

Cerrahpaşa Tıp Dergisi 2008; 39: 63-69'da yer alan, B. Aydemir ve ark.'a ait "İdiyopatik İnfertil Erkeklerde Antioksidan Sistem ile Semen Parametreleri Arasındaki İlişkiler" başlıklı makaledeki Tablo 2 sehven eksik basılmıştır. Makaledeki Tablo 2 aşağıdaki gibi olacaktır. Özür diler, bilgilerinize sunarız.

Editör

İdiyopatik İnfertil Erkeklerde Antioksidan Sistem ile Semen Parametreleri Arasındaki İlişkiler

Birsen Aydemir¹, İlhan Onaran², Ali Rıza Kızıler¹, Bülent Alıcı³, Abdullah Aksu⁴, Selmin Toplan¹

¹İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

³İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, İstanbul

⁴İstanbul Üniversitesi Deniz Bilimleri ve İşletmeciliği Enstitüsü, İstanbul

Tablo 2. Fertil ve idiyopatik infertil gruplara ait seminal plazma süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) aktivitelemi ile redükte glutatyon (GSH) ve selenyum (Se) düzeyleri.

	GSH (pmol/mL)	SOD (U/mg protein)	CAT (mU/mg protein)	Selenyum (µmol/L)
Fertil Grup (n=30)	40.00±5.37 (31-49)	83.04±8.97 (69.90-106.00)	4.50±0.67 (3.30-5.90)	93.73±20.89 (70.50-155.10)
İnfertil Grup (n=28)	36.93±6.31* (30-50)	70.26±19.94*** (54.30-87.30)	3.70±0.59*** (2.90-4.80)	78.99±10.05*** (65.40-98.40)

Değerler Ortalama ±Standart Sapma olarak verilmiştir. Gruplara ait bireylerin alt ve üst değerleri parantez içerisinde verilmiştir. Fertil grup ile infertil grup karşılaştırıldığında; *p<0.05, ***p<0.001.

İdiyopatik İnfertil Erkeklerde Antioksidan Sistem ile Semen Parametreleri Arasındaki İlişkiler

Birsen Aydemir¹, İlhan Onaran², Ali Rıza Kızıler¹, Bülent Alıcı³, Abdullah Aksu⁴, Selmin Toplan¹

¹İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı, İstanbul

²İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

³İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, İstanbul

⁴İstanbul Üniversitesi Deniz Bilimleri ve İşletmeciliği Enstitüsü, İstanbul

Özet

Amaç: İdiyopatik infertilitede antioksidan savunma sistemlerine ait çeşitli bileşenlerin rolü araştırılmış olmakla birlikte, bu bileşenlerin aynı hasta grubu içerisinde birlikte değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanamamıştır. Çalışmanın amacı idiyopatik infertil hasta ve fertil kontrol gruplarında seminal plazma selenyum, redukte glutatyon (GSH), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) aktivitelerinin ölçümü ve semen parametrelerinin (sperm sayısı, motilite ve morfoloji) analizi yapılarak birbirleri ile olan ilişkileri her iki grupta karşılaştırmaktır.

Yöntem: Çalışma grupları 28 kişilik idiyopatik infertil ile 30 kişilik fertil kontrol gruplarından oluşturulmuştur. Semen analizleri Dünya Sağlık Örgütü rehberine göre sperm sayısı, motilite ve morfolojisi değerlendirilmiştir. Seminal plazma SOD ve CAT aktiviteleri, GSH konsantrasyonları biyokimyasal yöntemler ile ölçülmüştür. Seminal plazma selenyum düzeyleri ise atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile belirlenmiştir.

Bulgular: Bulgularımızda sperm sayısının idiyopatik infertil grubunda fertil kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük saptanmıştır ($p<0.001$). SOD ve CAT aktiviteleri, selenyum ve GSH düzeyleri de anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir (sırasıyla $p<0.001$, $p<0.001$, $p<0.001$ ve $p<0.05$). Semen analizi ile antioksidan parametreler arasındaki ilişki Spearman rank korelasyon analizine göre yapıldı. Seminal plazma GSH konsantrasyonları ile SOD ve CAT aktiviteleri arasında pozitif korelasyon mevcuttur (sırasıyla $r=0.786$, $p<0.01$; $r=0.589$, $p<0.01$). Aynı zamanda GSH ile selenyum konsantrasyonları arasında da pozitif bir korelasyon bulunmaktadır ($r=0.434$, $p<0.05$). Seminal plazma selenyum düzeyleri ile SOD ve CAT aktiviteleri arasında da pozitif bir korelasyon gözlenmiştir (sırasıyla $r=0.661$, $p<0.01$; $r=0.596$, $p<0.01$).

