

T.C

RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

VARİKOSELLİ İNFERTİL ERKEKLERDE SEMİNAL PLAZMA ANTİ-MÜLLERİAN HORMON (AMH), OKSİDATİF STRES, TESTİKÜLER VE EPİDİDİMAL BİYOBELİRTEÇLERİN SEMEN PARAMETRELERİ İLE İLİŞKİSİ VE VARİKOSELEKTOMİ SONRASI DEĞİŞİMİ

DR. ERDEM ORMAN

TEZ DANIŞMANI DR. ÖĞR. ÜYESİ GÖRKEM AKÇA

UZMANLIK TEZİ

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

RİZE-2025

ETİK BEYAN

"Varikoselli İnfertil Erkeklerde Seminal Plazma Anti-Müllerian Hormon (AMH), Oksidatif Stres, Testiküler ve Epididimal Biyobelirteçlerin Semen Parametreleri ile İlişkisi ve Varikoselektomi sonrası değişimi" adlı tezim bilim ve araştırma etiğine uygun olarak tarafımca yazılmıştır. Tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eseri olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Dr. Erdem ORMAN

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez sürecim boyunca bilgi, ilgi ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, kıymetli katkılarıyla tezimin şekillenmesinde en büyük pay sahibi olan, aynı zamanda Anabilim Dalı Başkanımız olan çok değerli hocam Prof. Dr. Hakkı UZUN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Asistanlık eğitimim süresince özellikle cerrahi tecrübemin gelişmesinde büyük katkı sağlayan, birçok farklı cerrahi deneyimi kazanmama olanak tanıyan değerli hocam Doç. Dr. Eyüp DİL'e şükranlarımı sunarım. Sahadaki tecrübesi, açık sözlülüğü ve içten yaklaşımıyla hem mesleki hem insani anlamda üzerimde kalıcı bir iz bırakmıştır. Eğitim sürecim boyunca bana kattıkları için minnettarım.

Klinik sürecim boyunca birlikte çalıştığım, katkıları ve destekleriyle eğitimime katkı sunan Dr. Öğr. Üyesi Selim YAZAR'a teşekkür ederim.

Tez danışmanım olarak süreç boyunca rehberliğini esirgemeyen, yönlendirici katkılarıyla beni destekleyen Dr. Öğr. Üyesi Görkem AKÇA'ya teşekkür ederim.

Eğitim sürecim boyunca birlikte çalışmaktan büyük mutluluk duyduğum, bilgi paylaşımı ve dostluklarıyla yanımda olan değerli asistan arkadaşlarım Dr. Yakup KAÇAN'a, Dr. Mehmet Akif ŞİMŞEK'e, Dr. Mehmet TAŞÇI'ya, Dr. Mesut BAŞTAN'a ve Dr. Bahattin SARIOĞLU'na teşekkür ederim. Tecrübeleri, abilikleri ve içten destekleriyle her zaman yanımda olan, örnek aldığım sayın kıdemlilerim Dr. Yusuf Önder ÖZSAĞIR ve Dr. Berat SÖNMEZ'e gönülden teşekkür ederim.

Tezin hazırlanma sürecinde gösterdiği dostane yaklaşım ve içten desteği için Dr. Öğr. Gör. Merve Hüner YİĞİT'e teşekkür ederim.

Bugünlere gelmemde en büyük paya sahip olan, bana sevgiyi, emeği ve saygıyı öğreten canım anneme ve babama; her zaman arkamda durdukları, fedakârlıklarıyla yolumu aydınlattıkları ve koşulsuz sevgileriyle beni ben yaptıkları için minnettarım. Varlıklarıyla güç bulduğum kıymetli abilerime de içten teşekkür ederim.

Ve en özel teşekkürüm, hayatımın anlamı olan canım eşim Aylin'e; sabrı, sevgisi ve desteğiyle beni hep ayakta tuttuğun için... Gülüşleriyle karanlığıma ışık

olan, varlıklarıyla yaşamıma neşe ve anlam katan sevgili yavrularım, biricik kızım Elif Hilal'e ve canım oğlum Mustafa'ya sonsuz sevgim ve teşekkürlerimle…

"Bu çalışma Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü birimince desteklenmiştir. Proje ID: 2023; Proje Kodu: TSA-2025-2023. ("This work was supported by the Research Fund of Recep Tayyip Erdogan University. Project ID: 2023; Project Code: TSA-2025-2023.")

Dr. Erdem ORMAN

2025 - Rize

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN ..... *II*

TEŞEKKÜR ..... *III*

İÇİNDEKİLER ..... *V*

ÖZET ..... *VIII*

ABSTRACT ..... *XII*

Kısaltmalar ve Simgeler Dizini ..... *XV*

Tablolar Dizini ..... *XVIII*

Şekiller Dizini ..... *XIX*

1.GİRİŞ VE AMAÇ *1*

2. GENEL BİLGİLER *2*

2.1. Ürogenital Sistem Gelişimi **2**

2.1.1. Ara Mezodermin Oluşturduğu Yapılar 2

2.1.2. Primordiyal Germ Hücreleri ve Gonad Gelişimi 3

2.2. Erkek Üreme Sisteminin Anatomisi **5**

2.2.1. Testis 6

2.2.2. Epididymis 8

2.2.3.Funiculus spermaticus (spermatik kord) 9

2.2.4. Ductus deferens (Vas deferens) 10

2.2.5. Vesicula seminalis 11

2.2.6. Prostata (Glandula prostatica) 12

2.2.7. Glandula Bulbourethralis (Cowper bezi) 12

2.2.8. Penis 13

2.2.9. Urethra masculina 14

2.3. Erkekte Hipotalamus-Hipofiz-Testis Aksı **17**

2.3.1. Hipotalamo-Hipofizer Sistemin Fonksiyonel Organizasyonu 19

2.3.2. GnRH'nın Yapısı, Sekresyonu ve Etki Mekanizması 19

2.3.3. Gonadotropinlerin Sekresyonu ve Etki Mekanizması 20

2.4. Leyding Hücresi ve İşlevleri **21**

2.5. Testosteron Sentezi ve Kontrolü **22**

2.6. Sertoli Hücresi Fonksiyonları **23**

2.7. Spermatogenez **24**

2.7.1. Spermatogonia Fazı (Mitoz Evresi) 24

2.7.2. Spermatosit Fazı (Mayoz Evresi) 24

2.7.3. Spermatid Fazı (Spermiogenez) 25

2.7.4 Spermiasyon 25

2.8. Erkek İnfertilitesi **26**

2.8.1.Tanım ve Epidemiyolojisi 26

2.8.2. Etiyoloji ve Patofizyoloji 26
2.8.3 Tanısal Değerlendirme 29
2.8.4. Semen Analizi 29

2.9. Varikosel 31
2.9.1. İnsidans ve Patofizyoloji 31
2.9.2. Tanı ve Değerlendirme 34
2.9.3. Varikoselin Tedavisi 35
2.9.4. Varikosel Tedavisinde Prediktif Faktörler 37

2.10. Seminal Plazma Biyobelirteçlerinin İncelenmesi ve Gerekçesi 37
2.10.1. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Mekanizmalarıyla İlişkili Biyobelirteçler 38
2.10.2. Sertoli Hücre Proteinleri 42
2.10.3. Apoptoz ve Hücresel Ölüm Mekanizmaları 45
2.10.4. Epididimal Fonksiyon ve Matürasyon Göstergeleri 46
2.10.5. Hücresel Büyüme ve Protein Metabolizması 46

3. MATERYAL VE METOT 47

3.1. Çalışma Tasarımı ve Katılımcılar 47

3.2. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi 49

3.3. Semen Örnekleme ve Toplama Prosedürü 50

3.4. Semen Analizi Süreci 51

3.5. Seminal Plazma Biyobelirteç Ölçümleri 52

3.6. İstatistiksel Analiz 53

3.7 Etik Onay ve Finansal Destek 54

4. BULGULAR 54

4.1. Demografik Veriler ve Çalışma Gruplarının Genel Özellikleri 54

4.2. Normospermik, OAT ve OAT+Varikosel Gruplarının Karşılaştırılması 57

4.3. OAT+Varikosel ve Post-Varikoselektomi Gruplarının Karşılaştırılması 72

4.4. Seminal Biyobelirteçler, Hormon Düzeyleri, Semen Parametreleri ve Testis Hacimleri Arasında Korelasyon Analizi 78
4.4.1. Güçlü Korelasyonlar (|r|≥0.50) 79
4.4.2. Orta Düzeyde Korelasyonlar (0.30≤|r|<0.50) 79
4.4.3. Zayıf Korelasyonlar (|r|<0.30) 80

5.TARTIŞMA 85

5.2. Normospermik, OAT ve OAT+Varikosel Gruplarında Biyobelirteçlerin Karşılaştırılmalı Değerlendirilmesi 86
5.2.1. Oksidatif Stres ve DNA Hasarı 86
5.2.2. Antioksidan Savunma Sisteminin Profili 87
5.2.3. Transkripsiyonel Düzenleme: NRF2/KEAP1 Sinyal Yolağı 88
5.2.4. Sertoli Hücre Fonksiyonları 89
5.2.5. Büyüme ve Metabolizma: IGFBP-3 90
5.2.6. Apoptoz ve Germ Hücre Ölümü 91

5.3. Varikoselektominin Moleküler ve Klinik Etkileri 92

5.4. Biyobelirteçler Arası İlişkiler ve Klinik Çıkarımlar 95
5.5. Çalışmanın Güçlü ve Sınırlı Yönleri ile Gelecek Perspektifleri 96
6. SONUÇ 96
7.KAYNAKLAR 97
EKLER 114

ÖZET

Varikoselli İnfertil Erkeklerde Seminal Plazma Anti-Müllerian Hormon (AMH), Oksidatif Stres, Testiküler ve Epididimal Biyobelirteçlerin Semen Parametreleri ile İlişkisi ve Varikoselektomi sonrası değişimi

Giriş: Varikosel, erkek infertilitesinin en sık görülen ve tedavi edilebilir nedenlerinden biridir. Venöz konjesyon, testiküler hipoksi ve artmış oksidatif strese yol açarak spermatogenezi çok yönlü olarak bozar.

Amaç: Bu çalışmada, varikoselli infertil erkeklerde oksidatif stres, antioksidan savunma, Sertoli hücre fonksiyonu ve apoptozla ilişkili seminal plazma biyobelirteçleri değerlendirilmiş ve varikoselektominin moleküler etkileri incelenmiştir.

Materyal ve Metod: Çalışmaya toplam 125 erkek dahil edilmiştir. Katılımcılar, fizik muayene, skrotal renkli Doppler ultrasonografi ve semen analizi bulgularına göre üç gruba ayrılmıştır: Normospermik (n=44), varikoseli olmayan oligoastenoteratozoospermi (OAT) (n=42) ve varikoseli olan OAT (n=39). OAT+Varikosel grubundaki hastalara inguinal varikoselektomi uygulanmış ve aynı hastaların postoperatif 6. ay değerlendirmesi "post-varikoselektomi" grubu (n=39) olarak dahil edilmiştir. Seminal plazmada; oksidatif stres belirteçleri (8-OHdG, MDA), antioksidan enzimler (GSH, GPx-1, SOD, NRF2, KEAP1), Sertoli hücre belirteçleri (AMH, İnhibin-B), apoptoz belirteci (Kaspaz-3) ve büyüme faktörü (IGFBP-3) düzeyleri ELISA yöntemiyle ölçülmüştür. Semen analizleri Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 2021 kriterlerine göre yapılmıştır.

Bulgular: Normospermik, OAT ve OAT+Varikosel grupları arasında karşılaştırmada, semen parametreleri normospermik grupta anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (tümü $p<0.001$). Testis hacimleri (sağ, sol ve toplam) normospermik grupta en yüksek, OAT+Varikosel grubunda en düşük olarak saptanmıştır ($p<0.001$). FSH düzeyleri normospermik grupta OAT ve OAT+Varikosel gruplarına göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur ($p=0.001$). Biyobelirteç analizlerinde, OAT+Varikosel grubunda OAT grubuna kıyasla oksidatif stres belirteçleri (8-OHdG: 2.98 vs 1.25 ng/mg protein, MDA: 107.5 vs 34.67 ng/mg

protein) ve apoptoz göstergesi Kaspaz-3 (1767 vs 379 pg/mg protein) anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). SOD düzeyleri OAT+Varikosel grubunda (6415 pg/mg protein) hem OAT (11011 pg/mg protein) hem de normospermik (16270 pg/mg protein) gruplara göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ($p<0.001$). Diğer antioksidan parametreler olan GSH ve GPx-1 düzeyleri ise OAT grubunda en yüksek bulunurken (sırasıyla 6.93 µg/mg ve 510.39 pg/mg protein), normospermik ve OAT+Varikosel gruplarında benzer düzeylerde saptanmıştır ($p<0.001$). Sertoli hücre fonksiyon belirteci İnhibin-B düzeyleri normospermik grupta en yüksek (5.24 pg/mg protein), OAT grubunda orta düzeyde (3.2 pg/mg protein) ve OAT+Varikosel grubunda en düşük (1.7 pg/mg protein) olarak saptanmış olup, her üç grup arasında anlamlı farklılık bulunmuştur ($p<0.001$). KEAP1 düzeyleri normospermik (76.59 ng/mg protein) ve OAT+Varikosel (68.05 ng/mg protein) gruplarında, OAT grubuna (25.2 ng/mg protein) göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur ($p<0.001$). IGFBP-3 düzeyleri OAT grubunda diğer gruplara göre anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır ($p<0.001$). NRF2 ve AMH düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0.618$ ve $p=0.121$).

Varikoselektomi sonrasında (6. ay); semen parametrelerinde anlamlı iyileşme gözlenmiştir. Sperm konsantrasyonu (8.3'ten 24.0×10^6/mL'ye), toplam sperm sayısı (24.9'dan 69.58×10^6'a), hızlı ileri hareket (%8'den %13'e), progresif hareketlilik (%25'ten %32'ye), total motil sperm sayısı (6.89'dan 26.81×10^6'a) ve morfoloji oranı (%0'dan %2'ye) anlamlı şekilde artmıştır (tümü $p<0.001$). Yuvarlak hücre sayısı anlamlı olarak azalmıştır (400'den 200/µL'ye, $p<0.001$). Seminal plazma biyobelirteç değerlendirmesinde; oksidatif stres göstergesi MDA anlamlı olarak azalmış (107.51'den 27.24 ng/mg protein'e, $p<0.001$), 8-OHdG düzeyinde izlenen azalma istatistiksel anlamlılığa yaklaşmakla birlikte $p=0.058$ olarak tespit edildi. Antioksidan parametrelerden SOD (6415.78'den 9993.39 pg/mg protein'e, $p<0.001$), GPx-1 (320.03'ten 457.75 pg/mg protein'e, $p=0.002$) ve GSH (1.63'ten 2.71 µg/mg protein'e, $p=0.039$) düzeyleri anlamlı artış göstermiştir. NRF2/KEAP1 yolağında beklenen yönde değişiklikler saptanmış olup; NRF2 düzeyleri artarken (7.78'den 10.26 ng/mg protein'e, $p<0.001$), KEAP1 düzeyleri anlamlı olarak azalmıştır (68.06'dan 15.23 ng/mg protein'e, $p<0.001$). Sertoli hücre fonksiyon göstergesi

İnhibin-B düzeyinde anlamlı artış (1.74'ten 3.67 pg/mg protein'e, $p<0.001$) saptanırken, AMH düzeylerinde artış eğilimi olmakla birlikte istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır (55.90'dan 80.96 pg/mg protein'e, $p=0.241$). Apoptoz göstergesi Kaspaz-3 düzeyinde anlamlı azalma gözlenmiştir (1767.54'ten 620.27 pg/mg protein'e, $p<0.001$). IGFBP-3 düzeylerinde de anlamlı artış saptanmıştır (0.32'den 0.78 ng/mg protein'e, $p<0.001$).

Korelasyonlar analizleri (n=125); Cohen (1992) kriterlerine göre sınıflandırılmıştır. SOD düzeyleri semen parametreleri ile güçlü pozitif korelasyonlar göstermiş olup; en güçlü ilişkiler sperm konsantrasyonu ($r=0.562$, $p<0.001$), toplam sperm sayısı ($r=0.538$, $p<0.001$), morfoloji ($r=0.486$, $p<0.001$) ve total motil sperm sayısı ($r=0.469$, $p<0.001$) ile saptanmıştır. Ayrıca SOD, testis hacimleriyle de güçlü ilişki göstermiştir (sol testis: $r=0.486$, toplam hacim: $r=0.468$, $p<0.001$). İnhibin-B düzeyleri benzer şekilde semen parametreleri ile güçlü korelasyonlar sergilemiştir: morfoloji ($r=0.503$), toplam sperm sayısı ($r=0.489$), sperm konsantrasyonu ($r=0.481$), total motil sperm sayısı ($r=0.479$) ve testis hacimleri (toplam: $r=0.416$, sol: $r=0.395$, sağ: $r=0.356$) (tümü $p<0.001$). KEAP1 düzeyleri semen parametreleri ile orta düzeyde pozitif ilişkiler göstermiştir: sperm konsantrasyonu ($r=0.366$), morfoloji ($r=0.359$), progresif hareket ($r=0.335$) ve total motil sperm sayısı ($r=0.318$) (tümü $p<0.001$). FSH düzeyleri semen parametreleri ile orta düzeyde negatif korelasyonlar sergilemiştir: morfoloji ($r=-0.360$), sperm konsantrasyonu ($r=-0.312$), toplam hareket ($r=-0.311$) ve total motil sperm sayısı ($r=-0.306$) (tümü $p\leq0.001$). Seminal 8-OHdG düzeyleri semen hacmi ile orta düzeyde negatif ilişki göstermiştir ($r=-0.322$, $p<0.001$).

Sonuç: Varikosel; artmış oksidatif stres, NRF2/KEAP1 yolağı dengesizliği, azalmış antioksidan kapasite, Sertoli hücre disfonksiyonu ve artmış apoptoz ile karakterizedir. Varikoselektomi, NRF2/KEAP1 transkripsiyonel yolağını aktive ederek bu moleküler bozuklukları düzeltir ve antioksidan yanıtı yeniden düzenler. Seminal plazma biyobelirteçleri varikosele bağlı infertilitenin tanısında ve cerrahi etkinliğin izlenmesinde potansiyel klinik belirteçler olarak değerlendirilebilir.

Anahtar kelimeler: Varikosel, infertilite, oksidatif stres, NRF2, KEAP1, GSH, GPx-1, SOD, Kaspaz-3, IGFBP-3, İnhibin-B, AMH, varikoselektomi

ABSTRACT

The Relationship of Seminal Plasma Anti-Müllerian Hormone (AMH), Oxidative Stress, Testicular and Epididymal Biomarkers with Semen Parameters in Infertile Men with Varicocele and Their Changes After Varicocelectomy

Introduction: Varicocele is one of the most common and treatable causes of male infertility. It impairs spermatogenesis through venous congestion, testicular hypoxia, and increased oxidative stress.

Objective: This study aimed to evaluate seminal plasma biomarkers associated with oxidative stress, antioxidant defense, Sertoli cell function, and apoptosis in infertile men with varicocele, and to investigate the molecular effects of varicocelectomy.

Materials and Methods: A total of 125 men were included in the study. Based on physical examination, scrotal color Doppler ultrasonography, and semen analysis, participants were divided into three groups: normozoospermic (n=44), oligoasthenoteratozoospermic (OAT) without varicocele (n=42), and OAT with varicocele (n=39). Patients in the OAT+Varicocele group underwent inguinal varicocelectomy, and their postoperative 6-month evaluations were included as the "post-varicocelectomy" group (n=39). Seminal plasma levels of oxidative stress markers (8-OHdG, MDA), antioxidant enzymes (GSH, GPx-1, SOD, NRF2, KEAP1), Sertoli cell markers (AMH, Inhibin-B), apoptosis marker (Caspase-3), and growth factor (IGFBP-3) were measured using ELISA. Semen analyses were performed according to the 2021 World Health Organization (WHO) criteria.

Results: In comparisons among the normozoospermic, OAT, and OAT+Varicocele groups, semen parameters were significantly higher in the normozoospermic group (all $p<0.001$). Testicular volumes (right, left, and total) were highest in the normozoospermic group and lowest in the OAT+Varicocele group ($p<0.001$). FSH levels were significantly lower in the normozoospermic group compared to both OAT groups ($p=0.001$).

In biomarker analyses, oxidative stress markers (8-OHdG: 2.98 vs. 1.25 ng/mg protein; MDA: 107.5 vs. 34.67 ng/mg protein) and the apoptosis indicator Caspase-3

(1767 vs. 379 pg/mg protein) were significantly higher in the OAT+Varicocele group than in the OAT group ($p<0.001$). SOD levels in the OAT+Varicocele group (6415 pg/mg protein) were significantly lower than in both OAT (11011 pg/mg protein) and normozoospermic (16270 pg/mg protein) groups ($p<0.001$). Other antioxidant parameters (GSH and GPx-1) were highest in the OAT group (6.93 µg/mg and 510.39 pg/mg protein, respectively), while normozoospermic and OAT+Varicocele groups showed similar levels ($p<0.001$). Inhibin-B levels were highest in the normozoospermic group (5.24 pg/mg protein), intermediate in the OAT group (3.2 pg/mg protein), and lowest in the OAT+Varicocele group (1.7 pg/mg protein) ($p<0.001$). KEAP1 levels were significantly higher in the normozoospermic (76.59 ng/mg protein) and OAT+Varicocele (68.05 ng/mg protein) groups compared to the OAT group (25.2 ng/mg protein) ($p<0.001$). IGFBP-3 levels were highest in the OAT group ($p<0.001$). No significant differences were found in NRF2 and AMH levels among groups ($p=0.618$ and $p=0.121$, respectively).

Six months after varicocelectomy, semen parameters improved significantly. Sperm concentration (8.3 → 24.0 × 10^6/mL), total sperm count (24.9 → 69.58 × 10^6), rapid progressive motility (8% → 13%), progressive motility (25% → 32%), total motile sperm count (6.89 → 26.81 × 10^6), and morphology (0% → 2%) all increased significantly (all $p<0.001$), while round cell count decreased (400 → 200/µL, $p<0.001$). Among biomarkers, MDA significantly decreased (107.51 → 27.24 ng/mg protein, $p<0.001$), while the reduction in 8-OHdG did not reach statistical significance (2.99 → 2.41 ng/mg protein, $p=0.058$). Antioxidant parameters SOD (6415.78 → 9993.39 pg/mg protein, $p<0.001$), GPx-1 (320.03 → 457.75 pg/mg protein, $p=0.002$), and GSH (1.63 → 2.71 µg/mg protein, $p=0.039$) significantly increased. In the NRF2/KEAP1 pathway, expected directional changes were observed, with NRF2 levels increasing (7.78 → 10.26 ng/mg protein, $p<0.001$) and KEAP1 levels decreasing (68.06 → 15.23 ng/mg protein, $p<0.001$). Inhibin-B levels significantly increased (1.74 → 3.67 pg/mg protein, $p<0.001$), while AMH showed a non-significant upward trend (55.90 → 80.96 pg/mg protein, $p=0.241$). Caspase-3 levels significantly decreased (1767.54 → 620.27 pg/mg protein, $p<0.001$), and IGFBP-3 levels significantly increased (0.32 → 0.78 ng/mg protein, $p<0.001$). No

significant changes were observed in hormonal parameters (FSH, LH, estradiol, total testosterone; all $p>0.05$).

In correlation analyses (n=125), relationships were classified according to Cohen (1992) criteria. SOD levels showed strong positive correlations with semen parameters, particularly sperm concentration ($r=0.562$, $p<0.001$), total sperm count ($r=0.538$, $p<0.001$), morphology ($r=0.486$, $p<0.001$), and total motile sperm count ($r=0.469$, $p<0.001$). SOD also correlated strongly with testicular volume (left: $r=0.486$, total: $r=0.468$, $p<0.001$). Similarly, Inhibin-B levels exhibited strong correlations with morphology ($r=0.503$), total sperm count ($r=0.489$), sperm concentration ($r=0.481$), total motile sperm count ($r=0.479$), and testicular volumes (total: $r=0.416$, left: $r=0.395$, right: $r=0.356$) (all $p<0.001$). KEAP1 levels showed moderate positive correlations with semen parameters: sperm concentration ($r=0.366$), morphology ($r=0.359$), progressive motility ($r=0.335$), and total motile sperm count ($r=0.318$) (all $p<0.001$). FSH levels showed moderate negative correlations: morphology ($r=-0.360$), sperm concentration ($r=-0.312$), total motility ($r=-0.311$), and total motile sperm count ($r=-0.306$) (all $p\leq0.001$). Seminal 8-OHdG showed a moderate negative correlation with semen volume ($r=-0.322$, $p<0.001$).

Conclusion: Varicocele is characterized by increased oxidative stress, NRF2/KEAP1 pathway dysregulation, reduced antioxidant capacity, Sertoli cell dysfunction, and enhanced apoptosis. Varicocelectomy restores these molecular alterations by activating the NRF2/KEAP1 transcriptional pathway and reestablishing antioxidant defense. Seminal plasma biomarkers may serve as potential indicators for both varicocele-related infertility and postoperative surgical outcomes.

Keywords: Varicocele, infertility, oxidative stress, NRF2, KEAP1, GSH, GPx-1, SOD, Caspase-3, IGFBP-3, Inhibin-B, AMH, varicocelectomy

Kısaltmalar ve Simgeler Dizini

ABP: Androjen Bağlayıcı Protein

AMH: Anti-Müllerian Hormon

AMHR-II: Anti-Müllerian Hormon Tip II Reseptörü

Apaf-1: Apoptotik Proteaz Aktivasyon Faktörü-1

ATP: Adenozin Trifosfat

BMP-4: Kemik Morfogenetik Proteini-4

c-IAP: Hücresel Apoptoz Protein İnhibitörü

cAMP: Siklik Adenozin Monofosfat

CRP: C-Reaktif Protein

DHT: Dihidrotestosteron

DNA: Deoksiribonükleik Asit

DSÖ: Dünya Sağlık Örgütü

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

Fgf9: Fibroblast Büyüme Faktörü 9

FSH: Folikül Stimüle Edici Hormon

GCLC: Glutamat-Sistein Ligaz Katalitik Alt Birimi

GDNF: Glial Hücre Hattı Türevli Nörotrofik Faktör

GFR: Glomerüler Filtrasyon Hızı

GnRH: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon

GPx: Glutatyon Peroksidaz

GPx-1: Glutatyon Peroksidaz-1

GR: Glutatyon Redüktaz

GSH: Glutatyon

GSSG: Okside Glutatyon

hCG: İnsan Koryonik Gonadotropini

HDL: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein

HHG: Hipotalamo-Hipofizer-Gonadal

HIF-1a: Hipoksi İndüklenebilir Faktör 1 Alfa

IGF: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü

IGF-1: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1

IGF-2: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 2

IGFBP-3: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein 3

Kaspaz-3: Kaspaz-3 (Apoptoz Belirteci)

KEAP-1: Kelch Benzeri ECH ile İlişkili Protein 1

LDL: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein

LH: Luteinize Edici Hormon

LIF: Lösemi İnhibe Edici Faktör

MDA: Malondialdehit

mRNA: Mesajcı Ribonükleik Asit

NO: Nitrik Oksit

NOA: Non-Obstrüktif Azospermi

NRF2: Nükleer Faktör Eritroid 2 ile İlişkili Faktör 2

OAT: Oligoastenoteratozoospermi

PKA: Protein Kinaz A

PSA: Prostat Spesifik Antijen

RDUS: Renkli Doppler Ultrasonografi

RDW: Kırmızı Hücre Dağılım Genişliği

RNA: Ribonükleik Asit

ROS: Reaktif Oksijen Türleri

SF-1: Steroidojenik Faktör-1

SHBG: Seks Hormon Bağlayıcı Globulin

SOD: Süperoksit Dismutaz

SOR: Serbest Oksijen Radikalleri

Sox9: SRY-Kutu Transkripsyon Faktörü 9

SRY: Cinsiyet Belirleyici Bölge Y

T: Testosteron

TESE: Testiküler Sperm Ekstraksiyonu

TGF-β: Dönüştürücü Büyüme Faktörü Beta

TSH: Tiroit Stimüle Edici Hormon

TUR-P: Transüretral Prostat Rezeksiyonu

VKİ: Vücut Kitle İndeksi

WBC: Beyaz Kan Hücresi (White Blood Cell)

WHO: Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)

Wnt-4: Wingless Tipi MMTV Entegrasyon Bölgesi Aile Üyesi 4

Wnt-9b: Wingless Tipi MMTV Entegrasyon Bölgesi Aile Üyesi 9b

WT-1: Wilms Tümör Geni 1

8-OHdG: 8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin

α-Glu: Alfa Glukozidaz

Tablolar Dizini

TABLO 1. GENİTAL SİSTEMİN CİNSİYETE GÖRE FARKLILAŞMASI 4
TABLO 2. ERKEK İNFERTİLİTE NEDENLERİ VE İLİŞKİLİ FAKTÖRLER 27
TABLO 3. DSÖ 2021 SEMEN ÖZELLİKLERİ İÇİN ALT REFERANS LİMİTLERİ VE TERMİNOLOJİ. 30
TABLO 4. VARİKOSELEKTOMİ YÖNTEMLERİ 36
TABLO 5. ÇALIŞMAYA DAHİL EDİLEN BİREYLERİN DEMOGRAFİK, HORMONAL, SEMİNAL VE BİYOBELİRTEÇ SONUÇLARINA AİT TANIMLAYICI İSTATİSTİKLER (N=125)..... 54
TABLO 6. NORMOSPERMİK, OAT VE OAT+VARİKOSEL GRUPLARINDA TANIMLAYICI İSTATİSTİKLER: MEDİAN (Q1–Q3) 58
TABLO 7. NORMOSPERMİK, OAT VE OAT+VARİKOSEL GRUPLARININ KARŞILAŞTIRILMASI (KRUSKAL–WALLİS TESTİ) 63
TABLO 8. NORMOSPERMİK, OAT VE OAT+VARİKOSEL GRUPLARI ARASINDA İKİLİ KARŞILAŞTIRMALAR (DUNN'S POST-HOC TESTİ) 68
TABLO 9. OAT+VARİKOSEL VE POST-VARİKOSELEKTOMİ GRUPLARININ KARŞILAŞTIRILMASI (WİLCOXON SİGNED-RANK TESTİ) 73
TABLO 10. SEMİNAL PLAZMA BİYOBELİRTEÇLERİ İLE SEMEN PARAMETRELERİ ARASINDAKİ KORELASYONLAR (SPEARMAN P)..... 81
TABLO 11. TESTİS HACİMLERİ İLE SEMİNAL PLAZMA BİYOBELİRTEÇLERİ ARASINDAKİ KORELASYONLAR (SPEARMAN P) 82
TABLO 12. HORMON DÜZEYLERİ İLE SEMİNAL PLAZMA BİYOBELİRTEÇLERİ ARASINDAKİ KORELASYONLAR (SPEARMAN P) 82
TABLO 13. HORMON DÜZEYLERİ İLE SEMEN PARAMETRELERİ ARASINDAKİ KORELASYONLAR (SPEARMAN P) 83

Şekiller Dizini

ŞEKİL 1. TESTİS, EPİDİDYMİS VE DUCTUS DEFERENS..... 8
ŞEKİL 2. FUNİCULUS SPERMATİCUS, SKROTUM VE İÇİNDE Kİ ANATOMİK YAPILAR 9
ŞEKİL 3. GLANDULA VESİCULOSA. 11
ŞEKİL 4. CORPUS PENİS KESİTİ. 13
ŞEKİL 5. SKROTUM'UN TABAKALARI. 16
ŞEKİL 6. TESTİSLERİN FONKSİYONEL ORGANİZASYONU GÖSTEREN ŞEMATİK GÖRÜNÜM 18
ŞEKİL 7. ERKEKTE HHG AKSIN ŞEMATİK GÖRÜNÜMÜ. 18
ŞEKİL 8. TESTİS DOKUSUNUN IŞIK MİKROSKOBUNDA GÖRÜNTÜSÜ (H&E X200)..... 21
ŞEKİL 9. ÇALIŞMA GRUPLARININ DAĞILIMI. 48
ŞEKİL 10. SEMİNAL BİYOBELİRTEÇLERİN NORMOSPERMİK (N=44), OAT (N=42) VE OAT+VARİKOSEL (N=39) GRUPLARINA GÖRE MEDYAN (Q1–Q3) DAĞILIMLARI: KUTU DİYAGRAMLARI. 61
ŞEKİL 11. SEMİNAL PLAZMA 8-OHDG DÜZEYLERİNİN PREOPERATİF VE VARİKOSELEKTOMİ SONRASI 6. AY KARŞILAŞTIRMASI (NG/MG PROTEİN). 74
ŞEKİL 12. SEMİNAL PLAZMA MDA DÜZEYLERİNİN PREOPERATİF VE VARİKOSELEKTOMİ SONRASI 6. AY KARŞILAŞTIRMASI (NG/MG PROTEİN). 75
ŞEKİL 13.SEMİNAL PLAZMA GLUTATYON (GSH) DÜZEYLERİNİN PREOPERATİF VE VARİKOSELEKTOMİ SONRASI 6. AY KARŞILAŞTIRMASI (µG/MG PROTEİN). 75
ŞEKİL 14. SEMİNAL PLAZMA GLUTATYON PEROKSİDAZ-1 (GPX-1) DÜZEYLERİNİN PREOPERATİF VE VARİKOSELEKTOMİ SONRASI 6. AY KARŞILAŞTIRMASI (PG/MG PROTEİN). 75
ŞEKİL 15.SEMİNAL PLAZMA SÜPEROKSİT DİSMUTAZ (SOD) DÜZEYLERİNİN PREOPERATİF VE VARİKOSELEKTOMİ SONRASI 6. AY KARŞILAŞTIRMASI (PG/MG PROTEİN). 76
ŞEKİL 16.SEMİNAL PLAZMA NRF2 DÜZEYLERİNİN PREOPERATİF VE VARİKOSELEKTOMİ SONRASI 6. AY KARŞILAŞTIRMASI (NG/MG PROTEİN). 76
ŞEKİL 17. SEMİNAL PLAZMA KEAP1 DÜZEYLERİNİN PREOPERATİF VE VARİKOSELEKTOMİ SONRASI 6. AY KARŞILAŞTIRMASI (NG/MG PROTEİN). 76
ŞEKİL 18.SEMİNAL PLAZMA ANTİ-MÜLLERİAN HORMON (AMH) DÜZEYLERİNİN PREOPERATİF VE VARİKOSELEKTOMİ SONRASI 6. AY KARŞILAŞTIRMASI (PG/MG PROTEİN) 77
ŞEKİL 19.SEMİNAL PLAZMA İNHİBİN-B DÜZEYLERİNİN PREOPERATİF VE VARİKOSELEKTOMİ SONRASI 6. AY KARŞILAŞTIRMASI (PG/MG PROTEİN). 77
ŞEKİL 20. SEMİNAL PLAZMA KASPAZ-3 DÜZEYLERİNİN PREOPERATİF VE VARİKOSELEKTOMİ SONRASI 6. AY KARŞILAŞTIRMASI (PG/MG PROTEİN). 77
ŞEKİL 21. SEMİNAL PLAZMA IGFBP-3 DÜZEYLERİNİN PREOPERATİF VE VARİKOSELEKTOMİ SONRASI 6. AY KARŞILAŞTIRMASI (NG/MG PROTEİN) 78
ŞEKİL 22. SEMİNAL PLAZMA ALFA-GLUKOZİDAZ DÜZEYLERİNİN PREOPERATİF VE VARİKOSELEKTOMİ SONRASI 6. AY KARŞILAŞTIRMASI (U/ML) 78
ŞEKİL 23. ÇALIŞMA PARAMETRELERİ ARASINDAKİ KORELASYONLARI GÖSTEREN ISI HARİTASI. 84

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Varikosel, erkek infertilitesinin en sık görülen ve düzeltilebilir nedenlerinden biridir. Testiküler venöz dönüşün bozulması sonucu gelişen venöz staz, hipoksi ve artan oksidatif stres, spermatogenezi çok yönlü olarak olumsuz etkiler. Reaktif oksijen radikallerinin varikoselde aşırı üretimi, lipit peroksidasyonu, germ hücre apoptozu ve DNA hasarı gibi mekanizmalar aracılığıyla sperm kalitesini bozar.

Son yıllarda oksidatif stres belirteçleri, antioksidan savunma sistemleri, Sertoli hücre fonksiyonları, apoptoz ve büyüme faktörlerine ait biyobelirteçlerin varikosel patofizyolojisindeki rolleri giderek daha fazla araştırılmaktadır. Bununla birlikte, bu biyobelirteçlerin hem sağlıklı erkeklerde hem de infertil olgularda nasıl değiştiğini ve cerrahi tedavi sonrası hangi düzeyde iyileştiğini gösteren çalışmalar sınırlıdır.

Bu çalışmada, normospermik erkekler ile varikoseli bulunan ve varikosel bulunmayan infertil olgularda seminal plazma biyobelirteçleri karşılaştırılmış, ayrıca varikoselektomi sonrası bu parametrelerdeki değişimler değerlendirilmiştir. Oksidatif stres, antioksidan savunma, Sertoli hücre fonksiyonları, apoptoz ve büyüme faktörlerine ait göstergeler birlikte incelenerek varikosele bağlı infertilitenin biyokimyasal mekanizmaları ve cerrahi tedavinin bu mekanizmalar üzerindeki etkileri ortaya konmuştur.

Bu kapsamda çalışmanın amacı, varikosele bağlı infertilitenin neden olduğu moleküler değişimleri aydınlatmak, varikoselektominin düzeltici etkilerini göstermek ve elde edilen bulguların infertilite değerlendirmesindeki potansiyel klinik önemini belirlemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Ürogenital Sistem Gelişimi

Genital sistemi gonadlar, genital boşaltım kanalları ve dış genital organlar oluşturur. Bu sistem genetik cinsiyetin belirlenmesiyle birlikte çevre dokularla etkileşimli bir gelişim süreci izler. Fertilizasyon sırasında yumurtadaki X kromozomuna bir Y ya da başka bir X kromozomunun eklenmesi, bireyin genetik cinsiyetini belirlerken, fenotipik farklılaşma 6. haftanın sonunda başlar.

Erkeklerde genital sistemin gelişimi, üriner sistem yapılarıyla ortaklık gösteren bir süreçtir. Başlangıçta ilkel üriner sistemle yakın bir ilişki içerisinde olan yapılar, üçüncü aya kadar birbirinden ayrılarak farklılaşır.

2.1.1. Ara Mezodermin Oluşturduğu Yapılar

Embriyonun üçüncü haftasında mezoderm, paraksiyal mezoderm, ara mezoderm ve yan plak mezodermi olmak üzere orta hattın iki yanında üç alt bölüme ayrılarak farklı dokuların ve sistemlerin gelişiminde özelleşir (1). Ara mezoderm, üriner sistem yapılarının, gonadların bazı bölümlerinin ve erkek genital sisteminin boşaltım kanallarının kökenini oluşturur (2).

Ara mezoderm, dorsal vücut duvarının iki yanında bir çift sütun şeklinde uzanır ve ardışık olarak servikal nefrotomlar, mezonefrozlar ve metanefrozlar olmak üzere üç ayrı nefrik yapıyı oluşturur. Bu yapılar arasında mezonefroz, üriner ve genital sistemlerin gelişiminde önemli bir yönlendirici rol oynar (2). Mezonefrozun lateralinde yer alan ve ara mezodermden türeyen mezonefrik (Wolff) kanallar, kaudal yönde uzanan temel yapılardır. Gestasyonun 44-48. günlerinde, mezonefrik kanalların dış tarafında bulunan mezotel, içeriye doğru katlanarak paramezonefrik (Müller) kanallarını oluşturur (3). Bu kanallar, mezonefrik kanalların yanında dorsal vücut duvarı boyunca uzanır. Erkeklerde Müller kanalları geriler ve önemli bir yapı oluşturmazken, mezonefrik kanallar epididim, duktus deferens ve seminal veziküllere dönüşür (1). Tablo 1'de, genital sistemi oluşturan yapıların erkek ve kadınlarda dönüştüğü yapılar detaylı olarak gösterilmiştir.

Paramezonefrik kanalların gelişimi, Wnt-4 ve Wnt-9b sinyalleriyle düzenlenir. Ancak mezonefrik kanalların kesilmesi durumunda, paramezonefrik kanalların kaudal yöndeki uzaması durur. Ürogenital sinüsle temas etmeden önce paramezonefrik kanalların içinde bir lümen oluşmaz ve kraniyal uçları huni şeklinde söloma açılır.

Sonuç olarak, ara mezodermden türeyen yapılar, ürogenital sistemin hem üriner hem de genital bileşenlerinin temelini oluşturur ve mezonefroz bu süreçte kilit bir rol oynar.

