



T.C.
BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
KLİNİK EMBRİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

ERKEKLERE UYGULANAN ANTİOKSİDAN TERAPİSİNİN
TEKRARLAYAN GEBELİK KAYIPLARINA ETKİSİ: BİR META ANALİZ
ÇALIŞMASI

ESİN SUDE GENÇ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Elif Sibel Aslan

İSTANBUL

2019

Anabilim Dalı: Histoloji ve Embriyoloji

Program Adı: Klinik Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

Öğrencinin Adı Soyadı: Esin Sude GENÇ

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Elif Sibel ASLAN

Biruni Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Esin Sude GENÇ tarafından hazırlanan "Erkeklerde Uygulanan Antioksidan Terapisinin Tekrarlayan Gebelik Kayıplarına Etkisi" adlı tez çalışması jüri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 01/11/2019

(Jüri Üyesinin Ünvanı, Adı, Soyadı ve Kurumu)

İmza

Dr. Öğr. Üyesi Elif Sibel ASLAN

Biruni Üniversitesi

Prof. Dr. İmer OKAR

Yeni Yüzyıl Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Esra GÜZEL TANOĞLU

Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Biruni Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca bu tez jüri tarafından onaylanmış ve Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Leman ŞENTURAN
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

I. BEYAN

Bu tezin bana ait olduğunu, tüm aşamalarında etik dışı davranışımın olmadığını, içinde yer alan bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, kullanmış olduğum bütün bilgilere kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin yürütülmesi ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Esin Süde GENÇ

İmza



II. TEŞEKKÜR

Öncelikle Biruni Üniversitesi'nde öğrenci olarak geçirdiğim yıllar içerisinde hiç karşılaşmamış olmama rağmen tamamen kaderin bir cilvesi olarak tez danışmanım atanması münasebetiyle tanışma şansını yakaladığım Dr. Öğr. Üyesi Elif Sibel Aslan'a teşekkür ediyorum. Kendisi beni zor zamanımda en doğru şekilde yönlendirerek bu tezin temellerinin atılmasına sebep olmuştur.

10 Mayıs 2019 tarihinde vefat eden anneanneme beni eğittiği, büyüttüğü ve bana en iyi bildiğim şeyleri öğrettiği için benim ilk öğretmenim olduğu için duyduğum şükranı belirtmek isterim. Bana her ne olursa olsun hedefimden şaşmamayı benimsettiği ve Atatürk ilke ve inkılaplarına bağlı bilinçli bir Türk genci olarak yetişmeme vesile olduğu için şimdi ve tüm zamanlarda ona olan saygım ve sevgim baki kalacaktır.

İkinci danışmanım olan, Prof. Dr. Bahar Uslu'ya fikirlerimi kayda değer bulduğu ve geleceğimin parlak olduğunu düşündüğü için teşekkür ederim. Kendisinin akademik kariyerindeki başarılarının yenilikçi ve tarafsız düşüncelerinin eseri olduğunu düşünmekteyim. Şahsımın inovatif fikirlerini geliştirebilecek ve destekleyecek evsafa bir hoca olması şahsım için büyük bir şanstır. Amerika'da görev yapıyor olmasına rağmen tez danışmanım olmayı kabul ettiği ve bir tez danışmanının tüm gerekliliklerini eksiksiz olarak yerine getirdiği için kendisine müteşekkirim. Dilerim ki kurduğumuz bu öğrenci-öğretmen bağı uzun yıllar gelişerek ve evrilerek bizleri bilim adına köklü değişimler yaratmaya yönlendirsın ve gelecek başarılarımızın temeli olsun.

Bu tezi bitirmem için her şartta ve koşulda desteğini esirgemeyen hatalarıma müdahale eden ve hayatımda yaptığım ilk tezin olabildiğince kusursuz olmasını sağlayan sayın Prof. Dr. G. Nural Bekiroğlu'na sonsuz kez teşekkür ederim. Meta analizi istatistik öğrencilerinin gözünde bile korkunç ve cesaret edilemez bir konu olmasına rağmen deneyimiyle yolumu aydınlattığı için bana derin farkındalıklar kazandırdığı için kendisine minnettarım.

Yolumu bu süreçte karşıma çıkan tüm aksiliklere rağmen bu güzel insanlarla keşiştirdiği için en çokta tanrıya sonsuz kez teşekkür ederim...

İÇİNDEKİLER	SAYFA NO
I. BEYAN	iii
II. TEŞEKKÜR	iv
IV. SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ	vii
V. TABLO LİSTESİ	ix
VI. ŞEKİL LİSTESİ	x
1. ÖZET	xi
2. ABSTRACT	xii
3. GİRİŞ VE AMAÇ	1
4. GENEL BİLGİLER	3
4.1. İnfertilite	3
4.1.1. Erkek İnfertilitesi.....	3
4.1.2. Sperm ve Özellikleri.....	4
4.1.3. Spermatogenez ve Spermiyogenez.....	6
4.2. Oksidatif Stres	10
4.2.1. Serbest Radikaller.....	11
4.2.1.1. Lipid Peroksidasyonu	12
4.2.1.2. Reaktif oksijen türleri (ROS)	13
4.3. Spermatozoon DNA'sındaki ROS Hasarının Rolü	14
4.4. Erkek İnfertilitesi ve ROS İlişkisi	14
4.5. Antioksidanlar	16
4.5.1. Endojen Antioksidanlar	18
4.5.1.1. Enzimatik Endojen Antioksidan Türleri.....	18
4.5.1.1.1. Süperoksit Dismutaz.....	18
4.5.1.1.2. Katalaz (CAT)	19
4.5.1.1.3. Glutasyon (GSH)	20
4.5.1.1.4. Glutasyon Peroksidaz (GP _x).....	20
4.5.1.2. Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar.....	21
4.5.1.2.1. Ürik Asit	21
4.5.1.2.2. Selenyum	22
4.5.1.2.3. Koenzim Q 10	22
4.5.1.2.4. L- Karnitin	23
4.5.1.2.5. Melatonin.....	24
4.5.1.2.6. Çinko	24
4.5.2. Eksojen Antioksidanlar	25
4.5.2.1. Vitamin Eksojen Antioksidanlar	25
4.5.2.1.1. Askorbik Asit (Vitamin C)	25
4.5.2.1.2. α-Tokoferol (Vitamin E)	25
4.5.2.1.3. β-Karoten (Vitamin A)	26
4.5.2.1.4. Folik Asit (Vitamin B9)	26
4.5.2.2. Oral Yolla Alınan Antioksidanlar	26
4.5.2.2.1. Likopen.....	27
4.6. Oksidan-Antioksidan Denge	27
4.7. Tekrarlayan Gebelik Kaybı	28
4.8. Tekrarlayan Gebelik Kayıplarına Neden Olan Faktörler	29
4.8.1. Maternal Faktörler	29
4.8.1.1. Anatomik Faktör.....	29
4.8.1.2. Endometriyum Kalınlığı Ve Embriyonun Kabulü	29

4.8.1.3. Trombofili ve Bağ Dokusu Hastalıkları	30
4.8.1.4. İmmunolojik Faktör.....	30
4.8.2. Embriyonik Faktörler	31
4.8.2.1. Genetik Faktör	31
4.8.2.2. Embriyonun Uterustaki Gelişimini Engelleyen Faktörler.....	31
4.8.3. Erkek Faktörü	32
5. GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
5.1. Gereç	33
5.2. Yöntem	33
6. META ANALİZİ.....	37
7. BULGULAR	39
8.TARTIŞMA VE SONUÇ.....	42
9. KAYNAKLAR	45
10. ÖZGEÇMİŞ.....	57



IV. SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ

ATP	: Adenozin Trifosfat
Ca ⁺²	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
Cl ⁻	: Klor
CoQ10	: Koenzim Q10
CoQH ₂	: Ubikinol
Cu	: Bakır
DFI	: DNA Fragmentasyon İndeksi
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EC SOD	: Ekstraselüler Süperoksit Dizmutaz
ETS	: Elektron Transfer Sistemi
Fe	: Demir
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
GCL	: Glutamin Sistein Ligaz
GCLC	: Glutamin Sistein Ligaz Katalitik
GCLM	: Glutamin Sistein Ligaz Düzenleyici
GM-CSF	: Granülosit Makrofaj Koloni Uyarıcı Faktör
GP _x	: Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon Redüktaz
GSH	: Glutasyon
GSS	: Glutamin Sistein Sentetaz
GSSG	: Glutasyon Disülfid
GST	: Selenyuma Bağlı Olmayan Glutasyon Peroksidaz
H ⁺	: Hidrojen
H ₂ O	: Su
H ₂ O ₂	: Hidrojen Peroksit
HLA	: İnsan Lökosit Antijeni
IGF	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörleri
IgG	: İmmunoglobulin G

IgM	: İmmunoglobülin M
IL α	: İnterlökin α
IVF	: İn-Vitro Fertilizasyon
kDa	: Kilodalton
LH	: Luteinleştirici Hormon
LIF	: Lösemi İnhibitör Faktör
NADPH	: Nikotinamid Dinükleotid Fosfat
O $_2^-$: Süperoksit
O $_2$: Oksijen
OH	: Hidroksil Radikali
OR	: Görelî Orantı (Odds Ratio)
pH	: Hidrojen Gücü
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RPL	: Tekrarlayan Gebelik Kayıpları
Se-GPX	: Selenyuma Bağlı Glutatyon Peroksidaz
SH	: Standart Hata
SOD	: Süperoksit Dizmutaz
TGF α	: Transforme Edici Büyüme Faktörü
YÜT	: Yardımcı Üreme Teknikleri
Zn	: Çinko

V. TABLO LİSTESİ

SAYFA NO

Tablo 1. Meta Analize Dahil Edilen Çalışmalar.....	36
Tablo 2. Veri Girişi Tablosu.....	39
Tablo 3. Meta Analiz Sonuçları.....	39



VI. ŞEKİL LİSTESİ

SAYFA NO

Şekil 1. Akış Diyagramı.....	34
Şekil 2. Forest Plot.....	40
Şekil 3. Funnel Plot.....	41



1. ÖZET

Tekrarlayan gebelik kayıpları, iyi kalitedeki embriyoların birkaç in-vitro fertilizasyon denemesine rağmen implante olamaması ile karakterizedir. Embriyo, DNA'sının yarısını spermatozoidden almaktadır. Bu sebeple spermatozoidin DNA'sı başarılı bir hamilelik için kilit bir rol üstlenmektedir. Subfertil ve infertil erkekler reproduktif kanallarında yüksek miktarda reaktif oksijen türlerine sahip olduklarından bu durum spermalarının DNA hasarı almasına ve bunun sonucu olarakta düşük fertilizasyon ve tekrarlayan gebelik kayıpları ile karşılaşılmasına neden olmaktadır. Yapılan bu tez çalışmasında, DNA fragmentasyonu gözlemlenmiş erkeklere uygulanan antioksidan terapisinin, tekrarlayan gebelik kayıpları üzerindeki etkisinin Meta analiz yöntemiyle tespiti amaçlanmaktadır. Analiz verileri Pubmed, Hindawi, Fertilty and Sterility, Elsevier, Research Gate, Theriogenology, Asian Journal of Andrology, Springle Link, Wiley, Oxford Academic, Scielo, Indian Journal of Urology, Journal Library Index kütüphanelerinden elde edilmiştir. DNA fragmentasyonu gözlemlenmiş olan erkeklere antioksidan terapisinin uygulandığı randomize kontrollü çalışmalar analize dahil edilmiştir. Bu Meta analizi kategorik verilerden oluşmaktadır. Bu sebeple analiz, verilerin frekansları üzerinden hesaplanarak gerçekleştirilmiştir. Etki büyüklüğü, Q istatistiği ve Cohen'in sınıflandırma metoduna göre sabit etkiler modeli kullanılarak hesaplanmıştır. Yayın yanlılığının kontrolü için ise Funnel plot grafiği kullanılmıştır. DNA fragmentasyonu gözlemlenen toplam 922 erkeğin dahil edildiği Meta analizinde antioksidan terapi uygulanan erkeklerin partnerlerinde tekrarlayan gebelik kaybı riskinin azaldığı görülmektedir. Sonuç olarak, erkeklere uygulanan antioksidan terapisinin tekrarlayan gebelik kaybı olgusu üzerinde güçlü bir etkisinin olduğu bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: *Sperm ,Embriyo kaybı , DNA Hasarı ,Oksidatif Stres, Antioksidan, Meta analiz*

2. ABSTRACT

Effects of The Man Antioxidant Therapy For Recurrent Pregnancy Loss : A Meta Analysis

Recurrent pregnancy loss is determined when the embryos is in a good quality which fails to implant for several times in in-vitro fertilization (IVF) treatments. The embryo takes half of its DNA from the spermatozoa. Therefore, spermatozoa of the DNA is the key factor for a successful pregnancy. Subfertile and infertile men are known to present higher amount of reactive oxygen species in the reproductive tract that causes sperm's DNA damage and results in lower fertility and recurrent pregnancy loss. In this project, the effects of the man antioxidant therapy were intended to evaluate with the DNA fragmentation for recurrent embryo loss by using Meta analysis method. Analysis datas were collected from Pubmed, Hindawi, Fertilty and Sterility, Elsevier, Research Gate, Theriogenology, Asian Journal of Andrology, Springle Link, Wiley, Oxford Academic, Scielo, Indian Journal of Urology, Journal Library Index databases. Randomized controlled trial desings has chosen for this analysis which has a male partners with increased DNA fragmentation were got antioxidant therapy. This Meta analysis created from the cathegorical datas. For this reason in this Meta analysis we have done our analysis from calculating data's frequency. The fixed effect model was chosen to calculate the effect size, by using Q statistics and Cohen's classification method. Funnel plot diagram were used for check up the publication bias. Totally 922 men, presented with an increased DNA fragmentation were incorporated to this Meta analysis. Mainly, whose male partners accepted antioxidant therapy reduced recurrent pregnancy loss risk. As a result of this study, antioxidant therapy for a man has a strong effect on the recurrent pregnancy loss cases.

Key words: Sperm, Embryo loss, DNA Damage, Oxidative Stress, Antioxidant, Meta analysis

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Literatürde yer alan bazı çalışmaların erkeklere uygulanan antioksidan terapisinin sperm parametreleri, gebelik, düşük ve canlı doğum oranları üzerinde etkisi olduğunu bildirdiği, öte yandan literatürde yer alan diğer çalışmaların ise erkeklere uygulanan antioksidan terapisinin bahsi geçen parametreler üzerinde herhangi bir etkisinin bulunmadığını belirttiği görülmüştür. Bu hususta konsensüs sağlanamadığından, çalışmamızda erkeklere uygulanan antioksidan terapisinin başka bir parametre olan tekrarlayan gebelik kayıpları üzerindeki etkisinin Meta analizi yöntemiyle tespiti amaçlanmaktadır.

DNA hasarı oluşturan en önemli etkilere biri de hücre içi ROS (Reaktif Oksijen Radikalleri) miktarıdır. Az miktardaki ROS spermatozoa'nın kapasitasyonu, akrozom reaksiyonu ve fertilizasyonu için gereklidir. Bu miktar ROS spermatozoa tarafından üretilebilmektedir. ROS'un fazla üretilmiş olması spermde DNA hasarına yol açmaktadır (Saleh and Agarwal, 2002).

Başka bir etken olan sperm genetiği embriyonun sağlıklı bir şekilde gelişebilmesi için hayati bir öneme sahiptir. Embriyo, genetik materyalinin %50'sini sperm aracılığıyla edinmektedir. Oksidatif stres spermin yapısında epigenetik değişiklikler meydana gelmesine neden olur. Genetik ve epigenetik değişiklikler kromatin paketlenmesindeki değişime, sentrozomun yokluğuna veya sentrozomun gerekli bağlantıları sağlayamamasına, telomerlerde kısalmaya, sperm RNA'sının yokluğuna ve imprinting hatalarına sebebiyet vermektedir. Oluşan tüm bu defektler embriyonun kaybına zemin hazırlamaktadır (Bisht *et al.*, 2017).

Spermatozoa, oksidatif stresin oluşturduğu hasarı onaracak stoplazmik enzim sistemine sahip değildir. Seminal plazmada bulunan enzimatik ve non-enzimatik antioksidanlar oksidanların spermatozoada neden olduğu hasarı onarır. Antioksidan tedavisi ile spermde oluşan DNA hasarını onarabilmek mümkün olabilir (Agarwal and Prabakaran, 2005).

Antioksidanlar ise içsel ve dışsal kaynaklı ROS antagonistleridir ve antioksidan seviyesinin düşmesi spermde DNA hasarına sebep olabilir. Antioksidan tedavisi kolay ulaşılabilir ve fertilitate tedavisinde kullanılan diğer moleküllere kıyasla

oldukça ucuzdur. Bu sebeple infertilite tedavisi için antioksidanların kullanımı avantajlı olmaktadır.

Tekrarlayan gebelik kayıpları yaşayan çiftlerde gebelik kaybı oranının tespiti aydınlatıcı nitelikte olmaktadır. Embriyo oluşumuna sperm nükleusuna ilaveten çok az miktarda sperm sitoplazması katılımı olmaktadır (Agarwal and Prabakaran, 2005). Bu durumun sperm gelişimi boyunca sperm sitoplazmasında gerçekleşen biyokimyasal tepkimelerin fertilizasyon ve fertilizasyon sonrası gebelik kaybı üzerindeki etkisinin araştırılmasının ihmaline neden olabileceği düşünülmektedir. Erkeklerle uygulanan antioksidan terapisinin RPL (Tekrarlayan Gebelik Kaybı) üzerindeki etkisinin tespiti, aynı zamanda sperm sitoplazmasındaki biyokimyasal tepkimelerin RPL üzerindeki efektinin algılanmasını mümkün kılmaktadır. Ayrıca antioksidan terapisi diğer YÜT (Yardımcı Üreme Teknikleri) 'ne kıyasla oldukça ekonomik olmaktadır. Bu sebeple erkeklerle uygulanan antioksidan terapisinin RPL üzerindeki etkisinin araştırılması, RPL geçmişi olan DFI (DNA Fragmentasyon İndeksi)'i yüksek olan hastaların tedavi protokollerine antioksidanların dahil edilmesi hususunda önem arz etmektedir. Bu nedenle meta-analiz çalışmamızda, erkeklerde antioksidan kullanımının tekrarlayan gebelik kayıplarını gerçekten önleyici bir etkisi olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. İnfertilite

Gebelik kadın veya erkekte herhangi bir reproduktif bozukluğa rastlanmadığı müddetçe 1 yıl içerisinde kontraseptif kullanmayan çiftlerin %75'inde elde edilebilmektedir. Gebelik elde edilemeyen %25 lik kısmın %10'unu ise idiopatik (sebebi açıklanamayan) infertilite vakaları oluşturmaktadır. İnfertilite sorunu iki taraflı bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır ve bu sorunda erkek faktörünün rolü %30 ila %40 oranında değişmektedir (Çapar, 2015).

İnfertilite sorunuyla mücadele eden çiftlerin %40 ila %50 sinde ise kadın faktörü etkin rol oynamaktadır. Çiftlerin %20-%25 inde ise hem erkeğin hem de kadının tedavisini gerektirecek patolojiler gözlemlenmektedir. Kadın faktörünün baskın olduğu vakalarda maalesef kadının yaşı etken bir rol oynamaktadır. Kadının yaşı ve fertilizasyon oranları arasında korelasyon bulunmaktadır. Kadının en fertil olduğu yaş aralığı 20-25 yaştır. 30-32 yaş aralığı gebelik elde etmeyi hedefleyen kadınların fertilite yetisinin rölatif biçimde azaldığı yaşlardır. 30'lu yaşların başından 40 yaşına kadar rölatif biçimde azalan fertilite yeteneği 40 yaşından sonra minimuma indirgenmiş olur (Yumru ve Öndeş, 2012).

4.1.1. Erkek İnfertilitesi

İnfertil erkek olgularında ortaya çıkan sorunların neredeyse tümü sperm parametrelerinin bozulması ile meydana gelmektedir. İnfertil çifte uygulanması gereken ilk tanı yöntemi detaylı bir sperm analizi olmalıdır. Sperm analizi yapıldığında spermde gelişen birçok anormal durum tespit edilebilmektedir. Sperm morfolojisi infertilitede başarı elde edilebilmesi için oldukça önemlidir. Morfoloji değerlendirmesi Kruger ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kriterlerine göre yapılmaktadır. Son yıllarda Kruger kriterlerinin infertil hastanın tanı ve tedavisinde daha olumlu sonuçlar alınmasına neden olduğu saptanmıştır (Ok ve ark., 2008).

