

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ASTENOZOOSPERMİLİ VE NORMOSPERMİLİ
HASTALARIN *İN VİTRO* SPERM
PARAMETRELERİ ÜZERİNE PENTOKSİFİLİNİN
DOZA VE UYGULAMA SÜRESİNE BAĞLI
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elif SÖZEN

Enstitü Anabilim Dalı: Histoloji ve Embriyoloji

Danışman: Prof. Dr. Elvan ÖZBEK

HAZİRAN - 2017

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

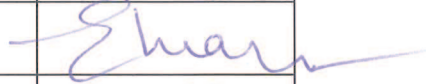

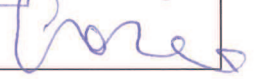
**ASTENOZOOSPERMİLİ VE NORMOSPERMİLİ
HASTALARIN *İN VİTRO* SPERM
PARAMETRELERİ ÜZERİNE PENTOKSİFİLİNİN
DOZA VE UYGULAMA SÜRESİNE BAĞLI
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Elif SÖZEN

Enstitü Anabilim Dalı: Histoloji ve Embriyoloji

Bu tez .././2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir."

JÜRİ ÜYESİ	KANAATI	İMZA
Prof. Dr. Elvan Özbek	Başarılı	
Prof. Dr. Xurram ÇENKİZ	Başarılı	
Prof. Dr. Süheyla Çenes	Başarılı	

BEYAN

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Rektörlüğü Tıp Fakültesi Dekanlığı Etik Kurulu'ndan 02/12/2014 tarihinde onay olarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

08/06/2017

Elif SÖZEN



TEŞEKKÜR

Tez konumu belirlemede ve devamını sağlamamda bilgi ve fikirleriyle her daim yanımda olan ve desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Elvan ŐAHİN ÖZBEK'e, gerek yüksek lisans eğitimim gerekse tez çalışmam boyunca sahip olduğu bilgi ve deneyimi ile desteğini esirgemeyip yanımda olan hocam Prof. Dr. Nureddin CENGİZ'e, SEAH Üroloji kliniği öğretim üyesi Doç. Dr. Ahmet GÖKÇE ve tez çalışmam sırasında SEAH Androloji laboratuvarından yararlanmama izin veren ve yardımcı olan Androloji Laboratuvarı sorumlusu Uzm. Dr. Yasemin NASIR'a ve laboratuvar çalıőanlarına en içten teőekkürlerimi sunarım.

Biyoistatistik ABD. Başkanı Doç. Dr. Ünal ERKORKMAZ'a istatistik konusunda anlattığı biyoistatistik dersleri ve tezimin istatistiksel verilerin elde edilmesinde verdiği emekler için teşekkür ederim. Ayrıca anabilim dalımızdaki yüksek lisans dönem arkadaşlarıma eğitim ve tez çalışmam süresince fikir paylaőımları için teşekkür ederim.

Her koőulda yanımda olan, desteklerini benden hiçbir zaman esirgemeyen sevgili annem Zekiye SÖZEN, babam Mustafa SÖZEN ve kardeőim Zeynep SÖZEN'e gönülden minnetlerimi sunmayı borç bilirim.

Elif SÖZEN

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
KISALTMA VE SİMGELER.....	v
TABLolar	vii
RESİMLER.....	viii
ÖZET.....	x
SUMMARY.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. ERKEK GENİTAL SİSTEMİ	3
2.1.1. Hipotalamo - Hipofizo - Gonadal Aks.....	3
2.1.2. Testis Histolojisi	5
2.1.2.1. Spermatogenik hücreler	6
2.1.2.2. Sertoli hücreleri.....	8
2.1.2.3. Spermatogenez	8
2.1.2.4. Spermiyogenez.....	10
2.1.2.5. Olgun spermiyum.....	10
2.1.3. Erkek İnfertilitesinin Değerlendirilmesi	11
2.1.3.1. Semen analizi	12
2.1.3.1.1. Semen toplaması	12
2.1.3.1.2. Semen makroskopik incelenmesi	13
2.1.3.1.3. Semen mikroskopik incelenmesi.....	14
2.2. PENTOKSİFİLİN	16
2.3. ERKEK İNFERTİLİTESİNDE PENTOKSİFİLİN	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1. GEREÇLER.....	19
3.2. KİMYASALLAR.....	20
3.3. YÖNTEMLER.....	20
3.3.1. Hazırlık Aşaması.....	20
3.3.1.1. Etik kurul izni ve proje desteği.....	20

3.3.1.2. Hasta gruplarının belirlenmesi	20
3.3.1.3. Semen örneklerin toplanması	21
3.3.1.4. Pentoksfilin solüsyonunun hazırlanması.....	21
3.3.2. Uygulama Aşaması	21
3.3.2.1. Solüsyon uygulanması	21
3.3.2.2. Sperm vitalitesinin değerlendirilmesi	21
3.3.2.3. Sperm sayısı ve motilitesinin değerlendirilmesi.....	22
3.3.3. İstatistiksel Analiz.....	23
4. BULGULAR.....	25
4.1. MOTİLİTE BULGULARI.....	25
4.2. VİTALİTE BULGULARI.....	38
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	41
KAYNAKLAR.....	48
EK	55
ÖZGEÇMİŞ	56

KISALTMA VE SİMGELER

Ad	: Koyu A tipi (A dark) spermatagonyum
Ap	: Açık A tipi (A pale) spermatagonyum
ATP	: AdenozinTriFosfat
cAMP	: SiklikAdeno Mono Fosfat
cm	: Santimetre
dk	: Dakika
DNA	: Deoksi Ribonükleik Asit
FSH	: Folikül Stimüle Edici Hormon
G	: Reaktif Santrifüj Kuvveti
GnRH	: Gonatropin Salgılatıcı Hormon
H	: Hareketlilik
hCG	: İnsan KoryonikGonadotropin
ICSI	: İntra Sitoplazmik Sperm
IUI	: İntra Uterin İnseminasyon
IVF	: İn VitroFertilizasyon
K	: Konsantrasyon
LH	: Luteinize Edici Hormon
mg	: Miligram
ml	: Mililitre
mM	: Milimolar

μl	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre
Ort	: Aritmetik Ortalama
p	: İstatistiksel Anlamlılık Düzeyi
pH	: Hidrojen Gücü
ROS	: Reaktif Oksijen Radikalleri
Rpm	: Devir
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktör Alfas
sn	: Saniye
SS	: Standart Sapma
ÜYTE	: Üremeye Yardımcı Teknikler
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
ZP	: Zona Pellusida

TABLolar

Tablo1. Semen değişkenlerinin terminolojisi	12
Tablo 2. Hasta örneklerinin pH, viskozite ve hacim ortalama değerleri.....	25
Tablo 3. Pentoksifilin uygulama süresinin progresif hareketli (A) sperm sayısına etkisini gösteren hasta grupları arasındaki kıyaslama sonuçları.....	28
Tablo 4. Pentoksifilin uygulama süresi ve dozun progresif hareketli (A) sperm sayısına etkisini gösteren çoklu karşılaştırma testi	29
Tablo 5. Pentoksifilin uygulama süresinin nonprogresif hareketli (B) sperm sayısına etkisini gösteren hasta grupları arasındaki kıyaslama sonuçları	32
Tablo 6. Pentoksifilin uygulama süresi ve dozun nonprogresif hareketli (B) sperm sayısına etkisini gösteren çoklu karşılaştırma testi	33
Tablo 7. Pentoksifilin uygulama süresinin hareketsiz (C) sperm sayısına etkisini gösteren hasta grupları arasındaki kıyaslama sonuçları	36
Tablo 8. Pentoksifilin uygulama süresi ve dozun hareketsiz (C) sperm sayısına etkisini gösteren çoklu karşılaştırma testi	37
Tablo 9. Pentoksifilin uygulama süresinin ve dozun hasta gruplarında canlılık üzerine etkisini gösteren sonuçlar	39
Tablo 10. Hasta gruplarında, pentoksifilin uygulama süresi ve dozunun canlılık üzerine etkisini gösteren sonuçlar	40

RESİMLER

Resim 1. Makler kamarası	23
Resim 2. Kamera ataçmanlı mikroskop	23
Resim 3. Kontrol grubu vitalite boyaması (semen+sperm yıkama solüsyonu).....	38
Resim 4. Deney grubu vitalite boyaması (semen+pentoksifilin solüsyonu).....	39

EK

Ek.1. Etik Kurul Kararı	55
-------------------------------	----

6. ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Bu çalışmada astenozoospermili ve normospermili hastalarda pentoksifilin sperm motilitesi ve vitalitesi üzerine doz miktarına ve süresine göre *in vitro* etkisini gözlemlemek ve sperm için en uygun konsantrasyon ve süreci bulmak amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER: Çalışmamızda üroloji polikliniğine başvuran 20 normospermili ve 20 astenozoospermili olarak belirlediğimiz 40 hastadan aldığımız semen örnekleri kontrol ve deney grubu olarak ayrıldı. Kontrol grubuna wash solusyonu-distile su karışımı ilave edildi. Deney grubuna 3,4; 4,8 ve 5,4 mM pentoksifilin ilave edildi. Kontrol ve deney grupları solüsyonlarla 10 dakika ve 20 dakika etüvde inkübe edildi. Makler kamarasına konularak kare sistemiyle progresif hareket (A), yerinde hareket (B) ve hareketsiz (C) olmak üzere 3 grupta incelendi. Vitalite boyaması yapılarak kamera ataçmanlı ışık mikroskobu yardımıyla canlılıkları incelendi.

BULGULAR: Işık mikroskobik gözlemler sonucunda astenozoospermili ve normospermili hastalarda A grubu yönünden yapılan karşılaştırmalarda, her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı artış tespit edildi. Bu artış 5,4 mM dozda ve 20 dakika inkübasyon süresince daha etkin olduğunu gözlemlendi. Çoklu karşılaştırma testinde A grubu motiliteleri incelendiğinde astenozoospermili hastalarda bu artışın istatistiksel olarak daha anlamlı olduğu görüldü. Her iki hasta grubunda da B grubu karşılaştırma sonuçlarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulundu ve bu artış 20 dakikalık süreçte belirgin şekilde gözledi. Astenozoospermili hastalarda konsantrasyon alt grupları kıyaslandığında C grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalış gözlenildi. Normospermili hastalardaki azalış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Vitalite değerlendirmelerinde iki hasta grubunda da istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi.

SONUÇ: Astenozoospermili ve normospermili hastalarda *in vitro* pentoksifilin kullanımının hareketli sperm sayısını istatistiksel olarak arttırdığı gözlenirken, hareketsiz sperm sayısında azalış görülmüştür. Bu durum bize pentoksifilin hareketsiz spermlere hareketlilik kazandırdığını düşündürmektedir.

Anahtar Sözcükler: Astenozoospermi, *İn Vitro*, Motilite, Normospermi, Pentoksifilin

6.SUMMARY

INTRODUCTION AND AIM: In this study, we aimed to observe the *in vitro* effect of pentoxifylline on sperm motility and viability in terms of dose and duration in asthenozoospermia and normospermia patients and to find the most suitable concentration and process for sperm.

MATERIALS AND METHODS: In our study, semen samples from 40 patients (20 normospermia and 20 asthenozoospermia patients) who applied to the urology clinic were obtained. The samples were divided into control and experimental groups. Wash solution-distilled water mixture were added to the control group. We added 3,6; 4,8 and 5,4 mM pentoxifylline separately to experimental group samples. The control and experimental groups were incubated with these solutions for 10 minutes and 20 minutes. Makler counting chamber the sperm count was made by the square system. Numerical values were examined in three groups; progressivemotility (A), nonprogressivemotility (B) and nonmotility (C). Vitality staining was carried out and the viability of the sample was examined with the aid of a light microscope.

RESULTS: As a result of light microscopic observations, asthenozoospermia and normospermia group were compared with each other in group A and statistically significant increase was found in both groups. It was observed that this increase was more effective at the dose of 5,4 mM and during 20 minutes of incubation. When group A motility was examined in the multiple comparison test, it was seen that this increase was statistically more significant in patients with asthenozoospermia. In both patient groups, a statistically significant increase was detected in the B group comparison results, and this increase was noticeable in 20 minutes. When the concentration subgroups were compared in asthenozoospermia patients, a statistically significant decrease was observed in group C, although it decreased in normospermia patients, but this decrease was not statistically significant. There was no statistically significant difference in viability evaluations between the two groups of patients.

CONCLUSION: The use of pentoxifylline in the asthenozoospermia and normospermia patients increased the number of sperm samples A and B statistically, where as the C group had conflicting results. This suggests that pentoxifylline activates nonmotility sperm.

KeyWords: Asthenospermia, *In Vitro*, Motility, Normospermia, Pentoxifylline

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Düzenli bir cinsel ilişkiye rağmen (haftada iki kez) hiçbir korunma yöntemi uygulanmaksızın bir yıl içinde gebelik oluşmamasına infertilite denir. İnfertilite, günümüz evli çiftlerinin %10 kadarını etkileyen ve giderek artış gösteren bir sağlık sorunudur. Erkek infertilitesi, infertil çiftlerin %10-30'unda tek neden iken, %15-30'unda kadındaki probleme ek bir durum olarak karşımıza çıkmaktadır. Dolayısıyla vakaların yaklaşık %50'sinde erkek faktörü görülmektedir. İnfertil erkek bireylerin yaklaşık %40-60'ında infertilitenin altında yatan neden bilinmektedir. Geri kalanında ise sebep ortaya konulamamakta ve bu olgular idiopatik infertilite olarak kabul edilmektedir. İnfertilitede erkek faktörleri ürogenital sistem organlarının herhangi birinden kaynaklı olabilmektedir. Sperm kromozomlarının yapısal (translokasyonlar) veya sayısal kromozomal (anöplidiler) bozuklukları, genetik mutasyonlar, geçirilmiş enfeksiyonlar, varikosel, azospermi, oligospermi, astenozoospermi gibi durumlarda en sık karşılaşılan erkeğe bağlı infertilite sebepleri olarak sıralanabilmektedir.

Son yıllarda infertil çiftlerin çocuk sahibi olabilme olasılıkları, üremeye yardımcı tekniklerin (ÜYTE) geliştirilmesine paralel olarak artmıştır. Özellikle erkek faktörlü infertilite açısından değerlendirildiğinde, bu gelişmeler infertilitenin çözülebilir bir sorun olduğunu göstermiştir. Erkek faktörlü infertilitede, ÜYTE ile yapılacak başarılı bir fertilizasyon için semen hazırlama yöntemleri büyük önem arz etmektedir. Sperm sayısı, motilitesi ve morfolojisi semen değerlendirilmesindeki en temel parametrelerdendir. Sperm parametrelerini geliştirmek için laboratuvar ortamında swim-up ve dansite gradiyent sistemleri gibi sperm hazırlama teknikleri rutin olarak kullanılan yöntemlerdir. Bunların yanı sıra spermi iyileştirme amacıyla pek çok biyolojik veya kimyasal bileşenler de laboratuvar ortamında kullanılmaktadır.

Pentoksifilin, infertilitede erkeğe bağlı faktörlerde sperm parametrelerinin iyileştirilmesinde *in vitro* olarak kullanılan bileşenlerden biridir. Metilksantin bileşiği olan pentoksifilin, fosfodiesterazı inhibe ederek, hücre içi cAMP konsantrasyonunu arttırmaktadır. Hücre içi cAMP konsantrasyonunun artması sperm hareketliliği ve kinematik artışın yanı sıra akrozom reaksiyonu ve fertilizasyon oranlarında da artışa

neden olmaktadır. Hareketli sperm oranını yükseltmenin yanı sıra aynı zamanda canlı ama hareketsiz spermelerde de hareketi başlatabilmektedir. *In vitro* çalışmalarda pentoksifilinin testisleri besleyen kan damarlarını genişleterek kan akışını arttırdığı ve bu kanla birlikte besin maddelerinin de girişiyle spermelerin canlılığını arttırabildiği bildirilmektedir. Pek çok çalışmada anormal sperm morfolojisini iyileştirici etkisi olduğundan söz edilmektedir. Ayrıca sperm hücre zarları üzerinde koruyucu bir etki oluşturduğu ve reaktif oksijen radikallerini temizlediği, lipid peroksidasyonunu azalttığı belirtilmektedir. Pentoksifilinin bu etki mekanizmalarıyla sperm parametrelerini etkileyerek fertilizasyon oranını arttırdığı, yapılmış bazı çalışmalar ile desteklenmiştir.

