



T.C.  
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ

FARKLI YAŞ GRUPLARINDAN BİREYLERİN SPERM  
HÜCRELERİNDE AQUAPORİN MOLEKÜLLERİ  
EXPRESYONLARININ ARAŞTIRILMASI.

INVESTIGATION OF THE AQUAPORINE MOLECULES  
EXPRESSIONS IN HUMAN SPERM CELLS FROM DIFFERENT AGE  
GROUPS.

Biyolog Osman Serden GENÇEL  
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Fikret GEVREK  
TOKAT – 2019

**Farklı Yaş Gruplarından Bireylerin Sperm Hücrelerinde Aquaporin Molekülleri Expresyonlarının Araştırılması.**

Tezin Kabul Ediliş Tarihi: 12/12/2019

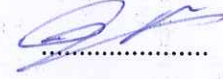
Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı Soyadı)

İmzası

Başkan : Doç. Dr. Fikret GEVREK

.....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Mikail KARA



Üye : Dr. Öğr. Üyesi Muzaffer KATAR

.....

Bu tez, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü Yönetim Kurulunun 03.10.2019 tarih ve 23 / 03 sayılı oturumunda belirlenen jüri tarafından kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü: Doç. Dr. Fikret GEVREK

Mühür  
İmza

T.C.  
TOKAT GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Bu belge ile bu tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak toplanıp sunulduğunu, bu kural ve ilkelerin gereği olarak, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yaptığımı ve kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

12/12/2019

Osman Serden GENCEL

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimimin hem ders hem de tez aşamasında çok büyük katkıları olan ve tez çalışmamı birlikte yaptığım, danışman hocam Doç. Dr. Fikret GEVREK' e SAMSUN Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvar sorumlusu Uzm. Dr. Selim GÖRGÜN'e,

Çalışmamızı destekleyen TOGÜ BAP Başkanlığına ve personeline, TOGÜ Klinik ve Deneysel Araştırmalar Etik Kurulu Başkan ve üyelerine, Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi TUEK kuruluna,

Her zaman her koşulda yanımda olan ve desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen akademik hayatımda en büyük motivasyon kaynaklarım çok değerli annem Zülfiye GENCEL'e eşim Semra GENCEL' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

## İTHAF

Rahmetli babam Mekki GENCEL'e ve çok sevdiğim biricik kızım Duru GENCEL' e

## ÖZET

Erkek infertilitesi günümüzde gittikçe ciddi bir sorun haline gelmekte olup yaşla birlikte artış göstermektedir. Bu nedenle infertilite nedeni olan androlojik problemlerin tespitine yönelik araştırmalar gün geçtikçe daha fazla önem arz etmektedir.

Tezimizin amacı farklı yaş gruplarından bireylerin sperm hücrelerindeki akuaporin-3, akuaporin-7 ve akuaporin-8 moleküllerinin yaşlanma ve infertilite ile olan bağlantısını histolojik yöntemler ile araştırarak erkek infertilitesi araştırmalarına katkıda bulunmaktır.

Çalışmamız 18 yaşını doldurmuş erkek bireylerden oluşan üç ayrı grup üzerinde gerçekleştirildi. Gruplar ve grupların yaş aralıkları şu şekildedir: 18-25 yaş aralığı Grup 1, 26-35 yaş aralığı Grup 2, 36 ve üzeri yaş aralığı ise Grup 3 olarak belirlendi.

Bireylerden alınan semen örneklerinde makroskobik ve mikroskobik olarak değerlendirilip spermiyogram analizleri yapıldı. Kruger strict morfoloji ve immünohistokimyasal analizler için sperm yayması preparatları hazırlandı. Sonrasında Diff-quick ve immünohistokimyasal boyama protokoleri uygulandı. Mikroskobik analizler neticesi elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Spermiyogram değerleri açısından gruplar arasında belirgin fark tespit edilemedi. Sperm anomalisi yaşlanma ile artmış olsa da gruplar arasında istatistiksel bir fark tespit edilmedi. Aqp-3 ve Aqp-8, Grup2 de; Aqp-7, ise Grup1 de belirgin olarak artmıştı.

Bu sonuçlarımıza göre Aqp-3 ve Aqp-8 26 ila 35 yaşlarda, AQP 7'nin ise 18 ila 25 yaşlar arasına maksimum olarak exprese edildiğini söyleyebiliriz.

**Anahtar Kelimeler:** Aquaporin 3, Aquaporin 7, Aquaporin 8, Sperm, Diff Quik, İmmünohistokimya.

## ABSTRACT

Male infertility is becoming an increasingly serious problem and increases with age. Therefore, researches on the reasons of andrological problems that cause infertility are becoming more important. The aim of this thesis is to investigate the aquaporin 3, aquaporin 7, aquaporin 8 molecules in human sperm cells from different age groups using histological methods and to contribute to the researches of male infertility.

Our study was carried out on three groups consisting of male individuals over 18 years of age. Study groups and age ranges of the groups are as follows: Group-1, 18-25 years old, Group-2, 26-35 years old, Group-3, 35 and older persons.

After semen samples of the groups were evaluated macroscopically and microscopically and spermogram analyzes were performed. Sperm smear preparations were prepared for Kruger strict morphology and immunohistochemical analyzes. Diff-quick and immunohistochemical staining protocols were then applied. The data observed as a result of microscopic analyzes were statistically compared.

There was no significant difference between the groups in terms of spermogram values. Although sperm anomaly increased with aging, no difference was found between groups. Aqp-3 and Aqp-8 in Group 2; Aqp-7 increased significantly in Group 1.

According to our results, we can say that Aqp-3 and Aqp-8 were maximally expressed at 26 to 35 years and AQP 7 at 18 to 25 years old ages.

**Key Words:** Aquaporin 3, Aquaporin 7, Aquaporin 8, Sperm, Diff Quik Stain, Immunohistochemistry.

## İÇİNDEKİLER

|  |             |
|--|-------------|
| <b>BEYANNAME</b>                                 | <b>i</b>    |
| <b>TEŞEKKÜR</b>                                  | <b>ii</b>   |
| <b>İTHAF</b>                                     | <b>ii</b>   |
| <b>ÖZET</b>                                      | <b>iii</b>  |
| <b>ABSTRACT</b>                                  | <b>iv</b>   |
| <b>İÇİNDEKİLER</b>                               | <b>v</b>    |
| <b>TABLolar LİSTESİ</b>                          | <b>vii</b>  |
| <b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>                           | <b>viii</b> |
| <b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b>                   | <b>xi</b>   |
| <br>   |             |
| <b>1. GİRİŞ ve AMAÇ</b>                          | <b>1</b>    |
| <b>2. GENEL BİLGİLER</b>                         | <b>5</b>    |
| 2.1. Erkek Genital Sistemi                       | 5           |
| 2.1.1. Penis .....                               | 5           |
| 2.1.2. Scrotum (Testis Torbası) .....            | 6           |
| 2.1.3. Testisler .....                           | 7           |
| 2.1.4. Genital Kanallar ve Yardımcı Bezler ..... | 8           |
| 2.2. Testisin Anatomisi ve Histolojisi           | 10          |
| 2.2.1. Tunika Vaginalis.....                     | 11          |
| 2.2.2. Tunika Albuginea .....                    | 12          |
| 2.2.3. Tunika Vasküloza .....                    | 14          |
| 2.2.4. Testiste Kan Dolaşımı .....               | 14          |
| 2.2.5. Testis Sinirleri.....                     | 21          |
| 2.3. Seminifer Tübül Histolojisi                 | 21          |
| 2.3.1. Miyoid Hücreler .....                     | 24          |
| 2.3.2. Sertoli Hücreleri .....                   | 25          |
| 2.3.3. Spermatogenik Hücreler .....              | 27          |
| 2.3.4. İnterstisyel Alan.....                    | 32          |
| 2.4. Spermatogenez                               | 35          |
| 2.4.1. Spermatogonya Fazı .....                  | 36          |
| 2.4.2. Spermatozit Fazı (Mayoz Bölünme).....     | 37          |
| 2.5. Spermiyogenez                               | 38          |
| 2.5.1. Golgi Fazı .....                          | 39          |
| 2.5.2. Başlık Fazı .....                         | 39          |
| 2.5.3. Akrozom Fazı .....                        | 39          |
| 2.5.4. Olgunlaşma Fazı (Maturasyon) .....        | 40          |
| 2.6. Erkek Genital Sistem Embriyolojisi          | 41          |
| 2.7. Postnatal Testis Gelişimi                   | 46          |
| 2.8. Semen                                       | 47          |
| 2.9. Fekondasyon                                 | 47          |

|  |     |
|--|-----|
| 2.10. Erkek İnfertilitesinde Etyoloji                                | 50  |
| 2.11 Morfoloji   | 51  |
| 2.11.1. Kruger Strict Morfoloji Kriterlerine Göre Normal Sperm ..... | 52  |
| 2.11.2. Anormal Sperm Morfolojisinin Sınıflandırılması .....         | 54  |
| 2.12. Semen Analizi  | 62  |
| 2.12.1. Numune Toplama .....   | 66  |
| 2.12.2. İlk Makroskopik Değerlendirme .....                          | 67  |
| 2.12.3. İlk Mikroskopik Değerlendirme .....                          | 71  |
| 2.12.4. Sperm Motilitesi .....                                       | 75  |
| 2.12.5. Sperm Sayısı .....   | 77  |
| 2.13. Aquaporinler ve Yapısı   | 78  |
| 2.13.1. Aquaporinler ve Üreme Sistemindeki İşlevleri .....           | 82  |
| 2.13.2. Oksidatif Stres .....  | 83  |
| 2.13.3. Osmoadaptasyon.....  | 84  |
| 2.13.4. Hareketlilik .....   | 86  |
| 2.13.5. Kriyoprezervasyon (Dondurma).....                            | 87  |
| <b>3. MATERYAL ve METOD</b>  | 88  |
| 3.1. Deneylerde Kullanılan Semen Örneklerin Elde Edilmesi            | 88  |
| 3.2. Kullanılan Teknikler  | 89  |
| 3.2.1. Spermiyogram Testi .....                                      | 89  |
| 3.2.2. Sperm Morfoloji Analizi .....                                 | 90  |
| 3.2.3. İmmünohistokimyasal Analiz.....                               | 92  |
| 3.3. İstatistiksel Analiz  | 94  |
| <b>4. BULGULAR</b>   | 95  |
| 4.1. Spermiyogram Test Sonuçları                                     | 95  |
| 4.2. Kruger Strict Sperm Morfoloji Analiz Bulguları                  | 100 |
| 4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular                                    | 114 |
| <b>5. TARTIŞMA ve SONUÇ</b>  | 124 |
| <br>   |     |
| <b>KAYNAKLAR</b>   | 130 |
| <b>ÖZGEÇMİŞ</b>  | 142 |



## TABLOLAR LİSTESİ

|   |     |
|---|-----|
| Tablo 1: Erkek infertilitesinin etiyolojik faktörlere göre dağılımı .....                                     | 51  |
| Tablo 2: Sperm morfolojisinin gebelik oranlarına etkisi .....   | 54  |
| Tablo 3: Semen analizi terminolojisi .....  | 61  |
| Tablo 4: Semen analizi referans değerleri .....   | 65  |
| Tablo 5: Farklı sperm aglütinasyonları .....  | 74  |
| Tablo 6: Grup 1'e ait spermiyogram testi makroskopik analiz sonuçları. ....                                   | 95  |
| Tablo 7: Grup 2'ye ait spermiyogram testi makroskopik analiz sonuçları. ....                                  | 96  |
| Tablo 8: Grup 3'e ait spermiyogram testi makroskopik analiz sonuçları. ....                                   | 96  |
| Tablo 9: Spermiyogram testi makroskopik analiz sonuçlarının grup ortalaması. ....                             | 97  |
| Tablo 10: Grup1'e ait spermiyogram testi mikroskopik analiz sonuçları. ....                                   | 97  |
| Tablo 11: Grup2'ye ait spermiyogram testi mikroskopik analiz sonuçları. ....                                  | 98  |
| Tablo 12: Grup3'e ait spermiyogram testi mikroskopik analiz sonuçları. ....                                   | 98  |
| Tablo 13: Spermiyogram testi mikroskopik analiz sonuçları grup ortalama değerleri... 99                       |     |
| Tablo 14: Grup 1'e ait Kruger Strict Morfoloji analizi bulguları .....  | 100 |
| Tablo 15: Grup 2'e ait Kruger Strict Morfoloji analizi bulguları .....  | 101 |
| Tablo 16: Grup 3'e ait Kruger Strict Morfoloji analizi bulguları .....  | 101 |
| Tablo 17: Kruger strict morfolojik analizlerin grup ortalama değerleri .....                                  | 102 |
| Tablo 18: Grup 1 Aquaporin immünohistokimyasal ekspresyonları .....   | 115 |
| Tablo 19: Grup 2 Aquaporin immünohistokimyasal ekspresyonları .....   | 115 |
| Tablo 20: Grup 3 Aquaporin immünohistokimyasal ekspresyonları .....   | 116 |
| Tablo 21: Aquaporin immünohistokimyasal ekspresyonlarının grup ortalamaları .....                             | 116 |
| Tablo 22: Aquaporin immünohistokimyasal ekspresyonlarının ağırlıklı grup ortalamaları H. skor sonuçları ..... | 116 |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|   |    |
|---|----|
| Şekil 1: Erkek genital sistemi anatomisi.....   | 5  |
| Şekil 2: Penisin anatomisi.....   | 6  |
| Şekil 3: Scrotum (Testis Torbası) .....   | 7  |
| Şekil 4: Testisin anatomik yapısı .....   | 8  |
| Şekil 5: Yardımcı bezler .....  | 9  |
| Şekil 6: Funiculus spermaticus .....  | 10 |
| Şekil 7: Tunika vaginalisin kısımları .....   | 12 |
| Şekil 9: Tunika albuginea anatomisi ve histolojik kesit .....                             | 13 |
| Şekil 9: Tunika Vasküloza histolojik kesit .....  | 14 |
| Şekil 10: Testisin kan dolaşımı .....   | 15 |
| Şekil 11: İnternal Spermatik (Testiküler) Arter (yeşil renk).....                         | 16 |
| Şekil 12: Eksternal Spermatik (Kremasterik) Arter ve tunika vaginalis .....               | 16 |
| Şekil 13: Deferenسیyel (Vazal) Arter, epididimisin globus minor'u.....                    | 17 |
| Şekil 14: İnternal Spermatik (Testiküler) Ven.....  | 18 |
| Şekil 15: Eksternal Spermatik (Kremasterik) Ven .....                                     | 19 |
| Şekil 16: Gubernakuler Ven .....  | 19 |
| Şekil 17: Pleksus Pampiniformis .....   | 20 |
| Şekil 18: Seminifer Tübül histolojik yapısı .....   | 21 |
| Şekil 19: Seminifer Tübülün kısımları ve histolojik görüntüleri.....                      | 24 |
| Şekil 20: Miyoid hücreler .....   | 25 |
| Şekil 21: Sertoli Hücreleri .....   | 27 |
| Şekil 22: Spermatogenik Epitel .....  | 28 |
| Şekil 23: Histolojik kesitte spermatogonya hücreleri ve spermatogenezis şeması.....       | 30 |
| Şekil 24: Primer spermatozoid, sekonder spermatozoid ve spermatogenezis şematik çizimi .  | 31 |
| Şekil 25: İnterstisyel alan.....  | 33 |
| Şekil 26: Reinke kristalleri .....  | 34 |
| Şekil 27: Leydig hücreleri.....   | 35 |
| Şekil 28: Spermatogenez aşamaları .....   | 36 |
| Şekil 29: Spermatogonya hücreleri ve oluşumunun şematik çizimleri.....                    | 36 |
| Şekil 30: Histolojik kesitte spermatozoid ve spermatozoid oluşumunun şematik çizimi ..... | 38 |
| Şekil 31: a) Spermiyogenezin şematik çizimi, b) spermatozoa .....                         | 38 |

|   |     |
|---|-----|
| Şekil 32: Seminifer tübül lümeni içinde spermazoalar ve spermatogonik hücrelerin çizimi .....   | 41  |
| Şekil 33: Primordiyal germ hücrelerinin göçü.....   | 42  |
| Şekil 34: Testisin embriyolojisi (4-16 hafta) .....   | 43  |
| Şekil 35: Testislerin skrotuma yerleşmesi .....   | 46  |
| Şekil 36: Primer folikülden blastokist evresine kadar ovum .....  | 49  |
| Şekil 37: Erkek ve dişi gametlerin birleşmesi ve zigotu oluşturması .....   | 50  |
| Şekil 38: Normal sperm yapısı ve normal sperm fotoğrafı.....  | 52  |
| Şekil 39: Anormal sperm şekilleri .....   | 56  |
| Şekil 40: Sperm malformasyonlarının tipleri.....  | 60  |
| Şekil 41: Spermiyogram kabı .....   | 66  |
| Şekil 42: Likefiye olmaya başlayan semen.....   | 68  |
| Şekil 43: Semen vizkozitesi ölçümü .....  | 69  |
| Şekil 44: Semen ıslak preparat hazırlanması .....   | 72  |
| Şekil 45: Spermatozoanın nonspesifik kümeleşmesi (agregasyon) .....   | 73  |
| Şekil 46: Semende spermatozoa aglütinasyonu .....   | 73  |
| Şekil 47: Semende lökositler ve immatür germ hücrelerinin ayırt edilmesi.....   | 75  |
| Şekil 48: Sperm motilitesini değerlendirmede kullanılan yardımcı araçlar .....  | 77  |
| Şekil 49: AQP'lerin genel yapısı (model AQP1) .....   | 80  |
| Şekil 50: Semen yayma preparatının hazırlanması .....   | 90  |
| Şekil 51: Sperm konsantrasyonu, toplam sperm ve morfolojilerin gruplara göre dağılım grafiği .....  | 99  |
| Şekil 52: Sperm hücrelerinin baş, boyun ve kuyruk anomalilerinin grupların ortalama değerlerinin karşılaştırmalı grafiksel görünümü. .... | 102 |
| Şekil 53: Anomalili sperm yüzdelerinin gruplara göre grafiksel görünümü. ....   | 103 |
| Şekil 54: Toplam sperm sayısı, sperm konsantrasyonu ve kruger morfoloji değerlerinin grafiksel görünümü. ....                             | 103 |
| Şekil 55: Grup 1'e ait sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....   | 104 |
| Şekil 56: Grup 2'ye ait sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....  | 104 |
| Şekil 57: Grup 3'ye ait sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....  | 105 |
| Şekil 58: Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....  | 105 |
| Şekil 59: Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....  | 106 |

|   |     |
|---|-----|
| Şekil 60: Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....        | 106 |
| Şekil 61: Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....        | 107 |
| Şekil 62: Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....        | 107 |
| Şekil 63: Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....        | 108 |
| Şekil 64: Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....        | 108 |
| Şekil 65: Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....        | 109 |
| Şekil 66: Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....        | 109 |
| Şekil 67: Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....        | 110 |
| Şekil 68: Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....        | 110 |
| Şekil 69: Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....        | 111 |
| Şekil 70: Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....        | 111 |
| Şekil 71: Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....        | 112 |
| Şekil 72: Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....        | 112 |
| Şekil 73: Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....        | 113 |
| Şekil 74: Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü .....        | 113 |
| Şekil 75: Aquaporin 3 immünohistokimyasal ekspresyonları .....  | 117 |
| Şekil 76: Aquaporin 7 immünohistokimyasal ekspresyonları .....  | 117 |
| Şekil 77: Aquaporin 8 immünohistokimyasal ekspresyonları .....  | 118 |
| Şekil 78: Aquaporin ekspresyonlarının grup karşılaştırması..... | 118 |
| Şekil 79: Aqp-3 Ab immun boyanmış sperm hücresi.....            | 119 |
| Şekil 80: Aqp-3 Ab immun boyanmış sperm hücresi.....            | 119 |
| Şekil 81: Aqp-3 Ab immun boyanmış sperm hücresi.....            | 120 |
| Şekil 82: Aqp-7 Ab immun boyanmış sperm hücresi.....            | 120 |
| Şekil 83: Aqp-7 Ab immun boyanmış sperm hücresi.....            | 121 |
| Şekil 84: Aqp-7 Ab immun boyanmış sperm hücresi.....            | 121 |
| Şekil 85: Aqp-8 Ab immun boyanmış sperm hücresi.....            | 122 |
| Şekil 86: Aqp-8 Ab immun boyanmış sperm hücresi.....            | 122 |
| Şekil 87: Aqp-8 Ab immun boyanmış sperm hücresi.....            | 123 |
| Şekil 88: Aqp-8 Ab immun boyanmış sperm hücresi.....            | 123 |

## SİMGELER ve KISALTMALAR

|               |   |
|---------------|---|
| <b>aa</b>     | Aminoasit                                       |
| <b>ABP</b>    | Androjen Bağlayıcı Protein                      |
| <b>Ad</b>     | A Tipi Koyu Spermatogonium                      |
| <b>Ala</b>    | Alanin  |
| <b>AMH</b>    | Anti Müllerian Hormon                           |
| <b>Ap</b>     | A Tipi Açık Spermatogonium                      |
| <b>AQP</b>    | Aquaporin                                       |
| <b>Arj</b>    | Arjinin   |
| <b>Asn</b>    | Asparajin                                       |
| <b>AUA</b>    | Amerika Üroloji Derneği                         |
| <b>AQP</b>    | Aquaporin                                       |
| <b>BSA</b>    | Bovine Serum Albümin (Sığır Serum Albümin)      |
| <b>cAMP</b>   | Siklik Adenozin Mono Fosfat                     |
| <b>CBAVD</b>  | Doğumsal Bilateral Vaz Deferens Yokluğu         |
| <b>CHIP28</b> | Channel-Forming Integral Protein                |
| <b>Cys</b>    | Sistein   |
| <b>DAB</b>    | Diaminobenzidine                                |
| <b>EAU</b>    | Avrupa Üroloji Derneği                          |
| <b>EM</b>     | Elektron Mikroskobu                             |
| <b>FSH</b>    | Folikül Uyarıcı Hormon                          |
| <b>FSH</b>    | Folikül Stimüle Hormon                          |
| <b>GLP</b>    | Akuagliseroporinler                             |
| <b>GnRH</b>   | Gonadotropin Releasing Hormon                   |
| <b>hCG</b>    | İnsan Koryonik Gonadotropin                     |
| <b>His</b>    | Histidin  |
| <b>ICSH</b>   | İnterstisyel Hücreleri Stimüle Eden Hormon (Lh) |
| <b>ICSI</b>   | İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu              |
| <b>IVF</b>    | İn Vitro Fertilizasyon                          |
| <b>İF</b>     | İnfertil  |

|             |   |
|-------------|---|
| <b>İHK</b>  | İmmünohistokimya  |
| <b>LH</b>   | Luteinizan Hormon (Iesh)                                |
| <b>MIP</b>  | Ana İntrinsik Proteinler                                |
| <b>MIS</b>  | Müllerian İnhibe Edici Madde                            |
| <b>NOA</b>  | Non Obstrüktif Azospermi                                |
| <b>OAT</b>  | Oligo – Asteno - Teratozoospermi                        |
| <b>PAS</b>  | Periyodik Asit Schiff Boyası                            |
| <b>PBS</b>  | Fosfat Tampon Solüsyonu                                 |
| <b>pH</b>   | -Log C[H <sup>+</sup> ]                                 |
| <b>Phe</b>  | Fenil Alanin  |
| <b>Pro</b>  | Prolin  |
| <b>RVD</b>  | Regulatory Volume Decrease (Düzenleyici Hacim Azalması) |
| <b>ROS</b>  | Reaktif Oksijen Radikalleri                             |
| <b>SCOS</b> | Sertoli Cell-Only Sendromu                              |
| <b>TDF</b>  | Testis Belirleyici Faktör (Testis Determining Factor)   |
| <b>TSK</b>  | Tubulus Seminiferus Kontortiyus                         |
| <b>TSR</b>  | Tubulus Seminiferus Rektusa                             |
| <b>Ub</b>   | Ubikuitin   |
| <b>WHO</b>  | Dünya Sağlık Örgütü                                     |

## 1. GİRİŞ ve AMAÇ

İnfertilite, bir yıl süre ile korunma olmadan, doğru zamanlama ve düzenli cinsel ilişkiye (haftada 2-3) girilmesine rağmen gebelik oluşmamasıdır. Normal çiftlerde yapılan gebelik çalışmalarında korunma olmadan %60-75'inde ilk 6 ay içerisinde, %90'ında ise ilk 1 yılda gebelik elde edilebileceğini göstermiştir (Spira, 1986). İnfertilite açısından değerlendirme yapmak için 12 aylık korunmasız ilişki döneminin beklenmesi genel bir görüştür. İnfertilite geçici veya azospermilerin çoğunda olduğu gibi kalıcı tip olarak adlandırılan sterilite şeklinde olabilir. Androlojik problemler ile ilgili olarak ortaya çıkabilen erkek infertilitesi gün geçtikçe ciddi bir sorun haline gelmiş olup yaşla birlikte artış göstermekte ve bu durum son zamanlarda giderek artan önemli bir halk sağlığı sorunu haline gelmektedir (Greenhall ve Vessey, 1990).

Fertilite, erkek ve kadın üreme sistemlerinin yapısal ve işlevsel olarak normal çalışmasına bağlıdır. Bu faktörlerdeki bozukluklar çiftlerin birinde veya her ikisinde olabilir. İnfertilite araştırması için çiftin ortak bir problemi olarak ele alınması gerekir. İnfertilite nedeniyle araştırılan çiftlerin %40'ında birden fazla etiyolojik neden mevcuttur. Daha önceki çalışmalarda; infertilite olgularının %20'sini yalnız erkek faktörü ile ilişkilendirirken, %30-40'ı ise erkek ve kadın faktörü patolojilerini içermekteydi (Simmons, 1956). Yeni yapılan çalışmalarda ise infertilite tanı ve tedavisindeki ilerlemelere rağmen infertilitede erkek faktörü etkisi % 50'nin üzerinde bulunmuştur (Mosher ve Pratt, 1991). Bu nedenle infertilite ile ilişkin başvuran çiftlerin incelenmesinde ilk olarak eşlerden erkek kaynaklı faktörler incelenmelidir; erkeğin öncelikli araştırılması daha ekonomik, daha kolay ve daha çabuk sonuçlanacağından dolayı sonuca ulaşma açısından daha avantajlıdır.

Tüm tanısal ilerlemelere rağmen infertil erkeklerin bir kısmında infertilitenin kanıtlanmış bir nedeni bulunmayıp bu hastalar tedavilere cevap vermezler. İdiyopatik bozukluk olarak adlandırılan bu grup EAU'nun (Avrupa Üroloji Derneği) 2015 kılavuzuna göre infertil erkeklerin %30'unu oluşturur. Androlojik problemler, sperm hücrelerinde ekspre edilen birçok molekülle de ilişkili olabilir. Erkeklerde kaliteli sperm üretimi 20-30 yaş aralığında pik yapar, 40 yaşından itibaren azalmaya başlar ve ileriki yaşlara kadar devam eder. Böyle erkekler fertilitate problemi ile alakalı olabilecek geçmişe ait bir hikâyesi olmaksızın, normal fiziki muayene bulgularına ve normal endokrin sonuçlara sahip olabilir. Semen analizinde spermatozoa sayısındaki düşüklük (oligozoospermi), motilite azalması (astenozoospermi) ve morfolojik olarak anormal sperm formu çok sayıda (teratozoospermi) görülür. Genelde bu bozukluklar hepsi bir arada bulunur ve Oligo-Asteno-Teratozoospermi (OAT) sendromu olarak adlandırılır. (Dickey ve ark.,1999).

Azospermi, ejakülatın sperm içermemesi durumudur ve tüm erkeklerin % 1'inde, infertil erkeklerdeki oranı ise %10-15 civarındadır (Jarow, Espelan ve Lipshultz, 1989). Nonobstrüktif azospermi (NOA)'de ise tam olarak gelişmiş sperm testislerde minimal seviyede olması ya da hiç üretilememesinden dolayı ejakulatta spermatozoanın olamaması olarak tanımlanır. Nonobstrüktif azospermi nedenleri içinde genetik faktörler en önemli yeri alır. Avrupa Üroloji Derneği (EAU) ve Amerika Üroloji Derneği (AUA) kılavuzlarında oligospermisi olan (sperm sayısı <5 milyon) hastalara da genetik analiz yapılması gerekli görülmüştür. Normal popülasyonda kromozom anomalileri %0,5 civarında iken infertil erkeklerde bu oran %5,8'e yükselmektedir (Shah ve ark., 2003).

İnfertilitenin %50'sinde erkek üreme yetmezliği ya da disfonksiyonundan dolayı kaynaklanır. Erkek infertilitesine yol açan nedenler, edinilmiş ürogenital anomaliler,



malignansiler, ürogenital enfeksiyonlar, varikosel, endokrin bozukluklar, beslenme bozuklukları ve immünolojik faktörler gibi sonradan oluşabileceği gibi, bir bölümüde genetik kökenli olabilir (Tuttelman ve Nieschlag, 2010).

Genellikle neoplazmlar (tümörler), beslenme bozukluğu, endokrinolojik bozukluk, ateşle birlikte seyreden metabolizmada artış ve immünolojik faktörlere bağlı olarak spermatogenezde bozulmalara neden olabilirler (Costabile ve Spevak, 1998). Kemoterapi ve radyoterapi tedavileri canlı germ hücrelerinde toksik etki oluşturur ve potansiyel olarak uzun yıllar spermatogenez fonksiyonlarını baskılar (Nalesnik ve ark., 2004).

Geçirilmiş cerrahi girişimler (skrotal, inguinal veya retroperitoneal) kanallarda tıkanıklık oluşturabilir veya spermin emisyonunu bozabileceği gibi ejakülasyonunda bozabilir (Kedia, Markland ve Fraley, 1977).

İnfertilite özetle, çiftlerin %10 kadarını etkileyen uzun süreli, maliyetli bir tedavi gerektiren ve gittikçe artan bir sağlık sorunu olarak devam etmektedir. İnfertilite hastalıklarının nedenlerinin tespit edilmesi ile küçük ve basit yardımlarla IVF ve ICSI gibi pahalı, girişimsel ve yüksek morbiditeli yardımcı üreme tekniklerine gerek olmadan çocuk sahibi olmaları sağlanabilir (Gökçe, 2011).

Spermatozoaların fertilizasyon kapasitesi, yeteneği ve başarısı bilinen bilgiler dışında henüz açıklığa kavuşmamış birçok moleküle bağlı da olabilir. Akuaporinler (aqua: su - latince; poros: geçit, gözenek - yunanca) hücre zarında bulunan ve hücre zarından suyun çok hızlı bir şekilde geçişini sağlamak için özelleşmiş, yüksek oranda korunmuş, integral bir transmembran protein ailesidir. Bu protein ailesi, ana intrinsik proteinler (MIP) olarak bilinen integral membran kanal proteinlerinin üst ailesine aittir (Agre ve ark., 1993). Bu aquaporin moleküllerinin sperm hücrelerinde de varlığı tespit edilmiştir.

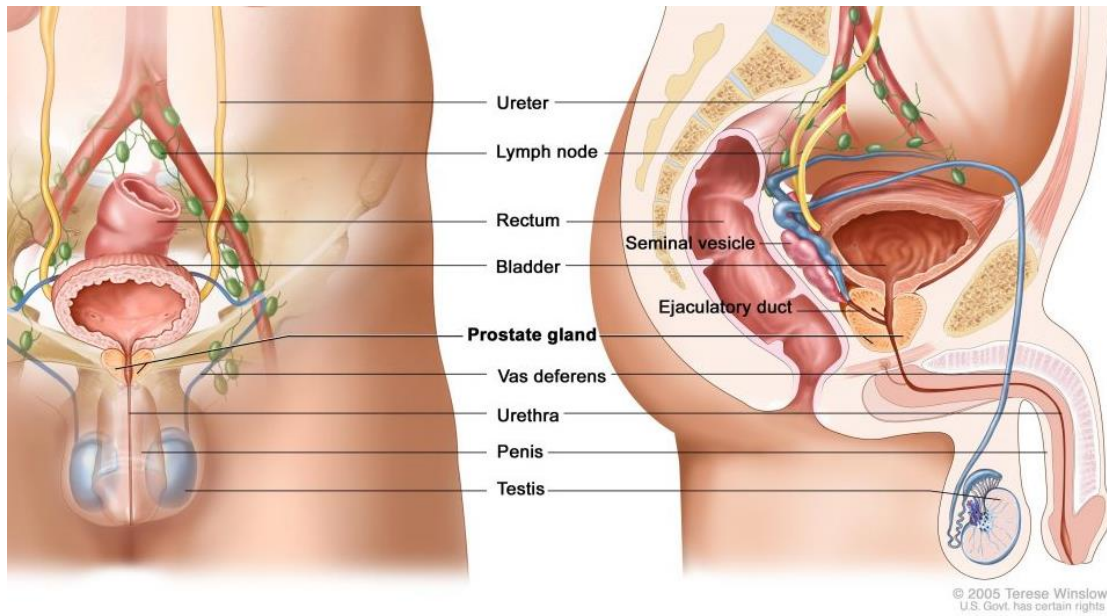
Yaşlılık, kronik hastalıklar, negatif çevresel etmenler, ilaç ve kimyasal ajanlar, cep telefonları elektromanyetik alanlarına maruz kalma gibi birçok neden akuaporinler aracılığı ile oksidatif stres etkilerine ilave olarak insan sperm hücrelerinin fertilizasyon yeteneğini olumsuz yönde etkileyip, spermlerin fonksiyonlarını olumsuz yönde etkileyebileceği söylenebilir.

Bu çalışma sonunda yaşlanma ile sperm hücrelerindeki akuaporin molekülleri ekspresyonlarının ve dolayısıyla yaşla bağlantılı infertilite veya fertilite azalmasının aquaporin molekülleri ile olan bağlantısının olup olmadığı tespit edilecektir. Ayrıca sonuçlarımızın erkek kaynaklı infertilitenin muhtemel sebepleri hakkındaki ve tedavilerine yönelik çalışmalara olumlu yönde katkılarının olacağını umut ediyoruz.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Erkek Genital Sistemi

Erkek genital sistemi; scrotum, testis (Orchis, gonadlar), genital boşaltım kanalları (excretory ducts), bu yollara açılan yardımcı bezler (accessory genital glands) ve erkek dış genital organı olan penisten (male external genitalia) oluşur. Penis ve skrotum dış üreme organlarını oluştururlar.

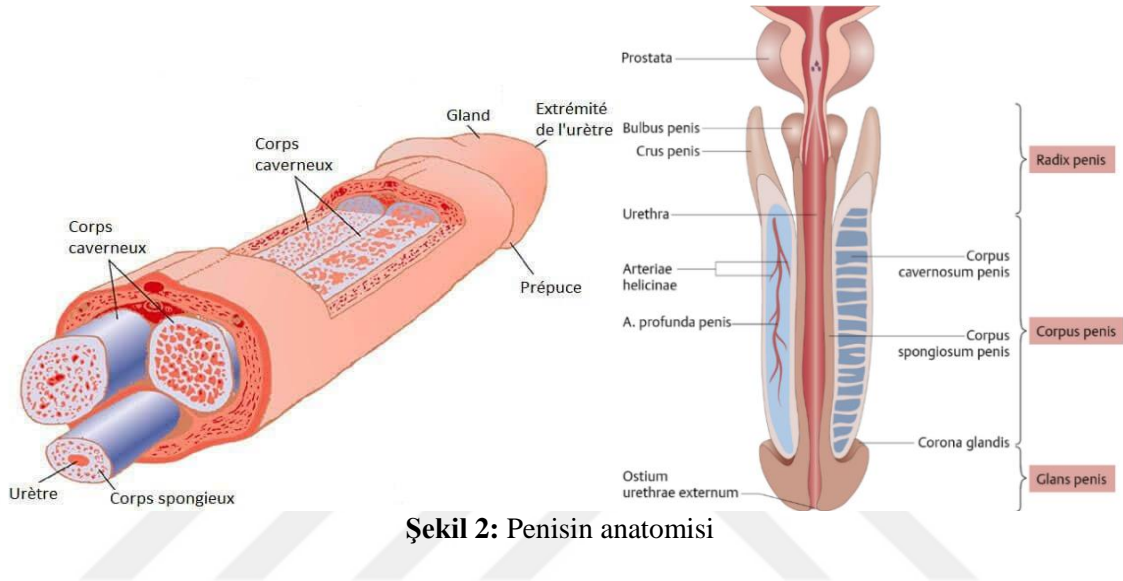


**Şekil 1:** Erkek genital sistemi anatomisi  
(Terese Winslow)

#### 2.1.1. Penis

Uyluk kemikleri arasında bulunan boşaltım sisteminin son parçası olan ve spermelerin dışarı atıldığı bir kanaldır. Normal pozisyonunda yaklaşık 8-10 cm uzunluğa, 3 cm çapa sahip iken ereksiyon halinde 12-15 cm uzunluğa 4 cm çapa ulaşır. Penis üç bölümden oluşmaktadır. Kök bölümü radix penis, gövde bölümü corpus penis, baş kısmı glans penisten oluşur.

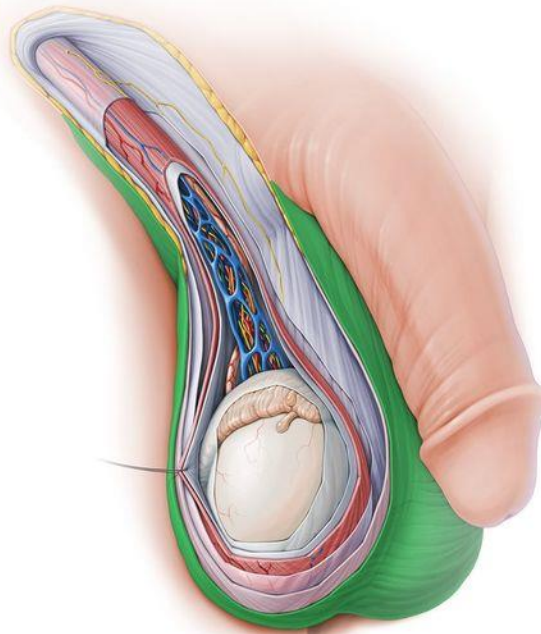
Corpus penis içinde yer alan üç adet silindirik süngerimsi (spongios) yapıda tabaka bulunur. Bunlardan ikisi kovpora (korpus) kavernosa ve korpus spongiosumdur. Üretra, kan damarları ve sinirler de korpus spongiosum içinden geçer. Seksüel heyecan esnasında bu tabakadaki kan damarlarında meydana gelen dolgunluk, penisin sertleşmesine (ereksiyon) sebep olur (Solomon, 2008).



Şekil 2: Penisin anatomisi

### 2.1.2. Scrotum (Testis Torbası)

Penis ve simfisis pubisin altında yer alan kesedir. Büyüklüğü ve şekli yaş ile birlikte değişiklik gösterir. Yetişkinlerde yumuşak ve hareketlidir. Deri ve elastik liflerden yapılmıştır. Kese şeklindeki scrotumun içerisinde testis, epididim ve spermatik kordonun bir kısmı bulunmaktadır. Testisler intrauterin dönemde, karın boşluğunda bulunurken, yedinci aydan sonra aşağı inerek scrotum içine yerleşir. Scrotumlar ısıya ve soğuğa karşı duyarlıdır. İçerisindeki elastik lifler sayesinde ısı ayarlaması yapabilir. Scrotum iç ısısının, testislerin normal görevlerini yapabilmesi için, vücut ısısına göre 2 derece daha düşük olması gerekmektedir. (Solomon, 2008).

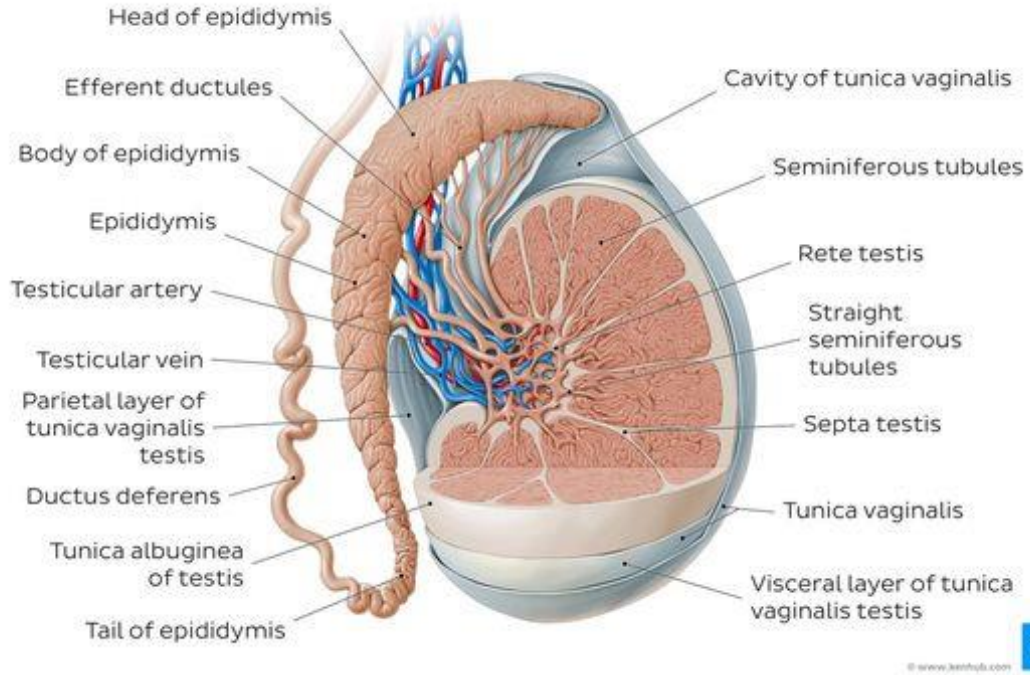


**Şekil 3:** Scrotum (Testis Torbası)  
(<https://www.kenhub.com>)

### 2.1.3. Testisler

Testisin başlıca iki görevi vardır. Bunlar hormon (testosteron ve metaboliti dihidrotestosteron) salgılamak ve spermatozoon üretmektir. Testiste üretilen başlıca hormon testosterondur. Testosteron spermatogenez, embriyo ve fetüsün gelişimi sırasında cinsel farklılaşma ve gonadotropin salgısının kontrolü için önemlidir. Dihidrotestosteron ergenlik ve erişkinlik dönemlerinde birçok organ ve doku üzerine etki ederek sekonder seks karakterlerinin (örneğin kaslar, kıllanma gibi) ortaya çıkmasını sağlar.

Testisler birleşik tubuler yapıda hem dış salgı, hem de iç salgı yapan karışık bezlerdir. Ekzokrin salgısını, testis sıvısı ve spermium – spermatozoonlar oluşturur. Endokrin salgısını ise steroid yapıda olan testosteron hormonudur (Şeftalioğlu, 1998).



**Şekil 4:** Testisin anatomik yapısı  
(<https://www.kenhub.com>)

#### 2.1.4. Genital Kanallar ve Yardımcı Bezler

Genital kanallar testis içi ve dış genital kanallar olarak ikiye ayrılır. Testis içi genital kanallar tubuli rekti ve rete testisten oluşur. Dış genital kanallar duktuli efferentes, ductus epididymis, ductus deferens, ductus ejakulatoryus ve üretradan oluşur. Genital kanallar ve yardımcı bezler, düz kas kasılmalarında yardımcı ile spermatozoonları dışarıya doğru sürükleyen salgılar üretirler. Bu salgılar aynı zamanda erkek üreme sisteminde bulunan spermler için gerekli olan besinleride içerir. Spermler ile beraber genital kanalların salgıları ve yardımcı bezlerin salgıları hepsi birlikte semeni oluşturur (Luiz ve Jose, 2002).

##### 2.1.4.1. Seminal Vezikül Sıvısı

Seminal vezikül sıvısı içeriği alkali olup içeriği şunlardır:

- Semonogelin  semeni koagüle eder

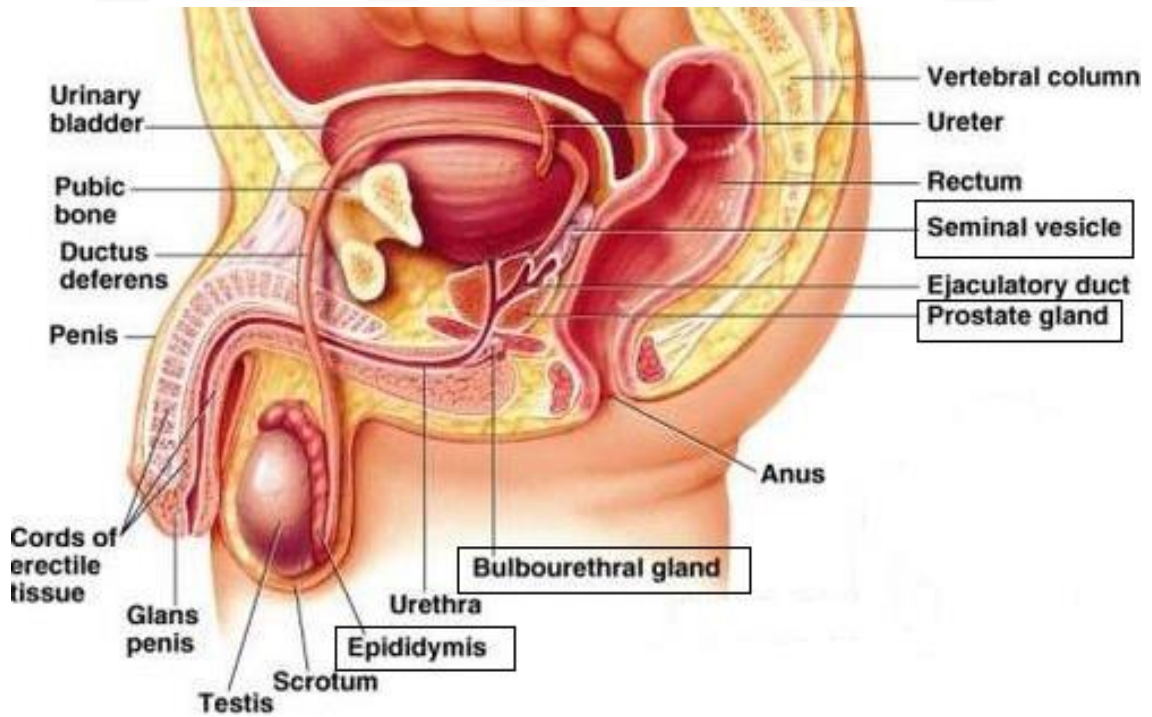
- Sitrat
  - İnozitol
  - Prostaglandin
  - Proteinler
  - Früktoz
  - Flavinsı
- } spermatozoaları aktive eder

#### 2.1.4.2. Prostat Sıvısı

Ejekülasyon sırasında fırlatma gücünü artırmak için kullanılır. Asidik özelliktedir, spermatozoaların asit olan vajinada yaşamalarını sağlar.

#### 2.1.4.3. Bulboüretal (Cowper) Bezi Salgısı

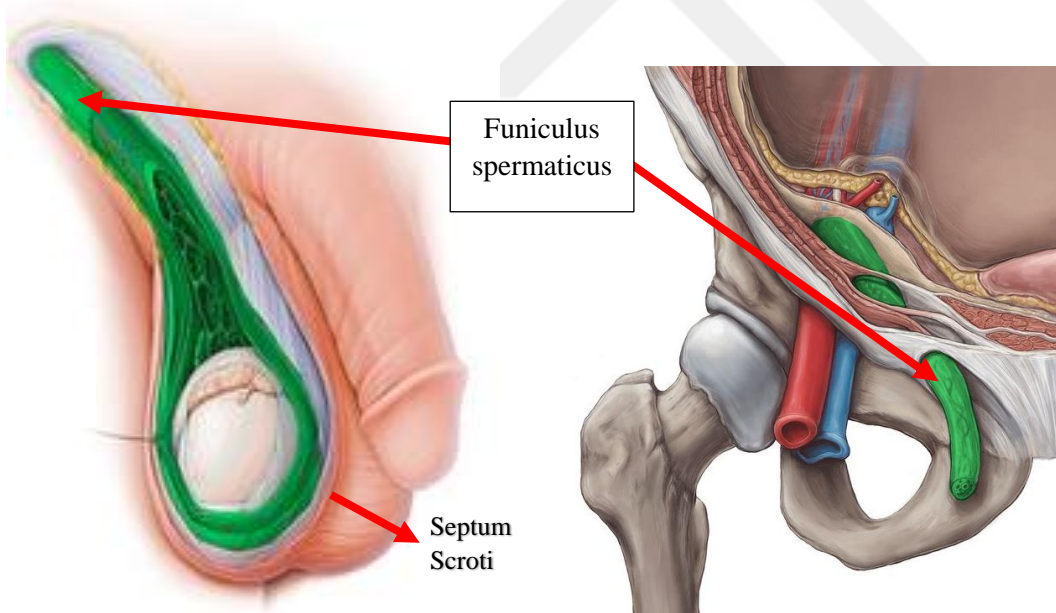
Berrak bir mukus özellikte olup kayganlaştırıcı etkisi vardır. Bu salgıların hepsinin karışımı semen pH'sını belirler (Junqueira ve Carnerio, 2003).



Şekil 5: Yardımcı bezler  
(Thomson Brooks Cool 2001)

## 2.2. Testisin Anatomisi ve Histolojisi

Testisler erkekte üreme organıdır ve bir çift olarak gövdenin dışında scrotum içinde bulunur. Yanlardan basık iri badem şeklindedir. Sağ ve sol testis skrotum içinde funikulus spermaticus (damarları, sinirleri ve ductus/vas deferensi taşıyan bir kordon) tarafından asılı tutulur ve septum skroti ile birbirlerinden ayrılırlar. Testisler yetişkinlerde yaklaşık 4-5 cm uzunluğunda, 2,5 cm eninde ve 3 cm anterioposteriyor çaptadır. Ağırlığı (2x) 20-30 g'dir. Testislerin skrotum içindeki duruşları dikey konumda olmayıp organın uzun eksenini yukarıdan aşağı ve önden arkaya eğik durur. Sol testis sağa göre 1 santimetre (cm) kadar daha aşağıda yer alır. Bunun nedeni kan stazına (yavaş akımdan dolayı vizkosite artışı) bağlı olarak sol testisin daha ağır olmasıdır (Arıncı ve Elhan,1997). Ayrıca günlük hareketlerde rahatsızlık verici çarpmalar olmaz (Fahri, 1999; Figen, 2003; Snell, 1998).



