

T.C.
BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
KLİNİK EMBRİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

TÜRKİYE'DE HALK ARASINDA YAYGIN OLARAK
KULLANILAN ISIRGAN, BİBERİYE VE KEÇİBOYNUZU
BİTKİLERİNİN *in vitro* KOŞULLARDA SPERM FONKSİYONU
PARAMETRELERİNE ETKİSİ

ERDİ YILMAZ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Abdülkerim ALPINAR

İSTANBUL

2019



T.C.
BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOĞİ VE EMBRİYOLOĞİ ANABİLİM DALI
KLİNİK EMBRİYOLOĞİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

TÜRKİYE'DE HALK ARASINDA YAYGIN OLARAK KULLANILAN
ISIRGAN, BİBERİYE VE KEÇİBOYNUZU BİTKİLERİNİN *in vitro*
KOŞULLARDA SPERM FONKSİYONU PARAMETRELERİNE ETKİSİ

ERDİ YILMAZ

TEZ DANIŞMANI: Prof. Dr. Abdülkerim ALPINAR

İSTANBUL, 2019

Anabilim Dalı: Histoloji ve Embriyoloji

Program Adı: Klinik Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

Öğrencinin Adı Soyadı: Erdi YILMAZ

Danışman: Prof. Dr. Abdülkerim ALPINAR

Biruni Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Erdi YILMAZ tarafından hazırlanan "Türkiye' de Halk Arasında Yaygın Olarak Kullanılan Isırgan, Biberiye ve Keçiboynuzu Bitkilerinin İn Vitro Koşullarda Sperm Fonksiyonu Parametrelerine Etkisi" adlı tez çalışması jüri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:30/07/2019

(Jüri Üyesinin Ünvanı, Adı, Soyadı ve Kurumu)

İmza

Prof. Dr. Abdülkerim ALPINAR

Biruni Üniversitesi

Prof. Dr. Tülay İREZ

Biruni Üniversitesi

Dr. Öğr. Üyesi Nurten DAYIOĞLU

Yeni Yüzyıl Üniversitesi

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

Prof. Dr. Leman ŞENTURAN
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

I.BEYAN

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

Erdi YILMAZ



II. TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmam süresince, bilgi birikimini paylaşan, katkılarını, hoşgörüsünü ve güler yüzünü hiçbir zaman esirgemeyen, tezimi hazırlama döneminde deneyimleri ve desteği ile her zaman yanımda olan hocam Sayın Prof. Dr. Abdülkerim ALPINAR'a,

Gerek yüksek lisans eğitimim gerekse tez çalışmam boyunca sahip olduğu bilgi ve deneyimi ile desteğini esirgemeyip her daim yanımda olan hocam Sayın Prof. Dr. Tülay İREZ'e,

Yüksel Lisans eğitiminin her aşamasında hoşgörüsünü ve maddi manevi desteklerini benden esirgemeyen sevgili eşim Cemile YILMAZ'a

Her zaman yanımda olan, desteklerini ve sevgisini her daim hissettiren sevgili aileme,

Tez çalışmam sürecinde hayatımıza yeni katılan ve varlığıyla bana ilerleme gücü veren sevgili oğlum Çağlar YILMAZ' a teşekkürü ve mineti borç bilirim.

ERDİ YILMAZ

III. İÇİNDEKİLER

SAYFA NO

II. TEŞEKKÜR.....	iv
III. İÇİNDEKİLER	v
IV. SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
V. ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
VI. TABLOLAR DİZİNİ.....	x
1. ÖZET VE ANATAR KELİMELER.....	1
2. ABSTRACT.....	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. Erkek Genital Sistem	5
4.1.1. Erkek hipotalamik - hipofizer - gonadal aksın yapısı.....	5
4.1.2. Testis histolojisi	7
4.1.3. Spermatogenik hücreler	8
4.1.4. Sertoli hücreleri.....	10
4.2. Spermatogenez.....	11
4.2.1. Spermatogonial evre	11
4.2.2. Spermatozoid evre (mayoz bölünme)	12
4.2.3. Spermatozoid evre (spermiyogenezis).....	13
4.2.3.1. Akrozom gelişimi.....	13
4.2.3.2. Flagellumun (kuyruk) gelişimi.....	14
4.2.3.3. Nükleer yoğunlaşma	14
4.3. Spermatozoon Yapısı	15
4.3.1. Baş bölgesi	16
4.3.2. Boyun bölgesi	16
4.3.3. Kuyruk bölgesi.....	17
4.4. Erkek İnfertilitesi	18
4.4.1. Erkek kısırlığı tayininde kullanılan ileri tanı testleri.....	20
4.4.2. Semen analiz (spermiyogram) testi.....	20
4.4.3. Reaktif oksijen türlerinin semen üzerine etkileri	23
4.4.4. Antioksidan savunma sistemi.....	28
4.5. Medikal Bitkiler	31

4.5.1. Medikal bitkilerin fertiliteye etkileri	33
4.5.2. Isırgan (<i>Urtica dioica</i> L.)	34
4.5.3. Biberiye (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.)	36
4.5.4. Keçiboynuzu (<i>Ceratonia siliqua</i> L.)	38
5. GEREÇ VE YÖNTEM	41
5.1. Gereçler	41
5.2. Kimyasallar	41
5.3. Yöntem	41
5.3.1. Çalışmada kullanılan hasta grupları	42
5.3.2. Bitki ekstraktlarının hazırlanması	42
5.3.3. Semen örneklerinin toplanması	42
5.3.4. Semen örneklerinin çalışılması	43
5.3.5. Sperm sayısı ve motilitesinin değerlendirilmesi	43
5.3.6. Sperm vitalitesinin değerlendirilmesi	43
5.3.7. Bitki ekstraktlarının uygulanması	44
5.3.8. İstatistiksel analiz	44
6. BULGULAR	45
6.1. Semen Örneklerinin Prograsif Motilitesinin Değerlendirilmesi	45
6.2. Semen Örneklerinin Vitalitesinin Değerlendirilmesi	49
7. TARTIŞMA VE SONUÇ	52
8. KAYNAKÇA	58
9. EKLER	86
EK-1 BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ	86
“ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ”	86
EK-2 ETİK KURUL ONAYI	89
10. ÖZGEÇMİŞ	91
12. İNTİHAL RAPORU	92

IV. SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

cm	: Santimetre
kg	: Kilogram
mg	: Miligram
gr	: Gram
FSH	: Folikül uyarıcı hormo
µl	: mikrolitre
LH	: Luteinizan hormon
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
ml	: mililitre
CAMP	: Siklik adenzin mono fosfat
pH	: Power of Hydrogen
µm	: Mikrometre
mm	: Milimetre
dk	: Dakika
ROS	: Reaktif oksijen türleri
NADH	:Nikotinamit adenin dinükleotit
NADPH	: Nikotinamit adenin dinükleotit fosfat
H₂O₂	: Hidrojen peroksit
OH	: Hidroksil radikali
SOD	: Süperoksit dismutaz
GPX	: Glutatyon peroksidaz
GRD	: Glutatyon redüktaz
CAT	: Katalaz
NO	: Nitrik oksit

μM : Mikromol

WHO : Dünya Sağlık Örgütü



V. ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Şekil Adı	Sayfa No
Şekil 1.	Testis histolojisinin gösterimi (Kaya, 2010).....	8
Şekil 2.	Isırgan otu (<i>Urtica dioica</i> L.).....	35
Şekil 3.	Biberiye (<i>Rosmarinus officinalis</i> L.) bitkisi.	36
Şekil 4.	Keçiboynuzu (<i>Ceratonia siliqua</i> L.) meyvesi.	39
Şekil 5.	%0,01'lik bitki konsantrasyonlarında progresif motolite değerlerinin kontrol ve deney örneklerinde karşılaştırılması.....	48
Şekil 6.	%0,05'lik bitki konsantrasyonlarında progresif motolite değerlerinin kontrol ve deney örneklerinde karşılaştırılması.....	48
Şekil 7.	%0,1'lik bitki konsantrasyonlarında progresif motolite değerlerinin kontrol ve deney örneklerinde karşılaştırılması.....	49
Şekil 8.	Biberiye uygulaması sonrasında progresif motilite değerlerinin karşılaştırılması.	49

VI. TABLOLAR DİZİNİ

Tablo No	Tablo Adı	Sayfa No
Tablo 1.	Semen Kalitesine İlişkin Terminoloji (Kadıoğlu ve ark., 2011).	23
Tablo 2.	Normozoospermi tanısı konan 40 hastanın semen analizi sonuçları.....	45
Tablo 3.	Isırgan uygulaması sonrasında progresif motilite değerlerinin karşılaştırılması.....	46
Tablo 4.	Biberiye uygulaması sonrasında progresif motilite değerlerinin karşılaştırılması.....	46
Tablo 5.	Keçiboynuzu uygulaması sonrasında progresif motilite değerlerinin karşılaştırılması.....	47
Tablo 6.	0,1 mg/ml'lik bitki konsantrasyonlarında progresif motilite değerlerinin karşılaştırılması.....	47
Tablo 7.	Isırgan uygulaması sonrasında vitalite değerlerinin karşılaştırılması.....	50
Tablo 8.	Biberiye uygulaması sonrasında vitalite değerlerinin karşılaştırılması.....	50
Tablo 9.	Keçiboynuzu uygulaması sonrasında vitalite değerlerinin karşılaştırılması.....	51
Tablo 10.	0,1 mg/ml'lik bitki konsantrasyonlarında vitalite değerlerinin karşılaştırılması.....	51

1. ÖZET VE ANAHTAR KELİMELER

Kısırlık, %50'sine erkek faktörün neden olduğu tahmin edilen, dünya genelindeki çiftlerin %9'unu etkileyen bir durumdur. Erkek kısırlığının, genetik mutasyonlar, yaşam tarzı, tıbbi hastalıklar ve ilaçlar gibi çeşitli nedenleri bulunmaktadır. Son çalışmalar, spermatozoanın oksidatif strese karşı oldukça hassas olduğunu göstermektedir. Medikal bitkilerin, antioksidan olarak sperm kalitesi ve doğurganlık üzerindeki yararlı etkileri olduğunu iddia eden çalışmalara rağmen, spermatozoa üzerindeki etkilerini *in vitro* koşullarda değerlendiren sadece birkaç çalışma bulunmaktadır. Bu tez çalışmasının amacı, ısırgan (*Urtica dioica* L.), biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) ve keçiboynuzunun (*Ceratonia siliqua* L.) insan sperm parametreleri üzerindeki etkisini değerlendirmektir. Semen örnekleri Bahçelievler Medikal Park Hastanesine başvuran normozoospermli 40 hastadan alındı. Örnekler ısırgan otu, biberiye ve keçiboynuzu ekstraktlarının %0.1, %0.05 ve %0.01 konsantrasyonlarda 30 dakika, 1 saat ve 24 saat boyunca muamele edildi. Sperm motilitesi ve vitalite parametreleri WHO'nun kriterlerine göre değerlendirildi. Sonuçlar, progresif sperm motilitesi ve vitalitesinin normozoospermli örneklerde ısırgan, biberiye ve keçiboynuzu ekstraktının *in vitro* uygulamasıyla iyileştirildiğini göstermiştir. Progresif sperm motilitesi için, anlamlı farklılıklar ısırgan ve biberiye için 30. dakika, 1. ve 24. saatlerde gözlemlendi ($p=0.001$). Benzer şekilde, farklı konsantrasyonlardaki keçiboynuzu ekstraktlarında 1 ve 24 saat için gözlemlenen farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulundu ($p=0.01$). Ek olarak, ısırgan, biberiye ve keçiboynuzu ekstraktı uygulaması sonrasında 24. saatin sperm vitalitesi için istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlemlendi. Bununla birlikte, keçiboynuzu ekstraktı uygulaması sonrasında da 1. saatte önemli farklılıklar bulundu. Sonuçlara göre, ısırgan, biberiye ve keçiboynuzu ekstraktı progresif motilite ve vitaliteyi iyileştirerek insan spermatozoası üzerinde doğrudan koruyucu etkiye sahip olabilir.

Anahtar kelimeler: Erkek infertilitesi, Bitkisel antioksidanlar, Motilite, Vitalite

2. ABSTRACT

The Effects of Rosemary, Carob and Stinging Nettle Plants in Widely Used in Turkey to The Sperm Functions Parameters During *in vitro* Conditions

Infertility is a prevalent condition affecting an estimated 9% of couples worldwide who fail to conceive and male factor contributes to 50% of the issues. Male infertility has a diversity of causes, ranging from genetic mutations to lifestyle choices to medical illnesses or medications. Recent studies demonstrate that spermatozoa are extremely vulnerable to oxidative stress. In spite of studies that claimed the beneficial effects of medical plants as antioxidant on sperm quality and fertility, only a few studies were addressed to evaluate their effects on spermatozoa *in vitro* conditions. Main aims of the present thesis study were to assess the influence of nettle (*Urtica dioica* L.), rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and locust bean (*Ceratonia siliqua* L.) on human sperm parameters. Semen samples were obtained from forty normozoospermia patients who were admitted to Bahcelievler Medical Park Hospital. Semen samples were treated with nettle, rosemary and locust bean extracts 0.1%, 0.05% and 0.01% concentrations for 30 min, 1 and 24 hours. Semen parameters, including sperm motility and vitality were evaluated according to WHO criteria. Main results demonstrated that progressive sperm motility and vitality were enhanced in normozoospermia samples by *in vitro* treatment with nettle, rosemary and locust bean extracts. For progressive sperm motility, significant differences were observed at 30 min, 1 and 24 hours by treatment nettle and rosemary ($p=0.001$). Similarly, differences observed in different concentration of locust bean extracts were found to be statistically significant for 1 and 24 hours ($p=0.01$). Additionally, statistically significant differences in sperm vitality were observed at 24 hours by treatment nettle, rosemary and locust bean extracts. However, significant differences were also found to be at 1 hour by treatment locust bean extracts. According to the results, nettle, rosemary and locust bean may have a direct protective effect on human spermatozoa by enhancing progressive sperm motility and vitality.

Key words: Male infertility, Herbal antioxidants, Motility, Vitality.

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Korunmasız 1 yıl süreye rağmen çocuk sahibi olamayan çiftlerin dünya genelinde %15'inde infertilite sorunu görülebilmektedir (Mosher, 1985; Barratt et al., 1990). Çiftlerde erkeğe bağlı infertilitenin görülme sıklığı %50'lere kadar çıkabilmektedir. Erkek infertilitesinin nedenlerinin pek çoğunun korunabilir ve tedavi edilebilir faktörlerden kaynaklı olabilmesi erkek infertilitesinin tanı ve tedavisinin önemini daha da arttırmaktadır. Son yıllarda üremeye yardımcı tedavi yöntemlerindeki gelişmelere rağmen erkek üreme sağlığının iyileştirilmesi, kaliteli spermin daha az girişimsel yöntemle elde edilmesi hedeflenmektedir. Erkeğe bağlı infertilitenin altında yatan problemler arasında varikosel, idiyopatik-açıklanamayan-infertilite, obstrüksiyon, inmemiş testis, immünolojik mekanizmalar, ejakulasyon bozukluğu, testiküler yetmezlik, ilaç-radyasyon etkisi ve endokrin bozukluklar sayılabilmektedir (Sigman, 1987). Bununla birlikte, bu nedenlerin pek çoğunun hücre düzeyinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) neden olduğu oksidatif strese bağlı ortaya çıktığı ya da ROS artışı ile hücrede patolojisini tamamladığı düşünülmektedir (Aitken and Clarkson, 1987).

Hidrojen peroksit (H_2O_2), nitrik oksit (NO), peroksinitrit gibi ROS'ların spermatozoada fazla miktarda bulunması spermde DNA hasarına neden olarak infertil erkeklerin %30-80'inde infertilitenin potolojisinin gelişmesinde önemli katkılarının olduğu vurgulanmaktadır (Aitken and Clarkson, 1987; Agarwal et al., 2004). Antioksidanlar ROS'ların zararlı etkilerini engelleyen ya da azaltan moleküller olarak tanımlanmakta olup oksidatif stres antioksidanlarda azalma ve/veya ROS'ların aşırı üretimi sonucunda antioksidanların yetersiz kaldığı durumlarda ortaya çıkmaktadır. Oksidatif stres, hücrede lipitlere, proteinlere ve DNA'ya saldırarak mitokondriyal aktiviteyi ve sperm motilitesini azaltmakta ve paternal genomda hasar oluşturabilmektedir (Bennetts and Aitken, 2005). Bununla birlikte, vitamin C ve E, Koenzim Q10, glutatyon ve selenyum gibi antioksidanların özellikle idiyopatik erkek infertilitesinin tedavisinde destek amaçlı kullanımlarının sperm kalitesinin artırılması yönünde olumlu etkilerinin olduğu gözlemlenmiştir (Twigg et al., 1998; Garrido et al., 2004; Balercia et al., 2009).

Bitkiler, geçmişten günümüze gıda endüstrisinden ilaç endüstrisine, kâğıt endüstrisinden matbaacılığa, tekstil endüstrisinden kozmetik endüstrisine, mobilyacılıktan petrol ve kimya endüstrisine kadar birçok alanda kullanılmaktadır. İnsanlık tarihi boyunca sarılıktan nefes darlığına kadar birçok hastalık bitkiler kullanılarak tedavi edilmeye çalışılmış ve çalışılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütüne (WHO) göre bu yönelim gelişmiş, gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde medikal bitkilerin ekonomik sebeplerden dolayı ilaçlara alternatif olarak düşünülmesinin yanı sıra ülkelerin kendi kültür ve doğal kaynaklarına bağlamaktadır (Zhang, 2013). Türkiye, coğrafi konumu, iklim ve bitki çeşitliliği, tarımsal potansiyeli, geniş yüzölçümü bakımından medikal ve aromatik bitkiler konusunda dünyanın önde gelen ülkelerinden biridir (Bayram ve ark., 2010). Özellikle Çin gibi, bitkilerle tedavinin yoğun olarak kullanıldığı ülkelere yapılan çalışmalar incelendiğinde 1659 hastayı içeren 15 çalışmada, medikal bitkilerin gebelik oranlarında önemli bir artışa neden olduğu gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra ovulasyonda artma, düşük sayısında azalma, servikal mukusta düzelmeler de saptanmıştır (Tan ve ark., 2012). Yine medikal bitkilerin yoğun bir şekilde kullanıldığı başka bir ülke olan Hindistan'da yapılan bir çalışmada ise ginseng bitkisinin seminal plazmada vitamin A, C, E ve antioksidanların seviyelerini arttırdığı gösterilmiş ayrıca, Hindistan'da medikal bitkilerin erkek ve kadınlar için kontraseptif yöntem olarak da kullanıldığı kayıtlara geçmiştir (Shahin et al., 2009; Agarwal and Allan, 2010).

Bu tez çalışmasında, Türkiye'de halk arasında medikal etkileri bilinen ısırgan, biberiye ve keçiboynuzu bitkilerinin *in vitro* koşullar altında sperm kalitesine olan etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Bu amaçla tez kapsamında, 30 dk, 1s ve 24 s olmak üzere üç farklı zaman aralığında 0,1mg/ml ısırgan, 0,05 mg/ml ısırgan, 0,01mg/ml ısırgan, 0,1mg/ml biberiye, 0,05mg/ml biberiye, 0,01mg/ml biberiye, 0,1mg/ml keçiboynuzu, 0,05mg/ml keçiboynuzu, 0,01 mg/ml keçiboynuzu (1:1) (ekstrakt:semen) olmak üzere farklı konsantrasyonlarda bitki ekstraktarı normozoospermi tanısı konmuş hasta örneklerine uygulanmıştır. Uygulama sonrasında, semen analizi yapılarak ısırgan, biberiye ve keçiboynuzu bitkilerinin sperm kalitesinin iyileştirilmesi yönündeki etkileri değerlendirilmiş ve karşılaştırılmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Erkek Genital Sistem

Erkek üreme sistemi testisler, genital kanallar, yardımcı bezler ve penisten oluşarak haploid erkek gametinin (spermatozoonun, spermin) devamlı üretiminden, beslenmesinden, geçici olarak depolanmasından, erkek seks hormonlarının sentezinden ve salınımından sorumludur (Kierszenbaum, 2002). Testis, hormon ve spermi üretirken genital kanallar (epididimis, vaz deferens, ejakülatuar kanal, erkek üretrası) ve yardımcı bezler (seminal vezikül, prostat bezi, bulbo üretral bezler) düz kas kasılmalarının yardımı ile birlikte spermatozoonları dışarıya gönderen salgıları üretmektedirler. Bununla birlikte, üretilen bu salgılar erkek üreme sistemi içerisinde bulunan spermere gerekli besinleri sağlarlar. Spermiler ile genital kanallar ve yardımcı bezlerin salgısı, penisten ejakülasyon yoluyla atılacak olan dişi üreme sistemine iletilen semen sıvısını (meni) oluştururlar (Junqueira and Carneiro, 2006; Ross and Pawlina 2010).

4.1.1. Erkek hipotalamik - hipofizer - gonadal aksın yapısı

Erkek üreme sistemi çeşitli kontrol mekanizmalarının etkisi altında olup genetik kontrol mekanizmasından sonra devreye beyin cinsel başkalaşımından sorumlu olan hormonal kontrol mekanizmaları devreye girmektedir (Demirtaş ve Pişkin, 2009). Erkek üreme fonksiyonlarının hormonal kontrol mekanizmaları, hipotalamus-hipofiz-testisler (gonadal) aks tarafından sağlanmaktadır (de Krester et al., 2000). Bu mekanizma, çeşitli geri besleme sistemleri olan bir endokrin sistem olarak da adlandırılmaktadır. Erkek hipotalamus-hipofizer-gonadal aksın temel iki işlevi bulunmaktadır. Birincisi, reproduktif performans için gerekli olan eşey hormonlarının fizyolojik miktarlarda salgılanmasını kontrol etmek, bir diğeri ise döllerin devamlılığı için gerekli olan sağlıklı spermatogenetik hücrelerin oluşmasının ve olgunlaşmasının sağlanmasıdır. Aksın; hipotalamus, ön hipofiz ve testisler olmak üzere üç ana bileşeni bulunmakta ve bu üç bileşen birçok endokrin, parakrin ve otokrin etkileşim ile birlikte birbirini etkilemektedir. Hipotalamustan salgılanan gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH), kısa bir dolaşım ile yüksek konsantrasyonlarda ön hipofizdeki reseptörler aracılığıyla gonadotropik hücreleri uyarırlar ve bu hücrelerden luteinleştirici hormon (LH) ve folikül stimüle edici

hormon (FSH) salgılanmasını sağlarlar. Ön hipofiz ile testisler arasında direk bir dolaşım olmadığından LH ve FSH sistemik dolaşıma katılarak testislere ulaşmaktadırlar. LH, testislerdeki Leydig hücrelerini uyararak testosteron salınımına yol açarken, FSH Sertoli hücrelerini uyararak başta seks-hormon bağlayıcı globülin (SHBG) ve inhibin olmak üzere onlarca molekülün salgılanmasına yol açmakta spermatogenezin başlatılması ve devam ettirilmesinde rol almaktadır (Moore and Dalley, 1995; Snell, 1998; April, 1998; Sancak ve Cumhuriyet, 1999; Dere, 1999).

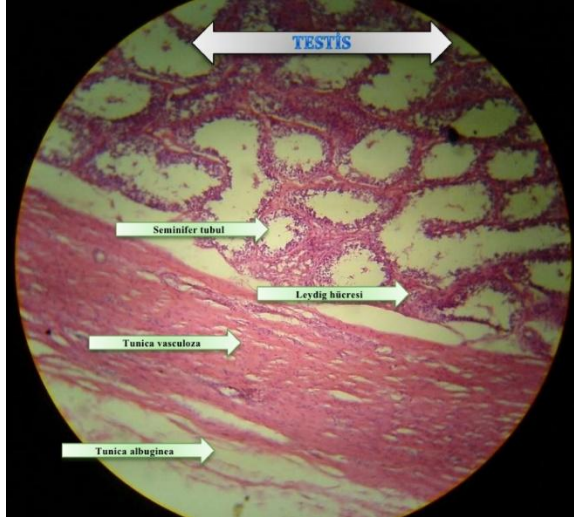
Hipotalamus-hipofizer-gonadal aksın çeşitli basamaklarda geri besleme sistemleri ile düzenlenen bir endokrin sistem olduğu bilinmektedir. Leydig hücrelerinin ilk olarak erkeklerde gelişimin 8. haftasında testiküler kordonlar oluşuktan sonra ortaya çıktığı gösterilmiş, bu hücrelerin gelişimi ile birlikte androjenlerin saptanır hale gelir ve erkek üreme sistemi farklılaşmaya başlamaktadır (Polin and Fox, 1992). Yapılan çalışmalar, plasentadan salgılanan insan korionik gonadotropini (hCG) hormonunun Leydig hücrelerinin gelişiminden ve androjen salınımından sorumlu olduğunu göstermiştir (El Gehani et al., 1998, Majdic et al., 1998). Erken gebelik döneminde fetal hipofizin salgılama yeteneğine sahip olduğu bilinmektedir. Gebeliğin ortalarında FSH ve LH hormonları pik yaparken, gebeliğin son dönemlerinde hCG hormonunun uyarısının kesilmesine bağlı olarak Leydig hücrelerinde kısa süreli bir gerileme gözlemlenmektedir. Bu durum, FSH ve LH hormon düzeylerinin düşmesine sebep olmaktadır (Weinbauer et al., 2000). Bunu takip eden süreçte postnatal yaşamın 2-3. aylarında Leydig hücreleri tekrar farklılaşmaya başlar ve kısa süreli serum testosteron düzeylerinde artış gözlemlenmektedir (Main et al., 2000). Bununla birlikte, pubertal gelişime kadar Leydig hücreleri tekrar bir gerilemeye başlayarak testisler ve hipotalamus-hipofizer-gonadal aks sessiz bir döneme girer.

Serum LH ve FSH düzeyleri 6-8, testosteron düzeyi 10-12 yaşlarında tekrar artış gösterirken hipotalamustan, gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) pulsatil salınımının ise 12 yaşında düzene girdiği gösterilmiştir (Bradtke, 1999). Ön hipofiz bezi, gonadotropin salınımı için özelleşmiş olan ve GnRH tarafından uyarılan gonadotropinler içermekte olup GnRH üç tip salınım göstermektedir (de Krester et al., 2000). Birinci salınım tipi mevsime bağlı olup haziran-temmuz aylarında pik yaparken, erken kış ve ilkbahar aylarında ise en düşük seviyelere indiği gösterilmiştir (Andersson et al., 2003). İkinci salınım tipi sirkadiyen ritim yani biyolojik saattir. Bu

mekanizmanın işleminde melatonin hormonunun sorumlu olduğu düşünölmekte olup sabahın erken saatlerinde testosteronun en yüksek serum düzeylerine ulaşmasından sorumludur. Üçüncü salınım tipi ise pulsatil salınım tipidir ki bu GnRH'ın her 90-120 dk'da bir pik yapmasıdır. Bununla birlikte, pulsatil salınım mekanizması tam olarak bilinmemekte ancak noradrenerjik uyarıların rolü olabileceği düşünölmektedir (Lopez et al., 1998). GnRH hormonu, ön hipofizden LH ve FSH hormonlarının salgılanmasını sağlayarak LH ve FSH hormonlarının hücrese metabolizmayı uyarmak için Leydig ve Sertoli hücrelerindeki reseptörlerine bağlanmasını sağlar. LH ve FSH hormonlarının Leydig ve Sertoli hücrelerindeki reseptörlere bağlanmasının gonadal hormonların üzerinde inhibitör etki yaptığı gösterilmiştir. FSH hormonu, Sertoli hücrelerindeki reseptörlere bağlanarak bu hücreleri uyarır ve seminifer tübül epitelinde spermatogenezi başlatırken, LH hormonu ise intertisyumdaki Leydig hücrelerini uyarak testosteron üretiminin başlamasını sağlar. Testislerde üretilen önemli bir hormon olan testosteron, erkeklerde LH salınımının birincil inhibitörü olarak bilinmektedir (de Krester and Robertson, 1989). Bununla birlikte, kortikotroplar, laktotroplar, büyüme hormonu ve tiroid uyarıcı hormonlar erkek üreme sistemi üzerine önemli etkilere sahip diğer önemli hormonlardır (Weinbauer et al., 2000).