Pentoksifilinin sperm motilitesini arttırdığını bildiren çalışmaların yanı sıra, motiliteyi azalttığını veya hiçbir etkisinin bulunmadığını bildiren çalışmalar da rapor edilmiştir. Biz de yaptığımız literatür incelemesi neticesinde, *in vitro* koşullarda uygulanan pentoksifilinin sperm parametreleri üzerine olası etkilerinin uygulanan doz ve inkübasyon süreleri ile bağlantılı olarak değişebileceğini düşündük. Bu çalışmada semen örneklerine farklı dozlarda ve farklı inkübasyon sürelerinde pentoksifilin uygulayarak sperm motilitesi üzerindeki etkisini incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. ERKEK ÜREME SİSTEMİ

Erkek üreme sistemi; haploid erkek gametin (spermatozoon) devamlı üretimi, beslenmesi ve geçici olarak depolanmasından, ve erkek seks hormonlarının sentezi ve sekresyonunu gerçekleştirir (Kierszenbaum 2006).

Erkek üreme sistemi testisler, genital kanallar, yardımcı genital bezler ve penisten oluşturmaktadır. Erkek gonad olan testisler karın boşluğunun dışarısında skrotum içinde yer alan, hem hormon hem de spermatozoa üreten organlardır. Duktuli eferentes, duktus epididimis, duktus vas deferens, duktus ejakulatorius ve üretradan oluşan genital kanallar testiste üretilen spermatozoayı penise taşımaktadır. Seminal veziküller, prostat bezi ve bulboüretral bezler yardımcı genital bezler olup; penis yapısında erektil dokuları barındıran çiftleşme organı olarak işlev görmektedir (Kierszenbaum 2006, Junqueira and Carneiro 2009).

Genital kanallar ve yardımcı bezler, düz kasların kasılması yoluyla testiste üretilen spermlerin kanallara ve üretraya taşınmasını sağlayan salgıları üretirler. Bu salgılar aynı zamanda erkek üreme sistemi içindeki spermlerin besin ihtiyacını karşılar. Spermler ile birlikte genital kanalların ve yardımcı bezlerin salgısı, penisten ejakülasyonla atılacak olan semen sıvısını meydana getirmektedir (Kierszenbaum 2006, Junqueira and Carneiro 2009, Ross and Pawlina 2009).

2.1.1. Hipotalamik - Hipofizer - Gonadal Aks

Erkek üreme sistemi çeşitli kontrol mekanizmalarının etkisi altındadır. Genetik kontrol mekanizmasından sonra devreye giren beyin cinsel başkalaşımından sorumlu olan hormonal kontrol mekanizmasıdır (Demirtaş ve Pişkin 2009). Erkek üreme fonksiyonundaki bu hormonal kontrol mekanizması, hipotalamus, hipofiz ve testisler tarafından sağlanır (de Krester et al 2000).

Hipotalamik-hipofizer-gonadal aks, çeşitli basamaklarında geri besleme sistemleri olan endokrin sistem olarak adlandırılmaktadır. Bu reproduktif aks tarafından negatif

feed-back ile testosteron sekresyonu ve sperm üretim hızı düzenlenir (McLachlan 2000, Handelsman and Liu 2003).

Leydig hücreleri ilk olarak gelişimin 8. haftasında testiküler kordonlar oluştuktan hemen sonra ortaya çıkar. Leydig hücrelerinin gelişimi ile androjenler saptanır hale gelir ve erkek üreme sistemi farklılaşmaya başlar (Polin and Fox 1992). Plasantadan salgılanan insan koriyonik gonadotropini (hCG), Leydig hücre gelişiminden ve androjen sentezinden sorumludur (El Gehani, Zhang, Pakarinen, Rannikko, Huhtaniemi 1998, Majdic, Saunders and Teerds 1998). Erken gebelik döneminde fetal hipofiz sekresyon yeteneğine sahip durumdadır. Gebeliğin ortalarında folikül stimüle edici hormon (FSH) ve luteinize edici hormon (LH) pik yaparken, gebeliğin son dönemlerinde hCG uyarısının kesilmesine bağlı olarak Leydig hücrelerinde kısa süreli bir regresyon gözlenir bu da FSH ve LH düzeylerinin düşmesine sebep olur (Weinbauer, Gromoll, Simoni, Nieschlag 2000). Postnatal yaşamın 2-3. aylarında tekrar Leydig hücreleri farklılaşmaya başlar ve kısa süreli serum testosteron düzeyinde yükselme gözlenir (Main, Schmidt, Skakkebaek 2000). Ancak bundan sonra pubertal gelişime kadar Leydig hücreleri tekrar regresyona uğramakta, testisler ve hCG aks sessiz bir döneme girmektedir. Serum LH ve FSH düzeyleri 6-8, testosteron düzeyi 10-12 yaşlarında tekrar artış gösterir. Hipotalamustan, gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) pulsatil salınımı ise 12 yaşında düzene girer (Bradtke 1999).

GnRH, hipotalamik-hipofizer-gonadal aks ile hipofiz kan damarlarının yaptığı portal sistem içine hipotalamustan salınır. Ön hipofiz bezi gonadotropin salınımı için özelleşmiş olan ve GnRH tarafından uyarılan gonadotropin salgılatıcı hücrelerdir (de Krester et al 2000). GnRH üç tip salınım göstermektedir. Birincisi mevsime bağlı olup, haziran-temmuz aylarında pik yaparken, erken kış ve ilkbahar aylarında en düşük düzeye inmektedir (Andersson, Carlsen, Petersen, Skakkebaek 2003). İkincisi sirkadiyen ritimdir. Bu mekanizmadan melatonin hormonunun sorumlu olduğu düşünülmektedir. Sabahın erken saatlerinde testosteronun en yüksek serum düzeylerine ulaşmasından sorumludur. Üçüncüsü ise pulsatil salınımdır, GnRH'un her 90-120 dakikada (dk) bir pik yapmasıdır. Pulsatil salınımın mekanizması tam olarak bilinmemektedir, ancak noradrenerjik uyarıların rolü olabileceği düşünülmektedir

(Lopez, Merchenthaler, Moretto, Negro-Vilar 1998). GnRH ön hipofizden LH ve FSH'nın salgılanmasını sağlar. LH ve FSH hormonlarının hücrel metabolizmayı uyarmak için Leydig ve Sertoli hücrelerindeki reseptörlere bağlanarak, gonadal hormonların üzerinde inhibitör etki yaptıkları gösterilmiştir. FSH, Sertoli hücrelerini uyarak seminifer tübül epitelinde spermatogenezi başlatırken, LH intertisyumdaki Leydig hücrelerini uyarak testosteron üretimini sağlar. Testislerin önemli bir hormonu olan testosteron, erkeklerde LH sekresyonunun primer inhibitörüdür (de Krester and Robertson 1989). Kortikotroplar, laktotroplar, büyüme hormonu ve tiroid uyarıcı hormonlar erkek üreme sistemi üzerine önemli etkilere sahiptirler (Weinbauer et al 2000).

2.1.2. Testis Histolojisi

Testisler karın boşluğunun dışında skrotum içinde funikulus spermaticus ile asılı duran bir çift organdır. Yan kısımları yassılaştırmış, 4-5 cm uzunlukta, 2,5 cm genişlikte, 3 cm kalınlıkta ve 10-15 gr ağırlığındadır. Testisler periton ile sarılmadan önce karın boşluğunun arka duvarında gelişmeye başlarlar. Bu periton kesesi daha sonra tunika vaginalise dönüşerek testisin skrotum içinde hareketli olmasını sağlar. Ortalama testiküler hacim 20 ml'dir. FSH, LH ve prolaktin hormonları ile testis hacmi arasında doğrusal bir ilişki olduğu saptanmıştır (Jensen, Wiswedel, McLoughlin, van der Spuy 1995).

Testisler, erkek üreme hücresi olan sperm üretimini ve androjenlerin sentezini, depolanmasını, salınmasını sağlarlar. Ekzokrin ve endokrin salgı işlevleri vardır (Gartner and Hiatt 2007, Akay 2001). Hipofizden Leydig hücreleri ve Sertoli hücreleri arasındaki ilişki ile ayarlanabilen hormonal kontrol düzeneği, testislerin düzenli çalışması için gereklidir (Clermont 1972).

Oval bir bez olan testis, tunika albuginea adı verilen yoğun bağ dokusundan oluşan kalın bir kapsülle sarılır. En dış kısımdaki visseral katman olan tunika vaginalis, kapsülü dıştan sarar. Testisin arka kenarında kapsül kalın bir katlanma şeklinde içeriye doğru uzanır, bu kısım "mediastinum testis" adını alır. İnce fibröz bölmeler, mediastinumdan ışınal olarak uzanarak yaklaşık 250 adet lobülü oluşturur (Ovalle

and Nahirney 2009). Her lobülde 1-4 adet gevşek bağ dokusu ile sarılı, kıvrımlı yapıda, ana işlevi spermatozoon üretimi olan seminifer tübüller bulunur (Gartner and Hiatt 2007). Bu bağ dokusu bol miktarda kan ve lenf damarları, sinirler ve Leydig hücreleri adı verilen interstisyel hücreleri içerir. Bu hücreler de testis androjenlerini salgılar (Junqueira and Carneiro 2006).

Her bir seminifer tübül U şeklinde olan iki ucu rete testise açılır. Rete testis, seminifer epitelyumun ürünlerini toplayan kanallar ağıdır. Seminifer tübül iki belirgin hücre popülasyonunu içeren özelleşmiş seminifer epitelyumdan oluşur. Seminifer epitel, bir bazal membran ile kollajen lifler, fibroblastlar, kasılabilir miyoid hücrelerden oluşan bir duvarla çevrelenmiştir. Miyoid hücreler, hareketsiz spermatozoonları rete testise ileten ritmik kasılma aktivitelerinden sorumludur (Kierszenbaum 2006).

2.1.2.1. Spermatogenik hücreler

Spermatogenik hücreler, bazal membran üzerine yerleşmiş ve tübül duvarını döşeyen epitelin çoğunluğunu oluşturan düzenli sıralanmış hücrelerdir (Aydos 2007). Hücreler geliştikçe tüp kenarından lümene doğru yer değiştirirler (Davidoff, Schulze, Middendorff, Holstein 1993, Turek 2004). Seminifer tübülde spermatogenik seri hücreler bazalden lümene doğru spermatogonyum, spermatozoid, spermatid ve spermiyum olmak üzere dört hücre tipi şeklinde sıralanır (Junqueira and Carneiro 2006).

Spermatogonyumlar, bazal lamina ile doğrudan ilişkide olan 12 µm çapında diploid spermatogenik hücrelerdir (Kierszenbaum 2006). Bazal laminanın hemen üstünde yer alan diğer seri hücrelere kıyasla daha küçük hücrelerdir (Junqueira and Carneiro 2006). Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların altında yerleşimleri gösterirler. Bu nedenle Sertoli hücreleri arasındaki yerleşim kan-testis bariyerinin dışında yer alırlar. Puberte başlangıcında testosteron hormonu etkisiyle mitoz bölünmesi ile çoğalmaya başlarlar (Gartner and Hiatt 2007). Yapısal olarak koyu A (A dark, Ad) tipi spermatogonyum, açık A tipi (A pale, Ap) spermatogonyum ve B tipi spermatogonyum olmak üzere üç esas spermatogonyum tipi gözlenir (Clermont 1972).

Ad tipi spermatogonyumlar bazal lamina tabanı üzerine yerleşmişlerdir. Seminifer epitelin kök hücreleridir. Hücre döngüsüne girmezler, depo hücrelerdir. Düzensiz olarak mitozla bölünerek hem yeni Ad tipi spermatogonyumları ve hem de Ap tipi spermatogonyumları meydana getirirler (Ross 2006). Ap tipi spermatogonyumlar fonksiyonel olarak hayat boyu spermatogenezde aktif rol oynar (Meachem, von Schonfeldt, Schlatt 2001, Ehmcke, Wistuba, Schlatt 2006). Her siklusta kendilerini yenilerler ve bu hücrelerin döngüsü Ad tipine göre daha hızlıdır. Ap spermatogonyumlar mitozla çoğaldıklarında sitoplazmik bölünme tam olarak gerçekleşmez ve birbirlerine sitoplazmik köprüler ile bağlı kalırlar. Ap spermatogonyumdan türeyen diğer seri hücreleri de birbirlerine bağlı kalarak hücre kolonisini oluştururlar. Bu bağlantılar spermiomorfogeneze kadar sürer. Testosteron hormonunun etkisiyle Ap spermatogonyumla mitozla bölünürler ve spermatogenezde etkin rol oynayan B tipi spermatogonyumları oluştururlar (Ross 2006). B tipi spermatogonyumlar spermatogonyumların en çok bulunan tipidir. Bazal lamina üzerinde yer alırlar ancak bağlantıları daha azdır. B tipi spermatogonyumlar, hem mitozla çoğalırlar, hem de bazıları mayoz bölünmeye girerek primer spermatositleri oluştururlar (Junqueira and Carneiro 2006, Ross 2006).

Primer spermatositler spermatogenik serinin en iri ve tübül duvarında en çok görülen hücreleridir (Moore and Persaud 2002). B tipi spermatogonyumlar mayoz ile bölünerek, primer spermatositleri oluştururlar. Spermatositler mayoz hücre bölünmesinin her iki aşamasında da sperm spesifik antikörlerin meydana gelmesini engellemek amacıyla, Sertoli hücreleri arasındaki tıkaçıcı bağlantıların oluşturduğu kan-testis bariyerinin hemen üzerinde seminifer tübülün adluminal kompartmanında yer alırlar (Seçkin 2008).

Spermatidler seminifer tübül lümenine yakın adluminal kompartmanda Sertoli kriptaları içine yerleşmişlerdir (Kierszenbaum 2006). Spermiyumlara dönüşmesi spermiogenez veya spermiomorfogenez süresince spermatidler, bol hidrolitik enzim depolayıp, organellerini azaltırlar daha sonra sitoplazmalarının bir kısmı atılır ve flagellumla ilgili yapılar şekillenir (Gartner and Hiatt 2007).

2.1.2.2. Sertoli hücreleri

Seminifer tübüllerin bazal membranı üzerine oturup lümene kadar uzanan büyük, oval ya da üçgen biçimli ve ökromatik destek hücreleridir. Çekirdek ortasında yerleşik, büyük, belirgin bir çekirdekçik bulunur (Ross 2006, Ovalle and Nahirney 2009). Oluşturdukları kan-testis bariyeri ile seminifer epitelyumunu bazal ve adluminal kompartmana bölerler. Sertoli hücreleri puperteye kadar seminifer epitelin dominant hücre tipi olsa da, puperteden sonra seminifer tübüllerin yaklaşık %10'unu oluşturur. Daha ileri yaştaki erkeklerde spermatogenik hücre popülasyon seviyesi düştüğü zaman, Sertoli hücreleri tekrar epitelin ana elemanı haline gelir (Kierszenbaum 2006).

Sertoli hücrelerinin çeşitli işlevleri vardır. Spermatogenik seri hücreleri birbirlerine sitoplazmik köprülerle bağlıdır. Bu hücrelerin bir arada bulunduğu ağ sistemi, Sertoli hücrelerinin sitoplazmik uzantıları ve yüzeylerindeki kriptaları yoluyla besin maddeleri ve metabolitlerin alınıp verilmesini sağlar. Seminifer tübüllerin iç kısmıyla kan arasında bir bariyer yer alır. Ancak buna rağmen büyük moleküllerin geçişi sağlanabilmektedir. Böylece spermatogoniumlar kanda bulunan maddelere ulaşabilirler. Sertoli hücreleri bariyerleri bu geçişi engelleyerek spermatogenik hücreleri pek çok patolojik etmene karşı koruyup mekanik destekte sağlar. Böylece gelişmekte olan spermatogenik hücrelere karşı destekleme, beslenme ve koruma işlevlerini sağlar. Spermiyogenez sonunda spermatidler tarafından atılan atık cisimler, Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilip, lizozomların yardımı ile parçalanır. Bu hücreler aynı zamanda inhibin adı verilen FSH sentezini baskılayan peptid de salgılar (Junqueira and Carneiro 2006).

2.1.2.3. Spermatogenez

İnsan vücudundaki en karışık hücresel farklılaşma olaylardan birisi olan spermatogenez, erkek bireylerde puberte ile başlayıp germ hücrelerinin çeşitli aşamalardan sonra olgun sperm hücresine dönüştüğü bir süreçtir (Parks, Lee, Huang, Kaproth 2003). Bu süreç, spermatogenik hücrelerle çevrili olan seminifer tübüllerde gerçekleşir. Sperm üretimi oldukça uzun ve karmaşık bir olaydır. İnsanlarda tüm spermatogenez süreci yaklaşık olarak 64 gün sürer ve olgun spermatozoanın ejakülatta görülmesi ise 74 gün alır. Bu siklus pubertede başlar ve yaşam boyunca da devam

eder. Germ hücreleri mayoz bölünme sonunda 46 kromozomlu diploid halden 23 kromozomlu haploid hale gelirler. Daha sonra haploid spemin, yine haploid olan oosit ile birleşmesiye tekrar 46 kromozomlu yeni bir bireyin oluşmasına olanak sağlanmış olur. Spermin bu farklılaşma aşamaları; spermatogonial faz (spermatositogenez), spermatosit fazı (Mayoz) ve spermatid fazıdır (spermiogenez) (De Jonge et al 2004).