**Şekil 6:** Funiculus spermaticus  
(<https://www.kenhub.com>)

Spermatogenezin gerçekleşmesi için karın boşluğundaki ısıdan daha düşük ısıda olması ile gerçekleşebilir. Testisler skrotumda yerleştikleri zaman karın ısısından 2, 3°C daha düşük ısıda bulunurlar. Bu sıcaklık spermatogenez için önemlidir fakat hormon

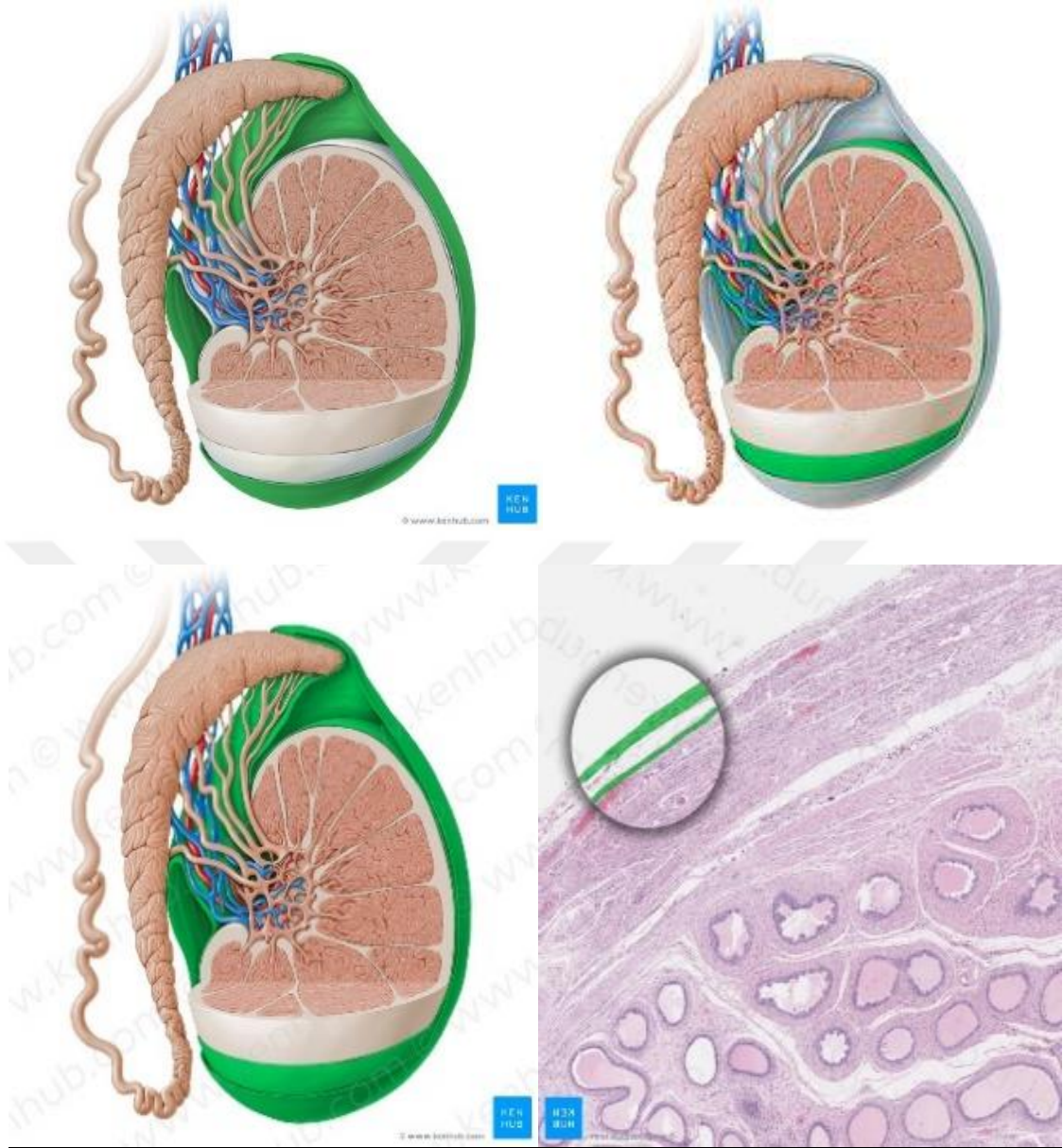


üretimini etkilemez. Skrotum içindeki testis ısıyı musculus cremaster ve dartosun kasılmalarıyla, refleks olarak derinin yüzey alanı ve vücuda mesafesi değiştirilir. Funikulus spermaticus içindeki vena testicularisler plexus pampiniformisi oluştururlar ve arteria testicularisin dalları ile birlikte uzanırlar. Bu şekilde karından sıcak olarak arterle gelen kan ters yönde ısı değişim mekanizması ile ısıyı venler tarafından alındığından testise daha düşük sıcaklıktaki kan ulaşması sağlanır (Snell, 1998).

Testis dıştan içe doğru 3 tabaka ile çevrelenir; tunika vaginalis, tunika albuginea ve tunika vaskuloza.

### **2.2.1. Tunika Vaginalis**

Fibröz bir tabaka olup embriyonik processus vaginalisin distal kalıntısı olan ve testisin büyük bir kısmını saran periton kalıntısıdır. Tunika vaginalis; skrotum'un iç yüzünü döşeyen lamina parietalis (periorchium) ve testisi saran lamina visceralis (epiorchium) olarak iki katmandan meydana gelmektedir. Lamina visceralis (epiorchium), epididimis'in büyük kısmını ve testisin arka kenarının mediyal bölümü dışında, testis'i sarar ve bu iki yapıyı birbirine bağlar. Lamina parietalis (periorchium), periton'un fascia spermatica interna'yı döşeyen kısmıdır. Tunika vaginalis'in iki katmanı arasındaki boşlukta kaygan seröz bir sıvı bulunur ve bu sıvı testislerin serbest hareketini sağlar (Moore ve Persaud, 2009; Singh, 2014).



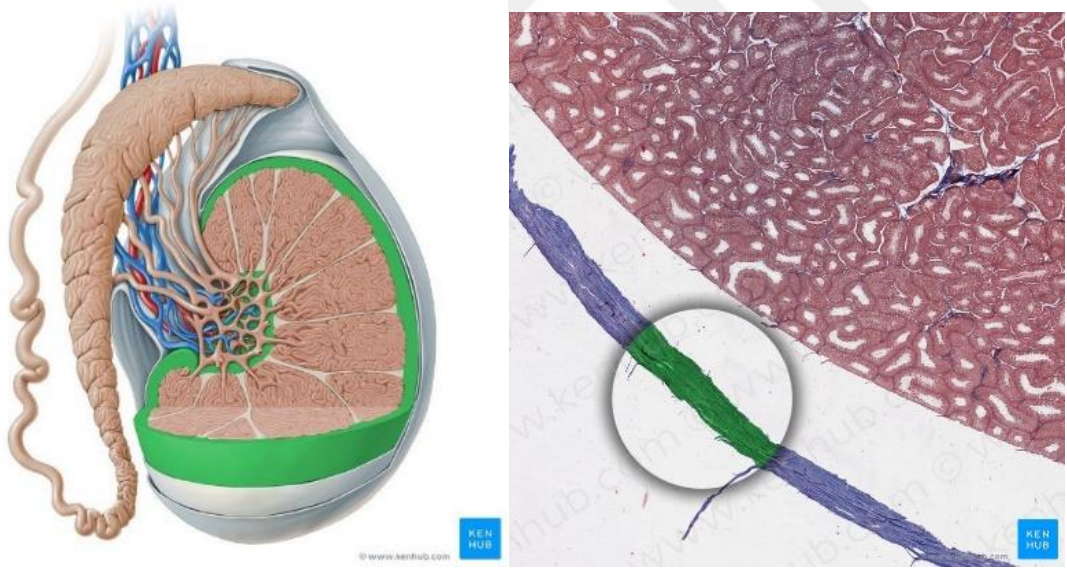
**Şekil 7:** Tunika vaginalisin kısımları

a) lamina parietalis (periorchium), b) Lamina visceralis (epiorchium), c) Tunika vaginalis, d) Tunika vaginalis histolojik kesit (<https://www.kenhub.com>)

### 2.2.2. Tunika Albuginea

Tunika albuginea düz kas hücreleri içeren yoğun fibroelastik bağ dokusundan oluşan kalın bir kapsüldür ve testisi sarmış durumdadır. Daha dış kısımdaki visseral katman olan tunika vajinalis Tunika albuginea kapsülünü dıştan sarar. Kapsül testisin arka kenarında kalın bir katlanma yaparak içeriye doğru uzanır, bu kısma mediastinum testis

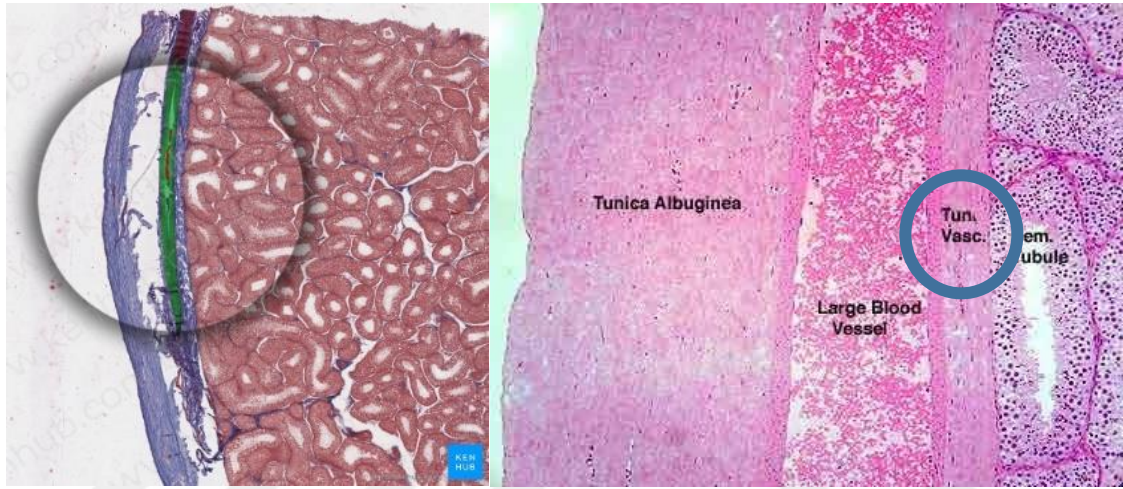
adı verilir. Mediastinumdan ışınsal olarak uzanarak ince fibröz septumlar, kama şeklindeki yaklaşık 250 adet lobülü oluşturur. Lobüllerin içinde seminifer tübüller bulunur ve bu yapılar kıvrımlıdır. Her testiste toplam uzunluğu yaklaşık 280 - 400 m civarında olan ortalama 600-1200 seminifer tübül bulunmaktadır (Saunders, 2009). Seminifer tübüller spermlerin oluştuğu yerleridir. Seminifer tübüller mediastinumda, tübüli rektiye (düz tübüllere) ve rete testise boşalır, rete testis birleşerek sayısı altı ile sekiz adet olan duktuli efferent'leri oluşturur. Bu kanallar testis sıvısını ve spermatozoonları epididimisin proksimal bölümüne aktarır (Saunders 2009). Spermiler bundan sonra boyu yaklaşık 6 m olan bir başka kıvrımlı tüpe yani epididim' e gider. Epididim vaz deferense açılır ve prostat bezine girmeden önce, vaz deferens ampullası denilen bir genişleme gösterir (Yiğit, 2006). Testisleri vücut dışına bağlayan zincirin son halkasını üretra oluşturur (Yiğit, 2006).



**Şekil 8:** Tunika albuginea anatomisi ve histolojik kesiti  
(<https://www.kenhub.com>)

### 2.2.3. Tunika Vasküloza

Testiküler kapsülün en iç tabakası olan tunica vasculosa tunica albuginea'nın iç yüzünde bulunan damar ağı tabakasıdır. Damarların arasında kalan boşlukları da gevşek bağ dokusu doldurur. Tunica vasculosa tunica albuginea'nın iç yüzünü ve tüm bölmelerin yüzlerini döşer. Böylece, testis'in içindeki tüm lobuli testis'i de sarmış olur (Arıncı ve Elhan, 2006).



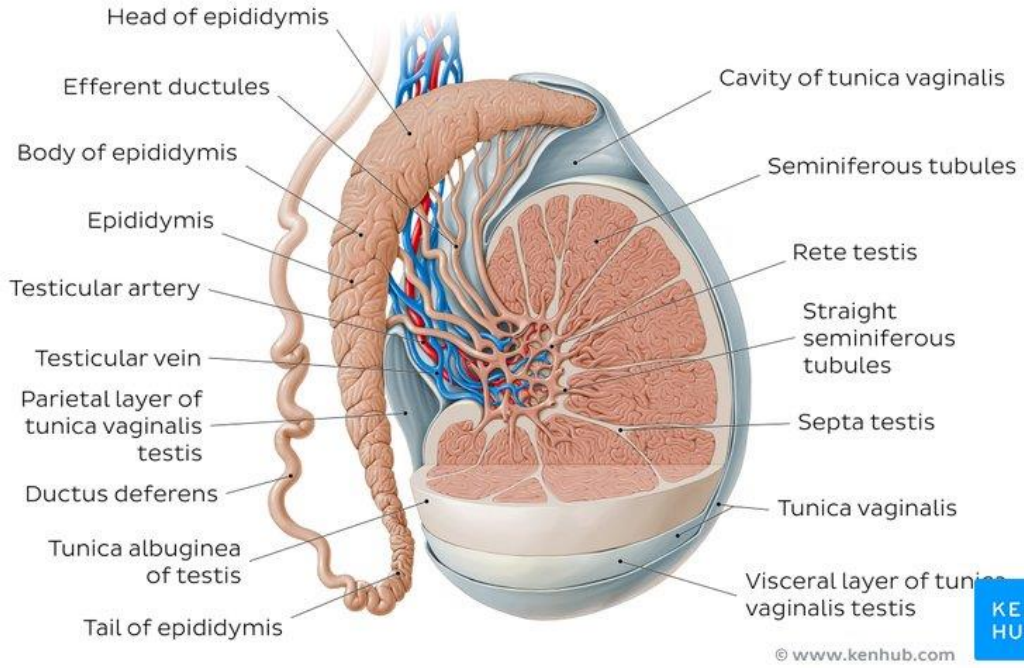
**Şekil 9:** Tunika Vasküloza histolojik kesit  
(<https://www.kenhub.com>)

### 2.2.4. Testiste Kan Dolaşımı

#### 2.2.4.1. Testisin Arteriyel Dolaşımı

Testislerin kanlanması üç arter sistem tarafından sağlanmaktadır.

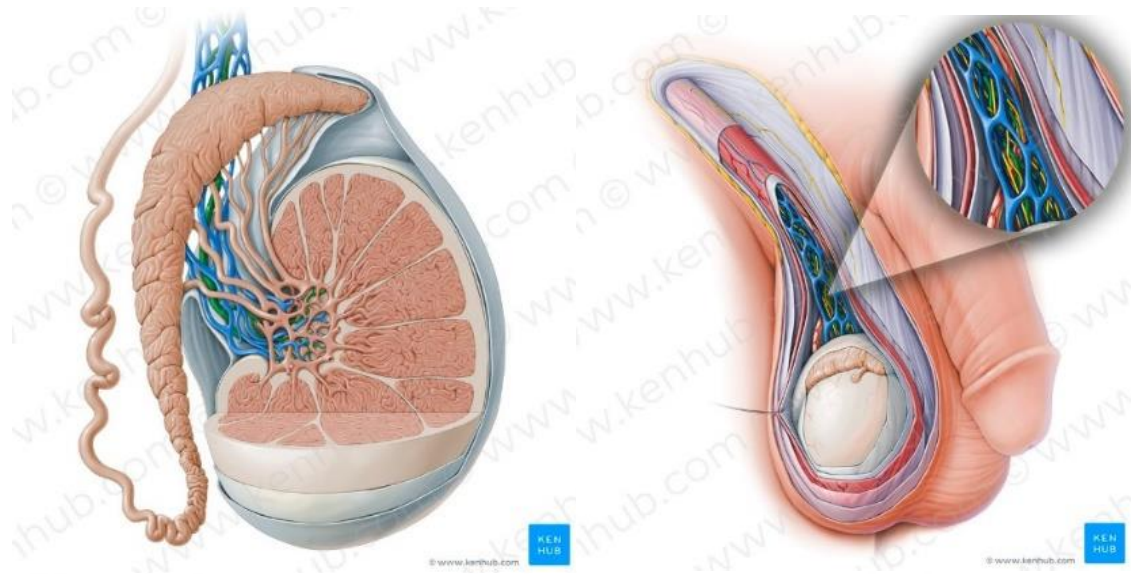
1. İnternal spermatik (Testiküler) arter
2. Eksternal spermatik (Kremasterik) arter
3. Deferenseyel (Vazal) arter



**Şekil 10:** Testisin kan dolaşımı  
(<https://www.kenhub.com>)

#### 2.2.4.1.1. İnternal Spermatik (Testiküler) Arter

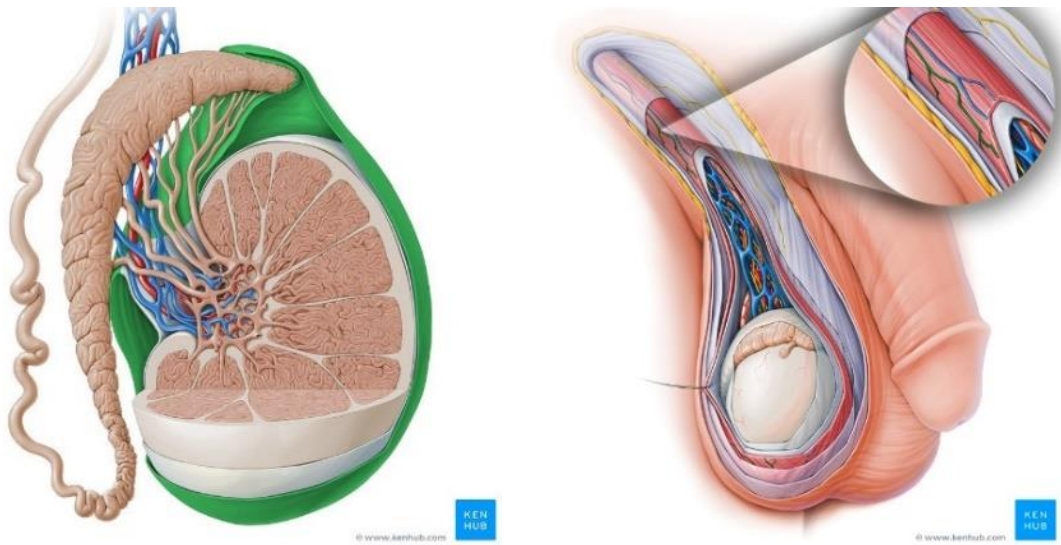
Ana testiküler arter olup, testis kan akımının 4/6'sini sağlar. Abdominal aortadan, renal arterin altından anterolateral yönden çıkar ve epididimisin altından tunikayı oblik olarak geçerek testise girer. İnsan testiküler parankimi 100 mg dokuya yaklaşık 9 ml/dk kan sağlar (Pettersson ve ark., 1973). İhtiyaca göre kan akışı düzenlenmektedir. İnternal spermatik arter kremasterik arterlerle alt bölgede anastomoz yaparken deferensiyel arterle hem alt hemde üst bölgede anastomoz yapar (Jarow, 1990; Fowler ve Stephens, 1959).



**Şekil 11:** İnternal Spermatik (Testiküler) Arter (yeşil renk)  
(<https://www.kenhub.com>)

#### 2.2.4.1.2. Eksternal Spermatik (Kremasterik) Arter

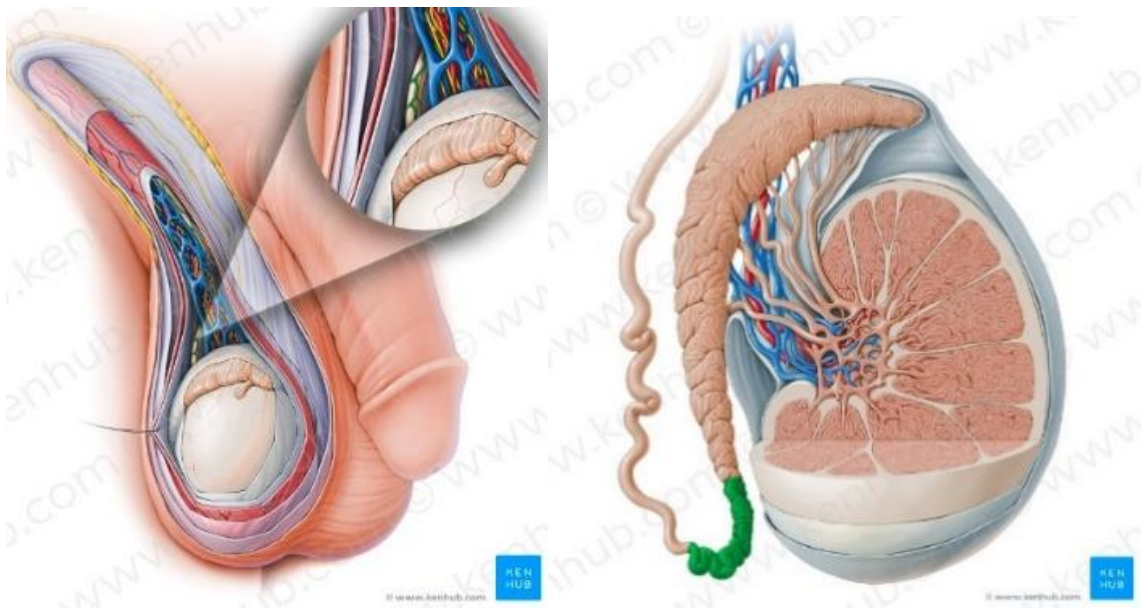
Esas olarak tunika vajinalisi besler ve testis kan akımının yaklaşık 1/6 (%15-20)'sını sağlamaktadır. A. iliaca eksterna'nın dalı olan a.epigastrika inferior'dan internal inguinal ring içinde ayrılır. İnternal spermatik ve deferensiyel arterlerle testiküler mediastinumda anastomoz yapar, tunika vaginalis üzerinde bir ağ oluşturarak sonlanır (Sancak B. ve Cumhuri, 2002).



**Şekil 12:** Eksternal Spermatik (Kremasterik) Arter ve tunika vaginalis  
(<https://www.kenhub.com>)

### 2.2.4.1.3. Deferensiyel (Vazal) Arter

Testis kan akımının yaklaşık 1/6'ini sağlayan deferensiyel arter, A.iliaka interna'nın uç dalı olan A. vezikalisin superior veya inferior kısmından çıkarak vaz deferens ve epididimisin globus minor'unu (epididim kuyruğu, Kauda epididimidis) besler, internal spermatik arter ile testise yakın alanda anastomoz yapar. İnternal spermatik arterin kan akışı kesilirse kremasterik arterle beraber testis kan akımını arttırarak dengeyi sağlar (Chehval ve Purcell, 1992; Steinberger ve Tjioe, 1969).



**Şekil 13:** Deferensiyel (Vazal) Arter, epididimisin globus minor'u (epididim kuyruğu)  
(<https://www.kenhub.com>)

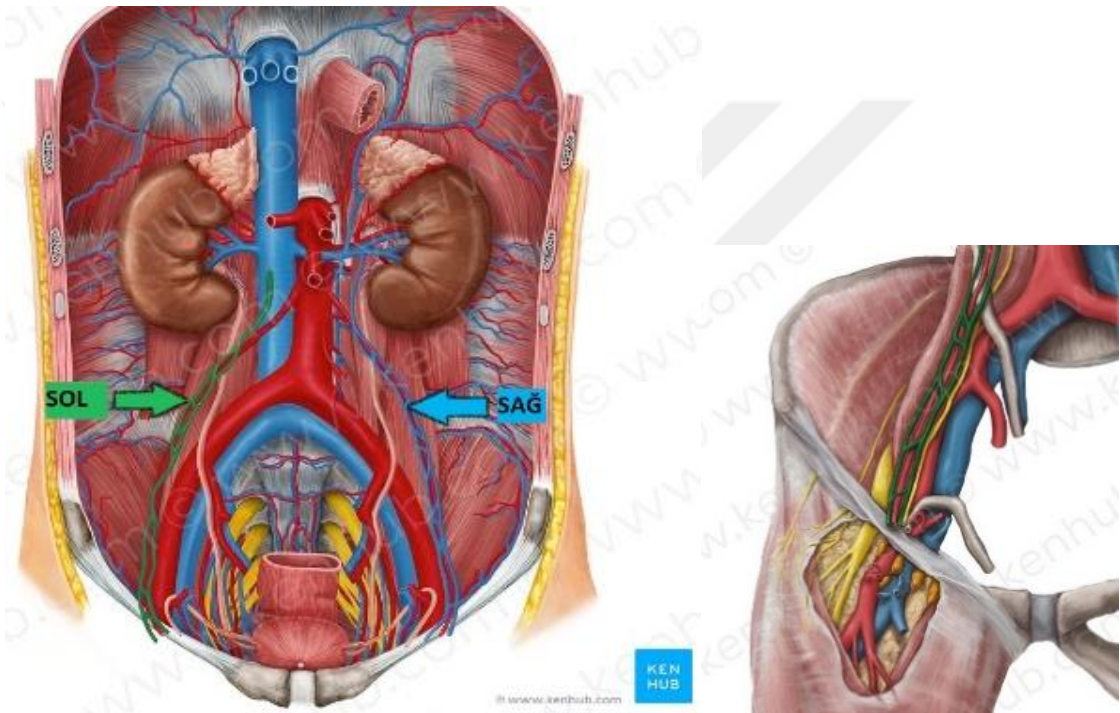
### 2.2.4.2. Testisin Venöz Dolaşımı

Testiküler venöz drenaj dört ayrı sistemle kontrol edilir.

1. İnternal Spermatik (Testiküler) Ven
2. Eksternal Spermatik (Kremasterik) Ven
3. Deferensiyel (Vazal) Ven
4. Gubernakuler Ven

### 2.2.4.2.1. İnternal Spermatik (Testiküler) Ven

İnternal spermatik artere eşlik eder, solda renal vene dik olarak, sağda V. cava inferiora oblik olarak açılır. Sol internal spermatik ven hem yüksek konumda olması hemde sol testisin daha aşağı pozisyonda olmasından dolayı sağ internal spermatik venden 8-10 cm daha uzun yapıdadır. İnterior vena cava'nın daha çok akma etkisiyle sağdaki akımı daha fazla arttırdığı düşünülmektedir (Shafik ve ark.,1990).

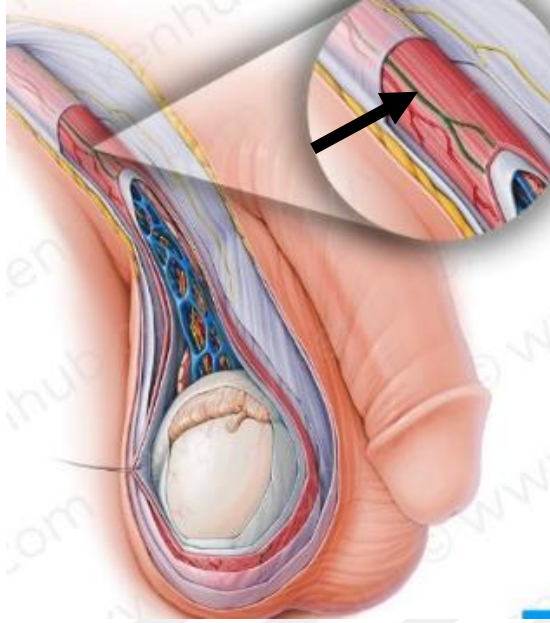


Şekil 14: İnternal Spermatik (Testiküler) Ven  
(<https://www.kenhub.com>)

### 2.2.4.2.2. Eksternal Spermatik (Kremasterik) Ven

Spermatik kordun arkasında yer alır (testisleri kaldıran Kremasterik kasın damarı), eksternal iliak vene açılır.





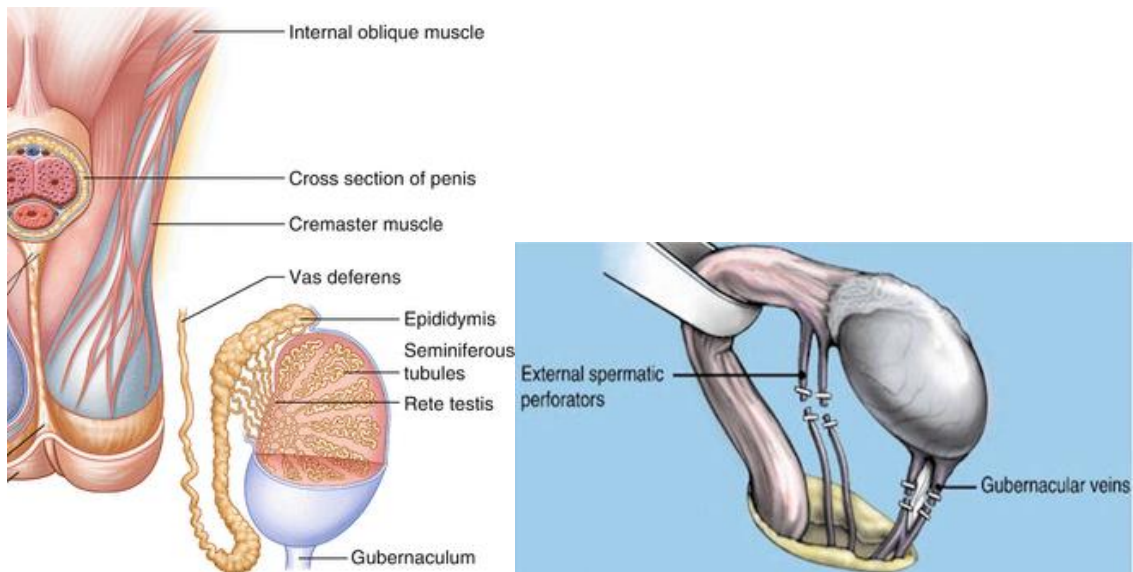
**Şekil 15:** Eksternal Spermatik (Kremasterik) Ven  
(<https://www.kenhub.com>)

#### 2.2.4.2.3. Deferensiyel (Vazal) Ven

Vaz deferense eşlik ederek, internal iliak ven'e ulaşır.

#### 2.2.4.2.4. Gubernakuler Ven

Eksternal pudental ven, safen ven yolu ile eksternal iliak vene açılır (Chehval ve Purcell, 1992; Coolsaet, 1980; Turek ve Lipshultz, 1995).

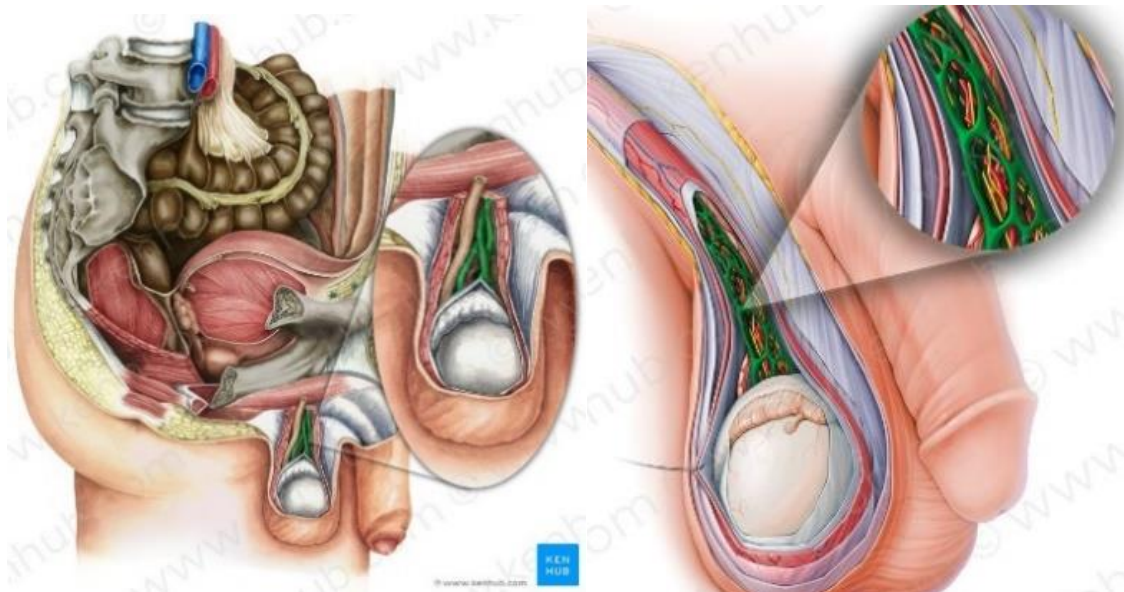


**Şekil 16:** Gubernakuler Ven  
(Atlas of Office Based Andrology Procedures)

### 2.2.4.3. Plexus Pampiniformis

İntratestiküler küçük venler, testis yüzeyel venlerine ve rete testiste hiler venlere dökülürler. Testis ve epididimis'ten gelen venlerin, mediastinum'dan çıkarak duktus deferensin önünde ve testiküler arter etrafında 8-12 venden oluşan ve serbest anastomoz yapan 3 ayrı ven grubunun oluşturduğu ven ağı olan pampiniform pleksusu oluşturur (Harrison, 1949).

Testosteron, venden artere konsantrasyon gradientine göre pasif difüzyon aracılığı ile taşınır (Bayard ve ark., 1975). Spermatik kordonda arter ve venlerin karşılıklı ısı alışverişleri ile oluşan ısı değişimi, rektal ısıdan 2-4°C daha düşük olan kanın testislerde ısının ayarlanmasına yardım eder (Agger, 1971). Plexus pampiniformis, epididim ve skrotal duvarın drenajını sağlayan kremasterik pleksus ve deferansiyel ven sistemi arasında bulunur. Skrotum ve inguinal kanal seviyesinde birbirleriyle anastomozlar yaparlar ve bu pleksuslar tekrar birleşerek venleri oluştururlar. Deferansiyel ve kremasterik gruplar, internal spermatik ven grubunun birleşmesinden sonra testisten venöz dönüş için kollateral bir yol oluşturur (Wishahi, 1991).



**Şekil 17:** Plexus Pampiniformis  
(<https://www.kenhub.com>)

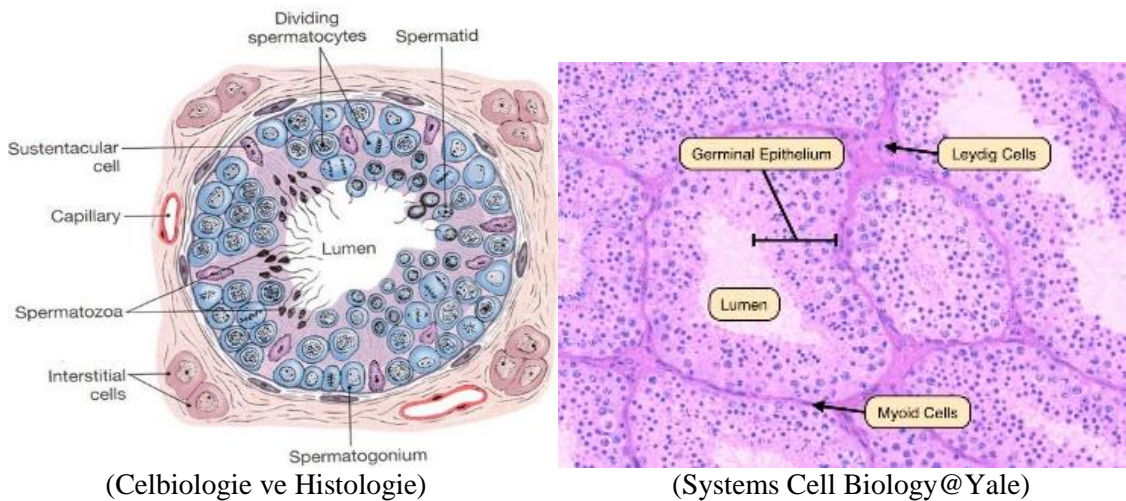
### 2.2.5. Testis Sinirleri

Testisin innervasyonunu aortik pleksuslar ve kollateral ganglionlar ile ilişkili sempatik lifler ve genel visseral duyu lifleri ile düzenlenir (Rauchenwald, Steers ve Desjardins, 1995). Sempatik lifler ve genel visseral duyu lifleri testise testiküler arterler ile birlikte ulaşır ve testise sempatik ve duyu innervasyon oluştururlar. Genitofemoral sinirin genital dalı inguinal kanaldan girerek kremasterik kasın innervasyonunu ile skrotum ve tunika vajinalisin duyarlılığında sağlar. (Skandalakis ve ark., 1996).

İnatçı testis ağrılarında pelvik pleksusa anestezi uygulanması kullanılan bir yöntemdir. Bazı afferent ve efferent sinirler karşı taraf pelvik pleksusla nöral çapraz kominikasyonlar oluşturabilirler (Taguchi, Sukamoto ve Murakami, 1999). Bu durum bir testisteki patolojik olayın karşı testis fonksiyonlarını da etkilemesini açıklar.

### 2.3. Seminifer Tübül Histolojisi

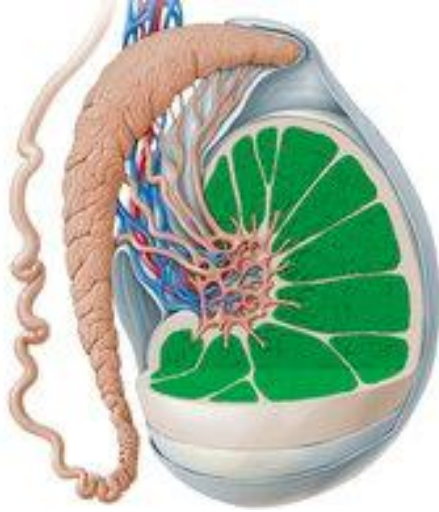
Seminifer tübül yaklaşık olarak 30-80 cm uzunluğa ve 150-250 µm çapa sahip, içi boş kıvrımlı tübüllerdir (tubulus seminiferus kontortiyus - TSK). Her bir testis lobülünde 1-4 sayıda bulunurken, her bir testis 250-1000 civarında seminifer tübül barındırır. Bir testisteki tübüllerin toplam uzunluğu yaklaşık 250 metredir.



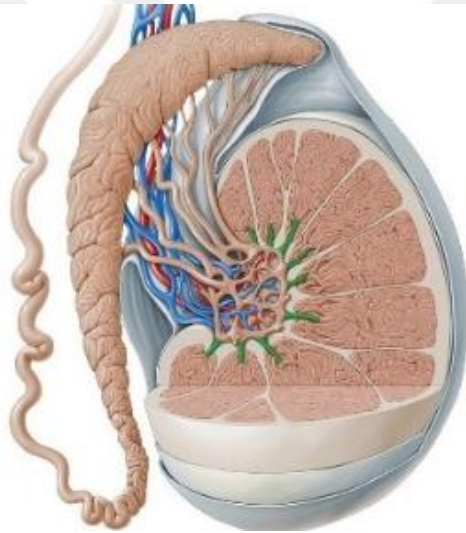
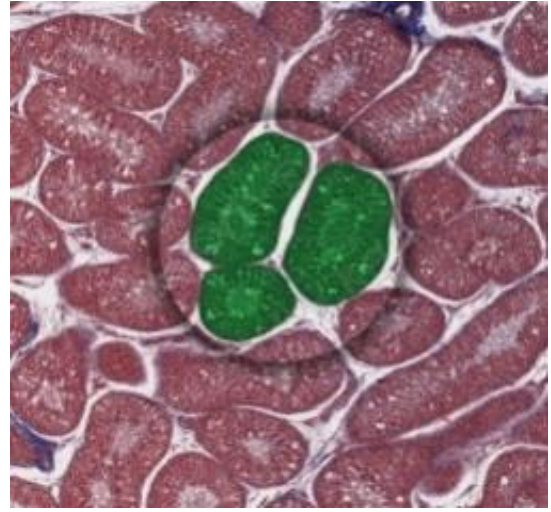
Şekil 18: Seminifer Tübül histolojik yapısı

Seminifer tubul kompleks bir germinal epitel ya da seminifer epitel ile döşelidir. İnce bir bazal lamina üzerine oturmuş olan epitel dıştan özelleşmiş fibröz bir tabaka olan tunika propria ile sarılmıştır, bu kısma sınırlayıcı ya da peritubuler doku adı verilir. Peritubuler doku içerisinde çok miktarda bağ dokusu lifleri, yassılaştırmış fibroblastlar ve düz kas hücresi özelliği gösteren myoid hücreler bulunur. Seminifer epitel 2 tip ana hücrelerden oluşur: Sertoli hücreleri ve spermatogenik hücreler (bazaldan apikale doğru; spermatogonya, spermatositler ve spermatidler şeklinde sıralanırlar).

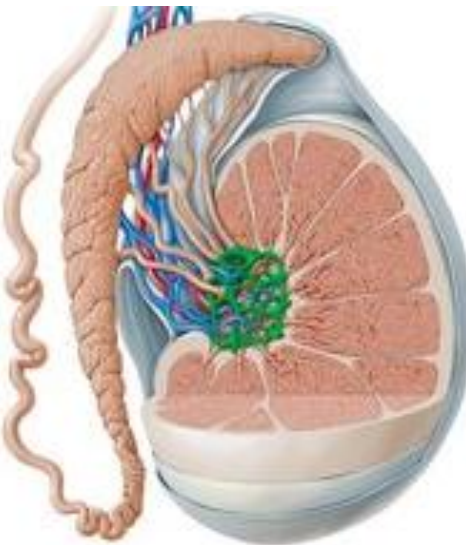
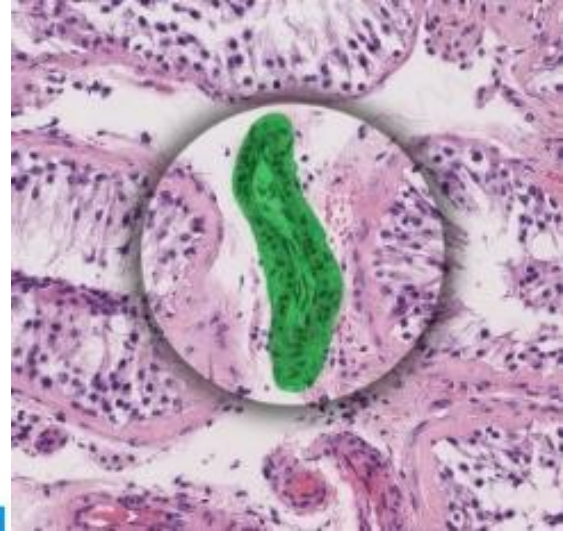
Spermatogonyalar bazal membrana en yakın olan hücrelerdir. Primer spermatositler yuvarlak çekirdekli ve kromatini spagettiye benzer yapıda olan spermatogonyadan daha büyük hücrelerdir. Sekonder spermatositler daha seyrek görülür, bunun nedeni oluşur oluşmaz bölünerek spermatidleri oluşturmasıdır. Spermatidler dönüşüm sürecinde sertoli hücrelerine tutunur. Sertoli hücrelerinin tabanı bazal membrana oturur vaziyettedir. Serbest uçları yayılarak lümeneye kadar uzanır ulaşır. Erken ve geç olarak spermatidler bölünmeksizin lümen içine bırakılır. Seminifer tübüller kıvrımlı yapıdadır ve uçlarına doğru lümeni daralarak düz tübüller veya tubuli rekti (tubulus seminiferus rektusa / TSR) şeklinde kısa segmentler halinde kangallar şeklinde uzanır. Tubuli rektiler, seminifer tübülleri epitel ile döşeli kanalların oluşturduğu bir labirent şeklindeki rete testise bağlar. Rete testis kanalları kendi aralarında anostomoz yaparlar ve epididimisin baş kısmına yaklaşık 10-20 adet duktili eferentes ile bağlanır (Gartner ve Hiatt, 2007; Junqueira ve Carneiro, 2009; Kierszenbaum, 2006; Ovalle ve Nahirney, 2009; Ross ve Pawlina, 2011).



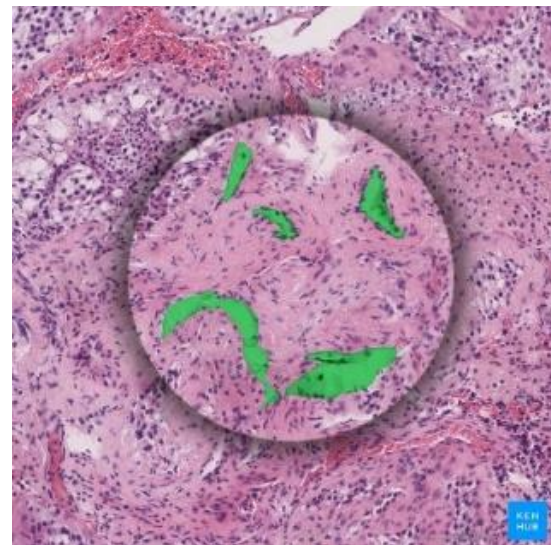
**Tubuli Seminiferi Contorti** (Kıvrımlı Seminifer Kanalları)

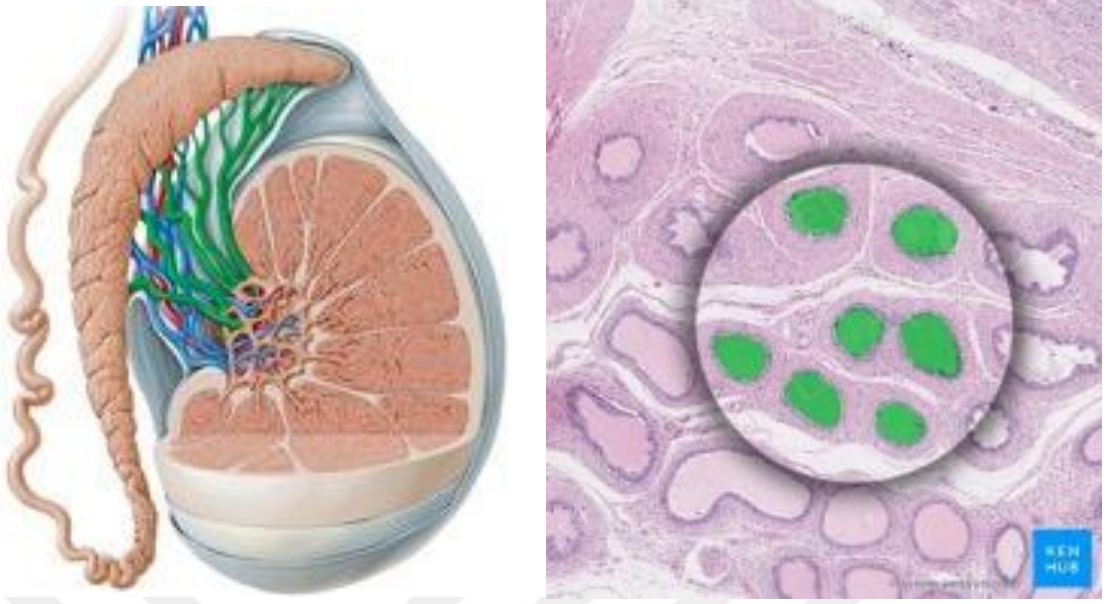


**Tubuli Seminiferi Recti** (Düz Seminifer Kanalları)

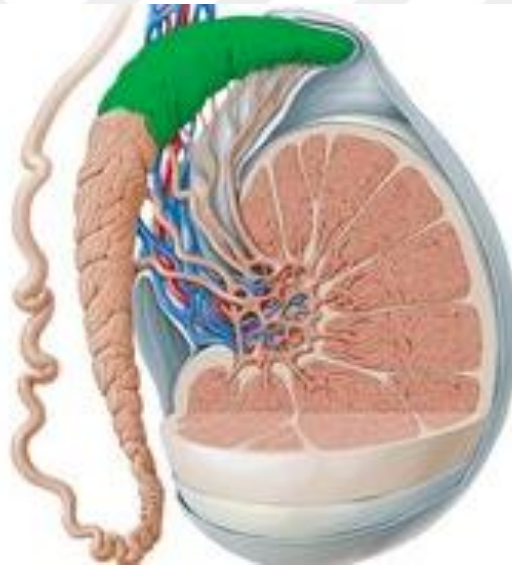


**Rete Testis** (Labirent Kanallar)





**Duktili Eferentes (Deferent Kanal)**



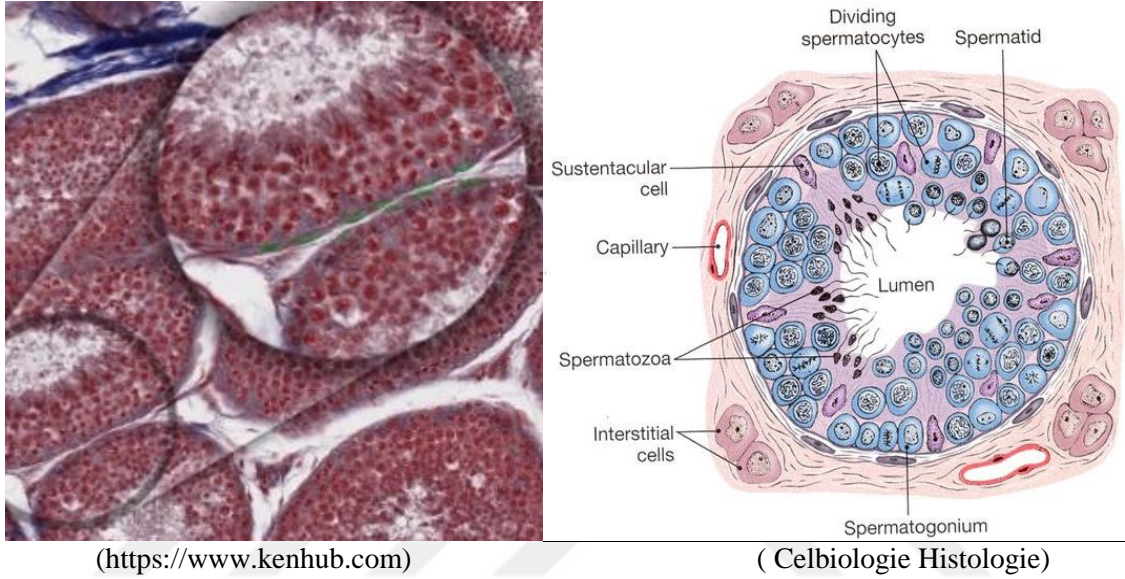
**Caput Epididymis (Epididim Baş Kısım)**

**Şekil 19:** Seminifer Tübülün kısımları ve histolojik görüntüleri  
(<https://www.kenhub.com>)

### 2.3.1. Miyoid Hücreler

Miyoid hücreler (peritübüler kontraktıl hücreler), insanda, seminifer tübül bazal laminasında yer alan 3-5 sıra halinde yer alan düz kas özelliği gösteren kontraktıl yassılaştırmış hücrelerdir. Kemirgenlerde tek tabaka halinde bulunur. Sitoplazmasında çok sayıda aktin filamanları ve granüllü endoplazmik retikulum bulunur. Aynı zamanda

fibroblastların yokluğunda kollajen lifi sentezide yaparlar. Myoid hücrelerin ritmik kasılmaları peristaltik dalgalar oluşturarak hareketsiz olan spermleri rete testise doğru ilerletir. Spermler bu şekilde ilerleyerek epididimal kanala kadar girerler ve buradan sonra ileri motilite kabiliyetine kavuşurlar (Junqueira ve Carneiro, 2009; Kierszenbaum, 2006; Ross ve Pawlina, 2011).



(<https://www.kenhub.com>)

( Celbiologie Histologie)

**Şekil 20:** Miyoid hücreler

### 2.3.2. Sertoli Hücreleri

Puberteye kadar seminifer tübül epitelinin baskın hücre tipi sertoli hücreleridir. Fakat puberteden sonra seminifer tübülleri döşeyen hücrelerin yaklaşık %10'unu oluştururlar. İleri yaşlarda erkeklerde sperm üretiminin azalmasıyla spermatogenik hücre popülasyonu düşer ve sertoli hücreleri tekrar baskın haline geri döner.

