

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

VARİKOSELE BAĞLI SEMİNAL OKSİDATİF STRESİN GİDERİLMESİNDE
VARİKOSELEKTOMİ İLE VARİKOSELEKTOMİ + ANTİOKSİDAN GIDA
TAKVİYESİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Uygur BAĞCI

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI
TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Kaan AYDOS

ANKARA
2017

ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TEZ SINAVI TUTANAĞI

I. UZMANLIK ÖĞRENCİSİNİN		
Adı, Soyadı	: Dr. Uygur BAĞCI	Tarih: 17/07/2017
Anabilim/Bilim Dalı	: Üroloji Anabilim Dalı	
Tez Danışmanı	: Prof. Dr. Kaan AYDOS	

II. TEZ İLE İLGİLİ BİLGİLER			
Tezin Başlığı: "Varikosele Bağlı Seminal Oksidatif Stresin Giderilmesinde Varikosektomi ile Varikosektomi + Antioksidan Gıda Takviyesinin Karşılaştırılması."			
Tezin Niteliği:	☑ Ana Dal Uzmanlık Tezi	☐ Yan	
Dal Uzmanlık Tezi			
Kaçıncı tez sınavı olduğu:	☑ 1	☐ 2	☐ 3

III. KARAR	
Yapılan tez sınavı sonucunda yukarıda belirtilen tezin "Tıpta Uzmanlık Tezi" olarak	
☑ Kabulüne	
☐ Reddine	
☐ Düzeltmeler yapıldıktan sonra tekrar değerlendirilmesine	
☑ Oy birliği	☐ Oy çokluğu
ile karar verilmiştir.	

IV. AÇIKLAMALAR
Lütfen, tezin reddi veya düzeltme istenmesi durumunda gerekçeli açıklamalarınızı buraya yazınız

Prof. Dr. Yaşar BEDÜK

Jüri Başkanı

Üroloji Anabilim Dalı

Başkanı

Prof. Dr. Kaan AYDOS

Jüri Üyesi

Üroloji Anabilim Dalı

Öğretim Üyesi

Doç. Dr. Ahmet Hakan HALİLOĞLU

Jüri Üyesi

Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji

Anabilim Dalı

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalında 5 yıl süren uzmanlık eğitimim süresince;

Mesleki deneyim ve tecrübelerini bizlerden esirgemeyen, kendisini örnek almaktan onur duyduğumuz değerli anabilim dalı başkanımız Prof. Dr. Yaşar BEDÜK'e,

Tez konusu seçiminden basım aşamasına kadar her türlü destek ve emeğini eksik etmeyen, kendisinden yeni bilgiler öğrendikçe zevk aldığım tez danışmanım Prof. Dr. Kaan AYDOS'a,

Eğitimim süresince bilgi ve becerilerinden her zaman istifade ettiğim, mesleki kariyerimin oluşmasında katkıları olan Prof. Dr. Sümer BALTACI, Prof. Dr. Önder YAMAN, Prof. Dr. Kadir TÜRKÖLMEZ, Prof. Dr. Tarkan SOYGÜR, Prof. Dr. Çağatay GÖĞÜŞ, Doç. Dr. Berk BURGU, Doç. Dr. Ömer GÜLPINAR, Yrd. Doç. Dr. Eriz ÖZDEN'e,

Asistanlık dönemim süresince akademik, mesleki ve etik açıdan bana çok şey katan, destekleriyle operatör doktor olmam da çok büyük emekleri olan Uzm. Dr. Evren SÜER ve Uzm. Dr. İlker GÖKÇE'ye,

Tezimin genetikle ilgili testlerinin tasarlanması, uygulanması ve sonuçlarının değerlendirilmesinde katkılarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Sena AYDOS ve Uzm. Bio. Furkan BALBAY'a,

Tezimin istatistik kısmında çok değerli katkılarından dolayı Batuhan BAKIRARAR'a

Beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum sevgili asistan arkadaşlarıma,

Uzmanlık eğitimim süresince hastalar için beraber emek verdiğimiz klinik, poliklinik ve ameliyathane hemşire ve sağlık personellerine,

Özgür ve onurlu bir birey olmamı borçlu olduğum, yolundan ayrılmadan ilerleyeceğim ulu önder Mustafa Kemal ATATÜRK'e,

Son olarak var olmamı sağlayan, her daim onlarla beraber kendimi güçlü hissettiğim, her şeyden önce karakterli ve duruşu olan, insanlara ve doğaya saygı duyan bir insan olarak beni yetiştiren aileme,

Sonsuz teşekkür ve şükranlarımı sunarım...

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
KISALTMALAR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
GRAFİKLER DİZİNİ	v
TABLolar DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Spermatogenez	3
2.2. Ejakülatın Yapısına Katılan Bezler	5
2.3. Sperm DNA Hasarı	6
2.4. Reaktif Oksijen Ürünlerinin (ROS) Sperm Oluşumu ve Fonksiyonları Üzerine Etkileri	10
2.5. Antioksidan Sistemler	10
2.6. Sperm DNA Hasarı Değerlendirme Testleri	11
2.7. Varikosel ve Sperm DNA Hasarı İlişkisi	13
2.8. Antioksidan Tedavi	13
2.9. Varikosel	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. İstatistiksel Analiz	26
4. BULGULAR	27
5. TARTIŞMA	41
6. SONUÇ	47
7. ÖZET	48
8. SUMMARY	51
9. KAYNAKLAR	52

KISALTMALAR

ASMR	: Australian Society for Medical Research
AU	: Arbitrary units
DAZ	: Deleted in azoospermia
DFİ	: DNA fragmantasyon indeksi
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FGF	: Fibroblast büyüme faktörü
FSH	: Folikül stimulan hormon
GnRH	: Gonadotropin salıcı hormon
H1	: Histon-1
H2A	: Histon-2A
H2B	: Histon-2B
H4	: Histon-4
hMSP-1	: İnsan sperm membran proteini-1
ICSI	: İntrasitoplazmik sperm injeksiyonu
IGF	: İnsülin benzeri büyüme faktörü
IVF	: In vitro fertilizasyon
LH	: Lüteinizan hormon
MIF	: Mülleryan inhibitör faktör
MR	: Manyetik rezonans
MS	: Milattan sonra
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat hidrojen
P1	: Protamin-1
P2	: Protamin-2
PDA	: Protamine damage assay
ROS	: Reaktif oksijen türleri
SPAM-1	: Sperm adhezyon molekül-1
TGF	: Transforme edici büyüme faktör
TSS	: Total sperm sayısı
USG	: Ultrasonografi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Spermatogenez.....	4
Şekil 2.2. Sperm hücresinin yapısı	5
Şekil 2.3. Testis ve ejakülatın yapısına katılan bezler	6
Şekil 2.4. Sperm DNA hasarı değerlendirme testleri.....	12
Şekil 2.5. Varikoselde dilate ve tortiyöze venler	16
Şekil 2.6. Varikosektomi sonrası nüks oranları ve komplikasyonlar.....	22



GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 4.1. Genel hasta grubunda yaş dağılımı	27
Grafik 4.2. Kontrol ve çalışma gruplarına göre yaş dağılım.....	28
Grafik 4.3. Genel hasta grubunda varikozel derecelerine göre preop ve postop total sperm sayılarının ortalama değeri	30
Grafik 4.4. Genel hasta grubunda varikozel derecelerine göre preop ve postop motil sperm sayısının ortalama değeri	31
Grafik 4.5. Genel hasta grubunda varikozel derecelerine göre preop ve postop ileri hareketli sperm yüzdesi ortalama değeri	32
Grafik 4.6. Genel hasta grubunda varikozel derecelerine göre preop ve postop morfoloji değeri	33
Grafik 4.7. Genel hasta grubunda varikozel derecelerine göre preop ve postop sperm DNA hasarlarının ortalama değeri	34
Grafik 4.8. Kontrol grubunda preop ve postop sperm DNA hasarı	39
Grafik 4.9. Çalışma grubunda preop ve postop sperm DNA hasarı	39

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 4.1. Varikosel derecelerine göre kontrol ve çalışma gruplarının hasta dağılımı	28
Tablo 4.2. Gruplarda varikosel derecesi ve yaş aralıklarına göre hasta dağılımı.....	29
Tablo 4.3. Varikosel derecelerine göre hastaların yaş ortalaması ve ortancası.....	29
Tablo 4.4. Genel hasta grubunda varikosel derecelerine göre preop ve postop total sperm sayılarının ortalama değerleri	29
Tablo 4.5. Genel hasta grubunda varikosel derecelerine göre preop ve postop motil sperm sayısının ortalama değerleri	30
Tablo 4.6. Genel hasta grubunda varikosel derecelerine göre preop ve postop ileri hareketli sperm yüzdesi ortalama değerleri	31
Tablo 4.7. Genel hasta grubunda varikosel derecelerine göre preop ve postop morfoloji değerleri	32
Tablo 4.8. Genel hasta grubunda varikosel derecelerine göre preop ve postop sperm DNA hasarlarının ortalama değerleri	33
Tablo 4.9. Tüm hasta grubunda preop ve postop total sperm sayısı	34
Tablo 4.10. Kontrol ve çalışma gruplarında preop ve postop total sperm sayısı	35
Tablo 4.11. Tüm hasta grubunda preop ve postop motil sperm sayısı	35
Tablo 4.12. Kontrol ve çalışma gruplarında preop ve postop motil sperm sayısı	36
Tablo 4.13. Tüm hasta grubunda preop ve postop ileri hareketli sperm yüzdesi	36
Tablo 4.14. Kontrol ve çalışma gruplarında preop ve postop ileri hareketli sperm yüzdesi	37
Tablo 4.15. Tüm hasta grubunda preop ve postop sperm morfolojisi	37
Tablo 4.16. Tüm hasta grubunda preop ve postop sperm DNA hasarı	38
Tablo 4.17. Kontrol ve çalışma gruplarında preop ve postop sperm DNA hasarı ...	38

1. GİRİŞ

İnfertilite, çiftin hiçbir kontraseptif yöntem kullanmaksızın 1 yıl süre sonunda gestasyonun gerçekleşmemesi durumudur. İnfertilitenin yaklaşık % 50'si erkek kaynaklı gelişmektedir.

Erkek infertilitesine yönelik rutin olarak yapılan semen analizi tetkiklerinin yaklaşık olarak % 15'inde normal semen analizi parametreleriyle infertilite kesin patolojisi ortaya konamamaktadır (1). Sperm sayısı, hareketi, morfolojisi ve pH gibi seminal faktörlerin fertilizasyonu etkilediği gibi sperm DNA bütünlüğünün korunmuş olması da fertilizasyonun gelişiminde son derece önemli parametrelerdir. Bu da son yıllarda infertil hastalarda sperm DNA testinin yaygın kullanılmasına yol açmıştır.

Sperm DNA yapısındaki bozukluklar intrinsek ve ekstrinsek faktörlere bağlı olduğu gibi DNA tamir mekanizmalarındaki yetersizliklere bağlı da gelişebilmektedir.

DNA hasarı gelişen bir sperm hücresinde:

- Tamir ile hasar düzeltilebilir,
- Yetersiz tamir ile defektif spermatogenez tamamlanabilir,
- Spermatogenezde maturasyon arresti gelişebilir,
- Hücre apoptoza gidebilir.

İnfertilite üzerine yapılan bazı çalışmalar, infertil erkeklerdeki sperm kromatin bozukluğu ve DNA fragmentasyonunun fertil hastalara göre daha yüksek oranda olduğuna işaret etmektedir (2-9).

DNA hasarına sahip sperm ile fertilizasyon gelişebilmektedir. Ancak gebelik kaybı oranları, kromozom anomalileri ve malformasyon oranları normale göre daha fazla oranda görülmektedir.

Sperm DNA hasarı terimi ilk olarak 1993 yılında tanımlanmıştır. Sperm DNA hasarı testleri, DNA'nın fragmentasyon ve oksidasyonunu değerlendiren direkt ya da sperm kromatin kompaktlaşmasını değerlendiren indirekt yöntemlerle yapılabilmektedir.

Sperm DNA hasarına yol açan etkenlerden birisi de varikosel hastalığıdır. Varikosel hastalığında artmış reaktif oksijen türlerine bağlı olarak sperm hücrelerinde DNA hasarı gelişmektedir (10). Varikoselektomi tedavisi sonrası sperm DNA hasarında düzelme görülmektedir (11). Öte yandan yapılan çalışmalarla, antioksidan gıda takviyesiyle de sperm DNA hasarında düzelme olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda kullandığımız antioksidan kombinasyon preperatı içerisinde bulunan moleküller birlikte ve ayrı ayrı olmak üzere daha önce birçok çalışmada antioksidan etkileri nedeniyle birbirleriyle etkileşim içinde olmadan kullanılmıştır (12-20).

Çalışmamızda amacımız, varikoselli infertil erkeklerde antioksidan tedavinin sperm DNA hasarını düzeltici etkisini randomize ve kontrollü bir şekilde araştırmak olmuştur. Varikosele bağlı gelişen seminal oksidatif stresin giderilmesinde, yalnızca varikoselektomi ile varikoselektomi + oral antioksidan gıda takviyesinin karşılaştırılarak tedavi modaliteleri arasında anlamlı fark olup olmadığını gösterebilmek amaçlanmıştır. Çalışmamızda antioksidan gıda takviyesinin eklendiği grupta, sperm DNA hasarı oranında daha anlamlı düzelme beklenmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Spermatogenez

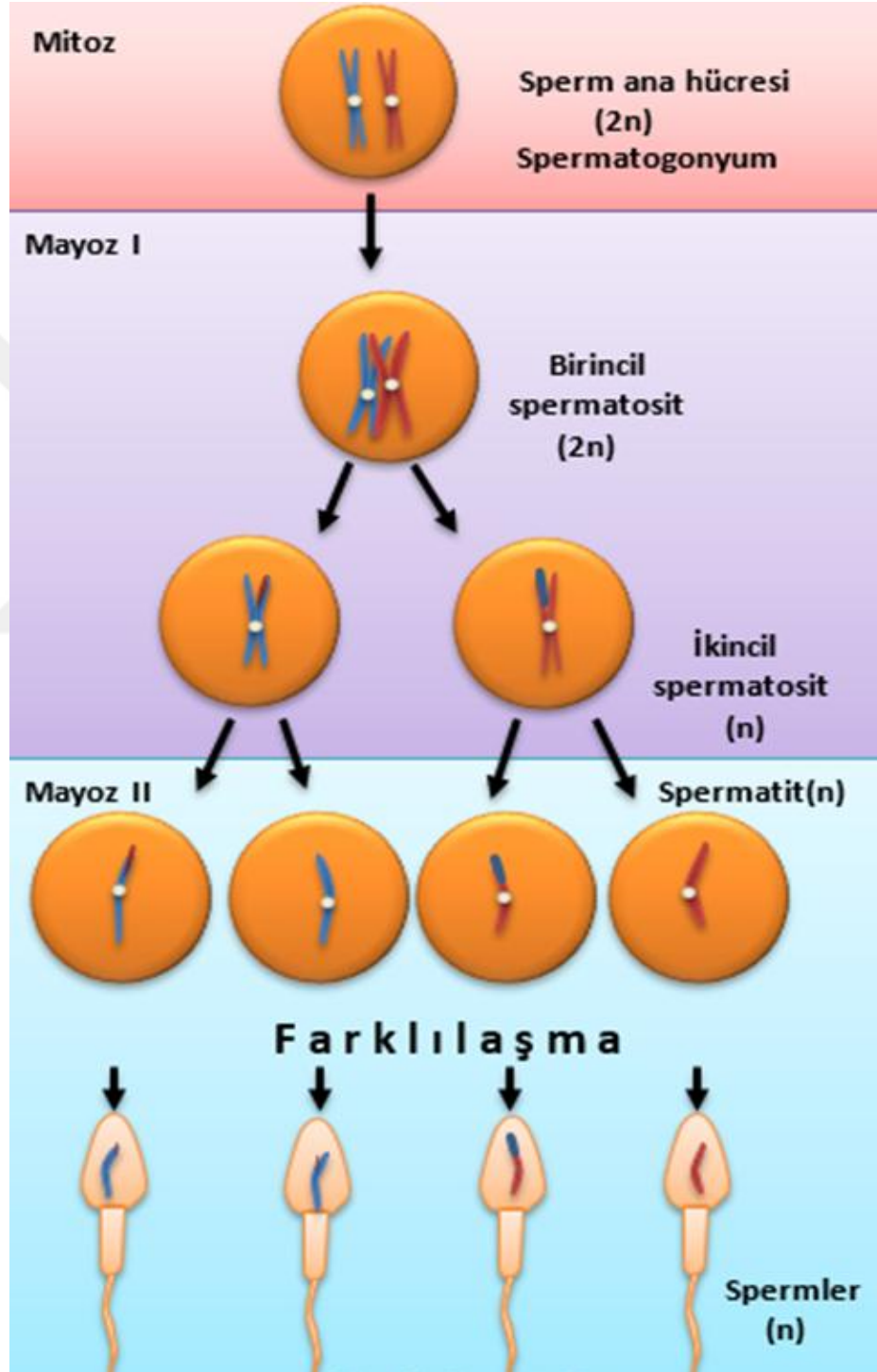
Gonositler, embriyolojik dönemin 3. haftasında intermedier mezoderm hücreleri arasındaki epiblast hücrelerinden köken almaktadır. 6. haftada primordial kök hücreler gonadal kabartıya göç eder ve primitif testiküler kordları oluşturur. Aynı zamanda sölom epitelyum hücrelerinden Sertoli hücreleri, mezenşimal hücrelerden ise Leydig hücreleri gelişir. Gonositler seminifer tübüllere göç ettikten sonra, hipofizden salgılanan gonadotropin hormonların etkisiyle spermatogonyumları oluşturur (21). Bu dönüşüm puberte döneminden hemen önce başlayıp, ömür boyu devam eder (22). Puberteyle birlikte spermatogenezin başlamasıyla spermatogonyum hücreleri mitoz bölünmeyle çoğalarak tip A spermatogonyumları oluşturur. Tip A spermatogonyumlar da mitoz bölünme geçirerek tip B spermatogonyumları oluştururlar. Tip B spermatogonyumlar mitoz bölünmeyle primer spermatositleri (44, XY) meydana getirir. Primer spermatositler birinci mayoz bölünmeye girer ve yaklaşık 22 gün sonra profaz evresine geçer. Profaz evresi tamamlandığında sekonder spermatositler (22,X / 22,Y) oluşmuş olur. Sekonder spermatositler, ikinci mayoz bölünme sonucunda spermatidleri meydana getirir. Spermatidler ilk oluştuklarında epitelyum hücre özelliğini taşır. Tip A spermatogonyumdan spermatid oluşana kadar geçen evreye sitokinez evresi denir. Sitokinez evresi yaklaşık olarak 64 gün sürer (23). Bu süre içinde hormonların (FSH, LH, testosteron ve tiroid hormonları), Y kromozomunun uzun kolu üzerindeki DAZ genlerinin, büyüme faktörleri (FGF, IGF-1) ve proteinlerin (hSMP-1) etkisiyle sperm fertilizasyon yeteneğine kavuşur. Sağlıklı bir erkekte günde 30 milyon sperm hücresi üretilir. Sertoli hücrelerinin görevleri germ hücrelerini koruma, besleme ve desteklemedir (24). Spermatidlerin bir bölünme olmadan farklılaşması ve olgun sperme dönüşmesi sürecine spermiyogenez denir.

Spermiyogenez 3 aşamadan oluşur:

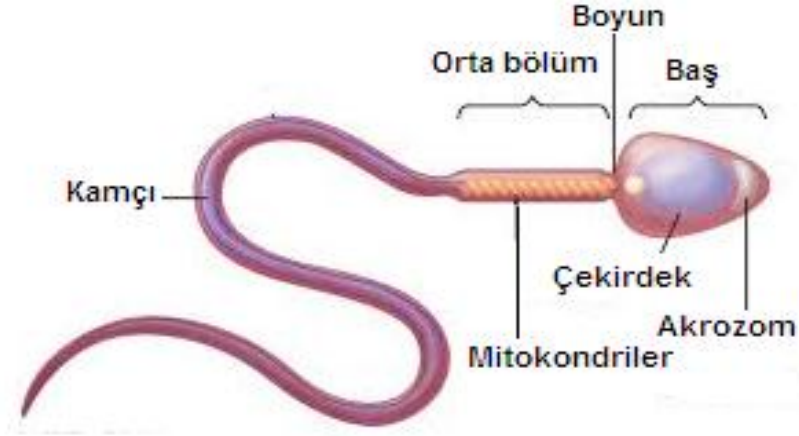
1) Golgi fazı: Golgi aygıtında akromozal granül oluşturulur ve sperm hareketinden sorumlu olan flagellum bu aşamada gelişmeye başlar (25).

