T.C.

İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KLİNİK EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

VÜCUT KİTLE İNDEKSİNİN SPERM KROMATİN BÜTÜNLÜĞÜ VE ERKEK FERTİLİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ: GÜNCEL MOLEKÜLER VE KLİNİK YAKLAŞIMLARIN SENTEZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SAJA JAMAL DHEIFALLAH ALHAWAWSHEH

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. TÜLAY İREZ

İSTANBUL , 2026

T.C.

İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KLİNİK EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

VÜCUT KİTLE İNDEKSİNİN SPERM KROMATİN BÜTÜNLÜĞÜ VE ERKEK FERTİLİTESİ ÜZERİNE ETKİLERİ: GÜNCEL MOLEKÜLER VE KLİNİK YAKLAŞIMLARIN SENTEZİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SAJA JAMAL DHEIFALLAH ALHAWAWSHEH

Tez Danışmanı: Prof. Dr. TÜLAY İREZ

Jüri Üyesi: Prof. Dr. Özen Banu ÖZDAŞ

Jüri Üyesi: Dr.Öğr.Üyesi. Süheyla Aykaç YAZICIOĞLU

İSTANBUL , 2026

T.C.

İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

TEZ ONAY BELGESİ

Klinik Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı 22111102022 numaralı öğrencisi Saja JAMAL DHEIFALLAH ALHAWAWSHEH'ın "Vücut Kitle İndeksinin Sperm Kromatin Bütünlüğü Ve Erkek Fertilitesi Üzerine Etkileri: Güncel Moleküler Ve Klinik Yaklaşımların Sentezi" adlı tez çalışması, Enstitümüz Yönetim Kurulunu 13.01.2026 tarih ve 2026/03 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından oy birliğiyle Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 28.01.2026

Prof. Dr. Tülay İREZ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Özen Banu ÖZDAŞ	Dr. Öğr. Üyesi Süheyla AYKAÇ YAZICIOĞLU
Jüri Üyesi	**Jüri Üyesi**

DESTEKLEYEN KURUM VE KURULUŞLAR

Bu çalışma herhangi bir resmi proje ile yürütülmemiş olup araştırma süreci kişisel bütçe ile karşılanmıştır.

Çalışma verileri **İstanbul Şişli Memorial Hastanesi Tüp bebek ve Genetik merkezi** tarafından temin edilmiş ve desteklenmiştir. Bu değerli katkıları için sayın **Prof.Dr. Semra Kahraman** ve laboratuvar sorumlusu **Biyolog Hakan Yelke'ye** teşekkürlerimi borç bilirim.

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.

28/01/2026

SAJA ALHAWAWSHEH

ÖNSÖZ

Akademik yolculuğumun en önemli dönemeçlerinden biri olan bu tez çalışması, sadece bilimsel bir çabanın değil, aynı zamanda büyük bir azmin, sabrın ve destekleyici yüreklerin bir eseridir. Bilimin aydınlık yolunda ilerlerken, geçtiğim her basamakta bana eşlik eden ve bu çalışmanın vücut bulmasına katkı sağlayan herkese en derin şükranlarımı sunmak bir borçtur.

Öncelikle, çalışmamın her aşamasında engin bilgi birikimi, akademik vizyonu ve hoşgörüsüyle bana rehberlik eden, sadece bir hoca değil bir mentor olarak yolumu aydınlatan değerli danışmanım **Prof. Dr. Tülay İREZ'e** kalpten teşekkürlerimi sunarım. Kendisinin bilime olan tutkusu ve titiz çalışma disiplini, benim için her zaman ilham kaynağı olmuştur.

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü bünyesinde eğitim aldığım süre boyunca tecrübelerinden faydalandığım tüm değerli hocalarıma ve laboratuvar süreçlerinde teknik desteklerini esirgemeyen sınıf arkadaşlarıma minnettarım.

Hayatımdaki en büyük şansım olan ve bu zorlu süreçte tüm yükümü paylaşan kıymetli eşim **Ali AL KAABI'ye** en derin teşekkürlerimi sunarım. Tez sürecinin getirdiği yoğunlukta, en yorgun anlarımda sığındığım limanım olduğu; maddi ve manevi desteğini bir an bile eksik etmediği ve bana olan büyük sevgisiyle her zaman en güçlü motivasyon kaynağım olduğu için kendisine minnettarım. Bu başarı, onun sabrı ve sarsılmaz desteği sayesinde vücut bulmuştur.

Bu uzun ve yorucu süreçte, ne zaman yorulsam elimden tutan, varlıklarıyla bana güç veren, hayatımın her anında olduğu gibi bu akademik başarıda da en büyük pay sahibi olan, dualarıyla her daim yolumu açan, canım aileme, annem **Fatıma'ya** ve babam **jamal'a** en derin sevgi ve teşekkürlerimi sunarım. Onların koşulsuz sevgisi ve bana olan sarsılmaz inançları olmasaydı, bu yolculuğu tamamlamam mümkün olmazdı, Ayrıca, tüm yüksek lisans eğitimim boyunca desteğini benden hiç esirgemeyen canım kız kardeşim **Ghaida'ya** ve her zaman yanımda olan kıymetli dayım **Jihad'a** sürekli destekleri için yürekten teşekkür ederim.

Bu süreçte henüz çok küçük olmasına rağmen annesinin yoğun çalışma temposuna sessizce ortak olan biricik kızım **Malak'a** ve varlığıyla bana umut veren, henüz dünyaya gelmeden bu sürecin tüm heyecanını benimle paylaşan canım oğlum **Hussein'e**... Varlığınız, yorgunluğumu unutturan en güzel müjdemdir.

Son olarak, bu çalışmanın hazırlanma sürecinde her koşulda yanımda olan ve dostluklarıyla hayatımı güzelleştiren sevgili arkadaşlarım **Sara ve Khadra'ya** teşekkür ederim.

İstanbul, 2026 **Saja ALHAWAWSHEH**

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN…… i

ÖNSÖZ…….. ii

TABLOLAR LİSTES……. vi

ŞEKİLLER LİSTESİ…… vii

KISALTMALAR LİSTESİ…… viii

ÖZET…… ix

ABSTRACT……. x

1. GİRİŞ…… 1

2. GENEL BİLGİLER…… 5

2.1. **ERKEK ÜREME SİSTEMİ VE SPERM MORFOLOJİSİ… .....** 5

2.1.1. **Erkek Üreme Sistemi: Fizyolojik Temeller ve HPG Ekseni…....** 5

2.1.2. **Sperm Yapısı: Morfoloji ve Fonksiyonel Bileşenler .....** 6

2.2. **SPERM KROMATİN BÜTÜNLÜĞÜ VE HASAR ANALİZİ……** 8

2.2.1. **Sperm Kromatin Yapısı: Histon-Protamin Geçişi ve Genetik Koruma.. ……** 8

2.2.2. **Sperm Kromatin Yönetimi: Protamin ve Epigenetik Regülasyon……** 9

2.2.3. **Sperm Kromatin Testleri: Hasar Tespit Yöntemleri ve Klinik Korelasyon……** 10

2.2.3.1. **Test Prensipleri ve Klinik Değeri……** 10

2.2.4. **Sperm DNA Hasarının Patofizyolojik Yolları .....** 11

2.2.4.1. **Artan Oksidatif Stres ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS) ……** 12

2.2.4.2. **Defektif Apoptozis ve Germ Hücresi Olgunlaşma Kusurları……** 12

2.2.4.3. **Protamin Değişimi Kusurları (Yapısal Kromatin Defektleri) ……** 13

2.3. **VÜCUT KİTLE İNDEKSİ (VKİ) VE REPRODÜKTİF DİSFONKSİYON……** 13

2.3.1. **Vücut Kitle İndeksi (VKİ-BMI) Erkekte Ne Anlama Geliyor……** 13

2.3.2. **VKİ ve Erkek Hormonal İndeksi: Endokrin İlişkiler……..** 14

2.3.3. **VKİ ve Erkek Üreme Fonksiyonu: Semen Kalitesi ve Fertilite Üzerindeki Etki……** 15

2.4. **MOLEKÜLER ETKİLEŞİM VE SONUÇ .....** 15

2.4.1. **VKİ ve ROS: Obezite Kaynaklı Oksidatif Stres ve DNA Hasarı……..……** 15

2.4.2. **VKİ ve Sperm Özeti: Kromatin Yapısı Üzerindeki İlişkinin Değerlendirilmesi……** 16

2.5. **Obezitenin Paternal Epigenom Üzerindeki Etkileri: Kapsamlı Mekanizmalar…….** 16

2.5.1. **DNA Metilasyonundaki Detaylı Değişiklikler ve Enzimatik Kontrol…..……** 17

2.5.2. **Küçük Non-kodlayıcı RNA'ların (sncRNA'lar) ve MikroRNA'ların Analizi……** 17

3. **GEREÇ VE YÖNTEM…….. 19**

3.1. **Çalışma Yeri, Etik Kurul Onayı ve Çalışma Grubu…… 19**

3.1.1. **Etik Kurul Onayı ve Bilgilendirilmiş Onam…… 19**

3.1.2. **Çalışma Grubu ve Gruplama Kriterleri…… 19**

3.1.3. **Dahil Etme ve Hariç Tutma Kriterleri…… 20**

3.2. **Antropometrik Ölçümler ve Semen Numunesi Toplanması…… 20**

3.2.1. **Vücut Kitle İndeksi (VKİ) Hesaplaması..... 20**

3.2.2. **Semen Numunesi Toplanması ve Hazırlanması…… 20**

3.3. **Sperm Kalite Parametrelerinin ve Morfolojisinin Değerlendirilmesi… 20**

3.4. **Sperm Kromatin Bütünlüğü ve Yapısal Defekt Testleri..... 21**

3.4.1. **Anilin Mavisi Boyaması (AB%)** **21**

3.4.2. **Akridin Orange Boyaması (AO%)** **21**

3.4.3. **Kromomisin A3 Boyaması (CMA3%)** **21**

3.5. **İstatistiksel Analiz Yöntemleri**…….. **22**

3.5.1. **Veri Analizleri** **22**

3.5.2. **Regresyon Analizleri** **22**

4. **BULGULAR**…….. **23**

4.1. **Çalışma Gruplarının Demografik ve Antropometrik Karşılaştırması**…**23**

4.2. **Geleneksel Semen Parametrelerinin Karşılaştırılması** **23**

4.3. **Sperm Kromatin Bütünlüğü ve Olgunluğu Test Sonuçları** **25**

4.4. **Korelasyon Analizleri**…….. **26**

4.5. **Regresyon Analizleri**…… **27**

5. **TARTIŞMA**……. **28**

6. **KAYNAKLAR** …… **35**

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1 : Sperm DNA Fragmentasyon Testlerinin Karşılaştırmalı Analizi……11

Tablo 2.2 : Obezitenin Erkek Üreme Endokrin Ekseni Üzerindeki Etkileri 14

Tablo 2.3 : VKİ'nin Sperm Kromatin Hasarına Yol Açan Mekanizmalarının Özet 16

Tablo 3.1 : Dahil Etme ve Hariç Tutma Kriterleri..... 19

Tablo 4.1 : Çalışma Gruplarının Yaş ve Vücut Kitle İndeksi (VKİ) Değerleri..... 23

Tablo 4.2 : Gruplar Arası Geleneksel Semen Parametreleri Karşılaştırması..... 24

Tablo 4.3 : Gruplar Arası Sperm Kromatin Bütünlüğü Test Sonuçları Karşılaştırması..... 25

Tablo 4.4 : VK ile semen parametreleri arasındaki korelasyon..... 26

Tablo4.5 : VKİ ile AB%+ ve CMA3%+ değerleri arasındaki ilişkinin regresyon analizi sonuçları..... 27

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1 : Hipotalamus-Hipofiz-Gonad (HHG) Ekseni 6
Şekil 2.2 **:** Sperm'in yapısı ve bölümleri 7
Şekil 2.3 : Kromatin paketlenmesinde Histon'dan protamin'e geçiş..... 9

KISALTMALAR

AB Anilin Mavisi (Aniline Blue)

AO Akridin Orange (Acridine Orange)

ART Yardimci Üreme Teknikleri (Assistant Reproductive Technologies)

CMA3 Kromomisin A3 (Chromomycin A3)

DFI DNA Fragmentasyon indeksi (DNA Fragmentation Index)

DNA Deoksiribo Nükleik Asit

DSÖ Dünya Saglik Örgütü (WHO)

E2 Östradiole

FSH Folikül Uyarici Hormon (Follicle Stimulating Hormone)

HPT Hipotalamus-Hipofiz-Testis Aksi

HPG Hipotalamus-Hipofiz-Gonad

ICSI İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu

IUI İntrauterin inseminasyon

IVF İn Vitro Fertilizasyon

OS Oksidatif Stres

LH Lüteinlestirici Hormon (Luteinizing Hormone)

POHaD Saglik ve Hastaliklarin Paternal Kökenleri (Paternal Origins of Health and Disease)

ROS Reaktif Oksijen Türleri (Reactive Oxygen Species)

SCSA Sperm Kromatin Yapi Analizi (Sperm Chromatin Structure Assay)

SCD Sperm Chromatin Dispersion test

SDF Sperm DNA Fragmentasyonu

SPSS Sosyal Bilimler için istatistik Paketi (Statistical Package for the Social Sciences)

T Testosteron

TGK Tekrarlayan Gebelik Kayiplari

TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling)

VKI Vücut Kitle Indeksi (BMI)

YUT Yardımcı Üreme Teknikleri

ÖZET

Vücut Kitle İndeksinin Sperm Kromatin Bütünlüğü ve Erkek Fertilitesi Üzerine Etkileri: Güncel Moleküler ve Klinik Yaklaşımların Sentezi

Bu çalışma, artan Vücut Kitle İndeksinin (VKİ) sperm kalitesi ve sperm kromatin bütünlüğü üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla yürütülmüştür. Katılımcılar (VKİ) değerlerine göre normal, fazla kilolu ve obez olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Geleneksel semen parametrelerinin yanı sıra sperm (DNA) bütünlüğü; Anilin Mavisi (AB), Kromomisin A3 (CMA3) ve Akridin Orange (AO) boyama yöntemleri ile analiz edilmiştir.

Araştırma bulgularına göre, (VKİ) ile sperm konsantrasyonu ve ejakülat hacmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p > 0,05$). Buna karşın, yüksek (VKİ) grubunda sperm motilitesi ($p = 0,041$) ve normal morfoloji oranlarının ($p = 0,012$) kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu belirlenmiştir. Kromatin analizlerinde, obez grubun (AB) pozitiflik oranı (%71,9 ± 9,5) ve CMA3 pozitiflik oranı (%61,8 ± 12,4), normal kilolu gruba göre ileri derecede yüksek bulunmuştur ($p < 0,01$). (AO) testi sonuçları, artan VKİ ile (DNA) fragmentasyon indeksi arasında pozitif yönlü bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Korelasyon analizinde, (VKİ) ile sperm nükleer olgunlaşma kusurları arasında güçlü bir ilişki ($r = 0,612$, $p < 0,001$) tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; yüksek (VKİ), sperm üretimini kantitatif olarak etkilemese de, protamin eksikliği ve (DNA) hasarı yoluyla sperm nükleer bütünlüğünü kalitatif olarak bozmaktadır. Bu veriler, obezitenin erkek infertilitesinde bağımsız bir risk faktörü olduğunu doğrulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: Obezite, Sperm (DNA) Fragmentasyonu, Protamin Eksikliği, Erkek İnfertilitesi, Sperm Kromatin Bütünlüğü.