Uzun, prizmatik şekilli olan bu hücreler bazal lamina üzerine oturmuştur ve seminifer tubul lümenine kadar uzanır. Gelişmekte olan spermatogenik hücelere barınmaları için kriptalar sağlar ve bundan dolayı düzensiz apikal ve lateral hücre membranları bulunur. Oval veya üçgen şekilli, açık renkte boyanan çekirdeği filamentöz bir kılıfla çevrilmiştir ve hücre tabanının biraz yukarısında yer alır. Çekirdek belirgin ve

geniş 1-2 adet çekirdekçik içerir. Sertoli hücrelerinin çekirdekleri olukludur. Elektron mikroskopunda sertoli hücrelerinin sitoplazmasında düz ve granüllü endoplazmik retikulum, serbest ribozomlar, mitokondriyonlar, primer-sekonder lizozomlar, yağ damlacıkları, yaygın bir golgi aygıtı ve zengin bir hücre iskeleti (vimentin, aktin, mikrotübüller) görülmüştür. Sitoplazmanın tabanında lipid transportu ve kullanımı ile ilgili olduğu düşünülen kristalloid yapıda olan Charcot-Böttcher kristali görülebilir.

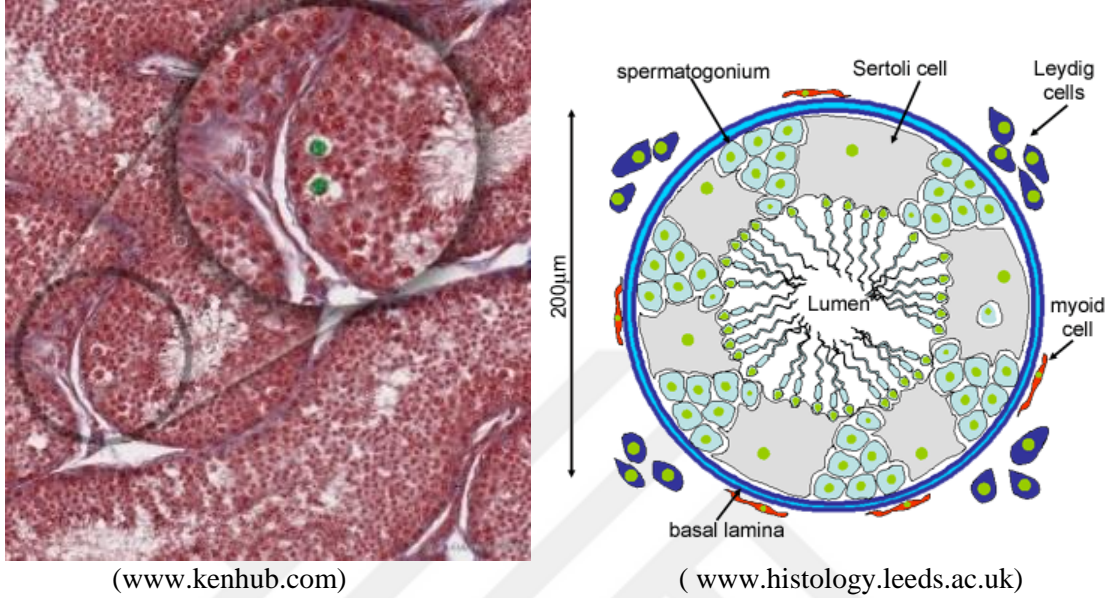
Bazolateral bölgelerinde, komşu sertoli hücreleri ile aralarında tıkaçıcı bağlantıları oluşturarak seminifer epiteli bazal ve adluminal olarak iki kompartımana ayırır. Ayrıca vücuda yabancı olan ve gelişmekte olan spermatogenik hücreleri bağışıklık sistemi hücrelerinden koruyan kan-testis bariyerini oluştururlar.

### **Sertoli Hücrelerinin Yerine Getirdiği Fonksiyonlar**

- Spermatogenik hücelere fiziksel destek sağlamak, korumak ve beslemek.
- Spermiyogenez sonucunda spermatidler tarafından atılan rezidual cisimcikleri fagosito etmek.
- Kan-testis bariyerini oluşturarak spermatogenik hüceleri immün sistemden korumak.
- Aktin aracılı kasılmalarla spermatidlerin, seminifer tübül lümenine salınımını kolaylaştırmak.
- Lümene proteinler, früktoz ve iyonlardan zengin bir sıvı salgılamak.
- FSH (folikül uyarıcı hormon)'a cevap vererek, ABP (androjen-bağlayıcı protein) üretimi ve salınımını düzenlerler. ABP (testosteron ve dihidrotestosteron androjenlerine karşı yüksek bağlanma afinitesi olan bir proteindir) epididimisin proksimal bölgesine taşınır.



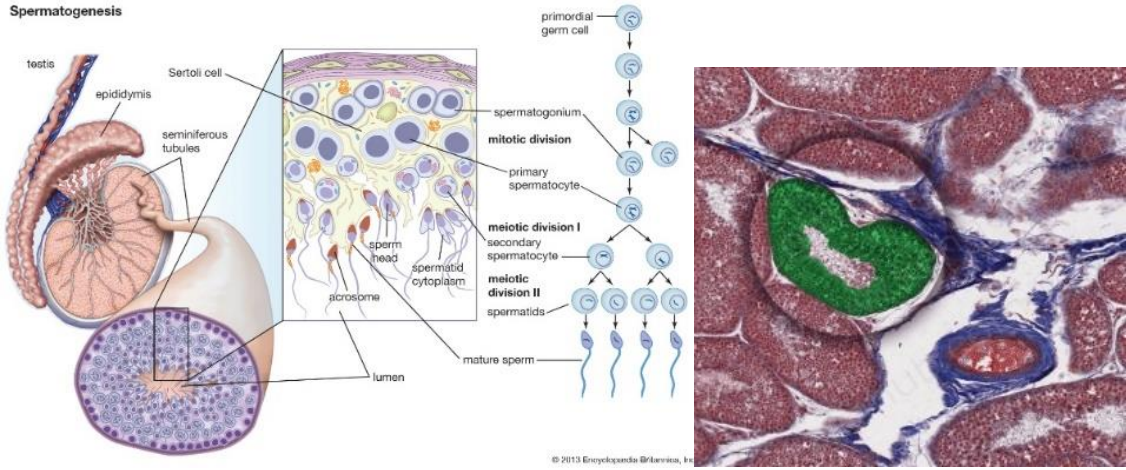
• Sertoli hücreleri inhibin ve aktivin salgırlar. İnhibin FSH üzerine negatif, Aktivin ise pozitif feedback etki gösterir (Kierszenbaum, 2006; Ovalle ve Nahirney, 2009; Tekelioğlu, 1999).



Şekil 21: Sertoli Hücreleri

### 2.3.3. Spermatogenik Hücreler

Germ ya da spermatogenik hücreler, derinliği 4-8 hücre arasında değişen ve seminifer tubulu bazal lamina ile lümen arasında döşeyen çok katlı epiteli oluştururlar. Hücreler proliferasyon olarak tubulun bazalinden lümenine doğru ilerler ve en son spermatozoonlar oluşur. Bu olaylara spermatogenezis adı verilir. Bazal laminaya yerleşmiş şekilde germinal serinin en genç hücreleri olan spermatogonyumlardır. (Moor and Persaud, 2009; Junqueira and Carneiro, 2009). Spermatogonyumlar vitellus kesesinden köken alan primordial germ hücrelerinden oluşur (Özel, 2009). Spermatogenik hücreler bazaldan lümenine doğru; spermatogonyum, primer spermatosit, sekonder spermatosit, spermatid ve spermatozoondan oluşur (Karagöz, 2002).



(Encyclopædia Britannica, Inc)

(https://www.kenhub.com)

**Şekil 22:** Spermatogenez Epitel

### 2.3.3.1. Spermatogonya

Seminifer tübülün bazal kompartmanında bazal laminaya bitişik halde yaklaşık 12 µm çapında olan diploid spermatogenez hücreleridir. Sertoli hücrelerinin tıkalı bağlantılarının altında bulunduğu kan-testis bariyerinin dışında yer almaktadır. Erkek fertilitesinde spermatogonya kök hücrelerinin çok önemli bir yeri vardır. Bu hücreler kısmen sessiz hücrelerdir ve bu nedenle radyasyon ve kemoterapiye karşı oldukça dirençli iken spermatozoidler ve spermatidler duyarlıdır.

İnsanda 3 tip spermatogonya vardır. Tip A koyu spermatogonya, Tip A açık spermatogonya ve tip B spermatogonya. Spermatogonyumlar embriyonal dönemde oluşur ve puberteye kadar inaktif olarak beklemede kalır. Pubertenin başlamasıyla hipotalamus gonadotropin releasing hormonu (GnRH) salgılar, bu hormon hipofizin ön lobuna etki ederek, folikül stimüle edici hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH)'a etki ederek spermatogonyumların çoğalmaları başlatır. Bütün spermatogonyumlar diploit yapıda olup mitoz bölünmelerle çoğalırlar. Mitoz sonrasında oluşan spermatogonyum ya tip A açık spermatogonyumu (B spermatogonyum öcüsü) ya da tip A koyu spermatogonyumları (primitif spermatogonyum kaynağı) meydana getirecektir. Tip A

koyu spermatogoniumlar, kaynak (rezerv, kök hücre) hücrelerdir. Tip A açık spermatogonyumlar, tip B spermatogonyumları oluşturmak için tekrar bölünür. Tip B spermatogonyumlar mitozla yönelerek primer spermatositleri oluştururlar (Moor and Persaud, 2009; Junqueira and Carneiro, 2009).

#### **2.3.3.1.1. Tip A koyu spermatogoniumlar**

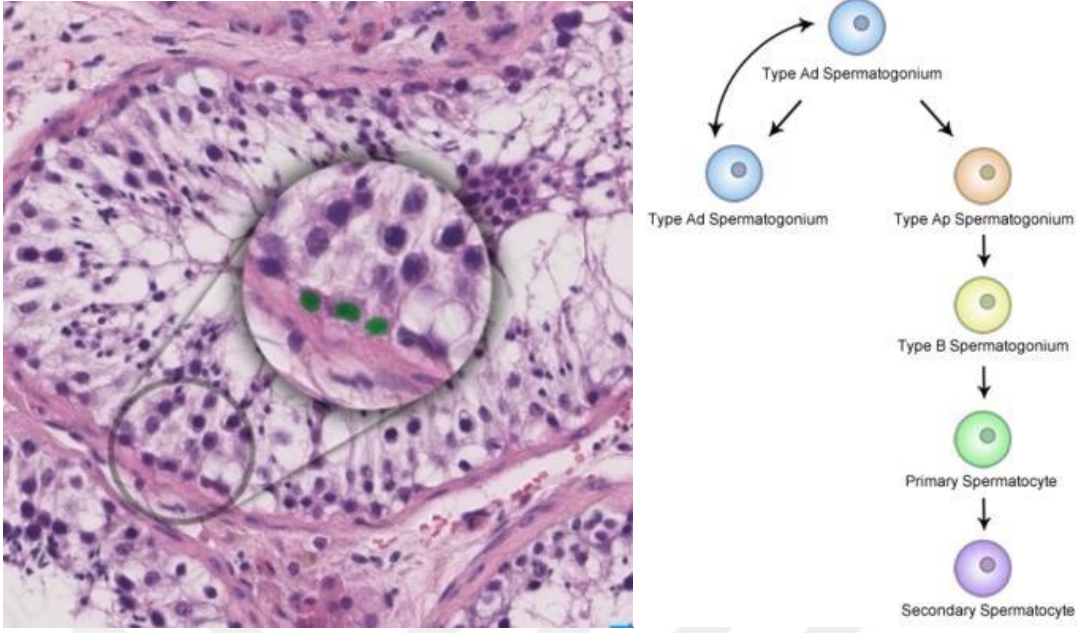
Koyu boyanan ovoid bir çekirdeğe sahiptir Reserv (stem, kök) hücreler olarak görev yaparlar. Bölünerek tip A açık spermatogonyumları oluştururken aynı zamanda tip A koyu spermatogonyumların sayısının da korunmasını sağlarlar.

#### **2.3.3.1.2. Tip A açık spermatogonyumlar**

Açık boyanan ovoid çekirdekleri vardır. Mitotik bölünmelerle tip B spermatogonyumları ve diğer tip A açık spermatogonyumları oluşturur.

#### **2.3.3.1.3. Tip B spermatogonyumlar**

Tip A spermatogonyumlardan daha büyük hücreler olup nükleer membrana yakın koyu boyanmış kromatin yığınları içerir ve çekirdekleri küresel yapıdadır. Tip B spermatogonyumlar mitoz ile bölünerek primer spermatositlere oluştururlar. Bu sırada yavru hücreler bazal laminadan lümeneye doğru uzaklaşır, hacimleri artar ve çekirdekte değişimler meydana gelir (Gartner ve Hiatt, 2007; Junqueira ve Carneiro, 2009; Kierszenbaum, 2006; Wakaizumi ve ark., 2009).



**Şekil 23:** Histolojik kesitte spermatogonya hücreleri ve spermatogenezis şeması  
(<https://www.kenhub.com>)

### 2.3.3.2. Spermatisitler

#### 2.3.3.2.1. Primer spermatisitler

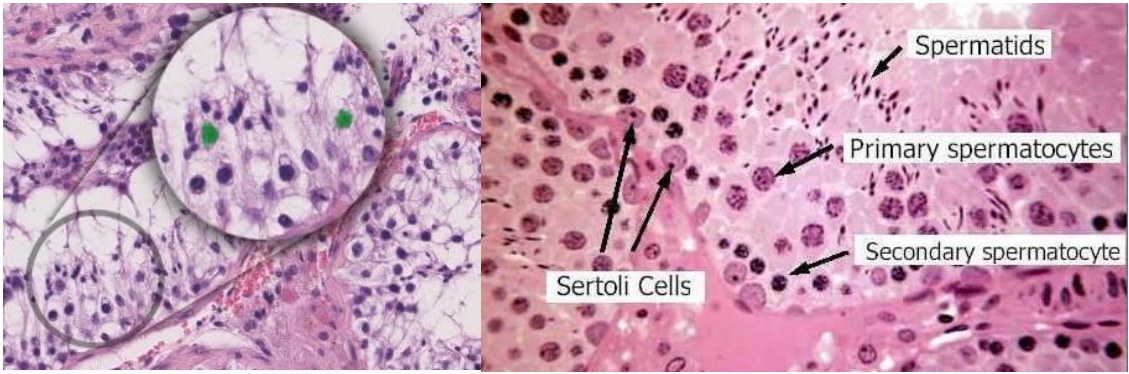
Spermatisitler Sertoli hücrelerinin tıkayıcı bağlantılarının üzerinde, yani kan-testis bariyerinin içerisinde bulunurlar. Tip B spermatogonya hücreleri mitotik bölünmeler sonucu DNA eşlenmesinden sonra (S fazı) mayoz bölünmenin ilk aşaması olan profaz safhasına girer ve bundan sonra primer spermatisit olarak adlandırılır. Primer spermatisitler seminifer epitelin orta kısmında bulunur, küre ya da oval şekilde olup spermatogenik seri hücreler içinde hacmi en büyük olan hücredir. Primer spermatisitler spermatogonyuma göre iki kat DNA'ya sahiptir.

#### 2.3.3.2.2. Sekonder spermatisitler

Primer spermatisitlerin mayoz bölünmesi ile oluşan haploid kromozomlu küçük hücrelerdir. Primer spermatisitlerde hücre bölünmesi mayoz olarak adlandırılan redüksiyon bölünmesidir. Mayotik bölünmede sitokinezis tam olmaz ve primer spermatisitlerin bölünmesi ile oluşan sekonder spermatisitler bir protoplazmik köprü ile

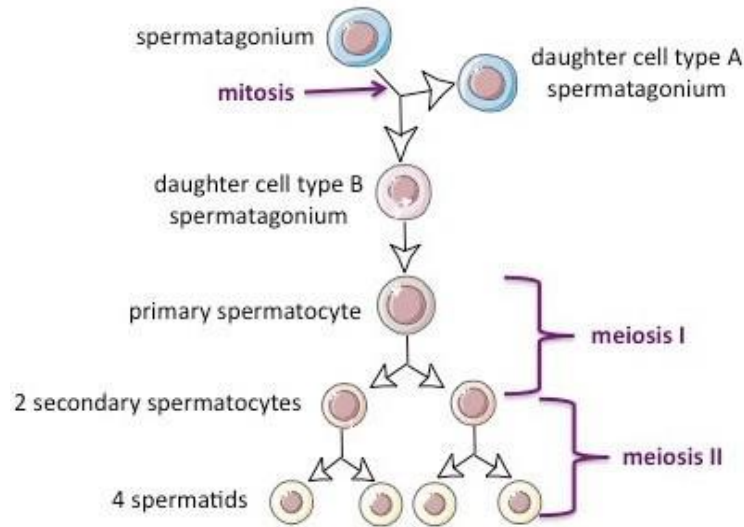
birbirine bağlıdır. Birbirlerine bağlı halde bulunan iki sekonder spermatositin sonradan tekrar mayotik olarak bölünmesi ile oluşan yeni 4 hücre (spermatidler) sitokinezisin tam olmamasından dolayı birbirlerine bağlı durumdadır. Sekonder spermatositlerin ebatı primer spermatositlerin yarısı kadardır ve bu hücreler lümene daha da yaklaşmaktadır.

Sekonder spermatositler spermatidleri oluşturmak üzere kısa zamanda II. mayoz ile bölündüklerinden dolayı seminifer tübül kesitlerinde çok fazla gözlenmezler. Bölünme sonrasında oluşan her bir spermatid 23 kromozomludur (haploid). Bölünme sonucu oluşan spermatidler daha küçük boyutlardadır ve lümene çok yakın konumdadır. Bundan sonraki evrelerde spermatidlerin spermatozoa olana kadar geçirecekleri farklılaşma evresi olan spermiyogenez başlar (Kierszenbaum, 2006; Richard ve Lopez, 2013).



(Primer spermatosit - <https://www.kenhub.com>)

(Oklahoma State Univ.)



**Şekil 24:** Primer spermatosit, sekonder spermatosit ve spermatogenez şematik çizimi  
([www.servier.com](http://www.servier.com))

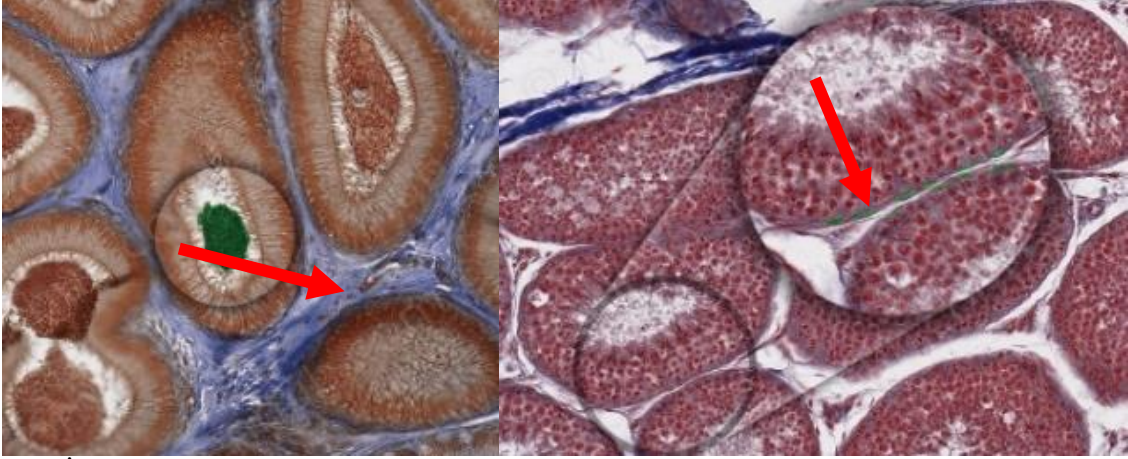
#### 2.3.4. İnterstisyel Alan

Seminifer tübüller arasında, kan-testis bariyerinin dışında kalan alanlara interstisyel alan denilir. Burası testis fonksiyonu için önemli bazı yapıları içermektedir. İnterstisyel alanlar içinde küçük kan damarları, kapillerler, küçük venler, lenfatik kanallar (sinüzoidler), makrofajlar, fibroblastlar, sinirler, mast hücreleri ve androjen üreten Leydig hücreleri tarafından doldurulmuŐ sıkı ve gevşek bağ dokusudur.

Leydig hücreleri tek tek veya gevşek topluluklar halinde kan damarları çevresine yerleşmiş yuvarlak veya poligonal Şekilli, yuvarlak nükleuslu, kuvvetli asidofilik hücrelerdir. Leydig hücrelerinin haricinde, lenfatik sinüsler denilen ve interstisyel sıvıyı lenfatik sisteme taşıyan yapılar da bulunur. Lenfatik sistem de spermatik kord aracılığıyla testisi terkeder.

İnterstisyel alanın miktarı ve anatomik yapısı türden t re deėiŐkenlik gösterir. Kemirgenlerde interstisyel alan testisin % 15'ini oluŐtur, insanda bu oran % 25-30'lara çıkarken domuzda % 40 civarındadır.

İnterstiyel alandaki kan damarlarından oksijen, glukoz ve hormonlar bazal membran aracılığıyla difüzyon yoluyla seminifer tübüllere aktarılır. Bu maddelerin geçişi germ hücreleri için çok önemlidir, çünkü seminifer tübüllerde kan damarları bulunmamaktadır. Diğer yandan, bazal membran ile kan testis bariyeri bir engel olacak Şekilde büyük moleküllerin kandan tübüllere geçişine izin vermez. Artık maddeler ise bazal membran aracılığı ile interstiyel alana buradan da küçük venler vasıtasıyla testisten uzaklaŐtırılır (Creasy ve Chapin, 2013; Kierszenbaum, 2006; Richard ve Lopez, 2013; Tekelioğlu, 1999).



İnterstisyel alan (solda, mavi renkli), myoid hücreler (sağ)(<https://www.kenhub.com>)

**Şekil 25:** İnterstisyel alan ve myoid hücreler

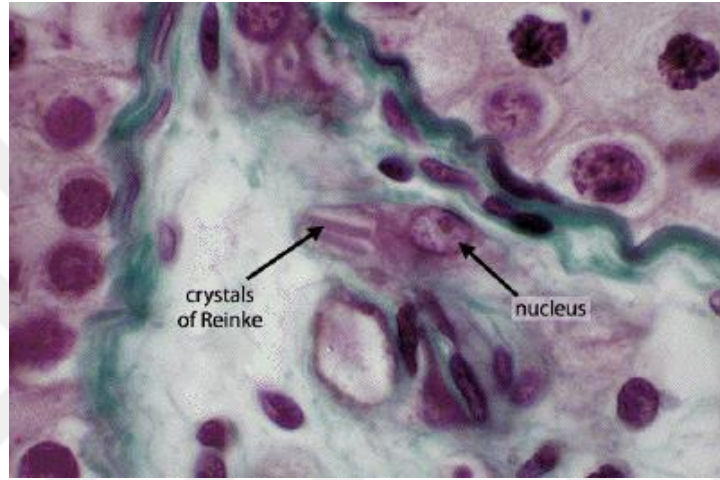
#### 2.3.4.1. Leydig Hücrelerinin Histolojisi

Leydig hücreleri veya interstisyel hücreler olarak adlandırılan yağ damlacıkları içeren, poligonol şekilli, büyük, köpüksü görünüme sahip eozinofilik hücrelerdir. Mikrovillüsler hücre yüzeylerinde çok sayıda bulunur ve çekirdek 1-2 adet olup merkezin dışına yerleşmiştir. Genellikle tek tek ya da gruplar halinde küçük lenf damarlarına ve pencere kapillerlere yakın olarak bulunurlar.

Elektron mikroskopundaki (EM) en belirgin özelliği, steroid salgılayan hücrelerdeki gibi sitoplazmalarında iyi gelişmiş granülsüz endoplazmik retikulum bulunmasıdır (Şeftalioğlu, 1998). Sitoplazmadaki köpüksü görüntü testosteron sentezi için depolanmış olan kolesterole bağlı yüksek düzeydeki lipit içeriğinden kaynaklanmaktadır. Kolesterolu pregnenolona çevirerek, testosteron sentezini başlatır. İyi gelişmiş bir golgisi, çok sayıda mitokondrisi, yaşa bağlı olarak artmış olan lipokrom pigmenti bulunur (Şeftalioğlu, 1998). İnsanlarda reinke kristalleri adı verilen ve leydig hücrelerinde, çok düzenli bir biçimde dizilmiş sitoplazmik kristaloid inklüzyonlar görülür ancak işlevleri bilinmemektedir (Saunders, 2009).

Leydig hücreleri hipofiz bezinden salınan gonadotropin LH tarafından uyarılır. Kolesterolu pregnenolona çevirerek, testosteron sentezini başlatır. İnsanda tüm Leydig

hücreleri yaklaşık 7 mgr/gün testosteron salgılar (Şeftalioğlu, 1998). Testosteron ihtiyaca göre sentez edilir ve beklemeden kana verilir. Leydig hücreleri interstisyel hücreleri stimüle eden hormon (ICSH / LH) ve hipofiz ön lobu hormonu olan Folikül Stimülant Hormon (FSH) tarafından denetlenir (Arıncı ve Elhan, 1997). Leydig hücrelerinden testosteronla birlikte ve östrojen gibi etkili olan östradiyol salgılanır (Arıncı ve Elhan, 1997).



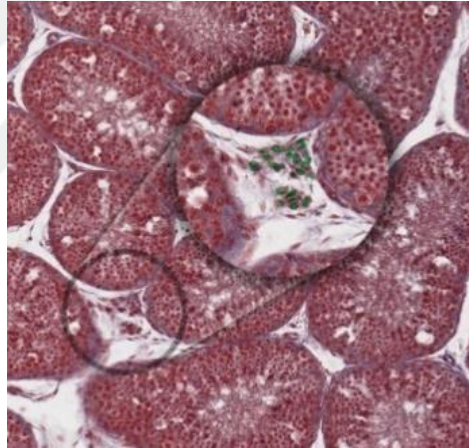
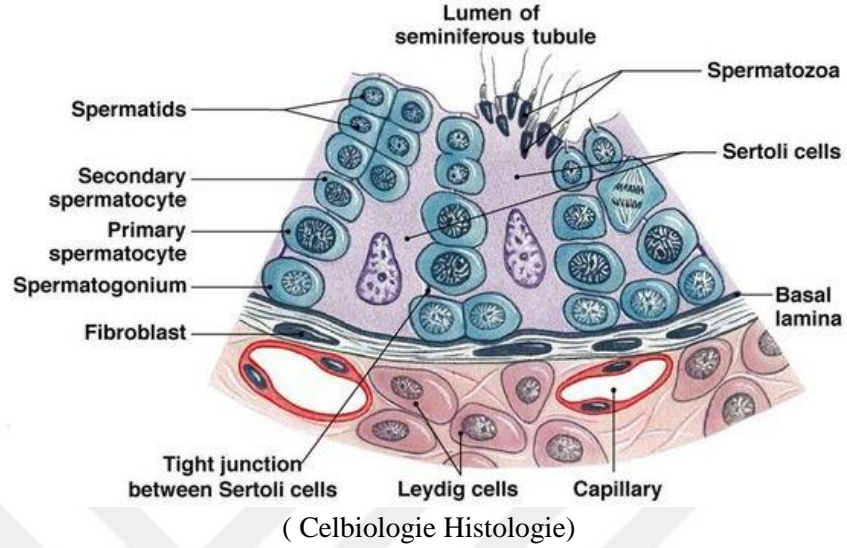
**Şekil 26:** Reinke kristalleri  
(patognomonik)

Leydig hücreleri fetal dönemin erken safalarında farklılaşırlar ve kolleştolden testosteron üretirler. Testosteron endoplazmik retikulum zarlarında sentezlenir veya dolaşımdaki düşük yoğunluklu lipoprotein moleküllerinden türetilir. Testosteronun varlığı embriyonik gelişmede erkek fetüsünde gonadların normal gelişimi için, cinsel olgunlaşma ve üreme için gerekir. Pubertede döneminde testosteron salınımı sperm üretimi, yardımcı bezlerin salgısı ve ikincil cinsiyet karakterlerinin gelişiminden sorumludur. Erişkinlerde dış genital kanallar, yardımcı bezler, spermatogenez ve sekonder cinsiyet karakterlerinin devamı için gereklidir.

Erkek füsün ilk farklılaşma evrelerinde leydig hücreleri aktiftir. Fetal yaşamın yaklaşık 5. ayından sonra inaktif olur. Leydig hücreleri bu evrede fibroblastlara benzer.



Pubertede uyarılması ile aktif olur, androjen salgılamaya başlar ve hayat boyu aktif olarak kalır (Ovalle ve Nahirney, 2009; Ross ve Pawlina, 2011; Svechnikov ve ark., 2010).

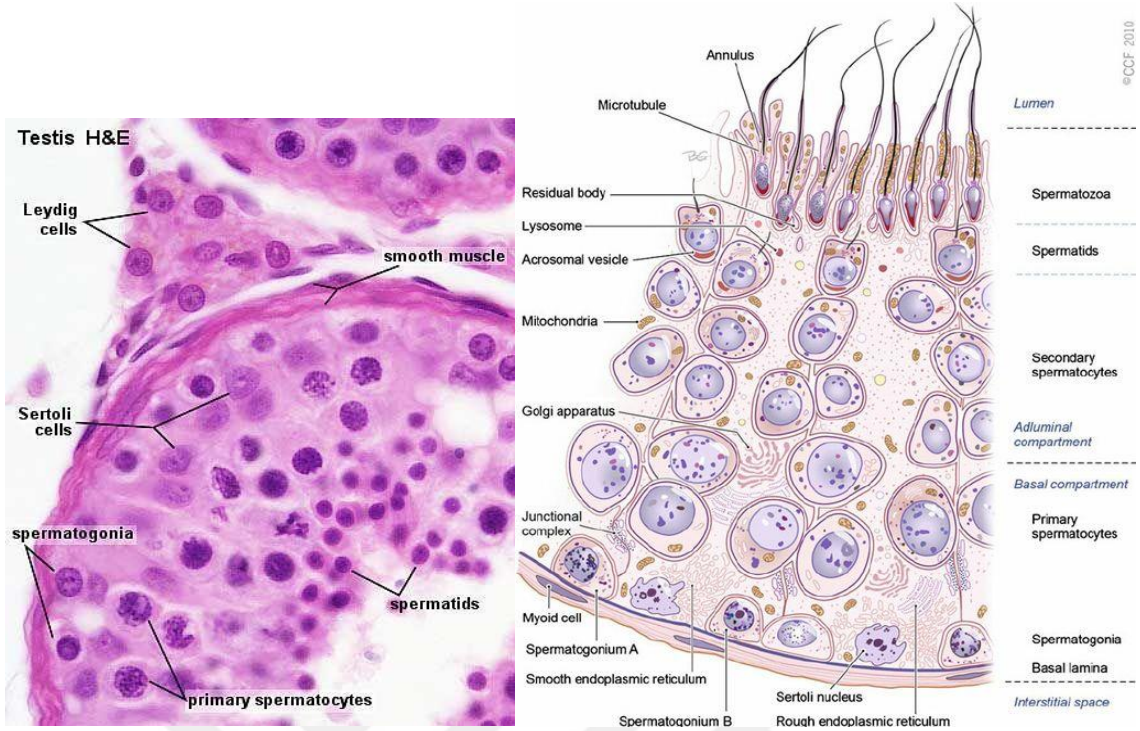


(<https://www.kenhub.com>)

Şekil 27: Leydig hücreleri

## 2.4. Spermatogenez

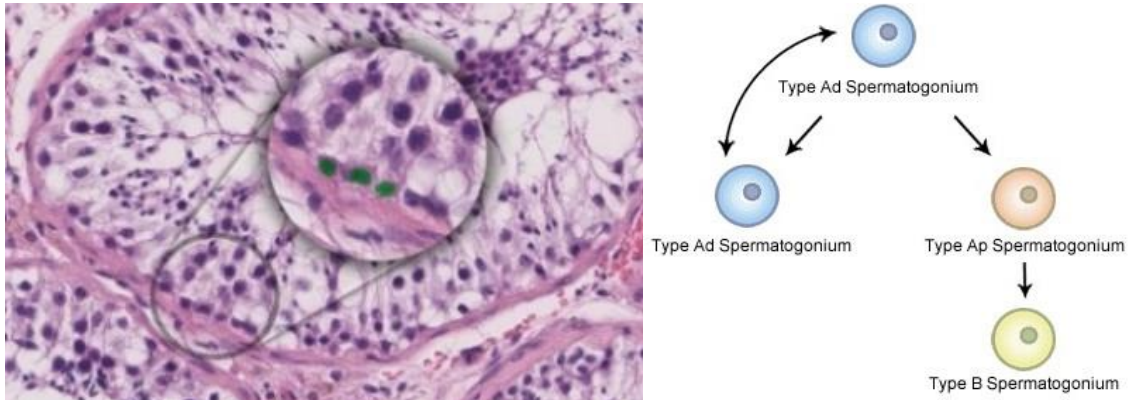
Spermatogonyumdan spermatozoon (sperm) hücrelerinin oluşumunu ve bu süreçteki farklılaşmayı kapsar. Puberte öncesi gonadotropinlerin salınmasıyla başlar ve yaşam boyu devam etmektedir. İnsanlarda spermatogonya fazından spermiasyona kadar geçen süre 64 gündür. Bu süreye spermatogonyumların bölünme evresi de eklenirse yaklaşık olarak 74 gün sürer (Junqueira ve Carneiro, 2009; Richard ve Lopez, 2013; Ross ve Pawlina, 2011).



Şekil 28: Histolojik kesitte spermatogenez ve spermatogenez aşamaları  
(<https://www.kenhub.com>)

#### 2.4.1. Spermatogonya Fazı

Bütün spermatogonyumlar diploit yapıda olup mitoz bölünmelerle çoğalırlar. Spermatogonya kök hücreleri birçok mitoz bölünme geçirirler ve spermatogonya hücre dizisini yaparlar. Spermatogonyumların bölünme evresi insanda yaklaşık 10 gün sürer. Tip A açık spermatogonyumlar, 4 mitoz bölünme geçirerek toplam 16 adet Tip B spermatogonyumları oluştururlar. (Richard ve Lopez, 2013; Ross ve Pawlina, 2011).



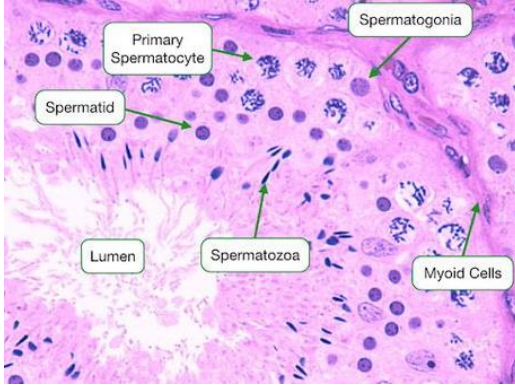
Şekil 29: Spermatogonya hücreleri ve oluşumunun şematik çizimleri  
(<https://www.kenhub.com>)

### 2.4.2. Spermatozit Fazı (Mayoz Bölünme)

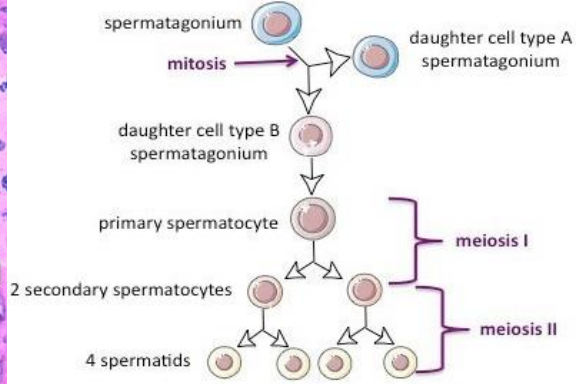
Tip B spermatogonyalar mitoz bölünme sonucu primer spermatozitleri oluştururlar. Tüm primer spermatozitler normal kromozom sayısı içerirler ve mayoz bölünmeden önce DNA'larını ikiye katlar. Daha sonra primer spermatozitler kromozom sayısını ve DNA içeriğini azaltmak için mayoza yönelir.

Birinci mayoz bölünmenin profazında, kromatin yoğunlaşarak ve görünür hale gelir (insanda 22 gün sürer). Bu sırada primer spermatozitler bazı sitokinlerin ( $TNF\alpha$  ve  $TGF\beta 3$ ) yardımı ile sertoli hücrelerinin arasında bulunan tıkaçıcı bağlantıları bozarak bazalda lümene doğru ilerlerler. Metafazda homolog kromozomlar birbiriyle eşleşerek 4 kromatidli tetradları oluşturmuş olurlar. Aralarında crossing-over gerçekleşir, değişim esnasında 4 kromatit üç parçalı görünür (sinaptonemal kompleks). Oluşan bu komplekste kromatitler geçici olarak kırılır, değişiklik meydana gelir ve tekrar birleşirler, böylece genetik çeşitlilik sağlanmış olur. Crossing over sonrası homolog kromozomlar ayrılarak iğ iplikçikleriyle zıt kutuplara çekilirler, bu olay rastgele gerçekleşir ve spermin genetik çeşitliliğine ikinci katkıyı sağlar. Herbir spermatozitten 4 farklı haploid sayıda yuvarlak spermatid oluşur.

Birinci mayoz bölünme sonucunda kromozom sayısı ve DNA miktarı yarıya indirgenir. Oluşan sekonder spermatozitler haploid sayıda kromozom ve çift kromatid içerir. Sekonder spermatozitler ikinci mayoza DNA sentezlemeden (S fazına girmeden) doğrudan ikinci mayozun profazına geçer. Metafaz sırasında kardeş kromatidler ayrılır. Çekirdek zarı tekrar oluşur, sitokinez gerçekleşir ve 23 kromozomlu 2 adet haploid spermatid oluşmuş olur (Gartner ve Hiatt, 2007; Johnson, 2013; Richard ve Lopez, 2013; Ross ve Pawlina, 2011).



(<https://www.kenhub.com>)

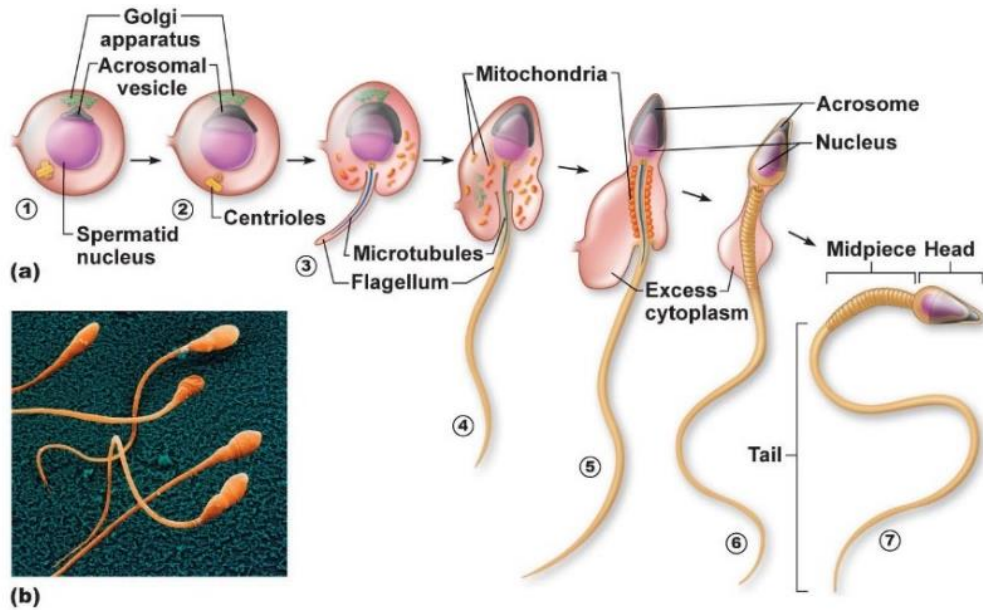


([www.servier.com](http://www.servier.com))

**Şekil 30:** Histolojik kesitte spermatid ve spermatid oluşumunun şematik çizimi

## 2.5. Spermiyogenez

İkinci mayoz bölünmeyle oluşan spermatidler haploid ( $n$ ) sayıda kromozom içerir. Oluşan haploid spermatidler hücrelerin farklılaşmasıyla olgun spermelere dönüşür ve lümeneye salınır, bu evre spermiyogenez adı verilir. Spermiyogenez akrozomun oluşumunu, çekirdeğin yoğunlaşmasını ve uzamasını, flagellanın gelişmesini, fazla sitoplazmanın atılması evrelerini içeren bir süreçtir. Bu dönemde spermatidler Sertoli hücrelerine özel bağlantılarla bağlı bulunurlar (Gartner ve Hiatt, 2007; Junqueira ve Carneiro, 2009; Ross ve Pawlina, 2011).



**Şekil 31:** a) Spermiyogenezin şematik çizimi, b) Spermatozoa (Pearson education)

### 2.5.1. Golgi Fazı

İlk olarak Golgi bölgesinde bulunan çok sayıdaki küçük vesiküller içerisinde küçük granüller görülür, daha sonra bunlar tek bir büyük granül olan akrozomu meydana getirmek için birleşirler. Akrozom bir akrozomal vesikül içerisinde bulunur ve bir membran ile çevrili olup bu membran Golgi bölgesinden köken almaktadır. Membranla çevrili akrozom Golgi bölgesi ile çekirdek arasında bulunur (Şekil 31: a 1). Golgi fazı Golgi kompleksinde biriken PAS (Periyodik Asit Schiff Boyası) pozitif granüllerinin görülmesi ile saptanır. Vesikül büyüyerek içeriğini arttırır. Akrozomal vesikülün bulunduğu yer geliştirmekte olan spermin anterior kutbudur. Sentriyoller de spermin posterior kutbuna doğru hareketlenir ve burada sperm kuyruğunun aksonemini oluşturacak olan 9 + 2 şekline mikrotübüllerin oluşmasını başlatır (Şekil 31: a 2) (Gartner ve Hiatt, 2007; Junqueira ve Carneiro, 2009; Ross ve Pawlina, 2011).

### 2.5.2. Başlık Fazı

Akrozomal vesikül nüklear membran yüzeyi üzerinde büyümeye başlar ve sonuçta nüklear yüzeyin yaklaşık yarısını örter hale gelir, bu yapıya akrozomal kep denir. Golgi apparatus bundan sonra yerini terk eder çekirdeğin diğer kutbuna doğru uzaklaşır. Akrozomal kepin altında bulunan çekirdek zarı porlarını kaybedip kalınlaşırken çekirdek de yoğunlaşır (Şekil 31: a 3-4) (Gartner ve Hiatt, 2007; Junqueira ve Carneiro, 2009; Ross ve Pawlina, 2011).

### 2.5.3. Akrozom Fazı

Vesikül akrozom şeklinde yoğunlaşmış ve çekirdek üzerinde baş şapkasını meydana getirmiştir. Akrozom; hyaluronidaz, asit fosfataz, nöraminidaz ve akrozin gibi hidrolitik enzimleri içerir. Bu fazda spermatid bazal laminaya doğru dönerek sertoli

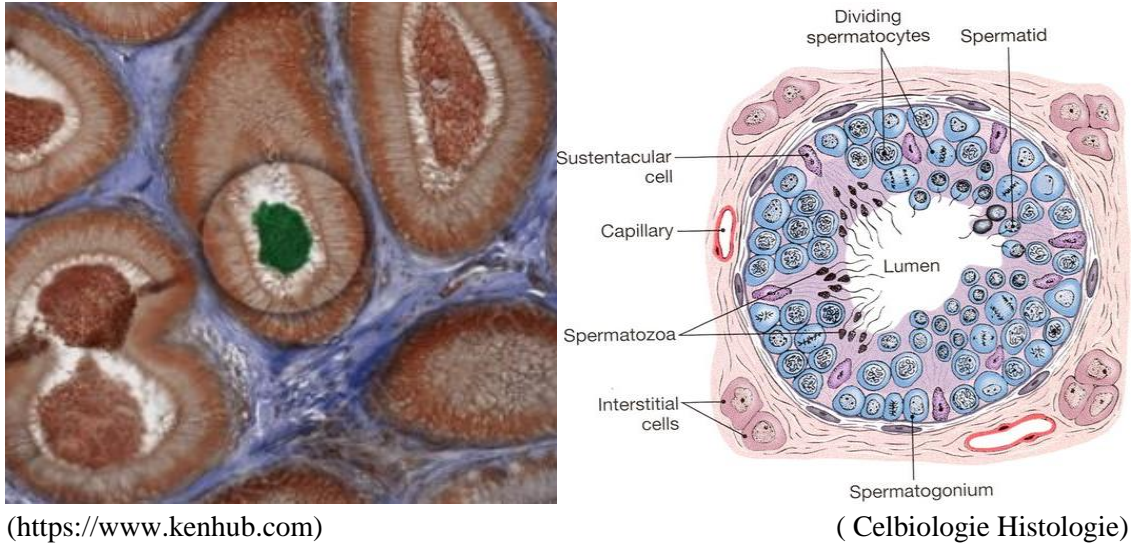
hücre sine iyice gömülür. Gelişmekte olan flagella lümene doğru uzamaya devam eder. Çekirdek yoğunlaşır, hafifçe düzleşir ve incelerek uzar, hücre membranına doğru ilerler ve burada tam bir sperm başını oluşturur, akrozom da ön zara doğru yaklaşır.

Flagellanın gelişimini başlatan sentriyoller çekirdeğin arka yüzeyine doğru hareket ederek tutunur ve burada spermin boynunu oluşturur. Plazma zarı flagellayı kaplamak için arkaya doğru ilerlerken sitoplazma içerisinde değişikliklere uğramış olan mitokondriyonlar flagellumun etrafında spiral ya da heliks şeklinde düzenlenerek mitokondriyal kılıfı (orta parça) oluşturur. Geriye kalan sitoplazmanın büyük bir kısmı kalıntı (Residüel Body) haline gelir (Şekil 31: a 4-5) (Gartner ve Hiatt, 2007; Junqueira ve Carneiro, 2009; Ross ve Pawlina, 2011).

#### **2.5.4. Olgunlaşma Fazı (Maturasyon)**

Residüel (kalıntı) cisimciklerin atılmasıyla, olgun spermatozoon'un çekirdek, orta parça ve kuyruğu etrafında çok ince bir sitoplazma kalmış olur. Residüel cisimcikler sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir ve germ hücrelerinin lipid içeriği sertoli hücreleri sitoplazmasında tutulmuş olur (Şekil 31: a 6) .

Spermatosit öncesinden beri bulunan hücreler arası köprüler rezidüel cisimciklerde kalır ve spermatidler Sertoli hücrelerinden lümene salınırlar, bu olaya spermiyasyon denir. Spermiyasyon esnasında Sertoli ve spermatidler arası bağlantılar kaldırılır. Ejakülattaki sperm sayısını spermiyasyon hızı belirlemektedir (Gartner ve Hiatt, 2007; Junqueira ve Carneiro, 2009; Ross ve Pawlina, 2011).



**Şekil 32:** Seminifer tübül lümeni içinde spermatozoalar ve spermatogonik hücrelerin çizimi

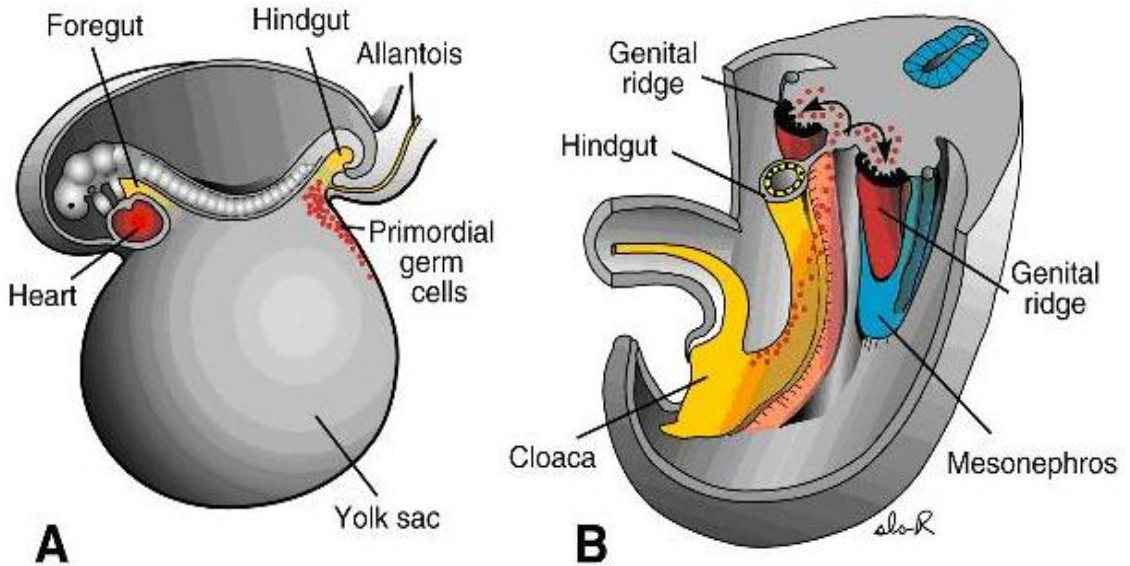
## 2.6. Erkek Genital Sistem Embriyolojisi

Testis gelişimi ya da cinsiyetin farklılaşması, bir kısmı otozomal olan birçok geni içine alan karmaşık bir süreçtir. (Moore ve Persaud, 2009; Thompson, McInnes ve Willard, 1991). Cinsiyet farklılaşmasındaki anahtar cinsiyeti belirleyen testis belirleyici faktör (testis determining factor = TDF)'dür. Bunun için gerekli olan SRY geni Y kromozomunun kısa kolu üzerindeki cinsiyet belirleyici bölgesinde yer alır. Embriyonun cinsiyeti, genetik açıdan ovumu dölleyen sperm çeşidi (X veya Y bulunması ile) ile belirlenmiştir. Farklanmamış gonad TDF varlığında testisler gelişirken, TDF yokluğunda over gelişimiyle sonuçlanır.

Gelişimin 7. haftasına kadar gonadlar morfolojik özellikler açısından gelişime başlamaz. Gelişimin erken dönemlerinde her iki cinsiyette de genital sistem birbirinden ayırt edilemez, gelişimin bu evresi cinsel gelişimin farklanmamış safhası olarak isimlendirilir. Gonadlar üç kaynaktan köken alırlar.