4.1.2. Testis histolojisi

Testisler karın boşluğunun dışında skrotum içinde funikulus spermatikus ile asılı duran bir çift organ olup yan kısımları yassılaşımış, 4-5 cm uzunluğunda, 2-3 cm genişliğinde, 3 cm kalınlığında ve ortalama 10-15 gr ağırlığındadır. Testisler periton ile sarılmadan önce karın boşluğunun arka duvarında gelişmeye başlar ve bu periton kesesi daha sonra tunika vaginalise dönüşerek testisin skrotum içerisinde hareketli olmasına olanak sağlar (Şekil 1). Ortalama bir testisin testiküler hacmi 20 ml olarak saptanmıştır. Yapılan bir çalışmada, FSH, LH ve prolaktin hormonları ile testis hacmi arasında doğrusal bir ilişki olduğu saptanmıştır (Jensen et al., 1995). Testisler, erkek üreme hücresi olan spermilerin üretiminden ve androjenlerin sentezi, depolanması ve salınımından sorumludur. Bununla birlikte, testislerin ekzokrin ve endokrin salgı işlevleri de bulunmaktadır (Gartner and Hiatt, 2009; Akay, 2001). Testislerin düzenli çalışabilmesinde, hipofiz bezi ile Leydig ve Sertoli hücreleri arasındaki hormonal ilişki oldukça önemlidir (Clermont, 1972).



Şekil 1. Testis histolojisinin gösterimi (Kaya, 2010).

Oval bir bez olan testis, tunika albuginea adı verilen yoğun bağ dokusundan oluşan kalın bir kapsülle sarılır ve en dış kısımdaki visseral katman olan tunika vajinalis ise kapsülü dıştan sarar. Testisin arka kenarında kapsülün kalın bir katlanma şeklinde içeriye doğru uzandığı kısım “mediastinum testis” adını alır. İnce fibröz bölmeler, mediastinumdan ışınsal olarak uzanarak yaklaşık 250 adet lobülü oluşturmaktadır (Ovalle and Nahirney, 2009). Her bir lobülde ana işlevi spermlerin üretimi olan 1-4 adet gevşek bağ dokusu ile sarılı, kıvrımlı yapıda seminifer tübüller bulunmaktadır (Gartner and Hiatt, 2009). Bu bağ dokusu bol miktarda kan ve lenf damarları, sinir dokusu ve Leydig hücreleri adı verilen interstisyel hücrelerini içermektedir ve bu hücrelerde testis androjenlerini salgılamaktadırlar (Junqueira and Carneiro, 2006).

4.1.3. Spermatogenik hücreler

Spermatogenik hücreler, bazal membran üzerine yerleşmiş ve tübül duvarını döşeyen epitelin çoğunluğunu oluşturan düzenli sıralanmış hücreleri oluşturmaktadırlar (Aydos, 2007). Bununla birlikte, hücreler geliştikçe tüp kenarından lümeneye doğru yer değiştirmektedirler (Davidoff et al., 1993; Turek, 2004). Spermatogenik hücreler, seminifer tübülde bazaldan lümeneye doğru spermatogonyum, spermatosit, spermatid ve spermiyum olmak üzere dört farklı hücre tipi olacak şekilde sıralanmaktadırlar (Junqueira and Carneiro, 2006).

Spermatogonyumlar, bazal lamina ile doğrudan ilişki halinde olan 12 µm çapında diploid spermatogenik hücreler olup bazal laminanın hemen üstünde yer alan

diğer hücrelere kıyasla daha küçük hücrelerdir (Kierszenbaum, 2002; Junqueira and Carneiro, 2006). Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların altında yerleşim gösterirler. Bu nedenle, Sertoli hücreleri arasındaki yerleşimde kan-testis bariyerinin dışında yer almaktadırlar. Puberte başlangıcında testosteron hormonunun etkisiyle birlikte mitoz bölünme ile çoğalmaya başlamaktadırlar (Gartner and Hiatt, 2009). Yapısal olarak üç ana spermatogonyum tipi gözlemlenmektedir. Koyu A (A dark, Ad) tipi spermatogonyum, açık A tipi (A pale, Ap) spermatogonyum ve B tipi spermatogonyumdur (Clermont, 1972).

Ad tipi spermatogonyumlar bazal lamina tabanı üzerine yerleşmiş seminifer epitelin kök hücreleridirler. Bu hücreler, hücre döngüsüne girmez, depo hücreleridir ve düzensiz olarak mitozla bölünerek hem yeni Ad tipi spermatogonyumları hem de Ap tipi spermatogonyumları meydana getirmektedirler (Ross and Pawlina, 2010). Ap tipi spermatogonyumlar ise işlevsel olarak hayat boyu spermatogenezde aktif olarak rol oynarlar (Meachem et al., 2001; Ehmcke et al., 2006). Ap tipi spermatogonyumlar her hücre döngüsünde kendilerini yenilerler ve bu hücrelerin döngüsü Ad tipi hücreler göre daha hızlıdır. Ap tipi spermatogonyumlar, Ad tipi spermatogonyumlar gibi mitoz ile çoğaldıklarında Ad tiplerinden farklı olarak sitoplazmik bölünmeleri tam olarak gerçekleşmez ve birbirine sitoplazmik köprüler ile bağlı kalırlar. Böylece, Ap tipi spermatogonyumundan mitoz ile türeyen diğer seri hücreler de birbirlerine bağlı kalarak bir hücre kolonisi oluştururlar. Bu bağlantılar spermiomorfogeneze kadar sürer ve testosteron hormonunun etkisiyle birlikte Ap tipi spermatogonyumları mitozla bölünerek spermatogenezde etkin bir rol oynayan B tipi spermatogonyumları oluştururlar (Ross and Pawlina, 2010). Spermatogonyumlar arasında en çok bulunan tip B tipidir ve bazal lamina üzerinde yer alarak bağlantıları daha azdır. Bununla birlikte, diğer spermatogonyumlardan farklı olarak B tipi spermatogonyumlar, hem mitoz bölünme ile hem de mayoz bölünme ile çoğalabilirler. B tipi spermatogonyumlar mayoz bölünme ile çoğaldıklarında primer spermatositleri oluşturmaktadırlar (Junqueira and Carneiro, 2006; Ross and Pawlina, 2010). Primer spermatositler, spermatogenik seri hücrelerinin en iri ve tübül duvarında en çok görülen hücreleridirler (Moore and Persaud, 2002). Spermatositler, Sertoli hücreleri arasındaki bağlantıların oluşturduğu kan-testis bariyerinin hemen üzerinde seminifer tübülün adluminal kompartmanında yer almaktadırlar. Bunun nedeni, spermatositlerin mayoz bölünmenin her iki aşamasında da spermlere karşı

spesifik antikörlerin üretilmesini engellemektir (Kierszenbaum, 2002; Seçkin, 2008). Spermatozitlerin spermiyumlara dönüşme süreci olan spermiyogenez ya da diğer adıyla spermiomorfogenez sırasında spermatozitler, bolca hidrolitik enzim depolayarak organellerini azaltır daha sonra da sitoplazmalarının bir kısmını atar ve flagellumla ilgili yapılarını şekillendirirler (Gartner and Hiatt, 2009).

4.1.4. Sertoli hücreleri

Seminifer tübüllerin bazal membranı üzerinde lümene kadar uzanan büyük, oval ya da üçgen şeklinde olan ökromatin yapıda destek hücreleridir. Çekirdek ortasında yerleşik, büyük, belirgin bir çekirdekçik bulunmaktadır (Ovalle and Nahirney, 2009; Ross and Pawlina, 2010). Sertoli hücreleri, oluşturdukları kan-testis bariyeri ile seminifer epitelyumunu bazal ve adluminal kompartman olmak üzere ikiye bölerler. Sertoli hücreleri, puberteye kadar seminifer tübüllerde epitel dokuda dominant hücre tipi olarak gözlemlenseler de puberteden sonra seminifer tübüllerin sadece yaklaşık %10'nu kadarını oluşturmaktadırlar. Bununla birlikte, daha ileri yaşlarda spermatogenik hücre popülasyonu düzeyindeki azalış Sertoli hücrelerinin tekrar seminifer epitelin ana elemanı haline gelmesini sağlar (Kierszenbaum, 2002).

Spermatogenik seri hücreleri birbirlerine sitoplazmik köprüler ile bağlıdırlar ve hücrelerin bir arada buldukları bu ağ sistemi Sertoli hücrelerinin sitoplazmik uzantıları ve yüzeylerinde bulunan kriptaları yoluyla etkileşim kurarak besin maddelerinin ve metabolitlerinin alınıp verilmesini sağlamaktadır. Seminifer tübüllerin iç kısımları ile kan arasında büyük bir bariyer yer almasına rağmen büyük moleküllerin geçişi sağlanabilmektedir. Bu sayede, spermatogonyumlar kanda bulunan besin maddelerine ve metabolitlere ulaşabilmektedirler. Bu aşamada Sertoli hücrelerinin oluşturdukları bariyerin birçok işlevi bulunmaktadır. Sertoli hücrelerinin oluşturduğu bariyerler gelişmekte olan spermatogenik hücelere karşı destek, beslenme ve koruma görevini üstlenirler. Bununla birlikte, Sertoli hücrelerinin sağladığı mekanik destek spermatogenik hüceleri birçok patolojik etmene karşı da korumaktadır. Spermiyogenez sonunda spermatidler tarafından atılan atıklarda Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilerek lizozomları tarafından parçalanmaktadır. Sertoli hücreleri aynı zamanda inhibin adı verilen peptid salgılanmasını gerçekleştirerek FSH sentezini de baskılamaktadır (Junqueira and Carneiro, 2006).

4.2. Spermatogenez

Spermatogenez, erkek bireylerde puberte ile başlayıp spermatogoniumların proliferasyonu, mayoz ve spermiyogenez aşamalarından oluşan germ hücrelerinin olgun sperm hücresine dönüştüğü karmaşık bir süreçtir (Parks et al., 2003; Ross ve Pawlina, 2010). Spermatogenez sırasında sitoplazmik yapı değişerek somatik hücrelerde histonlar protaminlerle yer değiştirmektedir (Ross and Pawlina, 2010).

Embriyonik ve fetal gelişim döneminde, spermatogonyumlar primordial germ hücrelerinden köken alırken yeni doğan erkek çocuklarında ise seminifer tübüller, germinal epitelden köken alan Sertoli hücreleri ve daha az olmak üzere spermatogonyumlar tarafından kuşatılmışlardır. Puberteye yaklaştıkça spermatogonyumlar artmakta ancak gelişme bununla sınırlı kalmaktadır. Puberteden itibaren ise sperm üretimi başlar ve ortalama 45 yaşına kadar aktif olarak sürmektedir. 45 yaşından sonra ise erkeklerde sperm üretimi azalmasına rağmen tüm yaşam boyunca devam etmektedir (Karagöz, 2002). Spermatogenez, LH ve FSH hormonlarının kontrolü altında gerçekleşmektedir (Gartner and Hiatt, 2009).

Spermatogenez, tam farklılaşmamış diploid (2n) spermatogenik hücrelerden özelleşmiş haploid (n) sperm hücrelerinin geliştiği bir olaylar dizisidir. Bu hücrelerin geçirdiği evreler 3 fazdan oluşmaktadır. Bunlar; spermatogonial evre (spermatositogenezis), mayoz bölünme evresi (spermatosit evre) ve spermatid (spermiyogenezis) evresidir. Spermiyogenezis sürecini tamamlayan spermatidlerin Sertoli hücrelerinin apikal sitoplazmasından serbest kalması ise spermiyasyon olarak adlandırılmaktadır (Kierszenbaum, 2002).

4.2.1. Spermatogonial evre

Spermatogonial evrede, spermatogoniumlar bazal kompartmanda bazal lamina ile direkt ilişki halinde olan diploid (2n) spermatogenik hücrelerdir ve pubertede başlayarak başarılı mitotik bölünmeler geçirirler. Sertoli hücrelerinin sıkı bağlantısının altında yer alırlar, bu nedenle kan-testis bariyerinin de dışında kalırlar (Gartner and Hiatt; 1997; Ross et al., 2003). Bununla birlikte, morfolojik olarak üç tip spermatogonial hücre tanımlanmıştır. Bunlar; Koyu tip A (Ak) spermatogoniumlar, açık Tip A (Aa) spermatogoniumlar ve tip B spermatogoniumlardır.

Koyu tip A (Ak) spermatogoniumlar, 12 µm çapında, ovoid çekirdekli yuvarlak şekilli heterokromatince zengin hücrelerden oluşmuşlardır. Bu hücreler, seminifer tübüllerdeki kök hücre rezervlerini oluşturarak mitozla bölünür ve diğer koyu tip A spermatogoniumları ve açık tip A spermatogoniumları oluşturma yeteneğine sahiptirler. Düzensiz bölünmeler geçirerek kök hücre olarak kalabilecekleri gibi koyu tip A ya da açık tip A spermatogoniumlarına dönüşebilirler (Gartner and Hiatt; 1997; Ross et al., 2003). Yapılan çalışmalar doğrultusunda halen daha bu dönüşümü tam olarak neyin tetiklediği ya da hangi hücrenin oluşmasında hangi mekanizmanın görev aldığı bilinmemesine rağmen bir görüşe göre c-kit transmembran tirozin kinaz resöptörünün sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar reseptör varlığında spermatogoniumların spermatositleri yapacak şekilde çoğalmaya devam ettiklerini gösterirken reseptör olmadığında ise bu hücrelerin kendilerini yenilemeye devam ettiklerini göstermiştir (Ohta et al., 2003; Li et al., 2008).

Açık tip A (Aa) spermatogoniumlar ise açık renk boyanan çekirdeklere sahip oval ve ince granüler kromatinleri vardır. Granüllü endoplazmik retikulum, mitokondri ve az sayıda da golgi aygıtı içermektedirler. Açık tip A spermatogoniumları, proliferasyon aşamasında testosteron ile uyarılırlar ve mitoz bölünme sonucunda sayılarını arttırarak tip A ve tip B spermatogonium hücrelerini oluştururlar.

Tip B spermatogonium hücreleri en çok bulunan spermatogonium tipi olup bazal lamina üzerinde olmalarına rağmen bazal lamina ile olan bağlantıları azdır. Sentrik çekirdekleri yuvarlak ve çekirdekte bir ya da iki koyu renkte boyanan çekirdekçik bulunur. Sitoplazmalarında diğer A tipi spermatogoniumlara göre daha fazla ribozom bulunmaktadır. Bununla birlikte, oval yerine yuvarlak olan nükleusları dışında açık tip A spermatogoniumlarına benzemektedirler. Mitoz geçirerek primer spermatositleri meydana getirirler (Gartner and Hiatt; 1997; Ross et al., 2003).

4.2.2. Spermatozit evre (mayoz bölünme)

Mitozdan hemen sonra, Tip B spermatogoniumlar hücre döngüsünün DNA sentezi fazı olan S fazını tamamlar ve mayoz bölünmenin profaz aşamasına girerler. Birinci mayoz bölünmede yaklaşık 22 gün süren bir profaz evresinden sonra kardeş kromatit çiftleri metafaz I, anafaz I ve telofaz I aşamalarını geçirdikten

sonraseder spermatositlere dağılırlar (Kierszenbaum, 2002). Birinci mayoz b6l6nme sırasında profaz aşaması; leptoten, zigoten, pakiten, diploten ve diyakinez alt evrelerinden oluşmaktadır (Ward, 1993; De Kretser et al., 1998). Birinci mayozu takiben ikinci mayozu geçiren spermatosit h6creleri, sertoli h6crelerinin arasındaki sıkı bağlantıların hemen 6zerinde seminifer t6b6l6n adluminal b6l6m6nde yer almaktadırlar. Bu sayede, mayoz b6l6nmelerin her ikisi de kan-testis bariyerinin içerisinde gerçekleşmektedir (Ross and Pawlina, 2010). Birinci mayozda profaz evresini yavaş geçiren primer spermatositler ikinci mayoz b6l6nme sırasında hızlı bir interfaz ve b6l6nme evresi geçirirler. Bu nedenledir ki seminifer t6b6llerde primer spermatositler en çok g6zlenen h6crelerdir. İkinci mayoz sonucunda meydana gelen spermatidler spermiyogenez s6recine girerler (Kierszenbaum, 2002).

4.2.3. Spermatid evre (spermiyogenezis)

Spermiyogenezis evresi, 6 ana s6rele karakterize olarak yuvarlak yapıdaki spermatidler uzamış yapıdaki spermatidlere d6n6ř6rl6r. Bu 6 ana s6re; akrozom gelişimi, flagellumun (kuyruk yapısının) gelişimi ve n6klear yoğunlaşmadır.

4.2.3.1. Akrozom gelişimi

D6llenme için gerekli olan hidrolitik enzimlerin s6rekli sentezinin gerçekleşerek depolandığı akrozomal kesenin oluşum s6recidir. Akrozomun gelişim s6recinde 4 olgu rol oynamaktadır. Bunlar, golgi evresi, şapka evresi, akrozomal evre ve olgunlaşma evresidir. Golgi evresinde, glikoproteince zengin proakrozomal gran6ller golgi aygıtında toplanır ve tek kat fibr6z yapıda bir zarla çevrilerek akrozomal vesik6l6 oluştururlar (De Kretser et al., 1998; Kierszenbaum, 2002). Bunu takip eden s6rete akrozom vesik6l6 ve gran6l6n6n6n olduğu kısımdan 6zellikle çekirdeğin t6m6n6 saracak şekilde akrozom başlığı oluşur ve akrozomun neredeyse t6m içeriğini saracak şekilde i ve dış akrozom zarları oluşturulur. Bu aşamada, çekirdek i zarı ile i akrozom zarı arasında gran6ler filament6z bir madde meydana gelir. Ayrıca n6kleusun yoğunlaşması nedeniyle kromatinler çok daha yoğun ve koyu g6r6n6rl6r (De Kretser et al., 1998; Hassa, 2003). Spermatidlerin belirgin şekilde uzadıkları evre akrozom evresi olarak kabul edilmektedir. Bu evrede, sitoplazma spermatidin çekirdeğinin arkasına doğru flagellumun proksimaline doğru hareket eder. Bu sayede, h6crenin 6n tarafındaki membran ile akrozomun membranı arada sitoplazma kalmayacak şekilde birleşirler (Hassa, 2003). Akrozom, fertilizasyon için

gerekli olan hyalüronidaz ve proakrozin gibi hidrolitik enzimleri içerir ve ovumun döllemesi sırasında akrozom reaksiyonu gerçekleşerek bu enzimler serbest kalırlar (Gartner and Hiatt, 2007). Olgunlaşma evresinde ise artık spermatidlerin Sertoli hücreleri ile olan bağlantıları ayrılır ve serbest kalırlar. Bu aşamada, spermiyum oluşumu sırasında ortamda artan sitoplazma atıkları Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilerek ortadan kaldırılırlar (Gartner and Hiatt, 2007; Oğuz, 2013). Bununla birlikte, kreatin kinaz konsantrasyonunun spermatogenezdeki atılan fazla sitoplazmanın miktarının belirlenmesinde bir gösterge olarak kullanılabileceği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Huszar and Vigue, 1990).

4.2.2.2. Flagellumun (kuyruk) gelişimi

Flagellum yani kuyruk yapısı distal sentriyolden gelişerek keratin içeren dış yoğun fibriller ve fibröz kılıf ile çevrili eş merkez dizimli 9+2 mikrotübül aksonem yapısındadır. Spermatidin olgunlaşma evresi sırasında, mitokondriler kuyruğun proksimal bölgesinde sarmal kılıf oluşturarak flagellum boyunca dizilimlerini tamamlarlar (Gartner and Hiatt, 2007). Bununla birlikte, kuyruk uzunluk oranının ve geniş baş ekseninin spermatozoon olgunlaşmasında hassas birer işaret olduğu düşünülmektedir (Celik-Ozenci ve ark., 2003).

4.2.2.3. Nüklear yoğunlaşma

Normalde somatik hücrelerde var olan HI, H2A, H2B ve H4 histonlarının yerini lizin ve sistein yönünden zengin proaminler alır ve kromatinlerin bu proaminlerle yeniden düzenlenme geçirmesi ile birlikte kromatinler yoğun bir şekilde paketlenirler. Bu oluşuma aynı zamanda nüklear yoğunlaşma adı verilmektedir. Bu yapı spermatozoon DNA'sının daha stabil bir hale gelmesini sağlayarak korunmasını sağlar. Somatik histonların proaminlerle yer değiştirmesinin ardından, nükleozomlar kaybolur ve çekirdek materyalini yoğunlaştırmak için kromatinler yan yana dizilirler. Proaminlerin yapısındaki yoğun lizin ve sistein, disülfid çapraz bağlarının oluşmasını sağlayarak kromatinlerin daha sağlam ve dirençli bir yapı kazanarak stabilizasyonunu sağlarlar (Kierszenbaum, 2002; Avcı, 2006). Bununla birlikte, yoğun paketlenmenin gerçekleşmesinden sonra spermatozoonlarda belirgin bir RNA sentezi gözlenmemektedir (Kierszenbaum, 2002).

Spermatogenez ve spermiyogenez sırasında kromozomal proteinler üzerinde yapılan çalışmalar, spermatosit ve erken evre spermatid kromozomlarının

yapısındaki histonların somatik histonlar ve testislere özel TH1 ve TH2B histonlarından oluştuğunu göstermiştir. Bununla birlikte, ileri evredeki spermatid kromatinlerinin yapısında TP1 geçiş (tranzisyon) proteinlerinin ve TP2 olduğu, daha ileriki evrelerde ise artık protamin P1 ve P2 proteinlerinin yapıda yer aldığı gösterilmiştir (D'Occhio et al., 2007). Topoizomeraz-II enzimi DNA'nın çift iplikli yapısında bir ipliği keserek aradan bir parçanın çıkarılmasında rol oynayan bir enzim iken DNA ligaz enzimi ise kesilmiş bu iki ucun birbirine bağlanmasını katalizleyen bir enzimdir. Topoizomeraz-II tarafından kesilen DNA'da TP1 histon geçiş proteini araya girerek DNA ligaz tarafından TP1'in iki ucu orijinal DNA ipliğine bağlanması sağlanır. Sonrasında ortama gelen protoaminler ise TP1 üzerinde aralarında disülfid bağları oluşturarak tutunurlar. Bu sayede, kromatin iplikleri birbirlerine daha da yakınlaşarak daha yoğun bir katlanma geçirmeleri sağlanır. TP1 geçiş histonunun eksikliğinde bu yapının bozulduğu, kondensasyonun gerçekleşmediği gösterilmiştir. Buna ek olarak, TP1 histonunun DNA kırıklarının tamirinde de rol oynadığı yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir (Kierszenbaum, 2001; Seli ve Sakkas, 2005).

Spermiyogenez sürecince kromatinin yeniden düzenlenerek modellenmesinin 3 önemli fonksiyonu olduğu düşünülmektedir (Braun, 2001). Bunlardan biri spermin çekirdeğinin azalan büyüklüğü ve şekli düşünüldüğünde spermin içine sığmasını sağlamaktadır. Ayrıca spermin bu şekli fertilitede hidrodinamik yapının oluşmasında önemlidir (Ostermeier et al., 2001; Malo et al., 2006; Gomendio et al., 2007). İkinci olarak ise protaminasyon süreci sperm genomunu nükleaz saldırısına ve radyasyona karşı dayanıklı hale getirmektedir (Rathke et al., 2010). Son olarak ise seçilen post-mayotik histonların tutulumunun yani diğer bir deyişle histonların yeniden paketlenmesi sırasında bazı bölgelerin değişmeden paketlenmiş olarak kalması zigotun erken gelişiminde kullanılmak üzere tercih edilen gen bölgelerinin bulunduğunu ortaya koymaktadır ki bu durum gelişimin devam etmesi açısından oldukça önemlidir (Gatewood et al., 1987; Hammoud et al., 2009; Brykczynska et al., 2010).

4.3. Spermatozoon Yapısı

Bir spermatozoon baş, boyun ve kuyruk yapısı olmak üzere üç bölgeden oluşur ve toplam uzunluğu yaklaşık olarak 60 µm kadardır. Baş kısmının boyu 3-5 µm ve eni 2-3 µm'dur. Spermatozoonun başının temel görevi; DNA materyalini taşımak, korumak ve zarar görmeden aktarılmasını sağlamaktır (Erdemir ve ark., 2011).

4.3.1. Baş bölgesi

Baş bölgesi, lizozomun bulunduğu akrozom, fertilizasyon için oosite tutunma bölgesi olan ekvator bölgesini ve akrozom sonrası bölgeyi de içermektedir. Plazma zarının hemen altında bulunan akrozom zarı arkaya doğru katlanarak tekrar ön tarafa doğru gelir ve katlanma yaptığında oluşan iki zarlı yapının arasında ise birçok hidrolitik enzimi barındırmaktadır. Bu bölgeye, akrozomal matriks adı verilir ve hyaluronidaz ve akrozin gibi esas gibi enzimin yanı sıra nöraminidaz, aril sülfataz, asit ve alkalın fosfotaz, glikosidaz, β -N-asetilgalaktosaminidaz, β -N-asetilglukosaminidaz (NAG), β -galaktosidaz, β -glukosidaz, β -glukuronidaz enzimleri de bulunmaktadır. Akrozin, proakrozin olarak inaktif bir şekilde spermatozoonda bulunan bir proteazdır ve akrozomun fertilizasyon sürecinde zona pellucidayı eritmesinde başlı başına bir rolü bulunmaktadır. Akrozom tepkimesi oosit ile temas ettiği sırada gerçekleşir ve akrozom kesesinin içeriği ekzositoz ile salınır. Bu reaksiyon, spermin oosite sıkıca bağlanmasına yardımcı olan proteinlerin de ortaya çıkmasını sağlamaktadır (Mack et al., 1983; Ross and Pawlina, 2010).

Akrozomun altında onu çekirdekten ayıran ince tabakaya peri-nüklear madde adı verilir ve bu madde disülfid bağları ile sağlamlaştırılmıştır. Akrozom ile çekirdek arasında sert bir yapı oluşturarak çekirdeğin üzerinde kesintisiz bir tabaka oluşturarak üzerini kaplayan bu madde, post akrozom kılıfını oluşturmaktadır (Kierszenbaum, 2002; Ross and Pawlina, 2010).