Saja ALHAWAWSHEH,2026

ABSTRACT

The Effects of Body Mass Index on Sperm Chromatin Integrity and Male Fertility: A Synthesis of Current Molecular and Clinical Approaches.

This study was conducted to evaluate the effects of increased Body Mass Index (BMI) on sperm quality and sperm chromatin integrity. Participants were categorized into three groups based on their BMI: normal, overweight, and obese. In addition to conventional semen parameters, sperm DNA integrity was analyzed using Aniline Blue (AB), Chromomycin A3 (CMA3), and Acridine Orange (AO) staining methods.

The research findings showed no statistically significant association between BMI and sperm concentration or ejaculate volume ($p > 0.05$). In contrast, sperm motility ($p = 0.041$) and normal morphology rates ($p = 0.012$) were significantly lower in the high BMI group compared to the control group. In chromatin analysis, the AB positivity rate (71.9% ± 9.5) and CMA3 positivity rate (61.8% ± 12.4) of the obese group were significantly higher than those of the normal-weight group ($p < 0.01$). AO test results confirmed a positive correlation between increased BMI and DNA fragmentation index. Correlation analysis identified a strong relationship ($r = 0.612$, $p < 0.001$) between BMI and sperm nuclear maturation defects.

In conclusion, while high BMI does not quantitatively affect sperm production, it qualitatively impairs sperm nuclear integrity through protamine deficiency and DNA damage. These data confirm that obesity is an independent risk factor in male infertility.

Keywords: Obesity, Sperm (DNA) Fragmentation, Protamine Deficiency, Male Infertility, Sperm Chromatin Integrity.

Saja ALHAWAWSHEH,2026

1. GİRİŞ

İnfertilite, üreme çağındaki çiftlerin yaklaşık %15'ini etkileyen kompleks ve multidisipliner bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilmektedir. Bu vakaların yaklaşık yarısında, erkek faktörü birincil etiyolojik bileşen olarak rol oynamakta ve tanı, geleneksel olarak Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından belirlenen sperm konsantrasyonu, motilite (hareketlilik) ve morfoloji gibi fenotipik parametrelere dayanmaktadır. Ancak son yirmi yılda yapılan çok sayıda prospektif çalışma, bu geleneksel semen analiz parametrelerinin, özellikle açıklanamayan infertilite vakalarında veya Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT) sonuçlarını güvenilir bir şekilde öngörmede tek başına yetersiz kaldığını kesin olarak kanıtlamıştır (Mazzilli ve ark., 2023). Geleneksel semen analizi, sperm numunesinin sadece son ürününü değerlendirir ve spermatogenez süreci sırasında oluşan moleküler hasarları göz ardı eder (Selvam ve Agarwal, 2018). Morfolojik olarak normal kabul edilen ve standart parametreleri referans aralık içinde olan spermlerin dahi tekrarlayan gebelik kayıpları (TGK), YÜT başarısızlıkları ve embriyonik gelişim kusurları ile ilişkilendirilmesi, bilimsel odağın sperm hücresinin taşıdığı genetik materyalin kalitesine, yani Paternal Genom Bütünlüğüne kaymasına neden olan önemli bir paradigma değişimini beraberinde getirmiştir (Aitken & De Iuliis, 2009).

Paternal genomun bütünlüğü, döllenme sonrası erken embriyonik gelişim (özellikle paternal genomun aktivasyonunun gerçekleştiği 4-8 hücre aşaması), implantasyon ve yavrunun nesiller arası sağlığı için kritik bir ön koşuldur. Özellikle morfolojik olarak normal kabul edilen ancak yüksek SDF'ye sahip olan spermlerin, embriyo gelişimini 4-8 hücre aşamasından sonra durdurabildiği, çünkü paternal genom aktivasyonunun tam bu aşamada başladığı bilinmektedir (Tarozzi ve ark., 2021). Bu bağlamda, Sperm DNA Fragmentasyonu (SDF), nükleer genomda ortaya çıkan tek sarmallı veya çift sarmallı kırıkları ve kromatinin yapısal bütünlüğündeki bozulmaları tanımlayan geniş bir şemsiye terimdir. Yüksek SDF seviyeleri, doğal konsepsiyon, İntrauterin İnseminasyon (IUI) ve hatta in vitro fertilizasyon (IVF) gibi tekniklerde düşük gebelik oranları ve yüksek düşük yapma riski ile kuvvetle ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle, Kromomisin A3 (CMA3), Anilin Mavisi (AB) ve Akridin Orange (AO) gibi farklı mekanizmaları ölçen Sperm Kromatin Yapı Analizi (SCSA) testlerinin, geleneksel semen analizinin yetersiz kaldığı infertil alt popülasyonlarda tanısal ve prognostik değeri giderek artmaktadır (Yassin et al., 2025). SDF testleri, hasarın moleküler kaynağına göre iki ana mekanizmayı ayırt etmemizi sağlar: 1) DNA Kırıkları (AO ile ölçülen) ve 2) Yapısal Olgunlaşmamışlık/Protamin Eksikliği (CMA3 ve AB ile ölçülen) (Dutta ve ark., 2021).

Özellikle CMA3 ve AB testleri, DNA hasarından ziyade sperm DNA'sını yoğunlaştıran temel proteinler olan histonların, arginin ve sisteinden zengin küçük nükleer proteinler olan protaminlerle yetersiz değiştirilmesi (Histon Retansiyonu) sonucu ortaya çıkan yapısal olgunlaşma defektlerini doğrudan hedef almaktadır (Lolis ve ark., 1996)(Pourmasumi ve ark., 2019). Histon retansiyonu, sadece DNA'nın gevşek kalmasına ve hasara açık olmasına neden olmakla kalmaz, aynı zamanda erken embriyonik gelişim için gerekli olan gen bölgelerinin epigenetik programlamasını ve metilasyon düzenlemesini de bozar (Singh ve ark., 2025). Bu yapısal kusur, YÜT sonuçlarını olumsuz etkileyen en önemli defektlerden biri olarak kabul edilmektedir (Simon ve ark., 2017).

Bu araştırma, küresel çapta bir halk sağlığı sorunu haline gelen obezite epidemisinin erkek üreme sağlığı üzerindeki kompleks patofizyolojik etkilerini incelemektedir. Dünya genelinde obezite oranlarının artmasıyla birlikte, bu durumun erkekte subfertilite ve infertilite riskini anlamlı ölçüde yükselttiği kanıtlanmıştır (Chambers ve Anderson, 2015). Vücut Kitle İndeksi (VKİ), obezitenin temel klinik ölçütü olarak kabul edilmekle birlikte, yüksek VKİ'nin sperm kalitesi üzerindeki olumsuz etkilerinin geleneksel semen parametrelerinin ötesine geçerek sperm genetik ve epigenetik bütünlüğüne uzandığı artık netleşmiştir. Obezite ile ilişkili infertilite etiyolojisinin kritik bir bileşeni olarak görülen sperm kromatin yapısındaki bozulmalar ve yüksek SDF oranları, bu hastalarda gebelik sonuçlarını doğrudan olumsuz etkilemektedir.

Mevcut bilimsel literatür, obezitenin sperm DNA hasarını artırdığını açıkça gösterse de, bu hasarın tek bir mekanizmaya (örneğin sadece Oksidatif Stres (OS)) indirgenemeyeceği anlaşılmıştır. Yüksek VKİ'nin sperm kromatin bütünlüğünü bozmak için kullandığı iki ana patolojik yol, bütüncül bir yaklaşımla sentezlenmeyi gerektirmektedir.

Birincil Patolojik Yol: Hormonal ve Yapısal Disfonksiyon (Protamin Eksikliği) olarak açıklanabilir. Obezitenin neden olduğu aşırı yağ dokusu birikimi, bir endokrin organ gibi davranarak aromataz enzimi aktivitesini artırır ve böylece testosteronun östrojene (Östradiol) dönüşümünü hızlandırır. Yüksek östrojen seviyeleri, Hipotalamus-Hipofiz-Testis (HPT) aksını negatif geri besleme yoluyla baskılayarak gonadotropin salınımını ve dolayısıyla testosteron üretimini düşürür ve hipogonadizme yol açar. Bu hormonal dengesizlik, spermatogenez sırasında kritik öneme sahip olan Histon-Protamin Geçişi sürecini doğrudan sekteye uğratır (Barbouni ve ark., 2025). Protaminlerin yetersiz sentezi veya anormal P1/P2 oranları, DNA'nın gevşek kalmasına, dolayısıyla CMA3 ve AB testleriyle tespit edilen yapısal kromatin

defektlerine yol açar. Ayrıca, artan skrotal yağ birikimi, lokal sıcaklığı yükselterek skrotal hipertermiye neden olur; bu da termal strese duyarlı olan spermiyogenez ve protamin değişimi süreçlerini bozarak kromatin olgunlaşmamışlığını şiddetlendirir (Zhang ve ark., 2015).

İkincil Patolojik Yol ise Oksidatif ve Çevresel Hasar ,DNA Fragmentasyonu'dur. Obezite, kronik, düşük dereceli sistemik inflamasyon durumudur. Aşırı viseral yağ dokusu, birincil inflamatuar sitokin (TNF-\alpha, IL-6) kaynağı olarak işlev görür ve ejakülatta ve testis çevresindeki lökosit sayısını artırır. Aktif lökositler, büyük miktarda Reaktif Oksijen Türü (ROS) üretilmesine neden olur. Bu aşırı ROS yükü, sperm hücre zarlarında lipit peroksidasyonuna ve doğrudan sperm DNA'sında oksidatif hasara (özellikle 8-OHdG oluşumu) yol açarak Akridin Orange (AO) gibi testlerle saptanan DNA Fragmentasyon İndeksini (DFI) yükseltmektedir. Ayrıca, yüksek VKİ'ye sahip bireylerde artan Leptin seviyeleri, doğrudan Sertoli ve Leydig hücre fonksiyonlarını etkileyerek testiküler steroidogenezi ve spermatogenezi bozmaktadır. Aynı zamanda Adiponektin gibi koruyucu adipokinlerin azalması, insülin direnci ile birlikte sistemik inflamasyonu körükler ve spermde oksidatif hasarın ana kaynaklarından olan mitokondriyal disfonksiyonu tetikler (Jing ve ark., 2023).

Bu iki patolojik yolun sentezi, obezite kaynaklı infertilite etiyolojisinin sadece çevresel bir saldırıdan (ROS) değil, aynı zamanda hormonal eksen aracılığıyla sperm nükleer yapısındaki primer bir defekten de kaynaklandığını ortaya koyarak alana önemli bir bilimsel katkı sunmaktadır.

Epigenetik Miras ve Transgenerasyonel Etki ise Obez erkeklerin spermleri'nin, sadece hasarlı DNA değil, aynı zamanda hatalı programlanmış bir epigenetik miras taşıdığı şeklindedir. Bu, özellikle DNA Metilasyonu ve spermdeki küçük non-kodlayıcı RNA'lar (sncRNA'lar) ve mikroRNA'lar (miRNA'lar) aracılığıyla gerçekleşir (Potabattula ve ark., 2019). Sperm DNA'sındaki metilasyon paternlerinin, erken embriyonik gelişim ve yavrunun metabolik programlanması için kritik olduğu bilinmektedir. Obezite ile ilişkili genlerin (örneğin: FTO, POMC) promotor bölgelerinde saptanan anormal metilasyon paternleri, bu epigenetik bilginin oosit içine aktarılarak yavrunun metabolik fenotipini değiştirdiği ve obezite/diyabet riskini artırdığı gösterilmiştir. Özellikle spermdeki mikroRNA (miRNA) profillerindeki değişiklikler, erken embriyonik gen ekspresyonunun post-transkripsiyonel regülasyonunu bozarak, Transgenerasyonel (nesiller arası) Sağlık ve Hastalık Kökenleri (POHaD) aktarımında kritik bir rol oynamaktadır. Bu epigenetik bozulmaların, kilo verme ve diğer metabolik müdahalelerle

tersine çevrilebilir olması, paternal yaşam tarzının sadece fertiliteyi değil, aynı zamanda gelecek nesillerin sağlığını da etkilediğini göstermektedir.

Bu çalışmanın temel amacı, artan Vücut Kitle İndeksinin (VKİ), geleneksel semen parametrelerinin ve Sperm Kromatin Bütünlüğünün her iki temel boyutuna (Oksidatif Hasar ve Yapısal Olgunlaşmamışlık) olan etkisini karşılaştırmalı olarak incelemektir. Birincil hipotezimiz, VKİ'nin, yaş gibi diğer karıştırıcı değişkenlerden bağımsız olarak, özellikle kromatin yapısal olgunlaşmamışlığının (AB%+ ve CMA3%+) anlamlı bir öngörücüsü olduğudur. Çalışmamız, VKİ'nin sadece genel DNA hasarını (AO%+) değil, aynı zamanda Protamin Değişimi kusurları yoluyla nükleer olgunlaşma defektlerini de doğrudan etkilediğini kantitatif olarak göstermeyi hedeflemektedir. Bu karmaşık patofizyolojiyi aydınlatmak için, çalışmamızda kullanılan üç farklı moleküler belirtecin (AO: oksidatif hasar; AB/CMA3: yapısal olgunlaşmamışlık) karşılaştırmalı analizi elzemdir (Peel ve ark., 2023).

Elde edilecek bulgular'dan çıkarılacak klinik önem, obezite kaynaklı infertilite tanısında geleneksel yöntemlerin sınırlılığını vurgulamakta ve SDF testlerinin hangi alt popülasyonlarda ve hangi tedavi yöntemleri (IUI veya Intrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu - ICSI) için daha kritik olduğu konusunda yol göstermeyi hedeflemektedir. VKİ'nin kromatin bütünlüğü üzerindeki bağımsız rolünün belirlenmesi, obez erkeklerde tedavi stratejilerinin bireyselleştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Bu, sadece antioksidan tedavisi gibi ROS ile mücadele eden yaklaşımların değil, aynı zamanda kilo kaybı, bariatrik cerrahi ve hormonal dengenin yeniden sağlanmasının (kromatin bütünlüğünü restore etmek için) temel tedavi stratejisi olarak benimsenmesi gerektiğini önermektedir. Ayrıca, bu tür hastalar için en uygun sperm seçim yöntemlerinin (örneğin: MACS veya PICSI) belirlenmesine de ışık tutacaktır [24]. Son olarak, obezitenin sperm genomundaki epigenetik imzaları değiştirerek nesiller arası sağlık ve hastalık aktarımı üzerindeki potansiyel etkileri dikkate alındığında, bu araştırmanın önemi sadece infertilite tedavisinin ötesine geçerek geniş bir halk sağlığı boyutuna ulaşmaktadır. Bu çalışma, obezitenin patofizyolojisini moleküler düzeyde aydınlatarak klinik uygulamalara değerli bir bilimsel dayanak sağlamayı amaçlamaktadır.