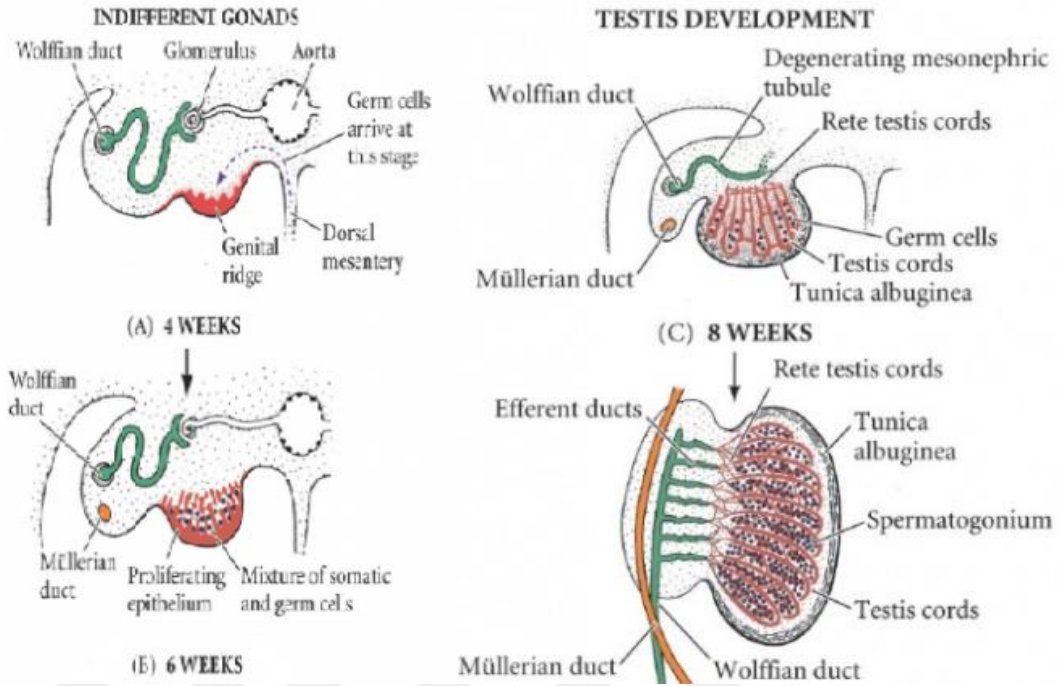
- Posterior abdominal duvarın mezotel epitelyumu (mezodermal epitel)
- Primordial germ hücreleri
- Mezodermal epitel altında bulunan mezenşim (embriyonik bağ dokusu)

Başlangıçta gonadlar bir çift uzunlamasına kölomik epitelin proliferasyonu ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşmuş genital (gonadal) kabarıklık şeklinde ortaya çıkar. Gelişimin 6. haftasına kadar genital kabarıklıklarda germ hücreleri bulunmaz. İnsanın embriyosunda primordiyal germ hücreleri gelişimin 3. haftanın sonu, 4. haftanın başında vitellüs kesesinin (allantoisin başlangıç yerine yakın olan) duvarındaki endodermal hücreler arasında ortaya çıkar. Embriyonun katlanması sırasında vitellüs kesesinin dorsal parçası embriyo içerisine dâhil olur. Primordiyal germ hücreleri son bağırsağın dorsal mezenteri yoluyla, vitellüs kesesinden gelişmekte olan gonadal kabartılara doğru amipsi hareketle ilerler (Şekil 33:B, Şekil 34:A). 4. haftanın sonu, 5. haftanın başında primitif gonadlara ulaşır. 6. haftada primordiyal germ hücreleri altındaki mezenşimin içerisine girer, gonadal kabarıklıkları işgal ederek primer seks kordonlarına dâhil olurlar (Şekil 34:B). (Creasy ve Chapin, 2013; Hecht, 1998; Moore ve Persaud, 2009; Sadler, 2005).



Şekil 33: 3 haftalık embriyoda primordiyal germ hücrelerinin göçü (Lippicott Williams ve wikings)





**Şekil 34:** Testisin embriyolojisi (4-16 hafta)  
(Gilbert Scott F.)

Gelişmekte olan gonadlarda Y kromozomu mevcutsa erkek fenotip gelişir (Moore ve Persaud, 2009; Sadler, 2005). Testislerin gelişimi birbirleriyle bağlantılı olan birçok genin indüksiyonuyla olur (Thompson, McInness ve Willard, 1991). Y kromozomunun Testis belirleyici faktör (TBF) etkisiyle, primitif cinsiyet kordonları çoğalmaya devam eder, medullanın iç kesimlerine ilerler ve medullar kordonları oluşturur. Bu kordonlar, bezin hilusuna doğru uzamasına neden olur. Kordonlar anastomoz yaparak rete testis oluşturur. Tunika albuginea geliştikten sonra testis kordonları yüzey epiteliyle olan bağlantılarını kaybeder ve epitelden ayrılır. Dördüncü ayda testis kordonları at nalına benzer ve nalın uçları rete testis ile devam eder. Testis kordonları primitif germ hücreleri ve bezin yüzey epiteliinden köken alan sertoli hücrelerinden ibarettir (Hecht, 1998; Moore ve Persaud, 2009; Stadler ve ark., 2002).

İnterstisyel Leydig hücreleri, gonadal kabarıklıkın orijinal mezenşiminden köken alır. Testis kordlarının arasında bulunur ve kordonların farklılaşmasından sonra

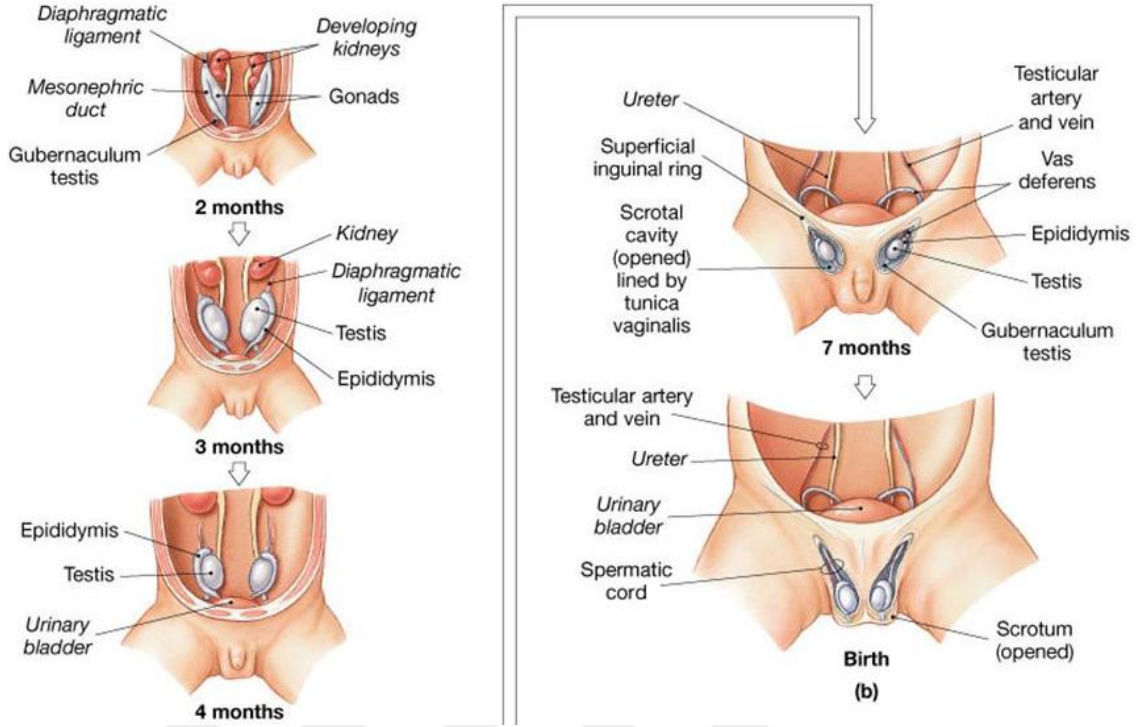
gelişmeye başlar. Leydig hücrelerinin androjenik hormonları (testosteron ve androstenedion) gebeliğin 8. haftasında salgılamaya başlar ve bu hormonlar mezonefrik kanalların ve dış genital organların erkek olarak farklılaşmasını indükler (Şekil 34: C). Leydig hücrelerinden testosteron salınımı insan koryonik gonadotropin (uman Chorionic Gonadotropin - hCG) hormonu uyarır. Hormonun miktarı 8-12 haftalık dönemde maksimum değerine ulaşır.

Kordonlar puberteye kadar solid halde kalır ve pubertede lümenleri açılarak seminifer tübüleri oluşturur. Seminifer tübüller kanalize olduktan sonra, rete testis tübüllerine katılır ve daha sonra duktuli efferenteslere girerler. Bu efferent duktuslar mezonefrik sistemden geriye kalan boşaltım tübülleridir. Duktus deferens olarak bilinen bu kanallar rete testis ile mezonefrik (Wolff) kanalları arasında bir bağlantı oluştururlar (Habert, Lejeune ve Saez, 2001; Moore ve Persaud, 2009; Sadler, 2005).

Fetüs testislerinde Sertoli hücrelerinden salgılanan Mülleriyan inhibe edici madde (MIS) veya antimülleriyan hormon (AMH) paramezonefrik kanalların gelişimini baskılar. Testislerden MIS dışında, hedef doku hücrelerini etkileyen testosteron da salgılanır. Testosteron bu hücrelerde 5-alfa-reduktaz enzimiyle dihidrotestosterona dönüşür. Testosteron ve dihidrotestosteron hücre içinde bir reseptör proteine bağlanırlar. Bu hormon-reseptör kompleksi DNA'ya bağlanarak doku için spesifik genlerin ve oluşturdukları protein ürünlerinin transkripsiyonunu düzenler. Testosteron reseptör kompleksleri, mezonefrik kanalların virilizasyonuna (erkekleşmesine) aracılık ederken, dihidrotestosteron-reseptör kompleksleri de erkek dış genital organlarının farklılaşmasına neden olur (Josso, Clemente ve Gouedard, 2001; Sadler, 2005).

Testisler 26. haftada embriyonun boyutlarındaki uzama ve fötal pelvisin genişlemesi ile karın arka duvarından inguinal kanal boyunca skrotuma doğru inmeye

başlar. (Moore ve Persaud, 2009). Testislerin büyümesi ve mezonefrik böbreklerin atrofisi testislerin arka karın duvarı boyunca kaudal olarak hareketine izin verir. Processus vaginalisin büyümesi testislere bu ilerlemede rehberlik eder. Kontroüde fötal testislerce üretilen androjenlerle sağlanır (Wensing, 1988). Processus vaginalis inguinal kanalları oluştururken aynı zamanda ön karın duvarı boyunca yol alır ve rehber olarak gubernakulumu kullanır. Gubernakulum ayrıca testisin skrotuma inişinde rehberlik eder ve aynı zamanda ileri dönemlerde testisin skrotuma bağlanmasını sağlar. Karın içi organların büyümesine bağlı olarak, intraabdominal basıncın artmasının da testislerin inguinal kanala yönelmesinde rol oynadığı düşünülmektedir. İnguinal kanallardan testislerin skrotuma inişi yaklaşık 26. haftada başlayarak 2-3 gün sürer. Testisler, periton ve processus vaginalis dışından geçerler. Testisler skrotuma girdikten sonra inguinal kanal spermatik kord etrafında kasılır. Terminde doğmuş yeni doğanların %97'den fazlasında, her iki testis de skrotuma yerleşmiş haldedir. Testisler arka karın duvarı seviyesinde iken testiküler damarlar oluşmuş haldedir. Testislerin karın boşluğundan skrotuma inişinde duktus deferens, kan damarları, lenfatik damarlar, otonom sinirleri ve abdominal peritonun uzantısı olan tunika vaginaliside beraberinde taşır (Moore ve Persaud, 2009; Ross ve Pawlina, 2011; Wensing, 1988).



Şekil 35: Testislerin skrotuma yerleşmesi  
(pearson education, inc)

## 2.7. Postnatal Testis Gelişimi

Erişkin kişilerde testislerinin normal olarak fonksiyon gösterebilmesi için testiküler hücrelerin iyi bir şekilde gelişmesi gerekmektedir. Postnatal testis gelişiminde; proliferasyon, farklılaşma, hücrelerin (germ hücrelerinin, sertoli hücrelerinin, miyoid hücrelerin ve intertisyel Leydig hücrelerinin) kontrollü ölümü, organize olmuş parakrin iletişim sağlamaktadır. (Nurmio ve ark., 2009).

Doğumda fetal spermatogonia veya neonatal gonositler spermatic kordların merkezinde bulunur. Ergenlik dönemindeki spermatogenezin başlangıcına kadar çocukluk dönemi boyunca, germ hücreleri kordonların merkezinde kalır. Görünümünde veya konumlarında çok az histolojik değişiklik olduğu için “kış uykusunda” olduğu düşünülür. Doğumda, seminifer kordlar içerisine yerleşmiş halde olan neonatal gonositler 3 ila 9 ay arasında spermatojenik kök hücelere dönüşür (Basciani ve ark., 2008; Basciani ve ark., 2010). Puberte döneminde testosteron hormonu miktarının artması, seminifer

tübül lümeninin oluşmasını sağlarken, spermatogenezi de başlatır (Ross ve Pawlina, 2011).

## **2.8. Semen**

1,5 - 6 ml hacimde, viskoz, karakteristik kokusu olan ejakülasyonun ürünü olan sıvıdır. Semen sıvısının %10'unu spermiler oluşturur. Sperma sıvısının; % 60'ı seminal vezikülden, %30'u prostattan, %10'u da cowper bezlerinden kaynaklanmaktadır. ml'de 50-100 milyon sperm hücresi bulunur. 15 milyon altındaki sperm sayısı oligospermi olarak adlandırılır (Moor and Persaud, 2009).

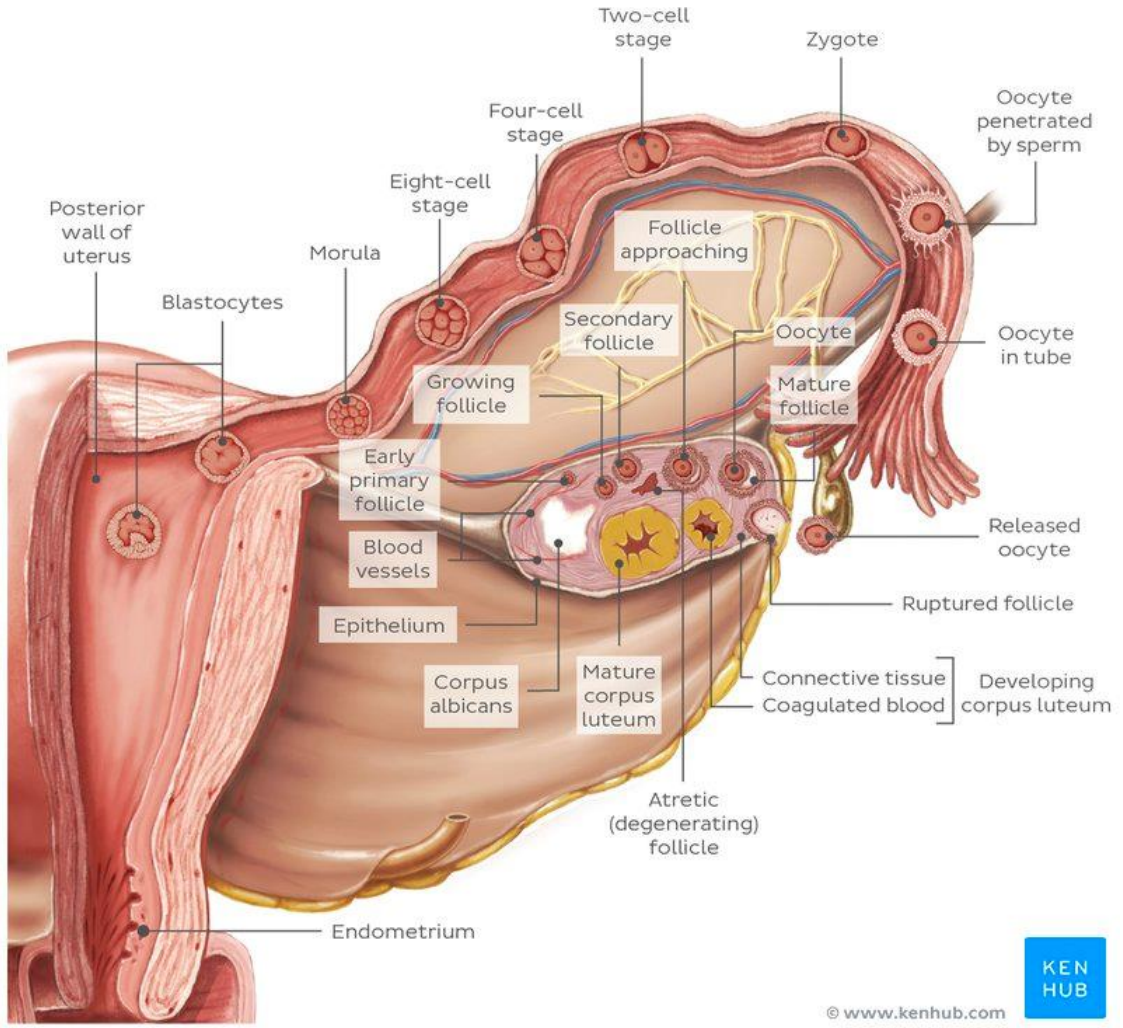
## **2.9. Fekondasyon**

Erkek ve dişi gametlerin birleşip zigot oluşturmaya fekondasyon denir. Bu birleşme tuba uterinanın ampulla bölgesinde gerçekleşir. Spermatozoonların fertilizasyon sahasına ulaşmaları 5-45 dk arasında meydana gelir. Fertilizasyonun gerçekleşeceği bölgeye ancak 300-500 sayıda spermatozoon ulaşabilir. Geri kalan spermatozoonlar uterus, serviks ve vajinada değişikliğe uğrarlar. Spermatozoonlar, dişi genital kanallarında yaklaşık 1 gün kadar canlı kalabilirler. Siklusun ortasında dişi genital kanallarda spermatozoonun canlı kalabilmesi ve yaşamını kolay hale getirmek için bazı değişiklikler meydana gelir. Ovulasyondan birkaç gün önce serviks bezleri, spermatozoonları vagina asidinden korumak için koyu muköz bir salgı salgılar. Böylece spermatozoonun hareketini kolaylaştırmış olur. Vajinaya bırakılmış olan spermatozoonlar henüz dölleme yapma kapasitesine sahip değildir. Uterus ya da tüplerdeki salgı maddelerinin etkisi ile kapasitasyon yeteneğini kazanırlar. Kapasitasyon sürecinde spermatozoonda morfolojik bir değişme görülmez fakat daha aktif olurlar. Akrozomun üzerinde bulunan glikoprotein örtü ve seminal plazma proteinleri ortadan kaldırılır.

Spermatozoonlar tuba uterinalardan akıntıya karşı hareket ederek geçerler (pozitif reotaksis özelliği). Ovum da tuba uterininin fimbriyası ile yakalanıp yaklaşık 25 dakikada ampullaya bölgesine taşınır. Döllenme işlemi 12-24 saat içinde gerçekleşmesi gerekmektedir, aksi takdirde ovum tüplerden uterusu geçerek dejenere olmaya başlar.

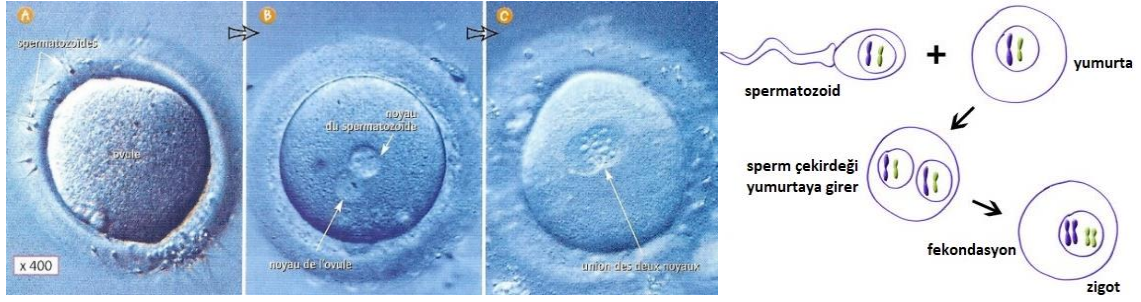
Haploid sayıda kromozoma sahip olan dişi gamet 2. mayoz bölünmenin metafaz safhasında bloke olmuştur. Spermatozoonların yumurta hücresi ile karşılaşmalarından sonra korona radyatayı geçen spermatozoonlar zona pellüsida tutunurlar ve onun içine girmeye çalışırlar. Akrozomlarından salgılanan akrozin ve nöraminidaz enzimlerinin litik etkisiyle zona pellüsida geçit açarak, bu yollardan sekonder oosite ulaşmaya çalışırlar (Moor ve Persaud, 2009; Junqueira ve Carneiro, 2009; Ovalle ve Nahirney, 2009).

İlk spermatozoon, zona pellüsidayı geçtikten sonra, diğer spermatozoonların geçişine izin vermeyen zona reaksiyonu ortaya çıkar. Zona reaksiyonunda sekonder oositin sitoplazmasındaki kortikal granüllerden salgılanan lizozomal enzimlerin etkisiyle zona pellüsida yapısal ve fizikokimyasal değişiklikler oluşur ve spermatozoonlara karşı geçirgenlik özelliğini kaybeder. Spermatozoon, oosit hücre zarına temasından hemen sonra her iki plazma zarı birleşir. Spermatozoonun oosit sitoplazması içine girmesine, oosit 3 ayrı şekilde tepki verir; oosit membranı başka bir spermatozoon girişini engelleyecek şekilde farklılaşarak polispermi önlenmiş olur. Spermatozoon yumurta içine girdikten hemen sonra sekonder oosit 2. mayoz bölünmesini bitirir. Kuyruğu dejenere olan sperm nükleusuna erkek pronükleusu, ovum nükleusuna ise dişi pronükleusu adı verilir. Pronükleuslardaki haploid sayıdaki kromozomlar duplike olur. DNA sentezinden sonra, iki pronükleus ovumun merkezinde birbirlerine yaklaşır, zarları erir ve birleşirler. 23 anneye ve 23 babaya ait olan dublike kromozomlar birbirlerine karışır ve tek hücreli zigot oluşur. Çift yapılu kromozomlar karşı kutuplara göç eder ve sitokinez başlar.



**Şekil 36:** Primer folikülden blastokist evresine kadar ovum  
(<https://www.kenhub.com>)

Fekondasyonun sonucu haploid sayıdaki iki üreme hücresinin bir araya gelmesiyle diploid sayıda, anne ve babadan farklı bir kromozom kombinasyonuna sahip olan bir zigot meydana gelir. Sperm X kromozomunu taşıyorsa dişi embriyo (XX), Y kromozomunu taşıyorsa erkek embriyo (XY) oluşur. Oosit 24 saat içinde döllenmez ise dejenere olur (Moor ve Persaud, 2009; Junqueira ve Carneiro, 2009; Ovalle ve Nahirney, 2009).



**Şekil 37:** Erkek ve dişi gametlerin birleşmesi ve zigotu oluşturması  
(fusion cellule)

## 2.10. Erkek İnfertilitesinde Etyoloji

Erkek İnfertilite insidansı %15 olarak verilmekteyken bu oran son yıllarda giderek artmaktadır. Dünyada ortalama 80 milyondan fazla infertil çift bulunmaktadır. Çiftlerin 1/4'ü subfertil, 1/8'i ilk gebelikte sorun yaşamakta, 1/6'sı sonraki gebelikte sorun yaşamakta, % 3 çift tamamen çocuksuz, % 6 çift ise istediği sayıda çocuk sahibi olamamaktadır. Sperm sayısında son 50 yıl içerisinde artan bir gerileme olduğu saptanmıştır. Yapılan pek çok çalışmaya rağmen evli erkeklerde bu durum hala büyük bir problem olarak devam etmekte. Bunun nedeni subfertil erkeklerin yaklaşık %25'inde bir sorun bulunamamakta. Dünya Sağlık Örgütü'nün bir çalışmasında infertiliteden sorumlu % 41 oranında kadın faktörü, % 24 oranında erkek faktörü, % 24 kadın ile erkek faktörü birlikte tespit edilmiştir ve % 11'inde de herhangi bir neden gösterilememiştir (Tournaye, 2006). İnfertil çiftlerin % 48'inde mutlaka erkek faktörü ön plana çıkmaktadır.

EAU'nun 2015 kılavuzuna göre tüm tanısal ilerlemelere rağmen idiyopatik bozukluklar infertil erkeklerin %30'unu oluşturmaktadır. İdiyopatik infertil hastalar spesifik tedavilere yanıtızdırlar.

Bizim amacımız sperm testleri ile beraber aquaporin mekanizması ile ilgili problemler varsa bunları tespit ederek, detavi için bir yol oluşturabilmek.



**Tablo 1:** Erkek infertilitesinin etiyolojik faktörlere göre dağılımı

(EAU Kılavuzu, 2015)

| HASTALIK                                 | ORAN (%) |
|--|----------|
| -İnfertilitenin Bilinen Sebepleri        | 42.6     |
| İnmemiş Testis                           | 8.4      |
| Varikosel                                | 14.8     |
| İmmünolojik nedenler                     | 3.9      |
| Diğer                                    | 5.0      |
| -İdiopatik İnfertilite                   | 30       |
| -Hipogonadizm                            | 10.1     |
| Klinefelter sendromu (47,XXY)            | 2.6      |
| 46, XX erkek                             | 0.1      |
| Primer Hipogonadizm                      | 2.3      |
| Sekonder Hipogonadizm                    | 1.6      |
| Kallmann Sendromu                        | 0.3      |
| İdiyopatik Hipogonadotropik Hipogonadizm | 0.4      |
| Geç Başlangıçlı Hipogonadizm             | 2.2      |
| Gecikmiş Puberte                         | 1.4      |
| Diğer                                    | 0.8      |
| -Sistemik Hastalıklar                    | 2.2      |
| -Maligniteler                            | 7.8      |
| Testis Kanseri                           | 5.0      |
| Lösemi / Lenfoma                         | 2.2      |
| Sarkoma                                  | 0.6      |
| -Ereksiyon / Ejakülasyon Bozukluğu       | 2.4      |
| -Obstrüksiyon                            | 2.2      |
| Vazektomi                                | 0.9      |
| Kistik Fibrozis                          | 0.5      |

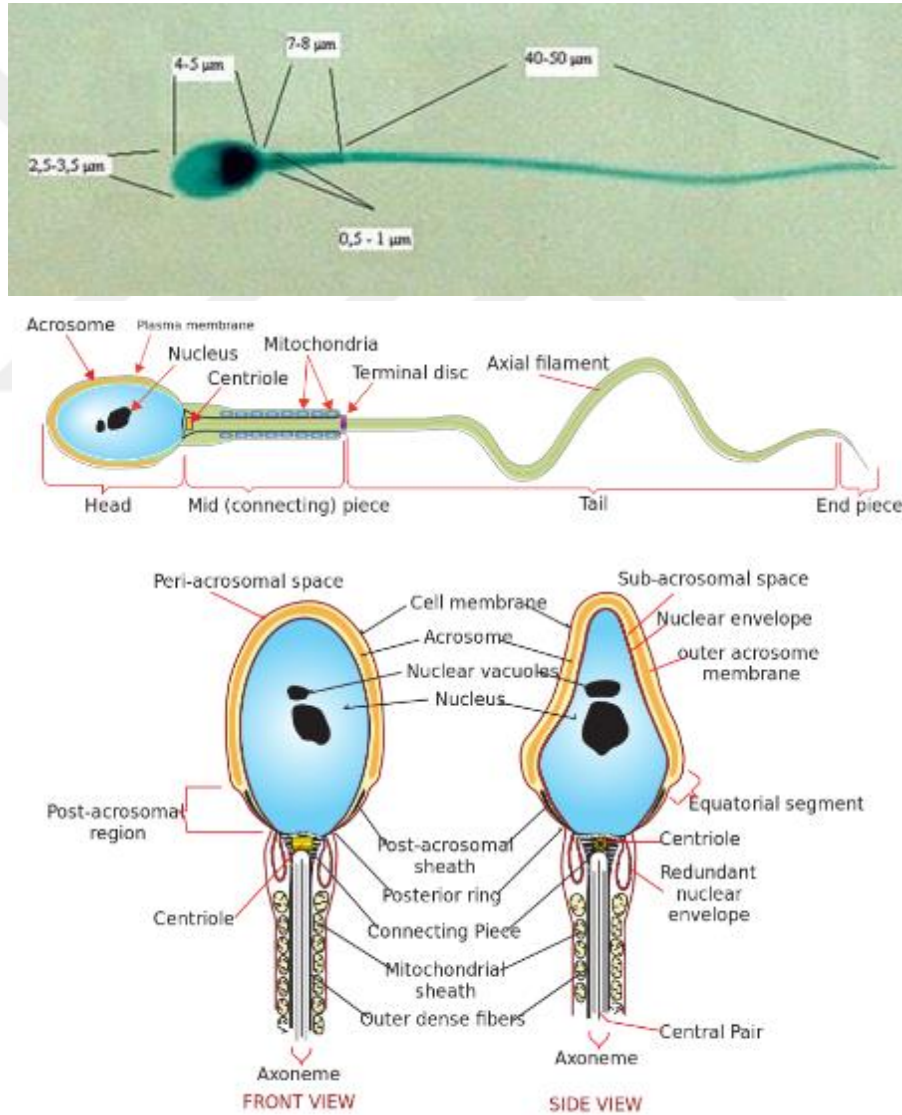
## 2.11 Morfoloji

"Kruger Strict Kriterleri" spermlerdeki morfolojik anomalileri mikroskopik olarak değerlendirme yöntemidir. Kruger'in morfoloji değerlendirmesindeki farklılığı diğerlerinin sınırda kabul ettiği spermeleri anormal olarak kabul etmesidir.

Spermilerin morfolojik olarak normal tanımını yapacak olursak: Sperm baş, orta parça ve kuyruk bölümlerinden meydana gelmiştir. Son parçayı ışık mikroskopuyla görmek zordur, sperm hücresinin bir baş, boyun ve kuyruktan (orta ve ana parça) oluştuğu düşünülebilir.

### 2.11.1. Kruger Strict Morfoloji Kriterlerine Göre Normal Sperm

Sperm normal kabul edilebilmesi için, baş ve kuyruğunun normal olması gerekir. Sınırdaki şekillerin tümünün anormal olduğu düşünülmelidir.



**Şekil 38:** Normal sperm yapısı ve normal sperm fotoğrafı (Gray's anatomi 36. Baskı)

### **2.11.1.1. Baş**

Baş 4-6  $\mu\text{m}$ . uzunluğunda, 2-4  $\mu\text{m}$  genişliğindedir. Orta parça 4-5  $\mu\text{m}$  ve kuyruk kısmı da 50-55  $\mu\text{m}$  uzunluğunda olmalıdır. Sperm başı yassı, oval ve sınırları düzgün olmalıdır. Akrozomal kep başın % 40 ile 70'ini kaplamalıdır (Mortimer ve Menkveld, 2001). Çekirdek-akrozomal kep oranı, akrozomal kepin irregüler görünümü veya hücre sınırlarının düzgün olmayışı incelenerek normal ve anormal baş ayırımı yapılmalıdır. Başın normalden büyük veya küçük oluşu, çift oluşu veya şeklinin irregüler olması gibi yapısal özellikleri de not edilmelidir. Akrozom bölgesi; 1 büyük ve 2 küçük vakuolden fazlasını içermemeli, sperm başının % 20'sinden fazlasını kaplamamalıdır. Post-akrozomal bölge herhangi bir vakuol içermemelidir.

### **2.11.1.2. Boyun**

Boyun, kuyruk ile sperm başı arasında bağlantı sağlayan 0,5  $\mu\text{m}$  uzunluğunda kısa bir parçadır. Boyun, başçık (kubbe seklinde bir fibröz yapı) ve nükleusun kuyruğa bakan yüzeyinde uzanan bazal plâk arasında yer alan çeşitli proteinöz filamanlar tarafından bağlantı sağlanır.

### **2.11.1.3. Kuyruk**

#### **2.11.1.3.1. Orta Parça**

Orta parça ince, düzenli sınırlı ve yaklaşık sperm başı uzunluğunda olmalıdır. Orta parçanın ana eksenini sperm başının ana eksenine aynı hizada olmalıdır. Aşırı miktarlarda ise, rezidüel sitoplazmanın (droplet) olduğu düşünülmelidir (sperm başının üçte birinden daha fazla alanı işgal ederse) (Mortimer ve Menkveld, 2001). Orta parçadaki sitoplazmik artıklar büyüklüklerine göre değerlendirilmelidir.

### 2.11.1.3.2. Ana (Esas) Parça

Ana parçanın genişliği uzun eksenini boyunca aynı genişlikte olmalı, orta parçadan ince ve ortalama 45 µm uzunlukta (başın 10 katı kadar) olmalıdır. Kuyruğun keskin bir açı ile kırıldığı görülmesi dışında, halka şeklinde kıvrılmalar normaldir (Kıvrımlı, sarmal kuyruklar > 360° ise epididim işlev bozukluğuna işaret edebilir (Pelfrey ve ark., 1982). Çift kuyruklu spermler gözlenirse bunlar da belirtilmelidir. Morfolojik boyama sonrası sperm morfolojisi incelenerek sperm örneğinin fertilizasyon kapasitesi belirlenir. Normal morfolojinin %14'ün altında ve üstünde olduğu durumlardaki fertilizasyon oranları karşılaştırılmıştır. Buna göre normal morfolojinin %14'ün üzerinde olduğu durumlarda fertilizasyon % 88 oranında gerçekleşirken %14'ün altında %49'a kadar düşebilmektedir.

**Tablo 2:** Sperm morfolojisinin gebelik oranlarına etkisi

| Normal Form        | Gebelik Oranları |
|--------------------|------------------|
| % 4' den az        | % 7,6            |
| % 4 ile % 14 arası | % 49,4           |
| % 14' ün üzerinde  | % 88,3           |

### 2.11.2. Anormal Sperm Morfolojisinin Sınıflandırılması

İnsan semen numuneleri farklı şekil bozuklukları olan spermeler içermektedir. Defektif spermatogenez ve bazı epididim patolojileri bu anormal şekilli spermelerin sayısal olarak artışıyla alakalıdır. Morfolojik defektler genellikle karma defektlerdir. Anormal spermeler, anomalilerin tiplerine bağlı olarak daha düşük bir fertilizasyon yeteneğine sahiptir ve anormal DNA' lara sahip olabilirler.

Morfolojik defektler; artmış bir DNA parçalanma süreci (Gandini ve ark., 2000), yapısal kromozom anormallikleri (Lee ve ark., 1996), immatür kromatin (Dadoune ve

ark., 1988) ve anöploidi (Deviillard ve ark., 2002; Martin ve ark., 2003) insidansında artışla ilişkilendirilmiştir.

#### **2.11.2.1. Baş Defektleri**

Normalden büyük ya da küçük, sivri, armut şeklinde, yuvarlak, amorf, vakuollü (2 vakuolden fazla, boyanmamış vakuollü alanlar baş alanının % 20'sinden fazla), post-akrozomal bölgede vakuollerin bulunması, küçük veya geniş akrozom alanları (baş alanının < %40 , > %70 ebatlarında ise), çift başlılık veya bunların kombinasyonları sayılabilir.

#### **2.11.2.2. Boyun ve Orta Parça Defektleri**

Orta parçanın başa asimetric bağlantısı, kalın veya düzensiz, keskin açılı kıvrılmış, anormal derecede ince olması veya bunların herhangi bir şekilde kombinasyonları olabilir.

#### **2.11.2.3. Ana Parça Defektleri**

Birden fazla sayıda olması, uzun eksenini normalden daha kısa veya daha uzun olması, kırık, düzgün firkete şeklinde gövde, keskin açılı bükümler, düzensiz genişlik, sarmal veya bunların herhangi bir şekilde kombinasyonları.

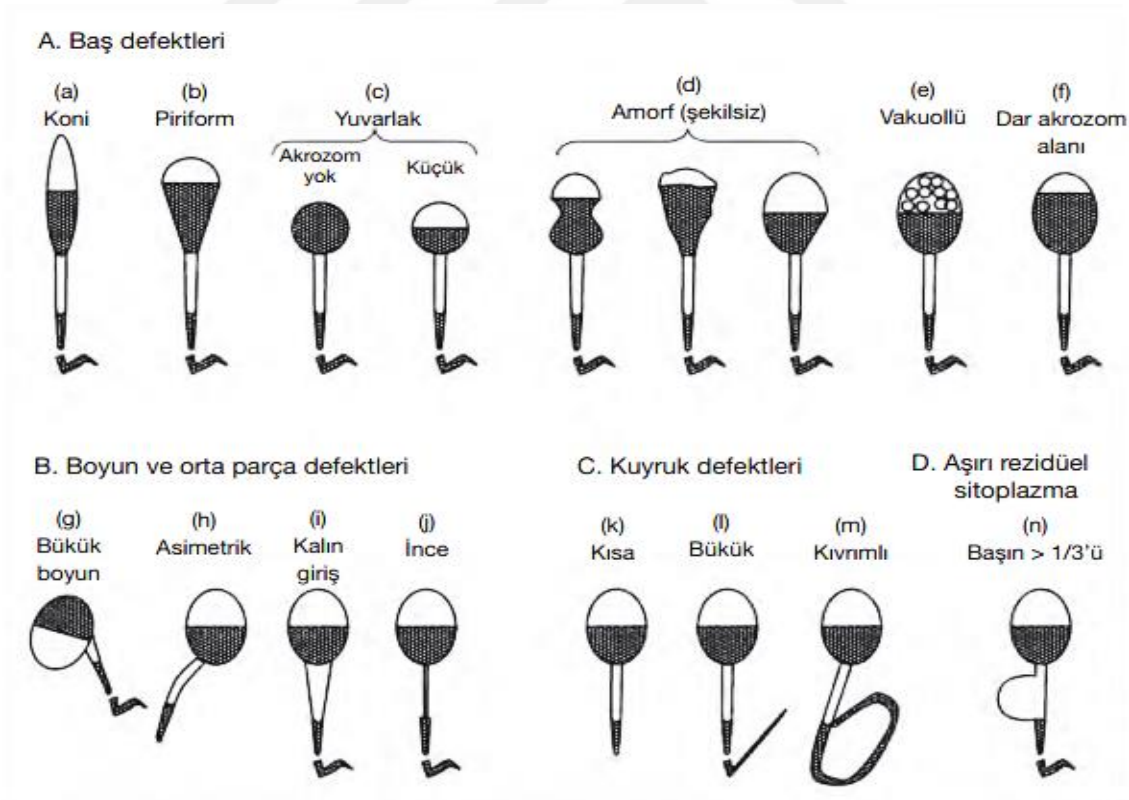
#### **2.11.2.4. Aşırı Rezidüel Sitoplazma (ARS - Excess Residuel Cytoplasm/ERC)**

Spermatogenetik süreçteki defektler anormal spermilerin oluşumuna neden olur. Bol miktarda düzensiz boyanmış, sperm başının üçte biri veya daha geniş sitoplazmalı hücreler, sıklıkla orta parça kusurlarıyla ilişkilidir ve bu spermier anormal olarak

tanımlamır (Mortimer ve Menkveld, 2001). Anormal derecedeki bu aşırı sitoplazma “sitoplazma damlacığı” olarak tanımlanmamalıdır (Cooper, 2005).

Kruger (1986) ve Menkveld (1990-1997), sperm morfolojisine yönelik kesin Tygerberg kriterlerinin tanımlarını yapmışlar. Bu sınıflandırmada, spermatozoon hücreleri bir bütün olarak incelenir; düzensiz, sınır hatlı morfolojileri ve hafif anormal olan sperm başlarının hepsi anormal olarak değerlendirmektedir. Tygerberg kriterlerine göre, morfolojik değerlendirmenin sonuçları üç kategoride ele alınabilir (Aydos, Elhan ve Tükün, 2005).

1. Normal morfolojiye sahip grup (normal form > %14)
2. İyi prognozlu grup (normal form % 4-14 arası)
3. Kötü prognozlu grup (normal form < %4'den az)



**Şekil 39:** Anormal sperm şekilleri (WHO 2010)

### 2.11.2.5. Kruger Yöntemi Ile Morfoloji Tayinindeki Anomaliler

#### 2.11.2.5.1. Şekil Anomalileri

- Tapered (konik baş, uzun sivri)
- Elonge (uzamış baş)
- Pinhead (iğne baş)
- Piriform (armutsu baş)
- Round Head (Yuvarlak baş, Globozoospermia)
- Makrosefali (Megalo head)
- Mikrocefali
- Double head (çift baş)
- Başsız
- Amorf (şekilsiz baş)
- Diadem defekti (çöküntülü baş)
- Nükleus içine doğru invaginasyon (genellikle ekvatoryal bölgede)
- Nükleus vaküolleri
- Nükleus Büyüklüğü Anomalileri
- Sitoplazmik Droplet (sitoplazma kalıntısı, İmmatürite işaretidir)
- İnkomplet spermatid seperasyonu
- Genellikle çift nükleuslu, diploid, triploid
- Duplikasyon (çift baş)

#### 2.11.2.5.2. Akrozom Bölümünde Olabilecek Anomaliler

- Primer (Gelişme ve diferensiyasyon aşamasında ortaya çıkan)
- İrregüler akrozomal dağılım

- Akrozomal kist (primer akrozom anomalisi)
- Nipple (akrozomal kistin en uçta bulunması), Santral (merkezde olması)
- Aberan akrozomal yapı (primer akrozom anomalisidir, heterojen yapı ve boyanma gösterir)

- Sekonder akrozom anomalileri (Eksternal faktörler, yaşlılıkla akrozom kaybı)
- Akrozomal içerik azalması (açık renk boyanma)
- Akrozomal içerik total kaybı (akrozomsuz)
- Akrozomal membran anomalileri (düzensiz hatlar)
- Akrozom ayrılması Komplet (baş dışına çıkması)
- İnkomplesit akrozom ayrılması

#### 2.11.2.5.3. Mid-Piece'de Olabilecek Anomaliler

- Sitoplazmik droplet
- Bend Mid-piece (kıvrık boyun, Mid-piece zayıflığı ya da yokluğu)
- Kinked Mid-piece (boğumlanmış orta parça)
- Amorf Mid-piece (Mid-piece hatlarının düz olmaması)
- Non-aksiyel Mid-piece (baş ve boyunun farklı düzlemde bağlanması)
- Mitokondrial aplazi (kısmi orta parça incelmesi, belli alanda mitokondri yokluğu)

- Komplet, Segmental (Mitokondrial aplazinin belli bir alanda olması)
- Pseudodroplet
- Kopuk baş

#### 2.11.2.5.4. Kuyruk Kısımında Olabilecek Anomaliler

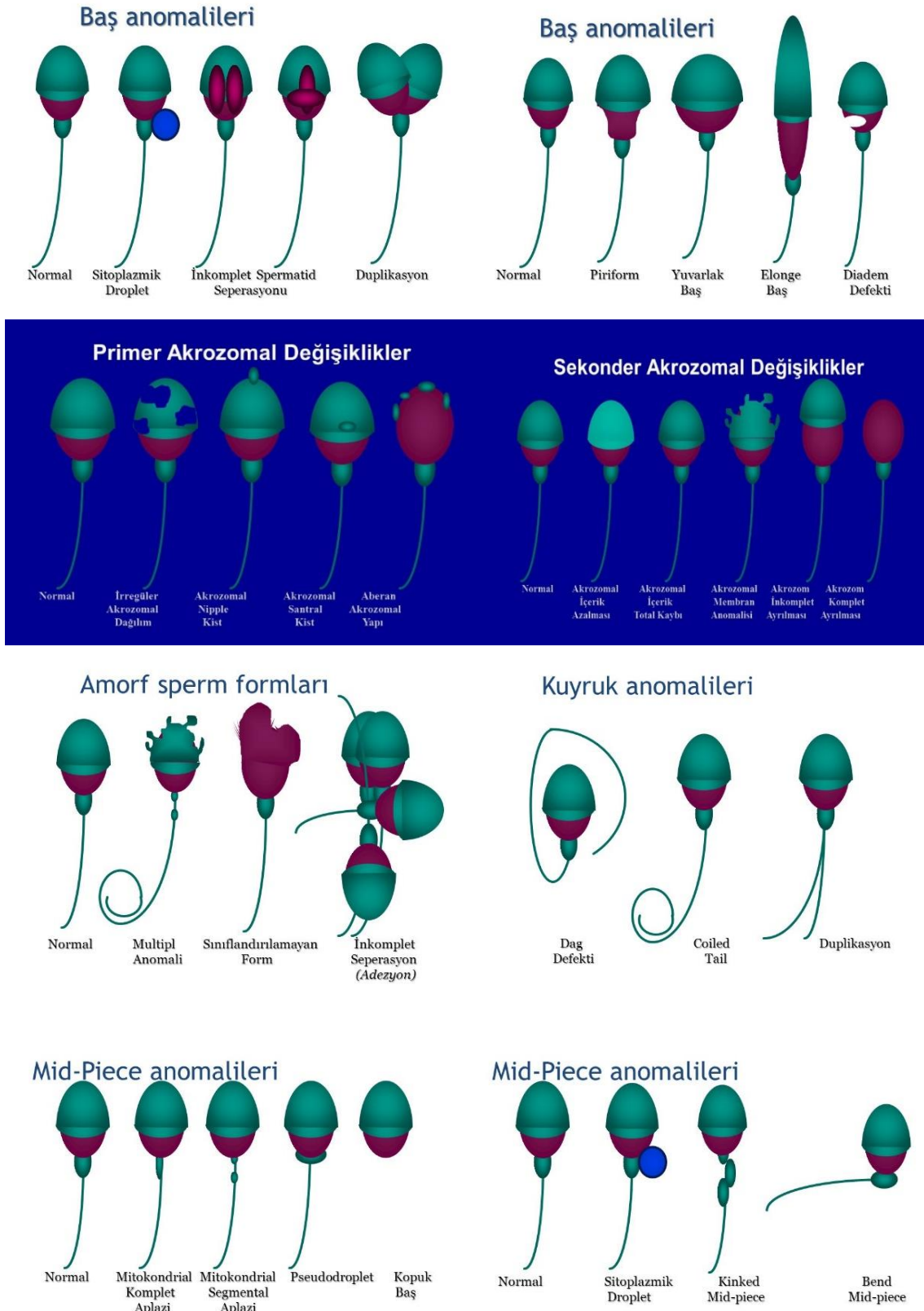
- Dag defekti (kuyruk düğümü, Kuyruk mikrofibrillerinin anomalisidir.)



- Coiled tail (sarmal kuyruk)
- Duplikasyon (çift kuyruk)
- Stump tail (Güçük/kısa, kalın kuyruk)
- Kuyuksuz
- Uzun kuyruk

#### **2.11.2.5.5. Yukarıda Tanımlanan Anomaliler Dışında Olabilecek Diğer Anomaliler**

- Multipl anomaliler
- Sınıflandırılmayan formlar
- İnkomplet seperasyon (adezyon)
- Aglütinasyon (spermilerin birbirine yapışmaları)



**Şekil 40:** Sperm malformasyonlarının tipleri  
(Orhon E. Sperm Morfoloji Atlası. Türkiye infertilite vakfı yayınları 1995;17-29)

**Tablo 3:** Semen analizi terminolojisi

(WHO 2010)

|  |   |
|--|---|
| Aspermi                                  | Semen yok (retrograd ejakülasyon var veya yok)  |
| Astenozoospermi                          | İleri hareketli spermilerin (PR) yüzdesi alt referans limitin altında   |
| Astenoteratozoospermi                    | Hem ileri hareketli spermilerin (PR) hem de morfolojik olarak normal spermilerin yüzdesi alt referans limitlerinden düşük   |
| Azoospermi                               | Ejakülatta hiç sperm yok (uygulanan değerlendirme yönteminin kantitatif analiz limitine göre)   |
| Kriptozoospermi                          | Taze preparatlarda sperm olmamasına rağmen santrifüjlenmiş pellette gözlenir  |
| Hemospermi<br>(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 veya yüksek toplam sperm sayısı (veya raporlanan sonuca göre, konsantrasyonu), ileriye doğru hareketli (PR) ve morfolojik olarak normal spermatozoa yüzdeleri |
| Oligoastenozoospermi                     | Alt referans limitlerinden düşük toplam sperm sayısı (veya raporlanan sonuca göre, konsantrasyonu) ve ileri hareketli spermatozoa yüzdesi   |
| Oligoastenoteratozoospermi               | Alt referans limitlerinden düşük toplam sperm sayısı (veya raporlanan sonuca göre, konsantrasyonu), hem ileri hareketli (PR) hem de morfolojik olarak normal spermilerin yüzdeleri          |
| Oligoteratozoospermi                     | Alt referans limitlerinden düşük toplam sperm sayısı (veya raporlanan sonuca göre, konsantrasyonu) ve morfolojik olarak normal spermilerin yüzdesi  |
| Oligozoospermi                           | Alt referans limitinden düşük toplam sperm sayısı (veya raporlanan sonuca göre, konsantrasyonu)   |
| Teratozoospermi                          | Alt referans limitinden düşük yüzdede morfolojik olarak normal sperm  |

## 2.12. Semen Analizi

Semen, spermatozoanın konsantrasyonundan oluşur, iki epididimde depo edilir, aksesuar cinsel organlardan gelen sıvı salgılarıyla karışarak seyreltilir. Vazektomi sırasında semen birkaç bolus şeklinde dışarı atılır. Semen hacminin yaklaşık % 90'ı aksesuar bezlerden (Weiske, 1994) oluşmaktadır. Esas olarak prostat ve seminal keseden, önemsiz miktarlarda da bulboüretal bezler (Cowper bezi) ve epididimden gelen salgılardan oluşmaktadır.

### **Semen başlıca iki ölçülebilir özelliğe sahiptir:**

- Toplam spermatozoa sayısı: Testislerde sperm üretiminin olduğunu ve post-testiküler duktal sisteminin açık olduğunu göstermektedir.
- Aksesuar bezler tarafından sağlanan toplam sıvı hacmi: Bezlerin salgılama aktivitesini yansıtır.

Seminal sıvının bileşimi, spermatozoanın özellikleri (vitalite, motilite ve morfoloji) ve sperm fonksiyonları için önemlidir.

Cinsel ilişki sırasında ejakülata ilk kısmını oluşturan spermden zengin olan prostat fraksiyonu, vajinaya doğru yayılmış olan servikal mukusla temas kurarken (Sobrero ve MacLeod, 1962), sıvının geri kalan kısmı bir havuz halinde vajinada kalır. Bu durum laboratuvar ortamında verilen ejakülatta bazı farklılıklara neden olur. Laboratuvar ortamındaki ejakülata tamamı bir kaptaki toplandığı için, spermatozoa seminal kese kaynaklı proteinlerin neden olduğu bir koagulum içinde hapsedilir. Daha sonra prostatik proteazlar tarafından bu koagulum sıvılaşır (likefaksiyon). Likefaksiyon sırasında bu sıvının osmolalitesi yükselir (Björndahl ve Kvist, 2003; Cooper, Barfield ve Yeung, 2005).

Ejakülatın oluşum tarzına göre semen numunesinin kalitesi değişiklik gösterdiğine ait bazı kanıtlar mevcuttur. Öyleki hastane ortamındaki bir odada mastürbasyonla alınıp kaplar içine toplanan ejakülat, evde cinsel ilişki sırasında spermisit içermeyen kondoma alınan ejakülata göre daha düşük kalitede olabilir (Zavos ve Goodpasture, 1989). Mastürbasyonla numune verene kadar geçen ve ejakülasyondan önceki seminal emisyonu da kapsayan süre, semenin kalitesini de etkilediği için, bu farklılık, değişik bir cinsel uyarılma biçimini yansıtabilir (Pound ve ark., 2002).

Standartlara göre alınan numunelerde; semen kalitesi, testislerde sperm üretimi, aksesuar organ salgılarına, enfeksiyonlara, cinsel perhiz süresi gibi faktörlere bağlıdır. Bu faktörler spermiyogramda kayıt altına alınmalı ve sonuçları yorumlarken göz önüne bulundurulmalıdır.

#### **Laboratuvarda semen kalitesinin ölçüm sonuçlarını etkileyen faktörler:**

- Numunenin tümüyle toplanması: Ejakülasyonda atılan ilk semen fraksiyonları spermden zengin prostat sıvısı iken, daha sonraki fraksiyonlar çoğunlukla seminal sıvıyı içerir (Björndahl ve Kvist, 2003). Ejakülatın ilk (spermden zengin) kısmının kaybı son kısmının kaybına göre semen analizi sonuçlarını daha çok etkiler.

