0.684

DFI: DNA Fragmentasyon İndeksi

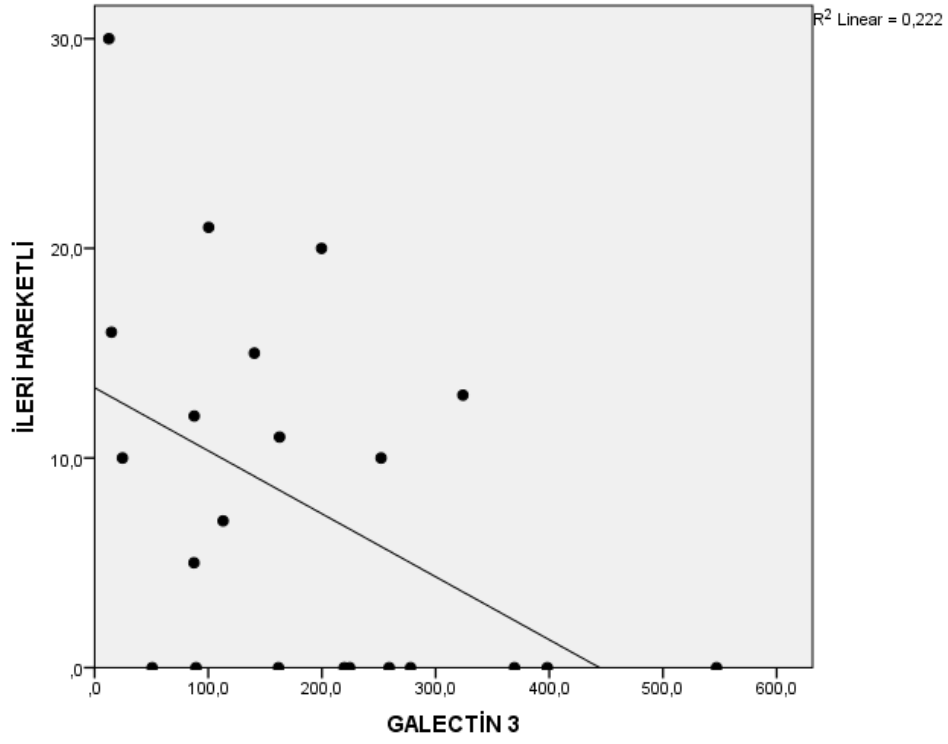
TPMSS: Toplam progresif motil sperm sayısı.

Tablo 11. Oligozoospermi grubunda Galectin-3 ile DSÖ kriterlerinin korelasyonu

	Spearman's rho	
	Galectin-3	
	R	P
Yaş	0.084	0.726
Ejekulat Hacimi	0.019	0.931
Hasarlı bulunan	-0.141	0.521
DFI	0.346	0.098
Sperm sayısı	-0.153	0.475
Motilite	-0.322	0.126
Normal Morfoloji	-0.194	0.471
Baş Anomalisi	0.147	0.586
Boyun Anomalisi	-0.183	0.498
Kuyruk Anomalisi	-0.019	0.943
Stoplazmik Droplet	0.105	0.895
İleri hareketli sperm sayısı	-0.479	0.024
Toplam ejakulattaki sayısı	-0.147	0.514
TPMSS	-0.395	0.069

DFI: DNA Fragmantasyon İndeksi

TPMSS: Toplam progresif motil sperm sayısı.