Sonuç: Bununla birlikte seminal plazma CAT ve SOD aktivite değerleri arasında da pozitif bir ilişkinin varlığı tespit edilmiştir ($r=0.872$, $p<0.01$). Diğer yandan idiyopatik infertil grubunda antioksidanlar ile incelenen semen parametreleri arasında bir korelasyon tespit edilememiştir. Bu sonuçlar seminal plazmada selenyum ve GSH düzeyleri ile SOD ve CAT aktivitelerinin idiyopatik infertil hastalarımızın etyolojik faktörleri arasında olabileceğini gösterebilir.

Anahtar kelimeler: Süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon, selenyum, semen, idiyopatik infertilite

Cerrahpaşa Tıp Derg 2008; 39: 63-69

Relationships between the semen parameters and the antioxidant system in idiopathic infertile patients

Abstract

Objectives: Although it has been addressed that the decreases in levels of various antioxidant system components such as selenium, reduced glutathione (GSH), catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) play a role in idiopathic infertility, there is not any report concerning altogether evaluation of these components in same study. The aim of the present study was to determine seminal plasma levels of selenium and GSH, activities of CAT and SOD and sperm parameters in men with idiopathic infertile compared with fertile males, and to evaluate the relationships among these parameters.

Methods: Twenty-eight men with idiopathic infertility and 30 healthy fertile men were recruited to this study. Semen analysis (sperm count, motility, morphology) was performed according to the World Health Organization (WHO) guidelines to obtain sperm concentration, motility, and morphology. Activities of SOD and CAT and GSH levels in seminal plasma were measured by biochemical methods. Selenium levels in seminal plasma were determined by atomic absorption spectrophotometer.

Results: The sperm count in the idiopathic infertile male group were found lower than those in fertile male group ($p<0.001$). SOD and CAT activities in seminal plasma, and selenium and GSH levels in seminal plasma from the idiopathic infertile male group were significantly lower than those in the fertile male group ($p<0.05$, $p<0.001$, $p<0.001$ and $p<0.001$, respectively). Spearman correlation coefficient of ranks was used to compare results from the semen analysis and the antioxidant parameters. There were significant positive correlations between GSH levels in seminal plasma and SOD and CAT activities, and selenium levels in seminal plasma of idiopathic infertile group ($r=0.786$, $p<0.01$; $r=0.589$, $p<0.01$; $r=0.434$, $p<0.05$, respectively). We also observed positive correlations between selenium levels in seminal plasma and SOD and CAT activities ($r=0.661$, $p<0.01$; $r=0.596$, $p<0.01$, respectively). Moreover, we found positive correlations between CAT activity and SOD activity ($r=0.872$, $p<0.01$).

Conclusion: However, there were no significant correlations observed between the antioxidants and semen parameters which were investigated. Our results suggest that selenium and GSH levels, CAT and SOD activities in seminal plasma may be etiological factors in our idiopathically infertile patients.

Key words: Superoxide dismutase, catalase, glutathione, selenium, semen, idiopathic infertility

Cerrahpaşa J Med 2008; 39: 63-69

Alındığı Tarih: 25 Nisan 2008

Yazışma Adresi (Address): Dr. Birsen Aydemir

İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Biyofizik Anabilim Dalı

34098 - Cerrahpaşa - İstanbul

e-posta: birsenay@istanbul.edu.tr - birsenay2001@yahoo.com

infertilite sorunu yaşayan çiftlerin yaklaşık %20-50'sinde erkek bireylerden kaynaklanan sorunların olduğu ve bununla ilgili birçok faktörün olabileceği bilinmektedir. Aynı zamanda infertil çiftlerin yaklaşık

