T.C.

İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KLİNİK EMBRİYOLOJİ PROGRAMI

ÜROGENİTAL ENFEKSİYONLU SEMİNAL PLAZMADA FRUKTOZUN DEĞERLENDİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MEHRİ FARD ESTALKHİ

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi DENİZ TAŞKIN

İSTANBUL, 2023

T.C.

İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

KLİNİK EMBRİYOLOJİ PROGRAMI

ÜROGENİTAL ENFEKSİYONLU SEMİNAL PLAZMADA FRUKTOZUN DEĞERLENDİRİLMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

MEHRİ FARD ESTALKHİ

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi DENİZ TAŞKIN

İSTANBUL, 2023

T.C.
İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
TEZ ONAY BELGESİ

Klinik Embriyoloji Programı 20111102001 numaralı yüksek lisans öğrencisi Mehri Fard Estalkhi'nin **"Ürogenital Enfeksiyonlu Seminal Plazmada Fruktozun Değerlendirilmesi"** adlı tez çalışması, Enstitümüz Yönetim Kurulunun 02.11.2023 tarih ve 2023/16 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından oy birliği ile Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 22.11.2023

Dr. Öğr. Üyesi Deniz Taşkın
Tez Danışmanı

Dr. Öğr. Üyesi Nilgün Sahip
Jüri Üyesi

Prof. Dr. Tülay İrez
Jüri Üyesi

ETİK BEYAN

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tezde;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,

- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,

- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,

- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,

- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

22 / 11 / 2023

Mehri FARD ESTALKHİ

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim süresince, bıkmadan gösterdikleri bilimsel yol gösterici tutumları ile bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım hocalarım Klinik Embriyoloji Bölüm Başkanı **Prof.Dr. Tülay İREZ** ve tez danışmanım sayın **Dr. Öğr. Üyesi Deniz TAŞKIN**'a;

Çalışma başlangıcından sonuna kadar gerek paylaştıkları engin bilgiler gerek manevi desteği için sayın **Dr. Öğr. Üyesi Süheyla AYKAÇ YAZICIOĞLU**'a**;**

Memorial Şişli Hastanesi IVF Merkezi Başkanı **Prof. Dr. Semra KAHRAMAN**, Laboratuvar Sorumlusu **Biyolog Hakan YELKE** ve değerli arkadaşım Biyolog **Özge YILDIZ**'a;

Lisans eğitimimin başlangıcından bugüne kadar her anımda yanımda olan ve desteğini her daim hissettiren sevgili eşim **Yavuz YILMAZ**'a;

Hayatımın her alanında bana verdikleri destek ve gösterdikleri ilgi ile hayatımın sonuna kadar haklarını ödemeyeceğim kıymetli ailem; ablam **Mahnaz FARD ESTALKHİ'**ye, annem **Ashraf MESGARİ**'ye,

Ve beni her zaman eğitime teşvik eden rahmetli babam **Ebrahim FARD ESTALKHİ**'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İSTANBUL,2023 **Mehri FARD ESTALKHİ**

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN ..... **İ**

ÖNSÖZ ..... **İİ**

İÇİNDEKİLER ..... **İİİ**

TABLOLAR LİSTESİ ..... **Vİ**

ŞEKİLLER LİSTESİ ..... **Vİİ**

KISALTMALAR LİSTESİ ..... **Vİİİ**

ÖZET ..... **Xİİ**

ABSTRACT ..... **Xİİİİ**

1. GİRİŞ **1**

2. GENEL BİLGİLER **4**

2.1. Erkek Üreme Sistemi **4**

2.2. Testis: **4**

2.2.1. Testis histolojisi: **4**

2.2.2. Seminifer tübüller **5**

2.2.3. Sertoli hücreleri **5**

2.2.4. Leyding hücreleri (interstisyel hücreleri) **6**

2.3. Erkek genital kanallar: **7**

2.3.1. Duktus epididimis **7**

2.3.2. Duktus deferens (Vas deferens) **7**

2.3.3. Üretra **8**

2.4. Erkek Üreme Bezleri **9**

2.4.1. Seminal bezler **9**

2.4.2. Prostat bezi **9**

2.4.3. Bulboüretral bezler (Cowper bezleri) **9**

2.4.4. Seminal vezikül **10**

2.5. Sperm **11**

2.5.1. Spermatogonyum (Proliferasyon) **11**

2.5.2. Spermiyogenez (Farklılaşma) 12
2.5.3. Sperm yapısı 13
2.6. Laboratuvar Değerlendirmesi 14
2.6.1. Semen analizi 14
2.7. Erkek İnfertilitesi 16
2.7.1. Ürogenital anomaliler 16
2.7.2. Varikosel 16
2.7.3. İmmünolojik faktörler (ASA) 16
2.7.4. Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar 16
2.7.5. Hormonal bozukluklar 17
2.7.6. Genetik hastalıklar: 17
2.7.7. İlaçlar ve kimyasal ajanlar 17
2.7.4.1. Mikrobiyota 18
2.7.4.2. Stafilokok enfeksiyonları 19
2.7.4.3. Escherichia coli (E.coli) 19
2.7.4.4. Micrococcus (Mikrokok) 20
2.7.4.5. Pseudomonas 20
2.8. Seminal Plazma'nın (SP) Biyokimyasal Bileşenleri ve İşlevleri 21
2.8.1. Seminal plazma amino asitleri 21
2.8.2. Seminal plazmada sitrik asitin rolü 22
2.8.3. Seminal plazma fruktozu 22
3. GEREÇ VE YÖNTEM 25
3.1. Çalışmaya Alınan Gruplar ve Özellikleri 25
3.2. Gereç Listesi 25
3.2.1. Mikrobiyoloji deneyler için kullanılan malzemeler 25
3.2.2. Biyokimya laboratuvar deneyler için kullanılan malzemeler 26
3.3. Çalışmada Kullanılan Yöntemler 27
3.3.1. Mikrobiyolojik tanı 27
3.4. EMB Agar Üremesi 28
3.5. Koyun Kanlı Agar Üremesi 29

3.6. Fruktoz Tayini 33

4. BULGULAR 35

4.1. Viskosite, Likefaksiyon ve Lökosit Sayısının Gruplarda Dağılımı ve Karşılaştırması 35

4.2. Değişkenlerin Normallik Analizi 36

4.3. Nicel Değişken Değerlerine İlişkin Ortalamalar ve Karşılaştırmalar 36

4.4. Stafilakok, Mikrokok Enfeksiyon Örneklerinde Viskosite, Likefaksiyon ve Lökosit Sayısının Gruplarda Dağılımı ve Karşılaştırılması 37

4.5. Nicel Değişkenlere İlişkin Ortalamalar ve Karşılaştırmalar 38

4.6. Nonparametrik Korelasyonlar 39

5. TARTIŞMA VE SONUÇ 43

KAYNAKÇA 48

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.6.1: Semen parametreleri referans değerleri 15
Tablo 4.1: Viskosite, likefaksiyon ve lökosit sayısının gruplarda dağılımı ve karşılaştırılması. 35
Tablo 4.2: Değişkenlerin normallik analizi..... 36
Tablo 4.3.: Nicel değişkenlere ilişkin ortalamalar ve karşılaştırmalar..... 37
Tablo 4.4: Stafilokok, mikrokok enfeksiyon örneklerinde viskosite, likefaksiyon ve lökosit sayısının gruplarda dağılımı ve karşılaştırılması..... 38
Tablo 4.5: Nicel değişkenlere ilişkin ortalamalar ve karşılaştırmalar..... 38
Tablo 4.6: Nonparametrik korelasyonlar 40

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Erkek üreme sistemi. 4
Şekil 2.2.1: Testislerin histolojik yapısı 5
Şekil 2.2.4: Seminifer tübül duvarında spermatogenetik hücreler ve Sertoli hücrelerinin yerleşimi..... 6
Şekil 2.3.2: Posterior view of the SVs, vasa deferentia 8
Şekil 2.4.4: Seminal vezikül histolojisi……**Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
Şekil 2.5.1: Erkek germ hücrelerinin oluşumu……...11
Şekil 2.5.2: Spermiyogenez 12
Şekil 2.5.3: İnsan sperm yapısı şematik gösterimi……..13
Şekil 2.8.3: Poliol yolu 23
Şekil 3.3.1: Lökosit görülmeyen preparat örneği 27
Şekil 3.3.2: Lökosit görülen preparat örneği 28
Şekil 3.4.1: EMB de üreme görülen besiyeri örneği 28
Şekil 3.4.2: İdentifikasyon (E-coli) 29
Şekil 3.4.3: Hareket pozitif indol pozitif besiyeri örneği 29
Şekil 3.5.1: Katalaz pozitif bakteri kolonisi örneği 30
Şekil 3.5.2: Katalaz pozitif mikroskop görüntüsü 31
Şekil 3.5.3: Basitrasin duyarlı olan, mikrokok 31
Şekil 3.5.4: Koagülaz pozitif örneği 32
Şekil 3.5.5: Sefoksitin duyarlı olarak kabul edilen MSSA görüntüsü 32
Şekil 3.6.1: Fruktoz standart eğrisi 34

KISALTMALAR LİSTESİ

°C Santigrat derece

µ Mikron

µg Mikrogram

µl Mikrolitre

µm Mikrometre

µmol Mikromol

ABP Androjen bağlayan protein

AR Androjen reseptör

ASA Anti sperm antikor

ATP Adenozin trifosfat

CBAVD Konjenital bilateral vas deferens aplazisi

Cm Santimetre

CYBE Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar

CYBH Cinsel yolla bulaşan hastalıklar

dk Dakika

E. coli Escherichia coli

EMB agar Eosin methylene blue

FSH Follicle stimulating hormone (Folikül stimulan hormon)

g Gravite (santrifüj dönüş hızı)

GnRH Gonadotropin salgılatıcı hormon

GOT Glutamik oksaloasetik transaminaz

H_2O_2 Hidrojen peroksit

HBV Hepatit B virüs

HCl Hidroklorik asit

HIV Human immunodeficiency virus (İnsan bağışıklık yetmezliği virüsü)

HPV Human papilloma virüs

HSV Herpes simpleks virüs

IVF İn vitro fertilizasyon

KDa Kilodalton

KNS Koagülaz negatif stafilakoklar

LH Luteinizan hormon

LPS Lipopolisakkarit

m Metre

M.luteus Micrococcus luteus

MİO agar Motilite indol ornitin besiyeri

ml Mililitre

mM Milimolar

mm Milimetre

mM/L Milimolar/litre

MRSA Methycilline resistant Staphylococcus aureus

MSSA Methycilline sensitive Staphylococcus sureus

nm Nanometre

PAP Prostatik asit fosfataz

PM Plazma membran

PSA Prostat spesifik antijen

ROS Reaktif oksijen türleri

S. aureus Staphylococcus aureus

SP Seminal plazma

TSI Triple sugar iron agar

WHO Dünya Sağlık Örgütü

YÜT Yardımla üreme teknikleri

ÖZET

ÜROGENİTAL ENFEKSİYONLU SEMİNAL PLAZMADA FRUKTOZUN DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu çalışma seminal plazma fruktoz konsantrasyonuna enfeksiyonun etkisinin prospektif incelenmesini içermektedir. Çalışmada Şişli Memorial Hastanesi Tüp Bebek Merkez'inden alınan 44 sağlıklı, 44 enfeksiyonlu seminal plazma örnekleri incelenmiştir. Ocak-Nisan 2023 tarihleri arasından alınan örnekler İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Mikrobiyoloji ve Temel ve Yaşam Bilimleri laboratuvarlarında çalışılmıştır.

Çalışmamızda seminal plazma örneklerinde toplam motilite, yerinde hareket ve fruktoz konsantrasyonu enfeksiyon grubunda daha fazla ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Çalışmamızda kontrol, Stafilakok ve Mikrokok gruplarında (hasta grubu) viskosite, likefaksiyon ve lökosit sayısının dağılımı incelenmiştir. Buna göre iki enfeksiyon grubunda da lökosit sayısı normalin üstünde olan hasta oranı (%13,6; 11,1) kontrol grubuna göre fazladır; istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Lökosit sayısı ile yerinde hareket, anormal parçalar ve anormal orta parçalar arasında pozitif ilişki vardır ($p< 0,05$). Lökosit sayısı artıkça yerinde hareket, anormal parçalar, anormal orta parçaların da arttığı görülmüştür. Kontrol grubunun pH ortalaması iki enfeksiyon grubunun da ortalamasından büyük; yerinde hareket, anormal orta parçalar ve konsantrasyon (5xmilyon) ortalamaları ise küçüktür (Mann whitney $p<0,05$). Toplam sayı, konsantrasyon (10^6/ml) değerleri Mikrokok grubunda diğer iki gruba göre düşük bulunmuştur; istatistiksel olarak anlamlıdır (Mann whitney $p<0,05$). Ayrıca çalışmamızda sperm ileri hareketi ve yerinde hareket ile pH ve yaş arasında negatif ilişki görülmüştür. Hareketsiz sperm değişkeni ile yaş, pH, toplam sayı, konsantrasyon, motilite ve ileri hareket arasında negatif bir etkileşim söz konusudur. Anormal orta parçalar ile yaş ve pH arasındaki korelasyon negatiftir ($p< 0,05$). Yaş ve pH arttıkça anormal orta parçaların da arttığı görülmüştür. Ayrıca yaşın ve pH'ın artması motiliteyi olumsuz etkilemektedir.

Sonuç olarak enfeksiyon etkeni olan bakterilerin fertiliteyi etkileyen semen fruktozu üzerindeki etkileri konusunda yeterli çalışma olmadığı ve bu konuda daha fazla araştırmanın gerekli olduğu görülmektedir. Dünya çapında semen kalitesinin

bozulması ve erkek infertilitesine yol açan nedenleri ile ilgili daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar kelimeler; Seminal plazma, lökosit, fruktoz, infertilite

Mehri FARD ESTALKHİ,2023

ABSTRACT

EVALUATION OF FRUCTOSE IN UROGENITAL-INFECTED SEMINAL PLASMA

This study included a prospective investigation of the effect of infection on seminal plasma fructose concentration. The study examined forty-four healthy and forty-four infected seminal plasma samples taken from Şişli Memorial Hospital IVF Center. Between January and April 2023, samples were studied in Istanbul Yeni Yüzyıl University Microbiology and Basic and Life Sciences laboratories.

Our study examined the distribution of viscosity, liquefaction, and leukocyte count in control, Staphylococcus, and Micrococcus groups (patient group). In our study, total motility, forward movement and fructose concentration in seminal plasma samples were higher and statistically significant in the infection group ($p<0.05$). Accordingly, the proportion of patients with leukocyte counts above average in both infection groups (13.6%; 11.1%) was higher than in the control group; It was statistically significant ($p<0.05$). A positive correlation exists between the number of leukocytes and movement in situ, abnormal fragments, and abnormal midbodies ($p< 0.05$). It has been observed that as the number of leukocytes increases, on-site movement, abnormal parts, and abnormal middle parts also increase. The mean pH of the control group was greater than the mean of both infection groups; the mean of in-situ motion, abnormal midsections, and concentration (5xmillion) was negligible (Mann Whitney $p<0.05$). Total number and concentration (10^6/ml) values were found to be lower in the Micrococc group compared to the other two groups, statistically significant (Mann Whitney $p<0.05$). In addition, our study observed a negative relationship between forward and in-situ movement, pH, and age. There is a negative interaction between the motile sperm variable and age, pH, total count, concentration, motility, and forward movement. The correlation between abnormal midsegments, age, and pH was negative ($p< 0.05$). It has been observed that as age and pH increase, abnormal middle parts also increase. In addition, increasing age and pH negatively affect motility.

As a result, it is seen that there are not enough studies on the effects of infectious bacteria on semen fructose, which affects fertility, and more research is required on

this subject. More clinical studies are needed worldwide on the deterioration of semen quality and the causes of male infertility.

Keywords: Seminal plasma, leukocytes, fructose, infertility

Mehri FARD ESTALKHI,2023

1. GİRİŞ

İnfertilite, 12 aylık düzenli ve korunmasız ilişkiye rağmen (haftada iki gün) gebelik meydana gelmemesi veya çocuk sahibi olunmaması olarak tanımlanmaktadır (WHO, 2019). İnfertilite, erkek kısırlığı, kadın kısırlığı, erkek ve kadın veya açıklanamayan faktörlerin bir kombinasyonu ile ilişkili olabilir. Erkek kısırlığı, tüm kısırlık vakalarının neredeyse yarısını oluşturur ve erkek nüfusun yaklaşık %7'sini etkilemektedir (Krausz, 2011). Erkek infertilitesinin hormonal bozukluklar, genetik problemler, fiziksel nedenler, yaşam tarzı, çevresel faktörler, psikolojik veya davranışsal faktörlerden kaynaklandığı bildirilmiştir (Esteves ve Agarwal 2011; Stuppi vd., 2015). Erkeklerde ileri yaş da sperm kalitesini etkileyerek erkek kısırlığına neden olabilir (Horta vd., 2019). Bu tür faktörlerden etkilenen erkeklerin üreme fizyolojisi, daha düşük sperm sayısı üretir, düşük motilite ve erkek infertilitesinin temel özellikleri olan anormal sperm morfolojisi gösterir (Harris ID vd., 2011). Seminal plazma, döllenme için çok önemli olmayabilen karmaşık bir organik ve inorganik element yelpazesinden oluşur, ancak dişi üreme alanında sperm motilitesi, dayanıklılığı ve taşınması için uygun atmosferi optimize eder (WHO, 2010; Insler ve Lunenfeld, 1986).

İnsan ejakülatının ilk kısmı temel olarak sperm ve prostat eksüdalarından yani sitrik asit, proteazlar, asit fosfatazdan oluşur ve sonraki kısım fruktoz, prostaglandinler, pıhtılaştırıcı elementler ve seminal veziküller tarafından salgılanan asidik vajinal bölgeyi savunmak için bikarbonatlar içerir (Wein vd., 2011; Plant vd., 2015; Orth, 1982). Sonuç olarak bu biyokimyasal salgılar, ilgili bezlerin belirteçleri olarak işlev görür (Aumüller ve Riva, 1992).

Seminal plazma, sperm için anaerobik ve aerobik bir enerji kaynağı sağlayan ve ilerici sperm hareketliliği ve viskozitesi ile dolaylı olarak ilişkilendirilen yüksek konsantrasyonlarda fruktoz içerir (Mann T, Lutwak-Mann, 1981; Gonzales vd., 1993; Fabiani vd., 1995). Fruktoz konsantrasyonunun değerlendirilmesi, seminal veziküllerin durumunu, endokrin anomalileri ve ayrıca potansiyel ejakülatör kanal tıkanıklığını gösterebilir (Wein vd., 2011; Aumüller ve Riva, 1992; Setchell ve Waites, 1970).

Özellikle spermatozoonun kuyruk kısmında fruktolizis aktiftir (Polonovski, 1971). Çünkü spermatozoonların hareketlilikleriyle fruktozu kullanabilmeleri arasında büyük

bir ilgi vardır (Mann T, Lutwak-Mann,1981; Polonovski, 1977). Mann, erkek döllenme kanal sistemindeki bazı patolojik durumların sperma fruktoz miktarında ve fruktolizis indeks değerlerinde düşüşlere yol açtığını bildirmiştir (Mann T, Lutwak-Mann, 1981, Lukac vd., 1976). Ayrıca anerobik fruktolizis spermatozoonun hayatiyetini sürdürebilmesinde en önemli rolü oynar (Mann T, 1954).

Semen, çeşitli patojenik virüsler için birincil bulaşma aracıdır. Hücre bağlanması ve hücre girişi de dahil olmak üzere bulaşmanın ilk adımları büyük olasılıkla semenin varlığında gerçekleşir. Bununla birlikte, insan seminal plazmasının unstable (kararsız) doğası ve kültürdeki hücreler üzerindeki toksik etkileri, bu besiyerinde in vitro virüs enfeksiyonu ve inhibisyonunu inceleme yeteneğini sınırlar. Bütün semenin, HIV-1'in zarf glikoproteinleri (Envs) üzerindeki glikanları hedefleyen antikorların ve mikrobisidlerin gücünü önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur. Semendeki çok yüksek monosakkarit fruktoz konsantrasyonu, ligandların Env üzerindeki 1,2-bağlı mannoz kalıntılarına bağlanmasını rekabetçi bir şekilde inhibe ederek etkiye önemli ölçüde katkıda bulunur. Tüm insan seminal plazmasındaki enfeksiyon ve inhibisyon, formüle ettiğimiz seminal sıvının stabil bir sentetik simulantı tarafından doğru bir şekilde taklit edilir. Johnson ve arkadaşlarının bulgularına göre biyolojik salgıların protein içeriğine ek olarak, küçük çözünen bileşimlerinin antiviral mikrop öldürücülerin ve mukozal antikorların gücünü etkilediğini göstermektedir (Johnson vd., 2020).

Fruktoz aynı zamanda semende spermatozoa için enerji kaynağı olup astenozoospermi gibi patolojik durumlarda önem kazanmaktadır (Phadke vd., 1973; Suominen J, 2001).

Bu bakımdan enfeksiyonların semendeki fruktoza ne gibi etki yaptığını incelemek önemlidir. Enfeksiyon etkeni olan bakterilerin fertiliteyi etkileyen semen fruktozu üzerindeki etkileri konusunda yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bu konuda daha fazla araştırma gerekli olduğu görülmektedir. Genel olarak ürogenital kanalda epididim ve prostat bezlerinde enfeksiyonla karşılaşılmaktadır. Kronik enfeksiyonlar ile erkek infertilite ilişkisi genel olarak sperm motilitesinde kayıpla birlikte ortaya çıkmaktadır.