Grafik 1. İleri hareketli sperm – Galectin-3 korelasyonu

Tablo 12. Normozoospermi grubu Galectin-3 değerleri ile diğer tüm parametrelerin karşılaştırılması

	Spearman's rho	
	Galectin-3	
	R	P
Yaş (Yıl)	-0.025	0.795
Ejekulat Hacimi (ml)	-0.110	0.227
Hasarlı bulunan	-0.004	0.968
DFI	0.084	0.350
Sperm sayısı (mil/ml)	-0.067	0.465
Motilite	0.014	0.875
Normal Morfoloji	-0.078	0.439
Baş Anomalisi	-0.016	0.873
Boyun Anomalisi	0.022	0.826
Kuyruk Anomalisi	0.145	0.152
Stoplazmik Droplet	-0.104	0.570
İleri hareketli sperm sayısı	0.023	0.797
Toplam ejakulattaki sayı	-0.141	0.128
TPMSS	-0.076	0.414

DFI: DNA Fragmantasyon İndeksi

TPMSS: Toplam progresif motil sperm sayısı.

5.TARTIŞMA

Bu çalışmada, infertil vakalarda sperm DFI ve seminal plazmada bulunan Lectin türevi bir protein olan Galectin-3 miktarı tespit edilmiş olup, aynı zamanda bu iki parametrenin korelasyonları da incelenmiştir. Çalışma sonuçlarında, semende Galectin-3 proteininin oligozoospermi grubunda daha yüksek olduğu görülmüştür. Ancak, bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı olmayıp, normozoospermi grubu ile benzer olduğu söylenebilir. Korelasyon analizinde ise çalışmaya katılan hastaların hepsi incelendiğinde Galectin-3 ile tüm parametreler (semen hacmi, sperm sayısı, motilite, morfoloji ve DFI) arasında korelasyon olmamasına rağmen; subgrup incelemesinde oligozoospermi vakalarında Galectin-3'ün TPMSS ile negatif korele olduğu gösterilmiştir.

DFI tespitinde birçok yöntem vardır. Rutin pratikte kullanım alanları kısıtlı olması, pek çok testin mevcut olması ve universal kullanımında kabul edilebilir eşik değerlerin olmaması DFI testleri ile ilgili halen araştırmaya gereksinim olduğunu göstermektedir. Ek olarak klinikte ve araştırma bazlı kullanımlarında maliyetlerinin yüksek olması da test kullanımını kısıtlamaktadır. Bu araştırmada uygulama kolaylığı, nispeten maaliyeti uygun olması ve aynı zamanda araştırmanın verimliliği için TB testi kullanmayı tercih ettik. DFI testleri içinde SCSA 'gold standart' olarak kabul edilmektedir (48). Ancak flow sitometri gibi ileri ve maaliyeti arttıran ekipmanlara ihtiyaç duyulması sebebi ile biz araştırmamızda bu testi kullanamadık. TB testi ise SCSA ile karşılaştırıldığında; TB kolay ve ucuz bir methottur. J.Erenpreis ve ark. (49) Malmö Üniversite Hastanesi fertilitte merkezinde yaptıkları çalışmada 35 infertil erkek üzerinde SCSA ve TUNEL testi ile TB Testinin korelasyonunu araştırmışlardır. 35 kişiye hem SCSA hem TB ile DFI tespiti yapılmış, 18 kişiye TUNEL yöntemi ile DFI tespiti yapılmıştır. Karşılaştırma sonucu yüksek DNA fragmantasyonlu sperm hücreleri TB ile bakıldığında SCSA ile pozitif kuvvetli yönde korele olduğu göstermiştir. Bu sonuçta seçtiğimiz DFI testi olan TB testinin gold standart test olan SCSA benzer sonuçlar veren güvenilir bir test olduğu söylenebilir.

Genel populasyonda, Samplaski ve ark. (50) semen analizi için başvuran erkeklerde yaptıkları bir çalışmada 301 erkek çalışmaya dahil edilmiş ve SCSA yöntemi kullanılarak DFI'yi belirlenmiştir. Çalışma sonuçlarında 301 hastanın ortalama DFI