2) **Akrozomal faz:** Akrozomal granül yayılarak, nükleusun ön tarafında akrozomu meydana getirir. Mitokondriler flagelumun proksimal kısmında toplanır (25).

3) **Olgunlaşma fazı:** Organeller oluşuktan sonra artık sitoplazma, Sertoli hücreleri tarafından fagosit edilir. Olgunlaşan spermier seminifer tübül lümenine salınır (25).



Şekil 2.1. Spermatogenez (26)



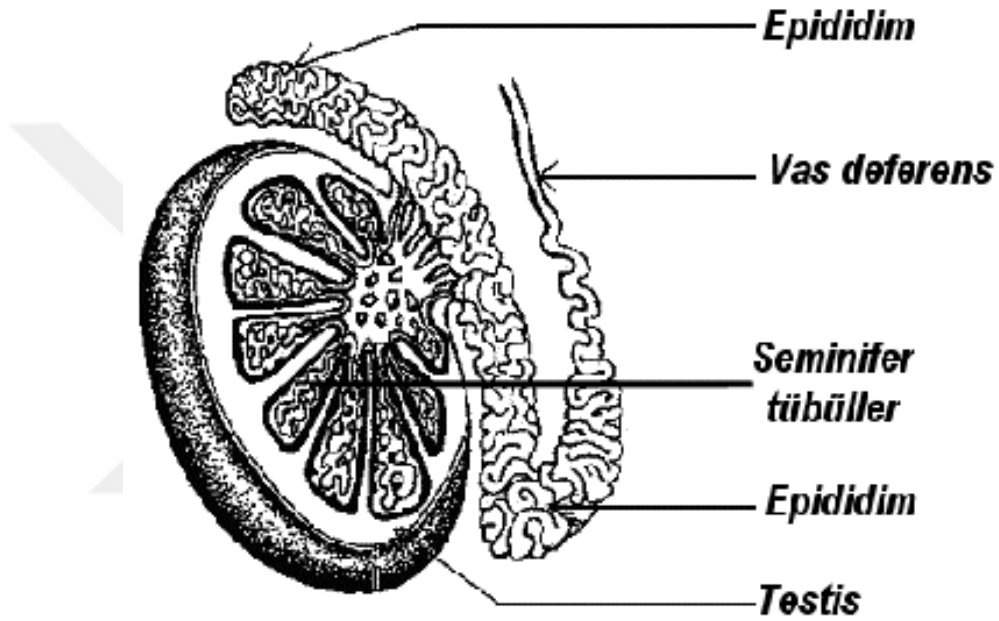
Şekil 2.2. Sperm hücresinin yapısı (27)

2.2.Ejakülatın Yapısına Katılan Bezler

Spermiler, seminifer tübül lümeninde depolanıp, olgun hale geleceği epididime pasif taşıma yoluyla geçer. Epididimde hareket özelliği kazanan ve olgunlaşan spermier vaz deferens aracılığıyla emisyonla prostatik üretraya atılır. Eş zamanlı olarak mesane boynu kasılarak kapanır ve bulbokavernöz kasların kasılmasıyla da ejakülasyonla meadan dışarı atılır.

İnsanda epididim tübül uzunluğu yaklaşık 3-4 metredir. Spermatozoalar epididim epitelinden salgılanan proteinler etkileşerek olgunlaşır ve progresif motilite yeteneği kazanırlar. Epididimden salgılanan MIF proteinleri sperm motilitesinde rol oynarken; SPAM-1 proteinleri hyaluronidaz aktivitesi, zona pellusidaya bağlanma ve akrozomal ekzositoz ile kumulus penetrasyonunda görev almaktadır (28). İnsanlarda epididimal spermierin % 55-65'i epididim kuyruğunda depolanır (29). Spermier, ejakülasyona kadar hareketsiz olarak epididim ve vaz deferensin ampullasında 1-2 gün ila 1 ay arasında depolanırlar. Vaz deferensin esas görevi sperm transportudur. Ayrıca absorbsiyon, sekresyon ve testosterondan dihidrotestosterona dönüştürme fonksiyonları da vardır. Seminal veziküllerden bol miktarda fruktoz, sitrik asit, fibrinojen ve prostolandin içeren mukoid tarzda sıvı salgılanır. Bu sıvı, semendeki spermierin ovumu fertilize etmesine kadarki besin ihtiyacını karşılar. Semen ejakülasyon esnasında, seminal vezikülerden salgılanan semenogelin-1 proteini ile temas edene kadar sıvı haldedir (30,31). Semen kıvamının da seminal vezikül fonksiyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (32). Seminal vezikül sıvısında bulunan prostoglandilerin sperm motilitisiyle ilişkili olduğu düşünülmektedir (33).

Seminal plazmada süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon, askorbik asit, ürik asit ve tiyoller gibi antioksidan moleküller bulunmaktadır (34). Seminal veziküller ayrıca sperm ve embriyoya karşı dişi immün cevabını önleyen molekülleri salgılar (35). Prostat, seminal sıvıyı ve vajinal sıvıları nötralize edici alkali yapıda salgı yapar. Sperm ejakülasyon sonrası hareket etmeye başlarlar. Hareketli sperm hızı 1-4 mm/dakikadır. Özetle semenin % 10 unu sperm ve vaz deferens sıvısından; % 70 i seminal sıvıdan; % 20 si prostatik ve diğer küçük gland sıvılarından oluşmaktadır.



Şekil 2.3. Testis ve ejakülatın yapısına katılan bezler (36)

2.3.Sperm DNA Hasarı

Sperm kromatinleri, somatik hücrelerdeki kromatinlere kıyasla daha kompakt yapıdadır. Spermiyogenez safhasında haploid nükleusta bulunan histonlar (H1, H2A, H2B ve H4), arjinin (% 60), sistein ve lizinden zengin daha dayanıklı yapılarda olan protaminlerle (P1, P2) yer değiştirir. Protamin moleküllerinde bulunan sistein aminoasitleriyle oluşan disülfid bağları, kromatin kondensasyonunu oluşturarak DNA'nın stabilizasyonunu sağlar (37). Sistein oranı P1'de, P2'ye göre daha fazladır. Bu nedenle P1/P2 oranı arttıkça DNA stabilizasyonu da artmaktadır.

Normal testislerdeki germ hücrelerinin % 5'ten daha azında DNA hasarı mevcuttur. Sperm parametrelerinin bozuk olduğu hastalarda yüksek oranda sperm

DNA hasarı saptanırken; normal spermiyogram parametreleri olan hastaların % 8'inde sperm DNA hasarı saptanmıştır (38).

Evenson ve arkadaşlarının 1999 yılında fertil olarak kabul ettikleri 165 çifti prospektif olarak değerlendirdiği çalışmada gebe kalma potansiyelini belirleyen en iyi belirleyicinin DNA fragmentasyonu olduğu belirtilmiştir (39). DNA fragmentasyonunda eşik değer % 30 olarak kabul edildiğinde, bu değer in vivo fertilizasyon oranlarında ciddi düşüşle ilişkili olduğu gösterilmiştir (40). DFI'nin % 30'un üzerinde olmasının, % 15 sensitivitesi ve % 96 spesifitesi vardır.

Giwerzman ve arkadaşları, 137 fertil erkek hasta ile 127 subfertil erkek hastayı SCSA testini kullanarak DFI açısından karşılaştırmış ve semen parametreleri normal olsa bile DFI'nin % 20'nin üzerinde olduğu durumlarda fertilite potansiyelinin düştüğünü bildirmiştir (41). Başka bir çalışmada ise, semen parametreleri normal ve anormal olan infertil erkeklerin DFI değerleri arasında fark olmadığı saptanmıştır (42).

Sperm DNA hasarı varlığında tüp bebek başarısızlığı ve tekrarlayan gebelik kaybı da sık görülmektedir. Oosit erken embriyolojik dönemde sperm DNA fragmentasyonunu onarabilirken hasar oranı % 30'un üzerinde olduğunda ise onarımda yetersiz kalmaktadır. Bununla birlikte DNA fragmentasyon bozukluğu olan spermle oluşan embriyolar, gebelik dönemini sorunsuz atlatmış olsa bile, teorik olarak çocukluk çağı kanserleri gelişimi açısından daha yüksek risk taşımaktadır.

Sperm DNA hasarı etyolojisi:

İntrensek nedenler

- 1) Protamin eksikliği
- 2) Oksidatif stres - antioksidan sistem dengesinin bozulması
- 3) DNA tamir enzim defektleri
- 4) Yaşlanma

Ekstrensek nedenler

- 1) Gonadotoksik ilaçlar
- 2) Testiküler radyoterapi
- 3) Sigara kullanımı

- 4) Testiküler hipertermi (inmemiş testis)
- 5) Varikosel
- 6) Çevresel faktörler
- 7) Hormonal faktörler

Spermatozoalarda görülen DNA hasarı oluşum mekanizmaları:

1-Sperm kromatin paketlenmesinde ortaya çıkan hasar

Yapılan çalışmalarda histon/protamin oranının infertil erkeklerde fertil erkeklere göre daha yüksek olduğu gösterilmiş ve artan histon oranının kromatin kondensasyonunu engellemesine bağlı olarak sperm DNA'sının hasara karşı daha savunmasız olabileceği düşünülmüştür (43-45).

DNA zincir kırığı bulunan spermatozoa oranı arttıkça, erkeklerde infertilite oranı da artmaktadır (46). DNA kırıklarının seviyeleri infertil erkeklerde fertillere göre daha yüksektir (47).

2-Başarısız apoptozis

Germ hücreleri olması gerektiği şekilde gelişimini tamamlayamazsa fizyolojik olarak apoptozis mekanizması ile yok edilirler. Apoptozis Sertoli hücreleri ve germ hücrelerinin dengesini belirlemede önemlidir. Radyasyon, toksik maddeler, TGF, GnRH antagonistleri, ısı ve stres apoptozisi hızlandırırken; seminifer tübüllerle östrojen etkileşimi ve kök hücre faktörü apoptozisi engellemektedir (43,48).

3-Oksidatif stres

Serbest oksijen radikalleri, son yörüngesinde eşleşmemiş bir elektronu bulunan oksijen atomlarına sahip son derece yüksek enerjili ve kararsız moleküldür. Bu yüksek enerjili ve son derece kararsız moleküller çevrelerindeki moleküllerle reaksiyona girerek elektron almaya çalışarak kararlı olmak isterler. Organizma içerisinde de elektron çiftleşmesi amacıyla protein, lipid veya nükleik asit gibi biyomoleküllerin yapısına girerek elektron çalıp ve moleküllerin bütünlük yapısını bozmaktadırlar. Lipidler oksidatif strese en hassas biyomoleküllerdir. Poliansatüre yağ asitlerindeki konjuge çift bağlardan, bir elektron içeren hidrojen atomlarının

alınmasıyla lipid peroksidasyonu başlamaktadır. Doymamış bağlar ve sülfür içeren triptofan, tirozin, fenil alanin, histidin, metiyonin ve sistein gibi aminoasitlerden oluşan proteinler oksidatif strese daha açıktır. Oksidatif stres, proteinlerin tersiyer yapılarını bozarak fonksiyonlarını yerine getirmelerini engeller. Reaktif oksijen ürünleri, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyonlara veya ölüme yol açmaktadır. Hidroksil iyonu DNA molekülündeki bazlar ve deoksiriboz ile kolayca reaksiyona girerek DNA zincir kırıklarına yol açmaktadır. Hidrojen peroksit molekülü hücre membranından kolayca geçerek çekirdeğin içine girip DNA hasarına neden olmaktadır. Süperoksit molekülü DNA'yı etkilediğinde, DNA'ya immün sistem için antijenik özellik kazandırmakta ve DNA'ya karşı anti-DNA antikorlarının gelişimine neden olmaktadır (43).

Sperm-oosit füzyonunu gerçekleştirebilmesi için sperm hücre membranı çoklu doymamış yağ asitlerinden daha zengindir. Bu nedenle sperm membranı ROS'un indüklediği hasarlara çok duyarlıdır (49). İnsan vücudunda serbest radikallerin oluşum hızı ve bunları nötralize eden antioksidan moleküllerin üretim hızları arasında bir denge olmalıdır. Bu denge bozulduğunda oksidatif hasar gelişmeye başlar. Oksidatif hasara bağlı olarak sperm membran fonksiyon bozukluğu ve sperm morfoloji bozukluğu gelişmektedir (50). Fertilite açısından hasarın en kritik olduğu nokta DNA hasarı gelişimidir (51). ROS'a bağlı DNA'da abazik bölgelerin oluşumu, baz katılımı veya bazlarda yeniden düzenlemeler gibi baz değişiklikleri, tek ve çift zincir kırıkları, DNA-proteinler arasında çapraz bağ oluşumları ve DNA fragmentasyonlarında artış gelişmektedir (52). ROS'un DNA'da yirmiden fazla baz hasarına yol açtığı bildirilmiştir. Oksidatif hasara en duyarlı olan baz guanindir (53). ROS ayrıca mitokondriyal DNA'yı nükleer DNA'ya göre daha fazla oranda etkilemektedir (54). DNA fragmentasyonları bulunan spermelerde fertilizasyon yeteneği azalmıştır. Yapılan çalışmalarda testiküler spermatozoalarda, epididim proksimalinden elde edilenlere göre DNA hasar oranı anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur. Bu farkın nedeninin genital yolda spermatozoalara etki eden ROS varlığı olabileceği düşünülmektedir (55). Seminal plazmada süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz/redüktaz ve katalaz gibi antioksidan enzimler bulunmaktadır. Sperm hücrelerinde ROS'a karşı antioksidan sistemlerin varlığı ROS'un olumsuz etkilerine karşı dengeyi korumaktadır (56,57).

2.4. Reaktif Oksijen Ürünlerini (ROS) Sperm Oluşumu ve Fonksiyonları Üzerine Etkileri

Demir ve bakır gibi metal iyonları içeren enzimlerin, oksijene tek elektron transferi sonucu oksidasyon reaksiyonları meydana gelmektedirler (58). ROS, normal oksijen metabolizması sırasında az miktarda oluşmaktadır. Semende ROS üretimi lökosit ve spermatozoalarda gerçekleşmektedir (59). Semendeki lökositlerin kaynağı epididim ve prostattır (60). Lökositler, spermatozoaya göre 100 kat daha fazla ROS üretebilir (61). Lökospermi olan semende serbest oksijen radikali üretim daha fazladır ve buna bağlı DNA hasarı da anlamlı derecede daha yüksektir (62). Az miktarda üretilen süperoksit ve hidrojen peroksit normal fertilizasyon, kapasitasyon, hiperaktivasyon, motilite ve akrozoman reaksiyonlar için gereklidir (63). Matürasyonu tamamlanmamış epididimdeki spermatositlerde daha fazla ROS üretilmektedir ve matürasyonu bozulan spermatositlerde sitoplazma artığı atılamadığından normalden daha fazla ROS bulunmaktadır (64).

2.5. Antioksidan Sistemler

Organizmada reaktif oksijen radikallerinin zararlı etkilerini ortadan kaldırmak adına çeşitli savunma sistemleri bulunmaktadır. Bu sistemlere antioksidan sistem denilmektedir. Antioksidan sistemler yeterli çalışmadığında denge bozulacağından birçok patolojik durum ortaya çıkmaktadır. Antioksidan moleküller lipidler, proteinler, nükleik asitler ve karbonhidratlar gibi hedef moleküllerdeki hasarı engelleyen veya geciktiren moleküller olarak tanımlanmakta olup etkilerini çeşitli şekillerde göstermektedirler (65).

Yapılarına göre antioksidan sistemler:

1-Enzimatik yapıdakiler: Sitokrom oksidaz, süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon redüktaz, glutatyon S- transferaz.

2-Non-enzimatik (küçük moleküller) yapıdakiler: Redükte glutatyon, tiyoller, vitamin C, vitamin E, beta-karoten, ürik asit, glukoz, sistein, bilüribin, ubikinol, flavanoidler, ferritin, transferin, hapogloblin, seruloplazmin, albümin, mannitol.

- 3-**Radikal kaynağı enzim inhibitörleri:** Sistein, histidin safra asitleri, sitokinler, ksantin oksidaz, NADPH oksidaz.
- 4-**Glutasyon-oksidad aktivitesini artıran veya benzer etki gösterenler:** Asetil sistein, Ebselen.
- 5-**Serbest radikal toplayıcılar:** Dimetil sülfoksit (DMSO), mannitol.
- 6-**Demir tutucular:** Desferroksamin, transferrin, laktoferrin.
- 7-**Besinlere eklenen koruyucular:** Butil hidroksianisol (BHA), butil hidroksitoluen (BHT), sodyum benzoat, propil galat (66).

Antioksidanların etki mekanizmaları:

- 1-Reaktif oksijen türlerinin enzimatik reaksiyonlar aracılığıyla veya doğrudan temizlenmesi,
- 2-Reaktif oksijen türlerinin oluşumunun baskılama yolu ile engellenmesi,
- 3-Metal iyonlarının bağlanması ve böylece serbest radikal oluşum reaksiyonlarının engellenmesi,
- 4-Hedef moleküllerin hasar sonrası tamiri veya temizlenmesi (67).

2.6.Sperm DNA Hasarı Değerlendirme Testleri

Sperm DNA hasarı testi ile sperm DNA sınır bütünlüğü (fragmentasyon olup olmaması) değerlendirilir. Sperm DNA hasarı direk (fragmentasyon, oksidasyon) veya indirek (sperm kromatin kompaksiyonu) olarak ölçülebilir. Günümüzde sperm DNA hasarını tespiti yönelik birçok test mevcuttur:

- 1) **SCSA (sperm kromatin yapı) testi:** Sperm DNA'sının asit veya ısı denatürasyonuna yatkınlığı değerlendiren bir testtir. SCSA yöntemiyle ölçülen parametre DNA fragmentasyon indeksidir (DFİ).
- 2) **SCD (sperm kromatin kompozisyonu) testi:** Kromatinlerden ayrıştırılan DNA'nın sperm nükleusu kalıntısının etrafında toplanıp sarmal bir yapı alması temeline dayanan bir testtir.
- 3) **Anilin blue testi:** Anilin blue asidik boyasının, deforme olmuş kromatinden kaynaklanan histon ve nükleoproteindeki lizin rezidülerine bağlanması prensibine dayanan bir testtir.

- 4) **Toluidin blue testi:** Toluidin blue bazik boyasının, zayıf paketlenmiş kromatinde ve kırık DNA uçlarında sperm DNA'sının fosfat kalıntılarına bağlanması yöntemine dayalı bir testtir.
- 5) **TUNEL (terminal deoksinükleotidil transferaz aracılı dUDP uç etiketleme) testi:** Terminal deoksinükleotidil transferaz enzimi ile bir reaksiyon kullanılarak çift zincirli DNA kırıklarındaki d-UTP bölgeleri üzerinden DNA hasarını gösteren bir testtir. Tek veya çift iplikçikli DNA kırıklarını gösterir.
- 6) **COMET testi (tek hücre jel elektroforezi):** Sperm, agaroz jel tabakaları arasında lizis ve elektroforeze tabi tutulur. Fragmente DNA'nın hasarlı sperm kromatininden elektroforez sırasında uzaklaşması sonucu kuyruklu yıldız görüntüsü oluştuğu için bu teste "COMET" (kuyruklu yıldız) testi adı verilir. Kuyruklu yıldızın kuyruğunun uzunluğu ve boyanma dansitesi göç eden DNA miktarına göre değişir ki bu da DNA fragmentasyonunun derecesini gösterir. COMET testi çift zincirli DNA kırıklarını gösterir.