%25'inde infertiliteyi açıklayacak nedene dönük bir patoloji saptanamamıştır. İnfertilite patogenezinde oksidatif stresin rolü çeşitli araştırmacılar tarafından vurgulanmıştır [1-5]. Testiküler doku, sperm hücreleri ve lökositler tarafından üretilen reaktif oksijen türlerinin (ROT), seminal plazmada oksidatif stresi artırabileceği bildirilmiştir [1,2]. ROT'nin sperm hücrelerinin hiperaktivasyonunda, kapasitasyonunda ve akrozom reaksiyonlarında fizyolojik rolü olduğu bilinse de, seminal plazmadaki miktarlarının artışı oksidatif hasara neden olabilmektedir [1-4]. Sperm hücrelerinin plazma membranlarının yüksek oranda çoklu doymamış yağ asitlerinden oluşması nedeniyle ROT'lerin indüklediği hasarlara çok duyarlı oldukları belirtilmiştir [3]. Sperm hücresi plazma membranındaki bu peroksidatif hasar, insan erkek infertilitesinin patofizyolojik mekanizmasında önemli bir rol oynamaktadır. Oksidatif hasar sperm membranında fonksiyon bozukluğuna ve anormal morfolojik sperm oluşumlarına neden olabilmektedir [4]. Klinik çalışmalarda ROT üretimi ile fertilizasyon arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır [1,5,6].

Sperm hücrelerinin normal fizyolojik işlevlerinin sürdürülmesinde prooksidan/antioksidan dengenin sağlanması çok önemlidir. İnsan sperm hücrelerinde ve seminal plazmada aşırı ROT üretimi çeşitli enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan sistemler tarafından engellenmektedir [7-9]. Seminal plazmada süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz/glutatyon redüktaz ve katalaz (CAT) gibi çoğu hücre ve hücre sıvısında bulunan antioksidan enzimler bulunmaktadır [1,8,9]. Sperm, yardımcı üreme organları, epididim ve testisler tarafından üretilen SOD ve CAT'ın sperm motilitesinin sürdürülmesindeki önemi vurgulanmıştır [8]. İnsan sperm hücresinin peroksidatif hasarından koruyan diğer unsurlar arasında redükte glutatyon (GSH), E ve C vitamini, karotenoidler ve selenyum da yer almaktadır. Selenyum bazı antioksidan enzimlerin aktivitelerinin ve redoks düzenleyici proteinlerin fonksiyonlarının sürdürülmesinde önemli rol oynayan esansiyel bir elementtir. Selenyum optimal konsantrasyonunun sperm üretimi ve motilite artışına, yetersizliğinin de sperm motilite azalmasına neden olduğu gösterilmiştir [10].

İdiyopatik infertil hastaların seminal plazmasında çeşitli antioksidan sistemlerin yetersiz olduğu saptanmıştır [1,11,12]. Bunlar arasında SOD, CAT, glutatyon S-transferaz (GST), GSH ve selenyum sayılabilir. Ancak literatürde bu antioksidan parametrelerin idiyopatik infertil hastalarda beraber değerlendirildiği ve bunların birbirleri ile ilişkilerinin araştırıldığı bir çalışma dikkati çekmemektedir. Bu antioksidan sistemlerin beraber bakılmasının ve değerlendirilmesinin hastalığın etiopatogenezinde antioksidan savunma sisteminin rolünün ortaya çıkarılmasında daha fazla katkıda bulunabilir.

Bu nedenle çalışmamızın amacı, İstanbul'da yaşayan fertil sağlıklı bireyler ile idiyopatik infertil bireylerde seminal plazma selenyum ve GSH düzeyleri, SOD ve CAT aktiviteleri ve bunların semen parametreleri ile olan ilişkilerini araştırmaktır.

Gereç ve Yöntem

Semen örnekleri, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı İnfertilite Merkezi'ne infertilite nedeniyle başvuran, infertilite etyolojik değerlendirmesinde herhangi bir patoloji saptanamaması nedeniyle idiyopatik infertilite olarak kabul edilen 28 hastadan alınmıştır. Kontrol grubu ise son iki yılda çocuk sahibi ve fertil olduğu bilinen normal semen analizi olan gönüllü bireylerden oluşturulan 30 kişiden temin edilmiştir. Çalışma ile ilgili olarak İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi etik kurul onayı alınarak, tüm bireyler çalışma hakkında bilgilendirilmiştir (Etik Kurul No/Tarih: 16849 / 14. 08.2001).

Çalışmaya dahil edilen olgularda, çiftlerin fizik muayene ve hormon parametreleri normal sınırlar içerisindeydi. Erkek bireyler fizik muayenede testis boyutları ve varikosel açısından değerlendirildi. Çalışma gruplarına kriptorşidizmi, vasktomisi, anormal karaciğer ve hormon testleri olan, sigara ve alkol kullanan bireyler dahil edilmedi. Bireylerin son üç aydır folik asit, glutatyon, E ve C vitamini, selenyum, çinko takviyesi olmayanlar arasından seçildi.