Spermatogonial faz; seminifer tübülün bazal membranı üzerinde bulunan diploid spermatogonik hücreler olan spermatogonyumları kapsar. Bu fazda mitotik aktivite ile çoğalarak hem spermatogenez için yeterli sayıda hücre elde edilirken hem de kaynak hücre ihtiyacı sağlanır. Böylece spermatogonik hücreler zarar görürse kaynak hücreler mitotik aktivite sayesinde çoğalarak spermatogonik sürecin devamını sağlar. Ad, Ap ve B tipi spermatogonyumlar bu süreçte yer alır. Tip B spermatogonyumlar mitoz ile çoğalarak bir taraftan sayılarını arttırmaya çalışırlar, bir taraftan da bazıları mayoz bölünmeye girerek primer spermatositlere dönüşürler. Böylece spermatosit evresi başlamış olur (Means, Fakunding, Huckins 1976).

Spermatosit fazında spermatogonyumlar ile primer spermatositler Mayoz I aşamasındadır. Gelişim süreci ilerledikçe hücre hacimleri artar. Çekirdek morfolojileri de mayoz bölünmenin profaz aşamasına uygun özellikler gösterir. Primer spermatositler 1. mayoz bölünmesini tamamlayarak sekonder spermatositleri oluşturur. Sekonder spermatositte 2. Mayoz bölünmesini tamamlayarak spermatidleri meydana getirir. Mayoz bölünme ile üç önemli sonuç elde edilir; Spermatozoonlardan, her biri homolog kromozom çiftlerinin sadece bir temsilcisini içerir, maternal ve paternal kromozomlar bölünme ile oluşan yavru hücrelere rastgele dağılır ve crossing over ile genetik çeşitlilik artar (Delilbaşı 2008). Spermin farklılaşma aşamalarından olan spermatid fazı 3. fazdır ve sekonder spermatositlerin Mayoz II'yi tamamlamasıyla oluşan spermatidlerin geçirdiği morfolojik değişiklikleri kapsar. Bu döneme spermiyogenez veya spermiyomorfogenez denir.

2.1.2.4. Spermiyogenez (Spermiyomorfogenez)

Spermatidler, Sertoli hücreleri arasında tübül lümene en yakın bulunan hücrelerdir. Gelişimlerinin ileriki safhalarında Sertoli hücrelerinin apikal sitoplazmalarına gömülü

vaziyette bir seri yapısal değişiklikler geçirdikten sonra spermiyumlara döşerek tübül lümenine salınırlar. Bu yapısal değişiklikler akrozom oluşumu, flagellum şekillenmesi, kromatin yoğunlaşması (kondensasyonu) ve fazla sitoplazmanın atılmasıdır. Spermatidin, Golgi kompleksinde oluşan veziküllerin ön kısma doğru hareket etmesiyle akrozomal kepi oluşturur. Bu kepi içerisinde akrozomal enzimler yer alır ve bu enzim fertilizasyon sırasında aktifleşerek oosit çevresindeki yapıların eritilmesini sağlarlar. Spermiyogenez; Golgi evresi, kepi (şapka) evresi, akrozomal evre ve olgunlaşma evresi olmak üzere 4 ardışık evreden oluşur (Tanagho and McAnnich 1992, Delilbaşı 2008).

Spermatidler şekil değiştirip Sertoli hücresinden ayrılırken boyun kısımlarında sitoplazmik droplet bulunur. Spermiyogenezin sonunda bu droplet (sitoplazmik artık) atılır ve Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir (Kierszenbaum 2006). Spermin Sertoli hücresinden ayrılıp lümenine salınmasına spermiyasyon denir. Spermiyasyondan sonra spermatozoa 2-4 haftalık bir evreden geçerek epididime ulaşır. Bu süre içinde spermatozoa daha ileri olgunlaşmaya uğrar ve hareketlilik kazanır. Spermatozoa epididime peritübüler myoid hücrelerin ve testis kapsülünün kasılması ile sağlanan seminal sıvı akıntısı tarafından taşınır. Epididimin ilk bölümünde spermatozoanın hareket kabiliyeti yoktur. Ancak epididime geldikten 18-24 saat sonra hareket yeteneğini kazanmaktadır (Holstein et al 2003).

2.1.2.5. Olgun spermiyum

İnsan sperminin boyu yaklaşık 60 µm'dir. Baş ve kuyruk olmak üzere iki ana bölüme oluşur. Baş bölümü çekirdeği içerirken, kuyruk bölümü; boyun, orta parça, esas parça, son parçayı içerir (Ross 2006).

Baş: Memelilerde sperm baş özellikleri birbirlerine benzer, ancak çok özel farklılıklar da bulunabilir. İnsanda sperm başının uzunluğu 4-5 µm, genişliği 3 µm, kalınlığı 1 µm'dir. Sperm başın yassılaştırmış şekilli nükleus içerir. Bu nükleusun apikal kısmının 2/3'lük bölümünü akrozom sarmıştır, geri kalan 1/3'lük bölüme ise postakrozomal bölge adı verilir. Akrozomal bütün enzimler türlerde ovum etrafındaki tabakaları

eriterek, spermin genetik materyalinin ovum içine girmesine (fekondasyon) hizmet eder (Gartner and Hiatt 2007).

Kuyruk: Yaklaşık 55 µm uzunluğundadır. Boyun, orta parça, esas parça ve son parça olarak dört kısımdan oluşur. Boyun, başı kuyruğa bağlayan dar bir parçadır. Proksimal ve distal sentriyolden oluşup yaklaşık 5 µm uzunluğundadır. Proksimal (anterior) sentriyol çekirdeğe tutunmuş olarak bulunur. Distal sentriyol (posterior) ise, spermiyum kuyruğunun merkezi parçası olan aksonemin kaynağını oluşturur. Kuyruğun orta parçası 5-9 µm uzunluğunda, 1 µm çapındadır. Boyun ile esas parça arasında uzanır (Gartner and Hiatt 2007). Orta parça oluşturan aksonem ve dış yoğun fibrillere ek olarak helezon tarzında dizilmiş büyük mitokondrilere sahiptir. Aksonemin çevresinde 9 adet dış yoğun lifler, bunların etrafında kuyruğa enerji sağlayan spiral tarzda düzenlenmiş mitokondriler yer alır. Kuyruğun sonuna doğru dış yoğun lifler incelerek kaybolur. Esas parça kuyruğun en uzun parçasıdır ve yaklaşık 45 µm uzunluğundadır. 7 dış kalın lifle sarılı, aksonem ve bunları çevreleyen fibröz bir kılıftan oluşur. Bu fibröz kılıf ve lifler spermin öne hareketi sırasında mikrotübüler kayma ve kıvrılma için sağlam bir iskelet oluştururlar. Esas parça mitokondri sarmalının son bölümünün altında yoğun bir halka olan annulus adı verilen son halkadan başlar, mitokondriyon sarmalı içermez. Son parça yaklaşık 5 µm uzunluğunda olup spermin en kısa parçasıdır. Dış yoğun lifler ve fibröz kılıfın erken sonlanması nedeniyle sadece aksonemi içerir, sonuna doğru aksonem mikrotübüllerin sayısında azalma olur (Kierszenbaum 2006).

2.1.3. Erkek İnfertilitesinin Değerlendirilmesi

Erkek infertilitesinde değerlendirme anamnez, fizik muayene ve ejakülatın laboratuvarında incelenmesini kapsar. İlk ve temel yöntem spermiyogram (semen analizi)'dir (Burrows, Schepterman, Lipshultz 2002). Semen incelenmesinde klasik olarak spermatozoonların semen içerisindeki sayısı, motilitesi ve morfolojisine bakılarak değerlendirilir. Bu parametrelerden spermatozoon morfolojisi, erkeğin çocuk sahibi olabilme potansiyelini en iyi biçimde gösteren ölçütlerden biridir. İnfertiliteye yol açan özel bir neden bulunursa, tedavi önceden yönlendirilerek sonuca gidilir (Hassa 2003). Erkek infertilitesi açısından hastanın bir ürolog ya da bu konuda uzman

bir kişi tarafından tıbbi ve üreme öyküsü dinlenmeli ve yapılmış fizik muayenesi ile en azından iki semen analizi bulunmalıdır (Gartner and Hiatt 2007, Burrows et al 2002).

2.1.3.1. Semen analizi

Erkek infertilitesi araştırılırken fizik muayene ve anamnezden sonra ilk yapılan non-invaziv laboratuvar tetkiki semen analizidir (Tablo 1). Her hastanın en az 15 gün aralıklarla vereceği semeninden yapılacak 2 ya da 3 semen analizi infertilitenin değerlendirilmesinde çok önemli bir yer tutar (Satar ve Gençtar 2013).

Tablo 1. Semen değişkenlerinin terminolojisi (WHO laboratory manual 2010, Gökçe 2011)

Normozoospermi (Normospermi): Semendeki sperm sayısının 20 milyon/ml ve motil sperm sayısının %32'den fazla olma durumu
Astenozoospermi (Astenospermi): Semendeki sperm sayısının 20 milyon/ml ve motil sperm sayısının %32'den az olma durumu
Oligozoospermi (Oligospermi): Semendeki sperm sayısının 20 milyon/ml az olması
Teratozoospermi: Semendeki morfolojisi bozuk sperm sayısının %40'dan fazla olması durumu
Oligoastenoteratozoospermi: Semende sperm motilite ve morfoloji bozukluklarının bir arada görülmesi durumu
Azoospermi: Semende hiç sperm bulunmaması durumu
Aspermi: Hiç semen elde edilememesi durumu
Nekrozoospermi: Semendeki tüm spermlerin ölü olma durumu

2.1.3.1.1.Semenin toplanması

Semen örneği çalışma koşulları ve emosyonel değerlere göre farklılık gösterdiğinden standardize edilmesi oldukça güçtür. Bundan dolayı semenin nasıl ve nerede verileceği, hangi kaba toplanılacağı, ısı farklılığı, günün farklı saatlerinde alınması sonuçları doğrudan etkilemektedir. Semen örneği laboratuvarında hastalar için hazırlanan özel odalarda verilmelidir. Semen örneği ağzı geniş, kapağı kilitli, steril ve poliesterden yapılmış plastik kaba alınmalıdır (Pellestor, Girardet, Andreo 1994, Delilbaşı 2008).

Hasta örnek vermeden en az üç gün cinsel perhiz yapmalıdır. Cinsel perhiz süresi sperm konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Genital bezler günlük 80×10^6 veya 100×10^6 üretim yaparlar. Bundan dolayı 2-5 günlük cinsel perhizden sonra spermlerin epididimiste kalma süreleri parametreleri etkileyeceğinden daha sağlıklı bir değerlendirme için cinsel perhiz uygulanmalıdır (Kandıralı 2004). Cinsel perhizi olan hasta semen örneğini mastürbasyon yoluyla vererek semen örneğinin tamamını plastik kaba toplamalıdır. Mastürbasyondan önce ellerini dezenfektan ve sabun ile yıkanmaması ayrıca herhangi bir kayganlaştırıcı ürün kullanılmaması gerekmektedir (Delilbaşı 2008).

Uygun koşullara göre semen örneği alınan kişinin adı-soyadı, örneğin verildiği tarih ve saat yazılıp etiket ile kap üzerine yapıştırılmalıdır. Semen örneği verecek hastanın geçirdiği hastalıklar, sigara ve alkol gibi maddeleri kullanıp kullanmadığı konusunda bilgi alınmalıdır. Semen örneği alındıktan sonra makroskopik ve mikroskopik değerlendirilmeler yapılır (Pellestor et al 1994).

2.1.3.1.2.Semenin makroskopik değerlendirmesi

Normalde semen opak beyaz veya grimsi renktedir. Eritrosit bulunması halinde kırmızı-kahverengi, uzun süreli cinsel perhizden sonra veya pyospermide sarı, azospermide veya uzun süreli antibiyotik kullanımında ise semen transparan olarak görünebilir. Semen at kestanesi çiçeği gibi kokar. Bunun sebebinin prostat bezinden semen içine salgılanan sıvının oksidasyonundan kaynaklandığı düşünülmektedir (Delilbaşı 2008, Gökçe 2011).

Dünya Sağlık Örgütüne (WHO laboratory manual) göre semen volümü 2 ml'nin üzerinde olmalıdır. Semen volümü serolojik pipetler ile ölçülmelidir. 1 ml'nin altındaki değerlerde kişinin tüm ejakülatı toplama kabına aktarmadığı veya retrograt ejakülasyon ve distal kanal patolojileri olabileceği düşünülmelidir. 1ml veya daha az ise hipospermik, 6 ml den daha fazla ise hiperspermik olarak adlandırılır. Seminal sıvının tam yokluğuna ise aspermi denilmektedir (Delilbaşı 2008). Seminal sıvının miktarına epididimal sekresyon %7, prostat bezi %15-20, üretral bezler %3-5 ve

vezikula seminalis %70-80'inden katkı sağlar (Tapırsız, Altınbaş, Abıke, Goktolga 2012).

Semen pH'sı 7,2 ile 8 arasında olmalıdır. Ölçümün geç yapılması halinde seminal plazmanın salgıladığı CO₂ nedeniyle pH artabilir. Normalde pH değerinin 8 üzerine çıkması akut enfeksiyonların göstergesi iken, pH 7'nin altında olması azosperminin yanı sıra boşaltım kanallarının obstrüksiyonu ve aksesuar bezlerin agenezini düşündürür (De Jonge et al 2004).

Normal semen çok az miktarda visközür, ancak kronik enfeksiyonlardan kaynaklı viskozitesi artabilir. Ejakülasyondan 5-40 dk sonra semen önce koagüle sonrada likefiye olur. Koagülasyondan vezikula seminalisten salınan proteinokinaz enzimi, likefaksiyondan ise Prostat ve Cowper bezinin sekresyonundaki proteolitik enzimler sorumludur (Özdener 1993). Likefaksiyonun geciktiği durumlarda semenin laboratuvarda tekrar çözünmesi sağlanarak mikroskopik incelenmeye alınmalıdır (Gökçe 2011).

2.1.3.1.3.Semenin mikroskopik değerlendirmesi

Bir ejakülattaki toplam sperm sayısı ve sperm konsantrasyonu, gebe kalma ihtimali ve gebelik oranını belirleyici faktörlerdendir. "Toplam sperm sayısı" ve "sperm konsantrasyonu" birbirine benzer terimlerdir, ancak aynı değildir. Sperm konsantrasyonu her bir ünite semen volümü başına düşen sperm sayısını ifade etmektedir. Toplam sperm sayısı ise tüm ejakülattaki sperm sayısını ifade eder. Total sperm sayısı semen analizi sırasında hesaplanan sperm konsantrasyonundan elde edilir (Slama et al 2002). Normal ejakülatta, kanallarda obstrüksiyon yoksa ve cinsel perhiz süresi çok uzun değilse, toplam spermatozoon sayısı testis hacmi ile korelasyon gösterir. Spinal kord yaralanması olanlardan elektroejakülasyonla alınan, androjen yetersizliği olanlardan elde edilen, uzun süreli cinsel perhiz sonrasında veya retrograd ejakülasyonla alınan numunelerde toplam sperm sayısı için doğru değerlere ulaşılmayabilir (WHO laboratory manual 2010).

Sperm sayımı için hemositometre, microcell, CellUV, Standard Count, Makler gibi çeşitli sayım kamaraları kullanılmıştır. Günümüzde yaygın olarak Makler sayım kamarası kullanılmaktadır. Makler kamarası içerisinde 100 karelik alan bulunan sayım kamarasıdır ve bu alanlar içindeki spermler sayılarak değerlendirilmelerde yapılır. Doğru bir sonuç alabilmek için en az 10 karede sayım yapılır ve saptanan sayı ile 10^6 ile çarpılarak ($\times 10^6/\text{ml}$) sperm sayısı belirlenir. Makler kamarasıyla değerlendirme yapılırken kamara ısısının 37°C olması, kamaraya koyulan ejakülat miktarının $10 \mu\text{l}$ 'yi geçmemesi ve hava kabarcığı kalmaması iyi sonuç alınabilmesi için gereklidir (Delilbaşı 2008).

Fertilizasyonda sperm sayısı kadar motilitede önemli parametrelerden biridir. Sperm motilitesi kuyruğun anatomik ve fonksiyonel bütünlüğüne, enerji üreten sistemin yeterliliğine, ısı ve süre gibi faktörlere bağlıdır. Sperm motilite değerlendirilmesi yapılırken likefaksiyondan sonraki 30 dk ile bir saat arasında yapılması tercih edilir. Sperm motilitesi 37°C 'de ısıtılmış tabla üzerinde veya oda sıcaklığında bakılabilir. Motilitenin değerlendirilmesinde için spermler progresif hareketli, nonprogresif hareketli ve hareketsiz şeklinde sınıflandırılır.