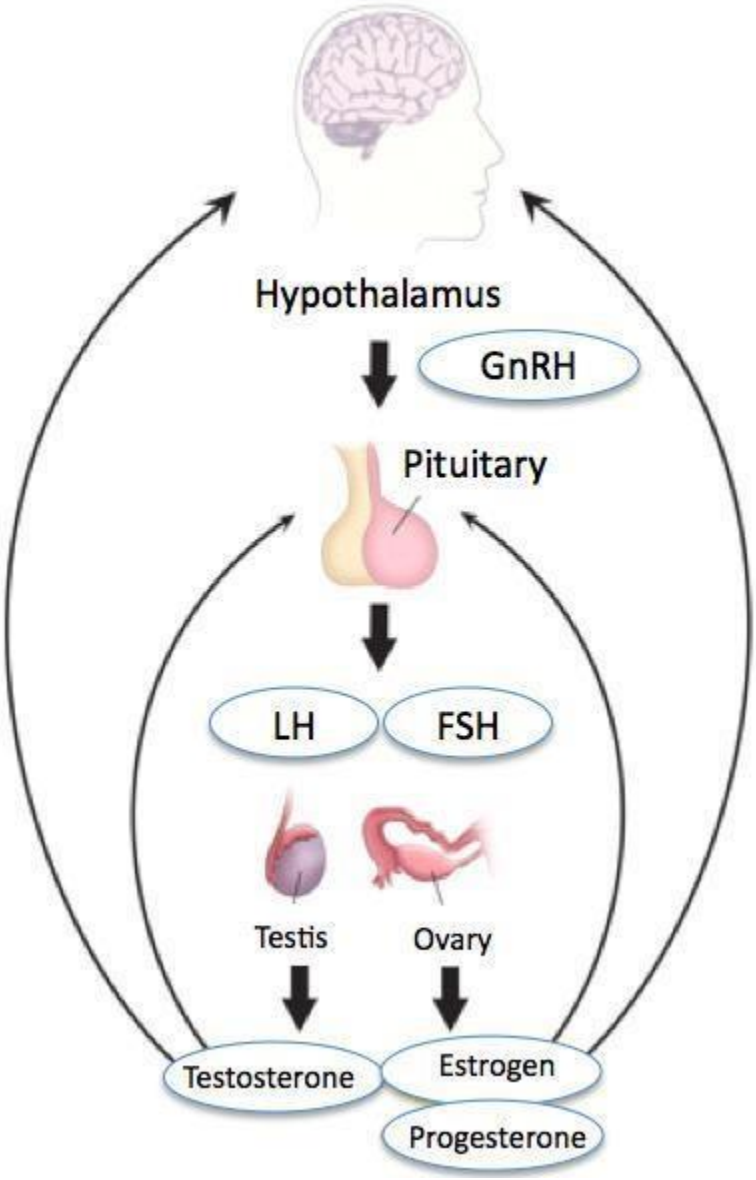
2. GENEL BİLGİLER

2.1. ERKEK ÜREME SİSTEMİ VE SPERMMORFOLOJİSİ

2.1.1. Erkek Üreme Sistemi: Fizyolojik Temeller ve HPG Ekseni

Erkek üreme sistemi, kompleks bir endokrin düzenleme ve sürekli yenilenme kapasitesine sahip olan spermatogenez süreci ile karakterizedir. Spermatogenez, spermatogonyum'ların farklılaşarak olgun sperm hücrelerine dönüştüğü süreç olup, bu sürecin son aşaması olan spermiyogenez'de, sperm hücreleri morfolojik olarak son halini alır ve nükleer içerik yoğunlaşır. Testisler, hem endokrin (Testosteron üretimi) hem de ekzokrin (sperm üretimi) fonksiyonlara sahip olup, bu iki fonksiyonun senkronize çalışması üreme sağlığı için zorunludur.

Hipotalamus-Hipofiz-Gonad (HPG) ekseni, bu fizyolojik süreçlerin temel düzenleyicisidir. Hipotalamustan salgılanan Gonadotropin Salgılatıcı Hormon (GnRH), hipofiz bezini uyararak Lüteinize Edici Hormon (LH) ve Folikül Uyarıcı Hormon (FSH) salınımını tetikler. LH, Leydig hücrelerini uyararak Testosteron (T) üretimini sağlarken; FSH, Sertoli hücreleri üzerindeki reseptörleri aracılığıyla spermatogenezi destekler. Özellikle FSH, spermatogenezin ilerlemesi ve Sertoli hücrelerinin besleyici ortam sağlaması için kritik öneme sahiptir. Testosteron, hem intratesik düzeyde spermatogenez için yüksek konsantrasyonda gereklidir hem de sistemik olarak sekonder cinsel karakterleri ve genel metabolizmayı düzenler. Bu endokrin denge, ilerleyen bölümlerde tartışılacağı gibi, obezite tarafından kolaylıkla bozulabilmektedir (Esteves ve Humaidan, 2025).



Şekil (2.1): Hipotalamus-Hipofiz-Gonad (HHG) Ekseni

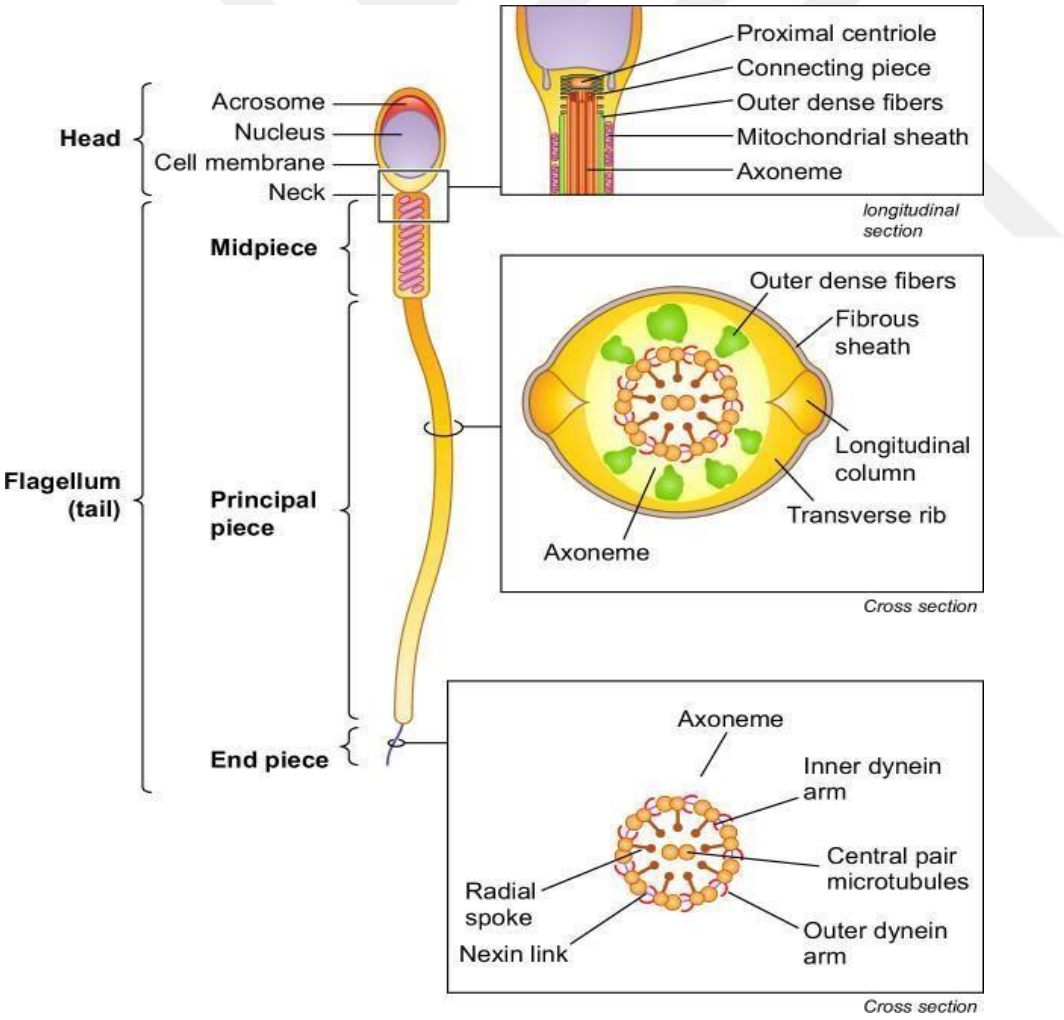
Açıklama: Hipotalamus, hipofiz ve testis arasındaki hormonal döngüyü gösteren şematik. Hipotalamustan salınan GnRH, hipofizden LH ve FSH salınımını tetikler. LH, Leydig hücreleri üzerinden testosteron üretimini; FSH ise Sertoli hücreleri aracılığıyla spermatogenezi destekler. Bu hormonlar, negatif geri bildirim mekanizmasıyla HHG ekseninin fizyolojik dengesini düzenler. (Rawindraraj et al., 2018).

2.1.2. Sperm Yapısı: Morfoloji ve Fonksiyonel Bileşenler

Olgun bir sperm hücresi, genetik materyali yumurtaya taşımak üzere özelleşmiş, yüksek derecede organize bir yapıdır. Hücre, üç ana bölüme ayrılır: baş, boyun ve kuyruk.

Sperm başı, genetik materyali içeren nükleer bölgeyi ve döllenme için gerekli enzimleri barındıran akrozomu içerir. Nükleer bölge, paternal genomun bütünlüğünü korumada hayati bir rol oynar. Kromatin, burada protaminler tarafından aşırı yoğunlaştırılarak hasara karşı maksimum düzeyde korunur. Boyun bölgesi, baş ve kuyruk arasındaki bağlantıyı sağlar ve hareketliliği başlatan sentriyolleri içerir. Kuyruk (flagellum) ise hareketliliği sağlayan ana yapıdır. Mitokondriyel kılıf, kuyruğun başlangıç kısmını sararak hareket için gerekli enerjiyi (ATP) üretir.

Sperm morfolojisinin Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kriterlerine göre değerlendirilmesi uzun yıllardır infertilite tanısının temelini oluşturmuştur. Ancak, bu kriterlere uygunluk tek başına fertilite potansiyelinin güvenilir bir göstergesi değildir. Özellikle morfolojik olarak normal görünen spermlerde bile, nükleer kromatin bütünlüğünde ciddi hasarlar bulunabilir. Bu durum, semen analizine ek olarak sperm kromatin bütünlüğü testlerinin klinik pratikteki önemini artırmıştır (Teves ve Roldan, 2021).



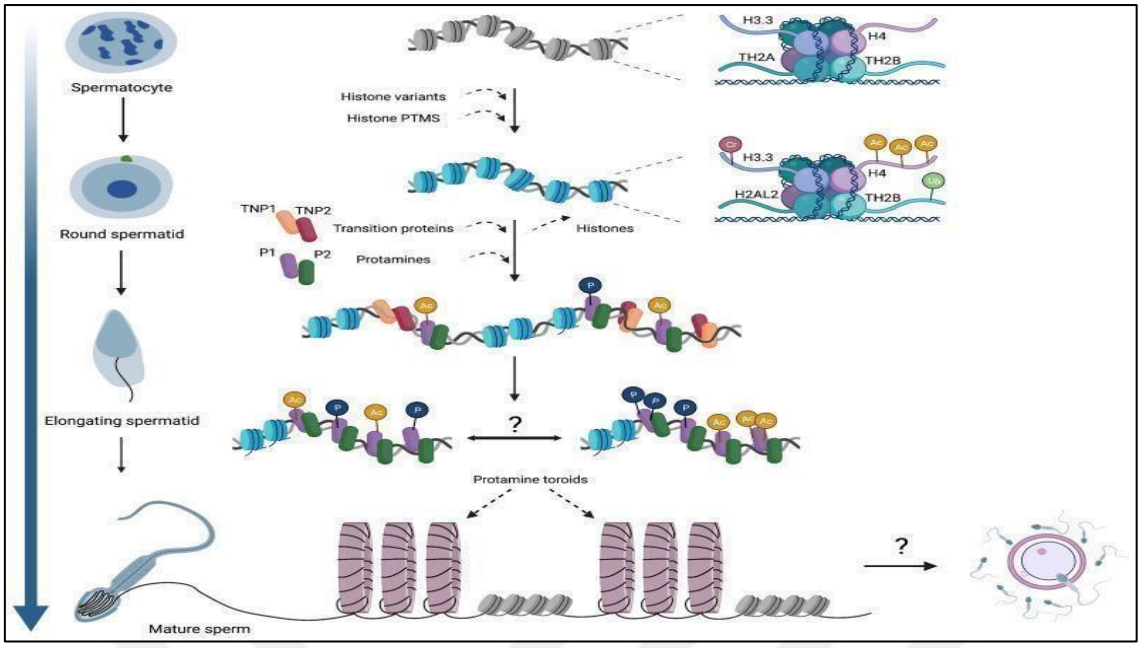
Şekil (2.2): Spermin yapısı ve bölümleri .

Genel olarak, spermatozoonun yapısı bir baş ve bir kamçıdan oluşur. Baş kısmı çekirdeği ve akrozomal granülü içerir. Boyun bölgesi aracılığıyla başa bağlanan kamçı; mitokondrilerin bulunduğu orta parça, ana parça ve uç parça olmak üzere 3 bileşene ayrılır. Aksiyal filament, mikrotübüllerin 9 + 2 düzenini içerir. Bu sperm yapısı, omurgalı taksonları arasında büyük farklılıklar gösterebilir. (Teves ve Roldan, 2021).

2.2. SPERM KROMATİN BÜTÜNLÜĞÜVE HASAR ANALİZİ

2.2.1. Sperm Kromatin Yapısı: Histon-Protamin Geçişi ve Genetik Koruma

Sperm kromatin bütünlüğünün derinlemesine analizi, Sperm DNA bütünlüğünün bozulması (sDF)'nin yalnızca fertilitenin azalmasıyla değil, aynı zamanda tekrarlayan gebelik kayıpları ve yardımcı üreme teknikleri (YÜT) başarısızlıklarıyla da doğrudan ilişkilendirilen kritik bir paternal faktör olduğunu vurgulamaktadır; bu hasarın patofizyolojik yolları Yüksek Vücut Kitle İndeksi (VKİ) gibi faktörler tarafından şiddetlendirilerek genetik materyalin kalitesi düşmektedir. Sperm nükleusundaki genetik materyalin benzersiz korunması, somatik hücrelerdeki histonların büyük bir kısmının yerini nükleoproteinler olan protaminlere (Protamine 1 - PRM1 ve Protamine 2 - PRM2) bıraktığı dramatik bir kromatin yeniden modellemesi süreci olan spermiyogenez sırasında sağlanır. Protaminler, paternal genomun genetik bütünlüğünü korumak için yüksek düzenli kromatin kompaktlaşmasını kolaylaştıran temel nükleoproteinlerdir; histonların yerini alarak DNA'nın fosfodiester omurga yükünü nötralize eder ve major oluğa bağlanırlar, böylece kromatin yapısının mitoz sırasında gerçekleşen yoğunlaşmanın altı katına kadar kompakt hale gelmesini sağlarlar. Bu aşırı yoğunlaşma, DNA'yı hem fiziksel hasarlara hem de oksidatif saldırılara karşı korumanın yanı sıra, transkripsiyonel makineye erişimi ciddi şekilde engelleyerek olgun spermde transkripsiyonun neredeyse tamamen susmasına neden olur. Memelilerde tüm spermatidler PRM1'i ifade ederken, primatlarda ve kemirgenlerde PRM2 de ifade edilir ve normal fertilite için PRM1 ve PRM2 arasındaki uygun oran kritik öneme sahiptir. Protamin yetersizliği, nükleer yoğunlaşmanın azalmasına ve dolayısıyla kromatinin çevresel hasarlara karşı daha savunmasız olmasına yol açar; ilginç bir şekilde, bu eksiklik aynı zamanda küresel DNA metilasyonunda artışla ilişkilendirilmiştir, bu bulgu da kromatin yapısal bozukluklarının sadece fiziksel bir defekt değil, aynı zamanda **epigenetik bir kusur** olduğunu da göstermektedir (Jodar ve ark., 2013).