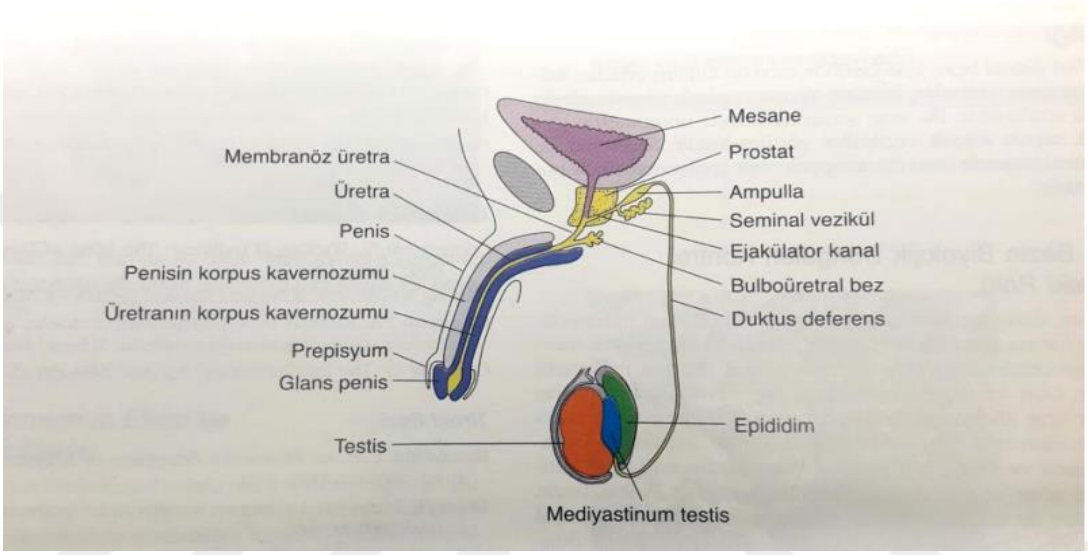
Uygun bir danışmanlık (kısa tıbbi öykü, fiziksel muayene ve görüntüleme), seminal plazmanın biyokimyasal değerlendirmesinin yanı sıra basit semen analizi, aksesuar seks bezlerinin aktivite durumunu lateral olarak sağlayan spermatozoanın canlılığını, hareketliliğini ve morfolojisini etkileyen potansiyel nedeni belirlemek için ön

koşuldur. Bu nedenle, semenin biyolojik özelliklerinin tanımlanması için biyokimyasal göstergelerin değerlendirilmesi, erkek infertilitenin öngörülmesinde kesin ve adil olan yeni ölçütlerin oluşturulmasına yardımcı olabilir (WHO, 2010; Lewis-Jones vd., 1996; Plachot vd., 2002).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Erkek Üreme Sistemi

Erkek üreme sisteminin dış üreme organları skrotum ve penisten, iç üreme organları ise epididim, duktus deferens, duktus ejakulatuar, salgı bezleri (prostat bezi, seminal vezikül, bulboüretral bezlerden) meydana gelir (Abraham, 2002; Ross vd., 2003).



Şekil 2.1: Erkek üreme sistemi (Junqueira vd., 1998).

2.2. Testis:

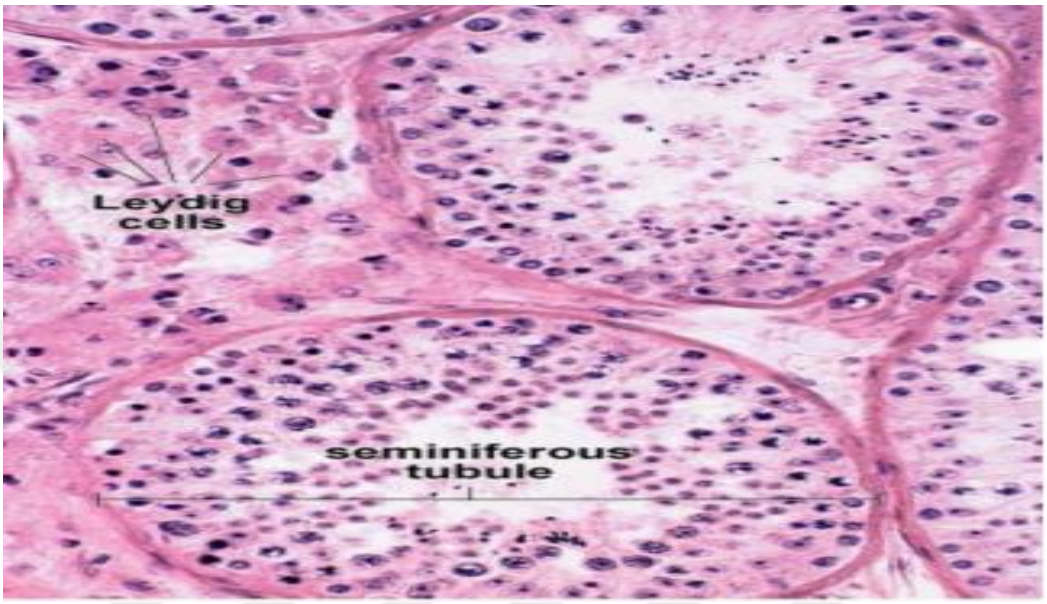
Testis vücut boşluğunun dışında ve skrotum içinde yerleşmiş, sağ ve solda bulunan, oval şekilli bir çift organdır. Dıştan içe doğru üç tabaka bulunur. Bunlar sırası ile; tunica vajinalis, tunica albuginea, tunica vaskülozadır (Junqueira vd., 1998).

Testisler, spermatogenez ile sperm üretilmesi (spermatozoa) ve hormon (steroidogenezis) salgılanmasından sorumludur. Endokrin işlevi testisteki interstisiyel hücreleri (Leydig hücreler) tarafından gerçekleştirilir ve üretilen testosteron doğrudan kana verilir. Testosteron, ön hipofizde LH ve FSH sekresyonu ve hipotalamusta GnRH sekresyonunu üzerine negatif geri bildirim sağlar (Gilberts, 2000).

2.2.1. Testis histolojisi:

Testisler, skrotum içinde bulunan, kalın bir bağ dokusu olan tunika albuginea ile çevrili, ortalama 4-4,5 cm boyutlarında ve 20-30 gram ağırlığında olan üreme

organlarıdır. Her bir testis, yaklaşık 250 adet lobüle ayrılmıştır. Her lobül, 1-4 adet seminifer tübül ve Leydig (intersitisyel) hücrelerinin bulunduğu bağ dokusu stromasından oluşur (Abraham, 2002).



Şekil 2.2.1: Testislerin histolojik yapısı (Gartner ve Hiatt, 2009).

2.2.2. Seminifer tübüller

Spermatozoidler seminifer tübüllerde üretilir ve her testiste yaklaşık 250-1000 seminifer tübül bulunur. Çapları yaklaşık 150-250 μm, boyları 30-70 cm'dir. Bir testiste toplam tübül uzunluğu yaklaşık 250 m'dir. Tübüller kıvrıntılı bir yapıya sahiptir. Tüplerin başlangıç kısmı kapalıdır, uçlara doğru lümeni daralır ve rete testise bağlanırlar. Rete testis kanalları da duktus deferens ile epididimin baş kısmına bağlanmaktadır. Seminifer tübül duvarında Sertoli ve spermatogenetik iki tip hücre bulunur (Junqueiraet vd., 1998).

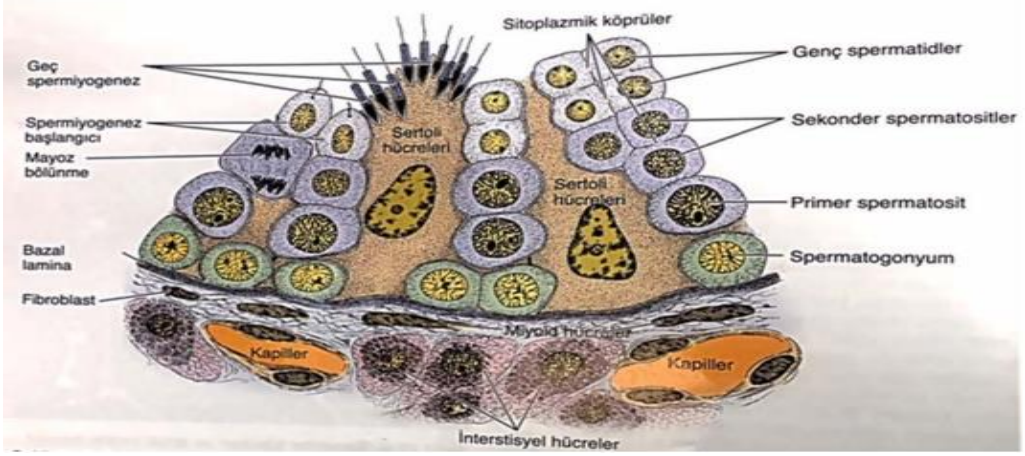
2.2.3. Sertoli hücreleri

Sertoli hücreleri puberteden sonra çoğalma göstermeyen, salgı yapmaya özleşmiş ve membranından lümene kadar uzanan prizmatik hücrelerdir. Sertoli hücrelerinin sitoplazmik artıkları ve kusurlu spermleri fagosite etmek, eşey hücreleri için gerekli besini ve fiziksel desteği sağlamak, erkekte östrojen hormon üretimi yapmak gibi birçok işlevi vardır. Ayrıca Anti-Müllerian hormon üretimi yapar. FSH,

spermatogenez için gerekli olan uygun koşulları sağlamak amacıyla Sertoli hücrelerine doğrudan etki eder. Sertoli hücrelerinde FSH reseptörleri bulunur ve ayrıca GnRH ve FSH'in salınımını negatif yönde etkileyen inhibin, aynı zamanda FSH salınımını pozitif yönde etkileyen aktivin tarafından düzenlenir (Abraham, 2002). ABP (Androgen binding protein) üretir ve ABP üretimi FSH ile stimüle olur, FSH spermiogenesizi stimüle eder. Ayrıca Sertoli hücreleri sıkı bağlantılarla kan-testis bariyerini oluştururlar (Sinclair vd., 1990).

2.2.4. Leyding hücreleri (İnterstisyel hücreleri)

Leyding hücreleri, testis dokusu içinde, loblar arasındaki bağ dokusu bölmelerinde bulunur ve hipofiz bezinin LH salgısı kontrolünde bireye erkeklik özelliklerini kazandıran testosteron hormonunu üretirler (Grudzinska ve Yovich., 1995). Testosteron erken embriyonik safhada gonadların erkek yönde farklılaşmasında gereklidir. Puberte döneminde ise sperm üretimi yardımcı bezlerin salgısı ve ikincil cinsiyet özelliklerinin belirmesinden rol oynar. Testosteron erişkinlerde sperm üretiminin ve sekonder seks özelliklerinin devamında rol oynar (Gartner ve Hiatt, 2016). Androjen reseptörüne (AR) bağlanması sayesinde testosteronun cinsel davranış, doğurganlık ve kemik gelişimi gibi yetişkin sağlığının diğer yönleri üzerinde birçok etkisi vardır (Tsujimura, 2013; Khosla & Monroe, 2018).



Şekil 2.2.4: Seminifer tübül duvarında spermatogenetik hücreler ve Sertoli hücrelerinin yerleşimi (Junqueira vd., 1998).

2.3. Erkek genital kanallar:

Genital boşaltım kanallar, duktus epididimis, duktus deferens (vas deferens) ve üretradır.

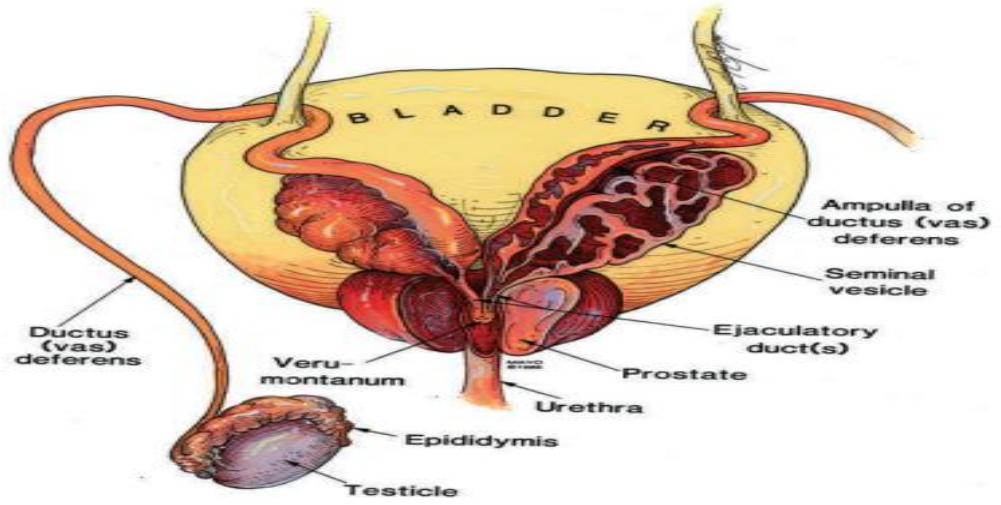
2.3.1. Duktus epididimis

Epididimis, baş, orta kısım ve kuyruk olmak üzere üç bölümden oluşur. Baş kısımda duktus efferent bulunurken, gövde ve kuyruk kısmında duktus epididimis bulunur (Paker, 1999; Ross ve Pawlina, 2011).

Seminifer tübül ve epididimisin ilk bölümünde spermler hareketsizdir. 18-24 saat sonra sperm hücreleri duktus epididimiste hareket kabiliyeti kazanmaktadır. Bununla birlikte Sertoli hücreleri tarafından sindirilmemiş atık cisimciklerin, duktus efferentes tarafından emilemeyen ve deformasyona uğramış spermlerin bu kanalda fagositoz yoluyla temizlenmesi gerçekleşmektedir (Ross ve Pawlina, 2011). Duktus epididimis stereosilyumlu yalancı çok katlı prizmatik epitele sahiptir. Epitelde esas hücreler sperm gelişimini sağlayan, gliserofosfokolin, siyalik asit ve glikoproteinleri salgılar ve bazal hücreler kök hücre olarak işlev görür (Eşrefoğlu, 2016).

2.3.2. Duktus deferens (Vas deferens)

Vas deferens, epididim ve ejakülatuar kanal arasında bir kanal görevi görür. Vas deferens'in proksimal kısmı epididimal kuyruk ile devam eder ve spermatik kord içinde ve inguinal kanal boyunca uzanır. Karın boşluğuna girdikten sonra posterior olarak lateral pelviste seyreder ve daha sonra aşağı doğru mesanenin arkasında medial ve distal üreterlerin kaudalinde seyreder ve sonunda seminal vezikül kanalıyla birleşir. Vas deferens ve seminal vezikülün distal kısımları ekstraperitonda, prostatın hemen üzerinde yer alır. Ekstraperitoneal yerleşimleri nedeniyle, bu organlar prostat, mesane ve rektum gibi komşu organların hastalık süreçlerine dahil olabilir (Kim vd., 2009).



Şekil 2.3.2: Posterior view of the SVs, vasa deferentia (King vd., 1989).

2.3.3. Üretra

Erkek üretrası, mesane boyundan başlayan penis içerisinde ilerler ve idrarın yanında semeni de taşır. Üretranın en uzun kısmı, penil üretradır, penil üretra yalancı çok katlı prizmatik epitel hücrelerden oluşur ve uzunluğu 15 cm'dir. Penil üretra boyunca mukus salgılayan litre bezleri bulunur (Junqueira vd., 1998). Erkek üretrası benzersizdir, çünkü vücuttaki birkaç bölmeden geçen nispeten uzun bir yapıdır ve bu nedenle geniş bir kaynak dizisinden kan temini ve innervasyon alır. Erkek üretrası, inferior vezikal arter, bulboüretral arter ve internal pudendal arterden kan alır. Erkek üretrasının sempatik, parasempatik ve visseral innervasyonu prostatik pleksus yoluyla iletilir.

Erkek üretrası, her biri benzersiz brüt ve histolojik özellikler içeren dört bölüme ayrılabilir. Preprostatic üretra; mesaneden aşağı doğru uzanır ve prostat bezine girmeden önce biter. Prostatic üretra; tamamen prostat bezi ile çevrilidir. Membranous üretra; prostatın hemen dışında başlar ve penisin ampulüne girmeden hemen önce biter. Spongy üretra; corpus spongiosum yoluyla penisin tüm uzunluğu boyunca dolaşır (Kohler vd., 2008; Yucel ve Baskin, 2003; Holstein vd., 1991).

2.4. Erkek Üreme Bezleri

2.4.1. Seminal bezler

Spermatozoa, seminifer tübüllerde üretilir, duktus epididimisde depolanır ve seminal bezlerden (aksesuar bezler) üretilen sıvı salgılarla karışarak seyreltilir. Semen ise spermatozoanın konsantre süspansiyonundan oluşturulur (Ross ve Pawlina., 2014). Seminal bezlerden salgılanan seminal sıvının biyokimyasal ve fiziksel özellikleri; enfeksiyonlar, çevre kirliliği, ilaçlar, genetik faktörlerden etkilenebilir (Du Plessis ve Gokul., 2013).

2.4.2. Prostat bezi

Prostat bezi, en büyük aksesuar cinsiyet bezidir ve hücreleri genellikle tek katlı prizmatik epitelden oluşur. Prostat bezinin hücrelerinden salgılanan ekstrasellüler veziküller prostasom olarak bilinir. Prostasomlar, spermatozoonların kapasitasyon süresini düzenler, akrozom reaksiyonunu başlatır ve sperm motilitesini teşvik eder. Aynı zamanda, kadın üreme sisteminde immün hücrelerle etkileşime girerek spermatozoonları fagositlerden korur ve yaşam sürelerini artırır (Aalberts vd., 2014). Prostat bezi 30–50 tübüloalveolar bezden oluşmaktadır. Bu bezler, üç konsantrik tabakadan oluşan, içte mukozal, ortada submukozal ve dışta prostatik tabakalardan oluşan periferik bir yapıya sahiptir. Prostat salgısı, erkek üreme sistemine özgü bir sıvıdır ve ejakülatta bulunur. Bu salgı, meniye katkıda bulunan bir kısmı oluşturur ve bazik bir özelliğe sahiptir (pH: 7.29). Prostat bezinin salgısı, prostat özgül asit fosfataz (PAP), prostat spesifik antijen (PSA), sitrik asit, fibrinolizin, çinko ve amilaz gibi çeşitli bileşenler içerir (Aalberts vd., 2014; Ross ve Pawlia, 2014). Semenin pıhtılaşmasını sağlayan proteolitik enzim (serin proteaz olan) PSA'dır. Fibrinolizin ise spermi akışkan hale getirir (Delilbaşı vd., 2010; Ross ve Pawlia, 2014). Semenin kendine özgü kokusunun, prostat salgılarından ve sperm oksidasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir (Tapısız vd., 2012). Prostatın normal salgılama kapasitesini göstermek için semende sitrik asit, asit fosfataz ve çinko analizleri yapılır (WHO 5.baskı, 2011).

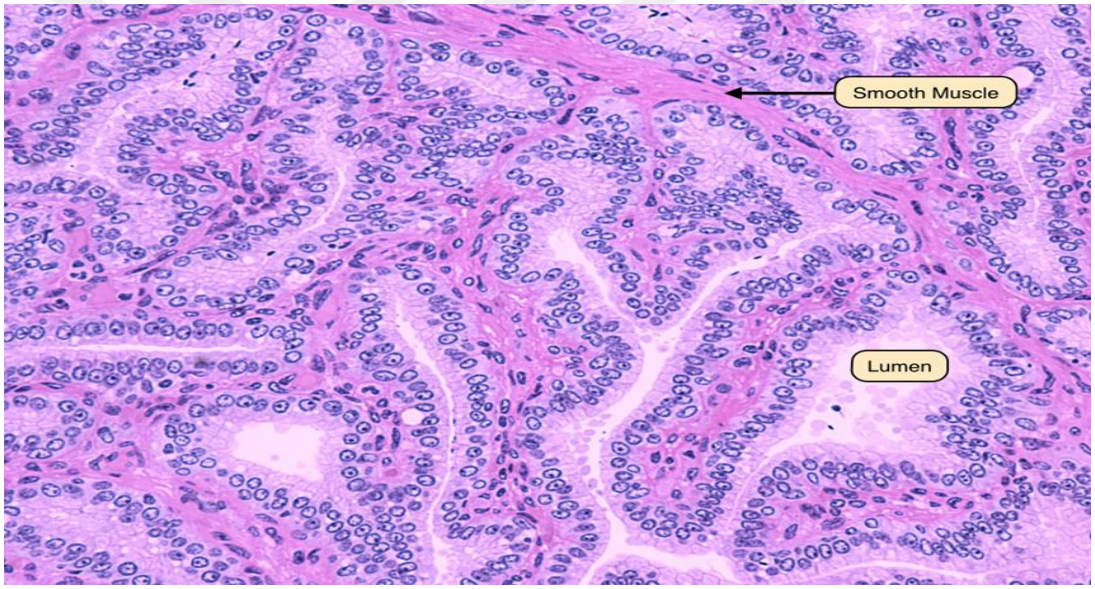
2.4.3.Bulboüretral bezler (Cowper bezleri)

Cowper bezleri mukus benzeri bir salgı üretir ve salgısı seminal sıvının %2–5'ini oluşturur. Salgıda bol miktarda galaktozamin, galaktoz, metilpentoz, galakturonik asit, metilpentoz ve ortalama miktarda sialik asit bulunur. Cinsel uyarılma sırasında, erkek

üretrasındaki idrar ve kadın vajinasındaki asidik salgıları nötralize eden kayganlaştırıcı özelliklere sahip sekresyonlar salgılanır (Ross and Pawlia, 2014).

2.4.4. Seminal vezikül

Histolojik olarak seminal veziküller üç tabakadan oluşur. Bunlar, goblet hücreleri ve bir lamina propria içeren yalancı çok katlı epitelden oluşan bir iç mukozal tabakayı, içte dairesel ve dışta uzunlamasına düz kas düzenine sahip bir kas tabakasını ve son olarak gevşek bağ dokudan oluşan bir dış adventisyal tabakayı (perivasküler tabakası) içerir. Seminal vezikül, yaklaşık 3 ila 5 cm uzunluğunda ve 1 cm çapındadır (McKay vd.,2023). Seminal veziküllerde yalancı tabakalı epitel silindirik ve bazal hücreleri içerir. Silindirik epitel seminal veziküllerin diğer proteinöz salgısı ile birlikte semen fruktozunu üretir.