Cinsel perhiz sonrası (3-5 gün) mastürbasyon yolu ile steril tüplere alınan semen örnekleri 37 °C'de 30 dakika likefiye olduktan sonra İnfertilite Merkezi Androloji Laboratuvarında analiz edildi. Sperm sayısı, motilitesi ve

morfolojisi Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) standartlarına uygun olarak yapıldı [13]. Semen analizleri en az iki defa olmak üzere üçer haftalık periyotlarda aynı kişi tarafından değerlendirildi. Çalışma gruplarında yer alan bireyler lökospemik (>106 lökosit/ml) olmayıp, miks antitoglobulin reaksiyon (MAR) değerleri de pozitif değildi.

Likefiye olmuş örnekler 1000xg'de 10 dakika santrifüj edilerek üst faz toplandı ve -80°C'de en fazla bir ay bekletilerek, SOD ve CAT aktiviteleri ile GSH ve selenyum düzeyleri Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Biyofizik Anabilim Dalı ve Kimyasal Oşinografi Anabilim Dalı Araştırma Laboratuvarlarında ölçüldü.

Seminal plazmada SOD aktivite ölçümü, süperoksit radikali üreticisi olarak kullanılan ksantin/ksantin oksidaz ile nitroblue tetrazoliumun (NBT) indirgenmesinin spektrofotometrik ölçüm esasına dayanan Sun ve ark. [14] yöntemine uygun olarak yapıldı. SOD aktivitesi örneklerle eşit hacimde etanol/kloroform (5/3; v/v) ilavesinden sonra santrifüjle elde edilen üst sıvıda ölçüldü. NBT'un indirgenmesini %50 inhibe eden SOD aktivitesi 1 U olarak kabul edildi ve örneklerdeki aktivite, U/mg protein olarak verildi.

Seminal plazmada CAT aktivitesi, CAT tarafından hidrojen peroksitin (H₂O₂) suya indirgenmesi esasına dayanan UV spektrofotometri yöntemi ile belirlendi [15]. Bunun için 1 ml H₂O₂ çözeltisi üzerine (son konsantrasyon 10 mM H₂O₂) 50 µl seminal plazma eklenerek karıştırıldı. CAT, peroksit reaksiyonunda zamanın bir fonksiyonu olarak azalan absorbans değerleri 30 sn aralıklarla 3 dk boyunca 240 nm'de ölçüldü. CAT aktivitesi için eksitasyon katsayısı (46.3 M⁻¹cm⁻¹) kullanılarak, aktivite mU/mg protein olarak verildi.

Seminal plazma örneklerindeki GSH konsantrasyonları, enzimatik reaksiyona dayanan glutatyon redüktaz ve NADPH aracılığıyla spektrofotometrik olarak ölçüldü [16]. Bu yöntem 5,5'-ditiyobis-2 nitrobenzoyik asit ile GSH'un reaksiyonu sonucu oluşan renkli bileşiğin (2-nitro-5-tiyobenzoyik asit), ölçülmesi temeline dayanmaktadır. UV spektrofotometresinde 412 nm'de absorbans değişiklikleri kaydedilerek, 2-nitro-5-tiyobenzoyik asite ait molar absorpsiyon katsayısı (13.6x10⁻⁴ M⁻¹ cm⁻¹) kullanmak suretiyle seminal plazmada GSH konsantrasyonları hesaplandı ve sonuçlar pmol/ml olarak ifade edildi.

Seminal plazmanın protein içeriği Lowry ve ark. [17]

yöntemine uygun olarak yapıldı. Bu yöntemde sıgır serum albümin çözeltisi kullanılarak standart grafik oluşturuldu. Örneklerdeki protein konsantrasyonları, standart grafiğe bağlı olarak mg/ml olarak hesaplandı.

Seminal plazma örneklerinde selenyum analizi atomik absorpsiyon spektrofotometresinde soğuk buhar yöntemi ile hidrür buharı jeneratörü ünitesinde (SHIMADZU AA 6701 HVG-1 Hydride vapor generatör) yapıldı. Hidrür ünitesinde örnekte selenyum %0.4 sodyumborhidrür (NaBH₄) ile reaksiyona girerek hidrür bileşiğine dönüşür. Hidrür bileşiğinde Argon (Ar) gazı ile analiz ünitesine taşınarak selenyum konsantrasyonları ölçüldü. Sonuçlar µmol/l olarak hesaplandı.