%39.8 olarak verilmiştir (50). Bizim çalışmamızda da, 127 hasta üzerinde TB Testi ile DFI oranı tespiti yapılmış ve infertil hasta popülasyonunda ortalama DFI %24.0 olarak saptanmıştır. Samplaski ve ark. tarafından rapor edilen bu oran bizim çalışmamızdan bir miktar yüksek olmakla beraber seçilmiş bir hasta grubunu yansıtmamaktadır. Budi ve Utami (51) yaptıkları bir çalışmada 114 hastayı incelemiştir. Bunlardan 36'sı fertil 78'i infertil hastadır ve her iki grup arasında yaş açısından anlamlı bir fark bulunmamaktadır. DFI tespiti için SCD yöntemini kullanmışlardır. İnfertil grupta DFI'nin ortalama değeri %29.9 iken fertil grubun DFI %19.9 olarak bulunmuştur ve aradaki fark anlamlı derecede yüksektir. Bizim çalışmamızda ise infertil olan vakalarda benzer sonuç bulunmasına rağmen fertil hasta grubu yoktur.

Bizim çalışmamızda infertil normozoospermi grubunda DFI ortalama %21.0 ve infertil oligozoospermi grubunda ise DFI ortalama %25.0 olarak saptanmıştır. Irvine DS ve ark. (52) 67 bireye COMET analizi ile DFI tespiti yapmışlardır. Çalışmalarında normozoospermi bireyler ile oligozoospermi infertil bireyler arasında DFI bakımından korelasyon olup olmadığını araştırmışlardır. Normozoospermi grubu normal semen parametrelerine sahip bireylerden oluşmaktadır ve DFI ortalama % 10.4 olarak belirlenmiştir. Oligozoospermi grubunda ise DFI ortalama % 19.8 olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda sperm sayısı ile DFI'nin negatif korele olduğu gösterilmiştir. Ancak bizim çalışmamızda benzer bir korelasyon saptanmamıştır.

Sperm motilitesi ve morfolojisinin DFI ile ilişkisini inceleyen birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan araştırmalar anormal sperm parametrelerine (Morfoloji , Motilite , Konsantrasyon vb.) sahip bireylerin DFI'lerinin de yüksek olduğunu göstermiştir. Ancak DFI yüksek olmasına rağmen semen parametrelerinin normal olduğunu gösteren çalışmalarda vardır. Yaptığımız çalışmada; oligozoospermi grubunda normozoospermi grubuna göre, DFI ile birlikte motilite ve morfoloji değerlendirmelerinde de anomalilerin arttığı saptanmıştır. Ancak korelasyon analizinde istatistiksel anlamlı sonuç bulunamamıştır. Semen kalitesi bozuldukça DFI artmış olarak görülmektedir. Çalışmamızın sonuçlarına benzer olarak, Boushaba ve Belaaloui'nin çalışmasında 26 infertil çiftte sperm hareketliliği ve sayısını DFI ile kolere bulurken, morfoloji ve semen

hacmi arasında bir korelasyon saptamamışlardır (53). Literatürde benzer sonuçları destekleyen pekçok çalışma mevcuttur.

İlerleyen erkek yaşının sperm parametreleri üzerinde olumsuz etkisi olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalarda sperm konsantrasyonunun yaş ile azalmadığı bilinmektedir fakat motilite ve semen hacminde azalma olduğu görülmüştür. Semen hacmi her yıl ortalama 0,03ml ve motilite ise her yıl ortalama %0,7 oranında azalmaktadır (54). Mausumi Das ve ark. (55) yaptıkları bir araştırmada DFI, erkek yaşı ile pozitif korele bulmuştur. Normozoospermik bireylerde DFI, 40 yaş altı ile karşılaştırıldığında 40 yaş ve üstü bireylerde anlamlı olarak yüksek çıkmıştır (55). Başka bir çalışmada Sharma ve ark. (56) DFI'ni erkek yaşı ile pozitif korele bulmuştur. Bu çalışmada yine DFI oranının günden güne oxidative stres etkisinde kalan spermlerin ve yaşlandıkça kısalan telomerlerin etkisiyle arttığını savunmaktadır (56). Bizim çalışmamızda 127 bireyin yaş ortalaması 34.6 olup, DFI ise %24.2 olarak saptanmış ancak, erkek yaşı ile DFI arasında korelasyon bulunamamıştır ($p= 0,892$). Yukarıda belirtildiği gibi artmış DFI 40 yaş üstü hastada daha belirgin olarak göze çarpmakta olduğundan, bizim hasta grubumuzun genç erkeklerden oluşması bu sonuçları açıklayıcı bir faktör olabilir. Her ne kadar, bizim çalışmamızda, erkek yaşının DFI üzerinde bir etkisinin olmadığı gösterilse de, erkek yaşının DFI üzerinde de olumsuz etkilere sebep olması mümkündür ancak DFI çevresel birçok faktörden etkilendiği için yaş ile bağlantısını saptamak oldukça zordur.