Spermiyogramda tespit edilen anomaliler başlıca azoospermi, oligozoospermi, teratozoospermi ve astenozoospermiyi içermektedir. Ayrıca spermiyogram yapılırken, semen kalitesi, ejakulat içerisindeki sperm sayısı, spermin motilitesi ve morfolojisinde

gözlemlenerek bu parametrelerin anormallik teşkil edip etmediği tespit edilebilmektedir. Ejakulat içerisinde bulunan sperm sayısı az olarak tespit edilmiş ise oligospermi, sperm hiç tespit edilememiş ise azospermi, sperm hiç hareket etmiyor ise astenospermi, hareketliliğin az olmasına ek olarak spermin morfolojisi de bozuk ise astenoteratozoospermi olarak adlandırılır (İnal ve ark., 2017).

Globozoospermi infertil hastaların yaklaşık %1 kadarında gözlemlenen bir durumdur ve akrozomsuz, yuvarlak başlı spermatozoa görünümünün elde edilmesi ile karakterizedir. Globozoospermik spermatozoa akrozoma sahip olmadığından zona pelusidaya bağlanamamakta ve oositi oolemması ile birleşmemektedir ve böylece oositi fertilize etmesi imkan dışı olmaktadır. Globozoospermik erkeklerin temelinde otozomal resesif, otozomal dominant, monogenetik ve poligenetik geçiş olabileceği öne sürüldüğünden intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) tedavi yöntemiyle fertilizasyon başarıları elde edebilmesi mümkün olmaktadır (Satar ve Narin, 2014).

Erkek infertilitesinde morfolojik bozukluklarla birlikte gözlemlenen, etiyolojik sebepler de bulunabilmektedir. Bu sebepler; enfeksiyon gelişimi, endokrin hastalıklar, varikosel oluşumu, travma, spermatik kanal obstruksiyonu, sistemik hastalıklar ve testis tümörü gibi sebeplerdir. Literatürde bulunan çalışmalara göre erkek infertilitesinde genetik nedenler içinde en çok tespit edilen neden kromozom anomalileridir ve kromozom anomalilerine %2 ile %10 arasında bir sıklıkla rastlanır. Y mikrolelesyon sıklığı ise literatürdeki farklı çalışmalarda farklı oranlarda bildirilmiştir. Y mikrolelesyonu ile ilgili olan AZF lokusunun (AZFa, b, c) yeri ve büyüklüğüne göre normozoospermiden ağır azospermiye kadar farklı durumlara yol açar (Aldemir ve ark., 2013).

Spermin DNA yapısı, kromozomal düzensizlikleri, mitokondrial DNA (mtDNA) yapısında gelişen mutasyonları, tek gen mutasyonları, multifaktöriyel bozukluklar, ve endokrin bozukluklar ve çevresel etmenlerin de erkek infertilitesinde çok büyük rolü vardır. İdiopatik erkek infertilitesinin üreme hormonlarını, spermatogenezi ve sperm fonksiyonlarını etkileyen çevresel faktörlere bağlı toksik maddeler ile ilişkisi olabileceği düşünülmektedir (Girgin, 2013).

4.1.2. Sperm ve Özellikleri

Sperm, oositi dölleme yeteneğine sahip olan erkek üreme hücresine verilen

addır. İlk defa 1677 yılında Anthony van Leeuwenhoek tarafından tarif edilmiş olan sperm genellikle birçok kaynakta spermatozoa olarak adlandırılmaktadır. Spermatozoa baş boyun ve kuyruk kısımlarından oluşur ve minimum seviyede sitoplazma ve kompaktlaşmış nucleus içerdiğinden oositten 85.000 kat küçüktür (Brazdova, A. 2014).

Akrozom, spermatogenez sırasında, Golgi kompleksinden köken alarak gelişen bir yapı olup spermatozoanın baş bölgesinde oosite penetre olabilmesini sağlayan ve hidrolitik enzimler içeren bir yapıdır. Oositin plazma membranı ile spermatozoanın dış akrozomal membranının birleşmesiyle, ovumda bulunan fertilizin ve spermdeki antifertilizin reseptörlerinin etkileşimi sperm ve oositin türüne özgüdür. Sperm corona radiatayı geçtikten sonra sperm zona reseptörlerinin, oosit membran proteini olan zona pellusida ile teması sonucu Ca^{+2} kanalları açılırken, oosit kumulus hücrelerinden salınan progesteronun, sperm membranındaki GABA reseptörleriyle temas sırasında Cl^{-} kanalları açılmaktadır. Bu durumun sonucunda sperm membranından H^{+} ayrılmasıyla pH değeri artarken bununla birlikte fosfolipaz A2 artışı ile araşidonik asit, lyosofosfatidilkolin ve trombosit aktive edici faktör artışı da gerçekleşmektedir (Zülfikaroğlu ve ark. 2010).

Sperm motilitesini sağlayan hücre komponentleri olan mitokondriler sperm orta parçasında yerleşerek flagellum hareketine yardımcı olmaktadır. Spermatozoanın hareketi için gerekli enerjiyi sağlayan mitokondriyal spiral spermatogenezin son aşaması boyunca, flagellumun merkezindeki aksial filament, olgunlaşan sperm hücresinin distal sentriyolünden biçimlenir (Erdemir ve ark., 2011).

Gerek klinik gerek deneysel araştırmalarda gerekse yardımcı üreme tekniklerinde ve erkek faktöründen kaynaklanan infertilite vakalarında morfolojik parametrelerin, motilite yüzdesinin ve sperm konsantrasyonunun değerlendirilmesinde en önemli unsur spermatozoanın normalliğinin araştırılmasıdır. Normal sperm akrozomal reaksiyona olanak sağlayacak oval bir baş yapısı ve motilitesini sağlayan uzun kuyruğa sahip olmaktadır. İnfertil erkeğin konjenital geçmişi, yüksek ateşli hastalık geçirmiş olması, enfeksiyon, ilaç kullanımı veya varikosele sahip oluşu spermatozoada bir takım morfolojik defektlere sebebiyet vermektedir. İnfertil erkeğe uygulanan spermiyogramda spermatozoanın sahip olduğu baş, boyun ve kuyruk anomalileri tespit edilebilmektedir (Erdemir ve ark., 2011).

4.1.3. Spermatogenez ve Spermiyogenez

Seminifer túbüller, túbülün iç kısmında yer alan ve seminifer epitel olarak adlandırılan kısım ile túbülün çevresinde yer alan peritúbüler dokudan oluşan ve spermatozoanın tüm gelişim basamaklarında spermatozoaya destek sağlayan önemli bir yapıdır. Seminifer epitel hücreleri iki tip hücreden oluşmaktadır, spermatogenik hücreler ve Sertoli hücreleri olarak adlandırılan spermi destekleyici hücrelerden oluşmaktadır (Kretser *et al.*, 1998).

Sertoli hücreleri, tüm gelişim basamakları esnasında spermatogenik hücreleri destekleyerek korur ve sperm gelişimi esnasında beslenmesini sağlar. Seminifer túbülün içinde yer alan spermatogenik hücreler, túbülün çevresinden lümenine kadar olan tüm bölgeyi sık konumlanarak tamamıyla doldururlar. Seminifer túbülde konumlanan spermlerden, erken gelişme evresinde olan sperm hücreleri çevrede, ileri evredekiler daha içte bulunmaktadır. Spermatozoa, sperm ana hücrelerinden (spermatogonyum) çoğalma, kromozom sayısını yarıya indirme, farklılaşma gibi birbirini izleyen bir seri olaylar dizisi sonucu meydana gelmektedir. Bu olayların tümünün birbirini takip ederek sonuçlanmasına spermatogenez denir. Spermatogenez sonucu oluşan spermatozoonlar seminifer túbülün lümeninde birikirler ve ejakülatla atılmak için hazırlanırlar (Aydın, F. 2008).

Öncelikle spermatogonyumlar defalarca hücre bölünmesi geçirerek diploid spermatogonyumları oluşturur. Ergenlikle birlikte, hücrelerden bazıları primer spermatositlere farklılaşmaya başladıktan sonra ilk mayotik hücre bölünmesi bu hücrelerde meydana gelir. Mayoz I tamamlandıktan sonra, bir primer spermatosit, her biri haploid sayıda kromozoma sahip iki tane sekonder spermatosit oluşur. Mayoz II'de, sekonder spermatositlerin her biri ayrı olarak iki spermatid oluşturmak üzere bölünür. Böylece bir spermatosit, her biri haploid kromozom sayısına sahip dört tane spermatid oluşturur. Daha sonra spermatidler gelişerek olgun spermatozoaya dönüşür (Zülfikaroğlu ve ark., 2010).

Farklılaşma ve gelişim basamaklarının tümünü tamamlayan spermatozoalar, Sertoli hücreleri ile olan ilişkilerini tamamen kaybederler ve seminifer túbülün lümeninde birikirler. Bunlar, morfolojik açıdan gelişmiş, ancak fonksiyonel açıdan henüz olgunlaşmamış yani hareket yeteneğini kazanmamış olan hücrelerdir. Çünkü fonksiyonel yeteneklerini henüz kazanmamış olduklarından lümen içi peristaltik

hareketlerle taşınırlar. Fonksiyonel olarak tam olgunlaşmaları, erkek taşıyıcı kanallarda ve ejakülasyon gerçekleşikten sonra dişi bireyin uterusunda gerçekleşen kapasitasyon ile tamamlanır (Zülfikaroğlu ve ark., 2010).

Spermatogonyal kök hücrelerden olgun spermatozoaya kadar olan gelişimin tamamlanması yaklaşık 65 gün sürer. Spermatogenez ergenlikte başlar ve erkeğin tüm yaşam boyunca devam eder. Spermatogenez; testis, ön hipofiz gonadotropinleri ve hipotalamusun uygun etkileşimine bağlı olarak gelişir. Luteinleştirici hormon (LH), spermatogenez için gerekli olan testosteronun, Leydig hücrelerinde yapımını uyararak bu süreci başlatır. Folikül uyarıcı hormon (FSH) ise optimal Sertoli hücre fonksiyonunun sağlanması için gereklidir. Sertoli hücreleri intratübüler ortamın devamlı olarak korunmasında ve üreme hücreleri ile hormon etkileşimleri yoluyla spermatogenezin düzenlenmesinde önemli rol oynarlar (Özbey, İ. 2015).

Testislerin her birini, fibrilleri arasında düz kas hücreleri bulunan düzensiz sıkı bağ dokusundan yapılmış, Tunika Albuginea denilen bir kılıf korur. İçerdiği fibriller ve düz kas hücrelerinin kasılmalarıyla birlikte, testis üzerine yapılan basınçla, seminifer tübüllerinde oluşan sperm, taşıyıcı kanallara doğru yönelirler. Düz kas hücrelerinin kasılması sonucu, ekstratestiküler taşıyıcı kanallardan biri olan epididimis kanalı da kasılır ve bu yolla, henüz aktif hareket yeteneklerini kazanmamış olan sperm, pasif olarak epididimiste ilerlemeyi sağlarlar. Sperm gelişimlerini tamamladıktan sonra epididimise taşınırlar ve bu kanaldan geçerken hareketlilik, yumurtayı tanıma ve ona tutunabilme yeteneklerini kazanırlar. Bu, yaklaşık 4-10 günlük bir süreçtir. Bu değişiklikler sperm olgunlaşması olarak tanımlanır ve fertilizasyonun oluşması için oldukça elzemdir. Ancak, bu süreçteki olayların ayrıntıları henüz tüm gerçekliğiyle açıklığa kavuşmamıştır. Sperm epididimisten ayrıldığında, olgun olarak değerlendirilir ve yumurtayı dölleyebilme (fertilizasyon) yeteneğine sahiptir (Zülfikaroğlu ve ark., 2010).

Spermatozoalar epididimisin sonundaki terminal (uç) adı verilen bölgede saklanırlar. Ejakülasyon sırasında, kas kasılmalarının etkisiyle bir miktar spermatozoa, epididimisten vaz deferense taşınır. Daha sonra spermatozoalar ejakülasyon kanalına giderler. Sperm bu şekilde farklı tüplerden geçerken, seminal veziküllerden ve prostat bezinden salgılanan sıvılar da spermle karışır ve oluşan karışım semen

olarak adlandırılır. Her ejakülatın %90'ından fazlası prostat ve seminal veziküller tarafından üretilir (Zülfikaroğlu ve ark., 2010).

Sağlıklı bir erkekte, semende 1 ml en az 20×10^6 spermatozoa bulunması gerekmektedir. Puberteden kısa bir süre önce adenohipofizden salgılanan gonadotropinlerin seviyelerinin artışı takiben progenitör hücreler olan spermatogonyumların mitoz ile çoğalması ile spermatogenez başlar ve yaşam boyu devam eder. Spermatogenez üç farklı evreden oluşmaktadır; Spermatogonyal evre, spermatosit evresi ve spermatid evresi (Gedikli ve ark., 2013).

Spermatogonyumlar testis dokusunda bazal membranın hemen üstünde yer alan ve Sertoli hücreleri ile yakın ilişkili hücrelerdir. Spermatogonyum gelişiminin farklı basamaklarında çekirdeğin boyanma özelliklerine göre tanımlanır. Koyu renkli ve oval şekilli olanlar kök hücre gibi davranarak ve mitoz bölünme ile çoğalır. Bu hücre bölünmesi sonucunda ise iki tip hücre oluşur. Birincisi kök hücre karakterindedir ve Tip A spermatogonyum olur. İkincisi ise daha soluk boyanan oval çekirdekli, progenitör hücrelerde olduğu gibi daha hızlı bölünebilen hücrelerdir ve Tip B spermatogonyum olur. Tip A spermatogonyumlar birbiriyle sitoplazmik köprüler ile bağlantı kurarak çok sayıda klonal bölünme geçirip bölünmelerini tamamladıktan sonra Tip B spermatogonyumlar olarak farklılaşırlar. Tip B spermatogonyumlar son bir mitoz bölünme daha geçirirler ve iki hücre meydana getirirler, bu hücreler olgunlaşarak ökromatik çekirdekli hücreleri, primer spermatositleri oluştururlar (Kretser *et al.*, 1998).

Spermatosit fazında, primer spermatositler DNA'larını eşleyerek her bir kromozom iki kromatidden oluşturup mayoz bölünme geçirir. Bu safhada homolog kromozomlar bir araya gelerek sinaps oluştururlar ve sinaps oluşumunu takiben DNA rekombinasyonu ile iki hücre bölünmesiyle haploid hücreler oluşur. Primer spermatositler 46 kromozom (44+XY) ve 4N DNA içerir. Primer spermatositler hemen birinci mayoz bölünmenin profaz evresine girerler ve bu aşama yaklaşık olarak üç hafta devam ettiğinden, testisin ışık mikroskopik görünümünde çok sayıda primer spermatositler gözlenir. Primer spermatositler spermatogenik hücre serisinin en büyük hücreleridir bu yüzden rahatça gözlemlenebilirler (Kretser *et al.*, 1998).

Birinci mayoz bölünmenin sonunda, homolog kromozomlar ayrılırlar ve sekonder spermatositleri oluştururlar. Bu hücreler 23 kromozom (22+X veya 22+Y)

içeren çok daha küçük hücrelerdir. Testis kesitlerinde sekonder spermatositlerin gözlenmesi, interfazda çok kısa süre kalmaları ve hızlı bir şekilde ikinci mayoz bölünmeye girdiklerinden zordur. Sekonder spermatosit S fazı (DNA sentezi) olmadan hemen ikinci mayoz bölünmenin profaz evresine geçer. İkinci mayoz bölünmeden sonra her hücredeki DNA miktarı yarıya iner ve haploid hücreler meydana gelerek mayoz bölünme sürecinin sonunda haploid kromozom içeren spermatitler oluşur (Kretser *et al.*, 1998).

Spermiyogenezis spermatogenezisin son aşaması olup erkek DNA'sını oosite aktarmak için özelleşmiş hücreler olan spermatozoalara dönüşüm sürecidir. Bu süreçte hücre bölünmesi gerçekleştirilmeyen haploid spermatidler 7-8 µm çapında ve seminifer tübül lümenine yakındır. Spermiyogenezis, akrozom oluşumunu, çekirdek yoğunlaşmasını ve uzamasını, flagellum gelişimini ve sitoplazmanın çoğunun kaybolmasını içeren yoğun bir evredir (Kretser *et al.*, 1998). Olgun spermium sertoli hücre yüzeyinden ayrılır tübül lümenine geçer. Spermiyogenezis 4 evrede incelenir:

Golgi Evresi; spermatid sitoplazmasında, çekirdeğin yakınında bulunan belirgin bir golgi kompleksini, mitokondriyonları, bir çift sentriyölü, endoplazmik retikulumu ve serbest ribozomları bulunur. Golgi kompleksinden gelen küçük proakrozomal mitokondriyonlar, birleşerek çekirdeğin bir ucuna yakın bölgede tek katlı bir zarla sınırlı akrozomal başlığı oluşturur. Sentriyoller akrozomal başlıktan en uzak noktaya göç ederler ve bir tanesi bazal cisimcik olarak davranır. Yapısal ve işlevsel olarak silyuma benzer ve flagella aksonemini oluşturmaya başlar. (Gedikli ve ark., 2013)

Kep Evresi; Akrozom yoğunlaşan çekirdeğin yarısını kaplayacak şekilde yayılır. Akrozom, hiyaluronidaz, nöroaminidaz ve tripsin benzeri proteaz olan akrozin gibi hidrolitik enzimleri içerir. Bu enzimler spermatozoa oositle karşılaştığında salgılanır ve akrozomun dış zarı spermatozoonun hücre zarı ile kaynaşır. Enzimler oositleri çevreleyen corona radiyata hücrelerini birbirinden uzaklaştırarak, zona pellusidayı sindiririr. Bu olaya akrozomal reaksiyondur ve döllenmenin ilk basamaklarından biridir. (Gedikli ve ark., 2013)

Akrozom Evresi; Gelişen spermin akrozomu yoğunlaşmış çekirdek içeren başı, sertoli hücresinin apikal sitoplazmasında gömülü kalır, bu sırada gelişen aksonem seminifer tübülün lümenine uzanarak hücre çekirdeğini yüksek oranda yoğunlaştırır

ve uzar, nükleozomların histon proteinleri küçük bazik peptidler olan protaminler ile yer değiştirir. Flagellumun kuyruk olarak gelişimi devam ederken, proksimalde iyonların karşılıklı yerleşmesiyle oluşan orta parça bölgesi oluştuğunda bu bölgede flagellum hareketine gerekli olan ATP üretilir (Gedikli ve ark., 2013).

Olgunlaşma Evresi; Spermiyogenezisin olgunlaşma evresinde geç spermatitlerden geriye kalmış olan artık sitoplazma ve hücreler arası oluşan köprüler uzaklaştırılır. Olgun olmasına rağmen henüz işlevsel olmayan spermiyum tübül lümenine salınır (Kretser *et al.*, 1998).

Olgunlaşma evresinden sonra seminifer tübüllerden ayrılan spermler ve bir miktar testis sıvısı birleşip kaput kısmına gelir. Kaputta testis sıvıları ve proteinleri spermlerden uzaklaştırılır. Spermler korpus epididimise girerken işlevselleşerek motilite ve bununla beraber dölleme yeteneğini kazanmaya başlarlar. Spermler korpus içerisinden geçerken gelişmeye devam eder ve ejakülasyondan hemen önce depolandıkları kauda bölgesine ulaştıklarında optimum seviyeye ulaşırlar. İnsanlarda bu süreç 2-6 gün olarak gözlemlenmiştir. Düşük sıcaklık, androjene bağımlı bir çevre ve lokal ürünler gibi önemli faktörlerin, spermin uzun süreli depolanması ve ileri hareketlilik özelliği kazanabilmesi için epididim içerisinde mutlak surette sağlanması gereklidir (Kretser *et al.*, 1998).

4.2. Oksidatif Stres

Reaktif oksijen türleri, serbest radikal sınıfına ait reaktif yükseltgen maddelerdir. Karşılaştığı her biyokimyasal maddeyle reaksiyona giren bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip herhangi bir atom veya moleküldür (Chandra *et al.*, 2009).