- Konsantre epididim spermatozoasını ejakülasyon sırasında seyrelten salgı salgılayan aksesuar bezlerin aktivitesi (Eliasson, 2003): Sperm konsantrasyonu, testiküler sperm üretiminin doğrudan ölçütü değildir. Çünkü yardımcı bezlerin fonksiyonlarından etkilenmektedir. Buna örnek olarak bazı toplumlarda yaşla birlikte seminal sıvı ve toplam sperm üretimi birlikte azaldığından, genç ve yaşlı erkek semenlerindeki sperm konsantrasyonlarının benzer olması, toplam sperm sayılarının aynı olmaması gibi (hacim farkından dolayı) (Ng ve ark., 2004).

- Son cinsel aktiviteden itibaren geçen zaman: Spermatozoa üretildikten sonra epididimlerde toplanır, fazlası uretra içine taşar ve idrarla atılır (Cooper ve ark., 1993; De Jonge ve ark., 2004). Epididimlerin fonksiyonu bozulmadığı sürece, spermelerin vitalitesi ve kromatini cinsel perhizin uzamasından olumsuz etkilenmemektedir (Tyler ve ark., 1982; De Jonge ve ark., 2004; Correa-Perez ve ark., 2004).

- Sondan bir önceki cinsel perhiz süresi: Epididimler bir ejakülasyonda tamamen boşalmazlar ve önceki ejakülasyondan az miktarda da olsa spermatozoa kalır (Cooper ve ark., 1993). Ejakülat içindeki spermatozoanın yaş dağılımını ve kalitesi bu durumdan etkilenir (Tyler ve ark., 1982). Etki miktarını tespit etmek zor olduğu için genellikle hesaba katılmaz.

- Testis büyüklüğü ejakülat başına düşen spermatozoa sayısını etkiler (Handelsman ve ark., 1984; WHO, 1987; Behre ve Nieschlag, 2000; Andersen ve ark., 2000). Testislerin büyüklüğü, spermatozoa sayısını ve sperm morfolojisine de etki eden spermatogenetik aktivitenin seviyesini yansıtır (Holstein ve ark., 2003).

Semen kalitesindeki bu büyük biyolojik değişkenlikler (Castilla ve ark., 2006), yukarıda anlatılan birçok faktörü yansıtır ve bundan dolayı semen ölçümlerinin kesin olmasını gerektirir. Kontrol edilemeyen bu faktörler, semen bileşimindeki kişiye özgü değişkenliği de açıklar (Baker ve Kovacs, 1985; Alvarez ve ark., 2003).

Bir erkeğin semen kalitesinin değerlendirilmesi tek bir semen numunesinin incelenmesi ile tanımlamak yanlış olur. Doğru verilere erişebilmek için erkeğin iki veya üç numunesini incelemek daha faydalı olacaktır (Poland ve ark., 1985; Berman ve ark., 1996; Carlsen ve ark., 2004; Castilla ve ark., 2006; Keel, 2006).

Ejakülatla yapılan Semen analizleri spermin dölleme yeteneğini tanımlamaz, bireyin klinik durumu ile ilgili temel bilgileri bize verir.

**Tablo 4:** Semen analizi referans değerleri

(EAU Kılavuzu, 2015)

| Parametreler                            | Alt Referans aralığı |
|---|----------------------|
| Semen volümü (ml)                       | 1.5 (1,4 – 1,7)      |
| Total sperm sayısı ( $10^6$ )           | 39 (33 - 46)         |
| Sperm konsantrasyonu ( $10^6$ / ml)     | 15 (12 - 16)         |
| Total motilite (PR+NP, %)               | 40 (38 - 42)         |
| Progressive motilite (PR, %)            | 32 (31 - 34)         |
| Vitalite (canlı sperm, %)               | 58 (55 - 63)         |
| Sperm morfolojisi (normal %)            | 4 (3,0 – 4,0)        |
| pH                                      | > 7.2                |
| Peroksidaz (+) lökosit ( $10^6$ per ml) | < 1.0                |
| MAR testi (%)                           | < 50                 |
| Immunobead testi (%)                    | < 50                 |
| Seminal çinko ( $\mu$ mol/ejakülat)     | > 2.4                |
| Seminal fruktoz ( $\mu$ mol/ejakülat)   | > 13                 |
| Seminal nötral glukozidaz (mU/ejakülat) | > 20                 |
| Likefikasyon süresi (dk)                | < 60                 |

**Numune Alındıktan Sonra Yapılacaklar:**

- **Numune alındıktan sonra 5 dk içinde:** Numune kabı laboratuvara hızlıca ulaşmalı ve likefaksiyon için bir inkübatöre (37°C) veya çalışma alanına (oda ısısında) bırakılması gerekir.
- **0- 60 dakika arasında:** Likefaksiyonun değerlendirilmesi, likefaksiyondan sonra da görünümünün değerlendirilmesi, semen hacminin ölçümü, semen pH'sının

ölçümü, mikroskopik görünüm için (sperm motilitesi ve sayısını belirlemek için) ıslak preparat hazırlanmalıdır. Sperm morfolojisini değerlendirmek için semenden yayma preparatı hazırlanması bu süre içinde yapılmalıdır. Bu süre likefiye olmayan semen numunesinde artmaktadır, bu işlemler likefaksiyondan sonra yapılmalıdır.

- **4 saat içinde:** Yayma preparatlarının fiksasyonu, boyanması ve sperm morfolojisi açısından değerlendirilmesi.

### 2.12.1. Numune Toplama

- Numune 2-7 gün arasındaki cinsel perhizden sonra alınmalıdır. Cinsel perhiz süresi her defasında sabit tutulmaya çalışılmalı.

- Kişiyne semen numunesinin nasıl alınacağı, anlaşılır şekilde yazılı ve sözlü olarak anlatılmalı. Semen numunesinin tamamının toplanması ve numunenin herhangi bir kısmının ziyan olması halinde ilgili kişiyne bildirmesi söylenmelidir.

- Numune mastürbasyonla uygun olan numune kabı içine alınmalıdır.

- Numunenin alındığı saat, numunenin eksiksiz olup-olmadığı not edilmelidir.

- Semen likefiye olana kadar numune kabı laboratuvar sehpasında (20°C - 37°C) veya bir inkübatörde (37°C) bekletilmeli.

- Semen numuneleri biyolojik tehditler içerebileceğinden dolayı (HIV, hepatit virüsleri, herpes simpleks virüsü vb.) çalışmalar da riskli olarak ele alınmalıdır.



Şekil 41: Spermiyogram kabı



### 2.12.2. İlk Makroskopik Değerlendirme

Semen analizi, likefaksiyondan sonra gözle incelemeye başlanmalıdır. Dehidratasyon ve ısı değişikliği semen kalitesini olumsuz etkileyeceğinden, analiz ejakülasyondan sonra 30 dk – 60 dk içinde yapılmalıdır.

#### 2.12.2.1. Likefaksiyon

Semen ejakülasyonunun hemen ardından, yarı katı koagüle kitle şeklini alır. Koagüle semen prostattan salgılanan proteolitik enzimler (fibrinojenaz ve aminopeptidazlar) tarafından tekrar akışkan özellik kazanır, buna likefaksiyon denir. Oda sıcaklığında birkaç dakikada likefiye olmaya (incelmeye) başlar. Numunenin tamamı normalde oda sıcaklığında 15 - 60 dakika içinde likefiye olur. 60 dk içinde tam bir likefaksiyon oluşmazsa, bu durum anormal likefaksiyon olarak kaydedilir. Likefaksiyon süreside not olarak kaydedilebilir.

Normal şekilde likefiye olan semen numunelerinin içinde klinik önemi olmayan, peltemsi, sıvılaşmamış, jel benzeri granüller (jelatinöz cisimler) bulunabilir. Mukus iplikçiklerinin bulunması semen analizini etkileyebilir.

Likefaksiyon, hem makroskopik hem de mikroskopik olarak tespit edilebilir. Likefiye olmayan semende spermatozoa hareketliliği azalmıştır. Semen likefiye olmaya devam ettikçe hareketsiz spermatozoa hareket kapasitesi artmaktadır. Mikroskopta hareketsiz spermatozoa görülürse, likefaksiyonun tamamlanması için beklemek gerekir. Likefaksiyon sırasında numune oda ısısında veya 37°C’ de iki boyutlu karıştırıcıda karıştırılarak, numunenin homojen bir yapı alması sağlanabilir. 30 dk içinde semen likefiye olmazsa, likefiye olması için 30 dk daha beklenir.



**Şekil 42:** Likifiye olmaya başlayan semen

#### **2.12.2.1.1. Likefaksiyonda Gecikme**

Bazı numunelerin likefaksiyon süreleri artmış olabilir veya likefaksiyon gerçekleşmeyebilir, bu durumda semenin değerlendirilmesinde güçlükler yaşanır. Bu durumlarda mekanik karıştırma veya enzimatik parçalama yapılması gerekebilir. Bu işlemler semen biyokimyasını, spermelerin motilitesini, hareketliliğini ve sperm morfolojisini olumsuz yönde etkileyebileceğinden, kullanımı bildirilmelidir.

#### **2.12.2.2. Semen Viskozitesi**

Plastik pipet yardımı ile alınan semen, damlamaya bırakılan semende oluşan iplikçiğin boyunu gözlemleyerek, numunenin viskozitesi ölçülür. Viskoz olmayan numuneler pipetten belirgin küçük damlalar halinde düşer. Bazı durumlarda iplikçik oluşur, oluşan bu iplikçiğin boyu 2 cm'ye kadar normal olarak kabul edilir. 2 cm'den uzun olduğu durumlarda viskozite artmış demektir.

Viskoz semen numunesi, likifiye olmamış semen numunenin aksine, homojen yapışkanlık gösterir ve kıvamı beklemeyele değişmez. Yüksek viskozite, semenin elastik özellikleri ile de tanınabilir. Pipet ile alınmaya çalışıldığında kitlesi kendine sıkıca yapışmış bir haldedir. Viskoziteyi azaltmak içinde gecikmiş likefaksiyondaki işlemler yapılır.



**Şekil 43:** Semen viskozitesi ölçümü

### **2.12.2.3. Ejakülatın Görünümü**

Semen numunesi likefiye olduktan sonra ilk olarak görünümünü değerlendirilir. Normal semen numunesinin görünümü homojen, gri-opelesan renkte olur. Sperm konsantrasyonu azaldıkça opaklık azalmaya başlar. Semen rengi de farklılıklar gösterebilir; semen içinde eritrositler bulunuyorsa (hemospermi) rengi kırmızı-kahverengi, hastada sarılık varsa ya da vitamin-ilaç kullanıyorsa sarı olabilir.

### **2.12.2.4. Semen Hacmi**

Ejakülat hacmini belirleyen etmenler; büyük oranda seminal kese ve prostat salgıları, az miktarda bulboüretal bez ve epididim kaynaklıdır. Semen hacmin doğru ölçümü, semenin tüm değerlendirmeleri için çok önemlidir. Ejakülat içindeki bulunan spermatozoa ve sperm dışı hücrelerin toplam değerlerinin hesaplanmasına direk etki eder.

En iyi hacim ölçümü, semenin içinde bulunduğu kap ile beraber tartılmasıdır. Semen dansitesi yaklaşık 1 g/ml olarak hesaplanır ve numunenin ağırlığından hacmi hesaplanır (Auger ve ark., 1995). (Semen dansitesi 1,043 - 1,102 g/ml arasındadır) (Huggins ve ark., 1942; Brazil ve ark., 2004a; Cooper ve ark., 2007).

#### **2.12.2.4.1. Hacmin Doğrudan Ölçülmesi**

Semen hacmi bulunduğu kabın üzerindeki derecelendirmelerden de ölçülebilir. Numunenin pipet veya şırıngayla ile aspire edilerek ölçülmesi de yapılabilir fakat

numunenin tamamı alınamayacağı için hatalı hacim ölçümü yapılacağından çok fazla önerilmemektedir. Semen hacminin alt sınırı: 1,5 ml'dir

#### **2.12.2.4.2. Anormal Hacimli Numuneler**

##### **2.12.2.4.2.1. Düşük Semen Hacmi**

Ejakülatör kanal tıkanıklığı veya seminal keselerin de yeterince gelişmediği doğumsal bilateral vaz deferens yokluğunun (CBAVD) bir göstergesidir (De la Taille ve ark., 1998; Weiske ve ark., 2000; Daudin ve ark., 2000; Von Eckardstein ve ark., 2000). Semen hacminin düşüklüğü, numune alınırken oluşan hatalardan (ejakülatın tamamının alınamaması) parsiyel retrograd ejakülasyondan (ejakülatın mesane içine kaçması) veya androjen yetersizliğinden de kaynaklanabilir.

##### **2.12.2.4.2.2. Yüksek Semen Hacmi**

Aksesuar bezlerde aktif inflamasyon sonucunda fazla miktarda salgı oluşmasından kaynaklı olabilir.

#### **2.12.2.5. Semen pH' sı**

Semen pH' sı; başlıca alkali seminal kese salgısıyla, asidik prostat salgısı ve diğer aksesuar bez salgılarının pH değerleri arasındaki dengeyi yansıtır. pH, likefaksiyondan sonra 30 dakika içinde ölçülmelidir. Oluşan CO<sup>2</sup> miktarından etkilendiği için, pH ölçümü ejakülasyondan sonra en geç bir saat içinde yapılmış olmalıdır. 6–10 arasındaki pH kâğıdı kullanılmalıdır. Normal değeri 7,2 üzeri olmalıdır.

### 2.12.2.5.1. Semen pH' sı Ölçülürken

- Semen iyice karıştırıp homojen hale getirilmeli.
- pH kâğıdı üzerine bir damla semen düzgünce yayılmalı.
- pH kâğıdının homojen olarak renklenmesini beklenir (< 30 sn.), ölçme şeridiyle karşılaştırarak pH ölçülür.

### 2.12.2.5.2. pH Düşüklüğü

Düşük hacimli ve düşük sperm sayılı semen numunesinin pH'sı 7,0'den düşükse; ejakülatör kanal tıkanıklığı veya doğumsal bilateral vaz deferens yokluğu düşünülebilir (De La Taille ve ark., 1998; Weiske ve ark., 2000; Daudin ve ark., 2000; Von Eckardstein ve ark., 2000).

### 2.12.2.5.3. pH Yüksekliği

Semen pH' sı doğal tamponlanmanın zamanla azalması sonucunda yükselir; bundan dolayı yüksek pH değerleri klinik olarak çok değerli değildir.

### 2.12.3. İlk Mikroskopik Değerlendirme

Taze semenden boyama yapılmadan alınan preparatının incelenmesi faz kontrast mikroskobu ile yapılması önerilir. Preparat ilk önce toplam x100 büyütme altında taranmalı (10'luk objektif ve 10 X büyütme oküler).

Bu incelemede; mukus iplikçığı, sperm agregasyonu veya aglütinasyonu, spermatozoa dışı hücreler (epitel hücreleri, yuvarlak hücreler) ve izole sperm başı ve kuyruklarının varlığı incelenir. Daha sonra toplam 200 (20x10) veya 400x (40x10) büyütme ile incelenmeli.

### 2.12.3.1. Semen İyice Karıştırılması ve Temsili Örneklemesi

Semen numunesi homojen hale getirilmeden, alınan örneklerde sperm motilitesi, vitalitesi, konsantrasyonu ve morfolojisinde önemli farklılıklar çıkmaktadır.

Semenden örnek almadan önce, hava kabarcıkları oluşmayacak şekilde iyice karıştırılmalı ve homojen hale getirilmeli. Bu işlemi geniş çaplı tek kullanımlık plastik pipetle 10 kez aspire edip boşaltarak yapılabilir.

### 2.12.3.2. Islak Preparat Hazırlama

- Semen numunesini iyice karıştırılır, spermatozoanın dibe çökmesine imkân vermeden, karıştırma sonrası semenden örneklem yapılır.

- Lam üzerine 10 µl semen konulur.
- Lamel ile kapatılır (20 µm derinlik).
- semenin yayılması biter bitmez preparat değerlendirilir

Farklı alanlarda spermatozoa sayısı bariz şekilde farklı ise, numune homojen değildir. Homojenite yokluğu; viskozite, likefaksiyon, agregasyon veya aglütinasyonun anormal olduğu durumlarda olabilir.

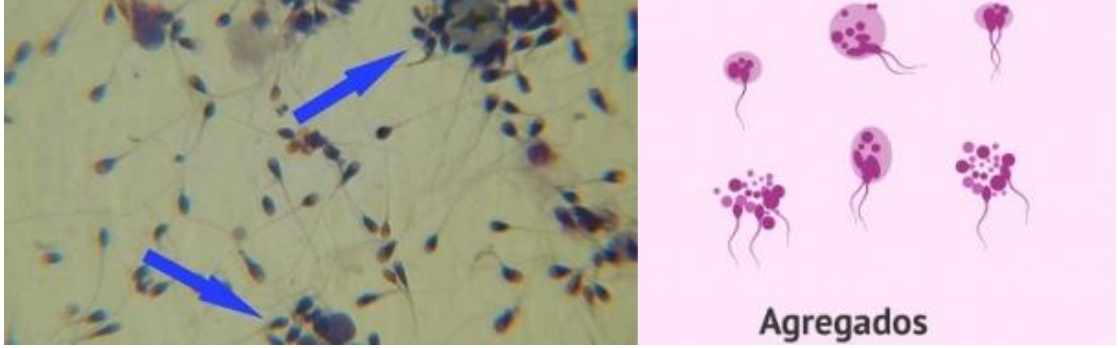


Şekil 44: Semen ıslak preparat hazırlanması  
(WHO 2010)

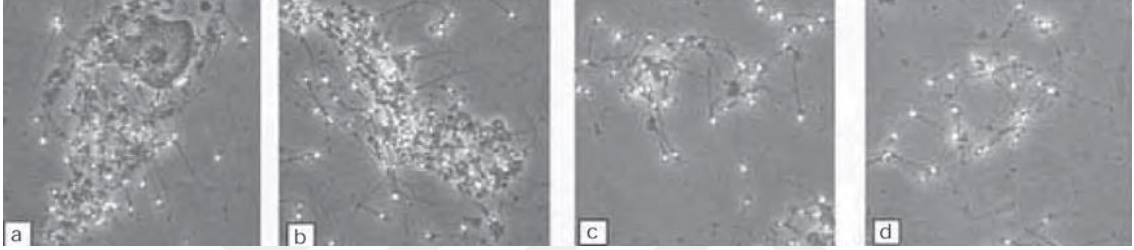
### 2.12.3.3. Spermatozoanın Agregasyonu (Kümeleşmesi)

Hareketsiz spermatozoanın birbirleriyle veya hareketli spermatozoanın mukus ipliğine, sperm dışı hücrelere veya debrisye yapışması nonspesifik agregasyon olarak

tanımlanır. Bu durum idrar yolu enfeksiyonu, beslenme sorunları, stres, alkol ve ilaç kaynaklı olabilir.



(tr2.htgetrid.com)



**Şekil 45:** Spermatozoanın nonspesifik kümeleşmesi (agregasyon)  
(a) epitel hücresi, (b) debris (c, d) spermatozoa ile kümeleşme (WHO 2010)

#### 2.12.3.4. Spermatozoanın Aglütinasyonu

Aglütinasyon hareketli spermatozoanın birbirlerine spesifik olarak yapışmasıdır. (Rose ve ark., 1976). Aglütinasyonun görülmesi anti sperm antikörlerinin varlığını düşündürür ve ileri tetkiklere ihtiyaç duyulur.



**Şekil 46:** Semende spermatozoa aglütinasyonu

**Tablo 5:** Farklı sperm aglütinasyonları  
(WHO 2010)

| İlgili Kısımlar  | Aglütinasyonun Derecesi   |  |  |   |
|--|---|--|--|---|
|  | 1. İzole<br>(< 10 sperm/<br>aglütinat, birçok<br>serbest sperm) | 2. Orta<br>(10– 50 sperm<br>/ aglütinat,<br>serbest sperm) | 3. Geniş<br>(> 50 sperm /<br>aglütinat, bazı<br>sperm hâlâ<br>serbest) | 4. Yoğun<br>(sperm hepsini<br>aglütine olmuş ve<br>aglütinatlar<br>birbirleriyle<br>bağlantılı) |
| <b>A. Baş - başa</b>   |   |  |  |   |
| <b>B. Kuyruk – kuyruğa</b><br>(başlar serbest,<br>aglütinatlardan<br>uzak) |   |  |  |   |
| <b>C. Kuyruk ucu - kuyruk ucuna</b>  |   |  |  |   |
| <b>D. Karışık</b><br>(Aglütinasyonlar<br>açıkça seçilmiyor)                |   |  |  |   |
| <b>E. Yumaklaşmış</b><br>Yumaklaşmış (baş-<br>kuyruklar karışmış)          |   |  |  |   |



### 2.12.3.5. Spermatozoa Dışında Hücresel Elemanlar

Ejakülat, klinik açıdan önemli olabilen spermatozoa harici hücreleri içerir. Bunlar;

- Genitoüriner sistem kaynaklı epitel hücreleri,
- Lökositler ve immatür germ hücreleri (yuvarlak hücreler) olabilir (Johanisson ve ark., 2000).

Bunlar, boyanmış yayma preparatının 1000x (40x10) büyütmede incelenmesi ile tanınabilir. Peroksidaz aktivitesini veya CD45 antijeninin tespiti ile hücre tipi kesin olarak tanımlanıp sayılabilir.



**Şekil 47:** Semende lökositler ve immatür germ hücrelerinin ayırt edilmesi  
Peroxidaz pozitif granülosit (P) (kahverengi) ve peroksidaz negatif yuvarlak hücre (N). Ölçek: 10 µm (WHO 2010 - TG Cooper)

### 2.12.4. Sperm Motilitesi

Spermin hareketlilik derecesi gebelik oranlarıyla ilişkilidir (Jouannet ve ark., 1988; Zinaman ve ark., 2000; Larsen ve ark., 2000). Sperm motilitesi, likefaksiyondan sonra dehidratasyon, pH ve ısı değişikliklerinin motilite üzerine zararlı etkilerini sınırlandırmak için 30 – 60 dk içinde değerlendirilmelidir.

### 2.12.4.1. Sperm Hareketlerinin Sınıflandırılması

#### 2.12.4.1.1. İleri Hareket (Progresif Motilite; PR)

Hızdan bağımsız doğrusal veya geniş bir daire içinde aktif olarak hareket eden spermatozoa.

#### 2.12.4.1.2. Yerinde Hareket (Nonprogresif Motilite; NP)

İleriye doğru hareket hariç diğer hareketlilik kalıpları (küçük daireler hareketler, başı yerinden güçlükle oynatan kamçısal hareket veya yalnızca kuyruğun kamçısal hareketi) kapsar.

#### 2.12.4.1.3. Hareketsizlik (İmmotilite; IM)

Spermatozoanın hareketsiz olması.

### 2.12.4.2. Motilite için numunenin hazırlanması ve değerlendirilmesi

- 20 µm derinliğinde bir ıslak preparat hazırlanır
- Numune hareketliliğinin durmasını bekleyin.
- Preparat 200 – 400x büyütmede incelenir
- Kuruma artefaktlarının hareketliliği etkilememesini için, lamelin kenarından en

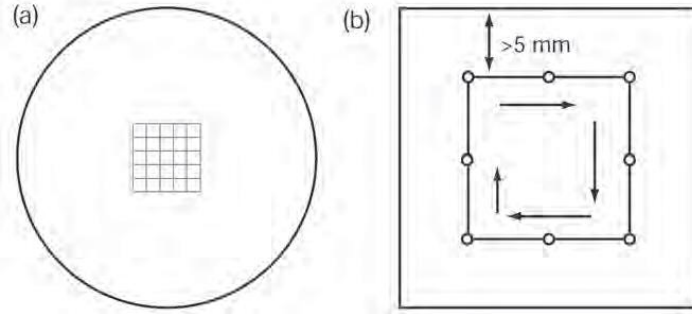
az 5 mm iç taraftaki alana doğru spermatozoa aranır

- Tekrarlanan sayımdan kaçınmak için sistematik olarak lam taranır
- Motilite sayısını abartmamak için lam hemen ve hızlıca taranıp sayım yapılır
- Sırasıyla önce PR spermatozoa, daha sonra aynı sahada NP spermatozoa ve son

olarak IM spermatozoa sayılır.

- Spermilerin hareketlilik kategorisindeki sayısını hesaplanır

- Sayım hatasını minimumda tutmak için, en az 5 alanda, en az 200 spermatozoa değerlendirilir
- Sperm konsantrasyonu hesaplamak için yalnızca sağlam spermatozoa (bir başı ve bir kuyruğu olan) sayılır, hareketli başlar sayılmaz.



**Şekil 48:** Sperm motilitesini değerlendirmede kullanılan yardımcı araçlar

(a) Taksimathı bir oküler, hareketli ve hareketsiz spermatozoa sayımını kolaylaştırır. (b) Sperm hareketliliğini değerlendirmek için lamelin kenarlarından en az 5 mm içeriden sistematik alan seçimi.

### 2.12.5. Sperm Sayısı

Toplam sperm sayısı ve sperm konsantrasyonu, gebeliğe kadar geçen süre ve gebelik oranlarıyla ilişkili olup, gebe kalmanın belirleyici faktörlerindedir (Slama ve ark., 2002; Bonde ve ark., 1998; Larsen ve ark., 2000).

Toplam spermatozoa sayısı, spermatozoa konsantrasyonundan hesaplanır. Normal ejakülatlarda tıkanıklık yoksa ve cinsel perhiz süresi referans aralığı içinde ise, ejakülat içindeki toplam spermatozoa sayısı testis hacmiyle korelasyon gösterir (Handelsman ve ark., 1984; WHO, 1987; Behre ve Nieschlag, 2000; Andersen ve ark., 2000). Bu durum testislerin spermatozoa üretme kabiliyetini ve erkek reproduktif trakt açıklığının da bir göstergesidir (MacLeod ve Wang, 1979).

Spermatozoa konsantrasyonu fertilizasyon (dölleme) ve gebelik oranları ile ilişkili olmasına rağmen, seminal veziküller ve prostattan salınan sıvıların hacminden etkilenir ve testis fonksiyonununun spesifik bir ölçüsü değildir (Eliasson, 1975).

### 2.12.5.1. Sperm Sayısının Ölçümü

- Homojen ve likefiye olan semen bir fiksatifle dilüe ve tespit edilir.
- Hemositometre kamarasına numune konur ve spermın nemli kamarada çökmesi beklenir.
- 10-15 dk içinde numuneler değerlendirilir (buharlaşmanın spermler üzerine etki göstermemesi için).
- Her numuneden iki eş örnek alınır ve en az 200 spermatozoa (toplam 400 sperm) sayılır.
- İki örnek arasındaki sayılar karşılaştırılır, fark kabul edilebilir ölçüde ise hesaplamalara devam edilir, değil ise örnekler yeniden hazırlanır.
- Mililitredeki sperm konsantrasyonunu hesaplanır.
- Son olarakta ejakülattaki toplam spermsayısı hesaplanır; konsantrasyon ile hacimin çarpılması ile elde edilir.

### 2.13. Aquaporinler ve Yapısı

İlk su kanalı proteini (Aquaporin) Peter Agre ve arkadaşları (Preston, Carroll, Guggino ve Agre, 1992) tarafından keşfedildi. Rh kan grubunun tayiniyle ilgili bir 32-kDa proteinini saflaştırma çalışmasında, moleküler ağırlığı daha düşük olan bir polipeptidi tespit etti (28-kDa). Aquaporinler'in ilk keşfinden sonra suya ya da su ve gliserole seçici geçirgen olan 10 tane memeli aquaporini tanımlanmıştır (Chae, Kang, Kim ve ar., 2008).

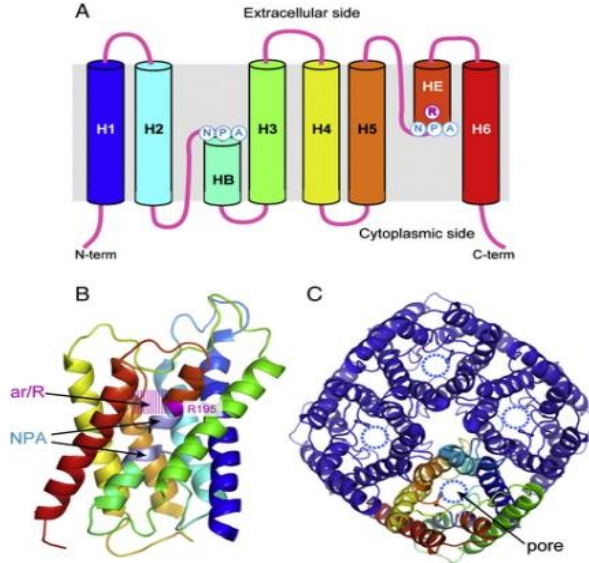
Bütün aquaporinler; ortodoks AQP'ler (0, 1, 2, 4, 5, 6, 8), akuagliseroprinler (GLP 3, 7, 9, 10) ve süper aquaporinler (11, 12) olarak ayrılmıştır (Agre, Landon, King, Yasui ve ark 2002 ; Huang, He, Sun, Zhang, Meng, ve Ma, 2006 ; Ishibashi, Hara ve

Kondo, 2009). Son yıllarda tanımlanan AQP11 ve AQP12 ise süperaquaporinler olarak adlandırılır (Chae ve ark., 2008). AQP'ler, homotetramerler olarak birleşen 13 küçük (25-34 kDa) hidrofobik integral membran proteinlerinin bir ailesidir (Yeung, Callies, Tüttelmann, Kliesch ve Cooper, 2010). Bunlar hücrenin tipine ve taşıdıkları gliserol (Borgnia ve Agre, 2001), üre (Litman, Sogaard, ve Zeuthen, 2009), hidrojen peroksit (Bienert ve ark., 2007), arsenit (Liu ve ark., 2002), amonyak gibi maddelere göre değişiklikler gösterirler.

Akauporinler suyun geçişi için özelleşmiş olan çok dar kanallar oluştururlar. AQP'ler, hücre zarları boyunca bu moleküllerin geçişlerini 10 - 100 kata kadar arttırmaktadır. (Agre ve Kozono, 2003).

Kanal içindeki pozitif yükün sabit olmasını ve protonların geçirgenliğinin önlenmesi Arjinin tarafından sağlanmaktadır. Pozitif yüklü protonlar ve diğer katyonlar elektriksel olarak geçilemez bir alan oluşturur (Agre ve Kozono, 2003).

Aquaporinlerin her bir monomeri, 8 adet transmembran segmentten oluşmaktadır. Bunların 6'sı heliks yapıda diğer ikiside kısa segmentli yapıdadır. Kısa segmentli olanlardan biri 2-3 helikal segmentlerin arasında bulunurken diğeri ise 5-6 helikal segmentlerin arasında bulunur. Kısa segmentler asparajin, prolin ya da alanin içerir. Bunlara kısaca NPA (Asparajin, **P**rolin, **A**lanin) sekansları denilmektedir. Porun ortasına doğru karşılıklı uzanan NPA içeren kısa heliksler yalnızca su geçişine izin veren spesifik bir filtre oluştururlar. Monomerler arasında bulunan boşluklar por olarak görev görür. Kanal altında bulunan ve su, su gibi küçük moleküllerin geçişine izin veren, özellikli bir boğaz bölgesi vardır. Boğazı oluşturan yan zincirler arjinin (Arj 197), histidin (His 182), fenil alanin (Phe 58), ve sisteinden (Cys 191) oluşmaktadır.



**Şekil 49:** AQP'lerin genel yapısı (model AQP1)

a) AQP1'in ikincil yapısı, b) NPA motifinin konumu AQP1 modeli, c) Her monomerin ayrı bir gözeneği olduğu AQP1 tetrameri (Tani ve Fujiyoshi 2014).

Aquaporin 1 monomerinden genellikle nonpolar rezidüer uzanır. Fakat bunlar suyun geçişi esnasında peptid omurgada yer alan karbonil grupları ile hidrojen bağı kurarlar. NPA halkasında bulunan iki Asn rezidüsü suyla hidrojen bağı oluşturur. (Asn76, 192). NPA sekanslarında yer alan Arj ve His oluşturdukları pozitif yük sayesinde su için itici bir kuvvet oluşturmaktadır (Nelson ve Cox, 2005).

Su geçişi difüzyonda çift taraflı olmasına karşın, AQP'lerde hidrolojik/ozmotik gradient kontrolünde bulunan tek taraflı bir geçiş söz konusudur (Preston ve ark 1992). Hücrelerde genellikle farklı tiplerde aquaporinler bulunur. Örnek olarak tükürük bezlerinde suyun interstisyumdan alındığı bazolateral zarda AQP3 bulunurken, tükürüğün salındığı apikal zarda AQP5 bulunur (Agre ve ark., 2003).

AQP'lerin on bir tanesinin erkek ve kadın üreme sisteminde eksprese edildiği bilinmektedir. AQP'ler su ve tuz dengesinde, epidermal hidrasyon ve ekzokrin sıvı sekresyonunda önemli fizyolojik rollerinin olduğu yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir. Örnek olarak hiperglisemide bazı dokularda AQP ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir (Pei ve ark., 2013).

Sperm hücrelerinin plazma zarlarında Aquaporinden 3, 7 ve 8 moleküllerinin varlığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Yeung ve ark., 2010).

Aquaporin 3 su ve gliserol geçişinin yapıldığı böbrek, deri, gözde ve hava kanallarında bulunur. İnsan eritrositlerinde, böceklerin sindirim yollarında ve beyinde de bulunmaktadır. Mikrobik canlılarda çeşitleri boldur. En geniş yelpaze bitkilerde bulunmaktadır (Bhattacharjee ve ark., 2004). Bu AQP molekülleri spermilerin canlılığı ve hareketleriyle direkt olarak alakalıdır (Moretti ve ark., 2012a).

Aquaporin 7, böbrek proksimal tubüllerinde tespit edilmiş ve burada yağ metabolizmasına etki ettiği tahmin edilmektedir (Agre ve ark., 2002). AQP7'nin de dâhil olduğu aquagliseroproteinler açlık durumunda gliserol taşıyıcısı olarak önemli bir görev gerçekleştirir. AQP7 adipoz dokuda trigliseritlerin parçalanması ile oluşan gliserol için bir çıkış yeri oluşturarak su ve gliserolün çıkışını sağlar. Arsenit de AQP7'den geçer ve bu özelliği sayesinde promyelositik lösemnin arsenit ile tedavisi önemli farmakolojik etki gösterir. (Bhattacharjee ve ark., 2004). Erkek infertilitesinin nedenlerinden birisi Aquaporin 7 eksikliği olabilir. Yapılan araştırmalarda Aquaporin-7 molekülünün fertil bireylerde bulunduğu ama infertil kişilerde ise bulunmadığı tespit edilmiştir (Saito ve ark., 2004). Aquaporin moleküllerinin insan semen parametreleri ve yaşlanma bağlantısı ile olan ilişkileri araştırılmamıştır.

Aquaporin 8 kalp, testis ve sindirim sisteminin çeşitli yerlerinde bulunmaktadır (Agre ve ark., 2002). Normal koşullar altında, hepatosit hücre zarı yüzeyindeki AQP8 ekspresyonu oldukça azdır ve AQP proteinlerin çoğunluğu hücre içinde veziküllerde bulunmaktadır. Dolayısıyla AQP8'in hepatositlerde toplam su geçirgenliğine sağladığı katkı minimal seviyededir. Fakat glukagon cAMP ile uyarılması ile hücre içi AQP8 molekülleri plazma zarına göç eder ve su geçirgenliği miktarı artmaktadır. AQP8'in

hormon aracılığı ile uyarılması hücre içi depolara yeniden dağıtılması, plazma zarının su geçirgenliğininin farklı hücre ve doku türlerinde kontrolü sağlamak için yaygın şekilde kullanılmaktadır (Barret ve ark., 2010).

Aquaporinlerin ömrü ubikuitin (Ub) tarafından kontrol edilmektedir. Ub bağlı yolların, hücre farklılaşması, DNA tamiri, transmembran ve veziküler taşınım, stres cevabı ve apoptozis gibi çeşitli biyolojik sistemlerde önemli rol aldığı gösterilmiştir. Yıkılacak proteinler ilk önce Ubikuitin ile işaretlenip daha sonra da proteozom ile yıkılır. Stres altındaki hücrelerde protein sentezi azalma eğilimi gösterirken, ubikuitin sentezi artmaya eğilimlidir (Jessica ve ark., 2008).

### **2.13.1. Aquaporinler ve Üreme Sistemindeki İşlevleri**

#### **2.13.1.1. AQP'lerin Kadın Üreme Sistemindeki İşlevi**

- Uterus emiş mekanizması
- Ovum taşınımı ve oviduktal sıvı dengesi
- Folikül olgunlaşması ve oosit dondurulması
- Blastosist oluşumu
- Embriyo implantasyonu
- Amniyotik sıvı yeniden emilimi

#### **2.13.1.2. AQP'lerin Erkek Üreme Kanalındaki İşlevleri**

- Spermatogenez
- Sıvı emilim ve epididim olgunlaşması
- Aksesuar bezlerinde sıvı salgılamada



Farklı aquaporinler (AQP'ler) insan sperm hücrelerinde ve farklı bir lokalizasyonla ifade edilir. İşlevleri, epididim sıvısından servikal mukusa geçen veya sperm olgunlaşması sırasında sitoplazmanın uzaklaştırılmasının son aşamasında yer alan ozmotik değişikliklere cevap olarak hücre hacmi kontrolü ile ilgilidir. Son zamanlarda, AQP'ler ayrıca hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) geçirgenlik özellikleri de gösterilmiştir (Bienert, Moller, Kristiansen, Schulz, Moller, Schjoerring ve Jahn, 2007). Mevcut bulgular, AQP'lerin hem hacim düzenlemesinde hem de ROS elemesinde yer aldığını göstermektedir (Laforenza ve ark., 2017). AQP'lerin hem erkek üreme sistemindeki hem de spermdeki lokalizasyonunun ve ekspresyonunun türler, mevsim ve yaş arasında farklılık gösterdiğini vurgulamak önemlidir (Yeste ve ark., 2017).

### **2.13.2. Oksidatif Stres**

Doğurganlığı tehlikeye atabilecek birçok faktör arasında, oksidatif stresin önemli bir rol oynadığına inanılmaktadır (Agarwal ve ark., 2014). Aslında, seminal plazmada infertil deneklerin % 30 ila % 40'ında yüksek reaktif oksijen türleri (ROS) bulunmuştur (Lanzafame FM ve ark., 2009). Tüm hücrelerde, ROS konsantrasyonlarına bağlı olarak farklı bir etkiye sahip olabilir: düşük konsantrasyonlarda fizyolojik bir etki, sinyal molekülleri (ikinci haberciler) ve yüksek konsantrasyonlarda sitotoksik etki gibi davranır. Yüksek ROS düzeyleri, spermatozoada azalmış canlılık, azalmış hareketlilik ve artmış orta parça defekti gibi negatif etkileri belirler (De Lamirande E ve ark., 1992). Aksine, düşük ROS seviyeleri, akrosomer hareketi, sperm hiperaktivasyonu ve kapasitansı, ferm dölleme potansiyeli ve flagella için enerji üreten orta kısımda işleyen mitokondri gibi normal fizyolojik fonksiyonlarda rol oynar (Lamirande ve Gagnon, 1993a; Griveau ve ark., 1994; Kodama, Kuribayashi ve Gagnon, 1996). Genel olarak, oksidatif stres, ROS

üretimi ve süpürme arasındaki dengesizlikten kaynaklanmaktadır. Memeli spermatozoasında çok sayıda ROS üretilir ve bunlardan en bol olanı süperoksit dismutaz (SOD) tarafından hızla hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) dönüştürülen süperoksit anyonudur (Agarwal ve ark., 2014; Bansal ve Bilaspuri, 2011; Sikka, 1996). Ejakülatta ROS lökositler, olgunlaşmamış spermatozoalar, olgun ve ölü spermatozoalar ve varikosel gibi bazı patolojik durumlar tarafından üretilir (Shannon ve Curson, 1972; Kovalski, 1992; Aitken RJ. ve ark., 1994; Aitken RJ. ve ark., 1997; Hendin ve ark., 1999; Lamirande ve ark., 1993b; Guzman ve ark., 2001). Ayrıca, diğer faktörler ve koşullar ROS üretebilir: sigara içme, alkol tüketimi, ksenobiyotikler (ilâç, böcek öldürücü, petrol ürünleri vb.), toksik metaller, ısı, cep telefonu radyasyonu, yaş ve obezite (Agarwal ve ark., 2014; Wright, Milne ve Leeson, 2014).

### **2.13.3. Osmoadaptasyon**

Erkeklerden dişi üreme sistemine olan yolculukta, memeli spermi, doğal bir ozmotik azalma gösterir (örneğin, farede, kauda epididiminde ~ 415 mOsm'dan uterin boşluğunda ~ 310 mOsm'a). Sperm, hareketlilik aktivasyonu için bu hipotonik etkiyi kullanmak için gelişti, bu arada, hipotonik hücre şişmesinin olumsuz etkisini etkili bir şekilde susturdu. Önceki fizyolojik ve farmakolojik çalışmalar, iyon kanalı kontrollü su akıntısı / akışının, sperm hacmi düzenleme işleminde aktif olarak yer aldığını; Bununla birlikte, bu hızlı osmoadaptasyondan spesifik sperm proteinleri sorumlu bulunmamıştır.

İnsanda, epididimal sıvının yolculuğu boyunca ozmolalite hakkında bir rapor yoktur, oysa vas deferens'te yaklaşık 340 mmol kg bulunmaktadır (Hinton, Pryor, Hirsh ve Setchell, 1981). Daha sonra, boşalma üzerine, sperm hücre dışı ozmolalitede bir düşüşle karşı karşıya kalır, Seruma yakın taze seminal sıvıda (erkeklerde ortalama 294

mmol kg (Cooper, Barfield ve Yeung, 2005) ve dişi kanal sıvılarında, servikal mukus (Rossato ve ark., 2001), uterin sıvı (Casslen B. Ve ark., 1984) ve ovidüktal sıvı (Granot ve ark., 1998)' da sırasıyla 287, 284 ve 268-280 mmol kg olarak bulunmuştur. Bu, insan için ~50 mmol kg ve fare spermatozoa için ~100 mmol kg düşüşünü temsil eder. Bu, spermatozoada, hücre şişmesi eğilimini önlemek için düzenleyici hacim azalması sürecini gerektirir (Yeung, Barfield ve Cooper, 2006). İnfertil Erkek hastalarda sperm volüm regülasyon kapasitesi fertil erkeklerden (Fetic ve ark., 2006) veya semen donörlerinden (Yeung ve Cooper, 2008) daha düşüktür.

AQP3'ün, sperm hareketliliği ve fizyolojik hipotoniğe göre hücre şişmesi arasındaki “dengeyi” sağlayan, sperm düzenleyici hacim azalması (regulatory volume decrease-RVD) için temel bir membran yolu olduğunu göstermektedir.

Balıklardaki çalışmalar, çevresel ozmotik değişikliklerin sperm hareketliliğini tetiklediğini göstermiştir (Morisawa ve Suzuki, 1980; Cosson ve Groison, 2008). Fizyolojik bir hipotonik stresin, insan sperminde kalsiyum artışı (Rossato, Virgilio ve Foresta, 1996) ve akrosom şişmesi (Zanetti ve Mayorga, 2009) ile akrozom reaksiyonunu kolaylaştırabildiğini ve kaudadan serbest bırakıldığında "sperm hareketliliği" için gerekli olduğunu göstermiştir.

AQP'ler arasında AQP 7 ve 8, kemirgen testis ve sperminde eksprese edilir, ancak farelerde bu AQP'lerin genetik olarak silinmesi, muhtemelen başka AQP üyeleri tarafından fonksiyonel telafiden dolayı sperm fonksiyonunda, belirgin kusurlar göstermedi (Yeung ve ark., 2009a; Sohara ve ark., 2007). Bu sonuçlar açıkça AQP3 eksikliğinin telafisinin olmadığını ve erkek üremesinde bozulma ile sonuçlandığını

dolayısı ile AQP3'ün erkek üremesinde çok önemli bir rol oynadığını açıkça ortaya koydu.

AQP 3 eksikliği (AQP 3<sup>-/-</sup>) olan spermilerin, hipotoniğe karşı normal hareketlilik aktivasyonu gösterir, ancak uterusu girdikten sonra artan kuyruk eğilmeleri ile karakterize hipotonik hücre şişmesine karşı direnç gösterememektedir. Sperm kusuru, erkekte kadın üreme sistemine geçişi sırasındaki fizyolojik hipotonik strese cevaben bozulmuş sperm hacmi düzenlemesinin ve ilerleyici hücre şişmesinin bir sonucu oluşur. Hücre hacminin genişlemesi ile sitoplazmik damlacıkta başlayıp, kuyruğun açılmasını ve mekanik membran gerilmesi nedeniyle saç tokasına benzer bir yapı gözlenmiştir. Bu kuyruk deformasyonu spermin yumurta kanalına göç etmesini engelleyerek döllenmenin ve erkek fertilitésinin azalmasına neden olur (Chen. ve ark., 2011). AQP 3<sup>-/-</sup> erkek tamamen infertil değildir, AQP 3<sup>-/-</sup> spermin, kültür ortamındaki yumurtalara ulaşabildiklerinde döllenme konusunda kendine özgü bir sorun göstermediği görülmüştür. Buna karşın in vivo döllenme oranının düşük olması da bu tezi desteklemektedir.

#### **2.13.4. Hareketlilik**

AQP7 ekspresyonu olmayan bazı infertil hastalar daha düşük sperm hareketliliğine sahiptir. İnsanlarda AQP 7 ekspresyonunun, hastalarda donörlere göre daha düşük olduğu ve ilerleyici hareketlilik ile korele olduğu bulundu (Saito ve ark., 2004; Yeung, 2010b). Ayrıca AQP7'nin, kardiomyositlerinde gösterildiği gibi, bir enerji substratı olarak (Hibuse ve ark., 2009) sperm hücresine gliserol girişi için bir yol olarak işlev görebileceği, böylece enerji üretimi için gliserol sağladığı öne sürülmüştür (Yeung, 2010).

### 2.13.5. Kriyoprezervasyon (Dondurma)

Gliserol, en çok kullanılan geçirgen CPA (Kriyoprotektan / koruyucu ajanlar) olduğundan, aquaglyceroporinlerin (AQP 3, 7) varlığı, dondurulmuş hücrelerin hayatta kalması için uygun olabilir. Kriyoprezervasyon protokollerinin başlıca risklerinden biri olan ozmotik kaynaklı hasarı önlemek için bu AQP'ler çok önemlidir (Kumar, Coger, Schrum ve Lee, 2015). AQP3 domuz spermatozoasında dondurulabilirlik belirteci olarak tanımlandı (Martinez P N. ve ark., 2017). AQP3 kriyoprezerveye dayanacak şekilde aygır spermlerin direncinde rol oynadığını göstermektedir (Correal ve ark., 2017). AQP7'nin göreceli düzeylerinin yaban domuzu ve boğa sperm kriyotoleransı ile ilişkili olduğu bildirilmiş olsa da (Martinez ve ark., 2016; Martínez ve ark., 2017), aygır sperm kriyotoleransı ile ilişkili olduğu görünmemektedir (Correal ve ark., 2017).

### 3. MATERYAL ve METOD

Çalışmamıza Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi İnsan deneyleri Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 31.01.2018 Tarihli 03/02 Nolu kararı ve izni ile SBÜ Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi TUEK tarafından 18.12.2018 tarihli ve 2018/33 oturum sayılı 13/96 nolu onay kararından sonra sonra başladık.

Çalışmamız Sağlık Bakanlığı Sağlık Bilimleri Üniversitesi Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi laboratuvarına gelen bireylerden alınan semen numuneleri üzerinde yapıldı. Numunelerin alınması, alınan numunelerin spermiyogram analizleri, sperm yayma preparatların hazırlanması Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesinde (spermiyogram testi MES-Medical Electronic Systems'e ait olan SQA-V Gold cihazında çalışılmıştır) yapılmıştır.

Kruger Strict sperm morfoloji analizleri, immünohistokimyasal boyama ve mikroskopik analizler Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalının araştırma laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

#### 3.1. Deneyleerde Kullanılan Semen Örneklerin Elde Edilmesi

Numuneleri SBÜ Samsun Eğitim Ve Araştırma Hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarına semen analizi için gelen hastalardan tezimiz için gönüllü olan kişilerden onam formu doldurtularak alındı. Semen örnekleri 2-7 günlük cinsel perhiz dönemindeki hastalardan kabul edildi. Çalışmamızda 3 farklı yaş grubu belirledik, çalışmamıza dâhil olan bireyler 18 yaşını doldurmuş olup 18 yaşaltı kişilerden numune kabul edilmedi. Birinci grup 18-25 yaş aralığında, ikinci grup 26-35 yaş aralığında ve son grup 36 yaş ve üzerinde olan kişilerden oluşmaktadır.

### 3.2. Kullanılan Teknikler

Tezimde spermiyogram testi, Diff-Quik Boyama (Sperm morfolojisi için hızlı boyama işlemi) ve immünohistokimyasal boyama teknikleri (AQP 3, AQP7 ve AQP8 tespiti için ) kullanılmıştır.

#### 3.2.1. Spermiyogram Testi

Erkek infertilitesinin saptanması ve değerlendirilmesinde ilk adım olan test Spermiyogram'dır. Spermiyogram testleri WHO 2010'a göre çalışıldı. Hastalara sperm analizleri 2-7 günlük cinsel perhize uygun olarak yapıldı. Hastaların numuneleri spermiyogram için ayrılan özel sperm verme odalarında masturbasyon yöntemi ile herhangi bir kayganlaştırıcı madde (krem, tükürük, vs.) kullanılmadan steril kaba tam bir boşalma ile vermeleri önemle anlatıldı. Numune kaplarının üstüne hasta barkodu yapıştırıldı. Hastaların perhis süreleri ve numune alım saatleri etiket ile numune üzerine yapıştırıldı. Alınan örnekler zaman kaybetmeden en kısa zamanda laboratuvara ulaştırıldı. Numuneler laboratuvar tezgâhına konulup likefikasyonun gerçekleşmesi için oda ısısında inkübe edildi. Daha sonra aşağıda anlatıldığı gibi semen analizleri gerçekleştirildi.

Numunenin alımından sonra 30-60 dakika arasında görünüm, likefaksiyonun ve vizkositesi değerlendirildi, WHO 2010'da belirtildiği gibi likefikasyon veya vizkositesi anormal olan hastalarda semeni akışkan hale getirmek için  $\alpha$ -Chymotrypsin (toz halde bulunan, sığır pankreasından elde edilen ve peptid bağlarını hidrolize eden bir enzim) ile likefiye edildi.

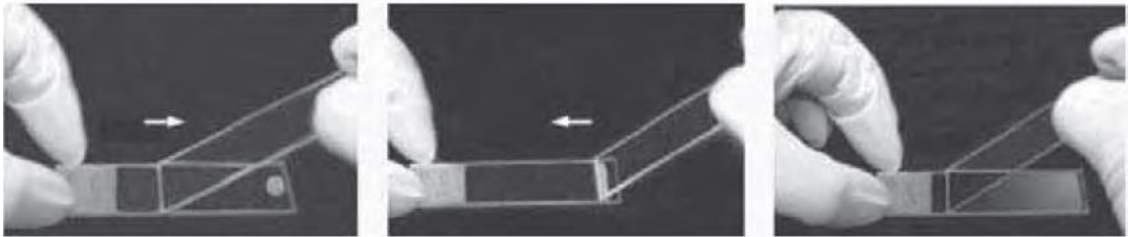
- Likefikasyon gerçekleştikten sonra semen hacim ölçümü yapıldı
- Islak preparat hazırlandı ve mikroskop altında incelendi

- Mikroskopik incelemede agregasyon, aglütinasyon, epitel hücresi ve yuvarlak hücrelerin (lökosit ve immatür germ hücrelerinin) varlığı değerlendirildi.
- Sperm analizleri SQA-V Gold spermogram cihazında çalışıldı.
- Sperm morfolojisi hem SQA-V Gold cihazında hemde mikroskopta tekrar değerlendirildi. Morfoloji değerlendirmesi ve immünohistakimyasal analizler için ayrıca sperm yaymaları yapıldı.