2.1.2. Primordiyal Germ Hücreleri ve Gonad Gelişimi

Altıncı haftada vitellüs kesesinin arka duvarından başlayan primordiyal germ hücreleri göçü, bu hücrelerin ameboid hareketlerle allantois üzerinden dorsal mezenter yoluyla genital kıvrımlara ulaşmasıyla tamamlanır (4). Bu hücreler, embriyo dışı ektodermden köken almakta ve BMP-4 gibi genlerin ifadesine bağlı olarak gelişmektedir. Göç sırasında birbirlerine sitoplazmik uzantılarla bağlı kalan hücreler, gonad taslaklarına yerleşir. Burada totipotent özellik gösteren hücreler, kök hücrelere özgü Oct-4 genini ifade eder ve LIF (Lösemi İnhibe Edici Faktör) ve Steel Faktörü gibi mitojenlere yanıt olarak proliferasyon sergiler (4).

Gonadların gelişimi, mezonefrozun ventromediyal kenarı boyunca uzanan steroidojenik mezodermden (Mezonefroz) kaynaklanır. Bu süreçte, WT-1, Steroidojenik Faktör-1 (SF-1) ve Lim-1 genlerinin ifadesi, gonadların somatik hücrelerinin farklılaşmasını tetikler (4). Primordiyal germ hücrelerinin mezonefrozun mediyalinde toplanmasıyla, çevresindeki somatik hücreler seks kordonlarını oluşturur. Seks kordonları erkeklerde Sertoli hücrelerine, kadınlarda ise folikül hücrelerine farklılaşır.

Sertoli hücreleri, ilk evrede Fgf9 üretir ve Prostaglandin D ile Sox9 genini aktive ederek diğer hücrelerin özelleşmesini düzenler (5). Germ hücrelerinin cinsiyete göre farklılaşması, genetik yapıya değil, çevresindeki somatik hücrelerin etkisine bağlıdır. Bu bağlamda, erkek gonada yerleştirilen XX germ hücrelerinden spermatogonia, dişi gonada yerleştirilen XY hücrelerinden oogonia gelişebilir (2). Sertoli hücrelerinin yeterli sayıya ulaşamaması, germ hücrelerinin dejenerasyonuna ve testis gelişiminin aksamasına yol açar (6). Sertoli hücreleri ile primordiyal germ hücreleri arasındaki doğrudan hücresel temas, mitozun baskılanması ve mayoza girişin

engellenmesi açısından önemlidir. Bu süreçte mitoz evresinde kalan hücreler, doğumdan sonra üçüncü aya kadar değişim göstermez. Üçüncü aydan itibaren A tipi spermatogonia farklılaşmaya başlarken, erkek gametogenezinin ilerleyen aşamaları olan B tipi spermatogonia, mayoz ve spermatogenez süreçleri puberte dönemine kadar ertelenir (2).

Tablo 1. Genital sistemin cinsiyete göre farklılaşması (4).

Farklılaşmamış Yapı	Erkekteki Yapı	Kadındaki Yapı
Genital kıvrım	Testis	Over
Primordial germ hücreleri	Primordial germ hücreleri	Ovumlar
Cinsiyet kordonları	Seminifer tübüller (Sertoli hücreleri)	Folikül (granüloza) hücreleri
Mezonefrik tübüller	Eferent kanalcıklar	Oöforon
	Paradidim	Paroöforon
Mezonefrik (Wolff) kanalları	Epididim apendiksi, Epididim kanalı, Duktus deferens, Ejakülatör kanal	Over apendiksi, Gartner kanalı
Paramezonefrik (Müller) kanalları	Testis apendiksi, Prostat utrikülü	Fallop tüpleri, Uterus, Vajinanın üst bölümü
Ürogenital sinüs	Mesane, Prostatik üretra, Üretra	Mesane, Üretra
Genital tüberkül	Penis	Klitoris
Genital kıvrımlar	Penil üretra tabanı	Labia minör
Genital kabartılar	Skrotum	Labia majör

Cinsiyet farklılaşması, SRY geninin aktifleşmesiyle başlar (7). SRY geninin aktifleşmediği embriyolar, Y kromozomuna rağmen dişi yönde gelişir; bu da SRY geninin erkek farklılaşmasında belirleyici olduğunu gösterir. XY gonadlarda SRY geninin ürünü olan proteinler, Sertoli hücrelerinin oluşumunu indükler. Sertoli hücreleri, Müller kanallarının gerilemesini sağlayan Mülleryen İnhibe Edici Madde (AMH) ve androjen bağlayıcı faktörler salgılayarak erkek gonad farklılaşmasını destekler. Ayrıca, mezenkim hücrelerinin testise göçünü ve bu hücrelerin Leydig

hücrelerine farklılaşmasını teşvik eder. Böylece erkek genital sisteminin gelişiminde hormonların düzenleyici etkisi sağlanmış olur.

Mezonefrik kanalların kaudal kısmı, epididim, vaz deferens ve seminal veziküllere dönüşerek farklılaşır. 9. ve 10. haftalarda sertoli hücrelerinin uyarısı ile mezenkim hücreleri Leyding hücrelerine farklılaşır. Leydig hücreleri, testosteron üreterek mezonefrik kanalların kalıcılığını ve ikincil cinsiyet karakterlerinin gelişimini destekler. 5α-redüktaz enzimi testosteronu dihidrotestosterona dönüştürerek erkek üretrası, prostat, penis ve skrotumun gelişimini sağlar.

Erkek genital sisteminin yolları ve kanalları, testislerden salgılanan hormonların kontrolü altında gerçekleşir. SRY geninden üretilen SRY proteini, embriyonik gelişimin 8. haftasında Sertoli hücresine farklılaşacak hücrelerden, TGF-β (Dönüştürücü Büyüme Faktörü-β) ailesine ait bir glikoprotein olan anti-Müllerian hormon (AMH) salgılanmasını tetikler (2). Bu glikoprotein, paramezonefrik kanalların gerilemesine yol açarak yalnızca kraniyal ve kaudal uçlarda artık yapıların kalmasını sağlar. AMH, doğrudan epitele değil, çevredeki mezenkim hücrelerindeki AMH Tip II reseptörlerine (AMHR-II) bağlanarak, paramezonefrik kanal epiteli hücrelerini apoptoza veya mezenkim hücrelerine dönüşüme yönlendirir.

Primordiyal germ hücrelerinin göçü ve gonada yerleşimi, cinsiyet farklılaşmasında temel bir basamaktır. Bu süreçte Sertoli hücreleri ve somatik hücrelerin etkisi belirleyicidir. Bu süreçteki genetik veya çevresel bozukluklar, cinsiyet gelişim bozukluklarına yol açabilir.

2.2. Erkek Üreme Sisteminin Anatomisi

Erkek üreme sistemi; testisler adı verilen bir çift üreme bezi, sperm iletiminde görevli yollar (epididymis, ductus deferens, ductus ejaculatorius), üreme bezleri (vesicula seminalis, glandula bulbouretralis-cowper bezi ve prostat), erektil yapılar, urethra masculina'yı içeren penis ve testisleri barındıran scrotumdan oluşur. Penis, scrotum ve urethra masculina dış genital organlar olarak, diğerleri ise iç genital organlar olarak sınıflandırılır (8).

2.2.1. Testis

Testisler; erkek üreme sisteminin temel organları olup endokrin ve ekzokrin işlevlere sahiptir. Spermatogenez ve androjen üretimi gibi temel süreçlerin gerçekleştiği testisler, erkek fertilitesinin sağlanmasında kritik bir rol üstlenmektedir (9). Yaklaşık 2-3 cm boyutunda ve 10-14 gram ağırlığında olan bu organ, retroperitoneal bölgede gelişimini tamamladıktan sonra fetal dönemin 28-32. Haftaları arasında skrotuma iner.

Testisler, margo anterior ve posterior olmak üzere iki kenara, extremitas superior ve inferior adı verilen iki uca ve facies medialis ve lateralis olarak adlandırılan iki yüze sahiptir. Sol testis genellikle sağa göre daha aşağıda bulunur. Arka kenar, epididimis ile ilişkilidir ve buradan testise damarlar, sinirler ve diğer yapılar girer (8).

Testisler dıştan içe doğru tunica vaginalis ve tunica albuginea olmak üzere iki bağ dokusu katmanı ile çevrilidir. Tunica vaginalis testisin skrotuma inişi sırasında peritondan türeyen bir seröz zardır ve parietal ile viseral tabakalardan oluşur (10). Bu tabakalar arasında az miktarda sıvı bulunur. Tunica albuginea ise yoğun ve sert bir bağ dokusu yapısına sahiptir ve mediastinum testise septula testis denilen septumlar gönderir ve bunlar piramit şeklindeki lobuli testis denilen bölmeleri oluşturur. Her lobülde sperm üretiminin gerçekleştiği kıvrımlı tubuli seminiferler ve testosteron üreten leyding hücrelerini içeren bağ dokusu bulunur. Bu tüpler birleşerek daha düz yapıda olan tubuli rectiyi oluşturur ve ardından rete testis adı verilen ağ yapıya bağlanır (Şekil 1).

Sertoli hücreleri, seminifer epitel dokusunda bulunur. Spermlerin beslenmesi, fagosioz yapma ve inhibin hormonu üretmek gibi fonksiyonları bulunur. Ayrıca spermin seminifer tüplerde taşınmasını da sağlar (8)(9). Sertoli hücreleri arasında bulunan tight junction bağlantıları kan-testis bariyerini oluştur. Bu bariyer sayesinde kan yoluyla taşınan maddelerin germ hücrelerine ulaşması engellenirken, germ hücrelerinde bulunan yüzey antijenlerinin dolaşıma karışarak otoimmün reaksiyonun gelişmesi önlenir (9).

Spermatogenik hücreler, sertoli hücreleri arasında tabakalar halinde yerleşmiştir. Bu hücrelerin en immatür hali olan spermatogoniumlar seminifer epitelin bazal laminası üzerinde bulunur. Spermatogonia, primer ve sekonder spermatositleri, daha sonra spermi oluşturan en matür hücreler olan spermatidleri oluşturmak için

mitoz ve mayoz bölünmeye uğrar. Spermatidler sertoli hücrelerinin apikal kısmına yerleşmiştir (9)(11).

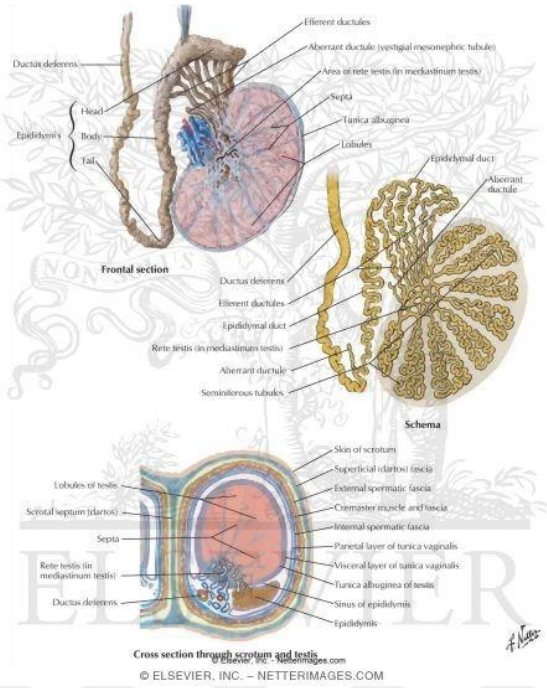
Seminifer epiteli çevreleyen peritübüler doku fibroblasttan yoksun çok tabakalı bağ dokusudur. Burada bulunan miyoid hücrelerin ritmik kasılmaları peristaltik dalgalanma oluşturur. Bu da spermatozoanın ve testiküler sıvının tubuli seminiferlerden geçişini sağlar (8,11).

Erken fetal dönemde farklılaşarak embriyolojik gelişim, cinsel olgunlaşma ve üreme fonksiyonu için gerekli olan testosteronu salgılayan leyding hücreleri büyük, poligonal ve eozinofilik hücrelerdir (8,11). Bu hücrelerin çalışması hipofiz tarafından kontrol edilir.

Testisi besleyen ana damar, abdominal aortadan ayrılan testiküler arterdir. Böbreklerin alt tarafından başlayarak psoas majör kasının ön yüzünde seyrederek aşağı doğru iner ve anulus inguinalis profundus'tan geçerek funiculus spermaticus içinde testise uzanır. Testiküler arter dışında testisi besleyen kollateral damarlarda bulunur.

Venöz dönüşü sağlayan damarlar vena testicularis'lerdir. Sağ tarafta vena cava inferior'a; solda dik açı ile renal ven'e dökülürler. Damarın başlangıcı funikulus spermatikus içinde ki venöz ağdır. Bu venöz ağ sayesinde testis ısısı düzenlenmekte ve testislerin vücut sıcaklığından daha düşük sıcaklıkta olması ayarlanmaktadır.

Testisin lenfatik drenajı testiküler venleri izleyerek paraaortik lenf düğümlerine olur. Bu nedenle testiküler kanser olgularında retroperitoneal metastazlar hızlı gelişebilmektedir.



Şekil 1. Testis, epididymis ve ductus deferens (12).

2.2.2. Epididymis

Testisin üst-arka kenarında bulunan epididymis'ler, ductus epididymis olarak isimlendirilen kıvrıntılı kanalların biraraya gelmesiyle oluşur. Epididymis caput, corpus ve cauda olmak üzere üç bölümden oluşur. Cauda epididym testsin alt ucundadır ve ductus deferens olarak devam eder (Şekil 1). Spermler caput epididymis'ten giriş yaptıktan sonra, düz kasların kontraksiyonu ile ductus epididymis'te ilerler (8).

Testislerde gelişimini tamamlayan spermler epididymis'te depolanır ve olgunlaşmalarının son aşamasını burada tamamlarlar. Spermler testiste üretildikten sonra fertilizasyon yeteneği yoktur. Ductus epididymis içerisinde seyri sırasında hareket ve fertilizasyon yeteneği kazanarak olgunlaşır. Spermlerin epididymis'ten geçişleri sırasında kromatin yoğunluğu, ileri hareketliliği ve oosit penetrasyon yeteneği artar. Spermlerin epididymis'ten geçişleri 2-4 gün sürer (13). Spermlerin ovumu dölleyebilecek şekilde hareket yeteneği kazanmalarına kapasitasyon adı verilir.

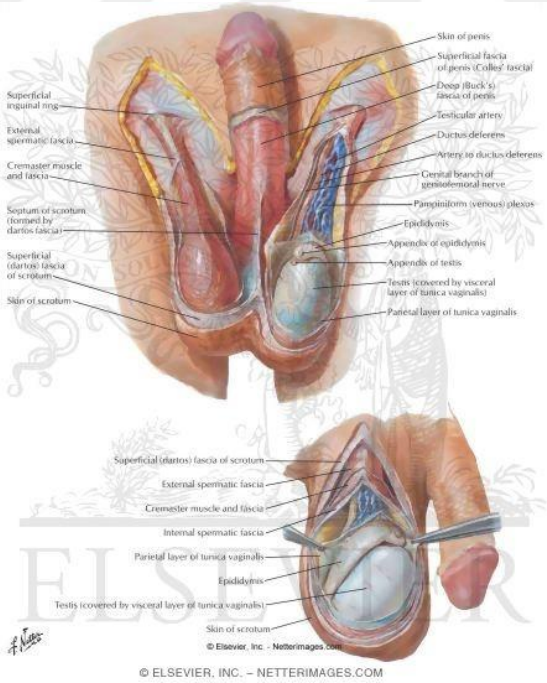
Diğer memeli türlerine kıyasla, insan epididymis'inin sperm depolama kapasitesi sınırlıdır. Yapılan araştırmalar, sağlıklı genç yetişkinlerde epididymis

rezervinin iki veya üç normal semen örneği üretmek için yeterli gamet sayısını içerdiğini göstermektedir (14).

2.2.3.Funiculus spermaticus (spermatik kord)

Funiculus spermaticus testisin damarlarını, sinirlerini ve ductus deferens'i içeren canalis inguinalis ile testis arasında uzanan kordondur. Bu yapı anulus inguinalis profundus'ta başlar, testisin arka kenarında sonlanır. Testisler fetal hayatta skrotuma inerken damarlarını, sinirlerini ve ductus deferens'i de beraberinde taşır. Bu yapılar anulus inguinalis profundus'ta bir araya gelerek funiculus spermaticus'u oluşturur.

Sol tarafın funiculus spermaticus'u, sağa göre biraz daha uzundur. Funiculus spermaticus, anulus inguinalis superficialis'ten çıktıktan sonra skrotum'a kadar m. adduktor longus'un önünde seyreder. Seyri sırasında, a. pudenda externa superficialis ve a. pudenda externa profundus arasında ilerler (Şekil 2).



Şekil 2. Funiculus spermaticus, skrotum ve içinde ki anatomik yapılar (12).

Funiculus spermaticus'u saran yapılar; (dıştan içe doğru tabakalar)

- Fascia spermatica externa; m. obliquus externus abdominis'in aponörozu,
- M. cremaster ve fascia cremasterica; m. obliquus internus abdominis'in lifleri ve aponörozu,
- Fascia spermatica interna; fascia transversalis yapar.

Funiculus spermaticus içerisinde bulunan yapılar:

- Ductus deferens
- Pleksus pampiniformis (vv. testiculares)
- A. testicularis, a. ductus deferentis
- Lenf damarları
- Pleksus testicularis (sempatik sinir pleksusu)
- Processus vaginalis kalıntıları
- N. genitofemoralis'in genital dalı (M. cremaster'i uyarır.)

2.2.4. Ductus deferens (Vas deferens)

Cauda epididymis'in devamı olan yaklaşık 40-45 cm boyutunda musculer borudur. Dışta adventisya, ortada düz kas tabakası ve içte mukoza tabakası bulunur. Pars scrotalis, pars funicularis, pars inguinalis ve pars pelvica denilen dört parçaya ayrılır.

Testisin arka yüzünden yukarı doğru yükselerek anulus inguinalis superficialis'ten inguinal kanala girer. Anulus inguinalis profundus'tan geçerek karın boşluğuna gelir. Extenal iliak damarların önünden geçerek küçük pelvise girer. Üreterleri önden çaprazlayarak mesanenin fundus bölümüne gelir. Burada ampulla ductus deferetis denilen bir genişleme gösterir. Seminal vezikülün terminali olan ductus ekskretorius ile birleşerek, ductus ejakulatorius'u oluşturur ve prostatik üretraya açılır.

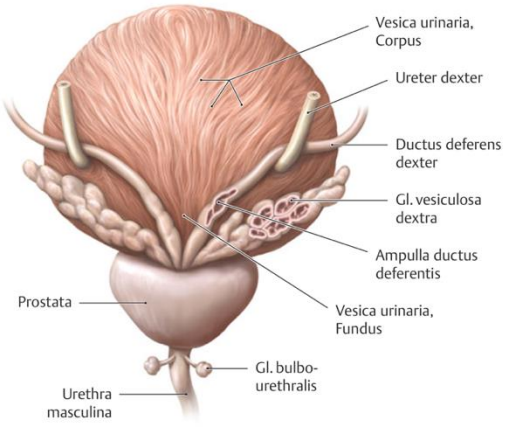
Spermlerin büyük bölümü ductus deferens'te depo edilir. Epididymis ve ductus deferens'te spermler yaklaşık bir ay fertil kalabilmektedir. Bu süre içerisinde ejakülasyon ile atılmazlarsa, dejenere olup vücut tarafından absorbe edilirler (15).

Ductus deferens'in kanlanmasını a. umblicalis'ten gelen a. ductus deferentis sağlar. Venöz kanı benzer isimli vene taşınır. Lenfi external iliak lenf nodlarına ulaşır. Sempatikleri T11-12'den gelir.

2.2.5. Vesicula seminalis

Mesanenin arka alt tarafında yerleşmiş, ortalama 5 cm uzunluğunda 2-3 cm genişliğinde tübüler yapıda bir çift bezdir (Şekil 3). Bu bezlerin ductusları kendi taraflarında ki ductus deferens ile birleşerek ductus ejaculatorius'ları oluşturur (8). Ductus ejaculatorius, yaklaşık 2.5 cm uzunluğundadır ve prostatik üretrada ki kollikulus seminalis'e, diğer adıyla utriculus prostaticus'a açılır.

Ejakülat hacminin yaklaşık %50-60'ı bu bezin salgıları ile oluşur. Fruktoz, sitrik asit, fibrinojen, prostaglandin'ler ve spesifik proteinleri içeren salgısı, spermatozoaları aktive eder. Salgı içerisinde bol miktarda bulunan fruktoz, spermin kadın genital traktusunda hareketini sağlamak için ATP üretiminde kullanılır. Prostaglandin'ler, servikal mukus ile reaksiyona girerek sperm hareketleri için uygun ortam oluşturur. Ayrıca tuba uterina ve uterus'ta kasılmaları tetikleyerek spermlerin ovum'a ulaşmasını kolaylaştırır.



Şekil 3. Glandula vesiculosa (12).

2.2.6. Prostata (Glandula prostatica)

Erkek genital sisteminde ki bezlerin en büyüğüdür. Simfizis pubis ve arcus pubis'in arkasında, ürogenital diyaframın üzerinde, mesanenin altında ve rektumun önünde yer alan, yaklaşık 20 g ağırlığında, kestane şeklinde büyük kısmı bez, küçük bölümü de kas ve bağ dokusundan oluşan bir organdır (8).

Prostata'nın facies anterior, facies posterior, facies inferolateralis denilen üç yüzü ve basis denilen taban ile apex denilen tepe kısmı bulunur. Apex prostata inferior; basis prostata ise superior yerleşmiştir. Ductuli prostatici olarak adlandırılan bezin boşaltıcı kanalları prostatik üretraya açılırlar. Ejakülatın %15-20'sini oluşturan prostat salgısı, ovumun döllenmesini sağlamak için bazik yapıdadır. Ayrıca bu salgının içinde bulunan maddeler semeni önce pıhtılaştırarak koitus sırasında spermlerin dişi üreme sistemine tutunmasını sağlar. Salgının içeresinde ki prostate spesific antigen (PSA) ise semeni tekrar akışkan hale getirerek, spermlerin hareketlilik kazanmasına olanak sağlar (11).

Prostat başlıca inferior vesical arterden gelen dallardan beslenir. Venleri ise venosus prostaticus denilen bir pleksus oluşturur. Lenf drenajı ise internal iliak lenf düğümlerine olur. Sempatik sinirler T11-L1'de gelir ve prostata'nın düz kaslarına kontraksiyon yaptırarak bezin sürekli salgı yapmasını sağlar. Afferent ağrı lifleri ise plexus pelvicus ve nn. errigentes yoluyla S2-S4 segmentlerine ulaşır.

2.2.7. Glandula Bulbourethralis (Cowper bezi)

Membranöz üretranın her iki tarafında, yaklaşık 1 cm boyutunda bezelyeye benzer şekilde, sarı renkli bir çift bezdir. Derin perine de bulunan bu bez birçok lobcuktan oluşur. Bu bezin kanalları spongioz üretranın proksimal parçasına ductus gll. bulbouretrales ile açılır (8).

Siyalik asit, galaktoz ve galaktozamin gibi maddeler içeren müköz salgısı; cinsel uyarı ile üretraya girer ve üretra içinde kalmış idrarı nötralize eder. Ayrıca ejakülat'ın üretradan geçişini ve seksüel birleşmeyi kolaylaştırır (11). Seksüel uyarı sırasında, penis ucunda berrak olarak görülen sıvı bu beze aittir.

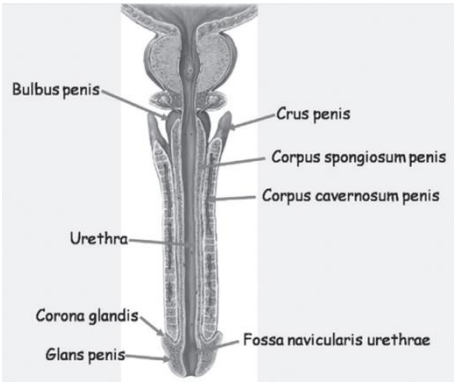
2.2.8. Penis

Erkek çiftleşme (kopulasyon) organıdır. Penis ucundan pubis'e kadar olan bölümüne corpus penis, yüzeyel perineumda bulunan kısmına ise radix penis denir. Radix penis ise; bulbus penis ve crus penis adı verilen iki kısımdan oluşur (16). Corpus spongiosum penis denilen erektil yapının geniş olan arka bölümü Bulbus penis'tir (Şekil 4). Bu dokunun yüzeyini M. bulbospongiosus örterken, üretra tarafından delinir. Crus penis ise, corpus cavernosum penis'in arka tarafında bulunan iki erektil dokudan oluşur ve M. ischiocavernosus ile örtülüdür. Corpus penis, iki tane corpus cavernosum penis ve bir tane corpus spongiosum penis olmak üzere toplam üç adet silindirik yapıdan oluşur. Bu erektil yapılar içte tunica albuginea ile dışta ise buck fascia (fascia penis) ile sarılır. Penis lig. fundiforme penis ve lig. suspensorium penis aracılığıyla karın ön duvarına asılıdır.

Penis derisi, koyu renkli ve ince bir yapıya sahiptir; deri altı yağ dokusu içermez. Uç kısmında kendi üzerinde katlanarak preputium penis (sünnet derisi) adı verilen yapıyı oluşturur (8)(9).

Corpus spongiosum penis, genişleyerek glans penis yapısını oluşturur. Glans penis'in taban kısmı Corona glandis olarak adlandırılır. Ayrıca corpus spongiosum penis içerisinden uretra geçmektedir. Glans penis'in ön ucunda, dikey bir yarık şeklinde ostium urethra externum bulunur (8). Uretra glans penis içinde genişleyerek, fossa navicularis uretra'yı oluşturur.

Corpus cavernosum, ince düz kas tabakasından oluşan trabekülerle çevrili çok sayıda vasküler boşluk içerir. Ereksiyon sırasında arteriae helicinae penis'ten gelen kan bu boşlukları doldurarak penisin düzleşmesini ve sertleşmesini sağlar (8).



Şekil 4. Corpus penis kesiti (17).

Penis A. pudenda interna'nın dalları olan; A. bulbi penis, A. profunda penis ve A. dorsalis penis tarafından beslenir. Glans penis, N. dorsalis penis ve aynı zamanda N. perinealis'in bir dalı ile innerve edilir. N. dorsalis penis, glans penis'in venrtolateral kısmı boyunca uzanır (18). Erektil yapılarda ki kanın büyük kısmı V. dorsalis profunda penis tarafından drene edilir. Penisin parasempatik innervasyonu S2-4 segmentlerinden, sempatik innervasyonu ise L1-2 segmentlerinden sağlanır (19). Penis cildini drene eden lenf damarları yüzeyel inguinal lenf düğümlerine ulaşırken, glans penis'in lenf drenajı derin inguinal ve eksternal iliak lenf düğümlerine yönelir. Erektil yapıların lenfatik drenajı ise internal iliak lenf düğümlerine gider (19).

2.2.9. Urethra masculina

Mesanenin çıkış kısmı olan ostium uretra internum'dan başlayarak penis ucundaki ostium uretra externum'a kadar uzanan, boyutu 18-20 cm civarında olan boru şeklinde bir organdır. Penis gevşek durumda olduğunda, curvatura infrapubica ve curvatura prepubica olarak adlandırılan ki eğrilik oluşturur. Erkek üretrası hem idrarın hem de ejakülatın vücut dışına atılmasını sağlar. Ayrıca, erkek üretrası, geçtiği yapılara göre adlandırılan dört bölümden oluşur (8).

Pars intramuralis (preprostatica): Üretranın mesane içindeki kısa bölümüdür (8).

Pars prostatica: Prostat içerisinde yer alan, yaklaşık 3 cm uzunluğunda ve üretranın en geniş bölümüdür. Bu bölümün arka duvarında, crista urethralis adı verilen uzunlamasına bir mukozal pilika vardır. Crista urethralis'in ortasında, colliculus seminalis denilen kabarık bir alan yer alır. Colliculus seminalis'in merkezinde, kadınlardaki vajinanın embriyolojik bir artığı olan utriculus prostaticus'un açıklığı, yan taraflarında ise ductus ejaculatorius'ların açılış delikleri bulunur. Ayrıca, crista urethralis'in her iki yanında yer alan sinus prostaticus adı verilen çukurcuklara prostat bezinin kanalları açılır (8).

Pars membranacea: Üretranın pelvis çıkışını kapatan diaphragma urogenitalis içerisinde yer alan, yaklaşık 1.5-2 cm uzunluğunda ki bölümüdür. Apex prostata'dan bulbus penis'e kadar uzanır. İdrar çıkışını istemli olarak kontrol eden m. sphincter

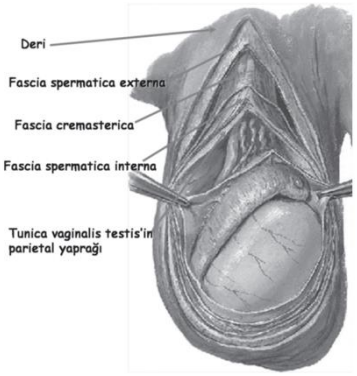
urethrae, üretranın bu bölümünü çevreler. Ayrıca glandula bulbourethralis'ler de bu bölümün yan taraflarına yerleşmişlerdir (8).

Pars spongiosa: Diaphragma pelvis'in alt ucundan başlayarak corpus spongiosum penis'e girer ve ostium urethra externum'a kadar uzanır. Yaklaşık 15 cm uzunluğunda olup, penis yapısına uygun olarak kıvrımlı bir seyir izler. Glandula bulbourethralis'lerin kanalları, üretranın başlangıç kısmının ön tarafına açılır. Başlangıç bölgesindeki genişlemeye fossa bulbaris, uç kısmındaki genişlemeye ise fossa navicularis urethrae denir. Urethra'nın dışarı açılış deliği olan ostium urethrae externa, erkek üretrasının en dar yeridir (8).

2.2.10. Scrotum

Testis, epididym ve funiculus spermaticus'un bir bölümünü içeren skrotum, içten septum scroti, dıştan ise raphe scroti ile iki kompartmana ayrılır. Septum scroti, deri hariç skrotum duvarının tüm tabakalarını içerir (16). Skrotum tabakalarında bulunan fasyalar, karın ön duvar kaslarının fasyalarının devamı niteliğindedir. Dıştan içe doğru skrotum tabakaları şunlardır (Şekil 6):

- Deri
- Tunica dartos (musculus dartos); camper fasyasından derive olur.
- Fascia spermatica externa; M. obliquus externus abdominis'in fasyasından derive olur.
- Fascia cremasterica ve M. cremaster; M. obliquus internus abdominis'in fasyasından derive olur.
- Fascia spermatica interna; fascia transversalis'ten derive olur.
- Tunica vaginalis testis'in pariyetal yaprağı; peritoneumun pariyetal yaprağıdır.



Şekil 5. Skrotum'un tabakaları (17).

Skrotumun derisi oldukça ince olup, kahverengimsi bir renkte görünür. Cilt altında yer alan tunica dartos tabakasındaki düz kas (m. dartos) kasıldığında buruşuk bir görünüm oluşur. Deri üzerinde kalın kıllar, yağ bezleri ve ter bezleri bulunur.

Skrotumun konumu, testislerin vücut sıcaklığından 2 ila 4 °C daha düşük bir sıcaklıkta tutulmasını sağlayarak verimli sperm üretimi için önemli bir rol oynar. Sol skrotum genellikle sağa göre biraz daha aşağıda bulunur (8)(9).

Cremaster kası, uyluğun iç yüzüne temas edildiğinde testisleri koruma amaçlı kasılarak, skrotumu karın duvarına doğru yaklaştırır. Bu olarak cremaster refleksi denir. Soğuk havalarda m. cremaster ve tunica dartos birlikte çalışarak testisleri vücuda yaklaştırır ve skrotum yüzey alanını azaltarak ısı kaybını en aza indirir. Sıcak havalarda ise skrotum gevşer, testisler vücuttan uzaklaşır ve skrotal yüzey alanı artarak ısı kaybı sağlanır. Bu mekanizma testisleri ideal sıcaklıkta tutulmasını sağlayarak sperm üretiminin ve korunmasının devamlılığını destekler (8).

Skrotum'un damarları arasında rr. scrotales anteriores (a. pudenda externa profunda'nın dalları), rr. scrotales posteriores (aa. perineales'in dalları), a. cremasterica (a. epigastrica inferior'un dalı) ve a. testicularis'ten gelen dallar bulunur. Venler arterlerle aynı isimleri taşır. Lenf drenajı yüzeyel inguinal lenf düğümlerine gider.

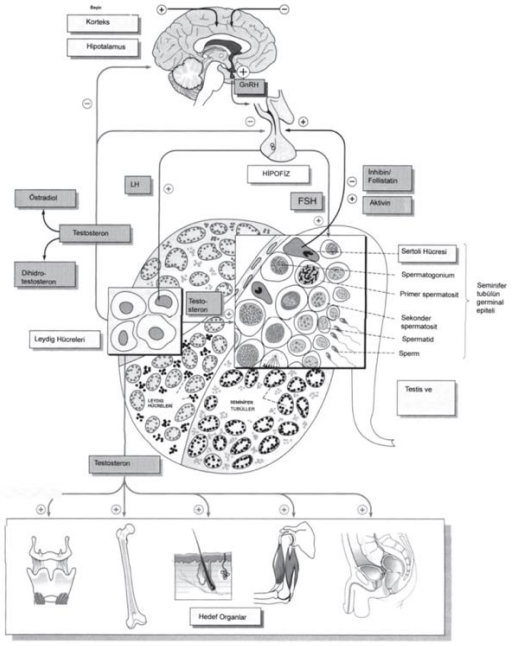
Skrotum'un sinirleri arasında n. genitofemoralis'in genital dalı (anterolateral yüz), nn. scrotales anteriores (n. ilioinguinalis'in dalları; ön ve üst yüz), nn. scrotales posteriores (n. pudendus'un perineal dallarının dalları; arka yüz) ve nn. perineales (n. cutanes femoris posterior'un dalları; alt yüz) bulunur (1).

2.3. Erkekte Hipotalamus-Hipofiz-Testis Aksı

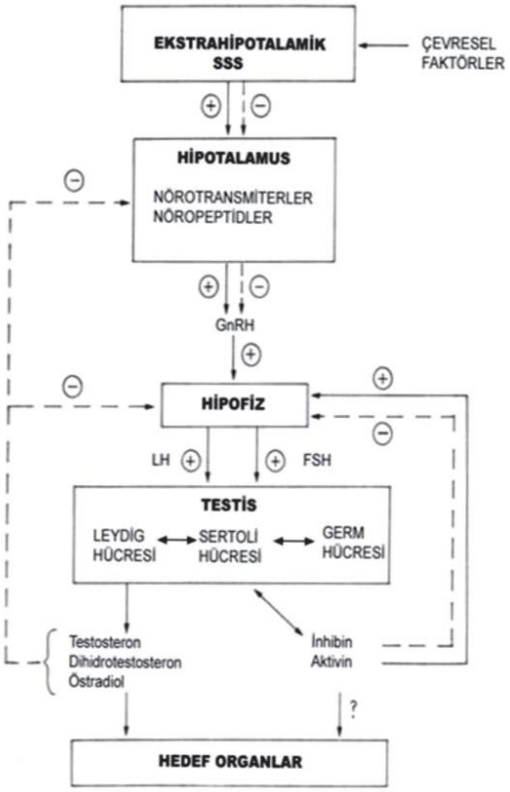
Hipotalamo-hipofizer-gonadal (HHG) aksın erkeklerde iki temel işlevi bulunmaktadır. Bunlardan ilki, üreme işlevi için gerekli olan seks hormonlarının fizyolojik düzeylerde salgılanmasını düzenlemek; ikincisi ise, neslin devamlılığını sağlamak amacıyla sağlıklı spermatogenetik hücrelerin oluşumu ve olgunlaşmasını desteklemektir. Erkekte bu aks hipotalamus, ön hipofiz ve testislerden oluşan üç ana bileşene sahiptir. Bu üç bileşen, birbirlerini birçok endokrin, parakrin ve otokrin etkileşim yoluyla karşılıklı olarak etkilemektedir. Hipotalamustan salgılanan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) kısa bir portal dolaşımla ön hipofize ulaşır ve burada gonadotropik hücrelerdeki reseptörlerine bağlanarak luteinize edici hormon (LH) ve folikül uyarıcı hormon (FSH) salgılanmasını uyarır. Ön hipofiz ile testisler arasında doğrudan bir portal dolaşım bulunmadığından, LH ve FSH sistemik dolaşıma salınarak testislere ulaşır.

LH, testislerde leyding hücrelerini uyararak testosteron (T) salgılanmasını sağlar. FSH ise sertoli hücrelerini aktive ederek, başta seks hormon bağlayıcı globulin (SHBG) ve inhibin olmak üzere birçok molekülün salgılanmasını tetikler. Bu süreç, spermatogenezin başlatılması ve sürdürülmesinde kritik bir rol oynar (17).

Hipotalamus, hipofiz ve testislerden salgılanan hormonlar ile hormonal yapıda olmayan diğer moleküller arasında, mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılmamış pozitif ve negatif geri bildirim mekanizmaları bulunmaktadır. Ayrıca, bu süreçlerde hücreler arası ve hücre içi düzeyde birçok parakrin ve otokrin etkileşim de rol oynamaktadır. Testislerin fonksiyonel organizasyonunu gösteren şema ile erkekte HHG aksın şematik görünümü şekil 6 ve şekil 7'de gösterilmiştir.



Şekil 6. Testislerin fonksiyonel organizasyonu gösteren şematik görünüm (17).



Şekil 7. Erkekte HHG aksın şematik görünümü (17).

2.3.1. Hipotalamo-Hipofizer Sistemin Fonksiyonel Organizasyonu

LH ve FSH, ön hipofizde ki gonadotropik hücreler tarafından üretilir ve salgılanır. Bu hormonlar, erkeklerde testislerde steroid sentezini ve spermatogenezi kontrol etmektedir (20). HHG aksta hipofiz bezi merkezi bir konumda yer alır, hipotalamik gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) kontrolü altında işlev görür ve testiküler fonksiyonları düzenler. GnRH'nin pulsatil olarak salgılanması nedeniyle, özellikle LH olmak üzere gonadotropinlerde bu ritme paralel şekilde pulsatil olarak salgılanmaktadır.

LH ve FSH, ön hipofizde ki aynı gonadotropik hücrelerden salgılanmaktadır (21). Bu gonadotropik hücrelerde, granüllü endoplazmik retikulum, golgi kompleksi ve zengin sekretuar granüller bulunur. Bu yapılar, hormon sentezi ve salgılanması için gerekli olan hücresel altyapıyı sağlar. Normal bir erişkin erkekte hipofiz bezi yaklaşık olarak 700 IU LH ve 200 IU FSH depolamaktadır. Kastrasyon veya primer hipogonadizm durumunda, gonadotropik hücrelerde vakuol sayısının artması ve hücrelerin büyümesi nedeniyle bu hücreler 'kastrasyon hücreleri' olarak adlandırılmaktadır (22).

2.3.2. GnRH'nın Yapısı, Sekresyonu ve Etki Mekanizması

GnRH hipotalamusta bulunan GnRH nöronları tarafından üretilen bir dekapeptit hormondur. Son yıllarda klasik GnRH dışında iki farklı GnRH molekülü daha izole edilmiştir; ancak, bu moleküllerin fizyolojik rolleri henüz tam olarak tanımlanamamıştır (23). GnRH'nın yarılanma ömrü oldukça kısa olup (<10 dk), hipofiz bezine salındıktan sonra burada bulunan peptidaz sistemleri tarafından hızlı bir şekilde parçalanır.

Hipotalamus ile ön hipofiz arasında mikrovasküler bir portal dolaşım bulunduğu için GnRH, sistemik dolaşıma geçmeden yüksek konsantrasyonlarda doğrudan ön hipofize ulaşabilmektedir (24).

GnRH sekresyonu üç farklı ritimle düzenlenmektedir. Bunlardan ilki mevsimsel olup, özellikle yaz aylarında en yüksek seviyeye ulaşırken, kış ve erken ilkbahar aylarında en düşük düzeye iner. Bu durumun, güneş ışınlarından ziyade ısı artışına bağlı olduğu düşünülmektedir (25). İkinci ritim ise sirkadyen ritimdir ve

günün erken saatlerinde testosteronun serum düzeylerinin en yüksek seviyeye ulaşmasından sorumludur. Bu mekanizmanın pineal bezden salgılanan melatonin hormonu tarafından düzenlendiği düşünülmektedir. Üçüncü ritim, pulsatil salınım olarak adlandırılır ve GnRH'nın her 90-120 dakikada bir pik yapması şeklinde gelişir (24).