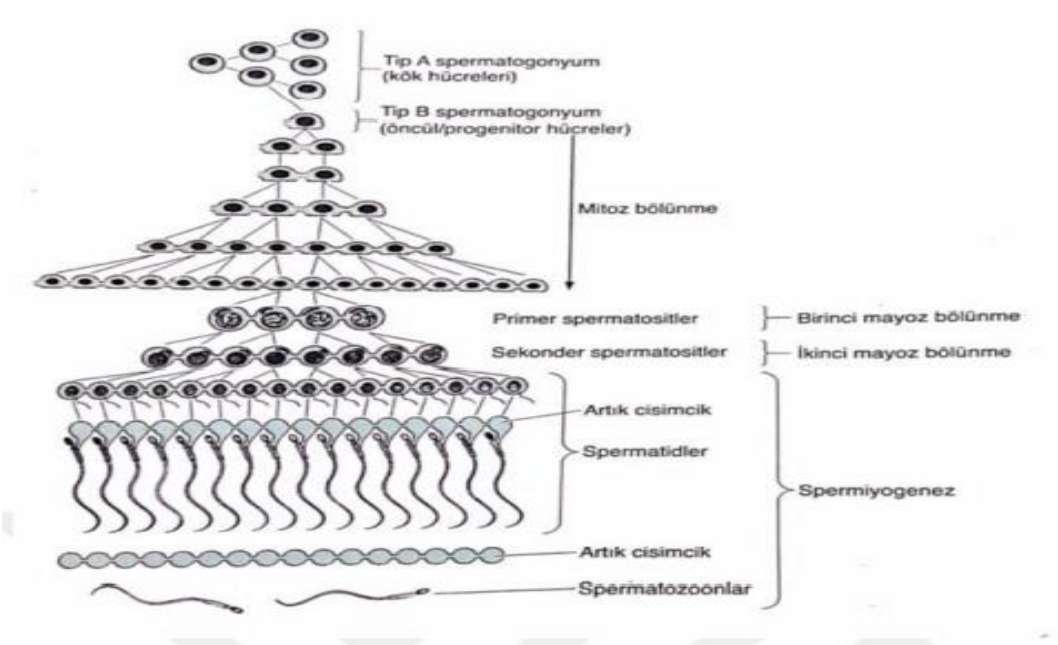
Şekil 2.4.4.Seminal vezikül histolojisi (med cell org yale edu.,2019).

Sarı renkte, viskoz yapıda olan seminal vezikül salgısı, seminal sıvının büyük bir kısmını (%50-70) oluşturur. Bu salgıda amino asit, fruktoz, basit şekerler, prostaglandin, askorbik asit ve seminal veziküle özgü proteinler bulunmaktadır. Fruktoz, spermin ana enerji kaynağıdır. Ejekülasyon sırasında seminal veziküllerin düz kasının kasılması sonucu salgı, ejakülatuar kanal içine boşaltılır ve spermatozoan üretra dışına atılır. Seminal veziküllerin sekretuar epitelinden, semenin pıhtılaşmasına neden olan semenogelin adı verilen bir protein salgılanır. Spermatozoanın kapasitasyonunu ve seminal koagülumundaki spermin hareketlerini önleyen bu

proteinin iki çeşidi vardır; 1.Semenogelin I (52 kDa), 2. Semenogelin II (71 ve 76 kDa). Semenogelin, sperm kapasitasyonunu önler ve seminakoagulumda sperm immobilizasyonundan sorumludur. Semenogelin, semen sıvısının ana bileşenidir ve seminal proteinlerin %20–40'ını oluşturur. Oda sıcaklığında birkaç dakika içinde semen genellikle prostatik proteazların etkisiyle sıvılaşmaya (liquefy) başlar, semenogelin sperm hareketliliğinin başlamasını, uygun olmayan şartlarda spermin bozulmasını engeller (esfandiari vd., 2014). Fruktoz ölçümü seminal veziküllerin salgılama fonksiyonunu göstermek için yapılır (WHO 5.baskı, 2011). Fruktoz, ayrıca spermatozoa için bir enerji kaynağı olarak işlev görür ve astenozoospermi gibi patolojik durumlarda önemli bir rol oynar (Phadke vd., 1973; Suominen J, 2001). Özellikle spermatozoonun kuyruk kısmında fruktolizis aktiftir (Polonoski, 1971). Çünkü spermatozoanın hareket kabiliyeti ile fruktoz arasında yakın bir ilişki bulunmaktadır (Mann T, Lutwak-Mann, 1981; Polonovski, 1977).

2.5. Sperm

2.5.1. Spermatogonyum (Proliferasyon)

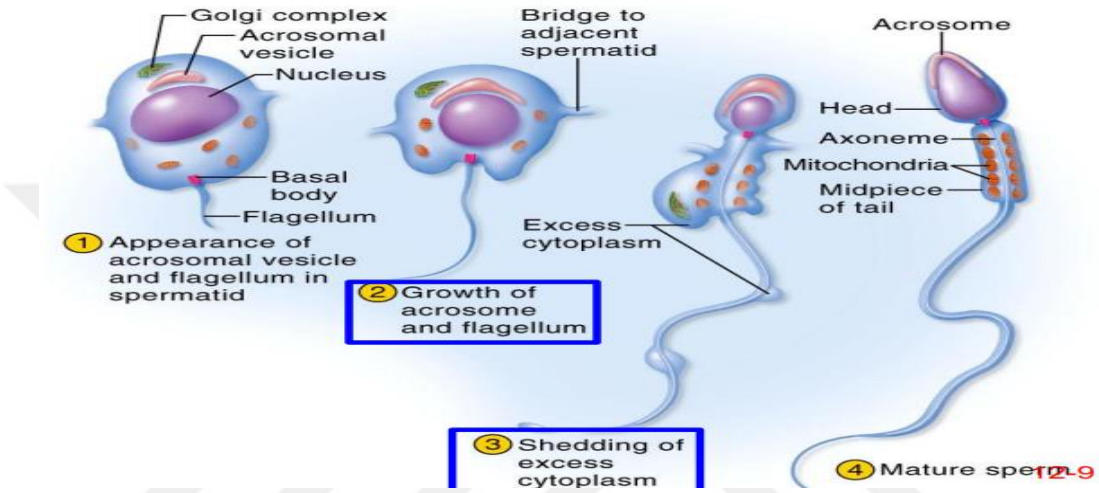


Şekil 2.5.1: Erkek germ hücrelerinin oluşumu (Junqueira vd., 1998).

Spermatogenez üç evrede incelenir: Spermatogonyum kök hücreleri mitoz bölünmeler geçirerek A tipi spermatogonyumları, tip A spermatogonyumları birçok kez mitoz bölünme geçirerek B tipi spermatogonyumları, B tipi spermatogonyumları tekrar mitoz bölünme geçirerek primer spermatositleri (44XY) oluşturur. I.mayoz

bölünmelerini gerçekleştirdikten yaklaşık olarak 21-22 gün sonra profaz aşamasına geçerler ve mayoz bölünme tamamlanarak 23 kromozom sekonder spermatositler (22Y ya da 22X) meydana gelir. Sekonder spermatositler tekrar mayoz bölünme geçirerek spermatidleri oluşturur (Sharma vd., 2018).

2.5.2. Spermiyogenez (Farklılaşma)



Şekil 2.5.2: Spermiyogenez (Junqueira vd., 1998)

Spermiyogenez, mayoz bölünme sonrasında oluşan spermatidlerin olgun erkek üreme hücresi olan spermatozoaya (sperm) dönüşüm sürecini ifade eder. Bu süreç, Golgi fazı, akrozomal faz ve maturasyon fazı olmak üzere üç aşamada gerçekleşir.

1. Golgi Fazı: Akrozomal granül adı verilen yapı Golgi kompleksinde meydana gelir ve sperm hücresine hareket yeteneğini sağlayan flagellum burada oluşur.

2. Akrozomal Faz: Sperm hücresinde bulunan mitokondriler flagellumun proksimal bölümünde yer alıp hareketi için enerji sağlarlar ve böylece spermin orta kısmını meydana getirirler.

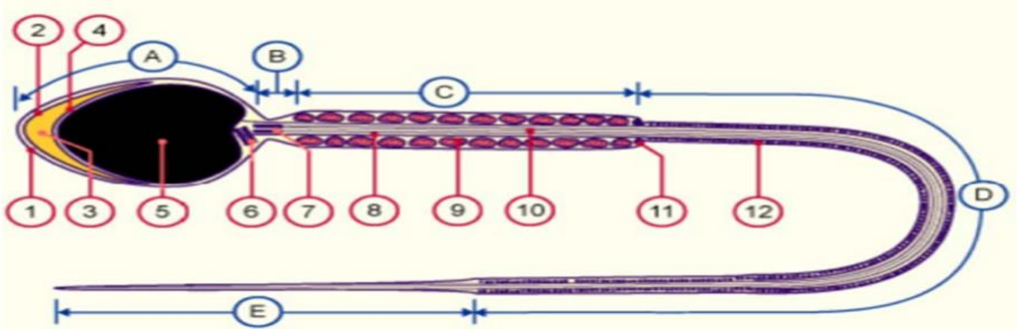
3. Olgunlaşma Fazı: Sperm hücresinin tüm organelleri tamamlanır, olgunlaşan spermler seminifer tubül lumenine aktarılırlar. Bu süreçte, çekirdek yoğunlaşır ve uzar, akrozom oluşur, flagellum gelişir ve sitoplazmanın çoğu kaybolur. Spermiogenez süresince üreme hücreleri hem dölleme kabiliyetini kazanırlar hem de spermlerin

hareket yeteneğini sağlayan kuyruk gelişir. Sonuçta seminifer tübülün lümenine salınan olgun spermatozoon meydana gelir (Junqueira vd., 1998).

Sperm hücrelerinin işlevsel olarak olgun hale geldikleri kısım epididimdir. İnsanlarda, spermatik gelişim sürecinin tamamlanması yaklaşık 70 gün alır ve testislerden günde yaklaşık 100 milyon sperm üretilir.

2.5.3. Sperm yapısı

Olgun bir spermin yapısı incelendiğinde baş, boyun ve kuyruk kısımlarından oluşan, serbest olarak yüzebilen hareketli bir hücre olduğu görülür. Baş kısmı spermin en büyük bölümüdür ve haploid 16 nukleus içermektedir. Başın ön kısmı akrozom adı verilen bir kılıfla kaplanmıştır. Bu bölgede bulunan enzimlerin en önemlisi akrozindir. Bu enzimler (hiyaluronidaz, akrozin, proteazlar, asit fosfatazlar) spermin korona radiata ve zona pellucida tabakalarını geçişini kolaylaştırarak fertilizasyon sürecine yardımcı olmaktadır (Moore, 2009; Candan, 2017). Kuyruk spermin hareketini sağlar, spermin başının hemen arkasında, orta parça kısmında mitokondri bulunur. Mitokondride üretilen enerji (ATP) spermin hareketi için gereklidir (Moore, 2009). Spermin baş uzunluğu 3-5 µm, kuyruk ölçüleri 0.4-0.5 µm çapında 45 µm uzunluğundadır (Ford, 2010).



Şekil 2.5.3: İnsan Sperm Yapısı Şematik Gösterimi: 1) Plazma membranı 2) Dış membran 3) Akrozom 4) İç akromozal membran 5) Nükleus 6) Proksimal sentriol 7) Distal sentriol 8) Dış yoğun lif 9) Mitokondri 10) Aksonem 11) Annulus ve A. Baş, B. Boyun, C. Ara parça, C/E. Kuyruk, D. Esas parça, E. Kuyruk son parça (Biçeroğlu, 2017).

2.6. Laboratuvar Değerlendirmesi

2.6.1. Semen analizi

Semen analizi için numune vermeden önce (3-6 gün arasında) cinsel perhiz süresi gereklidir. Dünya Sağlık Örgütün 2010'da yayımladığı verilere göre normal şartlarda likefaksiyon (sıvılaşma) normal bir semen örneğinin likefaksiyonu genellikle ilk 15 dakika içinde başlar, ancak oda sıcaklığında 60 dakikada tamamlanır.

Viskozite; normal semen örneği viskoz kıvamdadır. Seminal vezikülün az çalıştığı durumlarda viskozitenin artmış olması beklenir. Değerlendirme için örnek bir pipet içerisine çekilir, yer çekiminin etkisi ile pipeti küçük ayrı damlalar şeklinde terk eder (Günalp vd, 2002). Anormal viskozitelerde bu uzunluk 2 cm'den daha uzundur.

Normal bir örnek homojen ve gri-opelasan bir görünüme sahiptir. Semenin kendine has (kestane çiçeği) kokusu vardır.

Semenin hacmini hesaplamak için, semen kabının boş ağırlığı ölçülür ve ardından semeni koyup ağırlığı tespit edilir. Bu ağırlıkların farkı alınarak semen hacmi hesaplanabilir. Semen hacmi için minimum referans değeri 1.5 ml olarak kabul edilir (Oehninger ve Kruger, 2009).

pH tercihen 30 dk içinde ölçülmelidir ve semen pH'sı için alt referans değeri 7.2 olarak kabul edilmiştir.

Hareketli spermlerin birbirlerine baş-baş, kuyruk-kuyruk yapışmalarına aglütinasyon denir ve bu izole form, orta, çok ve şiddetli olmak üzere derecelendirilebilir (1-4 arası).

Sperm Motilitesi: Total hareketlilik için en düşük referans değer %40 iken bu değer progresif hareketlilik (sperm hücresi doğrusal ya da geniş bir dairesel düzlemde hızdan bağımsız olarak ilerleyici bir şekilde hareket eder) için %32'dir.

Yerinde hareket (non progresif motilite): Her hareketi yapıp ancak ilerleme kaydetmeyen sperm yapısını tarif eder ve hareketsizlik (Immotilite) ise hareket kabiliyetinin yokluğu olarak tanımlanır (Hassa, 2003).

Sperm canlılığı: Hem hareketsiz hem de ölü hücrelerin (nekrozoospermi) yüksek oranda bulunması epididimal bir patolojinin göstergesi olabilir. Sperm canlılığı için en düşük referans değer %58'dir (Correa-Perez vd, 2004; Wilton vd., 1988).

Sperm konsantrasyonu için en düşük referans değer 15x106 /ml'dir. Total sperm sayısı tüm ejakülattaki sperm sayısını ifade eder. Total sperm sayısı ise sperm konsantrasyonunun tüm ejakülat volümüyle çarpılması sonucu hesaplanır ve en düşük referans değeri 39x106 'dır.

Sperm morfolojisi: Sperm morfolojisinin incelenebilmesi için yaymaların hazırlanması ve tercih edilen boyalar ile boyanarak detaylı olarak incelenmesi gereklidir. Sperm ve hücreleri kaliteli bir şekilde boyayabilen en sık kullanılan özel boyalar Papanicolaou, Shorr ve Diff-Quik (hızlı sonuç) boyalarıdır. Bu boyalar kullanılarak sperm başının açık-koyu mavi, boyun kısmının kırmızı ve kamçı kısmının maviden kırmızımsıya kadar değişen bir renge büründüğü gözlemlenebilir (Gökçe, 2011).

Dünya Sağlık Örgütü 1999 yılında ejakülat başına 13 µmol olarak total fruktoz için referans değerini belirlemiştir.

Normal formda olan sperm hücreleri için en düşük referans değeri %4'tür (WHO, 2010).

Tablo 2.6.1: Semen parametreleri referans değerleri

Parametre	**En Düşük Referans Aralığı**
Volüm (ml)	1.5 (1.4-1.7)
pH	≥7.2
Sperm konsantrasyonu (106/ml)	15 (12-16)
Total sperm sayısı (106)	39 (33-46)
Total motilite (PR+NP, %)	40 (38-42)
Morfoloji (normal formlar, %)	4 (3.0-4.0
Vitalite (canlı sperm, %)	58 (55-63)
Seminal fruktoz (µmol/ejakülat)	>13
Lökosit (106 per ml)	<1.0

2.7. Erkek İnfertilitesi

İnfertilite sorunları olan çiftlerin yaklaşık %30'unda sorun erkekte, %20'sinde ise çiftin her ikisinde bulunmaktadır (Delilbaşı, 2010). Ürogenital anomaliler (konjenital ya da kazanılmış), varikosel, immünolojik faktörler, cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar, hormonal bozukluklar, genetik hastalıklar, bazı ilaçlar ve kimyasal ajanlar infertiliteye yol açabilir (Ünal vd., 2017).

2.7.1. Ürogenital anomaliler

En sık görülen üreogenital anomaliler hipospadias ve epispadiastır. Hipospadiasli çocuklarda penisin içindeki idrar kanalı daha kısadır ve üratra penisin ventral yüzeyine, "Epispadias"ta ise dorsal yüzeyine açılır. Bu anomalilerin düzeltilmemesi erkek infertilitesine neden olmaktadır (Gökçe, 2012).

2.7.2. Varikosel

Varikosel, spermatik damarlardaki venöz kanın geri akış nedeniyle pampiniform pleksusun anormal genişlemesidir. Genellikle ağrısız olmakla birlikte, varikoseller klinik olarak önemlidir, çünkü anormal semen analizi, düşük sperm sayısı, azalmış sperm hareketliliği ve anormal sperm morfolojisinin en sık tanımlanan nedenidirler (Yetkin ve Ozturk, 2018; Paick ve Choi, 2019). Normal erkek popülasyonunun %15'inde ve infertil erkeklerde yaklaşık %40'ında varikosel mevcuttur (Nagler vd., 1997).

2.7.3. İmmünolojik faktörler (ASA)

İmmünolojik faktörler; antisperm antikor (ASA) sperm immobilizasyonuna bağlı sperm hareketlerinde azalma göstererek infertiliteye yol açar (İnci ve Aydın, 1994). Spermatozoa ve seminal plazma insan vücudu için antijenik olarak bilinir ve kan-testis bariyeri ile immün sistemden korunur. Kan-testis bariyerindeki herhangi bir bozukluk antisperm antikor üretimine yol açarak konjenital kan-testis bariyer defekti, epididimit ve tubuler fokal obstrüksiyona (inmemiş testis) neden olabilir (Bronson vd., 1984).

2.7.4. Cinsel yolla bulaşan enfeksiyonlar

Cinsel temas yoluyla kişiden kişiye geçen enfeksiyonlar cinsel yolla bulaşan hastalıklar (CYBH) olarak isimlendirilir. Kan, semen ve diğer vücut sıvıları ile ya da enfeksiyonlu vücut alanı ile direkt temas sonucunda bulaşmaktadır (Workowski ve Berman, 2010). Tek başına bir patojenin ejakülat kalitesi üzerindeki etkisine dair

direkt veya indirekt kanıtlar açıkça gösterilememiştir; ancak, Asya'daki büyük topluluklarda Mycoplasma ve Ureaplasma türlerinin olumsuz etkisine dair göstergeler vardır. İnsan papilloma virüsü (HPV), Herpes simpleks virüsü (HSV) ve hepatit B virüsü (HBV) gibi viral patojenlerin bulaşması, yardımcı üreme tekniklerinin başarısını bozabilir. Buna karşılık, CYBH (özellikle Chlamydia ve gonokoklar) veya insan immün yetmezlik virüsü enfeksiyonlarının neden olduğu erkek genital sisteminin belirgin inflamatuar süreçleri, sıklıkla sperm kalitesinin bozulmasına neden olabilir (Spornraft vd., 2018).

2.7.5. Hormonal bozukluklar

Spermatogenezis pubertede başlar ve testisteki seminifer tübüllerin epitelinde oluşur. Spermatogenezisin uyarılması ve sperm üretiminin devamlılığı Hipotalamik-pitütier-gonadal eksen tarafından düzenlenir (Cole, 2016; Fietz ve Bergmann, 2017). Testosteron, Folikül Uyarıcı Hormon (FSH) ve Lüteinizan Hormon (LH) spermatogeneze katılır. Bu hormonların sentezi hipotalamustan salgılanan GnRH (Gondotropin Salgılayıcı Hormon) tarafından uyarılır. Testosteron üretimi Leydig hücrelerinde meydana gelir ve LH tarafından indüklenir. FSH, androjen bağlayıcı protein ve kan testis bariyerinin sentezini desteklemek için Sertoli hücrelerine etki eder. GnRH salgı bozukluğu testosteron eksikliğine neden olur ve sperm üretimini bozabilir (Szmelskyj vd., 2015).

2.7.6. Genetik hastalıklar:

Erkek infertiliteye neden olan genetik faktörler heterojendir. Kromozomal anormallik, bir veya daha fazla kromozomdaki herhangi bir değişiklik olarak tanımlanır ve sayısal veya yapısal olarak kategorize edilir. Sayısal anormallik, bir kromozomun eksik olması veya fazladan bir kromozom olması durumudur. Örneğin, erkeklerde fazladan bir X kromozomunun varlığı olan Klinefelter sendromu, spermatogenez bozukluğu olan erkeklerde en sık görülen sayısal anormalliktir (Guerri vd., 2019; Plaseska-Karanfilska, 2012).

2.7.7. İlaçlar ve kimyasal ajanlar

İlaçlar ve kimyasal ajanlar, yetersiz beslenme, anemi, aşırı stres ve pestisitler, kurşunlu boya, radyoaktif maddeler gibi çevresel tehlikelere maruz kalma, cıva, benzen, bor ve

ağır metallerin erkek infertilitesine sebep olabilir (Esteves ve Agarwal, 2011; Stuppia vd, 2015).

2.7.4.1. Mikrobiyota

Semenin, erkekler ve kadınlar arasında bakteri ve virüslerin bulaşması için bir ortam görevi gördüğü (Gallo vd., 2011; Swidsinski vd., 2010) ve cinsel yolla bulaşan hastalıkların gelişimine katkıda bulunduğu tespit edilmiştir (Elsner ve Hartmann, 1987; Ott vd., 2011). Erkek üreme sistemindeki enfeksiyonlar ve buna bağlı inflamasyon, spermatogenez ve sperm hücre fonksiyonunu tehlikeye atabilir (Henkel ve Schill, 1998; Urata et al, 2001).

Erkek ürogenital sisteminde bulunan çeşitli mikroorganizma türleri, özellikle anormal motilite, yetersiz mitokondriyal fonksiyon ve DNA bütünlüğünün kaybı gibi sperm anormallikleriyle ilişkilidir (la Vignera vd.,2011; Merino vd., 1995). Bu mikroorganizmalar arasında *Escherichia coli, Enterococcus faecalis, Ureaplasma urealyticum, Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis, Candida albicans ve Trichomonas vaginalis* bulunur (Lacroix vd., 1996; Nelson vd., 2010). Bu nedenle, ürogenital sistem enfeksiyonlarının etiyolojisini ve patogenezini ve ürogenital enfeksiyonlar ile infertilite arasındaki ilişkileri daha iyi anlamak için seminal sıvıların bakteri türlerinin bileşimini anlamak önemlidir.

Seminal sıvılarda bildirilen bakteriler arasında Peptoniphilis, Anaerococcus, Finegoldia, Peptostreptococcus spp., Staphylococcus, Streptococcus, Corynebacteium, Enterococcus, Lactobacillus, Gardnerella, Prevotella ve Escherichia coli yer alır (Busolo vd., 1984; Virecoulon vd., 2005). Cilt florası semen kalitesi üzerindeki etkisine ilişkin çelişkili raporlar vardır ve erkek infertilitesinde patofizyolojik rolleri belirlenmemiştir (Sanocka-Maciejewska vd., 2005; Jarvi vd., 1996; Kiessling vd., 2008). Daha önceki çalışmalar, *Escherichia coli, Enterococcus faecalis ve Ureaplasma urealyticum* gibi idrar yolu patojenlerinin spermatogenezi ve sperm fonksiyonunu etkileyip etkilemediğini test etmiştir (de Francesco vd., 2011; Imirzalioglu vd.,2008). Çalışmaların sonuçları, semen numunelerinde basit bakteri varlığının sperm kalitesini tehlikeye atabileceğini düşündürmektedir (Hillier vd., 1998; Keck vd., 1998; Moretti vd., 2009).