Düşük konsantrasyonda hidrojen peroksit (H_2O_2) ile sperm kapasitasyonu, akrozom reaksiyonu ve oosit füzyonunun uyarıldığını ve bu olayların gerçekleşmesi için (H_2O_2) konsantrasyonunun önemi önceki çalışmalarda bildirmiştir. Nitrik oksit ve süperoksit gibi diğer reaktif oksijen türlerinin de sperm kapasitasyonuna ve akrozom reaksiyonuna katkısı olduğu belirtilmiştir. İnsan spermatozoasının normal işlevi için ROS üretilebileceği gösterilmiş olmasına rağmen bazı patolojik koşullarda ROS üretiminin spermatozoa plazma zarında ROS ile indüklenen yağ peroksidasyonuna bağlı reaksiyonlar göstermesi sonucu sperm fonksiyonu üzerinde zararlı etkileri

olabilmektedir (Sanocka *et al.*, 1996). Buna ek olarak, ROS'un sperm aksonemini, mitokondriyal fonksiyonunu, DNA, RNA ve proteinlerin sentezini etkileyebileceği bilinmektedir. Kontrolsüz ve aşırı ROS üretimi infertiliteye yol açan başlıca faktörlerden biridir. Semende aşırı ROS üretiminin nedenleri seminal lökositler ve anormal yapıları sperm olarak tanımlanarak hidrojen peroksitin semende ROS üretiminin ana kaynağı olduğu tespit edilmiştir (Saleh and Agarwal, 2002).

4.2.1. Serbest Radikaller

Mitokondride gerçekleşmekte olan O₂'li solunum sırasında elektron transfer sistemi (ETS)'de, katabolik ve anabolik reaksiyonlar esnasında, endoplazmik retikulumda oluşan sitokrom P450 sisteminde meydana gelen elektron kayıpları sonucu ATP üretilir ve bu üretim esnasında oksidanlar oluşmaktadır (Şimşek, F. 1999).

Serbest radikaller, pozitif yüklü, negatif yüklü veya nötr olabilmektedirler. Serbest radikallerin oluşumları biyolojik sistemlerde en sık olarak elektron transferi sırasında gerçekleşmekte, elektronunu kaybeden atom serbest radikal haline gelmektedir (Geva *et al.*, 1998). Oksijen radikalleri veya reaktif oksijen türleri başlıca; elektron transfer reaksiyonları ve enerji transfer reaksiyonları vasıtasıyla gerçekleşmektedir. Her iki tip reaksiyon da dokular için çok önemli olmakla birlikte sistemin oluşan reaktif ara ürünleri kolayca detoksifiye edebilme veya oluşan hasarı onarma yeteneği arasındaki dengesizliği belirtir. Dokuların normal redoks (yükseltgenme-indirgenme) safhasındaki bozukluklar, peroksitlerin ve bunu takiben serbest radikallerin üretilmesiyle toksik etkilere neden olmakla birlikte farklı tipteki hücre hasarları ve toksisitenin bir parçası olarak bilinir (Şimşek, F. 1999).

Serbest radikallere ek olarak, hücrelerde meydana oluşan reaktif oksijen türleri (ROS) de DNA, protein, karbonhidrat ve lipidler gibi spermin fertilizasyon kapasitesi açısından önemli moleküllere zarar verebilmektedir. Serbest radikaller vücut dışından organizmaya çevresel etmenlerden gelebileceği gibi, sperm üretim metabolizmasının doğal bir sonucu olarak da oluşabilmektedir. Serbest radikallerin endojen olarak üretilmesi farklı yollarla gerçekleşmektedir. Buna karşılık, spermatozoa serbest radikallerin olabilecek yıkıcı etkilerine karşı kendilerini korumak için birkaç savunma mekanizmasına sahiptir. Spermatozoada oksidatif stres, çevresel etmenler, enfeksiyon vb. birçok faktörle ilişkilidir (Agarwal *et al.*, 2016).

4.2.1.1. Lipid Peroksidasyonu

Lipit peroksidasyonun etkileri özellikle çoklu doymamış yağ asitlerinin bulunduğu hücre membranlarında ve lizozom, mitokondri gibi enerji üretimi ile ilgili organellerde görülür ve biyolojik membranlarda artmış olan peroksidasyon, doymamış, doymuş yağ asidi oranında bir düşmeye neden olur. Bu reaksiyonun bir sonucu olarak oksidatif stres etmenleri olan yağ bileşikleri asidi hidroperoksitleri ve aldehiti oluşur (Halliwell and Chirico, 1993).

Oluşan bu ürünler organizmada doku yıkımına sebep olur. Doku yıkımı serbest radikal oluşturacak şekilde enerji aktarımı oluşması ile başlar (Halliwell and Chirico, 1993).

Özellikle serbest radikallerin oluşumunda rol alan lipit peroksidasyonu spermatozoada fertilite özelliğini zayıflatmaktadır. Lipit peroksidasyonu özellikle mitokondride gözlemlenebildiğinden spermde motilite kaybına neden olmaktadır (Lanzafame *et al.*, 2009).

Lipitler ve çoklu doymamış yağ asitleri oksidasyona oldukça duyarlıdır ve reaksiyon sonucu yağ asidi radikali oluşur. Başlangıç fazından sonra uygun koşullar sağlanırsa serbest radikalın tetikleyici rolü sonucu farklı radikal ürünleri ortaya çıkar. Başlangıç aşamasının ürünü olan yağ asidi radikale oksijenin eklenmesi ile lipit (yağ asidi) peroksil radikali oluşur ve bu peroksidasyonu ilerleme fazına sürükler. İlerleme fazında lipit peroksi radikallerinden lipit hidroperoksitler ve diğer radikal ürünleri oluşurken lipit hidroperoksitler genellikle demir ve bakır gibi metallerin varlığında kararsız olup lipit alkoksi radikaller ve lipit peroksi radikallere dönüşür (Halliwell ve Chirico, 1993).

Seminal plazma oluşan bu serbest radikalleri kısmen tolere edebilmektedir. Seminal plazma yapısında bulunan SPx ve CAT, E vitamini gibi antioksidanlar eğer çok yoğun bir lipit peroksidasyonu bulunmuyor ise oluşacak hasarı kısmen tolere edebilmektedir (L. Keskes-Ammar, 2003). Bu durumda sperm ile oosit füzyonunun sağlanması için önemli bir adımdır. Spermin fertilizasyon kapasitesinin artması için lipit peroksidasyonu bertaraf edilmelidir (Agarwal ve Saleh, 2002).

Hidroksil radikal, lipit peroksil radikallerin ve alkoksil radikallerin çoğu çoklu doymamış yağ asitlerinin direkt oksidasyonuna neden olabilir. Lipit

hidroksiperoksitlerin yıkımı sonucunda lipid peroksidasyonunu ilerleten radikaller ve biyolojik olarak aktif olan aldehitler gibi radikal olmayan ürünler oluşur (Halliwell and Chirico, 1993).

Tüm bu reaksiyonlar sonucu oluşan hidroperoksitler, aldehitler ve epoksitler gibi lipid peroksidasyon ürünleri ve direkt olarak serbest radikaller protein, enzim ve nükleik asitlerle reaksiyona girerek onları inaktive eder (Halliwell ve Chirico, 1993).

4.2.1.2. Reaktif oksijen türleri (ROS)

Normal oksidatif metabolizmada sperm üretimi için homeostaziye sağlayabilecek derecede hidrojen peroksit dengede olduğunda ROS, fertilizasyonda sperm kapasitasyonu ve aynı zamanda akrozom reaksiyonu için gereklidir (Ko *et al.*, 2014).

Spermatogenezde ciddi hücre hasara sebep olmayacak seviyede ROS, kapasitasyon öncesinde spermi akrozom reaksiyonuna hazırlamaktadır. Hidrojen peroksit, akrozom reaksiyonunu uyarmaktadır ve tirozin fosforilasyonu ile spermatozoanın zona pellusidaya penetrasyonunu yani oosit füzyonunu sağlamaktadır. Germinal epitelden ayrılan spermatozoanın sitoplazması hücreden atıldığında sitoplazma artıkları glukoz-6 fosfat dehidrojenaz enzimi kaynağı haline gelir. Bu durum spermatozoanın hücre zarında NADPH oksidaz ROS üretimine sebep olmaktadır. Semende sperm hücreleri ve lökositler serbest radikal üretiminin temel kaynağı olmaktadır. Lökositler aktifleştiklerinde 1000 kat yüksek ROS üretimi yapabildiğinden, oksidatif stresin lokosit yoğunluğu ve lokasyonunun arttığı bölgelerde artış gösterdiği bildirilir. Fertilité açısından ise durumun en kritik olduğu nokta DNA hasarıdır (Hammadeh and Hamad, 2009).

Sperm fonksiyonunun ileri testlerle araştırılması ise günümüzde süregelmektedir. Erkek kaynaklı subfertilitede ROS ve DNA hasarının ölçülmesi ve klinikteki etkisi, YÜT'te başarı vurgusunu artıran bir konu olmaktadır. Açıklanamayan infertilitede semenin metabolizma profilinin incelenmesi de gelişmektedir. ROS etkisi ile iç ve dış kaynaklı olarak gelişen sperm DNA'sında parçalanma ve lipid peroksidasyonu pek çok sorunun temelidir. Antioksidan tedaviler ile bu etkinin giderilmesi infertilite tedavisinin yönetiminde kanıtli olarak yerini almaktadır. YÜT'ten hangisinin kullanılacağı yönünde karar için özellikle sperm DNA hasarı,

seminal oksidatif stres ve antioksidan düzeylerinin tayini oldukça önem kazanmaktadır (Agarwal and Prabakan, 2005).

4.3. Spermatozoon DNA'sındaki ROS Hasarının Rolü

DNA fragmantasyonu, erkek infertilitesinin göstergesi olarak bilinmektedir ve fertilizasyon, implantasyon ve embriyonik gelişimden sorumlu tutulmaktadır. Bazı çalışmalarda sperm kromatin yapısı açısından infertil erkekler karşılaştırıldığında, DNA fragmantasyonu indeksinin (DFI) daha yüksek derecede olduğu ölçülerek, bozulmuş DNA'nın infertilite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Agarwal *et al.*, 2006).

DNA hasarı uluslararası olarak uzunca bir süredir hücre ölümü belirtisi olarak görülmektedir. Bu durum spermatozoa içinde geçerli olmaktadır. DNA hasarının en önemli sebeplerinden birisi de ROS olmaktadır. Bu durum spermatozoanın fertilizasyonu başarmasını imkansız kılmaktadır (EM.Lewis *et al.*, 2013).

Birçok çalışma, oksidatif stresin sperm fonksiyonu ve DNA bütünlüğü üzerindeki zararlı etkisini bildirmenin yanı sıra sperm oldukça basit bir DNA onarım mekanizmasına sahip olduğunu ve oksidatif strese karşı yüzde yüz dayanıklı olmadığını bunu takiben spermatozoon DNA'sındaki ROS hasarının RPL,'ye konjenital malformasyonlara neden olduğu bilinmektedir. Spermatozoa'nın ROS hasarından korunması seminal plazmanın antioksidan kapasitesine bağlı olmaktadır. Seminal plazmanın antioksidan kapasitesine ek olarak, etkin kromatin yoğunlaşmasında spermatozoon DNA'sının oksidatif saldırıdan korunması için gereklidir. Anormal kromatin kondensasyonuna sahip spermatozoonların seminal plazmada ROS tarafından oksidatif saldırıya uğrama eğiliminin daha fazla olduğu gözlemlenmiştir (Mishra *et al.*, 2014).

4.4. Erkek İnfertilitesi ve ROS İlişkisi

Erkek kaynaklı fertilitate problemi yaratan nedenlerin tümü ROS nedeni ile ortaya çıkmakta ve ROS artışı ile şiddetini arttırmaktadır. İnfertil olguların büyük kısmını oluşturan idiyopatik infertilitede ise DNA hasarının ölçülebildiği yöntemlerin artışı ile ROS hasarının erkek infertilitesi üzerindeki etkisi anlaşılmaya başlanmıştır (Hosen *et al.*, 2015).

Erkek infertilitesinin nedenleri lokalizasyonuna göre incelendiğinde;

Pre-testiküler nedenler: Hipogonadotropik hipogonadizm, hiperprolaktinemi, Kallmann sendromu ve hipergonadotropik hipogonadizm olarak sayılabilir. Pre-testiküler hasarda spermatogenezi sağlayacak hormonal süreç bozulmakta ve bunu takiben serbest radikal hasarının miktarı artarak hasar ortamı oluşmaktadır (Smith *et al.*, 2005).

Testiküler nedenler: Varikosel, kriptorşidizm, testis kanseri, radyasyon etkisi, kemoterapi, genetik nedenlere bağlı azospermi ya da oligospermi, çevresel faktörler, testis hasarı, primer silier diskinezi, Sertoli cell only sendromu (primer yada sekonder), antisperm antikörleri ve DNA hasarı testiküler nedenleri oluşturan faktörlerdir. Testiküler hasara sebep olan faktörlerin çoğunda, doğrudan spermatozoada DNA hasarı gerçekleşmekte ve ROS artışı ile sonuçlanmaktadır. Klinikten elde edilen verilere göre, palpe edilebilir varikoselin bozulmuş sperm parametreleri, uygun cerrahi tedavi sonrası, sperm parametreleri ve gebelik oranlarında artışla sonuçlanmaktadır (Smith *et al.*, 2006). Varikosel tespit edilen semen örneğinde, seminal ROS seviyeleri yüksek ve varikoselin derecesi arttıkça DNA hasar oranında artış görülmektedir. Varikoselektomi sonrasında, seminal oksidatif stres azalmakta, seminal antioksidan kapasitesi artmakta ve spermatozoa kalitesinde buna bağlı olarak yükselmektedir (Bisht *et al.*, 2017).

Post-testiküler nedenler: Vaz deferens agenezisi, Young sendromu, ejakulator kanal tıkanıklığı/ seminal vezikül disfonksiyonu, vazektomi ve geri dönüşümü, sinir hasarı nedeniyle ejakulator fonksiyon bozukluğu, ilaçlar, prostat cerrahisi ve koitus nedeniyle oluşan faktörlerdir (Smith *et al.*, 2006). Post-testiküler nedenlerde, sperm geçiş zamanının uzaması ile ROS etkisi artmasına bağlı olarak sperm hücresinin hasarı söz konusudur. Vazektomi ile bozulan kan-testis bariyeri, immun cevabı oluşturmakta, vazektomi sonrasında seminal, orşiopeksi sonrasında da mevcut spermatozoada ROS ve DNA hasarı yüksek düzeyde görülmektedir. Testis torsiyonlarında serbest radikal seviyelerinin yükselmesinin sebebi olarak gösterilmektedir (Filho *et al.*, 2004).

Primer enzimatik antioksidanlardan superoksit dismutaz, superoksidi O₂ ve H₂O₂'ye dönüştürür. Glutasyonun sülfidril grubu taşıyan sistin parçası en önemli enzimatik olmayan antioksidandır ve serbest radikalleri doğrudan yakalayarak ROS oluşumunu engeller. E ve C vitaminleri de enzimatik olmayan en önemli serbest

radikal bloklayıcılarıdır (Agarwal *et al.*, 2004).

Normal semen örneğinde hücre faaliyeti için gerekli ve antioksidan mekanizmalarla kontrol altında olan ROS, hücre hasarını önleyerek faydalı çalışırken, ROS artışının yüksek, antioksidan kapasitenin düşük olduğu, dengenin bozulduğu durumda oksidatif stres ortaya çıkar. Normal semende nötrofillerden oluşan sınırlı miktar lökosit, ROS kaynağı olabilmektedir. İnfertil semen örneğinde ise lökospermi, peroksidaz pozitif lökositlerin (>1milyon/ml) bulunduğu durumda, sperm sayısı, konsantrasyonu ve morfoloji parametrelerinde anormallik gösterdiği görülmektedir (Mahat *et al.*, 2015).

Seminal lökositler kadar, spermatozoanın kendisi de ayrıca bir ROS kaynağıdır. Erişkin spermatozoada ROS zengin sitoplazma oluşmaktadır. Sperm maturasyonunda bozulmayı takiben sitoplazmada ROS artışı ve daha yüksek seviyede doğrudan DNA hasarına sebep olmaktadır. Ayrıca enfeksiyon oluşumunda makrofaj aktivasyonunu arttıracığından ve makrofajlar enfeksiyonla mücadele ederken aktif bir şekilde lipit peroksidasyonu sağlayacağından dolayı bu durum ROS'a sebebiyet vermektedir. İnfertil erkeğin oksidasyona zemin hazırlayan sigara kullanımı gibi çevre koşullarını sağlaması oksidatif hasarın en temel sebeplerinden biri olmaktadır (Agarwal *et al.*, 2005).

Tüm bu sperm parametrelerinin olumsuz etkilenmesindeki en büyük sebeplerden biri de spermde bulunan ROS miktarının artışıdır. Spermdeki ROS artışı erkek infertilitesiyle ilişkilendirilen en temel sorunlardan biridir. Seminal plazmanın antioksidan kapasitesi ile ROS üretimi arasındaki dengesizlik sperm yapısını bozmaktadır ve dolayısı ile erkek infertilitesine sebep olmaktadır (Safarinejad *et al.*, 2012).

4.5. Antioksidanlar

Antioksidanlar oksidatif stresle mücadele ederken, serbest radikal ve aynı zamanda ROS oluşumunun önüne geçen yapılar olarak işlev görürler (Bansal and Bilaspuri, 2010). Serbest oksijen radikalleri ve ROS bir veya daha fazla eşlenmemiş elektron içeren moleküller yapılar olarak tanımlanır. Oksidan ajanlara karşı organizmada bulunan veya diyetle alınan antioksidanların tedavide ve korunmada yer

aldığı ve infertile erkeklerin semenlerinde yüksek miktarda ROS tespit edildiği uzun yıllardır bilinmektedir (Kumalic and Pinter, 2014).

ROS, radyoliz, fotoliz, organik materyalin yıkımı, metal iyonlarının ve enzimlerin katalize ettiği redoks reaksiyonu gibi çeşitli reaksiyonlar sonucu birikir. Oksijen, organik materyalleri oksitleyen bir oksidan ajandır. Normal koşullarda moleküler oksijenin çoğu sitokrom sistemi gibi hücre içi enerji sistemleri içinde tetralan redüksiyona uğrar. Bununla beraber %1-2 oranında bu yoldan sızan oksijenin biyolojik yapılarda univalan redüksiyonu sonucu, serbest oksijen radikalleri adı altında birçok reaktif ürün açığa çıkar. Serbest oksijen radikallerinin oluşum basamaklarında öncelikle tek bir elektron transferi ile birlikte moleküler oksijen süperoksit serbest radikale dönüşür. Superoksite iki elektron eklenmesi ile hidrojen peroksit oluşmuş olur. Hidrojen peroksit, univalan redüksiyon ile bir protonun daha eklenmesi sonucu su ve hidroksil radikaline dönüşür. Hidroksil radikal de univalan redüksiyon ile birlikte suya dönüşür. Nitrik oksit ise fizyolojik bir serbest radikal olup gevşetici bir ajan olarak damar endotelinde, fagositlerde ve beyinde kullanılır (Şimşek.F, 1999).

Serbest radikaller yüksek reaktiviteye sahip çok kısa yarı ömürleri bulunan yapılar olup, çok hızlı bir şekilde doku komponentleri ile reaksiyona girebilirler. Bilinen en reaktif radikal hidroksil radikaldir. Teorik olarak serbest radikaller sonsuz sayıda reaksiyona neden olabilme kapasitesine sahiptir. Bu ajanlar aynı zamanda redükte edici veya oksitleyici de olabilirler. Organizmada serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu reaksiyonlar radikal bir diğer radikal ile veya radikal olmayan ajanlar ile karşılaşmasıyla gerçekleşir (Şimşek. F, 1999). Serbest radikaller birbirini ile karşılaştığı zaman kovalent bir molekül oluşturacak şekilde reaksiyona girerler. Ayrıca serbest radikaller organizmada radikal olmayan birçok hücre bileşeni ile de reaksiyona girebilir ve bu bileşenlerin yapı ve işlevlerini değiştirir. Böylece serbest radikaller organizmada moleküler düzeyde birçok biyolojik etkinin gözlemlenmesine neden olur (Kefer *et al.*, 2009). Bu etkiler; DNA yıkımı, proteinlerin yıkımı ve enzim aktivitelerinde değişiklik, hücre membran lipitleri ve hücre organellerinin yıkımı, organizmada normalde oksidatif olaylara karşı korunma mekanizmaları olmasına karşın endojen süperoksit radikal yapımında artış, melal komplekslerinin (hem proteinleri ve metalloproteinler gibi) ayrılması ve radikallere karşı savunmalarda eksiklik olması durumunda dokuda artmış oksidatif yıkım olarak görülebilir (Şimşek.F, 1999).