Pulsatil salınımın mekanizması tam olarak anlaşılmamış olmakla birlikte, galanin ve nitrik oksit (NO) gibi noradrenerjik uyarıların bu süreçte rol oynayabileceği öne sürülmüştür (26). GnRH'nın bu üç mekanizmadan bağımsız olarak gerçekleşen düşük düzeyde bazal salınımı da bulunmaktadır. Bu bazal GnRH salınımı, özellikle FSH salınımını LH'den daha fazla etkilemektedir.

Erkeklerde GnRH salınımını kontrol eden majör hormon testosteron (T) olup, negatif geri bildirim etkisini em hipotalamik hem de hipofizer düzeylerde göstermektedir. T, negatif geri bildirim etkisini doğrudan veya metabolitleri olan dihidrotestosteron (DHT) ve östradiol yoluyla gösterir. T ve metabolitlerinin negatif geri bildirim mekanizmalarının etkili olduğu bölgeler literatürde tartışmalı olmakla birlikte, son çalışmalar T ve DHT'nin esas olarak hipotalamik düzeyde etkili olduğunu ve GnRH salınım sıklığını (frekansını) inhibe ettiğini göstermektedir. Östrojenler ise daha çok hipofizer düzeyde etkili olup, LH ve FSH salınım amplitüdünü azalttığı belirtilmektedir (27).

2.3.3. Gonadotropinlerin Sekresyonu ve Etki Mekanizması

LH ve FSH, glikoprotein yapısında olup ön hipofiz bezinden salgılanmaktadır. Bu hormonlar gonadların gelişimi, olgunlaşması ve işlevlerinin düzenlenmesinde temel bir rol oynamaktadır. Tiroit stimüle edici hormon (TSH) ve insan koryonik gonadotropini (hCG), alfa ve beta olmak üzere iki polipeptit zincirinden oluşmaktadır. Glikoprotein yapısındaki bu hormonların alfa alt birimleri birbirine benzese de beta alt birimleri yapısal benzerlik göstermelerine rağmen tamamen farklı fonksiyonlara sahiptir (28).

LH ve FSH, farklı terminal glikozilasyon profillerine sahip oldukları için yarılanma ömürleri de birbirinden farklıdır. LH, karaciğerde hızla metabolize edilerek 20 dakikalık, FSH ise siyalize yapısı sayesinde 2 saatlik yarılanma ömrüne sahiptir (29).

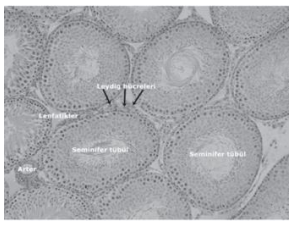
Adenohipofizde salgılanan LH ve FSH farklı sekresyon granüllerinde depolanır ve GnRH stimülasyonu ile hızla serbest bırakılır. Her ikisi de farklı granüllerde depolanması, farklı reseptörlere bağlanması ve FSH'nın düşük frekanslı GnRH'ya yanıt vermesi ile aktivin kontrolünde olması, bu hormonların farklı pulsatil salınımlarını açıklar (30).

Gün içinde serum LH düzeyinde %50-70, FSH düzeyinde ise %5-10 oranında dalgalanmalar gözlenmektedir. Bu nedenle serum hormon düzeyleri değerlendirilirken FSH için tek kan örneği yeterliyken, LH için sabah saatlerinde 20 dakika arayla alınan üç kan örneğinin karşılaştırılarak ölçülmesi önerilir.

FSH ve LH etkilerini spesifik reseptörler aracılığıyla gösterir. Reseptörlere bağlanmaları G protein aktivasyonu, cAMP artışı ve protein kinaz aktivasyonunu tetikler. Ancak temel etkilerini hücre içi cAMP artışı ile gerçekleştirirler (31).

2.4. Leyding Hücresi ve İşlevleri

Testis, yapısal ve işlevsel olarak iki ana kompartmandan oluşur. Seminifer tübül kompartmanı, sertoli hücreleri ve germ hücrelerinden oluşarak testis hacminin yaklaşık %80-90'ını oluşturur. İntertisyel kompartman ise başlıca testosteron sentezleyen leyding hücreleri ile peritübüler myoid hücreler, kan damarları, mast hücreleri, lenfatikler, fibroblastlar, nörovasküler hücreler ve makrofajları içerir. Şekil 8'de testis dokusunun ışık mikroskobu altında görüntüsü görülmektedir.



Şekil 8. Testis dokusunun ışık mikroskobunda görüntüsü (H&E x200).

Testis hacminin yaklaşık %5-12'si leyding hücrelerinden oluşur. Genç bir erkekte leyding hücrelerinin sayısı ortalama olarak 700 milyonu bulmaktadır (32). Granüler eozinofilik sitoplazmaya sahip leyding hücreleri, poligonal şekilli hücrelerdir. Leyding hücrelerinin sitoplazmasında Reinke Kristalli olarak adlandırılan ve salgıların hücre dışına taşınmasında rol oynadığı düşünülen yapılar bulunur.

Leyding hücreleri, seminifer tübüllerdeki sertoli hücrelerini parakrin olarak düzenleyip spermatogenezi uyaran testosteron sentezler. Sentezlenen testosteron, testis kapillerine salgılanarak genel dolaşıma katılır ve vücuttaki androjen hedef organlar üzerinde endokrin sinyaller oluşturur (17).

2.5. Testosteron Sentezi ve Kontrolü

Testosteron (T), kolesterolden bir dizi aşamayla sentezlenen ve erkeklerde sekonder cinsiyet karakterlerinin yanı sıra sperm hücrelerinin oluşumunu sağlayan steroid yapılı bir hormondur. T testis tarafından üretilen temel steroiddir. Sirkülasyonda ki LH, leyding hücre yüzeyindeki LH ve hCG için ortak olan G protein ile bütünleşmiş reseptöre bağlanır. Bu bağlanma, reseptör agregasyonu ve konformasyonel değişiklik sonucu Gs proteininin aktivasyonuna yol açar. Ardından, cAMP bağlı protein kinaz (PKA) aktive olur. PKA aktivasyonu ile, steroidogenez ve T üretimini düzenleyen proteinlerin sentezini arttırır. Ardından bir dizi biyokimyasal sentez aşaması sonucunda T üretilir.

T leyding hücre membranından pasif difüzyon yoluyla interstisyel alana geçer. Burada ekstraselüler sıvı ve kan plazmasında steroid bağlayıcı proteinlere tutunarak taşınır. Kolesterol depolarının korunması, leyding hücrelerinin dinlenme halinde ki temel işlevlerinden biridir. LH stimülasyonu, kolesterol esteraz aktivitesini arıttırarak kolesterol mobilizasyonunu sağlar. LH uyarısının azalması, leyding hücre hacminin küçülmesine, T üretiminin azalmasına ve düz endoplazmik retikulum kaynına yol açarken, hücre sayısında bir değişiklik oluşturmaz (17).

Leyding hücrelerinde steroidogenez hem hipofizer hem de hipofizer olmayan faktörlerin etkisiyle düzenlenen kompleks bir süreçtir. T sentezinin temel düzenleyicisi LH'dır (33). Sekonder haberci cAMP aracılığıyla LH, kolesterolün mitokondri içine taşınmasını başlatır. LH dışında FSH ve prolaktin gibi diğer hipofizer peptitler, LH'ya verilen yanıtı modifiye eder (34). FSH'ın leyding hücreleri üzerindeki etkisi, reseptörlerinin interstisyel makrofajlar ve sertoli hücrelerinde bulunması nedeniyle dolaylı olarak gerçekleşir.

T seviyeleri fetal, neonatal ve yetişkin dönemlerde belirgin değişiklikler gösterir ve hayat boyunca üç farklı dönemde pik yapar: Gestasyonun 12-18 haftaları arasında, doğum sonrası ikinci ayda ve puberte ile birlikte ikinci veya üçüncü dekatta

(17). Bu piklerin ardından T seviyesi plato çizer ve yaşla birlikte kademeli bir düşüş gösterir. Buna ek olarak T sentezi yıllık ve günlük ritimlerin yanı sıra günlük düzensiz dalgalanmalarla da karakterizedir (35).

T pikleri sırasıyla fetal dönemde üreme yolunun farklılaşması ve gelişimi, neonatal dönemde androjen bağımlı hedef dokuların organizasyonu, pubertede maskülinizasyonun başlaması ve yetişkinlikte maskülinizasyonun sürdürülmesi ile fonksiyon devamlılığının sağlanması gibi gelişimsel olaylarla ilişkilidir.

2.6. Sertoli Hücresi Fonksiyonları

Germinal epitelyumdaki iki hücre tipinden birini oluşturan sertoli hücreleri, erkeklerde sperm üretimi için gerekli olan en önemli hücrelerden biridir (36). Seminifer tübülün bazolateral kısmına sıkı şekilde bağlı bulunan bu büyük hücreler Sertoli'nin sustentacular hücreleri olarak da bilinir (37). Sertoli hücreleri, yakındaki primer spermatogonia'lardan hücre özelliklerine göre kolaylıkla ayırt edilebilir (36).

Sertoli hücreleri androjen bağlayıcı protein (ABP), aktivin ve inhibin-B gibi çok sayıda spermatogenez için hayati molekül salgılar. Yetişkin erkeklerde sperm üretimi normal olsa bile, sertoli hücrelerinin testislerde bulunmaması infertiliteye yol açar (38).

Sertoli hücrelerinin yapısı ve komşu sertoli hücreleri ile kurduğu sıkı bağlantılar sayesinde T'un yerel olarak sekestrasyonunun mümkün olduğunu belirtmek önemlidir. Hücreler arası sıkı bağlantı kan-testis bariyerini oluşturarak spermatogenez için uygun ortam sağlanmaktadır (36).

Sertoli hücreleri birçok işlevde görev alır. En önemli işlevlerinden biri, embriyolojik olarak testislerin belirlenmesinin ardından, dişi cinsiyet organlarının gelişimini engelleyen AMH'ın salgılanmasıdır. Ayrıca ön hipofiz üzerinde etki ederek FSH'yi düzenleyen İnhibin B hormonunu salgılar. Bu hücreler ABP salgılayarak mevcut T'un konsantrasyonunun arttırılmasını sağlar. Kısaca sertoli hücre fonksiyonlar şu şekildedir (36):

- Spermatogenik hücreleri destekleme, koruma ve onlara besin sağlama,
- Spermatogenezin parakrin ve otokrin kontrolünde görev alma,
- Spermatogenez sırasında kolesterol metabolizmasını düzenler,

- Spermatozoa hareketine yardımcı olacak çeşitli maddeler salgılama,
- Yabacı cisimleri ve apoptotik hücreleri fagositoz etme,
- FSH kontrolünde ABP salınımında sorumludur,
- FSH salınımını inhibe eden İnhibin B hormon salgılarlar,
- Kan-testis bariyerini oluşumunda görevlidirler.

2.7. Spermatogenez

Spermatogenez, diploid kromozomlu spermatogonia hücrelerinin farklılaşarak spermatidleri meydana getirdiği kompleks süreçtir. Mitotik ve mayotik olayların görüldüğü bu süreç puberte ile başlayarak yaşam boyu devam etmektedir (39). Üç temel fazdan oluşur.

2.7.1. Spermatogonia Fazı (Mitoz Evresi)

Seminifer tübüllerin bazal membranına bağlı en immatür germ hücreleri olan spermatogonyumlar, primordial germ hücrelerinden köken alır ve puberteye kadar inaktif durumda kalırlar. Spermatogonyumlar ve mitoz bölünme ile oluşan kopyaları diploid (2n) kromozomludur ve bireyin 46 kromozomunu içerir (11).

Seminifer tübüllerde üç farklı spermatogonyum tipi tanımlanmıştır:

Tip A koyu spermatogonyumlar: Kök hücre görevini üstlenerek kendilerini yeniler veya Tip A açık spermatogonyumlara dönüşebilir.

Tip A açık spermatogonyumlar: Çok sayıda mitoz bölünme geçirerek çoğalır ve bir kısmı Tip B spermatogonyumlara dönüşür.

Tip B spermatogonyumlar: Mitozla bölünerek primer spermatositleri oluşturur.

2.7.2. Spermatosit Fazı (Mayoz Evresi)

Bu evre, spermatositlerin genetik materyallerini yarıya indirerek haploid sperm hücrelerinin oluştuğu evredir. Primer spermatositler DNA replikasyonu

tamamlandıktan sonra mayoz I geçirerek yine diploid sayıda kromozom içeren sekonder spermatositlere (2n) dönüşür. Sekonder spermatositler ise mayoz II geçirerek haploid spermatidleri oluşturur.

2.7.3. Spermatid Fazı (Spermiogenez)

Bu fazda haploid spermatidler, olgun spermatozoalara dönüşür. Yapısal ve fonksiyonel değişimler içeren bu süreç şu aşamalardan oluşur:

I. Golgi Evresi: Spermatid sitoplazmasında golgi kompleksi tarafından akrozomal vezikül üretilir. Sentrioller ise kuyruk (flagellum) gelişimi için organize edilir (40).
II. Başlık Fazı: Akrozomal vezikül genişleyerek nükleusun ön kısmını kaplayan bir başlık (akrozomal kep) oluşturur.
III. Akrozom Fazı: Spermatidin yapısında en fazla değişikliğin görüldüğü bu aşamada çekirdek yoğunlaşır ve hücre şekli değişir. Mitokondriyonlar, spermin enerji üretimini sağlayacak şekilde orta parçaya yerleşir. Flagellum oluşumu tamamlanır ve sperm hareket yeteneği kazanır.
IV. Olgunlaşma Fazı: Spermatidler, sertoli hücreleri ile olan bağlantılarını koparark seminifer tübül lümenine salınır. Spermin artık sitoplazmik parçaları sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir.

2.7.4 Spermiasyon

Spermatogenez sürecinin sonunda, olgunlaşmış spermatidlerin seminifer tübülerden serbest bırakılması sürecine spermiasyon denir (11). Seminifer tübüllerde serbest kalan sperm hücreleri başlangıçta hareketsizdir. Sertoli hücreleri tarafından salgılanan sıvılar ve peritübüler hücrelerin oluşturduğu peristaltik dalgalarla taşınır. Sperm hücreleri sırasıyla; rete testis, ductuli efferentes, ductus epididymis üzerinden epididimise ulaşarak burada olgunlaşma sürecini tamamlar ve ejakülasyon öncesi depolanır.

Ejakülasyon sırasında sperm hücreleri, veziküla seminalis, prostat ve bulbouretral bezlerin salgılarıyla birleşerek Seminal plazma ile karışır. Bu karışım sperm hücrelerine besin ve koruma sağlayarak kadın üreme sistemine ulaşmalarını kolaylaştırır. Kadın üreme sisteminde sperm hücreleri kapasitasyon sürecinden geçerek fertilizasyon yeteneğini kazanır. Akrozom reaksiyonu sayesinde, sperm hücresi oositi dölleyerek fertilizasyonu sağlar.

2.8. Erkek İnfertilitesi

2.8.1.Tanım ve Epidemiyolojisi

İnfertilite, cinsel aktif bir çiftin 1 yıl boyunca korunmasız sık ilişkiye girmesine rağmen gebe kalamama durumu olarak tanımlanır (41). İnfertilite dünya çapında, tüm çiftlerin yaklaşık %13 ila %15'ini etkilerken, çiftlerin %20'si denemeye başladıktan sonraki ilk yıl gebe kalamıyor (42). Amerika Birleşik Devletleri'nde korunmasız cinsel ilişkiye rağmen ilk yılda gebe kalamayan genç ve sağlıklı çiftlerin yaklaşık %50'si, herhangi bir tedavi uygulamadan sonraki 12 ay içinde başarılı bir şekilde gebe kalabilmektedir (43). İnfertilite vakalarının %20 ila %30'unda erkek faktörü tak başına sorumluyken, çiftlerde bu oran %50 civarındadır (44). Erkek ve kadın faktörleri sıklıkla birlikte var olduğundan her iki partnerin de kısırlık açısından birlikte araştırılıp yönetilmesi önerilir.

Pratik olarak, dünya çapında tüm çiftlerin yaklaşık altıda biri infertilite ile karşılaşmaktadır. Erkek faktörü, infertilite vakaların yaklaşık yarısında önemli bir rol oynamakta olup, bu vakaların % 20 ila %30'unda tek başına sorumlu olduğu kabul edilir (45).

2.8.2. Etiyoloji ve Patofizyoloji

Erkek infertilitesinin birden fazla nedeni olup etiyolojilerine göre geniş kategorilere ayrılmaktadır. Bunlar arasında, vakaların %2 ila %5'inde görülen endokrin bozukluklar (genellikle hipogonadizm kaynaklı), %5'inde sperm taşıma bozuklukları (vazektomi gibi), %65 ila % 80'inde primer testis defektleri (tanımlanabilir bir nedeni olmayan anormal sperm parametrelerini içerir) ve %10

ila %20'sinde idiyopatik infertilite (normal sperm ve semen parametrelerine rağmen infertilite) yer almaktadır (46).

Erkeklerde infertiliteye neden olan sorunlar Tablo 2'de verilmiştir. İnfertil erkeklerin %30'unda kısırlığa neden olacak herhangi bir neden bulunamamıştır.

Ayrıca erkek infertilitesi pre-testiküler, testiküler ve post-testiküler nedenler olarak da sınıflandırılabilir: Pre-testiküler nedenler arasında hipogonadotropik hipogonadizm, erektil disfonksiyon veya ejakülasyon sorunları gibi koital bozukluklar, genetik faktörler ve kromozomal anormallikler yer alır. Testiküler sorunlar arasında, testis tümörleri, orşiektomi, kriptoorşidizm ve atrofik testisler bulunur. Varikosel testiküler nedenler arasında önemli bir yer tutar. Epididimal disfonksiyona neden olan durumlar infertilite ile sonuçlanabilir. Post-testiküler etiyolojiler arasında; Seminal vezikül lezyonları, inflamatuar hastalıklar, vas deferenslerin konjenital yokluğu, post vazektomi gibi nedenler yer alır. Bu kategoriye ayrıca mesane boynu ameliyatı, TUR-P ameliyatı, retroperitoneal lenf nodu diseksiyonu gibi cerrahiler ve ejakülasyon sorunlarına yol açan çeşitli ilaçların kullanımı da dahildir.

Tablo 2. Erkek infertilite nedenleri ve ilişkili faktörler (47).

Tanı	**Seçilmemiş hastalar (n = 12,945)**	**Azoospermik hastalar (n = 1,446)**
Tümü	%100	11.2%
Bilinen (muhtemel) nedenlere bağlı infertilite	42.6%	42.6%
İnmemiş testis	8.4	17.2
Varikosel	14.8	10.9
Sperm oto-antikorları	3.9	-
Testis tümörü	1.2	2.8
Diğerleri	5.0	1.2
İdiyopatik infertilite	30.0	13.3
Hipogonadizm	10.1	16.4

Klinefelter sendromu (47, XXY)	2.6	13.7
XX erkek	0.1	0.6
Bilinmeyen nedenlere bağlı primer hipogonadizm	2.3	0.8
Sekonder (hipogonadotropik) hipogonadizm	1.6	1.9
Kallmann sendromu	0.3	0.5
İdiyopatik hipogonadotropik hipogonadizm	0.4	0.4
Hipofiz ameliyatı sonrası kalan	< 0.1	0.3
Geç başlangıçlı hipogonadizm	2.2	-
Konstitüsyonel ergenlik gecikmesi	1.4	-
Diğerleri	0.8	0.8
Genel/sistemik hastalık	2.2	0.5
Malign hastalık nedeniyle kriyoprezervasyon	7.8	12.5
Testis tümörü	5.0	4.3
Lenfoma	1.5	4.6
Lösemi	0.7	2.2
Sarkom	0.6	0.9
Ereksiyon/ejakülasyon bozuklukları	2.4	-
Obstrüksiyon	2.2	10.3
Vasektomi	0.9	5.3
Kistik fibrozis (konjenital bilateral vas deferens yokluğu)	0.5	3.0
Diğerleri	0.8	1.9

2.8.3 Tanısal Değerlendirme

Erkek infertilitesinin başlangıç değerlendirmesinde üreme öyküsü ve en az bir semen analizi olmalıdır. Önemli tedavi kararları semen analizi sonuçlarına göre planlanır ve çoğu çalışma semen parametrelerinin erkek fertilitesi için dolaylı bir gösterge olduğu kabul edilir. Ancak tek başına semen analizi fertil ve infertil erkekleri ayırt edemez.

Kısırlık sorunu yaşayan çiftlerde erkek partnerin değerlendirilmesinin amaçları şunlardır (48,49):

- Çiftin kısırlık sorununa erkek partnerin katkıda bulunup bulunmadığını belirlemek
- Tedaviyle normale döndürülebilecek patolojinin tespiti
- Yardımcı üreme tekniklerinin çifte fayda sağlayıp sağlamayacağını belirlemek
- Altta yatan önemli patolojiyi veya ilişkili komorbiditeleri belirlemek için
- Yardımcı üreme tekniklerine ihtiyaç duyulması halinde sonucu veya başarı oranını etkileyebilecek yaş, sağlık, yaşam tarzı veya genetik faktörlerin olup olmadığını belirlemek

Fizik muayenede testis boyutları ve kıvamı mutlaka değerlendirilmelidir. Klinik pratikte testis hacimleri prader orşidometresi ile ölçülmektedir. Genel popülasyonda testis hacimleri 15-25 ml arasında bulunurken, infertil erkeklerde 13-23 ml arasında ölçülmüştür (47). Vas deferens varlığı, epididim bütünlüğü ve varikosel varlığı değerlendirilmelidir. Ayrıca sekonder seks karakterleri değerlendirilmelidir.

2.8.4. Semen Analizi

Erkek infertilitesinin laboratuvar değerlendirmesinin temel taşı semen analizidir. En az 2 ayrı semen örneği toplanmalı ve örnekler arasında en az bir hafta, ideal olarak ise bir ay ara olmalıdır (50). Her numuneden önce en az 3 günlük perhiz yapılmalıdır (45). Semen analizleri, erkek faktörünün şiddetinin belirlenmesinde ve sınıflandırılmasında yardımcı olur (51). Semen toplanması için en ideal yöntem

hiçbir kayganlaştırıcı kullanmadan mastürbasyonla ejakülatın steril bir kaba alınmasıdır. Örnek numune ideal olarak laboratuvarda toplanmalı, evde toplanacak ise oda ya da vücut sıcaklığında taşınmalı ve 1 saat içerisinde laboratuvarda incelenmelidir.

Ejakülat analizi, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından standardize edilmiştir. Semen parametrelerinin değerlendirilmesi 2021 yılında güncellenmiş olan 6. baskıya göre yapılmalıdır. Tablo 3'te semen parametreleri alt referans limitleri gösterilmiştir.

Tablo 3. DSÖ 2021 semen özellikleri için alt referans limitleri ve terminoloji (47).

Parametre	2021 Alt referans limiti (95% CI)	Terminoloji
Semen hacmi (mL)	1.4 (1.3–1.5)	
Toplam sperm sayısı (10^6/ejakülat)	39 (35–40)	
Sperm konsantrasyonu (10^6/mL)	16 (15–18)	**Oligozoospermi**
Toplam hareketlilik (PR + NP, %)	42 (40–43)	
İleri hareketlilik (PR, %)	30 (29–31)	**Astenoteratozoospermi**
Canlılık (canlı spermatozoa, %)	54 (50–56)	
Sperm morfolojisi (normal formlar, %)	4 (3.9–4.0)	**Teratozoospermi**
pH	> 7.2	
Peroksidaz-pozitif lökositler (10^6/mL)	< 1.0	

MAR testi (bağlı parçacıklarla hareketli spermatozoa, %)	Kanıta dayalı referans değeri yok. Her laboratuvar, yeterince büyük sayıda doğurgan erkeği test ederek kendi normal referans aralıklarını tanımlamalıdır.	
İmmünobead testi (bağlı boncuklarla hareketli spermatozoa, %)	Kanıta dayalı referans sınırları yok.	
Seminal çinko (µmol/ejakülat)	> 2.4	
Seminal fruktoz (µmol/ejakülat)	> 13	
Seminal nötral α-glukosidaz (mU/ejakülat)	> 20	

Toplam sperm sayısının sperm konsantrasyonunda daha fazla tanısal değere sahip olduğu kabul edilmektedir. Sperm hareketliliğinin değerlendirilmesinde kategoriler hızlı ileri hareketli, yavaş ileri hareketli, ileri hareket etmeyen ve yavaş olarak yeniden düzenlenmiştir. Morfoloji değerlendirmesinde sperm adaptasyonlu papanicolaou boyaması ile Kruger sıkı kriterleri önerilmektedir (47). Canlılık değerlendirmesinde >54 sınır değer olarak değiştirilmiştir ve spermatozoaların yalnızca %60'ından fazlası hareketsizse yapılmalıdır.

2.9. Varikosel

2.9.1. İnsidans ve Patofizyoloji

Varikosel, pampiniform pleksus venlerinin anormal genişlemesi olarak tanımlanır. Erişkin erkek popülasyonunun %15-22'sinde görülmesine rağmen, infertilite araştırması nedeniyle başvuranların %30-40'ında saptanır (52). Genellikle ağrısız olan varikoseller; anormal semen analizi, düşük sperm sayısı, azalmış sperm

hareketliliği ve anormal sperm morfolojisinin tanımlanmış en sık nedeni olduğu için klinik olarak oldukça önemlidir (53).

Genellikle sol varikosel görülürken dikkatli fizik muayene yapıldığında, bilateral varikosel saptanma insidansı beklenenden daha fazladır. Varikoselin sperm üretimini, yapısını ve işlevini nasıl bozduğu tam açık değildir ancak; birden fazla çalışma ve meta-analizden elde edilen açık ve ikna edici kanıtlar klinik olarak önemli varikoselin cerrahi tedavisinin sperm sayısını, hareketliliğini, morfolojisini ve gebelik oranlarını önemli ölçüde iyileştirebileceğini göstermektedir (54,55).

Varikoseli olan hastaların çoğu doğurgandır, ancak bazılarının spermleri fonksiyon, morfoloji, sayı ve hareket açısından zayıftır. Araştırmacılar, varikosele bağlı venöz konjesyonun yol açtığı artan oksidatif stresin, sperm hücrelerinde aşırı ısı, oksijenasyon azalması, hidrostatik basınç hasarı ve toksin birikimi gibi mekanizmalar aracılığıyla hasara neden olabileceğini öne sürmektedir (56). Varikosel spermatik DNA bütünlüğünü bozabilir, oksidatif stresi arttırabilir ve sperm fonksiyonlarını çeşitli yönlerden olumsuz etkileyebilir.

Varikoselin infertilite üzerine patofizyolojik etkisi çeşitli etiyolojik faktörlerin kombine etkileşimi ile ortaya çıkmaktadır. Bu faktörlerden aşağıda sırasıyla kısaca bahsedilmiştir.

2.9.1.1 Hipertermi/Hipoksi

Spermatogenez için en ideal ortam ısısını sağlayan skrotum, normal vücut ısından yaklaşık 2,5 °C daha düşük bir sıcaklığa sahiptir (57). Varikosel durumunda venöz reflü ve staz nedeniyle skrotal ısı artışı olmaktadır. Bu ısı artışının, testiküler dokuda serbest oksijen radikallerinin (SOR) suprafizyolojik düzeylere ulaşmasına ve DNA polimeraz aktivitesinin azalmasına yol açarak germ hücre apoptozisini tetiklemesi olası patofizyolojik mekanizmalardan biri olarak değerlendirilmektedir (58). Benzer şekilde skrotal hiperterminin leyding hücre fonksiyonlarını etkileyerek T sentezini bozabildiği belirtilmektedir (59). Skrotal hipertermi ve vasküler değişikliklere bağlı meydana gelen hipoksi de SOR'nin artmasına neden olarak fertiliteyi olumsuz etkilemektedir (58). Hipoksi koşullarında artan HIF-1a (hypoxia induced factor 1 alpha) seviyelerinin leptin ekspresyonunu arttırarak T üretimini düşürdüğü, seminifer tübül hasarına yol açarak spermatogenezi bozduğu öne

sürülmektedir. Ayrıca HIF-1a artışının testiküler dokuda apoptozisi arttırdığı gösterilmiştir (60).

2.9.1.2. Oksidatif Stres

Oksijen metabolizmasının yan ürünleri olarak üretilen SOR'i bazı yapıların sentezi, çeşitli transkripsiyonel faktörlerin aktivasyonu, apoptoz ve farklılaşma gibi süreçler için hücre içinde fizyolojik düzeyde bulunması gerekir. SOR'i antioksidan mekanizmalar ile dengesi bozulup suprafizyolojik düzeylere çıktığında proteinler, lipitler ve nükleik asitler gibi önemli hücresel yapılar üzerinde zararlı etkiler oluşturur. Bu toksik etki özellikle spermatogenez gibi aktif süreçlerde apoptozisten genetik değişikliklere kadar çeşitli patolojik sonuçlara neden olmaktadır (61). Sağlıklı bir metabolizmada SOR'i enzimatik ve non-enzimatik antioksidan yöntemleri ile dengelenmektedir (62). Enzimatik koruma yöntemlerini süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR) ve katalaz oluştururken; non-enzimatik antioksidanların başlıcaları ise; ürik asit, E ve C vitaminleri ile albümindir (63).

Varikoselde hipertermi, metabolitlerin reflüsü, testiküler hipoksi gibi faktörler SOR artışına neden olarak testiküler oksidatif stresi arttırır. Testiküler oksidatif stresin SOR lehine artması pek çok mekanizma ile fertiliteyi olumsuz etkiler (64). Suprafizyolojik düzeyde artan SOR, membran lipit peroksidasyonu, aksonemal protein hasarı ve ATP deplesyonu nedeniyle motiliteyi azaltırken, P53 seviyesinin artışı ve apoptozis indüksiyonu yoluyla sperm sayısı ve morfolojisini olumsuz etkiler (65).

Oksidatif stres germ hücrelerinin yanı sıra ayrıca seminifer tübüllerin bazal laminasına ve sertoli hücrelerine zarar vererek dolaylı yoldan fertiliteyi etkileyebilir (66). İnfertilite problemi olan kişilerin %25'inde SOR miktarı arttığı gösterilmiş (67). Varikoselde artan SOR seviyesi ve azalan antioksidan konsantrasyonu sperm hücrelerinde ki oksidatif stresi daha da şiddetlendirdiği düşünülmektedir (68).

2.9.1.3. Apoptozis

Programlanmış hücre ölümü olarak tanımlanan apoptozis, germ hücrelerinin gelişimi sırasında hatalı üretilen spermlerin elimine edilerek hatalı genetik materyalin

aktarılmasını önleyen fizyolojik bir mekanizmadır. Ayrıca hücre proliferasyonu ve hücre ölümü arasında dengenin kurulmasını sağlar (69).

Apoptoz, kaspaz (caspase) adı verilen enzimlerin aktivasyonu ile gerçekleşir ve bu süreçte bir molekül diğerini etkileyebilir. Kaspazlar inaktif proenzimler olarak bulunur ve aktifleştiklerinde hiyerarşik bir düzen içinde çalışarak hedef proteinlerde yapısal değişiklikler oluşturur, böylece apoptoz için gerekli sinyali tetikler (69).

Hipoksi, hipertermi, toksinler, serbest radikaller, enfeksiyonlar ve radyasyon mitokondri zarına etki ederek apoptozu başlatırlar. Apoptoz yolaklarında ki dengesizlikler sperm DNA'sına hasar vererek semen parametrelerinde bozukluğa neden olabilir (70). Literatürde, varikosel hastalarında germ hücreleri, testiküler doku ve ejaküle edilen spermatozoada apoptoz düzeyinin ve ilişkili sinyal yolaklarının arttığı bildirilmektedir.

2.9.1.4. Diğer Etkenler

Plexus pampiniformis ile a. testicularis'in yakın komşuluğu, T gibi küçük moleküllerin pasif difüzyon yoluyla venden artere geçişini sağlar. Venöz basınç bozulduğunda, arter-ven arasındaki yoğunluk farkı değişerek T'un testis dokusuna geçişini olumsuz etkileyebilir, bu da spermatogenezi bozabilir (71). Arter-ven basınç dengesizliği testis perfüzyonunu azaltarak hipoksi ve nekroza yol açabilir. Venöz staza bağlı kan akışında ki değişimler, sertoli ve leyding hücrelerinin hasarına neden olarak spermatogenezi olumsuz etkileyebilir. Ayrıca, enflamatuvar yanıtı tetikleyerek kan-testis bariyerini bozarak anti-sperm antikorların oluşumuna zemin hazırlayabilir (72).

2.9.2. Tanı ve Değerlendirme

Varikoseller çoğunlukla asemptomatiktir, ancak hastaların %2 ila %10'u ağrıdan şikâyet edebilir (73). Varikoseller testislerin üstünde, genellikle skrotumun sol tarafında yumuşak yumrular olarak görülür. Varikoselin tanısında fizik muayene, skrotal ultrasonografi, renkli doppler ultrasonografi, sintigrafi ve venografi gibi yöntemler uygulanmasına rağmen fizik muayene tanıda en değerli yöntemdir.

Fizik muayene, valsalva manevrası öncesi ve sonrasında spermatik kordonun palpasyonu şeklinde yapılır. Hasta ayaktayken valsalva yaptırıldığında spermatik

venler çok daha iyi dolgunlaşır. Bu sayede küçük dereceli varikosellerin tespiti daha kolay olmaktadır. Fizik muayene bulgusuna göre varikosel 3 derecede sınıflandırılır:
1.Derece: Valsalva manevrası ile palpe edilebilen varikosel,

2.Derece: Valsalva manevrası yapılmadan palpasyon ile saptanabilen varikosel,

3.Derece: Valsalvasız, gözle görülebilen varikosel,

Varikoseli bulunan infertil her olguda rutin endokrin ve genetik testlere gerek yoktur. Özellikle sperm sayısı ml'de 10 milyondan az saptanan olgularda, cinsel fonksiyon bozukluğu veya endokrinopatiyi düşündürecek klinik bulguların varlığında, varikosel tedavisine yanıtı göstermesi açısından FSH ve testosteron düzeylerinin ölçülmesi faydalı olabilir (74).

2.9.3. Varikoselin Tedavisi

Çocuk sahibi olmak isteyen bir çiftin erkek partnerinde varikosel saptandığında aşağıda belirtilen durumların varlığında tedavi düşünülmelidir (74).

I. Varikoselin palpabl olması,
II. Çiftin bilinen infertilitesinin bulunması,
III. Kadın partnerin fertilitesinin normal olması veya düzeltilebilecek bir infertilite probleminin olması,
IV. Erkek partnerin anormal sperm parametrelerine sahip olması,

Varikoselin açık cerrahi (inguinal, subinguinal, skrotal ve yüksek retroperitoneal), laparoskopik ve radyolojik (skleroterapi veya embolizasyon gibi) yöntemlerle tedavisi bulunmakla beraber, tedavide altın standart yöntem açık cerrahidir. Varikoselektomide ki amaç; vaz deferens ve damarlarını koruyarak, tüm internal ve eksternal spermatik ven dallarını bağlamaktır. Varikosel tedavisi için uygulanan yöntemlerde varikosel nüksü, arter yaralanması gibi çeşitli komplikasyonlar görülebilmektedir.

Güncel kanıt düzeylerine göre mikroskopik varikoselektomi en etkili tekniktir. Mikroskopik varikoselektomi inguinal ve subinguinal yaklaşımla

yapılabilir. İnguinal yaklaşımda eksternal oblik aponevrozun açılması gerekirken, subinguinal yaklaşımda buna gerek kalmaz. Bu nedenle subinguinal yaklaşımda daha hızlı ve az ağrılı bir iyileşme süreci olur (47). Buna karşın subinguinal yaklaşımda daha fazla ven bağlanması ve diseksiyon sırasında daha fazla sayıda arter ile karşılaşılması bu yöntemin dezavantajlarıdır.

Mikrocerrahi subinguinal varikoselektomi, sperm sayısı ve hareketliliğinde daha belirgin iyileşme, düşük rekürrens oranı, minimal komplikasyon riski, hızlı iyileşme süreci ve yüksek gebelik oranları sağlaması nedeniyle, varikosel tedavisinde en sık tercih edilen yöntemlerden biri olarak kabul edilmektedir (75). Varikosel tedavisinde kullanılan yöntemlerin rekürrens ve komplikasyon oranları Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Varikoselektomi yöntemleri (47).

Teknik	Rekürrens %	Komplikasyon
Mikroskopik varikoselektomi	0.4	Hidrosel (%0.4)
Laparoskopik varikoselektomi	3–6	Hidrosel (%7–43)
Açık varikoselektomi	3–13	Hidrosel (%7)
Retrograd embolizasyon	3–11	Hidrosel (%10), Teknik başarısızlık (%7–27)
Antegrat skleroterapi	5–9	Hidrosel (%5), Teknik başarısızlık (%1–9)
Retrograd skleroterapi	6–10	Hidrosel (%3.3), Teknik başarısızlık (%6–7.5)

Mikroskop veya optik büyüteç kullanılmadan gerçekleştirilen konvansiyonel varikoselektomi yöntemlerinde, küçük internal spermatik ven dallarının yeterince görülememesi ve bağlanamaması, tedavi sonrası en önemli nüks nedenidir (76). Optik büyüteç olarak mikroskop ve loop kullanılabilse de ideal varikoselektomi koşullarını sağlamada mikroskobun loop'a göre daha avantajlı olduğu konusunda genel bir görüş birliği bulunmaktadır.

Varikoselektomi sonrası kontrol semen analizi, spermatogenezin yaklaşık 74 gün sürmesi nedeniyle genellikle 3-4 ay sonra yapılmaktadır (77). Çeşitli meta-analizler varikosel onarımının ardından sperm sayısında 9,71 ila 12,32 milyon/ml, hareketlilikte %10,86, morfoloji ise %9,69 oranında bir artış sağladığını ortaya koymuştur (78).

Uygulanan yöntem ve cerrahın tecrübesine göre varikoselektomi komplikasyonları değişkenlik göstermekle birlikte en önemli komplikasyonları; hidrosel, testis atrofisi ve nükstür.

2.9.4. Varikosel Tedavisinde Prediktif Faktörler

Literatürde, varikosel tedavisinin sonuçlarını öngörmeye yönelik çeşitli klinik parametreler değerlendirilmiş olsa da hiçbirinin kesin bir kabul görmediği belirtilmiştir. Başarı, hasta bazında değişkenlik göstermekle birlikte, aşağıdaki özelliklere sahip hastaların varikosel tedavisinden daha fazla fayda sağladığı bildirilmektedir (79):

- İleri derecede varikosel
- Normal veya normale yakın testis hacmi
- Normal FSH/testosteron düzeyleri, düşük inhibin-B
- Toplam motil sperm sayısının 5 milyonun üzerinde olması
- Normal genetik test sonuçları
- Kısa infertilite süresi
- Moleküler düzeyde bozukluk saptanmama

2.10. Seminal Plazma Biyobelirteçlerinin İncelenmesi ve Gerekçesi

Varikosel erkek infertilitesinin en sık nedenlerinden biri olup testiküler mikrosirkülasyonun bozulması, skrotal ısı artışı, hipoksi ve reaktif oksijen radikal (ROS) düzeylerinde artış gibi mekanizmalarla spermatogenezisi olumsuz etkilemektedir. Bu fizyopatolojik değişiklikler, yalnızca sperm sayısı ve hareketliliğini değil aynı zamanda sperm DNA bütünlüğünü, olgunlaşmasını ve fonksiyonel yapısını da etkilemektedir. Bu etkilerin moleküler düzeyde daha iyi

anlaşılabilmesi amacıyla seminal plazmada yer alan biyobelirteçlerin analizi önemli bir araştırma alanı haline gelmiştir.

Seminal plazma; spermatozoanın korunması, desteklenmesi ve taşınması gibi işlevlerin yanı sıra, oksidatif stres düzeyleri, antioksidan kapasite, sertoli ve epididim hücre aktivitesi, apoptoz ve hücresel büyüme gibi birçok fizyolojik sürece dair bilgi veren çeşitli protein ve enzimleri içermektedir. Bu bağlamda varikosel gibi infertilite ile ilişkili durumlarda seminal plazma biyobelirteçlerinin değerlendirilmesi tanısal ve prognostik açıdan değerli bulgular sunabilir. Bu çalışmada incelenen biyobelirteçler, işlevsel özelliklerine göre aşağıdaki başlıklar altında sınıflandırılarak ele alınacaktır.