Çalışmada kullanılan yöntemlerde 10 tekrarlı çalışmalar sonucunda elde edilen CV değerleri %10'un altında bulunmuştur.

Çalışmalarda kullanılan kimyasallar Merck, Fluka ve Aldrich-Sigma firmalarından temin edilmiştir.

İstatistik analiz için Windows SPSS 11.5 programı kullanıldı. Gruplar arasındaki istatistiksel anlamlılık student-t testi ile, parametreler arasındaki korelasyonun araştırılması ise Spearman rank korelasyon analizi ile yapıldı. p<0.05 değeri istatistiksel anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular

Fertil ve infertil gruplara ait yaş, perhiz süresi, sperm sayısı, motilite ve morfoloji değerleri Tablo 1'de gösterilmiştir. Sperm sayısı idiyopatik infertil grubunda 35.11±7.49 10⁶/ml (24-50) ve fertil grubunda 62.57±17.22 10⁶/ml (26-112) olup, bu değerler istatistiksel olarak anlamlıdır (p<0.001). Bununla birlikte sperm motilite ve morfolojisi açısından iki grup arasında istatistiksel olarak bir fark saptanmamıştır (p>0.05). Tablo 2'de seminal plazma antioksidan sistem parametreleri gösterilmiştir. Seminal plazma GSH, SOD, CAT ve selenyum değerleri karşılaştırıldığında; infertil grubun değerlerinin fertil gruba göre istatistiksel olarak düşük olduğu bulunmuştur (sırasıyla p<0.05, p<0.001, p<0.001 ve p<0.001).

İdiopatik infertil grupta semen analiz parametre değerleri ile antioksidan parametrelerinin birbirleri ile olan ilişkileri Spearman rank korelasyon analiz yöntemi

Tablo 1. Fertil ve idiyopatik infertil hasta gruplarına ait yaş, perhiz süresi, sperm sayısı, motilite ve morfoloji istatistiksel değerleri.

	Yaş (yıl)	Perhiz Süresi (gün)	Sperm Sayısı ($\times 10^6/\text{mL}$)	Motilite (%)	Morfoloji (%)
Fertil Grup (n=30)	39.87 \pm 6.15 (28-45)	3.73 \pm 0.83 (3-5)	62.57 \pm 17.22 (26-112)	53.93 \pm 5.71 (40-60)	49.23 \pm 3.19 (40-56)
İnfertil Grup (n=28)	39.00 \pm 4.06 (26-43)	3.71 \pm 0.76 (3-5)	35.11 \pm 7.49*** (24-50)	53.00 \pm 4.68 (45-65)	47.93 \pm 4.73 (40-60)

Değerler Ortalama \pm Standart Sapma olarak verilmiştir. Gruplara ait bireylerin alt ve üst değerleri parantez içerisinde verilmiştir. Fertil grup ile infertil grup karşılaştırıldığında;***p<0.001.

ile incelendi. Tablo 3'te görüleceği gibi seminal plazma GSH konsantrasyonları ile SOD ve CAT aktiviteleri arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Aynı zamanda GSH ile selenyum konsantrasyonları arasında da benzer bir ilişki bulunmuştur. Seminal plazma selenyum düzeyleri ile SOD ve CAT aktiviteleri arasında da pozitif bir korelasyon gözlenmiştir. Bununla birlikte seminal plazma CAT ve SOD aktivite değerleri arasında da aynı ilişkinin varlığı tespit edilmiştir. Diğer yandan idiyopatik infertil grubunda antioksidanlar ile incelenen semen parametreleri (sperm sayısı, morfolojisi ve motilitesi) arasında bir korelasyon tespit edilememiştir.

Tartışma

Erkek infertilitesi ile ilgili yapılan çalışmalarda antioksidan sistemler ile oksidatif hasara bağlı spermdeki hasarların antioksidan sistem ile ilişkili olduğunu bildi-