Galectin-3 beta-galaktozit bağlayan lektin türevidir. Erkek üreme sisteminde; testis, epididimis, vaz deferens, prostat, seminal vezikül ve sperm protein özütlerinde ~ 30 kDa galectin-3 proteini tespit edilmiştir (45). Galectin-3'ün spermatogenez esnasında bir dizi hormon tarafından kontrol edildiği bilinir. Galectin-3 salınımının germ hücrelerinin ölümünden yaklaşık 1 ay sonra aktifleşmesi germ hücre kurtarıcısı rolünde ve sağ kalım öncesi çalıştığını gösterir. Bu sonuçlar gözönüne alındığında spermatogenez bozulduğunda Galectin-3 seviyelerinin rölatif olarak semende artması beklenebilir. Bizim çalışmamızda, oligozoosperm grubunda Galectin-3 miktarı 162.2 ng/ml normozoospermi grubundaki ise 90.0 ng/ml bulunmuştur. İstatistiksel anlamlı bir fark olmasa bile bozulmuş olan spermatogenezde kompensatuar süreçte rolü olabileceği

düşünülmektedir. Bu sonuç göze alındığında, etkin rolünü belirlemek amacı ile daha geniş popülasyonlu çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Ek olarak, Jones ve ark. (46) yaptığı çalışmada semen içeriğindeki Galectin-3 proteini çalışılmış ve sperm üzerindeki prostozomlar ile ilişkili olduğu yayınlanmıştır. Bu çalışmada Galectin-3'ün semende varlığı ve miktarı üzerine yoğunlaşmıştır. Prostazomlar semende sperm hücre sayısından yaklaşık iki kat fazladır. Galectin-3 prostazomların yüzeyinde bulunur. Prostazomların Galectin-3 ile birlikte gerçekleştirdiği en etkili görevleri sperm fonksiyonunu düzenlemek ve spermi korumaktır. Ancak, bu çalışmada herhangi bir DSÖ kriteri ya da sperm DNA Hasarı ile Galectin-3 düzeyi ilişkisi incelenmemiştir (46). Çalışmamızda seminal plazmada Galectin-3 düzeyi ve sperm fonksiyonundaki bilinen rolü, TPMSS ile ilişkili olarak gösterilmiştir. İlk kez oligozoospermi grubunda, istatistiksel anlamlı olarak, ileri hızlı sperm sayısı azaldıkça Galectin-3 düzeyinin arttığını gösteren bizim çalışmamızdır. Prostazomlar in vitro ortamda sperm ile füzyon yapar ve intraprostasomal kalsiyum depolarını salarak sperm motilitesini artırır (46). Çalışmamızdan elde edilen veriler Galectin-3'ün sperm motilitesi üzerindeki etkisini kuvvetlendirmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Son olarak Galectin-3'ün spermatogenezdeki rolü kesin olarak hala belirlenemesede geçmişte yapılan çalışmalardan yararlanılarak oluşturulan datalar Galectin-3 miktarı arttıkça apoptosis oranının düştüğünü göstermektedir. Galectin-3 birçok apoptotik hasara yanıt olarak anti apoptotik etki gösterir (47). Farelerde yapılan bir çalışmada; Galectin-3 bulunmayan farelerin apoptosa karşı daha duyarlı olduğu belirtilmiştir (57). Bizim çalışmamızda sperm kalitesini gösteren DFI ile Galectin-3 düzeyinin ilişkili olmaması kullanılan yöntem sebebi ile olabilir. yaptığımız çalışmada TB kullanılarak anormal kromatin paketlenmesinden dolayı oluşan sperm DNA fragmentasyonu ölçülmüştür. Fakat artmış sperm DNA fragmentasyonunun üç sebebi vardır. Anormal kromatin paketlenmesi dışında oksidatif stres ve apoptosis DFI'nin artmasına sebebiyet verir. TB testi oksidatif stres ve apoptosisten dolayı oluşan DFI'ni belirleyememiştir.