2.10.1. Oksidatif Stres ve Antioksidan Savunma Mekanizmalarıyla İlişkili Biyobelirteçler

Son yörüngelerinde eşleşmemiş bir elektron taşıyan atom ve moleküller 'serbest radikaller' olarak adlandırılır. Çok kısa ömürlü ve kararsız bir yapı gösteren bu bileşikler kararlı hale ulaşmak için etrafındaki moleküller ile reaksiyona girerek onlardan elektron almaya çalışır (80). Bu serbest radikaller fizyolojik düzeylerde üretildiklerinde sperm matürasyonu, kapasitasyonu, hiperaktivasyonu, akrozom reaksiyonu ve sperm-oosit füzyonu gibi pek çok fizyolojik olayda önemli rol oynar (81). Fizyolojik rollerinin önemine karşın, serbest radikaller aşırı üretildikleri zaman hücre için yaşamsal tehdit oluşturabilir. Lökositler ve immatür spermatozoalar ROS'un başlıca endojen kaynaklarıyken; sigara, alkol, endüstriyel bileşikler, çevre kirliliği, ağır metaller ve radyasyon eksojen kaynakları arasındadır. İdiyopatik infertilite, varikosel ve genitoüriner enfeksiyon gibi patolojilerde semende ROS'un arttığı bildirilmiştir (82). Lipitler, proteinler ve nükleik asitler gibi önemli hücresel komponentler ROS'un potansiyel hedefleridir. Bu makromoleküller arasında özellikle lipitler oksidatif ataklara en açık gruptur. Sperm hücreleri çoklu doymamış yağ asidinden oldukça zengindir ve çift bağların varlığı nedeni ile oksidatif hasara oldukça duyarlıdır (83).

Seminal plazma ROS ile indüklenmiş oksidatif hasara karşı spermatozoayı koruyabilmek için güçlü bir antioksidan kapasiteye sahiptir (81). Bu koruyucu sistem ROS'a bağlı zincirleme reaksiyonunu durduran, oksidan radikalleri toplayan veya

nötralize eden antioksidan molekülleri içerir. Oksidatif stres belirteçleri ve antioksidan savunma sistemleri şunlardır:

Oksidatif Stres Belirteçleri

- 8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG): DNA peroksidasyonunun bir ürünü olan 8-OHdG, oksidatif stresin standart biyobelirtecidir (84). İnfertil erkeklerde, fertil bireylere kıyasla anlamlı şekilde daha yüksek seviyelerde saptanan 8-OHdG; semen, plazma ve idrar gibi farklı biyolojik örneklerde ölçülebilir (85). Yüksek 8-OHdG düzeyleri, artmış DNA hasarına ve sperm fonksiyonlarındaki bozulmaya işaret eder. Bazı çalışmalarda 8-OHdG düzeyleri ile infertilite şiddeti arasında pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmiş ve bu belirtecin infertilite tedavisinde verilen yanıtı öngörmede prognostik bir gösterge olarak kullanılabileceğini öne sürmüştür (84).

- Malondialdehit (MDA): MDA lipit peroksidasyonunun temel son ürünlerinden biri olup, oksidatif stresin biyokimyasal bir belirteci olarak işlev görür (84). ROS'un varlığı peroksidasyon döngülerini tetikleyerek sperm DNA'sında parçalanmaya ve hücre membranındaki lipitlerinin oksidasyonuna yol açar (84). MDA düzeylerindeki yükseklik sperm hareketliliğindeki azalma ile yakından ilişkilendirilmiştir (86). İnfertil erkeklerde seminal MDA seviyeleri fertil bireylere kıyasla belirgin şekilde yüksek saptanmıştır (87). Ayrıca MDA düzeyleri ile sperm hareketliliği, konsantrasyonu ve morfolojisi arasında istatistiksel olarak anlamlı negatif korelasyon bildirilmiştir (86). OS'in akrozom üzerindeki olumsuz etkilerini destekler şekilde, MDA düzeyleri ile akrozom anomalileri arasında da pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiştir (87). Varikoselektomi öncesi ve sonrası seminal plazma MDA düzeylerinin karşılaştırıldığı bazı çalışmalarda, ameliyat sonrasında MDA düzeylerinde

anlamlı azalma gözlenmiş ve varikoselektominin OS üzerine olumlu etkisi olduğu öne sürülmüştür (88).

Antioksidan Savunma Sistem Belirteçleri

- Glutatyon (GSH): GSH serbest radikallerin ve ROS'lerin nötralizasyonuna doğrudan katılan başlıca endojen antioksidanlardan biridir (89). Glutamat, glisin ve sistein aminoasitlerinden oluşan bu tripeptit yapı, hücreler tarafından OS'e karşı hızlı bir savunma mekanizması olarak kullanılan doğal bir indirgeyicidir (90). GSH'nin ROS üzerine karşı korucuyu etkisi, başta glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz olmak üzere ilişkili enzimleri aracılığıyla gerçekleşmektedir(90). Sadece somatik hücrelerde değil, aynı zamanda gametlerde de yaygın olarak bulunan GSH, sperm hücresinin plazma membranını lipid peroksidasyonuna karşı koruyarak hücresel bütünlüğün sürdürülmesine katkıda bulunur(91).

- Glutatyon Peroksidaz-1 (GPx-1): GPX-1, hücre içi hidrojen peroksit birikimini önleyerek OS'in azaltılmasında görev alan başlıca antioksidan enzimdir (92). Substrat olarak GSH kullanan GPx-1, aktif bölgesinde selenyum aminoasitini içerir (93). Bu detoksifikasyon sürecinde GSH, oksitlenmiş formu olan GSSG'ye dönüşür. Sperm hücrelerinde yüksek düzeyde bulunan GPx-1 aktivitesinin azalması; ROS'lerinin artışı, lipit peroksidasyonu ve sperm fonksiyonlarında bozulma ile ilişkilendirilmiştir (94). Bu nedenle seminal plazmada ki GPx aktivitesinin değerlendirilmesi erkek faktörlü infertilitenin tanısında potansiyel bir biyobelirteç olarak önem taşımaktadır. (95). Nitekim, GPx ailesinin spermatogenez sürecindeki ve erkek fertilitesindeki rolünü destekleyen çeşitli çalışmalara literatürde yer almaktadır (94,95).

- Süperoksit Dismutaz (SOD): SOD, hücrede serbest radikallere karşı ilk savunma hattını oluşturan başlıca enzimatik antioksidanlardan biridir. Substrat olarak süperoksit radikallerini kullanarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijen oluşumunu katalize eder (96). Sertoli hücreleri, epididim

ve seminal plazmada yüksek düzeyde bulunur (97). Oksidatif stres belirteçlerini azaltan, sperm hücrelerini lipit peroksidasyonuna karşı koruyan ve DNA hasarını azaltan bu enzimin sperm motilitesi ile pozitif ilişkili olduğu gösterilmiştir (96). Buna ek olarak, seminal plazmadaki SOD aktivitesi ile sperm konsantrasyonu arasında anlamlı bir pozitif ilişki olduğu, SOD düzeyleri ile sperm DNA parçalanması arasında ise ters yönlü bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular, SOD'nin ROS kaynaklı DNA hasarını önlemede kritik bir rol oynadığını ortaya koymaktadır (98).

- Nükleer Faktör Eritroid 2 ile İlişkili Faktör 2 (NRF2): NRF2 hücresel redoks homeostazının korunmasında görev alan ve çeşitli antioksidan genlerin aktivasyonunu sağlayan kritik bir transkripsiyon faktörüdür (99). Fizyolojik koşullarda NRF2, KEAP1 proteini ile sitoplazmada bağlanarak ubikitinasyon yoluyla proteazomal yıkıma yönlendirilir ve böylece baskılanmış düzeyde tutulur (100). OS durumunda ise ROS'lar KEAP1'in yapısında konformasyonel değişikliklere yol açması, NRF2-KEAP1 kompleksinin bozulmasına ve NRF2'nin hücre çekirdeğine translokasyonuna neden olur (101). Nükleer ortamda NRF2, antioksidan genlerin ekspresyonunu aktive eder. Bazı çalışmalar sperm motilitesi azalmış erkek bireylerde NFR2 mRNA ekspresyon düzeylerinin, anlamlı derecede düşük olduğu göstermiştir (102). Bu bulgular, NFR2'nin yalnızca OS kontrolünde değil, aynı zamanda spermatogenez sürecinde de önemli bir rol oynadığını ve erkek infertilitesin değerlendirilmesinde potansiyel bir belirteç olarak kullanılabileceğini göstermektedir (102).

- Kelch benzeri ECH ile ilişkili protein 1 (KEAP1): KEAP1, NRF2'nin negatif düzenleyicisi olarak görev yapan sitoplazmik bir adaptör proteindir (103). Normal fizyolojik koşullarda KEAP1, NRF2 ile kompleks oluşturarak onu ubikitin-proteazom sistemi aracılığıyla sürekli yıkıma uğratır ve böylece hücre içi NRF2 düzeylerinin düşük kalmasını sağlar (104). Oksidatif stres durumunda KEAP1'in yapısında meydana gelen konformasyonel değişiklikler

bu etkileşimi bozar ve NRF2'nin serbest kalarak nükleusa translokasyonuna neden olur (103,104). Nükleusta NRF2; GPx, SOD, glutatyon redüktaz gibi antioksidan enzimlerin gen düzeyinde ekspresyonunu uyarır (103). Yapılan bir çalışmada, KEAP1'in inhibisyonunun, seminifer tübüllerde NRF2'nin translokasyonunu arttırdığı, OS'i azalttığı ve antioksidan gen ekspresyonunu anlamlı şekilde arttırdığı gösterilmiştir (105). Bu bulgular, KEAP1/NRF2 sinyal yolunun insan spermatogenezinde önemli bir düzenleyici mekanizma olarak işlev gördüğünü ortaya koymaktadır (105).

2.10.2. Sertoli Hücre Proteinleri

2.10.2.1. Anti-Müllerian Hormon

Anti-Müllerian hormon (AMH), dönüştürücü büyüme faktörü (TGF) beta süper ailesinin 140 kDa'lık moleküler ağırlığa sahip disülfid bağları ile bağlanmış homodimerik bir glikoproteindir. Yetişkin erkekte AMH, FSH stimülasyonuna yanıt olarak testisin sadece Sertoli hücrelerinde üretilir. Fetüste erkek cinsiyet tayini sırasında Müllerian kanalların gerilemesinde merkezi bir rol oynar (106). AMH yokluğunda, Müllerian kanalları dişi iç cinsiyet organlarına dönüşür (107). AMH'yi kodlayan gen, 19. kromozomun kısa kolunda bulunur (108).

Sertoli hücreleri embriyonik testiste görülen en erken hücre tipidir (109). Ergenlik öncesi testisteki gonadal kütlenin %75'inden fazlası sertoli hücrelerinden oluşur (110). Sertoli hücreleri FSH üretimini düzenleyen inhibin ve aktivinleri, T taşıyan ve spermatogenezi destekleyen androjen bağlayıcı proteinleri (ABP), spermatogonyal kök hücre yenilenmesini sağlayan glial hücre hattı türevli nötrofik faktörlerleri (GDNF) ve AMH salgılarlar (107). Sertoli hücreleri tarafından salgılanan bu faktörlerin hepsi spermatogenezde rol oynar (107).

AMH, Sertoli hücreleri tarafından çift yönlü: apikal olarak seminifer tübüllere ve bazal olarak interstiuma ve dolaşıma doğru salgılanır. Erişkinlerde seminal ve serum AMH konsantrasyonlarını karşılaştıran veriler, puberteden sonra AMH'ın tercihen Sertoli hücresinin apikal kutbu tarafından seminifer tübüllerin lümenine doğru salgılandığını ve bunun da seminal plazmada serumdan daha yüksek AMH konsantrasyonlarına yol açtığını göstermektedir (111).

Erkeklerde serum ortalama AMH değerlerinin yaşamın ilk yılında hızla arttığı ve geç bebeklik döneminde en yüksek olduğu, ardından ergenliğe kadar kademeli olarak düştüğü gösterilmiştir (112).

T, AMH salgılanmasını negatif yönde regüle eder. Bunun en belirgin örneği; erkek çocuklar ergenliğe girdiğinde T seviyesinde ani bir artışın AMH seviyesinde düşüşe neden olmasıdır (113). Testis içi T seviyelerinde ki artış AMH seviyesinin inhibisyonundan sorumludur (114).

Fetal hayatta, AMH sadece sertoli hücreleri tarafından salgılanır ve fetal sertoli hücrelerinin işlevsel bir belirteci olarak kullanılabilir (115). Spermatozoa üretimi testislerin AMH üreten sertoli hücrelerini içeren seminifer tübül epitelinde başlar. Bu nedenle AMH üretimi ile sperm parametreleri arasındaki ilişki çeşitli çalışmalarda incelenmiştir (108).

AMH ve inhibin-B sertoli hücre proteinlerindendir. Seminal plazma inhibin-B seviyesinin, nonobstrüktif azospermi (NOA)'lı erkeklerde testiküler sperm varlığının yararlı bir belirleyicisi olduğu ileri sürülmüştür (116).

Bozulmuş spermatogenez durumunda seminal AMH konsantrasyonları azalır (117).

Normozoospermik erkeklerde oligozoospermik erkeklere göre daha yüksek seminal AMH konsantrasyonları bulunmuştur (118,119).

Ayrıca, NOA'den etkilenen erkeklerde seminal AMH konsantrasyonu, obstrüktif azospermisi olan deneklerden daha düşük bulunmuştur (118). Ayıca NOA'lı erkeklerde artmış serum FSH, azalmış serum AMH ve inhibin-B bulunmuştur (120).

AMH, insan seminal plazmasında tanımlanmış ve ölçülmüştür. Semen parametreleri hakkında bilgi sağladığı öne sürüldüğü için erkek üreme çalışması için ilgi çekicidir (121).

Varikoselin yol açtığı ciddi hasar, sertoli hücrelerinin işlevindeki bozulmayla ilişkilidir (107). Varikosel hastalarında sertoli hücreleri tarafından salgılanan transferrin ve androjen bağlayıcı proteinlerin seviyelerinde azalma olduğu bildirilmiştir (122). Bu da testis kan akışının bozulmasının sertoli hücrelerinin bozulmuş fonksiyonuna yol açabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca varikosel hastalarında yapılan testis biyopsilerinde, seminifer tübüldeki germ hücrelerinin

döküldüğünü ve bu durumun genellikle bozulmuş sertoli hücre fonksiyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (123).

Sertoli hücrelerinden salgılanan inhibin-B, testis hacmi ve spermatozoa sayısı ile ilişkili olup, spermatogenezin bir belirteci olarak gösterilmiştir (124,125). Ayrıca seminal plazma inhibin-B seviyelerinde, obstrüktif azospermi ve NOA arasında anlamlı fark bulunmazken; normospermik fertil hastalarda, azoospermik hastalara göre daha yüksek bulunmuştur (126).

2.10.2.2. İnhibin B

İnhibin B, testiste sertoli hücreleri tarafından, overde ise granüloza ve teka hücreleri tarafından salgılanan bir glikoproteindir. Molekül ağırlıklarındaki farktan dolayı alfa ve beta olmak üzere iki alt birimi vardır. Beta alt biriminin peptit dizisindeki farklılıklara bağlı olarak inhibin A ve inhibin-B olarak iki farklı inhibin tanımlanmıştır. Asıl etkili olan formu inhibin-B'dir (127). İnhibin B, hipofiz bezi üzerinde etkili olarak seçici olarak FSH seviyelerini baskılamaktadır. Ayrıca aktivinin etkilerini antogonize ederekte hipofiz bezi üzerinde negatif etki göstermektedir.

İnhibin B spermatogeneziste önemli bir indikatördür. Spermatogenezisin azaldığı durumlarda serum inhibin-B seviyesi azalırken FSH seviyesi artmaktadır (128). Prospektif bir çalışmada, inhibin-B ve FSH'nın semen parametreleri ile önemli ölçüde ilişkili olduğu gösterilmiş ve semen parametreleri üzerine inhibin-B'nin FSH'dan daha önemli bir gösterge olacağı öne sürülmüştür (129).

Yapılan çalışmaların çoğu, serum İnhibin B düzeyi ile spermatogenez arasındaki ilişkiye odaklanmıştır. Ancak yalnızca serum seviyeleri değil, seminal plazmadaki konsantrasyonu da spermatogenez süreci ve sperm kalitesi açısından önemli bilgiler sağlayabilir. Anderson ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada seminal plazma inhibin-B düzeyinin 15 pg/ml ile 54.100 pg/ml arasında değiştiği (ortalama 280 pg/ml) saptanmış ve inhibin-B düzeyleri ile sperm sayısı arasında pozitif korelasyon olduğu belirlenmiştir (130). Nagata ve arkadaşları, NOA'lı hastalarda TESE ile sperm elde etme oranlarının, seminal plazma İnhibin B düzeyleriyle güçlü bir ilişki gösterdiğini belirtmişler (131).

2.10.3. Apoptoz ve Hücresel Ölüm Mekanizmaları

Apoptoz sadece hücre hasarı veya dış stres sonucu değil aynı zamanda normal gelişim ve morfogenez sırasında da gerçekleşen planlı hücre ölüm mekanizmasıdır (132). Varikoselin erkek infertilitesine katkıda bulunduğu hipotezler arasında, germ hücrelerinde apoptozun artması da yer almaktadır (133). Varikosele bağlı olarak gelişen biyokimyasal ve fizyolojik değişiklikler; hücresel düzeyde DNA hasarına, mitokondriyal disfonksiyon ve ROS'lerin birikimine yol açarak intrinsik apoptoz yolaklarını aktive eder. Testiküler dokularda yapılan immünohistokimyasal ve moleküler analizler, varikoseli bulunan hastalarda germ hücrelerinde apoptoz düzeyinin arttığını göstermiştir (134). Bu nedenle, apoptozun belirteçler aracılığıyla kantitatif olarak değerlendirilmesi, varikoselin fertilite üzerindeki etkilerinin belirlenmesinde tanısal ve prognostik düzeyde fayda sağlayabilir.

- Kazpaz-3: Kaspaz ailesi apoptozun başlatılması ve devamında görevli temel proteaz enzimlerdir. Bu enzimler zimojen formda sentezlenir ve uygun hücresel uyarılar sonucunda aktif forma dönüşerek programlı hücre ölümünü düzenler. İntrensek (mitokondriyal) apoptoz yolunda en önemli yürütücü enzimlerden biri kaspaz-3'tür. Mitokondri, fizyolojik koşullarda ATP üretimi için gerekli olan sitokrom-c proteinini içerir. Mitokondriyal stres durumlarında Bax ve Bak proteinleri mitokondri membrana yerleşir ve membran geçirgenliğinin artmasına neden olarak sitokrom-c'nin sitoplazmaya salınımına yol açar (132). Sitoplazmaya geçen sitokrom-c, apoptotik proteaz aktivasyon faktörü-1 (Apaf-1) ile etkileşime girer ve ATP'nin de bağlanmasıyla 'apoptozom' olarak adlandırılan çok bileşenli kompleks yapıyı oluşturur. Bu kompleks inaktif formdaki prokaspaz-9'u aktif kaspaz-9'a dönüştürür (132). Aktifleşen kaspaz-9, prokaspaz-3'ü aktifleştirir. Kaspaz-3'ün aktivasyonu terminal apoptotik süreci tetikleyerek DNA fragmentasyonu, hücre iskelet proteinlerinin yıkımı ve membran bütünlüğünün kaybı gibi hücresel yıkım olaylarını başlatır. Böylece dönüşümsüz hücre ölüm kaskadı başlamış olur.

2.10.4. Epididimal Fonksiyon ve Matürasyon Göstergeleri

Epididim, spermatozoaların fonksiyonel olgunlaşması, taşınması ve depolanmasında kritik rol oynayan bir organ olup, erkek fertilitesinin sürekliliği açısından vazgeçilmez bir yapıdır. Spermatozoalar testisten immatür halde çıkar ve epididimal geçiş sırasında motilite, membran stabilitesi ve fertilizasyon kapasitesi kazanır. Bu nedenle epididimal fonksiyonun değerlendirilmesi, spermatogenez sürecinin bütüncül analizi açısından önemlidir.

- Alfa glukozidaz (α-Glu): Epididim insan seminal plazmasındaki α-Glu enziminin temel kaynağıdır. α-Glu epididim fonksiyonu ile açıklığını ve semen aktivitesini değerlendirmek için önemli bir parametredir (135). Skrotal ısı stresine maruz kalan bireylerin semen örneklerinde α-Glu düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (135). Ayrıca sperm yoğunluğu, hareket yeteneği ve morfolojisi ile α-Glu seviyeleri arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmektedir (136). Varikosele bağlı gelişen OS ve testiküler ısı artışı epididimal hücre fonksiyonlarını olumsuz etkileyebilir. Bu da α-Glu sentezinde azalma ve sperm matürasyon sürecinde aksamaya neden olabilir. Bu bağlamda seminal plazma α-Glu düzeyinin ölçülmesi; epididim kaynaklı infertilitenin belirlenmesinde ve varikoselektomi sonrası fonksiyonel iyileşmenin izlenmesinde tanısal ve prognostik önem taşımaktadır.

2.10.5. Hücresel Büyüme ve Protein Metabolizması

Hücresel büyüme ve farklılaşma gibi temel biyolojik süreçler, hücre içi sinyal yollarının ve protein metabolizmasının sıkı şekilde düzenlenmesi ile sağlanır. Bu süreçler, özellikle üreme sistemi gibi yüksek oranda enerji ve yapısal düzenlemeye ihtiyaç duyan dokularda daha kritik bir rol oynamaktadır. Protein metabolizması; protein sentezi, katlanması, modifikasyonu ve yıkımı aşamalarını kapsar ve hücre içi homeostazın korunmasında anahtar görev üstlenir. Bu bağlamda, hücresel büyümeyi yönlendiren insülin benzeri büyüme faktörleri (IGF'ler) ve bu faktörlerle etkileşimde bulunan bağlayıcı proteinler, spermatogenez ve fertilite üzerinde belirleyici etkilere sahiptir.

- İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 3 (IGFBP-3): IGFBP-3, bilinen altı IGF bağlayıcı proteinden biridir. Hem IGF-1 hem IGF-2 için majör taşıyıcı protein olarak görev yapar. Kan dolaşımında en yüksek konsantrasyonda bulunan IGFBP'dir (137). IGF-1'e benzer şekilde, IGFBP-3 ekspresyonu da growth hormona bağımlıdır (138). IGFBP-3, IGF-1 ve IGF-2'yi taşıma kapasitesi sayesinde IGF'ye bağlı sinyal iletimini düzenleyerek hücresel büyüme, farklılaşma ve apoptoz gibi biyolojik süreçleri modüle edebilir. Bununla birlikte, IGFBP-3'ün biyolojik etkileri yalnızca IGF ekseni ile sınırlı değildir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, IGFBP-3'ün IGF'den bağımsız olarak da çeşitli hücresel işlevlerde rol aldığını göstermektedir (137). Nükleer IGFBP-3'ün DNA hasar onarımında rolü vardır (138). Büyüme hormonunun etkisinden majör olarak sorumlu mediatör olan IGF-1 mitojenik ve antiapoptotik etkiye sahip peptit yapıda bir hormondur (139). IGFBP-3 ise apoptozisi uyaran antiproliferatif bir proteindir ve IGF-1'in etkisini inhibe eder. Yüksek IGF-1/ IGFBP-3 oranının çeşitli malignitelerle ilişkili olduğu gösterilmiştir (140). Varikosele bağlı ortaya çıkan fizyopatolojik değişiklikler IGF-1 ve IGFBP-3 düzeyini etkileyebilir. Özellikle IGFBP-3'ün artışı, IGF-1'in mitojenik etkisini baskılayarak spermatogenezi olumsuz etkileyebilir. IGFBP-3 glikoz ve oksijen yoksunluğu durumlarında glikozile olarak metabolik stres sensörü olarak hizmet eder (141). Stres altında ki hücrelerde IGFBP-3 otofaji ve apoptozisi indükler (141). Varikosel gibi OS'i arttıran patoloji durumunda Seminal plazma IGFBP-3 düzeyinin ölçülmesi spermatogenez kalitesi hakkında faydalı bilgiler sağlayabilir.

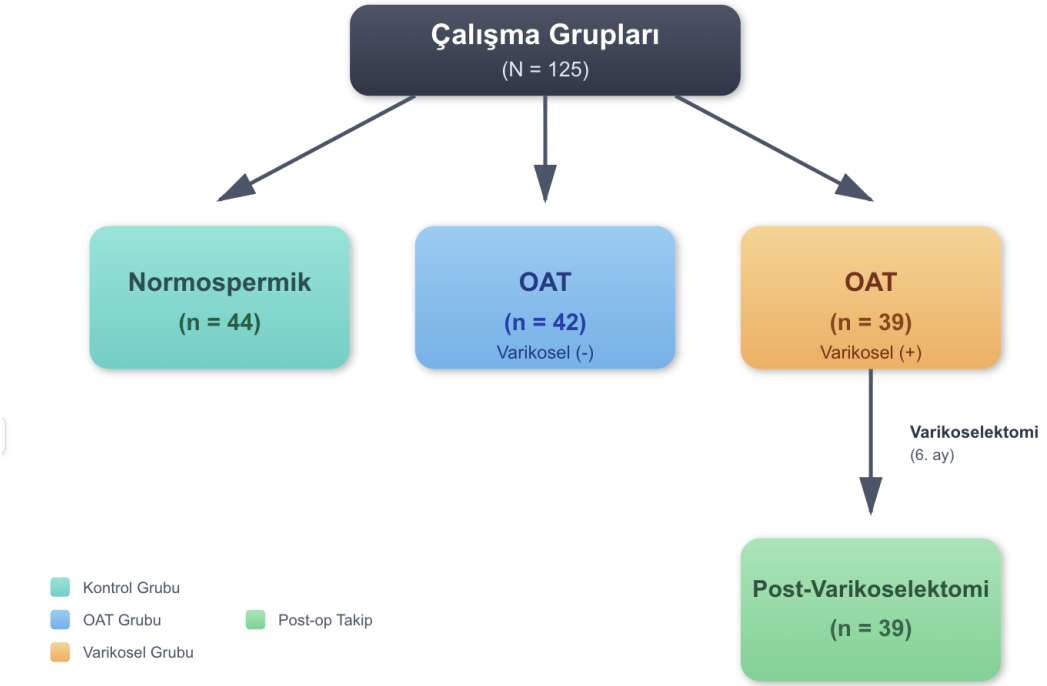
3. MATERYAL VE METOT

3.1. Çalışma Tasarımı ve Katılımcılar

Bu araştırma, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Androloji Bölümü'nde yürütülen retrospektif bir çalışmadır. Çalışma

süreci boyunca tüm etik kurallar gözetilmiş, etik kurul onayı alınmış ve çalışmaya katılan tüm bireylerden yazılı bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

2023–2025 yılları arasında primer infertilite nedeniyle androloji polikliniğine başvuran toplam 125 erkek çalışmaya dâhil edilmiştir. Katılımcılar; fizik muayene, skrotal renkli Doppler ultrasonografi (RDUS) ve semen analizi bulgularına göre üç gruba ayrılmıştır: Normospermik (n=44), OAT (n=42), OAT+Varikosel (n=39). Varikosel + OAT grubunda ki hastalara varikoselektomi uygulanmış ve 6 ay sonra semen analizi, hormonal değerler ve diğer biyobelirteçler tekrar ölçülmüştür. Çalışmaya dahil edilecek örneklem büyüklüğü, G*Power 3.1 yazılımı kullanılarak yapılan güç analizi sonucunda belirlenmiştir.



Şekil 9. Çalışma gruplarının dağılımı.

OAT grubu varikoseli olmayan olgulardan oluşmaktadır. Post-Varikoselektomi grubu ise OAT + Varikosel grubunda varikoselektomi uygulanan aynı hastaların 6 ay sonraki değerlendirmesini göstermektedir.

3.2. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi

Çalışmaya dahil edilen tüm olgular, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Üroloji Anabilim Dalı Androloji Polikliniği'ne primer infertilite nedeniyle başvuran erkeklerden seçildi. Başvuru sırasında tüm hastalardan ayrıntılı anamnez alındı; sigara ve alkol kullanımı, mevcut kronik hastalıkları, düzenli ilaç kullanımları geçirilmiş cerrahi operasyon öyküleri sorgulandı. Boy ve kilo ölçümleri yapılarak vücut kitle indeksleri hesaplandı. Hormonal profilin değerlendirilmesi amacıyla sabah saat 09.00–12.00 arasında açlık venöz kan örneği alındı ve total testosteron, folikül stimüle edici hormon (FSH), luteinize edici hormon (LH) ve estradiol düzeyleri kemilüminesan mikropartikül immünolojik test yöntemiyle analiz edildi. Ayrıca tüm olgulardan rutin biyokimyasal tetkiklere ek olarak lipid paneli (total kolesterol, trigliserit, HDL ve LDL) ve inflamasyonu değerlendirmek amacıyla C-reaktif protein (CRP) düzeyleri çalışıldı.

Tüm olgulara üroloji uzmanı tarafından skrotal fizik muayene yapıldı. Muayene ayakta pozisyonda ve valsalva manevrası eşliğinde gerçekleştirildi. Varikoselin tanı standartları ve yöntemleri arasında skrotumun görünür şişliği ve istirahatte ve valsalva manevrası sırasında spermatik kordun palpasyonu yer aldı. Fizik muayenede saptanan varikoseller Grade 1–3 arasında sınıflandırıldı. Tanının doğrulanması ve testis hacimlerinin objektif değerlendirilmesi için tüm olgulara skrotal renkli Doppler ultrasonografi (RDUS) uygulandı. RDUS incelemeleri 7.5–10 MHz lineer prob ile sırtüstü ve ayakta pozisyonlarda, istirahat ve valsalva manevrası sırasında gerçekleştirildi. İç spermatik ven çapı ≥3 mm olan ve valsalva manevrası sırasında >1 saniye süren reflü varlığı varikosel lehine kabul edildi.

Semen analizleri Dünya Sağlık Örgütü (WHO, 2021) kılavuzuna uygun olarak gerçekleştirildi. Her bireyden en az iki kez, 2–3 hafta arayla ve 2–7 günlük cinsel perhiz sonrasında örnek alındı. Semen örneklerinde hacim, pH, viskozite ve likefaksiyon süresi değerlendirildi; sperm konsantrasyonu, toplam sayı, motilite alt sınıfları ve morfoloji (Kruger kriterlerine göre) incelendi. Bulgular laboratuvar kalite kontrol ilkelerine uygun olarak kaydedildi (World Health Organization. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. 6th ed., Geneva: World Health Organization; 2021).

Bu değerlendirmeler sonucunda üç grup oluşturuldu. Normospermik grup, varikosel saptanmayan ve semen parametreleri normal sınırlarda olan olgulardan oluşturuldu. OAT grubu, varikosel saptanmayan ancak semen analizinde oligoastenoteratozoospermi bulguları olan olgulardan meydana geldi. OAT+Varikosel grubu, fizik muayene ve RDUS ile Grade 3 varikosel tanısı doğrulanan ve semen analizinde OAT bulguları saptanan olgulardan oluşturuldu. Post-Varikoselektomi grubu ise OAT+Varikosel grubundaki hastaların mikroskopik inguinal varikoselektomi sonrası 6. ay kontrol verilerinden oluşturuldu

Çalışmaya dahil edilme kriterleri; 18–45 yaş aralığında olmak, primer infertilite nedeniyle başvurmuş olmak, en az iki semen analizi kaydına sahip olmak, hormonal profil ve RDUS verilerinin eksiksiz bulunması ve bilgilendirilmiş onam formunun mevcut olması şeklinde belirlendi. Çalışma dışı bırakılma kriterleri ise; sigara ve alkol kullanımı, madde bağımlılığı, sekonder infertilite öyküsü, geçirilmiş pelvik cerrahi, endokrin hastalık varlığı (ör. hipogonadizm, tiroid disfonksiyonu), aktif veya geçirilmiş genital enfeksiyon, üreme sağlığını etkileyebilecek cerrahi ya da medikal tedavi öyküsü, antioksidan kullanımı ve diyabet, hipertansiyon veya otoimmün hastalık gibi sistemik hastalıkların bulunması olarak tanımlandı.

3.3. Semen Örnekleme ve Toplama Prosedürü

Semen örnekleri, Dünya Sağlık Örgütü (WHO, 2021) kılavuzunda belirtilen standartlara uygun şekilde alındı. Tüm hastalardan örnekler androloji laboratuvarında, özel olarak ayrılmış ve mahremiyetin sağlandığı odalarda, mastürbasyon yöntemi ile (spermisidal kayganlaştırıcı kullanılmadan) alındı. Örnek alımı öncesinde hastalara ayrıntılı bilgilendirme yapıldı ve her bireyden 2–7 gün süreyle cinsel perhiz uygulaması istendi.

Her katılımcıdan iki semen örneği alındı; örnekler genellikle 1–3 hafta arayla toplandı. Örnekler steril, toksik olmayan kaplara alındıktan sonra laboratuvara teslim edildi ve değerlendirmeler vücut ısısına yakın şartlarda (37 °C) gerçekleştirildi. Analizler örnek alındıktan sonraki ilk bir saat içinde tamamlandı.

Her örnekte hacim, pH, viskozite ve likefaksiyon süresi değerlendirildi. Sperm sayısı, konsantrasyon, toplam sperm sayısı, hızlı ileri hareket, yavaş ileri hareket, toplam motilite ve morfoloji parametreleri incelendi. Morfolojik

değerlendirme Kruger'in sıkı kriterlerine göre yapıldı. Ayrıca yuvarlak hücre sayısı ve lökosit varlığı için peroksidaz boyası gerektiğinde uygulandı.

Elde edilen semen örnekleri santrifüj edilerek seminal plazmaları ayrıldı ve biyobelirteç analizleri yapılıncaya kadar -80 °C'de saklandı. Bu yöntem tüm çalışma gruplarında (Normospermik, OAT, OAT+Varikosel ve Post-Varikoselektomi) aynı şekilde uygulandı. Varikosel operasyonu geçiren olguların postoperatif 6. ayda verdiği semen örnekleri de aynı protokol ile işlenip saklandı.

3.4. Semen Analizi Süreci

Semen analizleri, Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO, 2021) kılavuzunda belirtilen standartlara uygun olarak Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Androloji Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi. Örnekler alındıktan hemen sonra 37 °C'ye ayarlanmış, kalibrasyonu yapılmış ve ısı kontrolü sağlanan etüve yerleştirilerek likefaksiyon sürecine bırakıldı. Tüm örnekler, veriliş saatinden itibaren ilk 60 dakika içinde değerlendirmeye alındı. Analiz süreçlerinde WHO'nun laboratuvar kılavuzunda tanımlanan kalite kontrol ilkelerine riayet edildi. Optimize etmek için tüm semen analizleri aynı araştırmacı tarafından gerçekleştirildi.

Makroskobik değerlendirme: Semen hacmi, pH, viskozite ve likefaksiyon süresi değerlendirildi. Hacim ölçümü, numune kabının önceden tartılması esasına göre yapıldı ve semen dansitesinin yaklaşık 1 g/mL olduğu varsayılarak hesaplandı. Likefaksiyon süresi 60 dakikayı aşan örnekler anormal kabul edildi. Viskozite değerlendirmesi, örneğin geniş uçlu pipetle çekilerek serbest bırakılması yöntemiyle yapıldı; 2 cm'den uzun iplikçik oluşması anormal viskozite olarak tanımlandı. pH değerlendirmesi pH kâğıdı ile gerçekleştirildi ve değerler 6.0–10.0 aralığında değerlendirildi.

Mikroskobik değerlendirme:

- Sperm sayısı ve konsantrasyonu**:** Sayımlar, geliştirilmiş Neubauer veya Makler sayım kamaraları kullanılarak yapıldı. Semen örneği 10 µL'lik hacimde sayım kamarasına yerleştirildi ve toplam sperm sayısı ile konsantrasyon belirlendi. Ölçümler en az iki kez tekrarlandı, sonuçlar arasındaki uyum kontrol edilerek ortalama değer raporlandı. Konsantrasyon değerleri milyon/mL cinsinden ifade edildi. Dünya Sağlık Örgütü'nün 2021

kriterlerine göre sperm konsantrasyonu için 16 milyon/mL, toplam sperm sayısı için 39 milyon/ejakülat alt sınır kabul edildi (142).

- Motilite: Motilite analizi, 37 °C ısı kontrollü mikroskop tablasında faz kontrast mikroskop kullanılarak yapıldı. Her örnekte en az 200 spermatozoa rastgele seçilmiş alanlarda incelendi. Spermatozoalar; hızlı ileri hareketli, yavaş ileri hareketli, yerinde hareketli ve hareketsiz olarak sınıflandırıldı. Aynı örnekten hazırlanan ikinci preparatlarda da benzer sayımlar yapılarak sonuçların tutarlılığı kontrol edildi. Bu değerlendirme sürecinde Dünya Sağlık Örgütü (2021) kriterlerine göre progresif motilite için %30, toplam motilite için %42 alt sınır değerleri esas alındı (142).
- Morfoloji: Morfolojik inceleme için semen örneklerinden yayma preparatları hazırlandı, havada kurutuldu ve Diff-Quik boyama yöntemi uygulandı. Lamlar yağ immersiyon objektifiyle, aydınlık alan okülerleriyle x1000 büyütmede incelendi. Her örnekte en az 200 spermatozoa değerlendirildi. Baş, boyun ve kuyruk yapıları ayrı ayrı incelendi; normal ve anormal formlar Kruger kriterlerine göre sınıflandırıldı. Dünya Sağlık Örgütü (2021) kriterlerine göre normal morfoloji için %4 alt sınır değeri esas alındı (142).

Diğer parametreler: Yuvarlak hücre varlığı, aglütinasyon, debris ve lökosit sayıları da analiz formlarına kaydedildi. Lökosit ayrımı gerektiğinde peroksidaz boyama yöntemi uygulandı. Tüm bulgular özel olarak hazırlanmış "Semen Analiz Formu"na eksiksiz kaydedildi. Analizler, aynı laboratuvar personeli tarafından ve aynı cihazlarla, standardizasyon ilkelerine uygun olarak yürütüldü.

3.5. Seminal Plazma Biyobelirteç Ölçümleri

-80 °C'de saklanan seminal plazma numuneleri, olası ölçüm farklılıklarını önlemek amacıyla çözülme sonrasında aynı anda analiz edildi. Bu yaklaşım, zamanla ortaya çıkabilecek enzimatik değişikliklerin ve kitler arası ölçüm farklılıklarının sonuçlara yansımasını engellemek için tercih edildi.

Biyobelirteç düzeylerinin belirlenmesinde, oksidatif stres, apoptoz, antioksidan savunma ve testiküler ve epididimal fonksiyon ile ilişkileri literatürde gösterilmiş olan şu parametreler değerlendirildi: anti-Müllerian hormon (AMH),

İnhibin-B, Kaspaz-3, 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG), malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz-1 (GPx-1), süperoksit dismutaz (SOD), nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2 (NRF-2), Kelch-like ECH-associated protein 1 (Keap-1) ve insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 3 (IGFBP-3) ve alfa glukozidaz (α-Glu). Tüm biyobelirteçler için Elabscience® (Houston, ABD) ticari kitleri kullanılırken, yalnızca Keap-1 düzeyleri BT LAB (Shanghai, Çin) kitleri ile değerlendirildi. Toplam α-glukozidaz aktivitesi, p-nitrofenol salınımına dayalı kolorimetrik yöntem (Abcam, ab174093) kullanılarak ölçülmüştür. Bu yöntemde α-glukozidaz enzimi, p-nitrophenyl-α-D-glucopyranoside substratını hidrolize ederek p-nitrofenol açığa çıkarır ve oluşan renk değişimi 410 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak değerlendirildi.

ELISA prosedürleri üretici firmaların kullanım kılavuzlarına uygun şekilde yürütüldü. Özetle, örnekler antikor kaplı mikrotitre plakalarına eklendi, inkübasyon sonrasında yıkama basamakları gerçekleştirildi, ardından enzim-konjugat ve substrat çözeltileri ilave edilerek reaksiyon geliştirildi. Durdurma solüsyonu ile sonlandırılan reaksiyonlar, mikroplaka okuyucuda 450 nm dalga boyunda değerlendirildi. Elde edilen optik yoğunluklar kit prospektüsünde tanımlanan standart eğriler yardımıyla konsantrasyonlara dönüştürüldü. Tüm örnekler duplikat olarak çalışıldı ve ölçümlerin ortalamaları analize alındı. Örneğin, AMH ölçümleri için Elabscience® Human AMH ELISA Kit (Cat. No: E-EL-H6234), Keap-1 ölçümleri için ise BT LAB Human Keap1 ELISA Kit (Cat. No: E1344Hu) kullanıldı. Üretici firmaların prospektüslerinde bildirilen analitik performans kriterlerine göre minimum saptanabilir konsantrasyon (sensitivite) değerleri tanımlanmış olup; intra-assay ve inter-assay varyasyon katsayıları <%10 olarak kabul edildi. Ölçümlerin tüm aşamalarında üretici firmaların kalite kontrol prosedürlerine titizlikle uyuldu.