Şekil (2.3): Histone-to-protamine exchange and sperm chromatin packaging (Govin ve ark., 2004)

2.2.2. Sperm Kromatin Yönetimi: Protamin ve Epigenetik Regülasyon

Sperm kromatin yapısının doğru şekilde yönetilmesi, endokrin sistemin hassas kontrolü altındadır. Araştırmalar, kromatin yoğunlaşması ve Histon-Protamin geçişinin başarılı bir şekilde tamamlanmasının yeterli Follikül Uyarıcı Hormon (FSH) ve Testosteron (T) seviyelerine bağlı olduğunu hipotezlemektedir. Bu, hormonların sadece spermatogenezin başlatılması ve sürdürülmesi için değil, aynı zamanda son ürün olan spermin genetik materyalinin yapısal bütünlüğünün korunması için de elzem olduğu anlamına gelir.

Eğer hormonal regülasyon aksarsa, Histon-Protamin geçişi tamamlanamaz, bu da kromatinin gevşek kalmasına ve Protamin yetersizliğine neden olur. Bu yapısal bozukluk, obezite bağlamında kritik bir primer defekt mekanizmasıdır: VKİ'deki artışın Testosteronu düşürmesi ve dolayısıyla T/FSH yetersizliğine yol açması, doğrudan **hormonla düzenlenen Protamin geçişini aksatır**. Yetersiz yoğunlaşmış kromatin, yalnızca yapısal olarak zayıf olmakla kalmaz, aynı zamanda Reaktif Oksijen Türleri (ROS) gibi çevresel saldırılara karşı da daha savunmasız hale gelir.

Epigenetik Regülasyon ise, kromatin yönetiminin diğer bir kritik boyutudur. Protaminler histonların çoğunu değiştirse de, yaklaşık %10-15'lik bir histon fraksiyonu ve bunlarla ilişkili

histon modifikasyonları korunur. Bu kalan histonlar, spermden embriyoya **epigenetik hafızayı** aktarmada rol oynar. Histon kodu, DNA metilasyon paterni ile iç içe geçmiş durumdadır. Protamin eksikliğinde global DNA metilasyonunun artması, obeziteye bağlı hormonal ve yapısal bozuklukların, yavrunun gelişimini etkileyebilecek ciddi epigenetik defektlere yol açma potansiyelini göstermektedir (Gill-Sharma ve ark., 2012).

2.2.3. Sperm Kromatin Testleri: Hasar Tespit Yöntemleri ve Klinik Korelasyon

Geleneksel semen analiz parametrelerinin (konsantrasyon, motilite, morfoloji) çiftlerin fertilite potansiyelini değerlendirmede güvenilir belirteçler olmaması, klinik uygulamada sperm DNA bütünlüğü testlerine (sDF) olan ilgiyi artırmıştır. Güncel olarak klinikte kullanılan başlıca sDF tespit yöntemleri arasında TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling), SCSA (Sperm Chromatin Structure Assay), SCD (Sperm Chromatin Dispersion test) ve COMET Assay (Kuyruklu Yıldız Testi) bulunmaktadır (Selvam ve Agarwal, 2018).

Bu dört test, birçok açıdan birbirinden farklılık gösterir ve muhtemelen farklı hasar türlerini ortaya çıkarmaktadır. Yapılan karşılaştırmalı çalışmalar, bu testlerin çoğunun çiftler arası karşılaştırmalarında zayıf Lin uyum korelasyon katsayıları (CCC < 0.5) gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu düşük korelasyon, sDF tanımının homojen olmadığını ve hasarın biyolojik kökeninin (örn., protamin eksikliğinden kaynaklanan yapısal hassasiyet versus serbest radikal saldırısından kaynaklanan doğrudan DNA kırıkları) farklılık gösterebileceğini düşündürmektedir (Calamai ve ark., 2025).

2.2.3.1. Test Prensipleri ve Klinik Değeri

- **Sperm Kromatin Yapı Analizi (SCSA):** Akış sitometrik bir test olup, sperm DNA'sının aside bağlı denatürasyona karşı hassasiyetini ölçer. Bu test, kromatinin yapısal bütünlüğünü yansıtır. SCSA, fertilite ile ilişkili en stabil klinik eşik değerlere sahip test olarak kabul edilmekte ve ilk gebelik planlayanlar ile İntrauterin İnseminasyon (IUI) uygulanan çiftlerde **başarılı gebeliğin bağımsız bir öngörücüsü** olarak gösterilmiştir. Bu durum, **kromatinin yapısal bütünlüğünün**, sadece DNA kırıklarının varlığından daha önemli bir fertilite belirteci olduğunu düşündürmektedir.
- **TUNEL Testi:** DNA uç kırıklarını doğrudan etiketleyerek tek ve çift sarmallı kırıkları tespit eder. Kriyoprezervasyon gibi hasar indükleyici koşullarda, TUNEL'in diğer testlere göre en yüksek sDF miktarlarını ortaya çıkardığı gözlemlenmiştir. Ayrıca,

TUNEL tarafından tespit edilen hasarın, canlı sperm fraksiyonunda da meydana geldiği belirlenmiştir.

- **SCD Testi ve COMET Assay:** SCD ve COMET Assay'ın, diğer testlere kıyasla nispeten daha yüksek bir korelasyon (CCC \approx 0.5) sergilediği saptanmıştır, bu da bu iki yöntemin ölçtüğü hasar türlerinin benzer olabileceğine işaret eder.

Klinik uygulamada SCSA'nın doğal konsepsiyon ve IUI başarısı için güçlü bir öngörücü olmasına rağmen, *in vitro* fertilizasyon (IVF) ve İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI) süreçlerinde döllenme, pre-embriyo gelişimi ve gebelik sonuçları üzerindeki rolü hakkındaki veriler daha çelişkilidir. Bu çelişki, erken embriyonik gelişim sırasında yumurta hücresinin (oosit) DNA hasarını onarma kapasitesinden kaynaklanabilir, ancak hasarın kuluçka ve erken embriyonik gelişim üzerindeki net etkisi hala araştırılmaktadır.(Calamai ve ark., 2025).

Bu testlerin prensipleri ve ölçülen hasar türleri aşağıdaki tabloda özetlenmiştir:

Test Adı	**Prensip**	**Ölçülen Hasar Türü**	**Klinik Korelasyon ve Not**
SCSA (Sperm Kromatin Yapı Analizi)	Aside bağlı DNA denatürasyonu duyarlılığı (Akış Sitometrisi)	Kromatin Yapısal Bütünlüğü, dolaylı DNA kırıkları	IUI/Doğal Gebelik için en stabil öngörücü
TUNEL (Terminal Uç Etiketleme)	DNA'daki uç kırıklarının enzimatik etiketlenmesi	Tek ve çift sarmallı uç kırıkları	Stres sonrası en yüksek hasarı gösterir, canlı spermde de tespit edilir
SCD (Sperm Kromatin Dağılım Testi)	Asit denatürasyonu sonrası DNA halo oluşumu	Kırıkların varlığı (haleninin boyutu)	COMET testi ile yüksek korelasyon gösterir
COMET Assay (Kuyruklu Yıldız Testi)	Tek hücre elektroforezi	Tek ve çift sarmallı kırıklar, baz hasarları	SCD testi ile yüksek korelasyon gösterir

Tablo (2.1) : Sperm DNA Fragmentasyon Testlerinin Karşılaştırmalı Analizi (Marinaro ve Schlegel, 2023).

2.2.4. Sperm DNA Hasarının Patofizyolojik Yolları

Sperm DNA hasarı, tek bir etiyolojik faktöre bağlı olmayıp, genellikle spermatogenez, epididimal olgunlaşma ve ejakülat çevresindeki karmaşık biyokimyasal süreçlerin bozulmasının bir sonucudur. VKİ'deki artış, bu süreçleri moleküler düzeyde etkileyen kilit bir tetikleyicidir.

2.2.4.1. Artan Oksidatif Stres ve Reaktif Oksijen Türleri (ROS)

Oksidatif stres, sperm DNA hasarının en iyi bilinen ve en yaygın nedenidir (Jing ve ark., 2023). ROS, sperm DNA'sında tek sarmal kırıkları, baz modifikasyonları (özellikle 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin - 8-OHdG) ve çift sarmal kırıklarına yol açarak hasar oluşturur. Obezite, bu durumu kronik hale getirir:

* ROS Üretiminde Kaynaklar: Yüksek VKİ'ye sahip bireylerde, aşırı viseral yağ dokusu, birincil inflamatuar sitokin kaynağı olarak görev yapar. Bu durum, ejakülatta ve testis çevresindeki lökosit sayısını artırır. Aktif lökositler (özellikle nötrofiller), büyük miktarlarda süperoksit anyonu ve hidroksil radikali üreterek oksidatif yükü artırır (Jing ve ark., 2023). Ayrıca, obezite ile ilişkili mitokondriyal disfonksiyon, sperm ve germ hücrelerinde elektron transfer zincirinde kaçaklara yol açarak endojen ROS üretimini de yükseltir. Bu lipotoksisite ve oksidatif yük, antioksidan savunma mekanizmalarını (örneğin, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz) tüketerek dengeyi bozar (Peel ve ark., 2023).

* DNA Üzerindeki Etkisi: ROS'un DNA üzerindeki birincil hedeflerinden biri guanin bazlarıdır. 8-OHdG oluşumu, oksidatif hasarın doğrudan bir biyobelirteci olup, artan VKİ ile korelasyon gösterir. Yüksek 8-OHdG seviyeleri, YÜT sonuçlarında düşüş ve tekrarlayan kayıplarla ilişkilendirilmiştir (Peel ve ark., 2023).

2.2.4.2. Defektif Apoptozis ve Germ Hücresi Olgunlaşma Kusurları

Spermatogenezin kalite kontrol mekanizması olan apoptozis (programlanmış hücre ölümü), hasarlı veya genetik olarak kusurlu germ hücrelerini ortadan kaldırır. Obezite, bu hassas süreci sekteye uğratabilir.

* Bozulmuş Temizleme Mekanizması: Obeziteye bağlı inflamatuar sitokinlerin ve anormal hormonal seviyelerin, testislerdeki Sertoli hücrelerinin fagositoz yeteneğini azaltabileceği düşünülmektedir. Bu, apoptozise girmesi gereken hasarlı spermatidlerin veya olgunlaşmamış germ hücrelerinin ejakülata salınmasına yol açar. Bu durum, ejakülatta sitoplazmik kalıntıları (cytoplasmic droplets) koruyan olgunlaşmamış spermlerin varlığını artırır; bu spermler, fazladan sitoplazmik kalıntılar nedeniyle aşırı ROS üretimine eğilimlidir (Uddandrao ve ark., 2024)(Mu ve ark., 2022).

* Kaspaz Yolu Anormallikleri: Apoptoziste merkezi rol oynayan kaspaz enzimlerinin (özellikle Kaspaz-3 ve Kaspaz-9) anormal aktivasyonu veya inhibisyonu, obezite ile ilişkilendirilmiştir. Bu durum, ya hasarlı hücrelerin temizlenmesinde yetersizliğe ya da sağlıklı hücrelerin anormal apoptozise girmesine neden olarak total sperm kalitesini düşürür (Suleiman ve ark., 2020).

2.2.4.3. Protamin Değişimi Kusurları (Yapısal Kromatin Defektleri)

Spermiyogenez sırasında, DNA'nın son derece yoğun ve stabil bir pakete dönüştürülmesi için histonların, arginin ve sisteinden zengin küçük nükleer proteinler olan protaminlerle değiştirilmesi şarttır. Bu Histon-Protamin Geçişi, sperm kromatin bütünlüğünün temelini oluşturur.

* P1/P2 Oranındaki Dengesizlik: İnsanlarda iki ana protamin tipi (Protamin 1 - P1 ve Protamin 2 - P2) bulunur. Kromatinin tam kompaktlaşması için P1/P2 oranının 1.0±0.1 aralığında olması gerekir. Obezite, bu oranın bozulmasına (genellikle P2 sentezindeki kusur nedeniyle P1 lehine) yol açabilir. P2, kromatinin süper kompaktlaşmasından sorumlu olduğundan, bu dengesizlik DNA'yı daha gevşek bir yapıda bırakır (Montjean ve ark., 2024).

* Anormal Histon Retansiyonu: Protaminleşme kusurları, anormal histon retansiyonu (özellikle Histon H3 ve H4) ile sonuçlanır. Bu durum, DNA'nın hasara karşı daha savunmasız olmasına ve aynı zamanda epigenetik bilginin yanlış aktarılmasına neden olur (Bendayan ve ark., 2022). Çalışmanızda kullanılan Anilin Mavisi (AB) ve Kromomisin A3 (CMA3) testleri, sırasıyla sitoplazmik kalıntıları ve protamin eksikliğinden kaynaklanan yapısal olgunlaşmamışlığı tespit ederek bu yapısal defektleri doğrudan ölçmektedir. Bu durum, VKİ'nin neden olduğu infertilitede temel bir mekanizmadır.

2.3. VÜCUT KİTLE İNDEKSİ (VKİ) VE REPRODÜKTİF DİSFONKSİYON

2.3.1. Vücut Kitle İndeksi (VKİ-BMI) Erkekte Ne Anlama Geliyor

Vücut Kitle İndeksi (VKİ), bir bireyin kilosunun boyunun karesine bölünmesiyle elde edilen (kg/\text{m}^2) yaygın olarak kullanılan bir vücut yağlılık ölçüsüdür. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sınıflandırmasına göre, VKİ 25.0–29.9 \text{kg/m}^2 arası aşırı kilo (overweight) ve 30.0 \text{kg/m}^2 ve üzeri obezite olarak tanımlanır. Erkeklerde yüksek VKİ, sadece kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve kanser gibi ciddi kronik hastalıkların majör risk faktörü

olmakla kalmaz, aynı zamanda üreme kapasitesi ve hatta doğacak yavruların sağlığı açısından da büyüyen bir endişe kaynağıdır.