	Prensip	Yöntem	Avantaj	Dezavantaj
SCSA	DNA denatürasyonuna duyarlılık	Akım sitometrisi	Standardize olması Duyarlılığı yüksek Klinik olarak önemli	Özel ekipman gerektirir
AOT	DNA denatürasyonuna duyarlılık	Floresan Mikroskopisi	Basit ve ucuz	Kişiler arası değerlendirme farkı ve diğer testlerle korele değil
TUNEL	Tek ve çift zincir kırıkları	Akım sitometrisi Floresan mikroskopisi	Duyarlılığı yüksek Klinik olarak önemli	Özel ekipman gerektirir Laboratuvarlar arası değerlendirme farklılıkları
COMET	Tek ve çift zincir kırıkları	Tek hücre elektroforezi Floresan mikroskopisi	Duyarlılığı yüksek Kantitatif bir test	Zaman alıcı Standardize olmamış
Anilin Mavi Boyaması	Lizin rezidülerini ve artık histonları boyar	Parlak alan mikroskopisi	Basit ve ucuz	Laboratuvarlar arası değerlendirme farklılıkları Heterojen boyanma
Toluidin Mavi Boyaması	Fosfat rezidülerini boyar	Parlak alan mikroskopisi	Basit ve ucuz	Laboratuvarlar arası değerlendirme farklılıkları Heterojen boyanma

J Turk Soc Obstet Gynecol 2014;11:52-8

Şekil 2.4. Sperm DNA hasarı değerlendirme testleri (68)

Sperm DNA Hasarı (Fragmentasyon) Testi Kimlere Yapılmalıdır?

- Nedeni bilinmeyen infertilitede
- Tekrarlayan abortus varlığında
- Tekrarlayan IVF/ICSI başarısızlığında
- Yardımcı üreme yöntemiyle anormal embriyo gelişiminde

2.7.Varikosel ve Sperm DNA Hasarı İlişkisi

Varikosele bağlı infertil hastaların semeninde, seminal ROS düzeyleri yüksek saptanmıştır. Varikosel derecesi arttıkça DNA hasarı oranı da korele artmaktadır (69). Varikoselli hastaların seminal sıvılarında oksidatif stres göstergesi olan malondialdehit ve antioksidan enzim olan süperoksit dismutaz seviyesinde artış olduğu gösterilmiştir. Antioksidan enzim aktivitesindeki artışın, ROS'un olumsuz etkilerini nötralize etmeye yönelik bir yanıt olduğu düşünülmektedir (70). Varikoselektomi sonrası, seminal oksidatif stres azalmakta, seminal antioksidan sistem güçlenmekte ve sperm kalitesi yükselmektedir (71,72). Bir meta-analizde, varikoselektomi sonrasında semen oksidatif stresinde azalma olduğu ve buna bağlı olarak spontan gebelik artışı olduğu rapor edilmiştir (73).

2.8.Antioksidan Tedavi

Semende ROS-antioksidan dengesinin bozulmasına yol açan, ROS'un artması veya antioksidan sistemin yetersiz kalması durumlarında oksidatif stres ve hasar gelişir. Bu duruma yol açan patoloji tedavi edildiğinde oksidatif stres ve hasarın gerilemesi beklenmektedir. Primer tedaviye ek olarak veya primer patolojinin tespit edilemediği durumlarda antioksidan takviyesi oksidatif stres ve sperm DNA hasarının gerilemesine katkı sağlayabilmektedir. Literatürde antioksidan moleküllerin sperm DNA fragmentasyonu ve membran lipid peroksidasyonu üzerine etkisini araştıran birçok çalışma mevcuttur.

Çinko: Süperoksit dizmutazla DNA hasarının onarılmasında, transkripsiyon ve translasyonda rol oynayan bir metalloproteindir. Günlük 400 mg çinko takviyesiyle sperm parametrelerinde düzelme olduğu gösterilmiştir (74,75).

Selenyum: Glutasyon redüktazı redükte edip antioksidan kapasiteyi artıran eser elementtir. Günlük 100 mcg takviyesiyle sperm motilitesinde artışa yol açtığı bildirilmiştir (76).

Arginin: Vücutta glutamin, glutamat ve prolinden sentezenebilen yarı-esansiyel bir aminoasittir. Günlük 1-15 gr kullanımıyla sperm sayısı > 10 miyom/ml olan subfertil erkeklerin sperm parametreleri üzerinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (77,78).

Koenzim Q10 (ubiquinone): Mitokondri iç membranında, flavoproteinler ile sitokrom arasında bağ kurarak, oksidatif fosforilizasyonda rol alır. Ubiquinone takviyesiyle plazma ubiquinol seviyesi artar bu da membranda lipid peroksidasyonuna direnç gelişimini sağlar. 6 ay süreyle 300 mg/gün kullanımıyla sperm sayısı ve özellikle ileriye motilitede artışa yol açtığı bildirilmiştir (79).

L-karnitin: Epididimde yüksek oranda bulunan L-karnitin uzun zincirli yağ asitlerini (açıl-CoA) sitozolden mitokondriye taşıyarak, enerji metabolizmasında rol alır. L-asetil-karnitin formu ise sperm motilitesinin başlamasında rol alır. Karnitin ve asetil formlarının tek başına ya da kombine olarak günlük 1-2 gram kullanımıyla, antioksidan özelliğine bağlı olarak sperm konsantrasyonu ve hareketliliğinde anlamlı derecede artış sağlandığı bildirilmiştir (80,81).

Glutasyon: Sperm membranında lipid peroksidasyonunu önler. Günlük 600 mcg kullanımı ile sperm motilite ve morfolojisinde düzelme sağladığı bildirilmiştir (82).

Vitamin E: Lipid peroksidasyonunun tekrarlayan zincir reaksiyonunu durdurarak antioksidan etki gösterir. İnfertil erkeklerde önerilen doz 15 mg/gün dür (83).

Vitamin C: Kollajen sentezi ve hormon üretiminde rol oynayan antioksidan etkili suda çözünen bir vitamindir. Günlük 90 mg kullanımı önerilmektedir. E vitaminiyle birlikte 2 ay kullanımı ile sperm DNA hasarında azalma bildirilmiştir (84). Vitamin C'nin, antioksidanların kombine olarak kullanıldığı randomize çalışmalarda üremeye yardımcı tedavi yöntemleri ile gebelik oranlarındaki başarı artışının sperm parametrelerindeki iyileşme ile ilişkisi zayıf olmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (85).

Folik asit: DNA sentez ve tamirinde önemli rol oynayan antioksidan özellikte bir moleküldür. Takviyesiyle semen hacmi ve viskozitesini arttırdığı gösterilmiştir (86).

2.9.Varikosel

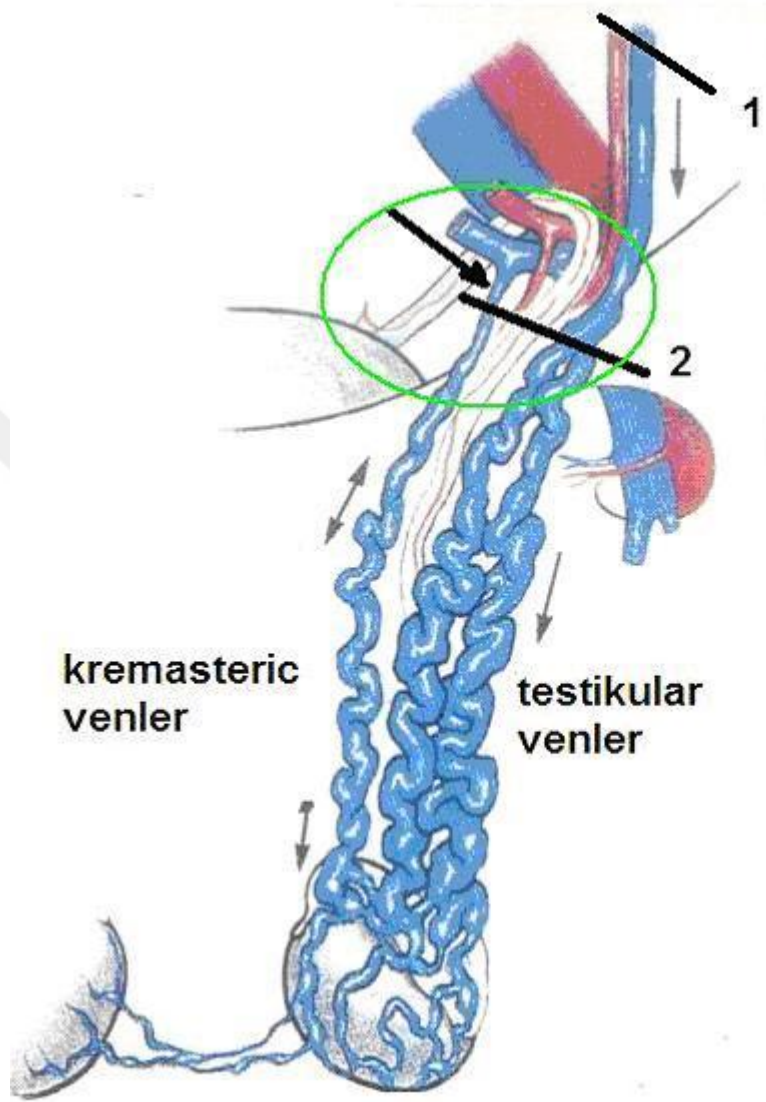
Varikosel, testislerdeki plexus pampiniformis içindeki spermatik venlerin patolojik şekilde dilate ve tortiyöze olmasıdır. Varikosel hastalığını tarihte ilk olarak Romalı Celcus MS 1. yüzyılda tanımlamıştır. 1483 yılında Osmanlı İmparatorluğunda Şerefeddin Sabuncuoğlu üzüm salkımı anlamına gelen “devali” olarak tanımlamıştır. Tarihte bilinen ilk varikoselektomi ameliyatını günümüzden yaklaşık 200 yıl önce Delpech yapmıştır (87,88). Erkek infertilitesinde en sık rastlanılan ve düzeltilebilen patolojidir. Varikosel, genel popülasyonda % 10-15 oranında, primer infertil olgularda % 19-41 ve sekonder infertil olgular % 53-80 oranlarında görülmektedir (89). Sol testiste daha sık görülür. Bilateral görülme oranı % 10’dur (90). Sol tarafta izole görülme oranı yaklaşık % 90’dır. Sağ tarafta izole görülme oranı % 2’den azdır ve genellikle vena kava inferior ya da spermatik vende kompresyona ya da obstrüksiyona (tromboz) sekonder olarak gelişmektedir. Bir diğer neden ise situs inversustur. Varikoselin bilateral görülme oranı sağlıklı genç erkeklerde % 0-1 arasında değişirken, infertil erkeklerde bu oran % 20’yi geçmektedir (91).

Etyoloji

Varikoselin solda daha sık görülme nedenleri:

- ☐ Sağ internal spermatik venin vena kava inferiora oblik olarak (dar açıyla) drene olurken sol internal spermatik venin sol renal vene 90 derece açıyla girmesi ve buna bağlı gelişen türbülant akım oluşması (93),
- ☐ Sol internal spermatik ven sağ internal spermatik vene göre yaklaşık 10 cm kadar daha uzun olması nedeniyle ayakta iken sol tarafta hidrostatik basıncın yaklaşık 8-10 cmH₂O daha yüksek olması (94),
- ☐ Nutcracker fenomeni (sol testiküler venin superior mezenterik arter ve aorta arası pasajı) (96),

- Sol vena spermatica interna valvlerinin, sağ vena spermatica interna valvlerine göre konjenital olarak daha zayıf olması (97).



Şekil 2.5. Varikoselde dilate ve tortiyöz venler (92)

Patogenez

Varikoselde venöz staza bağlı intraskrotal sıcaklıkta 0,6-0,8 °C artış gerçekleşir. Bu ısı artışı da 17-alfa-hidroksiprogesteron aldolaz enziminin çalışmasını bozarak Leydig hücrelerinden testosteron üretiminin bozulmasına, fosforilaz aktivitesini artırarak germinal hücre membranının hasarlanmasına, protein metabolizmasının ve Sertoli hücre fonksiyonlarının bozulmasına yol açar (98-100).

Buna bağılı olarak varikoselli hastalarda total testosteron seviyesinin düştüğü rapor edilmiştir (101,102). Yapılan çalışmalarda, spermatogenezin sürdürölmesi için gerekli olan intratestiküler testosteron düzeyinde belirgin azalma olduğı bildirilmiştir (103). Yine varikoselli hastalarda Sertoli hücre disfonksiyonuna bağılı inhibin B düzeylerinde azalma ve FSH düzeylerinde artış olduğı rapor edilmiştir (104,105). Varikosel onarımının Sertoli ve Leydig hücre fonksiyonunu artırması ve serum serbest testosteron düzeyinde anlamlı artış sağlamasıyla, sperm sayı ve motilitesindeki iyileşme arasında paralellik bulunduğı bildirilmektedir (106).

Venöz dolaşımın bozulması hipoksiye ve gonadotropinlerin yeterince temizlenememesine yol açar. Hipoksiye bağılı mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyon bozulur ve buna bağılı olarak da serbest oksijen radikallerinde artış görülür. Yüksek serbest oksijen radikal düzeyleri kromozomal kırıklara ve DNA fragmentasyonunda artışa; bunlara da bağılı olarak akrozom bütönlüğünde bozulmalara neden olur ve infertilite gelişir. Varikoselde ek olarak sperm DNA hasarlarının onarılmasında görev yapan DNA polimeraz aktivitesinde de azalma görölmektedir (107,108). Varikoseli olmayan gruba göre tek taraflı varikoseli olan infertil hastaların her iki testislerinde DNA polimerazların aktivitesinde % 50 oranında azalma olduğı ileri sürölmektedir (109). Venöz basınç artışıyla oluşan kronik prekapiller vazokonstrüksiyon, testisin dolaşımını bozarak spermatogenezini olumsuz yönde etkilemektedir (110).

Sol varikoseli olan hastaların % 50'sinde görölen sol renal venden, renal ve sürrenal metabolitlerin (adrenomedullin, kortizol, katekolamin, prostoglandin) sol spermatik vene reflüsü, DNA fragmentasyonlarında artışa ve akrozomal bütönlüğün bozulmasına yol açmaktadır (111).

Varikosele bağılı olarak sperm ve zona pellucida arasında gelişen akrozom reaksiyonunda bozulmalar görölmektedir (112).

Son dönem yapılan çalışmalarda varikoseli olan infertil erkeklerin % 91'inde antisperm antikor düzeylerinin yüksek oranda saptanması, varikoselin antisperm antikor düzeylerini arttırdığı tezini desteklemektedir (113-115).

Epididimal ısı artışına bağılı tüböl çapı küçölmekte ve sperm depolama, transportu ve matürasyonu olumsuz yönde etkilenmektedir (116,117).

Varikoselde androjen eksikliği, intratestiküler ısı artışı ve toksik uyarılar apoptoziste artışa yol açmaktadır. Yapılan bir hayvan çalışmasında kontrol grubunda ortalama apoptik indeks 0,206 iken; deneysel olarak varikozel oluşturulan grupta 0,693 olarak saptanmış ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (118).

Varikozele bağlı DNA hasarı iki temel mekanizma ile gerçekleşmektedir. İlki, varikoselin mitokondriyal oksidatif fosforilasyonu bozarak sperm DNA fragmentasyonunda artışa neden olması, ikincisi ise apoptozisi düzenleyen soluble Fas gen düzeyinde azalma sağlayarak sperm hücrelerinin apoptozisinde artış sağlamasıdır (119,120). Sonuç olarak varikozele bağlı gelişen fertilité hasar patogenezi multifaktöriyeldir.

Semptom ve bulgular

Varikozel genellikle asemptomatik seyretmektedir. Genellikle infertilité nedeniyle tetkik edilen hastada rutin muayene sırasında tespit edilir. Olguların % 2-10'nda testiküler ağrı ve gerilme hissi görülebilir. Operasyon sonrası ağrının kaybolma oranı % 50 civarındadır (121). Bazı hastaların skrotumda dilate venler belirgin olarak görülebilir. Semptomatik olan hastalar genellikle skrotal şişlik, ağrı ve testiküler atrofi ile başvurmaktadır.

Varikozele bağlı semen parametrelerinde değişiklikler görülmektedir. Hastaların yaklaşık % 90'ında astenozoospermi ve % 65'inde oligozoospermi görülmektedir. Bunlara ek olarak morfolojik anomaliler de yaygındır, immatür ve anormal şekildeki spermlerin sayısı artmıştır (stress patern) (122). Her varikoselli erkek infertil değildir ancak varikozel hastalığı testislerde progresif atrofi yapmaktadır.

Tanı ve değerlendirme

Varikozel tanısı fizik muayene ile konur. Hasta sıcak bir odada, ayakta ve sırt üstü yatmış pozisyonda iken spermatik kord, hem istirahat halindeyken ve hem de valsalva manevrası sırasında palpe edilir. Varikozel tanısında fizik muayenenin duyarlılığı % 71, özgüllüğü ise % 69 olarak bildirilmiştir (123-125).

Dubin-Amelar derecelendirme sistemi

1. Derece: Valsalva varlığında palpe edilebilen varikosel

2. Derece: Valsalva yapılmaksızın palpasyonla saptanabilen varikosel

3. Derece: Valsalvasız gözle görülebilen varikosel

Subklinik: Fizik muayene ile saptanamayan, radyolojik yöntemlerle tanı konulmuş varikosel

İnfertil erkeğin değerlendirilmesinde ilk semen analizinin anormal olması durumunda 2-3 hafta arayla değerlendirilen en az 2 semen analizi gerekmektedir. Ancak küçük skrotum kesesi, obezite, birlikte hidrosel varlığı, skrotal hassasiyet gibi fizik muayenenin güç olduğu durumlarda ek tanı yöntemleri gerekli olabilmektedir. Eğer tedavi antegrad/retrograd skleroterapi veya embolizasyon ile yapılacaksa tanı radyolojik tetkiklerle onaylanmalıdır (126).

Skrotal USG'de plexus pampiniformiste ikiden fazla venin bulunması ve bu venlerden en az binde valsalva manevrası sonrasında çapın 2-3 mm'den büyük olması subklinik varikosel tanısı koydurmaktadır (127). Testis volumü hesaplanmasında en yaygın olarak Lambert formülü ($0,71 \times \text{uzunluk} \times \text{genişlik} \times \text{derinlik}$) kullanılmaktadır (128).

Renkli doppler USG rutin olarak kullanılmamaktadır. Fizik muayene ile emin olunamayan durumlarda tanıyı desteklemek için kullanılmaktadır. Venografi varikosel tanısında altın standart yöntem olmakla birlikte, invaziv bir teknik olması nedeniyle rutin tanıda yeri bulunmamaktadır (129).

Skrotal termografi hassas infrared kamera ya da termotripler kullanarak varikosel olan tarafta artan skrotal sıcaklık farkını gösterir. Her iki skrotum arasında 1°C fark olması tanı koydurucudur.

Teknesyum-99m kullanılarak skrotumdaki venöz göllenmeden sintigrafik incelemenin, düşük hassasiyete sahip olması ve zaman alıcı olması nedeniyle kullanımı sınırlıdır.

MR görüntüleme sağ taraftaki obstrüktif kitlelerin değerlendirilmesinde, spermatik venografide kontrast maddeye karşı olan alerjik durumlarda ve tekrarlayan varikosellerde önerilebilmektedir (130).

Tedavi

Varikozel tedavisinde amaç vaz deferens ve damarlarının, tüm arterlerin ve spermatik kord lenfatiklerinin korunarak; tüm eksternal ve internal spermatik venlerin ligasyonu ya da oklüde edilmesidir. Tedavi sonrası testisin venöz drenajının sağlanabilmesi için vaz deferensin damarları korunmalıdır. Ligasyon açık, laparoskopik veya robotik cerrahiyle, embolizasyon ise radyolojik olarak yapılmaktadır.

ASMR 2008 En İyi Uygulama Komitesi kılavuzuna göre varikoselektomi endikasyonları:

***Evli erkekler veya sekonder infertilite (tüm maddelerin olması gerekli)**

- Palpe edilen varikozel
- iftte mevcut infertilite problemi varlığı
- Kadın faktörü olmaması
- Bozulmuř semen parametreleri (sayı, motilite ve morfolojide bozulma)

***Bekar erkeklerde**

- Palpe edilen varikozel
- Semen analizi normalse takip (1 veya 2 yıl ara ile) anormal test varlığı
- Semen analizi anormal ise tekrarında anormal test sonuçlarının varlığı

***Adelozan erkeklerde**

- Testis boyutlarında azalma (ipsilateral 2 ml veya % 20'den fazla)
- Testis boyutları normal ise testis boyutları ve/veya semen analizi ile takip

Normal semen analizi olan veya subklinik varikozeli olan erkeklerde tedavi endikasyonu bulunmamaktadır (131).

Varikoselektomiden fayda görme olasılığı yüksek olan olgular

- Varikozelin grade 3 olması
- Normal/normale yakın testis volümünün olması
- Toplam motil sperm sayısının > 5 milyon/ml olması

- Normal FSH/testosteron ve düşük inhibin düzeyinin olması
- Normal genetik testlerin varlığı
- İnfertilite süresinin kısa olması
- Moleküler bozukluk saptanmaması (132-136)

Cerrahi teknikler

Yüksek ligasyon (Palamo): İnternal inguinal ringin üst kısmından retroperitoneal olarak ligasyon yapılır.