- Progresif hareket: sperm hücresi doğrusal ya da geniş bir dairesel düzlemde hızdan bağımsız olarak ilerleyici bir şekilde hareket eder.
- Nonprogresif hareket: ilerleyici olmayan hareketlerin tamamını içerir. Örneğin çok küçük daireler şeklinde, kuyruğun hareketiyle baş kısmının çok zor olarak yer değiştirmesi, sadece kuyruğun hareket etmesi gibi.
- Hareketsiz: hiç hareketin meydana gelmemesidir (Gökçe 2011).

Semen analizindeki bir diğer kriter ise spermin yapısal özelliklerinin incelenmesine dayanan morfolojik sınıflandırmadır. Değerlendirmede birçok kriter kullanılmasına karşın en fazla kullanılanlar WHO laboratory manual kriterleri ve Kruger'in kesin kriterleridir. Sperm morfolojisi değerlendirmesi, semende elektron mikroskop ile veya faz kontrast mikroskop ile spermleri çeşitli yöntemlerle boyayarak yapılabilir (Delilbaşı 2008). Boyama yöntemi olarak Papanicolaou, Shorr ve Diff-Quick boyama

yöntemleri tavsiye edilen yöntemlerdir. Boyalı preparatlar x100 büyütmele objektif kullanılarak immersiyon yağı yardımıyla incelenir (Gökçe 2011).

Sperm canlılığı hücre membranı bütünlüğünün değerlendirilmesi esasına dayanır. Ejakülattaki toplam sperm sayısı, membranı sağlam sperm hücrelerinin yüzdesiyle çarpılarak elde edilir. Ejakülatta, membranı sağlam sperm sayısı biyolojik öneme sahiptir. Canlı spermlerin oranı, boyayı tutmama veya hipotonik şişme yöntemleriyle sağlam membranlı hücreler belirlenerek değerlendirilir. Boya eksklüzyonu metodu kullanılarak hasarlı plazma membranlarına sahip spermlerin boyayı içine almasıyla hücrelerin ölü olduğu gösterilir. Bu yöntem eosin-nigrosin veya sadece eosin boyası kullanılarak yapılabilir. Hipoozmotik şişme testi ise, yalnızca membranları sağlam hücrelerin (canlı hücreler) hipotonik sıvılarda şişeceği ilkesine dayanır (WHO laboratory manual 2010).

2.1. PENTOKSİFİLİN

Pentoksifilin metilksantin türevidir olan non-spesifik bir fosfodiesteraz inhibitörüdür. Diğer adı oksipentifilindir. Kafein ve teofilin ile aynı farmakolojik sınıfa aittir. Kafeine olan üstünlüğü yarı ömrünün daha uzun, suda çözünürlüğünün ise daha fazla olmasıdır. Pentoksifilin su ve lipidlerde kolay eriyebildiği için barsak kanalından çabuk emilir. Pentoksifilin, etkin maddesinin serbest hale geçmesinden 30 dk sonra plazmada en yüksek seviyeye ulaşır. Pentoksifilin yarılanma ömrü, yaklaşık 1 saattir. Tamamen metabolize olur ve %90'ından fazlası suda eriyebilen, konjuge olmayan polar metabolitler halinde böbrek yoluyla dışarı atılır. Kısa yarılanma ömrü nedeniyle pentoksifilin vücutta birikmesi söz konusu değildir (Tesarik and Mendoza 1993).

Serebral ve periferik vasküler hastalıkların ve mikrosirkülasyon bozukluğu ile seyreden hastalıkların tedavisinde kullanılır (Kayaalp 1992). Trombosit agregasyonunu ve trombus oluşumunu azaltır. Lökositlerin endotele adezyonunu azaltır, lökosit aktivasyonu ve bunun neden olduğu endotel hasarını azaltır. Kan viskozitesini düşürür, kanın akışkanlığını artırır ve antitrombotik etki göstererek

mikrodolaşım perfüzyonunu arttırır. Yani pentoksifilin kan dolaşımı ve dokuların oksijenlenmesi arttıran bir mekanizma izler (Ward and Clissold 1987).

Serebral ve periferel vasküler hastalıkların tedavisinde kullanılan pentoksifilin antiinflamatuvar ve antifibrotik özelliğe sahip bir ilaçtır (Novick, Sullivan, Mandell 1990, Sandborn and Hanauer 1999). Uyarılmış makrofajlarda proinflamatuvar sitokinlerin sentezini önleyip tümör nekroz faktör alfa (TNF- α) salınımını inhibe ederek immunosupresif aktivite gösterir (Noel et al 2000). Pentoksifilin, nötrofillerin yıkımını ve süperoksit serbestleştirmesini fagositoz fonksiyonlarını etkilemeksizin engellemektedir (Sullivan et al 1988). İnflamatuvar barsak hastalığı patogeneğinde anahtar rol oynadığı düşünölen TNF- α 'nın düzeylerinde pentoksifilin uygulaması ile belirgin bir düşüş gözlenmiştir (Sandborn and Hanauer 1999).

Pentoksifilin'in kırık iyileşmesini hızlandırdığı, geç dönemde ise histolojik olarak kaynamayı geciktirdiğı gösterilmiştir. Kırık iyileşmesini hızlandırmak için erken dönemde pentoksifilin kullanılmasının uygun olabileceğı saptanmıştır (Horiuchi, Saito, Kinoshita, Wakabayashi, Tsutsumimoto 2001).

2.3. ERKEK İNFERTİLİTESİNDE PENTOKSİFİLİN

Son yıllarda infertilite giderek artan sağlık sorunlarından biri haline gelmiştir ve buna bağlı olarak ÜYTE uygulanan merkezlere ilgi giderek artmaktadır. Bu yüzden başta inseminasyon olmak üzere ÜYTE ile semen hazırlama yöntemleri başarılı bir fertilizasyon için önemli yer tutmaktadır (Nassar et al 1999). Semen hazırlama işleminde sperm sayısı, hızı ve morfolojisi en temel parametrelerdir. Bu sperm parametrelerini geliştirmek için laboratuvar ortamında sperm hazırlama teknikleri rutin olarak kullanılan yöntemlerdir. Bunların yanı sıra spermi iyileştirme amacıyla pek çok biyolojik veya kimyasal bileşenler de laboratuvarında kullanılmaktadır. Bu maddelerden bazıları serum, periton sıvısı, foliküler sıvı, adenozin analogları ve metilksantinlerdir (Oliva, Dotta, Multigner 2009).

Metilksantin bileşdiği olan pentoksifilin de infertilitede erkeğe bağlı faktörlerde sperm parametrelerinin geliştirilmesinde *in vitro* olarak kullanılan bileşenlerden biridir.

Pentoksifilin fosfodiesterazı inhibe ederek, hücre içi cAMP konsantrasyonunu arttırmaktadır. Hücre içi cAMP konsantrasyonunun artması sperm hareketliliği ve kinematik artışını sıra akrozom reaksiyonu ve fertilizasyon oranlarında da artışa neden olmaktadır (Ward and Clissold 1987). Motil sperm oranını yükseltmenin yanı sıra aynı zamanda canlı ama hareketsiz spermlerde de hareketi başlatabilmektedir. Spermin zarları üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğu ve reaktif oksijen radikallerini temizlediği, lipit peroksidasyonunu azalttığı da yapılan çalışmalarda gözlenmektedir. Ayrıca testiste mikrosirkülasyonu artırarak spermler üzerinde olumlu etki yapmaktadır. Testisleri besleyen kan damarlarını da genişleterek daha fazla kan girmesini sağlamaktadır. Böylece sperm parametrelerini iyileştirerek fertilizasyon oranını arttırmaktadır (Terriou et al 2000, Oliva et al 2009)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. GEREÇLER

- Buzdolabı (Arçelik)
- Makler Kamerası (Sefi Medical Instruments, Swedan)
- Etüv (Nüve, Turkey)
- Işık Mikroskobu (Olympus, BH-2, Japan)
- Mikropipet (Eppendorf, Germany)
- Mikropipet Ucu (Eppendorf, Germany)
- Pastör Pipeti (Laborant, Germany)
- Vorteks (Finepcr, Korea)
- Santrifüj (Nüve, Turkey)
- pH Metre (Metler Toledo, USA)
- Falkon Tüpü (Axygen, USA)
- Deney Tüpü (Isolab, Germany)
- Ependorf Tüpü (Axygen, USA)
- Lam (Isolab, Germany)
- Lamel (Isolab, Germany)
- Şale
- Kronometre
- Enjektör
- Numune Kabı
- Kamera Ataçmanlı Işık Mikroskobu (Nikon DS-Fi2, Japan)
- Hot Plate (Labotect 062, Germany)

3.2. KİMYASALLAR

- Pentoksifilin (Pentoxifylline P1784, Sigma-Aldrich, USA)
- Etil alkol (Ethanol absolute, Merck Millipore, Germany)
- Vitalite boyama kiti (Eosin-Nigrosin) (Vital screen kit, FertiPro diagnostics, Belgium)
- İmmersiyon yağı (İmmesion oil, Merck Millipore, Germany)
- Entellan (Merck Millipore, Germany)
- Sperm yıkama solüsyonu (Sperm wash medium, Vitrolife, Sweden)

3.3. YÖNTEMLER

3.3.1. Hazırlık Aşaması

3.3.1.1. Etik kurul izni ve bilimsel araştırma projesi (BAP) desteği

“Astenozoospermili ve normospermili hastaların *in vitro* sperm parametreleri üzerine pentoksifilin doza ve uygulama süresine bağlı etkilerinin araştırılması” başlıklı çalışmamız için Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Başkanlığına destekleyici Prof. Dr. Elvan Özbek tarafından yapılan 27.10.2014 tarihli 123 sayılı başvurumuz etik ve bilimsel açıdan incelenerek uygun bulunmuştur (Ek 1, 02.12.2014 tarih ve 10 sayılı Etik Kurul Kararı).

Çalışmamız, Sakarya Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından 15.05.2015 tarihinde SABYLTEZ 2015-80-01-001 no’lu tez proje desteği ile finanse edilmiştir.

3.3.1.2. Hasta gruplarının belirlenmesi

Çalışmamızın yapılabilmesi için alınan Etik Kurul onayı ile T.C. Sağlık Bakanlığı Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi (SÜEAH) Üroloji polikliniğine herhangi bir nedenle başvuran ve çalışmaya katılmayı kabul eden 18 yaşından büyük gönüllülerden bilgilendirilmiş onam formu alındı. Çalışmamıza katılmayı kabul eden

hastalar Tablo 1' de tanımlandığı şekilde normospermili (n=20) ve astenozoospermili (n=20) olmak üzere 2 grup olarak düzenlendi.

3.3.1.3.Semen örneklerin toplanması

Semen örnekleri, 3-5 günlük cinsel perhiz sonrası SÜEAH Androloji laboratuvarına gelen hastalardan mastürbasyon yöntemi ile, hastanın adının-soyadının yazılı olduğu steril kaplara, genel bilgiler bölümünde 2.1.3.1.1 numaralı alt başlıkta belirtilen semen toplama kriterlerine uygun biçimde alındı (Delilbaşı 2008). Semen alındığı saat not edildi. 37°C'de etüvde 20 dk boyunca likefiye olması için bekletildi. Turnusol kağıdı ile pH değerlendirmesi yapıldı. Cinsel perhiz süresi, viskozite, hacim, renk ve hastaya özel likefaksiyon zamanı kaydedildi.

3.3.1.4. Pentoksifilin solüsyonunun hazırlanması

Pentoksifilin 3,4 mM; 4,8 mM ve 5,6 mM konsantrasyonlarını elde edebilmek için, hassas terazide toz halindeki pentoksifilinden 10 mg, 13,4 mg ve 15 mg tartıldı. Tartılan pentoksifilin üzerine enjektör ile 1ml sperm wash solüsyonu ilave edildi ve pipetaj yapılarak homojenite sağlandı. Hazırlanan bu stok solüsyonları üzerine ayrı ayrı 9 ml distile su ilave edilerek 2500 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Böylece pentoksifilin solüsyonu hazırlanmış oldu.

3.3.2. Uygulama Aşaması

3.3.2.1. Solüsyon uygulanması

Astenozoospermi veya normospermi olduğu saptanan semen örneklerinin her bir kontrol ve üç deney grubu olarak kullanılmak üzere dört eşit parçaya ayrıldı. Her bir semen örneğinin üç deney grubundan birine 3,6 mM, diğerine 4,8 mM ve diğerine de 5,4 mM pentoksifilin solüsyonu ilave edildi. Semen örneği ve pentoksifilin solüsyonu 1:1 oranında karıştırıldı. Her bir semen örneğinin kontrol grubuna ise pentoksifilin yerine sperm wash solüsyonu uygulandı. Her bir grubun semen örnekleri 37°C etüve konarak hem 10'uncu dk sonunda hem de 20'inci dk sonunda analizleri yapıldı.

3.3.2.2. Sperm vitalitesinin değerlendirilmesi

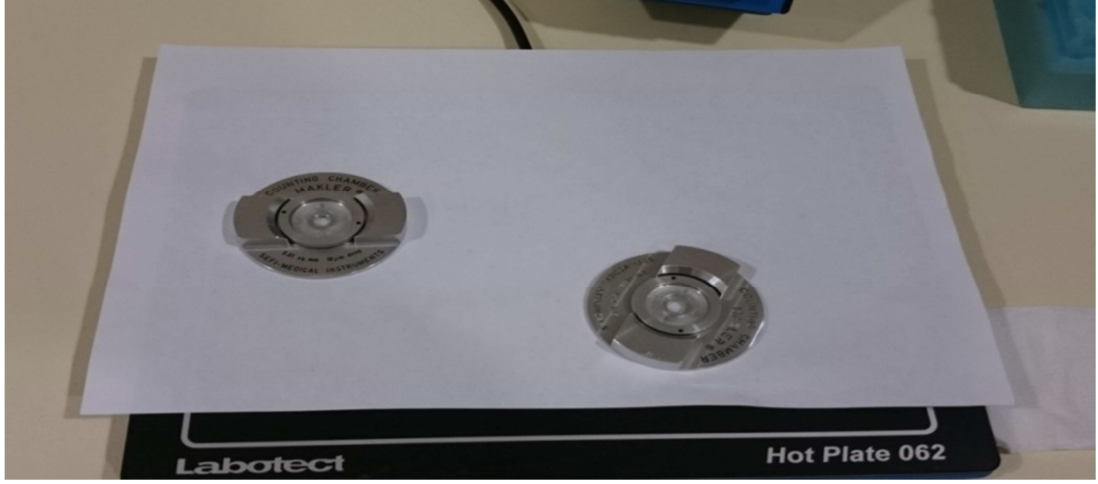
Çalışmada sperm vitalitelerinin değerlendirilmesi için Eosin-Y vitalite boyası kullanıldı. Bu amaçla, hastalardan alınan semen örnekleri pipetajla homojenize

edildikten sonra, kontrol ve deney gruplarına ait örneklerin herbirinden 50 µl semen alınarak iki ayrı deney tüpüne eşit olarak dağıtıldı. Tüplerin ikisine de 2 damla Reagent 1 (Eosin Y solüsyonu) eklendi, 30 sn beklendikten sonra üzerine 3 damla Reagent 2 (Nigrosin solüsyonu) eklenerek karışması için vortekslendi. Eosin boyası spermleri boyamak için, nigrosin boyası ise zemini boyamak için kontrast olarak kullanıldı. Reagent 2 tüpe eklendikten 30 sn sonra semen-boya karışımından pastör pipeti ile bir damla alınarak lam üzerine yayma yapıldı. Semen yayması oda ısısında kuruduktan sonra, kamera ataçmanlı ışık mikroskopunda (Nikon Nikon DS-Fi2, Japan) incelendi.

Vitalite değerlendirmesi için, semen yayma preparatlarına immersiyon yağı damlatıldıktan sonra kamera ataçmanlı ışık mikroskopunun x100 büyütme objektifi altında spermler değerlendirildi. Ölü spermler, membran permeabilitesi bozulduğundan Eosin Y boyasını almalarına bağlı olarak pembe renkte izlendi. Canlı spermler eozini sitoplazmalarına almadığından soluk beyaz renkte izlendi. Her preparatta rastgele belirlenen bir mikroskobik alan içinde pembe boyanmış (ölü) ya da eosini almamış soluk renkli (canlı) toplam 100 adet sperm sayılarak bunların içindeki ölü spermlerin yüzdesi hesaplandı.

3.3.2.3. Sperm sayısı ve motilitesinin değerlendirilmesi

Semen örneklerindeki sperm sayısını ve motilitesini belirlemek için standart manuel teknikler (WHO laboratory manual 2010) kullanıldı. Makler sayım kamarasına (Resim 1) 10 µl semen koyulduktan sonra kamera ataçmanlı ışık mikroskopuna yerleştirilerek x20 objektif büyütmesinde sperm sayısı ve motilitesi değerlendirildi. Motilite bakımından spermler, genel bilgiler bölümünde sayfa 15’de açıklandığı şekilde, progresif hareketli, nonprogresif hareketli ve hareketsiz sperm olmak üzere üç ayrı hareketlilik kategorisine göre gruplandırıldı.