4.5.1. Endojen Antioksidanlar

Endojen antioksidanlar vücut içerisinde üretilen ROS inhibitörleridir. Vücuttaki fonksiyonlarına ilişkin iki ayrı alt başlık altında sınıflandırılmışlardır.

4.5.1.1. Enzimatik Endojen Antioksidan Türleri

Endojen antioksidanların bir kısmı, hücre içinde bulunan enzimlerden oluşmaktadır. Hücre içinde bulunan enzimlerden bazıları hücre içinde bazıları ise hücre dışında görev alabilmektedir.

4.5.1.1.1. Süperoksit Dismutaz

Süperoksit dismutaz, süperoksit radikalini ($O_2^{\cdot -}$) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) katalizleyen enzimatik bir antioksidan türüdür. (Özveren ve Güneş, 2015)

Hidrojen peroksit ortamdan, CAT veya GPx ile ortamdan uzaklaştırılarak bertaraf edilir. İnsan vücudunda SOD'ın üç formu bulunmaktadır. Bunlardan bakır (Cu) ve çinko (Zn) içeren süperoksit dismutaz (Cu/Zn SOD) sitozolde bulunurken, manganez (Mn) içeren süperoksit dismutaz (Mn SOD) mitokondride bulunur ve ekstrasellüler süperoksit dismutaz ise (EC SOD) hücre dışı sıvıların detoksifikasyonunu sağlar (Menella and Jones, 1980).

Süperoksit dismutaz izoenzimlerinden sitozolik dimerik olan Cu/Zn SOD, 32 kDa molekül ağırlığına sahiptir ve iki eşit alt üniteden oluşur. Her bir alt ünitesinde bir adet Cu ve bir adet Zn atomu içerir. Hücrelerde en bol bulunan SOD formu budur (Menella and Jones, 1980).

Bir diğer SOD izoenzimi olan Mn SOD, 80 kDa molekül ağırlığına sahiptir. Mitokondriyal bir enzim olup dört eşit alt üniteye sahiptir. Enzim aktif bölgesinde Mn^{+3} bulundurmaktadır. Farklılıklara rağmen Cu/Zn SOD ile aynı reaksiyonu katalizleyebilmektedir (Cristian O'Flaherty, 2014).

Ekstrasellüler süperoksit dismutaz (EC SOD), 135.000 kDa moleküler ağırlığa sahiptir. Organizmalarda öncelikli olarak homotetramer formda bulunmasına rağmen, tetramer, dimer veya multimer formlarda bulunabilir. Ekstrasellüler süperoksit dismutaz, her bir alt ünitesinde bir adet Cu ve bir adet Zn atomu içerir. Bakır ve çinko

enzimatik aktivite için mutlaka gereklidir. Ekstrasellüler süperoksit dismutazın öncelikli olarak ekstrasellüler matriks ve hücre yüzeylerinde bulunmaktadır. Bu bölgelerde plazmada bulunandan daha yüksek yoğunlukta bulunur. Ekstrasellüler süperoksit dismutaz, fibroblast hücreleri, glia hücreleri ve endotel hücreleri tarafından hem salgılanmakta hem de sentezlenmektedir. Akciğer dokusunda tip II epitel hücrelerinin ve solunum yolları ile kan damarlarını çevreleyen düz kas hücrelerinin yoğunluğuna bağlı olarak EC SOD sevipleri yüksek olmaktadır. Ekstrasellüler düzeyde enzimatik olarak O_2 'leri etkisizleştirebilen tek antioksidan olması sebebiyle, EC SOD oksidan hasarından korunmada çok önemli bir role sahiptir (Cristian O'Flaherty, 2014).

Semen plazmasında gerçekleşen süperoksit dismutaz düzeyinin düşmesi ile sperm motilitesinde azalma arasında ilişki olduğu belirtilmiştir. Sperm motilitesi için semende oldukça yoğun olarak bulunan süperoksit dismutaz düzeyi önemli olmaktadır (Özveren ve Güneş, 2015).

4.5.1.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz, antioksidan enzimlerden biri olmakla birlikte dört protein alt birimden meydana gelmiştir. Süperoksit dismutaz ile birlikte katalaz spermatozoanın ROS tan arındırılmasında önemlidir. Alt birimleri bulunur ve her alt biriminde, bir hem grubu ve bir adet NADPH molekülü içerir (Saleh and Agarwal, 2002).

Birçok katalazda NADPH molekülü yüzeye yakın ve sıkıca bağlı konumdadır. Katalaz, büyük ölçüde peroksidomlar gibi daha fazla katabolitik aktivasyon sağlayan hücre içi organellerde bulunmakla beraber daha az olarak mitokondri ve endoplazmik retikulumda bulunur. Hidrojen peroksitin, H_2O_2 ve O_2 'ye dönüşümünü katalize etmekte görevlidir. Süperoksit radikali, SOD ile birlikte H_2O_2 dönüştürülür. Hidrojen peroksit bir radikal olmadığı için biyolojik önemi olan moleküllerin çoğu ile reaksiyona girmemektedir. Fakat, ortamda bulunan Cu ve Fe iyonlarının katalizörlüğünde Fenton reaksiyonu ile en reaktif oksijen türü olan hidroksil radikali (OH^\cdot) oluşumunda bir ön madde olarak rol oynamaktadır (Jeulin *et al.*, 1989).

Yapılan çalışmada katalazın sperm yapısını desteklediğini ve sperm normal gelişimine katkıda bulunan bir faktör olabileceği belirtilmiştir (Özveren ve Güneş, 2015).

4.5.1.1.3. Glutasyon (GSH)

Glutasyon, tüm ökaryotik hücrelerde sentezlendiğinden ötürü hücre içerisinde yüksek yoğunlukta bulunan bir antioksidan enzimdir. Glutasyon bir antioksidan olarak hareket ederken hücrenin redoks durumunu korumada, ve detoksifikasyon sisteminin çalışmasında, eikozanoidlerin sentezlenmesinde, hücre sinyal mekanizmasının düzenlenmesinde, gen ekspresyonunda ve apoptozisde de antioksidan olarak önemli bir faaliyet gösterir (Stipanuk *et al.*, 2006).

Glutasyonun yaklaşık olarak %85-90'ı hücre içerisinde sitoplazmada bulunmaktadır. Fakat bazen GSH sitoplazmada sentezlendikten sonra mitokondri, çekirdek, peroksizomlar ve endoplazmik retikulumda da bulunabilen bir enzimdir (Stipanuk *et al.*, 2006).

Glutasyonun sentezlenmesi iki aşamada olur. İlk aşama olarak glutamin-sistein ligaz (GCL), glutamin ve sisteini bağlayarak γ -glutamilsisteini oluşturur. İkinci olarak glutasyon sentetaz (GSS), γ -glutamilsisteine glisini bağlayarak GSH molekülünü oluşturur. Glutamin-sistein ligaz, katalitik (GCLC) ve düzenleyici (GCLM) alt birimlerinin birleşiminden oluşmaktadır. Glutamin-sistein ligazın katalitik alt birimi, katalitik aktivite için sistein ve glutaminin bağlanmasını sağlar. Glutamin-sistein ligazın düzenleyici alt birimi ise GCLC'nin etkisini artırır. Glutasyon, GPx'in katalitik etkisiyle lipid peroksitleri ve H_2O_2 'yi detoksifiye eder ya da singlet oksijen ve OH^\cdot 'yi birlikte temizler (D. Steward Irvine, 1996). Ayrıca GSH plazma membranından aminoasit transportunu sağlar ve bununla beraber bazı önemli antioksidanları yeniden oluşturur. Vitamin E ve vitamin C metabolizması GSH tarafından düzenlenir. Örneğin GSH direkt olarak vitamin E'nin tokoferol radikalini, dolaylı olarak da askorbatı semidehidroaskorbata indirgeyebilmektedir (Stipanuk *et al.*, 2006).

Donnelly tarafından yapılan çalışmada glutasyon terapisinin normal sperm gelişime katkı sağladığı, motiliteyi arttırdığı ve aynı zamanda asthenozoospermik erkeklerde olumlu sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir (Donnelly *et al.*, 2000)

4.5.1.1.4. Glutasyon Peroksidaz (GPx)

Glutasyon peroksidaz, tüm ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında yer alan ve hücreleri H_2O_2 'den kaynaklanan oksidatif hasara karşı hücreleri koruyan bir enzim çeşididir. Böylece H_2O_2 'den OH^\cdot 'nin oluşmasını engelleyerek oksidatif hasarın önüne

geçer. Glutasyon peroksidaz, dört adet protein alt biriminden oluşur ve her bir alt birim bir adet selenyum atomu içermektedir. Ve hem hücre içinde hemde hücre dışında oluşan ROSlara karşı etkilidir (Noblanc *et al.*, 2011).

Glutasyon peroksidaz, elektron kaynağı olarak glutasyonu (GSH) kullanıp H_2O_2 'yi ve organik hidroperoksitleri (lipit hidroperoksitler, DNA hidroperoksitler) metabolize eden ve glutasyona bağlı bir enzimdir. Glutasyon peroksidaz enziminin iki ana tipi saptanmıştır. Bunlardan biri aktif bölgesinde selenyum içeren selenyuma bağımlı glutasyon peroksidaz (Se-GPx)'dir diğeri ise Selenyuma bağımlı olmayan glutasyon peroksidaz'dır. Selenyuma bağımlı glutasyon peroksidaz, H_2O_2 ve ayrıca organik hiperoksitlere karşıda etkilidir. Selenyuma bağımlı olmayan glutasyon peroksidaz (GST) ise daha çok organik hidroperoksitlerin metabolize edilmesinde faaliyet göstermektedir. Bu metabolize etme reaksiyonları sırasında GSH, hidrojen verici olarak davrandığından dolayı H_2O_2 ve hidroperoksitler indirgenirken GSH okside olur. Okside glutasyon, glutasyon disülfid olarak adlandırılır (GSSG). Glutasyon redüktaz (GR) enzimi varlığında okside glutasyon redükte glutasyon haline geri indirgenmiş olur. Bu indirgenme reaksiyonu sırasında GR elektron vericisi olarak NADPH'yi Glutasyon Redüktazı kullanır (Cristian O'Flaherty, 2014).

Bir çalışmada glutasyon peroksidaz uygulanan infertil hastalarda sperm parametrelerinde değişiklik saptandığından antioksidan terapisinin etkili olabileceği sonucuna varılmıştır (Özveren ve Güneş 2015).

4.5.1.2. Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar

Enzimatik olmayan endojen antioksidanlar, antioksidan enzimlere katalizör olma görevlerini üstlenmektedir. Anabolik ve katabolik reaksiyonlar esnasında oluşan ROS bertarafı için oldukça etkili olmaktadır.

4.5.1.2.1. Ürik Asit

Ürik asit aslında bir atık olarak da kabul edildiğinden, yüksek yoğunluklarda bulunduğu zaman kristalize olduğundan ve aynı zamanda pürin katabolizmasının son ürünü olduğundan dolayı, böbrek taşları ve provoke gut artritise sebep olabilese de önemli bir antioksidandır. Ürik asitin kanın toplam antioksidan kapasitesinin yaklaşık yarısını oluşturduğu düşünülmektedir. Ürik asit, hidroksil, singlet oksijen, süperoksit, peroksinitrit anyonu, peroksinitrik asiti etkisizleştirir ve geçiş metalleri temin eder.

Lipit peroksidasyonunu engelleyerek ROS'a karşı koruyucu olarak görev yapabilir. Ürik asit, güçlü bir serbest radikal bertaraf unsuru olmasının yanı sıra aynı zamanda Fe ve Cu gibi metal iyonlarının şelatorları olarak da hareket eder (Sautin and Johnson, 2008).

4.5.1.2.2. Selenyum

Selenyum, antioksidan olmasının yanı sıra bağışıklık düzenleyici fonksiyona sahip temel elementlerden biridir. Selenyum aminoasit sentezi için kullanıldığı için selenosistein olarak adlandırılır ve selenoprotein fonksiyonu için oldukça önemlidir. İnsan vücudunda en az 25 adet selenoprotein bulunur ve bunlar antioksidan enzimler (glutasyon peroksidaz), antioksidan proteinler (selenoprotein P ve W) ve diğer metabolik enzimlerin fonksiyonlarına göre sınıflandırılırlar. Selenyum, GPx aktivitesini artırarak ROS oluşumunu baskıladığından GPx ile efektif çalışmaktadır. Spermatozoada ROS u önleme konusunda önemli bir elementtir (Pourmasumi *et al.*, 2018).

Mirone, yaptığı bir çalışmada selenyumun seminal plazmadaki lipit peroksidasyonu üzerinde etkili olduğunu ve kan ve semen parametrelerine bakıldığında pozitif bir etkiye sahip olduğunu belirtmiştir (Mirone *et al.*, 2013).

4.5.1.2.3. Koenzim Q 10

Koenzim Q10 insan vücudunda doğal olarak sentezlenen ve seminal plazmanın antioksidan kapasitesinin artmasını sağlayan (CoQ10, ubikinon, vitamin Q10, ubidekakinon, ubidekarenon), isimleriyle anılan vitamin benzeri bir benzokinon bileşimidir. Aerobik solunum, aerobik metabolizma ya da hücre solunumu işlemlerinde yani mitokondriyal aktiviteler sonucu enerji üretiminde çok büyük öneme sahiptir (Safarinejad *et al.*, 2012).

Tüm hayvanlarda ve insanlarda Koenzim Q10 sentezlenebildiğinden dolayı vitamin olarak kabul edilmemiştir. Seminal plazma, tirozinden koenzim Q10 sentezletebilme yeteneğine sahiptir. Koenzim Q10, lipitlerdeki çözünürlüğü yüksek olan, hemen hemen bütün hücre membranlarında bulunmasının haricinde lipoproteinlerde de bulunarak lipit peroksidasyonunu engelleyici rol üstlenir. Aerobik

solunumda, mitokondri iç zarında bulunan, en az üç mitokondri enzimi (Kompleks I, II, III) için bir kofaktör olup oksidatif fosforilasyonda çok önemli bir rol oynar (Safarinejad *et al.*, 2012).

Koenzim Q10 seminal plazmada sentezlenebilen bir antioksidan olarak, serbest radikalleri süpürür, lipit ve protein peroksidasyonunu baskılar. İndirgenmiş formu olan ubikinol, bir lipofilik antioksidan olarak hareket eder ve elektron taşıma sisteminde elektronun ve protonun taşınmasına katılarak protonların uzaklaştırılmasına yardımcı olur. Ubikinol, oksidanları protonlarından arındırarak nötralize etmek için elektron verir ve güçlü bir antioksidan aktivitesi gösterir. Böylece koenzim Q10, H₂O₂ ve O₂⁻ gibi spermatozoaya toksik ROS'lara karşı etkin bir koruma sağlar. Koenzim Q10, vitamin E'ye benzer oranlarda lipit peroksidasyonunu önlemektedir. Koenzim Q10, α-tokoferol ile sinerjik olarak çalışır, aktif formlarını yeniden oluşturur ve vitamin C ile birlikte benzer bir mekanizmayla etkisini gösterir (Safarinejad, 2009).

4.5.1.2.4. L- Karnitin

Spermatozoa içerisinde alfa tokoferol, askorbik asit ve L-karnitin güçlü antioksidan özellikteki bileşiklerdendir ve özellikle lipit peroksidasyonunu belirgin şekilde inhibe etmektedir (Balercia *et al.*, 2005).Radikal oksijen türlerinin sentezini hızlandıran Fe⁺² 'le kompleksler oluşturarak lipit peroksidasyonunu azaltmaktadır L-karnitin antioksidan kapasiteyi artırarak spermatozoanın hasara uğramasını azaltabilmektedir (Zhou *et al.*, 2007).

Asil karnitin, spermatozoanın enerji metabolizmasında ve spermatozoa hareketinde önemli olan başlıca kaynaktır. Sperm motilitesinin bozuk olduğu tespit edilen hastalarda asil-L-karnitin/L- karnitin oranında azalma olduğu belirtilmiştir. Karnitinin yoğun olarak epididimiste bulunarak sperm metabolizmasında karnitinin asil karnitine dönüşümünün önemli bir yer aldığı ve asil karnitinin normal spermatozoada karnitinden çok daha yüksek oranlarda bulunduğu tespit edilmiştir. İnfertil erkeklerde L-karnitin tedavisi sonrası sperm konsantrasyonu ve hareketliliğinde sperm miktarında artış gözlenmiştir (Cavallini *et al.*, 2004).

Garolla, yapmış olduğu çalışmada astenozoospermik infertile erkeklerde karnitin terapisinin sperm motilitesi üzerinde olumlu etkileri bulunduğunu saptamıştır (Garolla *et al.*, 2005).

4.5.1.2.5. Melatonin

Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin), temel olarak pineal bezden endojen olarak üretilen ve dolaşıma salgılanan bir hormondur. Bu hormon gece karanlık sırasında triptofan aminoasidinde sentezlenir (Reiter *et al.*, 2009).

Melatonin, serbest radikallerin zararlı etkilerini azaltmaktadır. Tüm intraselüler bölümlerde makromolekülleri oksidatif hasardan korur. Melatonin ve melatoninin bileşenleri protein ve lipitlerin yanı sıra hem çekirdek DNA'sını hem de mitokondriyel DNA'yı korumaktadır. Melatonin, direkt olarak bir serbest radikal süpürücüsü ve dolaylı bir antioksidan olarak hücrenin her yerinde faaliyet göstermesi ile etkin bir koruma sağlar. Böylece melatonin hidroksil radikali, hidrojen peroksit, singlet oksijen, nitrik oksit, peroksinitrit anyonu ve peroksinitrik asit içeren reaktif türleri ve serbest radikallerin birçok farklı formunun bertarafını sağlar. Bunlara ilaveten, SOD, CAT, GPx ve GR içeren antioksidan enzimlerin bazılarını uyarır. Ayrıca deneysel olarak melatonin, γ -glu- tamilsistein sentetazın uyarılmasıyla hücre içi GSH seviyesinde artırır. Ek olarak melatonin, lipooksijenaz ve nitrik oksit sentaz gibi prooksidatif enzimlerin baskılanmasında rol oynar. Melatonin hücrel membranları sağlamlaştırarak oksidatif hasara karşı direnmede hücre membranına ek bir destek sağlamaktadır. Ek olarak melatonin elektron taşıma sisteminin etkinliğini artırarak serbest radikal üretimini ve elektron kayıplarını da azaltır (Hevia *et al.*, 2014).

4.5.1.2.6. Çinko

Çinkonun hücrelerin serbest radikal oluşumunu engelleyici ve oksidatif strese koruyucu rolü bulunmaktadır. Redoks stabil olan çinko, kritik selüler ve ekstraselüler bölgelerde demir ve bakır gibi redoks reaktif olan metallerin yerine geçerek bu bölgeleri redoks stabil hale getirebilme özelliğine sahiptir. Ayrıca Cu etkileşimini artırma özelliğiyle çinko antioksidan etkili bir enzim olan süperoksit dismutazın antioksidan etki göstermesine yardımcı olmakta ve dokuları serbest radikallerin zararlı etkilerinden koruyan metalloproteinlerin yapısında yer almaktadır (Hunt *et al.*, 2012). Omu, yapmış olduğu çalışmada çinkonun spermatozoal kaliteyi arttırdığını tespit etmiştir. Bu işlevi ise DFI azaltarak gerçekleştirmektedir (Omu *et al.*, 2008).

4.5.2. Eksojen Antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar vücut içerisinde üretilmeyen ROS antagonistleridir. Oksidan- antioksidan sistemine diyet ve gıda takviyeleri aracılığı ile dahil edilirler.

4.5.2.1. Vitamin Eksojen Antioksidanlar

Vitamin eksojen antioksidanlar, vücut içinde üretilemediklerinden besinlerle birlikte veya besin takviyeleri aracılığı ile alınır. Vitamin eksojen antioksidanların alınması endojen antioksidanların çalışma mekanizması için destekleyici olmaktadır.