2.7.4.2. Stafilokok enfeksiyonları

Stafilokoklar en sık deri infeksiyonlarına neden olmakla beraber solunum sistemi enfeksiyonları, osteomyelit, endokardit gibi çeşitli hastalıkların da etkeni olarak bilinmektedir. Staphylococcus aureus kökenlerinin, metisilin antibiyotiğine dirençli ve koagülaz negatif stafilokokların (KNS) hastane infeksiyonlarında büyük pay sahibi oldukları görülmektedir (Cengiz, 1999).

Stafilokoklar, çeşitli insan infeksiyonlarından sorumlu olan çok yönlü bir patojenik bakteri suşunu temsil eder (Dutta ve Bishayi, 2015; Dutta ve Bishayi, 2016). Ayrıca erkek ve kadın infertilitesinin baskın bir etiyolojik faktörü olduğu bildirilmiştir (Momoh vd.,2011). *S. aureus,* semen enfeksiyonlarının yaklaşık % 68.2'sinden sorumludur (Emokpae vd., 2009). *Staphylococcus epidermidis, Streptococcus viridans, S. aureus, Enterococcus faecalis ve E. coli,* riskli sperm parametreleri olan hastaların semen örneklerinden en sık izole edilen bakteriyel ajanlardır (Vilvanathan vd., 2016).

Okon ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda semen örneklerinin %62,5'inden *S. aureus* izolatlarının sorumlu olduğu bildirilmiştir (Becker ve Bubeck, 2015).

Başka bir çalışma, infertil kadınların vajinasında en baskın patojenin ***S.aureus*** ve ardından ***E.coli*** olduğunu göstermiştir (Ghiasi vd., 2014). İnfertil erkeklerde *S. aureus* dışında diğer Staphylococcus'ların da sıklıkla saptandığı bildirilmiştir. Farklı suşlar arasında, *S. epidermidis* ve *S. saprophyticus*'un en yaygın bakteriler olduğu ve sadece sperm motilitesini ve morfolojisini değil, aynı zamanda semenin pH'ını ve viskozitesini de etkilediği bulunmuştur (Huerta vd., 2002; Isaiah vd., 2011).

2.7.4.3. Escherichia coli (E.coli)

Escherichia coli, Gram negatif, çubuk şeklinde, fakültatif anaerobik bir bakteridir. Bu mikroorganizma ilk olarak 1885 yılında Theodor Escherich tarafından tanımlanmıştır (Kaper vd., 2004).

E. coli, kommensal bağırsak florasının bir parçasıdır ve ayrıca hastanelerin ve uzun süreli bakım tesislerinin zeminlerinde bulunur. *E. coli,* insan gastrointestinal sisteminde en yaygın Gram negatif bakteridir (McCue, 1987).

Escherichia coli, bakteriyel enfeksiyon aracılı erkek infertilitesinde en önemli bakteridir (Comhaire vd., 1999). *E. coli*; genitoüriner sistemin iltihaplanması, steroidogenez ve spermatogenezin başarısızlığı ve sperm kalitesinin bozulması dahil olmak üzere erkekte infertiliteye yol açabilir. *E.coli'*den ekstrakte edilen LPS (Lipopolisakkarit) ve porinler gibi bileşenler, gonadlardaki hücrelerin reseptörlerine bağlanarak çeşitli sinyaller yoluyla inflamatuar yanıtlara, oksidatif strese ve apoptoza neden olabilir (Galdiero vd., 1988). Pro inflamatuar sitokinlerin ve oksidatif ara maddelerin birikmesi sonunda erkeklerde infertilite sebebi olabilir (Zeyad vd., 2018b*). E. coli* LPS, NF-κB, HIF-1α sinyalleme ve inflamatuar yanıtların aktivasyonu ile ilgilidir (Palladino vd., 2018).

2.7.4.4. Micrococcus (Mikrokok)

Micrococcus, Actinomycetales takımından bir aile olan Micrococcaceae'nin tipik cinsidir. Cins, yüksek aerobik G+C (%66.4–75.5) içeren, hareketsiz ve spor oluşturmayan, Gram pozitif bakterileri içerir (Baird-Parker 1974). Genellikle tetratlar halinde düzenlenen küresel hücreler, katalaz ve oksidaz pozitiftir (Ohama vd., 1990). *M. luteus*'un memeli derisinin normal florasına ait olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, toprak, toz, su, hava, kutup buzu, mukoza zarları, bitkiler, peynir, sosisler, aktif çamur, endüstriyel atıklar ve süngerler gibi çeşitli habitatlardan rutin olarak bir dizi Micrococcus suşu izole edilmiştir (Altalhi 2009; Antony vd., 2012; Chen vd., 2009; Bultel Poncé vd., 1998; Dib vd., 2008, 2009a; García Fontán vd., 2007; Liu vd., 2000, 2007; Manikandan vd., 2011; Martins vd., 2012; Ordonez vd., 2009; Robertson ve Perry 1961; Stierle vd., 1988; Wieser vd., 2002; Zhang vd., 2010; Zhao vd., 2009).

2.7.4.5. Pseudomonas

Pseudomonas aeruginosa, sağlıklı kişilerin normal florasında bulunan Gram negatif fırsatçı bir patojendir (Ruh E vd., 2016; Çeviker SA vd., 2020).

Pseudomonas cinsi bakteriler doğada yaygın olarak bulunmakta, fırsatçı infeksiyonlarına yol açmaktadır (Blanc Ds vd., 1998). *P.aeruginosa*, YBÜ (yoğun bakım ünitesi) gibi riskli birimlerde ciddi fırsatçı enfeksiyonlara yol açmakta, morbidite ve mortaliteyi arttırmaktadır (Ak S vd., 2016*). Pseudomonas aeruginosa,* orşit, epididimit ve üretritin sık görülen bir indükleyicisidir (Rana, 2018). *P.aeruginosa* diğer bakterilerden daha az toksiktir, düşük seviyelerde inflamatuar yanıtlar ortaya çıkararak kronik enfeksiyonları tetikler. Yapılan bir çalışmaya göre

P.aeruginosa'nın Ekzotoksin A'sı, sperm kuyruğu proteinlerini hedefler ve sperm hareketliliğini etkiler (Farsimadan ve Motamedifar, 2020). *P.aeruginosa* kaynaklı porin, sperm plazma membran reseptörlerine sahiptir ve seminal vezikül epitel hücrelerinin apoptozunu indükleyen sperm parametrelerini doğrudan etkiler (Buommino vd., 1999).

2.8. Seminal Plazma'nın (SP) Biyokimyasal Bileşenleri ve İşlevleri

SP, iyonlardan (Na+ Cl2, Zn+, Ca++, K+, Mg++), enerji substratlarından (sorbitol, gliserilfosfokolin, fruktoz), organik bileşiklerden (sitrik asit, amino asitler, peptitler, düşük ve yüksek moleküler ağırlıklı proteinler, lipid, hormonlar, sitokinler) oluşur. SP'nin bileşimi, erkek üreme sisteminin farklı organlarının büyüklüğü, depolama kapasitesi ve salgı çıktısı ile belirlenir (Mann, 1964).

2.8.1. Seminal plazma amino asitleri

Amino asitler enerji için kolayca okside olabilen bir substrat olarak hizmet eder ve semende reaksiyonlara neden olur (Neumark and Schindler, 1967).

SP'de en yüksek konsantrasyonda bulunan amino asit, yüksek seviyede glutamik oksaloasetik transaminaz (GOT) aktivitesi ile birlikte bulunan glutamik asittir (Flipse, 1960). L-Arginin ayrıca ruminant SP'de bulunur ve arginin fosforik asit formunda normal sperm hareketliliği için bir enerji kaynağı görevi görür (Patel vd., 1998).

Seminal plazmadaki proteinler, birçoğu epididimitlerin ve seminal veziküllerin salgı ürünleridir (Chandonnet vd., 1990). Epididimal olgunlaşma ve ejakülasyon sırasında çeşitli SP proteinlerinin eklenmesi ve çıkarılması, plazma membran (PM) stabilitesinin (Desnoyers and Manjunath, 1992), motilitesinin (Henricks vd.,1998; Sa´nchez-Luengo vd., 2004) kapasitasyonunun (Therien vd., 1998) ve sperm-yumurta etkileşimi ve fertilizasyonun korunmasında önemli bir rol oynar (Yanagimachi, 1994). SP proteinlerinin oositlere sperm penetrasyonunu artırabileceği de gösterilmiştir (El-Hajj Ghaoui vd., 2007). SP proteinleri ayrıca proteaz aktivitesi yoluyla fagositozu ve ölü spermatozoanın yanı sıra polimorfonükleer hücrelerin bağlanmasını da destekler (Dacheux vd., 2003).

Marion ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalara göre; Alpaka'da, yüksek semen donma kabiliyetine sahip erkeklerden toplanan SP'nin bazı spesifik protein fraksiyonları gösterdiği ve düşük semen dondurma kalitesine sahip erkeklerden

toplanan SP'de bulunmadığını gözlemlediler (Marion vd., 2010). SP proteinlerinin biyokimyasal özellikleri ve işlevleri üzerine kapsamlı bir inceleme Muin˜oBlanco ve arkadaşları tarafından yayınlandı; yazarların, bazı düşük moleküler ağırlıklı SP proteinlerinin, spermatozoanın soğuk şokuna ve antioksidan özelliklerine karşı koruma kapasitesini ayrıntılı olarak tartıştılar (Muin˜o-Blanco vd., 2008).

Memeli spermatozoası, epididimal sıvıda bulunan proteinler ile sıralı etkileşimler yoluyla motilitelerini ve oositleri tanıma ve dölleme yeteneklerini kazanır. Majör epididimal proteinler arasında laktoferrin, klüsterin, prokatepsin D ve kolesterol transfer proteini bulunur. Çeşitli epididimal proteinlerin, sperm zarı yüzeyini veya bileşimini değiştirip sperm bütünlüğünün (integrity) korunmasına katkıda bulunarak spermatozoal fonksiyon üzerinde farklı roller oynadığı öne sürülmüştür (Juyena, ve Stelletta, 2012). Aygırlarla yapılan araştırmalar, epididimal proteinlerin, kümelenme ve bir kolesterol bağlayıcı protein yoluyla veya glikozidazlar, glikosiltransferazlar, proteazlar ve proteaz inhibitörlerinin enzimatik aktiviteleri yoluyla plazma zarının özelliklerini değiştirebileceğini ortaya koymuştur (Dacheux vd., 2003). Soğuk şoktan önce ortama SP proteinlerinin eklenmesi, protein tirozin fosforilasyonunu inhibe ederek (Pe´rez-Pe´ vd., 2002) membran hasarını önler ve antioksidan enzim aktivitelerini ve bunların sperm yüzeyindeki dağılımını sürdürerek (Martı´ vd., 2008) yaşayabilir bir sperm popülasyonuna yol açar (Pe´rez-Pe´ vd., 2001b).

2.8.2. Seminal plazmada sitrik asitin rolü

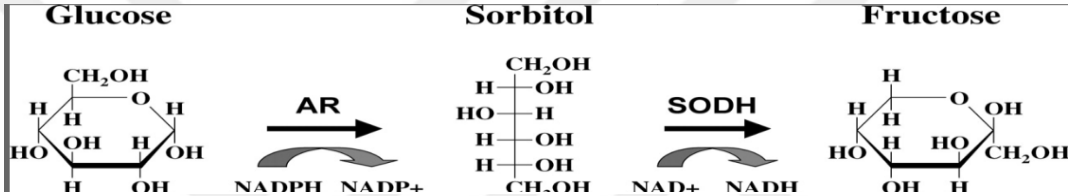
Sitrik asit temel bir organik asittir ve temel rolü seminal plazmanın pH'ı korumak, protein, yağ ve şekeri karbondioksite dönüştürmektir (Mann ve Lutwak, 1981; Obidoa vd., 1999). Seminal plazmanın hayati bir biyokimyasal bileşenidir ve sadece prostatın durumunu iyileştirmekle kalmaz, aynı zamanda insanlarda semenin pıhtılaşması ve sıvılaşması ile de ilişkilidir (Marberger vd., 1962). Bu nedenle, sperm hareketliliğinde ve hiyalüronidaz aktivitesinde hayati bir rol oynar (Amelar, 1962; Marberger vd., 1962).

2.8.3. Seminal plazma fruktozu

Memeli spermatozoası, başta hareketliliği desteklemek olmak üzere çeşitli işlevler için metabolik enerjiye ihtiyaç duyar. Adenozin trifosfat (ATP) üretiminin ana kaynakları mitokondriyal oksidatif fosforilasyon ve glikolizdir (Williams ve Ford., 2001). Dış

ortamdaki şekerler spermatozoa tarafından iki şekilde kullanılabilir: Birincisi, şekerlerin glikoliz ve Krebs döngüsü yoluyla metabolizması ile elde edilen enerji için; ikincisi, çevrenin harici bir enerji kaynağı sağlamadığı durumlarda hareketliliği sürdürmek için orta ve uzun vadeli enerji rezervleri elde etmek amacıyla şekerlerin glikojen formunda depolanmasıdır (Rigau vd.,2001).

Poliol yolunda glikoz, aldolaz redüktaz aracılığıyla sorbitole dönüşür. Sorbitol ayrıca seminal plazmada fruktozun ortaya çıkmasını sağlayan sorbitol dehidrojenaz tarafından fruktoza oksitlenir. Seminal vezikül, hepatositler ve yumurtalık hücreleri, glikozdan fruktozu sentezleyen aldoz redüktaz ve sorbitol dehidrojenazı eksprese ederler (Frenette vd., 2006; Tang vd 2012).



Şekil 2.8.3: Poliol yolu (Frenette vd., 2006).

Poliol yolu AR, aldoz redüktazı; SODH, sorbitol dehidrojenazı; NAD+, nikotinamid adenin dinükleotid; ve NADPH, nikotinamid adenin dinükleotid fosfat.

İnsan ejakülatının ilk kısmı temel olarak sperm ve prostat eksüdalarından yani sitrik asit, proteazlar, asit fosfatazdan oluşur ve sonraki kısım fruktoz, prostaglandinler, pıhtılaştırıcı elementler ve seminal veziküller tarafından salgılanan asidik vajinal bölgeyi savunmak için bikarbonatlar içerir (Wein vd., 2011; Plant vd., 2015; Orth, 1982). Semende fruktoz varlığı ilk defa 1946'da Mann tarafından gösterilmiştir (Mann, 1946). Spermatozoonun özellikle kuyruk kısmında fruktolizis aktiftir (Polonovski,1971). Çünkü spermatozoonların hareketlilikleriyle fruktozu kullanabilmeleri arasında büyük bir ilgi vardır (Mann T, Lutwak-Mann, 1981; Polonovski, 1977). Mann, erkek döllenme kanal sistemindeki bazı patolojik durumların sperma fruktoz miktarında ve fruktolizis indeks değerlerinde düşüşlere yol açtığını bildirmiştir (Mann T, Lutwak-Mann, 1981; Lukac vd., 1976).

Semen, sperm canlılığını, işlevini ve hareketliliğini desteklemek için gerekli olan yüksek monosakkarit fruktoz konsantrasyonu (ortalama, 15 mM; normal aralık, 5 ila 30 mM) açısından vücut sıvıları arasında benzersizdir (Owen ve Katz, 2005). Fruktoz,

seminal veziküllerden ve aksesuar seks bezlerinden salgılanır. İnsanlarda fruktoz, seminal plazmadaki ana karbonhidrat kaynağıdır ve normal sperm hareketliliği için gereklidir (Schoen¯ ed vd., 1979). Seminal plazma fruktoz konsantrasyonu ile hareketli sperm konsantrasyonu arasında da negatif bir korelasyon vardır (Lewis-Jones vd., 1996).

Fruktoz konsantrasyonu, seminal vezikül fonksiyonunun bir ölçüsü olarak kabul edildiği için çok detaylı bir şekilde incelenmiştir. Çalışmalar fruktoz konsantrasyonunda geniş bir varyasyon olduğunu göstermektedir (Nun vd., 1972). Fruktoz, sperm için önemli bir enerji kaynağıdır ve bu nedenle tüm semendeki fruktoz konsantrasyonu ölçümleri, semendeki primer laktik asit kaynağı olan fruktolizin bir sonucu olarak zamanla değişebilir (King and Mann, 1959; Mann and Lutwak-Mann, 1981). Fruktoz ayrıca muhtemelen protein komplekslerinde, özellikle pıhtılaşmış semende yer alır (Montagnon vd., 1982). Normozoosperm grubunun seminal fruktoz konsantrasyonu oligozoospermi grubuna göre anlamlı derecede düşüktür. Fruktoz seminal konsantrasyonu, sperm konsantrasyonu ve hareketliliği ile negatif korelasyona sahiptir. Seminal fruktoz içermeyen %100 azospermi vakalarına CBAVD (Congenital Bilateral Absence Of The Vas Deferens) teşhisi konmuştur (Nguyen vd., 2018).

Mevcut öneriler, düşük seminal plazma fruktozunun seminal vezikül disfonksiyonunun bir işareti olduğu ve transrektal ultrasonografi ile daha ayrıntılı olarak incelenebileceği obstrüktif azospermi veya şiddetli oligospermide bir tarama aracı olarak yararlı olduğu yönündedir (Crosignani ve Rubin, 2000).

Tsuji vd.,2006 yaptıkları çalışmada glikoz ve fruktoz kombinasyonunun hareketliliği, akrozom reaksiyonunu ve spermatozoanın penetrasyon hızını arttırdığını göstermişlerdir. Goodson vd., 2012 yaptıkları çalışmada fruktoz ve glikozun etkilerindeki farklılıkları daha ayrıntılı olarak araştırarak, her bir substratta inkübe edilen spermin tam metabolik profillerini belirlemişler ve bunların hücre içi pH (pHi) ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi üzerindeki etkilerini göstermişler. Glikoz ve fruktoz arasındaki farkların, her iki substratla inkübasyon sırasında karşılaştırılabilir seviyelere yükselen hücre içi pH'taki değişikliklerin aşağısında olduğu ortaya çıkmıştır. Sperm redoks yolları, fruktoz ile inkübasyonlar sırasında glikoz ile inkübasyonlara göre daha yüksek seviyelerde ilişkili metabolitler ve reaktif oksijen türleri üretilerek farklı şekilde etkilenmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmaya Alınan Gruplar ve Özellikleri

Çalışmamızda azoospermik ve ileri oligospermik, astenospermik, teratspermik hastalar dahil edilmeyerek, Şişli Memorial Tüp Bebek Merkezi'ne infertilite sebebiyle başvuran çiftlerin erkek bireylerinden 2-10 gün cinsel perhiz sonrası mastürbasyon yoluyla alınan atıl semen örnekleriyle yapılmıştır. Ocak-Nisan 2023 tarihleri arasından alınan örnekler İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Mikrobiyoloji ve Temel ve Yaşam Bilimleri laboratuvarlarında çalışılmıştır. Gram boyamasında lökosit görülmeyen ve EMB agar ve koyun kanlı agar besiyerlerinde üreme görülmeyen örnekler steril (kontrol grubu) kabul edilmiştir. Gram boyamasında lökosit görülen ve EMB agar ve koyun kanlı agar besiyerilerinde üreme görülen örnekler hasta grubu olarak değerlendirilmiştir.

Bu çalışmada enfekte ve steril seminal plazma örrnekleri fruktoz miktarı yönünden karşılaştırılmış, spermiyogramdaki sperm parametreleri incelenmiştir.

3.2. Gereç Listesi

3.2.1. Mikrobiyoloji deneyler için kullanılan malzemeler

- Levine EMB agar
- Koyun kanlı agar
- İdentifikasyon besiyerleri seti
    - MIO agar
    - TSI agar
    - Sitrat agar
    - Üre agar
- Lam
- Pastör pipeti
- Öze
- İspirto ocağı
- Gram boyama seti
    - Gram kristal moru
    - Gram lugol çözeltisi
    - Gram denatüre alkol

    - Gram Fuksin Çözeltisi
- %3 lük H_2O_2
- İmmersiyon yağı
- Filtre kâğıdı
- Işık mikroskobu
- İnkübatör (37°C)
- Antibiyotik diskleri
    - Sefoksitin (CEFOXITIN 30 µg)
    - Basitrasin (BACITRACIN 0.04 units)
- İnsan kan plazması
- Santrifüj
- Eppendorf
- Cam tüp
- Parafilm
- İndol kırmızı

3.2.2. Biyokimya laboratuvar deneyler için kullanılan malzemeler

- Mikro pipet
- Pipet ucu 200 lük
- Pipet ucu 100 lük
- Benmari
- Cam pipet
- Hassas tartı
- Beher
- Cam tüp
- Seliwanoff test
    - Resorsinol
    - Konsantre HCL
    - Saf su
    - Fruktoz
    - Semen süpernatan

3.3. Çalışmada Kullanılan Yöntemler

Enfekte ve steril semen örnekleri santrifüj (1500 g, 10 dk) edilerek eppendorf tüplere alınmış ve analiz gününe kadar -20 ^{o}C'de saklanmıştır.

3.3.1. Mikrobiyolojik tanı

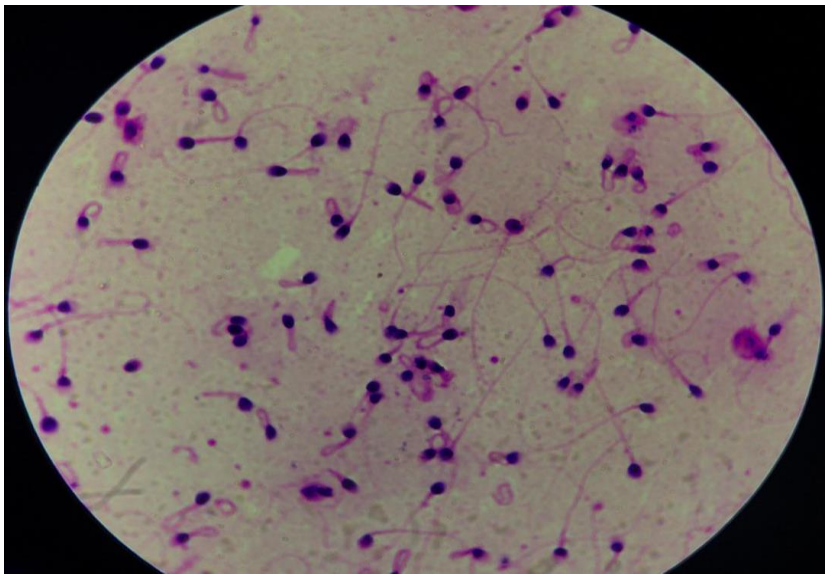
Alınan örnekler ilk olarak Gram pozitif bakteri üremesi için koyun kanlı agara ve Gram negatif bakteri üremesi için EMB agara azaltma yöntemi ile ekim yapılmıştır. Besiyerleri 37°C etüvde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

Lökosit değerlenmesi için yayma preparat hazırlanmış, kuruması beklenerek, Gram boyama yapılmıştır.