Resim 1. Makler sperm sayım kamarası



Resim 2. Kamera ataçmanlı ışık mikroskobu

3.3.3. İstatiksel Analiz

Çalışmada kullanılan değişkenlere ait verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov normallik testi ile değerlendirildi ve tüm değişkenlerin normal dağılıma uygun olduğu görüldü. Buna göre her bir semen örneğinin 4 çalışma grubu için (istatistiksel kıyaslama yapılırken dört farklı konsantrasyon değeri olarak kabul edildi) 3 ayrı hareketlilik kategorisi göz önüne alınarak iki farklı inkübasyon süresine (10 dk ve 20 dk) göre normospermi ve astenozoospermi grupları arasındaki karşılaştırmalarda bağımsız iki örneklem t testi kullanıldı. Normospermi ve

astenozoospermi gruplarında ayrı ayrı olmak üzere, ayrıca 3 farklı hareketlilik gruplamasında ve 4 farklı konsantrasyon gruplamasında ayrı ayrı olmak üzere 10 dk ve 20 dk inkübe edilen örnekler arasındaki karşılaştırmalarda bağımlı iki örneklem *t* testi kullanıldı.

Normospermi ve astenozoospermi gruplarında ayrı ayrı olmak üzere, ayrıca 3 farklı hareketlilik gruplamasında ve 10 dk ve 20 dk inkübe edilen örneklerde ayrı ayrı olmak üzere 4 farklı konsantrasyon arasındaki karşılaştırmalarda tekrarlı ölçümlerde varyans analizi kullanıldı. Tekrarlı ölçümlerde varyans analizi sonucunda önemli fark bulunması durumunda ikili karşılaştırma testi olarak Bonferroni testi kullanıldı.

Çalışmada vitalite değerleri için canlı ve ölü sperm yüzdeleri yönünden 4 çalışma grubu için (istatistiksel kıyaslama yapılırken dört farklı konsantrasyon değeri olarak kabul edildi) iki farklı inkübasyon süresine (10 dk ve 20 dk) göre normospermi ve astenozoospermi grupları arasındaki karşılaştırmalarda bağımsız iki örneklem *t* testi kullanıldı. Normospermi ve astenozoospermi gruplarında ayrı ayrı olmak üzere, ayrıca canlı ve ölü sperm yüzdeleri yönünden 4 farklı konsantrasyon gruplamasında ayrı ayrı olmak üzere 10 dk ve 20 dk inkübe edilen örnekler arasındaki karşılaştırmalarda bağımlı iki örneklem *t* testi kullanıldı.

Normospermi ve astenozoospermi gruplarında ayrı ayrı olmak üzere, ayrıca canlı ve ölü sperm yüzdeleri yönünden 10 dk ve 20 dk inkübe edilen örneklerde ayrı ayrı olmak üzere 4 farklı konsantrasyon arasındaki karşılaştırmalarda tekrarlı ölçümlerde varyans analizi kullanıldı.

Hareketlilik ve canlı-ölü sperm yüzdeleri kıyaslamasında sperm sayılarının aritmetik ortalaması “Ort” şeklinde ve standart sapması “SS” şeklinde gösterildi. *p* değerleri 0,05’in altında hesaplandığında ($p < 0,05$) istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Hesaplamalar hazır istatistik yazılımı ile yapıldı (IBM SPSS Statistics, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.).

4. BULGULAR

Çalışmamızda SÜEAH Androloji laboratuvarına başvuran 20 tane astenozoospermili ve 20 tane normospermili hastanın semen analizleri WHO laboratory manual 2010 kriterlerine (Tablo 1) göre yapıldı. Hasta semen örneklerinde motilite ve morfoloji değerlendirmeleri öncesi yapılan pH, viskozite ve hacim incelemelerine ait ortalama değerler Tablo 2’de verildi.

Tablo 2. Semen örneklerin pH, viskozite ve hacim ortalama değerleri

Değerlendirme	Normal değerler (WHO laboratory manual 2010)	Normospermili Hasta Grubu	Astenozoospermili Hasta Grubu
pH	7,2-8	7,3	7,3
Viskozite	+	++	++
Hacim	2-6 ml	3,6 ml	3,2 ml

4.1. Motilite Bulguları

Kontrol grubunda ve pentoksifilin üç farklı konsantrasyondaki (3,6 mM; 4,8 mM ve 5,4 mM) uygulamalarında hem 10 dk hem de 20 dk’lık uygulama süresi sonunda astenozoospermili hasta grubunda progresif hareketli (A) sperm sayısı normospermili hasta grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha azdı (Tablo 3). Kontrolle kıyaslandığında, farklı dozda pentoksifilin uygulanan deney gruplarında hem normospermili hem de astenozoospermili hastalarda progresif hareketli (A) sperm sayılarının, pentoksifilin artışı ile doğru orantılı olarak daha fazla olduğu saptandı (Tablo 3). Bütün deney gruplarında 20 dk’daki progresif hareketli (A) sperm sayısı 10 dk’daki sperm sayısına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazla bulundu (Tablo 3).

Normospermili hasta gruplarında progresif hareket (A) yönünden kontrol grubu ve diğer deney grupları (3,6 mM, 4,8 mM ve 5,4 mM) arasında çoklu karşılaştırma testi

yapılmıştır (Tablo 4). Yapılan testte, kontrol ile 3,6 mM pentoksifilin uygulanan grup arasında 10 dk ve 20 dk'da sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir. Kontrol ile 4,8 mM pentoksifilin uygulanan grup arasında 10 dk inkübasyonda sperm hareketlerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı iken, 20 dk'daki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Kontrol ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan grup arasında hem 10 dk hem de 20 dk'lık inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. Normospermili hastalarda kontrol ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan grup arasında 20 dk'da görülen bu artış, tüm deney grupları arasındaki en anlamlı artış olarak saptanmıştır. Progresif hareketli sperm sayısındaki artış bakımından en yüksek fark 5,4 mM konsantrasyonda 20 dk'da gözlenmiştir. Normospermili hastalarda pentoksifilin'in hem uygulama süresinde hem de konsantrasyonundaki artışla birlikte progresif hareketli (A) sperm sayısında artış saptanmıştır (Tablo 4).

Normospermili hasta gruplarında progresif hareket (A) yönünden deney grupları (3,6 mM; 4,8 mM ve 5,4 mM) arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda 3,6 mM ile 4,8 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında hem 10 dk hem de 20 dk inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. 3,6 mM ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında yapılan kıyaslamada hem 10 dk hemde 20 dk'da istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. 3,6 mM ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında 20 dk'da görülen bu artış deney grupları arasındaki en anlamlı artış olmuştur. 4,8 mM ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. 4,8 mM ile 5,4 mM ve 3,6 mM ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasındaki karşılaştırmalarda gözlenen istatistiksel artış ve hasta grupları arasındaki fark normospermili hastalarda 5,4 mM konsantrasyonun en fazla etkili konsantrasyon olduğunu göstermiştir (Tablo 4).

Astenozoospermili hasta gruplarında progresif hareket (A) yönünden, kontrol grupları ve deney grupları (3,6 mM; 4,8 mM ve 5,4 mM) arasında çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. Yapılan testte, kontrol ile 3,6 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında 10 dk ve 20 dk'da sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış

görülmüştür. Kontrol ile 4,8 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında 10 dk ve 20 dk'da sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. Kontrol ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında hem 10 dk hem de 20 dk'lık inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. Kontrol ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında 20 dk'da görülen bu artış oranı tüm gruplar arasındaki en anlamlı artış olmuştur. Sperm hareketi bakımından en yüksek fark 5,4 mM konsantrasyonda 20 dk'da gözlenmiştir. Astenozoospermili hastalarda pentoksifilin hem uygulama süresinde hem de konsantrasyonundaki artışla doğru orantılı olarak progresif hareketli (A) sperm sayısında artış olmuştur. Bu artış, kontrol grubu ile kıyaslandığında bütün gruplarda istatistiksel düzeyde anlamlı bir artış olarak saptanmıştır (Tablo 4).

Astenozoospermili hasta gruplarında progresif hareket (A) yönünden deney grupları (3,6 mM; 4,8 mM ve 5,4 mM) arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda 3,6 mM ile 4,8 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında hem 10 dk hem de 20 dk inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. 3,6 mM ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında yapılan kıyaslamada hem 10 dk hemde 20 dk'da istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir. 3,6 mM ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında 20 dk'da görülen bu artış deney grupları arasındaki en anlamlı artış olmuştur. 4,8 mM ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. 4,8 mM ile 5,4 mM ve 3,6 mM ile 5,4 mM pentoksifilin uygulama grupları arasındaki karşılaştırmalarda gözlenen istatistiksel artış ve hasta grupları arasındaki fark normospermili hastalarda 5,4 mM konsantrasyonun hareketliliği en çok arttıran konsantrasyon olduğunu göstermiştir. İstatistiksel artış ve aradaki fark değeri pentoksifilin uygulamasının astenozoospermili hasta gruplarında, normospermili hasta gruplarına göre daha etkin şekilde hareketliliği arttırdığını göstermiştir (Tablo 4).

Tablo 3. Pentoksifilin uygulama süresinin progresif hareketli (A) sperm sayısına etkisini gösteren hasta grupları arasındaki kıyaslama sonuçları

Sperm Hareketi	Deney Grupları	Süre	Normospermili Hasta Grubu		Astenozoospermili Hasta Grubu		¹ p
			Ort±SS	Min-Max	Ort±SS	Min-Max	
A	Kontrol	10. dk	19,85±8,8	6-38	6,8±6,69	1-24	<0,001
		20. dk	22,05±8,5	7-40	8,7±6,97	2-27	<0,001
		² p	0,003		0,001		
	3,6 mM	10. dk	20,65±7,4	3-31	10,8±7,14	4-29	0,001
		20. dk	22,15±7,4	8-35	12,5±7,31	3-31	0,001
		² p	0,029		<0,001		
	4,8 mM	10. dk	22,4±7,44	5-32	13,95±8,17	5-34	0,003
		20. dk	23,9±7,87	7-34	15,8±7,64	5-35	0,003
		² p	0,009		0,001		
	5,4 mM	10. dk	24,25±8,0 6	7-35	18,3±7,3	9-35	0,020
		20. dk	26,15±7,2	10-38	20,25±7,61	8-39	0,024
		² p	0,001		0,001		

Tablo 4. Pentoksifilin uygulama süresi ve dozun progresif hareketli (A) sperm sayısına etkisini gösteren çoklu karşılaştırma testi

Sperm Hareketi	İnkübasyon süresi	İkili Karşılaştırmalar	Normospermili Hasta Grubu		Astenozoospermili Hasta Grubu	
			Fark	p	Fark	p
A	10 dk	Kontrol-3,6 mM	-0,800	1,000	-4,000*	<0,001
		Kontrol - 4,8mM	-2,550*	0,017	-7,150*	<0,001
		Kontrol-5,4mM	-4,100*	0,002	-11,500*	<0,001
		3,6 mM – 4,8 mM	-1,750*	0,002	-3,150*	<0,001
		3,6 mM – 5,4 mM	-3,600*	<0,001	-7,500*	<0,001
		4,8 mM– 5,4 mM	-1,850*	0,007	-4,350*	<0,001
	20 dk	Kontrol – 3,6 mM	-0,100	1,000	-3,800*	<0,001
		Kontrol-4,8 mM	-1,850	0,166	-7,100*	<0,001
		Kontrol-5,4mM	-4,400*	0,002	-11,550*	<0,001
		3,6 mM – 4,8 mM	-1,750*	0,014	-3,300*	<0,001
		3,6 mM – 5,4 mM	-4,000*	<0,001	-7,750*	<0,001
		4,8 mM– 5,4 mM	-2,250*	<0,001	-4,450*	<0,001

Pentoksifilin uygulama süresinin nonprogresif hareketli (B) sperm sayısına etkisini gösteren normospermili hasta gruplarında kontrol, 3,6 mM ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında 10 dk ve 20 dk süresinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. 3,6 mM ile 4,8 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında 10 dk ve 20 dk süresinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir. Astenozoospermili hasta gruplarında kontrol ile 3,6 mM ve 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında 10 dk ve 20 dk sürelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. Normospermili hasta gruplarında ve astenozoospermili hasta gruplarında 10 dk ve 20 dk sürelerinde yapılan kıyaslamada 20'inci dk istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken, 10'uncu dk süresinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir. Bu görülen istatistiksel fark pentoksifilin maddesinin 10 dk ve 20 dk etkinliğinin farklı olduğunu ve 20 dk'lık uygulamalarda daha etkin olduğunu göstermiştir (Tablo 5).

Normospermili hasta gruplarında nonprogresif hareket (B) yönünden kontrol grupları ve deney grupları (3,6 mM; 4,8 mM ve 5,4 mM) arasında çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. Yapılan testte, kontrol ile 3,6 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken, 20 dk'da istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir. Kontrol - 4,8 mM konsantrasyonda 10 dk inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken, 20 dk'da istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir. Kontrol ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında hem 10 dk hem de 20 dk'lık inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir (Tablo 6).

Normospermili hasta gruplarında nonprogresif hareket (B) yönünden deney grupları (3,6 mM; 4,8 mM ve 5,4 mM) arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda 3,6 mM ile 4,8 mM ve 3,6 mM ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında hem 10 dk hem de 20 dk inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir. 4,8 mM ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında 10 dk inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken, 20 dk'da istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir (Tablo 6).

Astenozoospermili hasta gruplarında nonprogresif hareket (B) yönünden kontrol grupları ve deney grupları (3,6 mM; 4,8 mM ve 5,4 mM) arasında çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. Yapılan testte, kontrol ile 3,6 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında 10 dk inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken, 20 dk'da istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir. Kontrol ile 4,8 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında hem 10 dk hem de 20 dk'lık inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir. Kontrol ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında hem 10 dk hem de 20 dk'lık inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir (Tablo 6).

Astenozoospermili hasta gruplarında nonprogresif hareket (B) yönünden deney grupları (3,6 mM; 4,8 mM ve 5,4 mM) arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda 3,6 mM ile 4,8 mM; 3,6 mM ile 5,4 mM ve 4,8 mM ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında hem 10 dk hem de 20 dk inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir (Tablo 6).

Tablo 5. Pentoksifilin uygulama süresinin nonprogresif hareketli (B) sperm sayısına etkisini gösteren hasta grupları arasındaki kıyaslama sonuçları

Sperm Hareketi	Deney Grupları	Süre	Normospermili Hasta Grubu		Astenozoospermili Hasta Grubu		p
			Ort±SS	Min-Max	Ort±SS	Min-Max	
B	Kontrol	10. dk	3,85±3,08	0-12	3,4±2,89	0-10	0,458
		20. dk	6,4±3,52	2-15	4,6±3,82	1-17	0,036
		² p	0,001		0,065		
	3,6 mM	10. dk	5,3±3,56	1-15	4,7±2,96	1-15	0,442
		20. dk	7,8±3,5	5-17	5,2±2,95	0-12	0,008
		² p	<0,001		0,322		
	4,8 mM	10. dk	5,8±3,07	0-12	4,7±3,81	0-17	0,124
		20. dk	6,75±3,63	0-13	4,5±2,95	0-13	0,021
		² p	0,105		0,836		
	5,4 mM	10. dk	4±2,75	0-8	4,65±3,01	2-14	0,691
		20. dk	7,2±3,79	2-15	4,7±2,79	0-11	0,026
		² p	0,001		0,904		

Tablo 6. Pentoksifilin uygulama süresi ve dozun nonprogresif hareketli (B) sperm sayısına etkisini gösteren çoklu karşılaştırma testi

Sperm Hareketi	İnkübasyon süresi	İkili Karşılaştırmalar	Normospermili Hasta Grubu		Astenozoospermili Hasta Grubu	
			Fark	p	Fark	p
B	10 dk.	Kontrol-3,6 mM	-1,450*	0,016	-1,300*	0,034
		Kontrol-4,8 mM	-1,950*	0,019	-1,300	0,367
		Kontrol-5,4 mM	-0,150	1,000	-1,250	0,063
		3,6 mM – 4,8 mM	-0,500	1,000	<0,001	1,000
		3,6 mM – 5,4 mM	1,300	0,358	0,050	1,000
		4,8 mM– 5,4 mM	1,800*	0,031	0,050	1,000
		Kontrol – 3,6 mM	-1,400	0,087	-0,600	1,000
	20 dk.	Kontrol – 4,8 mM	-0,350	1,000	0,100	1,000
		Kontrol - 5,4 mM	-0,800	1,000	-0,100	1,000
		3,6 mM – 4,8 mM	1,050	0,442	0,700	1,000
		3,6 mM – 5,4 mM	0,600	1,000	0,500	1,000
		4,8 mM– 5,4 mM	-0,450	1,000	-0,200	1,000

Pentoksifilin uygulama süresinin hareketsiz (C) sperm sayısına etkisini araştırmak için normospermili hasta gruplarında kontrol, 3,6 mM ve 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda 10 dk ve 20 dk inkübasyon süreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir. Astenozoospermili hasta gruplarında kontrol, 3,6 mM ve 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında 10 dk ve 20 dk inkübasyon süresinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür. Normospermili hasta gruplarında ve astenozoospermili hasta gruplarında 10 dk ve 20 dk inkübasyon süresinde arasındaki kıyaslamada istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Tablo 6).