### 3.3.2. Sperm Morfoloji Analizi

#### 3.2.2.1. Sperm Yayma Protokolü

Seminal plazmanın ortamdaki uzaklaşmasını sağlamak amacıyla numune PBS ile yıkanır. Ejakulattan alınan örnek 1/5 (1 birim semen, 4 birim PBS) oranında PBS ile tamamlanır. Santrifüj edilip üst faz atılır. Yıkama işlemi 3 kez tekrarlanır. Son yıkamadan sonra dipteki pellet ½ oranında PBS ile dilue edilir. Pipetaj yapılarak numune homojen hale getirilir ve lamların üzerine 10 mikrolitre damlatılır. Damlayı yaymak için ikinci bir lam 45° açı oluşturarak geriye doğru hareket ettirilip semen ile teması sağlanır. Semen lamın uç kısmında enine yayılması beklenir ve sonrasında lam yavaşça ileri doğru ittirerek yayma yapılır. Yapılan yaymalar kuruması için oda sıcaklığında bekletilir.



**Şekil 50:** Semen yayma preparatının hazırlanması  
(Who 2010)



### 3.2.2.2. Havada Kurutulmuş Semen Sürüntüsünün Fiksasyonu

Lamlar oda sıcaklığında kurutulduktan sonra % 4' lük formalin (10 ml formaldehit distile su ile 100 ml'e tamamlanır) ile 10 dk fikse edilir sonra distile suda yıkanır.

### 3.2.2.3. Diff-Quik Boyama

Sperm morfolojisi için hızlı boyama işlemi.

#### 3.2.2.3.1. Diff-Quik Hızlı Boyama Kiti İçindekiler

##### (a) Fiksatif reaktifi

1. Fiksatif: 1000 ml % 95 (v/v) metanolde çözülmüş 1,8 mg tirarilmetan (fast green; soluk yeşil)

2. Fiksatif: metanol % 95 (v/v)

(b) Boyama çözeltisi 1 (eozinofilik ksanten: fostfat tamponlu eozin-G; kırmızı)

(c) Boyama çözeltisi 2 (bazofilik tiazin: fosfat tampon içinde thiazine boya; mavi).

#### 3.2.2.3.2. Tespit Edilmiş Semen Sürüntüsünün Diff-Quik İle Boyanması

- Boya 1 (eozinofilik ksanten, kırmızı) ile 10 saniye boyanır.
- Boya 2 (bazofilik tiazin, mavi) ile 5 saniye boyanır.
- Fazla boyayı uzaklaştırmak için musluk suyu ile 10–15 kez yıkama yapılır.
- Her aşamada lamları emici filtre kâğıdı üzerine dikerek fazla çözelti akıtılır.
- Kurutulur ve entellan damlatılıp lamelle kapatılır.

#### 3.2.2.4. Morfoloji Dğerlendirilmesi

Spermilerin morfoloji analizleri Kruger Strict yöntemi ile yapıldı. Kapatılan lamlar immersiyon yağı damlatılarak mikroskopta (Nikon ECLIPSE E200) 100'lük objektif ile

incelendi ve baş, boyun, kuyruk anomalileri ile normal morfolojiye sahip spermiler tespit edilerek sayıldı (her numune için 2 x 200 adet sperm sayılarak ortalamaları alındı ). Sayım sonrası her numune için morfoloji yüzdeleri hesaplandı. Daha sonra her grup için morfoloji yüzde ortalamaları hesaplandı.

### 3.2.3. İmmünohistokimyasal Analiz

#### 3.2.3.1. Kullanılan Malzemeler

**Aquaporin 3 Primer Antikor:** Thermo Fisher Scientific (Amerika), Poliklonal Tavşan / IgG, Katalog no: PA5-36552, Seyreltme oranı: 1/100

**Aquaporin 7 Primer Antikor:** Proteintech (Amerika), Poliklonal Tavşan / IgG, Katalog no: 25131-1-AP, Seyreltme oranı: 1/100

**Aquaporin 8 Primer Antikor:** Abcam (İngiltere), Poliklonal Tavşan / IgG, Katalog no: ab133667, Seyreltme oranı: 1/100

**Biyotinlenmiş Sekonder Antikor:** Vector laboratories (Amerika), At-Anti-Fare / Tavşan IgG, Katalog no: BA-1400-2,1, Seyreltme oranı: 1/50

**Streptavidin-Biotinylated Horseradish Peroxidase Complex:** GE Healthcare (İngiltere), Ürün Kodu: RPN1051-2ML, Seyreltme oranı: 1/100

**DAB (Diaminobenzidine):** Sigma, Almanya (DAB Peroksidaz reaksiyonunda, peroksit varlığında bir hidrojen verici olarak görev yapar. Oksitlenmiş DAB, immünohistolojik ve immünoiblotting boyama prosedürlerinde kullanım için çözünmeyen kahverengi bir son ürün oluşturur (www.sigmaaldrich.com).

**PBS (Fosfat Tampon Solüsyonu):** 87,6 gr NaCl, 22,8 gr K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ve 6,8 gr KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1lt distile su içinde çözdürülür.

**% 1'lik BSA (Bovine Serum Albumin):** 0,1 gr BSA-Sığır serum albumin 10 ml PBS içinde çözdürülerek %1'lik BSA solüsyonu elde edilir.

### 3.2.3.2. İmmünohistokimya Çalışması

Daha önceden sperm hücrelerinde varlığı tespit edilmiş olan AQP 3, 7 ve 8'in immünohistokimyasal dağılımını ve gruplar arasındaki dağılımları tespit etmek ve değerlendirmek için öncesinde hazırladığımız semen yayma preparatlarına İmmünohistokimya protokolü uygulandı. Boyamaya başlamadan önce her bir lam üzerine her AQP için belli bir alan oluşturularak pap pen (hidrofobik kalem) ile sınırları çizildi. Toplam da her lam üzerinde AQP 3, 7, 8 için 3 alan oluşturuldu. Böylece zaman ve kimyasallardan tasarruf edildi.

Semen örnekleri ile yapılan ve havada kurutulan sperm yayma preparatları PBS'de yıkandı. Daha sonra PBS uzaklaştırılarak bloklama ajanı olarak kullanılan BSA %1'lik çözeltisinde oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edildi. BSA yıkamadan uzaklaştırıldı. BSA'dan sonra primer antikorlar sırası ile AQP 3, 7 ve 8 (1/100 sulandırma oranı ile ) olacak şekilde örneklem alanlarına damlatıldı. Preparatlar nemli olacak şekilde kapalı kaplarda, buzdolabı içinde +4<sup>0</sup>C'de bir gece karanlıkta bekletildi. Primer antikor ile muamele edilen yaymalar inkübasyon sonrasında PBS ile oda sıcaklığında 5 dk yıkama yapıldı. PBS ile yıkamanın ardından ilk önce oda sıcaklığında 30 dakika süreyle Biotinlenmiş Anti-Tavşan IgG Sekonder Antikor (Vector Laboratories Inc. 1/ 50 sulandırma ile) ile inkübe edildi. Tekrar PBS ile yıkama yapıldı ve hemen sonrasında Horseradish Peroxidase İşaretli Streptavidin (RPN 105V GE Healthcare UK Limited 1/50

sulandırma ile) ile 20 dakika inkübe edildi. Tekrar PBS ile yıkama yapıldı ve DAB (Diaminobenzidine) kromojen kullanılarak immunopositif bölgeler görünür hale getirildi.

### **3.2.3.3. İmmünohistokimyasal Analizlerin Değerlendirilmesi**

Boyanmış lamlar immersiyon yağı damlatılarak Nikon Eclipse E200 ışık mikroskopunda incelendi ve Nikon NIS-Elements görüntüleme cihazı kullanılarak dijital görüntüleri kaydedildi. Sperm hücrelerin boyanma yoğunluğuna göre 4 kategoriye (**0** = boyanma yok, **+1** = zayıf, fakat tespit edilebilir boyanma, **+2** = orta şiddetli boyanma ve **+3** = yoğun boyanma) ayrılarak hücre sayımları yapıldı.

### **3.3. İstatistiksel Analiz**

Çalışmamız analizleri sonucunda elde edilen verilerimizin istatistik analizleri IBM SPSS-22 Windows istatistik paket programı ile yapıldı.

Her bir analiz parametresine ait olan grupların ortalama değerleri varyansların homojenite testi sonrası Oneway Anova Post Hoc çoklu karşılaştırma testleri ile gerçekleştirildi.

Her bir analiz parametresine ait verilerin grup ortalama değerler ( $\pm$ ), Standart Error Mean (SEM) olarak ifade edildi.

Gerçekleştirilen bu istatistiksel analizler sonucunda elde edilen p değerinin 0.05'den küçük olması istatistiksel anlamlı olarak kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Spermioyogram Test Sonuçları

Samsun Sağlık Bilimleri Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarına başvuran hastalardan alınan semen örnekleri yaşlarına göre 3 grup (1.Grup = 18-25, 2.Grup = 26-35, 3.Grup = 36 yaş ve üzeri) olarak ayrıldı. Spermioyogramın makroskopik parametreleri sonuçları Tablo 6-9 'de gösterilmiştir. Örneklerin spermioyogram analizi Samsun Sağlık Bilimleri Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi mikrobiyoloji laboratuvarında bulunan SQA-V GOLD spermioyogram cihazı ile çalışıldı. Spermioyogram analizi sonuçları Tablo 10-13; Şekil 51'de gösterilmiştir.

**Tablo 6:** Grup 1'e ait spermioyogram testi makroskopik analiz sonuçları.

| Spermioyogram Testi Makroskobi Sonuçları Grup 1 |                   |          |                                    |                                     |                                   |     |                                 |                              |
|---|-------------------|----------|------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|-----|---------------------------------|------------------------------|
| Sıra No   | Perhis Suresi Gün | Hacim ML | Likifikasyon<br><60dk=0<br>>60dk=1 | Vizkozite<br>Normal=0<br>Abnormal=1 | Görünüm<br>Normal=0<br>Abnormal=1 | Ph  | Lökosit<br><1m/MI=0<br>>1m/MI=1 | Agregasyon<br>Yok=0<br>Var=1 |
| 1   | 3                 | 3        | 0                                  | 0                                   | 0                                 | 8   | 1                               | 1                            |
| 2   | 3                 | 4,5      | 0                                  | 0                                   | 0                                 | 8,5 | 1                               | 0                            |
| 3   | 3                 | 2,5      | 1                                  | 1                                   | 0                                 | 8   | 1                               | 0                            |
| 4   | 5                 | 1,5      | 0                                  | 0                                   | 0                                 | 8   | 1                               | 1                            |
| 5   | 4                 | 4        | 1                                  | 0                                   | 0                                 | 8   | 0                               | 0                            |
| 6   | 3                 | 2,5      | 1                                  | 1                                   | 0                                 | 8   | 1                               | 0                            |
| 7   | 3                 | 5,5      | 0                                  | 0                                   | 1                                 | 8   | 1                               | 1                            |
| 8   | 3                 | 3,7      | 0                                  | 1                                   | 0                                 | 9   | 0                               | 0                            |
| 9   | 4                 | 6        | 0                                  | 0                                   | 0                                 | 8   | 0                               | 0                            |
| 10  | 4                 | 4,7      | 0                                  | 0                                   | 0                                 | 8,5 | 0                               | 1                            |

**Tablo 7:** Grup 2'ye ait spermiyogram testi makroskobik analiz sonuçları.

| <b>Spermiyogram Testi Makroskobik Sonuçları Grup 2</b> |                   |          |                                    |                                     |                                   |     |                                 |                              |
|--|-------------------|----------|------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|-----|---------------------------------|------------------------------|
| Sıra No  | Perhis Süresi Gün | Hacim ML | Likifikasyon<br><60dk=0<br>>60dk=1 | Vizkozite<br>Normal=0<br>Abnormal=1 | Görünüm<br>Normal=0<br>Abnormal=1 | Ph  | Lökosit<br><1m/MI=0<br>>1m/MI=1 | Agregasyon<br>Yok=0<br>Var=1 |
| 1  | 3                 | 4        | 0                                  | 0                                   | 0                                 | 8   | 0                               | 1                            |
| 2  | 6                 | 2,5      | 1                                  | 0                                   | 0                                 | 8,5 | 0                               | 1                            |
| 3  | 3                 | 6        | 1                                  | 1                                   | 0                                 | 8   | 1                               | 0                            |
| 4  | 3                 | 5        | 1                                  | 1                                   | 0                                 | 8   | 0                               | 0                            |
| 5  | 3                 | 5        | 0                                  | 0                                   | 0                                 | 8   | 1                               | 0                            |
| 6  | 5                 | 4,5      | 0                                  | 0                                   | 0                                 | 8,5 | 1                               | 1                            |
| 7  | 3                 | 2,5      | 0                                  | 0                                   | 0                                 | 8   | 1                               | 0                            |
| 8  | 4                 | 3        | 1                                  | 1                                   | 0                                 | 8   | 1                               | 1                            |
| 9  | 5                 | 3,3      | 0                                  | 0                                   | 0                                 | 8   | 0                               | 1                            |
| 10   | 5                 | 1,2      | 0                                  | 0                                   | 0                                 | 8,5 | 1                               | 1                            |

**Tablo 8:** Grup 3'e ait spermiyogram testi makroskobik analiz sonuçları.

| <b>Spermiyogram Testi Makroskobik Sonuçları Grup 3</b> |                   |          |                                    |                                     |                                   |     |                                 |                              |
|--|-------------------|----------|------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|-----|---------------------------------|------------------------------|
| Sıra No  | Perhis Süresi Gün | Hacim ML | Likifikasyon<br><60dk=0<br>>60dk=1 | Vizkozite<br>Normal=0<br>Abnormal=1 | Görünüm<br>Normal=0<br>Abnormal=1 | Ph  | Lökosit<br><1m/MI=0<br>>1m/MI=1 | Agregasyon<br>Yok=0<br>Var=1 |
| 1  | 3                 | 4        | 1                                  | 1                                   | 0                                 | 8,5 | 0                               | 0                            |
| 2  | 5                 | 3        | 0                                  | 0                                   | 0                                 | 8   | 1                               | 1                            |
| 3  | 3                 | 2        | 1                                  | 1                                   | 0                                 | 8   | 0                               | 0                            |
| 4  | 4                 | 5,5      | 1                                  | 1                                   | 0                                 | 8   | 1                               | 0                            |
| 5  | 4                 | 2        | 0                                  | 0                                   | 1                                 | 7   | 1                               | 0                            |
| 6  | 3                 | 5        | 0                                  | 0                                   | 0                                 | 9   | 0                               | 0                            |
| 7  | 3                 | 5,2      | 0                                  | 0                                   | 0                                 | 9   | 0                               | 1                            |
| 8  | 4                 | 3        | 0                                  | 0                                   | 0                                 | 9   | 1                               | 1                            |
| 9  | 3                 | 2        | 0                                  | 0                                   | 0                                 | 8,5 | 1                               | 1                            |
| 10   | 4                 | 2,2      | 0                                  | 0                                   | 0                                 | 8,5 | 0                               | 1                            |

**Tablo 9:** Spermiyogram testi makroskobik analiz sonuçlarının grup ortalaması.

| <b>Spermiyogram Testi Makroskobi Sonuçları Grup Ortalamaları</b> |                   |          |                                    |                                     |                                   |     |                                 |                              |
|--|-------------------|----------|------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|-----|---------------------------------|------------------------------|
| Sıra No  | Perhis Süresi Gün | Hacim ML | Likefikasyon<br><60dk=0<br>>60dk=1 | Vizkozite<br>Normal=0<br>Abnormal=1 | Görünüm<br>Normal=0<br>Abnormal=1 | Ph  | Lökosit<br><1m/MI=0<br>>1m/MI=1 | Agregasyon<br>Yok=0<br>Var=1 |
| 1  | 3,5               | 3,8      | 0,3                                | 0,3                                 | 0,1                               | 8,2 | 0,6                             | 0,4                          |
| 2  | 4                 | 3,7      | 0,4                                | 0,3                                 | 0                                 | 8,2 | 0,6                             | 0,7                          |
| 3  | 3,6               | 3,4      | 0,3                                | 0,3                                 | 0,1                               | 8,3 | 0,5                             | 0,5                          |

**Tablo 10:** Grup1'e ait spermiyogram testi mikroskobik analiz sonuçları.

| <b>SQA Spermiyogram Sonuçları Grup 1</b> |                  |             |           |      |      |            |         |                  |                |                |             |               |
|--|------------------|-------------|-----------|------|------|------------|---------|------------------|----------------|----------------|-------------|---------------|
| Sıra No                                  | Sperm Kons. M/ml | PR+NP ≥ %40 | PR % ≥ 32 | NP % | İM % | PR+NP M/ml | PR M/ml | Ort. Hız mic/sec | Toplam Sperm M | Toplam PR+NP M | Toplam PR M | Fonk. Sperm M |
| 1  | 71,4             | 91          | 75        | 16   | 9    | 65,1       | 53,3    | 12               | 214            | 195,3          | 159,9       | 78,6          |
| 2  | 21,4             | 72          | 42        | 30   | 28   | 15,4       | 9       | 7                | 96,3           | 69,3           | 40,5        | 10,4          |
| 3  | 38,1             | 79          | 64        | 15   | 21   | 29,9       | 24,2    | 12               | 95,3           | 74,8           | 60,5        | 19,5          |
| 4  | 113,1            | 97          | 85        | 12   | 3    | 109,4      | 96,2    | 15               | 169,7          | 164,1          | 144,3       | 83,9          |
| 5  | 85               | 45          | 36        | 9    | 55   | 38,4       | 30,8    | 12               | 340            | 153,6          | 123,2       | 22,4          |
| 6  | 18,7             | 51          | 19        | 32   | 49   | 9,6        | 3,6     | 4                | 46,8           | 24             | 9           | 1             |
| 7  | 44,1             | 72          | 52        | 20   | 28   | 31,7       | 23      | 10               | 242,5          | 174,4          | 126,5       | 34,7          |
| 8  | 33,8             | 72          | 59        | 13   | 28   | 24,2       | 20      | 13               | 125,1          | 89,5           | 74          | 28,5          |
| 9  | 140,2            | 45          | 37        | 8    | 55   | 63,5       | 52,2    | 12               | 841,2          | 381            | 312,2       | 69            |
| 10                                       | 137,6            | 55          | 49        | 6    | 45   | 75,7       | 68,1    | 17               | 646,7          | 355,8          | 320,1       | 120,3         |

**Tablo 11:** Grup2'ye ait spermiyogram testi mikroskobik analiz sonuçları.

| <b>SQA Spermiyogram Sonuçları Grup 2</b> |                  |                  |                |      |      |            |         |                  |                |                |             |               |
|--|------------------|------------------|----------------|------|------|------------|---------|------------------|----------------|----------------|-------------|---------------|
| Sıra No                                  | Sperm Kons. M/ml | PR+NP $\geq$ %40 | PR % $\geq$ 32 | NP % | İM % | PR+NP M/ml | PR M/ml | Ort. Hız mic/sec | Toplam Sperm M | Toplam PR+NP M | Toplam PR M | Fonk. Sperm M |
| 1  | 21,7             | 73               | 55             | 18   | 27   | 15,9       | 11,9    | 10               | 86,8           | 63,6           | 47,6        | 15,6          |
| 2  | 71,5             | 54               | 47             | 7    | 46   | 38,7       | 33,7    | 15               | 178,8          | 96,8           | 84,3        | 24            |
| 3  | 14,7             | 49               | 24             | 25   | 51   | 7,2        | 3,5     | 5                | 88,2           | 43,2           | 21          | 3             |
| 4  | 106,9            | 54               | 47             | 7    | 46   | 57,6       | 50,4    | 15               | 534,5          | 288            | 252         | 82,5          |
| 5  | 30,4             | 70               | 52             | 18   | 30   | 21,3       | 15,8    | 10               | 152            | 106,5          | 79          | 20            |
| 6  | 38,1             | 82               | 68             | 14   | 18   | 31,4       | 25,9    | 13               | 171,5          | 141,3          | 116,6       | 40,5          |
| 7  | 70,7             | 83               | 65             | 18   | 17   | 58,7       | 45      | 11               | 176,8          | 146,8          | 114,5       | 47,8          |
| 8  | 60,5             | 79               | 60             | 19   | 21   | 47,5       | 36,4    | 11               | 181,5          | 142,5          | 109,2       | 39            |
| 9  | 71,7             | 51               | 42             | 9    | 49   | 36,5       | 30,1    | 13               | 236,6          | 120,5          | 99,3        | 23,4          |
| 10                                       | 27               | 67               | 49             | 18   | 33   | 18,2       | 13,2    | 9                | 32,4           | 21,8           | 15,8        | 3,7           |

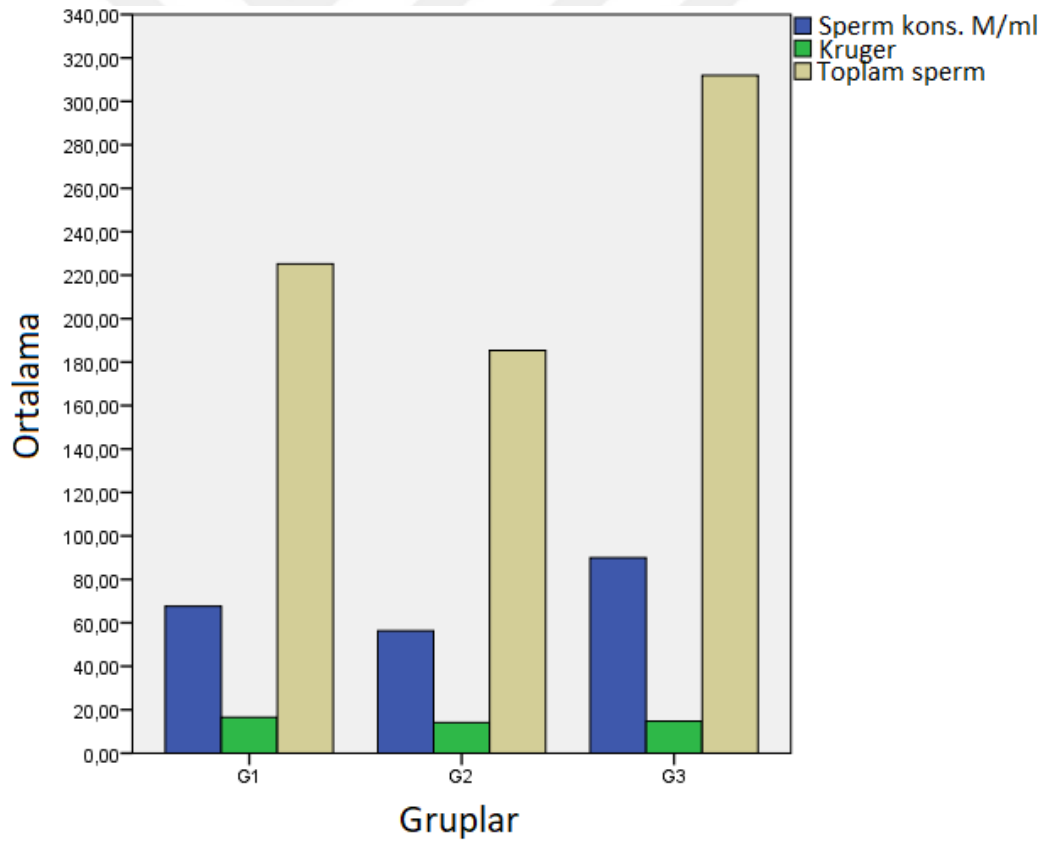
**Tablo 12:** Grup3'e ait spermiyogram testi mikroskobik analiz sonuçları.

| <b>SQA Spermiyogram Sonuçları Grup 3</b> |                  |                  |                |      |      |            |         |                  |                |                |             |               |
|--|------------------|------------------|----------------|------|------|------------|---------|------------------|----------------|----------------|-------------|---------------|
| Sıra No                                  | Sperm Kons. M/ml | PR+NP $\geq$ %40 | PR % $\geq$ 32 | NP % | İM % | PR+NP M/ml | PR M/ml | Ort. Hız mic/sec | Toplam Sperm M | Toplam PR+NP M | Toplam PR M | Fonk. Sperm M |
| 1  | 11,1             | 38               | 15             | 23   | 62   | 4,2        | 1,7     | 4                | 44,4           | 16,8           | 6,8         | 0,8           |
| 2  | 75               | 96               | 81             | 15   | 4    | 72,3       | 60,9    | 13               | 225            | 216,9          | 182,7       | 99,9          |
| 3  | 189,3            | 41               | 33             | 8    | 59   | 77,6       | 61,6    | 11               | 378,6          | 155,2          | 123,2       | 24,8          |
| 4  | <2               | >90              | -              | -    | -    | 1,9        | -       | -                | -              | -              | -           | -             |
| 5  | 52               | 4                | 1              | 3    | 96   | 2,2        | 0,5     | 2                | 104            | 4,4            | 1           | 0             |
| 6  | 81,7             | 24               | 16             | 8    | 76   | 19,6       | 12,8    | 8                | 408,5          | 98             | 64          | 6,5           |
| 7  | 95               | 50               | 43             | 7    | 50   | 47,8       | 40,6    | 14               | 494            | 248,6          | 211,1       | 54,6          |
| 8  | 58,3             | 97               | 84             | 13   | 3    | 56,3       | 49,2    | 15               | 174,9          | 168,9          | 147,6       | 77,4          |
| 9  | 53,4             | 91               | 75             | 16   | 9    | 48,3       | 40,2    | 13               | 106,8          | 96,6           | 80,4        | 35,8          |
| 10                                       | 147,7            | 41               | 32             | 9    | 59   | 60         | 47,9    | 12               | 324,9          | 132            | 105,4       | 19,6          |



**Tablo 13:** Spermiyogram testi mikroskopik analiz sonuçları grup ortalama değerleri.

| SQA Spermiyogram Sonuçları Grup Ortalaması |                  |             |           |      |      |            |         |                  |                |                |             |               |
|--|------------------|-------------|-----------|------|------|------------|---------|------------------|----------------|----------------|-------------|---------------|
| No   | Sperm Kons. M/ml | PR+NP ≥ %40 | PR % ≥ 32 | NP % | İM % | PR+NP M/ml | PR M/ml | Ort. Hız mic/sec | Toplam Sperm M | Toplam PR+NP M | Toplam PR M | Fonk. Sperm M |
| G1   | 70,3             | 67,9        | 51,8      | 16,1 | 32,1 | 46,3       | 38      | 11,4             | 281,8          | 168,2          | 137         | 46,8          |
| G2   | 51,3             | 66,2        | 50,9      | 15,3 | 33,8 | 33,3       | 26,6    | 11,2             | 183,9          | 117,1          | 93,9        | 30            |
| G3   | 84,8             | 53,6        | 42,2      | 11   | 46   | 43,1       | 35      | 10,2             | 251,2          | 126,4          | 102,4       | 35,5          |

**Şekil 51:** Sperm konsantrasyonu, toplam sperm ve morfolojilerin gruplara göre dağılım grafiği

#### 4.2. Kruger Strict Sperm Morfoloji Analiz Bulguları

Çalışmamızdaki 3 farklı yaş grubundan alınan semen örnekleri Diff-quick boyama protokolü ile boyandı ve sperm hücreleri Kruger strict kriterlerine uygun olarak morfolojileri değerlendirildi. Sperm hücrelerinin normal ve anormal morfolojik oranları analiz edildi (Tablo 14-17) ve grafik olarak gösterildi (Şekil 52-54). Çalışmamıza ait olan preparatlar mikroskopik olarak incelendi ve Nikon NIS-Elements görüntüleme sistemi ile fotoğrafları çekildi (Şekil 55-74).

**Tablo 14:** Grup 1'e ait Kruger Strict Morfoloji analizi bulguları

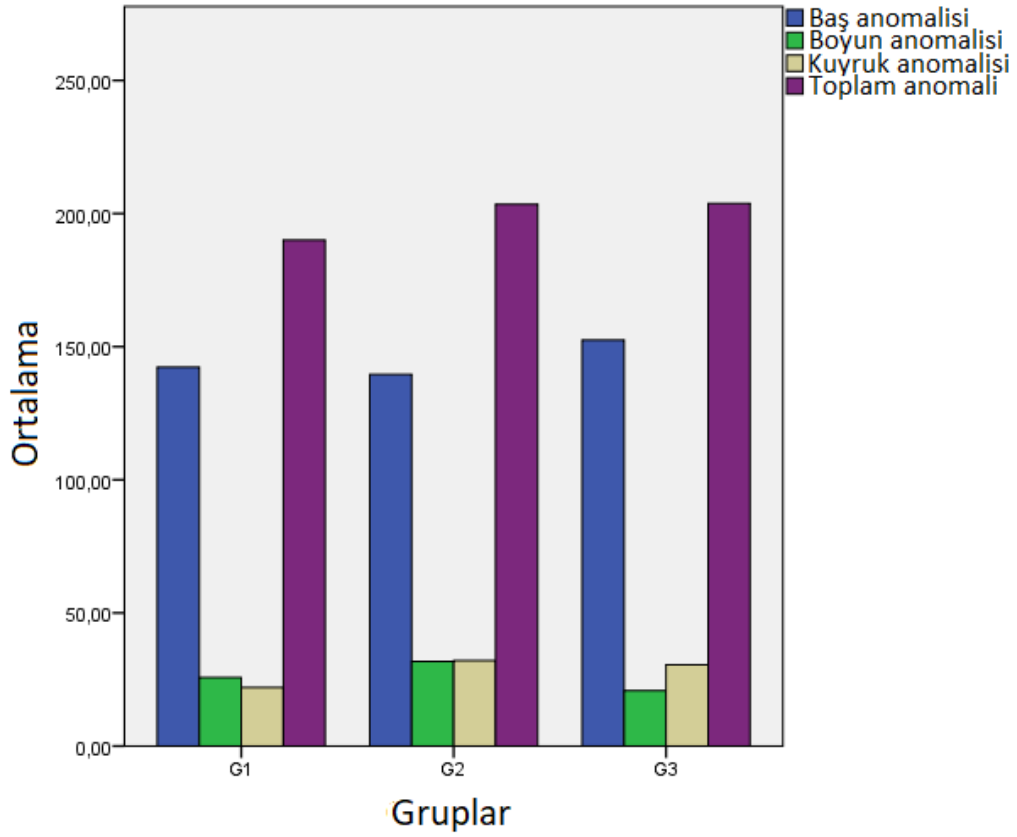
| <b>Kruger Morfoloji Sonuçları Grup 1</b> |                      |                        |                         |                       |                     |                 |                  |
|--|----------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|---------------------|-----------------|------------------|
| <b>Sıra No</b>                           | <b>Baş Anomalisi</b> | <b>Boyun Anomalisi</b> | <b>Kuyruk Anomalisi</b> | <b>Toplam Anomali</b> | <b>Normal Hücre</b> | <b>Kruger %</b> | <b>Anormal %</b> |
| 1  | 130                  | 26                     | 19                      | 175                   | 60                  | 27              | 73               |
| 2  | 127                  | 55                     | 24                      | 206                   | 30                  | 14              | 86               |
| 3  | 120                  | 16                     | 30                      | 166                   | 47                  | 23              | 77               |
| 4  | 92                   | 46                     | 22                      | 160                   | 74                  | 35              | 65               |
| 5  | 176                  | 23                     | 20                      | 219                   | 17                  | 8               | 92               |
| 6  | 170                  | 6                      | 24                      | 200                   | 14                  | 7               | 93               |
| 7  | 157                  | 17                     | 15                      | 189                   | 29                  | 15              | 85               |
| 8  | 143                  | 36                     | 14                      | 193                   | 40                  | 19              | 81               |
| 9  | 162                  | 15                     | 46                      | 223                   | 26                  | 13              | 87               |
| 10                                       | 146                  | 18                     | 6                       | 170                   | 46                  | 23              | 77               |

**Tablo 15:** Grup 2'e ait Kruger Strict Morfoloji analizi bulguları

| <b>Kruger Morfoloji Sonuçları Grup 2</b> |                      |                        |                         |                       |                     |                 |                  |
|--|----------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|---------------------|-----------------|------------------|
| <b>Sıra No</b>                           | <b>Baş Anomalisi</b> | <b>Boyun Anomalisi</b> | <b>Kuyruk Anomalisi</b> | <b>Toplam Anomali</b> | <b>Normal Hücre</b> | <b>Kruger %</b> | <b>Anormal %</b> |
| 1  | 118                  | 36                     | 27                      | 181                   | 43                  | 21              | 79               |
| 2  | 114                  | 33                     | 64                      | 211                   | 30                  | 14              | 86               |
| 3  | 116                  | 79                     | 68                      | 263                   | 13                  | 6               | 94               |
| 4  | 142                  | 5                      | 34                      | 181                   | 35                  | 17              | 83               |
| 5  | 126                  | 39                     | 41                      | 206                   | 25                  | 12              | 88               |
| 6  | 159                  | 28                     | 20                      | 207                   | 29                  | 14              | 86               |
| 7  | 135                  | 44                     | 22                      | 201                   | 25                  | 12              | 88               |
| 8  | 134                  | 22                     | 17                      | 173                   | 40                  | 19              | 81               |
| 9  | 174                  | 13                     | 10                      | 197                   | 21                  | 10              | 90               |
| 10                                       | 186                  | 19                     | 17                      | 222                   | 27                  | 12              | 88               |

**Tablo 16:** Grup 3'e ait Kruger Strict Morfoloji analizi bulguları

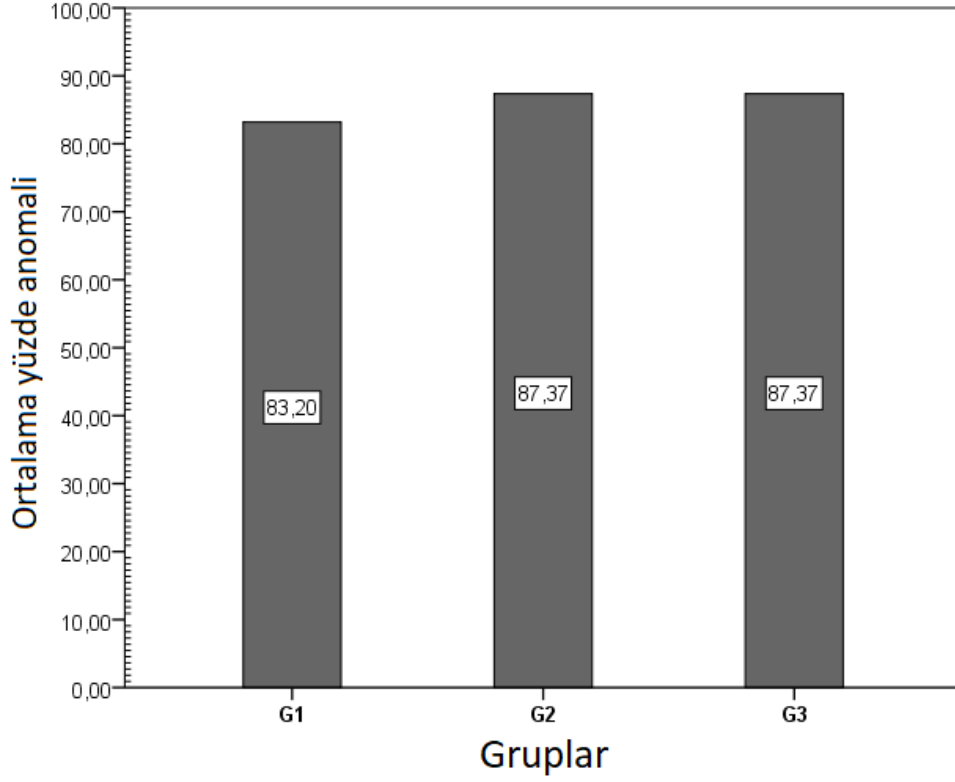
| <b>Kruger Morfoloji Sonuçları Grup 3</b> |                      |                        |                         |                       |                     |                 |                  |
|--|----------------------|------------------------|-------------------------|-----------------------|---------------------|-----------------|------------------|
| <b>Sıra No</b>                           | <b>Baş Anomalisi</b> | <b>Boyun Anomalisi</b> | <b>Kuyruk Anomalisi</b> | <b>Toplam Anomali</b> | <b>Normal Hücre</b> | <b>Kruger %</b> | <b>Anormal %</b> |
| 1  | 157                  | 17                     | 28                      | 202                   | 16                  | 8               | 92               |
| 2  | 84                   | 28                     | 53                      | 165                   | 61                  | 30              | 70               |
| 3  | 164                  | 23                     | 16                      | 203                   | 21                  | 10              | 90               |
| 4  | 186                  | 35                     | 17                      | 238                   | 6                   | 3               | 97               |
| 5  | 168                  | 3                      | 80                      | 251                   | 10                  | 5               | 95               |
| 6  | 152                  | 35                     | 46                      | 233                   | 15                  | 7               | 93               |
| 7  | 161                  | 13                     | 10                      | 184                   | 32                  | 16              | 84               |
| 8  | 132                  | 12                     | 9                       | 153                   | 65                  | 31              | 69               |
| 9  | 145                  | 27                     | 23                      | 195                   | 40                  | 19              | 81               |
| 10                                       | 177                  | 16                     | 23                      | 216                   | 20                  | 10              | 90               |



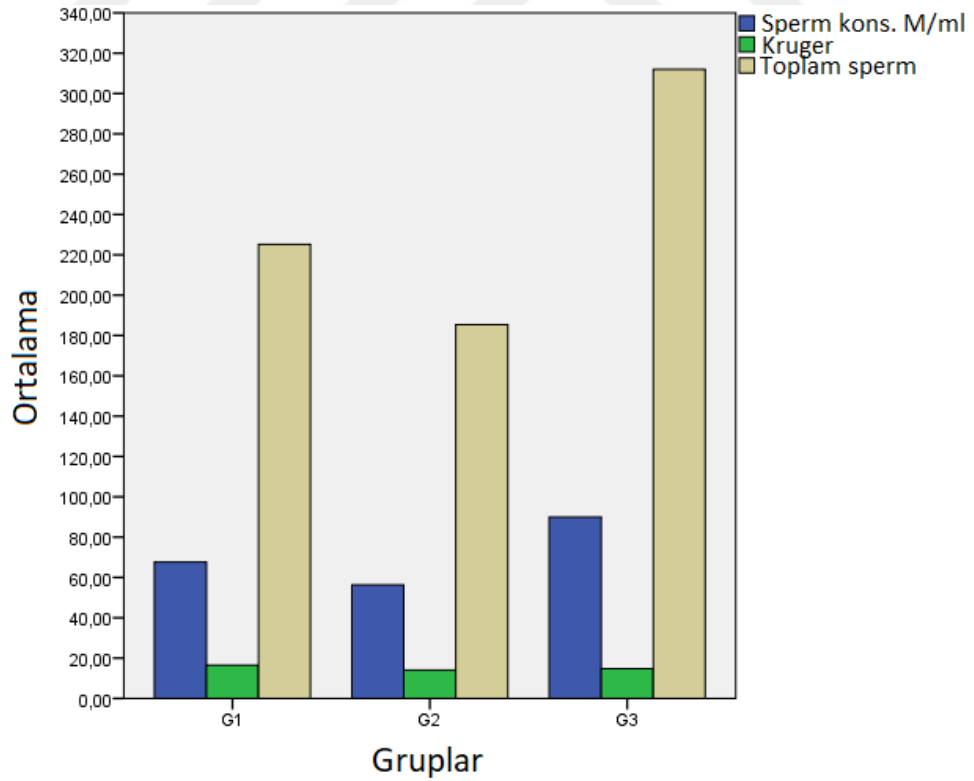
**Şekil 52:** Sperm hücrelerinin baş, boyun ve kuyruk anomalilerinin grupların ortalama değerlerinin karşılaştırmalı grafiksel görünümü.

**Tablo 17:** Kruger strict morfolojik analizlerin grup ortalama değerleri  
( $\pm$  SEM)

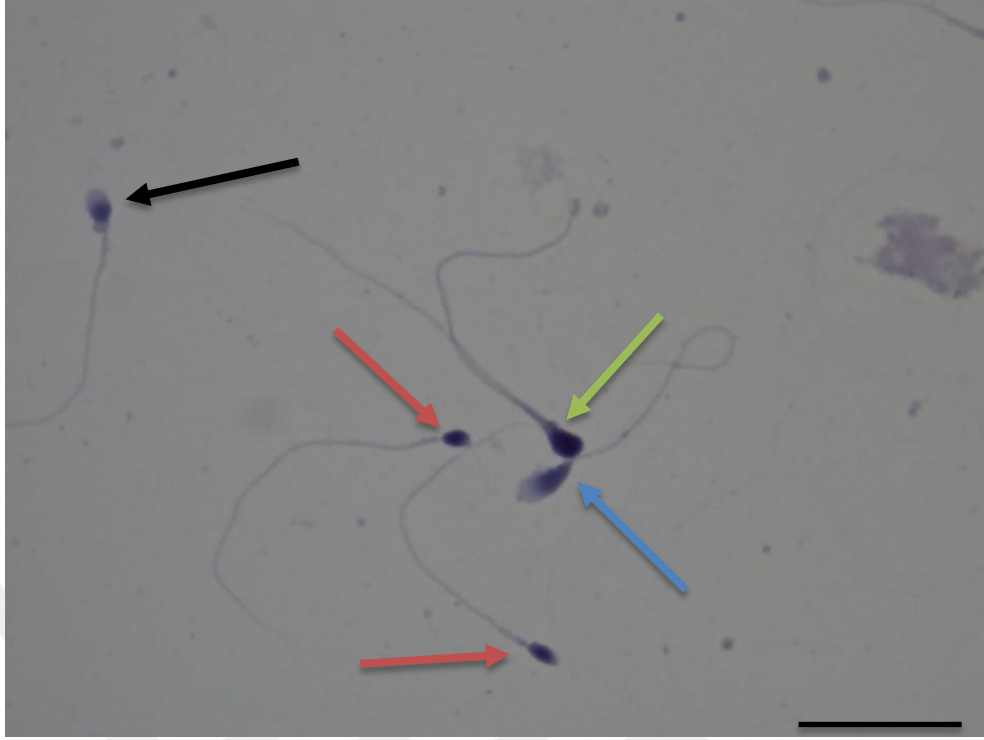
| Kruger Morfoloji Sonuçları Grup Ortalamaları |                 |                 |                  |                  |              |          |           |
|--|-----------------|-----------------|------------------|------------------|--------------|----------|-----------|
| Sıra No                                      | Baş Anomalisi   | Boyun Anomalisi | Kuyruk Anomalisi | Toplam Anomali   | Normal Hücre | Kruger % | Anormal % |
| 1  | 142,3 $\pm$ 8,1 | 25,7 $\pm$ 4,9  | 22,0 $\pm$ 3,4   | 190,0 $\pm$ 7,0  | 38,3         | 16,8     | 83,2      |
| 2  | 139,6 $\pm$ 7,4 | 31,8 $\pm$ 6,5  | 32,1 $\pm$ 6,3   | 203,5 $\pm$ 7,9  | 28,8         | 12,6     | 87,4      |
| 3  | 152,5 $\pm$ 9,1 | 20,8 $\pm$ 3,3  | 30,5 $\pm$ 7,1   | 203,8 $\pm$ 10,0 | 28,6         | 12,6     | 87,4      |



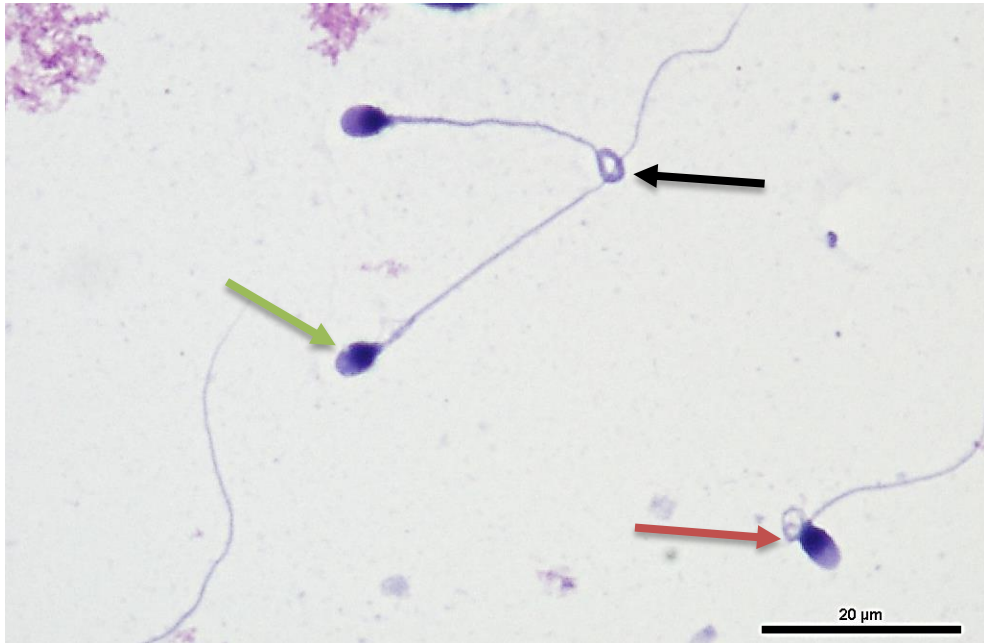
**Şekil 53:** Anomalili sperm yüzdelerinin gruplara göre grafiksel görünümü.



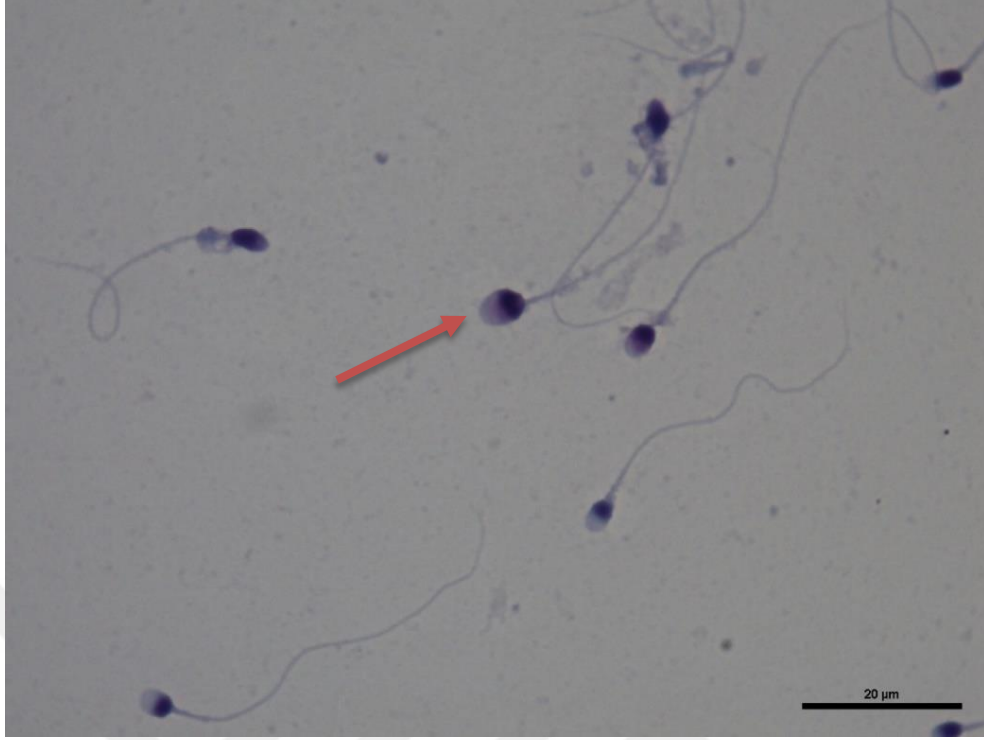
**Şekil 54:** Toplam sperm sayısı, sperm konsantrasyonu ve kruger morfoloji değerlerinin grafiksel görünümü.