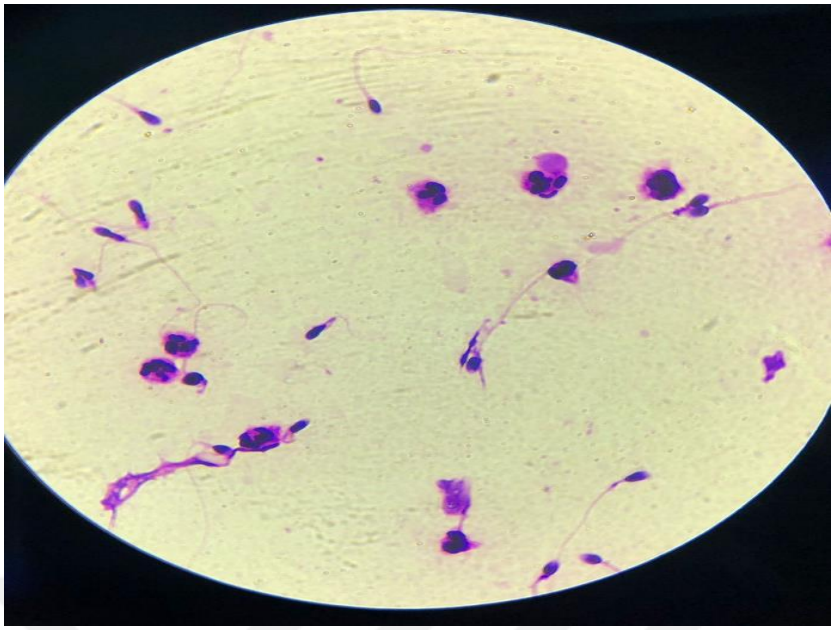
Gram boyama için:

1. Gram kristal moru çözeltisi damlatarak 2 dk bekleyip akar su ile yıkanmıştır,
2. Gram lugol çözeltisi damlatarak 2 dk bekleyip akar su ile yıkanmıştır,
3. Gram denatüre alkol damlatarak 15 sn bekleyip akar su ile yıkanmıştır,
4. Gram fuksin çözeltisi damlatarak 30 sn bekleyip akar su ile yıkanmış ve filtre kağıdıyla kurutulmuştur.

Kuruyan preparatlar üzerine immersiyon (sedir) yağı damlatılarak immersiyon 100x objektifi ile ışık mikroskobunda incelenmiş, tüm alanda lökosit taraması yapılmıştır.



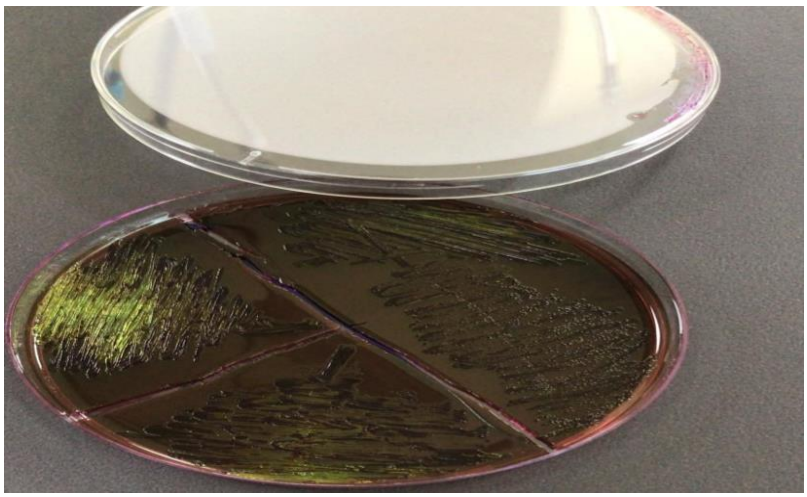
Şekil 3.3.1: Lökosit görülmeyen preparat örneği



Şekil 3.3.2: Lökosit görülen preparat örneği

3.4. EMB Agar Üremesi

Lökosit görülen örneklerin 24 saat inkübasyon sonrası EMB agar besiyerinde üreyen her bir bakteri kolonisi değerlendirilmiş, EMB agarda üreme görülen Gram negatif bakterilere tanı için identifikasyon testi yapılmıştır. Bu test için aynı koloniden sırasıyla üre agar, sitrat agar, TSI agar, MIO agara ekim yapılmış ve 37°C etüvde 24 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası üre agar, sitrat agar ve TSI agar renk ve gaz oluşumuna göre değerlendirilme yapılmış, MIO için indol damlatılmış ve renk değişimi ile birlikte hareket varlığı incelenmiştir. Tanı tablosuna göre tanı konulmuştur.



Şekil 3.4.1: EMB de üreme görülen besiyeri örneği



Şekil 3.4.2: İdentifikasyon (E-coli)



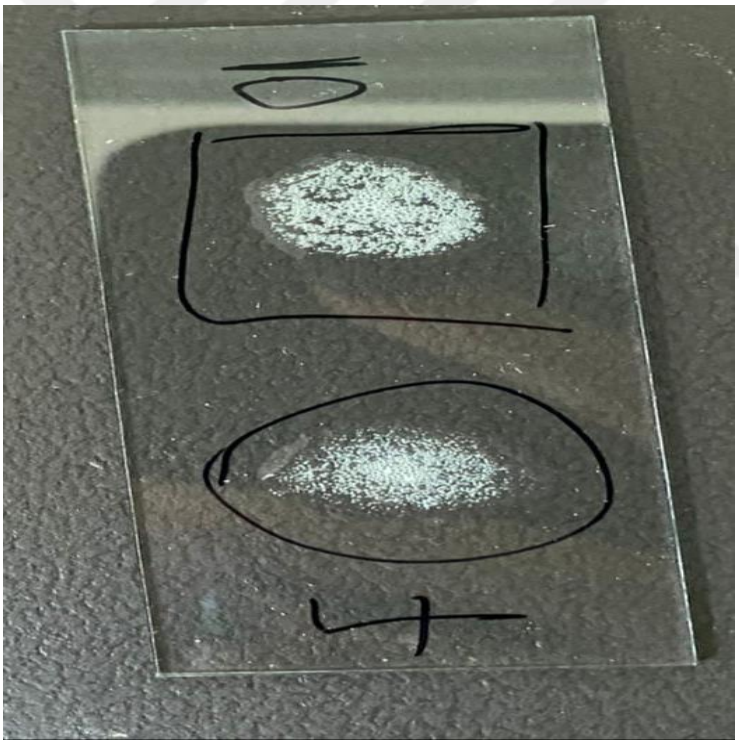
Şekil 3.4.3: Hareket pozitif indol pozitif besiyeri örneği

3.5. Koyun Kanlı Agar Üremesi

Semen örneği, Gram pozitif bakteri üremesi yönünden araştırılmak üzere %5'lik koyun kanlı agar besiyerine öze yardımıyla azaltma yöntemi ile ekilmiştir. Besiyerleri

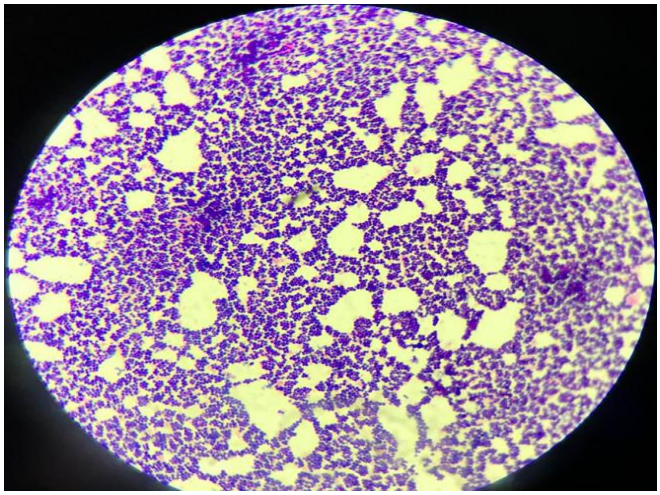
37°C'lik etüvde 18- 24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası üreme görülen besiyerindeki her bir koloni koloni şekil, hemoliz ve pigment yönünden değerlendirilmiştir. Stafilokok olduğu düşünülen krem, sarımtırak, beyaz, hemolizli ve hemolizsiz kolonilerin her biri ayrı ayrı lamlarda buyyon damlatılarak öze yardımıyla yayılmış ve ışık mikroskobunda x100'de incelenmiştir. Mikroskopta Gram pozitif şeklinde görülen koloniler Streptokok ayrımı için katalaz testine tabii tutulmuştur.

Katalaz testi için lama bir damla %3'lük H_2O_2 (Hidrojen peroksit) damlatarak bakteri kolonisinden öze yardımıyla alınan örnek yayılmıştır. Reaksiyon sonucu hava kabarcığı görülen örnekler katalaz pozitif (+), hava kabarcığı görülmeyen örnekler katalaz negatif (-) kabul edilmiştir.



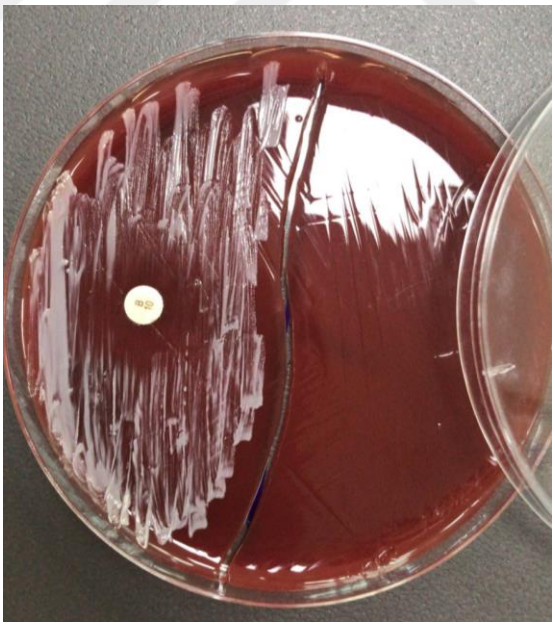
Şekil 3.5.1: Katalaz pozitif bakteri kolonisi örneği

Katalaz pozitif örnekler ışık mikroskobunda 100x immersiyon objektifi ile incelenmiştir, bakteriler yaklaşık 0/5-1.0 çapındadır ve kümeler, çiftler ve bazen de kısa zincirler halinde büyürler.



Şekil 3.5.2: Katalaz pozitif mikroskop görüntüsü

Kolonileri mikrokok veya stafilokok ayrımı için antibiyotik testi yapılmıştır, koloniden yeni bir koyun kanlı agara pasaj geçirerek basitrasin diski uygulanmış ve 37°Clik etüvde inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonucu basitrasine duyarlı olanlar mikrokok kabul edilmiştir.



Şekil 3.5.3: Basitrasin duyarlı olan, mikrokok

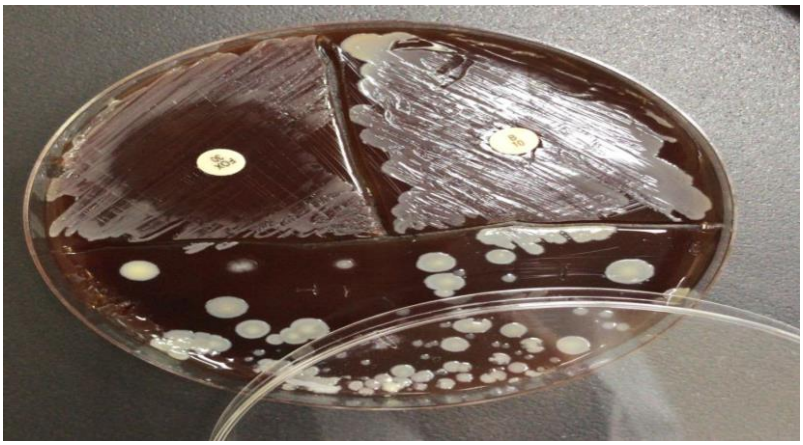
Basitrasine direnç gösteren koloniler Stafilococcus aureus ve KNS (koagülaz negatif stafilokok) yapmak amacıyla koagülaz testi uygulanmıştır. Koagülaz testi için insan kan plazması kullanılmış, cam tüp içine 1ml plazma konulmuş ve üzerine öze yardımı

ile koloniden aldığımız bakteri karıştırılmıştır ve üzeri parafin ile kapatılmıştır. 37°Clik etüvde 18-24 saat inkübasyona bırakılmıştır. Pıhtılaşma sonucu katılaşan plazma örnekler koagülaz pozitif kabul edilerek S.aureus değerlendirilmiştir.



Şekil 3.5.4: Koagülaz pozitif örneği

Bu örnekler metisiline direnç yönünden değerlendirmek üzere tekrar koyun kanlı agardan pasaj yapılarak metisilinin eşleniği olan sefoksitin antibiyotik diski uygulanmıştır. İnkübasyon sonrası sefoksitin diski etrafında oluşan zon değerlendirilmiş ve dirençli olarak kabul edilenlere MRSA (metisiline dirençli stafilokok aureus), duyarlı olarak kabul edilenler MSSA (metisiline hassas stafilokok aureus) tanısı koyulmuştur.



Şekil 3.5.5: Sefoksitin duyarlı olarak kabul edilen MSSA görüntüsü

Pıhtılaşma sonucu katılaşma olmayan plazma örnekleri koagülaz negatif kabul edilerek KNS (koagülaz negatif stafilokok) olarak değerlendirilmiştir.

3.6. Fruktoz Tayini

Testin temeli Seliwanoff testidir. Seliwanoff testinin amacı aldoz ve ketoz şekerlerini birbirinden ayırmaktır.

Testin prensibi: Heksozlar asit ortamda ısıtıldıklarında hidroksi metil furfural türevleri oluşur. Aldoheksozlar bu reaksiyona daha geç dönüşmektedir. Keto heksozlar ise daha hassastır. Seliwanoff ayracındaki rezorsinol ile ketoheksozların furfural türevleri pembe renk verdikleri için aldoheksozlardan kolaylıkla ayrıştırılırlar.

Ayraç

Test için öncelikle rezorsinol ayracı hazırlanır. Bu ayraç için; 50 mg rezorsinol, 30 ml konsantre HCl ve 100 ml saf su kullanılmıştır.

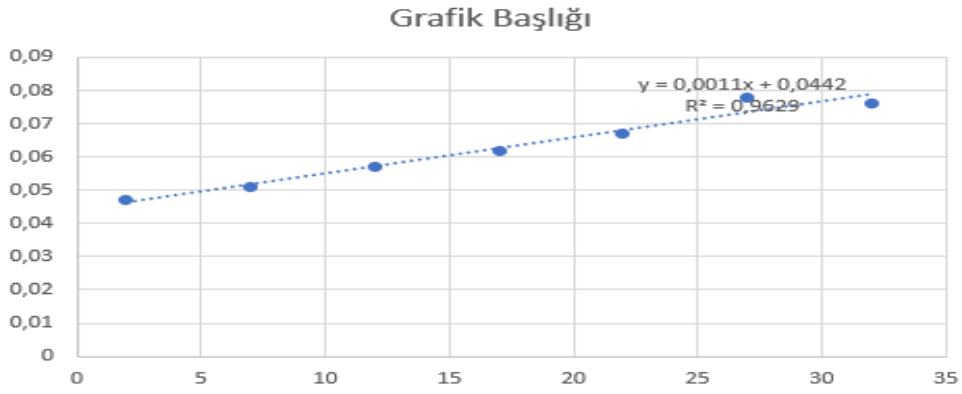
Teknik

Santrifüj edilen semen örneklerinin seminal plazması pelletten pastör pipet yardımıyla ayrılıp başka bir eppendorf tüpe aktarılmıştır. Her bir seminal plazmadan bir cam tüp içine ayrı ayrı 100 µl konulmuştur. Örnek konulan tüplere 1'er ml hazırlanan rezorsinol solüsyonu eklenmiştir.

Hazırlanan karışımlar kaynar su içinde 1dk tutularak renk değişimi gözlenir gözlenmez deney tüpleri kaynar sudan çıkarılmıştır ve soğutmaya alınmıştır.

Soğuyan örneklerden 200'er µl alınarak plate kuyucuklarına konmuştur. Kör için distile su kullanmıştır. 560 nm spektrofotometrede okunmuştur.

Çalışmada fruktoz standart eğrisi için dalga boyu taraması yapılarak en uygun dalga boyu 560 nm olarak tespit edilmiştir. 2 mM/L, 7mM/L, 12 mM/L, 17 mM/L, 22 mM/L, 27 mM/L, 32 mM/L konsantrasyonlarında fruktoz standartları hazırlanmıştır ve fruktoz konsantrasyonu bu eğriden değerlendirilmiştir.



Şekil 3.6.1: Fruktoz standart eğrisi

4. BULGULAR

Bu çalışma, seminal plazma fruktoz konsantrasyonuna enfeksiyonun etkisinin prospektif incelenmesini içermektedir. Çalışmada Şişli Memorial hastanesi Tüp Bebek Merkez'inden alınan 44 sağlıklı, 44 enfeksiyonlu seminal plazma örnekleri incelenmiştir.

4.1. Viskosite, Likefaksiyon ve Lökosit Sayısının Gruplarda Dağılımı ve Karşılaştırması

Kontrol ve toplam enfeksiyon grubu viskosite, likefaksiyon ve lökosit sayısı bakımından karşılaştırılmıştır (Ki- Kare analizi). Viskosite ve likefaksiyon sıklığı farklılık göstermemiştir. Enfeksiyonlu hasta grubunda lökosit sayısı normalin üstünde olan hasta oranı (%13,6) kontrol grubuna göre fazla ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. (p=0,011)(Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Viskosite, likefaksiyon ve lökosit sayısının gruplarda dağılımı ve karşılaştırılması.

			Kontrol (n=44)l	Enfeksiyon (n=44)	Ki-Kare	p
Viskosite	Normal	n	25	26	0,05	0,829
		%	56,8%	59,1%		
	Anormal	n	19	18		
		%	43,2%	40,9%		
Likefaksiyon	Normal	n	43	43	0,09	0,998
		%	97,7%	97,7%		
	Anormal	n	1	1		
		%	2,3%	2,3%		
Lökosit Sayısı (x milyon/mL)	1(normal)	n	44	38	6,43	**0,011**
		%	100,0%	86,4%		
	2(anormal)	n	0	6		
		%	0,0%	**13,6%**		

4.2. Değişkenlerin Normallik Analizi

Tüm değişkenlerin normallik kontrolü Shapiro-Wilk Analizi ile incelenmiş ve normal dağılım göstermedikleri saptanmıştır. Bu nedenle non parametrik analizler uygulanmıştır.

Tablo 4.2: Değişkenlerin normallik analizi

	Shapiro-Wilk	P
Yaş	0,975	0,043
pH	0,577	0,001
Hacim (ml)	0,903	0,001
Toplam sayı (10^6/ejekulat)	0,888	0,001
Konsantrasyon (10^6/ml)	0,844	0,001
Toplam Motilite (%)	0,949	0,002
İleri Hareket	0,977	0,012
Yerinde Hareket (%)	0,766	0,001
Hareketsiz (%)	0,941	0,001
Normal Formlar (%)	0,851	0,001
Anormal Başlar (%)	0,623	0,001
Anormal Orta Parçalar (%)	0,804	0,001
Anormal Esas Parçalar (%)	0,893	0,001
Lökosit Sayısı (10^6/ml)	0,273	0,001
Fruktoz Konsantrasyonu (mM/L)	0,908	0,001
Fruktoz Konsantrasyon (5xmilyon)	0,563	0,001

4.3. Nicel Değişken Değerlerine İlişkin Ortalamalar ve Karşılaştırmalar

Kontrol ve toplam enfeksiyon grubuna ilişkin nicel değişkenler Mann Whitney analizi ile karşılaştırılmıştır. pH, toplam sayı, hareketsizlik kontrol grubunda; toplam motilite, yerinde hareket, anormal orta parçalar ve fruktoz konsantrasyonu ise enfeksiyon grubunda daha fazladır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Yaş, hacim, konsantrasyon, toplam motilite, seminal plazma konsantrasyonu, ileri hareket, anormal esas parçalar, fruktoz konsantrasyonu kontrol ve enfeksiyon gruplarında istatistiksel olarak farklı bulunmamıştır ($P > 0,05$). Ancak 5 milyon sperm başına düşen fruktoz düzeyi enfeksiyonlu gruplarda kontrole kıyasla yüksek bulunmuştur ($p=0,046$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Nicel değişkenlere ilişkin ortalamalar ve karşılaştırmalar

	Kontrol Grubu (n=44)		Enfeksiyon Grubu (n=44)		z*	P
	Ortalama	Std. Sapma	Ortalama	Std. Sapma		
Yaş	35,93	5,76	35,32	6,49	0,47	0,640
pH	7,98	0,06	7,93	0,09	2,88	**0,004**
Hacim (ml)	3,85	1,33	3,47	1,15	0,82	0,414
Toplam sayı (10^6/ejekulat)	103,01	60,02	83,92	78,09	2,39	**0,017**
Konsantrasyon (10^6/ml)	27,38	13,83	26,47	26,45	1,79	0,073
Toplam Motilite (%)	37,36	10,73	**44,80**	12,76	2,21	**0,027**
İleri Hareket (%)	28,82	8,72	32,66	8,45	1,58	0,113
Yerinde Hareket (%)	8,75	3,97	**12,82**	6,98	3,30	**0,001**
Hareketsiz (%)	61,98	10,10	55,20	12,76	1,98	**0,048**
Normal Formlar (%)	1,50	1,27	1,89	1,69	0,71	0,475
Anormal Başlar (%)	73,86	11,28	77,39	6,00	1,41	0,157
Anormal Orta Parçalar (%)	22,34	8,97	**31,30**	13,26	3,54	**0,001**
Anormal Esas Parçalar (%)	23,11	6,50	24,80	8,19	0,90	0,369
Fruktoz Konsantrasyonu (mM/L)	320,25	101,96	312,18	97,20	0,12	0,904
F Konsantrasyon (5xmilyon)	77,49	59,19	**131,54**	125,35	1,99	**0,046**

*: Mann Whitney

4.4. Stafilakok, Mikrokok Enfeksiyon Örneklerinde Viskosite, Likefaksiyon ve Lökosit Sayısının Gruplarda Dağılımı ve Karşılaştırılması

Kontrol, Stafilakok ve Mikrokok gruplarında viskosite, likefaksiyon ve lökosit sayısının dağılımı incelenmiştir. Buna göre iki enfeksiyon grubunda da lökosit sayısı normalin üstünde olan hasta oranı (%13,6; 11,1) kontrol grubuna göre fazladır; istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,048). Viskozite ve likefaksiyon bakımından kontrol ve enfeksiyonlu örneklerde farklılık bulunmamıştır (P >0,05).