Obezitenin sistemik etkileri, insülin direnci, kronik düşük dereceli inflamasyon ve metabolik sendrom ile ilişkilidir. Bu sistemik bozukluklar, tüm vücut homeostazisini bozarak Hipotalamus-Hipofiz-Gonad (HPG) ekseninin hassas dengesini tehdit eder ve sperm üretiminin gerçekleştiği testis ortamını olumsuz etkiler (George ve ark., 2023).

2.3.2. VKİ ve Erkek Hormonal İndeksi: Endokrin İlişkiler

Yüksek VKİ ve özellikle artmış viseral adipoz doku (karın yağı), erkek üreme endokrin ekseni üzerinde doğrudan yıkıcı etkilere sahiptir. Bu etkilerin temelinde, yağ dokusunun bir endokrin organ gibi davranarak **Aromataz enzimini** aşırı üretmesi yatar.

Aromataz, testosteronu (T) östradiole (E2) dönüştürür. Obez erkeklerde artan Aromataz aktivitesi, dolaşımdaki total ve serbest testosteron seviyelerinde düşüşe neden olurken, östradiol (E2) seviyelerini yükseltir. Ortaya çıkan bu Düşük Testosteron/Yüksek Östradiol durumu, klinik olarak hipogonadizm (düşük gonad fonksiyonu) ile sonuçlanır. Yüksek E2 seviyeleri, HPG ekseninde negatif geri bildirim mekanizmasını tetikleyerek hipofiz ve hipotalamusu baskılar, böylece LH ve FSH salınımını azaltır.

FSH ve Testosteron, Histon-Protamin geçişi ve sperm kromatin yoğunlaşması için hayati öneme sahiptir. Dolayısıyla, obezite kaynaklı hormonal bozukluk (düşük T/FSH), sperm nükleusunun **yapısal bütünlüğünü** bozan birincil, *endokrin aracılı* defekt mekanizmasıdır. Bu hormonal baskılanmanın gücü, ekzojen (dışarıdan alınan) testosteron tedavisinin doğal bir kontraseptif etkisi olduğu bulgusuyla da doğrulanmaktadır; bu da HPG ekseni üzerindeki baskıyı ve dolayısıyla doğal sperm üretiminin azaldığını gösterir. Bu hormonal disfonksiyon, VKİ'nin sperm kalitesini düşürmesinin sadece oksidatif stresten bağımsız, **yapısal regülasyon bozukluğu** yoluyla da gerçekleştiğini kanıtlamaktadır (Xu ve ark., 2017).

Hormonal Değişiklik	**Mekanizma (Obeziteye Bağlı)**	**Üreme Fonksiyonuna Etkisi**
Düşük Total ve Serbest Testosteron	Yağ dokusundaki artan Aromataz aktivitesi ile T'nin E2'ye dönüşümü	Spermatogenez desteğinin azalması, FSH ve LH salınımında baskılanma
Yüksek Estradiol (E2)	Artan Aromataz aktivitesi	Negatif geri bildirim yoluyla HPG ekseni inhibisyonu
Adipokinlerde Değişim (Leptin, vb.)	Kronik inflamasyon ve adipoz doku disfonksiyonu	Hipotalamus-hipofiz aksında bozulma, sistemik oksidatif stres artışı

Tablo (2.2) :Obezitenin Erkek Üreme Endokrin Ekseni Üzerindeki Etkileri.

2.3.3. VKİ ve Erkek Üreme Fonksiyonu: Semen Kalitesi ve Fertilite Üzerindeki Etki

VKİ'nin artışı, semen parametrelerinde (konsantrasyon, motilite ve morfoloji) bozulmalara yol açarak fertilite başarısını doğrudan düşürür. Obez erkekler, normospermi olanlara kıyasla daha düşük sperm sayısına ve hareketliliğe sahip olma eğilimindedir. Ancak, yüksek VKİ'nin en derin ve uzun vadeli etkisi, spermdeki genetik bütünlüğün bozulmasıdır. Obezite, infertil hastalarda yüksek sperm DNA hasarı riskiyle sonuçlanmaktadır.

Obeziteye bağlı infertilite, sadece döllenme başarısızlığı ile sınırlı değildir. Güncel çalışmalar, obezojenik çevrenin baba adayının sperm kalitesini düşürmesinin ötesinde, **epigenetik mekanizmalar** yoluyla yavrunun sağlığını ve hastalık yatkınlığını etkilediğini göstermektedir (Potabattula ve ark., 2019).

Bu, Paternal Orijinli Sağlık ve Hastalık (POHaD) konsepti olarak bilinir. Obez baba adaylarının spermlerindeki epigenetik değişimler (DNA metilasyonu veya mikroRNA profillerindeki anormallikler) , yavrularda metabolik sendrom, obezite veya diyabet riskini artırabilir. Bu durum, VKİ'ye bağlı sperm hasarının transgenerasyonel etkilerini kapsar ve araştırmanın klinik önemini sadece infertilite tedavisi alanının ötesine taşır (Soubry, 2018).

2.4. MOLEKÜLER ETKİLEŞİM VE SONUÇ

2.4.1. VKİ ve ROS: Obezite Kaynaklı Oksidatif Stres ve DNA Hasarı

Yüksek VKİ'nin sperm DNA hasarını artırmasının ikinci ana yolu, sistemik **Oksidatif Stres (ROS)** artışıdır. Obezite, kronik, düşük dereceli inflamasyon durumu yaratır. Viseral yağ dokusu, inflamatuar sitokinler ve adipokinler (örneğin Leptin) salgılayarak vücutta sürekli bir iltihaplanma döngüsünü tetikler. Bu kronik inflamasyon, Reaktif Oksijen Türleri (ROS) üretimini artırır ve antioksidan savunma kapasitesini aşarak sistemik oksidatif strese yol açar. Artan ROS, sperm hücreleri için son derece zararlıdır. Sperm hücrelerinin plazma zarları yüksek oranda doymamış yağ asitleri içerdiğinden, oksidatif hasara (lipid peroksidasyonu) karşı aşırı derecede hassastır. Daha da önemlisi, ROS doğrudan sperm nükleer DNA'sına saldırarak DNA fragmentasyonuna (sDF) yol açar. Obezitenin infertil hastalarda sperm DNA hasarı riskini önemli ölçüde yükselttiği kanıtlanmıştır.

Bu mekanizma, sDF'nin TUNEL veya COMET gibi doğrudan kırık tespiti yapan testlerle ölçülen kısmını açıklar. Obezite, kronik inflamasyon yoluyla artan ROS üretimi sağlayarak, spermdeki DNA sarmal kırıklarının sayısını doğrudan artırır. Bu durum, obezite kaynaklı sperm hasarının **çevresel saldırı** bileşenini oluşturur (Barbagallo ve ark., 2021).

2.4.2. VKİ ve Sperm Özeti: Kromatin Yapısı Üzerindeki İlişkinin Değerlendirilmesi

VKİ'nin sperm kromatin bütünlüğü üzerindeki patolojik etkisi, iki ana mekanizmanın entegre çalışmasının bir sonucudur. Bu iki yol, sperm nükleusunu hem içten (yapısal kusur) hem de dıştan (oksidatif saldırı) hedef alarak hasarın derecesini ve heterojenliğini artırır.

Nedensel Zincirin Sentezi:

1. **Endokrin Disfonksiyon Yolu (Yapısal Hasar):** Yüksek VKİ \rightarrow Artan Aromataz Aktivitesi \rightarrow Düşük Testosteron / Yüksek Östradiol \rightarrow HPG Ekseni Baskılanması \rightarrow Yetersiz FSH/T desteği \rightarrow **Aksak Histon-Protamin Geçişi ve Kromatin Gevşekliği**. Bu durum, **SCSA** testinde ölçülen yapısal hassasiyeti artırır.
2. **Oksidatif Stres Yolu (Doğrudan Hasar):** Yüksek VKİ \rightarrow Adipoz Doku Kaynaklı Kronik İnflamasyon \rightarrow Yüksek ROS Üretimi \rightarrow **DNA Sarmal Kırıkları ve Peroksidasyon**. Bu durum, **TUNEL** ve **COMET** gibi testlerle ölçülen doğrudan kırık sayısını artırır.

Bu çift mekanizmalı yaklaşım, obezitede ölçülen sDF'nin hem yapısal kusurları (protamin eksikliği kaynaklı) hem de çevresel saldırıyı (ROS kaynaklı) içermesi nedeniyle **heterojen** olduğunu göstermektedir. Yapısal olarak yetersiz korunmuş kromatin, oksidatif hasara karşı da doğal olarak daha savunmasız hale gelmektedir (Barbagallo ve ark., 2021).

Mekanizma Kategorisi	**Ana Etkileşim Noktası**	**Nihai Etki (Sperm Nükleusu)**	**Ölçüm Testi Korelasyonu**
Endokrin/Yapısal Disfonksiyon	HPG Ekseni Baskılanması (Düşük T, Yüksek E2)	Yetersiz Histon-Protamin Geçişi, Kromatinin Gevşek Yapısı	SCSA (Yapısal Bütünlük)
Oksidatif Stres / Çevresel Saldırı	Adipoz Doku Kaynaklı Kronik ROS Artışı	DNA sarmal kırıkları, Lipid peroksidasyonu	TUNEL, COMET (Kırık Tespiti)

Tablo (2.3) : VKİ'nin Sperm Kromatin Hasarına Yol Açan Mekanizmalarının Özet

2.5. Obezitenin Paternal Epigenom Üzerindeki Etkileri: Kapsamlı Mekanizmalar

Paternal epigenetik aktarım, obezitenin sadece fertilitenin azalmasıyla kalmayıp, aynı zamanda sonraki nesillerde metabolik hastalıkların riskini artırması (Transgenerasyonel Etki) açısından en önemli moleküler yolaktır (Houfflyn ve ark., 2017).

2.5.1. DNA Metilasyonundaki Detaylı Değişiklikler ve Enzimatik Kontrol

DNA metilasyonu, genellikle gen susturulmasında rol oynayan ve genomun kritik bölgelerinde (CpG adacıkları) meydana gelen temel bir epigenetik işarettir (Schübeler, 2015). Obezite, metilasyon donörlerinin (örneğin, Folat, B vitaminleri) metabolizmasını bozarak ve ilgili enzimleri düzenleyerek metilasyon paternlerini değiştirir.

• DNMT Enzimlerinin Düzenlenmesi: DNA metilasyonu, DNA Metiltransferaz (DNMT) enzimleri (DNMT1, DNMT3A, DNMT3B) tarafından katalize edilir. Obeziteye bağlı lipotoksisite ve kronik inflamasyon, testis ortamındaki sitokin profillerini değiştirerek bu enzimlerin ekspresyonunda anormal düzenlemelere neden olur (Deshpande ve ark., 2020). Bu kusurlar, spermatogenez sırasında metilasyon imzalarının doğru bir şekilde silinmesini ve yeniden kurulmasını engeller.

• Imprintlenmiş Genlerdeki Kusurlar: Imprintlenmiş genler, ebeveyn kökenli allellerden yalnızca birinin eksprese edildiği genlerdir ve fetal gelişim, plasenta fonksiyonu ve metabolik programlama için kritik öneme sahiptir. Obez erkeklerin spermlerinde, gelişim için kritik olan (örneğin, H19/IGF2 bölgesi) imprintlenmiş genlerin metilasyon imzalarında bozulmalar gözlemlenmiştir (Soubry ve ark., 2016). Bu epigenetik hatanın F1 dölüne aktarılması, büyüme kısıtlılığına, gelişimsel anormalliklere ve metabolik sendrom riskinin artmasına neden olabilir.

• Metabolik Genlerin Metilasyonu: VKİ'deki artış, özellikle iştah ve enerji dengesini düzenleyen genlerin (örn., FTO, POMC, LEP) promotör bölgelerinde anormal metilasyon paternlerine yol açar. Bu hatalı metilasyon imzaları, döllenme sonrası embriyoda korunarak yavrunun obezite ve insülin direncine yatkınlığını programlar (Soubry ve ark., 2016).

2.5.2. Küçük Non-kodlayıcı RNA'ların (sncRNA'lar) ve MikroRNA'ların (miRNA'lar) Kapsamlı Analizi

Sperm, oosite sadece DNA'yı değil, aynı zamanda erken embriyonik gen ekspresyonunu post-transkripsiyonel düzeyde düzenleyen zengin bir sncRNA yükünü (özellikle miRNA'lar) aktarır.

• miRNA Profili Değişiklikleri ve Hedefleri: MikroRNA'lar (miRNA'lar)‹ 20-22 nükleotid uzunluğunda olup‹ mRNA'ların stabilitesini ve translasyonunu etkiler. Obezite, testis ve epididimde‹ özellikle adipokin sinyal yollarıyla (örneğin, Leptin ve Adiponektin) ilişkili olan miRNA'ların (örneğin, miR-34c, miR-29a) ekspresyonunu değiştirir. Bu değişmiş miRNA'lar‹

oosite girer ve erken embriyoda kritik genleri (örneğin, hücre döngüsü, apoptozis ve metabolik genleri) hedefleyerek blastosist oluşumunu ve implantasyonu olumsuz etkiler (Chen ve ark., 2016).

• piRNA ve tRNA Fragmanları: miRNA'ların yanı sıra‹ piwi-etkileşimli RNA'lar (piRNA'lar) ve transfer RNA fragmanları (tRNA-fragmanları) da obezitenin transgenerasyonel etkilerini taşıyan güçlü epigenetik araçlardır. Obez erkeklerde‹ özellikle tRNAGly-GCC ve tRNAGlu-CTC gibi spesifik tRNA fragmanlarının seviyelerinde değişiklikler gözlemlenmiştir. Bu fragmanlar‹ erken embriyoda protein sentezi ve translasyonel programlamayı etkileyerek yavrunun gelişimini ve metabolik fenotipini değiştirebilir (Cecere, 2021). Bu bulgular‹ obezitenin etkisinin sadece genetik değil‹ aynı zamanda RNA aracılı epigenetik bir miras yoluyla da aktarıldığını gösterir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Yüksek Vücut Kitle İndeksinin (VKİ) erkek fertilitesi üzerindeki etkilerini geleneksel semen parametreleri ve sperm kromatin bütünlüğü açısından inceleyen prospektif bir araştırma olarak tasarlanmıştır.

3.1. Çalışma Yeri, Etik Kurul Onayı ve Çalışma Grubu

3.1.1. Etik Kurul Onayı ve Bilgilendirilmiş Onam

Çalışma, 3 aralık 2024 tarihli ve 2024/12-1378 sayılı Etik Kurulu kararı ile onaylanmıştır. Çalışma İstanbul Şişli Memorial Hastanesi IVF Merkezi verilerinin retrospektif incelemesini içermektedir. Bu kapsamda Hastane Tüp bebek merkezinden onay alınmıştır. Tüm prosedürler Helsinki Deklarasyonu'nun güncel ilkelerine uygun olarak yürütülmüştür.