3.6. İstatistiksel Analiz

Çalışmada elde edilen veriler, IBM SPSS Statistics for Windows, Version 29.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) yazılımı kullanılarak analiz edildi. Veri normalliği Shapiro-Wilk testi kullanılarak değerlendirildi ve veri seti normal olmayan bir dağılım gösterdi ($p < 0,05$). Tanımlayıcı istatistiklerde normal dağılım göstermeyen veriler için median (Q1–Q3) şeklinde sunuldu.

Çalışma grupları arasında yapılan karşılaştırmalarda, Normospermik, OAT ve OAT+Varikosel grupları arasındaki farkların değerlendirilmesinde Kruskal-Wallis ANOVA kullanıldı; anlamlı fark saptanan değişkenlerde ikili karşılaştırmalar Dunn's post-hoc testi ile yapıldı. Aynı hasta grubuna ait varikoselektomi öncesi ve sonrası verilerin karşılaştırılmasında ise Wilcoxon işaretli sıralar testi uygulandı.

Biyobelirteçler ile semen parametreleri arasındaki ilişkilerin belirlenmesi amacıyla Spearman korelasyon analizi yapıldı ve sonuçlar görselleştirmek için ısı haritası (heatmap) formunda sunuldu. Tüm testlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edildi.

3.7 Etik Onay ve Finansal Destek

Bu çalışma için Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan etik onay alındı (Etik Kurul Sayı No: E-40465587-050-1825). Protokol, Helsinki Bildirgesi'nde belirtilen etik ilkelere uygun şekilde oluşturuldu (World Medical Association, 2013). ELISA kitlerinin finansmanı, Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü tarafından sağlandı (Proje ID: 2023; Proje Kodu: TSA-2025-2023).

4. BULGULAR

4.1. Demografik Veriler ve Çalışma Gruplarının Genel Özellikleri

Çalışmaya toplam 125 erkek dahil edilmiştir. Katılımcıların demografik, hormonal, seminal ve biyokimyasal özelliklerine ait tanımlayıcı istatistikler Tablo 5'te sunulmuştur. Çalışma grubunun yaş dağılımı 20'li yaşların başlarından 40'lı yaşlara kadar uzanmakta olup, medyan yaş 29 yıl olarak bulunmuştur. Katılımcıların boy ve kilo değerleri ile hesaplanan vücut kitle indeksi (VKİ) genel olarak normal sınırlarda seyretmiştir.

Tablo 5. Çalışmaya dahil edilen bireylerin demografik, hormonal, seminal ve biyobelirteç sonuçlarına ait tanımlayıcı istatistikler (N=125)

Parametre	N	25. Persentil	50. Persentil (Median)	75. Persentil
YAŞ (yıl)	125	26.0	29.0	35.5
BOY (cm)	125	172.0	176.0	180.0
KİLO (kg)	125	70.5	78.0	89.0
GÖBEK ÇEVRESİ (cm)	125	86.0	91.0	99.0
VKİ (kg/m²)	125	23.69	25.47	27.75
FSH (mIU/mL)	125	3.03	4.53	6.73
LH (mIU/mL)	125	2.96	3.84	5.485
Estradiol (pg/mL)	125	23.39	29.0	35.29
Total Testosteron (ng/dL)	125	337.74	466.02	585.51
Semen Hacmi (mL)	125	2.79	3.86	4.99
Semen pH	125	7.45	7.6	7.8
Likefaksiyon (dk)	125	25.0	30.0	42.5
Viskozite	125	1.0	1.0	1.0
Sperm sayısı (×10⁶/mL)	125	7.0	15.7	41.5
Toplam sperm sayısı (×10⁶)	125	21.95	59.04	150.86
Hızlı ileri hareket (%)	125	7.0	10.0	14.0
Yavaş ileri hareket (%)	125	14.0	18.0	22.0
Progresif hareketli (%)	125	21.0	29.0	36.0
Yerinde hareketli (%)	125	4.5	6.0	7.0
Toplam hareket (%)	125	27.0	35.0	42.0
Total Motil Sperm Sayısı (×10⁶)	125	5.41	19.69	61.04
Yuvarlak hücre sayısı (×10⁶/mL)	125	200.0	400.0	700.0
Morfoloji (%)	125	0.0	1.0	3.0
WBC (×10³/µL)	125	5.9	6.9	8.1
Lenfosit (×10³/µL)	125	1.79	2.28	2.81
Nötrofil (×10³/µL)	125	3.04	4.04	5.08

Trombosit (×10³/µL)	125	202.5	241.0	278.0
Hemoglobin (g/dL)	125	14.35	15.1	15.8
RDW (fL)	125	42.95	44.6	46.1
Glukoz (mg/dL)	125	85.0	90.0	96.0
Kreatinin (mg/dL)	125	0.83	0.9	1.01
GFR (mL/dk/1.73m²)	125	99.0	112.0	118.0
CRP (mg/L)	125	0.72	1.57	3.73
Kolesterol (mg/dL)	125	166.5	189.0	216.5
Trigliserid (mg/dL)	125	74.0	104.0	169.5
HDL (mg/dL)	125	39.25	46.2	54.7
LDL (mg/dL)	125	96.5	115.0	138.5
Sağ Testis Hacmi (mL)	125	14.65	18.3	21.15
Sol Testis Hacmi (mL)	125	13.9	18.1	21.75
Toplam Testis Hacmi (mL)	125	30.5	35.3	42.95
8-OHdG (ng/mg protein)	125	1.4	2.4	3.08
MDA (ng/mg protein)	125	26.69	58.33	137.29
GSH (µg/mg protein)	125	1.2	2.5	6.9
GPx-1 (pg/mg protein)	125	249	398	553
SOD (pg/mg protein)	125	7759	11038	15386
NRF2 (ng/mg protein)	125	4.59	7.82	11.24
KEAP1 (ng/mg protein)	125	30.1	53.3	90.5
AMH (pg/mg protein)	125	38.9	70.2	248.4
İnhibin-B (pg/mg protein)	125	2.07	3.41	6.37
Kaspaz-3 (pg/mg protein)	125	447.5	1052.2	1582.4
IGFBP-3 (ng/mg protein)	125	0.28	0.41	0.62

VKİ: Vücut Kitle İndeksi; WBC: White Blood Cell (Beyaz Küre); RDW: Red Cell Distribution Width; GFR: Glomerular Filtration Rate; CRP: C-Reactive Protein; HDL/LDL: High/Low Density Lipoprotein; 8-OHdG: 8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin; MDA: Malondialdehit; GSH: Glutatyon; GPx-1: Glutatyon Peroksidaz-1; SOD: Süperoksit Dismutaz;

NRF2: Nükleer Faktör Eritroid 2 ile İlişkili Faktör 2;
KEAP1: Kelch-benzeri ECH ile ilişkili protein 1;
AMH: Anti-Müllerian Hormon;
IGFBP-3: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü Bağlayıcı Protein 3.

4.2. Normospermik, OAT ve OAT+Varikosel Gruplarının Karşılaştırılması

Çalışmaya dahil edilen normospermik (n=44), OAT (n=42) ve OAT+Varikosel (n=39) grupları arasında demografik veriler, hormonal parametreler, semen analiz sonuçları, testis hacimleri ve seminal biyobelirteç düzeyleri karşılaştırılmıştır. Hormon parametreleri değerlendirildiğinde, normospermik grupta FSH düzeyleri daha düşük, OAT ve OAT+Varikosel gruplarında ise daha yüksek saptanmıştır. LH, estradiol ve testosteron değerleri açısından gruplar arasında belirgin farklılık izlenmemiştir.

Semen parametreleri incelendiğinde, normospermik grupta semen hacmi, sperm sayısı ($\times 10^6$/mL), toplam sperm sayısı, hızlı ileri hareketlilik, toplam hareket oranı ve total motil sperm sayısının diğer gruplara göre anlamlı derecede yüksek olduğu görülmüştür. Buna karşılık OAT ve özellikle OAT+Varikosel grubunda bu parametreler belirgin şekilde düşük seyretmiştir. Morfoloji açısından da normospermik grupta normal form oranı daha yüksek bulunurken, OAT ve OAT+Varikosel gruplarında düşük değerler dikkat çekmiştir.

Testis hacimleri karşılaştırıldığında normospermik grupta sağ, sol ve toplam testis hacimlerinin diğer gruplara kıyasla daha yüksek olduğu görülmüş, OAT+Varikosel grubunda hacimlerin belirgin şekilde küçüldüğü saptanmıştır.

Biyobelirteçler değerlendirildiğinde, median değerlere göre oksidatif stres göstergeleri (8-OHdG, MDA) OAT+Varikosel grubunda görece daha yüksek (Şekil 10 a ,b), antioksidan savunma parametreleri (GSH, GPx-1, SOD) ise daha düşük düzeylerde saptanmıştır (Tablo 6) (Şekil 10 c,d,e). Ayrıca apoptotik aktivite belirteci kaspaz-3 düzeylerinin OAT + Varikosel grubunda daha yüksek olduğu (Şekil 10 j), testiküler fonksiyon göstergelerinden AMH ve İnhibin B'nin (Şekil 10 h,i) ise normospermik grupta daha yüksek median değerlere ulaştığı dikkat çekmektedir (Tablo 6). IGFBP-3 açısından ise OAT grubunda diğer gruplara göre daha yüksek median değerler gözlenmiştir (Şekil 10 k) (Tablo 6).

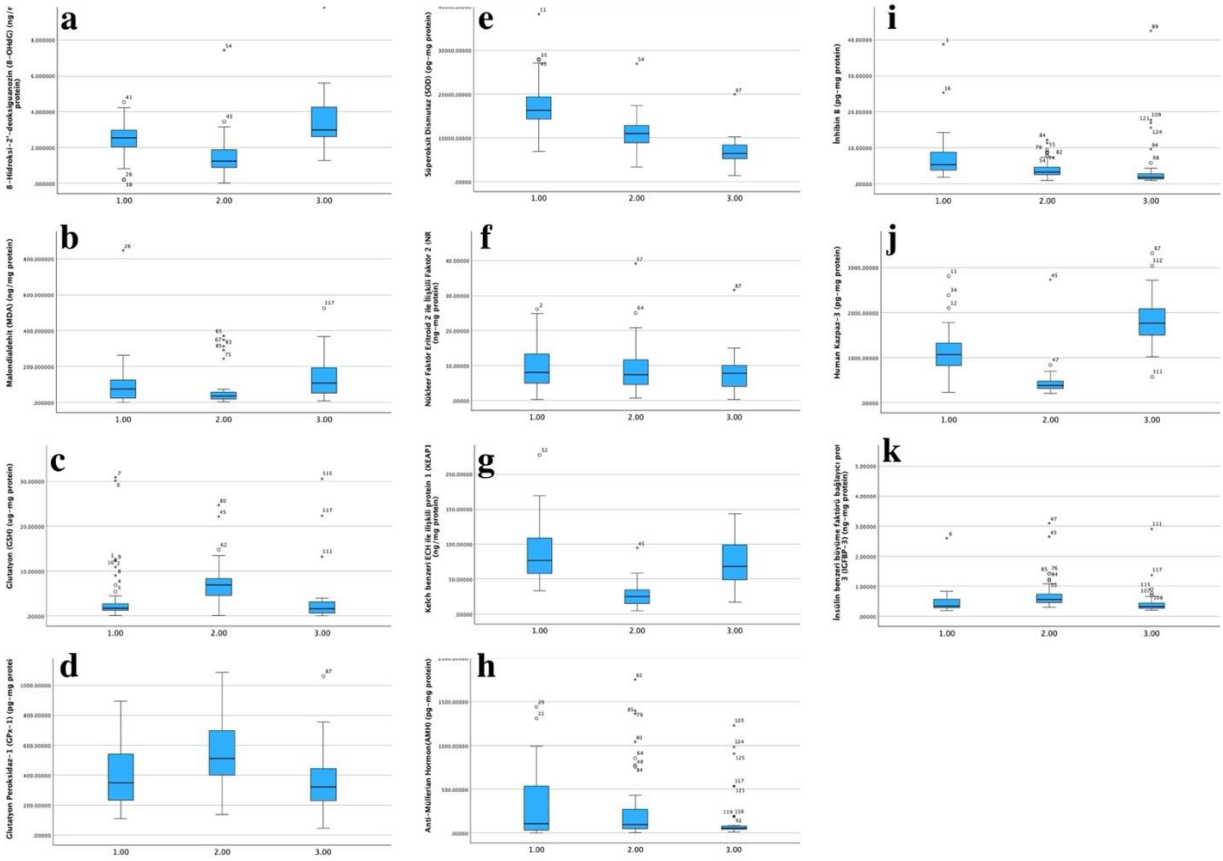
Tablo 6. Normospermik, OAT ve OAT+Varikosel gruplarında tanımlayıcı istatistikler: Median (Q1–Q3)

Parametre	Normospermik (Median [Q1–Q3])	OAT (Median [Q1–Q3])	OAT+Varikosel (Median [Q1–Q3])
YAŞ (yıl)	29 (26–39)	30.5 (27–37)	28 (24–30)
BOY (cm)	176 (170.5–181)	175.5 (172–179)	179 (175–184)
KİLO (kg)	82 (74.5–91.5)	77 (70–85)	76 (70–95)
GÖBEK ÇEVRESİ (cm)	95 (91–106)	88 (83–93.25)	88 (85–102)
VKİ (kg/m²)	26.47 (24.5–29.9)	24.9 (23.7–26.3)	24.9 (21.6–29.3)
FSH (mIU/mL)	3.81 (2.53–5.23)	5.3 (3.35–7.6)	5.25 (3.73–7.27)
LH (mIU/mL)	3.72 (2.7–5.54)	3.94 (3.01–5.38)	3.91 (3.45–5.61)
Estradiol (pg/mL)	28.94 (23.5–36.18)	31.23 (23.39–37.46)	27.87 (23–32.07)
Total Testosteron (ng/dL)	470.9 (334.75–584.25)	441.7 (332.6–524.78)	481.04 (353.7–629.5)
Semen Hacmi (mL)	4.19 (3.02–5.03)	3.83 (2.89–5.18)	3.36 (2.55–4.56)
Semen pH	7.6 (7.4–7.8)	7.6 (7.5–7.8)	7.6 (7.4–7.8)
Likefaksiyon (dk)	40 (30–50)	30 (20–32.5)	30 (25–40)
Viskozite	1 (1–1)	1 (1–1)	1 (1–1)
Sperm sayısı ($\times 10^6$/mL)	58 (37.5–93)	9 (6.25–13.5)	8.3 (1.5–15.9)
Toplam sperm sayısı ($\times 10^6$)	240 (129.3–378.5)	35.5 (16.28–62.2)	24.9 (5.6–53.2)

Hızlı ileri hareket (%)	16 (13.5–18)	9 (6–11)	8 (3–10)
Yavaş ileri hareket (%)	22 (20–24)	15 (13–19)	16 (10–20)
Progresif hareketli (%)	36 (34-44)	24 (18.7-30)	25 (15-30)
Yerinde hareketli (%)	6 (5–8)	5.5 (5–6)	5 (4–6)
Toplam hareket (%)	44 (40–50)	30 (23.7–36)	30 (18–36)
Total Motil Sperm Sayısı ($\times 10^6$)	100.04 (49.5–185.2)	10.7 (4.4–17.69)	6.8 (1.02–19.6)
Yuvarlak hücre sayısı	550 (200–1150)	200 (100–500)	400 (200–600)
Morfoloji (%)	3 (2–4)	1 (0–1)	0 (0–1)
WBC ($\times 10^3$/µL)	6.5 (5.7–7.9)	6.8 (6.3–8.9)	7.08 (5.74–8.59)
Lenfosit ($\times 10^3$/µL)	2.1 (1.8–2.81)	2.1 (1.75–2.88)	2.5 (1.9–2.8)
Nötrofil ($\times 10^3$/µL)	3.8 (2.7–4.86)	4.3 (3.3–5.6)	3.6 (2.8–5.3)
Trombosit ($\times 10^3$/µL)	248 (207–302)	216 (192–273.5)	243 (200–274)
Hemoglobin (g/dL)	15.4 (14.35–15.9)	14.9 (14.3–15.7)	15.5 (14.6–15.8)
RDW (fL)	44.2 (43.1–45.5)	44.2 (42.6–46.5)	44.9 (43.4–46.3)
Glukoz (mg/dL)	91 (87.5–100.5)	91 (86.5–95.2)	89 (82–93)
Kreatinin (mg/dL)	0.9 (0.82–0.98)	0.8 (0.8–0.97)	0.8 (0.84–1.0)
GFR (mL/dk/1.73m^2)	111 (100–117)	110.5 (102–118)	114 (99–120)
CRP (mg/L)	1.1 (0.46–2.55)	2.1 (1.08–7.22)	1.34 (0.58–4.54)
Kolesterol (mg/dL)	183 (161.5–208)	194 (171.2–218.7)	188 (161–216)
Trigliserid (mg/dL)	103 (73.5–156)	105 (73.5–175.7)	101 (72–167)
HDL (mg/dL)	46.2 (39.2–55.8)	46.8 (40.6–55.3)	42.2 (38.5–52.9)
LDL (mg/dL)	115 (93–137.5)	122.5 (107–151)	116 (97–138)
Sağ Testis Hacmi (mL)	20.5 (17.9–22.2)	18.4 (15.9–22)	15.5 (12–18)

Sol Testis Hacmi (mL)	21.5 (19.7–26.09)	17.9 (15.7–21)	13 (9.5–16.1)
Toplam Testis Hacmi (mL)	43 (39.1–45.6)	35.1 (32.05–42.7)	29 (21–33.6)
8-OHdG (ng/mg protein)	2.53 (1.97–2.99)	1.25 (0.86–1.86)	2.98 (2.56–4.25)
MDA (ng/mg protein)	75.04 (23.2–134.5)	34.67 (17.36–57.66)	107.5 (48.7–205.8)
GSH (µg/mg protein)	1.76 (1.19–3.62)	6.93 (4.51–8.41)	1.63 (0.62–3.38)
GPx-1 (pg/mg protein)	348.5 (229.7–547.1)	510.39 (397.83–701.76)	320.02 (219.75–447.65)
SOD (pg/mg protein)	16270 (14049–19588)	11011 (8796–12835)	6415 (5133–8499)
NRF2 (ng/mg protein)	8.04 (4.91–13.4)	7.35 (4.49–11.73)	7.7 (4.02–10.2)
KEAP1 (ng/mg protein)	76.59 (55.68–111.64)	25.2 (13.8–34.8)	68.05 (48.5–100.9)
AMH (pg/mg protein)	108.03 (33.48–604.86)	95.6 (46.5–307.3)	55.8 (42.4–81.8)
İnhibin-B (pg/mg protein)	5.24 (3.7–9.03)	3.2 (2.5–4.5)	1.7 (1.3–2.7)
Kaspaz-3 (pg/mg protein)	1071 (834–1336)	379 (312–488)	1767 (1504–2134)
IGFBP-3 (ng/mg protein)	0.34 (0.27–0.57)	0.56 (0.44–0.74)	0.31 (0.26–0.43)

Veriler medyan (Q1–Q3) olarak sunulmuştur. Kısaltmalar, Tablo 1'dekilerle aynıdır.



Şekil 10. ***Seminal biyobelirteçlerin Normospermik (n=44), OAT (n=42) ve OAT+Varikosel (n=39) gruplarına göre medyan (Q1–Q3) dağılımları: kutu diyagramları.***

Grup: *1=Normospermik (n=44), 2=OAT (n=42), 3=OAT+Varikosel (n=39).*

Paneller: *(a) 8-OHdG, (b) MDA, (c) GSH, (d) GPx-1, (e) SOD, (f) NRF2, (g) KEAP1, (h) AMH, (i) İnhibin-B, (j) Kaspaz-3, (k) IGFBP-3.*

Normospermik, OAT ve OAT+Varikosel grupları arasında yapılan Kruskal–Wallis testi sonuçları Tablo 7'te sunulmuştur.

Yaş ($\chi^2(2) = 9.143$, $p = 0.010$), boy ($\chi^2(2) = 7.545$, $p = 0.023$), vücut kitle indeksi ($\chi^2(2) = 6.400$, $p = 0.041$) ve göbek çevresi ($\chi^2(2) = 18.233$, $p < 0.001$) açısından gruplar arasında anlamlı farklılık bulundu. Kilo açısından ise anlamlı fark saptanmadı ($\chi^2(2) = 3.690$, $p = 0.158$).

Hormonal parametrelerden FSH düzeyi gruplar arasında anlamlı farklılık gösterdi ($\chi^2(2) = 13.594$, $p = 0.001$). Buna karşılık LH ($\chi^2(2) = 2.063$, $p = 0.356$),

estradiol ($\chi^2(2) = 2.326$, $p = 0.313$) ve total testosteron ($\chi^2(2) = 1.328$, $p = 0.515$) düzeylerinde anlamlı fark bulunmadı.

Semen parametreleri incelendiğinde, semen hacmi ($\chi^2(2) = 3.923$, $p = 0.141$) ve pH ($\chi^2(2) = 2.539$, $p = 0.281$) açısından anlamlı fark izlenmedi; likefaksiyon süresinde ise farklılık saptandı ($\chi^2(2) = 7.955$, $p = 0.019$). Sperm sayısı ($\chi^2(2) = 85.119$, $p < 0.001$), toplam sperm sayısı ($\chi^2(2) = 81.969$, $p < 0.001$), hızlı ileri hareket ($\chi^2(2) = 53.340$, $p < 0.001$), yavaş ileri hareket ($\chi^2(2) = 43.000$, $p < 0.001$), progresif hareketlilik ($\chi^2(2) = 55.344$, $p < 0.001$), toplam hareketlilik ($\chi^2(2) = 59.176$, $p < 0.001$) ve total motil sperm sayısı ($\chi^2(2) = 82.470$, $p < 0.001$) açısından normospermik grup lehine anlamlı farklılık bulundu. Yerinde hareketlilik de anlamlı şekilde farklıydı ($\chi^2(2) = 12.874$, $p = 0.002$). Morfoloji normospermik grupta daha yüksek bulundu ($\chi^2(2) = 59.286$, $p < 0.001$).

Hematolojik parametreler arasında WBC ($\chi^2(2) = 2.590$, $p = 0.273$), lenfosit ($\chi^2(2) = 1.420$, $p = 0.491$), nötrofil ($\chi^2(2) = 2.880$, $p = 0.236$), trombosit ($\chi^2(2) = 4.230$, $p = 0.120$), hemoglobin ($\chi^2(2) = 4.240$, $p = 0.120$) ve RDW ($\chi^2(2) = 1.467$, $p = 0.480$) değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi.

Biyokimyasal parametrelerde CRP düzeyi anlamlı olarak farklıydı ($\chi^2(2) = 9.576$, $p = 0.008$). Glukoz ($\chi^2(2) = 3.679$, $p = 0.159$), kreatinin ($\chi^2(2) = 0.242$, $p = 0.886$), GFR ($\chi^2(2) = 1.063$, $p = 0.588$), kolesterol ($\chi^2(2) = 1.842$, $p = 0.398$), trigliserid ($\chi^2(2) = 0.580$, $p = 0.971$), HDL ($\chi^2(2) = 1.540$, $p = 0.462$) ve LDL ($\chi^2(2) = 1.490$, $p = 0.474$) düzeylerinde anlamlı fark saptanmadı.

Testis hacimleri değerlendirildiğinde, sağ ($\chi^2(2) = 24.770$, $p < 0.001$), sol ($\chi^2(2) = 53.720$, $p < 0.001$) ve toplam testis hacimleri ($\chi^2(2) = 49.820$, $p < 0.001$) açısından gruplar arasında anlamlı farklılık bulundu.

Oksidatif stres belirteçlerinden 8-OHdG ($\chi^2(2) = 53.320$, $p < 0.001$) ve MDA ($\chi^2(2) = 18.690$, $p < 0.001$) düzeyleri anlamlı farklılık gösterdi. Antioksidan parametrelerde de GSH ($\chi^2(2) = 35.063$, $p < 0.001$), GPx-1 ($\chi^2(2) = 17.726$, $p < 0.001$) ve SOD ($\chi^2(2) = 77.710$, $p < 0.001$) düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı fark saptandı.

Moleküler belirteçler değerlendirildiğinde, KEAP1 düzeylerinde anlamlı farklılık bulundu ($\chi^2(2) = 65.830$, $p < 0.001$). NRF2 düzeyleri açısından fark izlenmedi ($\chi^2(2) = 0.962$, $p = 0.618$). İnhibin-B düzeyi normospermik grupta en

yüksek, OAT+Varikosel grubunda en düşük bulundu ($\chi^2(2) = 35.919$, $p < 0.001$). AMH düzeyleri arasında anlamlı fark yoktu ($\chi^2(2) = 4.224$, $p = 0.121$). Kaspaz-3 düzeyi anlamlı olarak farklıydı ($\chi^2(2) = 79.953$, $p < 0.001$). IGFBP-3 düzeyleri de gruplar arasında istatistiksel olarak farklı bulundu ($\chi^2(2) = 28.440$, $p < 0.001$).

Tablo 7. Normospermik, OAT ve OAT+Varikosel Gruplarının Karşılaştırılması (Kruskal–Wallis Testi)

Parametre (birim)	Normospermik (Mean Rank)	OAT (Mean Rank)	OAT+Varikosel (Mean Rank)	Chi-Square	Asymp. Sig.
Yaş (yıl)	67.45	71.61	48.71	9.143	**0.01**
Boy (cm)	58.16	55.89	76.12	7.545	**0.023**
Kilo (kg)	69.56	54.75	64.49	3.69	0.158
Göbek çevresi (cm)	79.75	46.45	61.92	18.233	**<0.001**
VKİ (kg/m²)	73.68	54.46	60.14	6.4	**0.041**
FSH (mIU/mL)	46.98	73.87	69.37	13.594	**0.001**
LH (mIU/mL)	56.81	65.27	67.54	2.063	0.356
Estradiol (pg/mL)	62.95	68.94	56.65	2.326	0.313
Total Testosteron (ng/dL)	63.41	57.96	67.96	1.328	0.515
Semen hacmi (mL)	68.89	65.46	53.71	3.923	0.141
Semen pH	57.68	69.83	61.64	2.539	0.281
Likefaksiyon (dk)	74.59	53.29	60.38	7.955	**0.019**
Sperm sayısı (×10⁶/mL)	103.48	43.1	38.77	85.119	**<0.001**
Toplam sperm sayısı (×10⁶)	102.45	46.21	36.56	81.969	**<0.001**
Hızlı ileri hareket (%)	94.52	51.0	40.36	53.34	**<0.001**

Yavaş ileri hareket (%)	91.76	46.86	47.94	43.0	**<0.001**
Progresif hareketli (%)	95.58	47.63	42.79	55.344	**<0.001**
Yerinde hareketli (%)	77.74	59.26	50.4	12.874	**0.002**
Toplam hareket (%)	96.69	46.98	42.24	59.176	**<0.001**
Total motil sperm sayısı ($\times 10^6$)	102.7	45.14	37.44	82.47	**<0.001**
Yuvarlak hücre sayısı	75.86	47.24	65.46	13.95	**0.001**
Morfoloji (%)	95.84	46.52	43.69	59.286	**<0.001**
WBC ($\times 10^3/\mu L$)	56.35	68.77	64.28	2.59	0.273
Lenfosit ($\times 10^3/\mu L$)	61.58	59.32	68.56	1.42	0.491
Nötrofil ($\times 10^3/\mu L$)	57.56	70.46	61.1	2.88	0.236
Trombosit ($\times 10^3/\mu L$)	71.31	55.32	61.9	4.23	0.12
Hemoglobin (g/dL)	67.32	53.64	68.21	4.24	0.12
RDW (fL)	58.67	62.62	68.29	1.467	0.48
Glukoz (mg/dL)	67.72	66.6	53.81	3.679	0.159
Kreatinin (mg/dL)	62.15	60.05	63.94	0.242	0.886
GFR ($mL/dk/1.73m^2$)	58.71	60.95	66.67	1.063	0.588
CRP (mg/L)	50.87	74.98	61.88	9.576	**0.008**
Kolesterol (mg/dL)	58.17	68.71	62.29	1.842	0.398
Trigliserid (mg/dL)	61.98	63.8	63.29	0.58	0.971

HDL (mg/dL)	62.28	68.17	58.24	1.54	0.462
LDL (mg/dL)	59.01	68.35	61.74	1.49	0.474
Sağ testis hacmi (mL)	80.27	65.46	40.86	24.77	**<0.001**
Sol testis hacmi (mL)	90.35	63.17	31.96	53.72	**<0.001**
Toplam testis hacmi (mL)	89.27	63.3	33.04	49.82	**<0.001**
8-OHdG (ng/mg protein)	68.59	32.07	90.0	53.32	**<0.001**
MDA (ng/mg protein)	64.89	45.29	79.95	18.69	**<0.001**
GSH (µg/mg protein)	52.23	89.76	46.33	35.063	**<0.001**
GPx-1 (pg/mg protein)	55.68	81.98	50.82	17.726	**<0.001**
SOD (pg/mg protein)	96.89	61.19	26.72	77.71	**<0.001**
NRF2 (ng/mg protein)	66.66	63.02	58.85	0.962	0.618
KEAP1 (ng/mg protein)	86.77	26.62	75.36	65.83	**<0.001**
AMH (pg/mg protein)	64.93	69.74	53.56	4.224	0.121
İnhibin-B (pg/mg protein)	86.43	60.9	38.82	35.919	**<0.001**
Kaspaz-3 (pg/mg protein)	66.98	26.33	98.0	79.953	**<0.001**
IGFBP-3 (ng/mg protein)	51.18	87.29	50.18	28.44	**<0.001**

Normospermik, OAT ve OAT+Varikosel grupları arasındaki farklar Kruskal–Wallis testi ile değerlendirilmiştir. "Mean Rank" grupların ortalama sıralarını, "Chi-Square" test istatistiğini, "Asymp. Sig." ise asimptotik p değerini göstermektedir. İstatistiksel anlamlılık düzeyi p<0.05 olarak kabul edilmiştir. Anlamlı bulunan parametreler için ileri karşılaştırma Dunn's testi ile yapılmıştır

Kruskal–Wallis testi ile gruplar arasında anlamlı fark saptanan parametreler için Dunn's post-hoc testi uygulanmıştır (Tablo 8).

Yaş açısından anlamlı farklılık OAT grubu (median: 30.5 yıl) ile OAT+Varikosel grubu (median: 28 yıl) arasında bulunmuştur. Boy açısından OAT grubu (median: 175.5 cm) ile OAT+Varikosel grubu (median: 179 cm) arasında anlamlı fark saptanmıştır. Göbek çevresi normospermik grupta (median: 95 cm) OAT grubuna (median: 88 cm) göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. VKİ değerleri normospermik grupta (median: 26.47 kg/m²) OAT grubuna (median: 24.9 kg/m²) göre anlamlı biçimde yüksektir.

FSH düzeyleri normospermik grup (median: 3.81 mIU/mL) ile hem OAT (median: 5.3 mIU/mL) hem de OAT+Varikosel (median: 5.25 mIU/mL) grupları arasında anlamlı fark göstermiştir.

Likefaksiyon süresi normospermik grupta (median: 40 dk) OAT grubuna (median: 30 dk) göre anlamlı şekilde uzun bulunmuştur.

Sperm sayısı normospermik grupta (median: 58×10^6/mL) hem OAT (median: 9×10^6/mL) hem de OAT+Varikosel (median: 8.3×10^6/mL) gruplarına göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Toplam sperm sayısı normospermik grupta (median: 240×10^6), OAT (median: 35.5×10^6) ve OAT+Varikosel (median: 24.9×10^6) gruplarına göre belirgin biçimde yüksektir.

Hızlı ileri hareket normospermik grupta (median: %16), OAT (median: %9) ve OAT+Varikosel (median: %8) gruplarına göre anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Yavaş ileri hareket normospermik grupta (median: %22), OAT (median: %15) ve OAT+Varikosel (median: %16) gruplarına göre anlamlı biçimde yüksektir. Yerinde hareketli sperm oranı normospermik grupta (median: %6) hem OAT (median: %5.5) hem de OAT+Varikosel (median: %5) gruplarına göre anlamlı şekilde yüksek bulunmuştur. Toplam hareket oranı normospermik grupta (median: %44), OAT (median: %30) ve OAT+Varikosel (median: %30) gruplarına göre anlamlı şekilde yüksektir. Total motil sperm sayısı normospermik grupta (median: 100.04×10^6), OAT (median: 10.7×10^6) ve OAT+Varikosel (median: 6.8×10^6) gruplarına göre belirgin biçimde yüksek saptanmıştır.

Morfoloji normospermik grupta (median: %3), OAT (median: %1) ve OAT+Varikosel (median: %0) gruplarına göre anlamlı biçimde yüksek bulunmuştur.

CRP düzeyleri normospermik grupta (median: 1.1 mg/L) OAT grubuna (median: 2.1 mg/L) göre anlamlı şekilde düşük bulunmuştur.

Sağ testis hacmi normospermik grupta (median: 20.5 mL), OAT+Varikosel grubuna (median: 15.5 mL) göre anlamlı şekilde yüksek bulundu ayrıca; OAT grubu (median: 18.4 mL) ile OAT+Varikosel grubu arasında da anlamlı fark saptanmıştır.

Sol testis hacmi normospermik grupta (median: 21.5 mL), hem OAT (median: 17.9 mL) hem de OAT+Varikosel (median: 13 mL) gruplarına göre anlamlı şekilde yüksektir; ayrıca OAT grubu ile OAT+Varikosel grubu arasında da anlamlı farklılık mevcuttur.

Toplam testis hacmi normospermik grupta (median: 43 mL), hem OAT (median: 35.1 mL) hem de OAT+Varikosel (median: 29 mL) gruplarına göre anlamlı biçimde yüksektir; ayrıca OAT grubu ile OAT+Varikosel grubu arasında da anlamlı fark bulunmuştur.

8-OHdG düzeyleri her üç grup arasında anlamlı farklılık göstermiştir; normospermik grupta (median: 2.53 ng/mg protein), OAT grubunda (median: 1.25 ng/mg protein) ve OAT+Varikosel grubunda (median: 2.98 ng/mg protein) olarak saptanmıştır. En düşük düzey OAT grubunda, en yüksek düzey OAT+Varikosel grubunda bulunmuştur.

MDA düzeyleri normospermik grupta (median: 75.04 ng/mg protein) OAT grubuna (median: 34.67 ng/mg protein) göre anlamlı şekilde yüksek bulunurken; normospermik ve OAT+ Varikosel (median:107.5 ng/mg protein) grupları arasında anlamlı fark saptanmadı.

GSH düzeyleri OAT grubunda (median: 6.93 µg/mg protein), hem normospermik (median: 1.76 µg/mg protein) hem de OAT+Varikosel (median: 1.63 µg/mg protein) gruplarına göre anlamlı şekilde yüksektir.

GPx-1 düzeyleri benzer şekilde OAT grubunda (median: 510.39 pg/mg protein), normospermik (median: 348.5 pg/mg protein) ve OAT+Varikosel (median: 320.02 pg/mg protein) gruplarına göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır.

SOD düzeyleri her üç grup arasında anlamlı farklılık göstermiştir; normospermik grupta (median: 16270 pg/mg protein) en yüksek, OAT grubunda

(median: 11011 pg/mg protein) orta düzeyde ve OAT+Varikosel grubunda (median: 6415 pg/mg protein) en düşük olarak belirlenmiştir.

NRF2 ve AMH düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadığından (sırasıyla p=0.618 ve p=0.121), bu parametreler için ikili grup karşılaştırmaları yapılmamıştır.

KEAP1 düzeyleri normospermik grupta (median: 76.59 ng/mg protein), OAT grubuna (median: 25.2 ng/mg protein) göre anlamlı şekilde yüksek bulunurken; OAT grubu ile OAT+Varikosel grubu (median: 68.05 ng/mg protein) arasında da anlamlı fark saptanmıştır; OAT+Varikosel grubu OAT grubuna göre anlamlı biçimde yüksek bulunmuştur.

İnhibin-B düzeyleri her üç grup arasında anlamlı farklılık göstermiştir; normospermik grupta (median: 5.24 pg/mg protein) en yüksek, OAT grubunda (median: 3.2 pg/mg protein) orta düzeyde ve OAT+Varikosel grubunda (median: 1.7 pg/mg protein) en düşük olarak saptanmıştır.

Kaspaz-3 düzeyleri her üç grup arasında anlamlı farklılık göstermiştir; OAT grubunda (median: 379 pg/mg protein) en düşük, normospermik grupta (median: 1071 pg/mg protein) orta düzeyde ve OAT+Varikosel grubunda (median: 1767 pg/mg protein) en yüksek olarak bulunmuştur.

IGFBP-3 düzeyleri OAT grubunda (median: 0.56 ng/mg protein), hem normospermik (median: 0.34 ng/mg protein) hem de OAT+Varikosel (median: 0.31 ng/mg protein) gruplarına göre anlamlı şekilde yüksek saptanmıştır.

Tablo 8. Normospermik, OAT ve OAT+Varikosel grupları arasında ikili karşılaştırmalar (Dunn's Post-Hoc Testi)

Parametre	Karşılaştırılan Gruplar	Z	p	Significance
YAŞ	Normospermik vs OAT	-0.53	1	0
	Normospermik vs OAT+Varikosel	2.35	0.05	0
	OAT vs OAT+Varikosel	2.84	0.01	**1**
BOY	Normospermik vs OAT	0.29	1	0
	Normospermik vs OAT+Varikosel	-2.25	0.07	0
	OAT vs OAT+Varikosel	-2.51	0.03	**1**
	Normospermik vs OAT	4.26	<0.0001	**1**

GÖBEK ÇEVRESİ	Normospermik vs OAT+Varikosel	2.23	0.07	0
	OAT vs OAT+Varikosel	-1.92	0.16	0
VKİ	Normospermik vs OAT	2.45	0.04	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	1.69	0.26	0
	OAT vs OAT+Varikosel	-0.7	1	0
FSH	Normospermik vs OAT	-3.44	0.001	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	-2.81	0.01	**1**
	OAT vs OAT+Varikosel	0.55	1	0
LIQUEFACTION	Normospermik vs OAT	2.76	0.01	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	1.8	0.21	0
	OAT vs OAT+Varikosel	-0.89	1	0
SPERM SAYISI ($\times 10^6$/mL)	Normospermik vs OAT	7.72	<0.0001	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	8.12	<0.0001	**1**
	OAT vs OAT+Varikosel	0.53	1	0
TOPLAM SAYI ($\times 10^6$)	Normospermik vs OAT	7.19	<0.0001	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	8.26	<0.0001	**1**
	OAT vs OAT+Varikosel	1.19	0.69	0
HIZLI İLERİ HAREKET	Normospermik vs OAT	5.57	<0.0001	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	6.81	<0.0001	**1**
	OAT vs OAT+Varikosel	1.32	0.55	0
YAVAŞ İLERİ HAREKET	Normospermik vs OAT	5.75	<0.0001	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	5.51	<0.0001	**1**
	OAT vs OAT+Varikosel	-0.13	1	0
YERİNDE HAREKETLİ	Normospermik vs OAT	2.40	0.04	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	3.48	0.001	**1**
	OAT vs OAT+Varikosel	1.11	0.78	0

TOPLAM HAREKET	Normospermik vs OAT	6.36	<0.0001	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	6.83	<0.0001	**1**
	OAT vs OAT+Varikosel	0.58	1	0
TOTAL MOTİL SPERM SAYISI ($\times 10^6$)	Normospermik vs OAT	7.36	<0.0001	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	8.19	<0.0001	**1**
	OAT vs OAT+Varikosel	0.95	1	0
MORFOLOJİ	Normospermik vs OAT	6.49	<0.0001	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	6.73	<0.0001	**1**
	OAT vs OAT+Varikosel	0.36	1	0
CRP	Normospermik vs OAT	-3.09	0.005	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	-1.38	0.49	0
	OAT vs OAT+Varikosel	1.63	0.30	0
SAĞ TESTİS HACMİ	Normospermik vs OAT	1.89	0.17	0
	Normospermik vs OAT+Varikosel	4.94	<0.0001	**1**
	OAT vs OAT+Varikosel	3.05	0.006	**1**
SOL TESTİS HACMİ	Normospermik vs OAT	3.47	0.001	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	7.32	<0.0001	**1**
	OAT vs OAT+Varikosel	3.87	0.02	**1**
TOPLAM HACİM	Normospermik vs OAT	3.32	0.002	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	7.05	<0.0001	**1**
	OAT vs OAT+Varikosel	3.75	≤0.05	**1**
8-Hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) (ng/mg protein)	Normospermik vs OAT	4.67	<0.0001	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	-2.68	0.021	**1**
	OAT vs OAT+Varikosel	-7.19	<0.0001	**1**
	Normospermik vs OAT	2.50	0.03	**1**

Malondialdehit (MDA) (ng/mg protein)	Normospermik vs OAT+Varikosel	-1.89	0.176	0
	OAT vs OAT+Varikosel	-4.32	<0.0001	**1**
Glutatyon (GSH) (ug/mg protein)	Normospermik vs OAT	-4.80	<0.0001	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	0.73	1	0
	OAT vs OAT+Varikosel	5.39	<0.0001	**1**
Glutatyon Peroksidaz-1 (GPx-1) (pg/mg protein)	Normospermik vs OAT	-3.36	0.002	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	0.61	1	0
	OAT vs OAT+Varikosel	3.86	0.0002	**1**
Süperoksit Dismutaz (SOD) (pg/mg protein)	Normospermik vs OAT	4.56	<0.0001	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	8.80	<0.0001	**1**
	OAT vs OAT+Varikosel	4.27	<0.0001	**1**
Kelch benzeri ECH ile ilişkili protein 1 (KEAP1) (ng/mg protein)	Normospermik vs OAT	7.69	<0.0001	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	1.43	0.45	0
	OAT vs OAT+Varikosel	-6.04	<0.0001	**1**
İnhibin-B (pg/mg protein)	Normospermik vs OAT	3.26	0.003	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	5.97	<0.0001	**1**
	OAT vs OAT+Varikosel	2.74	0.018	**1**
Kaspaz-3 (pg/mg protein)	Normospermik vs OAT	5.20	<0.0001	**1**
	Normospermik vs OAT+Varikosel	-3.89	0.02	**1**
	OAT vs OAT+Varikosel	-8.89	<0.0001	**1**
	Normospermik vs OAT	-4.61	<0.0001	**1**

İnsülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein 3 (IGFBP-3) (ng/mg protein)	Normospermik vs OAT+Varikosel	0.12	1	0
	OAT vs OAT+Varikosel	4.60	<0.0001	**1**

İkili karşılaştırmalar için Dunn's çoklu karşılaştırma testi uygulanmıştır. p<0.05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. 'Significance' sütunu 1=anlamlı, 0=anlamsız karşılaştırmayı göstermektedir. Kısaltmalar, Tablo 1'deki ile aynıdır.