Çalışmamızda apoptosis ile ilişkili DFI tespiti yapan bir yöntem olan TUNEL testi kullanılsaydı Galectin-3 ile korelasyon çıkabilirdi. Bu konu ile ilgili ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Spermatogenezde Galectin-3 ile ilgili literatür bilgisi oldukça kısıtlıdır. Galectin-3'ün semendeki fonksiyonu ve bozulmuş spermatogenezdeki muhtemel koruyucu etkisi hakkındaki araştırmalar bu konuya ışık tutacaktır.

7. KAYNAKLAR

- 1) Gassei, K., & Orwig, K. E. , Experimental methods to preserve male fertility and treat male factor infertility, *Fertility and Sterility*, (2016), 105(2), 256–266.
- 2) A. Agarwal, S.S.R. Allamaneni, The effect of sperm DNA damage on assisted reproduction outcomes, *Minerva Ginecol*, 2004;56:235-45
- 3) WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen 5 th ed. (Dünya Sağlık Örgütü insan semeninin işlenmesi ve elden geçirilmesi) 5. Basım. ISBN: 978 92 4 1547789 2010
- 4) Kort et al. 2006 Rubes et al 2007, Vilorio et al 2007, Esteves and Agarwal 2011, *Androfert Referral Center for Male Reproduction*.
- 5) Eyyüp Sabri Pelit, Bülent Katı, Yiğit Akın, Ercan Yeni, Çevresel stres faktörlerinin sperm hücreleri üzerine etkisi, *Androl Bul* 2017; 19(2):61-64
- 6) Richard C. Duke, Robert Chervenak, And J. John Cohen, Endogenous endonuclease-induced DNA fragmentation: An early event in -cell-mediated cytolysis, Department of Microbiology and Immunology, University of Colorado Medical School, Denver, Colorado 80262 Communicated by David W. Talmage, July 18, 1983
- 7) Denny Sakkas, Ewa Mariethoz, Justin C.St. John, Abnormal Sperm Parameters in Humans Are Indicative of an Abortive Apoptotic Mechanism Linked to the Fas-Mediated Pathway, Elsevier Volume 251, Issue 2, 15 September 1999, Pages 350-355
- 8) Diplock A, Healty lifestyles nutrition and physical activity:Antioxidant nutrients, ILSI Europe concise monograph series, 59 p., 1998, Belgium
- 9) Nawar, W.W. 1996. Lipids. In “Food Chemistry”, O.R. Fennema (Ed), pp: 225-319. Marcel Dekker, New York
- 10) Kaur, C. and Kapoor, H.C. 2001. Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium’s health. *Int. J. Food Sci. Tech.* 36; 703-725.