3.1.2. Çalışma Grubu ve Gruplama Kriterleri

Çalışma, Üroloji Kliniği'ne infertilite ön tanısıyla başvuran ve semen analizi sonuçları mevcut olan toplam 60 erkek hasta üzerinde yürütülmüştür. Hastalar, Vücut Kitle İndeksleri (VKİ) baz alınarak, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) standartlarına uygun olarak üç ana gruba ayrılmıştır :

1. Grup 1 (Normal Kilolu Kontrol Grubu): VKİ aralığı 18.5 – 24.9 kg/m^2 (n=20).

2. Grup 2 (Fazla Kilolu Grup): VKİ aralığı 25.0 – 29.9 kg/m^2 (n=20).

3. Grup 3 (Obez Grup): VKİ \ge 30.0 kg/m^2 (n=20).

3.1.3. Dahil Etme ve Hariç Tutma Kriterleri

Kriter Tipi	**Kriter Detayları**
Dahil Etme Kriterleri	18 ile 45 yaş aralığındaki erkek hastalar.
	İnfertilite tanısı almış veya semen analizinde subfertilite gösteren hastalar.
Hariç Tutma Kriterleri	Bilinen kronik hastalık (Diabetes Mellitus gibi) varlığı.

	Geçmişte testis cerrahisi öyküsü, varikosel derecesi 2 ve üzeri olan hastalar.
	Son 6 ay içerisinde düzenli ilaç (steroidler, hormonal tedaviler) kullanımı.
	Aşırı sigara ve alkol tüketimi (literatür standartlarına göre).
	Kriptorşidizm veya bilinen genetik anormallikler.

Tablo (3.1) : Dahil Etme ve Hariç Tutma Kriterleri .

3.2. Antropometrik Ölçümler ve Semen Numunesi Toplanması

3.2.1. Vücut Kitle İndeksi (VKİ) Hesaplaması

Tüm katılımcıların boy (m) ve ağırlık (kg) ölçümleri klinik ortamda standart prosedürlere uygun olarak alınmış ve Vücut Kitle İndeksi (VKİ) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır: VK = Vücut Ağırlığı (kg) / [Boy Uzunluğu (m)]² .

3.2.2. Semen Numunesi Toplanması ve Hazırlanması

Semen numuneleri, Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) güncel yönergelerine (2010 veya en güncel) uygun olarak, 3 ila 5 günlük cinsel perhiz sonrasında mastürbasyon yoluyla steril kaplar içinde toplanmıştır. Numuneler toplandıktan sonra oda sıcaklığında (37°C) sıvılaşması için inkübe edilmiş ve ardından analizlere başlanmıştır.

3.3. Sperm Kalite Parametrelerinin ve Morfolojisinin Değerlendirilmesi

Tüm semen numuneleri, DSÖ kriterlerine uygun olarak Memorial Şişli Hastanesi Tüp bebek merkezi laboratuvarında analiz edilmiştir. Ölçülen temel parametreler şunlardır :

1. Makroskopik Analiz: Volüm (ml), sıvılaşma süresi ve pH.

2. Sperm Konsantrasyonu: Makler Sayım Odası veya hemasitometre kullanılarak sperm konsantrasyonu (milyon/ml) ve Total Konsantrasyon hesaplanmıştır.

3. Motilite (Hareketlilik): İleri hareketli (Motilite-İLERİ), yerinde hareketli (Motilite-YERİNDE) ve hareketsiz (Motilite-HAREKETSİZ) sperm yüzdeleri belirlenmiştir.

4. Morfoloji (Şekil Bilgisi): Kruger'ın kesin kriterlerine göre sperm morfolojisi değerlendirilmiştir. Normal morfoloji yüzdesi hesaplanmış, ayrıca baş, boyun ve kuyruk defektlerinin yüzdeleri ayrı ayrı kaydedilmiştir (MORFOLOJİ-NORMAL, MORFOLOJİ-BAŞ, MORFOLOJİ-BOYUN, MORFOLOJİ-KUYRUK).

3.4. Sperm Kromatin Bütünlüğü ve Yapısal Defekt Testleri

Çalışmanın birincil hedefine ulaşmak için, sperm numunelerinde üç farklı kromatin bütünlüğü ve olgunluğu testi uygulanmıştır.

3.4.1. Anilin Mavisi Boyaması (AB%)

AB testi, sperm nükleer protein yapısındaki olgunlaşmayı ve histon retansiyonunu değerlendirmek için kullanılmıştır. Anilin Mavisi boyası, lizin bakımından zengin olan histonlarla mavi renk oluşturacak şekilde bağlanırken, arjinin ve sistein bakımından zengin olan protaminlerle bağlanmaz.

• İlke: Protamin ikamesi tamamlanmamış (yani fazla histon içeren) olgunlaşmamış spermler mavi renkte boyanır.

• Ölçülen Değer: Boyanan spermlerin yüzdesi (AB%+) hesaplanarak, Protamin Eksikliği ve Histon Retansiyonu düzeyi belirlenmiştir.

3.4.2. Akridin Orange Boyaması (AO%)

AO boyaması, sperm DNA'sının aside bağlı denatürasyona karşı hassasiyetini ölçen bir yöntemdir.

- İlke: Çift sarmallı (sağlam) DNA, Akridin Orange ile yeşil floresan verirken, aside maruz kalma sonucu tek sarmallı hale gelen hasarlı DNA (denatüre olmuş), kırmızı floresan yayar (Evenson, 2022).
- Ölçülen Değer: Kromatinin yapısal bütünlüğü ve DNA hasar düzeyi (AO%+) değerlendirilmiştir. Bu sonuçlar, DNA Fragmentasyon İndeksi (DFI) veya yapısal hassasiyetin bir göstergesi olarak kullanılmıştır (Evenson ve Wixon, 2006).

3.4.3. Kromomisin A3 Boyaması (CMA3%)

CMA3 testi, sperm nükleer kromatin yoğunlaşmasının bir göstergesi olarak Protamin eksikliğini ve DNA'nın yapısal bütünlüğünü dolaylı yoldan ölçer.

• İlke: Kromomisin A3 (CMA3), guaninin zengin olduğu bölgelerdeki DNA'ya bağlanır, ancak bağlanması Histon veya Protamin gibi proteinlerin varlığından etkilenir. Protamin eksikliğinin olduğu, yani kromatinin yeterince yoğunlaşmadığı bölgelerde CMA3 floresansı artar.

• Ölçülen Değer: Yüksek CMA3 floresansı gösteren sperm yüzdesi (CMA3%+) hesaplanarak, Protamin Eksikliği ve dolayısıyla Kromatinin Olgunlaşmamışlık Düzeyi belirlenmiştir.

3.5. İstatistiksel Analiz Yöntemleri

Tüm verilerin istatistiksel analizleri IBM SPSS Statistics 26.0 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

3.5.1. Veri Analizleri

1. Tanımlayıcı İstatistikler: Tüm değişkenlerin (yaş, VKİ, semen parametreleri, kromatin testleri) ortalama, standart sapma ve yüzde frekansları belirlenmiştir.

2. Normallik Testi: Veri setinin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile doğrulanmıştır.

3. Gruplar Arası Karşılaştırma: VKİ grupları (Normal, Fazla Kilolu, Obez) arasındaki nicel değişkenlerin karşılaştırılması için Tek Yönlü Varyans Analizi (One-Way ANOVA) kullanılmıştır. Gruplar arasındaki farkın kaynağını belirlemek için Tukey HSD post-hoc testi uygulanmıştır.

4. Korelasyon Analizi: VKİ ile semen parametreleri ve kromatin bütünlüğü testleri arasındaki ilişkinin yönü ve gücü, Pearson Korelasyon Analizi ile incelenmiştir.

3.5.2. Regresyon Analizleri

VKİ'nin sperm DNA hasarı üzerindeki bağımsız öngörücülüğünü ve yaş gibi diğer değişkenlerden bağımsız etkisini belirlemek amacıyla Çoklu Doğrusal Regresyon Analizi uygulanmıştır.

4. BULGULAR

Bu prospektif çalismaya, belirlenen dâhil etme ve hariç tutma kriterlerine uyan, 18 - 45 yas araliginda, Vücut Kitle indeksi (VKi) baz alinarak üç farkli gruba ayrilmiş toplam 60 erkek hasta dâhil edilmiştir. Gruplar, Normal Kilolu (18.524.9 kg/m*, n=20), Fazla Kilolu (25.029.9 kg/m?, n=20) ve Obez (≥ 30.0 kg/m2, n=20) olarak adlandirilmiştir.

4.1. Çalişma Gruplarinin Demografik ve Antropometrik Kargilaştirmasi

Gruplarin temel demografik ve antropometrik verileri Tablo 1'de sunulmuştur.

Parametre	**Grup 1 (Normal Kilolu) ($\bar{x}$ ± SD)**	**Grup 2 (Fazla Kilolu) ($\bar{x}$ ± SD)**	**Grup 3 (Obez) ($\bar{x}$ ± SD)**	**p Değeri (ANOVA/Kruskal-Wallis)**
Yaş (yıl)	28.5 ± 6.3	31.1 ± 6.8	32.7 ± 6.1	p=0.187
VKİ (kg/m^2)	23.0 ± 1.1	27.1 ± 1.1	32.9 ± 2.2	p<0.001

Tablo (4.1): Çalışma Gruplarının Yaş ve Vücut Kitle İndeksi (VKİ) Değerleri.

VKİ açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur ($p < 0.001$), bu da gruplamanın başarılı olduğunu göstermektedir. Ancak, hastaların Yaş ortalamaları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p > 0.05$), bu da yaşın potansiyel bir karıştırıcı değişken olma ihtimalini azaltmıştır.

4.2. Geleneksel Semen Parametrelerinin Karşılaştırılması

Grupların Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) standartlarına göre değerlendirilen temel semen parametreleri (Volüm, Konsantrasyon, İleri Hareketlilik ve Normal Morfoloji) Tablo 6'de özetlenmiştir.

Parametre	**Grup 1 (Normal Kilolu) ($\bar{x} \pm SD$)**	**Grup 2 (Fazla Kilolu) ($\bar{x} \pm SD$)**	**Grup 3 (Obez) ($\bar{x} \pm SD$)**	**p Değeri**
Volüm (ml)	3.2 ± 1.3	3.7 ± 1.5	3.3 ± 1.4	p=0.485
Konsantrasyon (Milyon/ml)	55.4 ± 38.6	61.3 ± 43.1	46.9 ± 31.9	p=0.360
İleri Hareketlilik (%) (Motilite-İLERİ)	41.5 ± 17.6	42.2 ± 16.7	33.6 ± 17.3	p=0.041*
Normal Morfoloji (%) (Kruger Kriterleri)	3.9 ± 1.9	4.9 ± 2.5	3.0 ± 1.8	p=0.012*

Tablo (4.2): Gruplar Arası Geleneksel Semen Parametreleri Karşılaştırması. (*p < 0.05, istatistiksel olarak anlamlı.)

• İleri Hareketlilik: Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur (p=0.041). Obez Grup (Grup 3), hem Normal Kilolu hem de Fazla Kilolu gruplara kıyasla daha düşük İleri Hareketlilik yüzdesine sahiptir.

• Normal Morfoloji: Normal Morfoloji yüzdesi gruplar arasında anlamlı farklılık göstermiştir (p=0.012). Obez Grup (Grup 3), Kruger'in kesin kriterlerine göre en düşük normal morfoloji değerine sahip grup olarak belirlenmiştir. Post-hoc analizler, Obez Grubun Normal Kilolu ve Fazla Kilolu gruplardan anlamlı derecede düşük morfoloji sergilediğini ortaya koymuştur.

• Volüm ve Konsantrasyon: Semen Volümü ve Sperm Konsantrasyonu değerleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır (p > 0.05).

4.3. Sperm Kromatin Bütünlüğü ve Olgunluğu Test Sonuçları

Çalışmanın birincil hedefine yönelik olarak uygulanan sperm kromatin bütünlüğü ve olgunluğu testlerinin (AB%, AO%, CMA3%) sonuçları Tablo 7'te karşılaştırılmıştır.

Parametre	**Grup 1 (Normal Kilolu) ($\bar{x}$ ± SD)**	**Grup 2 (Fazla Kilolu) ($\bar{x}$ ± SD)**	**Grup 3 (Obez) ($\bar{x}$ ± SD)**	**p Değeri**
Anilin Mavisi Boyaması (%) (AB%+)	44.5 ± 29.3	46.4 ± 24.4	71.9 ± 9.5	p < 0.001**
Akridin Orange Boyaması (%) (AO%+)	45.5 ± 31.8	47.9 ± 26.7	67.9 ± 24.1	p = 0.021*
Kromomisin A3 Boyaması (%) (CMA3%+)	36.6 ± 25.1	47.8 ± 26.0	61.8 ± 24.5	p = 0.003**

Tablo (4.3): Gruplar Arası Sperm Kromatin Bütünlüğü Test Sonuçları Karşılaştırması. (*p < 0.05, **p < 0.01, istatistiksel olarak anlamlı.)

• Anilin Mavisi (AB%+): Histon Retansiyonu ve Protamin Eksikliği düzeyini gösteren AB%+ değerleri, gruplar arasında istatistiksel olarak yüksek derecede anlamlı bir fark göstermiştir (p < 0.001). Obez Grup (Grup 3), en yüksek AB%+ ortalamasına sahip olup, bu durum obez hastalarda en yüksek olgunlaşmamış sperm yüzdesine işaret etmektedir.

• Akridin Orange (AO%+): DNA Hasarı ve Yapısal Hassasiyeti gösteren AO%+ değerlerinde anlamlı fark saptanmıştır (p=0.021). Obez Grup, en yüksek DNA Fragmentasyon İndeksi (DFI) göstergesine sahiptir.

• Kromomisin A3 (CMA3%+): Kromatin Olgunlaşmamışlık Düzeyini ve Protamin Eksikliğini dolaylı yoldan ölçen CMA3%+ değerlerinde de anlamlı bir fark mevcuttur (p=0.003). Obez Grup, bu testte de en yüksek orana sahip olup, yetersiz nükleer kromatin yoğunlaşması ile ilişkilidir.

Tüm kromatin bütünlüğü testlerinde, Obez Grup diğer iki gruba göre anlamlı ölçüde daha yüksek oranda sperm hasarı ve/veya olgunlaşmamışlık sergilemiştir. Fazla Kilolu (Grup 2) ve Normal Kilolu (Grup 1) gruplar arasındaki farklar genellikle anlamlılık sınırına ulaşmamıştır.

4.4. Korelasyon Analizleri

VKİ ile semen parametreleri ve kromatin bütünlüğü testleri arasındaki ilişkinin yönü ve gücü, Pearson/Spearman Korelasyon Analizi ile değerlendirilmiştir.

Korelasyon Çifti	**Korelasyon Katsayısı (r)**	**p Değeri**	**Açıklama**
VKİ – AB%+	+0.612	p < 0.001**	Kuvvetli, pozitif korelasyon
VKİ – CMA3%+	+0.485	p = 0.004*	Orta düzeyde, pozitif korelasyon
VKİ – AO%+	+0.410	p = 0.015*	Orta düzeyde, pozitif korelasyon
VKİ – Motilite-İleri (%)	-0.352	p = 0.028*	Zayıf–orta düzeyde, negatif korelasyon
VKİ – Morfoloji-Normal (%)	-0.380	p = 0.021*	Zayıf–orta düzeyde, negatif korelasyon

Tablo (4.4): VK ile semen parametreleri arasındaki korelasyon.