**Şekil 55:** Grup 1'e ait sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Küçükbaş (kırmızı ok), akrozomsuz-çift kuyruklu (yeşil ok), uzamış baş (mavi ok), normal sperm hücresi (siyah ok) (Diff-quick, 100xObj Bar:20 µm)



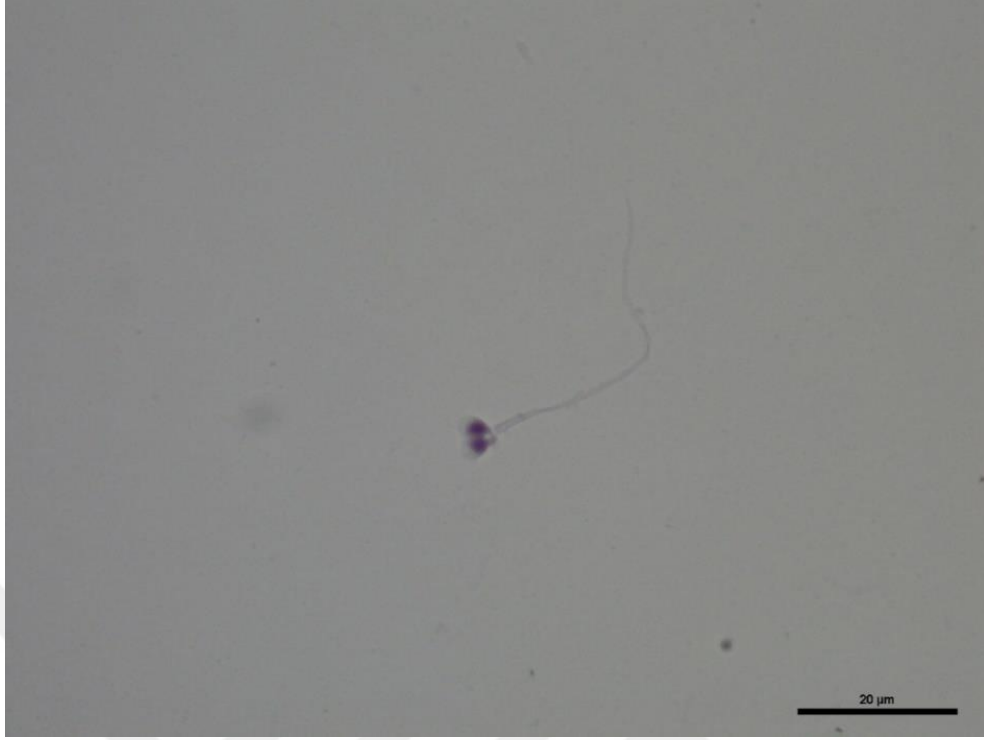
**Şekil 56:** Grup 2'ye ait sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Kıvrık boyun (kırmızı ok), sarmal kuyruk (siyah ok), vakuollü akrozom (yeşil ok) (Diff-quick, 100xObj Bar:20 µm)



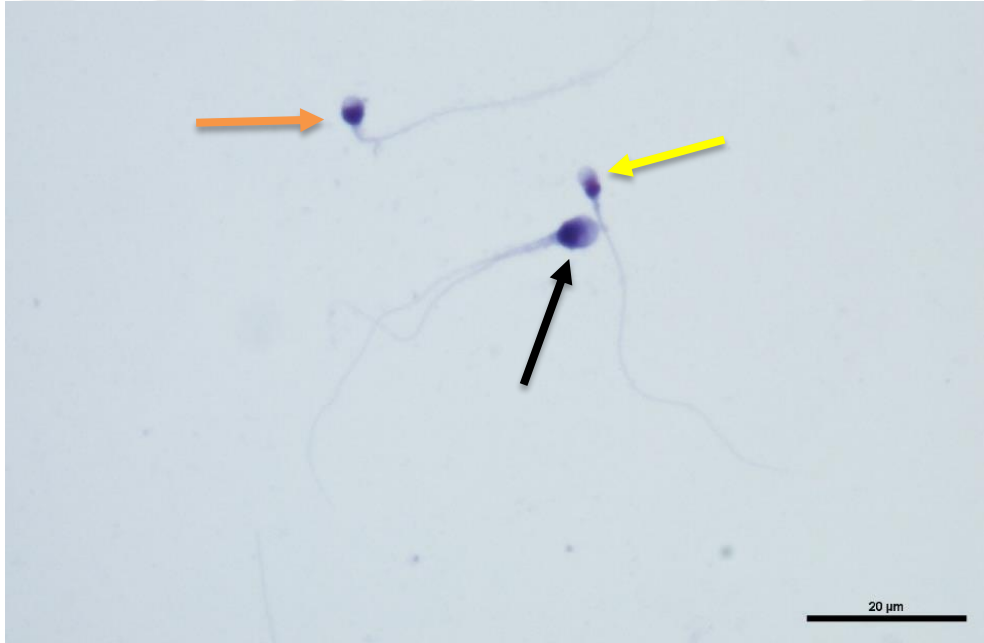
**Şekil 57:** Grup 3'ye ait sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Büyük baş (kırmızı) ve normal sperm (Diff-quick, 100xObj Bar:20 μm)



**Şekil 58:** Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Çift kuyruklu (siyah ok), küçük çekirdek-büyük akrozom (turuncu ok) (Diff-quick, 100xObj Bar:20 μm)

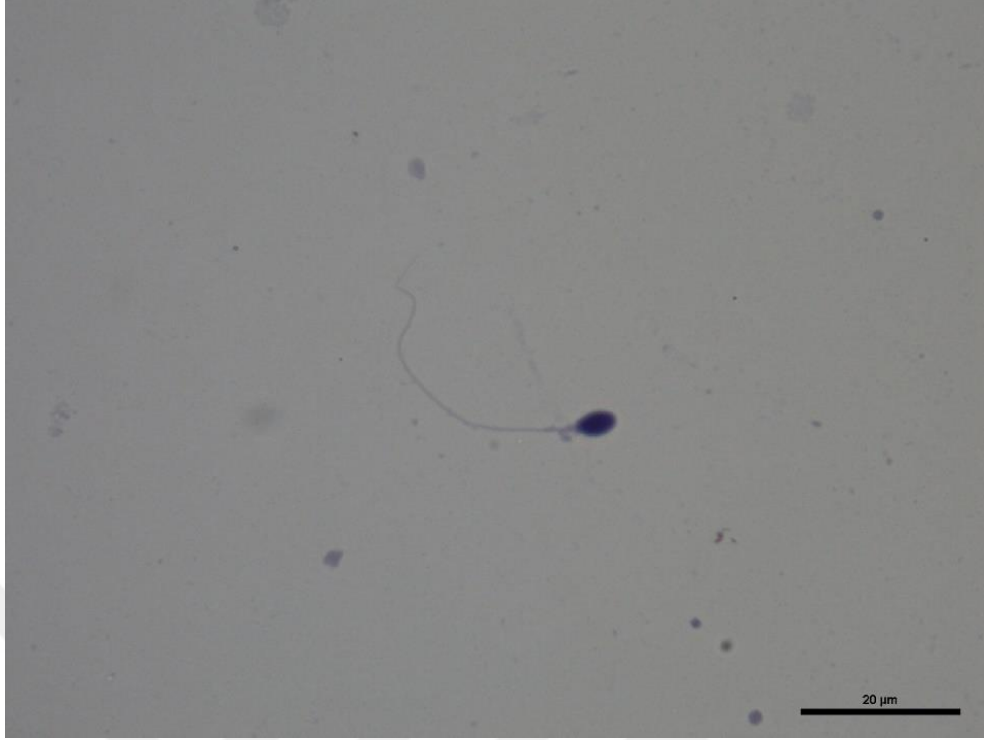


**Şekil 59:** Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Çift başlı (Diff-quick, 100xObj Bar:20 µm)

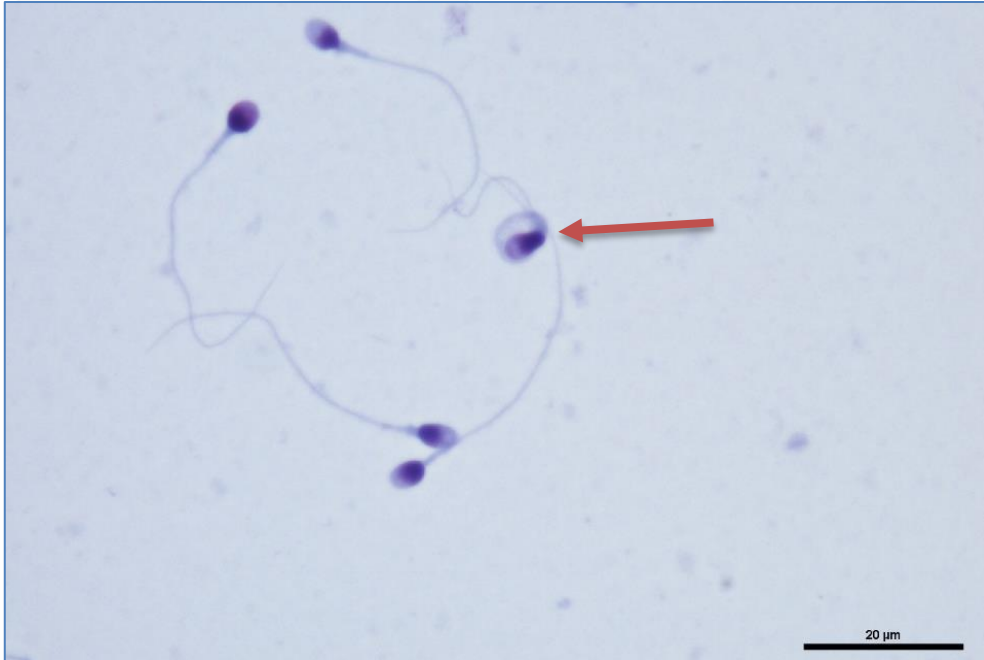


**Şekil 60:** Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Yuvarlak baş (turuncu ok), çift kuyruklu-büyük başlı (siyah ok), akrozom fazlalığı (sarı ok)  
(Diff-quick, 100xObj Bar:20 µm)

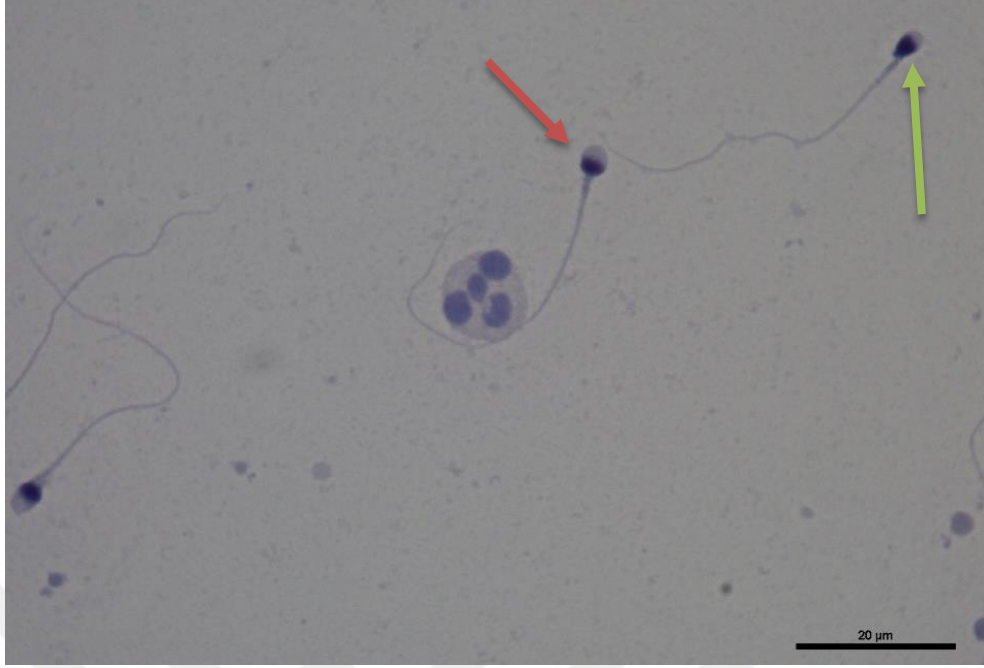




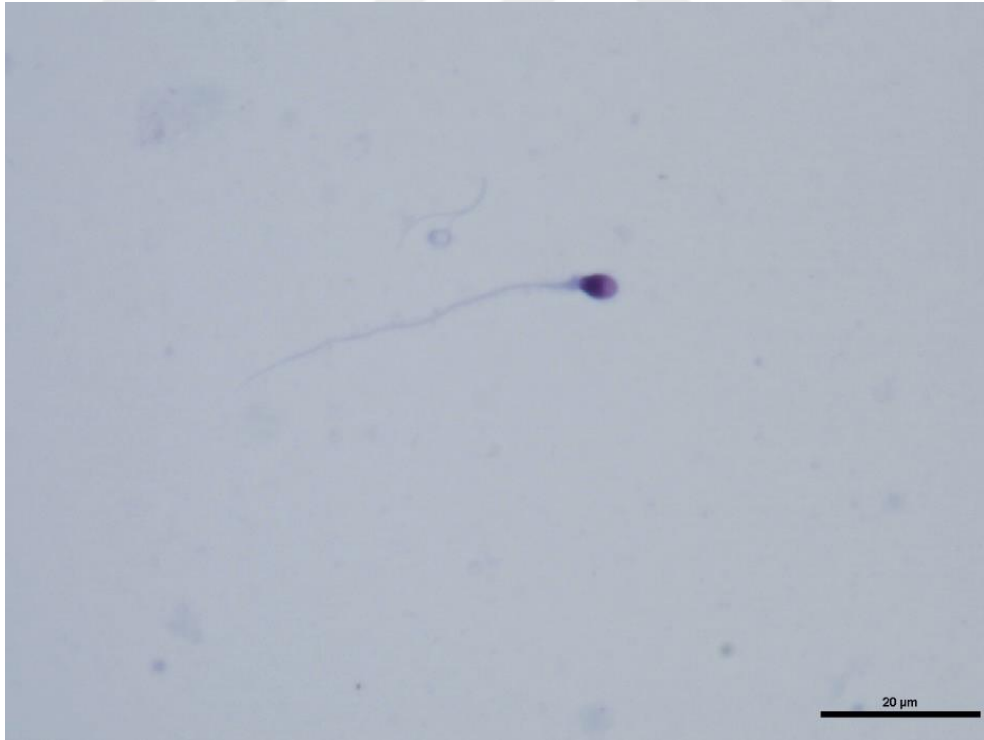
**Şekil 61:** Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Akrozomsuz (Diff-quick, 100xObj Bar:20 µm)



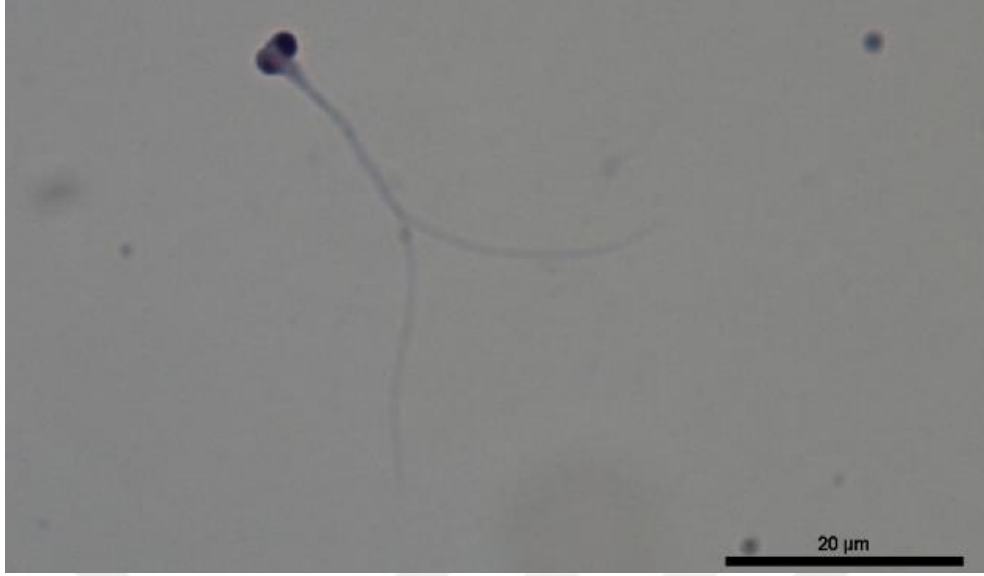
**Şekil 62:** Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Sarmal kuyruk (Diff-quick, 100xObj Bar:20 µm)



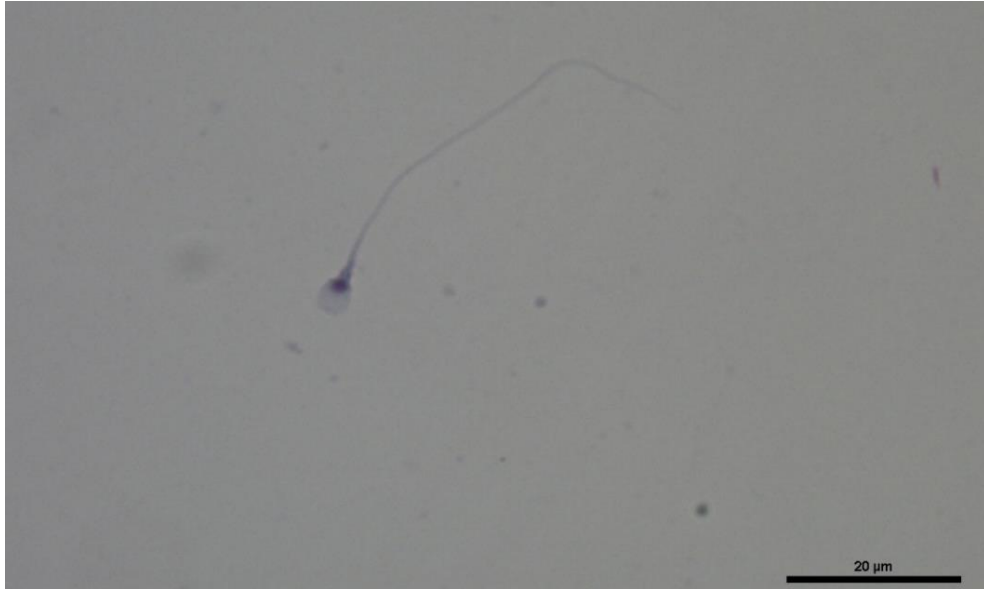
**Şekil 63:** Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Yuvarlak baş (kırmızı ok), Non-aksiyel Mid-piece (yeşil ok) (Diff-quick, 100xObj Bar:20 µm)



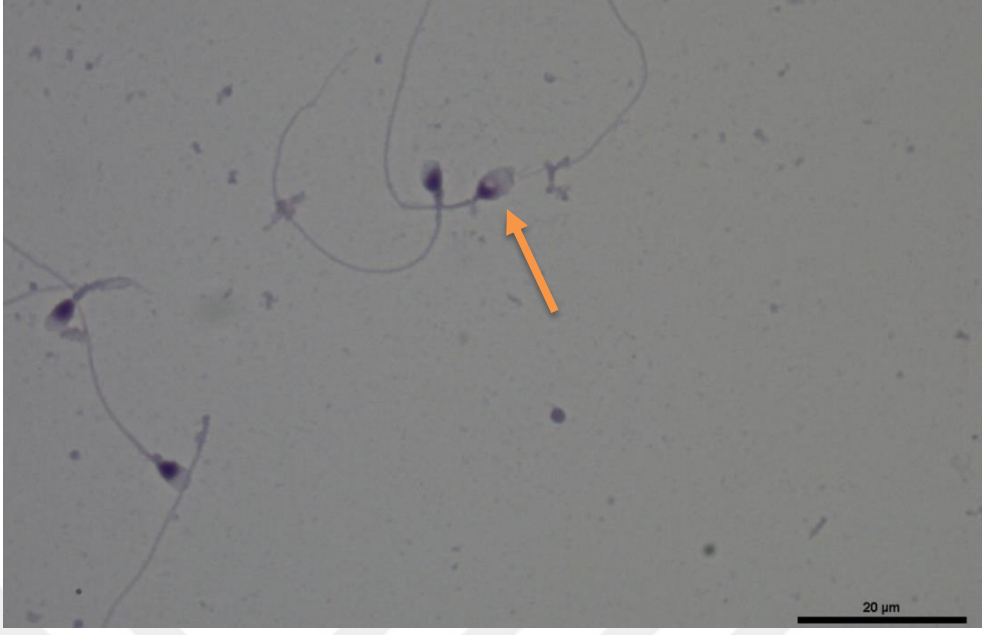
**Şekil 64:** Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Normal sperm (Diff-quick, 100xObj Bar:20 µm)



**Şekil 65:** Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Çift başlı - çift kuyruklu -akrozomsuz (Diff-quick, 100xObj Bar:20 µm)



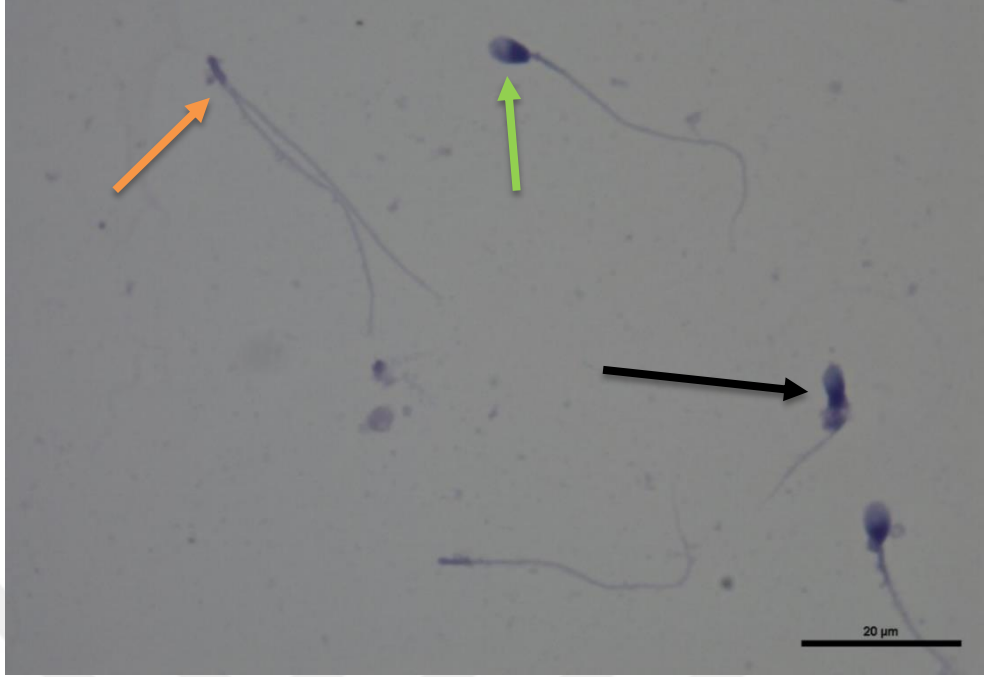
**Şekil 66:** Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Çekirdek az-akrozom fazla (Diff-quick, 100xObj Bar:20 µm)



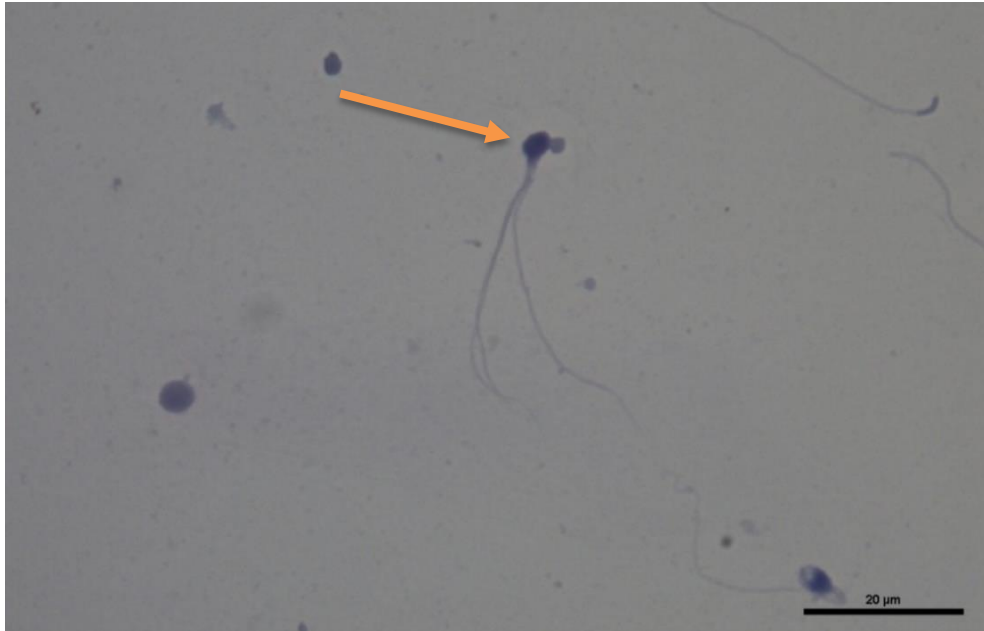
**Şekil 67:** Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Vakuollü çekirdek-büyük baş (turuncu ok) (Diff-quik, 100xObj Bar:20 µm)



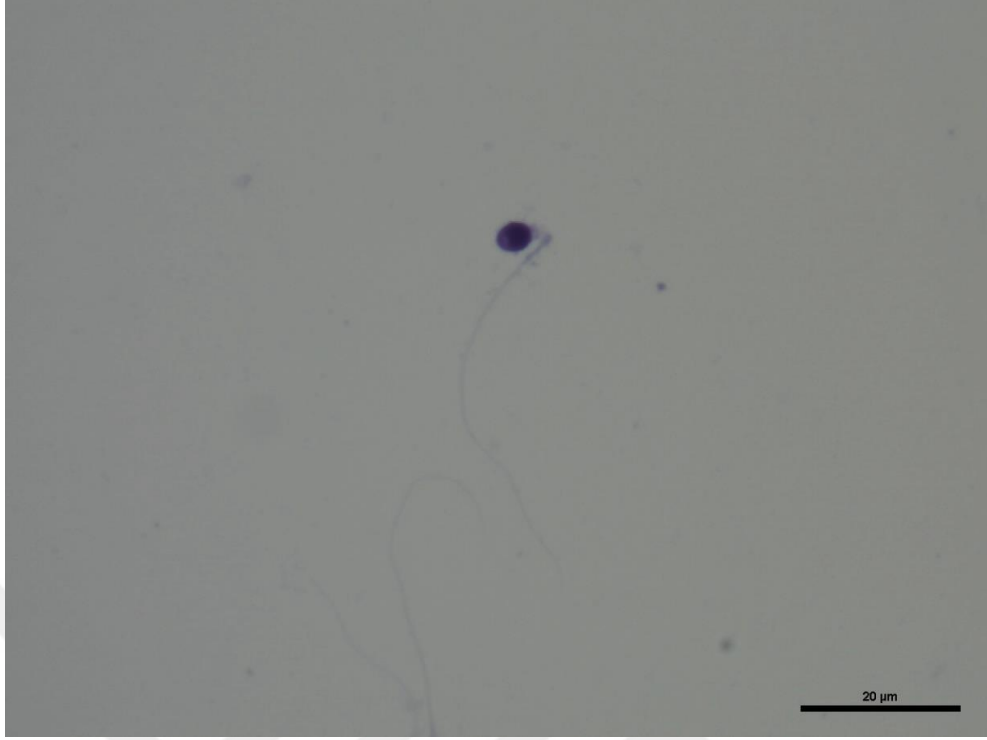
**Şekil 68:** Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Sarmal kuyruk(turuncu ok) (Diff-quik, 100xObj Bar:20 µm)



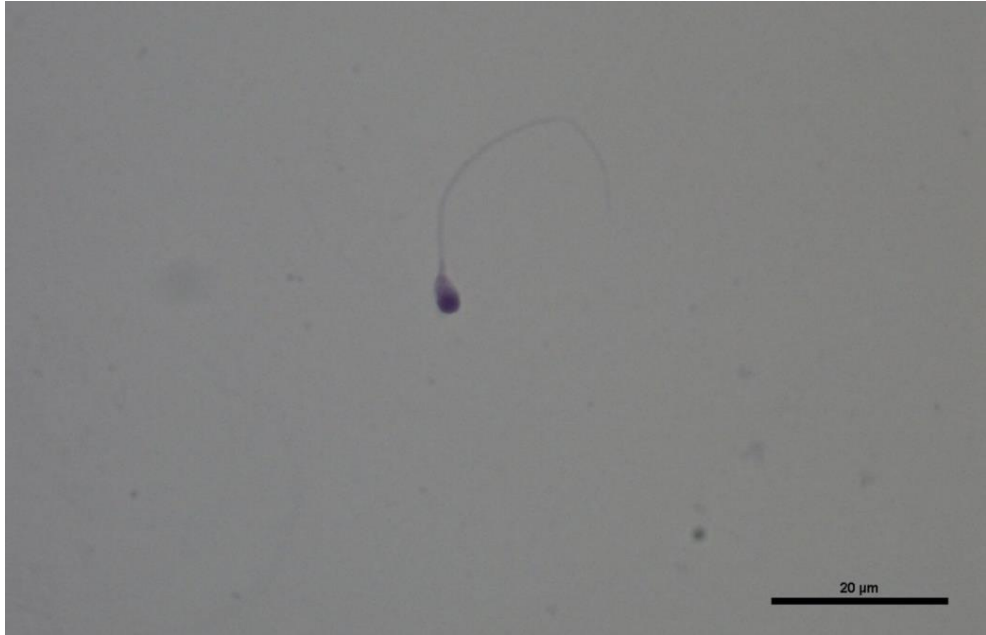
**Şekil 69:** Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Başsız-çift kuyruk (turuncu ok), uzamış baş (siyah ok), Non-aksiyel Mid-piece (yeşil ok) (Diff-  
quik, 100xObj Bar:20 µm)



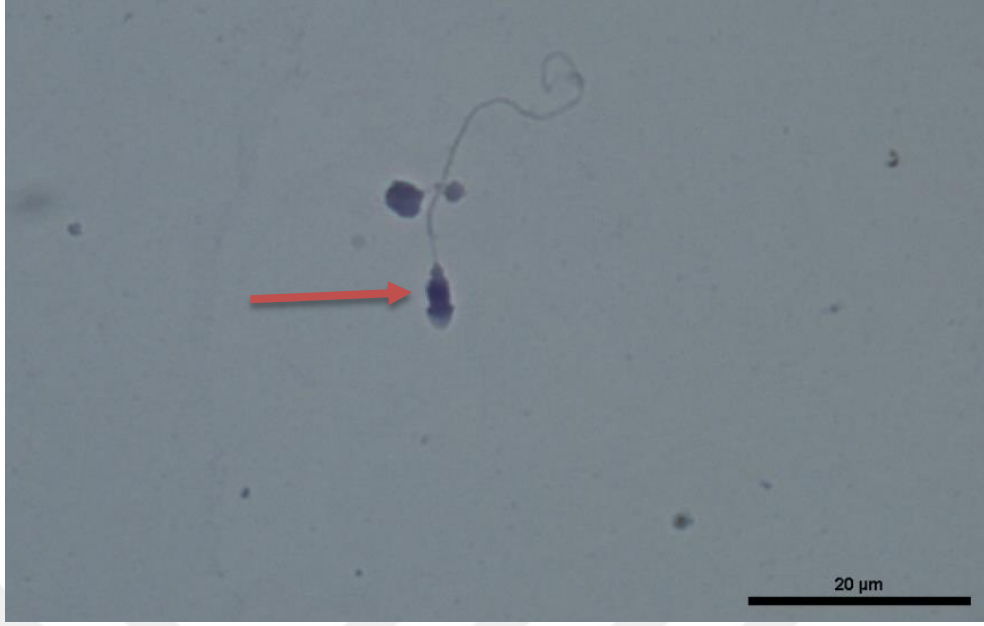
**Şekil 70:** Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Akrozomsuz-üç kuyruklu (turuncu ok), kıvrık boyun (siyah ok) (Diff-quik, 100xObj Bar:20 µm)



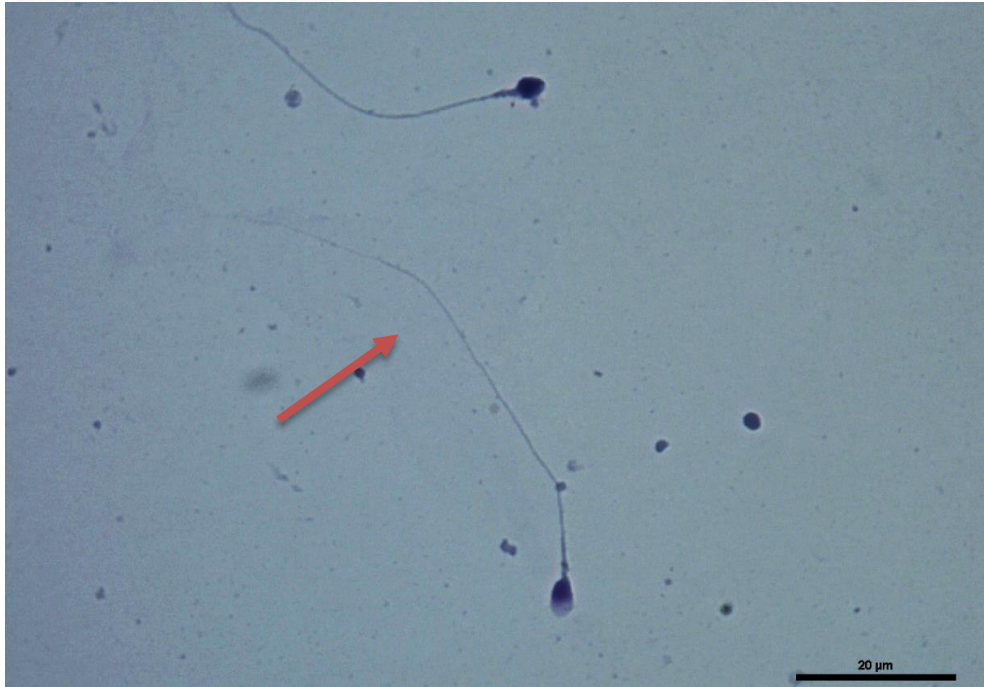
**Şekil 71:** Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Kıvrık boyun (Diff-quick, 100xObj Bar:20 µm)



**Şekil 72:** Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Çekirdek apikalde (Diff-quick, 100xObj Bar:20 µm)



**Şekil 73:** Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
İnkomplet akrozom ayrılması (Diff-quick, 100xObj Bar:20 µm)



**Şekil 74:** Sperm hücrelerinin mikroskopik görüntüsü  
Uzun kuyruk (turuncu ok) (Diff-quick, 100xObj Bar:20 µm)

### 4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

Yapmış olduğumuz çalışmamız sonucunda farklı yaş gruplarındaki bireylere ait immünohistokimyasal boyalı sperm yayma preparatlarında sperm hücrelerindeki aquaporin proteinlerinden AQP 3, 7 ve 8'in immünohistokimyasal ekspresyonları ışık mikroskobu altında boyama şiddetine göre değerlendirilerek immünoreaksiyon aktiviteleri tespit edildi (Tablo: 18-22). İmmün boyanma şiddetlerinin ağırlıklı ortalama değerleri sonuçları boyanma H-Skorlama sistemine dönüştürülerek semi kantitatif olarak derecelendirildi (Tablo:22). Hesaplanan H-Skorlama değerlerin grup ortalama değerlerin istatistiki karşılaştırmaları yapılarak her bir protein ekspresyonu bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık olup olmadığı gözlemlendi. Farklı yaş gruplarına ait semen numunelerindeki aquaporinlerin immünoreaksiyon aktivite miktarlarının gruplardaki değerleri ve grupların kıyaslanması grafik olarak Şekil 75-78'de gösterilmiştir.

Aquaporin-3'ün immünohistokimyasal ekspresyonları Grup 1'de en az seviyede iken grup 2 ve 3'te önemli oranda bir artış mevcuttur. Grup 2'de ise en fazla oranda tespit edilmiştir.

Aquaporin-7 immünohistokimyasal ekspresyonları Grup 2'de en az miktarda bulunurken, Grup 3 ile aralarında küçük oranda bir fark vardır. Grup 1'de ise bu fark oldukça artmıştır.

Aquaporin-8 moleküllerinin immünohistokimyasal ekspresyonları ise Grup 1'de en düşük bulunurken, en fazla Grup 2'de en yüksek Grup 3 de ise her ikisi arasında bir değerde bulunmuştur.

Farklı yaş gruplarına ait her bir aquaporin molekülünün (AQP 3, 7 ve 8) immünohistokimyasal ekspresyonlarına ait temsili mikroskobik görüntü resimleri Şekil: 79-88'de gösterilmiştir.



**Tablo 18:** Grup 1 Aquaporin immünohistokimyasal ekspresyonları

| <b>Aquaporinler Grup 1</b> |                |                |               |                |                |               |                |                |               |
|----------------------------|----------------|----------------|---------------|----------------|----------------|---------------|----------------|----------------|---------------|
| <b>No</b>                  | <b>AQP 3</b>   |                |               | <b>AQP 7</b>   |                |               | <b>AQP 8</b>   |                |               |
|                            | <b>Negatif</b> | <b>Pozitif</b> | <b>Toplam</b> | <b>Negatif</b> | <b>Pozitif</b> | <b>Toplam</b> | <b>Negatif</b> | <b>Pozitif</b> | <b>Toplam</b> |
| 1                          | 106            | 2              | 108           | 39             | 78             | 117           | 108            | 4              | 112           |
| 2                          | 103            | 4              | 107           | 10             | 107            | 117           | 102            | 2              | 104           |
| 3                          | 113            | 2              | 115           | 65             | 51             | 116           | 122            | 5              | 127           |
| 4                          | 108            | 4              | 112           | 20             | 86             | 109           | 94             | 2              | 103           |
| 5                          | 107            | 2              | 109           | 98             | 6              | 104           | 100            | 14             | 114           |
| 6                          | 106            | 3              | 109           | 77             | 42             | 118           | 103            | 7              | 110           |
| 7                          | 102            | 5              | 107           | 82             | 28             | 110           | 106            | 2              | 108           |
| 8                          | 100            | 4              | 104           | 35             | 74             | 109           | 109            | 4              | 113           |
| 9                          | 101            | 5              | 106           | 68             | 38             | 106           | 108            | 7              | 115           |

**Tablo 19:** Grup 2 Aquaporin immünohistokimyasal ekspresyonları

| <b>Aquaporinler Grup 2</b> |                |                |               |                |                |               |                |                |               |
|----------------------------|----------------|----------------|---------------|----------------|----------------|---------------|----------------|----------------|---------------|
| <b>No</b>                  | <b>AQP 3</b>   |                |               | <b>AQP 7</b>   |                |               | <b>AQP 8</b>   |                |               |
|                            | <b>Negatif</b> | <b>Pozitif</b> | <b>Toplam</b> | <b>Negatif</b> | <b>Pozitif</b> | <b>Toplam</b> | <b>Negatif</b> | <b>Pozitif</b> | <b>Toplam</b> |
| 1                          | 136            | 10             | 146           | 72             | 68             | 163           | 111            | 7              | 118           |
| 2                          | 106            | 4              | 117           | 90             | 28             | 118           | 96             | 22             | 118           |
| 3                          | 101            | 19             | 120           | 84             | 38             | 122           | 102            | 10             | 112           |
| 4                          | 98             | 20             | 118           | 104            | 24             | 128           | 109            | 16             | 125           |
| 5                          | 99             | 17             | 116           | 98             | 13             | 111           | 105            | 5              | 110           |
| 6                          | 90             | 18             | 108           | 88             | 21             | 109           | 106            | 9              | 115           |
| 7                          | 102            | 17             | 118           | 92             | 18             | 110           | 107            | 7              | 114           |
| 8                          | 109            | 13             | 122           | 100            | 17             | 117           | 102            | 22             | 124           |
| 9                          | 91             | 24             | 115           | 100            | 24             | 124           | 99             | 13             | 112           |
| 10                         | 95             | 15             | 110           | 90             | 30             | 120           | 90             | 15             | 105           |

**Tablo 20:** Grup 3 Aquaporin immünohistokimyasal ekspresyonları

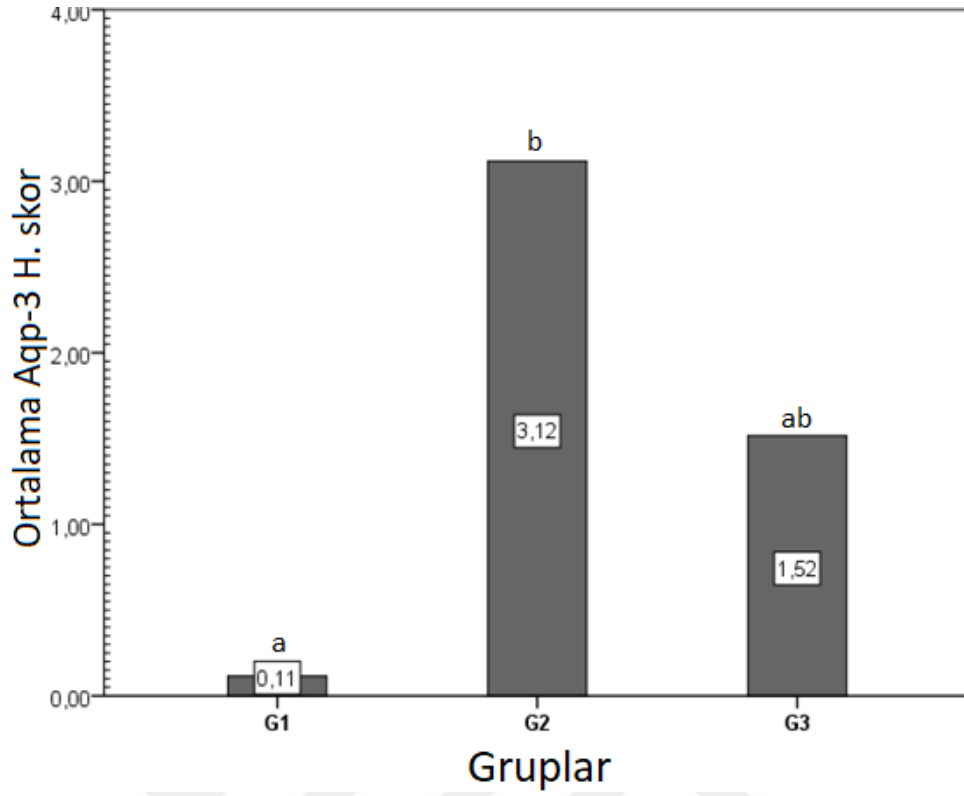
| <b>Aquaporinler Grup 3</b> |                |                |               |                |                |               |                |                |               |
|----------------------------|----------------|----------------|---------------|----------------|----------------|---------------|----------------|----------------|---------------|
| <b>No</b>                  | <b>AQP 3</b>   |                |               | <b>AQP 7</b>   |                |               | <b>AQP 8</b>   |                |               |
|                            | <b>Negatif</b> | <b>Pozitif</b> | <b>Toplam</b> | <b>Negatif</b> | <b>Pozitif</b> | <b>Toplam</b> | <b>Negatif</b> | <b>Pozitif</b> | <b>Toplam</b> |
| 1                          | 99             | 7              | 106           | 89             | 22             | 111           | 108            | 4              | 112           |
| 2                          | 94             | 20             | 114           | 93             | 27             | 120           | 107            | 10             | 117           |
| 3                          | 99             | 6              | 105           | 31             | 77             | 108           | 104            | 2              | 106           |
| 4                          | 104            | 12             | 116           | 99             | 18             | 117           | 102            | 9              | 111           |
| 5                          | 96             | 7              | 103           | 68             | 17             | 85            | 82             | 4              | 86            |
| 6                          | 106            | 7              | 113           | 85             | 21             | 106           | 104            | 6              | 110           |
| 7                          | 108            | 18             | 126           | 90             | 25             | 115           | 98             | 8              | 106           |
| 8                          | 99             | 22             | 121           | 93             | 29             | 122           | 111            | 4              | 115           |
| 9                          | 106            | 8              | 114           | 98             | 18             | 116           | 100            | 17             | 117           |
| 10                         | 100            | 10             | 110           | 108            | 15             | 123           | 103            | 7              | 110           |

**Tablo 21:** Aquaporin immünohistokimyasal ekspresyonlarının grup ortalamaları

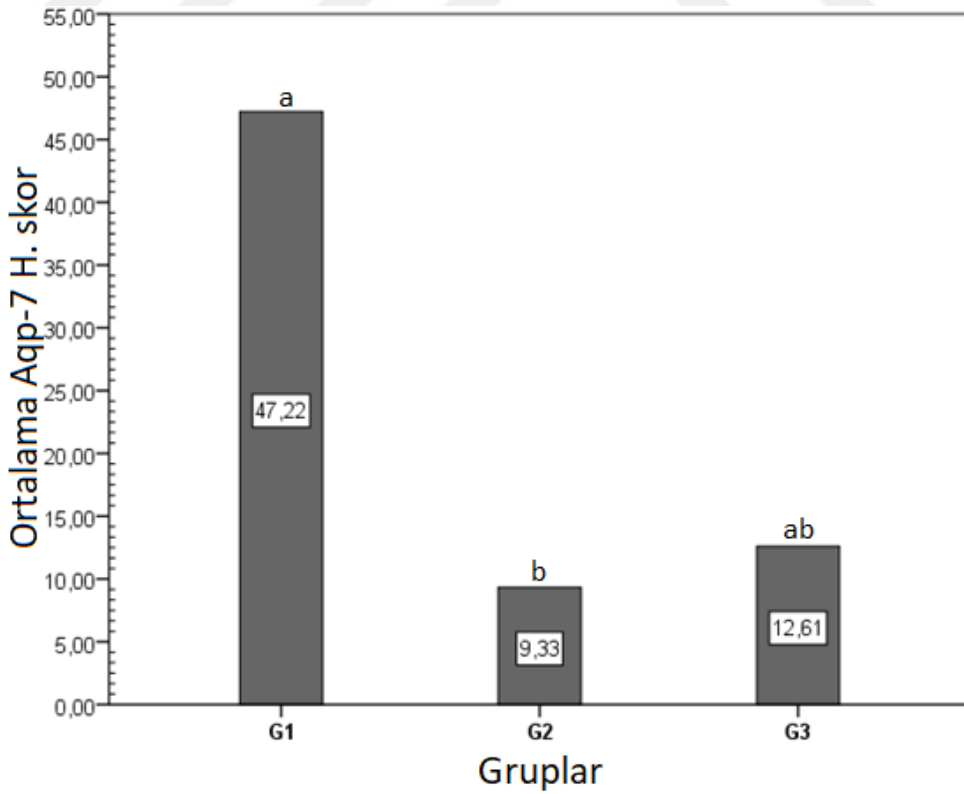
| <b>Aquaporin Grup Ortalamaları</b> |                |                |               |          |                |                |               |          |                |                |               |          |
|------------------------------------|----------------|----------------|---------------|----------|----------------|----------------|---------------|----------|----------------|----------------|---------------|----------|
| <b>No</b>                          | <b>AQP 3</b>   |                |               |          | <b>AQP 7</b>   |                |               |          | <b>AQP 8</b>   |                |               |          |
|                                    | <b>Negatif</b> | <b>Pozitif</b> | <b>Toplam</b> | <b>%</b> | <b>Negatif</b> | <b>Pozitif</b> | <b>Toplam</b> | <b>%</b> | <b>Negatif</b> | <b>Pozitif</b> | <b>Toplam</b> | <b>%</b> |
| G-1                                | 105,1          | 3,4            | 108,6         | 3,2      | 54,9           | 56,7           | 111,6         | 50,4     | 105,8          | 5,2            | 111,0         | 4,6      |
| G-2                                | 102,7          | 15,7           | 118,4         | 13,4     | 91,8           | 28,1           | 119,9         | 22,8     | 102,7          | 12,6           | 115,3         | 10,8     |
| G-3                                | 101,1          | 11,7           | 112,8         | 10,2     | 85,4           | 26,9           | 112,3         | 24,2     | 101,9          | 7,1            | 109,0         | 6,4      |

**Tablo 22:** Aquaporin immünohistokimyasal ekspresyonlarının ağırlıklı grup ortalamaları H skor sonuçları ( $\pm$ SEM)

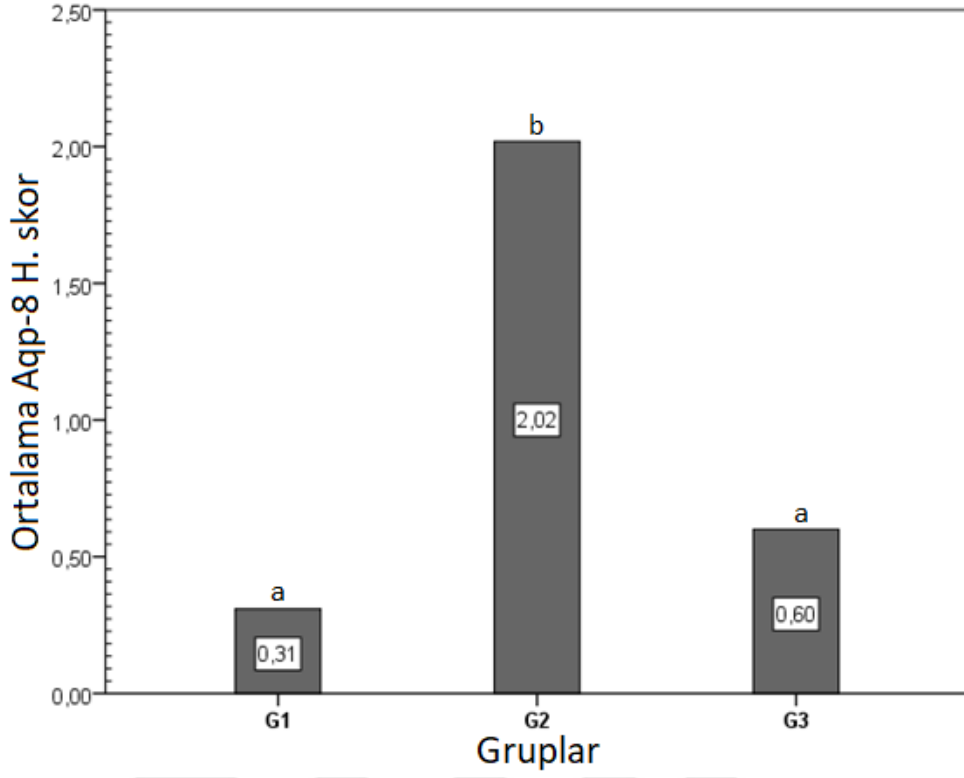
| <b>Grup</b> | <b>AQP3 HS</b>  | <b>AQP7 HS</b>    | <b>AQP8 HS</b>  |
|-------------|-----------------|-------------------|-----------------|
| G-1         | 0,11 $\pm$ 0,03 | 47,22 $\pm$ 16,15 | 0,31 $\pm$ 0,16 |
| G-2         | 3,12 $\pm$ 0,63 | 9,33 $\pm$ 3,03   | 2,02 $\pm$ 0,53 |
| G-3         | 1,52 $\pm$ 0,45 | 12,61 $\pm$ 7,78  | 0,60 $\pm$ 0,21 |



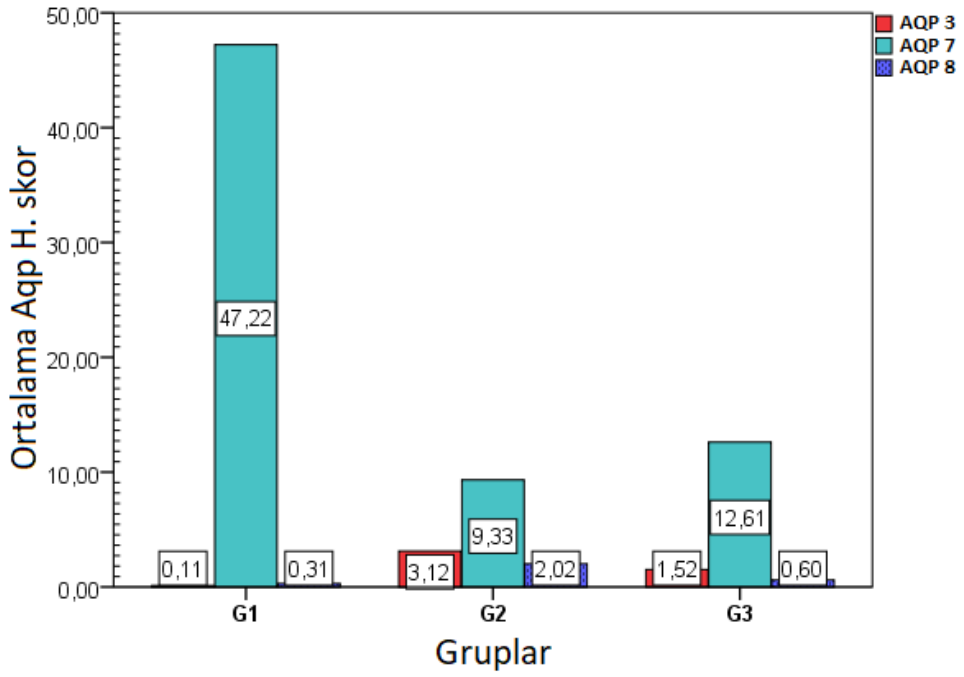
Şekil 75: Aquaporin 3 immünohistokimyasal ekspresyonları



Şekil 76: Aquaporin 7 immünohistokimyasal ekspresyonları



Şekil 77: Aquaporin 8 immünohistokimyasal ekspresyonları



Şekil 78: Aquaporin ekspresyonlarının grup karşılaştırması



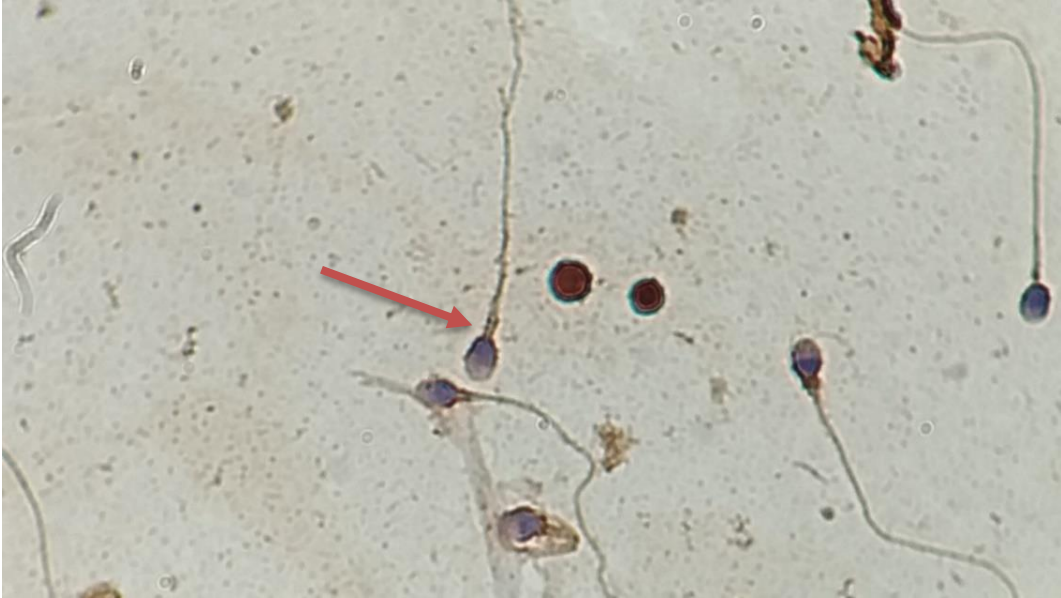
**Şekil 79:** Aqp-3 Ab immun boyanmış sperm hücresi  
Baş ve boyunda boyanma (İHK-DAB,100xobj.)