- 11) Donald P. Evenson, Evaluation of sperm chromatin structure and DNA strand breaks is an important part of clinical male fertility assessment, 2017 Sep; 6(Suppl 4): S495–S500.
- 12) Armand Zini, Mark Sigman, Are Tests of Sperm DNA Damage Clinically Useful? Pros and Cons, *Journal of Andrology*, Volume 30, Issue 3 May-June 2009 Pages 219–229
- 13) Evenson DP, Sperm chromatin structure assay (SCSA), *Methods Mol Biol.* 2013;927:147-64.
- 14) Irma Virant-Klun, Tomaz Tomazevic and Helena Meden-Vrtovec, Sperm Single-Stranded DNA, Detected by Acridine Orange Staining, Reduces Fertilization and Quality of ICSI-Derived Embryos, *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, Vol. 19, No. 7, July 2002
- 15) Evenson DP, Kasperson K, Wixon RL. Analysis of sperm DNA fragmentation using flow cytometry and other techniques. *Soc Reprod Fertil Suppl* 2007;65:93-113.
- 16) Essam- Elden M. Mohammed, Eman Mosad, Asmaa M. Zahran, Daa A. Hameed, Emad A. Taha and Mohammed a Muhammed, Acridine Orange and Flow Cytometry: Which Is Better to Measure the Effect of Varicocele on Sperm DNA Integrity?, 2015; 2015: 814150.
- 17) Erenpreiss J, Bars J, Lipatnikova V, Erenpreisa J, Zalkalns J. Comparative study of cytochemical tests for sperm chromatin integrity. *J Androl* 2001;22(1):45-53.
- 18) Jamal Hamidi, Christophe Frainais, Edouard Amar, Eric Bailly, Patrice Clement, Yves Menezo, A double-blinded comparison of in situ TUNEL and aniline blue versus flow cytometry acridine orange for the determination of sperm DNA fragmentation and nucleus decondensation state index, *Zygote*, 2015 Aug; 23(4): 556–562.
- 19) Ghasemzadeh et al, Sperm parameters, protamine deficiency, and apoptosis in total globozoospermia, *Iranian Journal of Reproductive Medicine* Vol. 13. No. 8. pp: 495-502, August 2015

- 20) J. Gozalvez, M. Rodriguez-Predreira, A. Mosquera, C. Lopez-Fernandez, S.C. Estevez, A. Agarwal, J.L. Fernandez, Characterisation of a subpopulation of sperm with massive nuclear damage, as recognised with the sperm chromatin dispersion test, *Andrologia* Volume 46, Issue 6, pages 602–609, August 2014.
- 21) Elva I. Cortés-Gutiérrez, Martha I. Dávila-Rodríguez, José Luis Fernández, Carmen López-Fernández, Altea Gosálbez, and Jaime Gosálvez, New Application of the Comet Assay: Chromosome–Comet Assay, *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 59(7) 655–660
- 22) Monica Muratori and Elisabetta Baldi, Some relevant points on sperm DNA fragmentation tests, *Translational Andrology and Urology* , 2017 Sep; 6(Suppl 4): S560–S563.
- 23) Ashok Agarwal, Chak Lam Cho, Ahmad Majzoub and Sandro C. Esteves, The Society for Translational Medicine: clinical practice guidelines for sperm DNA fragmentation testing in male infertility, *Translational Andrology and Urology*, 2017 Sep; 6(Suppl 4): S720–S733
- 24) Evangelini Evgeni, Konstantinos Charalabopoulos, Byron Asimakopoulos, Human Sperm DNA Fragmentation and its Correlation with Conventional Semen Parameters, *J Reprod Infertil.* 2014;15(1):2-14
- 25) Bungum M, Humaidan P, Axmon A, et al. Sperm DNA integrity assessment in prediction of assisted reproduction technology outcome. *Hum Reprod* 2007;22:174-9
- 26) Evenson DP, Jost LK, Marshall D, et al. Utility of the sperm chromatin structure assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. *Hum Reprod* 1999;14:1039-49.
- 27) Spano M, Seli E, Bizzaro D, et al. The significance of sperm nuclear DNA strand breaks on reproductive outcome. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2005;17:255-60
- 28) Evgeni E, Charalabopoulos K, Asimakopoulos B. Human sperm DNA fragmentation and its correlation with conventional semen parameters. *J Reprod Infertil* 2014;15:2-14.