4.3. OAT+Varikosel ve Post-Varikoselektomi Gruplarının Karşılaştırılması

Varikoselektomi uygulanan OAT+Varikosel hastalarının preoperatif ve postoperatif 6. ay sonuçları Wilcoxon signed-rank testi ile karşılaştırılmıştır (Tablo 9).

Semen parametrelerinde operasyon sonrası belirgin iyileşme bulundu. Sperm sayısı (p<0.001), toplam sperm sayısı (p<0.001), hızlı ileri hareket (p<0.001), yavaş ileri hareket (p<0.001), progresif hareketlilik (p<0.001) ve total motil sperm sayısı (p<0.001) anlamlı şekilde arttı. Ayrıca morfoloji oranı operasyon sonrası belirgin olarak yükseldi (p<0.001). Yuvarlak hücre sayısı anlamlı şekilde azaldı (p<0.001).

Biyobelirteç analizlerinde 8-OHdG düzeyinde izlenen azalma istatistiksel anlamlılığa yaklaşmakla birlikte p=0.058 olarak tespit edildi. Diğer oksidatif stres göstergesi olan MDA anlamlı olarak azaldı (p<0.001), (Şekil 11, 12). Antioksidan parametrelerden GSH **(**p=0.039), GPx-1 (p=0.002) ve SOD (p<0.001) düzeyleri operasyon sonrası belirgin artış gösterdi(Şekil 13, 14, 15). Ayrıca NRF2 (p<0.001) artarken (Şekil 16), KEAP1 düzeylerinde anlamlı azalma saptandı (p<0.001) (Şekil 17).

AMH düzeyi de postoperatif dönemde artış göstermesine rağmen bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0.241) (Şekil 18). Sertoli hücre fonksiyonunun bir diğer belirteci olan İnhibin B düzeyinde anlamlı artış gözlendi.(Şekil 19),(p<0.001). Apoptoz göstergesi Kaspaz-3 anlamlı şekilde düşerken (p<0.001), (Şekil 20). IGFBP-3 düzeylerinde anlamlı artış gözlendi (p<0.001) (Şekil 21).

Varikoselektomi öncesi seminal plazma alfa-glukozidaz düzeyi 1.53 (1-3.85) U/ml iken, varikoselektomi sonrası 4.04 (1-11.4) U/ml'ye yükselmiştir. Bu artış istatistiksel anlamlılık sınırına yaklaşmakla birlikte anlamlı bulunmamıştır (p=0.09) (Şekil 22).

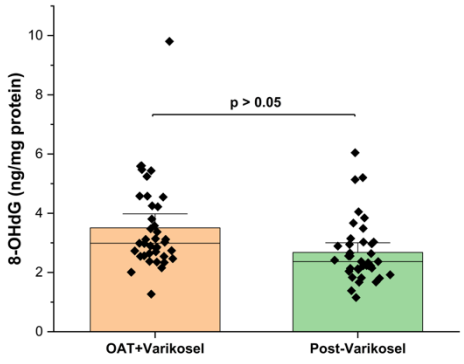
Hormonal parametrelerden FSH, LH, estradiol, total testosteron, semen hacmi ve pH değerlerinde anlamlı değişiklik izlenmedi (p>0.05).

Tablo 9. OAT+Varikosel ve Post-Varikoselektomi Gruplarının Karşılaştırılması (Wilcoxon Signed-Rank Testi)

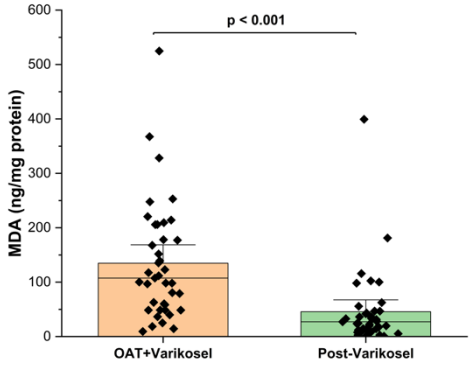
Parametre	OAT+Varikosel Median 1 (Q1–Q3)	Post-Varikoselektomi Median 2 (Q1–Q3)	Median Diff (Median 2 – Median 1)	Z	P
FSH (mIU/mL)	5.25 (3.73–7.27)	5.10 (3.22–7.01)	-0.15	-0.426	0.670
LH (mIU/mL)	3.91 (3.45–5.61)	4.09 (3.02–5.74)	0.18	-0.154	0.878
Estradiol (pg/mL)	27.87 (23.00–32.07)	30.23 (25.00–36.00)	2.36	-1.342	0.180
Total Testosteron (ng/dL)	481.04 (353.73–650.16)	448.78 (346.67–568.56)	-32.26	-0.265	0.791
Semen Hacmi (mL)	3.36 (2.55–4.56)	3.48 (2.68–4.45)	0.12	-1.305	0.192
Semen pH	7.60 (7.40–7.80)	7.60 (7.50–7.80)	0.0	-0.249	0.804
Likefaksiyon (dk)	30.00 (25.00–40.00)	30.00 (25.00–35.00)	0.0	-1.15	0.250
Viskozite	1.00 (1.00–1.00)	1.00 (1.00–1.00)	0.0	-1.414	0.157
Sperm Sayısı (×10⁶/mL)	8.30 (1.50–15.90)	24.00 (6.80–42.00)	15.7	-4.717	**<0.001**
Toplam Sperm Sayısı (×10⁶)	24.90 (5.66–53.28)	69.58 (23.64–145.32)	44.68	-4.549	**<0.001**
Hızlı İleri Hareket (%)	8.00 (3.00–10.00)	13.00 (12.00–15.00)	5.0	-4.532	**<0.001**
Yavaş İleri Hareket (%)	16.00 (10.00–20.00)	19.00 (17.00–21.00)	3.0	-3.345	**<0.001**
Progresif Hareketli (%)	25.00 (15.00–30.00)	32.00 (28.00–36.00)	7.0	-4.295	**<0.001**
Yerinde Hareketli (%)	5.00 (4.00–6.00)	5.00 (5.00–6.00)	0.0	-1.887	0.059
Toplam Hareket (%)	30.00 (18.00–36.00)	39.00 (35.00–42.00)	9.0	-4.419	**<0.001**
Total Motil Sperm Sayısı (×10⁶)	6.89 (1.03–19.69)	26.81 (8.51–72.94)	19.93	-4.563	**<0.001**

Yuvarlak Hücre Sayısı (/µL)	400.00 (200.00–600.00)	200.00 (100.00–300.00)	-200.0	-3.565	**<0.001**
Morfoloji (%)	0.00 (0.00–1.00)	2.00 (0.00–4.00)	2.0	-4.105	**<0.001**
8-OHdG (ng/mg protein)	2.99 (2.56–4.25)	2.41 (2.14–3.15)	-0.58	-1.898	0.058
MDA (ng/mg protein)	107.51 (48.77–205.83)	27.24 (11.91–46.74)	-80.27	-4.41	**<0.001**
GSH (µg/mg protein)	1.63 (0.63–3.38)	2.71 (1.00–5.23)	1.08	-2.065	**0.039**
GPx-1 (pg/mg protein)	320.03 (219.76–447.65)	457.75 (324.24–661.84)	137.72	-3.056	**0.002**
SOD (pg/mg protein)	6415.78 (5133.86–8499.85)	9993.39 (8504.42–12152.85)	3577.61	-4.605	**<0.001**
NRF2 (ng/mg protein)	7.78 (4.03–10.25)	10.26 (6.97–14.34)	2.48	-3.6	**<0.001**
KEAP1 (ng/mg protein)	68.06 (48.56–100.92)	15.23 (3.96–22.58)	-52.83	-4.591	**<0.001**
AMH (pg/mg protein)	55.90 (42.41–81.88)	80.96 (51.89–171.26)	25.06	-1.172	0.241
İnhibin-B (pg/mg protein)	1.74 (1.32–2.80)	3.67 (2.82–9.39)	1.93	-4.438	**<0.001**
Kaspaz-3 (pg/mg protein)	1767.54 (1504.11–2134.26)	620.27 (544.28–758.86)	-1147.27	-5.303	**<0.001**
IGFBP-3 (ng/mg protein)	0.32 (0.27–0.44)	0.78 (0.63–1.07)	0.46	-4.41	**<0.001**
Alfa-Glukozidaz (U/ml)	1.53 (1-3.85)	4.04 (1-11.4)	-2.51	-1.67	**0.09**

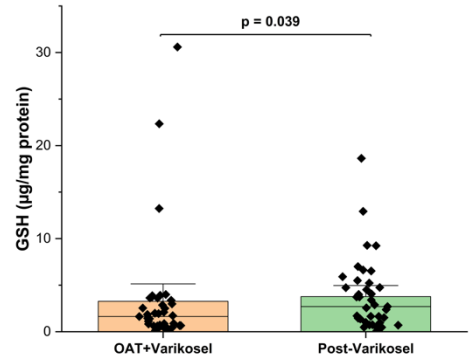
p değerleri Wilcoxon signed-rank testi ile hesaplanmıştır. Median 1: OAT+Varikosel (preoperatif), Median 2: Post-Varikoselektomi (post operatif 6. ay). Median Diff: Medyan fark. Kısaltmalar, Tablo 1'deki ile aynıdır.



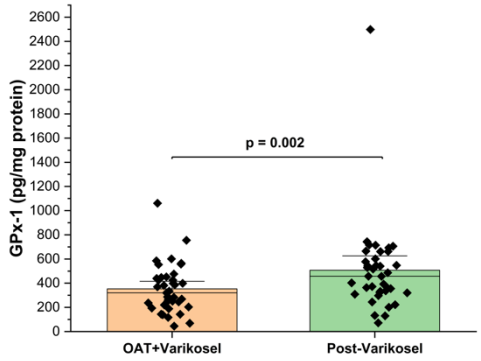
Şekil 11. Seminal plazma 8-OHdG düzeylerinin preoperatif ve varikoselektomi sonrası 6. ay karşılaştırması (ng/mg protein).



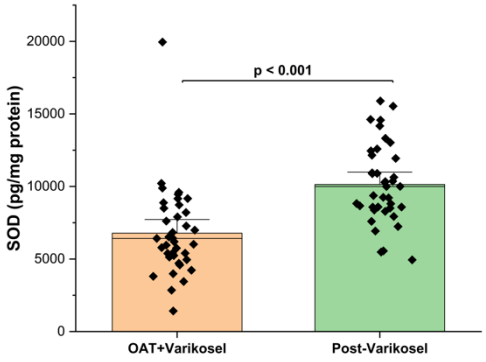
Şekil 12. Seminal plazma MDA düzeylerinin preoperatif ve varikoselektomi sonrası 6. ay karşılaştırması (ng/mg protein).



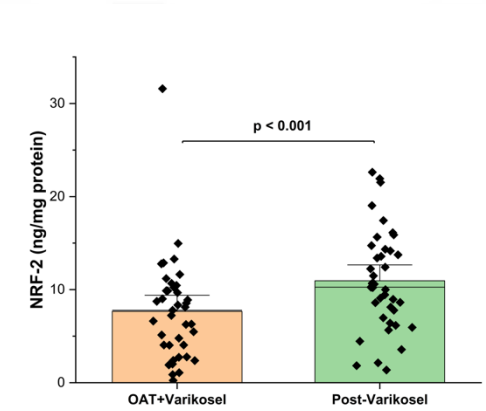
Şekil 13.Seminal plazma Glutatyon (GSH) düzeylerinin preoperatif ve varikoselektomi sonrası 6. ay karşılaştırması (µg/mg protein).



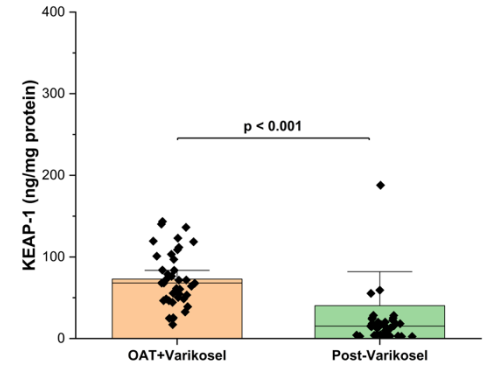
Şekil 14. Seminal plazma Glutatyon Peroksidaz-1 (GPx-1) düzeylerinin preoperatif ve varikoselektomi sonrası 6. ay karşılaştırması (pg/mg protein).



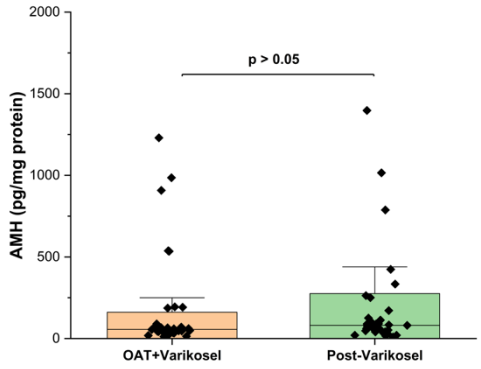
Şekil 15.Seminal plazma Süperoksit Dismutaz (SOD) düzeylerinin preoperatif ve varikoselektomi sonrası 6. ay karşılaştırması (pg/mg protein).



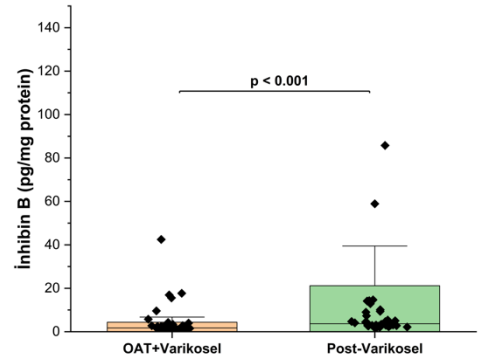
Şekil 16.Seminal plazma NRF2 düzeylerinin preoperatif ve varikoselektomi sonrası 6. ay karşılaştırması (ng/mg protein).



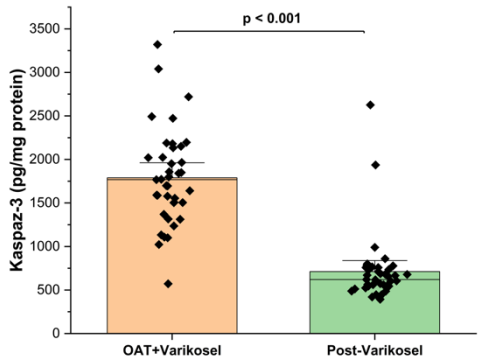
Şekil 17. Seminal plazma KEAP1 düzeylerinin preoperatif ve varikoselektomi sonrası 6. ay karşılaştırması (ng/mg protein).



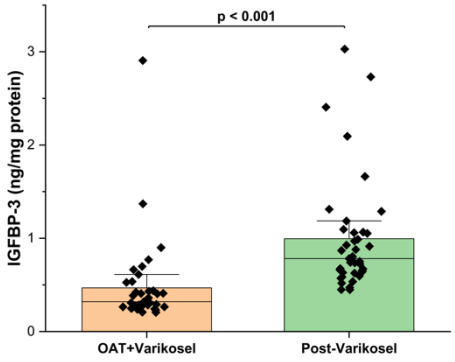
Şekil 18.Seminal plazma Anti-Müllerian Hormon (AMH) düzeylerinin preoperatif ve varikoselektomi sonrası 6. ay karşılaştırması (pg/mg protein)



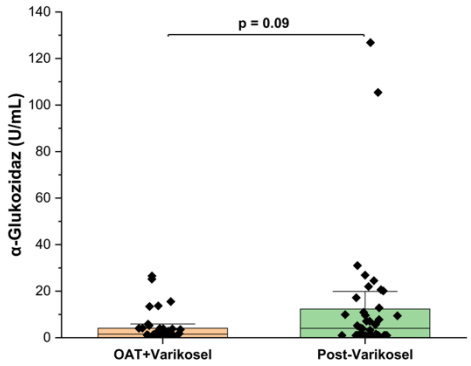
Şekil 19.Seminal plazma İnhibin-B düzeylerinin preoperatif ve varikoselektomi sonrası 6. ay karşılaştırması (pg/mg protein).



Şekil 20. Seminal plazma Kaspaz-3 düzeylerinin preoperatif ve varikoselektomi sonrası 6. ay karşılaştırması (pg/mg protein).



Şekil 21. Seminal plazma IGFBP-3 düzeylerinin preoperatif ve varikoselektomi sonrası 6. ay karşılaştırması (ng/mg protein)



Şekil 22. Seminal plazma Alfa-Glukozidaz düzeylerinin preoperatif ve varikoselektomi sonrası 6. ay karşılaştırması (U/ml)

4.4. Seminal Biyobelirteçler, Hormon Düzeyleri, Semen Parametreleri ve Testis Hacimleri Arasında Korelasyon Analizi

Korelasyonlar Spearman sıra korelasyonu (çift yönlü) ile tüm katılımcılar üzerinden (n=125) hesaplanmıştır. İstatistiksel anlamlılık eşiği $p<0.05$ olarak belirlenmiş olup, korelasyon katsayılarının klinik anlamlılığını değerlendirmek için Cohen 1992 (143) sınıflandırması kullanılmıştır ($|r|<0.30$ zayıf, $0.30\leq|r|<0.50$ orta, $|r|\geq0.50$ güçlü ilişki). Bulgular Tablo 10, 11, 12 ve 13'te özetlenmiş, tüm korelasyonlar Şekil 22'deki ısı haritasında görselleştirilmiştir.

4.4.1. Güçlü Korelasyonlar (|r|≥0.50)

SOD düzeyleri, semen parametrelerinin çoğu ile güçlü-orta düzeyde pozitif ilişki göstermiştir. En güçlü ilişkiler sperm konsantrasyonu (r=0.562, p<0.001), toplam sperm sayısı (r=0.538, p<0.001) ve total motil sperm sayısı (r=0.469, p<0.001) ile saptanmıştır. Ayrıca morfoloji (r=0.486, p<0.001), toplam hareket (r=0.445, p<0.001), hızlı ileri hareket (r=0.443, p<0.001) ve progresif hareket (r=0.432, p<0.001) ile de güçlü pozitif ilişki mevcuttur. Testis hacimleri açısından sol testis hacmi ile güçlü (r=0.486, p<0.001), toplam testis hacmi ile orta-güçlü (r=0.468, p<0.001), sağ testis hacmi ile orta düzeyde (r=0.308, p<0.001) pozitif korelasyon göstermiştir. Hormon düzeyleri arasından yalnızca FSH ile zayıf negatif ilişki bulunmuştur (r=−0.198, p=0.027).

İnhibin-B düzeyleri de spermatogenez parametreleri ile güçlü ilişkiler göstermiştir. Morfoloji ile en güçlü ilişki (r=0.503, p<0.001), ardından toplam sperm sayısı (r=0.489, p<0.001), sperm konsantrasyonu (r=0.481, p<0.001) ve total motil sperm sayısı (r=0.479, p<0.001) ile güçlü pozitif korelasyonlar saptanmıştır. Motilite parametreleri ile orta düzeyde ilişkiler izlenmiştir: hızlı ileri hareket (r=0.403, p<0.001), toplam hareket (r=0.387, p<0.001), progresif hareket (r=0.376, p<0.001). Testis hacimleri ile de güçlü ilişki mevcuttur: toplam hacim (r=0.416, p<0.001), sol testis (r=0.395, p<0.001), sağ testis (r=0.356, p<0.001). FSH ile negatif ilişki gözlenmiştir (r=−0.263, p=0.003).

4.4.2. Orta Düzeyde Korelasyonlar (0.30≤|r|<0.50)

KEAP1, spermatogenez parametrelerinin çoğu ile orta düzeyde pozitif korelasyonlar göstermiştir: sperm konsantrasyonu (r=0.366, p<0.001), morfoloji (r=0.359, p<0.001), yavaş ileri hareket (r=0.358, p<0.001), toplam hareket (r=0.339, p<0.001), progresif hareket (r=0.335, p<0.001), total motil sperm sayısı (r=0.318, p<0.001). Semen pH ile zayıf negatif (r=−0.249, p=0.005), estradiol ile zayıf negatif ilişki (r=−0.181, p=0.043) saptanmıştır.

FSH düzeyleri, semen parametreleri ile orta düzeyde negatif korelasyonlar göstermiştir. En güçlü ilişkiler morfoloji (r=−0.360, p<0.001), sperm konsantrasyonu (r=−0.312, p<0.001), toplam hareket (r=−0.311, p<0.001) ve total motil sperm sayısı

(r=−0.306, p=0.001) ile saptanmıştır. Ayrıca toplam sperm sayısı (r=−0.296, p=0.001), hızlı ileri hareket (r=−0.288, p=0.001) ve progresif hareket (r=−0.283, p=0.001) ile de orta düzeyde negatif ilişki göstermiştir.

Seminal 8-OHdG düzeyleri semen hacmi ile orta düzeyde negatif korelasyon göstermiştir (r=−0.322, p<0.001). Ayrıca yuvarlak hücre sayısı (r=0.177, p=0.048), morfoloji (r=0.178, p=0.047) ve sol testis hacmi (r=−0.199, p=0.026) ile zayıf ilişkiler saptanmıştır.

SOD ayrıca yavaş ileri hareket (r=0.357, p<0.001), yerinde hareketli oranı (r=0.327, p<0.001) ile orta düzeyde pozitif korelasyonlar göstermiştir. Likefaksiyon süresi (r=0.242, p=0.006) ve viskozite (r=0.182, p=0.043) ile de pozitif ilişkiler mevcuttur.

İnhibin-B için yavaş ileri hareket parametresi de orta düzeyde ilişki sergilemiştir (r=0.310, p<0.001).

Kaspaz-3 düzeyleri yuvarlak hücre sayısı ile zayıf-orta sınır düzeyde pozitif (r=0.266, p=0.003), semen hacmi (r=−0.266, p=0.015) ve sol testis hacmi (r=−0.244, p=0.006) ile negatif korelasyonlar göstermiştir.

4.4.3. Zayıf Korelasyonlar (|r|<0.30)

GPx-1, total testosteron ile zayıf negatif (r=−0.206, p=0.021) ve sağ testis hacmi ile zayıf pozitif (r=0.182, p=0.042) ilişki göstermiştir.

FSH ayrıca yuvarlak hücre sayısı ile zayıf negatif korelasyon göstermiştir (r=−0.241, p=0.007). LH düzeyleri morfoloji ile zayıf negatif ilişki göstermiştir (r=−0.185, p=0.039).

IGFBP-3 düzeyleri sperm motilite parametreleri ile zayıf negatif ilişkiler göstermiştir: toplam hareket (r=−0.217, p=0.015), yavaş ileri hareket (r=−0.207, p=0.021), progresif hareket (r=−0.190, p=0.034).

Tablo 10. Seminal plazma biyobelirteçleri ile semen parametreleri arasındaki korelasyonlar (Spearman ρ)

		Sperm Sayısı ($\times 10^6$/mL)	Toplam Sperm Sayısı ($\times 10^6$)	Hızlı İleri Hareket	Progresif Hareket	Total Motil Sperm Sayısı	Yuvarlak Hücre Sayısı	Morfoloji
8-OHdG	***r***	0.14	0.028	0.034	0.083	0.054	**0.177**	**0.178**
	p	0.12	0.754	0.704	0.356	0.547	**0.048**	**0.047**
MDA	***r***	0.042	0.046	-0.06	-0.06	0.039	0.138	-0.07
	p	0.644	0.61	0.516	0.518	0.664	0.126	0.46
GSH	***r***	-0.12	-0.13	-0.06	-0.1	-0.14	**-0.16**	**-0.15**
	p	0.174	0.157	0.482	0.277	0.125	**0.07**	**0.097**
GPx-1	***r***	-0.1	-0.13	-0.04	-0.09	-0.14	0.019	-0.02
	p	0.264	0.159	0.684	0.296	0.133	0.832	0.866
SOD	***r***	**0.562**	**0.538**	**0.443**	**0.432**	**0.533**	0.117	**0.486**
	p	**<0.001**	**<0.001**	**<0.001**	**<0.001**	**<0.001**	0.192	**<0.001**
NRF2	***r***	0.056	0.004	0.061	0.094	0.028	-0.03	0.041
	p	0.538	0.962	0.499	0.3	0.757	0.735	0.651
KEAP1	***r***	**0.366**	**0.299**	**0.267**	**0.335**	**0.318**	**0.212**	**0.359**
	p	**<0.001**	**0.001**	**0.003**	**<0.001**	**<0.001**	**0.018**	**<0.001**
AMH	***r***	0.058	0.056	0.053	0.068	0.068	-0.08	0.109
	p	0.517	0.532	0.558	0.453	0.448	0.392	0.225
İnhibin-B	***r***	**0.481**	**0.489**	**0.403**	**0.376**	**0.479**	0.163	**0.503**
	p	**<0.001**	**<0.001**	**<0.001**	**<0.001**	**<0.001**	0.069	**<0.001**
Kaspaz-3	***r***	0.026	-0.05	-0.05	0.015	-0.03	**0.266**	0.066
	p	0.777	0.587	0.568	0.865	0.764	**0.003**	0.464
IGFBP-3	***r***	-0.17	-0.15	-0.16	**-0.190**	-0.16	-0.17	-0.13
	p	0.06	0.102	0.083	**0.034**	0.067	0.058	0.14

Tablo 11. Testis hacimleri ile seminal plazma biyobelirteçleri arasındaki korelasyonlar (Spearman ρ)

		Sağ Testis Hacmi	Sol Testis Hacmi	Toplam Hacim
8-OHdG	***r***	-0.105	-0.199	**-0.176**
	p	0.246	0.026	**0.05**
MDA	***r***	-0.057	-0.094	-0.065
	p	0.527	0.295	0.472
GSH	***r***	0.09	0.077	0.091
	p	0.317	0.395	0.312
GPx-1	***r***	**0.182**	0.049	0.108
	p	**0.042**	0.585	0.229
SOD	***r***	**0.308**	**0.486**	**0.468**
	p	**<0.001**	**<0.001**	**<0.001**
NRF2	***r***	0.095	0.045	0.049
	p	0.29	0.619	0.587
KEAP1	***r***	0.052	0.103	0.105
	p	0.566	0.251	0.244
AMH	***r***	0.021	0.05	0.057
	p	0.812	0.582	0.529
İnhibin-B	***r***	**0.356**	**0.395**	**0.416**
	p	**<0.001**	**<0.001**	**<0.001**
Kaspaz-3	***r***	-0.165	**-0.244**	**-0.233**
	p	0.066	**0.006**	**0.009**
IGFBP-3	***r***	0.052	0.057	0.064
	p	0.564	0.528	0.479

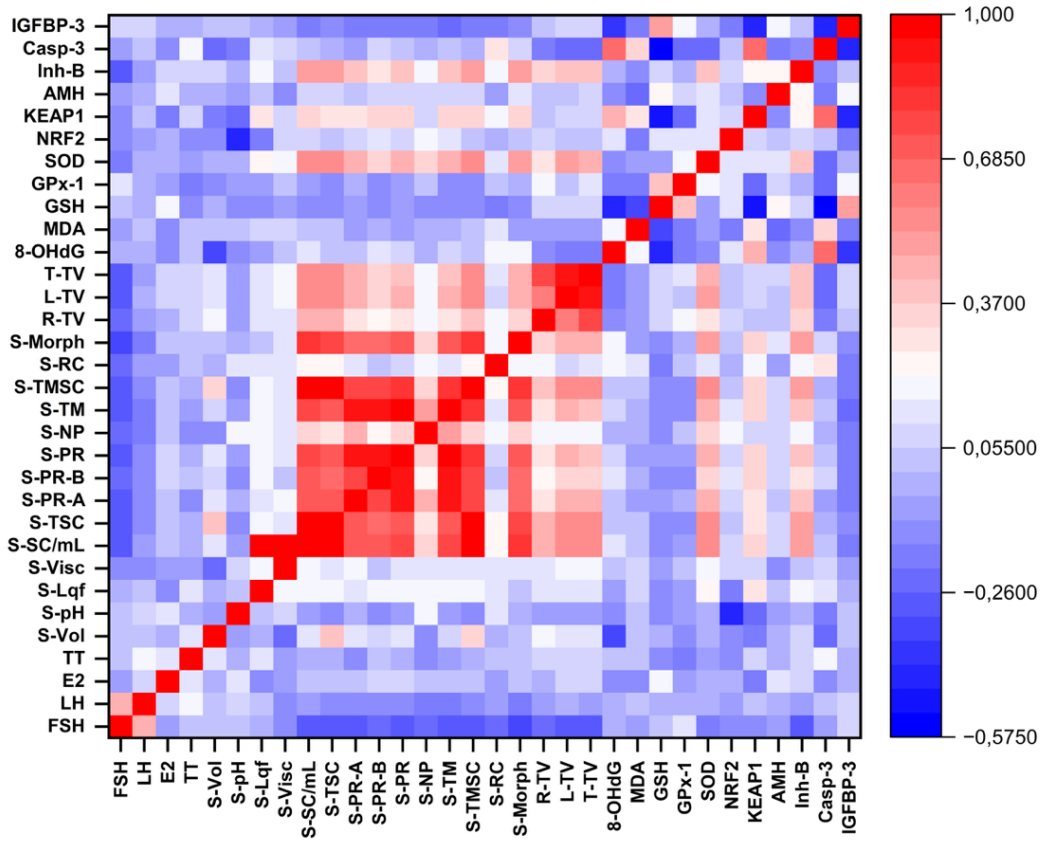
Tablo 12. Hormon düzeyleri ile seminal plazma biyobelirteçleri arasındaki korelasyonlar (Spearman ρ)

		FSH	LH	Estradiol	Total Testosteron
8-OHdG	***r***	-0.012	-0.027	-0.138	0.029
	p	0.897	0.765	0.126	0.75
MDA	***r***	-0.052	0.037	-0.137	0.033
	p	0.568	0.681	0.127	0.714
GSH	***r***	0.044	-0.035	0.16	-0.106
	p	0.623	0.702	0.074	0.241
GPx-1	***r***	0.108	-0.03	-0.082	**-0.206**
	p	0.23	0.743	0.364	**0.021**
SOD	***r***	**-0.198**	-0.032	-0.005	-0.102

	p	**0.027**	0.722	0.953	0.257
NRF2	***r***	-0.133	-0.092	-0.037	-0.105
	p	0.138	0.309	0.682	0.245
KEAP1	***r***	-0.139	0.014	**-0.181**	0.098
	p	0.123	0.873	**0.043**	0.275
AMH	***r***	-0.095	-0.026	0.118	-0.031
	p	0.291	0.773	0.189	0.733
İnhibin-B	***r***	**-0.263**	-0.073	0.103	0.103
	p	**0.003**	0.418	0.255	0.251
Kaspaz-3	***r***	-0.065	0.004	-0.118	0.167
	p	0.473	0.965	0.191	0.062
IGFBP-3	***r***	0.08	0.075	-0.041	-0.013
	p	0.374	0.404	0.65	0.889

Tablo 13. Hormon düzeyleri ile semen parametreleri arasındaki korelasyonlar (Spearman ρ)

		Sperm Sayısı ($\times 10^6$/mL)	**Toplam Sperm Sayısı ($\times 10^6$)**	**Hızlı İleri Hareket**	**Progresif Hareket**	**Toplam Hareket**	**Total Motil Sperm Sayısı**	**Yuvarlak Hücre Sayısı**	**Morfoloji**
FSH	r	**-0.312**	**-0.296**	**-0.288**	**-0.283**	**-0.311**	**-0.306**	**-0.241**	**-0.360**
	p	**<0.0001**	**0.001**	**0.001**	**0.001**	**<0.0001**	**0.001**	**0.007**	**<0.0001**
LH	r	-0.102	-0.107	-0.140	-0.129	-0.167	-0.127	-0.053	**-0.185**
	p	0.259	0.234	0.120	0.152	0.062	0.159	0.558	**0.039**
Estradiol	r	0.036	0.027	0.044	0.056	0.037	0.028	-0.100	0.028
	p	0.688	0.767	0.628	0.536	0.686	0.757	0.265	0.753
TT	r	-0.031	-0.010	-0.106	-0.041	-0.062	-0.031	0.027	0.020
	p	0.731	0.914	0.239	0.649	0.495	0.735	0.765	0.821



Şekil 23. Çalışma parametreleri arasındaki korelasyonları gösteren ısı haritası.

Korelasyonlar Spearman yöntemi ile hesaplanmıştır. Renk skalası –1.00 ile +1.00 arasında tanımlanmış olup, bu veri setinde korelasyon katsayıları –0.57 ile +0.57 arasında değişmektedir. Kısaltmalar: TT, total testosteron; E2, estradiol; FSH, folikül stimülan hormon; LH, luteinizan hormon; S-Vol, semen hacmi; S-pH, semen pH; S-Lqf, likefaction; S-Visc, viskozite; S-SC/mL, sperm konsantrasyonu; S-TSC, toplam sperm sayısı; S-PR-A, hızlı ileri hareket; S-PR-B, yavaş ileri hareket; S-PR, toplam progresif hareket; S-NP, yerinde hareket; S-TM, total motilite; S-TMSC, total motil sperm sayısı; S-RC, yuvarlak hücre sayısı; S-Morph, normal morfoloji; R-TV, sağ testis hacmi; L-TV, sol testis hacmi; T-TV, toplam testis hacmi; 8-OHdG, 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin; MDA, malondialdehit; GSH, glutatyon; GPx-1, glutatyon peroksidaz-1; SOD, süperoksit dismutaz; NRF2, nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör 2; KEAP1, Kelch-like ECH-associated protein 1; AMH, anti-Müllerian hormon; Inh-B, inhibin-B; Casp-3, kaspaz-3; IGFBP-3, insülin benzeri büyüme faktörü bağlayıcı protein-3.

5.TARTIŞMA

Çalışmamız, normospermik erkekler, OAT olguları, OAT+varikosel grubu ve aynı hastaların varikoselektomi sonrası sonuçlarını içeren üç grubun karşılaştırmalı analizlerini içermektedir. Bu çalışma, seminal plazma biyobelirteçlerinin infertilite patofizyolojisindeki rolünü aydınlatmakta ve varikoselektominin hem klinik hem moleküler düzeydeki etkilerini ortaya koymaktadır.

Bulgularımız, OAT hastalarında artmış oksidatif stres biyobelirteçlerinin infertilite ile ilişkisi olduğunu ve varikoselin bağımsız bir etiyolojik faktör olarak bu ilişkiyi daha kuvvetli gösterdiğini ortaya koymaktadır. Varikoselin oksidatif stres artışı antioksidan savunma yetersizliği, sertoli hücre disfonksiyonu ve germ hücre apoptozisinde artış gibi çok yönlü patofizyolojik mekanizmalarla infertiliteye neden olduğu moleküler düzeyde kanıtlamıştır. Daha da önemlisi, varikoselektominin bu moleküler bozuklukları anlamlı ölçüde düzelttiği ve NRF2/KEAP1 transkripsiyonel yolağının aktivasyonu ile antioksidan kapasiteyi arttırdığını gösterilmiştir.

Erkek infertilitesi, üreme çağındaki çiftlerin yaklaşık %15'ini etkileyen multifaktöriyel bir sağlık sorunudur ve bu vakaların yaklaşık yarısında erkek faktörü rol oynamaktadır (144). Varikosel, düzeltilebilir erkek infertilitesinin en sık nedeni olmakla birlikte, patofizyolojik mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamıştır (145). Konvansiyonel semen analizi sperm hücrelerinin biyolojik bütünlüğü, fonksiyonel kapasitesi ve moleküler düzeydeki bozuklukları hakkında sınırlı bilgi sağlar (146)(147). Bu çalışma, seminal plazma biyobelirteçlerinin değerlendirilmesiyle bu bilgi boşluğunu doldurmayı ve varikoselektominin moleküler etkilerini ortaya koymayı amaçlamıştır.

OAT+Varikosel grubunda oksidatif stres belirteçleri (8-OHdG, MDA) ve apoptoz göstergesi (Kaspaz-3) belirgin şekilde yüksek; buna karşılık antioksidan savunma (SOD) ve Sertoli hücre fonksiyonu (İnhibin-B) anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

Varikoselektomi sonrasında MDA düzeylerinde anlamlı azalma, SOD aktivitesinde belirgin artış gözlenmiştir. KEAP1 ekspresyonundaki azalma ve NRF2 düzeylerindeki yükselme, NRF2/KEAP1 transkripsiyonel yolağının aktivasyonunu ve hücresel savunma mekanizmalarının güçlendiğini göstermiştir. İnhibin-B düzeylerindeki anlamlı artış Sertoli hücre fonksiyonunun arttığını, Kaspaz-3

düzeylerindeki düşüş ise germ hücre apoptozunun gerilediğini ortaya koymuştur. Bu biyokimyasal iyileşmeler, semen parametrelerindeki düzelme ile paralellik göstermiştir.

Bu bulgular, varikoselin oksidatif hasar ve Sertoli disfonksiyonu üzerinden spermatogenezi bozduğunu; varikoselektominin ise NRF2/KEAP1 yolak aktivasyonu eşliğinde moleküler ve klinik iyileşme sağladığını ortaya koymuştur.

5.2. Normospermik, OAT ve OAT+Varikosel Gruplarında Biyobelirteçlerin Karşılaştırılmalı Değerlendirilmesi

5.2.1. Oksidatif Stres ve DNA Hasarı

ROS ile antioksidan savunma mekanizmaları arasındaki dengesizlik, erkek infertilitesinin patofizyolojisinde kritik öneme sahiptir (84)(148). Spermatozoa, plazma membranında yüksek oranda bulunan doymamış yağ asitleri ve sınırlı sitoplazmik antioksidan rezervi nedeniyle ROS hasarına karşı oldukça duyarlıdır (149). Çalışmamızda DNA hasarı ve lipit peroksidasyonunun biyobelirteçleri olarak 8-OHdG ve MDA değerlendirilmiştir.

Çalışma grupları arasında 8-OHdG düzeyleri açısından anlamlı farklılıklar saptanmıştır ($p<0.001$). OAT+Varikosel grubunda normospermik gruba kıyasla yüksek değerler gözlenmiştir. DNA oksidasyonunun göstergesi olan 8-OHdG, oksidatif DNA hasarının altın standart biyobelirteci olarak kabul edilmektedir (150). Bulgumuz, varikoselin DNA hasarını artırdığına dair moleküler düzeyde kanıt sağlamaktadır. Bulgularımız, İnfertil ve fertil erkekleri karşılaştıran çalışmalarda infertil gruplarda bildirilen yüksek 8-OHdG düzeyleriyle de uyumluluk göstermektedir(85)(51). Dikkat çekici olarak, OAT grubunda 8-OHdG düzeyleri normospermik gruba göre istatistiksel anlamlı seviyede düşük tespit edilmiştir ($p<0.001$). OAT olgularında artmış oksidatif stres beklentisiyle çelişen bu bulgumuz, normospermik bireylerde ki yüksek spermatozoa sayısına bağlı olarak toplam DNA miktarının artmasıyla açıklanabilir.