ren çelişkili bulgular mevcuttur [1,2,4,6,11,18, 19,20]. Çok çeşitli faktörlerin bu çelişkili bulguların kaynağı olabileceği ileri sürülmektedir. Çevresel faktörlerin ve beslenme alışkanlıklarından dolayı bu faktörlerden birinin de seçilen populasyonlar olabileceği kabul görmektedir. Bununla birlikte literatür bilgilerimiz genellikle aynı populasyon içerisinde bireysel farklı antioksidanların birlikte değerlendirildiği ve bunların birbiri ile ilişkilerinin incelendiği çalışmaların olmadığını göstermektedir. Bu bilgiler ışığında, seminal plazmada GSH ile selenyum düzeylerinin ve SOD ile CAT aktivitelerinin incelenmesi ve bunların semen analizi parametreleri arasındaki olası ilişkileri araştırmak suretiyle İstanbul'da yaşayan idiyopatik erkek bireylerde antioksidanların infertilitedeki önemini ortaya koymayı amaçladık. Bu parametrelerin birlikte değerlendirilmesi, hastalık patogenezini ile antioksidan savunma sistemi arasındaki ilişkilere aydınlatılmasına katkıda bulunabilir.

Tablo 2. Fertil ve idiyopatik infertil gruplara ait seminal plazma süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) aktiviteleri ile redükte glutatyon (GSH) ve selenyum (Se) düzeyleri.

	GSH (pmol/mL) (U/mg protein)	SOD (mU/mg protein)	CAT ($\mu\text{mol/L}$)	Selenyum (%)
Fertil Grup (n=30)	40.00 \pm 5.37 (31-49)	83.04 \pm 8.97 (69.90-106.00)	4.50 \pm 0.67 (3.30-5.90)	93.73 \pm 20.89 (70.50-155.10)
İnfertil Grup (n=28)	36.93 \pm 6.31* (30-50)	70.26 \pm 19.94*** (54.30-87.30)	3.70 \pm 0.59*** (2.90-4.80)	78.99 \pm 10.05*** (65.40-98.40)

Değerler Ortalama \pm Standart Sapma olarak verilmiştir. Gruplara ait bireylerin alt ve üst değerleri parantez içerisinde verilmiştir. Fertil grup ile infertil grup karşılaştırıldığında; *p<0.05, ***p<0.001.

Tablo 3. İdiyopatik hasta grubunda seminal plazma SOD ve CAT aktiviteleri, GSH ve selenyum konsantrasyonları arasındaki ilişkiler (Spearman Rank Korelasyon Analizi, r değerleri).

	SOD	CAT	Selenyum
GSH	0.786**	0.589**	0.434*
Selenyum	0.661**	0.596**	—
CAT	0.872**	—	—

**p<0.01, *p<0.05.

SOD ve CAT seminal plazmadaki en önemli antioksidan enzimlerdendir. Çeşitli çalışmalarda seminal plazmada artan ROT konsantrasyonlarının insan semen kalitesini azalttığı bildirilmiştir [1,21,22]. İdiyopatik infertil hastalarda seminal plazma SOD ve CAT aktivitelerinin azalması ile ROT artışı arasında ilişkiler gösterilmiştir [1]. Kobayashi ve ark. [21] sperm SOD aktiviteleri ile sperm motilitesi arasında bir negatif korelasyon saptamışlardır. Kurpisz ve ark. [23] sperm motilitesi ile seminal plazma SOD aktivitesi arasında pozitif bir korelasyon saptamışlardır. Khosrowbeygi ve Zarghami [24] infertil hasta grubunda CAT aktivitesi ve total antioksidan kapasitenin (TAC) kontrol gruba göre düşük olduğu, SOD aktivitesinin ise değişmediğini belirtmişlerdir. CAT aktivitesi ve TAC düzeyleri ile sperm motilitesi ve morfolojisi arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Ancak bazı çalışmalarda farklı sonuçlar da bildirilmiştir. Sanocka ve ark. [18] idiyopatik bireyler ile fertil bireyler arasında seminal plazma SOD ve CAT aktivitelerinin değişmediğini belirlemişlerdir. Hsieh ve ark. [19] hem seminal plazma hem de sperm SOD aktiviteleri ile sperm motilitesi arasında ilişki olmadığını saptamışlardır. Ülkemizde yapılan çalışmalarda Öner İyidoğan ve ark. [22] infertil grubunda sperm motilitesi ile SOD aktivitesi arasında negatif bir korelasyon tespit etmişlerdir. Alkan ve ark. [1] SOD ve CAT aktivitelerinin idiyopatik infertil erkek grubunda fertil kontrol grubuna göre azaldığını belirlemişlerdir. Bizim çalışmamızda SOD ve CAT aktiviteleri ile sperm motilitesi arasında bir ilişki gözlenmemiştir. Ancak idiyopatik infertil grubunda fertil grubundaki bireylere göre SOD ve CAT aktivitelerinde azalma tespit edilmiştir. İdiyopatik infertil bireylerde SOD ve CAT aktiviteleri arasında pozitif korelas-

yonlar saptanmıştır. Fakat sperm sayısı, motilitesi, ve morfolojisi ile SOD ve CAT aktiviteleri arasında bir korelasyon saptanamamıştır. Bu sonuçlar infertil bireylerde seminal plazmada SOD ve CAT aktivitelerinin azalmış olmasına rağmen, bunların semen parametreleri üzerine bir etkisinin olmadığını gösterebilir.