- 29) Giwercman A, Richthoff J, Hjöllund H, et al. Correlation between sperm motility and sperm chromatin structure assay parameters. *Fertil Steril* 2003;80:1404-12.
- 30) Spanò M, Kolstad AH, Larsen SB, et al. The applicability of the flow cytometric sperm chromatin structure assay in epidemiological studies. *Asclepios. Hum Reprod* 1998;13:2495-505.
- 31) Zini A. Are sperm chromatin and DNA defects relevant in the clinic? *Syst Biol Reprod Med* 2011;57:78-85.
- 32) Bungum M, Humaidan P, Axmon A, Spano M, Bungum L, Erenpreiss J, et al. Sperm DNA integrity assessment in prediction of assisted reproduction technology outcome. *Hum Reprod* 2007;22:174-9
- 33) Duran EH, Morshedi M, Taylor S, et al. Sperm DNA quality predicts intrauterine insemination outcome: a prospective cohort study. *Hum Reprod* 2002;17:3122-8.
- 34) Phil Vu Bach and Peter N. Schlegel , Sperm DNA damage and its role in IVF and ICSI , Bach and Schlegel *Basic and Clinical Andrology* (2016) 26:15
- 35) Ahmadi A, Ng SC. Developmental capacity of damaged spermatozoa. *Hum Reprod* 1999;14:2279-85
- 36) Virro MR, Larson Cook KL., Evenson DP., Parameters are related to fertilization, blastocyst development and ongoing pregnancy in IVF and ICSI cycles, *Fertil Steril* 2008;90:1792–9.
- 37) Lopes S, Sun JG, Jurisicova A, Meriano J, Casper RF. Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation is increased in poor-quality semen samples and correlates with failed fertilization in intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 1998;69:528-32.
- 38) Benchaib M, Braun V, Lornage J, Hadj S, Salle B, Lejeune H, et al. Sperm DNA fragmentation decreases the pregnancy rate in an assisted reproductive technique. *Hum Reprod* 2003;18(5):1023-8

- 39) Bach PV, Schlegel PN. Sperm DNA damage and its role in IVF and ICSI. *Basic Clin Androl*. 2016; 26:15.
- 40) Zini A, Sigman M. Are tests of sperm DNA damage clinically useful? Pros and cons. *J Androl* 2009;30:219-29.
- 41) Collins JA, Barnhart KT, Schlegel PN. Do sperm DNA integrity tests predict pregnancy with in vitro fertilization? *Fertil Steril* 2008;89:823-31.
- 42) Zhao J, Zhang Q, Wang Y, et al. Whether sperm deoxyribonucleic acid fragmentation has an effect on pregnancy and miscarriage after in vitro fertilization/ intracytoplasmic sperm injection: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril* 2014;102:998-1005.e8.
- 43) Osman A, Alsomait H, Seshadri S, et al. The effect of sperm DNA fragmentation on live birth rate after IVF or ICSI: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online* 2015;30:120-7.
- 44) ASRM Practice Committee, Are we ready to incorporate sperm DNA fragmentation testing into our male infertility work-up? A plea for more robust studies *Reproductive BioMedicine Online* (2015) 30, 120–127.
- 45) Jennifer L. Jones^{1,2}, Sarika Saraswati^{1,2}, Ashley S. Block², Cheryl F. Lichti^{2,3}, Maha Mahadevan⁴, and Alan B. Diekman^{2,5}, Galectin-3 Is Associated with Prostatomes in Human Semen, *Glycoconj J*. 2010 February ; 27(2): 227–236.
- 46) Jennifer L. Jones, Sarika Saraswati, Ashley S. Block, Cheryl F. Lichti, Maha Mahadevan, and Alan B. Diekman, Galectin-3 Is Associated with Prostatomes in Human Semen, *Glycoconj J* . 2010 February ; 27(2): 227–236.
- 47) Catherine Deschildre, Jing Wei Ji, Sonia Chater, Françoise Dacheux, Jacqueline Selva, Martine Albert, Marc Bailly, François Hatey and Mohamed Benahmed, Expression of Galectin-3 and its regulation in the testes, *international journal of andrology* 30 (2007) 28–40. Journal compilation 2006 Blackwell Publishing.
- 48) Donald Evenson, Parviz Gharagozloo, and Robert John Aitken, Sperm Chromatin Structure Assay (SCSA): The Clinical Utility of Measuring Sperm DNA Damage and