Spermatozoonun DNA'sı baş bölgesindeki çekirdekte bulunmakta olup bu yapı lizin ve sistein bakımından oldukça zengin olup disülfid çapraz bağları bakımından da zengindir. Bu durum çekirdek yapısına da sağlamlık ve dayanıklılık kazandırmaktadır. Çekirdek haploid sayıda DNA içermekte olup oosite girmeden ve protaminler yapısından ayrılmadan önce aktive olamaz (Gartner and Hiatt, 2007; Ross and Pawlina, 2010).

4.3.2. Boyun bölgesi

Boyun bölgesinin yaklaşık uzunluğu 0,3 μ m olup yapısında segmentli kolonlardan oluşan bağlantı parçası ve proksimal sentriol bulunmaktadır. Proksimalde iki çift bölünmüş fibröz, 2 major ve 2 minör fibriller oluşturarak başın alt kısmında birleşmektedir. Distalde ise bu yapı üst üste çapraz bir yapı oluşturarak orta parçanın dış fibrilleri ile birleşmekte bu durum boyun bölgesinin esnek olmasını

sağlayarak baş ve orta parça arasındaki gerilimi azaltarak esnemeyi sağlar. Bununla birlikte, distal sentriol spermiyogenezin ileri evrelerinde ortadan kalkmaktadır. Bunlar aksonemin oluşumu sırasında önemli rol oynamaktadırlar. Proksimal sentriol 9 adet üçlü dış mikrotübülden oluşurken ortada mikrotübül çifti bulunmamaktadır (Gartner and Hiatt, 2007; Ross and Pawlina, 2010).

4.3.3. Kuyruk bölgesi

Kuyruk bölgesi, spermin enerji üretiminden sorumlu oldukça hareketli bir bölgedir. Aksonem ise 9 dış çift ve ortada bir çift mikrotübül yapısından oluşan kuyruğun önemli bileşenlerinden biridir. Mikrotübüllerin ana yapısında tübülün proteini bulunmaktadır. Tübülün proteini α ve β formu olmak üzere iki formda bulunmaktadır. α mikrotübülünde ve merkezdeki tübüllerde 13 adet protofilament bulunurken β tübülünde 10 adet protofilament bulunmaktadır. Her α tübülünden β tübülüne doğru $\text{Ca}_2\text{-Mg}_2$ bağımlı ATPaz proteini olan dynein kolları kuyruğun hareketini sağlamaktadır. Her 9 çift dış mikrotübül komşu mikrotübül çiftleri ile neksin adı verilen bir protein ile bağlanır ve bu elastik yapı aksonemin simetrisinin korunmasında önemlidir (Gartner and Hiatt, 2007; Ross and Pawlina, 2010). Bir diğer önemli yapı ise spermatozoonun aksonem etrafında bulunan ve kuyruğun sertliğinde rol oynadığı düşünülen yoğun dış liflerdir. Bu lif yapısı sistince zengin kreatin benzeri proteinlerden oluşur ve yaygın disülfid çapraz bağları içermektedir. Bu liflerin kaybı, kuyruk yapısında esas parçanın eğriliğine neden olmaktadır (Kierszenbaum, 2002).

Spermatozoonun kuyruk yapısı orta, esas ve son parça olmak üzere üç kısımdan oluşmaktadır. Orta parça, 3,5 μm uzunluğunda ve aksonemin etrafının bir sarmal şeklinde sarılmasından sorumludur. Bu sarmalın ortalama 11-15 döngüsü bulunmakta ve her döngüsüne de ortalama 2 mitokondri düşmektedir. Aksonemin çevresini bir kılıf gibi saran orta parça her türe özgü farklı sayıda mitokondrinin arka arkaya dizildiği bir sarmaldır.

Esas parçanın yapısında aksonemin çevresi kalın fibriller, fibröz kılıf ve plazma membranı tarafından sarılmıştır. Uzun parçanın çapı yaklaşık 0,5 μm ve uzunluğu 40 μm 'dur. Yapısındaki kılıf, iki periferik yarım daire sütun şeklindeki fibröz kılıf ile sarılırken fibröz kılıfın yapısı sıkı bir şekilde bir araya gelmiş filamentlerden oluşmaktadır. Bununla birlikte, disülfid bağları bakımından zengin bir

yapıya sahip olan fibröz kılıf oldukça sıkı ve dayanıklı olup kuyruk hareketlerini kısıtlayarak kontrol eder.

Fibröz kılıfı takip eden distal ucunda kuyruk yapısının son parçası başlar ve 3 µm uzunluğundadır. Kuyruğun bu son kısmında kalan fibriller ve fibröz tabaka kaybolmaktadır. Önce dynein kolları yok olurken daha sonra merkezdeki mikrotübül çiftleri kaybolmaktadır. Dıştaki mikrotübül çiftlerinden ikisi ortaya hareket ederek dışta kalan 7 mikrotübül ise ortadaki ikisinin etrafını sarmaktadır. Bu sırada ise β tübülleri de açılarak kaybolmaktadır. Kuyruğun ucuna doğru aksonemin mikrotübül yapısı böylece sona ermektedir (Gartner and Hiatt, 2007; Ross and Pawlina, 2010).

4.4. Erkek İnfertilitesi

İnfertilite, bir çiftin herhangi bir doğum kontrol yöntemi kullanmaksızın bir yıl boyunca düzenli ilişkiye girmesine rağmen gebelik elde edilememesi durumu olarak kabul edilmektedir. İnfertiliteye nedenlerinin bir kısmı genetik temellere dayanırken bir kısmı da fiziksel temellere dayanarak daha sonradan oluşabilmektedir (Simpson, 1990). Evli çiftlerin yaklaşık olarak %10-15'inde infertilite olgusu görülmektedir (Barratt et al., 1990). Dünya genelinde 32 kliniği içine alan çok merkezli yapılan bir çalışmaya göre, infertil çiftlerin sadece %30-40'ında erkek faktörü infertilite sebebi olarak karşımıza çıkmaktadır (Comhaire et al., 1987). Bununla birlikte, infertil tanısı konan erkeklerin %12'sinin 4 yıl içerisinde gebelik oluşturabildikleri gözlemlenmiştir. Bu nedenle, klinik araştırmalar sırasında erkek sistematik olarak incelenmelidir. Erkek infertilitesinde ilk ve temel tetkik spermogramdır (Burrows et al., 2002; Gardner et al., 2004; WHO, 2010). Genel değerlendirme, anamnez, fizik muayene ve ejakulatın laboratuvarında incelenmesi aşamalarını kapsamaktadır. Hastanın öyküsü ayrıntılı bir şekilde alınmalıdır. Buna; infertilite öyküsü, cinsel yaşam öyküsü, çocukluk çağı hastalıkları ve gelişim öyküsü, geçirdiği enfeksiyonlar, geçirilmiş operasyonlar, gonadal toksinlere maruziyet, sistemik hastalıklar, kullanılan ilaçlar ve aile öyküsü de dâhildir. Erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde tıbbi ve üreme öyküsü, bir ürolog ya da bu konuda uzman bir kişi tarafından yapılmış fiziksel muayene ve en az iki semen analizi gereklidir. Bunların sonuçlarının değerlendirilmesine göre ek semen analizi, endokrin değerlendirme, postejakulatuar idrar analizi, ultrasonografi, semen ve

spermle ilgili özel testler ve genetik tarama gibi ek testler istenebilmektedir (Gardner et al., 2004; Gartner and Hiatt, 2007; WHO, 2010; Önder, 2011).

Yapılan çalışmalar spermatozoon morfolojisi ile fertilizasyon potansiyeli arasında önemli bir bağlantı olduğunu ortaya koymaktadır. Günümüzde kabul edilen normal semen, spermatozoonlar ile testis ve epididimis salgısının ejakülasyon sırasında prostat, seminal vesiküller ve bulboüretal bezlerinin salgıları ile birleşmesi ile oluşmaktadır. Semen ya da ejakülat adı verilen bu sıvının viskozitesi yüksektir (Işık ve Vicdan, 1999; Delilbaşı, 2008). Semen kalitesi ise, spermatozoonların semen içerisindeki sayısına, motilitesine ve morfolojisine bakılarak değerlendirilmektedir. Bu parametreler içerisinde spermatozoon morfolojisi bir erkeğin çocuk sahibi olabilme potansiyelini gösteren en önemli ölçütlerden biri olarak kabul edilmektedir (Hassa, 2003). Bununla birlikte, normal fertil erkeklerde bile zaman zaman semen değerleri büyük değişiklikler gösterebilmekte ve normal değerlerden farklılıklar gösterebilerek normal değerlerin altına düşebilmektedir. Bu nedenle, halen daha semen parametrelerinin değerlendirilmesi gibi konularda bazı karışıklıklar bulunmaktadır (Kruger et al., 1987).

Erkek infertilitesinin belirgin başlıca nedenleri olarak sperm üretim bozuklukları, sperm kanallarındaki tıkanıklıklar, sperme karşı antikor varlığı, testis travması, hormonal bozukluklar, anatomik problemler, stres, alkol kullanımı, geçirilmiş hastalıklar, geçirilmiş operasyonlar, enfeksiyonlar, bazı ilaçlar, gen mutasyonları, anöploidiler varikosel, radyasyon, kemoterapi ve erektil disfonksiyonlar sayılabilmektedir. Bununla birlikte, infertil erkeklerin %50'sinde bu neden belirgin olmayabilmektedir ve bu sebeple bu tür vakalar idiyopatik infertilite olarak tanımlanmaktadır (Payan-Carreira et al., 2013).

Semen analizi, 2-7 günlük cinsel perhiz sonrasında alınan taze semende gerçekleştirilen makroskobik ve mikroskobik değerlendirmeleri kapsamaktadır. Bu aşamada, sperm sayısı, hareketliliği ve morfolojisi değerlendirilmektedir. Bununla birlikte, semen analizi spermin bütün fonksiyonlarını göstermediği için tek başına fertilite durumunu göstermemektedir. Buna karşılık, infertilitenin başlangıç değerlendirilmesinde kolay ve yararlı bir test olarak kabul edilmektedir ve semen analizi sonrasında bir anormallik görülmesi durumunda devamında tanı koyucu

testler yapılarak bu duruma göre tedavi yöntemlerine başlanmaktadır (Dubin and Amelar, 1971; Akal ve Selçuk, 2013).

4.4.1. Erkek kısırlığı tayininde kullanılan ileri tanı testleri

Günümüzde erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde ilk adım olarak rutinde semen analizi kullanılmaktadır. Bununla birlikte, erkek infertilitesinin yaklaşık olarak %15'inde semen analiz sonuçları normal olarak değerlendirilmesine rağmen infertilitenin sebebi kesin olarak belirlenmemektedir. Bu nedenle, çoğu zaman daha ileri tetkiklere ihtiyaç duyulabilmektedir. Yapılan çalışmalar, düşük motilite ve anormal morfolojilere sahip vakalarda sperm DNA hasarının yüksek olabileceğini göstermiştir. Ayrıca, semen analizi sonrasında normal semen parametreleri gösteren hastaların sadece %8'inin sperminde DNA hasarı olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur (Jensen et al., 2004).

Son yıllarda yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar, *in vitro* fertilizasyon (IVF) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyon (ICSI) uygulamalarından önce sperm DNA hasar tespitinin yapılmasının uygulamanın başarısını artırdığı yönündedir (Jensen et al., 2004). DNA hasarının tespit edilmesinde en sık kullanılan yöntemler Sperm Kromatin Yapı Tayini (SCSA), Akridin Turuncu Testi (AOT), Toludin Mavisi (TB), Anilin Mavisi, TUNEL, Asıl kırık Okuma Tayini (NT), Tek Hücre Jel Elektroforezi (COMET), Sperm Kromatin Ayrılma Testi (SCD) ve Mitokondrial DNA Mutasyon Testleridir. Ancak testlerin sonuçları değerlendirilirken her yöntemin tespit etmiş olduğu DNA hasarının hangi bölgede olduğu ve sonuçların testin standartları içerisinde değerlendirilmesi oldukça önemlidir. Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre, bir erkeğin semen analizi sonrasında semen profiline karar verilmesinde dikkat edilmesi gereken bazı kriterler bulunmaktadır. Öncelikle en az iki semen analizi yapılmalı ve bu semen analizlerinin her birinin arası 7 günden az ya da 3 haftadan uzun olmamalıdır. Bununla birlikte, eğer bu iki analiz arasında çok ciddi farklılıklar mevcut ise testler mutlaka tekrarlanmalıdır (WHO, 2010).

4.4.2. Semen analiz (spermiyogram) testi

Semen analizi bir diğer adıyla spermiyogram testi, bir erkeğin üreme potansiyelinin belirlenmesi amacıyla kullanılan başlıca testlerden biri olup eğer erkeğin üreme potansiyeli ile ilgili herhangi bir problem var ise nasıl bir tedavi

yöntemi izlenilmesi konusunda bilgi sahibi olunmasını da sağlamaktadır. Sperm sayısı ve semen yoğunluğu günlük değişebilen olgular oldukları göz önüne alındıklarında semen analiz testinin en az iki defa 2-3 hafta arayla tekrarlanarak değerlendirilmesi gerekmektedir (Huang and Lu, 2007; Gottardo and Kliesch, 2011).

Semen analizi sırasında incelenen parametreler makroskobik ve mikroskobik olmak üzere iki ana başlıkta incelenmektedir. Makroskobik inceleme sırasında semenin, hacim (miktar), renk, reaksiyon (pH), vizkozite, likefaksiyon değerlendirmeleri yapılırken mikroskobik inceleme sırasında spermatozoa sayısı (ml başına ve total), motilite, yerinde hareketli (NP), ileri hareketli (PR) veya hareketsiz (IM), lökosit, eritrosit, canlılık, yuvarlak hücre sayısı, morfolojik değerlendirme (baş-boyun-kuyruk açısından normal % - anormal %) gerçekleştirilir. Bu değerlendirmelere göre, semen hacmi DSÖ kriterlerine göre 1,5-6 ml arasında olmalıdır. 6ml'den fazla olması durumu hiperspermik, 1 ml veya daha az olması ise hipospermik olarak kabul edilmektedir. Semen rengi ise normalde opak ve grimsidir. Bununla birlikte, uzun süreli cinsel perhiz durumlarında sarı, semende eritrositlerin bulunması durumunda kırmızı-kahverengi, uzun süreli antibiyotik kullanımından sonra ise renksiz görünebilmektedir. Normal semenin pH değerleri 7,2-8,0 arasında olmalıyken bu değer 7'nin altında olduğu azospermi olgularında; boşaltma kanallarının tıkanıklığı, veziküla seminalde kronik enfeksiyonlar ve idrarın semene karıştığı gibi olasılıklar düşünülmelidir. Ejakülasyon sırasında normalde akıcı olan semen veziküla seminalis tarafından salgılanan protein kinaz enziminin etkisiyle koagüle olarak 10-30 dk içerisinde kendiliğinden likefiye olması gerektiği kabul edilmektedir. Likefaksiyon süresinin uzaması viskozitenin arttığına işaret etmekte olup bu durum istenmeyen bir olgudur. Normal kabul edilen kriterler içerisinde semen hafif visközdür. Bununla birlikte, prostat enfeksiyonu ya da vezikülit gibi kronik enfeksiyon durumlarında vizkozite artabilmektedir. Semende bulunan yuvarlak hücre miktarının sayımı ise mikroskobik gözlem ve sayımın yanı sıra Leucoscreen testi ile de doğrulanır. Yuvarlak hücre konsantrasyonunun 1 ml semende 1×10^6 'dan fazla olması durumunda örnek lökospermi olarak kabul edilmektedir ki semende yuvarlak hücre sayısının yüksek miktarı enfeksiyon göstergesi olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, Dünya Sağlık Örgütüne (DSÖ) göre lökositlerin belirlenmesinde ayrıca peroksidaz boyama tercih edilmelidir. İnfertil erkeklerde, lökositospermi insidansının %10-20 oranında olduğu

gösterilmiştir. Ayrıca yapılan çalışmalar, semende anormal sperm morfolojisi ve lökositlerin aynı anda bulunmalarının reaktif oksijen türlerinde (ROS) artışa neden olduğunu bununda oksidatif stresin bir göstergesi olduğunu göstermektedir (Alshahrani et al., 2014).

Dünya Sağlık Örgütü(DSÖ) kriterlerine göre sperm analizindeki normal değerler;

- ✓ Volüm (hacim): 1.5-6.5 ml
- ✓ Sperm konsantrasyonu: 15 milyon/ml ve üzeri
- ✓ Sperm hareketliliği: %40 ve daha fazla
- ✓ Sperm morfolojisi: %4 ve üzeri normal yapıda olmalıdır.

Sperm hareketliliği de belli bir zaman aralığında incelenir ve hareket tiplerine göre;

- +4 – ileri, doğrusal ve hızlı hareketli sperm,
- +3 – İleri ve hızlı hareketli sperm,
- +2 – kendi etrafında dönen sperm,
- +1 – hareketsiz sperm olarak kabul edilmektedir.

Buna göre, spermiyogram testinin sonucuna göre semende hiç sperm olmaması “azospermi” ve sperm sayısının azlığı “oligospermi” ve hareketlilik oranında azalma “astenospermi”, yapı ya da morfoloji bozukluğu için “teratospermi” terimleri kullanılmaktadır. Bununla birlikte, semen analizinin sonucuna göre spermiler ile ilgili yapılan tanımlamalar sorunun doğasına göre “Astenoateratospermi” ya da “Oligoastenoateratospermi” gibi kombine şekilde de yapılabilmektedir (Tablo 1).

Tablo 1. Semen Kalitesine İlişkin Terminoloji (Kadioğlu ve ark., 2011).

Aspermi	Semen yok (retrograd ejakülasyon var veya yok)
Astenozoospermi	İleri hareketli spermelerin (PR) yüzdesi alt referans limitin altında
Astenoteratozoospermi	Hem ileri hareketli spermelerin (PR) hem de morfolojik olarak normal spermelerin yüzdesi alt referans limitlerinden düşük
Azospermi	Ejakülatta hiç sperm yok
Kriptozoospermi	Taze preparatlarda sperm olmamasına rağmen santrifüjlenmiş pellette gözlenir
Hemospermi (Hematospermi)	Ejakülatta eritrositlerin varlığı
Lökospermi (lökosito-spermi, piyospermi)	Ejakülatta eşik değer üstünde lökosit varlığı
Nekrozoospermi	Ejakülatta düşük yüzdede canlı ve yüksek yüzdede cansız sperm
Normozoospermi	Alt referans limitlerine eşit ya da yüksek toplam sperm sayısı, ileriye doğru hareketli ve morfolojik olarak normal spermatozoa yüzdeleri
Oligoastenozoospermi	Alt referans limitlerinden düşük toplam sperm sayısı ve ileri hareketli spermatozoa yüzdesi
Oligoastenoteratozoospermi	Alt referans limitlerinden düşük toplam sperm sayısı, hem ileri hareketli hem de morfolojik olarak normal spermelerin yüzdeleri
Oligoteratozoospermi	Alt referans limitlerinden düşük toplam sperm sayısı ve morfolojik olarak normal spermelerin yüzdesi
Oligozoospermi	Alt referans limitinden düşük toplam sperm sayısı
Teratozoospermi	Alt referans limitinden düşük yüzdede morfolojik olarak normal sperm

4.4.3. Reaktif oksijen türlerinin semen üzerine etkileri

İnfertilite insanları hem ruhsal hem de fiziksel olarak etkileyen bir tıbbi durum olmasının yanı sıra erişkin erkeklerin yaklaşık %6'sının infertilite ile karşı karşıya olduğu gözlemlenmiştir (Purvis and Christiansen, 1992). Son yıllarda erkek infertilitesinde bir neden olarak kabul edilen reaktif oksijen türleri (ROS), ayrıntılı olarak çalışılmaya başlanmış spermatozoa için normal seviyelerde ROS miktarının hücre faaliyetlerinin devamlılığının sağlanabilmesi açısından önemli olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bununla birlikte, oksijenin reaksiyona girmesi sonrasında reaksiyon ürünü olarak ortaya çıkan ROS'ların hücre fonksiyonları ve yaşamının devamlılığı

açısından zararlı etkileri de mevcuttur (de Lamirande and Gagnon, 1995). Spermatozoada oksidatif stres, hücre içi ve hücre dışı toplam ROS seviyelerinin ortamdaki antioksidan kapasitesini aştığı zaman ortaya çıkmaktadır (Hammoud et al., 2007). Dahası, oksidatif stres sperm DNA hasarları ile ilişkili bulunmuş ve bu durumda infertiliteye, düşüğe ya da sorunlu embriyo gelişimine neden olabileceği gösterilmiştir (Aitken et al., 1998; Zorn et al., 2003; Henkel et al., 2004; Ozmen ve ark., 2007).

ROS molekülleri; radikal (hidroksil iyonu, süperoksit, NO, peroksil) ve radikal olmayan (ozon, tekli oksijen, lipit peroksit, hidrojen peroksit) molekülleri olmak üzere geniş bir dağılım göstermektedir. Bununla birlikte, reaktif nitrojen metabolitleri (nitroz oksit, peroksinitrit, nitroksil iyonu) serbest nitrojen metabolitleri (NO) olup bunlarda ROS'un alt sınıfı olarak kabul edilebilmektedirler (Darley-Usmar et al., 1995). Yapılan çalışmalar, NO'nun da en az ROS'lar kadar normal sperm üzerinde hem hareketi hem de zona birleşmesini engelleyen zararlı etkilerinin olduğunu ortaya koymuştur (Wu et al., 2004).

Günümüze gelene kadar yapılan çalışmalar ROS'ların spermatozoanın fizyolojisinde etkili roller oynayarak spermatozoanın fertilizasyon kabiliyeti için önemli ve gerekli olduğunu ortaya koymaktadır (Aitken, 1999). Düşük seviyedeki ROS varlığının fertilizasyon, akrozom reaksiyonu, hiperaktivasyon, hareket ve kapasitasyon için gerekli olduğu ortaya konmuştur (Agarwal et al., 2004; Sanchez et al., 2010). Aitken'nin 1995 yılında yapmış olduğu bir çalışmada, spermatozoalar düşük miktarda hidrojen peroksitte bekletilmiş ve sperm kapasitasyonu, hiperaktivasyonu, akrozom reaksiyonu ve oosit füzyonu açısından incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda, düşük miktarda hidrojen peroksitte bekletilen spermatozoaların sperm kapasitasyonu, hiperaktivasyonu, akrozom reaksiyonu ve oosit füzyonunun indüklendiği gösterilmiştir. Bir diğer yapılan çalışmada ise, süperoksit anyonunun kapasitasyon ve akrozom reaksiyonunu arttırdığı gösterilmiştir (Griveau et al., 1995). Buna ek olarak, ROS'ların sperm-oosit etkileşiminde de görevli olduğu gösterilmiştir (Agarwal et al., 2007).

Yağlar, proteinler, nükleik asitler ve şekerler gibi neredeyse bütün hücrel bileşenler ROS'ların birer hedefi durumdadır ve oksidatif strese neden olmaktadır. Bununla birlikte, oksidatif strese bağlı hasarın derecesi; ortamdaki ROS miktarına,

ROS'lara maruz kalma sürelerine ve diğer birtakım hücre dışı faktörlere de bağlıdır. Yağlar özellikle sperm plazma zarında doymamış yağ asitleri şeklinde bulduklarından oksidasyona en açık moleküller olup ROS'lar hücre zarı üzerinde bulunan doymamış yağ asitlerine hücum ederek lipit peroksidasyonu denilen bir kimyasal reaksiyon zincirini başlatırlar. Lipit peroksidasyonunun ürünlerinden bir tanesi olan malondialdehit aynı zamanda spermatozoanın maruz kaldığı peroksizomal hasarın bir göstergesi olarak biyokimyasal testlerde de kullanılmaktadır (Aitken et al., 1994a). Bu tür testlerin sonuçları sperm fonksiyonları, hareket bozuklukları ve sperm-oosit füzyon kapasitesi ile ilgili değerli orantılar sunmaktadır (Aitken et al., 1993).

Semende ROS'ların başlıca kaynağı spermatozoa ve lökositlerdir (Garrido et al., 2004). Spermatozoalardaki ROS üretimi iki şekilde gerçekleşmektedir. Bunlardan biri sperm plazma zarında bulunan nikotinamid adenin dinükleotit fosfat (NADPH) oksidaz ve diğeri de mitokondride bulunan NADPH bağımlı oksido-redüktaz sistemidir (Aitken et al., 1992). Fertil erkeklerde yıkanmış ve yıkanmamış semen örneklerinde ROS değerleri çok düşük bulunurken (Sharma et al., 2001), infertil erkeklerde bu oran anlamlı miktarda yüksek bulunmuştur (Brooks, 1980). Bununla birlikte, infertil erkeklerde yıkanmış örneklerde yıkanmamış örneklere oranla ROS değerleri daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir (Venkatesh et al., 2004). Semende 1×10^6 /ml'den fazla lökosit miktarı lökositospermi olarak kabul edilirken sperm kalitesinde düşüklük, azalmış hiperaktivasyon ve bozulmuş sperm fonksiyonları gibi olguların zaman zaman lökositospermi ile ilişkili olduğu düşünülmüştür (Wolff, 1995). Buna rağmen azalmış sperm kalitesi ve bozuk sperm fonksiyonları ile seminal lökosit konsantrasyonları arasında bir ilişki kurulamamıştır (Aitken et al., 1994b). Bununla birlikte, enfeksiyon ve inflamasyon lökositleri aktive eder ve aktive olan lökositler antijenlere karşı savaşta aktive olmayan lökositlere göre 100 kat daha fazla ROS ürettiği gösterilmiştir (Plante et al., 1994). Bu nedenle, spermatozoaların ürettiği ROS seviyelerinin doğru olarak değerlendirilebilmesi için ortamdan lökositlerin uzaklaştırılması gerekmektedir. Bu amaçla kullanılan çeşitli yöntemlerden biri gradient ayırıştırma yöntemi iken bir diğeri lökosit antijeni CD45'e karşı oluşturulmuş monoklonal antikolarla kaplanmış paramanyetik tanecikler ya da ferrofluid ile sperm üzerindeki lökositleri inkübe

etmek ve lökositlerin uzaklaştırılmasıdır (Aitken and West, 1990; Aitken et al., 1996).

Yapılan çalışmalar sonucunda, artan ROS seviyeleri, azalan sperm motilitesi ile ilişkili bulunmasına rağmen altında yatan mekanizma tam olarak halen daha anlaşılammıştır (Agarwal et al., 1994). Bir hipoteze göre, hidrojen peroksit hücre membranını geçerek spermatozoada ROS üretimini arttırmak için elektron kaynağı olarak kullanılacak olan NADPH'ların içinde elde edilmesini sağlayan heksoz monofosfat şantı yolu ile glukoz-6-fosfat dehidrojenaz gibi bazı yaşamsal enzimlerin işlevini engellemektedir (Aitken et al., 1997). Bir diğer hipoteze göre ise aksonemal proteinlerin fosforilasyonunda ve sperm hareketliliğinde azalma ile sonuçlanan bir dizi olay sperm-oosit füzyonunda gerekli olan membran akışkanlığında azalmaya neden olmaktadır (de Lamirande and Gagnon, 1992).

Yapılan çalışmalar gece bekletilen örneklerde spermatozoa hareket azalmasının lipit peroksidasyonu ile yakından ilişkili olduğunu göstermiştir (Gomez et al., 1998). Spermatozoanın hareketlerinin korunmasında hücre zarını lipit peroksidasyonundan koruduğu bilinen vitamin E ile yapılan çalışmalar ümit vaat eden sonuçlar ortaya koymaktadır (Kessopoulou et al., 1995).