4.5.2.1.1. Askorbik Asit (Vitamin C)

Vitamin C, aynı zamanda askorbik asit olarak adlandırılmıştır ve suda çözünebilen bir yapıya sahip muadillerine göre daha ucuz bir antioksidan türüdür (Akmal *et al.*, 2006). Vitamin C kolajen, L-karnitin ve nörotransmitterlerin biyolojik sentezi için oldukça gereklidir. Süperoksit, hidroperoksil, singlet oksijen, ozon, peroksinitrit, nitrojen dioksit, ve hipokloröz asit gibi reaktif oksijen türleri ve aynı zamanda reaktif nitrojen türlerini kolaylıkla temizleyip ve dolayısıyla oksidatif hasara karşı etkin bir şekilde koruma sağlayan efektif bir vitamindir. Vitamin C lipitler aracılığıyla çözünen radikallerin temizlenmesi yoluyla üretilen α -tokoferoksil radikallerinden α -tokoferolü yeniden oluşturabildiğinden Vitamin E için bir koantioksidan olarak davranır. Vitamin C, sayılan bu antioksidan görevlerinin yanı sıra, Fe^{+3} 'ü lipid peroksidasyonunu artıran Fe^{+2} 'ye dönüştürüp, oksidan olarak davranabilmektedir (Rolf *et al.*, 1999).

Ahmad yapmış olduğu çalışmada ısıya mağruziyet sonu gelişen oksidatif stresin sperm üzerinde yaratmış olduğu hasarın onarılmasında askorbik asitin etkili olduğunu vurgulamıştır (Ahmad *et al.*, 2017).

4.5.2.1.2. α -Tokoferol (Vitamin E)

Vitamin E, oldukça yüksek antioksidan kapasitesine sahip yağda çözünebilen ve spermatozoayı lipit peroksidasyonundan koruyarak sperm motilitesini artırıcı olarak kullanılabilen bir vitamindir (Eskenazi *et al.*, 2005). Vitamin E serbest radikalleri sabit hale getirerek peroksidasyon zincirini kırar ve bu olgu oksijenin indirgenmesi ile gerçekleştirilir. Vitamin E, antioksidan etkisini hücre zarındaki etkileşimler sonucunda oluşan serbest radikalleri yok ederek, serbest radikal birikimine bağlı olarak bozulan yapıların onarılması ve endojen savunma sisteminin

güçlendirilmesi gibi mekanizmaların tamamını kullanarak yerine getirdiğinden antioksidan kapasitesi çok geniş ve yüksektir. Vitamin E hücre zarında aktif olarak antioksidan etki göstermektedir ve hücre içerisindeki antioksidan etki ise genellikle GPx tarafından gerçekleştirilir. Glutasyon peroksidaz ve α - tokoferol birbirlerini tamamlayıcı bir antioksidan etki mekanizması gösterirler. α -Tokoferol peroksitlerin oluşumunu engelleyerek ROS oluşumunu bertaraf ederken, GPx oluşmuş olan ROS birikimini ortadan kaldırma görevini üstlenir (Rolf *et al.*, 1999).

4.5.2.1.3. β -Karoten (Vitamin A)

β -karoten molekülü, karotenoid olarak sınıflandırılmakta ve karotenoidlerin yağda çözünebilir bir formu olarak bilinmektedir. β -karoten aktif A vitaminine dönüşebildiği için provitamin olarak tanınmaktadır. β -karoten, güçlü bir antioksidan ve en iyi ROS temizleyicilerinden biridir (Pham-Huy *et al.*, 2008). Beta karoten tedavisi sperm üzerinde E vitaminden daha etkili olmaktadır. E vitamini yerine infertil erkeklere uygulanan besin takviyelerinin içeriğinde beta karotene yer verilmesi tedavinin daha efektif sonuçlar vermesini sağlayabilir (Eskenazi *et al.*, 2005).

4.5.2.1.4. Folik Asit (Vitamin B9)

Folik asit (pteroilglutamik asit, vitamin B9 ya da vitamin M) olarak adlandırılmış suda çözünebilir bir vitamin B molekülüdür. Folik asit, hücre içerisinde DNA sentezi ve ayrıca kırmızı kan hücrelerinin üretimi için gerekli olduğundan sperm ve embryo gelişimi için gerekli antioksidanlardan biridir. Kadın ve erkeklerde fertilitenin sağlanabilmesi için gebeliğin ilk günlerinden itibaren önemlidir. Ayrıca, gebelikte ve gebelik esnasında fetusun gelişim periyotlarında ve fetusun embriyoner evresinde hücre bölünmesi sırasında rol alır (Comharie and Mahmoud, 2003).

Folik asit erkeklerde spermatozoon üretimi için de gereklidir. Fakat Silva'nın yapmış olduğu bu çalışmada yalnızca günlük 5 mg folik asit alımının herhangi bir sperm parametresinde kayda değer bir gelişim göstermediğini belirtmiştir (Moreira Da Silva *et al.*, 2012).

4.5.2.2. Oral Yolla Alınan Antioksidanlar

Erkek infertilitesinin tedavisinde çeşitli antioksidanları karma olarak içeren ilaçlar (Dattilo *et al.*, 2014) veya antioksidan etken maddesinin bir antiöstrojenik ile kombinasyonunu (Ghanem *et al.*, 2010) içeren seçenekler mevcuttur. Birkaç

antioksidan etken maddeyi içeren karma antioksidan veya antioksidana ilaveten antiöstrojenik uygulanması kapsül şeklinde oral yolla günde bir veya birden çok kez alım şeklinde uygulanmaktadır. Antioksidanların ilaç formunda verildiği birçok çalışma literatürde mevcuttur. Bu tedaviler Menevit gibi antioksidan içeren ilaçları kapsamaktadır. İnfertil erkeğe oral yolla verildiklerinde DFI oranını düşürerek ROS oluşumunu engellemeye katkı sağlarlar (Tremellen *et al.*, 2007).

4.5.2.2.1. Likopen

Likopen, kimyada alifatik hidrokarbon olarak adlandırılmaktadır ve doğal olarak bulunan yaklaşık 600 karotenoitten biridir. Likopenin de dahil olduğu karotenoid çeşitlerinin tümü sıcaklığa karşı dayanıklı olmakla beraber sıcaklığın likopenin etki mekanizması üzerine olumlu etkileri olduğu bilinmektedir. Likopen sıcaklığın olumlu etkisi ile, normalde trans formda bulunuyorken, sıcaklıkta kimyasal reaksiyona girerek vücut tarafından daha aktif olarak kullanılabilen cis formuna dönüşmektedir. Likopen, tüm karotenoidler arasında bağırsaklarda nadir emilebilenlerden biridir ve plazmada en çok bulunan karotenoit türüdür (Di Mascio *et al.*, 1989).

İnsanlar vücutlarında karotenoit sentezi gerçekleştiremediklerinden onları besin olarak dışarıdan almalıdır. Likopenin antioksidan özelliği tekli oksijeni yakalayıcı, reaktifleri süpürücü görev yapmasından ve dolayısıyla hücreleri oksidatif strese karşı korumasından ileri gelmektedir. Bir likopen molekülü indirgenmeden önce binlerce tekli oksijen molekülü bağlayabilir (Gupta ve Kumar, 2003).

Yapılan çalışmada karotenoidlerden biri olan likopenin sperm üzerinde E vitamininden 10 kat beta karotenden ise iki kat daha etkili olduğu belirtilmiştir. Likopen spermin ROS hasarından korunması için efektif biçimde kullanılabilir (Durairajanayagam *et al.*, 2014).

4.6. Oksidan-Antioksidan Denge

Anabolizma ve katabolizma olayları gerçekleşirken ve ayrıca çevresel etmenlerin de etkisiyle oksidanlar oluşmaktadır (Dündar ve Aslan, 2000). Oksidanlar DNA hasarı, proteinlerin yıkımı ve enzim aktivitelerinde değişiklik, Hücre niembran lipitleri ve hücre organellerinin yıkımına neden olmaktadır bu durumdaki dengesizlik özellikle spermatozoayı ciddi bir biçimde etkilemekte ve ciddi derecede olan DNA

hasarı spermatozoayı apoptoza götürebilmektedir (Agarwal ve Said, 2005).

İntraselüler dengeyi sağlamak adına oksidanlar ile antioksidanlar arasındaki etkileşimler oksidan-antioksidan dengesinin oluşmasındaki en büyük etmen olarak karşımıza çıkmaktadır. Dokuda bulunan ROS konsantrasyonuna göre serbest radikallerin spermatozoa üzerindeki etkisi değişiklik göstermektedir. Bir hücrenin patolojik olarak hasar alması lipit peroksidasyonu, apoptoz ve DNA hasarı olarak karşımıza çıkmaktadır. Oksidan-antioksidan dengesizliği ölümcül olabilmektedir (Safarnavadeh *et al.*, 2011).

Organizmada normalde oksidatif olaylara karşı korunma mekanizmaları olmasına rağmen endojen süperoksit radikal yapımında artış, melal komplekslerinin (hem proteinleri ve metalloproteinler gibi) ayrılması ve radikallere karşı savunmalarda eksiklik olması durumunda dokuda artmış oksidatif yıkım görülür. Hücrelerde biriken serbest oksijen radikallerinin sebep olduğu oksidan yıkıma karşı antioksidanlar olarak isimlendirilen birçok koruyucu mekanizma bulunmaktadır. Oluşan serbest radikalleri detoksifiye edebilecek miktarda antioksidanın ortamda bulunuyor olması oksidan-antioksidan dengeyi yani homeostazisi sağlamaktadır (Dündar ve Aslan, 2000).

4.7. Tekrarlayan Gebelik Kaybı

Abortus, gebeliğin en sık gözlemlenen komplikasyonlarından biridir. Tekrarlayan gebelik kayıpları (RPL), birbiri ardına gerçekleşen en az iki ya da daha fazla gebeliğin birinci ve erken ikinci trimesterında abortus ile sonuçlanması olarak tanımlanmaktadır (Gil-Villa *et al.*, 2009).

Repröduktif çağdaki kadınlar arasındaki insidansı %1 ila %3 olarak değişmektedir. Erken gebelik kayıpları 12. gebelik haftasından önce gerçekleşen abortusları ifade etmektedir. 12.-20. gebelik haftaları arasında gerçekleşen abortuslar ise geç abortus olarak değerlendirilmektedir. Tekrarlayan gebelik kayıpları ebeveyn olmayı planlayan çiftlerin %5'ini, fertil kadınların ise %1'ini etkileyen bir durumdur (Deniz *et al.*, 2016).

RPL gebelik elde etmek isteyen bireyler kadar doktorlarında endişelendiren bir sorundur. Hala RPL etiyojisi tam olarak anlaşılammış olmakla beraber tekrarlayan gebelik kayıplarının etiyojisi ile ilgili olarak bilinenler parental ve fetal kromozom anomalileri, yapısal uterin anomaliler, antifosfolipid sendrom, bazı trombofililer,

otoimmün hastalıklar bazı endokrinopatilerdir (Deniz, 2016). RPL sorununun temel kaynağının elektron transfer zinciri ve mitokondriden kaynaklandığı düşünülmektedir. Mitokondri hasarının RPL'a sebep olduğu düşünüldüğünde etiyojisinin araştırılmasında direkt olarak ROS hasarı ile ilişkilendirme söz konusu olmaktadır (Gupta *et al.*, 2007).

Benzer bir şekilde RPL geçmişi bulunan erkeklerde de spermatozoondaki ROS miktarı RPL olgusu ile ilişkilendirilmiştir. Sperm parametreleri, sperm plazma membranında meydana gelen lipit peroksidasyonu, seminal plazmanın antioksidan kapasitesi ve sperm kromatin bütünlüğü dikkate alınmaktadır (Gil- Villa *et al.*, 2010).

4.8. Tekrarlayan Gebelik Kayıplarına Neden Olan Faktörler

RPL olgusunda birçok faktör yer almaktadır. Literatüre bakıldığında RPL olgusunu inceleyen birçok alt başlık bulunmakla beraber üzerinde en az çalışılan alt başlığın erkek faktörü olduğu gözlemlenmiştir.

4.8.1. Maternal Faktörler

Anatomik faktörler, endometriyal kalınlık, trombofili ve bağ dokusu hastalıkları ve immünolojik faktörlerin tümü maternal faktörleri oluşturmaktadır. Maternal faktörler embriyo sağlıklı olmuş olsa dahi RPL sebebi olmaktadır (Simon and Laufer, 2012).

4.8.1.1. Anatomik Faktör

Uterus anomalileri histerospingogram, histeroskopi veya sono histeroskopi ile tespit edilebilmektedir. Bu tetkikler sonucu uterustaki konjenital anomaliler (unicornat, bicornat uterus vb.) gözlemlenebilmektedir. Uterus kavitesinde bulunan 1cm'den büyük fibroidler ve polipler, 1 cm'den büyük septa bulunması veya 1cm'den derin Asherman sendromu bulunması abortusa yol açan anatomik faktörlerin en önemlilerindedir (Jaslow *et al.*, 2010).

4.8.1.2. Endometriyum Kalınlığı Ve Embriyonun Kabulü

Endometrial hücrelerin embriyo için sağlamış olduğu metabolitler embriyo metabolizmasına embriyonun uterustaki gelişimi esnasında sürekli olarak genetik aktivasyonu sağlarlar. Böylece embriyonun uterustaki gelişimi boyunca metabolik gelişim bozukluğu, gelişim geriliği ve gelişimin duraksayarak abortusa neden olması

engellenmiş olur. Endometrial hücrelerin sağladığı embriyonik parakrin moleküller (β_3 integrin) embriyo gelişimi için şart olan endometriyal reseptiviteyi arttırmaktadır (Achache and Revel, 2006).

Endometrial hücreler büyüme faktörleri salgılamalarının yanısıra, salgılanan faktörlerin ve molekülleri algılayan reseptörlerinin embriyonik ekspresyonunu artırarak otokrin ve parakrin sinyalizasyonlar ile embriyonun gelişimini destekleyici yönde etki etmektedir (Simon ve Laufer, 2012).

Endometriyum hücreleri tarafından embriyonun büyümesini sağlayan büyüme faktörleri üretilmektedir. Bu faktörler LIF, IGF, GM-CSF, TGF α , IL α ve sitokinler den oluşur ve embriyo gelişimini desteklerler. Endometrium hücreleri kültür ortamında sitokin ve diğer büyüme faktörlerini salgılayarak ve bu faktörlerin embriyo tarafından kullanılmasını regüle ederek, kültür ortamının detoksifikasyonunu sağlar. Oluşan bu detoksifikasyon mekanizması hücreler arası etkileşimlerini artırarak embriyo gelişiminde önemli bir rol oynamaktadır (Hambartsoumian, E. 2011).

4.8.1.3. Trombofili ve Bağ Dokusu Hastalıkları

Serum seviyesinde fonksiyonel C protein aktivasyonu %74 ten az ise ve fonksiyonel protein S aktivitesi %60'dan az ise ayrıca antitrombin aktivitesinin %70 den az olması anormal kabul edilmektedir. Serum seviyesindeki bu anomali polimorfizm gelişimine neden olmaktadır (Jaslow *et al.*, 2010).

Şamlı, yapmış olduğu çalışmada koagülasyon sisteminde aksaklığa neden olan genetik kusurların tekrarlayan gebelik kayıplarına sebep olduğunu belirtmiştir. Koagülasyon bozuklukları, embriyonun vaskülarizasyonunu engellediğinden RPL vakalarına zemin hazırlayan faktörler arasında karşımıza çıkmaktadır (Şamlı, 2009).

4.8.1.4. İmmunolojik Faktör

Servikal kültürde Chlamydia rachomatis, Mycoplasma hominis, veya Ureaplasma urealyticum gibi mikrobiyal enfeksiyonların bulunması tekrarlayan gebelik kayıplarına neden olabilen faktörlerden biridir (Jaslow *et al.*, 2010).

Ayrıca antikardiyolipin antikor seviyeleri (IgG ve IgM) ve Lupus antikoagulan faktörleri de RPL sebepleri arasında bulunmaktadır. Enfeksiyona ek olarak embriyo genetik olarak annenin genomunu birebir olarak taşımadığından dolayı bağışıklık

sistemi embriyoyu yabancı bir yapı olarak algılayıp immün yanıt verebilmektedir. Bu tip durumlarda paternal lökosit terapisinin uygulanması immün yanıtı bastırmada faydalı olabilmektedir (Ford and Schust, 2009).

4.8.2. Embriyonik Faktörler

Embriyonun sahip olduğu birtakım özellikler RPL gözlenmesine sebebiyet verebilmektedir. Bu özellikler embriyonun uterusu barınmasını engelleyen faktörlerdir.

4.8.2.1. Genetik Faktör

Sperm morfolojisinde gözlemlenen bozukluklar bize spontan düşükleri işaret etmektedir. Spermdede gözlemlenen morfolojik anomaliler spermin genetik olarak hasarlı olduğunu işaret etmektedir. Embriyonun yapısında meydana gelen mutasyonlarda düşük oluşumuna neden olmaktadır (Gopalkrishnan *et al.*, 2000).

11 ve 13'üncü kromozomların uzun kolları incelendiğinde oluşan ailesel dengeli translokasyon üzerine yaptığı çalışmada gözlemlenen RPL olgusunun gamet oluşumunda translokasyonun dengesiz dağılımı sonucunda gerçekleşmiş olabileceği düşünülmektedir (Balcı ve ark., 1996).

4.8.2.2. Embriyonun Uterustaki Gelişimini Engelleyen Faktörler

Fonksiyonlarını yerine getiren seçici ve implantasyona uyumlu bir endometriyum embriyo gelişimi için hayatidir. Endometriyum kendisini menstrual döngü boyunca embriyo için hazırlar. İmplantasyon penceresi açıldığında endometriyumun embriyonun içine gömülebilmesi için kalınlaşması ve kan damarlarıyla embriyoyu besleyebilmesi gereklidir. Endometriyumun optimal kalınlığı 5mm olmalıdır. Uterus kavitesi uterusun şekli embriyoyu kabul edebilecek ve besleyecek nitelikte olmalıdır. Tüm bunlar gerçekleşirken gerekli estradiol ve progesteron seviyesi sağlandığında embriyo uterusu implantasyonunu sağlayabilecektir. Ayrıca uterusu yeterli kan akışının sağlanabilmesi embriyonun sağlıklı bir şekilde embriyoner dönemini atlatması için elzemdir. Bu koşullar uterusu sağlandığında RPL sıkça görülür (Simon and Laufer, 2012).

Uysal, RPL sorunundan muzdarip kadınlarla yapmış olduğu çalışmada 57 hastanın 8'inde progesteron seviyesinin düşük olduğunu, 1 hastada androjen

yüksekliği bulunduğunu, 2 hastada prolaktin yüksekliği gözlemlendiğini, 2 hastada insulin yüksekliğinin geliştiğini, 4 hastada ise oral glikoz testinden 2 seviyenin yüksek çıktığını tespit etmiştir. Bu hormonal faktörler embriyonun uterusu implantasyonuna engel teşkil ederek RPL a zemin hazırlıyor olabilir (Uysal *et al.*,1996).

4.8.3. Erkek Faktörü

RPL söz konusu olduğunda araştırmacılar genellikle kadın faktörü üzerine yoğunlaşmaktadır. Bu durum RPL üzerindeki erkek faktörünün etkisinin anlaşılamamasına yol açmıştır. Karyotip analizi dışında RPL geçmişi bulunan erkek hastalara önerilen herhangi bir test bulunmamaktadır. Kromozom anomalilerinin RPL sebebi olduğu herkes tarafından bilinmesine rağmen genellikle göz ardı edilen bir diğer gerçek sperm DNA fragmentasyonunun da RPL için önemli bir etken olduğudur (İbrahim ve Johnstone, 2018).

Spermin kalitesinin düşmesindeki en büyük etken DNA fragmentasyonunun gerçekteşmesidir. Sperm morfolojisindeki bozulma DNA yapısında oldukça yoğun bir fragmantasyon olduğunu gözlememizi sağlamaktadır. DNA fragmantasyonu gözlemlenen spermlerden elde edilen embriyolar oldukça normal görünüyor olsalarda endometriyuma transfer edildikten 3 gün sonrasında endometriyuma tutunamadığını gözlemlenir. Bunun en temel sebebi paternal genlerin fertilizasyondan 3 gün sonra aktive olmasıdır (Simon ve Laufer, 2012).