MDA düzeylerinde de gruplar arasında anlamlı farklılıklar tespit edilmiştir. OAT+Varikosel grubunda, normospermik gruba göre yüksek düzey ölçülmüş olsa da bu artış istatistiksel anlamlı düzeye ulaşmamıştır. OAT+Varikosel grubunda saf OAT grubuna göre anlamlı yüksekliğin saptanması, varikoselektominin lipit

peroksidasyonunu arttırdığının göstergesidir. Yüksek MDA seviyeleri, sperm membranındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin lipit peroksidasyonuna uğradığını ve bunun sonucunda motilite, kapasitasyon ve akrozom reaksiyonunun bozulabileceğini göstermektedir (151). Hem seminal plazmada hem de spermatozoada ölçülen MDA düzeyleri, sperm parametreleri ile negatif korele olduğu gösterilmiştir (151,152). Ayrıca Colledel ve ark. Ürogenital enfeksiyon ve inflamatuar durumlar gibi sperm hareketliliğinin azalmasından sorumlu patolojilerin bir belirteci olarak MDA'nın kullanılabileceğini bildirmişlerdir (153).

5.2.2. Antioksidan Savunma Sisteminin Profili

Seminal plazmada bulunan ve spermatozoaları ROS'un zararlı etkilerinden koruyan GPx, GSH ve SOD gibi antioksidan savunma elamanları önemlidir. Bunlar içinde SOD'un en önemli antioksidan enzim olduğu bilinmektedir (154).

SOD düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılıklar saptanmıştır. OAT grubunda SOD aktivitesi normospermik gruba göre belirgin olarak azalmıştır. OAT grubuna varikosel eklendiğinde bu azalma daha da belirgin hale gelmiştir. Bu bulgu, varikoselin spermatozoaların antioksidan savunmasını daha da zayıflatarak oksidatif stresi artırdığı hipotezini desteklemektedir. Literatürde Ben Rhouma ve ark.'da benzer şekilde OAT grubunda SOD aktivitesinin en düşük düzeyde olduğunu rapor etmişlerdir. (155). Bu durum, varikosel ile birlikte artan ROS yükünün SOD rezervlerinin tüketilmesine yol açmasıyla açıklanabilir. Çalışmamızda normospermik hastalarda saptanan yüksek seminal SOD düzeyleri semen parametreleri ile kuvvetli pozitif korelasyonlar göstermiştir. Lifeng Yan ve ark. yaptığı bir çalışmada seminal plazma SOD aktivitesinin sperm konsantrasyonu ve toplam hareketlilikle pozitif ilişkili olduğu, sperm DNA fragmantasyonu ile ters ilişkili olduğunu göstermiştir (154).

Çalışmamızda GPx-1 ve GSH düzeylerinin OAT grubunda normospermik ve OAT+Varikosel gruplarına kıyasla istatistiksel anlamlı yüksek düzeyde saptanması dikkat çekici bulgudur. Bu sonuç, OAT grubunda diğer iki gruba göre KEAP1 düzeylerinin istatistiksel anlamlı düzeyde düşük bulunmasıyla birlikte değerlendirildiğinde, NRF2 yolağının kronik olarak aktive olabileceğini, bunun sonucunda antioksidan gen ekspresyonunun artmış olabileceğini düşündürmektedir.

Bu durum, kronik oksidatif strese karşı gelişen adaptif bir yanıtın göstergesi olarak yorumlanabilir. Özellikle OAT grubunda, antioksidan düzeylerindeki bu artışa rağmen semen parametrelerinde ki bozukluğun devam etmesinde; seminal plazma ve testis mikroçevresi arasındaki antioksidan dağılım farklılıkları veya infertilitenin çok yönlü etiyolojisi (hormonal, genetik, yapısal faktörler) ile açıklanabilir.

Garrido ve ark. da fertil ve infertil erkeklerde GPx ve GSH aktivitesinde anlamlı fark olmadığını bildirmiştir (94). Bu bulgular, OAT grubunda gözlenen yüksek GPx ve GSH düzeylerinin infertiliteyi önlemede kompansatuar bir yanıtı düşündürmektedir.

5.2.3. Transkripsiyonel Düzenleme: NRF2/KEAP1 Sinyal Yolağı

NRF2 ve onun endojen inhibitörü KEAP1 oksidatif strese karşı koyan hücre içi savunma mekanizmasıdır (101). Oksidatif stres durumunda NRF2, KEAP1'den ayrılarak hücre nükleusuna taşınır ve antioksidan genlerin ekspresyonunu aktive eder (102).

KEAP1 düzeyleri açısından gruplar arasında belirgin farklılıklar saptanmıştır. En çarpıcı bulgu, OAT grubunda KEAP1 düzeylerinin hem normospermik hem de OAT+Varikosel gruplarına kıyasla istatistiksel anlamlı düzeyde düşük olmasıdır. Bu düşüklük, daha önce tartışılan GSH ve GPx-1 yüksekliği ile birlikte değerlendirildiğinde tutarlı bir tablo ortaya koymaktadır. KEAP1'in düşük olması NRF2'nin daha az inhibe edildiğini, dolayısıyla antioksidan gen ekspresyonunun artmış olabileceğini düşündürmektedir. Bu bulgu, kronik oksidatif strese karşı gelişmiş adaptif bir yanıt sonucu olabilir. Nitekim yapılan bir çalışmada KEAP1 inhibisyonunun NRF2'nin nükleer translokasyonunu arttırdığını ve antioksidan gen ekspresyonunu güçlendirdiğini göstermiştir (156).

NRF2 düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.618$). NRF2'nin kontrol ettiği çok çeşitli hücresel süreçler dikkate alındığında, aktivitesinin birçok düzeyde sıkı bir şekilde düzenlendiği bilinmektedir (156). NRF2 protein düzeyi, sentez ve yıkım arasındaki dengeyi yansıtır ve önemli olan toplam protein miktarı değil, aktivasyonudur (fosforilasyon ve nükleer translokasyon). Bu çalışmada total NRF2 ölçülmüş olup, aktif nükleer

formu ayrıca değerlendirilmemiştir. Ayrıca, NRF2 esas olarak hücre içi bir protein olup, seminal plazmadaki düzeyleri hücre içi aktiviteyi tam olarak yansıtmayabilir.

Literatürde NRF2/KEAP1 yolağının seminal plazmada kapsamlı bir şekilde değerlendirildiği çok az sayıda çalışma bulunmaktadır ve mevcut çalışmaların çoğu sperm hücreleri veya testis dokusu üzerinde yapılmıştır (157,158). Çalışmamız normospermik bireyler ile semen parametreleri bozulmuş infertil hastalar arasındaki karşılaştırmalara ek olarak, varikoselektomi sonrasında seminal plazmaki değişimlerinin incelenmesi açısından önemlidir.

5.2.4. Sertoli Hücre Fonksiyonları

Bu çalışmada Sertoli hücre fonksiyonunu yansıtan iki önemli belirtecin seminal plazama düzeyleri değerlendirilmiştir. İnhibin-B düzeyleri açısından gruplar arasında çok belirgin farklılıklar saptanmıştır. En düşük düzeyler OAT+Varikosel grubunda gözlenmiş olup, her üç grup arasında da anlamlı farklılıklar belirlenmiştir. Bu bulgu, varikoselin sadece germ hücrelerini değil, aynı zamanda spermatogenezi destekleyen sertoli hücre fonksiyonlarını bozduğunu göstermektedir. Serum inhibin-B düzeyleri, infertil olgularda azalmakta ve FSH düzeylerindeki artışla birlikte spermatogenetik hasarın derecesini yansıtmaktadır (124). Kumanov ve arkadaşları İnhibin-B'nin spermatogenezin değerlendirilmesinde FSH'dan daha iyi bir belirteç olduğunu bildirmiştir (129). Anderson ve arkadaşları ise seminal plazma İnhibin-B düzeyleri ile sperm sayısı arasında pozitif korelasyon göstermiştir (130). Bizde çalışmamızda İnhibin-B düzeyleri ile sperm konsantrasyonu ve total sperm sayısı arasında pozitif korelasyon saptadık, bu bulgu İnhibin-B'nin spermatogenez kalitesini doğrudan yansıttığını desteklemektedir.

Çalışmamızda AMH düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaşılamamıştır ($p=0.121$). Ancak median değerlerin normospermik grupta en yüksek, OAT+Varikosel grubunda en düşük olması, klinik açıdan dikkate değer bir artışa işaret etmektedir. Ayrıca, infertil gruplarda yüksek olan FSH düzeylerinin AMH sekresyonunu stimüle ederek gruplar arası farkı azaltmış olabileceği düşünülebilir. Seminal plazma AMH'yi değerlendiren önceki çalışmalar, AMH düzeyleri ile sperm konsantrasyonu, toplam sperm sayısı ve progresif motilite arasında anlamlı pozitif ilişkiler olduğunu bildirmiştir

(106,159,160). Ancak, bazı çalışmalarda ise bu parametreler ile AMH düzeyleri arasında herhangi bir korelasyon saptanmamıştır (161,162). AMH'nın serum düzeylerinin spermatogenezi ve sperm parametrelerini predikte etmediği (106,163,164), buna karşın seminal plazma değerlerinin ise bazı çalışmalarda sperm parametreleri ile ilişkili olduğu (106,119) bildirilmiştir. Buna karşın seminal AMH'nın sperm parametreleri ile ilişkisi olmadığını gösteren çalışmalarda mevcuttur (126,165). AMH düzeylerindeki yüksek biyolojik varyabilite ve seminal plazma AMH düzeylerindeki yüksek biyolojik varyabilite ve seminal plazma AMH'nın klinik değerinin literatürde tartışmalı olması, elde ettiğimiz bulgularla uyumludur. Bu nedenle, seminal plazma AMH'nin tek başına spermatogenezin değerlendirilmesinde İnhibin-B kadar güvenilir bir biyobelirteç olmayabileceği kanaatine varılmıştır.

5.2.5. Büyüme ve Metabolizma: IGFBP-3

Çalışmamızda IGFBP-3 düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır. OAT grubunda IGFBP-3 düzeyleri hem normospermik hem de OAT+Varikosel gruplarına göre belirgin şekilde yüksek bulunmuştur. Normospermik grup ile OAT+Varikosel grubu arasında anlamlı fark olmaması, varikoselin yol açtığı oksidatif stresle çelişkili görünse de seminal plazmadaki IGFBP-3'ün sentezi ve metabolik dinamikleri bu durumu açıklayabilir.

IGFBP-3, erkek üreme sisteminde başlıca prostat epitel hücrelerinden, seminal veziküllerden ve sertoli hücrelerinden salınmakta olup seminal plazmada bulunduğu gösterilmiştir (166)(167). Seminal plazmada prostat spesifik antijen (PSA) gibi proteazlar tarafından hızla parçalanır (166). Bu nedenle ölçülen düzeyler yalnızca sentezi değil, aynı zamanda proteolitik yıkım dengesini de yansıtmaktadır. Seminal plazmada IGFBP-3 fragmanlarının varlığı gösterilmiş ve bu fragmantasyonun ölçüm yöntemine bağlı olarak toplam IGFBP-3 düzeylerinde farklılıklara neden olabileceği bildirilmiştir (168). İnfertil ve fertil erkeklerin seminal plazma IGFB-3 düzeylerinin ölçüldüğü bir çalışmada gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır (169).

Ayrıca, inflamasyon, hiperglisemi, obezite gibi metabolik sendrom durumlarında IGF-I/IGFBP-3 oranı değişebilmektedir (170). Bu durumun seminal plazmadaki IGFBP-3 konsantrasyonlarını etkileyebileceği düşünülebilir. Bu

bağlamda, OAT olgularında ürogenital sistem kaynaklı üretimin baskınlığı veya daha düşük proteaz aktivitesi, intakt IGFBP-3 düzeylerinin göreceli olarak yüksek ölçülmesine yol açmış olabilir. Buna karşılık OAT+Varikosel grubunda artmış proteaz aktivitesi intakt IGFBP-3 düzeylerini azaltmış olabilir. Dolayısıyla bulgularımız, IGFBP-3'ün varikosel varlığında lineer biçimde artan bir parametre olmadığını; aksine üretim ve proteoliz arasındaki etkileşimin etkisi altında değişkenlik gösterebileceğini düşündürmektedir.

Seminal plazma IGFBP-3 ile ilgili literatür oldukça sınırlıdır , Yue Jia ve ark. IGFBP-3'ün mitokondriyal bağımlı yolak ile germ hücre apoptozisini aktive ettiğini göstermiştir (171). Çalışmamıza benzer şekilde infertil ve fertil hasta grupları arasında seminal plazmada IGFB-3'ün değerlendirildiği bir başka çalışmada ise; gruplar arasında anlamlı fark bulunamamıştır (169).

5.2.6. Apoptoz ve Germ Hücre Ölümü

Apoptotik kaskatın efektör kaspazı olan Kaspaz-3 düzeylerinin değerlendirildiği çalışmamızda gruplar arasında belirgin farklılıklar saptanmıştır. OAT+Varikosel grubunda Kaspaz-3 düzeyleri normospermik gruba göre istatistiksel anlamı düzeyde yüksek bulunmuştur. Son yıllarda artan kanıtlar, otofajinin spermatogenez için kritik öneme sahip olduğunu ve hem aşırı aktivasyonunun hem de blokajının erkek infertilitesine katkıda bulunabileceğini göstermiştir (172). Sertoli Cell-Only sendromunda artmış aktif Kaspaz-3 düzeyleri saptanmış, ancak oligozoospermik olgularda aktif Kaspaz-3 oranları daha düşük bulunmuştur (173). OAT grubunda uzun süreli spermatogenez bozukluğu sonucu germ hücre havuzunun tükenmiş olması veya oligozoospermide apoptozun daha çok erken germ hücre aşamalarında gerçekleşmesi, ejekülatta ölçülen seminal plazmada aktif Kaspaz-3 düzeylerinin düşük olmasını açıklayabilir (173). Ayrıca, testiste yüksek düzeyde eksprese edilen apoptoz proteinlerinin inhibitörleri (c-IAP1, c-IAP2, survivin) kaspazları inhibe ederek hücre sağkalımını kontrol ettiği bilinmektedir (174).OAT grubunda kompansatuar bir mekanizma olarak bu inhibitörlerin artmış olabileceği düşünülebilir.

OAT+Varikosel grubunda Kaspaz-3'ün yüksek olması, varikoselin germ hücre apoptozunun arttırabileceğini göstermektedir. Babaei ve arkadaşlarının

deneysel çalışmasında varikosel modelinde testis dokusunda apoptoz belirteçlerinin arttığı gösterilmiştir (175). Chen ve arkadaşları ise varikoselli hastalarda ejakülattaki spermatozoalarda yüksek apoptoz düzeyleri bildirmiştir (134).

5.3. Varikoselektominin Moleküler ve Klinik Etkileri

Çalışmamız, varikoselin erkek infertilitesi üzerindeki etkilerini moleküler düzeyde kapsamlı biçimde ortaya koyması açısından önemlidir. Bulgularımız, varikoselin yalnızca semen parametrelerini olumsuz etkilemediğini, aynı zamanda oksidatif stres, antioksidan savunma mekanizmaları, sertoli hücre fonksiyonu ve apoptozis üzerinde çok yönlü bir bozulmaya yol açtığını göstermektedir. Daha da önemlisi, varikoselektominin bu patolojik süreçleri tersine çevirerek hem biyobelirteçler hem de klinik parametreler düzeyinde anlamlı iyileşme sağladığı ortaya konmuştur.

Varikoselektomi sonrası semen parametrelerinde gözlenen belirgin iyileşme, mevcut literatürle uyumludur. Sperm konsantrasyonunda yaklaşık 3 katlık artış, total sperm sayısında belirgin yükselme, total ve progresif motilitedeki iyileşmeler ile morfolojideki düzelme, varikoselektominin spermatogenez üzerindeki olumlu etkisini açıkça ortaya koymaktadır. Bulgularımız, Cannarella ve arkadaşlarının geniş meta analizinde rapor edilen sonuçlarla paralellik göstermektedir (55).

Moleküler düzeyde en güçlü bulgu, oksidatif stres belirteçlerindeki değişimdir. MDA düzeylerinde kaydedilen istatistiksel anlamlı düşüş, varikoselin yol açtığı lipit peroksidasyonunun gerilediğini ve sperm membran bütünlüğünün korunduğunu göstermektedir. Bu bulgu, Mostafa ve arkadaşlarının seminal plazmada ROS'ların (MDA, H_2O_2 ve NO) varikoselektomi sonrası belirgin şekilde azaldığını gösteren çalışmasıyla uyumludur (88). Postoperatif dönemde izlenen 8-OHdG düzeylerindeki azalma istatistiksel anlamlılık eşiğine ulaşmamış olsa da ($p=0.058$), bu bulgu klinik ve biyolojik açıdan önemlidir. 8-OHdG DNA'nın oksidatif hasara uğramasının önemli bir belirtecidir (176). Sakamoto ve arkadaşlarının yaptığı, azoospermik, OAT (varikoseli olan=15 ve varikoseli olmayan n=15) ve normospermik bireylerin dahil edildiği çalışmada; varikoseli olan infertil erkeklerde seminal plazma 8-OHdG düzeylerinin, varikoselektomi sonrası 3. ve 6. aylarda anlamlı şekilde azaldığı bildirilmiştir (177). Benzer şekilde Chen ve arkadaşları,

varikoselektomi sonrası sperm DNA'sında 8-OHdG düzeylerinin anlamlı şekilde azaldığını bildirmiştir (178).

Varikoselektomi sonrası antioksidan savunma parametrelerindeki artışlar bulgularımızın önemli bir kısmını oluşturmaktadır. SOD düzeylerindeki anlamlı artış, süperoksit radikallerinin temizlenmesinde kritik rol oynayan bu enzimin varikoselektomi sonrası fonksiyonel olarak aktive olduğunu göstermektedir. Çalışmamızdaki bulguları destekler nitelikte Mostafa ve ark. 68 hastanın varikoselektomi sonrası SOD düzeylerinin arttığını, MDA düzeylerinin ise azaldığını belirtmiştir (88). Buna karşın Sakamoto ve ark. 15 hastanın varikoselektomi sonrası seminal plazmada SOD aktivitesinin azaldığını bulmuştur (177). GPx-1 ve GSH düzeylerindeki anlamlı yükselmeler ise glutatyon sistemi üzerinden antioksidan kapasitenin güçlendiğini ortaya koymaktadır. Varikosele bağlı infertil hastalar ile fertil bireylerin karşılaştırıldığı bir çalışmada, varikosel grubunda seminal plazma GPx ve SOD düzeylerinin anlamlı olarak düşük düzeyde olduğu, MDA düzeylerinin ise yüksek olduğu gösterilmiştir (179). Varikoselektomi venöz konjesyonu ortadan kaldırarak testiküler dolaşımı ve oksijenasyonu iyileştirir. Bu sayede ROS üretimi azalır ve buna bağlı olarak MDA ile 8-OHdG düzeyleri düşer.

Çalışmamızın en özgün katkılarından biri, NRF2/KEAP1 sinyal yolağının seminal plazmada varikoselektomi bağlamında ilk kez bu kadar kapsamlı biçimde incelenmiş olmasıdır. KEAP1 düzeylerinde saptanan belirgin azalma ve NRF2'deki anlamlı artış, antioksidan gen ekspresyonunun transkripsiyonel düzeyde aktive edildiğini güçlü şekilde göstermektedir. NRF2/KEAP1'in çalışma mekanizması, çalışmamızda gözlenen antioksidan enzim artışlarını (SOD, GPx-1, GSH) biyolojik olarak açıklamaktadır. Klinik çalışmalar, oligozoospermik hastalarda NRF2 ekspresyonunun düşük olduğunu göstermiştir; bu bulgu, NRF2'nin spermatogenez için kritik öneme sahip olduğunu ve sperm kalitesinin korunmasında önemli rol oynadığını ortaya koymaktadır (180,181). Bu sonuçlar, varikoselektominin etkisinin yalnızca mekanik venöz dekompresyonla sınırlı olmadığını, cerrahi müdahalenin aynı zamanda NRF2/KEAP1 yolağını aktive ederek moleküler düzeyde hücresel koruyucu mekanizmaları tetiklediğini göstermektedir.

Sertoli hücre fonksiyonunu yansıtan inhibin-B düzeylerinde postoperatif dönemde gözlenen anlamlı artış, varikoselektomi sonrası spermatogenez destek

mekanizmalarının iyileştiğini göstermektedir. Seminal plazma inhibin-B düzeyi ile sperm konsantrasyonu arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (130). Yapılan diğer çalışmalarda, serum İnhibin-B düzeyleri ile spermatogenez ve sertoli hücre fonksiyonunda pozitif ilişki olduğu gösterilmiştir (182,183).

Postoperatif dönmede seminal plazma AMH düzeylerindeki %45'lik artış istatistiksel anlamlılığa ulaşmamıştır ($p = 0.241$). Literatürde varikoselektomi sonrası AMH düzeylerine ilişkin kısıtlı literatür bulunmaktadır. Metwally ve ark. yaptığı bir çalışmada cerrahi sonrası serum AMH düzeyinde artış bildirilmiştir (184). Çalışmalar daha çok varikosele bağlı infertilitesi olan gruplar ile fertil grupların karşılaştırılması şeklinde yapılmış. Varikoseli olan prepubertal hastalarla, sağlıklı kontrol grubunun karşılaştırıldığı bir çalışmada daha yüksek serum AMH seviyeleri gösterilmiştir (185). Buna karşın fark olmadığını gösteren çalışmalarda vardır (186). Ayrıca serum AMH düzey aralığının daha fazla olduğu ve bu farklılığın sonuçlar arasındaki tutarsızlığa katkıda bulunabileceği belirtilmektedir (187). Bulgularımız bu açıdan mevcut literatürle uyumlu olup, AMH'nin varikoselektomi yanıtını değerlendirmede sınırlı fakat tamamlayıcı bir biyobelirteç olabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda varikoselektomi sonrası Kaspaz-3 düzeylerindeki anlamlı azalma, germ hücre apoptozunun önemli ölçüde gerilediğini göstermektedir. Azalan apoptoz sayesinde daha fazla germ hücresinin olgunlaşmayı tamamlayarak ejakülata ulaşacağı anlamı çıkarılabilir. Ning ve ark. yaptığı deneysel bir çalışmada varikoselektomi uygulanan sıçan grubunda postoperatif kaspaz-3, kaspaz-9 ve sitokrom-c düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir (188). Benzer şekilde LA Vignera ve ark. da bulgularımızı destekler nitelikte varikoselektomi sonrasında spermatozoa apoptoz belirteçlerinin azaldığı gösterilmiştir (189). Kaspaz-3 azalması, oksidatif stres düzeylerindeki azalma ile paralellik göstermektedir ve varikoselde apoptoz artışının temel nedeninin oksidatif stres olduğunu güçlü biçimde desteklemektedir.

Çalışmamızda varikoselektomi sonrası IGFBP-3 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır. Bu bulgu, IGFBP-3'ün çoğu çalışmada proapoptotik bir protein olarak tanımlanması nedeniyle literatürdeki genel beklentinin aksine bir sonuçtur (190)(191). Literatürde IGFBP-3'ün hem proapoptotik etkileri hem de IGF-1 taşıyıcı fonksiyonu aracılığıyla hücre sağkalımını

destekleyici rolleri bildirilmiştir (192) (193). Ayrıca, IGFBP-3'ün hücrelerde farklı fonksiyonlar gösterebildiği ve bu fonksiyonların IGF-bağımlı veya IGF-bağımsız mekanizmalarla düzenlendiği gösterilmiştir (192). Varikosel ile ilişkili oksidatif stresin azalması sonrasında IGFBP-3'te olan bu artış hücre içi kompleks fonksiyonları ile açıklanabilir.

5.4. Biyobelirteçler Arası İlişkiler ve Klinik Çıkarımlar

Çalışmamızda yapılan korelasyon analizleri, biyobelirteçler ile semen parametreleri arasındaki ilişkileri ortaya koyarak varikosel patofizyolojisini açıklamaya yardımcı olmuştur. Özellikle oksidatif stres belirteçleri ile semen parametreleri arasında güçlü negatif korelasyonlar saptanmıştır. 8-OHdG düzeyleri ile sperm konsantrasyonu, total motilite ve morfoloji arasında gözlenen negatif ilişki, DNA hasarının spermatogenez ve sperm kalitesi üzerindeki olumsuz etkisini desteklemektedir (150). Benzer şekilde, MDA düzeyleri ile özellikle motilite arasındaki belirgin negatif korelasyon, lipit peroksidasyonunun membran bütünlüğünü bozarak sperm hareketliliğini olumsuz etkilediğini düşündürmektedir (151). Ayrıca 8-OHdG ile testis hacmi arasında saptanan negatif ilişki, kronik oksidatif stresin testis dokusunda kalıcı hasara yol açabileceğine işaret etmektedir.

SOD düzeylerinin sperm konsantrasyonu, total sperm sayısı ve testis hacmi ile pozitif ilişkili bulunması, güçlü antioksidan savunmanın spermatogenezi koruduğunu göstermektedir (154).

Sertoli hücre fonksiyonunu yansıtan İnhibin-B düzeyleri ile sperm konsantrasyonu, total sperm sayısı ve testis hacmi arasında güçlü pozitif korelasyonlar bulunmuştur. Bu bulgu, İnhibin-B'nin spermatogenez kalitesinin güvenilir bir biyobelirteci olduğunu bir kez daha doğrulamaktadır (194). Buna karşın AMH düzeylerinin semen parametreleriyle daha zayıf ilişkiler göstermesi, seminal plazmadaki AMH'nın spermatogenezi değerlendirmede İnhibin-B kadar güvenilir olmadığını ortaya koymaktadır (161).

Yüksek preoperatif İnhibin-B düzeyi, büyük testis hacmi, düşük-orta FSH ve normal testosteron cerrahi başarı için olumlu göstergeler olarak değerlendirilebilirken; çok yüksek Kaspaz-3, çok düşük SOD, ileri derecede atrofiyle

seyreden küçük testis hacmi ve yüksek MDA düzeyleri olumsuz prognostik faktörler olarak öne çıkmaktadır.

Bu veriler, varikoselektomi öncesi hasta seçiminde biyobelirteçlerin yol gösterici olabileceğini ve gelecekte yapılacak geniş ölçekli çalışmalarda cut-off değerleri belirlenerek prediktif modeller geliştirilmesinin hasta yönetimini ve klinik öngörüleri iyileştirebileceğini düşündürmektedir.

5.5. Çalışmanın Güçlü ve Sınırlı Yönleri ile Gelecek Perspektifleri

Bu çalışmanın temel güçlü yönleri, farklı biyobelirteçlerin eşzamanlı değerlendirilmesi, aynı hastalarda preoperatif ve post operatif karşılaştırmaların yapılabilmesi ve seminal plazmada NRF2/KEAP1 ve IGFBP-3 yolaklarını bu kapsamda ilk kez incelenmesidir. Tüm operasyonların standart mikroskopik teknikle aynı cerrah tarafından gerçekleştirilmesi sonuçların güvenilirliğini artırmıştır.

Başlıca sınırlılıklar ise biyobelirteç ölçümlerinin yalnızca seminal plazmada yapılması, IGF-1, PSA düzeylerinin ve gebelik oranlarının değerlendirilmemesi olarak sayılabilir.

6. SONUÇ

Bu çalışma, varikoselin erkek infertilitesine katkıda bulunan biyokimyasal mekanizmaları moleküler düzeyde ortaya koymuştur. Bulgular, varikoselin oksidatif stres artışı, antioksidan savunma yetersizliği ve hücresel apoptoz dengesizliği ile ilişkili olduğunu göstermektedir. Varikoselektomi sonrasında bu parametrelerde gözlenen anlamlı düzelmeler, cerrahinin yalnızca anatomik değil, aynı zamanda biyokimyasal düzeyde de iyileştirici etki sağladığını ortaya koymaktadır.

Elde edilen veriler, oksidatif stres belirteçleri, antioksidan enzimler ve Sertoli hücre fonksiyon göstergelerinin varikosel patofizyolojisinde önemli rol oynadığını ve bu parametrelerin cerrahi başarının izlenmesinde potansiyel biyobelirteçler olarak değerlendirilebileceğini göstermektedir.

7.KAYNAKLAR

1. Keith L. Moore, T.V.N. Persaud. The Developing Human: Clinically Oriented Embryology. 6th Edition. W.B. Saunders Company; 1998.
2. Gary C. Schoenwolf, Steven B. Bleyl, Philip R. Brauer, Philippa H. Francis-West. Larsen's Human Embryology. Fourth Edition. Churchill Livingstone; 2008. 479–536 p.
3. Hashimoto R. Development of the human Müllerian duct in the sexually undifferentiated stage. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol [Internet]. 2003 Jun 1 [cited 2025 Jan 11];272(2):514–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12740945/
4. Bruce M. Carlson. Human Embryology and Developmental Biology. 4th Edition. Mosby/Elsevier; 2009. 421–428 p.
5. Hiramatsu R, Matoba S, Kanai-Azuma M, Tsunekawa N, Katoh-Fukui Y, Kurohmaru M, et al. A critical time window of Sry action in gonadal sex determination in mice. Development [Internet]. 2009 [cited 2025 Jan 11];136(1):129–38. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19036799/
6. Oatley JM, Brinster RL. The germline stem cell niche unit in mammalian testes. Physiol Rev [Internet]. 2012 Apr 1 [cited 2025 Jan 11];92(2):577–95. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22535892/
7. Turner ME, Ely D, Prokop J, Milsted A. Sry, more than testis determination? Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol [Internet]. 2011 Sep [cited 2025 Jan 11];301(3). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21677270/
8. Arıncı K, Elhan A. Anatomi. 5th ed. Ankara: Gunes Tıp Kitapevleri; 2014.
9. Anatomy and Physiology: BC Open Textbook Collection. In: 271 Anatomy and Physiology of the Male Reproductive System. BCcampus;
10. Anatomy, Abdomen and Pelvis: Testes - PubMed [Internet]. [cited 2025 Jan 17]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29261881/
11. Ross, Michael H., Pawlina, Wojciech. Histology: A Text and Atlas. 6th ed. Ankara: Palme Publishing; 2014.
12. Netter, Frank H. Atlas of Human Anatomy. 7th ed. Philadelphia: Elsevier; 2019.
13. Sullivan R, Mieusset R. The human epididymis: its function in sperm maturation. Hum Reprod Update [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2025 Jan 18];22(5):574–87. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27307387/
14. Amann RP, Hammerstedt RH, Veeramachaneni DNR. The epididymis and sperm maturation: a perspective. Reprod Fertil Dev [Internet]. 1993 [cited 2025 Jan 18];5(4):361–81. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8153387/
15. Koslov DS, Andersson KE. Physiological and pharmacological aspects of the vas deferens-an update. Front Pharmacol [Internet]. 2013 [cited 2025 Jan 18];4. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23986701/
16. Ozan H. Erkek genital sistemi anatomisi. In: Ozan Anatomi. 2nd ed. Ankara: Klinisyen Tıp Kitabevleri; 2005. p. 305–12.

17. Ramazan Aşcı, Selahittin Çayan, Fikret Erdemir, İrfan Orhan, Önder Yaman, Mustafa Faruk Usta, et al. Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi. 1st ed. İstanbul: Medikal Sağlık ve Yayıncılık Hiz. Tic. Ltd. Şti.; 2013.
18. Innervation of the human glans penis - PubMed [Internet]. [cited 2025 Jan 19]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10037378/
19. Williams, P. L. B, L. H., Berry, M. M. Reproductive organs of the male. In: Gray's Anatomy. 38th ed. Churchill Livingstone; 1995. p. 1848–61.
20. Grande G, Barrachina F, Soler-Ventura A, Jodar M, Mancini F, Marana R, et al. The Role of Testosterone in Spermatogenesis: Lessons From Proteome Profiling of Human Spermatozoa in Testosterone Deficiency. Front Endocrinol (Lausanne) [Internet]. 2022 May 19 [cited 2025 Jan 21];13. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35663320/
21. Schlatt S, Weinbauer GF, Nieschlag E. Inhibin-like and gonadotropin-like immunoreactivity in pituitary cells of male monkeys (Macaca fascicularis, Macaca mulatta). Cell Tissue Res [Internet]. 1991 Aug [cited 2025 Jan 21];265(2):203–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1934025/
22. Veldhuis JD, Keenan DM, Liu PY, Iranmanesh A, Takahashi PY, Nehra AX. The aging male hypothalamic-pituitary-gonadal axis: pulsatility and feedback. Mol Cell Endocrinol [Internet]. 2009 Feb 5 [cited 2025 Jan 21];299(1):14–22. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18838102/
23. Fernald RD, White RB. Gonadotropin-releasing hormone genes: phylogeny, structure, and functions. Front Neuroendocrinol [Internet]. 1999 [cited 2025 Jan 21];20(3):224–40. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10433863/
24. Schlegel PN, Hardy M. Male reproductive physiology. In: Retik AB VEWAKLNAPAPC, editor. Campbell's Urology. 8th ed. Philadelphia: Saunders; 2002. p. 1437–74.
25. Andersson AM, Carlsen E, Petersen JH, Skakkebæk NE. Variation in levels of serum inhibin B, testosterone, estradiol, luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone, and sex hormone-binding globulin in monthly samples from healthy men during a 17-month period: possible effects of seasons. J Clin Endocrinol Metab [Internet]. 2003 Feb 1 [cited 2025 Jan 21];88(2):932–7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12574235/
26. Rubin BS, Jimenez-Linan M. Luteinizing Hormone Releasing Hormone (LHRH) Neuronal Function in Middle-Aged Female Rats. Biology of Menopause [Internet]. 2000 [cited 2025 Jan 21];11–23. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-0-387-21628-7_2
27. Hayes FJ, Crowley WF. Gonadotropin pulsations across development. Horm Res [Internet]. 1998 Mar [cited 2025 Jan 21];49(3–4):163–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9550119/
28. Gharib SD, Leung PCK, Carroll RS, Chin WW. Androgens positively regulate follicle-stimulating hormone beta-subunit mRNA levels in rat pituitary cells. Mol Endocrinol [Internet]. 1990 [cited 2025 Jan 21];4(11):1620–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2126339/
29. JOCKENHÖVEL F, FINGSCHEIDT U, KHAN SA, BEHRE HM, NIESCHLAG E. Bio and immuno-activity of FSH in serum after intramuscular injection of highly purified urinary human FSH in normal men.

Clin Endocrinol (Oxf) [Internet]. 1990 [cited 2025 Jan 21];33(5):573–84. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2123758/
30. Molecular mechanisms of the regulation of gonadotropin gene expression by gonadotropin-releasing hormone - PubMed [Internet]. [cited 2025 Jan 21]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9895115/
31. Simoni M, Gromoll J, Nieschlag E. The follicle-stimulating hormone receptor: biochemistry, molecular biology, physiology, and pathophysiology. Endocr Rev [Internet]. 1997 Dec 1 [cited 2025 Jan 21];18(6):739–73. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9408742/
32. Kaler LW, Neaves WB. Attrition of the human Leydig cell population with advancing age. Anat Rec [Internet]. 1978 [cited 2025 Jan 22];192(4):513–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/736271/
33. Le Roy C, Lejeune H, Chuzel F, Saez JM, Langlois D. Autocrine regulation of Leydig cell differentiated functions by insulin-like growth factor I and transforming growth factor beta. J Steroid Biochem Mol Biol [Internet]. 1999 Apr [cited 2025 Jan 23];69(1–6):379–84. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10419015/
34. Ewing, L. L. Leydig cell. In: Infertility in the Male. 4th ed. New York: Churchill Livingstone; 1983. p. 43–43.
35. Turek, P. J. Male reproductive physiology. In: Wein AJ, KLR, NAC, PAW, & PCA, editor. Campbell-Walsh Urology. 10th ed. Philadelphia: Saunders; 2011. p. 591–615.
36. Wong WJ, Khan YS. Histology, Sertoli Cell. StatPearls [Internet]. 2022 Nov 14 [cited 2025 Jan 23]; Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560631/
37. Duan P, Hu C, Quan C, Yu T, Huang W, Chen W, et al. 4-Nonylphenol induces autophagy and attenuates mTOR-p70S6K/4EBP1 signaling by modulating AMPK activation in Sertoli cells. Toxicol Lett [Internet]. 2017 Feb 5 [cited 2025 Jan 23];267:21–31. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28041982/
38. Chojnacka K, Zarzycka M, Mruk DD. Biology of the Sertoli Cell in the Fetal, Pubertal, and Adult Mammalian Testis. Results Probl Cell Differ [Internet]. 2016 Jun 1 [cited 2025 Jan 23];58:225–51. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27300181/
39. Joseph P. Alukal DJLCSN, Makhlouf AA. Spermatogenesis in the adult. Infertility in the Male [Internet]. 2009 Jun 1 [cited 2025 Jan 29];74–89. Available from: https://www.cambridge.org/core/books/infertility-in-the-male/spermatogenesis-in-the-adult/3DA34B6E944044B7F7132272ACD2D84A
40. Schoenwolf GC, Bleyl SB, Brauer PR, Francis-West PH. Larsen's Human Embryology. 5th ed. Elsevier; 2020.
41. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss. Fertil Steril [Internet]. 2008 Nov [cited 2025 Feb 15];90(5 Suppl). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19007647/
42. Esteves SC, Miyaoka R, Agarwal A. An update on the clinical assessment of the infertile male. [corrected]. Clinics (Sao Paulo) [Internet]. 2011 [cited 2025 Feb 15];66(4):691–700. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21655766/

43. Evers JLH. Female subfertility. Lancet [Internet]. 2002 Jul 13 [cited 2025 Feb 15];360(9327):151–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12126838/
44. Agarwal A, Mulgund A, Hamada A, Chyatte MR. A unique view on male infertility around the globe. Reprod Biol Endocrinol [Internet]. 2015 Dec 12 [cited 2025 Feb 15];13(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25928197/
45. Leslie SW, Soon-Sutton TL, Khan MA. Male Infertility. StatPearls [Internet]. 2024 Feb 25 [cited 2025 Feb 15]; Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562258/
46. Winters BR, Walsh TJ. The epidemiology of male infertility. Urol Clin North Am [Internet]. 2014 Feb [cited 2025 Feb 15];41(1):195–204. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24286777/
47. "Akyol Alp," "Ergun Kasım", "Altay Barış." Güncel Üroloji. 4th Edition. Kadıoğlu A, Efesoy O, editors. İstanbul, Turkey: Turkish Association of Urology (Türk Üroloji Derneği); 2022. 1015–1023 p.
48. Schlegel PN, Sigman M, Collura B, De Jonge CJ, Eisenberg ML, Lamb DJ, et al. Diagnosis and treatment of infertility in men: AUA/ASRM guideline part I. Fertil Steril [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2025 Feb 15];115(1):54–61. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33309062
49. Paternal age: are the risks of infecundity and miscarriage higher when the man is aged 40 years or over? - PubMed [Internet]. [cited 2025 Feb 15]. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16471144/
50. Schlegel PN, Sigman M, Collura B, De Jonge CJ, Eisenberg ML, Lamb DJ, et al. Diagnosis and treatment of infertility in men: AUA/ASRM guideline part I. Fertil Steril [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2025 Feb 15];115(1):54–61. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33309062
51. Schlegel PN, Sigman M, Collura B, De Jonge CJ, Eisenberg ML, Lamb DJ, et al. Diagnosis and treatment of infertility in men: AUA/ASRM guideline part I. Fertil Steril [Internet]. 2021 Jan 1 [cited 2025 Feb 15];115(1):54–61. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33309062
52. Rotker K, Sigman M. Recurrent varicocele. Asian J Androl [Internet]. 2016 Mar 1 [cited 2025 Feb 16];18(2):229. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4770491/
53. Paick S, Choi WS. Varicocele and Testicular Pain: A Review. World J Mens Health [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2025 Feb 16];37(1):4–11. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29774668/
54. Fallara G, Capogrosso P, Pozzi E, Belladelli F, Corsini C, Boeri L, et al. The Effect of Varicocele Treatment on Fertility in Adults: A Systematic Review and Meta-analysis of Published Prospective Trials. Eur Urol Focus [Internet]. 2023 Jan 1 [cited 2025 Feb 16];9(1):154–61. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36151030/
55. Cannarella R, Shah R, Abo-Almagd Abdel-Meguid Hamoda T, Boitrelle F, Saleh R, Gul M, et al. Does Varicocele Repair Improve Conventional Semen Parameters? A Meta-Analytic Study of Before-After Data. World J Mens Health [Internet]. 2024 [cited 2025 Feb 16];42(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37382284/