ROS'lar hücrede DNA'ya saldırarak DNA da hasara neden olmaktadır. Bu durum, düşük fertilizasyon oranlarına, implantasyon bozukluklarına, gelişim ve gelişme geriliklerine ve yüksek abort oranlarına neden olabilmektedir (Henkel et al., 2004; Ozmen ve ark., 2007). Oligoastenoteratospermi teşhisi konmuş hastalarda ROS seviyeleri ve aksonemal bozukluk miktarı yapılan çalışmalarda yüksek bulunmuştur (El-Taieb et al., 2009). Spermatozoalarda DNA hasarı oksidatif strese bağlı olabildiği gibi aynı zamanda enfeksiyona ve spermiyogenez defektine de bağlı olabilmektedir (Kodama et al., 1997; Aitken et al., 2007). Yüksek DNA hasarı hücrenin apoptoza gitmesine neden olmaktadır (Aitken et al., 2007). Oksidatif stresin DNA'da neden olduğu hasar mekanizmaları; nükleotid değişimi, tek nükleotidlik delesyonlar, delesyonlar, çerçeve kayması, insersiyonlar, çapraz bağlantılar ve kromozomal değişimler şeklindedir. Bununla birlikte, DNA'da tek ya da çift zincir kırıklarının sık tekrarlanması da ROS'lar ile ilişkili bulunmuştur (Duru ve ark., 2000). 2009 yılında Tunç ve Tremellen'nin yapmış oldukları çalışma, artan ROS seviyelerinin DNA kırıklarında artışa ve DNA metilasyonlarında azalmaya neden olduğunu göstermiştir.

ROS'un neden olduğu tek nukleotid değişimlerinin semen kalitesini düşürdüğü de gözlemlenmiştir (Spiropoulos et al., 2002).

Spermatozoada DNA hasarı seviyesi düşük olduğunda genellikle spermatozoa kendini tamir edebildiği gibi fertilizasyon sonrasında oositin de hasarlı olan spermatozoayı tamir yeteneği mevcuttur. Bununla birlikte, DNA hasar seviyesi yüksek ise hücre apoptoza gidebildiği gibi embriyo abortu da gerçekleşebilmektedir (Agarwal et al., 2007). Y kromozomunda meydana gelen DNA hasarının yeni nesillerde infertiliteye neden olabileceği hatta yüksek ROS seviyelerine sahip infertil erkeklerin fertil olanlara kıyasla daha fazla kromozom kırığı taşıdığı gözlemlenmiştir (Cocuzza et al., 2007). Apoptoz, özellikle anormal spermatozoaların eliminasyonunu hedeflemektedir (Sakkas et al., 1999). Yüksek ROS seviyeleri iç ve dış mitokondri zararını parçalayarak kaspazların aktifleşmesinde rol oynayan sitokrom C proteinlerinin serbest kalmasını sağlayarak apoptozu başlatırlar. Spermde apoptoz hücre yüzeyi proteini Fas ve ROS'lerden bağımsız olarak da başlayabilmektedir (Lee et al., 1997). Bu nedenle, düşük sperm konsantrasyonu olan örneklerde Fas-pozitif spermatozoaların oranı daha yüksek bulunmuştur (Sakkas et al., 1999). İnfertil hastalarda oksidatif stres sonucunda oluşan apoptozun belirteci olarak sitokrom C, Kaspaz 3 ve Kaspaz 9'un seviyeleri kullanılmaktadır ve apoptozun varlığında bunların değerleri artmaktadır (Wang et al., 2003). Buna ek olarak, erken apoptozun belirteci olarak kullanılan anneksin V, infertil erkeklerin olgun spermatozoalarında fertil bireylere kıyasla daha yüksek bulunduğu gözlemlenmiştir (Agarwal et al., 2003).

Varikoselin, genel popülasyonda görülme sıklığı %15-20 iken bu oran erkek faktöre bağlı infertil çiftlerde %25-40 oranlarına kadar çıkabilmektedir (French et al., 2008). Varikoseleli olan erkeklerin serum, testis ve semenlerinde ROS seviyelerinde artış tespit edilirken malondialdehit ve NO seviyelerindeki yükseklik lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Koksal ve ark., 2003; Turkyılmaz ve ark., 2004). Bu bireylerin semen örneklerinde IL-1 ve IL-6 sitokinleri ile ROS'larda artış belirlenmiştir (Richardson et al., 2008). Bu hastalara uygulanan varikoselektomi sonrasında seminal sıvıda süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve vitamin C gibi antioksidanlar artarak sperm kalitesinin düzeldiği tespit edilmiştir (Mostafa et al., 2001).

4.4.4. Antioksidan savunma sistemi

Antioksidanlar, ROS'lara karşı bir substratın oksidasyonunu ile savaşıyor, engelleyen ya da azaltan ve düşük konsantrasyonlarda okside edilebilen moleküller olarak tanımlanmaktadır. Antioksidanlar, ROS'ları hücre içerisinde yağlara, proteinlere ve nükleik asitlere saldırmadan önce stabilize ve inaktive etme yeteneğine sahiptirler (Çaylak, 2011; Derviş, 2011). Bu nedenle, ROS'ları hücre içinde oluşum ve hasarını engellemek için vücutta antioksidan savunma sistemleri mevcuttur (Altan ve ark., 2006).

Antioksidanlar, hücreyi ilaçların, karsinogenlerin, ksenobiyotiklerin ve toksik moleküllerin istenmeyen reaksiyonlarından korumaktadırlar (Mercan, 2004). Bu amaçla, antioksidanların fonksiyonları değerlendirildiğinde işlevleri koruma, durdurma ve tamir olmak üzere üç başlık altında toplanabilmektedir (Aksoy, 2002). Bir diğer sınıflandırmaya göre ise antioksidan savunma sistemi enzimatik olup olmadığına göre ikiye de ayrılabilir (Dündar ve Aslan, 2000). Buna göre, süperoksit dismutaz; SOD, katalaz; CAT ve glutatyon peroksidaz; GSH-Px gibi antioksidan aktivitelerini enzimatik olarak gösterenler enzimatik antioksidan savunma sisteminde yer alırken ürik asit, glutatyon, askorbat, tokoferol, glikoz, vitaminler, flavonoidler, polifenoller ve antioksidan peptitler gibi maddeler ile gerçekleştirilen deoksidasyon işlemleri enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemi içerisinde yer almaktadır (Beaudeau et al., 1996; Stait and Leake, 1996; Mates et al., 1999; Aksoy, 2002). Antioksidanlar, oksidanların vermiş oldukları hücre içi ve hücre dışı hasarı etkisiz hale getirmede önemli rol oynarlar. Hücre içi hasarın giderilmesinde enzimatik olan antioksidan savunma sistemi görev alırken hücre dışı hasarın giderilmesinde ise enzimatik sistem ile birlikte enzimatik olmayan sistem beraber çalışmaktadır (Altan ve ark., 2006).

Antioksidanlar başlıca 4 mekanizma ile ROS'ları etkisiz hale getirebilmektedirler. Bu mekanizmalar;

- 1. Süpürme etkisi (Scavenging):** Antioksidan enzimlerin ve mikromoleküllerin ROS'ları etkisi daha düşük bir moleküle dönüştürerek etkisiz hale getirmesidir.
- 2. Söndürme etkisi (Quenching):** . Vitaminler, flavanoidler, timetazidin ve mannitol gibi enzimatik olmayan moleküllerin ROS'lara bir hidrojen aktararak oksidanları inaktive etmesidir.

3. **Zincir reaksiyonlarını kırma etkisi (Chain Breaking):** Hemoglobin, serüloplazmin ve ağır metallerin oksidanları kendilerine bağlayarak inaktive etmesi durumudur.
4. **Onarma etkisi (Repair):** ROS'lar tarafından oksidatif hasara uğratılmış biyomoleküllerin onarılmasıdır (Gökpınar ve ark., 2006).

Düzgün işleyen bir metabolizmada mitokondriyal sitokrom sistemi, sitozoldeki organelleri ve molekülleri ROS'ların zararlı etkilerinden korumada oldukça etkilidir. Bununla birlikte, bu sistemin yetersiz kaldığı durumlarda antioksidan enzimler ve moleküller devreye girmektedir. Ancak, etkisiz hale getirilemeyen ROS'lar ilk olarak hücre membranındaki lipitlere saldırarak lipit peroksidasyonunu başlatırlar. Lipit peroksidasyonu sonucuna ortaya çıkan biyo-aktif ürünler hücre hasarına neden olurlar (Benzer ve Ozan, 2003). Buna rağmen, lipit peroksidasyonu sırasında yeterli düzeyde tokoferoller (E-vitamini) ve askorbik asidin (C-vitamini) bulunmasının hücre hasarını önüne geçebileceği gösterilmiştir (Gökpınar ve ark., 2006).

Yapılan çalışmalar, antioksidanların spermatozoayı ROS'ların zararlı etkilerinden koruduğunu, lökositlerin ürettiği ROS'ları ortadan kaldırdığını ve DNA'da kırıkları önlediğini göstermiştir. Buna ek olarak, sigara içenlerde semen kalitesini arttırdığı, soğğun spermatozoaya olan etkisini azalttığı, erken sperm olgunlaşmasını engellediği ve spermatozoayı destekleyerek yardımcı üreme tekniklerinin başarısını arttırdığı da gözlemlenmiştir. Seminal plazma içerisinde süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaza ek olarak askorbat, ürat, vitamin E, piruvat, glutatyon, albumin, vitamin A, ubikinol ve hipotaurin gibi enzimatik olmayan antioksidanlar da mevcuttur (Demirtaş ve Üntan, 2011).

L-Karnitin, mitokondriyal zardan yağ asitlerinin geçişinde ve asetil-CoA'dan türevlenen asetatin hücre içi depolanmasında rol oynamaktadır (Vitali et al., 1995). Bununla birlikte, L-Karnitin ve L-asetil karnitin sperm metabolizması ve spermatozoanın sahip olduğu enerjinin üretilmesinde oldukça önemlidir (Moncada et al., 1992). L-Karnitin, hücre için toksik olan asetil-CoA'yı ortadan kaldırarak hücrenin apoptoza gitmesini önlemektedir (Blackman et al., 2004). 1976'da yapılan bir çalışmada, oligoastenospermik erkeklerin seminal plazmasında fertil erkeklere

kıyasla daha az L-Karnitin belirlenmiştir (Lewin et al., 1976). Ek olarak, sperm hareketinin başlamasında epididimal lümende L-Karnitin artışına ve sperm hücresinde de L-asetil Karnitin artışına ihtiyaç olduğu düşünülmektedir (Bohmer and Johansen, 1978). Yapılan bir diğer çalışmada ise, L-Karnitin ve L-asetil karnitin tedavisi uygulanmış astenospermik erkeklerde sperm hareketliliğinde ve antioksidan kapasitesinde artış belirlenmiştir (Balercia et al., 2005). L-Karnitin bu özelliği enfekte erkeklerde artmış ROS oranlarına karşı tedavi edici bir ajan olarak kullanımının önünü açmıştır (Abd-Allah et al., 2009). İnfertil erkeklerde uygulanan L-Karnitin tedavisinden sonra ise sperm konsantrasyonlarında ve hareketliliğinde artışlar gözlemlenmiştir (Lenzi et al., 2003; Moradi et al., 2010).

Koenzim Q10, mitokondriyal solunum zincirinin önemli bir elemanı ve enerji metabolizmasında esansiyeldir. Aynı zamanda, yağda çözünebilen bir antioksidan olan Koenzim Q10, testislerde belirgin bir şekilde üretilir ve süpürücü olarak koruyucu görev yaparak indirgenmiş formu olan ubikinol semende bol miktarda bulunmaktadır (Ernster and Forsmark-Andree, 1993). İnfertil erkeklerde, seminal plazma ve sperm hücreleri incelendiğinde Koenzim Q10 seviyeleri düşük olarak tespit edilmiştir (Balercia et al., 2002). İnfertil hastalara uygulanan Koenzim Q10 tedavisinden sonra ise seminal plazma ve sperm hücrelerinde Koenzim Q10 seviyelerinde artışla birlikte fosfotidilkolin seviyelerinde ve sperm hareketliliğinde de artış gözlemlenmiştir (Balercia et al., 2004). Bununla birlikte, seminal plazma ve sperm hücresindeki ubikinol seviyelerinin de arttığı gösterilmiştir (Balercia et al., 2009).

Çinko, DNA'ya bağlanan proteinler ve çinko parmak proteinlerinin çalışmasında görev alan önemli bir kofaktördür. Aynı zamanda, bakır-çinko süperoksit dismutaz kompleksinde, DNA tamirinde, transkripsiyon ve translasyonda da görev almaktadır (Ebisch et al., 2007). Yapılan çalışmalarda, çinko seminal plazmada diğer dokulardan daha yüksek konsantrasyonlarda bulunmuştur (Sørensen et al., 1999). Seminal plazmadaki çinko miktarının sperm sayısı ile doğru orantılı olduğu gösterilmiştir (Colagar et al., 2009). Başka bir çalışmada ise seminal plazmadaki çinko değerlerinin plazma testosteron miktarı ile bağlantılı olduğu belirlenmiştir (Fuse et al., 1999).

Folat, DNA sentezi, RNA taşınması, sistein ve metiyonin aminoasitlerinin üretiminde önemli, ROS'ları süpürücü özelliği olan bir diğer antioksidan moleküldür (Joshi et al., 2001). 2002 yılında Wong et al. tarafından yapılan bir çalışmada folat ve çinko bir arada kullanılmıştır. Çalışma sonrasında, hem fertil hem de infertil erkeklerde toplam sperm sayısında artış gözlemlenmiştir. ROS'ların etkilerinin azaltılmasında kullanılan bir diğer süpürücü ajan olan N-asetil sistein ile yapılan bir çalışma sonrasında infertil erkeklerin semen hacminde, sperm hareketliliğinde, vizkozitesinde ve antioksidan kapasitesinde artış belirlenmiştir (Çiftçi ve ark., 2009).

Vitamin E, süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerini etkisiz hale getiren sperm membranının üzerinde bulunan bir membran antioksidanıdır (Agarwal et al., 2007). Astenospermik erkeklerle yapılan bir çalışmada vitamin E tedavisi uygulamasından sonra, lipit peroksidasyonunun azalmasıyla sperm hareketliliğinin ve gebelik oranlarının arttığı gözlemlenmiştir (Suleiman et al., 1996).

Vitamin C, süperoksit, hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerine etki ederek onları etkisiz hale getiren, sperm aglütinasyonunu engelleyen ve vitamin E'nin yenilenmesini sağlayan bir antioksidandır. Vitamin C'nin glutatyon ve vitamin E ile birlikte kullanıldığı çalışmalarda spermatozoada hidroksiguanin seviyesinin düşüp sperm sayısının arttığı gözlemlenmiştir (Kodama et al., 1997). Buna ek olarak, vitamin C'nin vitamin E ile birlikte kullanımının DNA kırıklarında azalmaya neden olduğu da gösterilmiştir (Greco et al., 2005).

4.5. Medikal Bitkiler

Geleneksel tıp, tamamlayıcı ve alternatif tıp geliştirmekte olan ülkelerde yaygın olarak kullanılmakla birlikte son yıllarda gelişmiş ülkelerde de geleneksel tıbbın yanı sıra tamamlayıcı ve alternatif tıbbın kullanımı da hızla artmaktadır. Tamamlayıcı ve alternatif tıbbın hızla artan kullanımına bağlı olarak 1998 yılında Amerikan Hükümeti Ulusal Sağlık Enstitüsü tarafından (NIH - The US Government National Institutes for Health) "Ulusal Tamamlayıcı ve Alternatif Tıp Merkezi (NCCAM -The US National Institutes of Health Center for Complementary and Alternative Medicine)" kurularak bu yönde araştırmaların önü açılmıştır (Corless et al., 2000). Bitkilerin tedavide kullanımları insanlık tarihi ile birlikte başlamış ve günümüze kadar modern tıpta kullanılan birçok ilaç bitkilerden elde edilmektedir (Altun ve Özden, 2004).

Bitkilerin ilaç olarak kullanımı ilişkin ilk yazılı belge M.Ö. 3000'lere dayanmakta olup özellikle Mezopotamya uygarlıklarında bitkilerin ilaç olarak kullanımlarını anlatan bu dönemlere ait tabletlere yazılmış çeşitli reçeteler bulunmuştur. Bu tabletlerde, adamotu, banotu, çöpleme, eğir kökü, haşhaş, hardal, kekik, kitre, meşe mazısı, nane, nar kabuğu, rezene, safran, terementi gibi bugün halen daha çeşitli bitkisel kökenli ilaçların yapısında gördüğümüz bitkilere rastlanmaktadır (Limet, 1978). Anadolu topraklarında Paleolitik (Yontma Taş) döneminden beri yaklaşık olarak 50.000 yıldan beri tedavi amaçlı bitkilerden yararlanıldığı sağlık kültürü tarih kayıtlarında yer almaktadır (Özbek, 2005). M.Ö. 1550 yıllarında yazıldığı tahmin edilen Ebers papirüsünde yaklaşık 77 bitkisel, hayvansal ve madensel ilaç ve 800'den fazla da reçeteye rastlanmış ve bu reçetelerde en çok adı geçen bitkiler; acımarul, dağ soğanı, ardıç meyvesi, banotu, çiğdem, hardal, hintyağı, incir, centiyane, keten, kişniş, mürver, nar, pelin otu, sakız, sarısabır, soğan, tarçın, terementi ve üzumdür (Baytop, 1999; Bayramoğlu ve ark., 2008). Yunan tıbbının babası sayılan Hipokrat'ın da bitkisel ürünlerden yararlandığından söz edilmektedir. İslam uygarlığında da İbn-i Sina ve Al Gafini'nin bitkisel tıp konusunda önemli eserleri bulunmakta olup İbn-i Sina "El Kanun fi't tıbb" kitabında sağıltıcı bitkilere ve kullanımına geniş bir şekilde yer vermiştir (Baytop, 1999).

1588 yılında Pierre Belon, 1717 yılında M. Pitton de Tournefort ve 1801–1807 yılları arasında Guillaume Antoine Olivier seyahatnamelerinde Anadolu tıbbından ve kullanılan bitkilerden bahsetmektedirler. Anadolu'da kullanılan 16. yy ile 19. yy arasında kullanıldığı özellikle yabancı araştırmacıların yapmış oldukları çalışmalarca kayıt altına alınmış yaklaşık 13.000 tıbbi bitki belirlenmiştir. Bununla birlikte, 1830-1957 yılları arasında Anadolu'da halk tarafından kullanılan yerli bitki ve özgün bitkisel ilaçlara yazılı kayıtlarda rastlanamamıştır. Türkiye'de halk tarafından kullanılan tıbbi bitkiler hakkında detaylı araştırma ilk defa 1986 yılında Sezik ve ark., tarafından yapılmıştır (Baytop, 1999).

Türkiye'de 2015 yılında II. Tıbbi ve İtri Bitkiler Çalıştayı'nda Türkiye'nin florasında, ekolojik olarak 7 farklı coğrafik bölgesinde 12 bin bitki türü bulunduğunu belirtilirken bu bitki türlerinden 4000 tanesinin endemik olduğu, 1700 tanesinin de tıbbi özellik gösterdiği belirtilmiştir. Bu çalıştayda aynı zamanda tıbbi ve aromatik özellikleri iyi bilinen 500 tanesinin ve dünya üzerindeki tıbbi bitkilerin yaklaşık

%6'sının da ülkemizde bulunduğu ve bitkisel ilaç ticaret hacminin yıllık 18-20 milyar dolar civarında olduğu ortaya konulmuştur. FAO'nun 2011 yılındaki verilerine göre, Türkiye'nin tıbbi bitki ithalatı 13 bin 106 ton iken ihracatının 59 bin 978 ton olduğu ve pazardaki payı değerlendirildiğinde Türkiye'nin %1.4 oranla 18. sırada yer aldığı görülmektedir. 2014 yılı TÜİK verilerine göre ise, tıbbi bitki ihracatının 48 bin 79 ton olduğu ve tıbbi bitkilerin dünya pazarı genelinde büyük bir yere sahip olduğunu ortaya koymuştur (Anonim, 2015). Türkiye de tıbbi bitkilerin ticaretinde dünyada önemli ülkeler arasında yer almakta ve 2012-2016 yılları incelendiğinde ithalat ve ihracat açısından, tıbbi bitkilerin ihracatının %46 artarak 49.1 tona yükseldiği, ithalatın ise %50 artarak 25.5 tona çıktığı gözlemlenmiştir. 2016 yılında Türkiye'den en çok ihracatı gerçekleştirilen tıbbi bitkiler arasında kekik, defne, kimyon ve anason bulunurken ithal edilen tıbbi bitkiler arasında çörekotu, karabiber ve zencefil ilk sıralarda yer almaktadır (Bayraktar ve ark., 2017).

4.5.1. Medikal bitkilerin fertiliteye etkileri

Bitkisel tedavilerin özellikle kullanımlarının bu kadar yaygın olmasının en önemli nedenleri düşük maliyetli ve ulaşımının kolay olmasıdır. İnfertilide yaygın olarak kullanılmalarının nedenleri arasında düşük maliyet ve kolay ulaşımın yanı sıra kimyasal ilaçların yan etkilerine duyulan endişe ve invaziv girişimin olmaması gösterilebilir. Bitkisel tedavileri kullananların profilleri incelendiği zaman ise bu çiftlerin eğitim düzeyleri düşük, az gelirli genç çiftler olduğu gözlemlenmiştir. Yapılan bir çalışmada infertil erkeklerin %31'i tamamlayıcı tedavi olarak multivitamin kapsülleri ve bitkisel ürünler kullanmışlardır (Zini et al., 2004). Başka bir çalışmada ise infertil kadınların %27'si tamamlayıcı tedavi amacıyla bitkisel karışımlar kullanmış ve kullanım nedeni olarak da "umut" ve "ilaçların yan etkilerini" göstermişleridir (Ayaz ve Yaman, 2010).

Yapılan çalışmalarda, Japon Geleneksel Tıbbi'nda kullanılan bitkilerin özellikle erkek infertilitesinde hipogonadizm ve erektil disfonksiyonda %71'e kadar başarı sağladığı bildirilmiştir (Komiya et al., 2011). İdiopatik oligospermili hastalarda yapılan çalışmalarda, hastalar iki gruba ayrılmış ve birinci gruba testosterone undecanoate gibi alopatik ilaçlar verilirken ikinci gruba bitkisel ürünler verilmiştir. 3. ayın sonunda her iki grubunda sperm sayı ve motilitesi ölçülmüş ve her iki grupta da artış gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, gruplar arasındaki kıyaslamaya

göre bitkisel ürünlerin uygulandığı ikinci grupta bu artışın birinci gruba göre daha fazla olduğu gösterilmiştir (Devi et al., 2004).

Varikoselli erkeklerin sperm kalitesinin arttırılması için yapılan bir çalışmada iki ay boyunca günlük atkestanesi preparatı kullanılmış ve kontrol grubuna kıyasla varikoselli erkeklerin sperm kalitesinin anlamlı olacak şekilde arttığı gözlemlenmiştir (Fang et al., 2010). Buna ek olarak, B12 vitamini eksikliğinin DNA sentezini etkilediği için DNA’da hasara neden olarak fertilizasyonu ve implantasyonu etkileyerek infertiliye sebep olabilmektedir. Ayrıca, bu vitaminin eksikliğinin erkeklerde impotans ve oligospermiye neden olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle, besinsel tedavi ile vitamin desteğinin sağlanmasının fertilizasyonu olumlu yönde etkileyeceği öngörülmektedir (Avcıbay and Beji, 2013; Avşar ve ark., 2013).

4.5.2. Isırgan (*Urtica dioica* L.)

Dünya genelinde çok geniş bir dağılım gösteren *Urtica* cinsinin dünyada kırtan fazla türü olduğu bilinmektedir (Bombardelli and Morazzoni, 1997). *Urtica dioica* L., saplarında birbirinin karşısına gelecek şekilde yaprak dizilimine sahip, saplarında ve yapraklarının alt kısmında yakıcı tüyler bulunan, koyu yeşil renkte bir bitki olup yapraklarının boyu 10 cm’yi bulurken bitkinin boyu 100 cm’yi aşabilmektedir (Şekil 2) (Calderone et al., 2001; Karakaş, 2003). Çoğunlukla Haziran-Eylül ayları arasında yetişen ısırgan otu, ormanlarda, bahçelerde, bataklık kenarlarında ve suyun çok bulunduğu bölgelerde bol miktarda bulunmaktadır. Isırgan otunun yaprakları amino asitler, mineraller, lesitin, klorofil, steroller, karotenoidler, vitaminler, fenoller, flavonoidler ve tanenlerce zengindir. Bitki kökleri ise steroller, izolektin, yağ asitleri, skopoletin ve polisakkaritler gibi kimyasal maddeler bulundurmaktadır (Ayan ve ark., 2006). Bu maddeler, ısırgan otu bitkisinin toprak altı ve üstü kısımlarında olmak üzere ayrılmış olarak bulunurlar. Yapısında bulunan kimyasal maddeler ısırgan otunun, antiseptik, bakterisit, kan dolaşımı ajanı, diüretik, hemostatik ve kas hareketi düzenleyici olarak kullanılmasını sağlamaktadır. Tedavi amaçlı kullanım alanı, çok eski tarihlere kadar dayanmakta olup oldukça geniştir. Isırgan otu bitkisinin özellikle köklerinde bulunan histamin, diüretik olup prostat büyümesini önleyici özelliği bulunmaktadır (Karakaş, 2003).



Şekil 2. Isırgan otu (*Urtica dioica* L.).

Isırgan otu, kök ve tohumdan çoğalarak yavaşça yayılır ve yıl boyunca bulunabilmektedir. *Urtica*, “—yakmak anlamına gelen Latince —urere kelimesinden gelmektedir. *Dioica* kelimesi ise—iki evli” anlamına gelmektedir. Isırgan otunun tüyelerine dokunulduğunda asetilkolin, histamin ve 5-hidroksitriptamin (serotonin) salgılanmasından dolayı yakıcı etki göstermekte ve adı da buradan gelmektedir (Ayan ve ark., 2006). Isırgan otunun kolay bulunabilir oluşu ve maliyetinin düşük olması, içerdiği maddeler ve bu maddelerin özellikleri düşünüldüğünde tıpta fitoterapi uygulamalarının yanı sıra kozmetik sektöründe de yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Son yıllarda, ısırgan otu üzerinde çok sayıda biyolojik aktivite çalışması yapılmış anti-inflamatuar etkileri, anti-viral ve immün sistem üzerindeki etkileri ve antioksidan etkileri ortaya konulmuştur.