its Potential Improvement with Supplemental Antioxidants, *JSM Invitro Fertil* 2(1): 1008 (2017)

49) J.Erenpreiss, K.Jepson, A.Giwercman, I.Tsarev, Je. Erenpreisa, M. Spano, Toluidine blue cytometry test for sperm DNA conformation: comparison with the flow cytometric sperm chromatin structure and TUNEL assays, *Human Reproduction*, Volume 19, Issue 10, 1 October 2004, Pages 2277–2282.

50) Samplaski MK, Dimitromanolakis A, Lo KC, Grober ED, Mullen B, Garbens A, Jarvi KA, The relationship between sperm viability and DNA fragmentation rates, *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2015; 13: 42.

51) Budi Wiweko and Pramety Utami, Predictive value of sperm deoxyribonucleic acid (DNA) fragmentation index in male infertility, *Basic and Clinical Andrology* (2017) 27:1

52) Irvine DS1, Twigg JP, Gordon EL, Fulton N, Milne PA, Aitken RJ. DNA integrity in human spermatozoa: relationships with semen quality, *J Androl*. 2000 Jan-Feb;21(1):33-44.

53) Sarah Boushaba and Ghania Belaaloui, Sperm DNA Fragmentation and Standard Semen Parameters in Algerian Infertile Male Partners, *World J Mens Health* Vol. 33, No. 1, April 2015.

54) Eskenazi B, Wyrobek AJ, Slotter E, Kidd SA, Moore L, Young S, Moore D., The Association of age and semen quality in healthy men, *Hum Reprod*, 2003 Feb;18(2):447-54.

55) Mausumi Das, Naif Al-Hathal, Maria San-Gabriel, Simon Phillips, Isaac-Jacques Kadoch, Francois Bissonnette, Hananel Holzer, Armand Zini, High prevalence of isolated sperm DNA damage in infertile men with advanced paternal age, *J Assist Reprod Genet* (2013) 30:843–848.

56) Rakesh Sharma, Ashok Agarwal, Vikram K Rohra, Mourad Assidi, Muhammad Abu-Elmagd and Rola F Turki, Effects of increased paternal age on sperm quality,

reproductive outcome and associated epigenetic risks to offspring, Sharma et al. *Reproductive Biology and Endocrinology* (2015) 13:35

57) Hsu, D. K., Yang, R. Y., Pan, Z., Yu, L., Salomon, D. R., Fung-Leung, W. P. & Liu, F. T. (2000) Targeted disruption of the Galectin-3 gene results in attenuated peritoneal inflammatory responses. *American Journal of Pathology* 156, 1073–1083.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Pelin MENTEŞOĞLU

Doğum Yeri ve Tarihi : SAMSUN - 14.05.1992

Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi Bölümü : Pamukkale Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi Dalı, Klinik : Ufuk Üniversitesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Embriyoloji Programı

Bilimsel Faaliyetleri :

İş Deneyimi

Stajlar : Samsun Medicalpark Hastanesi Tüpbebek Kliniği lisans stajı yapılmıştır.

Ankara Centrum Clinic Tüpbebek merkezi Yüksek lisans stajı yapılmıştır.

Projeler :

Çalıştığı Kurumlar :

İletişim

E-Posta Adresi : pelin.mnts@hotmail.com

Tarih : 23.01.2018