Bu sonuçlar, VKİ'deki artışla birlikte sperm nükleer protein olgunlaşmasının bozulması (histon retansiyonu/protamin eksikliği) ve DNA hasarı yüzdesinin de doğru orantılı olarak arttığını göstermektedir.

• VKİ ile Geleneksel Parametreler:

• VKİ ile İleri Hareketlilik (%) arasında zayıf-orta düzeyde, negatif ve anlamlı bir korelasyon saptanmıştır (r=-0.352, p=0.028).

• VKİ ile Normal Morfoloji (%) arasında zayıf-orta düzeyde, negatif ve anlamlı bir korelasyon saptanmıştır (r=-0.380, p=0.021).

4.5. Regresyon Analizleri

Çoklu Regresyon Analizleri (Lojistik veya Lineer) ile, VKİ'nin (bağımsız değişken) sperm kromatin bütünlüğü üzerindeki etkisinin, yaş gibi diğer potansiyel değişkenlerden bağımsız bir öngörücü olup olmadığı araştırılmıştır.

Bağımlı Değişken	**Bağımsız Değişken**	**Standartlaştırılmış Beta (β)**	**p Değeri**
AB%+	VKİ	0.871	$p < 0.001$**
CMA3%+	VKİ	0.615	$p = 0.002$**

Tablo (4.5): VKİ ile AB%+ ve CMA3%+ değerleri arasındaki ilişkinin regresyon analizi sonuçları.

Bu bulgular, VKİ'nin, sperm DNA hasarı ve kromatin olgunlaşmamışlığı üzerindeki etkisini, yaş faktöründen bağımsız olarak koruduğunu desteklemektedir.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu prospektif çalışma, artan Vücut Kitle İndeksinin (VKİ) geleneksel semen parametreleri ve daha da önemlisi sperm kromatin bütünlüğü üzerindeki olumsuz etkilerini araştırmayı amaçlamıştır. Elde edilen bulgular, obez erkeklerde hem sperm fonksiyonunda hem de genetik materyalin yapısal bütünlüğünde ciddi bozulmalar olduğunu güçlü bir şekilde ortaya koymaktadır.

Geleneksel Semen Parametrelerinin değerlendirilmesi çalışma sonuçlarına göre şöyle yapılmıştır;

Obez Grup'ta İleri Hareketlilik (Motilite-İLERİ) ve Normal Morfoloji yüzdelerinin, Normal Kilolu ve Fazla Kilolu gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğunu göstermiştir (Tablo 6, $p < 0.05$). Bu bulgu, obezitenin sperm üretim ve fonksiyon mekanizmalarını bozduğu yönündeki yaygın literatür bilgisiyle (Mazzilli et al., 2023) , (Aitken & De Iuliis, 2010) uyumludur.

Semen Volümü ve Konsantrasyonu açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmaması, obeziteye bağlı bozulmanın primer olarak sperm sayısından ziyade, sperm kalitesini (hareketlilik ve morfoloji) etkilediğini düşündürmektedir. Morfolojideki düşüş, özellikle Kruger'in kesin kriterlerine göre belirlenen normal sperm oranının azalması, spermiyogenez sürecindeki defektlere işaret edebilir. Hareketliliğin azalması ise artan Oksidatif Stres (OS) seviyeleri ve epididimal fonksiyon bozuklukları ile ilişkilendirilmektedir (Yassin, Mwafy & Laqqan, 2025) .

Sperm Kromatin Bütünlüğü ve Olgunlaşma Defektleri ile ilgili sonuçlarımız ise aşağıdaki gibidir;

Çalışmamızın en önemli bulgusu, VKİ'nin artmasıyla birlikte sperm kromatin bütünlüğünün ciddi şekilde bozulmasıdır (Tablo 7). Obez Grup, incelenen tüm kromatin hasarı göstergelerinde (AB%+, AO%+, CMA3%+) en yüksek değerlere sahiptir.

Protamin Eksikliği ve Histon Retansiyonu (AB%+, CMA3%+); Anilin Mavisi (AB%+) ve Kromomisin A3 (CMA3%+) test sonuçları, obez hastalarda yüksek oranda olgunlaşmamış sperm ve protamin eksikliği (Histon Retansiyonu) olduğunu güçlü bir şekilde kanıtlamaktadır. Spermiyogenezin son aşamasında, histon proteinlerinin yerini protaminlerin almasıyla

DNA'nın yoğunlaşması sağlanır. Bu süreçteki bir bozukluk (protamin eksikliği), sperm nükleer kromatininin gevşek kalmasına, dolayısıyla genetik materyalin hasara karşı daha savunmasız hale gelmesine neden olur. VKİ ile AB%+ ve CMA3%+ arasında saptanan kuvvetli pozitif korelasyon (Tablo 8, r \ge 0.485, p < 0.01), VKİ'nin nükleer olgunlaşma defektlerinin temel bir etiyolojik faktörü olduğunu desteklemektedir (Tarozzi et al., 2021).

DNA Hasarı (AO%+); Akridin Orange (AO%+) ile saptanan DNA hasarı artışı (p=0.021), obezitede artan lipit peroksidasyonu ve sistemik inflamasyon ile yakından ilişkilidir (Barbouni et al., 2025).

Obezitenin neden olduğu kronik düşük dereceli inflamasyon, testis dokusunda ve sperm hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini artırır. Yüksek ROS seviyeleri, sperm DNA'sının çift sarmal yapısına doğrudan zarar vererek DNA Fragmentasyon İndeksi (DFI) göstergelerini yükseltmektedir. Bu bulgu, obezitenin sadece sperm fonksiyonunu değil, aynı zamanda taşıdığı genetik bilgiyi de tehlikeye attığını ortaya koymaktadır.

VKİ'nin Bağımsız Öngörücü Rolü çoklu regresyon analizleri ile değerlendirilmiştir (Tablo 9), VKİ'nin AB%+ ve CMA3%+ üzerindeki etkisinin yaş gibi diğer potansiyel karıştırıcı değişkenlerden bağımsız ve anlamlı bir öngörücü olduğunu göstermiştir (p < 0.002). Bu sonuç, VKİ'nin, sperm kromatin bozukluklarına neden olan patofizyolojik mekanizmalarda direkt bir rol oynadığı hipotezini güçlendirmektedir. Bu mekanizmalar arasında şunlar yer almaktadır:

1. Hormonal Dengesizlikler: Artan yağ dokusu, aromataz enzimi aktivitesi ile testosteronun östrojene dönüşmesine neden olarak hipotalamus-hipofiz-testis aksını (HPT) bozar ve spermatogenezi olumsuz etkiler.

2. Skrotal Hipertermi: Artan skrotal yağ birikimi, testis sıcaklığını yükselterek spermatogenez ve protamin değişimi süreçlerini bozar (Jing et al., 2023)

3. Leptin/Adipokin Düzensizliği: Obezite ile ilişkili adipokinler (özellikle leptin), testis fonksiyonunu ve sperm kalitesini doğrudan etkileyerek kromatinin olgunlaşmasını sekteye uğratabilir.

VKİ'nin Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT) Sonuçları Üzerindeki Detaylı Klinik Etkisi ise;

Çalışmamızın bulguları (özellikle artan Kromatin Olgunlaşmamışlığı ve DNA Hasarı oranları), obez erkeklerin YÜT altındaki tedavi yönetimini yeniden değerlendirmeyi gerektirmektedir.

Sperm DNA fragmantasyonu (sDF)‹ özellikle IVF/ICSI sonuçları için önemli bir prognostik faktördür.

Klinik Gebelik Oranları ve Canlı Doğum Üzerindeki Etkisi; Obez erkeklerin YÜT döngülerinde elde edilen genel klinik gebelik ve canlı doğum oranları‹ normal kilolu erkeklere kıyasla önemli ölçüde düşüktür (Mushtaq ve ark., 2018). Bu durum‹ büyük ölçüde yüksek sDF'nin oositin onarım mekanizmalarını aşmasından ve embriyoda genetik stabiliteyi bozmasından kaynaklanır. VKİ'deki her 1 birimlik artışın‹ gebelik şansını yaklaşık %2-3 oranında düşürdüğüne dair kanıtlar bulunmaktadır (Sermondade ve ark., 2013). Bu olumsuz etki‹ özellikle sperm DNA bütünlüğünün onarımına en çok ihtiyaç duyulan vakalarda belirgindir.

Döllenme Başarısızlığı ve Erken Embriyonik Gelişim Kusurları'na gelince, Sperm DNA hasarının etkisi‹ döllenme anından itibaren başlar. Yüksek DNA fragmantasyon indeksine (DFI) sahip spermlerin kullanımı‹ embriyolarda erken yarılma kusurlarına (cleavage failure) ve artan fragmentasyon oranlarına yol açar (Ye ve ark., 2025). Bu kusurlar‹ embriyonun 4-8 hücre aşamasına kadar ilerlemesini engelleyerek paternal genomun aktivasyonunun gecikmesiyle doğrudan ilişkilidir (Tarozzi ve ark., 2021). Bu durum‹ YÜT laboratuvarlarında embriyo kültüründe karşılaşılan başarısızlıkların önemli bir nedenidir.

Oosit Onarım Kapasitesinin Sınırları çeşitli araştırıcılarca incelenmiştir. Oosit‹ hasarlı sperm DNA'sını onarmak için kapsamlı bir mekanizmaya sahiptir. Ancak‹ obezite kaynaklı sDF‹ genellikle oksidatif stres ve protamin eksikliği kombinasyonundan oluşur. Bu hasar tipi‹ oositin tek sarmal kırıklarını onarma yeteneğini aşar. Çalışmalar‹ sDF oranının kritik eşiği aştığı durumlarda oositin onarım mekanizmasının yetersiz kaldığını ve bunun klinik başarısızlıkla sonuçlandığını göstermektedir (Marinaro ve Schlegel, 2023). Bu eşiğin VKİ'nin artmasıyla daha erken seviyelerde aşılabileceği varsayılmaktadır.

Embryo Gelişimi ve Blastosist Oluşumu Üzerindeki Etki, paternal DNA bütünlüğündeki kusurlar‹ özellikle embriyo genomunun aktive olduğu 4 ila 8 hücre aşaması civarında belirginleşir. Yüksek CMA3%+ veya AB%+ değerleri‹ iç hücre kitlesi (ICM) ve trofektoderm (TE) kalitesi düşük olan blastosistlere yol açar (Mohammad ve ark., 2005). Bu düşük kalite‹ implantasyon başarısızlığı riskini önemli ölçüde artırır.

Tekrarlayan Gebelik Kayıpları (TGK) ve Paternal VKİ İlişkisi ile ilgili olarak, tekrarlayan gebelik kayıplarının (TGK) etiyolojisinde paternal faktörlerin rolü giderek daha fazla kabul

görmektedir (Kaltsas ve ark., 2024). Paternal obezite ve yüksek sDF‹ TGK'nın önemli bir nedeni olabilir.

• Anöploidi ve Mayoz Hataları: Obeziteye bağlı sistemik stres ve protaminleşme kusurları‹ spermatogenez sırasında mayoz bölünme hatalarına ve dolayısıyla spermde artan kromozomal anöploidi riskine yol açabilir (Mitrakas ve ark., 2025). Anöploidi içeren embriyolar‹ genellikle erken dönemde düşükle sonuçlanır (Findikli ve ark., 2006).

• Klinik Yönetim: TGK öyküsü olan obez erkeklerde‹ sDF testleri (SCSA, COMET vb.) standart tanı protokolünün bir parçası olmalıdır. Saptanan yüksek hasar durumunda‹ kilo kaybı ve antioksidan tedavilerle sDF seviyelerinin düşürülmesi‹ sonraki gebeliklerde başarı şansını artırabilir (Farkouh ve ark., 2023).

Obeziteye Bağlı İnfertilitenin Gelişmiş Tedavi Stratejileri ele alındığında, obeziteye bağlı infertilitenin tedavisi‹ sadece üreme fonksiyonunu değil‹ aynı zamanda hastanın genel metabolik sağlığını da iyileştirmeyi amaçlayan bütüncül bir yaklaşım gerektirir.

Bu kapsamda Farmakolojik Tedaviler ve Hormonal Modülasyon aşağıdaki seçenekler denenerek hasta için en uygunu tercih edilebilir.

• Aromataz İnhibitörleri: Obezite‹ yağ dokusunun Aromataz enzimi aktivitesini artırması nedeniyle testosteronun östrojene (Östradiol) dönüşümünü hızlandırır. Yüksek östrojen seviyeleri‹ HHG eksenini baskılayarak testosteron üretimini düşürür (hipogonadizm). Aromataz inhibitörleri (örneğin‹ Anastrozol) kullanımı‹ Testosteron/Östradiol oranını normalleştirerek gonadotropin ve testosteron seviyelerini optimize edebilir (Raman ve Schlegel, 2002). Bu hormonal restorasyon‹ spermatogenez kalitesini ve dolayısıyla kromatin olgunluğunu iyileştirir.

• İnsülin Sensitizörleri (Metformin): İnsülin direnci ve hiperinsülinemi‹ obez erkeklerde üreme sağlığını olumsuz etkiler. Metformin‹ insülin duyarlılığını artırarak sistemik inflamasyonu ve oksidatif stresi dolaylı olarak azaltır. Bazı çalışmalar‹ Metformin'in metabolik iyileşmenin yanı sıra‹ sperm hareketliliğini ve DNA bütünlüğünü de olumlu etkilediğini göstermektedir (Li ve ark., 2025).

Ayrıca İleri Sperm Seçim Yöntemleri (DFI Yüksek Olgular İçin); Çalışmamızdaki gibi yapısal kromatin defekti ve yüksek sDF oranlarına sahip obez hastalarda‹ en iyi DNA bütünlüğüne sahip spermin seçimi‹ YÜT başarısını artırmak için kritik öneme sahiptir.

• Hiyalüronan Bağlama Yöntemi (PICSI - Physiological ICSI): Olgun‹ fizyolojik olarak sağlıklı spermler‹ oositin etrafındaki doğal bir polimer olan hiyalüronik aside bağlanma yeteneğine sahiptir. Protaminleşmesi eksik veya DNA'sı hasarlı spermlerin yüzey reseptörleri bozuk olduğundan bağlanamazlar (Nasr-Esfahani ve ark., 2008). PICSI‹ bu bağlanma yeteneğini kullanarak en yüksek DNA bütünlüğüne sahip spermleri seçmeye olanak tanır.

• Manyetik Aktif Hücre Sıralaması (MACS - Magnetic Activated Cell Sorting): MACS‹ apoptozun erken aşamalarındaki spermleri hedef alır. Bu aşamada‹ hücre zarı dış yüzeyinde Fosfatidilserin molekülü ortaya çıkar. MACS‹ bu moleküle bağlanan manyetik mikro-küreler kullanarak apoptotik (ve genellikle DNA hasarlı) spermleri manyetik alandan geçirerek ayırır‹ geriye sadece en sağlıklı spermleri bırakır (Zhang ve ark., 2024).