Tablo 4.4: Stafilakok, mikrokok enfeksiyon örneklerinde viskosite, likefaksiyon ve lökosit sayısının gruplarda dağılımı ve karşılaştırılması.

			Gruplar			Ki-Kare	p
			Kontrol (n=44)	Stafilokok (n=22)	Mikrokok (n=18)		
Viskosite	Normal	n	25	14	10	0,35	0,838
		%	56,8%	63,6%	55,6%		
	Anormal	n	19	8	8		
		%	43,2%	36,4%	44,4%		
Likefaksiyon	Normal	n	43	21	18	0,88	0,643
		%	97,7%	95,5%	100,0%		
	Anormal	n	1	1	0		
		%	2,3%	4,5%	0,0%		
Lokosit (x milyon/mL)	1	n	44	19	16	5,89	**0,048**
		%	100,0%	86,4%	88,9%		
	2	n	0	3	2		
		%	0,0%	**13,6%**	**11,1%**		

4.5. Nicel Değişkenlere İlişkin Ortalamalar ve Karşılaştırmalar

Kontrol ve iki enfeksiyon grubuna ilişkin nicel değişkenler Kruskal Wallis Analizi ile karşılaştırılmıştır. Kontrol grubunun pH ortalaması iki enfeksiyon grubunun da ortalamasından büyük; yerinde hareket, anormal orta parçalar ve konsantrasyon (5xmilyon) ortalamaları ise küçüktür (Mann whitney p<0,05). Toplam sayı, konsantrasyon (10^6/ml) değerleri Mikrokok grubunda diğer iki gruba göre düşük bulunmuştur; istatistiksel olarak anlamlıdır (Mann whitney p<0,05) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5: Nicel değişkenlere ilişkin ortalamalar ve karşılaştırmalar

	Kontrol (n=44)		Stafilokok (n=22)		Mikrokok (n=18)		KW**	p
	Ortalama	Std. Sapma	Ortalama	Std. Sapma	Ortalama	Std. Sapma		
Yaş	35,93	5,76	35,05	6,76	34,50	5,87	0,25	0,882
pH	7,98 S-M	0,06	7,92	0,10	7,95	0,08	8,15	**0,017**
Hacim (ml)	3,85	1,33	3,56	1,30	3,24	0,96	1,40	0,497
Toplam sayı (10^6/ejekulat)	103,01	60,02	105,59	89,78	**49,96 K-S**	46,31	13,18	**0,001**
Konsantrasyon (10^6/ml)	27,38	13,83	34,14	32,40	**16,47 K-S**	15,22	9,04	**0,011**
Toplam Motilite (%)	37,36	10,73	45,00	12,20	44,11	13,13	4,74	0,094
İleri Hareket	28,82	8,72	32,77	8,20	32,28	8,83	2,44	0,296
Yerinde Hareket (%)	8,75 S-M	3,97	12,23	5,60	13,50	8,61	10,77	**0,005**
Hareketsiz (%)	61,98	10,10	55,00	12,20	55,89	13,13	3,81	0,149
Normal Formlar (%)	1,50	1,27	2,14	1,58	1,56	1,69	3,30	0,192
Anormal Başlar (%)	73,86	11,28	78,18	5,94	76,83	6,11	2,89	0,236
Anormal Orta Parçalar (%)	22,34 S-M	8,97	32,14	13,60	29,28	12,31	11,41	**0,003**
Anormal Esas Parçalar (%)	23,11	6,50	26,45	9,60	22,06	5,91	3,07	0,215
Fruktoz Konsantrasyonu	320,25	101,96	318,86	84,65	308,56	111,37	0,64	0,727
F Konsantrasyon (5xmilyon)	77,49 S-M	59,19	106,83	105,45	177,72	147,14	8,22	**0,016**

**: Kruskal Wallis Analizi K-S-M: Mann Whitney analizi

4.6: Nonparametrik korelasyonlar

Spearman Korelasyon Analizine göre kontrol ve enfeksiyonlu gruplarda pH'ın yaştan etkilendiği saptanmıştır. Yaş arttıkça pH'ın da arttığı yani seminal plazmanın bazikleştiği görülmüştür. pH'in diğer faktörlerle ilişkisi bulunmamıştır. Hacim ile yaş ve pH arasında korelasyon yoktur. Toplam sayı ile pH arasında negatif yönde bağıntı vardır; toplam sayı arttıkça pH azalmaktadır. Buna karşın toplam sayı ile yaş ve hacim arasında ilişki bulunmamıştır. Konsantrasyon ile pH arasında negatif, toplam sayı arasında pozitif yönde korelasyon saptanmıştır. Konsantrasyon, yaş ve hacimden etkilenmemektedir. Toplam motilite ile yaş ve pH arasındaki bağıntı negatif yöndedir. Yaşın ve pH'ın artması motiliteyi olumsuz etkilemektedir. Buna karşın toplam sayı ve konsantrayon arasındaki korelasyon pozitif yöndedir. İleri hareket ile pH ve yaş arasında negatif ilişki varken toplam sayı, konsantrasyon ve motilite arasındaki korelasyon pozitif yöndedir. Yerinde hareket; yaş, pH ve hacimden olumsuz

etkilenirken, toplam sayı, konsantrasyon, motilite ve ileri hareket arasında pozitif korelasyon görülmüştür. Hareketsiz sperm değişkeni ile yaş, pH, toplam sayı, konsantrasyon, motilite ve ileri hareket arasında negatif bir etkileşim söz konusudur. Buna karşın hacim ile ilişki saptanmamıştır. (Normal formlar değişkeni ile yaş, pH ve hareketsizlik özellikleri arasındaki korelasyon negatif, toplam sayı, konsantrasyon, toplam motilite, ileri hareket, yerinde hareket, hareketsiz sperm arasında pozitif yönde iletişim gözlenmiştir. Anormal başlar ile pH ve hareketsiz sperm parametreleri arasındaki korelasyon ters yönde, toplam motilite, ileri hareket, yerinde hareket ve normal başlar arasındaki korelasyon ise pozitif yöndedir. Anormal orta parçalar ile yaş ve pH arasındaki korelasyon negatiftir ($p< 0,05$). Hareketsiz, toplam motilite, ileri hareket, yerinde hareket ve normal başlar arasındaki korelasyon pozitiftir ve istatistiksel olarak anlamlıdır ($p< 0,05$). Anormal esas parçalar ile pH arasındaki ilişki negatif yönde iken anormal başlar ve anormal orta başlar arasındaki bağıntı pozitiftir ($p< 0,05$). Lökosit sayısı ile yerinde hareket, anormal parçalar ve anormal orta parçalar arasında pozitif ilişki vardır ($p< 0,05$). Fruktoz konsantrasyonu ile hacim arasında negatif korelasyon saptanmıştır ($p< 0,05$). Diğer değişkenler ile istatistiksel olarak önemli ilişki bulunamamıştır (($p >0,05$). Konsantrasyon ile pH arasında da; toplam sayı, konsantrasyon, ileri hareket, yerinde hareket, hareketsiz ve normal formlar arasında da korelasyon pozitif yöndedir ($p< 0,05$).

Tablo 4.6: Nonparametrik korelasyonlar

Correlations		Yaş	pH	Hacim(ml)	Toplam sayı(ejekulat)	Konsantrasyon	Toplam Motilite	İleri Hareket	Yerinde Hareket	Hareketsiz	Normal Formlar	Anormal Başlar	Anormal Orta Parçalar	Anormal Esas Parçalar	Lökosit Sayısı
pH	Correlation Coefficient	,336**													
	Sig. (2-tailed)	**,001**													
	N	88													
Hacim(ml)	Correlation Coefficient	-,101	,110												
	Sig. (2-tailed)	,347	,306												
	N	88	88												
Toplam sayı (ejekulat)	Correlation Coefficient	-,157	-,345**	,201											
	Sig. (2-tailed)	,145	**,001**	,060											
	N	88	88	88											
Konsantrasyon	Correlation Coefficient	-,126	-,388**	-,159	,912**										
	Sig. (2-tailed)	,244	**,000**	,139	**,000**										
	N	88	88	88	88										
Toplam Motilite (%)	Correlation Coefficient	-,338**	-,741**	-,014	,380**	,413**									
	Sig. (2-tailed)	**,001**	**,000**	,897	**,000**	**,000**									
	N	88	88	88	88	88									
İleri Hareket T	Correlation Coefficient	-,238*	-,615**	,032	,378**	,395**	,940**								
	Sig. (2-tailed)	**,025**	**,000**	,770	**,000**	**,000**	**,000**								
	N	88	88	88	88	88	88								
Yerinde Hareket	Correlation Coefficient	-,367**	-,726**	-,097	,212*	,254*	,639**	,416**							
	Sig. (2-tailed)	**,000**	**,000**	,369	,047	**,017**	**,000**	**,000**							
	N	88	88	88	88	88	88	88							
Hareketsiz	Correlation Coefficient	,351**	,741**	-,007	-,395**	-,412**	-,983**	-,937**	-,646**						
	Sig. (2-tailed)	**,001**	**,000**	,946	**,000**	**,000**	**,000**	**,000**	**,000**						
	N	88	88	88	88	88	88	88	88						

Correlations		YAŞ	pH	Hacım (Ml)	Toplam sayı (Ejekulat)	Konsantrasyon	Toplam Motilite	İleri Hareket	Yerinde Hareket	Hareketsiz	Normal Formlar	Anormal Başlar	Anormal Orta	Anormal Esas	Lökosit Sayısı
Normal Formlar	Correlation Coefficient	-,230*	-,711**	-,080	,544**	,576**	,681**	,609**	,568**	-,689**					
	Sig. (2-tailed)	**,031**	**,000**	,460	**,000**	**,000**	**,000**	**,000**	**,000**	**,000**					
	N	88	88	88	88	88	88	88	88	88					
Anormal Başlar	Correlation Coefficient	-,195	-,668**	-,102	,141	,184	,462**	,341**	,481**	-,449**	,437**				
	Sig. (2-tailed)	,069	**,000**	,346	,190	,087	**,000**	**,001**	**,000**	**,000**	**,000**				
	N	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88				
Anormal Orta Parçalar	Correlation Coefficient	-,325**	-,718**	-,021	,110	,117	,413**	,244*	,628**	-,414**	,368**	,545**			
	Sig. (2-tailed)	**,002**	**,000**	,846	,308	,278	**,000**	**,022**	**,000**	**,000**	**,000**	**,000**			
	N	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88			
Anormal Esas Parçalar	Correlation Coefficient	-,128	-,351**	,023	,124	,103	,107	,028	,158	-,078	,129	,355**	,545**		
	Sig. (2-tailed)	,233	**,001**	,834	,251	,340	,322	,792	,141	,469	,233	**,001**	**,000**		
	N	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88		
Lökosit Sayısı	Correlation Coefficient	-,102	-,152	-,158	-,159	-,070	,184	,102	,227*	-,180	,017	,218*	,305**	,156	
	Sig. (2-tailed)	,343	,157	,140	,139	,516	,086	,343	**,034**	,093	,872	**,041**	**,004**	,148	
	N	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88	
Fruktoz Konsantrasyonu	Correlation Coefficient	-,132	-,003	-,311**	,053	,174	,039	,046	-,040	-,050	,046	-,032	-,059	-,159	-,054
	Sig. (2-tailed)	,220	,981	**,003**	,626	,104	,718	,671	,709	,644	,670	,770	,587	,139	,616
	N	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88
Konsantrasyon (5xmilyon)	Correlation Coefficient	,040	,368**	,031	-,893**	-,917**	-,383**	-,373**	-,254*	,383**	-,546**	-,192	-,121	-,144	,074
	Sig. (2-tailed)	,713	**,000**	,774	**,000**	**,000**	**,000**	**,000**	**,017**	**,000**	**,000**	,073	,261	,182	,495
	N	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88	88

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada infertil seminal plazma örnekleri enfeksiyonlu ve steril olmak üzere iki grup halinde ayrılarak çeşitli parametreler üzerinden iki grup karşılaştırılmış, ayrıca enfeksiyonun fruktoz konsantrasyonuna etkisi araştırılmıştır. Kontrol ve enfeksiyonlu gruplarda pH'ın yaştan etkilendiği saptanmıştır. Yaş arttıkça pH'ın da arttığı yani seminal plazmanın bazikleştiği görülmüştür. Toplam motilite ile yaş ve pH arasındaki bağıntı negatif yöndedir. Yaşın ve pH'ın artması motiliteyi olumsuz etkilemektedir. Bizim sonuçlarımızla paralel olarak Kidd vd. ,2001 30 yaşındaki erkekler ile 50 yaşındaki erkekleri karşılaştırdıkları çalışmada, semen hacminde %3 ila %22 oranında azalma, sperm motilitesinde %3 ila %37 oranında azalma ve normal sperm yüzdesinde %4 ila %18 oranında azalma gösterdiğini bulmuşlardır. Krausz (2011)'a göre erkek infertilitesi, tüm infertil vakalarının neredeyse yarısını oluşturmaktadır ve erkek nüfusun yaklaşık %7'sini etkilemektedir. Erkeklerde ileri yaş da sperm kalitesini etkileyerek infertiliteye yol açabilir (Horta vd., 2019).

Johnson vd., 2020 çalışmalarına göre semen, çeşitli patojenik virüsler için birincil bulaşma aracıdır. Hücre bağlanması ve hücre girişi de dahil olmak üzere bulaşmanın ilk adımları büyük olasılıkla semenin varlığında gerçekleşir. Bununla birlikte, insan seminal plazmasının kararsız doğası ve kültürdeki hücreler üzerindeki toksik etkileri, besiyerinde in vitro virüs enfeksiyonu ve inhibisyonunu inceleme yeteneğini sınırlar. Bütün semenin, HIV-1'in zarf glikoproteinleri (Envs) üzerindeki glikanları hedefleyen antikorların ve mikrobisidlerin gücünü önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur. Semendeki çok yüksek monosakkarit fruktoz konsantrasyonu, ligandların Env üzerindeki 1,2-bağlı mannoz kalıntılarına bağlanmasını rekabetçi bir şekilde inhibe ederek etkiye önemli ölçüde katkıda bulunur. Tüm insan seminal plazmasındaki enfeksiyon ve inhibisyon, formüle ettiğimiz seminal sıvının stabil bir sentetik simulantı tarafından doğru bir şekilde taklit edilir. Johnson ve arkadaşların bulgularına göre biyolojik salgıların protein içeriğine ek olarak, küçük çözünen bileşimlerinin antiviral mikrop öldürücülerin ve mukozal antikorların gücünü etkilediğini göstermektedir.

Diğer çalışmalara göre erkek üreme sistemindeki enfeksiyonlar ve buna bağlı inflamasyon, spermatogenez ve sperm hücre fonksiyonunu tehlikeye atabilir (Henkel

ve Schill, 1998; Urata vd., 2001). Başka bir çalışmada erkek ürogenital sisteminde bulunan çeşitli mikroorganizma türleri, özellikle anormal motilite, yetersiz mitokondriyal fonksiyon ve DNA bütünlüğünün kaybı gibi sperm anormallikleriyle ilişkilidir (la Vignera vd.,2011; Merino vd., 1995).

Yaptığımız çalışmada anormal orta parçalı sperm oranı enfeksiyon grubunda daha fazladır ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Spermin boyun kısmında (orta parça) mitokondriler bulunur. Buna bağlı olarak bu durum enfeksiyon grubunda mitokondriyal alanının bozulduğunu gösteren bir bulgudur. Fakat motilite karakteristikleri değişmemiş, hatta yüksek bir motilite görülmüştür ve bu bize enfeksiyonlardan kaynaklanan negatif bir etki olmadığını göstermiştir.

Daha önceki çalışmalarda cilt florasının semen kalitesi üzerindeki etkisine ilişkin çelişkili raporlar vardır ve erkek infertilitesinde patofizyolojik rolleri belirlenmemiştir (Sanocka-Maciejewska vd., 2005; Jarvi vd., 1996; Kiessling vd., 2008). Escherichia coli, Enterococcus faecalis ve Ureaplasma urealyticum gibi idrar yolu patojenlerinin spermatogenezi ve sperm fonksiyonunu etkileyip etkilemediğini test etmiştir (de Francesco vd., 2011; Imirzalioglu vd.,2008). Çalışmaların sonuçları, semen numunelerinde basit bakteri varlığının sperm kalitesini tehlikeye atabileceğini düşündürmektedir (Hillier vd., 1998; Keck vd., 1998; Moretti vd., 2009).

Gonzales vd.,1989`da yaptıkları çalışmada infertilite merkezlerine başvuran 20- 40 yaş aralığındaki 146 erkekte seminal veziküllerin salgılama aktivitesini seminal fruktoz konsantrasyonunun ölçülmesiyle değerlendirmişlerdir. Bulunan değerlerin, pozitif semen kültürünün varlığı, üreme sistemindeki diğer inflamatuar süreçler ve sperm hareketliliği ile ilgili olduğunu belirtmişlerdir. Semen kültürü pozitif olan deneklerin yalnızca %48'i, yüksek büyütme alanı başına 20'den fazla beyaz kan hücresinin varlığı ve ejakülatta %10'dan fazla sperm aglutinasyon varlığı ile değerlendirilmiş ve üreme sisteminde iltihaplanma kanıtı göstermişlerdir. İnflamatuar, seminal veziküllerin hipofonksiyonu ve zayıf sperm motilitesi arasında bir ilişki göstermişlerdir. Semen kültürü pozitif olduğunda ancak inflamasyona dair bir kanıt bulunmadığında ne seminal vezikül fonksiyonu ne de sperm hareketliliği etkilenmemiştir. Semen kültürü negatif olduğunda, yani iltihaplanma belirtisi olmadığında ve denekler astenozoospermik olduğunda, fruktoz seviyelerinin normal olduğunu göstermişlerdir. Bu durumlarda astenozoosperminin nedeninin aksesuar cinsel organ disfonksiyonu

dışındaki faktörler olabileceği ileri sürülmektedir. Sonuç olarak bakteriyolojik sonuçlar ile aksesuar bezlerdeki inflamasyon bulguları arasında yakın bir ilişki saptanmamıştır. Pozitif bir semen kültürü, daha düşük düzeltilmiş fruktoz seviyeleri (seminal veziküllerin hipofonksiyonu) ile ilişkiliyken, pozitif sperm kültürü üreme sistemi iltihabı ve astenozoospermi ile ilişkilendirilmiştir.

Yaptığımız prospektif çalışmada kontrol, Stafilakok ve Mikrokok gruplarında (hasta grubu) viskosite, likefaksiyon ve lökosit sayısının dağılımı incelenmiştir. Buna göre iki enfeksiyon grubunda da lökosit sayısı normalin üstünde olan hasta oranı (%13,6; 11,1) kontrol grubuna göre fazladır; istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,05$). Fakat bizim çalışmamız sonucu elde edilen bulgularda Stafilokok ve Mikrokok enfeksiyonlarında her zaman seminal lökosit yükselmediğini yani bir enfeksiyon olmadığını kanıtlamıştır.

Çalışmamızda lökosit sayısı ile yerinde hareket, anormal parçalar ve anormal orta parçalar arasında pozitif ilişki vardır ($p< 0,05$). Lökosit sayısı artıkça yerinde hareket, anormal parçalar, anormal orta parçaların da arttığı görülmüştür. Kontrol grubunun pH ortalaması iki enfeksiyon grubunun da ortalamasından büyük; yerinde hareket, anormal orta parçalar ve konsantrasyon (5xmilyon) ortalamaları ise küçüktür (Mann whitney $p<0,05$). Toplam sayı, konsantrasyon (10^6/ml) değerleri Mikrokok grubunda diğer iki gruba göre düşük bulunmuştur; istatistiksel olarak anlamlıdır (Mann whitney $p<0,05$)

Ayrıca çalışmamızda ileri hareket ve yerinde hareket ile pH ve yaş arasında negatif ilişki görülmüştür. Hareketsiz sperm değişkeni ile yaş, pH, toplam sayı, konsantrasyon, motilite ve ileri hareket arasında negatif bir etkileşim söz konusudur. Anormal orta parçalar ile yaş ve pH arasındaki korelasyon negatiftir ($p< 0,05$). Yaş ve pH arttıkça anormal orta parçaların da arttığı görülmüştür.

Yapılan çalışmalara göre fruktoz konsantrasyonunun değerlendirilmesi, seminal veziküllerin durumunu, endokrin anomalileri ve ayrıca potansiyel ejakülatör kanal tıkanıklığını gösterebilir (Wein vd., 2011; Aumüller ve Riva, 1992; Setchell ve Waites, 1970). Mann, erkek döllenme kanal sistemindeki bazı patolojik durumların sperma fruktoz miktarında ve fruktolizis indeks değerlerinde düşüşlere yol açtığını bildirmiştir (Mann T, Lutwak Mann, 1981, Lukac et al., 1976). Ayrıca anerobik fruktolizis

spermatozoonun hayatiyetini sürdürebilmesinde en önemli rol oynar (Mann T, 1954). Phadke vd., 1973; Suominen J, 2001 yapılan çalışmalara göre fruktoz aynı zamanda semende spermatozoa için enerji kaynağı olup astenozoospermi gibi patolojik durumlarda önem kazanmaktadır.