İnguinal ligasyon (modifiye Ivanissevich): İnguinal kanal düzeyinden ligasyon yapılır.

Subinguinal ligasyon (modifiye Marmar): İnguinal kanalın distalinden ligasyon yapılır.

Laparoskopik: Transperitoneal yaklaşım ile inguinal kanal internal ring üstünden periton açılarak ligasyon yapılır.

Anterograd sklerotrapı (Tauber): Yüksek skrotal insizyon ile kord bulunup dilate venlere doğrudan sklerozan ajan verilir.

Retrograd skleroterapi ve embolizasyon: Sağ femoral venden girilerek internal spermatik vene ulaşılıp sklerozan ajan verilir.

Retroperitoneal (yüksek ligasyon) yaklaşımla sadece internal spermatik ven ligasyonu yapılabilirken, inguinal ve subinguinal yaklaşımla ek olarak eksternal spermatik ven ligasyonu da yapılabilir. Pasqualatto ve arkadaşları varikosektomi operasyonu sırasında bağlanan ven sayısının, operasyon başarısını göstermede önemli olduğunu bildirmişlerdir (137).

Varikosektomi sonrası semen analizinde belirgin düzelme görülür. En sık düzelen parametre motilitedir. Varikosektomi sonrası hastaların % 70'inde motilite, % 51'inde sperm dansitesi, % 44'ünde sperm morfolojisinde düzelme görülmektedir. Gebelik oranları ise % 40-50 arasında değişmektedir (138).

Çayan ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptıkları meta-analizde radyolojik embolizasyon % 12,7 ve Palamo (yüksek ligasyon) yöntemi % 15 oranla en yüksek nüks oranlarına sahip iken, gebelik elde etme oranı ise en yüksek olarak % 42 oranla mikrocerrahi yöntemlerde rapor edilmiştir. Yine aynı meta-analizde mikroskopik

inguinal varikoselektominin diğer yöntemlere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha etkin olduğunu bildirilmiştir (139).

Ameliyatın sonuçları ve komplikasyonları göz önüne alındığında tedavide en ideal yöntem mikroskopik subinguinal/inguinal varikoselektomidir (140).

Nüksü önlemede en önemli faktörler mikroskop/loop kullanımı, eksternal ve gubernakular venlerin bağlanmasıdır.

Komplikasyonlar

Erken dönemde enfeksiyon ve hemoraji gelişebilirken; geç dönemde ise hidrosel, testiküler atrofi ve rekürrens görülebilmektedir. Hidrosel, varikoselektomi sırasında lenfatik drenaj anatomisinin bozulmasına bağlı gelişmektedir. Yüksek ligasyon yapılan ve mikroskop/loop kullanılmayan yaklaşımlarda hidrosel gelişim oranı % 7-10'dur (140,141). Testisin beslenmesi testiküler, krameterik ve deferensiyal arterlerden kaynaklanmaktadır. Mikroskopik subinguinal varikoselektomide, subinguinal düzeyde arterin çevresinin venlerle çevrili olması nedeniyle testiküler arter yaralanma ihtimali çok düşüktür. Chan ve arkadaşları testiküler arter hasarlanması olan 15 hastayı incelemiş ve sadece 1 hastada belirgin atrofi olduğunu göstermişlerdir (142).

Tedavi	Nüks/persistens oranları	Komplikasyonlar
Antegrad skleroterapi	%9	Komplikasyon oranı % 0.3-2.2; testis atrofisi, skrotal hematoma, epididimit, sol yan bölgede eritem
Retrograd skleroterapi	Nüks ve persistens oranı %9,8	Kontrast maddeye bağlı yan etkiler, yan ağrısı, persistan tromboflebit, vasküler perforasyon
Retrograd embolizasyon	%3,8-10	Tromboflebit nedeniyle ağrı, kanama, hematoma, enfeksiyon, venöz perforasyon, hidrosel, kontrast madde reaksiyonları, koilin yanlış yere verilmesi veya migrasyonu gibi radyolojik komplikasyonlar, retroperitoneal hemoraji, fibrozis, üreter obstrüksiyonu
Açık cerrah		
Skrotal yaklaşım		Testis atrofisi, testiste gangrene yol açabilecek arteriyel iskemi ve hasar
Inguinal yaklaşım	%13,3	Küçük testiküler ven dallarının gözden kaçması
Yüksek ligasyon	%29	%5-10 hidrosel görülme sıklığı
Mikrocerrahi	%0,8-4	Postoperatif hidrosel, arter yaralanma riski, skrotal hematoma
Laparoskopi	%3-7	Testiküler arter ve lenf damarlarında yaralanma, intestinal, vasküler ve sinir hasarı, pulmoner emboli, peritonit, kanama, pnömoperitoneum sırasında diafragma gerilmesine bağlı postoperatif sağ omuzda ağrı, yara enfeksiyonu

Şekil 2.6. Varikoselektomi sonrası nüks oranları ve komplikasyonlar (143)

Rekürrens, eksternal spermatic venlerin ve internal spermatic venlerin kollaterallerinin operasyon sırasında gözden kaçarak bağlanmaması sonucu gelişmektedir. Rekürrens oranı yüksek ligasyonlarda % 7-18 arasında olup, mikroskopik subinguinal yaklaşımla % 2 civarına inmektedir (144,145). Varikoselektomi sonrası nüks ve komplikasyon oranları şekil 2.6'da görülmektedir.

İzlem

Semen parametrelerinde görülebilecek en erken düzelme 3. ayda başlar. Yıllık fizik muayene ve semen analizi ile takip yapılmalıdır.



3. YÖNTEM VE GEREÇ

Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi üroloji polikliniğine Nisan 2016 ve Mayıs 2017 tarihleri arasında başvuran 18-45 yaş arası, üroloji polikliniğinde klinik ve radyolojik olarak grade 2 veya 3 varikosel tanısı doğrulanıp cerrahi endikasyon konulan tek taraflı varikoseli olan, semen parametrelerinde bozulmaya neden olacak başka bir neden bulunmayan, kronik ilaç kullanımını gerektiren komorbiditeleri olmayan ve çalışma için hazırlanan bilgilendirilmiş gönüllü onam formunu okuyarak onay veren hastalar çalışmaya dahil edilmiştir.

Sadece varikoselektomi ameliyatı yapılan (kontrol grubu), varikoselektomi ameliyatına ek olarak 3 aylık antioksidan gıda takviyesi uygulanan (çalışma grubu) ve 15'er hastadan oluşan iki grup, Random Allocation Software'de hazırlanan şemaya göre randomize edilmiştir.

Her iki gruptaki hastalardan ameliyat öncesi 3 günlük cinsel perhiz sonrası Ankara Üniversitesi Üreme Sağlığı Araştırma ve Uygulama Merkezinde semen örneği alınmıştır. Verilen semen örnekleri likefiye olması için 37 °C'de 30-60 dakika inkübatörde bekletilmiştir. Semen örneğinden önce WHO kriterlerine göre spermiyogram incelemesi yapılmıştır (146). Daha sonra her hastada aynı şekilde olmak üzere 2 ml ejakülat alınarak; içinde 1 ml upper, 1 ml low gradiyentleri olan mavi kapaklı Falkon tüpüne konulmuştur. 20 dakika süreyle 2000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Pastör pipeti ile süpernatant alınıp atılmıştır. Geride kalan pellete 2 ml Washing Medium eklenerek karıştırma işlemi yapılmıştır. Sonrasında tekrar 20 dakika süreyle 2000 rpm'de santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sonrası süpernatant Pastör pipeti ile alınıp atılmıştır. Pelletin üzerine toplam volüm maksimum 0,5 ml olacak kadar, Washing Medium konulup homojen bir şekilde karışması sağlanarak sperm yıkanması yapılmıştır. Daha sonra yıkanmış sperm örneği 1 saat içerisinde sperm DNA hasarının COMET testi ile değerlendirilebilmesi için Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Laboratuvarına ulaştırılmıştır.

Tıbbi biyoloji laboratuvarında yıkanmış hücre pelleti hastanın mililitresindeki hücre miktarına göre 1000 hücre/1 µl olacak şekilde yaklaşık 20.000 hücre/20 µl hesaplanmıştır. 20 µl hücre solüsyonu, 36µl % 0,75'lik düşük erime sıcaklığına sahip agaroz ile karıştırılıp oda ısısında bekleyen ve normal erime sıcaklığına sahip

agarozla kaplı lamaların üzerine yayılarak, üzerleri ince lameller ile kaplanmıştır. Üzeri hücre ve agaroz karışımıyla kaplanan lamalar buz üzerine alınmış ve 20 dakika donmaları beklenmiştir. Donma işlemi tamamlandıktan sonra agaroz lam üzerindeki lameller dikkatlice kaldırılmıştır. Lameller kaldırıldıktan sonra lamalar daha önce hazırlanmış olan ve + 4°C’de bekleyen alkalın lizin solüsyonunda 1 saat bekletilmiştir. Bekleme sonunda bu solüsyona 15 µl (20 µg/ml) proteinaz K eklenmiş ve 37°C’lik etüve kaldırılmıştır. Burada da lamalar 2 saat inkübe edilmiştir. İki saat sonunda lamalar soğuk Tris-borat (TBE) nötral solüsyonunda 20 dakika bekletilmiş ve ardından 25 voltta 20 dakika yürütülmüştür. Yürütme işlemi süresince elektoroforez tankının üstüne soğuk aküler ve buz parçaları konarak TBE solüsyonunun ısınması engellenmiştir. Elektroforezden alınan lamalar karanlıkta, oda ısısında kurutulduktan sonra her bir lamel 50 µl etidyum bromid (8µg/ml) ile boyanmıştır. Boyanan preparatlar floresan mikroskopta (Olympus BX51) ilgili filtrede incelenmiştir. Her bir hücre DNA görüntüsü kuyruk uzunluğu ve kafa çap büyüklüğüne göre değerlendirilmiş ve hasar miktarına göre 0 (hasarsız), 1 (az hasarlı), 2 (hasarlı), 3 (orta hasarlı), 4 (çok hasarlı) olarak kategorize edilmiştir. Böylece sperm DNA hasarı skoru 0-400 arasında bir aralığa sahip olmaktadır. Her bir preparat için rastgele seçilen 100 hücre sayılarak bu işlem 3 kez tekrar edilecek şekilde gerçekleştirilmiştir. Böylece sperm DNA hasarı skoru 0-400 arasında bir aralığa sahip olmuştur. Nihai sonuç olarak 3 kez tekrarlanmış skorların aritmetik ortalaması alınmıştır (147).

Çalışmaya dahil edilen tüm hastalara mikroskobik subinguinal tekniğiyle unilateral varikosektomi operasyonu yapılmıştır (148). Operasyonlarda mikroskopi eşliğinde tüm eksternal ve internal spermatik venler bağlanmış, arterler, lenfatik damarlar ve vaz deferens korunmuştur. Random Allocation Software’de hazırlanan şemaya göre randomize edilmiş ve kontrol grubundaki 15 hastaya sadece varikosektomi yapılmış, çalışma grubundaki 15 hastaya ise varikosektomi ameliyatı sonrası hemen birinci günde başlamak kaydıyla 3 ay süreyle 200 mg L-arginine, 100 mg L-carnitine, 100 mg Epimedium sagittatum, 125 mg Tribulus terrestris, 250 mcg folik asit, 100 mcg selenyum, 20 mg koenzim Q10, 20 mg çinko, 75 mcg C Vitamini, 50 mg Vitis vinifera ekstraktı, 30 mg Ceratonia siliqua moleküllerinden oluşan antioksidan kombinasyon tedavisi oral yolla 12 saatte bir olmak üzere günde 2 kez kullanılmıştır. Oral antioksidan kombinasyon preparatı,

ülkemizde gıda takviyesi sınıfına girmekte ve Gıda Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı ruhsatıyla kullanılmaktadır.

Her iki gruptaki hastalardan 3 ay sonunda, 3 günlük cinsel perhiz sonrası Ankara Üniversitesi Üreme Sağlığı Araştırma ve Uygulama Merkezinde semen örneği alınmıştır. Semen örneğinden öncelikle spermiyogram değerlendirilmesi yapılmıştır. Daha sonra yıkanmış sperm örneği 1 saat içerisinde Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Laboratuvarına ulaştırılmıştır. Semen örneğinden COMET (tek hücre jel elektroforezi) yöntemiyle sperm DNA hasar oranı bakılmıştır. Sperm DNA hasarı oranı tekrar bakılıp ameliyat öncesi değerlerine göre düzelme oranları incelenmiştir.

Çalışmaya 18 yaş altı ve 45 yaş üstü, bilateral varikoseli olan, tek taraflı varikosel nedeniyle opere edilmiş ancak nüks gelişen, semen analizine azoospermi saptanan, semen değerlerinde bozulma yapacak ek patolojisi olan, kronik ilaç kullanımını gerektiren komorbiditeleri olan erkek hastalar dahil edilmemiştir.

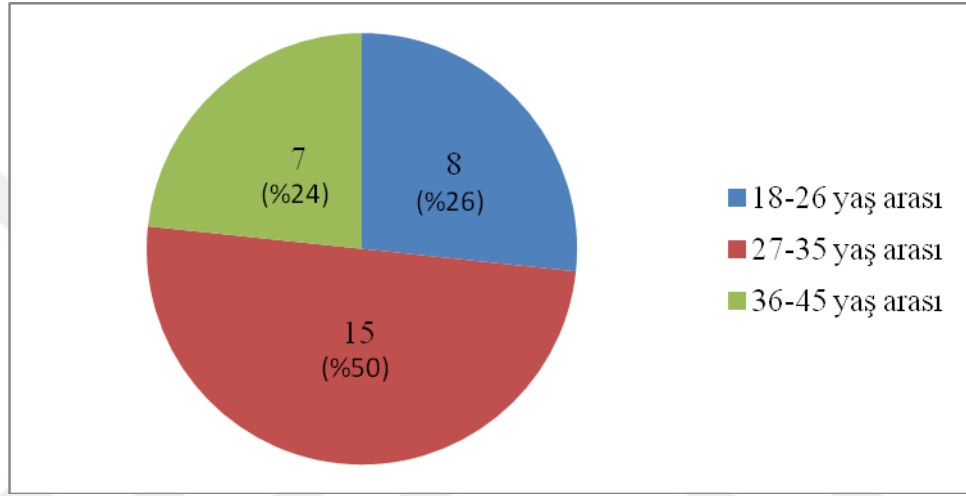
3.1. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analiz için SPSS 11.5 sürümü kullanılmıştır (SPSS Inc., Chicago, IL). Tanımlayıcı istatistiklere ek olarak, sayısal değişken bakımından kategorik değişkenin iki grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olup olmadığına bakılmak istendiğinde, normal dağılım varsayımlarını sağlıyorsa Student-T testi, sağlamıyorsa Mann-Whitney U testi kullanılmıştır. İki kategorik değişken arasındaki ilişkiye bakılmak istendiğinde Ki-kare testi kullanılmıştır. Sayısal bir değişkenin önceki ve sonraki ölçümleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığına bakılmak istendiğinde fark değişkeni normal dağılım varsayımını sağlıyorsa Paired-t testi, sağlamıyorsa Wilcoxon testi kullanılmıştır. Kategorik bir değişkenin önce ve sonra ölçümleri arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olup olmadığına bakılmak istendiğinde McNemar testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık düzeyi olarak 0.05 alınmıştır.

4. BULGULAR

Tedaviye alınan hastaların yaş ortalamaları kontrol ve çalışma grubu için sırasıyla 29,4 ($\pm$ 5,2) ve 32,2 ($\pm$ 6,9) olarak bulundu.

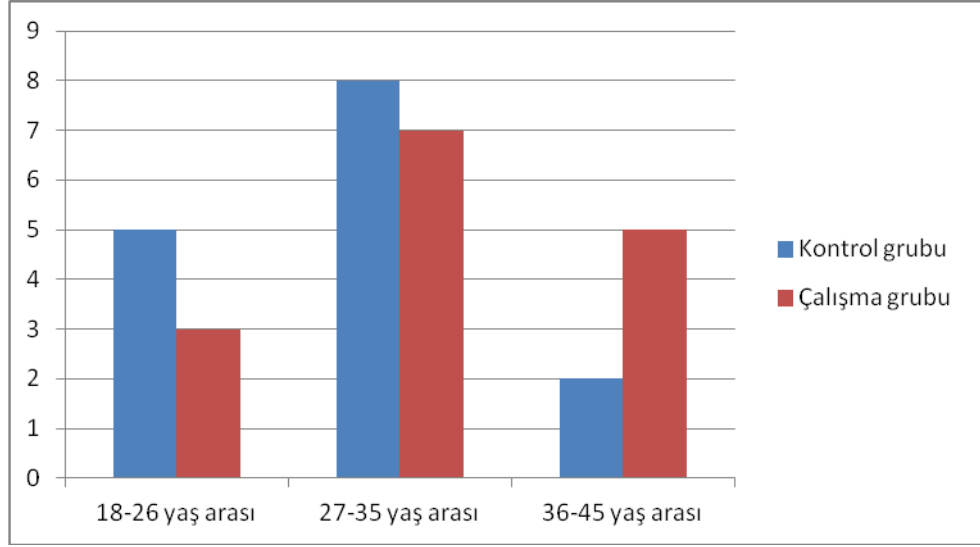
Genel hasta grubundaki hastaların % 26'sı 18-26 yaş aralığında, % 50'si 27-35 yaş aralığında, % 24'ü ise 36-45 yaş aralığında dağılım göstermiştir (grafik 4.1).



Grafik 4.1. Genel hasta grubunda yaş dağılımı

Kontrol grubundaki hastaların % 33,3'ünün 18-26 yaş aralığında, % 53,3'ünün 27-35 yaş aralığında, %13,3'ünün de 36-45 yaş aralığında dağılım gösterdiği görülürken; çalışma grubundaki hastaların % 20'sinin 18-26 yaş aralığında, % 46,6'sının 27-35 yaş aralığında, % 33,3'ünün de 36-45 yaş aralığında dağılım gösterdiği görüldü (grafik 4.2).

Yaş değişkeni için antioksidan gıda takviyesi verilen ve verilmeyen gruplar arasında anlamlı farklılık olup olmadığına bakıldı, antioksidan verilen çalışma grubunda yaş ortalaması daha yüksek bulundu ama bu iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,905$).



Grafik 4.2. Kontrol ve çalışma gruplarına göre yaş dağılımı

Örnekleimde 20 (%67) hastada grade-2 varikozel, 10 (%33) hastada ise grade-3 varikozel mevcuttu. Kontrol grubundaki hastaların % 73'ünde grade-2 varikozel, % 27'sinde ise grade-3 varikozel olduğu; çalışma grubundaki hastaların % 60'ında grade-2 varikozel, % 40'ında ise grade-3 varikozel olduğu görüldü (tablo 4.1). Grupların varikozel derecesine göre dağılımında anlamlı bir fark bulunamadı ($p=0,382$) (tablo 4.2).

	Varikozel Derecesi	
	Grade-2	Grade-3
Kontrol grubu	11 (% 73)	4 (% 27)
Çalışma grubu	9 (% 60)	6 (% 40)

Tablo 4.1. Varikozel derecelerine göre kontrol ve çalışma gruplarının hasta dağılımı

Yaş	Kontrol grubu		Çalışma grubu		Toplam	
	Grade-2	Grade-3	Grade-2	Grade-3	Grade-2	Grade-3
18-26	3 (%10)	2 (%6,6)	2 (%6,6)	1 (%3,3)	5 (%16,6)	3 (%10)
27-35	6 (%20)	2 (%6,6)	4 (%13,3)	3 (%10)	10 (%33,3)	5 (%16,6)
36-45	2 (%6,6)	0 (%0)	3 (%10)	2 (%6,6)	5 (%16,6)	2 (%6,6)

Tablo 4.2. Gruplarda varikozel derecesi ve yaş aralıklarına göre hasta dağılımı

Tüm hasta grubunda, yaş gruplarıyla varikozel derecesi arasında ilişki olup olmadığı değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p=0,598$) (tablo 4.3).