Normospermili hasta gruplarında hareketsiz sperm sayısı (C) yönünden kontrol ve deney grupları (3,6 mM; 4,8 mM ve 5,4 mM) arasında çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. Yapılan testte, kontrol ile 3,6 mM, kontrol ile 4,8 mM ve kontrol ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında hem 10 dk hemde 20 dk inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmemiştir (Tablo 7).

Normospermili hasta gruplarında hareketsiz sperm sayısı (C) yönünden deney grupları (3,6 mM; 4,8 mM ve 5,4 mM) arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda 3,6 mM ile 4,8 mM, 3,6 mM ile 5,4 mM ve 4,8 mM ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında hem 10 dk hem de 20 dk inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmemiştir (Tablo 7).

Astenozoospermili hasta gruplarında hareketsiz sperm sayısı (C) yönünden, kontrol grupları ve deney grupları (3,6 mM; 4,8 mM ve 5,4 mM) arasında çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. Yapılan testte, kontrolle kıyasla 3,6 mM pentoksifilin uygulanan grupta 10 dk inkübasyonda istatistiksel olarak anlamlı bir azalış görülrken, 20 dk'da istatistiksel olarak anlamlı bir azalış görülmemiştir. Kontrole kıyasla 4,8 mM pentoksifilin uygulanan grupta 10 dk inkübasyonda hareketsiz sperm sayısında (C) istatistiksel olarak anlamlı bir azalış görülrken, 20 dk'da istatistiksel olarak anlamlı bir azalış görülmemiştir. Kontrole kıyasla 5,4 mM pentoksifilin uygulanan grupta

arasında hem 10 dk hem de 20 dk'lık inkübasyonda hareketsiz sperm sayısında (C) istatistiksel olarak anlamlı bir azalış görülmüştür (Tablo 8).

Astenozoospermili hasta gruplarında hareketsiz sperm sayısı (C) yönünden deney grupları (3,6 mM; 4,8 mM ve 5,4 mM) arasında yapılan ikili karşılaştırmalarda 3,6 mM ile 4,8 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında 10 dk inkübasyonda konsantrasyon arttıkça hareketsiz sperm sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir azalış görülürken, 20 dk'da istatistiksel olarak anlamlı bir azalış görülmemiştir. 3,6 mM ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında yapılan kıyaslamada yüksek konsantrasyonda hem 10 dk hem de 20 dk'lık inkübasyonda istatistiksel olarak anlamlı bir azalış gözlenmiştir. 4,8 mM ile 5,4 mM pentoksifilin uygulanan gruplar arasında yapılan kıyaslamada da yüksek konsantrasyonda hem 10 dk hem de 20 dk'lık inkübasyonda istatistiksel olarak anlamlı bir azalış gözlenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı olan bu azalış ve aradaki fark değeri pentoksifilin uygulamasının astenozoospermili hasta gruplarında, normospermili hasta gruplarına göre daha etkili olduğunu göstermiştir. Hareketsiz sperm sayısı (C) azalırken, hareketli sperm sayısının artması, pentoksifilin hareketsiz spermelere hareketlilik kazandırdığını düşündürmektedir (Tablo 8).

Tablo 7. Pentoksifilin uygulama süresinin hareketsiz (C) sperm sayısına etkisini gösteren hasta grupları arasındaki kıyaslama sonuçları

Sperm Hareketi	Deney Grupları	Süre	Normospermili Hasta Grubu		Astenozoospermili Hasta Grubu		¹ p
			Ort±SS	Min-Max	Ort±SS	Min-Max	
C	Kontrol	10. dk	11,4±5,55	3-25	16,4±6,29	6-30	0,012
		20. dk	10,55±4,27	5-23	14,1±7,06	4-33	0,090
		² p	0,069		0,008		
	3,6 mM	10. dk	11,35±5,02	4-24	13,45±5,77	4-26	0,322
		20. dk	11±5,33	4-24	12,1±5,12	4-23	0,385
		² p	0,738		0,038		
	4,8 mM	10. dk	10,2±4,62	2-21	12,6±4,6	4-22	0,061
		20. dk	10,45±4,51	3-21	11,6±4,49	3-20	0,231
		² p	0,291		0,016		
	5,4 mM	10. dk	10,2±5,51	4-25	9,8±4,36	3-19	0,924
		20. dk	8,55±3,61	4-20	8,7±3,71	3-17	0,828
		² p	0,099		0,002		

Tablo 8. Pentoksifilin uygulama süresi ve dozun hareketsiz (C) sperm sayısına etkisini gösteren çoklu karşılaştırma testi

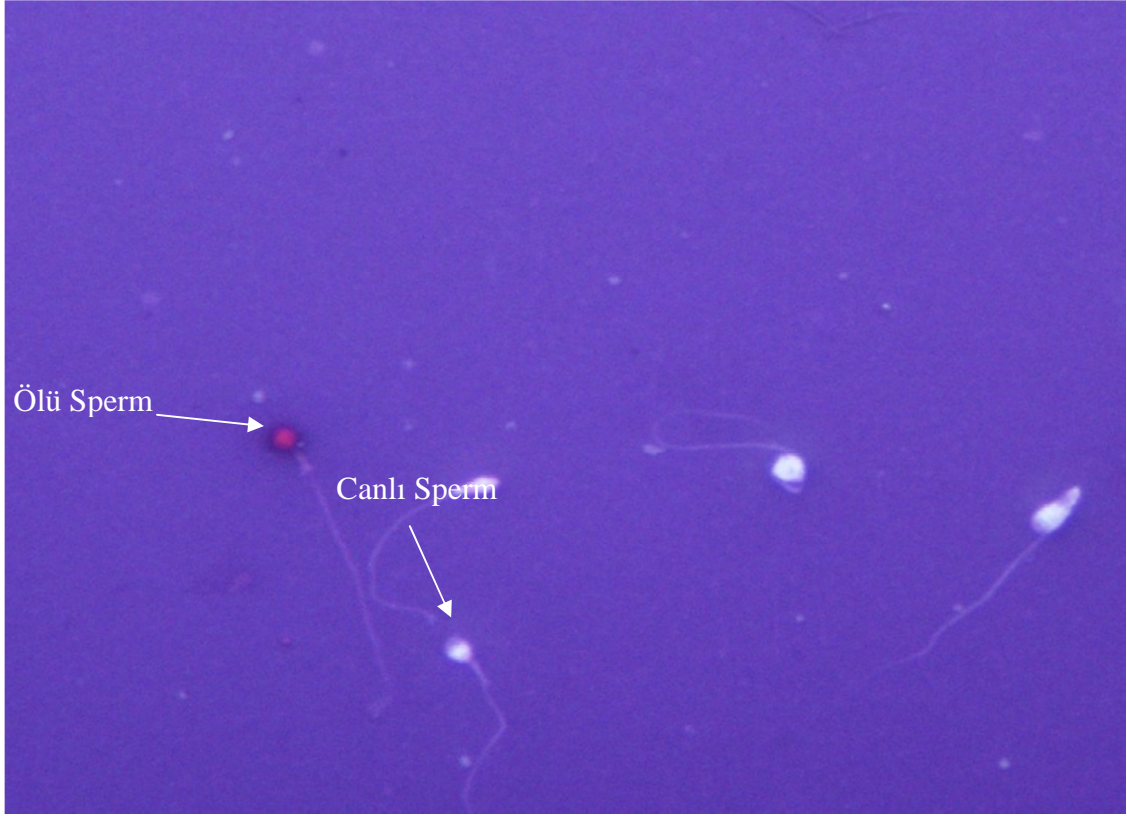
Sperm Hareketi	İnkübasyon süresi	İkili Karşılaştırmalar	Normospermili Hasta Grubu		Astenozoospermili Hasta Grubu	
			Fark	p	Fark	p
C	10 dk.	Kontrol – 3,6 mM	0,050	1,000	2,950*	0,001
		Kontrol – 4,8 mM	1,200	1,000	3,800*	<0,001
		Kontrol – 5,4 mM	1,200	1,000	6,600*	<0,001
		3,6 mM – 4,8 mM	1,150	0,131	0,850	0,750
		3,6 mM – 5,4 mM	1,150	0,927	3,650*	<0,001
		4,8 mM – 5,4 mM	<0,001	1,000	2,800*	<0,001
	20 dk.	Kontrol – 3,6 mM	-0,450	1,000	2,000	0,327
		Kontrol- 4,8 mM	0,100	1,000	2,500	0,200
		Kontrol – 5,4 mM	2,000	0,298	5,400*	0,001
		3,6 mM – 4,8 mM	0,550	1,000	0,500	1,000
		3,6 mM – 5,4 mM	2,450	0,085	3,400*	<0,001
		4,8 mM - 5,4 mM	1,900	0,122	2,900*	<0,001

4.2. Vitalite Bulguları

Normospermi ve astenozoospermili hasta grupları arasında yapılan vitalite değerlendirmelerinde (Resim 3, Resim 4) kontrol grubu ile deney grubu arasında (3,6 mM; 4,8 mM ve 5,4 mM) canlı ve ölü sperm yüzdesi yönünden yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel olarak bir fark saptanmadı (Tablo 9, Tablo 10).

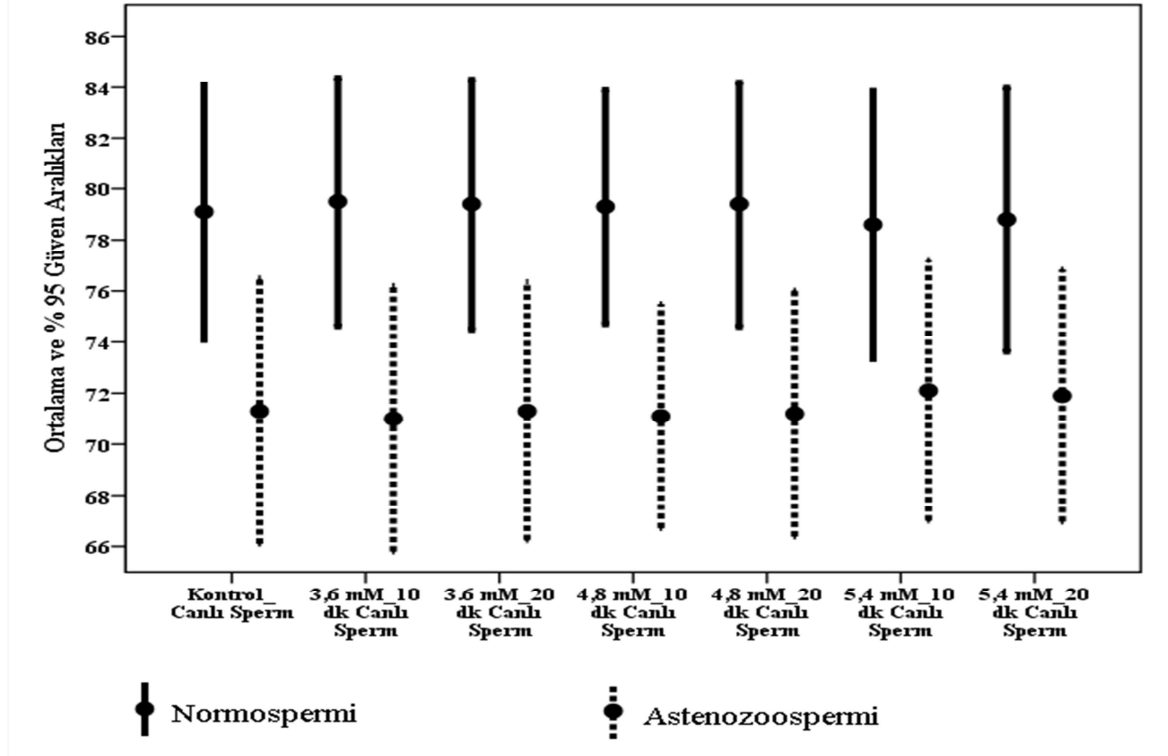


Resim 3.Kontrol grubu vitalite boyaması (semen+ sperm yıkama solüsyonu)



Resim 4: Deney grubu vitalite boyaması (semen+pentoksifilin solüsyonu)

Tablo 9. Hasta gruplarında, pentoksifilin uygulama süresi ve dozunun canlılık üzerine etkisini gösteren sonuçlar



Tablo 10. Pentoksifilin uygulama süresinin ve dozun canlılık üzerine etkisini gösteren kıyaslama sonuçları

Sperm Hareketi	Konsantrasyon	Süre	Normospermili Hasta Grubu		Astenozoospermili Hasta Grubu		
			Ort±SS	Min-Max	Ort±SS	Min-Max	
Canlı Sperm	Kontrol		79.1±7.03	65-90	71.3±7.27	62-83	
		10. dk	79.5±6.84	65-90	71±7.27	61-82	
		20. dk	79.4±6.88	65-90	71.3±7.07	61-82	
	3,6 mM		² p	0.678		0.343	
		10. dk	79.3±6.43	80-88	71.1±6.14	63-81	
		20. dk	79.4±6.72	65-89	71.2±6.73	62-82	
	4,8 mM		² p	0.428		0.798	
		10. dk	78.6±7.37	63-90	72.1±7.13	64-82	
		20. dk	78.8±7.25	64-90	71.9±6.9	63-82	
	5,4 mM		² p	0.443		0.555	
		10. dk	20.9±7.03	10-35	28.7±7.27	17-38	
		20. dk	20.5±6.84	10-35	29.4±7.01	18-39	
	Ölü Sperm	3,6 mM	20. dk	20.6±6.88	10-35	28.7±7.07	18-39
				² p	0.678		0.173
			10. dk	20.7±6.43	12-35	28.9±6.14	19-37
4,8 mM		20. dk	20.6±6.72	11-35	28.8±6.73	18-38	
			² p	0.678		0.798	
		10. dk	20.4±8.21	10-37	27.9±7.13	18-36	
5,4 mM		20. dk	21.2±7.25	10-36	28.1±6.9	18-37	
			² p	0.417		0.555	

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Çiftlerin yaklaşık %15'i korunmasız geçen düzgün bir cinsel hayata rağmen ilk bir yıl içerisinde çocuk sahibi olamamaktadır. Olguların %20'sinde erkek tek başına sorumlu bulunurken, %30-40'ında kadın faktörüne eşlik eden bir patoloji mevcuttur. Dolayısıyla, infertil çiftlerin yarısında erkek faktörü söz konusudur. Erkek infertilitesi vakalarında yaklaşık %40-60'nın altında yatan neden bilirse de, birçoğunda etken ortaya konamamakta ve idiopatik infertilite olarak kabul edilmektedir. Erkek infertilitesinde tedaviden yeterli sonuç alınabilmesi için, tanının iyi konması gerekir (Özgök 2008, WHO laboratory manual 2010).

İnfertilite sebebiyle başvuran çiftler üremeye yardımcı tekniklere yönelmektedirler. Bunlardan günümüzde en çok tercih edilenleri IUI, IVF ve ICSI yöntemleridir (ASRM 2011). Klasik IVF, pek çok infertil çift için etkili bir tedavi yöntemi olmasına rağmen, şiddetli erkek infertilitesinin görüldüğü vakalarda etkili değildir (Wilkes, Chinn, Murdoch and Rubin 2009). Böyle durumlarda bireyin spermatozoonunun direkt oosit içine enjekte edildiği ICSI tekniği uygulanmaktadır. Bu tekniğe rağmen, halen ICSI sikluslarının % 1-5'i başarısızlıkla sonuçlanmaktadır. Bu başarısız sonuçlar bilim adamlarını döllenme oranlarını arttırmaya yönelik pek çok tedavi yoluna sevk etmiştir (Nasr- Esfahani, Deemeh and Tavalae 2010). Erkek infertilitesinde kalıcı iyileşmenin sağlanması amacıyla spesifik medikal ve cerrahi tedaviler uygulanabilmektedir.

Pentoksifilin infertilite tedavisi için kullanılan medikal tedavi yöntemlerinden biridir. 20 yıldan daha uzun süredir çeşitli hastalıkları tedavi amacı ile kullanılmaktadır. Son zamanlarda, pentoksifilin spermatozoon fonksiyonlarını geliştirici rolü dikkat çekmektedir. Günümüzde yaygın olarak IVF laboratuvarlarında erkek infertilitesinde tedaviye yönelik olarak kullanılan stimüle ajanlardan biri haline gelmiştir (Safarinejat 2011).