Seminal plazmadaki vitamin E ve C, karotenoidler, selenyum, GSH, albumin gibi non enzimatik antioksidanlar prooksidan/antioksidan dengenin sağlanmasında önemli rol almaktadırlar. Selenyum, glutatyon peroksidaz enziminin aktivitesinin sürdürülmesinde gerekli bir bileşendir. Vitamin E ile sinerjik bir etki göstermektedir. Keskes-Ammar ve ark. [10] yaptıkları çalışmada 3 aylık bir sürede günde 225 mg selenyum ile 400 mg vitamin E alımının seminal plazmada malondialdehid konsantrasyonlarında azalma ve sperm motilitesinde artışa neden olduğunu göstermişlerdir. Selenyum yetersizliğinin spermatogenez değişikliklerine neden olduğu bilinmektedir. Orta düzeydeki selenyum yetersizliği sperm motilitesini bozduğu ve sperm morfolojisini değiştirdiği, aşırı selenyum eksikliğinin ise spermatogenezini tamamiyle bozduğu gözlenmiştir [25]. Bir başka çalışmada selenyum ve vitamin E'nin sperm motilitesi ve morfolojisi üzerine olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir [26]. Akinloye ve ark. [12] yaptıkları çalışmada oligospermik erkeklerde serum selenyum düzeylerinin azospermik ve kontrol gruplarına göre yüksek olduğunu, oysa ki seminal plazma selenyum düzeylerinin azospermik bireylerde oligospermik ve fertil kontrollere göre arttığını göstermişlerdir. Bu çalışmada serum selenyum düzeyi ile sperm sayısı arasında negatif bir korelasyon, aynı şekilde seminal plazma selenyum ile sperm motilitesi, canlılığı ve morfolojisi arasında da negatif korelasyon, oysa ki serum selenyum ile testosteron düzeyleri arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Ancak selenyum uygulamaları ile ilgili çelişkili sonuçlar da mevcuttur. Iwanier ve Zachara [27] selenyum verilmesinin sperm motilitesine herhangi bir etkinin olmadığını göstermişlerdir. Çalışmamızda selenyum ve GSH düzeyleri idiyopatik infertil bireylerde kontrol fertil bireylere göre anlamlı bir azalma saptanmıştır. Ayrıca SOD aktiviteleri ile selenyum ve GSH düzeyleri arasında pozitif korelasyonlar belirlenmiştir. Aynı zamanda bu ilişki CAT aktivitesi ile selenyum ve GSH arasında da belirlenmiştir. Ancak semen parametreleri ile selenyum ve GSH arasında herhangi bir ilişki saptanamamıştır.

Bu literatür bilgileri ve bulgularımız doğrultusunda idiyopatik hastalarda antioksidan savunma sisteminin azaldığı ama bunun semen parametrelerinde her zaman ilişkili olmadığı söylenebilir. Bulgularımız seminal plazmada selenyum ve GSH düzeyleri ile SOD ve CAT aktivitelerinin azalması idiyopatik infertil hastalarımızın etyolojik faktörleri olabileceğini gösterebilir. Bizim incelediğimiz idiyopatik infertil grubunda seviyelerini düşük gördüğümüz selenyum ve GSH infertilite araştırmalarında tedaviye destek olarak verilmiştir [10,27]. Antioksidanların verilmesi ile gözlemlenen değişikliklerin mekanizmaları tam olarak aydınlatılmış değildir. İdiyopatik infertilite tedavisinde antioksidanların kullanımı ile ilgili literatürde sınırlı çalışma mevcuttur. Bu idiyopatik hastaların böyle tedavilerden yarar görüp görmeceğini belirlemek için daha fazla araştırmaya gerek duyulmaktadır.