Gonzales, 1994 yaptıkları çalışmada infertilite kliniğine başvuran 33 erkekte serum testosteron, seminal fruktoz, sitrik asit ve prolaktin miktarını değerlendirmiştir. Bu çalışmaya göre seminal numuneler, peroksidaz boyama tekniği kullanılarak lökositler açısından değerlendirildi ve lökositospermik olanlar veya olmayanlar olarak gruplandırıldı. Düzeltilmiş fruktoz, gerçek fruktoz konsantrasyonundan hesaplandı. Çalışmanın amacı, üreme sistemindeki iltihaplanma nedeniyle obstrüktif bir sürecin varlığını veya yokluğunu belirlemek için bir test olarak serum testosteron seviyeleri ve düzeltilmiş seminal fruktoz seviyelerinin birleşik ölçümünü kullanmaktı. Lökositospermisi olan bireylerde seminal fruktoz ve düzeltilmiş fruktoz daha düşüktü, oysa serum testosteron, seminal prolaktin ve sitrik asit, lökositospermisi olan ve olmayan gruplar arasında farklı değildi. Lökositospermili örneklerin %61,5'inde hem düşük düzeltilmiş seminal fruktoz hem de normal serum testosteron seviyeleri gözlendi, bu da obstrüktif bir sürece işaret etmektedir. Lökositospermik deneklerdeki seminal prolaktin seviyeleri, düzeltilmiş fruktozdan ziyade sitrik asit konsantrasyonuyla daha fazla ilişkiliydi; bu da prolaktinin prostat tarafından da salgılandığını düşündürmektedir. Özet olarak veriler, lökositospermi, normal serum testosteron konsantrasyonu ve düşük düzeltilmiş seminal fruktoz seviyesi mevcut olduğunda, seminal veziküllerde obstrüktif bir süreçten şüphelenilebileceğini göstermiştir.

Yaptığımız prospektif çalışmada Şişli Memorial Hastanesi Tüp Bebek Merkez'inden alınan 44 sağlıklı, 44 enfeksiyonlu seminal plazma örneklerde toplam motilite, yerinde hareket, anormal orta parçalar ve fruktoz konsantrasyonu enfeksiyon grubunda daha fazla ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

Ayrıca çalışmada semende fruktoz miktarının artması enfeksiyonlu hastalarımızda bulduğumuz sonuç, buna bağlı olarak motilite artması beklediğimiz bir durum. Fruktoz yükselmesi enerji kaynağı çok fazla olmasını gösteriyor. Enfeksiyon sonrası aksesuar bez salgılarının artması ile birlikte fruktoz sekresıyon da artıyor ve bu sperm

motilitesi için bir enerji kaynağı olduğu için sperm motilitesinin artmasını sebep oluyor.

Sonuç olarak, enfeksiyonların semendeki fruktoza ne gibi etki yaptığını incelemek önemlidir. Enfeksiyon etkeni olan bakterilerin fertiliteyi etkileyen semen fruktozu üzerindeki etkileri konusunda yeterli çalışma bulunmamaktadır. Bu konuda daha fazla araştırmanın gerekli olduğu görülmektedir. Dünya çapında semen kalitesinin bozulması ve erkek infertilitesine yol açan nedenleri ile ilgili daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKÇA

Aalberts, M., Stout, T. A., & Stoorvogel, W. (2014). Prostasomes: extracellular vesicles from the prostate. *Reproduction*, *147*:R1–R14. https://doi.org/10.1530/REP-13-0358

Abraham L., Kierszenbaum M.D.(2002). Histology and Cell Biology, 2th edition, Mosby,; 529-550.

Altalhi AD (2009). Plasmids profiles, antibiotic and heavy metal resistance incidence of endophytic bacteria isolated from grapevine (Vitis vinifera L.). Afr J Biotechnol 8:5873–5882

AMELAR R. D. (1962). Coagulation, liquefaction and viscosity of human semen. *The Journal of urology*, *87*, 187–190. https://doi.org/10.1016/S0022-5347(17)64936-X

Antony R, Krishnan KP, Laluraj CM, Thamban M, Dhakephalkar PK, Engineer AS, Shivaji S (2012). Diversity and physiology of culturable bacteria associated with a coastal Antarctic ice core. Microbiol Res 167:372–380

Aumüller, G., & Riva, A. (1992). Morphology and functions of the human seminal vesicle. *Andrologia*, *24*(4), 183–196. https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1992.tb02636.x

Baird-Parker AC (1974) Genus I. Micrococcus Cohn 1872, 151. In: Buchanan RE, Gibbons NE (eds) Bergey's manual of determinative bacteriology, 8th edn. Williams & Wilkins, Baltimore, pp 478–483

Becker R, Bubeck JW (2015). Staphylococcus aureus and the skin: a longstanding and complex interaction. Skin Med 13:111–120

Biçeroğlu, Ö., (2017). Erkek İnfertilitesinde Semen Adam (Fertilin) Catsper ve Sox5 Ekspresyonları ve Sperm Fonksiyonları ile İlişkisi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Medipol Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İstanbul.

Blanc, D. S., Petignat, C., Janin, B., Bille, J., & Francioli, P. (1998). Frequency and molecular diversity of Pseudomonas aeruginosa upon admission and during hospitalization: a prospective epidemiologic study. *Clinical microbiology and*

infection : the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, *4*(5), 242–247. http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.1998.tb00051.x

Bronson, R., Cooper, G., & Rosenfeld, D. (1984). Sperm antibodies: their role in infertility. *Fertility and sterility*, *42*(2), 171–183.

Bultel-Poncé, V., V, Debitus, C., Berge, J. P., Cerceau, C., & Guyot, M. (1998). Metabolites from the sponge-associated bacterium Micrococcus luteus. *Journal of marine biotechnology*, *6*(4), 233–236.

Buommino, E., Morelli, F., Metafora, S., Rossano, F., Perfetto, B., Baroni, A., & Tufano, M. A. (1999). Porin from Pseudomonas aeruginosa induces apoptosis in an epithelial cell line derived from rat seminal vesicles. *Infection and immunity*, *67*(9), 4794–4800. https://doi.org/10.1128/IAI.67.9.4794-4800.1999

Busolo, F., Zanchetta, R., Lanzone, E., & Cusinato, R. (1984). Microbial flora in semen of asymptomatic infertile men. *Andrologia*, *16*(3), 269–275. https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1984.tb00282.x

Candan, Ö. (2017). Obstrüktif ve Non Obstrüktif Azoospermi Hastalarından Elde Edilen Sperm Örnekleri İle Embriyo Gelişimi ve Gebelik Oranları. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İstanbul. 50s

Cengiz AT. (1999). Staphylococcus, Ustaçelebi Þ (ed), Temel ve Klinik Mikrobiyoloji , Güneþ kitabevi, 339-347.

Chandonnet, L., Roberts, K. D., Chapdelaine, A., & Manjunath, P. (1990). Identification of heparin-binding proteins in bovine seminal plasma. *Molecular reproduction and development*, *26*(4), 313–318. https://doi.org/10.1002/mrd.1080260404

Chen, H. H., Zhao, G. Z., Park, D. J., Zhang, Y. Q., Xu, L. H., Lee, J. C., Kim, C. J., & Li, W. J. (2009). Micrococcus endophyticus sp. nov., isolated from surface-sterilized Aquilaria sinensis roots. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *59*(Pt 5), 1070–1075. https://doi.org/10.1099/ijs.0.006296-0

Cole LA. (2016). Chapter 18 - Human Male Spermatogenesis. In: Cole LA, editor. Biology of Life. Academic Press; 2016. p. 135-41. [CrossRef]

Comhaire, F. H., Mahmoud, A. M., Depuydt, C. E., Zalata, A. A., & Christophe, A. B. (1999). Mechanisms and effects of male genital tract infection on sperm quality and fertilizing potential: the andrologist's viewpoint. *Human reproduction update*, *5*(5), 393–398. https://doi.org/10.1093/humupd/5.5.393

Correa-Pérez, J. R., Fernández-Pelegrina, R., Aslanis, P., & Zavos, P. M. (2004). Clinical management of men producing ejaculates characterized by high levels of dead sperm and altered seminal plasma factors consistent with epididymal necrospermia. *Fertility and sterility*, *81*(4), 1148–1150. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2003.09.047

Crosignani, P. G., & Rubin, B. L. (2000). Optimal use of infertility diagnostic tests and treatments. The ESHRE Capri Workshop Group. *Human reproduction 15*(3), 723–732. https://doi.org/10.1093/humrep/15.3.723

Çeviker SA, Günal Ö, Mehel DM, Özgür A, Kılıç SS. (2020). Kulak akıntı kültürlerinden izole edilen Pseudomonas aeruginosa suşlarının antibiyotik duyarlılıklarının değerlendirilmesi. KSÜ Tıp Fak Der.15:37-40. https://doi.org/10.17517/ksutfd.570602

Dacheux, J. L., Gatti, J. L., & Dacheux, F. (2003). Contribution of epididymal secretory proteins for spermatozoa maturation. *Microscopy research and technique*, *61*(1), 7–17. https://doi.org/10.1002/jemt.10312

De Francesco, M. A., Negrini, R., Ravizzola, G., Galli, P., & Manca, N. (2011). Bacterial species present in the lower male genital tract: a five-year retrospective study. *The European journal of contraception & reproductive health care: the official journal of the European Society of Contraception*, *16*(1), 47–53. https://doi.org/10.3109/13625187.2010.533219

Delilbaşı L, Ed. (2010). Klinik Embriyoloji Uygulamaları Atlası. Büyükharf Tıp Yayınları; p.37–171.

Desnoyers, L., & Manjunath, P. (1992). Major proteins of bovine seminal plasma exhibit novel interactions with phospholipid. *The Journal of biological chemistry*, *267*(14), 10149–10155.

Dib, J. R., Weiss, A., Neumann, A., Ordoñez, O., Estévez, M. C., & Farías, M. E. (2009 a). Isolation of bacteria from remote high altitude Andean lakes able to grow in the presence of antibiotics. *Recent patents on anti-infective drug discovery*, *4*(1), 66–76. https://doi.org/10.2174/157489109787236300

Dib, J., Motok, J., Zenoff, V. F., Ordoñez, O., & Farías, M. E. (2008). Occurrence of resistance to antibiotics, UV-B, and arsenic in bacteria isolated from extreme environments in high-altitude (above 4400 m) Andean wetlands. *Current microbiology*, *56*(5), 510–517. https://doi.org/10.1007/s00284-008-9103-2

Du Plessis, S. S., Gokul, S., & Agarwal, A. (2013). Semen hyperviscosity: causes, consequences, and cures. *Frontiers in bioscience (Elite edition)*, *5*(1), 224–231. https://doi.org/10.2741/e610

Dutta S, Bishayi B (2015) Efects of ciprofoxacin in combination with either aminoguanidine or meclofenamic acid in modulating S. aureus induced septic arthritis in mice. Int J Pharm Pharm Sci 7:355–361

Dutta S, Bishayi B (2016) Combination treatments using vancomycin with immunomodulators to modulate staphylococcal arthritis. Asian J Pharm Clin Res 9:243–252

El-Haji Ghaoui, R.el-H., Gillan, L., Thomson, P. C., Evans, G., & Maxwell, W. M. (2007). Effect of seminal plasma fractions from entire and vasectomized rams on the motility characteristics, membrane status, and in vitro fertility of ram spermatozoa. *Journal of andrology*, *28*(1), 109–122. https://doi.org/10.2164/jandrol.106.001099

Elsner, P., & Hartmann, A. A. (1987). Gardnerella vaginalis in the male upper genital tract: a possible source of reinfection of the female partner. *Sexually transmitted diseases*, *14*(2), 122–123. https://doi.org/10.1097/00007435-198704000-00015

Emokpae M, Uadia P, Sadiq N (2009) Contribution of bacterial infection to male infertility in Nigerians. Online J Health All Sci 8:1–5

Esfandiari, N., de Lamirande, E., Gukturk, A., San Gabriel, M. C., Nazemian, Z., Burjaq, H., Casper, R. F., & Zini, A. (2014). Seminal hyperviscosity is not associated with semenogelin degradation or sperm deoxyribonucleic acid damage: a prospective study of infertile couples. *Fertility and sterility*, *101*(6), 1599–1603. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2014.02.045

Esteves, S. C., & Agarwal, A. (2011). Novel concepts in male infertility. *International braz j urol : official journal of the Brazilian Society of Urology*, *37*(1), 5–15. https://doi.org/10.1590/s1677-55382011000100002

Fabiani, R., Johansson, L., Lundkvist, O., & Ronquist, G. (1995). Prolongation and improvement of prostasome promotive effect on sperm forward motility. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*, *58*(2), 191–198. https://doi.org/10.1016/0028-2243(94)01997-5

Farsimadan M., Motamedifar M. (2020). Bacterial infection of the male reproductive system causing infertility. *J. Reprod. Immunol.* 142:103183. 10.1016/j.jri.2020.103183

Fietz D, Bergmann M. (2017). Functional Anatomy and Histology of the Testis. In: Simoni M, Huhtaniemi I, editors. Endocrinology of the Testis and Male Reproduction. Cham: Springer International Publishing; p. 1-29. [CrossRef]

Flipse RJ. (1960). Metabolism of bovine semen IX glutamic oxaloacetic and glutamic pyruvic transaminase activities. J Dairy Sci. 43:773–776.

Ford, W.C. (2010). World Health Organization (WHO) Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5. Edition. Switzerland.

Frenette, G., Thabet, M., & Sullivan, R. (2006). Polyol pathway in human epididymis and semen. *Journal of andrology*, *27*(2), 233–239. https://doi.org/10.2164/jandrol.05108

Galdiero F., Gorga F., Bentivoglio C., Mancuso R., Galdiero E., Tufano M. A. (1988). The action of LPS porins and peptidoglycan fragments on human spermatozoa. *Infection* 16 349–353. 10.1007/BF01644545

Gallo, M. F., Warner, L., King, C. C., Sobel, J. D., Klein, R. S., Cu-Uvin, S., Rompalo, A. M., & Jamieson, D. J. (2011). Association between semen exposure and incident bacterial vaginosis. *Infectious diseases in obstetrics and gynecology*, *2011*, 842652. https://doi.org/10.1155/2011/842652

García Fontán MC, Lorenzo JM, Parada A, Franco I, Carballo J (2007) Microbiological characteristics of "androlla", a Spanish traditional pork sausage. Food Microbiol 24:52–58

Gartner P.L., Hiatt L.J. (2016), Çeviri Ed. Canan Hürdağ, Hücre Biyolojisi ve Histolojisi, 7.Baskı, İstanbul Tıp Kitabevi.

Ghiasi M, Fazaeli H, Kalhor N, Sheykh-Hasan M, TabatabaeiQomi R (2014) Assessing the prevalence of bacterial vaginosis among infertile women . Iran J Microbiol 6:404.

Gilbert S.F., (2000). Developmental Biology. 6th edition Sunderland (MA).

Gonzales G. F. (1994). Corrected seminal fructose test. *Archives of andrology*, *33*(1), 17–22. https://doi.org/10.3109/01485019408987798

Gonzales, G. F., Garcia-Hjarles, M. A., Gutierrez, R., & Guerra-Garcia, R. (1989). The secretory activity of the seminal vesicles and its relationship to sperm motility: effects of infection in the male reproductive tract. *International journal of andrology*, *12*(4), 286–294. https://doi.org/10.1111/j.1365-2605.1989.tb01316.x

Gonzales, G. F., Kortebani, G., & Mazzolli, A. B. (1993). Hyperviscosity and hypofunction of the seminal vesicles. *Archives of andrology*, *30*(1), 63–68. https://doi.org/10.3109/01485019308988370

Goodson, S. G., Qiu, Y., Sutton, K. A., Xie, G., Jia, W., & O'Brien, D. A. (2012). Metabolic substrates exhibit differential effects on functional parameters of mouse sperm capacitation. *Biology of reproduction*, *87*(3), 75. https://doi.org/10.1095/biolreprod.112.102673

Gökçe A. (2011). Dünya Sağlık Örgütü kriterlerine göre standart semen analizi. Turk Urol Sem, 2:1-7.

Gökçe Mİ. (2012). Ürogenital sistem gelişimi ve anomalileri. Androloji Bülteni. 2012;48:1-8.

Grudzinskasb J.G., Yovich, J.L. (1995), Gametes- The Spermatızoon [GametlerSperm]. 1sh ed., Cambridge University Press.

Guerri, G., Maniscalchi, T., Barati, S., Busetto, G. M., Del Giudice, F., De Berardinis, E., Cannarella, R., Calogero, A. E., & Bertelli, M. (2019). Non-syndromic monogenic male infertility. *Acta bio-medica : Atenei Parmensis*, *90*(10-S), 62–67. https://doi.org/10.23750/abm.v90i10-S.8762

Günalp S, Aktan E, Yücel A.(2002). WHO laboratuvar el kitab›: İnsan semeni ve sperm-servikal mukus etkileflimi de¤erlen- dirilmesi (Türkçeye çeviri). 4. baskı. Tıp Teknik Kitapevi, 2002; bölüm2: 4- 32.

Harris, I. D., Fronczak, C., Roth, L., & Meacham, R. B. (2011). Fertility and the aging male. *Reviews in urology*, *13*(4), e184–e190.

Hassa, H. (2003). İnfertil Olgulara Klinik Yaklaşım ve IVF Laboratuar Uygulamaları. 1. Baskı. Eskişehir, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Yayınları, 127-65.

Henkel, R., & Schill, W. B. (1998). Sperm separation in patients with urogenital infections. *Andrologia*, *30 Suppl 1*, 91–97. https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1998.tb02832.x

Henricks, D. M., Kouba, A. J., Lackey, B. R., Boone, W. R., & Gray, S. L. (1998). Identification of insulin-like growth factor I in bovine seminal plasma and its receptor on spermatozoa: influence on sperm motility. *Biology of reproduction*, *59*(2), 330–337. https://doi.org/10.1095/biolreprod59.2.330.

Hillier, S. L., Rabe, L. K., Muller, C. H., Zarutskie, P., Kuzan, F. B., & Stenchever, M. A. (1990). Relationship of bacteriologic characteristics to semen indices in men attending an infertility clinic. *Obstetrics and gynecology*, *75*(5), 800–804.

Holstein, A. F., Davidoff, M. S., Breucker, H., Countouris, N., & Orlandini, G. (1991). Different epithelia in the distal human male urethra. *Cell and tissue research*, *264*(1), 23–32. https://doi.org/10.1007/BF00305719

Horta, F., Vollenhoven, B., Healey, M., Busija, L., Catt, S., & Temple-Smith, P. (2019). Male ageing is negatively associated with the chance of live birth in IVF/ICSI cycles for idiopathic infertility. *Human reproduction (Oxford), 34*(12), 2523–2532. https://doi.org/10.1093/humrep/dez223

Huerta, M., Cervera Aguilar, R., Hernández, I., & Ayala, A. R. (2002). Frecuencia y etiología de las infecciones seminales en el estudio de la pareja infértil [Frequency and etiology of seminal infections in the study of infertile couples]. *Ginecologia y obstetricia de Mexico, 70*, 90–94.

Imirzalioglu, C., Hain, T., Chakraborty, T., & Domann, E. (2008). Hidden pathogens uncovered: metagenomic analysis of urinary tract infections. *Andrologia*, *40*(2), 66–71. https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2007.00830.x

Insler V, Lunenfeld B, editors.(1986). Infertility: Male and Female. Edinburgh: Churchill Livingstone.

Isaiah IN, Nche BT, Nwagu IG, Nnanna II (2011) Current studies on bacterospermia the leading cause of male infertility: a protégé and potential threat towards mans extinction. North Am J Med Sci 3:562.

İnci O, Aydın S. (1994). İnfertil çiftlerde antisperrn antikor sıklığı ve tedavi sonuçlan. Türk Urol Derg 1994; 20:29-32. 2.

Jarvi, K., Lacroix, J. M., Jain, A., Dumitru, I., Heritz, D., & Mittelman, M. W. (1996). Polymerase chain reaction-based detection of bacteria in semen. *Fertility and sterility*, *66*(3), 463–467.

Johnson, J., Flores, M. G., Rosa, J., Han, C., Salvi, A. M., DeMali, K. A., Jagnow, J. R., Sparks, A., & Haim, H. (2020). The High Content of Fructose in Human Semen Competitively Inhibits Broad and Potent Antivirals That Target High-Mannose Glycans. *Journal of virology*, *94*(9), e01749-19. https://doi.org/10.1128/JVI.01749-19

Junqueira I.C. , Carneiro J. ,Kalley R.O.(1998) . A Lange medical book. Çeviri editörü: Prof. Dr. Yener Aytekin. barış Kitabevi.

Juyena, N. S., & Stelletta, C. (2012). Seminal plasma: an essential attribute to spermatozoa. *Journal of androlog*y, *33*(4), 536–551. https://doi.org/10.2164/jandrol.110.012583

Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004). Pathogenic Escherichia coli. *Nature reviews. Microbiology*, *2*(2), 123–140. https://doi.org/10.1038/nrmicro818

Keck, C., Gerber-Schäfer, C., Clad, A., Wilhelm, C., & Breckwoldt, M. (1998). Seminal tract infections: impact on male fertility and treatment options. *Human reproduction update*, *4*(6), 891–903. https://doi.org/10.1093/humupd/4.6.891

Khosla, S., & Monroe, D. G. (2018). Regulation of Bone Metabolism by Sex Steroids. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, *8*(1), a031211. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a031211

Kidd, S. A., Eskenazi, B., & Wyrobek, A. J. (2001). Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertility and sterility*, *75*(2), 237–248. https://doi.org/10.1016/s0015-0282(00)01679-4

Kiessling, A. A., Desmarais, B. M., Yin, H. Z., Loverde, J., & Eyre, R. C. (2008). Detection and identification of bacterial DNA in semen. *Fertility and sterility*, *90*(5), 1744–1756. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.08.083

Kim, B., Kawashima, A., Ryu, J. A., Takahashi, N., Hartman, R. P., & King, B. F., Jr (2009). Imaging of the seminal vesicle and vas deferens. *Radiographics : a review publication of the Radiological Society of North America, Inc*, *29*(4), 1105–1121. https://doi.org/10.1148/rg.294085235

King TE, Mann T.(1959). Sorbitol metabolism in spermatozoa. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 1959; **151**: 226– 243.

King, B. F., Hattery, R. R., Lieber, M. M., Williamson, B., Jr, Hartman, G. W., & Berquist, T. H. (1989). Seminal vesicle imaging. *Radiographics : a review publication*

of the Radiological Society of North America, Inc, *9*(4), 653–676. https://doi.org/10.1148/radiographics.9.4.2667051

Kohler, T. S., Yadven, M., Manvar, A., Liu, N., & Monga, M. (2008). The length of the male urethra. *International braz j urol : official journal of the Brazilian Society of Urology*, *34*(4), 451–456. https://doi.org/10.1590/s1677-55382008000400007

Krausz C. (2011). Male infertility: pathogenesis and clinical diagnosis. *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism*, *25*(2), 271–285. https://doi.org/10.1016/j.beem.2010.08.006

La Vignera S, Vicari E, Condorelli RA, d'Agata R, Calogero AE. (2011). Male accessory gland infection and sperm parameters [review]. Int J Androl 2011;34:e330–47.