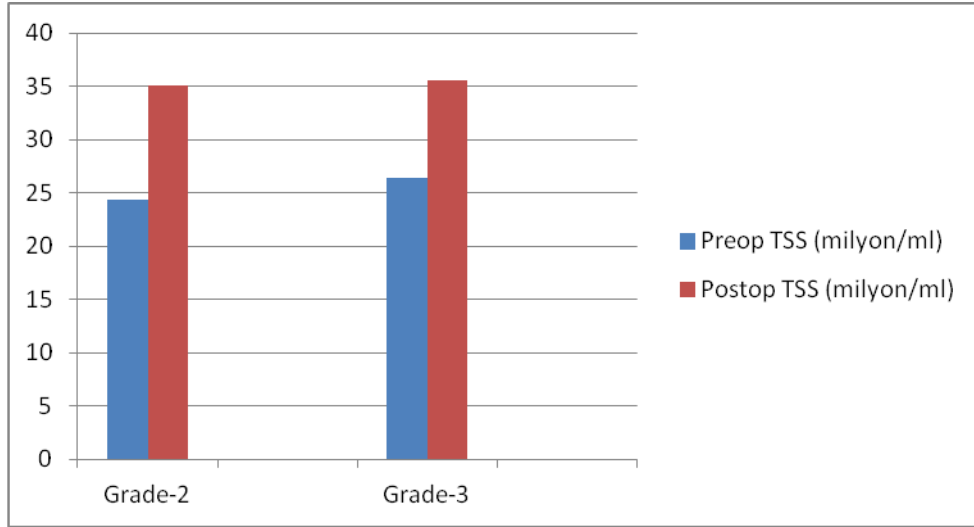
Varikozel derecesi	Hasta sayısı	Ortalama yaş	Ortanca yaş
Grade-2	20 (%67)	31.65±5.68	32.00
Grade-3	10 (%33)	29.30±7.19	27.50
Toplam	30 (%100)	30.87±6.27	30.50

Tablo 4.3. Varikozel derecelerine göre hastaların yaş ortalaması ve ortancası

Tüm hasta grubunda varikozel derecesi ile hem preop hem de postop total sperm sayısı arasındaki ilişkiye bakıldığında (preop fark 2,06 milyon/ml, postop fark 0,47 milyon/ml) istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (preop TSS için $p=0,660$, postop TSS için $p=0,969$) (tablo 4.4, grafik 4.3).

Varikozel derecesi	Total sperm sayısı (milyon/ml)	
	Preop	Postop
Grade-2	24.41±20.22	35.09±28.56
Grade-3	26.47±31.32	35.56±33.84
Toplam	25.10±23.94	35.25±29.83

Tablo 4.4. Genel hasta grubunda varikozel derecelerine göre preop ve postop total sperm sayılarının ortalama değerleri (TSS = total sperm sayısı)

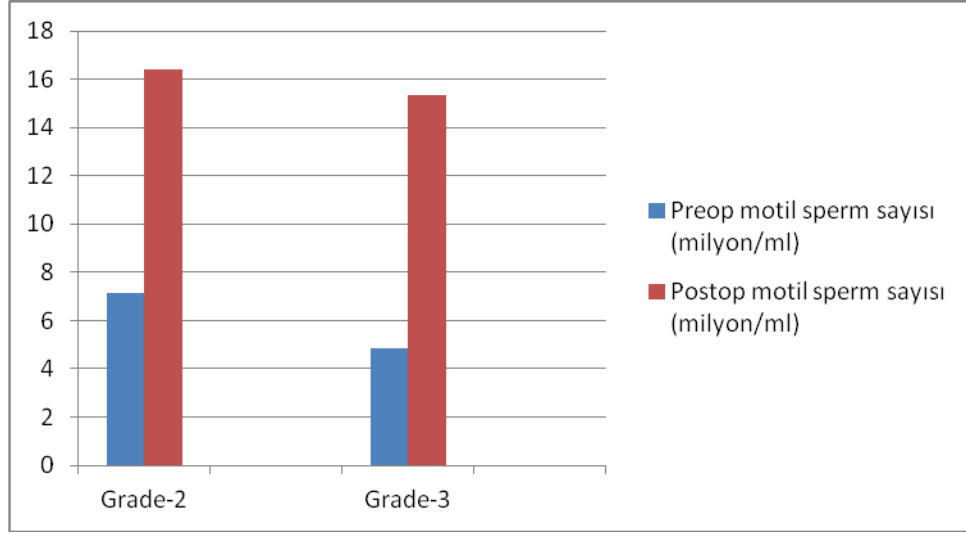


Grafik 4.3. Genel hasta grubunda varikozel derecelerine göre preop ve postop total sperm sayılarının ortalama değeri

Genel hasta grubunda varikozel derecesi ile hem preop hem de postop motil sperm sayısı arasındaki ilişki ayrı ayrı değerlendirildiğinde (preop fark 2,31 milyon/ml, postop fark 1,05 milyon/ml) istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (preop motil sperm sayısı için $p=0,441$, postop motil sperm sayısı için $p=0,860$) (tablo 4.5, grafik 4.4).

Varikozel derecesi	Motil sperm sayısı (milyon/ml)	
	Preop	Postop
Grade-2	7.15±7.72	16.41±17.36
Grade-3	4.84±6.54	15.36±14.46
Toplam	6.38±7.32	16.06±16.20

Tablo 4.5. Genel hasta grubunda varikozel derecelerine göre preop ve postop motil sperm sayısının ortalama değeri

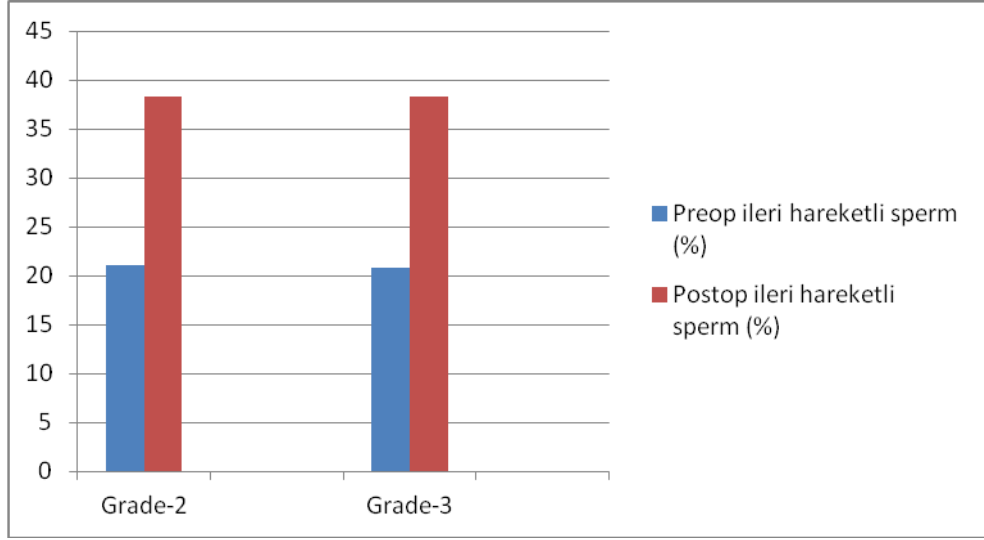


Grafik 4.4. Genel hasta grubunda varikozel derecelerine göre preop ve postop motil sperm sayısının ortalama değerleri

Tüm hasta grubunda varikozel derecesi ile hem preop hem de postop ileri hareketli sperm yüzdesi arasındaki ilişki karşılaştırıldığında (preop fark 0,3 %, postop fark 0,05 %) istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (preop a+b değeri için $p=0,808$, postop a+b değeri için $p=0,582$) (tablo 4.6, grafik 4.5).

İleri Hareketli Sperm %		
Varikozel derecesi	Preop	Postop
Grade-2	21.10±13.09	38.25±16.21
Grade-3	20.80±18.86	38.30±19.71
Toplam	21.00±14.92	38.27±17.11

Tablo 4.6. Genel hasta grubunda varikozel derecelerine göre preop ve postop ileri hareketli sperm yüzdesi ortalama değerleri

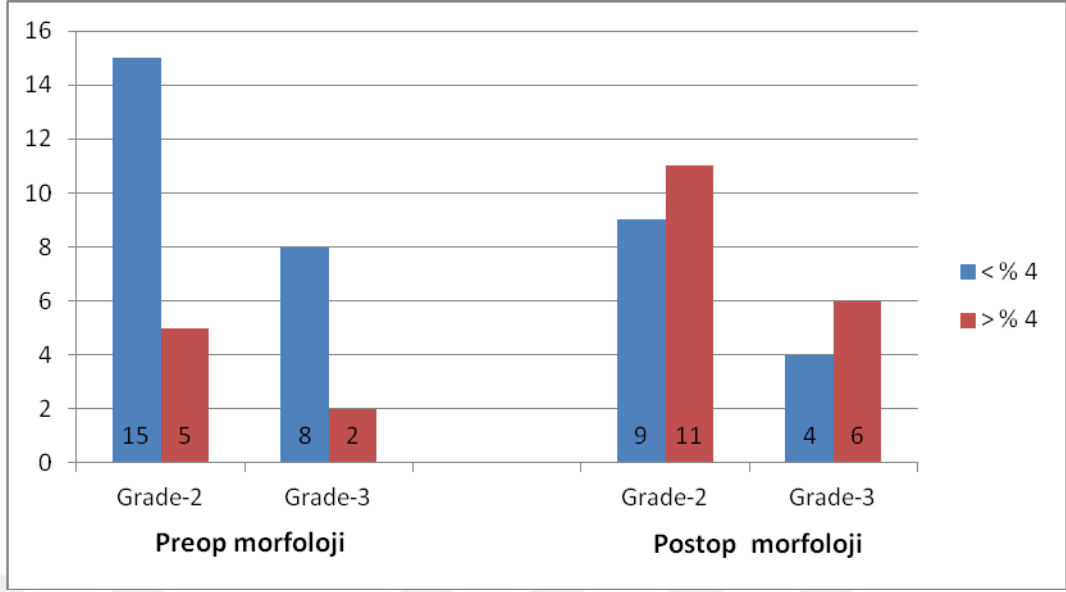


Grafik 4.5. Genel hasta grubunda varikozel derecelerine göre preop ve postop ileri hareketli sperm yüzdesi ortalama değeri

Tüm hasta grubunda varikozel derecesi ile hem preop hem de postop total sperm morfolojisi arasındaki ilişki kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı ($p=1,000$) (tablo 4.7, grafik 4.6).

Varikozel derecesi	Normal Sperm Morfoloji %			
	Preop morfoloji		Postop morfoloji	
	< % 4	> % 4	< % 4	< % 4
Grade-2	15	5	9	11
Grade-3	8	2	4	6
Toplam	23	7	13	17

Tablo 4.7. Genel hasta grubunda varikozel derecelerine göre preop ve postop morfoloji değeri

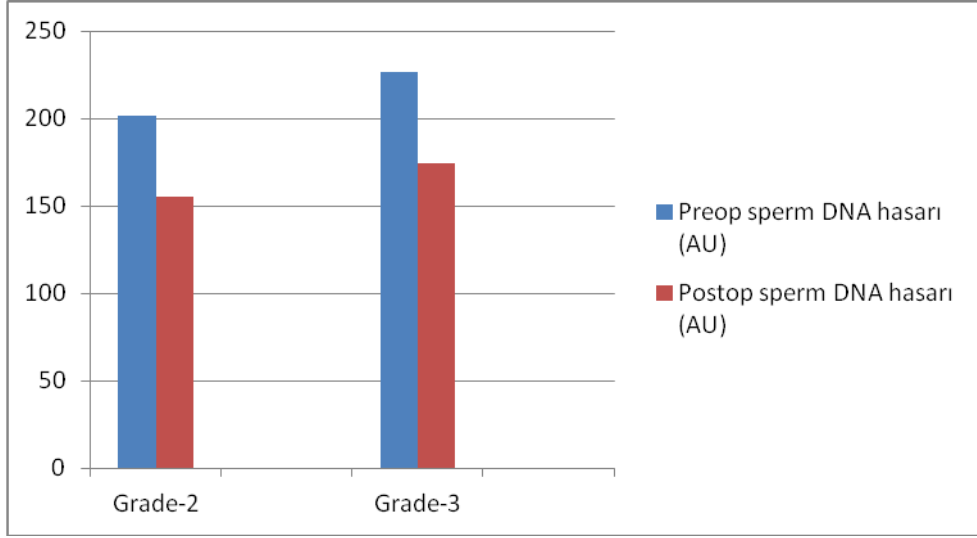


Grafik 4.6. Genel hasta grubunda varikozel derecelerine göre preop ve postop morfoloji değerleri

Tüm hasta grubunda varikozel derecesi ile hem preop hem de postop sperm DNA hasarı arasındaki ilişki incelendiğinde (preop fark 24,9 AU, postop fark 19,4 AU) istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (preop DNA hasarı için $p=0,202$, postop DNA hasarı için $p=0,176$) (tablo 4.8, grafik 4.7).

	Preop sperm DNA hasarı (AU)	Postop sperm DNA hasarı (AU)
Grade-2	201.70±46.55	155.00±31.17
Grade-3	226.60±48.74	174.40±44.70
Toplam	210.00±47.95	161.47±36.65

Tablo 4.8. Genel hasta grubunda varikozel derecelerine göre preop ve postop sperm DNA hasarlarının ortalama değerleri



Grafik 4.7. Genel hasta grubunda varikozel derecelerine göre preop ve postop sperm DNA hasarlarının ortalama değeri

Çalışma ve kontrol grubunu içerecek şekilde tüm çalışma grubunun total sperm sayısı değerlerinin preop ve postop karşılaştırılması yapıldığında sırasıyla 25,1 milyon/ml ve 35,25 milyon/ml bulundu. Aralarında anlamlı bir fark vardı ($p < 0,001$) (tablo 4.9).

Total sperm sayısı (milyon/ml)	Tüm hasta grubu	
	Ortalama $\pm$ SD	Medyan (Min-Max)
Preop	25.10 $\pm$ 23.94	20.25 (0.00-84.00)
Postop	35.25 $\pm$ 29.83	27.00 (0.60-112.00)

Tablo 4.9. Tüm hasta grubunda preop ve postop total sperm sayısı

Kontrol ve çalışma grubu olarak ayrı ayrı değerlendirdiğimizde total sperm sayısının kontrol grubunda ameliyattan sonra 27,76 milyon/ml'den 42,16 milyon/ml'ye yükselirken; çalışma grubunda ise 22,44 milyon/ml'den 28,34 milyon/ml'ye yükseldiği görüldü. Her iki grubun preoperatif ve postoperatif değerleri (kontrol ve çalışma gruplarında sırasıyla 14,4 milyon/ml ve 5,9 milyon/ml) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0,081$) (tablo 4.10).

Total sperm sayısı (milyon/ml)	Çalışma grubu		Kontrol grubu	
	Ortalama $\pm$ SD	Medyan (Min-Max)	Ortalama $\pm$ SD	Medyan (Min-Max)
Preop	22.44 $\pm$ 23.62	16.00 (0.00-84.00)	27.76 $\pm$ 24.78	23.00 (0.50-70.00)
Postop	28.34 $\pm$ 25.65	22.00 (0.60-89.00)	42.16 $\pm$ 32.91	36.00 (1.00-112.00)

Tablo 4.10. Kontrol ve çalışma gruplarında preop ve postop total sperm sayısı

Tüm çalışma grubunun motil sperm sayısı değerlerinin preoperatif ve postoperatif karşılaştırılması yapıldığında sırasıyla 6,38 milyon/ml ve 16,06 milyon/ml olduğu görüldü. Aralarında anlamlı bir fark olduğu görüldü ($p < 0,001$) (tablo 4.11).

Motil sperm sayısı (milyon/ml)	Tüm hasta grubu	
	Ortalama $\pm$ SD	Medyan (Min-Max)
Preop	6.38 $\pm$ 7.32	4.55 (0.00-23.00)
Postop	16.06 $\pm$ 16.20	13.65 (0.00-68.00)

Tablo 4.11. Tüm hasta grubunda preop ve postop motil sperm sayısı

Motil sperm sayısı değişkeni için her iki grup ayrı ayrı değerlendirildiğinde motil sperm sayısının ameliyattan sonra kontrol grubunda 8,74 milyon/ml'den 20,38 milyon/ml'ye yükseldiği; çalışma grubunda da 4,02 milyon/ml'den 11,74 milyon/ml'ye yükseldiği görüldü. Antioksidan takviye alan ve almayan grupların preoperatif ve postoperatif değerleri (kontrol ve çalışma gruplarında sırasıyla 11,6 milyon/ml ve 7,7 milyon/ml) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,329$) (tablo 4.12).

Motil sperm sayısı (milyon /ml)	Çalışma grubu		Kontrol grubu	
	Ortalama $\pm$ SD	Medyan (Min-Max)	Ortalama $\pm$ SD	Medyan (Min-Max)
Preop	4.02 $\pm$ 5.12	2.00 (0.00-19.90)	8.74 $\pm$ 8.53	6.40 (0.00-23.00)
Postop	11.74 $\pm$ 11.41	9.00 (0.00-37.00)	20.38 $\pm$ 19.33	13.70 (0.20-68.00)

Tablo 4.12. Kontrol ve çalışma gruplarında preop ve postop motil sperm sayısı

Tüm hasta grubunda ileri hareketli sperm yüzdesi değerleri preop ve postop olarak karşılaştırıldığında sırasıyla % 21 ve % 38,27 olduğu görüldü. Preoperatif ve postoperatif değerler arasında anlamlı bir fark saptandı ($p<0,001$) (tablo 4.13).

İleri hareketli sperm %	Tüm hasta grubu	
	Ortalama $\pm$ SD	Medyan (Min-Max)
Preop	21.00 $\pm$ 14.92	25.50 (0.00-62.00)
Postop	38.27 $\pm$ 17.11	40.00 (0.00-71.00)

Tablo 4.13. Tüm hasta grubunda preop ve postop ileri hareketli sperm yüzdesi

Kontrol ve çalışma grupları ileri hareketli sperm yüzdesi açısından ayrı ayrı değerlendirildiğinde tedavi sonrası kontrol grubunda sırasıyla % 26,07'den % 43,13'e yükseldiği; çalışma grubunda % 15,93'ten % 33,40'a yükseldiği görüldü. Kontrol ve çalışma gruplarının preoperatif ve postoperatif değerleri arasındaki farklar (kontrol ve çalışma gruplarında sırasıyla % 17 ve % 17,5) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0,905$) (tablo 4.14).

İleri hareketli sperm %	Çalışma grubu		Kontrol grubu	
	Ortalama $\pm$ SD	Medyan (Min-Max)	Ortalama $\pm$ SD	Medyan (Min-Max)
Preop	15.93 $\pm$ 16.34	12.00 (0.00-62.00)	26.07 $\pm$ 11.80	28.00 (0.00-46.00)
Postop	33.40 $\pm$ 18.53	39.00 (0.00-68.00)	43.13 $\pm$ 14.58	44.00 (9.00-71.00)

Tablo 4.14. Kontrol ve çalışma gruplarında preop ve postop ileri hareketli sperm yüzdesi

Normal sperm morfolojisi açısından tüm hasta grubu preoperatif ve postoperatif olarak karşılaştırıldığında, % 23,3 olan normal sperm morfolojisi (> % 4) oranının ameliyat sonrası bakıldığında % 56,6'ya yükseldiği görüldü ($p<0,001$) (tablo 4.15).

Sperm morfolojisi		
	<%4	>%4
Preop	23 (%76.7)	7 (%23.3)
Postop	13 (%43.4)	17 (%56.6)

Tablo 4.15. Tüm hasta grubunda preop ve postop sperm morfolojisi

Kontrol ve çalışma grupları sperm morfolojisi açısından ayrı ayrı değerlendirildiğinde normal sperm morfolojisi (>% 4) oranının tedavi sonrası kontrol grubunda sırasıyla % 26,6'dan % 66,7'ye yükseldiği; çalışma grubunda % 20'den % 46,7'ye yükseldiği görüldü. Kontrol ve çalışma gruplarının preoperatif ve postoperatif normal sperm morfoloji değerleri arasındaki farklar (kontrol ve çalışma gruplarında sırasıyla % 40 ve % 26,7) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü ($p=0,269$).

Tüm hasta grubunun sperm DNA hasarı değerleri preoperatif ve postoperatif olarak karşılaştırıldığında sırasıyla 210 ve 161,47 AU olduğu görüldü. Aralarında anlamlı bir fark olduğu görüldü ($p<0,001$) (tablo 4.16).

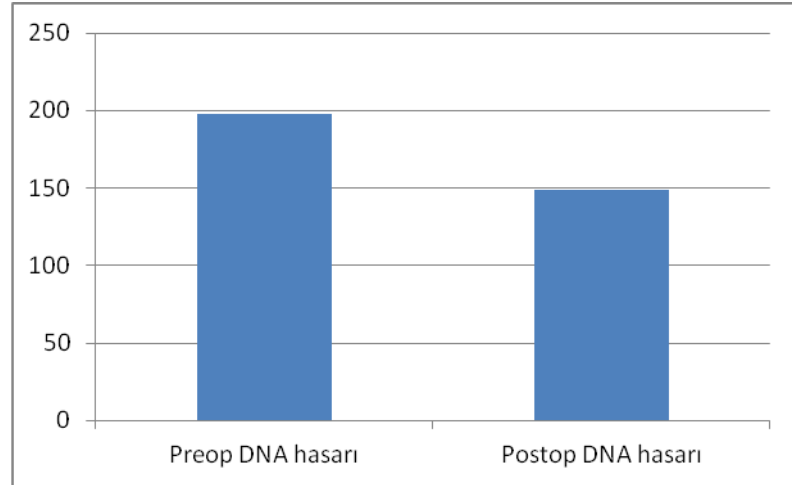
Sperm DNA hasarı (AU)	Tüm hasta grubu	
	Ortalama $\pm$ SD	Medyan (Min-Max)
Preop	210.00 $\pm$ 47.95	196 (132.00-296.00)
Postop	161.47 $\pm$ 36.65	151 (104.00-254.00)

Tablo 4.16. Tüm hasta grubunda preop ve postop sperm DNA hasarı

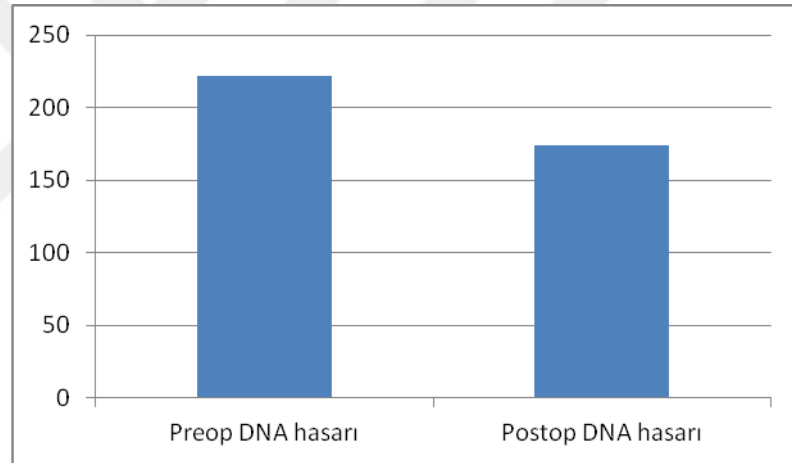
Kontrol ve çalışma grupları sperm DNA hasarı için ayrı ayrı değerlendirildiğinde tedavi sonrası kontrol grubunda 221,87 AU'dan 174,3 AU'ya gerilediği; çalışma grubunda ise 198,13 AU'dan 148,80 AU'ya gerilediği görüldü. Antioksidan takviye alan ve almayan grupların preoperatif ve postoperatif değerleri (kontrol ve çalışma gruplarında sırasıyla 47,7 AU ve 49,3 AU) kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi ($p=0,245$) (tablo 4.17, grafik 4.8 ve 4.9).

Sperm DNA hasarı derecesi (AU)	Çalışma grubu		Kontrol grubu	
	Ortalama $\pm$ SD	Medyan (Min-Max)	Ortalama $\pm$ SD	Medyan (Min-Max)
Preop	198.13 $\pm$ 50.36	182.00 (132.00-296.00)	221.87 $\pm$ 43.80	224.00 (142.00-280.00)
Postop	148.80 $\pm$ 35.60	144.00 (104.00-254.00)	174.13 $\pm$ 34.22	180.00 (114.00-238.00)

Tablo 4.17. Kontrol ve çalışma gruplarında preop ve postop sperm DNA hasarı



Grafik 4.8. Kontrol grubunda preop ve postop sperm DNA hasarı



Grafik 4.9. Çalışma grubunda preop ve postop sperm DNA hasarı

Yapılan analizlerde preop yüksek DNA hasarı ile preop sperm morfolojisinin $< \%4$ olması düşük total sperm sayısı, düşük motil sperm sayısı, düşük ileri hareketli sperm yüzdesi olması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğu görüldü (hepsinde $p=0,001$). Yine aynı şekilde postop dönemde sperm DNA hasarındaki azalmayla beraber; postop sperm morfolojisininin $> \%4$ olması, total sperm sayısında, motil sperm sayısında ve ileri hareketli sperm yüzdesinde yükselme arasında istatistiksel anlamlı bir korelasyon olduğu görüldü (postop total sperm sayısı için $p=0,003$, diğer hepsi için $p<0,001$).

Hastaların 3. ay izlemlerinde hem kontrol hem de çalışma grubunda hiçbir hastada nüks, hidrosel veya testiküler atrofi gibi cerrahi komplikasyonların gelişmediği görüldü. Çalışma grubunda 4 hastada antioksidan takviyesinin bırakılmasına neden olmayacak şekilde hafif düzeyde gastrointestinal şikayetler gözlemlendi.



5. TARTIŞMA

Varikosel, testisin venöz drenajını sağlayan plexus pampiniformisin patolojik dilatasyonu olup zamanla testiküler hasara yol açabilen ve cerrahi olarak tedavi edilebilen bir hastalıktır. Varikosele bağlı gelişen testiküler atrofi, anormal semen parametreleri ve Leydig hücre disfonksiyonuna bağlı infertilite gelişebilmektedir (149). Güncel meta-analizlerde varikosel tedavisi gören gruplarda (%32,3) tedavi edilmeyen kontrol gruplarına (%18,1) oranla anlamlı derecede yüksek spontan gebelik oranlarının gösterilmesi varikosel ve infertilite arasındaki ilişkiyi açıkça ortaya koymaktadır (150). Kadın partnerin normal olması, palpabl varikosel olması, semen parametrelerinde bozulma ve artmış sperm DNA hasarı olması varikosel için cerrahi tedavi endikasyonlarıdır (149,151,152).

İlk olarak 1989 yılında Singh ve arkadaşları matür spermatozoada çok sayıda tek zincir DNA kırıkları olduğunu göstermiştir (153). Bundan sonraki süreçte sperm DNA hasarı ve infertilite arasındaki ilişki sorgulanmaya başlanmıştır. Günümüze kadar yapılan birçok in vivo ve in vitro çalışma ve tanı testlerinden elde edilen veriler, sperm DNA hasarı ve spermin reproduktif fonksiyonel yeterliliği arasındaki ilişkiyi göstermiştir. Bu nedenle infertil erkeklerde sperm DNA hasarı tespitinin, geleneksel semen parametrelerinininkine göre daha yüksek prediktif değere sahip olduğu kanısı giderek güçlenmektedir.

Topoizomeraz enziminin DNA'yı belli bölgelerinden katlayarak oluşturduğu DNA kondensasyonu, sperm DNA'sını dış faktörlere karşı koruyan doğal bir mekanizmadır. Spermin atılması sırasında bu katlanma bölgeleri onarılacak şekilde açılır. İntratestiküler ısı artışı, gonadoksinlerin varlığı, hormonal bozukluklar ve birçok ekzojen faktör bu onarım mekanizmasını olumsuz etkileyebilir. Erkek infertilitesinin düzeltilebilir en sık nedeni olan varikosel hastalığında hem intraskrotal sıcaklığın yükselmesi hem de reaktif oksijen radikallerinin artıp antioksidan kapasitenin azalmasına bağlı sperm DNA hasarı gelişebilmektedir (154,155). İntraskrotal sıcaklığın yükselmesi ve reaktif oksijen radikalleri-antioksidan sistem dengesinin bozulması ayrıca spermatogenez ve spermiyogenezin bozulmasına da yol açmaktadır (156,157).

Sperm DNA hasarının tespitinde SCSA (sperm kromatin yapı testi), TUNEL (terminal deoksinükleotidil transferaz aracılı dUDP uç etiketleme testi) ve COMET (tek hücre jel elektroforez testi) en yaygın kullanılan testlerdir. COMET testi, DNA sarmallarındaki kırıkları saptamada en duyarlı yöntemdir (158). Düşük düzeydeki DNA hasarlarını gösterebilmesi, analiz için az sayıda hücre gerekmesi, güvenli ve ekonomik olması COMET yönteminin avantajlarıyken (159); kontrolünün zor olması, sonuçların yorumlanması için karışık bilgisayar proglamları gerektirmesi bu yöntemin dezavantajlarıdır. TUNEL testi daha kolay uygulanmasına rağmen, COMET yöntemiyle tutarlı sonuçlar vermektedir (160). SCSA testinde ise sperm DNA'sının düşük pH ortamında denatürasyona uğrama hassasiyeti ölçülmekte olup, COMET ile benzer sonuçlar alınabilmektedir (161). COMET testi, SCSA/TUNEL testleriyle iyi korelasyona sahip olması ve bu testlere göre daha duyarlı olması nedeniyle sperm DNA hasarı tespitinde yaygın olarak kullanılmaktadır (160,161). Bu nedenlere bağlı olarak çalışmamızda sperm DNA hasarı ölçümünde COMET yöntemi kullanıldı.

Çalışmamızın istatistiksel analizi yapıldığında kontrol ve çalışma gruplarının yaş ve varikozel derecesine göre dağılımında anlamlı bir fark görülmedi. Bu randomizasyonla, sonuçların güvenilirliği açısından sağlıklı bir dağılım olduğunu göstermektedir. Ayrıca tüm hasta grubunda yaşla varikozel derecesi arasında ilişki olmadığı görüldü. Literatürde varikozelin yaşla ilişkili olmadığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Yaman ve arkadaşlarının adölesan yaş grubunda mikroskopik subinguinal varikoselektomi sonuçlarını raporladıkları çalışmalarında, cerrahi uyguladıkları adölesanların % 89'unda ameliyat öncesi grade 3 varikozel olduğu bildirilmiştir (148).

Çalışmamızda her iki grupta varikozel derecesine göre (grade 2 ve grade 3) semen parametrelerinin (total sperm sayısı, motil sperm sayısı, ileri hareketli sperm yüzdesi, sperm morfolojisi) ve sperm DNA hasarının preoperatif ve postoperatif değerleri karşılaştırıldığında, her iki grupta parametrelerin anlamlı fark olmayacak şekilde benzer dağılım gösterdiği görülmüştür. Özellikle preoperatif değerlerin benzerlik göstermesi randomizasyonun, her iki grupta hasta dağılımında dengeli olduğunu göstermektedir.

Reaktif oksijen radikallerinin üretimi grade 2 ve 3 varikoselde daha belirgin şekilde gerçekleşmektedir (162). Allamaneni ve arkadaşları tek taraflı grade 1 varikosele göre tek taraflı grade 2 ve 3 varikoselde daha belirgin oranda seminal ROS bulunduğunu göstermiştir (163). Yüksek dereceli varikoseli olan hastalarda, varikoselektomi sonrası semen kalitesinde daha belirgin düzelme görülmektedir (164,165). Bu nedenlerle çalışmamıza grade 2 ve 3 varikoseli olan hastalar dahil edildi, grade 1 ve subklinik varikoseli olan hastalar ise çalışma dışı bırakıldı. Bizim çalışmamızda grade 2 ve grade 3 varikosel hastalarında gerek kontrol gerekse çalışma grubunda tedavi sonrası anlamlı düzelme olduğu ancak tedaviyle tüm hasta grubundaki grade 2 ve grade 3 varikoselli hastaların sperm DNA hasarı ve semen parametrelerindeki düzelme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı görüldü.

Varikoselektomi sonrası total testosteron seviyesinde yükselme, seminal oksidatif strese azalma, antioksidan enzim kapasitesinde artma, intraskrotal ısıнын azalmasıyla apoptozisten sorumlu ısı-şok proteinleri ve spermatogenezden sorumlu DNA polimeraz aktivitesi artma görülmektedir. Bu mekanizmaların sonucu olarak varikoselektomi sonrası DNA fragmentasyonunda azalma, spermatogenez ve sperm fonksiyonlarında iyileşme görülmektedir (166). Öte yandan varikosel hastalarında, sperm DNA hasarının oksidatif stresle ilişkili olması nedeniyle antioksidan gıda takviyesinin yararlı olacağı rapor edilmiştir (167). 15 randomize klinik çalışmanın dahil edildiği ve gebelik oranlarının değerlendirildiği Cochrane meta-analizinde; 964 çiftten, antioksidan alan 515'inin 82'sinde (%16), antioksidan almayan 449'unun 14'ünde (%3) spontan gebelik saptandığı ve bu farkın istatistiksel anlamlı olduğu bildirilmiştir (168). Antioksidanların etki mekanizmaları arasında serbest oksijen radikallerine bağlama ya da daha zayıf bir moleküle dönüştürme, hidrojen iyonu vererek ya da doğrudan bağlanıp moleküler zincirlerini kırarak inaktif hale getirme ve serbest oksijen radikallerinin oluşturduğu hasarı onarma yer almaktadır. Günümüzde antioksidan moleküller farklı dozlarda tek başına veya kombinasyon şeklinde erkek infertilitesi tedavisinde kullanılmaktadır. Literatürde farklı etki mekanizmasına sahip antioksidan moleküllerin sinerjistik etkisinden yararlanabilmek amacıyla kombine antioksidan tedavisini kullanan, semen kalitesi artma ve sperm DNA hasarında azalma olduğunu gösteren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (169-

171). Menezo ve arkadaşları DFI değeri % 15'in üzerinde olan 58 hastaya 90 gün süreyle günlük 400 mg vitamin C + 400 mg vitamin E + 18 mg β -karoten + 500 μ mol çinko + 1 μ mol selenyumdan oluşan oral kombine antioksidan takviyesi vermiş. 90 gün sonunda DFI'da % 19,1 oranında azalma olduğunu raporlamıştır ($p < 0,0004$) (172). Literatürdeki bu bilgiler ışığında çalışmamızda, tek taraflı grade 2 ve 3 varikoseli olan hastalarda altın standart tedavi olan varikoselektomiye ilaveten kombine antioksidan gıda takviyesi vererek; sperm hücrelerinde DNA hasarı gelişimini önleyen bu iki tedavinin birbirine sinerjistik etkili olup olmadığını göstermeyi planladık. Hem kontrol hem de çalışma grubunda tedaviyle semen parametrelerinde ve sperm DNA hasarında anlamlı düzelme görüldü. Sperm DNA hasarında düzelme farkları kontrol ve çalışma grubunda sırasıyla 47,7 ve 49,3 AU olup varikoselektomi + antioksidan takviyesinin bir miktar daha faydalı olduğu görülse de her iki grup arasındaki düzelmede istatistiksel bir fark görülmedi ($p=0,245$). Bu durumun en önemli nedenlerinin çalışmamızda toplam 30 hastanın randomize edilmesi ve hastaların 3 ay süreyle takip edilmesi olduğu kanaatindeyiz. Öte yandan hastaların günlük diyetleri ve beslenme şeklindeki farklılıkları, çalıştıkları ortamda olası toksik madde ve elektromanyetik dalga maruziyetleri, cep telefonu ve bilgisayar kullanma sıklıkları, sigara ve alkol kullanımı gibi faktörlerin varlığı da çalışmamızın sonuçlarını etkilemiş olabileceği de göz ardı edilmemelidir. Çünkü güncel bilgiler doğrultusunda antioksidan + cerrahi tedavi kombinasyonunun sperm DNA hasarında daha anlamlı bir anlamlı bir azalma yapması beklenirdi. Yukarıda bahsedilen faktör ya da faktörlerden ötürü sperm DNA hasarındaki düzelmede her iki grup arasında istatistiksel fark bulunmaması olasıdır.

Çalışmamızın sonucunu toparlayacak olursak; total sperm sayısı, motil sperm sayısı, ileri hareketli sperm yüzdesi, sperm morfolojisi ve sperm DNA hasarında düzelme her iki grupta da istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Literatürde varikoselektominin semen parametreleri ve sperm DNA hasarı düzelmesi üzerine önemli ölçüde fayda sağlandığı bildirilmiştir (163,173). Bizim bu sonuçlarımız literatür bilgileri ile benzerlik göstermektedir. Öte yandan çalışmamızda total sperm sayısı, motil sperm sayısı, ileri hareketli sperm yüzdesi, sperm morfolojisi ve sperm DNA hasarı oranlarının preoperatif ve postoperatif

farkları değerlendirildiğinde antioksidan takviyesi verilen ve verilmeyen gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark izlenmedi. Bu sonuçlar da Pourmand ve arkadaşlarının 2014 yılında yayınladıkları çalışmalarının sonuçlarıyla benzerlik göstermektedir.

Pourmand ve arkadaşlarının varikozel hastalarında sadece varikosektomi tedavisi ile varikosektomi + antioksidan tedavisinin (L-karnitin) sperm DNA hasarı üzerine etkilerini karşılaştırdığı bir çalışma yayınlamıştır. Bu çalışmanın sonucu olarak, ek L-karnitin tedavisinin, semen parametrelerinde ve DNA hasarında düzelme açısından varikosektomiye ilave fayda sağlamadığı gösterilmiştir ($p=0,255$). Bizim çalışmamızda çıkan sonuçlar, bu çalışmadaki sonuçlarla benzerlik göstermektedir. Sonuçlarda benzerlik olmasına rağmen iki çalışma arasında materyal ve metod kısmında bazı farklılıklar göze çarpmaktadır. Bizim çalışmamızda sadece grade 2 ve 3 varikozelli hastalar çalışmaya dahil edilmişken; bu çalışmada subklinik varikozel dahil olmak üzere tüm derecelerdeki varikozelli hastalar çalışmaya dahil edilmiştir. Biz çalışmamızda antioksidan kombinasyonunu 3 ay süreyle 2x1 dozlamda kullanmışken; bu çalışmada antioksidan gıda takviyesi olarak 6 ay süreyle günlük 3 x 250 mg L-karnitin kullanılmıştır. Diğer farklar da bu çalışmada daha uzun takip yapılması ve farklı sperm DNA testlerinin kullanılmasıdır. Her iki gruptaki hastalardan 3. ve 6. aylarda semen örnekleri alınmış, PDA ve TUNEL teknikleriyle sperm DNA hasarları değerlendirilmiştir (174).

Çalışmamızın önemli eksiklerinden biri örneklem sayısının küçük olmasıdır. Örneklem sayısı, çalışmaya dahil edilme kriterlerini karşılayan sadece 30 hasta ile sınırlı kaldı. Diğer önemli eksikliği ise antioksidan gıda takviyesine başlandıktan 3 ay sonra takibin sonlandırılmasıydı. Takip süresinin uzun tutulmasıyla birlikte gebelik oranlarının da karşılaştırılmasının daha sağlıklı sonuçlar verebileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca antioksidan gıda takviyesi kombinasyonlarında kullanılacak moleküller ve bu moleküllerin günlük dozlarının optimum düzeyde verilecek şekilde tasarlanmasının daha faydalı olacağına inanmaktayız.

Tek başına varikosektomi ve antioksidan gıda takviyesinin sperm DNA hasarını azaltmada olumlu etkileri olduğu bilinmektedir. Bu nedenle kombine

antioksidan gıda takviyesinin, varikoselektomiye ek bir fayda gösterip göstermeyeceğini göstermede daha büyük örnekleme, daha uzun süre (6 ay veya daha uzun) takip yapılmasının faydalı olabileceğini düşünmekteyiz.



6. SONUÇ

Sperm DNA hasarı ve erkek infertilitesi arasında güçlü bir ilişki bulunmaktadır. Sperm DNA hasarı gelişmesinde birçok faktör yer almaktadır. Bu faktörler arasında en önemli etkenlerden birisi de varikozel hastalığıdır. Varikozel hastalığında intraskrotal ısı artışı ve serbest oksijen radikalleri – antioksidan sistem dengesinin bozulmasına bağlı sperm DNA hasarı gelişmektedir.

Varikozel hastalığının tedavisi varriköz venlerin ligasyonudur. Varikoselektomi sonrası sperm DNA hasarında düzelme görülmektedir. Antioksidan gıda takviyesi de serbest oksijen radikallerinin temizlenmesinde kullanılan etkili bir yöntemdir.

Çalışmamızda varikozel hastalarında, varikoselektomi tedavisine ek olarak verilen antioksidan gıda takviyesinin ek bir fayda sağlayıp sağlamayacağını göstermek istedik. Çalışmanın sonuçları değerlendirildiğinde hem kontrol hem de çalışma grubunda semen parametreleri ve sperm DNA hasarında istatistiksel olarak anlamlı düzelme olduğunu gösterdik. Çalışmamızın bu bulguları, literatürü destekler niteliktedir. Ancak çalışmamızda her iki grubun semen parametreleri ve sperm DNA hasarlarının preoperatif ve postoperatif farkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptayamadık.

Sonuç olarak daha geniş bir örnekleme, daha uzun süreli takibin yapıldığı randomize prospektif çalışmalara ihtiyaç olduğu kanısındayız.

7.ÖZET

Varikosele bağılı gelişen seminal oksidatif stresin giderilmesinde varikoselektomi ile varikoselektomi + antioksidan gıda takviyesinin karşılaştırılması

Amaç: Bu çalışmada, tek taraflı klinik olarak grade 2 ve 3 varikoseli olan hastalarda altın standart tedavi olan varikoselektomiye ilavaten kombine antioksidan gıda takviyesinin semen parametreleri ve sperm DNA hasarı düzelmesi üzerine ek bir etkisinin bulunup bulunmadığı incelendi.

Yöntem ve Gereç: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi üroloji polikliniğine Nisan 2016 ve Mayıs 2017 tarihleri arasında başvuran 18-45 yaş arası, üroloji polikliniğinde klinik ve radyolojik olarak grade 2 veya 3 varikosel tanısı doğrulanıp cerrahi endikasyon konulan tek taraflı varikoseli olan, semen parametrelerinde bozulmaya neden olacak başka bir neden bulunmayan, kronik ilaç kullanımını gerektiren komorbiditelerin olmayan, sigara kullanmayan hastaların preoperatif ve postoperatif 3. ayda semen örneklerinden sperm DNA hasarları COMET yöntemiyle değerlendirildi. Kontrol grubuna sadece varikoselektomi ameliyatı yapıldı, çalışma grubuna ise varikoselektomiye ek olarak kombine antioksidan gıda takviyesi verildi. Kontrol ve çalışma grupları, sperm DNA hasarlarındaki düzelme açısından istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Bulgular: Çalışmaya dahil edilen yaş aralığı 18-45 arasında değişen toplam 30 hastadan 15'i kontrol grubuna, 15'i de çalışma grubuna randomize edildi. Kontrol grubunda ortalama yaş 29,4 ($\pm$ 5,2), ortanca yaş 31 olarak; çalışma grubunda ortalama yaş 32,2 ($\pm$ 6,9), ortanca yaş 30 olarak saptandı. Yaş değişkeni açısından kontrol ve çalışma grupları arasında anlamlı fark yoktu. Her iki grupta da semen parametrelerinde (total sperm sayısı, motil sperm sayısı, ileri hareketli sperm oranı, sperm morfolojisi) tedavi sonrası dönemde istatistiksel olarak anlamlı düzelme izlendi. Kontrol grubunda preop ve postop sperm DNA hasarı değerleri sırasıyla 221,87 ve 174,3 AU iken; çalışma grubunda ise sırasıyla 198,13 ve 148,80 AU idi. Her iki grupta da tedavi öncesine tedavi sonrasında sperm DNA hasarında anlamlı bir

düzelme olduğu görüldü (her iki grupta $p < 0,001$). Ancak iki grup arasında düzelme farkları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark izlenmedi (total sperm sayısı = 0,081, motil sperm sayısı = 0,329, ileri hareketli sperm yüzdesi = 0,905, sperm morfolojisi = 0,269, sperm DNA hasarı = 0,245).

Sonuç: Gruplar birbirinden bağımsız olarak incelendiğinde, her iki grupta da tedavi sonrası semen parametleri ve sperm DNA hasarında anlamlı düzelme izlendi. Ancak bu düzelmeler iki grup arasında karşılaştırıldığında anlamlı fark izlenmedi. Antioksidan takviyenin ilave bir fayda gösterip göstermeyeceğini değerlendirmede daha fazla hastadan oluşan, daha uzun takip serileri olan randomize prospektif çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Anahtar sözcükler: Varikosel, Sperm DNA hasarı, Antioksidan gıda takviyesi, COMET yöntemi

8. SUMMARY

Comparing of varicocelelectomy and varicocelelectomy + antioxidant food supplementation in elimination of seminal oxidative stress due to varicocele.

Purpose: The aim of this study is to evaluate the effect of antioxidant food supplementation in addition to varicocelelectomy with gold standard treatment varicocelelectomy on semen parameters and DNA damage in patients with unilateral grade 2 and 3 varicocele.

Material and Methods: Sperm DNA damage in semen analyzes of patients between 18-45 years with clinical and radiological approved and indicated for operation unilateral grade 2- 3 varicocele approached to Ankara University urology polyclinic were evaluated. Additional conditions caused in semen parameter degradation, chronic medication required comorbidities and cigarette use were excluded. Semen analyzes of patients evaluated by COMET method in preoperative and postoperative 3rd months. Control group included only patients treated by varicocelelectomy, study group included patients treated with antioxidant combination food supplementation additional to varicocelelectomy. Statistical comparison made between two groups regard of DNA damages.

Results: Thirty patients between 18-45 ages randomized as control and study groups. Control group included 15 patients, mean age was 29,4 ($\pm$ 5,2). Study group included 15 patients, mean age was 32,2 ($\pm$ 6,9). There was no significant difference between groups among patient's age. Statistically significant improvement detected postoperatively in semen parameters (total sperm count, motile sperm count, sperm motility, sperm morphology, sperm DNA damage) of both groups. While preoperative and postoperative DNA damage value of control group was 221,87 and 174,3 AU, study groups values was 198,13 and 148,80 AU respectively. Statistically significant improvement in preoperative and postoperative DNA damage values detected in both groups ($p < 0,001$). But there wasn't statistically significant difference in recovery rates between two groups (total sperm count = 0,081, motile

sperm count = 0,329, sperm motility = 0,905, sperm morphology = 0,269, sperm DNA damage = 0,245).

Conclusion: There was significant recovery in semen parameters and DNA damages in two groups independently after treatment. But there was not significant statistically difference between groups. For approval of additional benefits of antioxidant treatment in varicocele cure randomized studies with wide series and with long term follow-up are needed.

Key words: Varicocele, Sperm DNA damage, Antioxidant food supplementation, COMET method.

9. KAYNAKLAR

- 1) Agarwal A, Allamaneni SS. Sperm DNA damage assessment: a test whose time has come. *Fertil Steril*. 2005; 84: 850-3.
- 2) Evenson DP, Jost LK, Marshall D, Zinaman MJ, Clegg E, Purvis K, de Angelis P, Claussen OP. Utility of the sperm chromatin structure assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. *Hum Reprod*. 1999; 14: 1039-49.
- 3) Spano M, Bonde JP, Hjollund HI, Kolstad HA, Cordelli E, Leter G. Sperm chromatin damage impairs human fertility. The Danish First Pregnancy Planner Study Team. *Fertil Steril*. 2000; 73: 43- 50.
- 4) Twigg J, Irvine DS, Houston P, Fulton N, Micheal L, Aitken RJ. Iatrogenic DNA damage induced in human spermatozoa during sperm preparation: protective significance of seminal plasma. *Mol Hum Reprod*. 1998; 4: 439- 45.
- 5) Agarwal A, Said TM. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility. *Hum Reprod Update*. 2003; 9: 331- 45.
- 6) Saleh RA, Agarwal A, Nelson DR, Nada EA, El-Tonsy MH, Alvarez JG, Thomas AJ, Sharma RK. Increased sperm nuclear DNA damage in normozoospermic infertile men: a prospective study. *Fertil Steril*. 2002; 78: 313- 8.
- 7) Virro MR, Larson-Cook KL, Evenson DP. Sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters are related to fertilization, blastocyst development, and ongoing pregnancy in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril*. 2004; 81: 1289- 95.
- 8) Zini A, Bielecki R, Phang D, Zenzes MT. Correlations between two markers of sperm DNA integrity, DNA denaturation and DNA fragmentation, in fertile and infertile men. *Fertil Steril*. 2001; 75: 674- 7.
- 9) Kodama H, Yamaguchi R, Fukuda J, Kasai H, Tanaka T. Increased oxidative deoxyribonucleic acid damage in the spermatozoa of infertile male patients. *Fertil Steril*. 1997; 68: 519- 24.

- 10) Smith R, Kaune H, Parodi D, et al. Increased sperm DNA damage in patients with varicocele relationship with seminal oxidative stress. *Human Reprod.* 2006; 21(4): 986-993.
- 11) Evers JLH, Collins JA. Assessment of efficacy of varicocele repair for male subfertility: A systematic review. *Lancet.* 2003; 361: 1849-1852.
- 12) Cavallini G, Ferraretti AP, Gianaroli L. Cinnoscam and L-Carnitine/Acetyl-L-Carnitine Treatment for Idiopathic and Varicocele-Associated Oligoasthenospermia. *Journal of Andrology.* 2004; 25(5): 761-70.
- 13) Balercia G, Mosca F, Mantero F. Coenzyme Q10 supplementation in infertile men with idiopathic asthenozoospermia: an open, uncontrolled pilot study. *Fertility and Sterility.* 2004; 81(1): 93-98.
- 14) Alkhedaide A, Alshehri ZS, Sabry A. Protective effect of grape seed extract against cadmium-induced testicular dysfunction. *Mol Med Rep.* 2016; 13(4): 3101-9.
- 15) Gharagozloo P, Gutiérrez-Adán A, Champroux A. A novel antioxidant formulation designed to treat male infertility associated with oxidative stress: promising preclinical evidence from animal models. *Hum Reprod.* 2016; 31(2): 252-62.
- 16) Ebisch IM, Pierik FH, De Jong FH. Does folic acid and zinc sulphate intervention affect endocrine parameters and sperm characteristics in men? *Int J Androl.* 2006; 29(2): 339-45.
- 17) Kumazawa S, Taniguchi M, Suzuki Y. Antioxidant activity of polyphenols in carob pods. *J Agric Food Chem.* 2002; 50(2): 373-7.
- 18) Balercia G, Regoli F, Armeni T. Placebo-controlled double-blind randomized trial on the use of L-carnitine, L-acetylcarnitine, or combined L-carnitine and L-acetylcarnitine in men with idiopathic asthenozoospermia. *Fertility and Sterility.* 2005. 84; 3: 662-71.
- 19) Gharagozloo P, Aitken RJ. The role of sperm oxidative stress in male infertility and the significance of oral antioxidant therapy. *Human Reproduction.* 2011; 26(7): 1628-40.
- 20) Sellandi TM, Thakar AB, Baghel MS. Clinical study of *Tribulus terrestris* Linn. in Oligozoospermia: A double blind study. *Ayu J.* 2012; 33(3): 356-64.

- 21) Witschi E. Early history of human germ cells. *Anat Rec.* 1946; 94: 506.
- 22) Barret CLR: spermatogenesis. In Grundzinskas JG, Yovich JL (eds): *Gametes-The Spermatozoon*. Cambridge University Press. 1995: 250-267.
- 23) Clermont Y. Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. *Physiol Rev.* 1972; 52(1): 198-236.
- 24) Clermont Y. Renewal of spermatogonia in man. *Am J Anat.* 1966;118(2):590-24.
- 25) Heller CH, Clermont Y. Kinetics of the germinal epithelium in man. *Recent Prog Horm Res.* 1964; 20: 545-75.
- 26) Kaynak: <http://www.biyolojiportali.com/konu-anlatimi/5/17/Spermatogenez-ve-Spermin-Yapisi> Erişim tarihi: 08.04.2017
- 27) Kaynak:<http://www.biyolojiportali.com/konu-anlatimi/5/17/Spermatogenez-ve-Spermin-Yapisi> Erişim tarihi: 08.04.2017
- 28) Girourad J, Frenette G, Sullivan R. Compartmentalization of proteins in epididymosomes coordinates the association of epididymal proteins with the different functional structures of bovine spermatozoa. *Biol Reprod.* 2009; 80: 965-72.
- 29) Turner T. De Graaf's Thread: The Human Epididymis. *J Androl.* 2008; 9: 237-50.
- 30) Tauber PF, Propping D, Schumacher GFB, Zanaveld LJD. Biochemical aspects of the coagulation and liquefaction of human semen. *J Androl.* 1980; 1: 281-8.
- 31) Robert M, Gagnon C. Semenogelin 1: a coagulum forming, multifunctional seminal vesicle protein. *Cell Mol Life Sci.* 1999; 55: 944-60.
- 32) Gonzales GF, Kortebani G, Mazzolli AB. Hyperviscosity and hypofunction of the seminal vesicles. *Arch Androl.* 1993; 30: 63-8.
- 33) Consentino MJ, Emilson EBV, Cockett ATK. Prostaglandins in semen and their relationship to male fertility: a study of 145 men. *Fertil Steril.* 1984; 41: 88-94.
- 34) Lewis SE, Sterling ES, Young IS, Thompson W. Comparison of individual antioxidants of sperm and seminal plasma in fertile and infertile men. *Fertil Steril.* 1997; 67: 142-7.

- 35) Bukovsky A, Thaler CJ, McIntyre JA, Faulk WP. Seminal vesicles: a source of thropholast lymphocyte cross-reactive antijen. *Fertil Steril*. 1989; 52: 463-8.
- 36) Kaynak: <http://www.mumcu.com/spermatogenez-erkekte-sperm-uretimi/>
Erişim tarihi: 08.04.2017
- 37) Peschon JJ, Behringer RR, Brinster RL, Palmiter RD. Spermatid-specific expression of protamine-1 in transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1987; 84: 5316-9.
- 38) Zini A, Bielecki R, Phang D, Zenzes MT. Correlations between two markers of sperm DNA integrity, DNA denaturation and DNA fragmentation in fertile and infertile men. *Fertil Steril*. 2001; 75(4): 674-7.
- 39) Evenson DP, Jost LK, Marshall D, Zinaman MJ, Clegg E, Purvis K et al. Utility of the sperm chromatin structure assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. *Hum Reprod*. 1999; 14(4): 1039-49.
- 40) Evenson DP, Wixon R. Clinical aspects of sperm DNA fragmentation detection and male infertility. *Theriogenology*. 2006; 65(5): 979-91.
- 41) Giwercman A, Lindstedt L, Larsson M, Bungum M, Spano M, Levine RJ et al. Sperm chromatin structure assay as an independent predictor of fertility in vivo: a case-control study. *Int J Androl*. 2010; 33(1): 221-7.
- 42) Saleh RA, Agarwal A, Nelson DR, Nada EA, El-Tonsy MH, Alvarez JG et al. Increased sperm nuclear DNA damage in normozoospermic infertile men: a prospective study. *Fertil Steril*. 2002; 78(2): 313-8.
- 43) Agarwal A, Said TM. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility. *Hum Reprod Update*. 2003; 9(4): 331-45.
- 44) Oliva R. Protamines and Male Infertility. *Human Reproduction Update*. 2006; 12: 417-35.
- 45) Zhang X, San Gabriel M, Zini A. Sperm nuclear histone to protamine ratio in fertile and infertile men: evidence of heterogeneous sub-populations of spermatozoa in the ejaculate. *J Androl*, 2006; 27: 414- 20.
- 46) Seli E., Sakkas D. Spermatozoal Nuclear Determinants of Reproductive Outcome: implications for ART. *Hum Reprod Update*. 2005; 11(4): 337-349.

- 47) Sharma R.K, Said T, Agarwal A. Sperm DNA damage and its clinical relevance in assessing reproductive outcome. *Asian J Androl.* 2004; 6: 139-48.
- 48) Print CG, Loveland KL. Germ cell suicide: new insights into apoptosis during spermatogenesis. *Bioessays.* 2000; 22(5): 423-30.
- 49) Cross AR, Jones OT. Enzymic mechanisms of superoxide production. *Biochim biophys Acta.* 1991; 1057: 291-298.
- 50) Christova Y, James PS, Jones R. Lipid diffusion in sperm plasma membranes exposed to peroxidative injury from free radicals. *Mol Reprod Dev.* 2014; 68: 365-372.
- 51) Henkel R, Kierspel E, Stalf T, et al. Effect of reactive oxygen species produced by spermatozoa and leucocytes on sperm functions in non-leuko-cytospermic patients. *Fertil Steril.* 2005; 83(3): 635-642.
- 52) Agarwal A, Allamaneni SSR. Free radicals and male reproduction. *J Indian Med Assoc.* 2011; 109: 184-7.
- 53) Lau LI, Liu CJ, Wei YH. Increase of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine in aqueous humor of patients with exudative age related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010; 51: 5486-90.
- 54) Bennetts LE and Aitken RJ. A comparative study of oxidative DNA damage in mammalian spermatozoa. *Mol Reprod Dev.* 2005; 71: 77.
- 55) Seli E., Sakkas D. Spermatozoal Nuclear Determinants of Reproductive Outcome: implications for ART. *Hum Reprod Update.* 2005; 11(4): 337-349.
- 56) Alkan I, Simsek F, Haklar G, et al. Reactive oxygen species production by the spermatozoa of patients with idiopathic infertility: relationship to seminal plasma antioxidants. *J Urol.* 1997; 153: 140-143.
- 57) Chen H, Chow PH, Cheng SK, et al. Male genital tract antioxidant enzymes: their source, function in the female, and ability to preserve sperm DNA integrity in golden hamster. *J. Androl.* 2003; 24: 704-711.
- 58) Halliwell B, Gutteridge J.M.C. *Free Radicals in Biology and Medicine.* Third edition. Oxford University Press. 1999; 1-29.
- 59) Pasqualotto F.F; Soreiro B.P, Hallak J, et al. Cigarette smoking is related to a decrease in semen volume in a population of fertile men. *BJU International.* 2005; 97: 324-26.

- 60) WHO: World Health Organization Laboratory Manual For The Examination Of Human Semen And Sperm-Cervical Mucus Interaction. 4th Ed. New York: Cambridge University Press: Cambridge.1999.
- 61) Agarwal A. Significance of oxidative stress and sperm chromatin damage. In male infertility and lipid metabolism Vriese S.D, Christophe A: AOCS press, <http://www.Clevelandclinic.Org/Reproductiveresarchcenter/Docs/Agrach014.Pdf>, Champaign; IL.2003; Chapter 13: 157-183.
- 62) Alvarez J.G, Sharma R.K, Ollero M, et al. Increased DNA damage in sperm from leukocytospermic semen samples as determined by the sperm chromatin structure assay. Fertil Steril. 2002; 78(2): 319-29.
- 63) Baker MA, Aitken RJ. Reactive oxygen species in spermatozoa: methods for monitoring and significance for the origins of genetic disease and infertility. Repr Biol Endocrinol. 2005; 3: 67.
- 64) Baker MA, Aitken RJ. Reactive oxygen species in spermatozoa: methods for monitoring and significance for the origins of genetic disease and infertility. Repr Biol Endocrinol. 2005; 3: 68.
- 65) Richer C. Free radical mediated DNA oxidation. In Wallace KB. Free radical toxicology.(Eds) Taylor and Francis, 1997, 1st ed.Washington, chap 6:89-115.
- 66) Narter F. Serbest oksijen radikalleri ve DNA hasarları. Moleküler Üroloji, Türkeri L, Özer A, Narter F. 2012; 15: 288
- 67) Narter F. Serbest oksijen radikalleri ve DNA hasarları. Moleküler üroloji, Türkeri L, Özer A, Narter F. 2012; 15: 289.
- 68) Kaynak: <http://cms.galenos.com.tr/FileIssue/15/701/article/52-58.pdf> Erişim zamanı: 08.04.2017
- 69) Smith R, Kaune H, Parodi D, et al. Increased sperm DNA damage in patients with varicocele relationship with seminal oxidative stress. Human Reprod. 2006; 21(4): 986-993.
- 70) Akyol O, Ozbek E, Uz E, Kocak I. Malondialdehyde level and total superoxide dismutase activity in seminal fluid from patients with varicocele. Clin Exp Med. 2001; 1: 67-8.

- 71) Koksall IT, Tefekli A, Usta M, Erol H, Abbasoğlu S, Kadioglu A. The role of reactive oxygen species in testicular dysfunction associated with varicocele. *BJU Int* 2000; 86(4): 544-552.
- 72) Evers JLH, Collins JA. Assessment of efficacy of varicocele repair for male subfertility: A systematic review. *Lancet*. 2003; 361: 1849-1852.
- 73) Marmar JL, Agarwal A, Prabakaran S, et al. Reassessing the value of varicocelectomy as a treatment for male subfertility with a new meta-analysis. *Fertil Steril*. 2007; 88(3): 639-648.
- 74) Colagar A, Marzony E, Chaichi M. Zinc levels in seminal plasma are associated with sperm quality in fertile and infertile men. *Nutr Res*. 2009; 29: 82-88.
- 75) Omu A, Al-Azemi M, Kehinde E, et al. Indications of the mechanism involved in improved sperm parameters by zinc therapy. *Med Princ Pract*. 2008; 17: 108-116.
- 76) Scott R, Marpherson A, Yates R, et al. The effect of oral selenium supplementation on human sperm motility. *Br J Urol*. 1998; 82: 76-80.
- 77) Appleton J. Arginine: Clinical potential of a semi essential amino acid. *Altern Med Rev*. 2002; 7(6): 512-522.
- 78) National Academy of Sciences. Institute of Medicine. Food and Nutrition Board. Dietary guidance: DRI tables. US Department of Agriculture, National Agriculture Library and National Academy of Sciences, Institute of Medicine. Food and Nutrition Board, 2009.
- 79) Safarinejad MR. Efficacy of coenzyme Q10 on semen parameters, sperm function and reproductive hormones in infertile men. *J Urol*. 2009; 182: 237-248.
- 80) Balercia G, Regoli F, Armeni T et al. Placebo-controlled double-blind randomized trial on the use of L-carnitine, L-acetylcarnitine, or combined L-carnitine and L-acetylcarnitine in men with idiopathic asthenozoospermia. *Fertil Steril*. 2003; 79(2): 292-300.
- 81) Lenzi A, Lombardo F, Sgro P, et al. Use of carnitine therapy in selected cases of male factor infertility; a double-blind crossover trial. *Fertil Steril*. 2003; 79(2): 292-300.

- 82) Lenzi A, Culasso F, Gandini L, et al. Placebo-controlled, double-blind, cross-over trial of glutathione therapy in male infertility. *HumReprod* 1993; 8(10): 1657-1662.
- 83) Kessopoulou E, Powers HJ, Sharma KK, et al. A double-blind randomized placebo cross-over controlled trial using the antioxidant vitamin E to treat reactive oxygen species associated male infertility. *Fertil Steril*. 1995; 64(4): 825-831.
- 84) Wayner DD, Burton GW, Ingold KU. The antioxidant efficiency of vitamin C is concentration-dependent. *Biochim Biophys Acta*. 1986; 884(1): 119-2.
- 85) Greco E, Romano S, Iacobelli M, et al. ICSI in cases of sperm DNA damage: beneficial effect of oral antioxidant treatment. *Hum Reprod* 2005; 20: 2590-4.
- 86) Safarinejad MR, Safarinejad S. Efficacy of selenium and/or n-acetylcysteine for improving semen parameters in infertile men: a double-blind, placebo controlled, randomized study. *J Urol*. 2009;181(2):741-51.
- 87) Khera M, Lipshultz LI. Evolving approach to the varicocele. *Urol Clin North Am* 2008; 35: 183-9.
- 88) Nöske HD, Weidner W. Varicocele—a historical perspective. *World J Urol* 1999: 151-157.
- 89) Richardson I, Grotas AB, Nagler HM. Outcomes of varicocele treatment: an updated critical analysis. *Urol Clin North Am* 2008; 35: 191-209.
- 90) Gat Y, Bachar GN, Zukerman Z, Belenky A, Gornish M. Varicocele: a bilateral disease. *Fertil Steril*. 2004; 81(2): 424-9.
- 91) Anafarta K, Arıkan N, Bedük Y. *Temel Üroloji*, 2011: 1021.
- 92) Kaynak: http://www.urotip.com.tr/wp-content/uploads/varikosel_2.jpg Erişim zamanı: 08.04.2017
- 93) Zini A, Boman JM: Varicocele: red flag or red herring? *Semin Reprod Med*. 2009; 27(2): 171-8.
- 94) Zini A, Boman JM: Varicocele: red flag or red herring? *Semin Reprod Med*. 2009; 27(2): 171-8.
- 95) Kohler FP. On the etiology of varicocele. *J Urol*. 1967; 97(4): 741-2.
- 96) Zini A, Boman JM: Varicocele: red flag or red herring? *Semin Reprod Med*. 2009; 27(2): 171-8.

- 97) Mieusset R, Bujan L, Mondinat C, Mansat A, Pontonnier F, Grandjean H. Association of scrotal hyperthermia with impaired spermatogenesis in infertile men. *Fertil Steril*. 1987; 48(6): 1006-11.
- 98) Wang C, Cui YG, Wang XH, Jia Y, Sinha Hikim A, Lue YH, Tong JS, Qian LX, Sha JH, Zhou ZM, Hull L, Leung A, Swerdloff RS. Transient scrotal hyperthermia and levonorgestrel enhance testosterone-induced spermatogenesis suppression in men through increased germ cell apoptosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007; 92(8): 3292-304.
- 99) Fujisawa M, Yoshida S, Kojima K, Kamidono S. Biochemical changes in testicular varicocele. *Arch Androl*. 1989; 22(2):149-59.
- 100) Hudson RW, Perez-Marrero RA, Crawford VA, McKay DE. Hormonal parameters of men with varicoceles before and after varicocelectomy. *Fertil Steril*. 1985; 43(6): 905-10.
- 101) Tanrikut C, Goldstein M, Rosoff JS, Lee RK, Nelson CJ, Mulhall JP. Varicocele as a risk factor for androgen deficiency and effect of repair. *BJU Int*. 2011; 108(9): 1480-4.
- 102) Rajfer J, Turner TT and Rivera F. Inhibition of testicular testosterone biosynthesis following experimental varicocele in rats. *Biol Reprod*. 1987;36:933-7.
- 103) Kass EJ, Freitas JE, Salisz JA, Steinert BW. Pituitary gonadal dysfunction in adolescents with varicocele. *Urology*. 1993; 42(2): 179-81.
- 104) 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*. 2008;42(5):441-3.
- 105) Çayan S, Kadioğlu A, Orhan I, Kandıralı E, Tefekli A, Tellaloğlu S. The effect of microsurgical varicocelectomy on serum follicle stimulating hormone, testosterone and free testosterone levels in infertile men with varicocele. *BJU Int*. 1999; 84: 1046-9.
- 106) Mostafa T, Anis T, El Nashar A, Imam H, Osman I. Seminal plasma reactive oxygen species-antioxidants relationship with varicocele grade. *Andrologia*. 2012; 44(1): 66-9.

- 107) Altunoluk B, Efe E, Kurutas EB, Gul AB, Atalay F, Eren M. Elevation of both reactive oxygen species and antioxidant enzymes in vein tissue of infertile men with varicocele. *Urol Int*. 2012; 88(1): 102-6.
- 108) Fujisawa M, Yoshida S, Kojima K, et al. Biochemical changes in testicular varicocele. *Arch Androl*. 1989; 22: 149-5.
- 109) Sweeney TE, Rozum JS, Gore RW. Alteration of testicular microvascular pressures during venous pressure elevation. *Am J Physiol*. 1995; 269(1,2): 37-45.
- 110) Ito H, Fuse H, Minagawa H, Kawamura K, Murakami M, Shimazaki J. Internal spermatic vein prostaglandins in varicocele patients. *Fertil Steril*. 1982; 37(2): 218-22.
- 111) Benoff S, Hurley I, Cooper GW, Mandel FS, Rosenfeld DL, Hershlag A. Head-specific mannose-ligand receptor expression in human spermatozoa is dependent on capacitation-associated membrane cholesterol loss. *Hum Reprod*. 1993; 8(12): 2141-54.
- 112) Cameron DF, Snyder FE. The blood-testis barrier in men with varicocele: a lanthanum tracer study. *Fertil Steril*. 1980; 34(3): 255-8.
- 113) Shook TE, Nyberg LM, Collins BS, Mathur S. Pathological and immunological effects of surgically induced varicocele in juvenile and adult rats.; *Am J Reprod Immunol Microbiol*. 1988; 17(4): 141-4.
- 114) Golomb J, Vardinon N, Homonnai ZT, Braf Z, Yust I. Demonstration of antispermatozoal antibodies in varicocele-related infertility with an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Fertil Steril*. 1986; 45(3): 397-402.
- 115) Ozturk U, Kefeli M, Asci R, Akpolat I, Buyukalpelli R, Sarikaya S. The effects of experimental left varicocele on the epididymis. *Syst Biol Reprod Med*. 2008; 54(4-5): 177-84.
- 116) Zhang QY, Qiu SD, Ma XN, Yu HM, Wu YW. Effect of experimental varicocele on structure and function of epididymis in adolescent rats. *Asian J Androl*. 2003; 5(2): 108-12.

- 117) Tek M, Cayan S, Yılmaz N, Oğuz I, Erdem E, Akbay E. The effect of of vasculae endothelial growht factor on sermatogenesis and apoptosis in experimentally varicocele-induced adolescent rats. *Fertil Steril*. 2009; 1: 2247-52.
- 118) Wu GJ, Chang FW, Lee SS, Cheng YY, Chen CH, Chen IC. Apoptosis-related phenotype of ejaculated spermatozoa in patients with varicocele.; *Fertil Steril*. 2009;91(3): 831-7.
- 119) Fujisawa M, Ishikawa T. Soluble forms of fas and fas ligand concentrations in the seminal plasma of infertile men with varicocele. *J Urol*. 2003; 170(6): 2363-5.
- 120) Cayan S, Kadioğlu A. Varikoselin tanı ve tedavisinde güncel yaklaşımlar. *Türk Üroloji Dergisi* 2005; 31: 57-63.
- 121) Anafarta K, Arıkan N, Bedük Y. *Temel Üroloji*, 2011: 1023.
- 122) Gat Y, Bachar GN, Zukerman Z, Belenky A, Gorenish M. Physical examination may miss the diagnosis of bilateral varicocele: a comparative study of 4 diagnostic modalities. *J Urol* 2004;172:1414-7.
- 123) Preutthipan S, Nicholas OA. Comparative study between scrotal physical examination and scrotal ultrasonography in the detection of varicocele in men with infertility. *J Med Assoc Thai* 1995; 78: 135-9.
- 124) Pryor JL, Howards SS. Varicocele. *Urol Clin North Am* 1987; 14: 499-513.
- 125) Jungwirth A, Diemer T, Dohle G.R, Giwercman A, Kopa Z, Krausz C, Tournaye H. Male infertility. *EAU*. 2012: 30-1.
- 126) Beddy P, Geoghegan T, Browne F, Torregiani WC. Testicular varicoceles. *Clin Radiol*. 005; 60: 1248-55.
- 127) Julia Spencer Barthld, MD. Abnormalities of the testis and scrotum and their surgical menagement. *Campbell Walsh Urology*, 10th edition. 2012: 3574-6.
- 128) Ahlberg NE, Bartley O, Chideke N. Plebography in varicocele seroti. *Acta Radiol Diag Stockl*. 1966; 4: 517-28.
- 129) Beddy P, Geoghegan T, Browne F, Torregiani WC. Testicular varicoceles. *Clin Radiol*. 2005; 60: 1248-55.
- 130) Jungwirth A, Diemer T, Dohle GR. *EAU Kılavuzları, Male Infertility*. 2016: 19.

- 131) Kiuchi H, Koga M, Hirai T, Namba Y, Takeyama M, Nishimura K, Tsujimura A, Matsumiya K, Okuyama A. Predictive factors associated with successful varicocele repair a study of 139 infertile men with valicocele. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi* 2005; 96: 480-6.
- 132) Richardson I, Grotas AB, Nagler HM. Outcomes of varicocelectomy treatment: an updated critical analysis. *Urol Clin North Am* 2008; 35: 191-209.
- 133) Rodriguez Peña M, Alescio L, Russell A, Lourenco da Cunha J, Alzu G, Bardoneschi E. Predictors of improved seminal parameters and fertility after varicocele repair in young adults. *Andrologia* 2009; 41: 277-81.
- 134) Zheng YQ, Gao X, Li ZJ, Yu YL, Zhang ZG, Li W. Efficacy of bilateral and left varicocelectomy in infertile men with left clinical and right subclinical varicoceles: a comparative study. *Urology* 2009; 73: 1236-40.
- 135) Cayan S, Lee D, Black LD, Reijo Pera RA, Turek PJ. Response to varicocelectomy in oligospermic men with and without defined genetic infertility. *Urology* 2001; 57: 530-5.
- 136) Pasqualotto FF, Lucon AM, de Góes PM, Sobreiro BP, Hallak J, Pasqualotto EB, Arap S. Relationship between the number of veins ligated in a varicocelectomy with testicular volume, hormonal levels and semen parameters outcome. *J Assist Reprod Genet* 2005; 22: 245-9.
- 137) Anafarta K, Arıkan N, Bedük Y. *Temel Üroloji*, 2011: 1024.
- 138) Cayan S, Shavakhabov S, Kadioğlu A. Treatment of palpable varicocele in infertile men: a meta-analysis to define the best technique. *J Androl.* 2009;30(1):33-40.
- 139) Ding H, et al. Open non-microsurgical, laparoscopic or open microsurgical varicocelectomy for male infertility: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BJU Int*, 2012; 110: 1536.
- 140) Cayan S, Kadioglu TC, Tefekli A, Kadioglu A, Tellaloglu S. Comparasion of results and complications of high ligation surgery and microsurgical high inguinal varicocelectomy in the treatment of varicocele S. *Urology*. 2000; 55: 750-4.

- 141) Ross LS, Ruppman N. Varicocele vein ligation in 565 patients under local anesthesia: a longterm review of technique, results and complications in light of proposed manegement by laparoscopy. J Urol. 1993; 149:1361-3.
- 142) Chan PK, Wright J, Goldstein M. Incidence and outcomes of accidental ligation of the testicular artery during microsurgical varicocelectomy. J Urol. 2005;173:482-4.
- 143) Çayan S. Varikoselin güncel tedavisi. Türkiye Klinikleri J Urology-Special Topics 2017;10(1):30
- 144) Cayan S, Kadioglu TC, Tefekli A, Kadioglu A, Tellaloglu S. Comparasion of results and complications of high ligation surgery and microsurgical high inguinal varicocelectomy in the treatment of varicocele S. Urology. 2000; 55: 750-4.
- 145) Barbalias GA, Liatsikos EN, Nikiforidis G, Siablis D. Treatment of varicocele for male infertility: a comparative study evaluating currently used approaches. Eur Urol. 1998; 34: 393-8.
- 146) World Health organization: Laboratory manual for the examination and processing of human semen, 5th ed. Geneva: WHO Press, 2010.
- 147) Aydos OS, Yukselten Y, Kaplan F, Sunguroglu A, Aydos K. Analysis of the correlation between sperm DNA integrity and conventional semen parameters in infertile men. Turk J Urol 2015;41(4):191-7.
- 148) Yaman O, Soygur T, Zumurutbas AE, Resorlu B. Results of microsurgical subinguinal varicocelectomy in children and adolescents. Urology 2006;68(2):410-2.
- 149) Kadioğlu A, Çayan S, Aydos K, Aşçı R, Alıcı B. Türk Androloji Derneği Varikosel Kılavuzu. İstanbul: Türk Androloji Derneği Yayını; 2004.p.1-15.
- 150) Baazeem A, Belzile E, Ciampi A, Dohle G, Jarvi K, Salonia A, et al. Varicocele and male factor infertility treatment: a new meta-analysis and review of the role of varicocele repair. Eur Urol 2011;60(4):796-808.
- 151) Sharlip ID, Jarow JP, Belker AM, Lipshultz LI, Sigman M, Thomas AJ, et al. AUA Best practice policy: Report on varicocele and infertility. American Urological Association Inc, Baltimore, MD, USA; 2001.

- 152) Dohle GR, Colpi GM, Hargreave TB, Papp GK, Jungwirth A, Weidner W; EAU Working Group on Male Infertility. EAU guidelines on male infertility. *Eur Urol* 2005;48(5):703-11 (Updated 2008).
- 153) Singh NP, Danner DB, Tice RR, McCoy MT, Collins GD, Schneider EL. Abundant alkali-sensitive sites in DNA of human and mouse sperm. *Exp Cell Res* 1989;184:461-70.
- 154) Saleh RA, Agarwal A, Sharma RK, Said TM, Sikka SC, Thomas AJ., Jr Evaluation of nuclear DNA damage in spermatozoa from infertile men with varicocele. *Fertil Steril*. 2003; 80: 1431–6.
- 155) Evers JL, Collins JA. Assessment of efficacy of varicocele repair for male subfertility: A systematic review. *Lancet*. 2003;361:1849–52) (Sheehan MM, Ramasamy R, Lamb DJ. Molecular mechanisms involved in varicocele-associated infertility. *J Assist Reprod Genet*. 2014; 31: 521–6.
- 156) Hendin BN, Kolettis PN, Sharma RK, et al. Varicocele is associated with elevated spermatozoal reactive oxygen species production and diminished seminal plasma antioxidant capacity. *J Urol*. 1999;161:1831-1834.
- 157) Blumer CG, Fariello RM, Restelli AE, et al. Sperm nuclear DNA fragmentation and mitochondrial activity in men with varicocele. *Fertil Steril*. 2008; 90: 1716-1722.
- 158) Irvine DS, Twigg JP, Gordon EL, Fulton N, Milne PA, Aitken RJ. DNA integrity in human spermatozoa: relationships with semen quality. *J Androl*. 2000; 21: 33-44.
- 159) Singh N.P., Danner D.E., TiceR.R., Brant L, Schneider E.L. Single cell gel electrophoresis assay (comet assay): Its importance in human biology. *Mutat. Res* 1990; 37: 123.
- 160) Aravindan GR, Bjordahl J, Jost L, Evenson DP. Susceptibility of human sperm to in situ DNA denaturation is strongly correlated with DNA strand breaks identified by single cell electrophoresis. *Exp Cell Res* 1997;268:231–237.
- 161) Donnelly ET, O’Connell M, McCluer N, Lewis SE. Differences in nuclear DNA fragmentation and mitochondrial integrity of semen and prepared human sperm. *Hum Reprod* 2000; 15: 1552–1561.

- 162) Agarwal A, Makker K, Sharma R. Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: An update. *Am J Reprod Immunol*. 2008; 59: 2–11.
- 163) Allamaneni SS, Naughton CK, Sharma RK, Thomas AJ Jr, Agarwal A: Increased seminal reactive oxygen species levels in patients with varicoceles correlate with varicocele grade but not with testis size. *Fertil Steril* 2004; 82:1684–1686.
- 164) Takahara M, Ichikawa T, Shiseki Y, Nakamura T, Shimazaki J. Relationship between grade of varicocele and the response to varicocelectomy. *Int J Urol*. 1996;3(4):282-5.
- 165) Steckel J, Dicker AP, Goldstein M. Relationship between varicocele size and response to varicocelectomy. *J Urol*. 1993;149(4):769-71.
- 166) Wang YJ, Zhang RQ, Lin YJ, et al. Relationship between varicocele and sperm DNA damage and the effect of varicocele repair: a metaanalysis. *Reprod Biomed Online*. 2012;25: 307-314.
- 167) Zini A, San Gabriel M, Baazeem A. Antioxidants and sperm DNA damage: a clinical perspective. *J Assist Reprod Genet*. 2009;26: 427-432.
- 168) Showell MG, Brown J, Yazdani A, Stankiewicz MT, Hart RJ. Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011.
- 169) Cavallini G, Biagiotti G, Ferraretti AP, Gianaroli L, Vitali G. Medical therapy of oligoasthenospermia associated with left varicocele. *Br J Urol Int* 2003; 91: 513–8.
- 170) Cavallini G, Ferraretti AP, Gianaroli L, Biagiotti G, Vitali G. Cinnoxycam and L-carnitine/acetyl-L-carnitine treatment for idiopathic and varicocele-associated oligoasthenospermia. *J Androl* 2004; 25: 761–70.
- 171) Oliva A, Dotta A, Multigner L. Pentoxifylline and antioxidants improve sperm quality in male patients with varicocele. *Fertil Steril* 2009; 91: 1536–9.
- 172) Menezo YJR, Hazout A, Panteix G. Antioxidants to reduce sperm DNA fragmentation: an unexpected adverse effect. *Reprod. Biomed. Online* 2007; 14: 418–21.
- 173) Agarwal A, Deepinder F, Cocuzza M, et al. Efficacy of varicocelectomy in improving semen parameters: new meta-analytical approach. *Urology*. 2007; 70: 532-538.

- 174) Pourmand G, Movahedin M, Dehghani S, Mehrsahi A. Does L-carnitine therapy add any extra benefit to standard inguinal varicocelelectomy in terms of deoxyribonucleic acid damage or sperm quality factor indices: A randomized study. *Urology* 2014; 84: 821-25.