Isırgan otunun antioksidan etkileri üzerine yapılan çalışmalarda, ısırgan otu ekstraktlarının lipid peroksidasyonunu engelleyici etkilerinin olduğu, ROS oluşumunu azaltarak metal şelatör aktivitesi olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, ısırgan otunun ekstraktlarında flavanol glikozid izole edilmiştir (Cetinus et al., 2005). Flavanoidlerin; antioksidan, anti kanser, anti inflammatuar, antibakteriyel, immün stimulan, anti allerjik, östrojenik, antifosfolipaz A2, siklooksijenaz ve lipooksijenaz inhibitör etkileri yapılan çalışmalarla daha önce gösterilmiştir (Tanakol, 1998). Fenollerin antioksidan etkileri bilinmekte olup ısırgan otu ekstraktında fenollere denk olan pirokatekol varlığının antioksidan aktivitesinin olduğu ve lipid peroksidasyonunu durdurduğunu gözlemlenmiştir (Cetinus et al., 2005). Bir diğer çalışmada kullanılan ısırgan otu yaprak ekstraktının transkripsiyon

faktör NF- κ B'yı inhibe ettiği gösterilmiştir. Isırgan otunun lipooksijenazdan kaynaklanan inflamasyondan kaynaklanan ürünlerin oluşumunu önleyerek inhibitör κ B- α 'yı stabilize ettiği belirtilmektedir. Isırgan otunun anti-inflamatuar etkilerinin de NF- κ B aktivasyonu üzerine inhibitör etkilerinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Riehemann et al., 1999).

4.5.3. Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.)

Lamiaceae (Labiatae) familyasına ait biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) bitkisi Türkiye'de doğal olarak yetişmekte olan önemli bir tıbbi ve aromatik bir bitkidir (Şekil 3) ve ülkemizde kuşdili, pürem, hasalban, urum çiçeği ve akpüren gibi farklı isimlerle de bilinmektedir (Baytop, 1984). Roma ve eski Yunan dönemlerinde biberiye, hem tıbbi bitki olarak tedavi amaçlı hem de mutfakta yemeklerin lezzetlendirilmesinde kullanılmıştır. Eski Yunan dönemlerinde özellikle konsantrasyonu ve hafızayı güçlendirmek için kullanılmasının yanı sıra hafif uyarıcı etkisinden dolayı da bazı halk ilaçlarının bileşimlerine katıldığı bilinmektedir. Buna ek olarak, biberiye bitkisi İkinci Dünya Savaşı sırasında enfeksiyon hastalıklarının önlenmesinde, çeşitli hastalıkların tedavisinde, hasta odalarının havasının temizlenmesinde ortamda yakılarak kullanılmıştır (Türker ve ark., 2011).



Şekil 3. Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) bitkisi.

Lamiaceae familyası, çoğunlukla ot ve çalı formundaki tek veya çok yıllık aromatik bitkilerdir ve dünyanın her tarafında bulunmaktadır. Çoğunluğu Kuzey-Batı Asya ve Akdeniz Bölgesine yayılmış olan 220 cinsi ve toplamında 3500 türü bünyesinde barındırmaktadır (Davis, 1987). Türkiye'de yaklaşık 38 cins ve 400 türü yetişen bu ailenin 240 türü endemiktir. Lamiaceae familyasının uçucu yağ verimi

oldukça yüksek olup yaygın olarak Türkiye'nin Akdeniz bölgesinde bulunmaktadır ve deniz seviyesinden yaklaşık 1000 m yüksekliğe kadar olan yerlerde doğal olarak yetişebilmektedir. Yetiştirildiği yerlere göre uçucu yağ bileşim oranlarının da değişmekte olduğu bilinmektedir (Angioni et al., 2004).

Biberiye bitkisi, çalimsı karakterli bir bitki olup sapı lifli yapıda ince ve narın dallara sahiptir. Yaprak yapısı olarak çam yapraklarına oldukça benzeyen biberiye bitkisinin yapraklarının yapısı karşılıklı, sapsız bir yapıda ve kulakçıkları yoktur. Bitkilerin yaprak ayası oldukça uzun, üst tarafı tüysüz ve koyu renklidir. Yapraklarının alt tarafı ise tüylü, beyaz ve yeşil renkli bir yapıdadır. Kışın yaprak dökmeyen biberiye bitkisinin yaprak uzunluğu 2-3 cm ve genişliği 2-4 mm'dir. Mavimsi beyaz, mor ve eflatun renkli olan çiçekler bir eksen üzerinde ve salkım şeklinde olup dalların ucunda küçük toplulukla halindedir. Çanak yaprakları tüp şeklinde, iki dudaklı ve çok tüylü iken taç yaprakları da tüp şeklindedir (Davis, 1987). Biberiye bitkisinin yapraklarında %8 oranında tanen ve %1-2 oranında da uçucu yağ bulunmaktadır. Uçucu yağın içinde de %5-12 kâfur, %20 bornil asetat, %15-30 sineol, bir miktar pinen ve acı madde bulunduğu tespit edilmiştir (Yaşar, 2005).

Günümüzde ise biberiye bitkisi, aromaterapi, kozmetik, parfümeri, gıda ve eczacılık gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Biberiye bitkisinin yaprakları yemeklerde tat verici ve baharat olarak kullanılırken uçucu yağı antioksidan olarak gıda sanayinde, kozmetikte (krem, sabun, kolonyalar, deodorant, şampuanlar, saç tonikleri, vb.) ve parfümeride kullanılmaktadır. Biberiye bitkisinin sahip olduğu antioksidan ve anti-bakteriyel etkilerinden dolayı hem bitkisi hem de bitkiden elde edilen ekstraktlar, yağların ve etlerin kaliteli bir şekilde bozulmadan saklanması da kullanılmaktadır (Gülbaba ve ark., 2002).

Anti-mikrobiyal ve antioksidan etkileri bilinen biberiye bitkisinin aktif bileşenleri yapılan çalışmalar ile belirlenmiş ve içeriğindeki yüksek fenolik bileşiklerden kaynaklandığı belirlenmiştir (Banyai et al., 2003; Nassu et al., 2003). Özellikle biberiye ekstraktlarının etken maddelerini diterpen fenoller (karnosik asit, karnosol, metil karnosat, apirosmanol, isorosmanol, rosmanol), triterpen asitler (ursolik asit, bütilinik asit, oleanolik asit), fenolik asitler (rosmarinik asit), monoterpenler (eterik yağlar) ve flavanoller oluşturmaktadır (Lölişer, 1983;

Maslarova and Heinonen, 2001; Riznar et al., 2006). Biberiye yağının bileşenleri başlıca %20 1,8-sineol, %20 α -pinen, %18 kafur, %7 kamfen, %3 bornil asetat, %6 β -pinen, %5 borneol, %2 α -terpineol, %5 mirsen olarak tespit edilmiştir (Bayrak, 2006). Bir polifenol bileşik olan rosmarinik asit de ilk defa biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) bitkisinden elde edilmiş ve yapılan çalışmalarda antiinflamatuvar etkilerine ek olarak antioksidan, antimikrobiyal, antiviral, antitümöral, anksiyolitik etkilerinin de olduğu gösterilmiştir (Alagawany et al., 2017).

4.5.4. Keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.)

Keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.) Fabaceae (Leguminosae) familyasının ait her dönem yeşil olan geniş yapraklı çalı-ağaç formunda gelişim gösteren çok yıllık bir bitkidir. Keçiboynuzunun ilk olarak M.Ö. 4000 yıllarında Mısır'da ortaya çıktığı düşünülmektedir (Tunalıoğlu ve Özkaya, 2003). Keçiboynuzu aynı zamanda halk arasında harnup, harip, ballı boynuz olarak da bilinmektedir. Türkiye, keçiboynuzunun anavatanı arasında yer alırken ülkemizde İzmir Urla'dan başlayarak Hatay'ın Samandağ ilçesine kadar olan 1750 km'lik kıyı şeridinde kadar uzanan geniş bir alanda yayılım göstermektedir. Keçiboynuzunun Türkiye'de yetişen çeşitleri yabani, etli ve susamlı tipleridir (Ahraz, 2003). FAO'nun verilerine göre 2017 yılında Türkiye'de 15.000 ton keçiboynuzu üretimi gerçekleştirilmiştir (FAO, 2017).

Keçiboynuzu, ılıman iklim bitkisi olup yüksek sıcaklık ve kuraklığa çok dayanıklıdır. Bununla birlikte, düşük sıcaklıklara ise oldukça duyarlıdır. Toprak bakımından seçici olmayan bu bitki kırıç ve taşlı topraklarda yetiştirilebilmektedir (Eti, 2015). Keçiboynuzu bitkisi 6-20 m'ye kadar uzayabilmektedir. Çiçek yapısı ve döllenme biyolojisi yönünden poligamdır, popülasyonda dioik ve erselik bitkilere rastlamak mümkündür (İlahi ve Vardar, 1976). Daima yeşil olan yapraklarının uzunluğu 3-5 cm dolayında olup; ağacın yeşil, küçük çiçekleri bulunmaktadır. Bu çiçekler 50-60'lı gruplar halinde salkımlar oluşturur. Meyveleri önceleri parlak yeşil olup olgunlaştıkça kahverengiye dönüşerek köseleye benzer bir yapı ortaya koymaktadır (Şekil 4). Yabani türün meyveleri ince ve mat olup kültüre alınmış türlerde parlak, daha uzun ve siyaha yakın bir renk almaya başladığı gözlemlenmiştir. Meyveleri kavisli, düz, sıkışık tohumlu olabildiği gibi uzunlukları ise 10 ile 20 cm arasında değişebilmektedir. Mayıs ayı başında büyümeye başlayan meyveleri Haziran-Temmuz aylarında olgunlaşmaktadır. Olgunlaşan meyveler Eylül ayında hasat edilmeye başlanarak hasat mevsimi Kasım-Aralık aylarına kadar devam

eder (Günel, 1999). Keçiboynuzu meyvesinin %90'ı meyve eti %10'nu da tohumdan oluşmaktadır. Meyve etinde toplam %48-56 oranında şeker (sukroz, glikoz, fruktoz ve maltoz) ve %18 oranında da selüloz ve hemiselüloz bulunmaktadır. Keçiboynuzunun tohumu ise, %30-33 tohum kabuğu, %42-46 endosperm ve %23-25 embriyodan oluşmaktadır. Endospermi galaktomannan açısından zengin olup galaktomannan mannoz ve galaktozdan meydana gelen doğal bir polisakkarittir (Battle, 1997; Tous et al., 2013).



Şekil 4. Keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.) meyvesi.

Keçiboynuzunun meyvelerinin ve tohumlarının her birinin farklı kullanım alanları mevcuttur. Potasyum, kalsiyum, magnezyum, fosfor, sodyum, selenyum, demir ve bakır gibi mineralce zengin olan keçiboynuzunun meyveleri gıda endüstrisinde doğrudan tüketilmekle birlikte, katkı maddesi olarak insan beslenmesinde ve diğer endüstri kollarında da değerlendirilmektedir. Keçiboynuzu meyveleri insan beslenmesinde şeker, pekmez, kakao ikamesi, alkol ve protein ürünü, diyet lifi olarak kullanılabilirdiği gibi eczacılık ürünlerinin hazırlığında, dondurmalarda kıvam artırıcı olarak, kâğıt ve boya endüstrisinde de kullanılmaktadır (Tous et al., 2013). Önemli düzeyde selüloz, mineral madde ve ham protein içerdiği için kalan posa da hayvan yemi olarak kullanım alanı bulmaktadır. Keçiboynuzunun tohumlarında %80-85 oranında bulunan galaktomannan, "locust bean gum" adı verilen bir katkı maddesi olarak kullanılmaktadır. Galaktomannanın en önemli özelliği yüksek viskoziteli jel oluşturmasıdır. Ayrıca bu polisakkarit geniş sıcaklık ve pH aralıklarında stabil kalabilmektedir. Bu da onun gıda sektöründe ekmek, makarna, kek ve pasta, dondurma, peynir, çikolata, marmelat ve meyve jölesi yapımında kıvam artırıcı olarak kullanılmasının yanı sıra ilaç endüstrisinde, kâğıt endüstrisinde, matbaacılıkta, tekstil endüstrisinde, kozmetikte, mobilyacılıkta, kibrit

üretiminde, dericilikte, petrol ve petro kimya endüstrisinde, deterjan ve plastik endüstrisinde de kullanılmasını sağlamaktadır (Tunalıoğlu, 1987; Demirtaş 2007).

Fenolik maddelerce zengin olan keçiboynuzunda en fazla bulunan fenolik madde gallik asit olup etkili bir antioksidandır. Yapılan çalışmalar özellikle gallik asidin yağların oksidasyonu yavaşlatmada çok etkili olduğunu göstermektedir (Kumazawa et al., 2002; Owen et al., 2003). Souli et al. tarafından 2015 yılında fareler üzerinde yapılan bir araştırmada keçi boynuzu özütünün karaciğer hücreleri üzerinde etil alkolün neden olduğu oksidatif stres hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bir diğer çalışmada ise keçiboynuzu meyvesinin ve yaprağının ekstraktlarının antioksidan özelliği böbrek hücreleri üzerinde araştırılmış ve aynı şekilde oksidatif stres hasarına karşı koruyucu etkisi olduğu gözlemlenmiştir (Ahmed, 2010).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Gereçler

- Mikropipet (Eppendorf, Germany)
- Mikropipet ucu (Eppendorf, Germany)
- Pastör pipeti (Falcon, USA)
- Santrifüj (Thermo Scientific, USA)
- Deney Tüpü (Falcon, USA)
- Lam (Isolab, Germany)
- Lamel (Isolab, Germany)
- Steril Örnek Kabı (Fırat Medikal, Türkiye)
- İnkübatör (Heraeus CO₂, Thermo Scientific, USA)
- Enjektör
- Whatman No.1 Süzgeç Kâğıdı (ACHEM medikal)
- 3 In 1 Blender/ Model 602.21.001 (ISOLAB)
- Havan ve havaneli (125 mm) (ISOLAB)

5.2. Kimyasallar

- Tabakalı Sperm Yıkama Solusyonu (SpermGrad, Vitrolife, Sweden)
- Sperm Yıkama Solusyonu (GIVF, Vitrolife, Sweden)
- Ham's F-10, (Irvine, USA)
- Vitalite Boyama Kiti (Eosin-Nigrosin) (Vital Screen Kit, FertiPro Diagnostics, Belgium)

5.3. Yöntem

“Türkiye’de halk arasında yaygın olarak kullanılan ısırgan, biberiye ve keçiboynuzu bitkilerinin *in vitro* koşullarda sperm fonksiyonu parametrelerine etkisi” adlı çalışma 26.04.2017 tarihinde Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından, 2017/5-6 karar numarası ile etik ve bilimsel açıdan incelenerek çalışılmaya uygun bulundu.

5.3.1. Çalışmada kullanılan hasta grupları

Bu tez çalışmasında, 26.04.2017 tarihinde Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından, 2017/5-6 karar numarası ile alınan etik kurul onayından sonra Bahçelievler Medikal Park Hastanesi IVF polikliniğine erkek infertilitesi şüphesi ile gelen ve semen analizi yaptırmak için başvurmuş 18 yaşından büyük gönüllülerden alınan semen örnekleri kullanıldı. Çalışmaya katılan her bir gönüllüden gönüllü bilgilendirilmiş onam formu alındı (EK 1). Çalışmaya katılmayı kabul eden gönüllülerden sadece normozoospermi tanısı konan 40 örnek ile çalışmaya devam edildi.

5.3.2. Bitki ekstraktlarının hazırlanması

Tez çalışmasında kullanılan bitki örnekleri Ucuzcular Gıda Maddeleri Sanayi ve Ticaret A.Ş. Mısır Çarşısından 2018 yılında satın alındı. Satın alınan bitki örneklerinin organoleptik özelliklerinin uygun olmasına dikkat edildiğinden doğada yetiştirilerek toplanmış örneklerden elde edilmiş olanlar tercih edildi.

Çalışmada kullanılmak amacıyla ısırgan (*Urtica dioica*) tohumları, biberiye (*Rosmarinus officinalis*) yaprakları ve keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua*) meyvesi örnekleri öncelikle kurutuldu. Kurutulmuş örnekler, havan ve havaneli kullanılarak önce kaba parçalar haline getirildi. Daha sonra, parçalayıcı (Blender/ Model 602.21.001) kullanılarak kaba parçalar iyice parçalanarak toz haline getirildi. Elde edilen droglar çalışmada kullanılan her bir bitki türü için ayrı ayrı sırasıyla 0.01 g, 0.005 g ve 0.001g tartıldı. Son konsantrasyon sırasıyla %0.1, %0.05 ve %0.01 olacak şekilde 10'ar ml Ham's F-10 (Irvine, USA) solüsyonunda oda sıcaklığında 6 saat boyunca maserasyona bırakıldı. Maserasyon sonunda solüsyon Whatman No.1 süzgeç kâğıdından süzülerek çalışmada kullanılacak son konsantrasyonları sırasıyla %0.1, %0.05 ve %0.01 olan bitki ekstraktları elde edildi (Yusuf ve ark., 2017). Elde edilen bitki ekstraktları ileriki çalışmalarda kullanılmak üzere +4°C'de saklandı.

5.3.3. Semen örneklerinin toplanması

Ortalama 3-5 günlük cinsel perhiz süresi sonrasında Bahçelievler Medikal Park Hastanesi Androloji Laboratuvarına gelen infertilite şüphesi bulunan hastalardan mastürbasyon yöntemi ile semen örnekleri alındı. Alınan örnekler hastanın adının soyadının yazılı olduğu steril örnek kaplarına Delilbaşı (2008) tarafından belirtilen kriterler doğrultusunda toplandı. Örneklerin alınmasından sonra

örneğin alındığı saat not edilerek 37°C’de 20 dakika boyunca likefaksiyona bırakıldı. Çalışmada kullanılan her bir örneğin cinsel perhiz süresi, viskozite, hacim, renk ve hastaya özgün likefaksiyon süresi kayıt altına alındı (Tablo 1).

5.3.4. Semen örneklerinin çalışılması

Bu tez çalışmasında, çalışılmak üzere seçilen örnekler sperm sayısı, motilitesi, vitalitesi ve morfolojisi kriterlerine göre seçildi. Değerlendirilen kriterlere göre çalışmaya normozoospermi tanısı konulan 40 hasta örneği ile devam edildi ve örnekler bitki ekstraktlarının uygulanmasından önce iki tabakalı yoğunluk gradient yöntemi kullanılarak hazırlandı. 15 ml’lik falkon deney tüplerine aşağıdan yukarıya doğru 1’er ml sırasıyla %90 ve %50’lik gradient solüsyonları (Spermgrad, Vitrolife, İsveç) olacak şekilde pipetle konuldu. Üst tabakanın üstüne daha önce 37°C’de 20 dk likefaksiyona bırakılmış örneklerden 2 ml likefiye olmuş ejakulat pipet yardımıyla sarsmadan konuldu. Gradient tabakaları 500g’de 15dk boyunca santrifüj edildi. En alt tabakada 1 ml fraksiyon kalacak şekilde üst sıvı transfer pipeti kullanılarak aspire edildi. Alt tabakada kalan 1 ml sperm fraksiyonu yıkama solüsyonu (Givf, Vitrolife, İsveç) pipetaj yapılarak yıkandı ve 500g’de 5dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında üst sıvı atılarak pellet çözdürüldü.

5.3.5. Sperm sayısı ve motilitesinin değerlendirilmesi

Semen örneklerindeki sperm sayılarının ve motilitenin belirlenmesinde WHO’nun 2010 yılında belirlemiş olduğu standart manuel teknikler kullanıldı. Her bir örneğin sperm sayısı ve motilitesi 10µl semen örneği Makler Sayım Kamerasına (Sefi Medical Instruments, İsveç) konularak ışık mikroskobu (X20 büyütme) altında değerlendirildi. Her bir örneğin sperm motilitesi, hareketlilik kategorisine WHO Laboratory Manual 2010 kriterlerine göre karar verildi ve ‘progresif hareketli’, ‘non-progresif hareketli’ ve ‘hareketsiz’ olmak üzere üç gruba ayrıldı.

5.3.6. Sperm vitalitesinin değerlendirilmesi

Çalışmada kullanılan her bir hasta örneğinin sperm vitalitesi, semen örnekleri Eosin-Nigrosin vitalite boyası (Vital Screen Kit, FertiPro Diagnostics, Belgium) ile boyanarak değerlendirildi. Her bir örnekten 50µl semen kullanıldı. 50µl semen üzerine 2 damla Eosin Y solüsyonu damlatılarak steril bir test tüpünde karıştırıldı ve 30 s sonra üstüne Nigrosin solüsyonu eklendi. Bu aşamada, Eosin boyası hücrelerin boyanmasında kullanılırken Nigrosin boyası ise zemin boyası olarak kullanıldı.

Nigrosin boyasının eklenmesinden 30 s sonra karışımdan örnek alınarak ışık mikroskobundan incelenmek üzere yayma preparat hazırlandı. Hazırlanan yayma preparat X100 büyütmede ışık mikroskobu altında incelenerek en az 100 spermatozoon sayıldı. Spermatozoonların değerlendirilmesinde, pembe ya da total olarak beyaz görünmeyen sperm hücreleri ölü olarak kabul edildi ve geçirgenliği bozulan spermlerin boyayı emerek pozitif renk vermesine göre sonuçlar yüzde olarak hesaplandı.

5.3.7. Bitki ekstraktlarının uygulanması

Normozoospermi tanısı konulan hastaların semen örnekleri yoğunluk gradient santrifüj yöntemi ile fraksiyonlarına ayrıldıktan sonra bir kontrol ve 9 deney grubu olmak üzere on deney tüpüne eşit olacak şekilde dağıtıldı. Kontrol grubuna sadece Ham's F-10 solüsyonu (Irvine, Amerika) ilave edildi. Çalışma grubunda bulunan 9 deney grubunun üstüne her örneğe çalışmada kullanılan bitki ekstraktlarının her birinin tek bir konsantrasyonu sırası ile 0,1mg/ml ısırgan, 0,05 mg/ml ısırgan, 0,01mg/ml ısırgan, 0,1mg/ml biberiye, 0,05mg/ml biberiye, 0,01mg/ml biberiye, 0,1mg/ml keçiboynuzu, 0,05mg/ml keçiboynuzu, 0,01 mg/ml keçiboynuzu (1:1) (ekstrakt:semen) olacak şekilde oda sıcaklığında uygulandı. Örnekler 37°C etüvde 30dk, 1 ve 24 s boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrasında her bir sperm örneğinin ayrı ayrı progresif motilite ve vitalite tayinleri yapıldı.

5.3.8. İstatistiksel analiz

Bu tez çalışmasından elde edilen bulguların analizi, "Tekrarlı Ölçümlerde Varyans Analizi" yöntemi kullanılarak yapıldı. İki eşleştirilmiş dizinin karşılaştırılmasında "Eşleştirilmiş Dizilerde t Testi" uygulandı. Değişkenler aritmetik ortalama ve standart sapma kullanılarak belirlendi.

6. BULGULAR

26.04.2017 tarihinde Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından, 2017/5-6 karar numarası ile onaylanmış olan bu tez çalışmasında, Bahçelievler Medikal Park Hastanesi IVF polikliniğine erkek infertilitesi şüphesi ile gelen ve gönüllülerden sadece normozoospermi tanısı konan 40 örnek ile çalışıldı. Normozoospermi tanısı konan 40 hastanın semen analizleri WHO Laboratory Manual 2010 kriterlerine göre yapıldı. Hastalara ait yaş ve semen örneklerine ait hacim, konsantrasyon, motilite, progresif motilite, morfoloji ve vitaliteye ait ortalama değerler Tablo 2’de verilmektedir.

Tablo 2. Normozoospermi tanısı konan 40 hastanın semen analizi sonuçları.

	n	Minimum	Maximum	Ortalama	Std. Sapma
Yaş	40	26	40	33,13	3,57
Volüm	40	2,0	8,0	3,48	1,62
Konsantrasyon	40	21	78	49,65	17,23
Motilite	40	50	78	61,05	6,07
Progresif Motilite	40	45	65	53,85	5,18
Morfoloji	40	4	8	5,15	1,05
Vitalite	40	75	92	84,58	4,62

6.1. Semen Örneklerinin Progresif Motilitesinin Değerlendirilmesi

Çalışmada kullanılan 40 normozoospermili hastanın her birinin semen örnekleri kontrol grubu da dâhil olmak üzere dokuz deney grubuna ayrılarak ısırgan, biberiye ve keçiboynuzu bitkilerinin her birinin tek bir konsantrasyonu sırası ile 0,1mg/ml ısırgan, 0,05 mg/ml ısırgan, 0,01mg/ml ısırgan, 0,1mg/ml biberiye, 0,05mg/ml biberiye, 0,01mg/ml biberiye, 0,1mg/ml keçiboynuzu, 0,05mg/ml keçiboynuzu, 0,01 mg/ml keçiboynuzu (1:1) (ekstrakt:semen) olacak şekilde oda sıcaklığında uygulandı ve progresif motilite değerleri belirlendi. Elde edilen verilere göre, tüm ısırgan bitki ekstraktının 30dk, 1 ve 24 saat boyunca uygulandığı örneklerde progresif motilite ortalamasının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlenmiştir (p=0.001). Bununla birlikte, 30. dk’da kontrole kıyasla 2,52 kat artış saptanırken 24. saatte bu oran 8,35 kat olarak belirlenmiştir (Tablo 3).

Tablo 3. Isırgan uygulaması sonrasında progresif motilite değerlerinin karşılaştırılması.

		Kontrol	Isırgan Konsantrasyonları			p
			0,01%	0,05%	0,10%	
30 dk	Ortalama	81,53	83,33*	83,25*	84,05*	0,001*
	S. Sapma	10,05	9,73	9,60	9,46	
1 s	Ortalama	80,58	83,05*	82,93*	83,73*	0,001*
	S. Sapma	10,22	9,48	9,49	9,54	
24 s	Ortalama	70,50	77,28*	77,70*	78,85*	0,001*
	S. Sapma	11,62	10,17	11,09	11,87	

*Kontrolde farklı olan ortalama.

Biberiye bitki ekstraktrının 30dk, 1 ve 24 saat boyunca uygulandığı örneklerde de progresif motilite ortalamasının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlenmiştir (p=0.001). Bununla birlikte, 30. dk'da kontrole kıyasla 3 kat artış saptanırken 24. saatte bu oran 10,15 kat olarak belirlenmiştir (Tablo 4).

Tablo 4. Biberiye uygulaması sonrasında progresif motilite değerlerinin karşılaştırılması

		Kontrol	Biberiye Konsantrasyonları			p
			0,01%	0,05%	0,10%	
30 dk	Ortalama	81,53	83,73*	83,75*	84,53*	0,001*
	S. Sapma	10,059	9,43	9,66	9,46	
1 s	Ortalama	80,58	83,45*	83,38*	84,23*	0,001*
	S. Sapma	10,22	9,39	9,71	9,55	
24 s	Ortalama	70,50	79,00*	79,45*	80,65*	0,001*
	S. Sapma	11,62	10,67	10,39	10,50	

*Kontrolde farklı olan ortalama.

Keçiboynuzu meyvesinin ekstraktrının 30dk, 1 ve 24 saat boyunca uygulandığı örneklerde ise progresif motilite ortalaması her bir uygulama süresi için farklı farklı bulunmuştur. Progresif motilite 30. dk'da kontrole kıyasla azalma görülmüş ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır (p=0.06). Bununla birlikte, 1. saatte tüm konsantrasyonlarda azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.01). 24. saatte ise kontrole kıyasla artış saptanırken sadece 0,1 mg/ml keçiboynuzu uygulaması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p=0.01) (Tablo 5).

Tablo 5. Keçiboynuzu uygulaması sonrasında progresif motilite değerlerinin karşılaştırılması.

		Kontrol	Keçiboynuzu Konsantrasyonları			P
			0,01%	0,05%	0,10%	
30 dk	Ortalama	81,53	80,95	80,58	81,13	0,060
	S. Sapma	10,05	10,11	10,23	10,33	
1 s	Ortalama	80,58	79,60*	78,93*	79,65*	0,010*
	S. Sapma	10,22	10,59	10,42	10,53	
24 s	Ortalama	70,50	70,33	71,45	74,95*	0,010*
	S. Sapma	11,62	13,86	12,62	11,84	

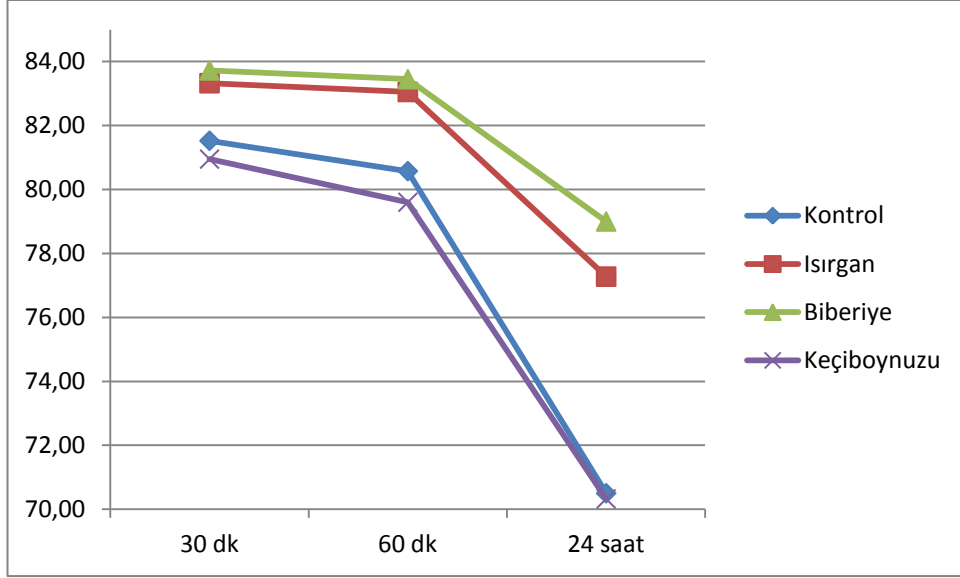
*Kontrolde farklı olan ortalama.

Üç farklı sürede üç farklı konsantrasyon uygulaması sonrasında ısırgan, biberiye ve keçiboynuzu ekstraktlarının progresif motilite ortalamaları değerlendirildiğinde ısırgan ve biberiye bitkilerinin 0,1 mg/ml'lik konsantrasyonları karşılaştırılmıştır (Şekil 5; 6; 7). Elde edilen sonuçlara göre ısırgan ve biberiyenin 30. dk ve 1. saatteki uygulamalarında bir farklılık belirlenemezken 24. saatteki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (Tablo 6) (p=0.046). 24. saatte elde edilen fark ısırgana kıyasla biberiye yönünden olumlu yönde anlamlı bulunmuştur (Şekil 7).

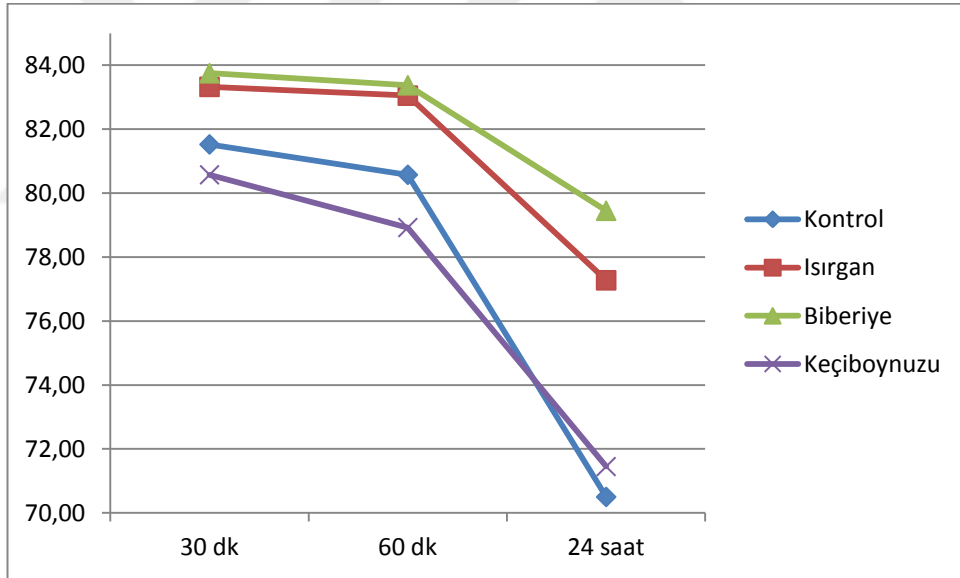
Biberiye bitki konsantrasyon uygulamalarının 30dk, 1 ve 24 s için kendi içinde değerlendirilmesi sonucunda progresif motilitenin iyileştirilmesinde biberiye bitkisi için 30 dk'lık uygulamada 0,1 mg/ml'lik konsantrasyon önerilmektedir. Bununla birlikte, 1 ve 24 saatlik uygulamalarda ise uygulanması tavsiye edilen biberiye konsantrasyonu yine 0,1 mg/ml'dir (Şekil 8).

Tablo 6. 0,1 mg/ml'lik bitki konsantrasyonlarında progresif motilite değerlerinin karşılaştırılması.

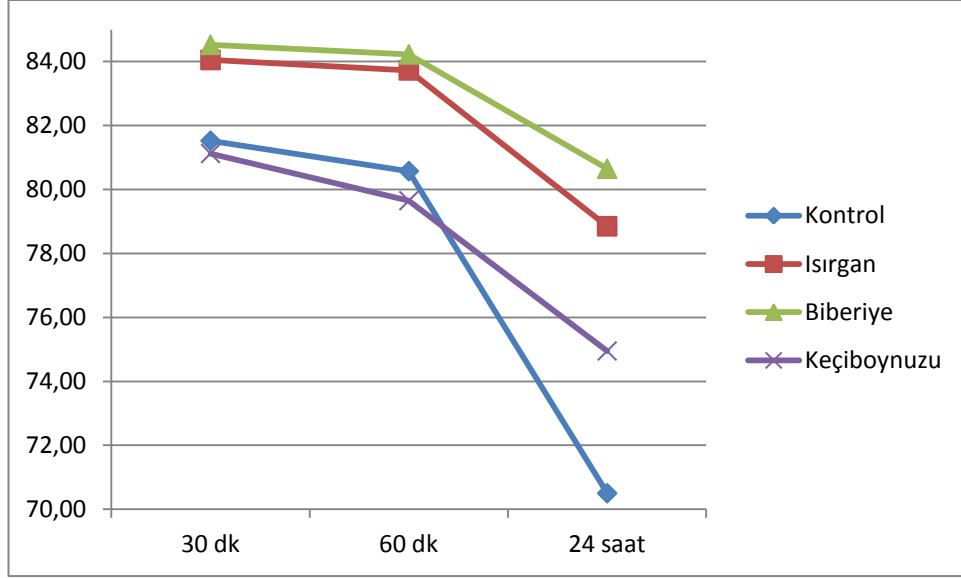
	30 dk		1 s		24 s	
	Ortalama	S. Sapma	Ortalama	S. Sapma	Ortalama	S. Sapma
Isırgan	84,05	9,47	83,73	9,54	78,85	11,87
Biberiye	84,53	9,47	84,23	9,55	80,65	10,51
p	0,158		0,151		0,046*	



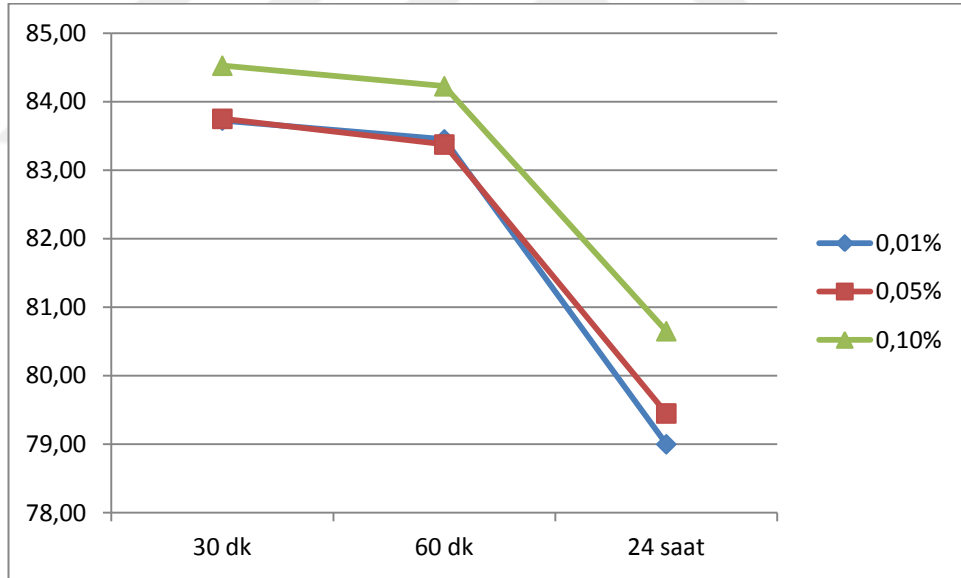
Şekil 5. %0,01'lik bitki konsantrasyonlarında progresif motilite değerlerinin kontrol ve deney örneklerinde karşılaştırılması.



Şekil 6. %0,05'lik bitki konsantrasyonlarında progresif motilite değerlerinin kontrol ve deney örneklerinde karşılaştırılması.



Şekil 7. %0,1'lik bitki konsantrasyonlarında progresif motilite değerlerinin kontrol ve deney örneklerinde karşılaştırılması.



Şekil 8. Biberiye uygulaması sonrasında progresif motilite değerlerinin karşılaştırılması.

6.2. Semen Örneklerinin Vitalitesinin Değerlendirilmesi

Çalışmada kullanılan 40 normozoospermi hastanın her birinin semen örnekleri kontrol grubu da dâhil olmak üzere dokuz deney grubuna ayrılarak ısırgan, biberiye ve keçiboynuzu bitkilerinin her birinin tek bir konsantrasyonu sırası ile 0,1mg/ml ısırgan, 0,05 mg/ml ısırgan, 0,01mg/ml ısırgan, 0,1mg/ml biberiye,

0,05mg/ml biberiye, 0,01mg/ml biberiye, 0,1mg/ml keçiyoynuzu, 0,05mg/ml keçiyoynuzu, 0,01 mg/ml keçiyoynuzu (1:1) (ekstrakt:semen) olacak şekilde oda sıcaklığında uygulandı ve vitalite değerleri belirlendi. Elde edilen verilere göre, tüm ısırgan bitki ekstraktrının 30dk, 1 ve 24 saat boyunca uygulandığı örneklerde vitalite ortalamaları sadece 24 saatlik uygulamada kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir (p=0.001) (Tablo 7).

Tablo 7. Isırgan uygulaması sonrasında vitalite değerlerinin karşılaştırılması.

		Kontrol	Isırgan Konsantrasyonları			p
			0,01%	0,05%	0,10%	
30 dk	Ortalama	95,30	95,30	95,30	95,30	1,000
	S. Sapma	3,31	3,31	3,31	3,31	
1 s	Ortalama	95,30	95,30	95,28	95,30	0,323
	S. Sapma	3,31	3,31	3,34	3,31	
24 s	Ortalama	87,75	90,50*	90,53*	91,25*	0,001*
	S. Sapma	5,42	4,84	5,67	5,31	

*Kontrolde farklı olan ortalama.

Biberiye bitki ekstraktrının 30dk, 1 ve 24 saat boyunca uygulandığı örneklerde vitalite ortalamaları sadece 24 saatlik uygulamada kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuştur (p=0,001) (Tablo 8).

Tablo 8. Biberiye uygulaması sonrasında vitalite değerlerinin karşılaştırılması.

		Kontrol	Biberiye Konsantrasyonları			p
			0,01%	0,05%	0,10%	
30 dk	Ortalama	95,30	95,30	95,30	95,30	1,000
	S. Sapma	3,31	3,31	3,31	3,31	
1 s	Ortalama	95,30	95,30	95,23	95,30	0,183
	S. Sapma	3,31	3,31	3,48	3,31	
24 s	Ortalama	87,75	91,23*	91,20*	91,78*	0,001*
	S. Sapma	5,42	4,62	4,92	4,58	

*Kontrolde farklı olan ortalama.

Keçiyoynuzu meyve ekstraktrının 30dk, 1 ve 24 saat boyunca uygulandığı örneklerde vitalite ortalamaları 1 saatlik uygulamada kontrole kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermiştir (p=0.003) (Tablo ?). 24 s'lik uygulama

sonrasında ise sadece 0,1mg/ml konsantrasyon uygulamasında artış gözlenmiş ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir (p=0.01) (Tablo 9).

Tablo 9. Keçiboynuzu uygulaması sonrasında vitalite değerlerinin karşılaştırılması.

		Kontrol	Keçiboynuzu Konsantrasyonları			p
			0,01%	0,05%	0,10%	
30 dk	Ortalama	95,30	95,30	95,30	95,30	1,000
	S. Sapma	3,31	3,31	3,31	3,31	
60 dk	Ortalama	95,30	95,05*	94,43*	95,03*	0,003
	S. Sapma	3,31	3,38	3,69	3,50	
24 saat	Ortalama	87,75	87,85	88,00	89,13*	0,010*
	S. Sapma	5,42	5,93	5,80	5,45	

*Kontrolden farklı olan ortalama.

Üç farklı sürede üç farklı konsantrasyon uygulaması sonrasında ısırgan, biberiye ve keçiboynuzu ekstraktlarının vitalite ortalamaları değerlendirildiğinde ısırgan, biberiye ve keçiboynuzu bitkilerinin 0,1 mg/ml'lik konsantrasyonları karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre ısırgan ve keçiboynuzu bitkileri için 24. saatteki farklılığın istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu tespit edilmiştir (Tablo 10) (p=0.001).

Tablo 10. 0,1 mg/ml'lik bitki konsantrasyonlarında vitalite değerlerinin karşılaştırılması.

	30 dk		1 s		24 s	
	Ortalama	S. Sapma	Ortalama	S. Sapma	Ortalama	S. Sapma
Isırgan	95,30	3,31	95,30	3,31	91,25*	5,31
Biberiye	95,30	3,31	95,30	3,31	91,78	4,58
Keçiboynuzu	95,30	3,31	95,03	3,50	89,13*	5,45
p	1,000		0,300		0,001*	

7. TARTIŞMA VE SONUÇ

Evli çiftlerin en önemli sağlık problemlerinden biri olabilen infertilitenin çiftler arasında görülme sıklığı WHO'nun verilerine göre %8-12 oranındadır (Bisht et al., 2017). Dünya genelinde infertilite %40 oranında erkeğe, %40 oranında kadına, %10 oranında hem kadına hem erkeğe bağlı olabilirken %10 oranındaki infertilitenin sebebi ise bilinmemektedir (Talebi et al., 2017). Bugüne kadar erkek infertilitesi farklı nedenlere dayandırılmış ve bunlardan en önemlilerinden biri de spermatozoada meydana gelen DNA hasarı olarak gösterilmiştir. Spermatozoada meydana gelen DNA hasarının açıklanmasında ise farklı mekanizmalar ortaya atılmıştır. Bunlardan biri spermatogenez sırasında kromatinlerin yeniden düzenlenmesi ve paketlenmesi sırasında meydana gelebilecek olan protaminasyon hatalarından kaynaklanmaktadır (Sakkas et al., 1999; Sakkas and Moffat, 2002; Erenpreiss et al., 2004). Spermatozoada DNA hasarına neden olarak erkek infertilitesinden sorumlu tutulan bir diğer mekanizma ise ROS'ların hücrede meydana getirdiği oksidatif strestir (Saleh and Agarwal, 2002; Agarwal and Said, 2003; Henkel et al., 2004; Moustafa et al., 2004). 26.04.2017 tarihinde Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından, 2017/5-6 karar numarası ile onaylanmış olan bu tez çalışmasında, normozoospermi tanısı konan 40 hastanın semen örnekleri alınarak üç farklı zamanda üç farklı konsantrasyon uygulaması sonrasında ısırgan, biberiye ve keçiyoynuzu ekstraktının spermatozoalarda hacim, konsantrasyon, motilite, progresif motilite, morfoloji ve vitaliteye olan etkileri araştırılmıştır. Çalışmadan elde edilen verilere göre, progresif motilite ve vitalite ayrı ayrı değerlendirildiğinde ısırgan bitkisinden elde edilen sonuçların diğer iki bitkiye kıyasla normozoospermili erkeklerde progresif motilite ve vitaliteyi olumlu yönde arttığını göstermektedir (p=0.001).

Erkek infertilitesi, tüm toplumlarda üreme çağındaki erkeklerde önemli bir klinik problemlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Erkek kaynaklı infertilite nedenleri görülme sıklığı sırasıyla genellikle varikosel, idiyopatik-açıklanamayan infertilite, obstrüksiyon, inmemiş testis, immünolojik mekanizmalar, ejakulasyon bozukluğu, testiküler yetmezlik, ilaç-radyasyon etkisi ve endokrin bozukluklar

şeklinde (Sigman, 1997). Bununla birlikte, özellikle idiyopatik yani bir başka deyişle kaynağı açıklanamayan infertilite, patofizyolojisi bilinemediğinden büyük endişe neden olabilmektedir. Bu olguların çoğunda infertilitenin nedeni olarak tedavi edilebilecek bir sebep bulunmadan erkekler klinik olarak normal olarak tanımlanmaktadırlar. İdiyopatik erkek infertilitesinin nedenleri olarak genetik, çevresel ve hormonal faktörler kabul edilmektedir. Her ne kadar idiyopatik erkek infertilitesinin moleküler temelleri tam olarak halen daha açıklanamamış olsa bile altında yatan mekanizmalardan biri olarak oksidatif stres öne çıkmaktadır (Said et al., 2003). ROS'lar kapasitasyon ve akrozom reaksiyonu gibi çeşitli normal spermatozoa fonksiyonları için gerekli olmasına rağmen ROS'ların hücre içi ve dışındaki antioksidanların dengesini geçerek seviyelerinin artması sperm bütünlüğünün ve işlevinin kaybı ile sonuçlanabilmektedir (Dacheux and Dacheux, 2004). ROS'ların aşırı birikiminin sperm DNA'sı üzerinde zararlı etkilerinin varlığı araştırmacılarda ROS'ların etkilerini ortadan kaldırarak minimuma indirgeyen antioksidanların kullanılarak ROS'ların sperm üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmayı düşünmüşlerdir (Wong et al., 2000; Mostafa et al., 2009; Mora-Esteves and Shin, 2013). Bu çalışmada antioksidan özellikleri daha önceden yapılan çalışmalar ile gösterilmiş olan ısırgan, biberiye ve keçiboynuzu olmak üzere üç farklı bitkinin ekstratları hazırlanarak üç farklı süre boyunca uygulanmıştır. Elde edilen veriler, özellikle ısırgan ve biberiyenin erkek infertilitesinde antioksidan olarak kullanılarak progresif motilitenin ve vitalitenin arttırılabileceğini göstermektedir (p=0.001).

Bununla birlikte, idiyopatik erkek infertilitesinin tıbbi tedavisinde antioksidan desteğinin etkinliğinin ve güvenilirliğinin belirlenebilmesi için randomize kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır. Tedavi amaçlı antioksidan desteği uygulamasında semen parametrelerine olan etkilerin önceden belirlenmesi ve döllenmeyi arttırmak için uygun dozun belirlenmesi gerekmektedir (Agarwal and Sekhon, 2010). Bu tez çalışması kapsamında, ısırgan ve biberiye bitkisinin semen parametrelerine etkileri değerlendirildiğinde progresif motilitenin iyileştirilmesinde 0,1 mg/ml'lik konsantrasyon uygulaması önerilmektedir. Vitalitenin olumlu yönde erkek infertilitesinde iyileştirilmesine yönelik bu tez çalışması kapsamında, ısırgan (p=0.046) ve keçiboynuzu (p=0.001) ekstraktlarının 0,1 mg/ml'lik konsantrasyonlarının kullanılması önerilmektedir.

ROS'ların oluşumunu engellemek, etkilerini azaltmak ve meydana getirdikleri hasarları önleyerek detoksifikasyonu sağlamak için hücrede görev yapan savunma sistemlerine kısaca antioksidanlar adı verilmektedir (Şener ve Yeğen Berrak, 2009). Antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan olmak üzere iki grupta değerlendirilebilmektedir. Yapılan çalışmalarda, L-Karnitin, vitamin C ve vitamin E gibi antioksidanların infertilite üzerinde olumlu etkilerinin olduğunu ve birinci basamak tedavide kullanılabileceklerini gösterirken glutatyon, selenyum ve Koenzim Q10 gibi bir diğer grup antioksidanın ise ikinci basamak tedavide düşünülebileceğini ortaya koymaktadır (Vahidinia et al., 2016; Balercia et al., 2017). Normozoospermili hastalar üzerinde yapılan bir *in vitro* çalışmada, infertilite üzerine myo-inositolün etkileri araştırılmıştır (Condorelli et al., 2011). Yapılan çalışmada, myo-inositol 2 saat boyunca 2 mg/mL olacak şekilde uygulandıktan sonra mitokondriyal fonksiyonları etkilemediği bununla birlikte, sperm sayısının önemli derecede arttığı gözlemlenmiştir. 2012 yılında Condorelli ve ark., tarafından yürütülen bir başka *in vitro* çalışmada, bu sefer myo-inositolün (2 mg/mL, 2 saat boyunca) uygulaması 20 normozoospermi ve 20 oligoastheno-teratozoospermia tanısı konan 40 hastanın spermelerinde gerçekleştirilmiştir. Her iki grubunda sperm motilitesi artarken sadece oligoastheno-teratozoospermia tanısı konan hastaların spermelerinde mitokondriyal işlevin geliştiği gözlemlenmiştir. Bir diğer *in vitro* çalışmada ise infertil erkeklerden alınan semen örnekleri incelenmiş ve seminal plazmalarının antioksidan oranları ile birlikte çok düşük seviyelerde çinko ve selenyum mineralleri tespit edilmiştir (Türk ve ark., 2004). Birçok *in vitro* çalışmada yüksek dozda antioksidan desteğinin semen kalitesini iyileştirdiği gözlemlenmiş olmasına rağmen infertil erkeklerde antioksidanların özellikle diyetle alınımı ve sperm kalitesi parametrelerini gösteren çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Bu çalışmalar göz önüne alındığında diyet ile antioksidan alımının düşük olması ile sperm kalitesinin düşük olması arasında pozitif bir ilişkinin olduğu gösterilmiştir (Mendiola et al., 2010; Nadjarzadeh et al., 2013). Bu tez çalışması kapsamında uygulanan bitki ekstraktarı *in vitro* olarak uygulanmıştır. Bu nedenle, elde edilen bulgular doğrultusunda daha ileri kontrollü diyet ile alım çalışmalarına ihtiyaç vardır. Diyet alımı çalışmaları için en uygun adaylar, *in vitro* denemeler sonucunda bu tez çalışması kapsamında ısırgan ve biberiye olarak belirlenmiştir.

Medikal ve aromatik bitkiler, hastalıkların önlenmesinde, sağlık durumunun sürdürülmesinde ya da hastalıkların tedavisinde ilaç olarak kullanılan bitkiler olarak tanımlanabilmektedir. Medikal bitkiler, gıda, kozmetik ve dini törenlerde de kullanılabilirdiği gibi aromatik bitkiler aynı zamanda güzel koku ve tat vermeleri içinde kullanılabilirler (Anonim, 2005). DSÖ'ye göre geleneksel tıp; "fiziksel ve ruhsal hastalıklardan korunma, bunlara tanı koyma, iyileştirme ya da tedavi etmenin yanında sağlığın iyi sürdürülmesinde de kullanılan, farklı kültürlerle özgü teori, inanç ve tecrübelerle dayalı izahı yapılabilen ya da yapılamayan bilgi, beceri ve uygulamaların bütünüdür" (Anonim, 2017). Geleneksel uygulamalar arasında ise en yaygın olarak bitkisel karışımların kullanıldığı belirtilmiştir (Boivin and Schmidt, 2009; Ayaz ve Yaman, 2010; Bardaweel et al., 2013). Bununla birlikte, bitkilerin tedavi amaçlı kullanımının ülkelerin gelişmişlik durumuna göre değişkenlik gösterdikleri gelişmekte olan ülkelerde bu oran %80'leri bulabilirken hatta bu oran Asya, Afrika ve Orta Doğu kökenli ülkelerde %95'i bulabilmektedir. Yapılan çalışmalar, gelişmiş ülkelerde bitkilerin tedavi amaçlı kullanımının gelişmekte olan ülkelere kıyasla daha az olduğunu göstermektedir. Bu oran Almanya'da %40-50, ABD'de %42, Avustralya'da %48 ve Fransa'da %49 olarak gözlemlenmiştir. İlginçtir ki, medikal bitkilerin ticareti göz önüne alındığında en önemli ticaret merkezlerinin Almanya, ABD, Japonya ve İngiltere'de olduğu görülmektedir (Titz, 2004). Bitkisel karışımlar tedavi amaçlı olarak daha düşük maliyetli olmaları, kolay ulaşımları, kimyasal ilaçların yan etkilerine duyulan endişe ve invaziv girişimin olmaması düşünüldüğünde infertilitede de yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. 2009 yılında Shahin ve diğ.'nin infertil çiftlerde yapmış oldukları bir çalışmada, çiftlere 3 ay boyunca her gün 5 g ayurvedik tıpta kullanılan ginseng verilmiştir ve seminal plazmadaki vitamin A, C, E ve antioksidan seviyeleri ölçülmüştür. Elde edilen verilere göre, seminal plazmada vitamin A, C, E ve antioksidan seviyeleride iyileşme gözlenmesinin yanı sıra testosteron, LH, FSH ve prolaktin seviyelerinde de artış belirlenmiştir.

2017 yılında zerdeçalın diyet ile alımının sperm motilitesine ve canlılığına olan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada zerdaçalın ROS üretimini azaltarak sperm motilitesini arttırdığı gözlemlenmiştir (Yan et al., 2017). Yapılan bu çalışmada kullanılan horoz grupları, zerdeçal almayan kontrol grubu, diyetine günlük 0.8 g zerdeçal eklenmiş sıcaklık kontrollü ortamda tutulan deney grubu (grup T) ve

diyetine günlük 1.6 g zerdeçal eklenmiş sıcaklık stresi altındaki deney grubu (grup C) olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. 4 haftanın sonunda örneklerin sperm motilitesi ve canlılıkları 2., 3. ve 4. haftalarda yapılan semen analizleri ile belirlenmiştir. Elde edilen bulgulara göre, kontrole kıyasla her iki deney grubunda da sperm motilitesinde iyileşme gözlemlenmiş ve ROS seviyelerinde düşüş belirlenmiştir. Bununla birlikte, deney gruplarının kendi aralarında yapılan karşılaştırma sonucunda ise zerdeçalın sıcaklık stresinde ROS üretimini azalttığını göstermiştir. Biz de bu tez çalışmasında, ısırgan, biberiye ve keçiboynuzu bitkilerinden elde edilen ekstraktlarının *in vitro* koşullar altında sperm kalitesine olan etkilerini incelediğimizde özellikle sperm progresif motilite ve vitalitesinin iyileştiğini gözlemledik. 30 dk, 1 s ve 24 s olmak üzere farklı konsantrasyonlarda yaptığımız uygulamalarda ısırgan bitki uygulamasından sonra sperm progresif motilitesinde 30. dk'da kontrole kıyasla 2,52 kat artış saptanırken 24. saatte bu oran 8,35 kat olarak saptanmıştır. Yine aynı şekilde, biberiye bitki uygulamasından sonra ise 30. dk'da kontrole kıyasla 3 kat, 24. saatte bu oran 10,15 kat artış olarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, keçiboynuzu bitki uygulamasından sonra ısırgan ve biberiye bitki uygulamasından farklı olarak 30. dk'da bir azalma gözlemlenirken bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p=0.06$). İlginçtir ki, keçiboynuzu uygulamasının 24. saatinde artma gözlemlenmiş ve bu istatistiksel olarak anlamlı olarak belirlenmiştir ($p=0.01$). Üç farklı sürede uyguladığımız bitki ekstraktlarının spermin vitalitesine olan etkileri değerlendirildiğinde hem ısırgan hemde biberiye bitki uygulamalarında 24. saatten sonra vitalitenin olumlu yönde etkilendiği istatistiksel olarak da belirlenmiştir ($p=0.001$). Bununla birlikte, keçiboynuzu uygulamasında 1. ve 24. s'lik uygulamalarda kontrole kıyasla sperm vitalitesindeki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (1 s, $p=0.003$; 24 s, $p=0.01$).

Erkek infertilitesinde temel yaklaşım tedavi ile düzeltilebilir nedenlerin saptanması ve tedavi edilmesidir. Bu nedenle, araştırmacılar ve doktorlar, cerrahi ve medikal/destekleyici yöntemleri geliştirerek kullanırken bunu amaçlamaktadırlar. Düzeltilebilir idiyopatik infertil erkeklerin bir kısmında medikal/destekleyici tedaviye gereksinim duyulabilmektedir. Destekleyici tedavilerin arasında sperm kalitesinin artırılmasında antioksidanların üzerinde yapılan çalışmalar giderek yoğunlaşmaktadır. Özellikle antioksidan destek tedavisinin spontan gebelik şansı isteyen ya da yardımla üreme tekniklerini kullanarak gebelik olasılığının artmasını

isteyen çiftlerde faydalı olduğu gösterilmiştir. Yapılan *in vitro* çalışmalar, diyetle yeterli antioksidan alımının ya da antioksidan desteklerinin sperm morfolojisi, motilitesi ve sayısı üzerine olumlu etkilerinin olduğunu ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, antioksidanların günlük diyetle alım miktarlarının belirlenmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Bu tez çalışmasında elde ettiğimiz bulgular, ısırgan, biberiye ve keçiboynuzu bitki ekstraktlarının sperm kalitesi değerlendirildiğinde sperm progresif motilite ve vitalitesini olumlu yönde etkilediğini ortaya koymaktadır. Bununla birlikte, elde ettiğimiz bu veriler *in vitro* koşullar altında gerçekleştirildiği için öncül çalışma kategorisine girmekte olup uzun vadede antioksidan etkileri göz önünde alındığında bu üç bitkininde umut vaat ettiği gözlemlenmiştir.



8. KAYNAKÇA

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. *Oxid Med Cell Longev*, 2, 73-81.

Agarwal, A., Allan, J. (2010), Antifertility effects of herbs: Need for responsible Reporting. *Journal of Ayurveda & Integrative Medicine*, 1(2), 129-33.

Agarwal, A., Ikemoto, I., Loughlin, K.R. (1994), Relationship of sperm parameters with levels of reactive oxygen species in semen specimens. *J Urol*, 152, 107-110.

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. *Repro Biomed Online*, 8, 616–627.

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

Agarwal, A., Said, T.M., (2003), Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility. *Hum Reprod Upd*, 9, 331-34.

Agarwal, A., Saleh, R.A., Bedaiwy, M.A. (2003), Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril*, 79, 829-43.

Agarwal, A., Sekhon, L.H. (2010), The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility. *Hum Fertil (Camb)*,13(4), 217-225.

Ahmed, M.M., (2010), Biochemical studies on nephroprotective effect of carob (*Ceratonia siliqua* L.) growing in Egypt. *Nature and Science*, 8(3), 41- 47.

Ahraz, A. (2003), Locust Bean Gum (Keçiboynuzu Zamkı) E-410'un Türkiye'de Üretimi. *Gıda Teknolojisi*, 7, 36-37.

Aitken, R.J. (1995), Free radicals, lipid peroxidation and sperm function. *Reprod Fertil Dev*, 7, 659-668.

Aitken, R.J. (1999), The Amoroso Lecture. The human spermatozoon-a cell in crisis. *J Reprod Fertil*, 115, 1-7.

Aitken, R.J., Buckingham, D.W., West, K., Brindle, J. (1996), On the use of paramagnetic beads and ferrofluids to assess and eliminate the leukocytic contribution to oxygen radical generation by human sperm suspensions. *Am J Reprod Immunol*, 35, 541-551.

Aitken, R.J., Buckingham, D.W., West, K.M. (1992), Reactive oxygen species and human spermatozoa: analysis of the cellular mechanisms involved in luminol- and lucigenin-dependent chemiluminescence. *J Cell Physiol*, 151, 466-477.

Aitken, R.J., Clarkson, J.S. (1987), Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of reactive oxygen species by human spermatozoa. *J Reprod Fert*, 81, 459-469.

Aitken, R.J., Fisher, H.M., Fulton, N., Gomez, E., Knox, W., et al. (1997), Reactive

oxygen species generation by human spermatozoa is induced by exogenous NADPH and inhibited by the flavoprotein inhibitors diphenylene iodonium and quinacrine. *Mol Reprod Dev*, 47, 468-482.

Aitken, R.J., Gordon, E., Harkiss, D., Twigg, J.P., Milne, P., et al. (1998), Relative impact of oxidative stress on the functional competence and genomic integrity of human spermatozoa. *Biol Reprod*. 59, 1037-46.

Aitken, R.J., Harkiss, D., Buckingham, D.W. (1993), Analysis of lipid peroxidation mechanisms in human spermatozoa. *Mol Reprod Dev*, 35, 302-315.

Aitken, J., Krausz, C., Buckingham, D. (1994), Relationships between biochemical markers for residual sperm cytoplasm, reactive oxygen species generation, and the presence of leukocytes and precursor germ cells in human sperm suspensions. *Mol Reprod Dev*, 39, 268-279.

Aitken, R.J., West, K.M. (1990), Analysis of the relationship between reactive oxygen species production and leucocyte infiltration in fractions of human semen separated on Percoll gradients. *Int J Androl*, 13, 433-51.

Aitken, R.J., Wingate, J.K., De Iuliis, G.N., McLaughlin, E.A. (2007), Analysis of lipid peroxidation in human spermatozoa using BODIPY C11. *Mol Hum Reprod*, 13, 203-211.

Akal, E., Selçuk, M. (2013), Spermatozoon DNA'sının Hasarına Neden Olan Faktörler, Tamir ve Hasar Tespit Mekanizmaları. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 284-293.

Akay, M.T. (2001), Genel Histoloji. 5. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık.

Alagawany, M., El-Hack, M.E.A., Farag, M.R., Gopi, M., Karthik, K., et al. (2017), Rosmarinic acid: modes of action, medicinal values and health benefits. *Animal Health Research Reviews*, 1-10.

Alshahrani, S., Agarwal, A., Assidi, M., Abuzenadah, A.M., Ayaz, A., Sharma, R. (2014), The effect of low level leukocytospermia on oxidative stress markers in infertile men. *BMC Genomics*, 15(Suppl 2), P56.

Altun, R., Özden, A. (2004), Tamamlayıcı ve alternatif tıp. *Güncel Gastroenteroloji*, 8(3), 231-235.

Andersson, A.M., Carlsen, E., Petersen, J.H., Skakkebaek, N.E. (2003), Variation in levels of serum inhibin B, testosterone, estradiol, luteinizing hormone, folliclestimulating hormone, and sex hormone-binding globulin in monthly samples from healthy men during a 17-month period: possible effect of seasons. *J Clin Endocrinol Metab*, 88, 932-937.

Angioni, A., Bara, A., Cereti, E., Barile, D., Coisson, J., et al. (2004), Chemical Composition, Plant Genetic Differences, Antimicrobial ve Antifungal Activity Investigation of the Essential Oil of *Rosmarinus officinalis* L., *Journal of Agricultural ve Food Chemistry*, 52(11), 3530-3355.

Anonim, (2005), Medicinal and Aromatic Plants Working Group-ECP/GR.

Anonim, (2015), <http://aku.edu.tr/2016/03/15/tibbi-ve-itri-bitkiler-calistayinin-ikincisi> düzenlendi// E.T:25/02/2018.

Anonim, (2017), WHO, <http://who.int/medicines/areas/traditional/definitions/en/> Erişim Tarihi :27.02.2017.

April, E.W. (1998), NMS Klinik Anatomi, (Çeviri Editörü: Yıldırım M.), İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Avcı, B. (2006). Farklı Fiksasyon Protokolleri ile Sperm Kromatin Kondansasyon Anomalisinin Değerlendirilmesi. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 32(2), 55-59.

Avcıbay, B., Beji, N.K. (2013). İnfertilite tedavisinde tamamlayıcı/alternatif tıp uygulamaları. *Androloji Bülteni*, 52, 71-74.

Avşar, A.F., Taş, E.E., Akçay, G.Y. (2013), B-12 vitamini ve infertilite. *Ankara Medical Journal*, 13(2), 82-84.

Ayan, A.K., Çalışkan, Ö., Çırak, C.T. (2006), Isırgan otu (*Urtica Spp.*)'nun Ekonomik Önemi ve Tarımı. *OMÜ Zir. Fak. Dergisi*, 21(3), 357-363.

Ayaz, S., Yaman, E.S. (2010), Traditional practices used by infertile women in Turkey. *International Nursing Review*, 57, 383-387.

Aydos, K. (2007), Erkek infertilitesi. İç: Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N. Temel Üroloji 3.baskı, Güneş Tıp Kitabevleri; s. 967-1012.

Balercia, G., Arnaldi, G., Fazioli, F., Serresi, M., Alleva, R., et al. (2002), Coenzyme Q10 levels in idiopathic and varicoceleassociated asthenozoospermia. *Andrologia*, 34, 107-111.

Balercia, G., Buldreghini, E., Vignini, A., Tiano, L., Paggi, F., et al. (2009), Coenzyme Q10 treatment in infertile men with idiopathic asthenozoospermia: a placebo-controlled, double-blind randomized trial. *Fertil Steril*, 91, 1785-92.

Balercia, G., Mancini, A., Tirabassi, G., Pontecorvi, A. (2017), Coenzyme Q10 in male infertility, in antioxidants in andrology. *Cham: Springer International Publishing*, 43-57.

Balercia, G., Mosca, F., Mantero, F., Boscaro, M., Mancini, A., et al. (2004), Coenzyme Q(10) supplementation in infertile men with idiopathic asthenozoospermia: an open, uncontrolled pilot study. *Fertil Steril*, 81, 93-98.

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. *Fertil Steril*, 84, 662-671.

Banyai, E.S., Tulok, M.H., Hgedüs, A., Renner, C., Varga, I.S. (2003), Antioxidant effect of various rosemary (*Rosmarium officinalis* L.) clones. *Acta Biol Szeged*, 47, 111-113.

Bardaweel, S.K., Shehadeh, M., Suaifan, G.A., Kilani, M.V. (2013), Complementary and alternative medicine utilization by a sample of infertile couples in Jordan for infertility treatment: clinics-based survey. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13, 35.

Barratt, C.L.R., Bolton, A.E., Cooke, I.D. (1990), Functional significance of white blood cells in the male and female reproductive tract. *Hum Reprod*, 5, 639-648.

Battle, I. (1997), Current situation and possibilities of development of the carob tree (*Ceratonia siliqua* L.) in the Mediterranean region. Unpublished FAO Report. Rome, Italy. (Çeviri: T. Yıldırım), Antalya: Batı Akdeniz Ormancılık Enstitüsü Yayınları.

Bayrak, A. (2006), Gıda Aromaları. *Gıda Teknolojisi Derneği*, 268-273.

Bayraktar, Ö.V., Öztürk, G., Arslan, D. (2017), Türkiye’de Bazı Tıbbi ve Aromatik Bitkilerin Üretimi ve Pazarlamasındaki Gelişmelerin Değerlendirilmesi. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 26(2), 216-229.

Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., Yılmaz, G., Arabacı, O., Kızıl, S., Telci, Đ. (2010), “Tıbbi Ve Aromatik Bitkiler Üretimine Arttırılması Olanakları”. Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi Bildiriler Kitabı-I, 437–456, 11– 15 Ocak, Ankara.

Bayramoğlu, M.M., Toksoy, D. (2008), Aktarlar ve Tıbbi Bitki Ticareti Üzerine Bir Araştırma (Doğu Karadeniz Bölgesi Örneği). *TMMOB Orman Mühendisleri Odası Dergisi*, 45(4-6), 1301–3572.

Baytop, T. (1984), Türkiyede bitkiler ile tedavi (geçmişte ve bugün). *İstanbul Üniversitesi Dergisi*, 40.

Baytop, T. (1999), Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi Geçmişte ve Bugün, 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, s. 1-480

Beaudeau, J.L., Gardes-Albert, M., Delattre, J., Legrand, A., Rousset, F., Peynet, J. (1996), Resistance of lipoprotein(a) to lipid peroxidation induced by oxygenated free radicals produced by gamma radiolysis: a comparison with low-density lipoprotein. *Biochemical Journal*, 314, 277-284.

Bennetts, L.E., Aitken, R.J. (2005), A comparative study of oxidative DNA damage in mammalian spermatozoa. *Mol Reprod Dev*, 71, 77–87.

Bisht, S., Faiq, M., Tolahunase, M., Dada, R. (2017), Oxidative stress and male infertility. *Nature Reviews Urology*, 14(8), 470-485.

Blackman, M.R., Wang, C., Swerdloff, R.S. (2004), The role of carnitine in the male reproductive system. *Ann N Y Acad Sci*, 1033, 177-188.

Bohmer, T., Johansen, L. (1978), Carnitine-binding related suppressed oxygen uptake by spermatozoa. *Arch Androl*, 1, 321-324.

Boivin, J., Schmidt, L. (2009), Use of complementary and alternative medicines associated with a 30% lower ongoing pregnancy/live birth rate during 12 months of fertility treatment. *Human Reproduction*, 24(7), 1626- 1631.

Bombardelli, E., Morazzoni, P. (1997), *Urtica dioica* L. *Fitoterapia*, 5, 387- 389.

Bradtke, A. (1999), Role of growth hormone and prolactin in the control of reproduction: what are we learning from transgenic and knock-out animals. *Steroids*, 64, 598-604.

Braun, R.E. (2001), Packaging paternal chromosomes with protamine. *Nat Genet*, 28, 10-12.

Brooks, D.E. (1980), Carnitine in the male reproductive tract and its relation to the metabolism of the epididymis and spermatozoa. In *Carnitine biosynthesis, Metabolism and Functions*, RA Frenkel, D McGarry (eds), New York: Academic Press, pp. 219-35

Brykczynska, U., Hisano, M., Erkek, S., Ramos, L., Oakeley, E.J., et al. (2010), Repressive and active histone methylation mark distinct promoters in human and mouse spermatozoa. *Nat Struct Mol Biol*, 17, 679-687.

Burrows, P.J., Schepterman, C.G., Lipshultz, L.I. (2002), Comprehensive office evaluation in the new millennium. *Urol Clin North Am*, 29, 873-894.

Celik-Ozenci, C., Catalanotti, J., Jakab, A., Aksu, C., ve ark. (2003), Human sperm maintain their shape following decondensation and denaturation for fish: shape analysis and objective morphometry. *Biol Reprod*, 69, 1347-55.

Cetinus, E., Kilinc, M., Inanc, F., Kurutas, E.B., Buzkan, N. (2005), The role of *Urtica dioica* (urticaceae) in the prevention of oxidative stress caused by tourniquet application in rats. *Tohoku J Exp Med*, 205, 215–221.

Ciftci, H., Verit, A., Savas, M., Yeni, E., Erel, O. (2009), Effects of N-acetylcysteine on semen parameters and oxidative/antioxidant status. *Urology*, 74, 73-76.

Clermont, Y. (1972), Kinetics of spermatogenesis in mammals: Seminiferous epithelial cycle and spermatogonial renewal. *Physiol Rev*, 52, 198-236.

Cocuzza, M., Sikka, S.C., Athayde, K.S., Agarwal, A. (2007), Clinical relevance of oxidative stress and sperm chromatin damage in male infertility: an evidence based analysis. *Int Braz J Urol*, 33, 603-621.

Colagar, A.H., Marzony, E.T., Chaichi, M.J. (2009), Zinc levels in seminal plasma are associated with sperm quality in fertile and infertile men. *Nutr Res*, 29, 82-88.

Comhaire, F.H., de Kretser, D.M., Farley, T.M., Rowe, P.J. (1987), Toward more objectivity in diagnosis and management of male infertility. *Int J Androl*, 7(Suppl), 1-53.

Condorelli, R.A., La Vignera, S., Bellanca, S., Vicari, E., Calogero, A.E. (2012), Myoinositol: does it improve sperm mitochondrial function and sperm motility?. *J Urol*, 79(6), 1290- 1295.

Condorelli, R.A., La Vignera, S., Di Bari, F., Unfer, V., Calogero, A.E. (2011), Effects of myoinositol on sperm mitochondrial function *in vitro*. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 15(2), 129-134.

Corless, I.B., Abrams, D., Nicholas, P.K., McGibbon, C.A. (2000), The use of complementary and alternative therapies. *AACN Clin Issues*, 11(1), 4-6.

Dacheux, J.L., Dacheux, F. (2014), New insights into epididymal function in relation to sperm maturation. *Reproduction*, 147, R27–R42.

Darley-Usmar, V., Wiseman, H., Halliwell, B. (1995), Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance. *FEBS Lett*, 369, 131-135.

Davidoff, M.S., Schulze, W., Middendorff, R., Holstein, A.F. (1993), The Leydig cell of the human testis – a new member of the diffuse neuroendocrine system. *Cell Tissue Res*, 271, 429-439.

Davis, P.H. (1987) Flora of Turkey ve the East Aegean Islands, Vol. 7, İngiltere: Edinburgh University Press.

De Krester, D.M., Loveland, K.L., Meihardt, A., Simorangkir, D., Wreford, N. (1998), Spermatogenesis. *Hum Reprod*, 13, 1-8.

De Krester, D.M., Meinhart, A., Meehan, T., Phillips, D.J., O'Bryan, M.K., Loveland, K.A. (2000), The roles of inhibin and related peptides in gonadal function. *Mol Cell Endocrinol*, 161, 43-46.

De Krester, D.M., Robertson, D.M. (1989), The isolation and physiology of inhibin and related proteins. *Biol Reprod*, 40, 33-47.

De Lamirande, E., Gagnon, C. (1992), Reactive oxygen species and human spermatozoa. II. Depletion of adenosine triphosphate plays an important role in the inhibition of sperm motility. *J Androl*, 13, 379-386.

De Lamirande, E., Gagnon, C. (1995), Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: a balancing act between beneficial and detrimental effects. *Hum Reprod*, 10, 15-21.

Delilbaşı, L. (2008), İn Vitro Fertilizasyon (IVF) Laboratuvar Yöntemleri. İstanbul: Güneş Tıp Kitapevi.

Demirtaş, Ö. (2007), Keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua*) çekirdeklerinden gam üretim yollarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniv. FBE, Adana.

Demirtaş, A., Üntan, İ. (2011), Seminal Sıvı ve Spermde Oksidatif Stres ve Antioksidanlar. *Turk Urol Sem*, 2, 24-30

Dere, F. (1999), Anatomi Atlası ve Ders Kitabı, Adana.

Devi, P.R., Laxmi, V., Charulata, C., Rajyalakshmi, A. “Alternative medicine”-a right choice for male infertility management. *International Congress Series*, 1271, 67- 70.

D'Occhio, M.J., Hengstberger, K.J., Johnston, S.D. (2007), Biology of sperm chromatin structure and relationship to male fertility and embryonic survival. *Anim Reprod Sci*, 101(1-2), 1-17.

Dubin, L. Amelar, R.D. (1971), Etiologic factors in 1294 consecutive cases of male infertility. *Fertility and Sterility*, 469-474.

Duru, K.N., Morshedi, M., Oehninger, S. (2000), Effects of hydrogen peroxide on DNA and plasma membrane integrity of human spermatozoa. *Fertil Steril*, 74, 1200-1207.

Ebisch, I.M.W., Thomas, C.M.G., Peters, W.H.M., Braat, D.D., Steegers Theunissen, R.P.M. (2007), The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. *Hum Reprod Update*, 13, 163-174.

Ehmcke, J., Wistuba, J., Schlatt, S. (2006), Spermatogonial stem cells: questions, models and perspectives. *Hum Reprod Update*, 12, 275-282.

El Gehani, F., Zhang, F.P., Pakarinen, P., Rannikko, A., Huhtaniemi, I. (1998), Gonadotropin-independent regulation of steroidogenesis in the fetal rat testis. *Biol Reprod*, 58, 116-123.

El-Taieb, M.A., Herwig, R., Nada, E.A., Greilberger, J., Marberger, M. (2009), Oxidative stress and epididymal sperm transport, motility and morphological defects. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 14, 199-203.

Erdemir, F., Fırat, F., Gençten, Y. (2011), Sperm morfolojisinin değerlendirilmesi ve klinik önemi. *Turk Urol Sem*, 2, 11-17.

Erenpreiss, J., Jepson, K., Giwercman, A., Tsarev, I. ve ark. (2004), Toluidine blue cytometry test for sperm DNA conformation: comparison with the flow cytometric sperm chromatin structure and TUNEL assays. *Hum Reprod*, 19(10), 2277–2282.

Ernster, L., Forsmark-Andree, P. (1993), Ubiquinol: an endogenous antioxidant in aerobic organisms. *Clin Invest*, 71, 60-65.

Eti, S., (2015), Bahçe Bitkilerinde Döllenme Biyolojisi. Çukurova Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Bahçe Bitkileri Bölümü, Ders notu.

Fang, Y., Zhao, L., Yan, F., Xia, X., Xu, D., Cui, X. (2010), Escin improves sperm quality in male patients with varicocele-associated infertility. *Phytomedicine*, 17(3-4), 192-196.

French, D.B., Desai, N.R., Agarwal, A. (2008), Varicocele repair: Does it still have a role in infertility treatment?. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 20, 269-274.

Fuse, H., Kazama, T., Ohta, S., Fujiuchi, Y. (1999), Relationship between zinc concentrations in seminal plasma and various sperm parameters. *Int Urol Nephrol*, 31, 401-8.

Gardner, D.K., Weissman, A., Howles, C.M., Shoham, Z. (2004), Textbook of Assisted Reproductive Techniques, Laboratory and Clinical Perspectives, 2nd Edition. New York: Taylor and Francis.

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

Gartner, L.P., Hiatt, J.L. (2009), Renkli Histoloji Atlası. (Çev. Ed. Dağdeviren, A., Müftüoğlu, F.S., Karabay, G.), Ankara: Güneş Tıp Kitapevi.

Gatewood, J.M., Cook, G.R., Balhorn, R., Bradbury, E.M., Schmid, C.W. (1987), Sequencespecific packaging of DNA in human sperm chromatin. *Science*, 236, 962-964.

Gomendio, M., Malo, A.F., Garde, J., Roldan, E.R. (2007), Sperm traits and male fertility in natural populations. *Reproduction*, 134, 19-29.

Gomez, E., Irvine, D.S., Aitken, R.J. (1998), Evaluation of a spectrophotometric assay for the measurement of malondialdehyde and 4-hydroxyalkenals in human spermatozoa: relationships with semen quality and sperm function. *Int J Androl*, 21, 81-94.

Gottardo, F., Kliesch, S. (2011), Semen analysis: spermogram according to WHO 2010 criteria. *Der Urologe*, 101-108.

Greco, E., Iacobelli, M., Rienzi, L., Ubaldi, F., Ferrero, S., Tesarik, J. (2005), Reduction of the incidence of sperm DNA fragmentation by oral antioxidant treatment. *J Androl*, 26, 349-353.

Griveau, J.F., Dumont, E., Renard, P., Callegari, J.P., Le Lannou, D. (1995), Reactive oxygen species, lipid peroxidation and enzymatic defence systems in human spermatozoa. *J Reprod Fertil*, 103, 17-26.

Gülbaba, A.G., Özkurt, N., Kürkçüoğlu, M., Başer, K.H.C. (2002), Mersin ve Adana Yöresindeki Doğal Biberiye (*Rosmarinus officinalis* L.) Populasyonlarının Tespiti ve Uçucu Yağ Verim ve Bileşimlerinin Belirlenmesi. T.C. Orman Bakanlığı. *Doğu Akdeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü Teknik Bülten*, 16.

Günel, N., (1999), Keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.)'nun Türkiye'deki Coğrafi Yayılışı, Ekolojik ve Floristik Özellikleri. *Marmara Coğrafya Dergisi*, 2, 60 -74.

Hammoud, A.O., Gibson, M., Peterson, M.C., Carrell, D.T. (2007), Effect of sperm preparation techniques by density gradient on intraindividual variation of sperm motility. *Arch Androl*, 53, 349-351.

Hammoud, S.S., Nix, D.A., Zhang, H., Purwar, J., Carrell, D.T., Cairns, B.R. (2009), Distinctive chromatin in human sperm packages genes for embryo development. *Nature*, 460, 473-478.

Hassa, H. (2003), İnfertil Olgulara Klinik Yaklaşım ve IVF Laboratuar Uygulamaları. 1. Baskı. Eskişehir: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Yayınları.

Henkel, R., Hajimohammad, M., Stalf, T., Hoogendijk, C., Mehnert, C., et al. (2004), Influence of deoxyribonucleic acid damage on fertilization and pregnancy. *Fertil Steril*, 81, 965–972.

Huang, Y., Lu, J. (2007), Advances in standardization and quality control for the analysis of sperm quality parameters. *National Journal of Andrology*, 963-968.

Huszar, G. Vigue, L. (1990), Spermatogenesis-related change in the synthesis of the creatine kinase B-type and M-type isoforms in human spermatozoa. *Mol Reprod Dev*, 25, 258-262.

Ilahi, I., Vardar, Y. (1976), Studies in Turkish carob (*Ceratonia siliqua* L.). IV. Acidic auxin-like and inhibitory substances in fruit morphogenesis. *Planta*, 129, 105-108.

Işık, A.Z., Vicdan, K. (1999), İn Vitro Fertilizasyon ve Mikromanipülasyon Uygulamalarında Laboratuvar. Ankara: Çağdaş Medikal.

Jensen, C.E., Wiswedel, K., McLoughlin, J., van der Spuy, Z. (1995), Prospective study of hormonal and semen profiles in marathon runners. *Fertil Steril*, 64(6), 1189-1197.

Jensen, M., Leffers, H., Petersen, J.H., Nyboe Andersen, A., Jørgensen, N., et al. (2004), Frequent polymorphism of the mitochondrial DNA polymerase gamma gene (POLG) in patients with normal spermograms and unexplained subfertility. *Human Reproduction*, 65-70.

Joshi, R., Adhikari, S., Patro, B.S., Chattopadhyay, S., Mukherjee, T. (2001), Free radical scavenging behavior of folic acid: evidence for possible antioxidant activity. *Free Radic Biol Med*, 30, 1390-1399.

Junqueira, L.C., Carneiro, J. (2006), Temel Histoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.

Kadioğlu, A., Kendirci, M., Aktan, G., Yaman, Ö., Çayan, S. (2011), WHO Laboratory Manual for the Examination of Human Semen and Sperm-Cervical Mucus Interaction. 2010; WHO Laboratuvar El Kitabı: İnsan Semeni ve Sperm- Servikal Mukus Etkileşimi Değerlendirilmesi. 5. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Karagöz, E. (2002), Özel Histoloji. Isparta: SDÜ Basımevi.

Kessopoulou, E., Powers, H.C., Sharma, K.K., Pearson, M.C., Russel, J.M., et al. (1995), A double-blind randomized placebo crossed-over trolled trial using the antioxidant vitamin E to treat reactive oxygen species associated male infertility. *Fertil Steril*, 64, 825-831.

Kierszenbaum, A.L. (2001), Transition nuclear proteins during spermiogenesis: unrepaired DNA breaks not allowed. *Mol Reprod Develop*, 58, 357-358.

Kierszenbaum, A.L. (2006), Histoloji ve Hücre Biyolojisi-Patolojiye Giriş. Ankara: Palme Yayıncılık.

Kodama, H., Yamaguchi, R., Fukuda, J., Kasai, H., Tanaka, T. (1997), Increased oxidative deoxyribonucleic acid damage in the spermatozoa of infertile male patients. *Fertil Steril*, 68, 519-524.

Koksal, I.T., Usta, M., Orhan, I., Abbasoglu, S., Kadioglu, A. (2003), Potential role of reactive oxygen species on testicular pathology associated with infertility. *Asian J Androl*, 5, 95-99.

Komiya, A., Watanabe, A., Fuse, H. (2011), Herbal medicine in Japan. *JMH*, 8(1), 15-18.

Kruger, T.F., Acosta, A.A., Simmons, K.F., Swanson, R.J., Matta, J.F., et al. (1987), New method of evaluating sperm morphology with predictive value for human *in vitro* fertilization. *Urology*, 30, 248-251.

Kumazawa, S., Taniguchi, M., Suzuki, Y., Shimura, M., Kwon, M., Nakayama, T. (2002), Antioxidant activity of polyphenols in carob. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 373- 377.

Lee, J., Richburg, J.H., Younkin, S.C., Boekelheide, K. (1997), The Fas system is a key regulator of germ cell apoptosis in the testis. *Endocrinology*, 138, 2081-2088.

Lenzi, A., Lombardo, F., Sgrò, P., Salacone, P., Caponecchia, L., et al. (2003), Use of carnitine therapy in selected cases of male factor infertility: a double-blind crossover trial. *Fertil Steril*, 79, 292-300.

Lewin, L.M., Beer, R., Lunenfeld, B. (1976), Epididymis and seminal vesicle as sources of carnitine in human seminal fluid: the clinical significance of the carnitine concentration in human seminal fluid. *Fertil Steril*, 27, 9-13.

Limet, H. (1978), Pharmacoepie et Pharmacie Sumeriennes- Rev. *Hist. Pharm*, 25(238), 147.

Lopez, F.J., Merchenthaler, I.J., Moretto, M., Negro-Vilar, A. (1998), Modulating mechanisms of neuroendocrine cell activity: the LHRH pulse generator. *Cell Mol Neurobiol*, 18, 125-146.

Löliger, J. (1983), Natural antioxidants. In: Allen, J.C., Hamilton, R.J. (eds), Rancidity in foods. London: Applied Science Publishers, pp. 89-107.

Mack, S., Bhattacharyya, A.K., Joyce, C., van der Ven, H., et al. (1983), Acrosomal enzymes of human spermatozoa before and after *in vitro* capacitation. *Biol Reprod*, 28(5), 1032-1042.

Main, K.M., Schmidt, I.M., Skakkebaek, N.E. (2000), A possible role for reproductive hormone in newborn boys: progressive hypogonadism without the postnatal testosterone peak. *J Clin Endocrinol Metab*, 85, 4905-4907.

Majdic, G., Saunders, P.T., Teerds, K.J. (1998), Immunoexpression of the steroidogenic enzymes 3-beta hydroxysteroid dehydrogenase and 17 alpha hydroxylase, C17,20 lyase and the receptor for luteinizing hormone (LH) in the fetal rat testis suggests that the onset of Leydig cell steroid production is independent of LH action. *Biol Reprod*, 58, 520-525.

Malo, A.F., Gomendio, M., Garde, J., Lang-Lenton, B., Soler, A.J., Roldan, E.R. (2006), Sperm design and sperm function. *Biol Lett*, 2, 246-249.

Maslarova, V.Y., Heinonen, L.M. (2001), Rosemary and sage as antioxidants. In: Peter, K.V. (ed), Handbook of Herbs and Spices. England: Woodhead Publishing Ltd, England, pp. 78-83.

Matés, J.M., Pérez-Gómez, C., Castro, I.N. (1999), Antioxidant enzymes and human diseases. *Clinical Biochemistry*, 32(8), 595-603.

Meachem, S., von Schonfeldt, V., Schlatt, S. (2001), Spermatogonia: stem cells with a great perspective. *Reproduction*, 121, 825-834.

Mendiola, J., Torres-Cantero, A.M., Vioque, J., Moreno-Grau, J.M., Ten, J., Roca, M. (2010), A low intake of antioxidant nutrients is associated with poor semen quality in patients attending fertility clinics. *Fertil Steril*, 93(4), 1128-1133.

Moncada, M.L., Vicari, E., Cimino, C., Calogero, A.E., Mongioi, A., D'Agata, R. (1992), Effect of acetylcarnitine treatment in oligoasthenospermic patients. *Acta Eur Fertil*, 23, 221-224.

Moore, K.L., Persaud, T.V.N. (2002), İnsan Embriyolojisi. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Moore, K.L., Dalley, A.F. (1995), Clinically Oriented Anatomy. ABD: Lippincott Williams and Wilkins.

Moradi, M., Moradi, A., Alemi, M., Ahmadnia, H., Abdi, H., et al. (2010), Safety and efficacy of clomiphene citrate and L-carnitine in idiopathic male infertility: a comparative study. *Urol J*, 7, 188-193.

Mora-Esteves, C., Shin, D. (2013), Nutrient supplementation: improving male fertility fourfold. *Semin Reprod Med*, 31, 293–300.

Mosher, W.D. (1985), Reproductive impairments in the United States, 1965–1982. *Demography*, 22, 415–430.

Mostafa, T., Anis, T.H., El-Nashar, A., Imam, H., Othman, I.A. (2001), Varicocelelectomy reduces reactive oxygen species levels and increases antioxidant activity of seminal plasma from infertile men with varicocele. *Int J Androl*, 24, 261-265.

Mostafa, T., Anis, T. H., Imam, H., El-Nashar, A.R., Osman, I.A., et al. (2009), Seminal reactive oxygen species-antioxidant relationship in fertile males with and without varicocele. *Andrologia*, 41, 125–129.

Moustafa, M.H., Sharma, R.K., Thornton, J., Mascha, E. (2004), Relationship Between ROS Production , Apoptosis and DNA Denaturation in Spermatozoa from Patients Examined for Infertility. *Hum Reprod*, 19(1), 129-138.

Nadjarzadeh, A., Mehrsari, A., Mostafavi, E., Gohari, M.R., Shidfar, F. (2013), The association between dietary antioxidant intake and semen quality in infertile men. *Med J Islam Repub Iran*, 27(4), 204-249.

Nassu, R.T., Goncalves, L.A.G., Pereira da Silva, M.A.A., Beserra, F.J. (2003), Oxidative stability of fermented goat meat sausage with different levels of natural antioxidant. *Meat Sci*, 63, 43-49.

Oğuz, Y. (2013), Sperm Hazırlama Yöntemi Olarak “Swim-Up ve Gradient” Tekniklerinin Dna Fragmantasyonuna Etkilerinin Karşılaştırılması. Uzmanlık Tezi. Ankara Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi.

Ostermeier, G.C., Sargeant, G.A., Yandell, B.S., Evenson, D.P., Parrish, J.J. (2001), Relationship of bull fertility to sperm nuclear shape. *J Androl*, 22, 595-603.

Ovalle, W.K., Nahirney, P.C. (2009), Netter’s essential histology. Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri.

Owen, R.W., Haubner, R., Hull, W.E., Erben, G., Spiegelhalder, B., Bartsch, H. (2003), Isolation and elucidation of the major individual polyphenols in carob fiber. *Food and Chemical Toxicology*, 41, 1727-1738.

Ozmen, B., Koutlaki, N., Youssry, M., Diedrich, K., Al-Hasani, S. (2007), DNA damage of human spermatozoa in assisted reproduction: origins, diagnosis, impacts and safety. *Reprod BioMed Online*, 14, 384–395.

Özbek, H. (2005), Cinsel ve Jinekolojik Sorunların Tedavisinde Bitkilerin Kullanımı. *Van Tıp Dergisi*, 12(2), 170-174.

Önder, Ç. (2011), Yardımcı Üreme Teknikleri Temel Klinik ve Embriyolojik Uygulamalar. İstanbul: Nobel Kitabevi.

Payan-Carreira, R., Borges, P., Mir, F., Fontbonne, A., et al., (2013), Molecular Markers in Sperm Analysis. In: Success in Artificial Insemination-Quality of Semen and Diagnostics Employed. InTech.

Plante, M., de Lamirande, E., Gagnon, C. (1994), Reactive oxygen species released by activated neutrophils, but not by deficient spermatozoa, are sufficient to affect normal sperm motility. *Fertil Steril*, 62, 387-393.

Purvis, K., Christiansen, E. (1992), Male infertility: current concepts. *Ann Med*, 24, 258-272.

Rathke, C., Barckmann, B., Burkhard, S., Jayaramaiah-Raja, S., Roote, J., Renkawitz-Pohl, R. (2010), Distinct functions of Mst77F and protamines in nuclear shaping and chromatin condensation during *Drosophila* spermiogenesis. *Eur J Cell Biol*, 89, 326-338.

Richardson, I., Grotas, A.B., Nagler, H.M. (2008), Outcomes of varicocele treatment: An updated critical analysis. *Urol Clin North Am*, 35, 191-209.

Riehemann, K., Behnke, B., Schulze-Osthoff, K. (1999), Plant extracts from stinging nettle (*Urtica dioica*), an antirheumatic remedy, inhibit the proinflammatory transcription factor NF κ B. *FEBS Lett*, 442, 89-94.

Riznar, K., Celan, S., Knez, Z., Škerget, M., Bauman, D., et al. (2006), Antioxidant and antimicrobial activity of rosemary extract in chicken frankfurters. *J Food Sci*, 71, 425-429.

Ross, M.H., Pawlina, W. (2010), Histology a Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology. 6th ed, ABD: Lippincott Williams & Wilkins/Sadler.

Said, T.M., Agarwal, A., Sharma, R.K., Thomas, A.J., Sikka, S.C. (2003), Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril*, 79, 829–843.

Sakkas, D., Mariethoz, E., Manicardi, G., Bizzaro, D, et al. (1999), Origin of dna damage in ejaculated human spermatozoa. *Rev Reprod*, 4, 31-37.

Sakkas, D., Moffat, O. (2002), Nature of dna damage in ejaculated human spermatozoa and possible involvement of apoptosis. *Biol Reprod*, 66, 1061-1067.

Saleh, R.A., Agarwal, A. (2002), Oxidative Stress And Male Infertility :From Research Bench to Clinical Practice-Review. *J Androl*, 23, 6.

Sancak, B., Cumhuri, M. (1999), Fonksiyonel Anatomi, Bas-Boyun ve iç Organlar. Ankara: Metu Press.

Sanchez, R., Sepulveda, C., Risopatron, J. (2010), Human sperm chemotaxis depends on critical levels of reactive oxygen species. *Fertil Steril*, 93, 150–153.

Seçkin, İ. (2008), Özel Histoloji Ders Kitabı. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Basım ve Yayınevi.

Seli, E., Sakkas, D. (2005), Spermatozoal Nuclear Determinants of Reproductive Outcome: İmplications For ART. *Hum Reprod Update*, 11(4), 337–349.

Shahin, A.Y., Ismail, A.M., Shaaban, O.M. (2009), Supplementation of clomiphene citrate cycles with *Cimicifuga racemosa* or ethinyl oestradiol-a randomized trial. *Reprod Biomed Online*, 19(4), 501-507.

Sharma, R.K., Pasqualotto, A.E., Nelson, D.R., Thomas, A.J. Jr., Agarwal, A. (2001), Relationship between seminal white blood cell counts and oxidative stress in men treated at an infertility clinic. *J Androl*, 22, 575-583.

Sigman, M. (1997), Male Infertility. *Med Health R I*, 80(12), 406–409.

Simpson, J.L. (1990), Disorders of gonads and internal reproductive ducts. Principle and Practice of Medical Genetics. New York: Churchill Livingston.

Snell, R.S. (1998), Tıp Fakültesi Öğrencileri için Fonksiyonel Anatomi. (Çev. Ed. Yıldırım M.), İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri ve Yüce Yayıncılık.

Sørensen, M.B., Stoltenberg, M., Danscher, G., Ernst, E. (1999), Chelating of intracellular zinc ions affects human sperm cell motility. *Mol Hum Reprod*, 5, 338-341.

Souli, A., Sebai, H., Chehimi, L., Rtibi, K., Tounsi, H., Baubaker, S., Sakly, M., El-Benna, J., Amri, M., (2015), Hepatoprotective effect of carob against acute ethanol-induced oxidative stress in rat. *Toxicology and Industrial Health*, 31(9), 802-810.

Spiropoulos, J., Turnbull, D.M., Chinnery, P.F. (2002), Can mitochondrial DNA mutations cause sperm dysfunction?. *Mol Hum Reprod*, 8, 719-721.

Stait, S.E., Leake, D.S. (1996), The effects of ascorbate and dehydroascorbate on the oxidation of low-density lipoprotein. *Biochemical Journal*, 320, 373-381.

Suleiman, S.A., Ali, M.E., Zaki, Z.M., el-Malik, E.M., Nasr, M.A. (1996), Lipid peroxidation and human sperm motility: protective role of vitamin E. *J Androl*, 17, 530-537.

Şener, G., Yeğen Berrak, Ç. (2009), İskemi Reperfüzyon Hasarı. *Klinik Gelişim Dergisi*, 22, 5-13.

Talebi, E., Karimian, M., Nikzad, H. (2017), Association of sperm mitochondrial DNA deletions with male infertility in an Iranian population. *Mitochondrial DNA A DNA Mapp Seq Anal*, 29(4), 615-623.

Tan, L., Yong, Y., Wing Sze, S.C., Xu, M. (2012), Chinese Herbal Medicine for Infertility with Anovulation: A Systematic Review. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 18(12), 1087-1100.

Tanakol, R., (1998), Antioksidan vitaminler: Hastalıkta ve sağlıkta önemleri. *Klinik gelişim*, 11, 347–356.

Titz, A., (2004), Policy, Research and Development and Commercialisation Strategies, Scope for Diversified and Sustainable Extraction, 22-26 July 2004. Bangalore, India.

Tous, J., Romero, A., Battle, I. (2013), The carob tree: botany, horticulture, and genetic resources. *Horticultural Reviews*, 41, 385-456.

Tunalıoğlu, R. (1987), Keçiboynuzu (*Ceratonia siliqua* L.) meyvelerinin farklı gelişme dönemlerinde alınan tohumlarında çimlenme yeteneklerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniv. FBE Ankara.

Tunalıoğlu, R., Özkaya, M.T., (2003), Keçiboynuzu. Tarımsal Ekonomi.

Tunc, O., Tremellen, K. (2009), Oxidative DNA damage impairs global sperm DNA methylation in infertile men. *J Assist Reprod Genet*, 26, 537-544.

Turek, P. (2004), Erkek infertilitesi. Smith Genel Üroloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Turkyilmaz, Z., Gulen, S., Sonmez, K., Karabulut, R., Dinçer, S., ve ark. (2004), Increased nitric oxide is accompanied by lipid oxidation in adolescent varicocele. *Int J Androl*, 27, 183-187.

Türk, S., Mändar, R., Mahlapuu, R., Viitak, A., Punab, M., Kullisaar, T. (2014), Male infertility: decreased levels of selenium, zinc and antioxidants. *J Trace Elem Med Biol*, 28(2), 179-185.

Türker, A.H., Gülbaba, A.G., Taşdelen, A., Polat, S. (2011), Doğu Akdeniz Bölgesi Biberiyelerinin (*Rosmarinus officinalis* L.) Gen Kaynaklarının Korunması ve Klon Seçimi. *T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü Doğu Akdeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü Teknik Bülten*, 40.

Twigg, J., Fulton, N., Gomez, E., Irvine, D.S., Aitken, R.J. (1998), Analysis of the impact of intracellular reactive oxygen species generation on the structural and functional integrity of human spermatozoa: lipid peroxidation, DNA fragmentation and effectiveness of antioxidants. *Hum Reprod*, 13, 1429–1436.

Vahidinia, A., Rahbar, A.R., Shakoori, M., Mohammad, M. (2016), Effect of astaxanthin, vitamin E, and vitamin C in combination with calorie restriction on sperm quality and quantity in male rats. *J Diet Suppl*, 1-12.

Venkatesh, S., Shamsi, M.B., Dudeja, S., Kumar, R., Dada, R. (2004), Reactive oxygen species measurement in neat and washed semen: comparative analysis and its significance in male infertility assessment. *Arch of Gynecol Obstet*, 45, 1432-1439.

Vitali, G., Parente, R., Melotti, C. (1995), Carnitine supplementation in human idiopathic asthenospermia: Clinical results. *Drug Exp Clin Res*, 21, 157-159.

Wang, X., Sharma, R.K., Sikka, S.C., Thomas, A.J. Jr., Falcone, T., Agarwal, A. (2003), Oxidative stress is associated with increased apoptosis leading to spermatozoa DNA damage in patients with male factor infertility. *Fertil Steril*, 80, 531-535.

Ward, W.S. (1993), Deoxyribonucleic acid loop domain tertiary structure in mammalian spermatozoa: minireview. *Biol Reprod*, 48, 1193-1201.

Weinbauer, G.F., Gromoll, J., Simoni, M., Nieschlag, E. (2000), Physiology of testicular function. Berlin: Andrology.

Wolff, H. (1995), The biologic significance of white blood cells in semen. *Fertil Steril*, 63, 1143-1157

Wong, W.Y., Merkus, H.M., Thomas, C.M., Menkveld, R., Zielhuis, G.A., Steegers-Theunissen, R.P. (2002), Effects of folic acid and zinc sulfate on male factor subfertility: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Fertil Steril*, 77, 491-498.

Wong, W.Y., Thomas, C.M., Merkus, J.M., Zielhuis, G.A., Steegers-Theunissen, R.P. (2000), Male factor subfertility: possible causes and the impact of nutritional factors. *Fertil Steril*, 73(3), 435-442.

World Health Organization. (2010), WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, 5th edition. Geneva: World Health Organization.

Wu, T.P., Huang, B.M., Tsai, H.C., Lui, M.C., Liu, M.Y. (2004), Effects of nitric oxide on human spermatozoa activity, fertilization and mouse embryonic development. *Arch Androl*, 50, 173-179.

Yan, W., Kanno, C., Oshima, E., Kuzuma, Y., Kim, S.W., et al. (2017), Enhancement of sperm motility and viability by turmeric by-product dietary supplementation in roosters. *Anim Reprod Sci*, 185, 195-204.

Yaşar, S., (2005), Çukurova Kampüsünde Doğal Olarak Yetişen Bazı Çok Yıllık Tıbbi Bitkilerin Toprak Özellikleri ile Sabit ve Uçucu Yağ Asit İçeriklerinin Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Yusuf, M.K., Ibegbu, A.O., Agbon, A.N., Evang, A. (2017), Determination of Median Lethal Dose of Ethanolic Extract of *Sesamum indicum* seeds in adult Wistar Rats. *African Journal of Cellular Pathology*, 9, 73-76.

Zhang, X. (2013), WHO Traditional Medicine Strategy: 2014-2023. Geneva.

Zini, A., Fischer, M.A., Nam, R.K., Jarvi, K. (2004), Use of alternative and hormonal therapies in male infertility. *Urology*, 63(1), 141-143.

Zorn, B., Vidmar, G., Meden-Vrtovec, H. (2003), Seminal reactive oxygen species as predictors of fertilization, embryo quality and pregnancy rates after conventional *in vitro* fertilization and intracytoplasmic sperm injection. *Int J Androl*, 26, 279–285.

9. EKLER

BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ

“GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR”

İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Araştırma Projesinin Adı: Türkiye’de halk arasında yaygın olarak kullanılan ısırgan, biberiye ve keçiboynuzu bitkilerinin *in vitro* koşullarda sperm fonksiyonu parametrelerine etkisi

Sizi “Türkiye’de halk arasında yaygın olarak kullanılan ısırgan, biberiye ve keçiboynuzu bitkilerinin *in vitro* koşullarda sperm fonksiyonu parametrelerine etkisi” başlıklı bir araştırmaya davet ediyoruz. Bu araştırmaya katılıp katılmama kararını vermeden önce, araştırmanın neden ve nasıl yapılacağını bilmeniz gerekmektedir. Bu nedenle bu formun okunup anlaşılması büyük önem taşımaktadır. Aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız. Eğer anlayamadığınız ve sizin için açık olmayan şeyler varsa, ya da daha fazla bilgi isterseniz bize sorunuz. Bu anket çalışmasına katılmak tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır. Çalışmaya katılmama hakkına sahipsiniz. Çalışma hakkında tam olarak bilgi sahibi olduktan sonra ve sorularınız cevaplandıktan sonra eğer katılmak isterseniz sizden bu formu imzalamanız istenecektir. Bu formlardan elde edilecek bilgiler tamamen araştırma amacı ile kullanılacaktır.

Sorumlu Araştırmacı: ERDİ YILMAZ

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

Sizi davet ettiğimiz çalışmanın amacı halk arasında yaygın olarak kullanılan ısırgan, biberiye ve keçiboynuzu bitkilerinin, insan vücudu dışındaki koşullarda sperm hücrelerine pozitif ya da negatif bir etkisinin olup olmadığını incelemektir.

Spermiyogram tahlili amacıyla vermiş olduğunuz semen örneği değerlendirildikten sonra kalan örneğiniz araştıma için kullanılacak ve sonrasında imha edilecektir. Örneğinizin değerlendirme sonrası kalan materyaliyle çalışılması planlandığı için sizin sağlık durumunuza ve spermiyogram analizinize herhangi bir negatif etkisinin olması öngörülmemektedir. Çalışmaya yaklaşık 40 kişinin katılması planlanmaktadır.

Bu çalışmaya katılmalı mıyım? (Bu bölüm aynen korunacaktır)

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

Bu çalışmaya katılmamanın maliyeti nedir?

Bu çalışmaya katılmanız halinde herhangi bir maddi sorumluluk altına girmeyeceksiniz.

Kişisel bilgilerim nasıl kullanılacak? (Bu bölüm aynen korunacaktır)

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

Daha fazla bilgi için kime başvurabilirim?

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

ADI : Erdi YILMAZ

GÖREVİ : Araştırma sorumlusu

TELEFON : 05432449119

Medical Park Bahçelievler Hastanesi Tüp Bebek Bölümünde Biyolog Erdi YILMAZ tarafından tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı ve ilgili metni okudum. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim.

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

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

Araştırmadan elde edilen benimle ilgili kişisel bilgilerin gizliliğinin korunacağını biliyorum.

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

Araştırma sırasında bir sorun ile karşılaştığımda; Bio. Erdi Yılmaz’ı 05432449119 nolu telefondan arayabileceğimi biliyorum.

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

Katılımcı

Adı, soyadı:

Tel:

İmza:

Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu

26.04.2017

Sayın: Erdi Yılmaz

Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu yapılan inceleme sonucunda “Türkiye’de halk arasında yaygın olarak kullanılan biberiye, keçiboynuzu ve ısırgan bitkilerinin in vitro koşullarda sperm fonksiyonu parametrelerine etkisi” isimli araştırmanızın kurulumuzun 26/04/2017 tarihli toplantısında etik yönden uygun olduğuna karar verilmiştir.

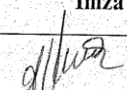
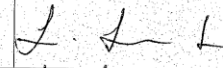

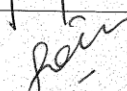
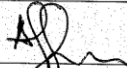

Etik Kurul Başkanı
Prof. Dr. Tülay İrez



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

	Karar No: 2017/5-6
Tarih:26.04.2017 Toplantı Sayısı:5	Araştırmacı Erdi Yılmaz'ın planladığı "Türkiye'de halk arasında yaygın olarak kullanılan biberiye, keçiboynuzu ve ısırgan bitkilerinin in vitro koşullarda sperm fonksiyonu parametrelerine etkisi" konulu araştırma incelendi, yapılan inceleme sonucunda araştırmanın etik yönden uygun olduğuna karar verildi.

ÜYELER

Adı soyadı	Alanı	Bölümü	Katılım	İmza
Prof.Dr.Tülay İrez	Temel Tıp Bilimleri	Histoloji ve Embriyoloji	Etik kurul Başkanı	
Doç.Dr.Leman Şenturan	Sağlık Bilimleri Fakültesi	Hemşirelik	Etik Kurul Başkan Yardımcısı	
Prof.Dr.Fatma Çelik	Sağlık Bilimleri Fakültesi	Beslenme ve Diyetetik	Üye	
Doç.Dr.Şölen Himmetoğlu	Tıp Fakültesi Temel Bilimler	Tıbbi Biyokimya	Raportör	
Yrd.Doç.Dr.Ayşe Tuğba Ceyhan Duman	Eğitim Fakültesi	Zihin Engelliler	Üye	
Yrd.Doç.Dr.Belen Şirinoğlu Çapan	Diş Hekimliği Fakültesi	Pedodonti	Üye	

11. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Erdi YILMAZ

Doğum Tarihi ve Yeri : 01.11.1989 - Eyüp

Mail Adresi: erdi.yilmazfb@gmail.com

Unvanı: Biyolog

Öğrenim Durumu: Lisans

Derece	Okul Adı ve Bölümü	Mezuniyet Yılı
2.54	Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2011
	Otakçılar Lisesi	2006

TÜRKİYE'DE HALK ARASINDA YAYGIN OLARAK KULLANILAN
ISIRGAN, BİBERİYE VE KEÇİBOYNUZU BİTKİLERİNİN in vitro
KOŞULLARDA SPERM FONKSİYONU PARAMETRELERİNE
ETKİSİ

ORJİNALLİK RAPORU

%20 BENZERLİK ENDEKSİ	%18 İNTERNET KAYNAKLARI	%3 YAYINLAR	%8 ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
---------------------------------	--------------------------------------	-----------------------	-------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikerisim.deu.edu.tr İnternet Kaynağı	%4
2	www.uroturk.org.tr İnternet Kaynağı	%3
3	Submitted to Ataturk Universitesi Öğrenci Ödevi	%1
4	dergipark.ulakbim.gov.tr İnternet Kaynağı	%1
5	file.lookus.net İnternet Kaynağı	%1
6	kiinikbiyokimya.blogcu.com İnternet Kaynağı	%1
7	Submitted to Uludag University Öğrenci Ödevi	%1
8	issuu.com	