**Şekil 80:** Aqp-3 Ab immun boyanmış sperm hücresi  
Boyunda boyanma (İHK-DAB,100xobj.)



**Şekil 81:** Aqp-3 Ab immun boyanmış sperm hücresi  
Boyunda boyanma (İHK-DAB,100xobj.)



**Şekil 82:** Aqp-7 Ab immun boyanmış sperm hücresi  
Boyunda boyanma (İHK-DAB,100xobj.)



**Şekil 83:** Aqp-7 Ab immun boyanmış sperm hücresi  
Baş ve boyunda boyanma (İHK-DAB,100xobj.)



**Şekil 84:** Aqp-7 Ab immun boyanmış sperm hücresi  
Başta boyanma (İHK-DAB,100xobj.)



**Şekil 85:** Aqp-8 Ab immun boyanmış sperm hücresi  
Kalın boyunlu ve uzamış başlı spermde boyunda boyanma (İHK-DAB,100xobj.)



**Şekil 86:** Aqp-8 Ab immun boyanmış sperm hücresi  
Başta boyanma (İHK-DAB,100xobj.)





**Şekil 87:** Aqp-8 Ab immun boyanmış sperm hücresi  
Boyunda boyanma (İHK-DAB,100xobj.)



**Şekil 88:** Aqp-8 Ab immu boyanmış sperm hücresi  
Boyunda boyanma (İHK-DAB,100xobj.)

## 5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Erkek fertilitésinin ana fizyolojik belirleyicileri sperm motilitesi, sayısı ve morfoloji parametreleridir. Tezimizde bu faktörlere etki edebilecek olan ve daha önce erkek üreme sisteminde tespit edilmiş Aquaporin moleküllerinden Aqp-3, Aqp-7 ve Aqp-8'in immünohistokimyasal ekspresyonları, rutin sperm testleri ve morfoloji analizleri yapıldı.

Spermiyogramın makroskobik parametrelerinden semen hacimi çoktan aza doğru, sıra ile Grup1, Grup2 ve Grup3 şeklinde tespit edilmiştir. Hacim miktarı yaşa bağlı olarak azalma eğiliminde olduğu gözlemlendi. Diğer parametreler (likefikasyon, vizkozite, görünüm, agregasyon ve pH) açısından ise gruplar arası farklılıklar gözlemlenmedi yaşla bağlantılı olarak bulunmamıştır.

Spermiyogram mikroskobik parametrelerden sperm konsantrasyonu çoktan aza doğru grup 3, 1 ve 2 şeklindedir. Bilindiği gibi sperm yapımı 40'lı yaşlar sonrasında bir azalma göstererek devam eder. Grup 3'ün konsantrasyonunun en fazla olması beklenmezken grup 3'ün grup içi yaş ortalamasının düşük olması neticesinde bu sonuçlar ortaya çıkmış olabilir. Bununla birlikte motil sperm (Progresif + Non-progresif sperm) konsantrasyonu ise yaşla birlikte azalma göstermiştir. Bunun aksine immotil sperm konsantrasyonu yaşla doğru orantılı olarak artarken ortalama hız da yaş artışıyla birlikte azalma göstermiştir.

Tüm gruplarda kruger strict morfoloji değerlendirmesinde normal sperm yüzdesi % 4'ün üzerinde çıkmış olup normal aralıkta yer almaktadır. Normal morfolojiye sahip sperm yüzdesi 1. Grupta en yüksek iken 2 ve 3. grupta bir azalma görüldü. Yaş artışına bağlı toplam sperm anomali sayısında artış olduğu görüldü.

En çok bulunan anomali baş anomalisi olup her 3 grupta da en fazla bulunan anomali tipi oldu. Baş onamalisinde 1. Grup ile 2. Grup arasında büyük bir fark olmamasına rağmen 3. Grup ile belirgin bir fark oluşmuştur. İkinci olarak en çok bulunan anomali ise kuyruk anomalisidir. 1. grupta en az bulunurken 3. grupta belirgin bir farkla daha fazla miktarda bulunmuştur. 3. Grup ile 2. Grup arasında da küçük oranda bir fark çıkmıştır. En az rastlanılan anomali de boyun anomalisi olup azdan çoğa doğru sırasıyla grup 3, grup 1 ve grup 2 şeklinde tespit edilmiştir.

Anomali tiplerinde bağımsız olarak her birinin yaş ile alakalı olarak bir orantı elde edilememesine karşın grupların toplam anomali miktarlarında yaşa bağlı olarak bir artış söz konusudur. Toplam anomali miktarına göre sırası ile 1. Grupta en az seviyede yer alırken 2. Grup ile 3. Gruplardaki anomali miktarı aynı oranda çıkmıştır. Bu sonuçlarımıza göre genel olarak anomali sperm sayısının yaş ile orantılı artığını söyleyebiliriz.

Sperm morfolojisine ve motilitesine etki edebilecek mekanizmalar içinde oksidatif stres ve hipotonik maruziyeti oldukça önemlidir. Aquaporinlerin bu mekanizmalarda ki rollerinin önemi gün geçtikçe açığa çıkmaktadır. Ayrıca aquaporinler spermlerin dondurulmasında dondurulabilirlik belirteci olarakta işlevsellik göstermektedir. Bu özelliği ile son yıllarda oldukça gelişen ve çoğalan tüp bebek yönteminde sperm hücrelerinin dondurulmasından sonraki sağkalımını yani başarı oranını etkiler (Lanzafame ve ark., 2009; Kumar ve ark., 2015; Correal ve ark., 2017; Martínez ve ark., 2016; Martínez ve ark., 2017).

AQP 3'ün, sperm hareketlilik aktivasyonu için gerekli olan fizyolojik hipotonik stres (Morisawa ve Suzuki, 1980; Cosson ve ark., 2008) ile infertil hastaların spermlerinde yaygın olarak bulunan, spermlerin hareketini engelleyen ve hücre şişmesi

ile oluşan kuyruk bükülmesi arasındaki “dengeyi” sağlayan sperm düzenleyici hacim azalmasında (RVD- Regulatory Volume Decrease) rol oynadığı ileri sürülmüştür (Chen ve ark., 2011). Ayrıca AQP 3’ün domuz ve aygır sperm kriyotoleransı ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Martinez ve ark., 2017, Correal ve ark., 2017).

Qi Chen ve arkadaşların (2011) yaptıkları çalışmada normal erkek ile AQP 3 nakavt (AQP 3<sup>-/-</sup>) erkekler arasında testis ve epididim de dâhil olmak üzere ana erkek üreme organlarının ilk muayenesinde, morfolojide, histolojide, ayrıca sperm sayısında belirgin bir fark bulamamışlardır. Ayrıca AQP 3’ün lokalizasyonunun sperm kuyruk zarının ana parçası ile sınırlı olduğunu bulmuşlardır. Buna karşın Laforenza ve arkadaşları (2017) AQP 3 immüno etiketlemesinin, sperm kuyruk zarının ana parçasında ve spermlerin % 3’ünde baş ve orta kısımda granül şeklinde bulunduğunu gösterdi.

Çalışmamızda ise büyük çoğunluğu ana parçada olsa da az bir miktarda baş çevresinde de tespit edilmiştir. Elde ettiğimiz veriler AQP 3 ile kuyruk anomalileri arasında korelasyon gösterirken, fonksiyonel sperm sayısı, toplam hareketlilik ve progresif hareketlilik ile negatif korelasyon göstermiştir. AQP 3 miktarı yaşa bağlı olarak artış göstermesine karşın Grup 3’te Grup 2’ye göre bir miktar düşüş görülmektedir. Bu taployu özetlemek gerekirse 1.grupta daha az miktarda bulunan AQP 3 hipotonik strese karşı daha duyarlı iken 2. Grupta bulunan daha fazla orandaki AQP 3 ile hipotonik strese karşı direnç artmaktadır. Yaşın artmasıyla beraber bu direnç 3. Grupta bir miktar azalmaktadır diyebiliriz. Çalışmamızda kuyruk anomalileri ve toplam hareketlilik AQP 3 ile pozitif korelasyon gösterdi.

Laforenza ve arkadaşları (2017) AQP 7’yi sperm başının plazma membran bölgesinde lokalize olarak bulduklarını bildirdi. Saito ve arkadaşları (2004) AQP 7’yi

spermin orta parçasında ve ön kuyruk kısmında lokalize olduğunu göstermişlerdir. Yeung ve arkadaşları (2010), Saito ve arkadaşları (2004) AQP7 ekspresyonunun, hastalarda donörlere göre daha düşük olduğu ve ileri hareketlilik ile korele olduğu bildirildi. Moretti ve arkadaşları (2012) AQP 7'yi normal spermde, pericentriolar (sentriyol etrafında, orta kısımda) bölgede, ekvator segmentinde ve zayıf şekilde kuyrukta etiketledi. Anormal spermelerde ise sitoplazmik kalıntılarda, sarmal kuyruklarda, başın tamamında ve akrozomda belirgin fakat düşük oranda floresan yoğunluğu tespit edilmiştir. Moretti ve arkadaşlarının (2012) yapmış olduğu çalışmada AQP 7 ile normal sperm morfolojisi arasında pozitif korelasyon gösterirken sitoplazmik kalıntı, sarmal kuyruk ve olgunlaşmamışlık yüzdeleri ile negatif korelasyon tespit etmişlerdir. Diğer bir çalışmada fertil olan AQP 7 nakavt farelerde olduğu gibi, AQP 7 nakavt bir erkeğin de fertil olduğu rapor edilmiştir (Kondo ve ark., 2002). AQP 7'nin yaban domuzu ve boğa sperm kriyotoleransı ile ilişkili olduğu bildirilmiş (Martinez ve ark., 2016; Martinez ve ark., 2017) fakat aygır sperm kriyotoleransı ile ilişkili olmadığı görülmüştür (Correal ve ark., 2017).

Çalışmamızdaki sonucalar Moretti ve arkadaşlarının bulgularını desteklemektedir. Fakat normal spermde AQP 7'nin büyük çoğunluğu başta bulunmuştur. Anormal spermelerde ise yine çoğunlukla başta olmak üzere diğer kısımlarda da tespit edildi. AQP 7 toplam hareketlilik ve fonksiyonel spermle korelasyon göstermekte (Yeung ve ark., 2010; Saito ve ark., 2004 ile uyumlu olarak) olup çoğunlukla 1 pozitif olarak değerlendirilmiştir. Grup1'de en fazla yoğunlukta bulunmuştur. Yaşa bağlı olarak yaşla beraber bir azalma görülmesine karşın grup 2'de grup 3'e göre küçük bir miktar da daha az bulunmuştur.

AQP8'in spermatidlerin spermatozoaya farklılaşması sırasında sitoplazmanın azaltılmasında rol oynadığı öne sürülmüştür (Calamita ve ark., 2001a). AQP 7 ve AQP 8'in ekspresyonu sıçanlarda yaş boyunca değiştiği, doğum sonrası 15.günden 20.gün daha yüksek olduğu bildirildi (Calamita ve ark., 2001b). Ayrıca bu proteinin, osmolalite (1000gr çözücüde çözünmüş partikül sayısıdır) değişikliklerine sperm adaptasyonunda yer aldığı ileri sürülmüştür (Yeung CH ve ark., 2010 ).

Laforenza ve arkadaşları (2017) AQP 8'i spermatozoanın orta kısmında, mitokondride bölgesinde ve orta kısım plazma zarının yakınında spermlerin % 2'sinde yoğun immünoreaktivite bulmuşlardır. Başka bir çalışmada granüler yamalar olarak kuyrukta lokalizasyonu gözlenmiştir (Yeung ve ark., 2010). AQP 8'in insan spermünde kesikli bir düzende spermatozoanın sitoplazmik damlacık üzerinde ve kuyruk boyunca olduğunu söylemişlerdir. Yapılan bir çalışmada AQP 8 molekülünün insanda motilite ile korelasyon göstermediği, sperm kıvrılma derecesi ile ters orantılı olduğu fakat hastalar ve donörler arasında hiçbir fark olmadığını belirtilmektedirler (Yeung ve ark. 2009a). Çalışmamızda AQP 8 normal spermlerde neredeyse hiç bulunmazken, anormal spermlerin orta parçasında özellikle kalın boyunlu spermlerde yoğun olarak rastlanmış olup yaşlanma ile bağlantısı tespit edilememiştir.

Aquaporinler ile ilgili sperm üzerine yapılan çalışmaların az sayıda olması, yapılan çalışmalarda lokalizasyonların ve yoğunluğun farklı bulunması karışıklık oluşturmaktadır. Bazı AQP'lerin eksikliklerinin fonksiyonel olarak diğer aquaporin üyeleri tarafından telafi edilebilir olma ihtimali de bulunabilmektedir.

Bu çalışmamızda AQP 3, 7 ve 8 moleküllerinin insan sperm hücrelerindeki ekspresyonları immünohistokimyasal olarak tespit edilip gösterilmiştir ve sperm aktivitesi

ve morfolojisiyle olan korelesyonu yorumlanmıştır. Ayrıca yaşlanma ile olan bağlantısı da değerlendirilmiştir. Çalışma sonunda elde ettiğimiz sonuçlarımızın karşılaştırılması ve yorumlanması neticesinde bu moleküllerin sperm motilitesi ve morfolojisi ile ilişkili olduğu desteklenmekte olup AQP 3'ün yaş ile orantılı arttığını, AQP 7'nin yaş ile orantılı olarak azaldığını, AQP 8'in ise anomalili spermelerde daha yoğun olduğu ancak yaşlanma ile olan bağlantısı tespit edilememiştir.

Sonuç olarak spermiyogram değerleri açısından gruplar arasında belirgin fark bulunmadı. Sperm anomalisi yaşlanma ile artmış olsa da gruplar arasında istatistiksel bir fark tespit edilmedi. Aqp-3 ve Aqp-8, Grup2 de; Aqp-7, ise Grup1 de belirgin olarak artmıştı. Bu sonuçlarımıza göre Aqp-3 ve Aqp-8, 26 ila 35 yaşlarda; AQP 7'nin ise 18 ila 25 yaşlar arasına maksimum olarak exprese edildiğini söyleyebiliriz. Her ne kadar sonuçlarımız bu şekilde olsa da iddialı ve kesin kararlar için üst düzey ileri tekrarlı çalışmaların yapılmasını öneriyoruz.

## KAYNAKLAR

1. Agarwal A, Virk G, Ong C, du Plessis SS. (2014). Effect of oxidative stress on male reproduction. *World. J. Mens Health*, 32, 1–17.
2. Agger P. (1971). Scrotal and testicular temperature: Its relation to sperm count before and after operation for varicocele. *Fertil Steril*, 22: 286-297
3. Agre P, Kozono D. (2003). Aquaporin water channels: molecular mechanisms for human diseases. *FEBS Letters*, 555: 72-78
4. Agre P, Landon S, King Yasui M, Et Al. (2002). Aquaporin water channels – from atomic structure to clinical medicine. *Journal Of Physiology*, 1: 3-16
5. Agre P, Sasaki S and Chrispeels MJ. (1993). Aquaporins: a family of membrane water channels. *American Journal of Physiology*, 265; F461.
6. Aitken RJ, Fisher HM, Fulton N, Gomez E, Knox W, Lewis B, Irvine S. (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.
7. Aitken RJ, West K, Buckingham D. (1994). Leukocytic infiltration into the human ejaculate and its association with semen quality, oxidative stress, and sperm function. *J. Androl*, 15; 343–352.
8. Alvarez C et al. (2003). Biological variation of seminal parameters in healthy subjects. *Human Reproduction*, 18: 2082-2088.
9. Andersen AG et al. (2000). High frequency of sub-optimal semen quality in an unselected population of young men. *Human Reproduction*, 15: 366-372.
10. Arıncı K, Elhan A. (2006). Anatomi. 1. Cilt. 4. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi.
11. Arıncı K, Elhan A. (1997). Anatomi 1. cilt. 2. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 417-420.
12. Auger J et al. (1995). Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. *New England Journal of Medicine*, 332:281-285.
13. Aydos SE, Elhan AH, Tükün A. (2005). Obstetrics: Is telomere length one of the determinants of reproductive life span? *Arch Gynecol Obstet*, 272(2):113116.
14. Baker HW, Kovacs GT. (1985). Spontaneous improvement in semen quality: regression towards the mean. *International Journal of Andrology*, 8: 421-426.
15. Bansal A.K, Bilaspuri GS. (2011). Impacts of oxidative stress and antioxidants on semen functions. *Vet. Med. Int*.
16. Barret KE, Barman SM, Boitano S, Brooks HL. (2010). *Ganong's Review Of Medical Physiology*. McGraw Hill/Lange.
17. Basciani S, De Luca G, Dolci S, Brama M, Arizzi M, Mariani S, et al. (2008). Platelet-derived growth factor receptor beta-subtype regulates proliferation and migration of gonocytes. *Endocrinology*, 149: 6226–6235
18. Basciani S, Mariani S, Spera G, Gnassi L. (2010). Role of platelet-derived growth factors in the testis. *Endocr. Rev*. 31: 916–939



19. Bayard F, Boulard PY, Huc A, Pontonnier F. (1975). Arterio-venous transfer of testosterone in the spermatic cord of man. *J Clin Endocrinol Metab*, 40: 345.
20. Behre HM et al. (2000). Diagnosis of male infertility and hypogonadism. In: Nieschlag E, Behre HM, eds. *Andrology, male reproductive health and dysfunction*. Berlin, Springer, 92.
21. Berman NG et al. (1996). Methodological issues in the analysis of human sperm concentration data. *Journal of Andrology*, 17: 68-73.
22. Bhattacharjee H, Carbrey J, Rosen B, Et Al. (2004). Drug uptake and pharmacological modulation of drug sensitivity in leukemia by AQP9. *BBRC*, 322:836-841.
23. Bienert GP, Moller ALB, Kristiansen KA, Schulz A, Moller IM, Schjoerring JK, and Jahn TP. (2007). Specific aquaporins facilitate the diffusion of hydrogen peroxide across membranes. *Journal of Biological Chemistry*, 282: 1183–1192.
24. Björndahl L, Kvist U (2003). Sequence of ejaculation affects the spermatozoon as a carrier and its message. *Reproductive Biomedicine Online*, 7: 440-448.
25. Bonde JP et al. (1998). Relation between semen quality and fertility: a population-based study of 430 first-pregnancy planners. *Lancet*, 352:1172-1177.
26. Borgnia M, and Agre P. (2001). Reconstruction and functional comparison of purified GlpF and AqpZ, the glycerol and water channels from *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98: 2888–2893.
27. Brazil C et al. (2004a). Standardized methods for semen evaluation in a multicenter research study. *Journal of Andrology*, 25: 635-644.
28. Calamita G, Mazzone A, Bizzoca A, and Svelto M. (2001a). Possible involvement of aquaporin- 7 and - 8 in rat testis development and spermatogenesis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 288: 619–625.
29. Calamita G, Mazzone A, Cho YS, Valenti G and Svelto M, (2001b). Expression and localization of the aquaporin 8 water channel in rat testis. *Biology of Reproduction*, 64: 1660–1666.
30. Carlsen E et al. (2004). Effects of ejaculatory frequency and season on variations in semen quality. *Fertility and Sterility*, 82: 358-366.
31. Casslen B, and Nilsson B, (1984). Human uterine fluid, examined in undiluted samples for osmolarity and the concentrations of inorganic ions, albumin, glucose, and urea. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 150: 877–881.
32. Castilla JA et al. (2006). Influence of analytical and biological variation on the clinical interpretation of seminal parameters. *Human Reproduction*, 21: 847-851.

33. Chae YK, Kang SK, Kim MS, Et Al. (2008). Human AQP5 plays a role in the progression of chronic myelogenous leukemia (CML). *Plos One. Jul 9;3(7):E2594.*
34. Chehval MJ, Purcell MH. (1992). Deterioration of semen parameters over time inmen with untreated varicocele: Evidence of progressive testicular damage. *Fertil Steril. 57(1): 1747*
35. Coolsaet BL. (1980). The varicocele syndrome: venography determining the optimallevel for surgical management. *J Urol. 124(6):833-9.*
36. Cooper TG (2005). Cytoplasmic droplets: the good, the bad or just confusing? *Human Reproduction, 20: 9-11.*
37. Cooper TG et al. (1993). Effects of multiple ejaculations after extended periods of sexual abstinence on total, motile and normal sperm numbers, as well as accessory gland secretions, from healthy normal and oligozoospermic men. *Human Reproduction, 8: 1251- 1258.*
38. Cooper TG et al. (2007). Ejaculate volume is seriously underestimated when semen is pipetted or decanted into cylinders from the collection vessel. *Journal of Andrology, 28: 1-4.*
39. Cooper TG, Barfield JP, Yeung CH. (2005). Changes in osmolality during liquefaction of human semen. *Int J Androl. 28: 58–60.*
40. Correa-Perez JR et al. (2004). Clinical management of men producing ejaculates characterized by high levels of dead sperm and altered seminal plasma factors consistent with epididymal necrospemia. *Fertility and Sterility, 81: 1148-1150.*
41. Cosson J, Groison AL, Suquet M, et al. (2008). Marine fish spermatozoa: racing ephemeral swimmers. *Reproduction. 136: 277-294.*
42. Costabile RA, Spevak M. (1998). Cancer and male factor infertility. *Oncology (Williston Park) 12(4): 557-570.*
43. Creasy D M and Chapin RM. (2013). Systems Toxicologic Pathology: *Male Reproductive System* (Third ed.).
44. Dadoune JP et al. (1988). Correlation between defects in chromatin condensation of human spermatozoa stained by aniline blue and semen characteristics. *Andrologia, 20: 211-217.*
45. Daudin M et al. (2000). Congenital bilateral absence of the vas deferens: clinical characteristics, biological parameters, cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations, and implications for genetic counseling. *Fertility and Sterility, 74: 1164-1174.*
46. De Jonge C et al. (2004). Influence of the abstinence period on human sperm quality. *Fertility and Sterility, 82: 57-65.*
47. De la Taille A et al. (1998). Correlation of genitourinary abnormalities, spermogram and CFTR genotype in patients with bilateral agenesis of the vas deferens. *Progress in Urology, 8: 370-376.*

48. De Lamirande E, Eiley D, Gagnon C. (1993b). Inverse relationship between the induction of human sperm capacitation and spontaneous acrosome reaction by various biological fluids and the superoxide scavenging capacity of these fluids. *Int. J. Androl.* 16: 258–266.
49. De Lamirande E, Gagnon C. (1993a). Human sperm hyperactivation and capacitation as parts of an oxidative process. *Free Radic. Biol. Med.* 14: 157–166.
50. De Lamirande E, Gagnon C. (1992). Reactive oxygen species and human spermatozoa. I. Effects on the motility of intact spermatozoa and on sperm axonemes. *J. Androl.* 13: 368–386.
51. Devillard F et al. (2002). Polyploidy in large-headed sperm: FISH study of three cases. *Human Reproduction*, 17: 1292-1298.
52. Eliasson R. (1975). Analysis of semen. In: Behrman SJ, Kistner RW, eds. *Progress in Infertility*, 2nd ed. New York, Little, Brown: 691-713.
53. Eliasson R. (2003). Basic semen analysis. In: Matson P, ed. *Current topics in andrology*. Perth, Ladybrook Publishing: 35-89.
54. European Association of Urology / EAU. (2015). Çeviren: Türk Üroloji Derneği
55. Gevrek F, Biçer Ç, Kara M, Erdemir F. (2018). The ameliorative effects of Ginkgo biloba on apoptosis, LH-R expression and sperm morphology anomaly in testicular torsion and detorsion. *Andrologia*, Doi: 10.1111/and.12969 (Yayın No: 3664856).
56. Gevrek F, Aydın D, Özsoy S, Aygün H, Biçer Ç. (2017). Inhibition by Egb761 of the effect of cellphone radiation on the male reproductive system. *Bratislava Medical Journal*, 118(11), 676-683. Doi: 10.4149/BLL. 128 (Yayın No: 3572146).
57. Fahri D. (1999). *Anatomi Atlası and ders kitabı* (5 ed.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.
58. Fetic S, Yeung CH, Sonntag B, Nieschlag E, Cooper TG. (2006). Relationship of cytoplasmic droplets to motility, migration in mucus, and volume regulation of human spermatozoa. *J Androl.* 27: 294–301.
59. Figen GG. (2003). *Sistematik Anatomi* (1 ed.). İzmir: İzmir Güven Kitabevi.
60. Fowler R, Stephens FD. (1959). The role of testicular vascular anatomy in the salvage of high undescended testes. *Aust New Zeal J Surg.* 29: 92-106
61. Gandini L et al. (2000). Study of apoptotic DNA fragmentation in human spermatozoa. *Human Reproduction*, 15: 830-839.
62. Gartner LP and Hiatt JL. (2007). *Color Textbook of Histology* (third ed.). Philadelphia: Saunders Elsevier.
63. Gil-Guzman E, Ollero M, Lopez MC, Sharma RK, Alvarez JG. (2001). Thomas, A.J.; Agarwal, A. Differential production of reactive oxygen species by subsets of human spermatozoa at different stages of maturation. *Hum. Reprod*, 16: 1922–1930.
64. Gökçe A. (2011). Dünya Sağlık Örgütü Kriterlerine Göre Standart Semen Analizi. *Türk Urol Sem.*

65. Granot I, Dekel N, Segal I, Fieldust S, Shoham Z, et al. (1998). Is hydrosalpinx fluid cytotoxic? *Hum Reprod.* 13: 1620–4.
66. Greenhall E, Vessey M. (1990). The Prevalence Of Subfertility: A Review Of The Current Confusion And A Report Of Two New Studies. *Fertil Steril.* 54(6): 978-983.
67. Griveau JF, Renard P, Le Lannou D. (1994). An in vitro promoting role for hydrogen peroxide in human sperm capacitation. *Int. J. Androl*, 17: 300–307.
68. Habert R, Lejeune H and Saez JM. (2001). Origin, differentiation and regulation of fetal and adult Leydig cells. *Mol Cell Endocrinol.* 179(12), 47-74.
69. Handelsman DJ et al. (1984). Testicular function in potential sperm donors: normal ranges and the effects of smoking and varicocele. *International Journal of Andrology*, 7: 369-382.
70. Harrison RG. (1949). The comparative anatomy of the blood supply of the mammalian testis. *Proc Zool Soc London.* 119: 325-344).
71. Hecht NB. (1998). Molecular mechanisms of male germ cell differentiation. *BioEssays*, 20(7),555-561. doi: 10.1002/(SICI) 1521-1878(199807) 20:7 < 555: AIDBIES6 > 3.0.CO;2-J
72. Hendin BN, Kolettis PN, Sharma RK, Thomas AJ, Agarwal A. (1999). Varicocele is associated with elevated spermatozoal reactive oxygen species production and diminished seminal plasma antioxidant capacity. *J. Urol.* 161: 1831–1834.
73. Hibuse T, Maeda N, Nakatsuji H, Tochino Y, Fujita K, Kihara S, et al. (2009). The heart requires glycerol as an energy substrate through aquaporin 7, a glycerol facilitator. *Cardiovasc Res* 83: 34–41.
74. Hinton BT, Pryor JP, Hirsh AV, Setchell BP. (1981). The concentration of some inorganic ions and organic compounds in the luminal fluid of the human ductus deferens. *Int J Androl*, 4: 457–61.
75. Holstein AF et al. (2003). Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 1: 107.
76. Huang H F, He RH, Sun CC, Zhang Y, Meng QX, & Ma YY. (2006). Function of aquaporins in female and male reproductive systems. *Human Reproduction Update*, 12: 785–795.
77. Huggins C et al. (1942). Chemical composition of human semen and of the secretions of the prostate and seminal vesicles. *American Journal of Physiology*, 136: 467-473.
78. Ishibashi K, Hara S, & Kondo S. (2009). Aquaporin water channels in mammals. *Clinical and Experimental Nephrology*, 13: 107–111.
79. Jarow JP, Espelan MA, Lipshultz LI. (1989). Evolution of the azospermie patient. *J Urol* 142: 62-67.
80. Jarow JP. (1990). Intratesticular arterial anatomy. *J Androl.* 11(3): 255-9.
81. Jessica Chen M, Sepramaniam S, Armugam A, Shyan Choy M, Manikandan J, Melendez Aj, Jeyaseelan K, Sang Cheung N. (2008). Water and ion channels:

- crucial in the initiation and progression of apoptosis in central nervous system? *Current Neuropharmacology*, 6: 2, 102-16.
82. Johannisson E et al. (2000). Evaluation of “round cells” in semen analysis: a comparative study. *Human Reproduction Update*, 6: 404-412.
  83. Johnson MH. (2013). *Essential Reproduction* (seventh ed.). Cambridge: Wiley-Blackwell.
  84. Josso N, di Clemente N, and Gouedard L. (2001). Anti-Mullerian hormone and its receptors. *Mol Cell Endocrinol*, 179(1-2): 25-32.
  85. Jouannet P et al. (1988). Male factors and the likelihood of pregnancy in infertile couples. I. Study of sperm characteristics. *International Journal of Andrology*, 11: 379-394.
  86. Junqueira LC, Carneiro J. (2003). *Basic Histology*, Tenth Edition.
  87. Junqueira LC and Carneiro J. (2009). *Temel Histoloji-Text and Atlas* (eleventh ed.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi
  88. Karagöz, E. (2002). *Özel Histoloji*. Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp. Fak. Yayını, 196 – 199.
  89. Kedia KR, Markland C, Fraley EE. (1977). Sexual function after high retroperitoneal lymphadenectomy. *Urol Clin North Am* 4(3): 523-528.
  90. Keel BA. (2006). Within- and between-subject variation in semen parameters in infertile men and normal semen donors. *Fertility and Sterility*, 85: 128-134.
  91. Kierszenbaum AL. (2006). *Histoloji and Hücre Biyolojisi-Patolojiye Giriş* (R. Demir Ed.). Ankara: Palme Yayıncılık.
  92. Kodama H, Kuribayashi Y, Gagnon C. (1996). Effect of sperm lipid peroxidation on fertilization. *J. Androl.* 17: 151–157.
  93. Kondo H, Shimomura I, Kishida K, Kuriyama H, Makino Y, Nishizawa H. et al. (2002) Human aquaporin adipose (AQPap) gene. Genomic structure, promoter analysis and functional mutation. *European Journal of Biochemistry* 269: 1814–1826.
  94. Kovalski NN, de Lamirande E, Gagnon C. (1992). Reactive oxygen species generated by human neutrophils inhibit sperm motility: Protective effect of seminal plasma and scavengers. *Fertil. Steril.* 58: 809–816.
  95. Kruger TF, Menkveld R, Stander FS, Lombard CJ, Van der Merwe JP, van Zyl JA, et al. (1986). Sperm morphological features as a prognostic factor in in vitro fertilization. *Fertil Steril*, 46: 1118-23.
  96. Kumar BK, Cogger RN, Schrum LW and Lee CY. (2015). The effects of over expressing aquaporins on the cryopreservation of hepatocytes. *Cryobiology*, 71: 273–278.
  97. Lanzafame FM, La Vignera S, Vicari E, Calogero AE. (2009). Oxidative stress and medical antioxidant treatment in male infertility. *Reprod. Biomed. Online*, 19: 638–65

98. Larsen L et al. (2000). Computer-assisted semen analysis parameters as predictors for fertility of men from the general population. The Danish First Pregnancy Planner Study Team. *Human Reproduction*, 15: 1562-1567.
99. Lee JD et al. (1996). Analysis of chromosome constitution of human spermatozoa with normal and aberrant head morphologies after injection into mouse oocytes. *Human Reproduction*, 11: 1942-1946.
100. Litman T, Sogaard R and Zeuthen T. (2009). Ammonia and urea permeability of mammalian aquaporins. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 190: 327–358.
101. Liu Z, Shen J, Carbrey JM, Mukhopadhyay R, Agre P and Rosen BP. (2002). Arsenite transport by mammalian aquaglyceroporins AQP7 and AQP9. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99: 6053–6058.
102. Junqueira LC, Carneiro J. (2003). Basic Histology, Tenth Edition. (Yener A. Çeviri Ed.) Ankara Nobel tıp kitapevi, 431- 446
103. M Yeste, R Morató, JE Rodríguez-Gil, S Bonet, N Prieto-Martinez. (2017). Aquaporins in the male reproductive tract and sperm: Functional implications and cryobiology. *Reprod Domest Anim. Oct; 52 Suppl 4*: 12-27. Doi: 10.1111/rda. 13082. PMID: 29052330
104. MacLeod J, Wang Y. (1979). Male fertility potential in terms of semen quality: a review of the past, a study of the present. *Fertility and Sterility*, 31: 103-116.
105. Martin RH et al. (2003). A comparison of the frequency of sperm chromosome abnormalities in men with mild, moderate, and severe oligozoospermia. *Biology of Reproduction*, 69: 535- 539.
106. Menkveld R, Lacquet FA, Kruger TF, Lombard CJ, Sanchez Sarmiento CA, de Villiers A. (1997). Effects of different staining and washing procedures on the results of human sperm morphology evaluation by manual and computerised methods. *Andrologia*, 29: 1-7.
107. Menkveld R, Stander FS, Kotze TJ, Kruger TF, van Zyl JA. (1990). The evaluation of morphological characteristics of human spermatozoa according to stricter criteria. *Hum Reprod*, 4: 586-92.
108. Moore KL and Persaud TVN. (2009). Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi (H. Dalçık and M. Yıldırım Eds. second ed.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
109. Moretti E, Gaia Terzuoli, Lucia Mazzi, Francesca Iacoponi and Giulia Collodel. (2012) Immunolocalization of aquaporin 7 in human sperm and its relationship with semen parameters. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 58: 3, 129-135, DOI: 10.3109/19396368.2011.644385
110. Moretti E, Terzuoli G, Mazzi L, Iacoponi F, Collodel G. (2012a). Immunolocalization Of Aquaporin 7 İn Human Sperm And Its Relationship With Semen Parameters. *Syst Biol Reprod Med, Jun;58(3)*:129-35.
111. Morisawa M, Suzuki K. (1980). Osmolality and potassium ion: their roles in initiation of sperm motility in teleosts. *Science*, 210:1145-1147.

- 112.Mortimer D, Menkveld R (2001). Sperm morphology assessment—historical perspectives and current opinions. *Journal of Andrology*, 22: 192-205.
- 113.Mosher WD, Pratt WF. (1991). Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. *Fertil Steril* 56(2): 192-193.
- 114.Nalesnik JG, Sabanegh ES Jr, Eng TY, Buchholz TA. (2004). Fertility in men after treatment for stage 1 and 2A seminoma. *Am J Clin Oncol* 27(6): 584-588.
- 115.Nelson D L, Cox M M. (2005). Principles of Biochemistry. 4th ed. New York: W H Freeman company, 406-409
- 116.Ng KK et al. (2004). Sperm output of older men. *Human Reproduction*, 19: 1811-1815.
- 117.Nurmio M, Keros V, Lähteenmäki P, Salmi T, Kallajoki M, Jahnukainen K. (2009) Effect of childhood acute lymphoblastic leukemia therapy on spermatogonia populations and future fertility. *J Clin Endocrinol Metab*, 94(6):2119-2122. PMID: 19318447 DOI: 10.1210/jc.2009-0060
- 118.Ovalle WK and Nahirney PC. (2009). Netter Temel Histoloji (S. Müftüoğlu, F. Kaymaz, and P. Atilla Eds.). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri.
- 119.Özel, HB. (2009). Tek Taraflı Testis Torsiyonuna Karşı Testiste Testiküler Anjiyotensin Dönüştürücü Enzim Aktivitesindeki Değişimlerin Histolojik ve Histoşimik Olarak Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- 120.Pei L, Jiang J, Jiang R, Ouyang F, Yang H, Cheng Y, Fan Z. (2013). Expression of aquaporin proteins in vagina of diabetes mellitus rats. *J Sex Med*, 10: 342-9.
- 121.Pelfrey RJ et al. (1982). Abnormalities of sperm morphology in cases of persistent infertility after vasectomy reversal. *Fertility and Sterility*, 38: 112-114.
- 122.Pettersson S, Soderholm B, Persson JE, et al. (1973). Testicular blood flow in man measured with versus occlusion plethysmography and xenon-133. *Scand J Urol Nephrol*, 7: 115-119
- 123.Poland ML et al. (1985). Variation of semen measures within normal men. *Fertility and Sterility*, 44: 396-400.
- 124.Pound N et al. (2002). Duration of sexual arousal predicts semen parameters for masturbatory ejaculates. *Physiology and Behavior*, 76: 685-689.
- 125.Preston GM, Carroll TP, Guggino WB, Agre P, (1992). Appearance Of Water Channels In Xenopus Oocytes Expressing Red Cell CHIP28 Protein. *Science (New York, N.Y.)*, 256, 5055, 385-7.
- 126.Prieto Martinez N, Morató R, Muiño R, Hidalgo CO, Rodríguez-Gil JE, Bonet S and Yeste M. (2016). Aquaglyceroporins 3 and 7 in bull spermatozoa: Identification, localisation and their relationship with sperm cryotolerance. *Reproduction, Fertility and Development*, [https:// doi.org/ 10.1071/ RD16077](https://doi.org/10.1071/RD16077)
- 127.Prieto Martinez N, Vilagran I, Morató R, Rivera del Álamo MM, Rodríguez-Gil JE, Bonet S and Yeste M. (2017). Relationship of aquaporins 3 (AQP3), 7 (AQP7), and 11 (AQP11) with boar sperm resilience to withstand freeze–thawing procedures. *Andrology*, <https://doi.org/10.1111/andr.12410>

128. Qi Chen, Hongying Peng, Li Lei<sup>1</sup>, Ying Zhang, Haibin Kuang, Yujing Cao<sup>1</sup>, Qi-xian Shi, Tonghui Ma, Enkui Duan. (2011). Aquaporin 3 is a sperm water channel essential for postcopulatory sperm osmoadaptation and migration. *Cell Research*, 21: 922-933.
129. Rauchenwald M, Steers WD, Desjardins C. (1995). Efferent innervation of the rat testis. *Biol Reprod*, 52: 1136-1143.
130. Richard P Dickey, Roman Pyrzak, Peter Y Lu, Steven N Taylor, Philip H Rye. (1999). Comparison of the sperm quality necessary for successful intrauterine insemination with World Health Organization threshold values for normal sperm. *American Society for Reproductive Medicine*, Apr;71(4):684-9.
131. Richard EJ and Lopez KH. (2013). Human Reproductive Biology (fourth ed.). Colorado: Elsevier.
132. Rose NR et al. (1976). Techniques for detection of iso- and auto-antibodies to human spermatozoa. *Clinical and Experimental Immunology*, 23: 175-199.
133. Ross MH and Pawlina W. (2011). Histology- a text and atlas with correlated cell and molecular biology (seventh ed.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
134. Rossato M, Virgilio FD, Rizzuto R, Galeazzi C, Foresta C. (2001). Intracellular calcium store depletion and acrosome reaction in human spermatozoa: role of calcium and plasma membrane potential. *Mol Hum Reprod*, 7: 119–28.
135. Rossato M, di Virgilio F, Foresta C. (1996). Involvement of osmo-sensitive calcium influx in human sperm activation. *Mol. Hum. Reprod*, 2: 903–909.
136. S Bonilla Correal, F Noto, E Garcia-Bonavila, JE Rodríguez-Gil, M Yeste and J Miro. (2017). First evidence for the presence of aquaporins in stallion sperm. *Reprod Dom Anim*. 52 (Suppl. 4): 61–64.
137. Sadler, T. W. (2005). Langman Medikal Embriyoloji (A. C. Basaklar Ed. 11 ed.). Ankara: Palme Yayıncılık.
138. Saito K, Kageyama Y, Okada Y, Kawakami S, Kihara K, Ishibashi K, Sasaki S. (2004). Localization of aquaporin-7 in human testis and ejaculated sperm: possible involvement in maintenance of sperm quality. *J Urol*, 172 (5): 2073-2076.
139. Sancak B, Cumhuri M. (2002). Baş-boyun and iç organlar. Fonksiyonel Anatomi (Sancak B. ed) 2. Baskı. Ankara. ODTÜ Geliştirme Vakfı.
140. Saunders Elsevier. (2009). Netter Temel Histoloji. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P (Çeviri Editörleri). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri, 379- 386.
141. Shafik A, Moftah A, Olfat S, Mohi-el-Din M, el-Sayed A. (1990). Testicular veins: anatomy and role in varicocelogenesis and other pathologic conditions. *Urology*, 35(2): 175-82.
142. Shah K, Sivapalan G, Gibbons N, Griffin DK. (2003). The genetic basis of infertility. *Reproduction* 126: 13-25.



143. Shannon, P, Curson B. (1972). Toxic effect and action of dead sperm on diluted bovine semen. *J. Dairy Sci*, 55: 614–620.
144. Sikka SC. (1996). Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Front. Biosci*, 1: e78–e86.
145. Simmons FA. (1956). Human Infertility. *N Engl J Med* 255(25): 1186-1192.
146. Singh V. (2014). Textbook of Anatomy Abdomen and Lower Limb: Volume II (second ed.). India: Elsevier.
147. Skandalakis JE, Skandalakis LJ, Colborn GL. (1996). Testicular atrophy and neuropathy in herniorrhaphy. *Am Surg* 62(9):775-782.
148. Slama R et al. (2002). Time to pregnancy and semen parameters: a cross-sectional study among fertile couples from four European cities. *Human Reproduction*, 17: 503-515.
149. Snell RS. (1998). Klinik Anatomi (M. Yıldırım Ed. 5 ed.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.
150. Sobrero AJ, MacLeod J (1962). The immediate postcoital test. *Fertility and Sterility*, 13: 184-189.
151. Sohara E, Ueda O, Tachibe T, et al. (2007). Morphologic and functional analysis of sperm and testes in Aquaporin 7 knockout mice. *Fertil Steril*, 87: 671-676.
152. Solomon Eldra Pearl, (2008). İnsan Anatomisi and Fizyolojisine Giriş, Akademi Basın and Yayıncılık, İstanbul, (Çeviren: L. ERTUĞRUL).
153. Spira A. (1986). Epidemiology of human reproduction. *Hum Reprod* 1 (2): 111-115.
154. Stadler RH, Blank I, Varga N, Robert F, Hau J, Guy PA, Riediker S. (2002). Food chemistry: Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature*, 419(6906): 449-450.
155. Steinberger E, Tjioe DY. (1969). Spermatogenesis in rat testes after experimental ischemia. *Fertil Steril*, 20(4): 639-49.
156. Svechnikov K, Landreh L, Weisser J, Izzo G, Colon E, Svechnikova I and Soder O. (2010). Origin, development and regulation of human Leydig cells. *Hormone Research in Paediatrics*, 73(2), 93101. doi: 10.1159/000277141
157. Şeftalioğlu A. (1998). Genel ve Özel insan Embriyolojisi. 3. Baskı, Ankara, 8- 11.
158. Taguchi K, T sukamoto, Murakami G. (1999). Anatomical studies of the autonomic nervous system in the human pelvis by the whole mount staining method: Left-right communicating nerves between bilateral pelvic plexues. *J Urol*, 161:320-325.
159. Tekelioğlu, ME. (1999). Sabotta Histoloji-Renkli Sitoloji, Histoloji ve Mikroskopik İnsan Anatomi Atlası (5 ed.). İstanbul: Beta Basım.
160. Thompson MW, McInnes RP, Willard HE. (1991). Thompson and Thompson Genetics in Medicine. 5th ed. Philadelphia, WB Saunders
161. Tournaye H. (2006). Evidence-based management of male subfertility. PMID: 16735823 DOI: 10.1097/01.gco.0000192994.37965.c6

162. Turek PJ, Lipshultz LI. (1995). The varicocele controversies. I. Etiology and pathophysiology. AUA update series, Vol.14, Lesson 13. Baltimore: *American Urological Association*; P.106-11.
163. Tuttelman F, Nieschlag E. (2010). Classification of andrological disorders. In: Nieschlag E, Behre HM and Nieschlag S (eds). *Andrology: Male reproductive health and dysfunction* (3rd edition) Berlin: *Springer Verla* 87-93.
164. Tyler JP et al. (1982). Studies of human seminal parameters with frequent ejaculation. I. Clinical characteristics. *Clinical Reproduction and Fertility, 1*: 273-285.
165. Umberto Laforenza, Giorgia Pellavio, Anna Lisa Marchetti, Claudia Omes, Federica Todaro and Giulia Gastaldi. (2017). Aquaporin-Mediated Water and Hydrogen Peroxide Transport Is Involved in Normal Human Spermatozoa Functioning. *Int. J. Mol. Sci, 18*: 66; doi:10.3390/ijms 18010066
166. Von Eckardstein S, et al. (2000). Seminal plasma characteristics as indicators of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in men with obstructive azoospermia. *Fertility and Sterility, 73*: 1226-1231.
167. Wakaizumi M, Yamamoto H, Fujimoto N and Ozeki K. (2009). Acrylamide degradation by filamentous fungi used in food and beverage industries. *Journal of Bioscience and Bioengineering, 108*(5), 391-393. doi: 10.1016/j.jbiosc.2009.05.004
168. Weiske WH. (1994). Minimal invasive Vasektomie mittels Fulgurationstechnik. Erfahrungen bei 1000 Patienten in 12 Jahren. *Urologe, B34*:448-452.
169. Weiske WH, et al. (2000). Clinical findings in congenital absence of the vasa deferentia. *Andrologia, 32*: 13-18.
170. Wensing CJG. (1988). The Embryology of Testicular Descent. *Hormone Research in Paediatrics, 30*(4-5): 144-152.
171. WHO. (1987). (prepared by Comhaire F et al.) Towards more objectivity in diagnosis and management of male infertility. *International Journal of Andrology, (Suppl. 7)*: 22-24.
172. WHO (dünya sağlık örgütü). (2015) Laboratuvar El Kitabı İnsan semeninin incelenmesi and işlemlerden geçirilmesi (Çeviri Editörü: KADIOĞLU A.).
173. Wishahi MM. (1991). Anatomy of the venous drainage of the human testis: testicular vein cast, microdissection and radiographic demonstration. A new anatomical concept. *Eur Urol, 20*(2): 154-60.
174. Wright C, Milne S, Leeson H. (2014). Sperm DNA damage caused by oxidative stress: Modifiable clinical, life style and nutritional factors in male infertility. *Reprod. Biomed. Online, 28*: 684–703.
175. Yeung C.H. (2010b). Aquaporins in spermatozoa and testicular germ cells: Identification and potential role. *Asian J. Androl, 12*: 490–499.
176. Yeung CH, Barfield JP, Cooper TG. (2006). Physiological volume regulation by spermatozoa. *Mol Cell Endocrinol, 250*: 98–105.

177. Yeung CH, Callies C, Rojek A, Nielsen S, Cooper TG. (2009). Aquaporin isoforms involved in physiological volume regulation of murine spermatozoa. *Biol Reprod*, 80: 350-357.
178. Yeung CH, Callies C, Tuttelmann F, Kliesch S, Cooper TG. (2009a). Aquaporins in the human testis and spermatozoa- identification, involvement in sperm volume regulation and clinical relevance. *Int J Androl*, Oct 16.
179. Yeung CH, Callies C, Tuttelmann F, Kliesch S, Cooper TG. (2010). Aquaporins In The Human Testis And Spermatozoa - Identification, Involvement In Sperm Volume Regulation And Clinical Relevance. *Int J Androl*, 33(4): 629-641. Doi: 10.1111/J.1365-2605.2009.00998.X.
180. Yeung CH, Cooper TG. (2008). Potassium channels involved in human sperm volume regulation-quantitative studies at the protein and mRNA levels. *Mol Reprod Dev*, 75: 659-68.
181. Yiğit G. (2006). Tıbbi Fizyoloji. 11. Baskı, Yüce Yayınları A.Ş ve Nobel Tıp Kitabevleri Ltd. Şti, 996.
182. Zanetti N, Mayorga LS. (2009). Acrosomal swelling and membrane docking are required for hybrid vesicle formation during the human sperm acrosome reaction. *Biol Reprod*, 81: 396405.
183. Zavos PM, Goodpasture JC. (1989). Clinical improvements of specific seminal deficiencies via intercourse with a seminal collection device versus masturbation. *Fertility and Sterility*, 51: 190-193.
184. Zinaman MJ et al. (2000). Semen quality and human fertility: a prospective study with healthy couples. *Journal of Andrology*, 21: 145-153.

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Osman Serden GENCEL

**Doğum Tarihi:** 21.10.1979

**Medeni Hali:** Evli

### Öğrenim Durumu:

| Derece    | Bölüm/Program                     | Üniversite   | Yıl          |
|-----------|-----------------------------------|--|--------------|
| Ön lisans | Tıbbi Laboratuvar                 | Samsun 19 Mayıs Üniversitesi<br>Sağlık Meslek Yüksekokulu    | 1999<br>2002 |
| Lisans    | Biyoloji                          | Ordu Üniversitesi Fen Edebiyat<br>Fakültesi                  | 2007<br>2010 |
| Y. Lisans | Histoloji Ve Embriyoloji<br>A. D. | Tokat Gaziosmanpaşa<br>Üniversitesi Sağlık Bilimleri<br>Ens. | 2012<br>2019 |

### Görevler:

| Görev Unvanı     | Görev Yeri   | Yıl          |
|------------------|--|--------------|
| Laboratuvar Tek. | Sakarya / Karasu Devlet Hastanesi                    | 2001<br>2001 |
| Laboratuvar Tek. | Samsun / Samsun Devlet Hastanesi                     | 2001<br>2011 |
| Laboratuvar Tek. | Samsun / S.B.Ü. Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi | 2011<br>2019 |

T.C.  
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI  
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

Sayı : 83116987 - 24  
Konu : Etik Kurul Kararı  
Toplantı Tarihi : 08.05.2018  
Toplantı No : 2018/05  
Proje No : 18-KAEK-093

09.05.2018

Sayın, Dr. Öğretim Üyesi Fikret GEVREK

Etik Kurulumuzun 08.05.2018 tarihli toplantısında görüşülen 18-KAEK-093 kayıt numaralı **“Farklı Yaş Gruplarından Bireylerin Sperm Hücrelerinde Aquaporin Molekülleri Expresyonlarının Araştırılması”** başlıklı çalışmanız gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

Dr. Öğretim Üyesi Yalçın ÖNDER  
Başkan V.