RIF gözlemlenen erkeklerde DNA fregmantasyonuna ilaveten kromatin kondensasyonu görülür ve bu hastalara intra-sitoplazmik morfolojik olarak seçilmiş sperm enjeksiyonu uygulanır ise başarılı sonuçlar elde edilmektedir (Zhao *et al.*, 2014).

Ayrıca çeşitli antioksidan tedavilerinin RPL üzerindeki etkinliği yapılan çalışmalarda gözlemlenmektedir. Çalışmalarda erkeklere antioksidan terapisi uygulanarak yapılan bu terapinin sonucu olarak gözlemlenen sperm genetiğindeki gelişmenin RPL hastalarını sağlıklı gebeliğe ulaştırdığı tespit edilmiştir (Amar *et al.*, 2015).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Gereç

Çalışmaya, DNA fragmentasyonu gözlemlenen erkeklere uygulanan antioksidan terapisinin tekrarlayan gebelik kayıplarına olan etkisini incelemek amacı ile, antioksidan terapisi alan grup ve plasebo veya antioksidan terapisi almayan grupları içeren, 1990-2018 yılları arasında literatüre kazandırılmış olan çalışmalar dahil edilmiştir. Çalışmanın bir kolunda antioksidan terapisi alan erkeklerin partnerlerinde gözlemlenen gebelik kaybına oranı, diğer kolunda ise plasebo ile antioksidan terapisi almayan erkeklerin partnerlerinde gözlemlenen gebelik kaybına oranı incelenmiştir. Literatür taraması, Türkçe ve İngilizce kaynaklar kullanılarak yapılmıştır. Meta analizi için ise Comperensive Meta Analysis V3 (deneme versiyonu) paket programı kullanılmıştır.

5.2. Yöntem

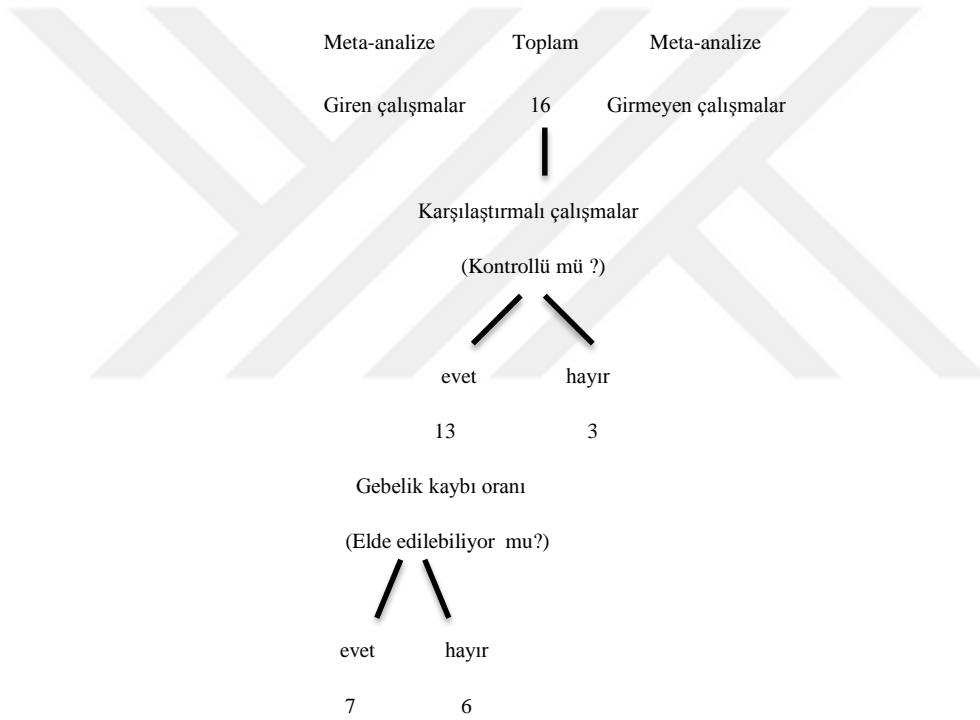
Erkeklere uygulanan antioksidan terapisinin tekrarlayan gebelik kaybı üzerindeki etkisi hakkında yapılan çalışmalara ulaşabilmek amacıyla; “Sperm”, “Embriyo Kaybı”, “DNA Hasarı”, “Oksidatif Stres”, “Antioksidan” anahtar kelimeleri kullanarak Pubmed, Hindawi, Fertility and Sterility, Elsevier, Research Gate, Theriogenology, Asian journal of Andrology, Springle Link, Wiley, Oxford Academic, Scielo, Indian Journal of Urology, Journal Library Indeks kütüphanelerinde detaylı olarak araştırma yapılmıştır.

Meta analizinde değerlendirilen veriler, DNA fragmentasyonu gözlemlenen erkeklerden oluşan antioksidan tedavi grubu ve plasebo veya tedavi uygulanmayan grubu içeren çalışmalardan elde edilmiştir. IVF uygulanan çiftlerde, embriyo transferi gerçekleştiği halde gebelik bulgusuna rastlanmadığında embriyo kaybı gerçekleştiği bilinmektedir. Dolayısı ile erkeklere uygulanan antioksidan terapisinin RPL olgusu üzerindeki etkinliğinin araştırıldığı Meta analizinde, çalışmalarda belirtilen düşük

oranlarına yer verilmesi tüm embriyo kayıplarının istatistiksel olarak ifade edilmesinin önüne geçmektedir.

Yapılan Meta analizinde RPL olgusunun incelenmesi hedeflendiğinden, gerçekleşen tüm gebelik kayıplarının istatistiğe dahil edilebilmesi için çalışmalardan elde edilen canlı doğum oranlarından, gebelik kaybı oranı hesaplanarak Meta analiz bulguları oluşturulmuştur. Gebelik kaybı oranı hesaplanırken, canlı doğum elde edememiş olan tüm hastalar gebelik kaybı oranına dahil edilmiştir.

Meta analizi için gerekli veriler canlı doğum oranı üzerinden hesaplandığından, gebelik kaybı oranının tespiti için canlı doğum oranı net olarak belirtilmiş çalışmalar analize dahil edilebilmektedir.



Şekil 1. Akış Diyagramı

Akış diyagramında belirtildiği gibi, konuya ilişkin yapılmış literatür taramasında 16 çalışma bulunmuştur. 16 çalışmanın içinden yalnızca 7 tanesi Meta analize dahil edilebilmiştir.

Bulunan 16 çalışmadan üç tanesi “gebelik haftasına ilişkin bilgi elde edilemediği için” çalışmadan dışlanmıştır (Cavallini *et al.*, 2004; Balercia *et al.*, 2005; Balercia *et al.*, 2009).

Çalışmalardan üç tanesi de gebelik kaybı oranına ilişkin “net veri elde edilemediği için” çalışmadan dışlanmıştır (Keskes-Ammar 2003; Safarinejad 2009; Greco *et al.* 2005).

Çalışmaların üç tanesi ise “kontrol grubu içermediğinden” çalışmadan dışlanmıştır (Ghanem *et al.* 2010; Cavallini *et al.* 2012; Dattilo *et al.* 2014).

Meta analizine dahil edilen çalışmalardan iki tanesine dair iki adet veri girişi yapılmıştır. Bunlardan ilki, (Kessopoulo *et al.*, 1995) tir. Bu çalışma çift körleme olarak planlanmış olup, A ve B grubu olarak iki grup içermektedir. Çalışmada ilk üç ay boyunca A grubu antioksidan tedavisi B grubu plasebo ilaç tedavisi görmüştür. Çalışmaya bir ay boyunca ara verildikten sonra A grubu plasebo ilaç tedavisi, B grubu ise antioksidan tedavisi görmüştür. Bu sebeple, çalışma iki adet deney ve kontrol grubu içerdiğinden ve birbirinden bağımsız olduklarından iki ayrı çalışma olarak değerlendirilmişlerdir. Cochrane’in yapmış olduğu Meta analizinde Kessopoulo’nun çalışmasının iki adet veri girişi yaparak hesaplandığı tespit edilmiştir (Kessopoulo *et al.*, 1995; Smits *et al.*, 2019). Bu sebeple tarafımızca yapılan Meta analizinde birden fazla deney ve kontrol grubu içeren çalışmalar birden fazla veri girişi yapılarak değerlendirmeye alınmıştır.

İki adet veri girişi bulunan bir diğer çalışma ise Amar tarafından (Amar *et al.*, 2015) yapılmıştır. Bu çalışmada üç adet grup bulunmaktadır. Çalışma, iki adet antioksidan grubu ve bir adet kontrol grubu olarak planlanmıştır. Çalışmada bulunan antioksidan gruplarından ilkinde Ferbitol ve Condensyl, ikincisine ise yalnızca Condensyl tedavisi uygulanmıştır. Condensyl ve Ferbitol yalnızca antioksidan içeren gıda takviyeleridir. Kontrol grubu hem birinci hem de ikinci antioksidan grubunun kontrol grubu olabileceğinden bu çalışma iki ayrı çalışma olarak değerlendirilerek iki adet veri girişi ile analize dahil edilmiştir.

Yapılan Meta analizine dahil edilen Bloomberg-Jensen’in çalışması, RPL açısından değerlendirildiğinde güçlü bir kanıt niteliğinde değildir (Bloomberg and Jensen, 2018). Yapılan bu çalışmada canlı doğum oranlarına hastaları telefonla arayarak ulaşılmış olduklarından, telefona cevap vermeyen hastaların verileri çalışmaya yansıtılamamıştır. Fakat bu durum rastgele olduğundan yanlılık oluşturmayacağı göz önüne alınarak çalışma Meta analizine dahil edilmiştir (Bloomberg and Jensen, 2018).

Tremellen, çalışmasında 13 haftalık gebelik oranını hesaplamıştır. RPL olgularında abortus genellikle ilk 12 hafta içerisinde gerçekleştiği için çalışma Meta analizine dahil edilmiştir (Tremellen *et al.*, 2007).

Gil-Villa, yapmış olduğu çalışmayı direkt olarak RPL olgusu üzerinden planlamıştır. Bu sebeple Meta analizine dahil edilmiştir (Gil-Villa *et al.*, 2009).

Omu, Suleiman, Amar ve Kessopoulou ‘nun yapmış oldukları çalışmalarda gebelik kaybı oranı hesaplanabilmektedir. Bu sebeple çalışmaların içerdiği verilerden elde edilen gebelik kaybı oranları Meta analizine dahil edilmiştir (Omu *et al.*, 1998 ; Suleiman *et al.* 1996,; Amar *et al.*, 2015; Kessopoulo *et al.*, 1995).

Tablo 1. Meta Analize Dahil Edilen Çalışmalar

Çalışma Yazar Adı	Çalışma Yılı	Tedavi		Kontrol	
		RPL	Toplam	RPL	Toplam
Kessopoulou <i>et al.</i>	1995 (3ay) IVF	14	15 (Vitamin E)	15	15 (Plasebo)
Kessopoulou <i>et al.</i>	1995 (3ay) IVF	13	15 (Vitamin E)	15	15 (Plasebo)
Suleiman <i>et al.</i>	1996 (6ay) YÜT	43	52 (Vitamin E)	35	35 (Plasebo)
Omu <i>et al.</i>	1998 (3ay) YÜT	40	50 (Çinko)	48	50 (Tedavi Yok)
Tremellen <i>et al.</i>	2007 (3ay) IVF	22	37 (Menevit)	16	18 (Plasebo)
Gil-Villa <i>et al.</i>	2009 (3ay) IVF	4	9 (Multivitamin)	5	8 (Tedavi Yok)
Amar <i>et al.</i>	2015 (5 hafta+4 ay) IVF	86	151 (Ferbitol+Condensyl)	65	83 (Tedavi Yok)
Amar <i>et al.</i>	2015 (4 ay) IVF	40	69 (Condensyl)	65	83 (Tedavi Yok)
Bloomberg-Jensen <i>et al.</i>	2018 (5ay) IVF	115	164 (Vitamin D+ Kalsiyum)	118	166 (Tedavi Yok)

Spermde görülen DNA fragmentasyonu RPL sebeplerinden biri olduğundan, DFI gözlemlenen erkeklere uygulanan antioksidan terapisi RPL olguları için etkili olabilmektedir.

6. META ANALİZİ

Erkeklere uygulanan antioksidan terapisinin tekrarlayan gebelik kayıplarına etkisinin araştırılması amacıyla meta analiz yöntemi kullanılmıştır. Meta analiz yöntemi, istatistik yöntemleri arasında en iyi kanıt olarak gösterilmektedir (Bakioğlu ve Göktaş, 2018).

Erkeklere uygulanan antioksidan terapisinin tekrarlayan gebelik kayıplarına olan etkisinin yönü ve büyüklüğünün belirlenebilmesi için öncelikle Meta analizinin etki büyüklüğü saptanmalıdır. Etki büyüklüğü, antioksidan tedavisi alan grubun ortalamasından placebo veya antioksidan terapi almayan grubun ortalamasının çıkartılmasıyla elde edilen sonucun standart sapmaya bölünmesi ile hesaplanmaktadır (Normand, 1999). Çalışmamızda yer alan veriler, antioksidan terapisi uygulanan erkeklerin partnerlerindeki gebelik kaybı oranını içerdiğinden kategorik veri olarak sınıflandırılmaktadır. Kategorik verilerde frekans üzerinden analiz yapıldığından, etki büyüklüğünün tespiti için antioksidan terapisi alan grubun tekrarlayan gebelik kaybı sayısı (frekansı) ile placebo veya antioksidan terapi almayan grubun tekrarlayan gebelik kaybı sayısı arasındaki fark hesaplanmaktadır (Ferguson, C. J., 2009).

Meta analizinin etki büyüklüğünün değerlendirilmesi, sabit etkiler veya rastgele etkiler modeli kullanılarak yapılmaktadır. Eğer çalışma homojen ise yani Meta analizinde yer alan araştırmaların tamamında etki büyüklüğünün hemen hemen aynı değeri aldığı görülüyorsa Meta analizinin yorumu yapılırken sabit etkiler modelinin sayısal değeri baz alınmaktadır. Öte yandan çalışma heterojen ise yani Meta analizinde yer alan araştırmaların etki büyüklüklerinin birbirlerinden farklı değerler içermesi durumunda analiz yorumu yapılırken rastgele etkiler modeli kullanılmaktadır (M. Kılıçkap, 2018). Dolayısı ile çalışmanın hangi etki modeli kullanılarak yorumlanması gerektiğine karar verebilmek için heterojenitenin değerlendirilmesi gerekmektedir. Çalışmanın heterojenitesinin değerlendirilmesinde Q istatistiği, I^2 değeri ve Tau-kare yöntemleri kullanılmakla birlikte yorumlanma kolaylığı açısından Q istatistiği veya I^2 değerinin seçilmesi araştırmacılara kolaylık sağlamaktadır. Q istatistiğine göre heterojenite p değerine göre belirlenmekle birlikte tarafımızca yapılan Meta analizinde

de Q istatistiği kullanılmıştır. Q istatistiğine göre p değeri 0,05'ten büyük ise sabit etkiler modeli, p değeri 0,05'ten kk ise rastgele etkiler modeli kullanılarak Meta analizi yorumu yapılmaktadır (M.Kılıçkap, 2018). Çalışmamızda p değeri 0,07 olarak hesaplandığından dolayı analizin etki büyüklüğü sabit etkiler modelinin OR değeri kullanılarak yorumlanmıştır.

I^2 değeri ise çalışmada yer alan etki büyüklüklerinin değişiminin yüzdesine göre heterojenliğe karar verilmesini sağlayan bir testtir. Tau-kare yöntemi ise rastgele etkiler modelinin uygulanması tercih edilen çalışmalarda kullanılan Meta analizi verileri arasındaki değişkenliğin mutlak değeridir (M.Kılıçkap, 2018).

Meta analizinde yer alan gebelik kayıplarının etki büyüklükleri ve güven aralıklarının açıkça görülebilmesi için Forest plot grafiği kullanılmıştır. Forest plot grafiğinde her çalışma bir siyah kutucukla ifade edilmektedir ve bu kutucukların büyüklüğü çalışmada yer alan diğer verilerin örnekleme büyüklüğüne göre belirlenmektedir. Ayrıca forest plot grafiğinde yer alan kutucukların ortasından geçen çizgiler çalışmaların güven aralıklarını ifade ederken alt kısımda bulunan baklava dilimi simgesi ise riski göstermektedir (Bakioğlu ve Göktaş, 2018).

Tarafımızca yapılmış olan meta analizine DFI tespit edilmiş erkekleri içeren, DFI gözlemlenen hastalara antioksidan terapisinin uygulandığı, deney ve kontrol grubu bulunan ve gebelik kaybı oranı tespit edilebilen, randomize çalışmalar dahil edilmiş olsa da çalışmalar kendiliğinden ayrı ayrı yanlılık (bias) içermektedir. Çalışmaların bireysel olarak içerdiği yayın yanlılığı, çalışma bulgularının bir Meta analizi çatısı altında toplanmasıyla birlikte analiz sonucunun yayın yanlılığını etkileyebilmektedir. Bir Meta analizinde yer alan çalışmaların homojen olması tercih edildiğinden çalışmanın yayın yanlılığı içermediğini ispatlamak için Funnel plot grafiği kullanılmaktadır. Eğer Meta analizi yayın yanlılığı içeriyorsa, Funnel plot grafiği asimetrik görünüm almaktadır (M.Kılıçkap, 2018).

7. BULGULAR

Meta analizi için yapılan literatür taraması sonucunda 16 çalışma elde edilmiştir. Elde edilen çalışmalardan belirlenen ölçütlere uygun olan ve erkeklere uygulanan antioksidan terapisinin tekrarlayan gebelik kayıplarına etkisini ölçen 7 adet çalışma, Meta-analiz yöntemiyle birleştirilmiştir.

Bulguların özeti sayısal ve grafiksel şekilde aşağıda verilmiştir;

Tablo 2. Veri Girişi Tablosu

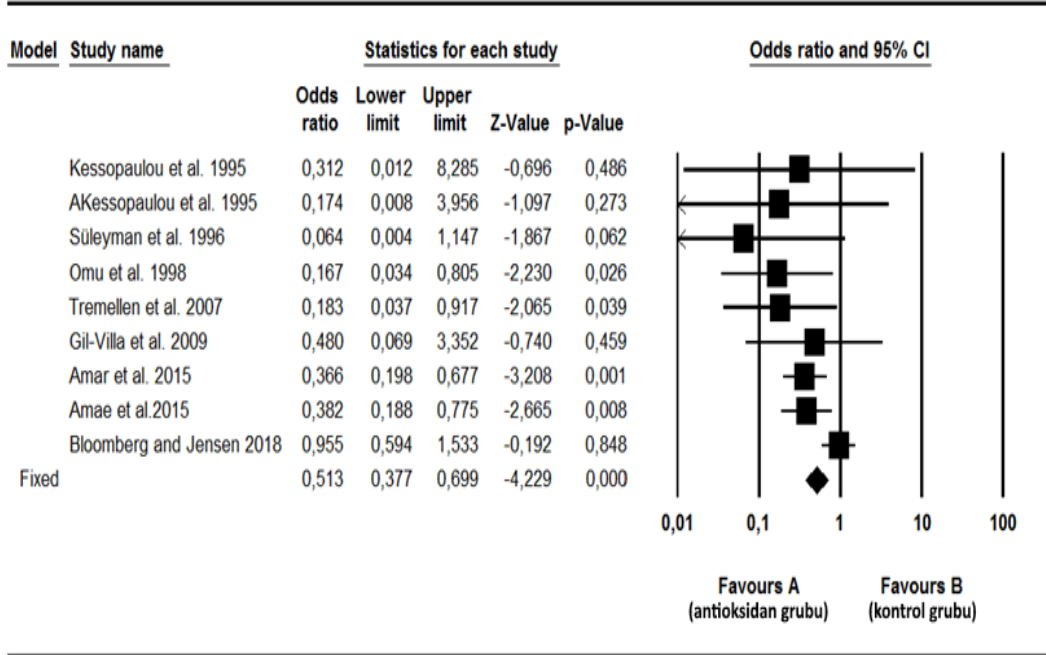
Çalışma Adı	Deney RPL	Deney Toplam	Kontrol RPL	Kontrol Toplam	OR	Log OR	SH
Amar <i>et al.</i> 2015	86	151	65	83	0,366	-1,004	0,313
Amar <i>et al.</i> 2015	40	69	65	83	0,382	-0,962	0,361
Bloomberg-Jensen <i>et al.</i> 2018	115	164	118	166	0,955	-0,046	0,242
Gil-Villa <i>et al.</i> 2009	4	9	5	8	0,480	-0,734	0,992
Kessopoulou <i>et al.</i> 1995	14	15	15	15	0,312	-1,165	1,673
Kessopoulou <i>et al.</i> 1995	13	15	15	15	0,174	-1,748	1,593
Suleiman <i>et al.</i> 1996	43	52	35	35	0,064	-2,741	1,468
Omu <i>et al.</i> 1998	40	50	48	50	0,167	-1,792	0,804
Tremellen <i>et al.</i> 2007	22	37	16	18	0,183	-1,696	0,821

Meta Analizine dahil edilen çalışmaların sisteme girilen sayısal verileri görülmektedir.