56. Lomboy JR, Coward RM. The Varicocele: Clinical Presentation, Evaluation, and Surgical Management. Semin Intervent Radiol [Internet]. 2016 Sep 1 [cited 2025 Feb 16];33(3):163–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27582602/
57. Hassanin AM, Ahmed HH, Kaddah AN. A global view of the pathophysiology of varicocele. Andrology [Internet]. 2018 Sep 1 [cited 2025 Feb 16];6(5):654–61. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29978951/
58. Rao M, Zhao XL, Yang J, Hu SF, Lei H, Xia W, et al. Effect of transient scrotal hyperthermia on sperm parameters, seminal plasma biochemical markers, and oxidative stress in men. Asian J Androl [Internet]. 2015 Jul 1 [cited 2025 Feb 16];17(4):668–75. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25652627/
59. Shiraishi K, Takihara H, Matsuyama H. Elevated scrotal temperature, but not varicocele grade, reflects testicular oxidative stress-mediated apoptosis. World J Urol [Internet]. 2010 Jun [cited 2025 Feb 16];28(3):359–64. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19655149/
60. Orhan İ, Orhan İ, Karakeçi A. Varikosel Patofizyolojisi 2023. Androloji Bülteni. 2023;
61. Cho CL, Esteves SC, Agarwal A. Novel insights into the pathophysiology of varicocele and its association with reactive oxygen species and sperm DNA fragmentation. Asian J Androl [Internet]. 2016 Mar 1 [cited 2025 Feb 17];18(2):186–93. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26732105/
62. Burton GJ, Jauniaux E. Oxidative stress. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol [Internet]. 2011 Jun [cited 2025 Feb 17];25(3):287–99. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21130690/
63. Evaluation of oxidative stress in the spermatic and peripheral veins of patients with varicocele | Request PDF [Internet]. [cited 2025 Feb 17]. Available from: https://www.researchgate.net/publication/288078202_Evaluation_of_oxidative_stress_in_the_spermatic_and_peripheral_veins_of_patients_with_varicocele
64. Eisenberg ML, Lipshultz LI. Varicocele-induced infertility: Newer insights into its pathophysiology. Indian J Urol [Internet]. 2011 Jan [cited 2025 Feb 17];27(1):58–64. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21716891/
65. Agarwal A, Sharma RK, Desai NR, Prabakaran S, Tavares A, Sabanegh E. Role of oxidative stress in pathogenesis of varicocele and infertility. Urology [Internet]. 2009 Mar [cited 2025 Feb 17];73(3):461–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19167039/
66. Romeo C, Santoro G. Free Radicals in Adolescent Varicocele Testis. Oxid Med Cell Longev [Internet]. 2014 [cited 2025 Feb 17];2014:912878. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4279722/
67. Iwasaki A, Gagnon C. Formation of reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients. Fertil Steril [Internet]. 1992 [cited 2025 Feb 17];57(2):409–16. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1735495/
68. Tiseo BC, Esteves SC, Cocuzza MS. Summary evidence on the effects of varicocele treatment to improve natural fertility in subfertile men. Asian J Androl [Internet]. 2016 Mar 1 [cited 2025 Feb 17];18(2):239–45. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26806080/

69. Shaha C, Tripathi R, Prasad Mishra D. Male germ cell apoptosis: regulation and biology. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci [Internet]. 2010 May 27 [cited 2025 Feb 17];365(1546):1501–15. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20403866/
70. Ozmen B, Koutlaki N, Youssry M, Diedrich K, Al-Hasani S. DNA damage of human spermatozoa in assisted reproduction: origins, diagnosis, impacts and safety. Reprod Biomed Online [Internet]. 2007 [cited 2025 Feb 17];14(3):384–95. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17359596/
71. Bayard F, Boulard PY, Huc A, Pontonnier F. Arterio-venous transfer of testosterone in the spermatic cord of man. J Clin Endocrinol Metab [Internet]. 1975 [cited 2025 Feb 17];40(2):345–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1117984/
72. Pastuszak AW, Wang R. Varicocele and testicular function. Asian J Androl [Internet]. 2015 Jul 1 [cited 2025 Feb 17];17(4):659–67. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25926610/
73. Paick S, Choi WS. Varicocele and Testicular Pain: A Review. World J Mens Health [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2025 Feb 16];37(1):4–11. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29774668/
74. Sharlip ID, Jarow JP, Belker AM, Lipshultz LI, Sigman M, Thomas AJ, et al. Best practice policies for male infertility. Fertil Steril [Internet]. 2002 [cited 2025 Feb 16];77(5):873–82. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12009338/
75. Methorst C, Akakpo W, Graziana JP, Ferretti L, Yiou R, Morel-Journel N, et al. [Recommendations of the Committee of Andrology and Sexual Medicine of the AFU concerning the management of Varicocele]. Prog Urol [Internet]. 2021 Mar 1 [cited 2025 Feb 22];31(3):119–30. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33308982/
76. Cayan S, Kadioglu TC, Tefekli A, Kadioglu A, Tellaloglu S. Comparison of results and complications of high ligation surgery and microsurgical high inguinal varicocelectomy in the treatment of varicocele. Urology [Internet]. 2000 [cited 2025 Feb 22];55(5):750–4. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10792094/
77. Griswold MD. Spermatogenesis: The Commitment to Meiosis. Physiol Rev [Internet]. 2016 Jan 1 [cited 2025 Feb 22];96(1):1–17. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26537427/
78. Cannarella R, Shah R, Abo-Almagd Abdel-Meguid Hamoda T, Boitrelle F, Saleh R, Gul M, et al. Does Varicocele Repair Improve Conventional Semen Parameters? A Meta-Analytic Study of Before-After Data. World J Mens Health [Internet]. 2024 [cited 2025 Feb 22];42(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37382284/
79. Fretz PC, Sandlow JI. Varicocele: current concepts in pathophysiology, diagnosis, and treatment. Urol Clin North Am [Internet]. 2002 Nov [cited 2025 Feb 22];29(4):921–37. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12516762/
80. Tremellen K. Oxidative stress and male infertility--a clinical perspective. Hum Reprod Update [Internet]. 2008 [cited 2025 Apr 6];14(3):243–58. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18281241/

81. Mancini A, Festa R, Silvestrini A, Nicolotti N, Di Donna V, La Torre G, et al. Hormonal regulation of total antioxidant capacity in seminal plasma. J Androl [Internet]. 2009 Sep [cited 2025 Apr 6];30(5):534–40. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19234315/
82. Aktan G, Doğru-Abbasoğlu S, Küçükgergin C, Kadioğlu A, Özdemirler-Erata G, Koçak-Toker N. Mystery of idiopathic male infertility: is oxidative stress an actual risk? Fertil Steril [Internet]. 2013 Apr [cited 2025 Apr 6];99(5):1211–5. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23254182/
83. Tvrdá E, Kňažická Z, Bárdos L, Massányi P, Lukáč N. Impact of oxidative stress on male fertility - a review. Acta Vet Hung [Internet]. 2011 Dec 1 [cited 2025 Apr 6];59(4):465–84. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22079708/
84. Mottola F, Palmieri I, Carannante M, Barretta A, Roychoudhury S, Rocco L. Oxidative Stress Biomarkers in Male Infertility: Established Methodologies and Future Perspectives. Genes (Basel) [Internet]. 2024 May 1 [cited 2025 Apr 19];15(5). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38790168/
85. Zhang M, Liu C, Cui FP, Chen PP, Deng YL, Luo Q, et al. The role of oxidative stress in association between disinfection by-products exposure and semen quality: A mediation analysis among men from an infertility clinic. Chemosphere [Internet]. 2021 Apr 1 [cited 2025 Apr 19];268. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33189401/
86. Dutta S, Majzoub A, Agarwal A. Oxidative stress and sperm function: A systematic review on evaluation and management. Arab J Urol [Internet]. 2019 Apr 3 [cited 2025 Apr 20];17(2):87–97. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31285919/
87. El-Taieb MA, Ali MA, Nada EA. Oxidative stress and acrosomal morphology: A cause of infertility in patients with normal semen parameters. Middle East Fertil Soc J. 2015 Jun 1;20(2):79–85.
88. Mostafa T, Anis TH, El-Nashar A, Imam H, Othman IA. Varicocelectomy reduces reactive oxygen species levels and increases antioxidant activity of seminal plasma from infertile men with varicocele. Int J Androl [Internet]. 2001 [cited 2025 Apr 20];24(5):261–5. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11554982/
89. Adeoye O, Olawumi J, Opeyemi A, Christiania O. Review on the role of glutathione on oxidative stress and infertility. JBRA Assist Reprod [Internet]. 2018 [cited 2025 Apr 20];22(1):61. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5844662/
90. Adeoye O, Olawumi J, Opeyemi A, Christiania O. Review on the role of glutathione on oxidative stress and infertility. JBRA Assist Reprod [Internet]. 2018 [cited 2025 Apr 20];22(1):61–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29266896/
91. Luberda Z. The role of glutathione in mammalian gametes. 2005;5(1).
92. Lubos E, Loscalzo J, Handy DE. Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. Antioxid Redox Signal [Internet]. 2011 Oct 1 [cited 2025 Apr 20];15(7):1957–97. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21087145/
93. Handy DE, Loscalzo J. The Role of Glutathione Peroxidase-1 in Health and Disease. Free Radic Biol Med [Internet]. 2022 Aug 1 [cited 2025 Apr

21];188:146. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9586416/
94. Garrido N, Meseguer M, Alvarez J, Simón C, Pellicer A, Remohí J. Relationship among standard semen parameters, glutathione peroxidase/glutathione reductase activity, and mRNA expression and reduced glutathione content in ejaculated spermatozoa from fertile and infertile men. Fertil Steril [Internet]. 2004 Oct 1 [cited 2025 Apr 22];82(SUPPL. 3):1059–66. Available from: https://www.fertstert.org/action/showFullText?pii=S0015028204011409
95. Crisol L, Matorras R, Aspichueta F, Expósito A, Hernández ML, Ruiz-Larrea MB, et al. Glutathione peroxidase activity in seminal plasma and its relationship to classical sperm parameters and in vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection outcome. Fertil Steril [Internet]. 2012 Apr 1 [cited 2025 Apr 22];97(4):852-857.e1. Available from: https://www.fertstert.org/action/showFullText?pii=S0015028212001264
96. Wagner H, Cheng JW, Ko EY. Role of reactive oxygen species in male infertility: An updated review of literature. Arab J Urol [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2025 Apr 22];16(1):35–43. Available from: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1016/j.aju.2017.11.001
97. Chen H, Chow PH, Cheng SK, Cheung ALM, Cheng LYL, O WS. Male Genital Tract Antioxidant Enzymes: Their Source, Function in the Female, and Ability to Preserve Sperm DNA Integrity in the Golden Hamster. J Androl [Internet]. 2003 Sep 10 [cited 2025 Apr 22];24(5):704–11. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/j.1939-4640.2003.tb02730.x
98. Yan L, Liu J, Wu S, Zhang S, Ji G, Gu A. Seminal superoxide dismutase activity and its relationship with semen quality and SOD gene polymorphism. J Assist Reprod Genet [Internet]. 2014 [cited 2025 Apr 22];31(5):549–54. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24658925/
99. Park JS, Rustamov N, Roh YS. The Roles of NFR2-Regulated Oxidative Stress and Mitochondrial Quality Control in Chronic Liver Diseases. Antioxidants (Basel) [Internet]. 2023 Nov 1 [cited 2025 Apr 23];12(11). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38001781/
100. Kaleler İ, Yaylim İ. NRF2'nin İkili Doğası: Kanser Gelişiminde Koruyucu ve Teşvik Edici Rolü. Haliç Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi. 2024(1):1–16.
101. Bellezza I, Giambanco I, Minelli A, Donato R. Nrf2-Keap1 signaling in oxidative and reductive stress. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res [Internet]. 2018 May 1 [cited 2025 Apr 23];1865(5):721–33. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29499228/
102. Chen K, Mai Z, Zhou Y, Gao X, Yu B. Low NRF2 mRNA expression in spermatozoa from men with low sperm motility. Tohoku J Exp Med [Internet]. 2012 [cited 2025 Apr 23];228(3):259–66. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23089668/
103. Babu GRS, Anand T, Ilaiyaraja N, Khanum F, Gopalan N. Pelargonidin Modulates Keap1/Nrf2 Pathway Gene Expression and Ameliorates Citrinin-Induced Oxidative Stress in HepG2 Cells. Front Pharmacol [Internet]. 2017 Nov 27 [cited 2025 Apr 23];8(NOV). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29230174/

104. Liang Y, Shi Y, Guo R, Xu C, Fu M, Shen J, et al. Wine- and stir-frying processing of Cuscutae Semen enhance its ability to alleviate oxidative stress and apoptosis via the Keap 1-Nrf2/HO-1 and PI3K/AKT pathways in H2O2-challenged KGN human granulosa cell line. BMC Complement Med Ther [Internet]. 2024 Dec 1 [cited 2025 Apr 23];24(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38750475/
105. Kuribayashi S, Fukuhara S, Kitakaze H, Tsujimura G, Imanaka T, Okada K, et al. KEAP1-NRF2 system regulates age-related spermatogenesis dysfunction. Reprod Med Biol [Internet]. 2024 Jan 1 [cited 2025 Apr 23];23(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38915913/
106. Andersen JM, Herning H, Witczak O, Haugen TB. Anti-Müllerian hormone in seminal plasma and serum: association with sperm count and sperm motility. Hum Reprod [Internet]. 2016 Aug 1 [cited 2025 Mar 21];31(8):1662–7. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27220981/
107. Xu HY, Zhang HX, Xiao Z, Qiao J, Li R. Regulation of anti-Müllerian hormone (AMH) in males and the associations of serum AMH with the disorders of male fertility. Asian J Androl [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2025 Mar 21];21(2):109. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6413543/
108. Kucera R, Ulcova-Gallova Z, Windrichova J, Losan P, Topolcan O. Anti-Müllerian hormone in serum and seminal plasma in comparison with other male fertility parameters. Syst Biol Reprod Med [Internet]. 2016 May 3 [cited 2025 Mar 21];62(3):223–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27110929/
109. Palmer SJ, Burgoyne PS. In situ analysis of fetal, prepuberal and adult XX----XY chimaeric mouse testes: Sertoli cells are predominantly, but not exclusively, XY. Development [Internet]. 1991 [cited 2025 Mar 21];112(1):265–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1769333/
110. Young J, Chanson P, Salenave S, Noël M, Brailly S, O'Flaherty M, et al. Testicular anti-mullerian hormone secretion is stimulated by recombinant human FSH in patients with congenital hypogonadotropic hypogonadism. J Clin Endocrinol Metab [Internet]. 2005 Feb [cited 2025 Mar 21];90(2):724–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15536161/
111. Al-Qahtani A, Muttukrishna S, Appasamy M, Johnst J, Cranfield M, Visser JA, et al. Development of a sensitive enzyme immunoassay for anti-Müllerian hormone and the evaluation of potential clinical applications in males and females. Clin Endocrinol (Oxf) [Internet]. 2005 [cited 2025 Mar 21];63(3):267–73. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16117813/
112. Lee MM, Donahoe PK, Hasegawa T, Silverman B, Crist GB, Best S, et al. Mullerian inhibiting substance in humans: normal levels from infancy to adulthood. J Clin Endocrinol Metab [Internet]. 1996 Feb [cited 2025 Mar 21];81(2):571–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8636269/
113. Rey R, Lordereau-Richard I, Carel JC, Barbet P, Cate RL, Roger M, et al. Anti-müllerian hormone and testosterone serum levels are inversely during normal and precocious pubertal development. J Clin Endocrinol Metab [Internet]. 1993 [cited 2025 Mar 21];77(5):1220–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8077315/

114. Grinspon RP, Bedecarrás P, Ballerini MG, Iñiguez G, Rocha A, Mantovani Rodrigues Resende EA, et al. Early onset of primary hypogonadism revealed by serum anti-Müllerian hormone determination during infancy and childhood in trisomy 21. Int J Androl [Internet]. 2011 Oct [cited 2025 Mar 22];34(5 Pt 2). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21831236/
115. Tran D, Josso N, Meusy-dessolle N. Anti-Müllerian hormone is a functional marker of foetal Sertoli cells. Nature [Internet]. 1977 [cited 2025 Mar 21];269(5627):411–2. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/909589/
116. Mitchell V, Boitrelle F, Pigny P, Robin G, Marchetti C, Marcelli F, et al. Seminal plasma levels of anti-Müllerian hormone and inhibin B are not predictive of testicular sperm retrieval in nonobstructive azoospermia: a study of 139 men. Fertil Steril [Internet]. 2010 Nov [cited 2025 Mar 21];94(6):2147–50. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20172518/
117. Muttukrishna S, Yussoff H, Naidu M, Barua J, Arambage K, Suharjono H, et al. Serum anti-Müllerian hormone and inhibin B in disorders of spermatogenesis. Fertil Steril [Internet]. 2007 Aug [cited 2025 Mar 21];88(2):516–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17462637/
118. Fénichel P, Rey R, Poggioli S, Donzeau M, Chevallier D, Pointis G. Anti-Müllerian hormone as a seminal marker for spermatogenesis in non-obstructive azoospermia. Hum Reprod [Internet]. 1999 [cited 2025 Mar 21];14(8):2020–4. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10438420/
119. Fujisawa M, Yamasaki T, Okada H, Kamidono S. The significance of anti-Müllerian hormone concentration in seminal plasma for spermatogenesis. Hum Reprod [Internet]. 2002 [cited 2025 Mar 21];17(4):968–70. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11925392/
120. Madani AH, Falahatkar S, Heidarzadeh A, Roshan ZA, Sazgari E, Zareian M. Sensitivity and specificity of serum FSH and testis size in predicting the existence of spermatogenesis in azoospermic infertile men. Andrologia [Internet]. 2012 Jun [cited 2025 Mar 22];44(3):205–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21790709/
121. Barranco I, Fernandez-Fuertes B, Padilla L, Delgado-Bermúdez A, Tvarijonaviciute A, Yeste M. Seminal Plasma Anti-Müllerian Hormone: A Potential AI-Boar Fertility Biomarker? Biology (Basel) [Internet]. 2020 Apr 1 [cited 2025 Mar 21];9(4). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32290279/
122. Li H, Dubocq F, Jiang Y, Tiguert R, Gheiler EL, Dhabuwala CB. Effect of surgically induced varicocele on testicular blood flow and Sertoli cell function. Urology [Internet]. 1999 Jun [cited 2025 Mar 23];53(6):1258–62. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10367865/
123. Cameron DF, Snydle FE, Ross MH, Drylie DM. Ultrastructural alterations in the adluminal testicular compartment in men with varicocele. Fertil Steril [Internet]. 1980 [cited 2025 Mar 23];33(5):526–33. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7371882/
124. Meachem SJ, Nieschlag E, Simoni M. Inhibin B in male reproduction: pathophysiology and clinical relevance. Eur J Endocrinol [Internet]. 2001

[cited 2025 Mar 23];145(5):561–71. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11720872/
125. Anderson RA. Clinical studies: inhibin in the adult male. Mol Cell Endocrinol [Internet]. 2001 Jul 30 [cited 2025 Mar 23];180(1–2):109–16. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11451579/
126. Duvilla E, Lejeune H, Trombert-Paviot B, Gentil-Perret A, Tostain J, Levy R. Significance of inhibin B and anti-Müllerian hormone in seminal plasma: a preliminary study. Fertil Steril [Internet]. 2008 Feb [cited 2025 Mar 23];89(2):444–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17681330/
127. Yardımcıları E, Çinar Ö, Duran MB, Kızılkan Y, Şahin B. ERKEK CİNSEL SAĞLIĞI VE FERTİLİTESİ EDİTÖRLER: Ümit GÜL, Tahsin TURUNÇ.
128. Meachem SJ, Nieschlag E, Simoni M. Inhibin B in male reproduction: pathophysiology and clinical relevance. Eur J Endocrinol [Internet]. 2001 [cited 2025 Mar 26];145(5):561–71. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11720872/
129. Kumanov P, Nandipati K, Tomova A, Agarwal A. Inhibin B is a better marker of spermatogenesis than other hormones in the evaluation of male factor infertility. Fertil Steril [Internet]. 2006 Aug 1 [cited 2025 Mar 26];86(2):332–8. Available from: https://www.fertstert.org/action/showFullText?pii=S0015028206006765
130. Anderson RA, Stewart Irvine D, Balfour C, Groome NP, Riley SC. Inhibin B in seminal plasma: testicular origin and relationship to spermatogenesis. Hum Reprod [Internet]. 1998 [cited 2025 Mar 26];13(4):920–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9619549/
131. Nagata Y, Fujita K, Banzai J, Kojima Y, Kasima K, Suzuki M, et al. Seminal plasma inhibin-B level is a useful predictor of the success of conventional testicular sperm extraction in patients with non-obstructive azoospermia. J Obstet Gynaecol Res [Internet]. 2005 Oct [cited 2025 Mar 26];31(5):384–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16176504/
132. Jan R, Chaudhry G e. S. Understanding Apoptosis and Apoptotic Pathways Targeted Cancer Therapeutics. Adv Pharm Bull [Internet]. 2019 [cited 2025 May 6];9(2):205. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6664112/
133. Babaei A, Asadpour R, Mansouri K, Sabrivand A, Kazemi-Darabadi S. Lycopene improves testicular damage and sperm quality in experimentally induced varicocele: Relationship with apoptosis, hypoxia, and hyperthermia. Food Sci Nutr [Internet]. 2022 May 1 [cited 2025 May 6];10(5):1469. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9094497/
134. Chen CH, Lee S Sen, Chen DC, Chien HH, Chen IC, Chu YN, et al. Apoptosis and Kinematics of Ejaculated Spermatozoa in Patients with Varicocele. J Androl [Internet]. 2004 May 6 [cited 2025 May 6];25(3):348–53. Available from: /doi/pdf/10.1002/j.1939-4640.2004.tb02799.x
135. Huang D, Cai J, Zhang C, Jin R, Bai S, Yao F, et al. Semen quality and seminal plasma metabolites in male rabbits (Oryctolagus cuniculus) under heat stress. PeerJ [Internet]. 2023 [cited 2025 May 6];11:e15112. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10103697/
136. Zhang MH, Zhai LP, Fang ZY, Li AN, Qiu Y, Liu YX. Impact of a mild scrotal heating on sperm chromosomal abnormality, acrosin activity and

seminal alpha-glucosidase in human fertile males. Andrologia [Internet]. 2018 May 1 [cited 2025 May 6];50(4). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29468755/
137. Marí M. IGFBP-3: So Much More Than an IGF1/2 Binding Protein. CMGH [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2025 May 10];10(3):643–4. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32634379/
138. Bach LA. 40 YEARS OF IGF1: IGF-binding proteins. J Mol Endocrinol [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2025 May 10];61(1):T11–28. Available from: https://jme.bioscientifica.com/view/journals/jme/61/1/JME-17-0254.xml
139. Keleş M, Gündoğdu M, Erdem F, Türkeli M, Yildiz L, Turhan H, et al. Klinik Araştırma Non-Hodgkin Lenfomalı Hastalarda IGF-1 ve IGFBP-3 Düzeyleri. [cited 2025 May 10]; Available from: www.firattipdergisi.com
140. Giovannucci E. Insulin-like growth factor-I and binding protein-3 and risk of cancer. Horm Res [Internet]. 1999 [cited 2025 May 10];51(SUPPL. 3):34–41. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10592442/
141. Baxter RC. Signaling Pathways of the Insulin-like Growth Factor Binding Proteins. Endocr Rev [Internet]. 2023 Oct 1 [cited 2025 May 11];44(5):753. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10502586/
142. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen Sixth Edition.
143. Cohen J. A power primer. Psychol Bull. 1992;112(1):155–9.
144. Fadhil EB, Mohammed MM, Alkawaz UM. Impact of coenzyme Q10 as an adjuvant therapy to letrozole on spermiogram results and sex hormone levels in Iraqi men with infertility; randomized open label comparative study. F1000Res [Internet]. 2024 [cited 2025 May 19];12. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38957201/
145. Kandevani NY, Namdari F, Hamidi M, Dialameh H, Behzadi A. Developing a novel prediction model for the impact of varicocelectomy on postoperative fertility. Eur J Transl Myol [Internet]. 2022 Jul 8 [cited 2025 May 24];32(2). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35502854/
146. Condorelli RA, Calogero AE, Russo GI, La Vignera S. From spermiogram to bio-functional sperm parameters: When and why request them? J Clin Med [Internet]. 2020 Feb 1 [cited 2025 May 19];9(2). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32028634/
147. Oehninger S, Ombelet W. Limits of current male fertility testing. Fertil Steril [Internet]. 2019 May 1 [cited 2025 May 19];111(5):835–41. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30975387/
148. Punjabi U, Goovaerts I, Peeters K, De Neubourg D. Antioxidants in Male Infertility-If We Want to Get This Right We Need to Take the Bull by the Horns: A Pilot Study. Antioxidants (Basel) [Internet]. 2023 Oct 1 [cited 2025 Oct 2];12(10). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37891884/
149. Altintas R, Ediz C, Celik H, Camtosun A, Tasdemir C, Tanbek K, et al. The effect of varicocoelectomy on the relationship of oxidative stress in peripheral and internal spermatic vein with semen parameters. Andrology [Internet]. 2016 May 1 [cited 2025 Oct 8];4(3):442–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26945912/
150. Gholinezhad M, Aliarab A, Abbaszadeh-Goudarzi G, Yousefnia-Pasha Y, Samadaian N, Rasolpour-Roshan K, et al. Nitric oxide, 8-

hydroxydeoxyguanosine, and total antioxidant capacity in human seminal plasma of infertile men and their relationship with sperm parameters. Clin Exp Reprod Med [Internet]. 2020 [cited 2025 Oct 2];47(1):54–60. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32079054/
151. Moretti E, Cerretani D, Noto D, Signorini C, Iacoponi F, Collodel G. Relationship Between Semen IL-6, IL-33 and Malondialdehyde Generation in Human Seminal Plasma and Spermatozoa. Reprod Sci [Internet]. 2021 Aug 1 [cited 2025 Oct 2];28(8):2136–43. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33620706/
152. Yusuf I, Emokpae MA. Association between a marker of sperm DNA damage and sperm indices in infertile males in Benin City, Nigeria: A cross-sectional study. Int J Reprod Biomed [Internet]. 2021 [cited 2025 Oct 2];19(2):137–46. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33718758/
153. Collodel G, Moretti E, Micheli L, Menchiari A, Moltoni L, Cerretani D. Semen characteristics and malondialdehyde levels in men with different reproductive problems. Andrology [Internet]. 2015 Mar 1 [cited 2025 Oct 3];3(2):280–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25331426/
154. Yan L, Liu J, Wu S, Zhang S, Ji G, Gu A. Seminal superoxide dismutase activity and its relationship with semen quality and SOD gene polymorphism. J Assist Reprod Genet [Internet]. 2014 [cited 2025 Oct 4];31(5):549. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4016371/
155. Rhouma M Ben, Bahri H, Khalifa M Ben, Sakly M, Rhouma K Ben, Benkhalifa M, et al. Oxidative stress and its correlation with sperm parameters in different semen quality groups. Clin Exp Reprod Med [Internet]. 2025 May 20 [cited 2025 Oct 4]; Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/40393654/
156. Baird L, Yamamoto M. The Molecular Mechanisms Regulating the KEAP1-NRF2 Pathway. Mol Cell Biol [Internet]. 2020 Jun 15 [cited 2025 Oct 4];40(13):e00099-20. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC7296212/
157. Darbandi M, Darbandi S, Agarwal A, Baskaran S, Sengupta P, Dutta S, et al. Oxidative stress-induced alterations in seminal plasma antioxidants: Is there any association with keap1 gene methylation in human spermatozoa? Andrologia [Internet]. 2019 Feb 1 [cited 2025 Oct 4];51(1):e13159. Available from: /doi/pdf/10.1111/and.13159
158. Signorini C, Saso L, Ghareghomi S, Telkoparan-Akillilar P, Collodel G, Moretti E. Redox Homeostasis and Nrf2-Regulated Mechanisms Are Relevant to Male Infertility. Antioxidants [Internet]. 2024 Feb 1 [cited 2025 Oct 4];13(2):193. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10886271/
159. Benderradji H, Prasivoravong J, Marcelli F, Leroy C. Role of Anti-Müllerian Hormone in Male Reproduction and Sperm Motility. Semin Reprod Med [Internet]. 2024 Mar 1 [cited 2025 Oct 4];42(1):5–14. Available from: http://www.thieme-connect.com/products/ejournals/html/10.1055/s-0044-1787687
160. Mostafa T, Amer MK, Abdel-Malak G, Nsser TA, Zohdy W, Ashour S, et al. Seminal plasma anti-Müllerian hormone level correlates with semen parameters but does not predict success of testicular sperm extraction (TESE).

Asian J Androl [Internet]. 2007 Mar [cited 2025 Oct 4];9(2):265–70. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17334594/
161. Relationship of Seminal Plasma Anti-Müllerian Hormone Concentration with Sperm Morphology and Sperm DNA Damage. 2022;
162. Holst BS, Panzani D, Camillo F, Svensson A, Rota A. Anti-Müllerian hormone (AMH) concentrations are maximal at puberty in male donkeys and secretion is redirected from the blood stream to seminal plasma. Anim Reprod Sci [Internet]. 2020 Jul 1 [cited 2025 Oct 4];218. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32507264/
163. Tüttelmann F, Dykstra N, Themmen APN, Visser JA, Nieschlag E, Simoni M. Anti-Müllerian hormone in men with normal and reduced sperm concentration and men with maldescended testes. Fertil Steril [Internet]. 2009 May [cited 2025 Oct 9];91(5):1812–9. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18423454/
164. Aksglaede L, Olesen IA, Carlsen E, Petersen JH, Juul A, Jørgensen N. Serum concentration of anti-Müllerian hormone is not associated with semen quality. Andrology [Internet]. 2018 Mar 1 [cited 2025 Oct 9];6(2):286–92. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29266868/
165. Fallat ME, Siow Y, Belker AM, Boyd JK, Yoffe S, MacLaughlin DT. Andrology: The presence of Müllerian inhibiting substance in human seminal plasma. Human Reproduction [Internet]. 1996 Oct 1 [cited 2025 Oct 9];11(10):2165–9. Available from: https://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.humrep.a019070
166. Lee KO, Oh Y, Giudice LC, Cohen P, Peehl DM, Rosenfeld RG. Identification of insulin-like growth factor-binding protein-3 (IGFBP-3) fragments and IGFBP-5 proteolytic activity in human seminal plasma: a comparison of normal and vasectomized patients. J Clin Endocrinol Metab [Internet]. 1994 Nov [cited 2025 Oct 4];79(5):1367–72. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7525634/
167. Massoner P, Haag P, Seifarth C, Jurgeit A, Rogatsch H, Doppler W, et al. Insulin-like growth factor binding protein-3 (IGFBP-3) in the prostate and in prostate cancer: Local production, distribution and secretion pattern indicate a role in stromal-epithelial interaction. Prostate [Internet]. 2008 Aug 1 [cited 2025 Oct 4];68(11):1165–78. Available from: /doi/pdf/10.1002/pros.20785
168. Cohen P, Graves HCB, Peehl DM, Kamarei M, Giudice LC, Rosenfeld RG. Prostate-specific antigen (PSA) is an insulin-like growth factor binding protein-3 protease found in seminal plasma. J Clin Endocrinol Metab [Internet]. 1992 [cited 2025 Oct 4];75(4):1046–53. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1383255/
169. Fu L, Yuen KCJ, Tint AN, Hoffman AR, Bongso AT, Lee KO. Association of decreased sperm motility and increased seminal plasma IGF-I, IGF-II, IGFBP-2, and PSA levels in infertile men. Endocrine [Internet]. 2021 Dec 1 [cited 2025 Oct 4];74(3):698–706. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34273055/
170. Haywood NJ, Slater TA, Matthews CJ, Wheatcroft SB. The insulin like growth factor and binding protein family: Novel therapeutic targets in obesity & diabetes. Mol Metab [Internet]. 2019 Jan 1 [cited 2025 Oct 4];19:86–96. Available from:

https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2212877818308937?utm_source=chatgpt.com
171. Jia Y, Lee KW, Swerdloff R, Hwang D, Cobb LJ, Hikim AS, et al. Interaction of insulin-like growth factor-binding protein-3 and BAX in mitochondria promotes male germ cell apoptosis. Journal of Biological Chemistry [Internet]. 2010 Jan 15 [cited 2025 Oct 4];285(3):1726–32. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19887447/
172. Wang M, Zeng L, Su P, Ma L, Zhang M, Zhang YZ. Autophagy: a multifaceted player in the fate of sperm. Hum Reprod Update [Internet]. 2022 Feb 28 [cited 2025 Oct 4];28(2):200–31. Available from: https://dx.doi.org/10.1093/humupd/dmab043
173. Almeida C, Correia S, Rocha E, Alves A, Ferraz L, Silva J, et al. Caspase signalling pathways in human spermatogenesis. J Assist Reprod Genet [Internet]. 2013 [cited 2025 Oct 4];30(4):487. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3644121/
174. Minutoli L, Arena S, Antonuccio P, Romeo C, Bitto A, Magno C, et al. Role of Inhibitors of Apoptosis Proteins in Testicular Function and Male Fertility: Effects of Polydeoxyribonucleotide Administration in Experimental Varicocele. Biomed Res Int [Internet]. 2015 [cited 2025 Oct 4];2015:248976. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4539425/
175. Babaei A, Asadpour R, Mansouri K, Sabrivand A, Kazemi-Darabadi S. Lycopene improves testicular damage and sperm quality in experimentally induced varicocele: Relationship with apoptosis, hypoxia, and hyperthermia. Food Sci Nutr [Internet]. 2022 May 1 [cited 2025 Oct 4];10(5):1469–80. Available from: /doi/pdf/10.1002/fsn3.2762
176. Wang K, Gao Y, Wang C, Liang M, Liao Y, Hu K. Role of Oxidative Stress in Varicocele. Front Genet [Internet]. 2022 Mar 23 [cited 2025 Oct 5];13:850114. Available from: www.frontiersin.org
177. Sakamoto Y, Ishikawa T, Kondo Y, Yamaguchi K, Fujisawa M. The assessment of oxidative stress in infertile patients with varicocele. BJU Int [Internet]. 2008 Jun [cited 2025 Oct 5];101(12):1547–52. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18294306/
178. Chen SS, Huang WJ, Chang LS, Wei YH. Attenuation of oxidative stress after varicocelectomy in subfertile patients with varicocele. J Urol [Internet]. 2008 [cited 2025 Oct 5];179(2):639–42. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18082213/
179. Abd-Elmoaty MA, Saleh R, Sharma R, Agarwal A. Increased levels of oxidants and reduced antioxidants in semen of infertile men with varicocele. Fertil Steril [Internet]. 2010 Sep 1 [cited 2025 Oct 5];94(4):1531–4. Available from: https://www.fertstert.org/action/showFullText?pii=S0015028209042253
180. Valipour J, Taghizadeh F, Esfahani R, Ramesh M, Rastegar T. Role of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) in female and male fertility. Heliyon [Internet]. 2024 May 15 [cited 2025 Oct 5];10(9). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38720768/
181. Bae WJ, Ha US, Choi JB, Kim KS, Kim SJ, Cho HJ, et al. Protective Effect of Decursin Extracted from Angelica gigas in Male Infertility via Nrf2/HO-1 Signaling Pathway. Oxid Med Cell Longev [Internet]. 2016 [cited 2025 Oct 5];2016. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27034737/

182. Ozden C, Ozdal OL, Bulut S, Guzel O, Koyuncu HH, Memis A. Effect of varicocelectomy on serum inhibin B levels in infertile patients with varicocele. Scand J Urol Nephrol [Internet]. 2008 [cited 2025 Oct 5];42(5):441–3. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18932107/
183. Pierik FH, Abdesselam SA, Vreeburg JTM, Dohle GR, De Jong FH, Weber RFA. Increased serum inhibin B levels after varicocele treatment. Clin Endocrinol (Oxf) [Internet]. 2001 [cited 2025 Oct 5];54(6):775–80. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11422112/
184. Metwally EM, Hussein KM, Hussein MS, Abd El-Khalik HA. Evaluation of Serum Antimullerian Hormone in Varicocele patients before and after Varicocelectomy. Benha Journal of Applied Sciences (BJAS) [Internet]. 2022 [cited 2025 Oct 5];(7):2022. Available from: http://bjas.journals.ekb.eg
185. Matuszczak E, Hermanowicz A, Komarowska M, Debek W. Serum AMH in Physiology and Pathology of Male Gonads. Int J Endocrinol [Internet]. 2013 [cited 2025 Oct 5];2013:128907. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC3824311/
186. Goulis DC, Mintziori G, Koliakos N, Hatzichristou D, Papadimas I, Hatzimouratidis K, et al. Inhibin B and anti-Müllerian hormone in spermatic vein of subfertile men with varicocele. Reprod Sci [Internet]. 2011 Jun [cited 2025 Oct 5];18(6):551–5. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21285453/
187. Jopling H, Yates A, Burgoyne N, Hayden K, Chaloner C, Tetlow L. Paediatric Anti-Müllerian Hormone measurement: Male and female reference intervals established using the automated Beckman Coulter Access AMH assay. Endocrinol Diabetes Metab [Internet]. 2018 Oct [cited 2025 Oct 5];1(4). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30815559/
188. Ning JZ, Rao T, Cheng F, Yu WM, Ruan Y, Yuan R, et al. Effect of varicocelectomy treatment on spermatogenesis and apoptosis via the induction of heat shock protein 70 in varicocele-induced rats. Mol Med Rep [Internet]. 2017 Oct 1 [cited 2025 Oct 5];16(4):5406. Available from: https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5647084/
189. La Vignera S, Condorelli R, Vicari E, D'Agata R, Calogero AE. Effects of varicocelectomy on sperm DNA fragmentation, mitochondrial function, chromatin condensation, and apoptosis. J Androl [Internet]. 2012 May [cited 2025 Oct 5];33(3):389–96. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21636732/
190. Lue YH, Swerdloff R, Liu QH, Mehta H, Hikim AS, Lee KW, et al. Opposing Roles of Insulin-Like Growth Factor Binding Protein 3 and Humanin in the Regulation of Testicular Germ Cell Apoptosis. Endocrinology [Internet]. 2010 Jan 1 [cited 2025 Oct 5];151(1):350–7. Available from: https://dx.doi.org/10.1210/en.2009-0577
191. Rajah R, Valentinis B, Cohen P. Insulin-like growth factor (IGF)-binding protein-3 induces apoptosis and mediates the effects of transforming growth factor-β1 on programmed cell death through a p53- and IGF-independent mechanism. Journal of Biological Chemistry [Internet]. 1997 May 2 [cited 2025 Oct 5];272(18):12181–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9115291/

192. Varma Shrivastav S, Bhardwaj A, Pathak KA, Shrivastav A. Insulin-Like Growth Factor Binding Protein-3 (IGFBP-3): Unraveling the Role in Mediating IGF-Independent Effects Within the Cell. Front Cell Dev Biol [Internet]. 2020 May 5 [cited 2025 Oct 5];8:526100. Available from: www.frontiersin.org
193. Baxter RC. Nuclear actions of insulin-like growth factor binding protein-3. Gene [Internet]. 2015 Sep 10 [cited 2025 Oct 5];569(1):7–13. Available from: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S037811915007362?utm_source=chatgpt.com
194. Kumanov P, Nandipati K, Tomova A, Agarwal A. Inhibin B is a better marker of spermatogenesis than other hormones in the evaluation of male factor infertility. Fertil Steril [Internet]. 2006 Aug [cited 2025 Mar 26];86(2):332–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16764873/

EKLER

Ek 1. Etik Kurul Onayı

T.C.
RECEP TAYYİP ERDOĞAN ÜNİVERSİTESİ
Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı

Sayı : E-40465587-050-1825 21.11.2025
Konu : Etik Kurul

Sayın Dr.Öğr.Üyesi Görkem AKÇA

Üniversitemiz Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kuruluna vermiş olduğunuz dilekçe de "**Varikoselli İnfertil Erkeklerde Seminal Plazma Anti-Müllerian Hormon (AMH), Oksidatif Stres, Testiküler ve Epididimal Biyobelirteçlerin Semen Parametreleri ile İlişkisi ve Varikoselektomi Sonrası Değişimi** "isimli başvurunuza ek olarak ''40 oligoastenoteratozoospermili(OAT)infertil erkek hasta" çalışmaya ek olarak eklemesi 20.11.2025 tarihinde yapmış olduğu toplantıda incelenmiş olup, bilimsel ve etik yönden uygun bulunmuştur.

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Dr. Öğr. Üyesi Mehtap ATAK
Başkan

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.
Belge Doğrulama Kodu : aa8fca9eabd0 Belge Takip Adresi: http://ebys.erdogan.edu.tr/EBYS/eimzadogrulama

Zihni Derin Yerleşkesi 53100 Merkez-RİZE
Telefon No: (0 464) 223 61 26 Faks No: (0 464) 223 53 76
e-Posta: İnternet Adresi: www.erdogan.edu.tr
Kep Adresi:

Bilgi için: Ömer TERBIYIK
Sürekli İşçi (temizlik Personeli)
Telefon No: