

DERLEME

## Erkek İnfertilitesinde Güncel Semen Biyobelirteçleri

Hatice Nur ŞEFLEK<sup>1</sup>, Fatma Zehra ERBAYRAM<sup>2</sup>, Esmâ MENEVŞE<sup>3</sup>

<sup>1</sup> KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Konya.

<sup>2</sup> KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.

<sup>3</sup> Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Konya.

### ÖZET

İnfertiliteden etkilenen çiftler giderek artmaktadır. Erkek infertilite değerlendirilmesinde ilk adım, semen analizidir. Ancak seminal kompozisyon çevresel faktörlerden ve diğer patolojik durumlardan etkilendiği için erkek infertilite tanısında kesin bir sonuç vermediği durumlar söz konusudur. Bu nedenle, erkek infertilitesinin tanısı veya tedavisi sürecinde farklı disiplinlerin çalıştığı diagnostik ve prognostik testlere ihtiyaç duyulmakta ve son yıllarda artan ivme ile çalışmalar devam etmektedir. Seminal plazma sıklıkla biyoloji alanının fertilizasyon durumunun değerlendirilmesinde tercih ettiği numune tipidir. Seminal plazmada kolay analiz edilebilen, biyokimyasal açıdan test duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek biyobelirteçlerin belirlenmesi ve tanımlanmasının spermogram analizlerine ilaveten tanı ve tedavide infertil erkeklerin daha iyi tanımlanmasında bir yöntem olarak kullanılabilir. Dolayısıyla seminal plazma biyobelirteçleri ilerleyen zamanlarda erkek faktörlü infertilitenin değerlendirilmesinde ön analizlerden olacak gibi görünmektedir. Güncel çalışmalar seminal plazma biyobelirteçlerinin, azospermi vakalarında invaziv testis biyopsisine ek olarak yapılabileceğini ve hatta bazı belirteçlerin öncelikli olarak tercih edilebileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, obstrüktif ve non-obstrüktif azospermi ayrımının yapılabildiği bildirilmektedir. Bununla birlikte, infertil erkek bireylerde yakın gelecekte spermogram analizlerinin yanında diagnostik ve prognostik biyobelirteçlerin biyokimyasal rollerini ve analizlerinin önemi vurgulamak üzere planlanan bu derlemenin literatüre katkı sağlayacağını düşünmekteyiz.

**Anahtar Kelimeler:** Erkek infertilitesi. Semen proteomik. TEX101. SPTRX3. MDA.

### Current Semen Biomarkers in Male Infertility

### ABSTRACT

The number of couples affected by infertility is increasing. The first step in male infertility is semen analysis. However, since the seminal composition is affected by environmental factors and other pathological conditions, there are cases where it does not give a definite result in the diagnosis of male infertility. For this reason, diagnostic and prognostic tests investigated by different disciplines are needed in the diagnosis or treatment of male infertility, and studies have continued with increasing note in recent years. Seminal plasma is often the type of sample preferred by biology field in the evaluation of fertilization status. In addition to spermogram analysis to determine and identify the biomarkers that can be easily analyzed in seminal plasma, and have high biochemical test sensitivity and specificity can be used as a method for better identification of infertile men in their diagnosis and treatments. Therefore, seminal plasma biomarkers seem to be one of the preliminary analyzes in the evaluation of male factor infertility in the future. Recent studies show that seminal plasma biomarkers can be performed in addition to invasive testicular biopsy in cases of azoospermia, and even some markers may be preferred as a priority. However, it is reported that it is possible to distinguish between obstructive and non-obstructive azoospermia. However, we think that this review, which is planned to emphasize the importance of biochemical roles and analyzes of diagnostic and prognostic biomarkers in addition to spermogram analyzes in infertile male individuals in the near future, will contribute to the literature.

**Key Words:** Male infertility. Semen proteomic. TEX101. SPTRX3. MDA.

**Geliş Tarihi:** 09.Şubat.2022

**Kabul Tarihi:** 15.Mart.2022

Arş. Gör. Fatma Zehra ERBAYRAM  
KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Akabe Mah. Alaaddin Kap Cad. No:130 42020  
Karatay  
KONYA / TÜRKİYE  
Tel: 0507 411 06 38  
E-posta: fatma.zehra.erbayram@karatay.edu.tr

### Yazarların ORCID Bilgisi:

Hatice Nur ŞEFLEK: 0000-0003-2969-2322  
Fatma Zehra ERBAYRAM: 0000-0002-9305-4782  
Esmâ MENEVŞE: 0000-0002-5477-5667

Klinik olarak infertilite, çiftlerin yaklaşık olarak bir yıl korunmasız ve düzenli cinsel ilişkiye rağmen çiftin çocuk sahibi olamaması olarak tanımlanır. Çiftlerin yaklaşık %15'inin infertilite sebebiyle tıbbi yardıma ihtiyaç duyduğu, fertilitate sorunlarının da yaklaşık %50'sinin erkek faktörüne bağlı olduğu bildirilmiştir<sup>1</sup>. Erkek infertilitesi; doğuştan ya da edinilmiş ürogenital bozukluklar, ürogenital sistem enfeksiyonları, varikosel, immünolojik faktörler, endokrin bozukluklar, sistematik hastalıklar ve genetik hastalıklar gibi birçok faktörden kaynaklanmakla birlikte, infertil erkek bireylerin % 40-50'sinde sorumlu bir faktör bulunmamaktadır<sup>2</sup>.

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO, 1980) tanımlamış olduğu ilk sınıflama, sperm morfolojisinin değerlendirilmesi bakımından oldukça büyük bir adım olmuştur. Daha sonrasında Hofmann, Dusseldorf ve Haider sınıflaması (1985) adı altında yeni bir morfoloji sınıflamasını ortaya koymuşlardır. Bu sınıflama yönteminde akrozom hasarlarına ve spermatozoonun uzamasına daha fazla önem verilmiştir. 1987'de yayınlanan WHO kılavuzu ile semen analiz kriterleri yeniden güncellenmiştir. 1992'deki yayınlanan WHO sınıflamasında ise spermilerin morfoloji değerlendirilmesi daha ayrıntılı olarak incelenmiştir. Morfolojik yönden normal grubun yanında anomaliler dört sınıf halinde sınıflandırılmış olup, teratozoospermi indeksi hazırlanmıştır. Sperm morfoloji değerlendirilmesine yönelik bir diğer çalışmada Tygerberg kriterleri Menkveld ve Kruger tarafından tanımlanmıştır. Bu sınıflandırma yönteminde, spermatozoon bir bütün olarak incelenir<sup>3</sup>. Spermioyogram sonuçları, sperm'in dölleme kapasitesini göstermede özgül değildir ve erkek fertilitésinin kaba bir tahminini içerir. Bu nedenledir ki, bu veriler bireylerin fertilizasyon durumunun değerlendirilmesinde yetersiz kalabilmekte ve hekimler ek tanısal biyobelirteçlere ihtiyaç duymaktadırlar<sup>4</sup>.

Seminal plazma bileşenleri enfeksiyonlardan, çevresel faktörlerden ve diğer patolojilerden etkilenmektedir ve spermioyogram analizi ile kesin tanıya gidilememektedir<sup>5</sup>; böyle olgularda hastalara idiyopatik erkek infertilitési tanısı konulmakta ve özgün bir tedavi sağlanamamaktadır<sup>6</sup>.

Son yıllarda yapılan birçok çalışma verilerine göre genetik faktörlerin, proteinlerin ve metabolitlerin erkek infertilitésine neden olabileceği bildirilmektedir. Bu infertil erkeğe özgü metabolitlerin tespit edilebilmesi çok şey vaat etmektedir. Bu nedenle son yıllarda, bir proteinin varlığı, bolluğu ve translasyon sonrası modifikasyonları hakkında bilgi veren proteomik çalışmalarda ilerlemeler, araştırmacıları seminal plazmada yeni biyobelirteçlerin arayışına yöneltmiştir<sup>7</sup>.

Seminal plazma, ejakülasyon sırasında erkek ve dişi üreme sisteminden geçen ve başarılı fertilizasyon için oosite ulaşan sperm taşıyan semenin sıvı kısmıdır. Seminal plazma proteinler (enzimler, sitokinler, Testis- İfade Protein 101 (TEX101), İnsan Akrozomal Vezikül Proteini 1 (ACRV1), Prostata Özgü Antijen (PSA), Prostata Özgü Asit Fosfataz (PSAP), vb.), lipidler, şekerler (fruktoz), hüresiz nükleik asit (DNA, mikroRNA ve LncRNA) ve küçük moleküllü metabolitlerin yanı sıra inorganik kimyasallar (iyonlar; Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, vb.) gibi karmaşık heterojen moleküler yapılardan oluşur.

Genel olarak, seminal plazma faktörleri, epididimde sperm olgunlaşması ve kapasitasyon gibi moleküler kaskadları düzenleyerek sperm biyolojik aktivitesi ve

motilitési için gerekli olan enerjiyi sağlar. Dolayısıyla, plazma molekülleri, sperm konsantrasyonu, hareketliliği, morfolojisi ve infertilité nedeni hakkında fikir verebilir. Özellikle, bu kapsamda bildirilen veriler, seminal plazmanın sadece sperm için gerekli bir ortam olmadığını, aynı zamanda spermilerin temel fonksiyonu için gerekli modülatörleri içerdiğini göstermektedir. Erkek infertilitésinde analizi önemli olan seminal plazmanın yeni yönlerinin ortaya çıkarılmasında ve daha iyi anlaşılmasında genomik, transkriptomik, proteomik ve metabolomik çalışma alanlarındaki gelişen teknolojiler olanak sağlamıştır<sup>8</sup>.

Bilindiği üzere, seminal plazmadaki birçok yeni keşfedilmiş proteinler semen parametreleri ile ilişkilidir. Sharma ve ark. (2013) sperm konsantrasyonu ve morfolojisine göre 4 grup oluşturduğu çalışmalarında, Prolaktin İndüklü Protein (PIP), Semenogelin II (SgII) prekürsörü, albumin preprotein, laktotransferrin, epididimal salgılayıcı protein E1 prekürsörü, ekstrasellüler matriks protein-1 izoform I prekürsör, prosaposin izoform A preprotein, kathepsin D preprotein, prostat spesifik antijen izoform I preprotein, çinko alfa-2 glikoprotein 1, ve klusterin izoform 1 yapılarının tüm gruplarda (NN = 26, normal sperm sayılı ve normal morfolojiye sahip grup; NA = 22, normal sperm sayısı ve anormal morfolojiye sahip grup; ON = 6, oligozoospermik ve normal morfolojiye sahip grup; OA = 10, oligozoospermik ve anormal morfolojiye sahip grup) LC-MC /MC cihazı ile tespit etmişlerdir. Transferrin, salgılayıcı lökosit peptidaz inhibitör prekürsör, ubiquitin ve ribozomal protein S27 a prekürsör, prostaglandin H2 D izomeraz proteinleri ise ON grubunda tespit edilemedi. CD177 molekülünün NN grubunda tespit edilmemekle birlikte; orosomukoid 2 sadece NN grubunda bulunduğu bildirilmiştir. Protein tirozin fosfataz, reseptör tip, sigma izoform 1 prekürsör ve asidik epididimal glikoprotein- benzeri 1 izoform 1 prekürsör protein OA grubunda eksprese edilmediği tespit edilmiştir. Bu çalışma ile Sharma ve ark. sperm kalitesi düşük erkek bireylerin seminal plazmasında aşırı veya az eksprese edilen proteinleri belirleyerek erkek infertilitésinde potansiyel biyobelirteç olarak kullanılabileceğini bildirdiler<sup>9</sup>. Wu ve ark. (2019), astenozoospermik hastalarda kantitatif proteomlarla 29 farklı proteinin ekspresyon düzeyleri tanımlanmış olup, sperm motilitésinin moleküler temellerini incelemek için aday hedefler olarak kullanılabilir olduğunu önermişlerdir<sup>10</sup>. Dolayısıyla, sperm motilitési ile doğrudan veya dolaylı olarak ilişkili potansiyel protein hedeflerini araştırmak, bu proteinlerin veya kompleks yapıların sadece diagnostik açıdan değil aynı zamanda prognostik bakımdan da fertilizasyon durumunda önemlidir.

Seminal plazma proteinlerinin nispeten yüksek seviyeleri, erkek fertilizasyon bozukluklarının invaziv olmayan teşhisi için biyobelirteç kaynakları olarak kullanılabilmesi bakımından son derece umut vericidir. Biyomarkerların bulunması ağırlı biyopsiden

## Erkek İnfertilitesinde Semen Biyobelirteçleri

ve tanı-sonuç hatalarından kaçınmayı sağlayabilir. Seminal plazmadaki anormal protein konsantrasyon değişiklikleri, patolojik süreç aşamalarını gösterebilir ve erkek infertilite farklı tiplerinin ayırt edilebilmesini sağlayabilir. Günümüze kadar doğrulanmış ve onaylanmış protein biyobelirteçleri ACRV1, ECM1 ve TEX101'dir<sup>4</sup>. Öyle ki, L-PGDS (lipokalin tipi prostaglandin D sentaz) gibi proteinler normal, obstrüktif azospermi (OA) ve non-obstrüktif azospermi (NOA) hastalarını potansiyel olarak ayırt edebildiği savunulmaktadır<sup>11</sup>.

Günümüze kadar gelen çalışmalar doğrultusunda erkek fertilitesi mekanizmasında rol alan ekspresyonun varlığı/yokluğu infertiliteye sebep olabilen seminal plazmadaki analizleri ile biyobelirteç olarak değerlendirilmiş olan bazı protein ve biyolojik yapılar için yeni seminal plazma özetlenmiştir (Tablo I).

### Testis İfade Protein 101 (TEX101)

Sperm yüzeyinden ayrılabilen ve epididimde sperm olgunlaşması sırasında seminal plazmaya salınabilen germ hücrelerinde spesifik ifade edilen bir membran glikoproteinidir<sup>12</sup>. Yetişkin farelerde, esas olarak TEX101; testis içindeki spermatositler, spermatidler ve sperm (özellikle kuyruk bölgesinde) plazma membranı üzerinde yer alır<sup>13,14</sup>. Spermde TEX101 proteinin bulunması, genital kanallarda olgun sperm hücresinin var olduğunu gösterir, olgun sperm ile bu proteinin miktarı doğru orantılıdır. Sperm üretiminin olduğu ve spermiyogram analiz sonucu bakımından normal değerlere sahip olan olgularda, TEX101 düzeyleri anlamlı derecede yüksektir. Sperm üretiminin hiç olmadığı germinal aplazi vakalarında ise bu miktar sifıra yaklaşır. TEX101 düzeylerinin belli bir eşik değerinde olması, testiste olgun sperm hücresi varlığı açısından önemli bir göstergesidir<sup>15,16</sup>. Sonuç olarak, azospermili bir hastada kanal tıkanıklığı veya hormon bozukluğu gibi bir sorun yoksa spermde TEX101'in eşik değerine yakın değerde bulunması, testislerde olgunluk aşamasında sperm üretiminin var olduğuna işaret etmektedir. Eşik değerinin üzerinde olması ise, testislerde olgun sperm hücresi varlığının çok daha yüksek olduğunu gösterir<sup>15</sup>. Azospermide konsantrasyonun analiz edilmesi ve belirgin olarak azalması, azospermiyi normal kontrollerden ayırt etmede değerli kılar. Ayrıca, spesifik ekspresyon paterni, hipospermatogenez (HS), maturasyon durması (MA) ve germinal aplazi dahil olmak üzere çeşitli histopatolojik NOA alt tiplerinin ayırt edilmesini sağlar. Yapılan çalışmalarda, fertil erkeklerde ortalama seminal TEX101 konsantrasyonunun yaklaşık 2 mg/mL' olduğu, buna karşın HS ve MA'lı NOA vakalarında seminal plazma seviyeleri (<120 ng/mL) düşük olduğu ve germinal aplazide germ hücrelerinde saptanamadığı bildirilmektedir<sup>15</sup>.

**Tablo I.** Erkek fertilizasyonunda çeşitli seminal plazma biyobelirteçlerin biyolojik işlevleri ve rolleri

Numara	Seminal plazma biyomarkeri	Biyolojik işlev	Erkek infertilitesinde rolü
1.	TEX101	Obstrüktif ve non-obstrüktif azosperminin invaziv olmayan teşhisi ve non-obstrüktif azosperminin farklı alt tiplerini ayırt edebilir <sup>15</sup> .	Oligozospermik bireylerin tespitinde kullanılabilecek bir biyobelirteçtir <sup>77</sup> .
2.	ECM1	Spermatogenez düzenler <sup>15</sup> .	Obstrüktif ve non-obstrüktif azospermiyi ayırt edebilir <sup>4,21</sup> .
3.	ACRV1	Sperm-zona pellusida bağlanmasına veya penetrasyonuna ve memeli spermatogenezine yardımcı olur <sup>26</sup> .	Spermatogenezde rol alır <sup>25</sup> .
4.	Ubiquitin	Sperm kalitesini düzenler <sup>28</sup> .	Yüksek ubiquitin seviyesi, normal sperm sayısı-motilitesi-morfolojisi ile ters orantılıdır <sup>28</sup> .
5.	PSA	Meniyi sıvılaştırır <sup>32</sup> . (likefaksiyon)	Sperm motilitésinin güçlü belirleyicisidir <sup>32</sup> .
6.	Semenogelin II	Sperm motilitésini için gereklidir <sup>35</sup> .	Sperm motilitésinde rol alır <sup>35</sup> .
7.	L-PGDS	Epididimde olgunlaşan spermelere retinoid, esansiyel yağ asitleri ve tiroid hormonlarını sağlar, sperm motilitésini artırır <sup>40</sup> .	Obstrüktif ve non-obstrüktif azospermiyi ayırt eder <sup>11</sup> .
8.	LDHC	Sperm fonksiyonu için gerekli olan glikoliz sürecinde ve sperm kuyruğunda ATP üretiminde rol alır <sup>44</sup> .	Sperm motilitésinin göstergesidir <sup>44</sup> .
9.	MDA	Spermelerde lipid peroksidasyonunun son ürünüdür <sup>49</sup> .	Yüksek seminal plazma seviyesi, artmış lipid peroksidasyonu ve sperm membranında oksidatif hasarı gösterir <sup>50</sup> .
10.	Melatonin	Ejakülasyon sonrası spermeleri apoptozdan ve ROS'un neden azalmış sperm motilitési ile olduğu DNA fragmentasyonundan korur, sperm motilitésini artırır <sup>53,54</sup> .	Düşük seminal plazma seviyesi, azalmış sperm motilitési ile ilişkilidir <sup>55</sup> .
11.	Galektin 3	Kapasitasyondan sonra sperm-zona pellusida etkileşiminde rol alır <sup>58</sup> .	Azalmış galektin 3 düzeyleri düşük döllenme oranı ile ilişkilidir <sup>58</sup> .
12.	MIF	Epididimal sperm olgunlaşmasında ve sperm motilitésinde rol alır <sup>59,60</sup> .	Artmış MIF düzeyleri zayıf sperm motilitési ile ilişkilidir <sup>59,60</sup> .
13.	SOD	Seminal ROS'u uzaklaştırır ve spermeleri oksidatif stresten korur <sup>61</sup> .	Seminal plazma SOD seviyeleri, sperm konsantrasyonu ve motilitési ile pozitif korelasyon gösterirken, sperm DNA fragmentasyonu ile ters orantılıdır <sup>61,63</sup> .
14.	PRDXs	Spermeleri oksidanlardan koruyarak antioksidan özelliği ile önemli rol oynar <sup>68</sup> .	Sperm kapasitasyon süreci için önemli olan redoks sinyallerinin regülasyonunu sağlar <sup>68</sup> .
15.	SPTRX3	Spermatid ve sperm kuyruğu yapılarında bulunan spesifik bir proteindir <sup>73</sup> .	Morfolojik olarak anormal yapıda spermelerin oluşmasına neden olur <sup>73</sup> .
16.	FABP9	Sperm baş yapısının karakteristik özellik kazanmasında rol oynar <sup>80</sup> .	Oligozospermik bireylerin tespitinde kullanılabilecek bir biyobelirteçtir <sup>78</sup> . Spermatogenez ve sperm morfolojisinde rol alır <sup>81</sup> . FABP-9'un analizinin sperm motilitésine göre diagnostik test olma durumunun daha üstün olduğunu bildirmişlerdir <sup>81</sup> .

TEX101: Testis ifade protein; ECM1: Ekstraselüler matris protein; I ACRV1: Akrozomal vezikül protein I; PSA: Prostat spesifik antijen; L-PGDS: Lipokalin tipi prostaglandin D sentaz; LDHC: Laktat dehidrogenaz C; MDA: Malondialdehit asit; MIF: Makrofaq migrasyon inhibitör faktör; SOD: Süperoksit dismutaz; PRDXs: Peroksi redoksinler; ,SPTRX3: Spermatid-spesifik tiyoredoksin 3; FABP9: Yağ asidi bağlayıcı protein 9; ROS: Reaktif oksijen türleri; ATP: Adenozin trifosfat; DNA: Deoksiribonükleik asit;

## Ekstrasellüler Matris Protein 1 (ECM1)

ECM1'in dört farklı izoformu vardır. ECM1a; karaciğer, epididim, prostat, testis, ince bağırsaklar, yumurtalık, akciğerler, pankreas, böbrekler, plasenta, kalp, bazal keratinositler, dermal kan damarları ve adneksiyel epiteldeki hücreler tarafından eksprese edilirken, ECM1b; bademcikler ve epidermiste eksprese edilir<sup>17</sup>. ECM1c; epidermisin bazal tabakasında eksprese edilirken<sup>18</sup>, ECM1d'nin ise biyolojik önemi net değildir<sup>19</sup>. ECM1, esas olarak epididim tarafından semen içine salgılanır, dolayısıyla epididimde eksprese edilen ECM1 olarak da bilinir. ECM1 testis biyopsisi olmasa bile obstrüktif azospermi ile non-obstrüktif azosperminin ayırt edilmesinde kullanılabilir. Drabovich ve ark. 2013 yılında yapmış olduğu bir çalışmada, obstrüktif azospermiyi non-obstrüktif azospermiden ayırt etmek için seminal plazma ECM1 düzeyleri için 2.3 µg/ml eşik değerini önermişlerdir<sup>15</sup>. Ayrıca, ECM1'in üreme hormonları (FSH, LH ve testosteron) miktar analizleri ile kombinasyonu halinde analizler ile obstrüktif azospermiyi analitik olarak doğru teşhis edebildiği gözlemlenmiştir<sup>20</sup>. Bieniek ve ark. 2016 yılında yapmış oldukları çalışma ile seminal plazma ECM1, TEX101 ve ACRV1'in obstrüktif ve non-obstrüktif azospermi arasında ayırım yapmak için en güçlü biyobelirteç olduğunu ve bunların biyokimyasal analizlerinin klinik kullanıma sunulmak üzere geliştirme aşamasında olduğunu bildirdiler<sup>4</sup>. Bu düşünce, TEX101>0.9 ng/mL konsantrasyonu ve epididim-spesifik protein ECM1>2.3 µg/mL kombinasyonunun, obstrüktif ve non-obstrüktif azospermiyi ayırt etmek için %100 özgüllükte %81 hassasiyet sağladığını bildiren yakın tarihli bir çalışma ile de desteklenmiştir<sup>21</sup>.

Diğer taraftan, OA hastalarında epididim spesifik eksprese edilen ECM1 konsantrasyonları, kontrol ve NOA vakalarında önemli ölçüde daha düşüktür ve daha da önemlisi OA vakalarını %100 özgüllük ve duyarlılık ile normal vakalardan ve OAS'ı NOA'lardan %73 özgüllük ile 2.3 mg/mL'lik bir cut-off değerinde %100 hassasiyetle ayırt edebilmektedir<sup>15</sup>.

## İnsan Akrozomal Vezikül Proteini 1 (ACRV1)

Akrozomal protein SP-10 olarak da bilinen ACRV1 proteini, kromozom 11'in q23 ve q24 bantlarının birleşim yerlerinde bulunan tek kopya ACRV1 geni tarafından kodlanan testise özgü bir proteindir<sup>22,23</sup>. ACRV1, ilk olarak yuvarlak spermatidlerin gelişen akrozomunda saptanan, olgun sperm akrozomal zarları ve matriksi ile ilişkili olarak gözlenen, testise özgü bir insan intra-akrozomal proteindir<sup>22,24</sup>. ACRV1'nin insan testislerinde bulunduğu Western

blot analizi, immünofloresan ve immünohistokimya boyaması ile doğrulanmış ve spermatogenezdeki rolü gösterilmiştir<sup>25</sup>. Bu bulgular, ACRV1 proteininin sperm-zona bağlanması veya penetrasyonunda rol oynayabileceğini, dolayısıyla erkek fertilitesinde önemli rol oynadığını düşündürmektedir<sup>26</sup>.

Anti-ACRV1 anti serumunun sperm-yumurta etkileşimlerini inhibe ettiği gözlenmiş ve dolayısıyla insanlar için potansiyel bir kontraseptif aşı immünojeni olabildiği bulunmuştur<sup>24,25</sup>. ACRV1, poliklonal anti-ACRV1 antikoru ve ACRV1-HRP konjugatını kullanan immünoassay tekniğine dayalı ELİSA test kitleri kullanılarak seminal plazmada kolayca saptanabilir ve erkek infertilitesi için güçlü bir biyobelirteç olarak kullanılabilir.

## Ubiquitin

Tüm ökaryotik hücrelerde bulunan, 76 amino asitlik küçük bir proteindir<sup>27</sup>. Diğer hücre proteinlerinin proteazlarla parçalanabilmesi için parçalanacak proteinlerin işaretlenmesi, hücre ölümü ve epididimal geçiş sırasında anormal spermilerin tanımlanması gibi bir dizi işlevleri vardır<sup>28</sup>.

Spermilerin olgunlaştığı ve depolandığı yer olan epididimis, ubiquitine bağımlı, sperm kalite düzenleyici bir mekanizmaya sahiptir; epididimal hücreler tarafından salgılanan ubiquitin anormal sperm yüzeyine yapışır ve daha sonra epididim epitel hücreleri tarafından fagosite edilir, ejakülata salınmadan önce anormal sperm önemli ölçüde temizlenir. Ubiquitin, sperm kalitesini ve erkek fertilitasını düzenlemede oldukça önemli olduğu<sup>29</sup>, yüksek ubiquitin seviyelerinin normal sperm sayısı, motilitesi ve morfolojisi ile negatif ilişkili olduğu ve bu da ubiquitin insan sperm kalitesi için güçlü bir biyomarker olarak kullanılabilirliğini göstermiştir<sup>28</sup>.

## Prostat Spesifik Antijen (PSA) ve Antikorlar

Üzerinde en çok çalışma yapılmış ve doğrulanmış olan günümüzde rutin olarak klinik biyokimya laboratuvarlarında analiz edilen PSA, kallikrein-3 (KLK3) olarak da bilinen, insanlarda kromozom 19'da bulunan KLK3 geni tarafından kodlanan bir glikoprotein enzimidir<sup>30</sup>. PSA, kallikrein ile ilişkili peptidaz ailesinin bir üyesi olup, esas olarak prostat bezinin epitel hücreleri tarafından sentezlenir ve seminal plazmada en bol bulunan serin proteazlardan biridir<sup>31</sup>. Son dönemde yapılan çalışmalarda rolleri aydınlatılan semenogelinin semen pıhtısının çözülmesinin (likefaksiyon) ve spermilerin hareketliliğinden sorumlu olduğu bildirilmekle birlikte, bu etkisini PSA ile birlikte gerçekleştirdiği tespit edilmiştir<sup>32</sup>, bunun yanı sıra, ejakülasyon sonrası

## Erkek İnfertilitesinde Semen Biyobelirteçleri

dışarı boşaltılan servikal mukusun çözülmesine de yardımcı olarak spermlerin rahime girmesine izin vermektedir<sup>33</sup>. Son araştırmalar, semenogelinlerin; spermde hiyaluronidaz aktivitesini, kapasitasyonu ve motilitesini etkileyerek erkek fertilitesinde önemli roller oynadığını ve böylece daha önemli rolleri olduğunu bildirmektedir<sup>33,34</sup>.

### Semenogelin II (SGII)

Semenogelin II (SGII), Zn<sup>+</sup> iyonlarıyla bağlanarak semen pıhtısının çözülmesi (likefaksiyon) sürecine katılan bir seminal plazma proteindir. Semenogelin II proteini erkek fertilitesinde önemli bir rol oynar. Prostata özgü bir antijen (PSA); bu proteinin proteolizini sağlar ve bu proteoliz ejakülasyon sonrasında spermlerin serbest bırakılmasını sağlar. 2018 yılında Vicram ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada normozospermi ve oligozospermi gruplarında semenogelin II'nin varlığını incelemişler ve bu proteinin eksikliğini sperm motilite bozukluklarıyla ilişkilendirmişlerdir. Bu sonuçlara dayanarak bu proteinin erkek infertilite teşhisi için güçlü bir biyobelirteç olabileceğini bildirmişlerdir<sup>35</sup>.

### Lipokalin Tipi Prostaglandin D Sentaz (L-PGDS)

β-trace protein (BTP) olarak da bilinen lipokalin tipi prostaglandin D sentaz, lipokalin ailesinin enzim olarak tanımlanan ilk üyesi olup, ilk olarak 1985 yılında sıçan beyininden saflaştırılmıştır<sup>36</sup>. Prostaglandin H2'nin (PGH2), prostaglandin D2 'ye (PGD2) dönüşümünü katalize etmekten sorumludur. İnsanda başlıca kalpte, merkezi sinir sisteminde (MSS) ve erkek genital organlarında bulunur<sup>37</sup>. Erkek genital organlarından testisin; Leydig, Sertoli ve kanallara ait epitel hücrelerinde ve epididimiste bulunur ve seminal plazmaya salgılanır<sup>38</sup>.

L-PGDS, seminal plazmada mevcuttur fakat PGDS'nin erkek genital yollarındaki fonksiyonları ve biyokimyasal bileşimi tam olarak bilinmemektedir<sup>39</sup>. Epididimiste olgunlaşan spermlere ve seminifer tübüllerindeki gelişmekte olan germ hücrelerine esansiyel yağ asitleri, tiroid hormonları ve retinoidlerin önemli bir taşıyıcısı olduğuna inanılmaktadır<sup>40</sup>.

Seminal plazma L-PGDS seviyesi, azospermili erkeklerde seminal kanalın açıklığını değerlendirmek için etkin bir biyobelirteçtir. Tüm obstrüktif azospermili erkeklerin L-PGDS seviyesi 100 microg/l'nin altındadır. Azospermisi olan ancak L-PGDS seviyesi yüksek erkeklerde biyopsi yapılmadan non-obstrüktif azospermi tanısı konulabilir<sup>11,41</sup>. Ayrıca, normozospermik bireylere kıyasla

oligospermik erkeklerde L-PGDS seviyesinin önemli ölçüde düştüğü de gözlenmiştir<sup>38</sup>. Seminal plazmadaki seviyesinin kalitatif sperm parametreleriyle önemli ölçüde ilişkili olduğu; total sperm sayısı, motilitesi ve morfolojisi ile pozitif ilişkili olduğu bulunmuştur. Ayrıca, seminal plazmadaki seviyeleri normalden oligospermiye, azospermiye ve vazektomi hastalarına doğru kademeli olarak düşmektedir<sup>42</sup>. Bu nedenle, seminal plazma seviyeleri, sperm disfonksiyonlarının, motilite sorunlarının ve non-obstrüktif azosperminin öngörülmesi için kullanılabilir.

### Laktat Dehidrogenaz C (LDHC)

Laktat dehidrogenaz C (LDHC), erkek germ hücrelerinde ortaya çıkan ilk testis spesifik izoenzimidir<sup>43</sup>. Yakın tarihli bir çalışmada LDHC eksikliği olan spermlerin motilitesinin ciddi şekilde bozulmuş olduğunu tespit etmişlerdir. Bu duruma LDHC'nin aracılık ettiği glikolizin sperm motilitesi için enerji üretmedeki rolüne işaret etmektedir<sup>44</sup>. Ayrıca, LDHC düzeylerinin fertil ve infertil erkekleri ayırt etmek için güçlü bir seminal biyobelirteç olduğu ve LDH-C4' izoformunun özellikle germinal aktivite ve spermatozoid kalitesinin değerlendirilmesinde klinikte önemli bir parametre olarak yakın gelecekte kullanılabileceği gözlemlenmiştir<sup>45,46</sup>.

### Malondialdehit Asit (MDA)

Oksidatif stres, erkek infertilitesinin bir başka önemli nedenidir. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) konsantrasyonunun; aşırı üretime bağlı olarak veya doğal antioksidanların azalmış seviyelerine bağlı olarak yükselmesi erkek infertilitesi ile önemli ölçüde bağlantılı olduğu bulunmuştur<sup>47</sup>. Oksitlenmiş serbest radikaller, lipid açısından zengin spermlerin peroksidasyonuna neden olur ve membranlarına zarar vererek spermlerin sayı, morfoloji, canlılık ve motilite bozukluklarına neden olur<sup>48</sup>. Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA), yüksek seminal MDA seviyeleri artan lipid peroksidasyonunu ve bunun sonucunda sperm membranlarında oksidatif hasarı temsil eder. Bu, sperm plazma membranlarının bütünlüğünün ve işleyişinin bozulmasına ve hem nükleer hem de mitokondriyal DNA'nın zarar görmesine neden olabilir<sup>49</sup>. MDA testinin seminal plazmada oksidatif stresin bir belirteci olduğu gözlenmiştir<sup>50</sup>.

### Melatonin

Melatonin hormonu, güçlü bir antioksidan olup iyi bir serbest radikal temizleyicidir<sup>51</sup>. Melatonin reseptörlerinin üreme organlarında da bulunduğu

bilinmektedir<sup>52</sup>. Erkeklerde sperm üzerinde bulunduğu ve çeşitli sperm aktivitelerinin düzenlenmesinde rol aldıkları öne sürülmektedir. Ayrıca, melatonin ejakulatta bulunan insan spermlerini antioksidan özelliklerinden dolayı apoptoz ve ROS'un neden olduğu DNA parçalanmasından koruyarak erkek fertilitesinde çok önemli rol oynar<sup>53,54</sup>. Yapılan bir çalışmada infertil erkeklerin serum ve seminal plazmalarındaki melatonin düzeylerinin fertil olanlara göre önemli ölçüde düşük olduğu gözlemlendi. En düşük seviyelerin obstrüktif azospermi ve lökositospermisi olan erkeklerde görüldüğü tespit edilmiştir<sup>55</sup>. Ayrıca, normozoospermik ve oligozoospermik erkek hastaların semen örnekleri melatonin ile önceden inkübe edildiğinde, yeterli sperm oranında önemli bir artış ve kaspaz-3 aktivasyonunda dramatik bir düşüş gözlemlenmiştir. Günlük 6 mg melatonin takviyesinin endojen melatonin seviyelerinde artış sağlayarak seminal plazmanın antioksidan kapasitesini artırarak DNA'nın oksidatif hasarını azalttığı bildirilmiştir<sup>56</sup>.

### Galektin 3

Hücre-hücre yapışması üzerindeki etkisi ile iyi bilinen Galektin 3, insan seminal plazmasında immünomodülatör özelliklere sahip  $\beta$ -galaktozid bağlayıcı bir proteindir<sup>57</sup>. Galektin-3, hücre adezyonu üzerindeki etkisi ile iyi bilinen seminal plazmada salgılayıcı bir lektindir. 2019 yılında Mei ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, galektin-3'ün, post testiküler olgunlaşma sırasında sperm yüzeyine transfer edildiğini ve kapasitasyondan sonra sperm-zona pellusida bağlanmasında çok önemli bir rol oynadığını tespit etmişlerdir. Hatalı sperm-zona pellusida bağlanması, erkek fertilitésinin başlıca nedenlerinden biridir. Zona pellusida-sperm etkileşiminde ve fertilizasyonda önemli rol oynadığından dolayı düşük galektin 3 düzeylerinin düşük dölleme oranlarıyla ilişkili olduğu bulunmuştur<sup>58</sup>.

### Makrofaj Migrasyon İnhibitör Faktör (MIF)

Makrofaj migrasyon inhibitör faktör (MIF), hemen hemen her yerde bulunan multifonksiyonel özelliğe sahip, pro-inflamatuar bir sitokindir. Erkek üreme sisteminde epididimisten geçen spermlerin olgunlaşmasında ve motilitesinde rol alır. Leydig hücreleri tarafından salgılanır ve yüksek oranda epididimide ekspres edilir. MIF, iki tip membranöz vezikül ile ilişkilidir; epididimozomlar ve prostazomlar. Bununla birlikte, MIF çözünür fraksiyon ile ilişkilidir. MIF miktarı ile sperm konsantrasyonu arasında negatif bir ilişki vardır. Percoll gradyan santrifüjleme kullanılarak yapılan sperm ayırımı, düşük Percoll fraksiyonunda bulunan yüksek hareketli spermatozoon ile kıyaslandığında,

zayıf hareketli spermatozoon ile MIF'ün ilişkili olduğunu göstermiştir<sup>59,60</sup>.

### Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, seminal plazmanın en önemli antioksidan savunma enzimlerinden biridir. Seminal plazmadan ROS'u temizleyerek sperm plazma membranının yapısını bozan lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerden korur<sup>61</sup>. Süperoksit dismutaz üç farklı izoform yapısı gösterirken hem ekstrasellüler hem de intrasellüler lokasyonlarda bulunur. Bunlar; sitoplazmik Cu/Zn SOD (SOD1), mitokondriyal Mn/SOD (SOD2) ve ekstrasellüler Cu/Zn SOD (SOD3) dir<sup>62</sup>. Seminal plazma SOD aktivitesi, sperm konsantrasyonu ve motilitesi ile pozitif korelasyon gösterirken, sperm DNA parçalanma oranı ile ters ilişki gösterir<sup>61,63</sup>. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada fertil erkeklerin seminal plazma SOD düzeylerinin, farklı fertilizasyon bozukluklarına sahip erkek bireylere göre önemli ölçüde daha yüksek konsantrasyonda bulunduğunu bildirdiler. Ayrıca, seminal plazmada SOD düzeylerinin düşük olması, daha yoğun sperm DNA parçalanmasına neden olmaktadır<sup>64,65</sup>.

Seminal plazma SOD aktivitesi, spermin ROS aracılı lipid peroksidasyonuna karşı korunmasında önemli bir rol oynadığından dolayı sperm motilitesini sürdürmek için gereklidir<sup>66</sup>. SOD'un seminal plazmadaki rolü, infertil erkeklere SOD açısından zengin antioksidan takviyeleri verildiğinde, SOD içermeyen antioksidanlar verilenlere kıyasla bu erkeklerde sperm DNA fragmantasyonunda önemli bir düşüş gözlenmesi bulgularıyla da desteklenmiştir<sup>67</sup>.

### Peroksi Redoksinler (PRDXs)

Peroksi redoksinler (PRDXs) insan spermlerini oksidanlardan koruyarak antioksidan özelliği ile erkek fertilitésinde önemli rol oynayan enzimlerdir. Sperm kapasitasyon süreci için önemli olan redoks sinyallerinin regülasyonun düzenlenmesinde oldukça önemlidir<sup>68</sup>. PRDX6 eksikliği bulunan fareler üzerinde yapılan çalışmalarda, farelerin sperm motilitelerinin azaldığı, sperm kromatin anormallikleri gösterdikleri ve oksidatif strese daha duyarlı oldukları gösterilmiştir<sup>69</sup>. Oksidatif strese mücadele etmede duyarlılığı yüksek olsa da sitozolik PRDX'lerin bulunduğu sitozolik alan sınırlı olduğundan dolayı oksidatif strese karşı savunmada sistemi sınırlıdır<sup>70,71</sup>.

### Spermatid-Spesifik Tiyoredoksin 3 (SPTRX3)

Tiyoredoksin sistemi, TRXR ve onun temel substratı olan TRX den oluşur<sup>72</sup>. Spermatid ve sperm kuyruğu yapılarında memeli germ hücrelerine spesifik bir

## Erkek İnfertilitesinde Semen Biyobelirteçleri

redoks protein sınıfı olan tiyoredoksin (TRX) bulundurulur<sup>55,73</sup>. Memelilerde üç farklı izoenzimi bulunmaktadır. Bunlar: TrxR-1; hücre sitoplazmasında, TrxR-2; mitokondride ve TrxR-3; testislerde bulunmaktadır<sup>74</sup>. Spermatid spesifik tiyoredoksin 3 (SPTRX3 / TXNDC8), insanlarda bulunan negatif sperm kalitesinin en önemli biyo göstergelerindendir<sup>73</sup>. "Negatif" biyomarker tabanlı Androlojik yaklaşım, genel olarak anormal spermelerde tespit edilebilen lektin ligandlarına ve proteinlere odaklanır. Sonuç olarak, bu tip biyomarkerlar normal sperm fonksiyon ve morfolojisinin "negatif" göstergeleri olarak kabul edilir<sup>75</sup>. SPTRX3 ekspresyon düzeylerinin infertil erkeklerde yüksek olmasının anormal morfolojili spermelerin oluşmasına neden olduğu düşünülmektedir<sup>73</sup>. SPTRX3; gelişmekte olan akrozomlar ile spermatosit ve spermatidler arasında geçiçi bir ilişki kurulmaktadır<sup>76</sup>. 19 infertil ve 5 fertil bireyden oluşan bir hasta grubunda yapılan çalışmada ubiquitin (onaylanmış anormal sperm biyomarkeri)<sup>77</sup> ve SPTRX3 ile sperm düzeyleri arasında kuvvetli bir pozitif korelasyon olduğunu bildirdiler<sup>73</sup>. Erbayram ve ark. tarafından 2021 yılında yapılan bir çalışmada normozospermik ve oligospermik gruplar SPTRX3 ve TEX101 düzeyleri açısından karşılaştırıldığında normozoospermik grupta SPTRX3 düzeylerinin daha düşük TEX101 düzeylerinin ise daha yüksek bulunduğunu tespit etmişlerdir. SPTRX3 ve TEX101 düzeyleri ile semen parametreleri arasında korelasyon olduğunu tespit ettiklerini bildirmişlerdir. Bu çalışma sonucu ile SPTRX3 ve TEX101 düzeylerinin erkek infertilite değerlendirilmesinde özellikle oligozoospermik bireylerin tespitinde kullanılacak yeni bir klinik yaklaşım ve bir biyobelirteç olduğunu bildirmişlerdir<sup>78</sup>.

## Yağ Asidi Bağlayıcı Protein 9 (FABP9)

Hücre içi yağ asidi bağlayıcı proteinler (FABP'ler) hemen hemen tüm dokularda bol miktarda eksprese edilir. İki yağ asidini veya diğer hidrofobik molekülleri bağlayan karaciğer FABP haricinde, tek bir uzun zincirli yağ asidinin yüksek affiniteli olarak bağlanması sağlanır<sup>79</sup>. Bir çalışma grubu, FABP9 geni eksik olan fareleri kullanarak bu genin farelerde spesifik fonksiyonlarını araştırdıklarında, FABP9(-/-) olan farelerin canlı ve fertil özellik gösterdiğini bildirmişlerdir. Fenotip analiz sonucu FABP9(-/-) farelerin kontrol gruplarına göre ~%8 daha fazla sperm başı anormalliklerine sahip olduğunu ve de FABP9(-/-) olan farelerin sperm baş yapısının karakteristik özelliğini kazanmasında minör rolü olabileceğini bildirmişlerdir<sup>80</sup>. Son yıllarda, FABP' nin spermatogenez ve sperm morfolojisinde rol oynadığına dair bilgiler giderek artmaktadır. FABP'ler, hücre içi lipid bağlayıcı protein ailesinin üyeleridir; FABP9/PERF15 (Perforated 15) erkek germ hücresine özgü yağ asidi bağlantı proteini gibi dokuya

özgü eksprese edilirler. Menevşe ark. tarafından 2020 yılında yapılan bir çalışmada normozospermik ve oligospermik bireylerde FABP9 düzeyleri değerlendirildiğinde, normozoospermik grupta FABP düzeylerinin daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. FABP9 seviyeleri ile sperm konsantrasyonu, toplam sperm sayısı, motilite, progresif motilite, immotilite, baş anomalisi ve teratozoospermi indeksi arasında önemli korelasyonlar tespit etmişlerdir. Çalışmalarındaki ROC analiz verilerine ve FABP9'un testin duyarlılık ve 1-özellik değerlerine göre, FABP9'un analizinin (AUC:0,964) sperm motilitesine (AUC:0,823) göre diagnostik test olma durumunun daha üstün olduğunu bildirmişlerdir. Bunun yanı sıra, düşük FABP seviyelerinin fertilitite bozukluklarının tespitinde kullanılacak bir biyobelirteç olduğunu savunmaktadırlar<sup>81</sup>.

## Sonuç

Günümüzde standart semen parametreleri fertilizasyon durumunun değerlendirilmesinde kullanılan öngörücülerdir. Klinik olarak "altın standart" olarak tanımlanan spermiyogram analizleri, sınırlı sperm bilgisi sağlamaktadır ve bu nedenle fertil erkek ile infertil erkeği net olarak ayırt edemediği durumlar söz konusu olabilmektedir. Dolayısıyla, son yıllarda fertilitede rol alan ve aşırı ekspresyonları veya yokluklarında infertiliteye sebep olabilecek dokuya özgü spesifik proteinlerin tanımlanmaları önem kazanmıştır. "Omik" teknolojileri, seminal plazma bileşiminin karmaşıklığı nedeniyle yeni faktörleri doğrulamayı veya tanımlamayı vaat etse de bu moleküllerin uygun işlevlerini belirlemek ve altta yatan moleküler mekanizmaları açıklamak hala zordur. Son çalışmalarla birlikte, seminal plazmada biyobelirteçlerin geliştirilmesinde umut verici ilerlemeler kaydedilmiştir. Azospermi için yüksek özgüllük ve duyarlılığa sahip kullanılan ticari TEX101 ve ECM1 tabanlı immünoagnostik testlerin başarısı bunların en iyi örneklerindedir. Bu biyolojik yapıların, seminal plazmadaki işlevlerinin keşfedilmesi ve klinikte kullanım için doğrulamalarının yapılması, sadece teşhiste spermiyogram analizlerine ek katkı sağlamakla kalmayacak aynı zamanda, infertilitede yeni tedavi yaklaşımlarının da düşünülmesine yol açacaktır.

### Etik Kurul Onay Bilgisi:

Çalışma derleme makale olması nedeniyle etik kurul iznine gerek yoktur.

### Araştırmacı Katkı Beyanı:

Fikir ve tasarım: H.N.Ş., F.Z.E.; Makalenin önemli bölümlerinin yazılması: H.N.Ş., F.Z.E., E.M.

### Destek ve Teşekkür Beyanı:

Bu makale çalışmasının sürecinde herhangi bir finansal kuruluş tarafından destek sağlanmamıştır.

### Çıkar Çatışması Beyanı:

Makale yazarlarının çıkar çatışması beyanı yoktur.

---

**Kaynaklar**

- Dohle, G., et al., EAU guidelines on male infertility. *European urology*, 2005. 48(5): p. 703-711.
- Ünal, M.S., et al., Seminal sıvının fertilizasyondaki rolü. 2017.
- Kadıoğlu, A., WHO Laboratuvar El Kitabı. İnsan semeninin incelenmesi ve işlemlerden geçirilmesi. *Türk Üroloji Derneği*, 2011: p. 1-50.
- Bieniek, J.M., A.P. Drabovich, and K.C. Lo, Seminal biomarkers for the evaluation of male infertility. *Asian journal of andrology*, 2016. 18(3): p. 426.
- Guzick, D.S., et al., Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. *New England Journal of Medicine*, 2001. 345(19): p. 1388-1393.
- De Kretser, D. and H. Baker, Infertility in men: recent advances and continuing controversies. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 1999. 84(10): p. 3443-3450.
- Kovac, J.R., A.W. Pastuszak, and D.J. Lamb, The use of genomics, proteomics, and metabolomics in identifying biomarkers of male infertility. *Fertility and sterility*, 2013. 99(4): p. 998-1007.
- Wang, F., et al., The Vehicle Determines the Destination: The Significance of Seminal Plasma Factors for Male Fertility. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020. 21(22): p. 8499.
- Sharma, R., et al., Functional proteomic analysis of seminal plasma proteins in men with various semen parameters. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2013. 11(1): p. 1-20.
- Wu, Y., et al., Quantitative proteomic analysis of human seminal plasma from normozoospermic and asthenozoospermic individuals. *BioMed research international*, 2019. 2019.
- Heshmat, S.M., et al., Seminal plasma lipocalin-type prostaglandin D synthase: a potential new marker for the diagnosis of obstructive azoospermia. *The Journal of urology*, 2008. 179(3): p. 1077-1080.
- Fujihara, Y., et al., Expression of TEX101, regulated by ACE, is essential for the production of fertile mouse spermatozoa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2013. 110(20): p. 8111-8116.
- Kurita, A., et al., Identification, cloning, and initial characterization of a novel mouse testicular germ cell-specific antigen. *Biology of reproduction*, 2001. 64(3): p. 935-945.
- Takayama, T., et al., Sexually dimorphic expression of the novel germ cell antigen TEX101 during mouse gonad development. *Biology of reproduction*, (2005 a). 72(6): p. 1315-1323.
- Drabovich, A.P., et al., Differential diagnosis of azoospermia with proteomic biomarkers ECM1 and TEX101 quantified in seminal plasma. *Science translational medicine*, 2013. 5(212): p. 212ra160-212ra160.
- Korbakis, D., et al., Preclinical evaluation of a TEX101 protein ELISA test for the differential diagnosis of male infertility. *BMC medicine*, 2017. 15(1): p. 60.
- Smits, P., et al., Differentiation-dependent alternative splicing and expression of the extracellular matrix protein 1 gene in human keratinocytes. *Journal of investigative dermatology*, 2000. 114(4): p. 718-724.
- Mongiat, M., et al., Perlecan protein core interacts with extracellular matrix protein 1 (ECM1), a glycoprotein involved in bone formation and angiogenesis. *Journal of Biological Chemistry*, 2003. 278(19): p. 17491-17499.
- Horev, L., et al., A novel splice-site mutation in ECM-1 gene in a consanguineous family with lipoid proteinosis. *Experimental dermatology*, 2005. 14(12): p. 891-897.
- Kadhem, H.K., H.A. Mossa, and U.M. Alkawaz, Evaluation of The Clinical Role of Extracellular Matrix 1 Protein For Diagnosis of Obstructive Azoospermia. *International Journal of Modern Pharmaceutical Research*, 2019. 3(5): p. 70-6.
- Korbakis, D., et al., Preclinical evaluation of a TEX101 protein ELISA test for the differential diagnosis of male infertility. *BMC medicine*, 2017. 15(1): p. 1-16.
- Reddi, P.P., et al., Transcriptional regulation of spermiogenesis: insights from the study of the gene encoding the acrosomal protein SP-10. *Journal of reproductive immunology*, 2002. 53(1-2): p. 25-36.
- Golden, W.L., et al., Refinement of the Localization of the Gene for Human Intra-acrosomal Protein SP-10 (ACRV1) to the Junction of Bands q23→ q24 of Chromosome 11 by Nonisotopic in Situ Hybridization. *Genomics*, 1993. 18(2): p. 446-449.
- Wright, R.M., et al., Cloning and characterization of the gene coding for the human acrosomal protein SP-10. *Biology of reproduction*, 1993. 49(2): p. 316-325.
- Tang, A., et al., Developmental expression of ACRV1 in humans and mice. *Andrologia*, 2012. 44(1): p. 16-22.
- Foster, J.A., et al., Human SP-10: acrosomal distribution, processing, and fate after the acrosome reaction. *Biology of reproduction*, 1994. 51(6): p. 1222-1231.
- Callis, J., The ubiquitination machinery of the ubiquitin system. *The Arabidopsis book/American Society of Plant Biologists*, 2014. 12.
- Sutovsky, P., R. Hauser, and M. Sutovsky, Increased levels of sperm ubiquitin correlate with semen quality in men from an andrology laboratory clinic population. *Human Reproduction*, 2004. 19(3): p. 628-638.
- Sutovsky, P., Moreno R, Ramalho-Santos J, Dominko T, Thompson WE, Schatten G. A putative, ubiquitin-dependent mechanism for the recognition and elimination of defective spermatozoa in the mammalian epididymis. *J Cell Sci*, 2001. 114: p. 1665-1675.
- Lundwall, Å. and M. Brattsand, Kallikrein-related peptidases. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2008. 65(13): p. 2019-2038.
- Lilja, H., A kallikrein-like serine protease in prostatic fluid cleaves the predominant seminal vesicle protein. *The Journal of clinical investigation*, 1985. 76(5): p. 1899-1903.
- Robert, M. and C. Gagnon, Purification and characterization of the active precursor of a human sperm motility inhibitor secreted by the seminal vesicles: identity with semenogelin. *Biology of Reproduction*, 1996. 55(4): p. 813-821.
- Naz, R.K. and T.S. Butler, Antibodies to prostate-specific antigen in immunoinfertile women and men. *Journal of reproductive immunology*, 2013. 97(2): p. 217-222.
- Gupta, N., et al., Mutations in the prostate specific antigen (PSA/KLK3) correlate with male infertility. *Scientific reports*, 2017. 7(1): p. 1-9.
- Vickram, A., et al., Identification and in silico Characterization of Semenogelin II Protein in Semen-A Marker for Diagnosis of Male Infertility. *Current Proteomics*, 2018. 15(4): p. 313-319.
- Urade, Y., N. Fujimoto, and O. Hayaishi, Purification and characterization of rat brain prostaglandin D synthetase. *Journal of Biological Chemistry*, 1985. 260(23): p. 12410-12415.
- Urade, Y., N. Eguchi, and O. Hayaishi, Lipocalin-type prostaglandin D synthase as an enzymic lipocalin, in *Madame Curie bioscience database [Internet]*. 2013, Landes Bioscience.
- Tokugawa, Y., et al., Lipocalin-type prostaglandin D synthase in human male reproductive organs and seminal plasma. *Biology of reproduction*, 1998. 58(2): p. 600-607.
- Fouchécourt, S., et al., Mammalian lipocalin-type prostaglandin D2 synthase in the fluids of the male genital tract: putative



## Erkek İnfertilitesinde Semen Biyobelirteçleri

- biochemical and physiological functions. *Biology of reproduction*, 2002. 66(2): p. 458-467.
40. Leone, M.G., H.A. Haq, and L. Saso, Lipocalin type prostaglandin D-synthase: which role in male fertility? *Contraception*, 2002. 65(4): p. 293-295.
  41. Chen, D.-Y., et al., Relationship between lipocalin-type prostaglandin D synthase and  $\alpha$ -glucosidase in azoospermia seminal plasma. *Clinica chimica acta*, 2005. 354(1-2): p. 69-76.
  42. Diamandis, E.P., et al., Seminal plasma biochemical markers and their association with semen analysis findings. *Urology*, 1999. 53(3): p. 596-603.
  43. Goldberg, E., et al., LDHC: the ultimate testis-specific gene. *Journal of andrology*, 2010. 31(1): p. 86-94.
  44. Dodo, M., et al., Lactate dehydrogenase C is required for the protein expression of a sperm-specific isoform of lactate dehydrogenase A. *The Journal of Biochemistry*, 2019. 165(4): p. 323-334.
  45. Rolland, A.D., et al., Identification of genital tract markers in the human seminal plasma using an integrative genomics approach. *Human reproduction*, 2013. 28(1): p. 199-209.
  46. Gupta, G., LDH-C4: a unique target of mammalian spermatozoa. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 1999. 34(6): p. 361-385.
  47. Ford, W., Regulation of sperm function by reactive oxygen species. *Human reproduction update*, 2004. 10(5): p. 387-399.
  48. Mahanta, R., et al., Association of oxidative stress biomarkers and antioxidant enzymatic activity in male infertility of north-East India. *The Journal of Obstetrics and Gynecology of India*, 2012. 62(5): p. 546-550.
  49. Khodair, H.A., et al., Evaluation of lipid peroxidation in cases of idiopathic male infertility: correlation with the hypo-osmotic swelling test. *Egyptian Journal of Dermatology and Venerology*, 2013. 33(2): p. 42.
  50. Nouri, M., et al., Vitamins C, E and lipid peroxidation levels in sperm and seminal plasma of asthenoteratozoospermic and normozoospermic men. 2008.
  51. Kratz, E.M., et al., Decreased melatonin levels and increased levels of advanced oxidation protein products in the seminal plasma are related to male infertility. *Reproduction, Fertility and Development*, 2016. 28(4): p. 507-515.
  52. Pang, S., et al., Neuroendocrinology of melatonin in reproduction: recent developments. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 1998. 14(3-4): p. 157-166.
  53. Espino, J., et al., Melatonin as a potential tool against oxidative damage and apoptosis in ejaculated human spermatozoa. *Fertility and sterility*, 2010. 94(5): p. 1915-1917.
  54. Espino, J., et al., Melatonin protects human spermatozoa from apoptosis via melatonin receptor–and extracellular signal–regulated kinase-mediated pathways. *Fertility and sterility*, 2011. 95(7): p. 2290-2296.
  55. Awad, H., et al., Melatonin hormone profile in infertile males. *international journal of andrology*, 2006. 29(3): p. 409-413.
  56. Bejarano, I., et al., Exogenous melatonin supplementation prevents oxidative stress-evoked DNA damage in human spermatozoa. *Journal of pineal research*, 2014. 57(3): p. 333-339.
  57. Kovak, M.R., et al., Investigation of galectin-3 function in the reproductive tract by identification of binding ligands in human seminal plasma. *American Journal of Reproductive Immunology*, 2014. 72(4): p. 403-412.
  58. Mei, S., et al., The role of galectin-3 in spermatozoa-zona pellucida binding and its association with fertilization in vitro. *Molecular human reproduction*, 2019. 25(8): p. 458-470.
  59. Frenette, G., et al., Macrophage migration inhibitory factor in the human epididymis and semen. *Molecular human reproduction*, 2005. 11(8): p. 575-582.
  60. Aljabari, B., et al., Imbalance in seminal fluid MIF indicates male infertility. *Molecular Medicine*, 2007. 13(3): p. 199-202.
  61. Murawski, M., et al., Evaluation of superoxide dismutase activity and its impact on semen quality parameters of infertile men. *Folia histochemica et cytobiologica*, 2007. 45(1): p. 123-126.
  62. Fukai, T. and M. Ushio-Fukai, Superoxide dismutases: role in redox signaling, vascular function, and diseases. *Antioxidants & redox signaling*, 2011. 15(6): p. 1583-1606.
  63. Yan, L., et al., Seminal superoxide dismutase activity and its relationship with semen quality and SOD gene polymorphism. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 2014. 31(5): p. 549-554.
  64. Bojar, I., M. Witczak, and A. Wdowiak, Biological and environmental conditionings for sperm DNA fragmentation. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 2013. 20(4).
  65. Wdowiak, A., S. Bakalczuk, and G. Bakalczuk, Decreased activity of superoxide dismutase in the seminal plasma of infertile men correlates with increased sperm deoxyribonucleic acid fragmentation during the first hours after sperm donation. *Andrology*, 2015. 3(4): p. 748-755.
  66. Öner-Iyidoğan, Y., et al., The Effects of Superoxide Dismutase Activity and Total Antioxidant Status in Seminal Plasma on Male Infertility. *Turk J Urol*, 2003. 29: p. 296-300.
  67. Negri, L., et al., Effect of superoxide dismutase supplementation on sperm DNA fragmentation. *Archivio Italiano di Urologia e Andrologia*, 2017. 89(3): p. 212-218.
  68. O'Flaherty, C., Redox regulation of mammalian sperm capacitation. *Asian journal of andrology*, 2015. 17(4): p. 583.
  69. Ozkosem, B. and C. O'flaherty, detrimental Effects of Oxidative Stress on Spermatozoa Lacking Peroxiredoxin 6: 197. *Free Radical Biology and Medicine*, 2012. 53: p. S86.
  70. Tremellen, K., Oxidative stress and male infertility—a clinical perspective. *Human reproduction update*, 2008. 14(3): p. 243-258.
  71. Alvarez, J.G. and R.J. Aitken, Lipid peroxidation in human spermatozoa, in *Studies on Men's Health and Fertility*. 2012, Springer. p. 119-130.
  72. Witte, A.-B., et al., Inhibition of thioredoxin reductase but not of glutathione reductase by the major classes of alkylating and platinum-containing anticancer compounds. *Free Radical Biology and Medicine*, 2005. 39(5): p. 696-703.
  73. Jiménez, A., et al., Spermatozoa/spermatid-specific thioredoxin-3, a novel Golgi apparatus-associated thioredoxin, is a specific marker of aberrant spermatogenesis. *Journal of Biological Chemistry*, 2004. 279(33): p. 34971-34982.
  74. Urig, S. and K. Becker. On the potential of thioredoxin reductase inhibitors for cancer therapy. in *Seminars in cancer biology*. 2006. Elsevier.
  75. Sutovsky, P. and K. Lovercamp, Molecular markers of sperm quality. 2011.
  76. Sutovsky, P., et al., Negative biomarker-based male fertility evaluation: sperm phenotypes associated with molecular-level anomalies. *Asian journal of andrology*, 2015. 17(4): p. 554.
  77. Ozanon, C., J. Chouteau, and P. Sutovsky, Clinical adaptation of the sperm ubiquitin tag immunoassay (SUTI): relationship of sperm ubiquitylation with sperm quality in gradient-purified semen samples from 93 men from a general infertility clinic population. *Human Reproduction*, 2005. 20(8): p. 2271-2278.
  78. Erbayram, F.Z., E. Menevse, and D. Dursunoglu, Semen testis expressed protein 101 and spermatid-specific thioredoxin reductase 3 levels may be biomarkers in infertile male. *Turkish Journal of Biochemistry*, 2021.
  79. Storch, J. and A.E. Thumser, Tissue-specific functions in the fatty acid-binding protein family. *Journal of Biological Chemistry*, 2010. 285(43): p. 32679-32683.

80. Selvaraj, V., et al., Mice lacking FABP9/PERF15 develop sperm head abnormalities but are fertile. *Developmental biology*, 2010. 348(2): p. 177-189.
81. Menevse, E., et al., How does seminal plasma fatty-acid binding protein-9 level change in infertile males? *Physiology International*, 2020. 107(3): p. 419-430.