Kaynaklar

1. 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; 157: 140-143.
2. Sharma RK, Agarwal A. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology* 1996; 48: 835-850.
3. Cross AR, Jones OT. Enzymic mechanisms of superoxide production. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1057: 281-298.
4. Christova Y, James PS, Jones R. Lipid diffusion in sperm plasma membranes exposed to peroxidative injury from oxygen free radicals. *Mol Reprod Dev* 2004; 68: 365-372.
5. Aitken RJ, Irvine DS, Wu FC. Prospective analysis of sperm-oocyte fusion and reactive oxygen species generation as criteria for the diagnosis of infertility. *Am J Obstet Gynecol* 1991; 164: 542-551.
6. Aydemir B, Kiziler AR, Onaran I, et al. Impact of Cu and Fe concentrations on oxidative damage in male infertility. *Biol Trace Elem Res* 2006; 112: 193-203.
7. de Lamirande E, Eiley D, Gagnon C. Inverse relationship between the induction of human sperm capacitation and spontaneous acrosome reaction by various biological fluids and the superoxide scavenging capacity of these fluids. *Int J Androl* 1993; 16: 258-266.
8. 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 the golden hamster. *J Androl* 2003; 24: 704-711.
9. Zini A, Schlegel PN. Catalase mRNA expression in the male rat reproductive tract. *J Androl* 1996; 17: 473-480.
10. Keskes-Ammar L, Feki-Chakroun N, Rebai T, et al. Sperm oxidative stress and the effect of an oral vitamin E and selenium supplement on semen quality in infertile men. *Arch Androl* 2003; 49: 83-94.
11. Aydemir B, Onaran I, Kiziler AR, et al. Increased oxidative damage of sperm and seminal plasma in men with idiopathic infertility is higher in patients with glutathione S-transferase Mu-1 null genotype. *Asian J Androl* 2007; 9: 108-115.
12. Akinloye O, Arowojolu AO, Shittu OB, et al. Selenium status of idiopathic infertile Nigerian males. *Biol Trace Elem Res* 2005; 104: 9-18.
13. World Health Organization (WHO). Laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th ed. New York: Cambridge University Press; 1999.
14. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988; 34: 497-500.
15. Aebi H. Methods of enzymatic analysis. Orlando, Florida: Academic Press; 1974.
16. Anderson ME. Determination of glutathione and glutathione disulfide in biological samples. *Methods Enzymol* 1985; 113: 548-555.
17. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin Phenol Reagent. *J Biol Chem* 1951; 93: 265-275.
18. Sanocka D, Miesel R, Jędrzejczak P, Kurpisz MK. Oxidative stress and male infertility. *J Androl* 1996; 17: 449-454.
19. Hsieh YY, Sun YL, Chang CC, Lee YS, Tsai HD, Lin CS. Superoxide dismutase activities of spermatozoa and seminal plasma are not correlated with male infertility. *J Clin Lab Anal* 2002; 16: 127-131.
20. Aydemir B, Onaran I, Kiziler AR, et al. The influence of oxidative damage on viscosity of seminal fluid in infertile men. *J Androl* 2008; 29: 41-46.
21. Kobayashi T, Miyazaki T, Natori M, Nozawa S. Protective role of superoxide dismutase in human sperm motility: superoxide dismutase activity and lipid

- peroxide in human seminal plasma and spermatozoa. *Hum Reprod* 1991; 6: 987-991.
22. Öner İyidoğan Y, Genç S, Koçak H, Akkuş E. Seminal plazma süperoksid dismutaz ve total antioksidan düzeylerinin erkek infertilitesine etkileri. *Türk Üroloji Dergisi* 2003; 29: 296-300.
23. Kurpisz M, Miesel R, Sanocka D, Jedrzejczak P. Seminal plasma can be a predictive factor for male infertility. *Hum Reprod* 1996; 11: 1223-1226.
24. Khosrowbeygi A, Zarghami N. Levels of oxidative stress biomarkers in seminal plasma and their relationship with seminal parameters. *BMC Clinical Pathology* 2007;7:6.
25. Foresta C, Flohe L, Garolla A, Roveri A, Ursini F, Maiorino M. Male fertility is linked to the selenoprotein phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biol Reprod* 2002; 67: 967-971.
26. Wang Y, Kang L, Hou Y, et al. Microelements in seminal plasma of infertile men infected with *Ureaplasma urealyticum*. *Biol Trace Elem Res* 2006; 105: 11-18.
27. Iwanier K, Zachara BA. Selenium supplementation enhances the element concentration in blood and seminal fluid but does not change the spermatozoal quality characteristics in subfertile men. *J Androl* 1995; 16: 441-447.