Tablo 3. Meta-Analiz Sonuçları

Model	Effect size and 95% interval			Test of null (2-Tail)		Heterogeneity				Tau-squared				
	Number Studies	Point estimate	Lower limit	Upper limit	Z-value	P-value	Q-value	df (Q)	P-value	I-squared	Tau Squared	Standard Error	Variance	Tau
Fixed	9	0,513	0,377	0,699	-4,229	0,000	14,501	8	0,070	44,833	0,226	0,290	0,084	0,475
Random	9	0,394	0,232	0,670	-3,437	0,001								

Yapılan Meta analizde, p değerinin %5ten büyük olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle analizin göreceli orantı (OR) yorumu sabit etki modeli kullanılarak yapılmıştır. Verilerle ilgili bilgilerin aydınlatıcı olması bakımından Meta analizi, şekiller ve tablolar ile birlikte verilerle yorumlanmıştır.

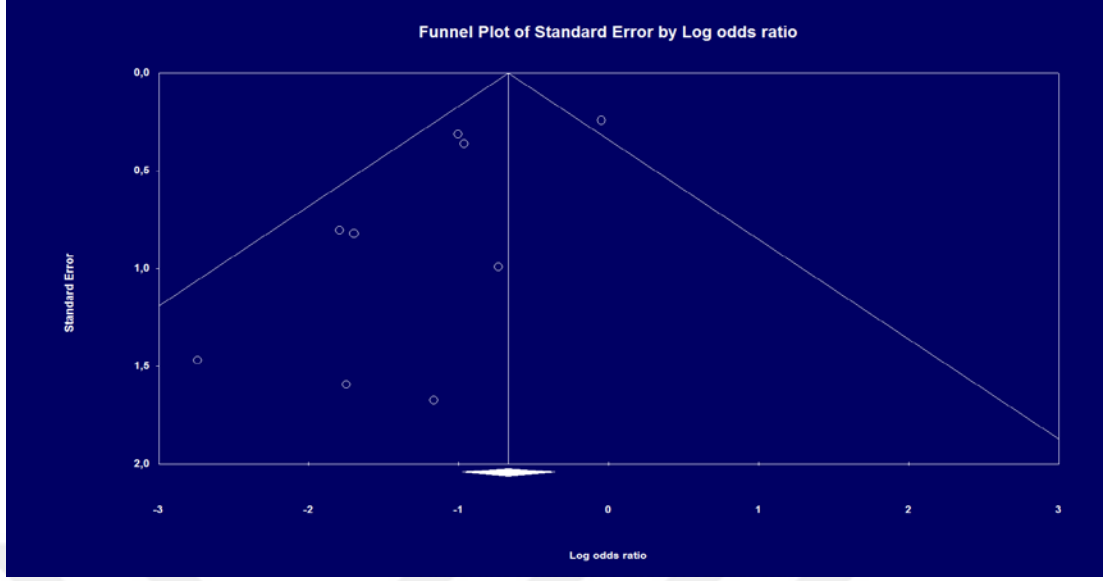


Meta Analysis

Şekil 2. Forest Plot

Tekrarlayan gebelik kaybı ile ilgili gebelik kaybı riskinde antioksidanın etkisi araştırılıp göreceli orantı 0,513 olarak bulunmuştur. Bu göreceli orantı değeri antioksidan grubunda gebelik kaybının daha az olduğunu göstermektedir. Göreceli Orantıya ait %95 güven aralığı (0,377-0,699) bulunmuştur. Bu aralık 1 içermediği için iki grup arasında yani kontrol grubu ve antioksidan grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu anlamına gelmektedir.

DNA fragmentasyonu gözlemlenen toplam 922 erkek üzerinden yürütülen Meta analizde, erkeklere uygulanan antioksidan terapisinin tekrarlayan gebelik kayıpları ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir. Sabit etki modelinin OR değeri 0,50 ile 0,80 aralığında yer aldığı tespit edildiğinden Cohen'in sınıflandırma metoduna göre antioksidan terapisi alan gruplarda gebelik kaybı oranının daha düşük olduğuna yönelik güçlü bir kanıttır (Cohen *et al.*,2007).



Şekil 3. Funnel Plot

Şekil 3'te görüldüğü gibi, meta analizine dahil edilen çalışmalara yönelik veriler genellikle huninin içinde toplanmaktadır. Bu durum Meta analizinde yer alan verilerin homojen olduğunu, çalışmada yer alan verilerin bir Meta analizi çatısı altında toparlanabileceğini ve aynı zamanda Meta analizi sonucunun güvenilir olduğunu göstermektedir. Funnel plot grafiğinde yer alan noktaların sol tarafta toplandığı ve grafiğin simetrik bir görünüme sahip olduğu görülmektedir. Grafiğin almış olduğu bu görünüm, Meta analizinin yanlılık (bias) içermediğini göstermektedir. Grafikte baklava dilimi olarak ifade edilen imge ise riski (aslında OR) ifade etmektedir (Copas and Shi, 2000).

8.TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada erkeklere uygulanan antioksidan tedavisinin, tekrarlayan gebelik kayıpları üzerindeki istatistiksel bulgularının tespiti amaçlanmıştır. Literatürde yayımlanmış makaleler incelendiğinde, antioksidan terapisinin etkinliğine dair konsensüsün olmadığı görülmüştür. Tekrarlayan gebelik kayıpları çiftlerin gebelik elde etmesine rağmen birçok kez gebeliğin ilk 20 haftası içerisinde abortus (düşük) ile sonlanmasıdır (Gil-Villa *et al.*,2009). Yapmış olduğumuz literatür taramasında, genellikle erkeklere uygulanan antioksidan terapisinin gebelik oranları üzerine olan etkisine dair bulgularla karşılaşıldı. Literatür taraması yapılırken ilk etapta düşük oranları içeren verilerin RPL olgusunun analizinde kullanılabileceği düşünüldü. Buna karşın, gebelik kaybının IVF uygulanan çiftlerde implantasyonun gerçekleşmemesi sebebiyle gebeliğin ilk günlerinde de gerçekleşebilme ihtimali değerlendirilmeye alındı. Bunun neticesinde literatür taraması sırasında canlı doğum gözlemlenmeyen tüm deneklerin gebelik kaybı olarak değerlendirilmesinin, RPL olgusunu daha iyi açıklayabileceği tespit edildi. Bu sebeple tekrarlayan gebelik kayıplarının araştırılmasında düşük oranlarına kıyasla, canlı doğum oranlarına dair bulguların elde edilmesinin daha doğru olduğu kanısına ulaşıldı.

Fetüsün canlı doğum oranı hesaplanırken embriyonik dönem (ilk 12 hafta) yı tamamlamış gebelikler yaşayabilir gebelik olarak adlandırıldığından, araştırmalarda canlı doğum oranı olarak belirtilebilmektedir (Tremellen *et al.*,2007; Smits *et al.*,2019). Fakat, tekrarlayan gebelik kayıplarının araştırılmasında en sağlıklı veriler doğumu gerçekleştiren hastalardan alınan geri bildirim sonucunda elde edilmektedir. Embriyonun gelişimi esnasında sperm çekirdeğinin embriyo oluşumuna katılımı sırasında çok az oranda sperm sitoplazmasının katılımı, araştırmacıların erkek faktörünün canlı doğum oranına sitoplazmik anlamda katkı sağlama ihtimalinin az olması bu konuda daha az çalışma yapılmasına neden olmuştur.

Bu Meta analizini hazırlarken yaptığımız literatür taramasında Cochrane kütüphanesinde derleme başlığı altında Meta analizi yapıldığını tespit ettik. Cochrane kütüphanesi ilk derlemesini 2011 yılında yapmış olup, 2014 ve 2019 yıllarında verilerini güncellemiş bulunmaktadır. 2011 yılında yayımlanmış oldukları derlemede;

(Showell *et al.*, 2011) canlı doğum oranı belirtilen 3 adet makaleden oluşan bir Meta analizi yapmışlardır. Yapmış oldukları Meta analizine; Kessopoulou'nun, Omu'nun ve Suleiman'in çalışmalarını dahil etmişlerdir (Kessopoulou *et al.*, 1995; Omu *et al.*, 1998; Suleiman *et al.*, 1996).

Derlemelerine 2014 yılında yapmış oldukları güncelleme sonucunda canlı doğum oranı belirtilen 4 adet makale ile Meta analizlerini güncellemişlerdir. (Showell, 2014). Güncellenmiş veriye Kessopoulou, Omu, Suleiman ve Tremellen'in çalışmaları alınmıştır (Kessopoulou *et al.*,1995; Omu *et al.*, 1998; Suleiman *et al.*, 1996 ve Tremellen *et al.*, 2007).

Derlemelerine 2019 yılında yapmış oldukları güncelleme sonucunda canlı doğum oranı belirtilen 7 adet makale ile Meta analizlerini güncellemişlerdir (Smiths *et al.*, 2019). Cochrane tarafından gerçekleştirilen 2019 güncellemesinde ise; Balercia Bloomberg, Kessopoulou, Omu, Suleiman ve Tremellen'in çalışmaları eklenmiştir (Balercia *et al.*, 2005; Balercia *et al.*, 2009; Bloomberg Jensen *et al.*, 2018; Kessopoulou *et al.*, 1995; Omu *et al.*, 1998; Suleiman *et al.*, 1996; Tremellen *et al.*, 2007).

Cochrane, canlı doğum oranı üzerinde araştırma yapmayı hedeflediğinden, (Balercia *et al.*, 2005; Balercia *et al.*, 2009) çalışmaları "spontan gebelik oranı"na ilişkin veri içermesine rağmen çalışmaya dahil etmiştir (Smits *et al.*, 2019). Spontan gebelik, genellikle canlı doğumla sonuçlandığı için, canlı doğum verisi olarak değerlendirilebilmektedir. Fakat tekrarlayan gebelik kaybı olgularında spontan gebelik gözlemlenebilmesine rağmen canlı doğum elde edilememektedir. RPL olgusunun incelendiği çalışmada spontan gebelik oranı, ancak yaşayabilir gebelik oranı olarak belirtildiğinde çalışmaya dahil edilebilmektedir. Fakat, Balercia tarafından gerçekleştirilen bu iki çalışmada gebelik haftasına ilişkin herhangi bir bulguya rastlanmamıştır (Balercia *et al.*, 2005; Balercia *et al.*, 2009). Bu sebeple, gebelik haftasına ilişkin bilgi içermeyen çalışmaların tümü Cochrane kütüphanesinin yapmış olduğu Meta analizine dahil edilmiş olmasına rağmen, tekrarlayan gebelik kayıplarının araştırılması hususunda çalışmadan dışlanmıştır.

Cochrane, canlı doğum oranı üzerinde yapmış olduğu araştırmada Gil-Villa tarafından 2009 yılında gerçekleştirilen çalışmaya yer vermemiştir (Gil-Villa *et al.*, 2009; Smits *et al.*, 2019). Türkçe ve İngilizce kaynaklar kullanılarak yapılan literatür

taramasında RPL olgusunun direkt olarak incelendiği tek çalışmanın Gil-Villa tarafından gerçekleştirildiği tespit edilmiştir (Gil-Villa *et al.*, 2009). Gil-Villa tarafından gerçekleştirilen bu çalışmada başarılı gebelik oranı belirtilmiştir (Gil-Villa *et al.*, 2009). Başarılı gebelik oranının belirtilmiş olması, gebelik kayıplarının tespitini mümkün kıldığından Gil-Villa tarafından yapılan bu çalışmanın tarafımızca yapılan meta analizine dahil edilmesini sağlamıştır (Gil-Villa *et al.*, 2009). Fakat bulguların başarılı gebelik olarak adlandırılmış olması, çalışmanın Cochrane tarafından gerçekleştirilen Meta analizinden dışlanması nedeni olduğu düşünülmektedir (Smits *et al.*, 2019).

Cochrane kütüphanesinin yapmış olduğu Meta analizinde yer almadığı halde tarafımızca yapılan Meta analizinde yer alan bir diğer çalışma ise Amar tarafından literatüre kazandırılmıştır (Amar *et al.*, 2015). Çalışma karbon döngüsü stimülasyonu içerdiğinden, bu çalışmanın literatür taraması esnasında Cochrane araştırmacılarının gözünden kaçmış olabileceği tahmin edilmektedir (Amar *et al.*, 2015; Smits *et al.*, 2019).

Tarafımızca yapılan Meta analizinde, erkeklere uygulanan antioksidan terapisinin, tekrarlayan gebelik kayıpları olgusu üzerinde güçlü ve olumlu yönde bir etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Yapılan bu çalışma, erkeklere uygulanan antioksidan terapisinin tekrarlayan gebelik kayıplarına ilişkin yukarıda açıklanan veri toplama metotları açısından direkt katkısını inceleyen ilk Meta analizi olma özelliği taşımaktadır.

9. KAYNAKLAR

Abd-Allah, A. R., Helal, G. K., Al-Yahya, A. A., Aleisa, A. M., Al-Rejaie, S. S., & Al-Bakheet, S. A. (2009). Pro-inflammatory and oxidative stress pathways which compromise sperm motility and survival may be altered by L-carnitine. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(2), 73-81.

Achache, H., & Revel, A. (2006). Endometrial receptivity markers, the journey to successful embryo implantation. *Human Reproduction Update*, 12(6), 731-746.

Agarwal, A., & Prabakaran, S. A. (2005). Mechanism, measurement, and prevention of oxidative stress in male reproductive physiology.

Agarwal, A., & Saleh, R. A. (2002). Role of oxidants in male infertility: rationale, significance, and treatment. *Urologic Clinics of North America*, 29(4), 817-828.

Agarwal, A., Gupta, S., & Sikka, S. (2006). The role of free radicals and antioxidants in reproduction. *Current Opinion in Obstetrics and Gynecology*, 18(3), 325-332.

Agarwal, A., Nallella, K. P., Allamaneni, S. S., & Said, T. M. (2004). Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reproductive Biomedicine Online*, 8(6), 616-627. [Elektronik Dergi]

Agarwal, A., Prabakaran, S. A., & Said, T. M. (2005). Prevention of oxidative stress injury to sperm. *Journal of Andrology*, 26(6), 654-660.

Agarwal, A., Tadros, H., Panicker, A., & Tvrdá, E. (2016). Role of oxidants and antioxidants in male reproduction. *Oxidative Stress and Antioxidant Protection*, 221-252.

Ahmad, G., Agarwal, A., Esteves, S. C., Sharma, R., Almasry, M., Al-Gonaim, A., ... & Sabanegh, E. (2017). Ascorbic acid reduces redox potential in human spermatozoa subjected to heat-induced oxidative stress. *Andrologia*, 49(10), e12773.

Akmal, M., Qadri, J. Q., Al-Waili, N. S., Thangal, S., Haq, A., & Saloom, K. Y. (2006). Improvement in human semen quality after oral supplementation of vitamin C. *Journal of medicinal food*, 9(3), 440-442.

Aldemir¹, Ö., Müslümanoğlu, M. H., Can, C., Bal, C., Cantürk, M., Emre, R., ... & Artan, S. (2013). ICSI Sonrası Fertilizasyon Sonuçlarına Azoospermik ve Oligospermik Hastalardaki Genetik Anomalilerinin Etkisi.

Amar, E., Cornet, D., Cohen, M., & Menezo, Y. (2015). Treatment for high levels of sperm DNA fragmentation and nuclear de condensation: sequential treatment with a potent antioxidant followed by stimulation of the one-carbon cycle vs one-carbon cycle back-up alone. *Austin Journal of Reproduction Med Infertil*, 2(1), 1006.

Aydiner, F. (2008). Sperm Kriyoprezervasyonu Sonrasında Apoptozisin Değerlendirilmesi, Doktora Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, İzmir, (Danışman: Doç.Dr. Kazım Tuğyan).

Balcı, A., Yirmibeş, M., Bal, F., Mutgan, S., & Menevşe, S. (1996). Ailesel Resiprokal Translokasyon Olgusu ve Tekrarlayan Düşükler.

Balercia, G., Buldreghini, E., Vignini, A., Tiano, L., Paggi, F., Amoroso, S., ... & Littarru, G. (2009). Coenzyme Q10 treatment in infertile men with idiopathic asthenozoospermia: a placebo-controlled, double-blind randomized trial. *Fertility and Sterility*, 91(5), 1785-1792.

Balercia, G., Regoli, F., Armeni, T., Koverech, A., Mantero, F., & Boscaro, M. (2005). Placebo-controlled double-blind randomized trial on the use of L-carnitine, L-acetylcarnitine, or combined L-carnitine and L-acetylcarnitine in men with idiopathic asthenozoospermia. *Fertility and Sterility*, 84(3), 662-671.

Bansal, A. K., & Bilaspuri, G. S. (2011). Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Veterinary Medicine International*.

Bisht, S., Faiq, M., Tolahunase, M., & Dada, R. (2017). Oxidative stress and male infertility. *Nature Reviews Urology*, 14(8), 470.

Bloomberg Jensen, M., Lawaetz, J. G., Petersen, J. H., Juul, A., & Jørgensen, N. (2017). Effects of vitamin D supplementation on semen quality, reproductive

hormones, and live birth rate: a randomized clinical trial. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 103(3), 870-881.

Brazdova, A. (2014). Study of Immunological Properties of Sperm and Seminal Plasma Antigens: Anti-Seminal and Anti-Sperm Antibodies in Female Immune Infertility: Characterization of Targeted Proteins (Doctoral Dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).

Cavallini, G., Ferraretti, A. P., Gianaroli, L., Biagiotti, G., & Vitali, G. (2004). Cinnoxicam and L- carnitine/acetyl- L- carnitine treatment for idiopathic and varicocele- associated oligoasthenospermia. *Journal of Andrology*, 25(5), 761-770.

Cavallini, G., Ferraretti, A. P., Gianaroli, L., Biagiotti, G., & Vitali, G. (2004). Cinnoxicam and L- carnitine/acetyl- L- carnitine treatment for idiopathic and varicocele- associated oligoasthenospermia. *Journal of Andrology*, 25(5), 761-770.

Cavallini, G., Magli, M. C., Crippa, A., Ferraretti, A. P., & Gianaroli, L. (2012). Reduction in sperm aneuploidy levels in severe oligoasthenoteratospermic patients after medical therapy: a preliminary report. *Asian Journal of Andrology*, 14(4), 591.

Chandra, A., Surti, N., Kesavan, S., & Agarwal, A. (2009). Significance of oxidative stress in human reproduction. *Arch Med*, 5(1A), 528-42.

Cohen L., Manion, L. and Morrison, K. (2007). Research methods in education. *London:Routledge-Falmer*, 520-523.

Colagar, A. H., & Marzony, E. T. (2009). Ascorbic Acid in human seminal plasma: determination and its relationship to sperm quality. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 45(2), 144-149.

Comhaire, F. H., & Mahmoud, A. (2003). The role of food supplements in the treatment of the infertile man. *Reproductive Biomedicine Online*, 7(4), 385-391.

Copas, J. and Shi J. Q. (2000). Meta-analysis, funnel plots and sensitivity analysis. *Biostatistics*, 1, 247-262.

Çapar, B. (2015). Azoospermik Hastalarda Mayoz İndikatörü Olarak Lim 15 Gen Ekspresyonunun Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Bilim Üniversitesi,

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, (Danışman: Prof. Dr. Volkan Baltacı).