Androloji laboratuvarlarında pentoksifilin kullanımı, özellikle astenozoospermili hastalarda, hem dondurularak saklanmış hem de taze örneklerde spermatozoonların motilitesinin geliştirilmesinde kullanılmıştır (Mehta and Sigman 2014). Pentoksifilin semene eklendiğinde, hücre içi cAMP düzeyini, glikolizisi ve ATP yapımını

etkileyerek spermatozoon motilitesini arttırmaktadır (Safarinejat 2011). Aynı zamanda canlı ama immotil spermatozoonlarda motiliteyi de başlattığı gözlenmiştir (Tesarik, Thebault and Testart 1992). Aynı zamanda pentoksifilin, spermatozoonun zona pellisuda'ya (ZP) bağlanmasını arttırmakta velipid peroksidasyonunda etki ederek spermatozoonların membran akışkanlığını geliştirmektedir (Mehta and Sigman 2014).

Yaptığımız çalışmamızda pentoksifilinin normospermili ve astenozoospermili hasta gruplarında progresif hareketli (A) sperm sayısına göre kıyaslandığında tüm konsantrasyon (3,6 mM; 4,8 mM ve 5,4 mM) ve tüm sürelerde (10 dk ve 20 dk) istatistiksel olarak anlamlı artış vardır (Tablo 3). Pentoksifilin kullanımıyla ilgili yapılan çalışmalarda sperm fonksiyonları ve erkek faktör infertilitesinin tedavi sonuçları üzerinde pentoksifilinin yararlı etkileri çalışmalarda gösterilirken bazı çalışmalar da ise pentoksifilinin sperm motilitesi üzerine zararlı etkileri olduğu veya herhangi bir etkisi olmadığını söylemiştir (Aliabadi, Karimi and Talaei- Khozani 2013).

Pentoksifilinin sperm parametrelerine etkisini gözlemlemek için *in vivo* ve *in vitro* pek çok çalışma yapılmaktadır. Yapılan çalışmaların pentoksifilin kullanımıyla sperm motilite yüzdesinde belirgin artışlar olduğunu göstermektedir. Sperm fonksiyonları ve erkek faktör infertilitesinin tedavi sonuçları üzerine pentoksifilinin yararlı etkileri çalışmalarda gösterilirken bazı çalışmalar da ise pentoksifilinin sperm motilitesi üzerine zararlı etkileri olduğu veya herhangi bir etkisi olmadığını söylemiştir (Aliabadi, Karimi and Talaei- Khozani 2013).

Normospermili ve astenozoospermili hasta gruplarında sperm hareketi (A, B ve C) yönünden kontrol grupları ve deney grupları (3,6 mM; 4,8 mM ve 5,4 mM) arasında çoklu karşılaştırma testi yapılmıştır. Normospermili hasta grubunda progresif hareket (A) yönünden yapılan testte, kontrole kıyasla 3,6 mM pentoksifilin konsantrasyonlarında 10 dk ve 20 dk'da sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir. Nonprogresif hareket (B) yönünden kontrol kıyasla 3,6 mM pentoksifilin konsantrasyonların da 10 dk inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken, 20 dk'da istatistiksel olarak anlamlı bir

artış veya değişim gözlenmemiştir. Hareketsiz (C) sperm sayısı yönünden yapılan karşılaştırmalarda, kontrole kıyasla 3,6 mM pentoksifilin konsantrasyonunda hem 10 dk hem de 20 dk'lık inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmemiştir (Tablo 7). Astenozoospermili hasta gruplarında ise progresif hareket (A) yönünden, yapılan karşılaştırmada kontrole kıyasla 3,6 mM pentoksifilin konsantrasyonlarında 10 dk ve 20 dk'da sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. Nonprogresif hareket (B) yönünden yapılan karşılaştırmada, kontrol kıyasla 3,6 mM pentoksifilin konsantrasyonlarında 10 dk inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken, 20 dk'da istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir. Astenozoospermili hastalarda hareketsiz (C) yönünden yapılan karşılaştırmalarda, kontrol kıyasla 3,6 mM pentoksifilin konsantrasyonlarında 10 dk inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalış görülürken, 20 dk'da istatistiksel olarak anlamlı bir azalış görülmemiştir.

Daha önce yapılan çalışmalarda pentoksifilin birçok farklı dozda, semen örneklerinde denenmiştir. Yunes ve arkadaşları 2013'te 16 normospermili ve 5 astenozoospermili hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada, hastaların semen örneklerine Ham's F-10 medium içerisinde çözülmüş 3 mM pentoksifilin ekleyerek 1 saat inkübe etmişlerdir. Çalışma sonucunda normospermili ve astenozoospermili hastaların sperm hiperaktivitesinde anlamlı bir artış olurken, motil sperm sayısında anlamlı bir artış olmadığı rapor edilmiştir (Yunes, Fernandez, Doncel and Acosta 2013). Bahsedilen bu çalışma, pentoksifilin sperm motilitesi üzerinde olumsuz etkilerini bildiren diğer çalışmalar lehinedir (Aliabadi, Karimi and Talaei- Khozani 2013).

Yovich ve arkadaşları tarafından 1988'de yapılan bir başka çalışmada düşük dozda pentoksifilin, bizim çalışmamızda gözlemlediğimiz gibi, sperm motilitesi üzerinde olumlu etkisinin olduğu bildirilmektedir. Bu çalışmada 19 oligospermili ve 19 normospermili hasta gruplarının semen örnekleri kontrol ve deney grupları olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Deney grubu semenleri 1 mg/ml pentoksifilin içeren yıkama solüsyonları ile yıkanmıştır. Yıkama sonrası kontrol ve deney grupları hem progresif olmayan motil hem de progresif motil sperm sayılarına göre

karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda örneklerde pentoksifilin uygulamasından sonra hem hareketli spermatozoa konsantrasyonunun hem de ileri sperm motilitesinin anlamlı şekilde artmış olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca kontrol grubunda %17,6 olarak ölçülen fertilizasyon oranı, pentoksifilin uygulanan deney grubunda %22,7 olarak ölçülmüştür. Böylece, sperm hareketliliğini artırmak için pentoksifilin gibi maddelerle erkek infertilite tedavisinin sağlandığı rapor edilmiştir (Yovich, Edirisinghe, Cummins and Yovich 1988).

Yapılan başka bir çalışmada 7 normospermili ve 9 astenozoospermili hastaya 3 hafta boyunca oral olarak 800-1200 mg pentoksifilin tedavisi uygulanmıştır. Ayrıca bu hastaların semen örneklerine *in vitro* olarak PBS içerisinde çözülmüş 0,036 mM, 0,18 mM, 0,36 mM, 1,8 mM ve 3,6 mM pentoksifilin ilave edilmiştir. Tedavi sonrasında hem astenozoospermili hem de normospermili hastaların sperm motilitelerinde anlamlı bir artış gözlemlenmiştir (Shen et al 1991). Bizim çalışmamızda 3,6 mM pentoksifilin dozunda progresif hareket yönünden istatistiksel olarak anlamlı artış astenozoospermili hastalarda belirgin bir şekilde gözlenirken, normospermili hasta grubunda nonprogresif hareket yönünden belirgin bir artış gözlenmiştir.

Terriou ve arkadaşlarının 2009 yılında 10 astenozoospermili hasta üzerinde yaptığı *in vitro* çalışmada ise 3,6 mM pentoksifilin dozunda 10 dk inkübasyonda sperm motilitesi yönünden yararlı bir etki gözlenmemiştir (Terriou et al 2009).

Bizim çalışmamızda yaptığımız 3,6 mM dozunda pentoksifilin uygulaması, başka çalışmalarda oligoastenozoospermik hastaların semen örneklerinde denenmiştir. 20 adet hastada *in vitro* olarak yapılan çalışmada, pentoksifilin kullanılan deney grubundaki motil sperm sayısının pentoksifilin kullanılmayan gruba göre daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Kadıoğlu ve ark 1991, Henkel and Schill 2003).

Yapılan bir başka çalışmada 3,6 mM dozajın pentoksifilin azospermili hastalar üzerine de uygulanmıştır. 154 hastaya TESE işlemi uygulandıktan sonra; mikroenjeksiyondan önce işlem uygulanmamış kontrol grubu ile 3,6 mM pentoksifilinle 30 dk, 60 dk ve 90 dk inkübe edilmiş tedavi grupları oluşturulmuştur. Çalışma sonucunda, immotil

testiküler sperm olan örneklerde pentoksifilin uygulanmasının sperm motilitesini önemli ölçüde arttırdığı gösterilmiştir (Taşdemir, Taşdemir ve Tavukçuoğlu 1998).

Yaptığımız çalışmada normospermili hasta gruplarında progresif (A) hareket yönünden kontrole kıyasla 4,8 mM pentoksifilin konsantrasyonunda 10 dk inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken, 20 dk'da istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir. Progresif (A) hareket yönünden kontrole kıyasla 5,4 mM pentoksifilin konsantrasyonunda hem 10 dk hem de 20 dk'lık inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. Nonprogresif (B) hareket yönünden kontrole kıyasla 4,8 mM pentoksifilin konsantrasyonunda 10 dk inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülürken, 20 dk'da istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir. Kontrole kıyasla 5,4 mM pentoksifilin konsantrasyonlarında nonprogresif (B) hareket yönünden hem 10 dk hem de 20 dk'lık inkübasyonda sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir. Normospermili hasta gruplarında hareketsiz (C) sperm sayısı yönünden kontrole kıyasla 4,8 mM ve 5,4 mM konsantrasyonlarda hem 10 dk hemde 20 dk'lık inkübasyonda istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik görülmemiştir (Tablo 7).

Astenozoospermili hasta gruplarında progresif (A) hareketli sperm sayısı yönünden kontrole kıyasla 4,8 mM konsantrasyonda arasında 10 dk ve 20 dk'lık inkübasyonda istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. 5,4 mM konsantrasyonunda hem 10 dk hem de 20 dk'lık inkübasyonda kontrole kıyasla sperm hareketlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmüştür. 5,4 mM pentoksifilin konsantrasyonunda 20 dk'da görülen bu artış, tüm gruplar arasındaki en anlamlı artış olmuştur. Astenozoospermili hasta gruplarında nonprogresif hareketli (B) sperm sayısı yönünden 4,8 mM ve 5,4 mM pentoksifilin konsantrasyonlarında hem 10 dk hem de 20 dk'lık inkübasyonlarda istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmemiştir (Tablo 6). Astenozoospermili hasta gruplarında hareketsiz (C) sperm sayısı yönünden, 4,8 mM konsantrasyonunda 10 dk inkübasyonda istatistiksel olarak anlamlı bir azalış görülürken, 20 dk'da istatistiksel olarak anlamlı bir azalış görülmemiştir. Hareketsiz (C) sperm sayısı yönünden kontrole kıyasla 5,4 mM pentoksifilin konsantrasyonunda

hem 10 dk hem de 20 dk'lık inkübasyonda istatistiksel olarak anlamlı bir azalış görülmüştür (Tablo 4).

Bizim çalışmamız dışında astenozoospermili hasta gruplarında ve normospermili hasta gruplarında 4,8 mM ve 5,6 mM pentoksifilin dozları ile insan semen örnekleri üzerinde *in vitro* olarak yapılmış başka bir çalışma bulunmamaktadır. Hayvanlar üzerinde ise bu dozlarda ve daha yüksek dozlarda pentoksifilin kullanılarak yapılmış çalışmalar vardır.

Köpekler üzerinde yapılan bir çalışmada, semen örneklerine 0,1 mM, 1 mM, 10 mM ve 100 mM pentoksifilin ilave edilerek 1 ve 2 saat sürelerinde inkübe edilmiştir. Pentoksifilin ilavesinden sonra yapılan çalışmalarda sperm motilitesinde, akrozom reaksiyonu ve kapasitasyon oranında istatistiksel olarak önemli düzeyde artış gözlenmiştir (Mirshokraei, Hassanpour, Mehdizadeh and Taheri 2011).

Atlar üzerinde yapılan bir başka çalışmada, dondurulmadan önce ve çözüldükten sonra semen örnekleri üzerine 3,5 mM ve 7,0 mM pentoksifilin ilave edilmiştir. Yapılan semen analizi sonunda her iki durumda da sperm motilitesinde olumlu gelişmeler görülmüştür (Gradill and Ball 2000). Bu olumlu verilere dayanarak biz de bu konsantrasyonları insan semen örnekleri üzerinde uygulayarak görülen olumlu etkilerinin olup olmadığını araştırmak istedik.

Çalışmamızda normospermili ve astenozoospermili hasta gruplarında yapılan vitalite karşılaştırmalarında kontrole kıyasla pentoksifilin uygulanan gruplarda istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmemiştir (Tablo 9, Tablo 10). Esteves ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada da 16 oligoastenezospermili hastanın sperm hareketleri dondurma öncesi ve sonrası kontrol ve 5 mM pentoksifilin uygulanan 2 gruba ayrılmıştır. Dondurma öncesi pentoksifilin uygulaması motilite ve canlılık oranını istatistiksel olarak arttırırken, dondurma sonrası uygulandığında anlamlı bir değişiklik gözlenmemiş, sperm motilitesinde anlamlı bir düşüş meydana gelmiştir (Esteves, Spaine and Cedenho 2007).

Ghasemzadeh ve arkadaşlarının 25 oligoastenozoospermili hasta da yaptığı çalışmada semen örnekleri 50, 100 ve 200 µg/ml doz pentoksifilin ile 45 dk, 24 saat, 36 saat ve 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda yapılan değerlendirmede oligoastenozoospermili hastaların sperm canlılıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenirken, sperm motilitelerinde bu durum gözlenmemiştir. Pentoksifilin doz oranı yükseldikçe anlamlılık oranının azaldığını bildirilmiştir (Ghasemzade, Shayan and Hamdi 2016)

Elde ettiğimiz veriler doğrultusunda, yaptığımız çalışmada astenozoospermili ve normospermili hastalarda uygulanan pentoksifilin dozlarında ve inkübasyon süresinlerinde *in vitro* koşullarda pentoksifilinin sperm motilitesini istatistiksel olarak anlamlı derecede artırdığını tespit ettik. Bu artışın 5,4 mM dozda ve 20 dk'lık inkübasyonda en yüksek olduğunu gözlemledik.

Yaptığımız çalışma sonuçları pentoksifilinin sperm motilitesini arttırmaya yönelik olarak hem IUI yöntemiyle birlikte hem de IVF laboratuvarlarında kullanılabileceğini düşündürmektedir. Ancak pentoksifilin ile ilgili yapılan daha önceki çalışmalarda bu görüşümüzü destekleyen veya desteklemeyen farklı sonuçlar elde edilmiştir. Pentoksifilinin bu etkilerinin, sperm örneğine uygulanacak konsantrasyona ve inkübasyon süresine bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Bundan dolayı pentoksifilinin ÜYTE laboratuvarlarında kullanımında çok hassas davranılması gerektiğini ve bu doğrultuda yapılacak daha kapsamlı ve ileri düzeydeki çalışmaların bu konuyu daha katkıda bulunacağına inanmaktayız.

KAYNAKLAR

- Akay MT. (2001). Genel Histoloji. 5. Baskı. Palme Yayıncılık, Ankara.
- Ameann RP.(1989). Structure and function of the normal testis and epididymis.*J am Coll Toxicol*,8(3):457-471
- Andersson AM, Carlsen E, Petersen JH, Skakkebaek NE. (2003). Variation in levels of serum inhibin B, testosterone, estradiol, luteinizing hormone, folliclestimulating hormone, and sex hormone-binding globulin in monthly samples from healthy men during a 17-month period: possible effect of seasons. *J Clin Endocrinol Metab*, 88:932-937.
- Aydos K. Erkek infertilitesi. İç: Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N. (2007). Temel Üroloji 3.baskı; Güneş Tıp Kitabevleri; 967-1012.
- Bradtke A. (1999). Role of growth hormone and prolactin in the control of reproduction what are we learning from transgenic and knock-out animals? *Steroids*, 64:598-604.
- Burrows PJ, Schepterman CG, Lipshultz LI. (2002). Comprehensive office evaluation in the new millennium.*Urol Clin North Am*, 29:873-894.
- Carreras A, Mendoza C. (1990). Zinc levels in seminal plasma of fertile and infertile men. *Andrologia*, 22(3): 279-283.
- Clarke IJ, Rao A, Fallest PC, Shupnik MA. (1993). Transcription rate of the follicle stimulating hormone (FSH) beta subunit gene is reduced by inhibin in sheep but this does not fully explain the decrease in mRNA. *Mol Cell Endocrinol*, 91:211-216.
- Clermont Y. (1972). Kinetics of spermatogenesis in mammals: Seminiferous epithelial cycle and spermatogonial renewal. *Physiol Rev*, 52:198-236.
- Cooke HJ, Hargreave T, Eliot DJ. (1998). Understanding the genes involved in spermatogenesis: A progress report. *Fertil Steril*, 69:989-995.