• Yüksek Büyütmeli Morfolojik Seçim (IMSI - Intracytoplasmic Morphologically Selected Sperm Injection): IMSI‹ 6000x'in üzerindeki büyütme ile sperm başındaki küçük vakuolleri (DNA hasarı ile ilişkili) gözlemlemeyi sağlar. Obez erkeklerin spermlerinde artan vakuolleşme oranları olduğu varsayılırsa‹ IMSI‹ kromatin bütünlüğü en iyi olan spermin seçimi için değerli bir araçtır (Mangoli ve Khalili, 2020).

Çalışmanın Katkıları ve Sınırlılıkları aşağıda belirtildiği gibidir;

Bu çalışma, VKİ ve sperm DNA bütünlüğü arasındaki ilişkiyi, hem geleneksel parametreler hem de üç farklı moleküler test (AB, AO, CMA3) kullanarak kapsamlı bir şekilde inceleyen nadir çalışmalardan biridir. Özellikle, VKİ'nin sperm nükleer olgunlaşma defektlerinin bağımsız bir öngörücüsü olarak belirlenmesi önemli bir klinik katkıdır.

Bununla birlikte, çalışmanın temel sınırlılıkları arasında daha büyük bir hasta grubunun olmaması ve obeziteye bağlı hormonal veya metabolik belirteçlerin (örn: leptin, insülin direnci, FSH/LH/Testosteron seviyeleri) doğrudan ölçülememesi yer almaktadır.

Gelecekteki Araştırma Yönelimleri ve Klinik Yönetim Stratejileri şöyle özetlenebilir;

Çalışmamız‹ VKİ ve sperm kromatin bütünlüğü arasındaki kuvvetli ilişkiyi netleştirmiştir. Gelecekteki araştırmalar‹ bu bulguların klinik pratiğe entegrasyonuna odaklanmalıdır:

1. Epididimal Çevrenin Rolü: Obezitenin‹ sperm olgunlaşmasının gerçekleştiği epididimal çevredeki moleküler ve biyokimyasal değişiklikleri nasıl etkilediğinin daha detaylı incelenmesi gerekmektedir. DNA hasarının kaynağının (testiküler vs. post-testiküler) belirlenmesi‹ hedeflenmiş tedavi stratejilerinin (örneğin‹ testiküler sperm kullanımı) belirlenmesi için önemlidir.

2. Epigenetik Tedavi İzlemi (Epigenetic Monitoring): Kilo kaybı veya bariatrik cerrahi gibi müdahalelerin‹ sadece sDF yüzdesi üzerindeki değil‹ aynı zamanda sperm miRNA ve metilasyon profilleri üzerindeki uzun vadeli etkilerinin prospektif çalışmalarla değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu‹ transgenerasyonel riskin gerçekten tersine çevrilip çevrilemediğini anlamak için hayati öneme sahiptir (Donkin ve ark., 2016).

3. Bireyselleştirilmiş Antioksidan Protokolleri: Antioksidan tedavilerin etkinliği kişiden kişiye farklılık gösterir. Gelecekte‹ hastanın spesifik sDF alt tipine (örneğin‹ sadece oksidatif hasar veya protamin eksikliği) göre kişiselleştirilmiş nutrigenomik tedavi protokollerinin geliştirilmesi gerekmektedir (Bouhadana ve ark., 2025). Bu‹ sadece yüksek sDF'yi değil‹ aynı zamanda Kromatin Olgunlaşmamışlığını (AB/CMA3) da hedef alan kombine terapilere odaklanmalıdır.

Bu çalışma, artan Vücut Kitle İndeksinin (VKİ) erkek üreme sağlığı üzerindeki patofizyolojik etkilerini moleküler düzeyde analiz ederek, obezitenin sperm kalitesi üzerindeki olumsuz etkilerinin geleneksel parametrelerin çok ötesine geçtiğini ortaya koymuştur. Elde edilen bulgular, VKİ ile sperm konsantrasyonu ve hacmi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamasına rağmen, yüksek VKİ grubunda sperm motilitesi ve morfolojisinin anlamlı derecede azaldığını göstererek obezitenin spermin işlevsel kapasitesini hedef aldığını kanıtlamaktadır. Özellikle Anilin Mavisi (AB) ve Kromomisin A3 (CMA3) testlerinden elde edilen ve istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı olan sonuçlar ($p < 0.01$), obezite ile birlikte histon-protamin değişim sürecinin sekteye uğradığını ve bu durumun ciddi nükleer olgunlaşma defektlerine yol açtığını doğrulamaktadır. Akridin Orange (AO) testi ile saptanan DNA fragmentasyonundaki artış ise obezite kaynaklı oksidatif stresin genetik materyal üzerindeki yıkıcı etkisini yansıtırken, yapılan korelasyon analizleri VKİ'nin sperm kromatin bütünlüğü için en güçlü bağımsız risk faktörü olduğunu ($r=0.612$, $p<0.001$) tartışmasız bir şekilde ortaya koymuştur. Klinik açıdan bu sonuçlar, obez infertil erkeklerin yönetiminde sadece geleneksel semen analizinin yeterli olmadığını, SCSA gibi ileri moleküler analizlerin rutin değerlendirmeye dahil edilmesinin elzem olduğunu vurgulamaktadır. Gelecekteki tedavi

stratejileri, yardımcı üreme tekniklerinden önce kilo kaybı ve hormonal dengenin sağlanması yoluyla sperm kromatin kalitesinin restore edilmesine odaklanmalı ve paternal obezitenin nesiller arası sağlık üzerindeki epigenetik riskleri konusunda toplumsal farkındalık artırılmalıdır.

6. KAYNAKLAR

Aitken, R. J., & De Iuliis, G. N. (2009). On the possible origins of DNA damage in human spermatozoa. MHR: *Basic Science of Reproductive Medicine*, 16(1), 3–13.

Barbagallo, F., Condorelli, R. A., Mongioì, L. M., Cannarella, R., Cimino, L., Magagnini, M. C., … & Calogero, A. E. (2021). Molecular mechanisms underlying the relationship between obesity and male infertility. *Metabolites*, 11(12), 840.

Barbouni, K., Jotautis, V., Metallinou, D., Diamanti, A., Orovou, E., Liepinaitienė, A., … & Sarantaki, A. (2025). When weight matters: How obesity impacts reproductive health and pregnancy—A systematic review. *Current Obesity Reports*, 14(1), 1–24.

Bendayan, M., Caceres, L., Saïs, E., Swierkowski-Blanchard, N., Alter, L., Bonnet-Garnier, A., & Boitrelle, F. (2022). Human sperm morphology as a marker of its nuclear quality and epigenetic pattern. *Cells*, 11(11), 1788.

Bouhadana, D., Godin Pagé, M. H., Montjean, D., Bélanger, M. C., Benkhalifa, M., Miron, P., & Petrella, F. (2025). The role of antioxidants in male fertility: A comprehensive review of mechanisms and clinical applications. *Antioxidants*, 14(8), 1013.

Calamai, C., Tanturli, M., Conti, D., Leter, G., Vignozzi, L., Giovannelli, L., & Muratori, M. (2025). Induction of sperm DNA fragmentation by cryopreservation and in vitro incubation. *International Journal of Molecular Sciences*, 26(18), 8978.

Cecere, G. (2021). Small RNAs in epigenetic inheritance: From mechanisms to trait transmission. *FEBS Letters*, 595(24), 2953–2977.

Chen, Q., Yan, W., & Duan, E. (2016). Epigenetic inheritance of acquired traits through sperm RNAs. *Nature Reviews Genetics*, 17(12), 733–743.

Deshpande, S. S., Nemani, H., Arumugam, G., Ravichandran, A., & Balasinor, N. H. (2020). High-fat diet-induced obesity alters DNA methylation in germline. *Clinical Epigenetics*, 12(1), 179.

Donkin, I., Versteyhe, S., Ingerslev, L. R., Qian, K., Mechta, M., Nordkap, L., … & Barrès, R. (2016). Obesity and bariatric surgery drive epigenetic variation of spermatozoa. *Cell Metabolism*, 23(2), 369–378.

Dutta, S., Henkel, R., & Agarwal, A. (2021). Comparative analysis of tests to assess sperm DNA fragmentation. *Andrologia*, 53(2), e13718.

Esteves, S. C., & Humaidan, P. (2025). The role of luteinizing hormone activity in spermatogenesis. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 23(Suppl 1), 6.

Evenson, D. P. (2022). Sperm chromatin structure assay (SCSA®). *Current Protocols*, 2(8), e508.

Evenson, D. P., & Wixon, R. (2006). Clinical aspects of sperm DNA fragmentation detection. *Theriogenology*, 65(5), 979–991.

Farkouh, A. A., Agarwal, A., Hamoda, T. A. A. A. M., Kavoussi, P., Saleh, R., Zini, A., … & Banihani, S. A. (2023). Management of elevated sperm DNA fragmentation. *World Journal of Men's Health*, 41(4), 809.

Findikli, N., Kahraman, S., Saglam, Y., Beyazyurek, C., Sertyel, S., Karlikaya, G., … & Aygun, B. (2006). Embryo aneuploidy screening. *Reproductive BioMedicine Online*, 13(1), 38–46.

George, B. T., Jhancy, M., Dube, R., Kar, S. S., & Annamma, L. M. (2023). Molecular basis of male infertility in obesity. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(1), 179.

Gill-Sharma, M. K., Choudhuri, J., Ansari, M. A., & D'Souza, S. (2012). Molecular mechanism of sperm chromatin remodelling. *Clinical Epigenetics*, 4(1), 23.

Govin, J., Caron, C., Lestrat, C., Rousseaux, S., & Khochbin, S. (2004). Role of histones in spermiogenesis. *European Journal of Biochemistry*, 271(17), 3459–3469.

Jing, J., Peng, Y., Fan, W., Han, S., Peng, Q., Xue, C., … & Ding, Z. (2023). Obesity-induced oxidative stress affects sperm quality. *FEBS Open Bio*, 13(4), 763–778.

Jodar, M., Selvaraju, S., Sendler, E., Diamond, M. P., Krawetz, S. A., & Reproductive Medicine Network. (2013). Spermatozoal RNAs. *Human Reproduction Update*, 19(6), 604–624.

Kaltsas, A., Zikopoulos, A., Kojovic, V., Dimitriadis, F., Sofikitis, N., Chrisofos, M., & Zachariou, A. (2024). Paternal contributions to recurrent pregnancy loss. *Medicina*, 60(12), 1920.

Li, Y., Zhou, T., Liu, Z., Zhu, X., Wu, Q., Meng, C., & Deng, Q. (2025). Antidiabetic drugs and male infertility. *Diabetology & Metabolic Syndrome*, 17(1), 1–11.

Lolis, D., Georgiou, I., Syrrou, M., Zikopoulos, K., Konstantelli, M., & Messinis, I. (1996). Chromomycin A3-staining. *International Journal of Andrology*, 19(1), 23–27.

Mangoli, E., & Khalili, M. A. (2020). IMSI in assisted reproduction. *Journal of Reproduction & Infertility*, 21(1), 3.

Marinaro, J. A., & Schlegel, P. N. (2023). Sperm DNA damage and fertility treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(2), 1446.

Mazzilli, R., Rucci, C., Vaiarelli, A., Cimadomo, D., Ubaldi, F. M., Foresta, C., & Ferlin, A. (2023). Male factor infertility and ART. *Journal of Endocrinological Investigation*, 46(6), 1079–1085.

Montjean, D., Beaumont, M., Natiq, A., Louanjli, N., Hazout, A., Miron, P., … & Benkhalifa, M. (2024). Genome and epigenome disorders. *Genes*, 15(3), 377.

Mu, Y., Yin, T. L., Zhang, Y., Yang, J., & Wu, Y. T. (2022). Diet-induced obesity and spermatogenesis. *Inflammation and Regeneration*, 42(1), 24.

Nasr-Esfahani, M. H., Razavi, S. H., Vahdati, A. A., Fathi, F., & Tavalaee, M. (2008). Hyaluronic acid sperm selection. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 25(5), 197–203.

Peel, A., Saini, A., Deluao, J. C., & McPherson, N. O. (2023). Sperm DNA damage and obesity. *Andrology*, 11(8), 1635–1652.

Potabattula, R., Dittrich, M., Schorsch, M., Hahn, T., Haaf, T., & El Hajj, N. (2019). Male obesity and DNA methylation. *PLOS ONE*, 14(6), e0218615.

Pourmasumi, S., Nazari, A., Fagheirelahee, N., & Sabeti, P. (2019). Cytochemical tests for sperm DNA damage. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 8(5), 1533–1539.

Rawindraraj, A. D., Basit, H., & Jialal, I. (2018). *Physiology, anterior pituitary*.

Schübeler, D. (2015). Function of DNA methylation. *Nature*, 517(7534), 321–326.

Selvam, M. K. P., & Agarwal, A. (2018). Sperm DNA fragmentation review. *Arab Journal of Urology*, 16(1), 65–76.

Simon, L., Emery, B. R., & Carrell, D. T. (2017). Sperm DNA alterations in ART. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 44, 38–56.

Singh, B., Singh, R., Chaturvedi, M. M., & Purohit, J. S. (2025). Sperm histone-mediated epigenetic inheritance. *Biology of Reproduction*, 113(5), 1061–1082.

Soubry, A. (2018). POHaD and future fathers. *Environmental Epigenetics*, 4(2), dvy007.

Soubry, A., Guo, L., Huang, Z., Hoyo, C., Romanus, S., Price, T., & Murphy, S. K. (2016). Obesity-related DNA methylation. *Clinical Epigenetics*, 8(1), 51.

Suleiman, J. B., Nna, V. U., Zakaria, Z., Othman, Z. A., Bakar, A. B. A., & Mohamed, M. (2020). Obesity-induced testicular oxidative stress. *Reproductive Toxicology*, 95, 113–122.

Tarozzi, N., Nadalini, M., Coticchio, G., Zaca, C., Lagalla, C., & Borini, A. (2021). The paternal toolbox. *Molecular Human Reproduction*, 27(7), gaab042.

Teves, M. E., & Roldan, E. R. (2021). Sperm formation and selection. *Physiological Reviews*.

Xu, X., Sun, M., Ye, J., Luo, D., Su, X., Zheng, D., … & Guan, Q. (2017). Aromatase and obese males. *Hormone and Metabolic Research*, 49(08), 572–579.

Yassin, M. M., Mwafy, S. N., & Laqqan, M. M. (2025). Obesity and sperm DNA fragmentation. *Middle East Fertility Society Journal*, 30(1), 4.

Ye, D., Ye, Z., & Zhang, H. (2025). Sperm DNA fragmentation and embryo outcomes. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 1–6.

Zhang, M. H., Shi, Z. D., Yu, J. C., Zhang, Y. P., Wang, L. G., & Qiu, Y. (2015). Scrotal heat stress and sperm damage. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 32(5), 747–755.

Zhang, X., Chao, S., Ye, N., & Ouyang, D. (2024). Emerging trends in sperm selection. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 22(1), 67.