Dattilo, M., Cornet, D., Amar, E., Cohen, M., & Menezo, Y. (2014). The importance of the one carbon cycle nutritional support in human male fertility: a preliminary clinical report. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12(1), 71.

da Silva, T. M., Maia, M. C. S., Arruda, J. T., Approbato, F. C., Mendonça, C. R., & Approbato, M. S. (2013). Folic acid does not improve semen parameters in subfertile men: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *JBRA Assisted Reproduction*, 17(3), 152-157.

de Kretser, D. M., Loveland, K. L., Meinhardt, A., Simorangkir, D., & Wreford, N. (1998). Spermatogenesis. *Human Reproduction*, 13(suppl_1), 1-8.

Deniz, R., Baykuş, Y., & Kavak, E. Ç. (2016). Tekrarlayan erken gebelik kayıplarına yaklaşım. *Kafkas Tıp Bilimleri Dergisi*, 6(2), 130-137.

Di Mascio, P., Kaiser, S., & Sies, H. (1989). Lycopene as the most efficient biological carotenoid singlet oxygen quencher. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 274(2), 532-538.

Donnelly, E. T., McClure, N., & Lewis, S. E. (2000). Glutathione and hypotaurine in vitro: effects on human sperm motility, DNA integrity and production of reactive oxygen species. *Mutagenesis*, 15(1), 61-68.

Du Plessis, S. S., Makker, K., Desai, N. R., & Agarwal, A. (2008). Impact of oxidative stress on IVF. *Expert Review of Obstetrics & Gynecology*, 3(4), 539-554.

Durairajanayagam, D., Agarwal, A., Ong, C., & Prashast, P. (2014). Lycopene and male infertility. *Asian journal of andrology*, 16(3), 420.

Dündar, Y., & Aslan, R. (2000). Hekimlikte Oksidatif Stres ve Antioksidanlar. 29-95, *Afyon Kocatepe Üniv. Yayınları, Afyon*.

Erdemir, F., Fırat, F., & Gençten, Y. (2011). Sperm morfolojisinin değerlendirilmesi ve klinik önemi. *Türk Urol Sem*, 2, 11-7.

- Eskenazi, B., Kidd, S. A., Marks, A. R., Slotter, E., Block, G., & Wyrobek, A. J. (2005). Antioxidant intake is associated with semen quality in healthy men. *Human Reproduction*, 20(4), 1006-1012.
- Ferguson, C. J. (2009). An effect size primer: a guide for clinicians and researchers. *Professional Psychology: Research and Practice*, 40(5), 532.
- Ford, H. B., & Schust, D. J. (2009). Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy. *Reviews in Obstetrics and Gynecology*, 2(2), 76.
- Garolla, A., Maiorino, M., Roverato, A., Roveri, A., Ursini, F., & Foresta, C. (2005). Oral carnitine supplementation increases sperm motility in asthenozoospermic men with normal sperm phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase levels. *Fertility and Sterility*, 83(2), 355-361.
- Gedikli, S., Özbek, E., & Demirci, T. (2013). Fertilizasyonun moleküler temeli. *Van Tıp Dergisi*, 20(4), 294-301.
- Geva, E., Lessing, J. B., Lerner-Geva, L., & Amit, A. (1998). Free radicals, antioxidants and human spermatozoa: clinical implications. *Human reproduction (Oxford, England)*, 13(6), 1422-1424.
- Ghanem, H., Shaeer, O., & El-Segini, A. (2010). Combination clomiphene citrate and antioxidant therapy for idiopathic male infertility: a randomized controlled trial. *Fertility and Sterility*, 93(7), 2232-2235.
- Gil-Villa, A. M., Cardona-Maya, W., Agarwal, A., Sharma, R., & Cadavid, Á. (2009). Role of male factor in early recurrent embryo loss: do antioxidants have any effect?. *Fertility and Sterility*, 92(2), 565-571.
- Gil-Villa, A. M., Cardona-Maya, W., Agarwal, A., Sharma, R., & Cadavid, Á. (2010). Assessment of sperm factors possibly involved in early recurrent pregnancy loss. *Fertility and Sterility*, 94(4), 1465-1472.
- Girgin, G. (2013). Azospermik ve Ağır Oligozoospermik Vakalarda Otozomal Resesif Gen Kusurlarının Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, (Danışman: Yrd.Doç.Dr. İlter Güney).

Gopalkrishnan, K., Padwal, V., Meherji, P. K., Gokral, J. S., Shah, R., & Juneja, H. S. (2000). Poor quality of sperm as it affects repeated early pregnancy loss. *Archives of Andrology*, 45(2), 111-117.

Göktaş, E. (2018). Bir Eğitim Politikası Belirleme Yöntemi: Meta Analiz. *Medeniyet Eğitim Araştırmaları Dergisi*, 1(2), 35-54.

Greco, E., Romano, S., Iacobelli, M., Ferrero, S., Baroni, E., Minasi, M. G., ... & Tesarik, J. (2005). ICSI in cases of sperm DNA damage: beneficial effect of oral antioxidant treatment. *Human Reproduction*, 20(9), 2590-2594.

Gupta, N. P., & Kumar, R. (2002). Lycopene therapy in idiopathic male infertility—a preliminary report. *International Urology and Nephrology*, 34(3), 369-372.

Gupta, S., Agarwal, A., Banerjee, J., & Alvarez, J. G. (2007). The role of oxidative stress in spontaneous abortion and recurrent pregnancy loss: a systematic review. *Obstetrical & Gynecological Survey*, 62(5), 335-347.

Halliwell, B., & Chirico, S. (1993). Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 57(5), 715S-725S.

Hambartsoumian, E. (1998). Endometrial leukemia inhibitory factor (LIF) as a possible cause of unexplained infertility and multiple failures of implantation. *American Journal of Reproductive Immunology*, 39(2), 137-143.

Hammadeh, M. E., & Hamad, M. F. (2009). Reactive oxygen species and antioxidant in seminal plasma and their impact on male fertility. *International Journal of Fertil Steril*, 3(3).

Henkel, R., Sandhu, I. S., & Agarwal, A. (2019). The excessive use of antioxidant therapy: A possible cause of male infertility?. *Andrologia*, 51(1), e13162.

Hevia, D., Mayo, J. C., Tan, D. X., Rodriguez-Garcia, A., & Sainz, R. M. (2014). Melatonin enhances photo-oxidation of 2', 7'-dichlorodihydrofluorescein by an antioxidant reaction that renders N1-acetyl-N2-formyl-5-methoxykynuramine (AFMK). *Plos one*, 9(10), e109257.

Hunt, C. D., Johnson, P. E., Herbel, J., & Mullen, L. K. (1992). Effects of dietary zinc depletion on seminal volume and zinc loss, serum testosterone concentrations, and

sperm morphology in young men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 56(1), 148-157.

Ibrahim, Y., & Johnstone, E. (2018). The male contribution to recurrent pregnancy loss. *Translational andrology and urology*, 7(Suppl 3), S317.

Imamovic Kumalic, S., & Pinter, B. (2014). Review of clinical trials on effects of oral antioxidants on basic semen and other parameters in idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. *BioMed Research International*.

Inal, Z. O., Inal, H. A., Aksoy, E., & Kucukkendirici, H. (2017). Spermogram Test Results of Patients Presenting to our IVF Center Due to Infertility. *Journal of Clinical and Analytical Medicine*, 8(5), 365-369.

Irvine, D. S. (1996). Glutathione as a treatment for male infertility. *Reviews of Reproduction*, 1(1), 6-12.

Jaslow, C. R., Carney, J. L., & Kutteh, W. H. (2010). Diagnostic factors identified in 1020 women with two versus three or more recurrent pregnancy losses. *Fertility and Sterility*, 93(4), 1234-1243.

Jeulin, C., Soufir, J. C., Weber, P., Laval- Martin, D., & Calvayrac, R. (1989). Catalase activity in human spermatozoa and seminal plasma. *Gamete Research*, 24(2), 185-196.

Kefer, J. C., Agarwal, A., & Sabanegh, E. (2009). Role of antioxidants in the treatment of male infertility. *International Journal of Urology*, 16(5), 449-457.

Keskes-Ammar, L., Feki-Chakroun, N., Rebai, T., Sahnoun, Z., Ghozzi, H., Hammami, S., ... & Bahloul, A. (2003). Sperm oxidative stress and the effect of an oral vitamin E and selenium supplement on semen quality in infertile men. *Archives of Andrology*, 49(2), 83-94.

Kessopoulou, E., Powers, H. J., Sharma, K. K., Pearson, M. J., Russell, J. M., Cooke, I. D., & Barratt, C. L. (1995). A double-blind randomized placebo cross-over controlled trial using the antioxidant vitamin E to treat reactive oxygen species associated male infertility. *Fertility and Sterility*, 64(4), 825-831.

- Kılıçkap, M. (2018). Meta-analizleri nasıl yorumlayalım: Türkiye’de kardiyovasküler risk faktörlerine yönelik yapılan meta-analizlerin metodolojik açıdan değerlendirilmesi. *Türk Kardiyol Dern Ars*, 46(7), 624-635.
- Ko, E. Y., Sabanegh Jr, E. S., & Agarwal, A. (2014). Male infertility testing: reactive oxygen species and antioxidant capacity. *Fertility and Sterility*, 102(6), 1518-1527.
- Lanzafame, F. M., La Vignera, S., Vicari, E., & Calogero, A. E. (2009). Oxidative stress and medical antioxidant treatment in male infertility. *Reproductive Biomedicine Online*, 19(5), 638-659. [Elektronik Dergi]
- Lewis, S. E., Aitken, R. J., Conner, S. J., De Iuliis, G., Evenson, D. P., Henkel, R., & Gharagozloo, P. (2013). The impact of sperm DNA damage in assisted conception and beyond: recent advances in diagnosis and treatment. *Reproductive Biomedicine Online*, 27(4), 325-337. [Elektronik Dergi]
- Mahat, R. K., Kumar, S., Arora, M., Bhale, D. V., Mehta, R., & Batra, J. (2015). Role of oxidative stress and antioxidants in male infertility. *International Journal Health Science Res (IJHSR)*, 5(3), 324-33.
- Martin-Hidalgo, D., Bragado, M. J., Batista, A. R., Oliveira, P. F., & Alves, M. G. (2019). Antioxidants and Male Fertility: From Molecular Studies to Clinical Evidence. *Antioxidants*, 8(4), 89.
- Mennella, M. R. F., & Jones, R. (1980). Properties of spermatozoal superoxide dismutase and lack of involvement of superoxides in metal-ion-catalysed lipid-peroxidation and reactions in semen. *Biochemical Journal*, 191(2), 289-297.
- Mirone, M., Giannetta, E., & Isidori, A. M. (2013). Selenium and reproductive function. A systematic review. *J Endocrinol Invest*, 36(10 Suppl), 28-36.
- Mishra, S., Kranthi, V., Kumar, R., Malhotra, N., Mohanty, K., Pathak, V., & Dada, R. (2014). Oxidative damage to sperm DNA: clinical implications. *Andrology*, 3(1), 116.
- Noblanc, A., Kocer, A., Chabory, E., Vernet, P., Saez, F., Cadet, R., & Drevet, J. R. (2011). Glutathione peroxidases at work on epididymal spermatozoa: an example of

the dual effect of reactive oxygen species on mammalian male fertilizing ability. *Journal of Andrology*, 32(6), 641-650.

Normand, S. L. T. (1999). Meta- analysis: formulating, evaluating, combining, and reporting. *Statistics in medicine*, 18(3), 321-359.

O'Flaherty, C. (2014). The enzymatic antioxidant system of human spermatozoa. *Advances in Andrology*.

Ok, E., Özyurt, D., & Gülekli, B. (2008). Asthenozoospermia olgularında sperm morfolojisi değerlendirmede Spermac ve Diff-quick boya yöntemlerinin karşılaştırılması.

Omu, A. E., Al-Azemi, M. K., Kehinde, E. O., Anim, J. T., Oriowo, M. A., & Mathew, T. C. (2008). Indications of the mechanisms involved in improved sperm parameters by zinc therapy. *Medical Principles and Practice*, 17(2), 108-116.

Omu, A. E., Dashti, H., & Al-Othman, S. (1998). Treatment of asthenozoospermia with zinc sulphate: andrological, immunological and obstetric outcome. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 79(2), 179-184.

Özbey, İ. (2015). İntratestiküler testosteron: Üretimi ve klinik önemi (Derleme). *Androloji Bülteni*, 17(61), 129-131.

Özveren, H. ve Güneş M. (2015) İdiyopatik İnfertil Hastalarda Semen ve Kan Plazmasında Malondialdehit - Katalaz- Glutatyon Peroksidaz– Süperoksid Dismutaz Düzeyi ve Semen Parametreleri ile İlişkisi

Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(2), 89.

Pourmasumi, S., Ghasemi, N., Talebi, A. R., Mehrabani, M., & Sabeti, P. (2018). The effect of vitamin E and selenium on sperm chromatin quality in couples with recurrent miscarriage. *International Journal of Medical Laboratory*, 5(1), 1-10.

Reiter, R. J., Tan, D. X., Manchester, L. C., Paredes, S. D., Mayo, J. C., & Sainz, R. M. (2009). Melatonin and reproduction revisited. *Biology of Reproduction*, 81(3), 445-456.

Rolf, C., Cooper, T. G., Yeung, C. H., & Nieschlag, E. (1999). Antioxidant treatment of patients with asthenozoospermia or moderate oligoasthenozoospermia with high-dose vitamin C and vitamin E: a randomized, placebo-controlled, double-blind study. *Human Reproduction*, *14*(4), 1028-1033.

Safarinejad, M. R. (2009). Efficacy of coenzyme Q10 on semen parameters, sperm function and reproductive hormones in infertile men. *The Journal of Urology*, *182*(1), 237-248.

Safarinejad, M. R., & Safarinejad, S. (2009). Efficacy of selenium and/or N-acetylcysteine for improving semen parameters in infertile men: a double-blind, placebo controlled, randomized study. *The Journal of Urology*, *181*(2), 741-751.

Safarinejad, M. R., Safarinejad, S., Shafiei, N., & Safarinejad, S. (2012). Effects of the reduced form of coenzyme Q10 (ubiquinol) on semen parameters in men with idiopathic infertility: a double-blind, placebo controlled, randomized study. *The Journal of Urology*, *188*(2), 526-531.

Saleh, R. A., & HCLD, A. A. (2002). Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. *Journal of Andrology*, *23*(6), 737-752.

Şamlı, H., İmirzalıoğlu, N., Özgöz, A., Köken, G., Ceylaner, S., & Ceylaner, G. (2009). Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Trombofili Mutasyonları. *Journal of Clinical Obstetrics & Gynecology*, *19*(5), 255-264.

Sanocka, D., Miesel, R., Jedrzejczak, P., & Kurpisz, M. K. (1996). Oxidative stress and male infertility. *Journal of Andrology*, *17*(4), 449-454.

Satar, D. A., & Narin, R. Globozoospermi. *Cukurova Medical Journal*, *39*(1), 1-6.

Sautin, Y. Y., & Johnson, R. J. (2008). Uric acid: the oxidant-antioxidant paradox. *Nucleosides, Nucleotides, and Nucleic acids*, *27*(6-7), 608-619.

Sharma, R. K., Said, T., & Agarwal, A. (2004). Sperm DNA damage and its clinical relevance in assessing reproductive outcome. *Asian Journal of Andrology*, *6*(2), 139-148.

Showell, M. G., Mackenzie- Proctor, R., Brown, J., Yazdani, A., Stankiewicz, M. T., & Hart, R. J. (2014). Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database of Systematic reviews*, (12).

Simon, A., & Laufer, N. (2012). Assessment and treatment of repeated implantation failure (RIF). *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 29(11), 1227-1239.

Şimşek, F. (1999). Serbest Oksijen Radikalleri, Antioksidanlar ve Lipit Peroksidasyonu. *Türkiye Klinikleri Journal of Pediatrics*, 8(1), 42-47.

Smith Garcés, R., Kaune, H., Parodi, D., Madariaga, M., Ríos, R., Morales, I., & Castro, A. (2006). Increased sperm DNA damage in patients with varicocele: relationship with seminal oxidative stress.

Smith, R., Kaune, H., Parodi, D., Madariaga, M., Ríos, R., Morales, I., & Castro, A. (2005). Increased sperm DNA damage in patients with varicocele: relationship with seminal oxidative stress. *Human Reproduction*, 21(4), 986-993.

Smits, R. M., Mackenzie- Proctor, R., Yazdani, A., Stankiewicz, M. T., Jordan, V., & Showell, M. G. (2019). Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (3).

Stipanuk, M. H., Dominy Jr, J. E., Lee, J. I., & Coloso, R. M. (2006). Mammalian cysteine metabolism: new insights into regulation of cysteine metabolism. *The Journal of Nutrition*, 136(6), 1652S-1659S.

Suleiman, S. A., Ali, M. E., Zaki, Z. M. S., El- Malik, E. M. A., & Nasr, M. A. (1996). Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of vitamin E. *Journal of Andrology*, 17(5), 530-537.

Talevi, R., Barbato, V., Fiorentino, I., Braun, S., Longobardi, S., & Gualtieri, R. (2013). Protective effects of in vitro treatment with zinc, d-aspartate and coenzyme Q10 on human sperm motility, lipid peroxidation and DNA fragmentation. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 11(1), 81.

Tremellen, K., Miari, G., Froiland, D., & Thompson, J. (2007). A randomised control trial examining the effect of an antioxidant (Menevit) on pregnancy outcome during

IVF- ICSI treatment. *Australian and New Zealand Journal of Obstetrics and Gynaecology*, 47(3), 216-221.

Uysal, A., Taner, C. E., Mun, S., & Coşar, E. (2013). The Role of Endocrine and Endometrial Factors in Cases of Recurrent Miscarriage: A Tertiary Center Experience
Tekrarlayan Düşükte Endokrin ve Endometrial Faktörler: Üçüncü Basamak Bir Hastane Deneyimi. *Age*, 30, 6-23.

Wang, X., Falcone, T., Attaran, M., Goldberg, J. M., Agarwal, A., & Sharma, R. K. (2002). Vitamin C and Vitamin E supplementation reduce oxidative stress–induced embryo toxicity and improve the blastocyst development rate. *Fertility and Sterility*, 78(6), 1272-1277.

Wilhelm Filho, D., Torres, M. A., Bordin, A. L., Crezcynski-Pasa, T. B., & Boveris, A. (2004). Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia–reperfusion injury. *Molecular Aspects of Medicine*, 25(1-2), 199-210.

Yumru, A. E., & Öndeş, B. (2011). İnfertil Çifte Yaklaşım ve İn Vitro Fertilizasyon’a Doğru Hasta Seçimi.

Zhou, X., Liu, F., & Zhai, S. D. (2007). Effect of L-carnitine and/or L-acetyl-carnitine in nutrition treatment for male infertility: a systematic review. *Asia Pacific Journal of Clinical nutrition*, 16(S1), 383-390.

Zülfikaroğlu, G., Özgür, H., & Polaturkey, S. (2010). Kapasitasyonun moleküler temelleri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 19(1), 12-24.

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Esin Sude Genç

Doğum Tarihi ve Yeri : 09/11/1994 İstanbul

Mail Adresi: esinsudegenc@gmail.com

Unvanı: Biyolog

Öğrenim Durumu: Lisans

Derece	Okul Adı ve Bölümü	Mezuniyet Yılı
Lisans	İstanbul Üniversitesi - Biyoloji	2016
Yüksek Lisans	Biruni Üniversitesi- Klinik Embriyoloji	2019

ERKEKLERE UYGULANAN ANTİOKSİDAN TERAPİSİNİN TEKRARLAYAN GEBELİK KAYIPLARINA ETKİSİ: BİR META ANALİZ ÇALIŞMASI

ORIJİNALLIK RAPORU

% 25 BENZERLİK ENDEKSİ	% 22 İNTERNET KAYNAKLARI	% 3 YAYINLAR	% 10 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
----------------------------------	---------------------------------------	------------------------	---------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	dergipark.gov.tr İnternet Kaynağı	% 9
2	www.journalagent.com İnternet Kaynağı	% 3
3	www.researchgate.net İnternet Kaynağı	% 3
4	Submitted to İstanbul Medeniyet Üniversitesi Öğrenci Ödevi	% 2
5	issuu.com İnternet Kaynağı	% 1
6	DENİZ, Rulin, BAYKUŞ, Yakup and KAVAK ÇELİK, Ebru. "Tekrarlayan Erken Gebelik Kayıplarına Yaklaşım", Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2016. Yayın	% 1
7	dergipark.ulakbim.gov.tr İnternet Kaynağı	% 1