- Davidoff MS, Schulze W, Middendorff R, Holstein AF. (1993). The Leydig cell of the human testis – a new member of the diffuse neuroendocrine system. *Cell Tissue Res*, 271:429-439.
- de Jonge C, LaFromboise M, Bosmans E, Ombelet W, Cox A, Nijs M. (2004). Influence of the abstinence period on human sperm quality. *Fertil Steril*, 82: 57-65.
- de Krester DM, Robertson DM. (1989). The isolation and physiology of inhibin and related proteins. *Biol Reprod*, 40:33-47.
- de Krester DM, Meinhart A, Meehan T, Phillips DJ, O'Bryan MK, Loveland KA. (2000). The roles of inhibin and related peptides in gonadal function. *Mol Cell Endocrinol*, 161:43-46.
- Delilbaşı L. (2008). *İn Vitro Fertilizasyon (IVF) Laboratuvar Yöntemleri*. Veri Medikal Yayıncılık, Ankara.
- Demirtaş A, Pişkin İ. (2009). Memelilerde cinsiyet gelişim ve hormonal kontrolü. *Veteriner Hekim Derneği Dergisi*, 80(3):23-28.
- Deslypere JP, Young M, Wilson JD, McPhaul MJ. (1992). Testosterone and 5 α -dihydrotestosterone interact differently with the androgen receptor to enhance transcription of the MMTV-CAT reporter gene. *Mol. Cell. Endocrinol*, 88:15–22.
- Dohle GR. (2010). Male infertility in cancer patients: Review of the literature. *Int J Urol*, 17:327-331.
- Ehmcke J, Wistuba J, Schlatt S. (2006). Spermatogonial stem cells: questions, models and perspectives. *Hum Reprod Update*, 12:275-282.
- El Gehani F, Zhang FP, Pakarinen P, Rannikko A, Huhtaniemi I. (1998). Gonadotropin-independent regulation of steroidogenesis in the fetal rat testis. *Biol Reprod*, 58:116-123.

- Eliasson R. (2003). Basic semen analysis. In: Matson P, ed. Current topics in andrology. Ladybrook Publishing, Australia.
- Erdoğan D, Görgün M, Hatipoğlu T, Ilgaz C. (2007). Özel Histoloji. Hatipoğlu Yayınevi, Ankara.
- Esteves SC, Spaine DM, Cedenho AP. (2007). Effects on pentoxifylline treatment before freezing on motility, viability and acrosome status of poor quality human spermatozoa cryopreserved by the liquid nitrogen vapor method. *Braz J Med Biol Res*, 40(7):985-992.
- Fiegel HC, Rolle U, Metzger R, Gfroerer S, Kluth D. (2011). Embryology of the testicular descent. *Seminars in Pediatric Surgery*, 20:170-175.
- Gartner LP, Hiatt JL. (2007). Color Textbook of Histology. "3rded." WB. Saunders Company, Philadelphia.
- Ghasemzade A, Shayan FK, Hamdi K. (2016). Study of pentoxifylline effects on motility and viability of spermatozoa for infertile asthenozoospermic males. *Niger Med J*, 57(6):324-328.
- Gradil CM, Ball BA. (2000). The use of pentoxifylline to improve motility of cryopreserequine spermatazoa. *Theriogenology*, 54:1041-1047.
- Gökçe A. (2011). Dünya sağlık örgütü kriterlerine göre standart semen analizi. *Turk Urol Sem*, 2:1-7
- Handelsman DJ, Liu PY. (2003). The present and future state of hormonal treatment for male infertility. *Hum Reprod*, 9:9-23.
- Henkel RR, Schill WB. (2003). Sperm preparation for ART. *Reprod Biol Endocrinol*, 1:108.
- Holstein AF, Schulze W, Davidoff M. (2003). Understanding spermatogenesis is a prerequisite for treatment. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 1:107-108.

- Horiuchi H, Saito N, Kinoshita T, Wakabayashi S, Tsutsumimoto T, Takaoka K. (2001). Enhancement of bone morphogenetic protein-2-induced new bone formation in mice by the phosphodiesterase inhibitor pentoxifylline. *Bone*, 28(3):290-294.
- Jensen CE, Wiswedel K, McLoughlin J, van der Spuy Z. (1995). Prospective study of hormonal and semen profiles in marathon runners. *Fertil Steril*, 64(6): 1189-1197.
- Junqueira LC, Carneiro J. Temel Histoloji. (2006). Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.
- Kadioğlu TC, Ziylan O, Çayan S, Özcan F, Nane İ, Tellaloğlu F. (1991). İntrauterin inseminasyon için sperm hazırlama tekniğinde pentoksifilinin etkisi. *Türk Üroloji Dergisi*. 22(4):461-464.
- Kayaalp OS. Tıbbi farmakoloji. (1992). Feryal Matbaacılık, Ankara.
- Kierszenbaum AL. Histoloji ve Hücre Biyolojisi-Patolojiye Giriş. (2006). Palme Yayıncılık, Ankara.
- Lopez FJ, Merchenthaler IJ, Moretto M, Negro-Vilar A. (1998). Modulating mechanisms of neuroendocrine cell activity: the LHRH pulse generator. *Cell Mol Neurobiol*, 18:125-46.
- Main KM, Schmidt IM, Skakkebaek NE. (2000). A possible role for reproductive hormone in newborn boys: progressive hypogonadism without the postnatal testosterone peak. *J Clin Endocrinol Metab*, 85:4905-4907.
- Majdic G, Saunders PT, Teerds KJ. (1998). Immunoeexpression of the steroidogenic enzymes 3-beta hydroxysteroid dehydrogenase and 17 alpha hydroxylase, C17,20 lyase and the receptor for luteinizing hormone (LH) in the fetal rat testis suggests that the onset of Leydig cell steroid production is independent of LH action. *Biol Reprod*, 58:520-525.

- Mazzi C, Bazzoni N, Martinelli I. (1996). Evaluation of the pituitary-gonadal axis in men with growth hormone-secreting adenomas Comparison with non functioning adenomas. *Int J Androl*, 19:42.
- McLachlan RI. (2000). The endocrin control of spermatogenesis. *Clin Endocrinol Metab*, 14:345-362.
- Meachem S, von Schonfeldt V, Schlatt S. (2001). Spermatogonia: stem cells with a great perspective. *Reproduction*, 121:825-834
- Means AR, Fakunding JL, Huckins C. (1976). Follicle stimulating hormone, Sertoli cell and spermatogenesis. *Res Prog Horm Res*, 32:447-527.
- Moore KL, Persaud TVN. İnsan Embriyolojisi. (2002). Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
- Murashima A, Kishigami S, Thomson A, Yamada G. (2014). Androgens and mammalian male reproductive tract development. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1849(2015): 163–170.
- Nassar A, Morshedi M, Mahony M, Srisombut C, Lin MH, Oehninger S. (1999). Pentoxifylline stimulates various sperm motion parameters and cervical mucus penetrability in patients with asthenozoospermia. *Andrologia*, 31:9–15.
- Noel C, Copin M-C, Hazzan M. (2000). Immunomodulatory effect of pentoxifylline during human allograft rejection: Involvement of Tumor Necrosis Factor-[alpha] and Adhesion Molecules1. *Transplantation*, 69:1102-1107.
- Novick WJ, Sullivan G, Mandell G. (1990). New Pharmacological studies with pentoxifylline. *Biorheology*, 27:449-454.
- Oliva A, Dotta A, Multigner L. (2009). Pentoxifylline and antioxidants improve sperm quality in male patients with varicocele. *Fertil Steril*, 91(4):1536-1539.

- Ovalle WK, Nahirney PC. Netter's essential histology. (2009). Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara.
- Parks JE, Lee DR, Huang S, Kaproth MT. (2003). Prospects for spermatogenesis *in vitro*. *Theriogenology*, 259: 73-86.
- Polin RA and Fox WW. (1992). The Ovary and Testis In Fetal and Neonatal Physiology, Saunders Company, 1851-1883.
- Ross MH, Pawlina W. (2010). Histology a Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology. 6th ed, Lippincott Williams & Wilkins/Sadler.
- TW. Langman Medikal Embriyoloji. (2005). Palme Yayıncılık, Ankara.
- Sadler TW. (2012). Langman's Medical Embryology. 12th ed. Lippincott Williams & Wilkins. 235-259.
- Satar DA, Gençtar S. (2013). Sperm Analysis. *Archives Medical Review Journal*, 22(4):532-542.
- Shen M, Chiang PH, Yang RC, Hong CY, Chen SS. (1991). Pentoxifylline stimulates human sperm motility both *in vitro* and after oral therapy. *J. clin. Pharmacol*, 31: 711-714.
- Slama R, Eustache F, Ducot B, Jensen T, Jorgensen N, Horte A, Irvine S, Suominen J, Andersen A, Auger J. (2002). Time to pregnancy and semen parameters a cross-sectional study among fertile couples from four European cities. *Hum Reprod*, 17:503-515.
- Seçkin İ. (2008). Özel Histoloji Ders Kitabı. İstanbul Üniversitesi basım ve yayınevi, İstanbul.
- Sullivan GW, Carper HT, Novick JW, Mandell GL. (1988). Inhibition of the inflammatory action of interleukin-1 and tumor necrosis factor (alpha) on neutrophil function by pentoxifylline. *Infection and Immunity. Infect Immun*, 56:1722-1729.

- Tanagho EA, McAnnich JW. (1992). Smith' s General Urology. Lange, Prentice Hall International Inc, San Francisco.
- Tapırsız OL, Altınbas SK, Abike F, Goktolga U. (2012). Semen Analysis From A Point Of View Of Gynecologist And Recent Developments. *J Turk Soc Obstet Gynecol*, 9:25-31.
- Terriou P, Hans E, Giorgetti C, Spach JL, Salzmann J, Urrutia V and Roulier R. (2000). Pentoxifylline initiates motility in spontaneously immotile epididymal and testicular spermatozoa and allows normal fertilization, pregnancy, and birth after intracytoplasmic sperm injection. *J Assist Reprod Genet*, 17:194–199.
- Tesarik J, Mendoza C, Ramirez JP, Moos J. (1993). Solubilized zona pellucida competes with a fucosylated neoglycoprotein for binding sites on the human sperm surface. *Fertil. Steril*, 60:344-350.
- Turek P. (2004). Erkek infertilitesi. *Smith Genel Üroloji. Nobel Tıp Kitabevleri*, 678-712.
- Ward A, Clissold SP. (1987). Pentoxifylline. *Drugs*, 34(1):50-97.
- Weinbauer GF, Gromoll J, Simoni M, Nieschlag E. (2000). Physiology of testicular function. *Andrology*. Berlin.
- World Health Organization (WHO laboratory manual). (2010). Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5th ed. WHO laboratory manual Press, Geneva. Switzerland.

EK

Ek.1. Etik Kurul Kararı

Evrak Tarih ve Sayısı: 09/12/2014-15031



T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıp Fakültesi Dekanlığı

Sayı : 16214662/050.01.04/125
Konu : Etik kurul Başvuru Dosyası Hk.

Sayın Prof. Dr. Elvan ÖZBEK
Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

İlgi : 27.10.2014 tarihli ve 123 sayılı başvurunuz

Destekleyicisi olduğunuz "Astenozoospermili ve Normospermili Hastaların İn vitro Sperm Parametreleri Üzerine Pentoksifilin'in Doza ve Uygulama Süresine Bağlı Etkilerinin Araştırılması" isimli klinik araştırma başvuru dosyanız ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş olup; etik ve bilimsel açıdan sakınca bulunmadığına etik kurul üyelerince karar verilmiştir ve uygun bulunmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.

Doç.Dr. Pelin TANYERİ
Etik Kurulu Başkanı

EK :
02.12.2014 tarih ve 10 sayılı Etik Kurul Kararı (3 sayfa)

Güvenli Elektronik
İmzalı Aslı İle Aynıdır.
.09.12.2014.

Zübeyde KAÇAL
Etik Kurul Sekr.

Evrak Doğrulama İçin : <http://193.140.253.232/envision.Sorgula/BelgeDogrulama.aspx?V=BE6P7H1V>

Fakülte Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi
Dekanlığı, Korucuk Kampüsü, Korucuk, Adapazarı/Sakarya
Tel:264 295 6630 Faks:264 295 6629
E-Posta :tip@sakarya.edu.tr Elektronik Ağ :www.tip.sakarya.edu.tr



Bu belge 5070 sayılı Elektronik İmza Kanununun 5. Maddesi gereğince güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı: Elif SÖZEN

Doğum yeri ve tarihi: Ankara/ 20.09.1991

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: Bekar

İletişim adresi ve telefonu: Sakarya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji ABD, Korucuk, Adapazarı, Sakarya 0264 295 31 40

Yabancı dili: İngilizce

II- Eğitimi

Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü - 2013

Ankara Kanuni Lisesi – 2009

III- Ünvanları

IV- Mesleki Deneyim

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

THED Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği (2015 - ____)

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınları:

1. Sözen E. (2015) Erkek İnfertilitesinin Tedavisinde Aromataz İnhibitörlerinin Yeri, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Dergisi, 2(1); 67-73
2. **E. SÖZEN**, E. ÖZBEK, R. MİSOLLİ, B. KUKİ, E. HOXHA, E. MAZREKU, N. CENGİZ, M. KÖSEM Karaciğer Gelişiminin İnsan Fetüslerinde Işık Mikroskopik Düzeyde İncelenmesi II. Ulusal Tıp Kongresi ‘Geleceğin Tıbbı II’, 2015.
3. E. ÖZBEK, E. EROĞLU, **E. SÖZEN** Sıçan Embriyolarında Solunum Divertikülü (Akciğer Tomurcuğu) Gelişiminin Işık Mikroskopik Düzeyde İncelenmesi, XII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, 2014.

4. **E. SÖZEN**, E. ÖZBEK, A. ÖZBEK Kanserojen Olduğu Bilinen Human Papilloma Virüsü Kanser Tedavisinde Kullanılabilir mi?, I. Ulusal Tıp Kongresi 'Geleceğin Tıbbı', 2014
5. **E. SÖZEN**, E. ÖZBEK Alzheimer Hastalığı Tedavisinde Yeni Bir Işık: Düşük Protein Diyeti
6. **E. SÖZEN**, O. BULDUK, E. ÖZBEK N. CENGİZ Laboratuvarında Uterus Taklitleri: Ko-kültür Tekniği, I. Ulusal Tıp Kongresi 'Geleceğin Tıbbı', 2014
7. O. K. TÜREDİ, **E. SÖZEN**, E. ÖZBEK Lizozomal Depo Hastalıkları: Gaucher Hastalığının Alternatif Tedavi Yöntemi, I. Ulusal Tıp Kongresi 'Geleceğin Tıbbı', 2014
8. A.SARIKAYA, **E. SÖZEN**, O. BULDUK, N. CENGİZ, E. ÖZBEK, Y. NASIR Preimplantasyon Genetik Tanı; Embriyo Biyopsisi, I. Ulusal Tıp Kongresi 'Geleceğin Tıbbı', 2014
9. O. BULDUK, H. ŞANLI, **E. SÖZEN**, N. CENGİZ, E. ÖZBEK Anjiogenesis ve Endotel Progenitor Hücreler, I. Ulusal Tıp Kongresi 'Geleceğin Tıbbı', 2014

VII- Bilimsel Etkinlikler

TÜBİTAK projesi (1001) Mezenkimal Kök Hücrelerin Ortodontik Diş Hareketinin Hızlandırılmasına ve Tedavi Sonrası Ortaya Çıkan Relaps Miktarının Azaltılmasına Olan Etkisinin İncelenmesi.

VIII- Diğer Bilgiler

1. II. Ulusal Tıp Kongresi 'Geleceğin Tıbbı II', Sakarya, 18-20 Nisan 2015
2. Sağlık Bilimleri Araştırma Planlanması ve Bilimsel Makale Yazımı Veriden Yayına Modul II Kurs, Sakarya, 11 Mart 2015 (Teşekkür ve Katılım Belgesi)
3. XII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, Ankara, 27-30 Mayıs 2014
4. Ulusal Tıp Kongresi 'Geleceğin Tıbbı', Sakarya, 25-27 Nisan 2014

5. Sağlık Bilimleri Araştırma Planlanması ve Bilimsel Makale Yazımı Modül-1 Kurs, Ankara, 24 Aralık 2014 (Teşekkür ve Katılım Belgesi)
6. 8. Hücresel Sinirbilim Günleri, Sakarya, 29-30 Kasım 2014
7. İstanbul Üniversitesi Deney Hayvanları Kullanım Kursu, İstanbul, 02-13 Aralık 2013
8. Thermo Scientific Patoloji ve Sitoloji Semineri, Ankara, 8 Mayıs 2013
9. Olympus Mikroskopi Semineri, Ankara, 10 Nisan 2013
10. 6. Uluslar arası Evrim Konferansı, Ankara, 3-4 Aralık 2011