Lacroix JM, Jarvi K, Batra SD, Heritz DM, Mittelman MW. (1996). PCR-based technique for the detection of bacteria in semen and urine. J Microbiol Meth 1996;26:61–71.

Lewis-Jones, D. I., Aird, I. A., Biljan, M. M., & Kingsland, C. R. (1996). Effects of sperm activity on zinc and fructose concentrations in seminal plasma. *Human reproduction (Oxford, England)*, *11*(11), 2465–2467. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a019138

Liu, H., Xu, Y., Ma, Y., & Zhou, P. (2000). Characterization of Micrococcus antarcticus sp. nov., a psychrophilic bacterium from Antarctica. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *50 Pt 2*, 715–719. https://doi.org/10.1099/00207713-50-2-715

Liu, X. Y., Wang, B. J., Jiang, C. Y., & Liu, S. J. (2007). Micrococcus flavus sp. nov., isolated from activated sludge in a bioreactor. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *57*(Pt 1), 66–69. https://doi.org/10.1099/ijs.0.64489-0

Lukac, J., Pribanić, M., & Koren, E. (1976). Calcium-binding protein in bull seminal vesicle secretion and seminal plasma. *Journal of reproduction and fertility*, *48*(1), 77–81. https://doi.org/10.1530/jrf.0.0480077

Manikandan, M., Kannan, V., & Pasić, L. (2011). Extraction, purification and characterization of a protease from Micrococcus sp. VKMM 037. *Environmental technology*, *32*(13-14), 1487–1495. https://doi.org/10.1080/09593330.2010.540718

Mann T, Lutwak-Mann C. (1981). Male reproductive function and the composition of semen: General considerations. In: Male Reproductive Function and Semen. London: Springer; 1981. p. 1-37.

MANN T. (1946). Fructose, a constituent of semen. *Nature*, *157*, 79. https://doi.org/10.1038/157079a0

Mann T. (1964). The Biochemistry of Semen and of the Male Reproductive Tract. 2nd ed. United Kingdom: Methuen; 1964.

Mann T., Lutwak-Mann C.(1981). *Male Reproductive Function and Semen: Themes and Trends in Physiology, Biochemistry and Investigative Andrology*. New York, NY: Springer-Verlag; 1981.

MANN, T. (1954): The Biochemistry of semen. Methuen, London.

MARBERGER, H., MARBERGER, E., MANN, T., & LUTWAK-MANN, C. (1962). Citric acid in human prostatic secretion and metastasizing cancer of prostate gland. *British medical journal*, *1*(5281), 835–836. https://doi.org/10.1136/bmj.1.5281.835

Marion I, Juyena NS, Pasini G, Stelletta C. (2010). Relazione tra le proteine del liquido seminale e la congelabilita` del seme nell'alpaca (Vicugna Pacos)—uno studio preliminare. Bologna, Italy: SIRA; 2010

Marti, E., Marti, J. I., Muiño-Blanco, T., & Cebrián-Pérez, J. A. (2008). Effect of the cryopreservation process on the activity and immunolocalization of antioxidant enzymes in ram spermatozoa. *Journal of andrology*, *29*(4), 459–467. https://doi.org/10.2164/jandrol.107.003459

Martins, G., Miot-Sertier, C., Lauga, B., Claisse, O., Lonvaud-Funel, A., Soulas, G., & Masneuf-Pomarède, I. (2012). Grape berry bacterial microbiota: impact of the ripening process and the farming system. *International journal of food microbiology*, *158*(2), 93–100. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.06.013

McCue J. D. (1987). Gram-negative bacillary bacteremia in the elderly: incidence, ecology, etiology, and mortality. *Journal of the American Geriatrics Society*, *35*(3), 213–218. https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.1987.tb02311.x

McKay, A. C., Odeluga, N., Jiang, J., & Sharma, S. (2023). Anatomy, Abdomen and Pelvis, Seminal Vesicle. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.

Merino, G., Carranza-Lira, S., Murrieta, S., Rodriguez, L., Cuevas, E., & Morán, C. (1995). Bacterial infection and semen characteristics in infertile men. *Archives of andrology*, *35*(1), 43–47. https://doi.org/10.3109/01485019508987852

Momoh A, Idonije B, Nwoke E, Osifo U, Okhai O, Omoroguiwa A, Momoh A (2011) Pathogenic bacteria-a probable cause of primary infertility among couples in Ekpoma. J Microbiol Biotechnol Res 1:66–71

Montagnon, D., Clavert, A., & Cranz, C. (1982). Fructose, proteins and coagulation in human seminal plasma. *Andrologia*, *14*(5), 434–439. https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1982.tb02289.x

Moore, K.L., Persaud, TVN. (2009). Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. Yıldırım M, Dalçık H (Editörler). 2. Baskı; İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.

Moretti, E., Capitani, S., Figura, N., Pammolli, A., Federico, M. G., Giannerini, V., & Collodel, G. (2009). The presence of bacteria species in semen and sperm quality. *Journal of assisted reproduction and genetics*, *26*(1), 47–56. https://doi.org/10.1007/s10815-008-9283-5

Muiño-Blanco, T., Pérez-Pé, R., & Cebrián-Pérez, J. A. (2008). Seminal plasma proteins and sperm resistance to stress. *Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene*, *43 Suppl 4*, 18–31. https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2008.01228.x

Nagler HM, Luntz RK, Martinis FG. (1997). Varicocele. In: Lipshultz LI, Howards SS, eds. Infertility in the male. St. Louis: Mosby Year Book, 1997:336–59.

Nelson, D. E., Van Der Pol, B., Dong, Q., Revanna, K. V., Fan, B., Easwaran, S., Sodergren, E., Weinstock, G. M., Diao, L., & Fortenberry, J. D. (2010). Characteristic male urine microbiomes associate with asymptomatic sexually transmitted infection. *PloS one*, *5*(11), e14116. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014116

Neumark, H., & Schindler, H. (1967). Amino acids, amines and peptides of ram epididymal semen. *Journal of reproduction and fertility*, *14*(3), 469–471. https://doi.org/10.1530/jrf.0.0140469

Nguyen T T, V T Huyen, Nguyen T T L, Trieu T S. (2018) Seminal Fructose Concentration in Man Infertility and the Fructose Test's Meaning In Diagnosis Reason of Azoospermia Man. Biomed J Sci&Tech Res 8(1)- 2018. BJSTR MS.ID.001598. doi: 10.26717/ BJSTR.2018.08.001598.

Nun, S., Musacchio, I., & Epstein, J. A. (1972). Variations in seminal plasma constituents from fertile, subfertile, and vasectomized azoospermic men. *Fertility and sterility*, *23*(5), 357–360. https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)38947-6

Obidoa O, Ezeanyika LU, Okoli AH.(1999). Effect of scopoletin on male guinea pig reproductive organs. I. Levels of citric acid and fructose. Nutr Res 1999;19:443-8.

Oehninger, SC., Kruger, TF. (2009). Erkek İnfertilitesi Teşhis ve Tedavi. Çeviri Editörü: Doç. Dr. Mete Kilciler. İstanbul; Habitat Matbaası, 2009;1-240.

Ohama, T., Muto, A., & Osawa, S. (1990). Role of GC-biased mutation pressure on synonymous codon choice in Micrococcus luteus, a bacterium with a high genomic GC-content. *Nucleic acids research*, *18*(6), 1565–1569. https://doi.org/10.1093/nar/18.6.1565

Ordoñez, O. F., Flores, M. R., Dib, J. R., Paz, A., & Farías, M. E. (2009). Extremophile culture collection from Andean lakes: extreme pristine environments that host a wide diversity of microorganisms with tolerance to UV radiation. *Microbial ecology*, *58*(3), 461–473. https://doi.org/10.1007/s00248-009-9527-7

Orth J. M. (1982). Proliferation of Sertoli cells in fetal and postnatal rats: a quantitative autoradiographic study. *The Anatomical record*, *203*(4), 485–492. https://doi.org/10.1002/ar.1092030408

Ott, M. A., Katschke, A., Tu, W., & Fortenberry, J. D. (2011). Longitudinal associations among relationship factors, partner change, and sexually transmitted infection acquisition in adolescent women. *Sexually transmitted diseases*, *38*(3), 153–157. https://doi.org/10.1097/OLQ.0b013e3181f2e292

Owen, D. H., & Katz, D. F. (2005). A review of the physical and chemical properties of human semen and the formulation of a semen simulant. *Journal of andrology*, *26*(4), 459–469. https://doi.org/10.2164/jandrol.04104

Paick, S., & Choi, W. S. (2019). Varicocele and Testicular Pain: A Review. *The world journal of men's health*, *37*(1), 4–11. https://doi.org/10.5534/wjmh.170010

Paker Ş. (1993). Histoloji, 2. Baskı. Bursa, Uludağ Üniversitesi Basımevi.

Palladino, M. A., Fasano, G. A., Patel, D., Dugan, C., & London, M. (2018). Effects of lipopolysaccharide-induced inflammation on hypoxia and inflammatory gene expression pathways of the rat testis. *Basic and clinical andrology*, *28*, 14. https://doi.org/10.1186/s12610-018-0079-x

Patel, A. B., Srivastava, S., Phadke, R. S., & Govil, G. (1998). Arginine activates glycolysis of goat epididymal spermatozoa: an NMR study. *Biophysical journal*, *75*(3), 1522–1528. https://doi.org/10.1016/S0006-3495(98)74071-8

Pérez-Pé, R., Cebrián-Pérez, J. A., & Muiño-Blanco, T. (2001b). Semen plasma proteins prevent cold-shock membrane damage to ram spermatozoa. *Theriogenology*, *56*(3), 425–434. https://doi.org/10.1016/s0093-691x(01)00574-x

Pérez-Pé, R., Grasa, P., Fernández-Juan, M., Peleato, M. L., Cebrián-Pérez, J. A., & Muiño-Blanco, T. (2002). Seminal plasma proteins reduce protein tyrosine phosphorylation in the plasma membrane of cold-shocked ram spermatozoa. *Molecular reproduction and development*, *61*(2), 226–233. https://doi.org/10.1002/mrd.1152

Phadke, A. M., Samant, N. R., & Deval, S. D. (1973). Significance of seminal fructose studies in male infertility. *Fertility and sterility*, *24*(11), 894–903. https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)40038-5

Plachot, M., Belaisch-Allart, J., Mayenga, J. M., Chouraqui, A., Tesquier, L., & Serkine, A. M. (2002). Outcome of conventional IVF and ICSI on sibling oocytes in mild male factor infertility. *Human reproduction (Oxford)*, *17*(2), 362–369. https://doi.org/10.1093/humrep/17.2.362

Plant TM, Zeleznik AJ. (2015). Knobil and Neills Physiology of Reproduction. Amsterdam: Elsevier/Academic Press; 2015.

Plaseska-Karanfilska D, Noveski P, Plaseski T, Maleva I, Madjunkova S, Moneva Z. (2012). Genetic causes of male infertility. Balkan J Med Genet 2012; 15(Suppl): 31-4. [CrossRef]

POLONOVSKI, M. (1971): Biochimie Medicale:Sang, humeurs, tissus, organes: Biochimie physiologique et semeilogique. Fasc. III. Masson et Cie, Paris (6e).

POLONOVSKI, M. (1977): Biochimie Medicale:Biochimie Pathologique. Fasc. IV. Masson, Paris, NewYork, Barcelona, Milan.

Qu, F., Ying, X., Guo, W., Guo, Q., Chen, G., Liu, Y., & Ding, Z. (2007). The role of Zn-alpha2 glycoprotein in sperm motility is mediated by changes in cyclic AMP. *Reproduction (Cambridge, England)*, *134*(4), 569–576. https://doi.org/10.1530/REP-07-0145

Rana, K., Thaper, D., Vander, H., & Prabha, V. (2018). Pseudomonas aeruginosa: A risk factor for fertility in male mice. *Reproductive biology*, *18*(4), 450–455. https://doi.org/10.1016/j.repbio.2018.08.002

Rickard, J. P., Pini, T., Soleilhavoup, C., Cognie, J., Bathgate, R., Lynch, G. W., Evans, G., Maxwell, W. M., Druart, X., & de Graaf, S. P. (2014). Seminal plasma aids the survival and cervical transit of epididymal ram spermatozoa. *Reproduction (Cambridge, England)*, *148*(5), 469–478. https://doi.org/10.1530/REP-14-0285

Rigau T, Farre M, Ballester J, Mogas T, Pena A, Rodriguez Gil JE. (2001).Effects of glucose and fructose on motility patterns of dog spermatozoa from fresh ejaculates. Theriogenology 2001; 56: 801–815.

Robertson PS, Perry KD (1961) Enhancement of the flavour of Cheddar cheese by adding a strain of Micrococcus to the milk. J Dairy Res 28:245–253

Ross H.M., Kaye G., Pawlina W. (2003), Histology, a text and atlas, 4th edition. Lippincott Williams & Wilkins Philedelphia, 689-696.

Ross MH, Pawlina W. (2011). Histology: A Text And Atlas, 6th ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins.

Ross MH, Pawlina W. (2014). Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas. Baykal B, Çev. ed. Ankara: Palme Yayıncılık; 2014. p.784–830.

Ruh E, Gazi U, Güvenir M, Süer K, Çakır N. (2016). Antibiotic resistance rates of Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii and Klebsiella pneumoniae isolated from a university-affiliated hospital in North Cyprus. Turk Hij Den Biyol Derg 2016;73:333-344. https://doi.org/10.5505/TurkHijyen.2016.82653

Sánchez-Luengo, S., Aumüller, G., Albrecht, M., Sen, P. C., Röhm, K., & Wilhelm, B. (2004). Interaction of PDC-109, the major secretory protein from bull seminal vesicles, with bovine sperm membrane Ca2+-ATPase. *Journal of andrology*, *25*(2), 234–244. https://doi.org/10.1002/j.1939-4640.2004.tb02783.x

Sanocka-Maciejewska, D., Ciupińska, M., & Kurpisz, M. (2005). Bacterial infection and semen quality. *Journal of reproductive immunology*, *67*(1-2), 51–56. https://doi.org/10.1016/j.jri.2005.06.003

Schoenfeld, C., Amelar, R. D., Dubin, L., & Numeroff, M. (1979). Prolactin, fructose, and zinc levels found in human seminal plasma. *Fertility and sterility*, *32*(2), 206–208.

Setchell, B. P., & Waites, G. M. (1970). Changes in the permeability of the testicular capillaries and of the 'blood-testis barrier' after injection of cadmium chloride in the rat. *The Journal of endocrinology*, *47*(1), 81–86. https://doi.org/10.1677/joe.0.0470081

Sharma S, Hanukoglu A, Hanukoglu I. (2018). Localization of epithelial sodium channel (ENaC) and CFTR in the germinal epithelium of the testis, Sertoli cells, and spermatozoa. J Mol Histol ;49:195–208. [CrossRef]

Sinclair, A. H., Berta, P., Palmer, M. S., Hawkins, J. R., Griffiths, B. L., Smith, M. J., Foster, J. W., Frischauf, A. M., Lovell-Badge, R., & Goodfellow, P. N. (1990). A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. *Nature*, *346*(6281), 240–244. https://doi.org/10.1038/346240a0

Spornraft-Ragaller, P., & Varwig-Janßen, D. (2018). Sexuell übertragbare Infektionen und männliche Fertilität [Sexually transmitted infections and male fertility]. *Der Hautarzt;Zeitschrift fur Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete*, *69*(12), 1006–1013. https://doi.org/10.1007/s00105-018-4300-9

Stierle, A. C., Cardellina, J. H., 2nd, & Singleton, F. L. (1988). A marine Micrococcus produces metabolites ascribed to the sponge Tedania ignis. *Experientia*, *44*(11-12), 1021. https://doi.org/10.1007/BF01939910

Stuppia, L., Franzago, M., Ballerini, P., Gatta, V., & Antonucci, I. (2015). Epigenetics and male reproduction: the consequences of paternal lifestyle on fertility, embryo development, and children lifetime health. *Clinical epigenetics*, *7*, 120. https://doi.org/10.1186/s13148-015-0155-4

Suominen J. (2001). Seminal fructose and glucose in asthenozoospermia. *International journal of andrology*, *24*(5), 253–254. https://doi.org/10.1046/j.1365-2605.2001.00305.x

Swidsinski, A., Dörffel, Y., Loening-Baucke, V., Mendling, W., Verstraelen, H., Dieterle, S., & Schilling, J. (2010). Desquamated epithelial cells covered with a polymicrobial biofilm typical for bacterial vaginosis are present in randomly selected cryopreserved donor semen. *FEMS immunology and medical microbiology*, *59*(3), 399–404. https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2010.00688.x

Szmelskyj I, Aquilina L, Szmelskyj AO. (2015). Chapter 2- Anatomy and physiology of the reproductive system: Prerequirements for conception. In: Szmelskyj I, Aquilina L, Szmelskyj AO, editors. Acupuncture for IVF and Assisted Reproduction. Churchill Livingstone; 2015. p. 23-58.

Tang, W. H., Martin, K. A., & Hwa, J. (2012). Aldose reductase, oxidative stress, and diabetic mellitus. *Frontiers in pharmacology*, *3*, 87. https://doi.org/10.3389/fphar.2012.00087

Tapısız ÖL, Altınbaş ŞK, Abike F, Göktolga Ü. (2012). Jinekolog gözü ile semen analizi ve son gelişmeler. J Turk Soc Obstet Gynecol 2012;9:25–31. doi: 10.5505/tjod.2012.60476

Thérien, I., Moreau, R., & Manjunath, P. (1998). Major proteins of bovine seminal plasma and high-density lipoprotein induce cholesterol efflux from epididymal sperm. *Biology of reproduction*, *59*(4), 768–776. https://doi.org/10.1095/biolreprod59.4.768

Tsujii, H., Ohta, E., Miah, A. G., Hossain, S., & Salma, U. (2006). Effect of fructose on motility, acrosome reaction and in vitro fertilization capability of boar spermatozoa. Reproductive medicine and biology, 5(4), 255–261. https://doi.org/10.1111/j.1447-0578.2006.00150.x

Tsujimura A. (2013). The Relationship between Testosterone Deficiency and Men's Health. *The world journal of men's health*, *31*(2), 126–135. https://doi.org/10.5534/wjmh.2013.31.2.126

Urata, K., Narahara, H., Tanaka, Y., Egashira, T., Takayama, F., & Miyakawa, I. (2001). Effect of endotoxin-induced reactive oxygen species on sperm motility. *Fertility and sterility*, *76*(1), 163–166. https://doi.org/10.1016/s0015-0282(01)01850-7

Ünal, M.S. (2017). Seminal sıvının fertilizasyondaki rolü.

Vilvanathan, S., Kandasamy, B., Jayachandran, A. L., Sathiyanarayanan, S., Tanjore Singaravelu, V., Krishnamurthy, V., & Elangovan, V. (2016). Bacteriospermia and Its Impact on Basic Semen Parameters among Infertile Men. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases*, *2016*, 2614692. https://doi.org/10.1155/2016/2614692

Virecoulon, F., Wallet, F., Fruchart-Flamenbaum, A., Rigot, J. M., Peers, M. C., Mitchell, V., & Courcol, R. J. (2005). Bacterial flora of the low male genital tract in patients consulting for infertility. *Andrologia*, *37*(5), 160–165. https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.2005.00673.x

Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA. (2011). Campbell Walsh Urology: Expert Consult Premium Edition: Enhanced Online Features and Print. Vol. 4. Philadelphia: Elsevier Health Sciences.

WHO. (2011). Laboratuvar El Kitabı, 5. Baskı. Kadıoğlu A, Çev. ed. Türk Üroloji Derneği. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2011. p.1–271.

WHO. (2019). İnfertility definitions and terminology, Erişim Linki: https://www.who.int/reproductivehealth/topics/infertility/definitions /en/. (Erişim tarihi: 05.04.2019).

Wieser, M., Denner, E. B., Kämpfer, P., Schumann, P., Tindall, B., Steiner, U., Vybiral, D., Lubitz, W., Maszenan, A. M., Patel, B. K., Seviour, R. J., Radax, C., & Busse, H. J. (2002). Emended descriptions of the genus Micrococcus, Micrococcus luteus (Cohn 1872) and Micrococcus lylae (Kloos et al. 1974). *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *52*(Pt 2), 629–637. https://doi.org/10.1099/00207713-52-2-629

Williams, A. C., & Ford, W. C. (2001). The role of glucose in supporting motility and capacitation in human spermatozoa. *Journal of andrology*, *22*(4), 680–695.

Wilton, L. J., Temple-Smith, P. D., Baker, H. W., & de Kretser, D. M. (1988). Human male infertility caused by degeneration and death of sperm in the epididymis. *Fertility and sterility*, *49*(6), 1052–1058. https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)59960-9

Workowski KA, Berman S.(2010). Sexually transmitted diseases treatment guidelines; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 17;59(RR-12):1-110,2010.

World Health Organization. WHO (2010). Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. World Health Organization; 2010.

Yanagimachi R. (1994). Fertility of mammalian spermatozoa: its development and relativity. *Zygote (Cambridge, England)*, *2*(4), 371–372. https://doi.org/10.1017/s0967199400002240

Yetkin, E., & Ozturk, S. (2018). Dilating Vascular Diseases: Pathophysiology and Clinical Aspects. *International journal of vascular medicine*, *2018*, 9024278. https://doi.org/10.1155/2018/9024278

Yucel, S., & Baskin, L. S. (2003). Neuroanatomy of the male urethra and perineum. *BJU international*, *92*(6), 624–630. https://doi.org/10.1046/j.1464-410x.2003.04435.x

Zeyad, A., Hamad, M., Amor, H., & Hammadeh, M. E. (2018b). Relationships between bacteriospermia, DNA integrity, nuclear protamine alteration, sperm quality and ICSI outcome. *Reproductive biology*, *18*(1), 115–121. https://doi.org/10.1016/j.repbio.2018.01.010

Zhang, J. Y., Liu, X. Y., & Liu, S. J. (2010). Agrococcus terreus sp. nov. and Micrococcus terreus sp. nov., isolated from forest soil. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *60*(Pt 8), 1897–1903. https://doi.org/10.1099/ijs.0.013235-0

Zhao, G. Z., Li, J., Qin, S., Zhang, Y. Q., Zhu, W. Y., Jiang, C. L., Xu, L. H., & Li, W. J. (2009). Micrococcus yunnanensis sp. nov., a novel actinobacterium isolated from surface-sterilized Polyspora axillaris roots. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, *59*(Pt 10), 2383–2387.