

Beden kitle indeksinin, klasik sperm parametreleri ve sperm DNA fragmantasyonu ile ilişkisinin incelenmesi: Kesitsel bir araştırma

Investigation of the association between body mass index, classical sperm parameters and sperm DNA fragmentation: A cross-sectional study

Semiye Elif Elkatmış¹, Emre Salabaş²

ÖZ

AMAÇ: Gelişmiş ülkelerdeki yaşam tarzı değişiklikleri sebebiyle artan obez ve aşırı kilolu kişilerin sayısı, dünya çapında bir sağlık problemi hale gelmiştir. Obezite, ek komorbid hastalıklara, hormonal bozulmalara, serbest oksijen radikal artışına sebep olarak, üreme fonksiyonunu olumsuz yönde etkilemektedir. Çalışmamızın amacı, beden kitle indeksinin hem klasik sperm parametreleri hem de fonksiyonel sperm kalitesi üzerindeki etkilerini araştırmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER: Hastanemizde semen analizi yapılan erkekler, ideal kilolu (1. Grup), fazla kilolu (2. Grup) ve obez (3. Grup) olmak üzere üç gruba ayrılmış, bireylerde klasik sperm parametreleri ve sperm DNA yapısı incelenmiştir. Her üç grupta da standart semen analizinin yanında, sperm DNA fragmantasyon (SDF) testi için akrinin oranı, maturasyon analizi için anilin mavisi (AB), sperm kromatin kondensasyonu için kromomisin A3 (CMA3) boyama yöntemi kullanıldı.

BULGULAR: Obezitenin, sperm konsantrasyonunu (1. Grup: 55,0 milyon/ml, 2. Grup: 64,2 milyon/ml, 3. Grup: 47,7 milyon/ml; $p>0,1$) ve ileri hareketliliğini (1. Grup: %41,0, 2. Grup: %42,6, 3. Grup: %35,5; $p>0,1$) istatistiki olarak etkilemediği görülürken, normal sperm morfolojisi obez grupta daha düşük bulunmuştur (1. Grup: %4,0, 2. Grup: %4,9, 3. Grup: %3,2; $p<0,05$). Sperm DNA testlerinde, obezite grubundaki erkeklerde, anilin mavisi pozitifliğinin, (1. Grup: %42,5, 2. Grup: %40,8, 3. Grup: %67,8; $p<0,01$), CMA 3 yüksekliğinin (1. Grup: %38,9, 2. Grup: %45,4, 3. Grup: %65,3; $p=0,001$) ve akrinin oranı tutulumunun (1. Grup: %44,9, 2. Grup: %45,4, 3. Grup: %67,2; $p<0,01$) anlamlı oranda fazla olduğu görülmüştür.

SONUÇ: Gruplar arasında konsantrasyon, hareketlilik gibi klasik sperm parametrelerinde anlamlı farklılık görülmezken, sperm morfolojisinin obez grupta daha kötü olduğu görülmüştür. Ayrıca obez erkeklerin, normal ve fazla kilolu erkeklerle göre anlamlı oranda daha yüksek SDF yüzdesine (akrinin oranı), protaminasyon kusuruna (CMA 3) ve maturasyon eksikliğine (anilin mavisi) sahip olduğu gösterilmiştir. Sperm DNA hasarının, spontan gebelik ve yardımcı üreme yöntemlerinin başarısı ile bağlantısı düşünülürse, açıklanmayan infertilite ve erkek faktörü olan obez erkeklerde, klasik sperm parametreleri normal olsa dahi sperm DNA testleri önerilebilir.

Anahtar Kelimeler: İnfertilite, erkek, SDF, obezite, sperm

ABSTRACT

OBJECTIVE: The number of over-weight and obese individuals which increase progressively due to the life style changes in developed countries, became a worldwide problem. Obesity has a negative impact on fertility due to comorbid diseases, hormonal disruptions and over production of free oxygen radicals. Our objective was the investigation of the association between body mass index (BMI), classical sperm parameters and sperm DNA integrity.

MATERIAL and METHODS: Males who had a semen analysis in our hospital were classified into three groups: Ideal weight group (I), overweight group (II) and obese group (III). Standard semen analysis was done in all three groups. Acridine orange was used for DNA fragmentation test, aniline blue was used for maturation analysis, and chromomycin A3 (CMA3) staining method was used for sperm chromatin condensation.

RESULTS: There was no significant different between three groups in terms of sperm concentration (I: 55.0 million/ml, II: 64.2 million/ml, III: 47.7 million/ml; $p>0.1$) and progressive motility (I: 41.0%, II: 42.6%, III: 35.4%; $p>0.1$), while normal sperm morphology rate was lower in obese group than the overweight group (I: 4.0%, II: 4.9%, III: 3.1; $p<0.05$). Male in obese group had significantly higher rates of aniline blue positivity (I: 42.5%, II: 40.8%, III: 67.8%; $p<0.01$), acridine orange staining (I: 44.9%, II: 45.4%, III: 67.2%; $p<0.01$) and CMA 3 positivity (I: 38.9%, II: 45.4%, III: 65.3%, $p=0.001$).

CONCLUSION: Even if the BMI did not have a significant impact on sperm concentration and motility, normal sperm morphology was significantly lower in obese group. Obese males had significantly higher rates of SDF (acridine orange), protamination defect (CMA 3) and maturation deficiency (aniline blue) than their normal and overweight counterparts. Sperm DNA assessment tests (both direct and indirect) may be suggested to obese males with idiopathic and male factor infertility since there is an association between sperm DNA fragmentation and the success rates of spontaneous pregnancy and assisted reproductive techniques.

Keywords: Infertility, male, SDF, obesity sperm

¹Biruni Üniversite Hastanesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye
²Şişli Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uroloji Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

Yazışma Adresi/ Correspondence:

Uzm. Dr. Emre Salabaş
Seyrantepe Hamidiye Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Huzur Mh., Cumhuriyet, 34396 Sarıyer/İstanbul
Tel: +90 532 790 84 91
E-mail: emresalabas@gmail.com

Geliş/ Received: 04.01.2022

Kabul/ Accepted: 15.02.2022

GİRİŞ

Gelişmiş ülkelerdeki yaşam tarzı değişiklikleri sebebiyle artan obez ve aşırı kilolu kişilerin sayısı, dünya çapında bir sağlık problemi haline gelmiştir.^[1] Dünyada, 2013 itibariyle toplam 2,1 milyar obez kişi olduğu tahmin edilmektedir.^[2] Kilo artışının; hipertansiyon, kardio-vasküler hastalıklar, tip 2 diyabet ve diğer metabolik sendrom parametrelerinin haricinde, kanserler ve infertilite ile de ilişkisi gösterilmiştir.

[3,4] Yapılan meta-analizlerin bazılarında, beden kitle indeksi (BKİ) ile sperm parametreleri ile bir bağ gösterilemezken, daha güncel ve 13.077 erkeği inceleyen diğer bir meta-analizde fazla kilolu veya obez olan erkeklerin, oligospermik veya azospermik olma olasılığının daha fazla olduğu gösterilmiştir.[5,6] Fransa'da gerçekleştirilen 10.665 erkeği kapsayan bir çalışmada da, morbid obez erkeklerde (BKİ >40 kg/m²), sperm sayısı, konsantrasyonu, hacmi ve ileri hareket hızının daha kötü olduğu gösterilmiştir.[7]

Klasik sperm parametrelerinin haricinde sperm DNA bütünlüğü, spontan gebelik, fertilizasyon, embriyo gelişimi ve yardımcı üreme tekniklerinin (YÜT) başarısı üzerindeki kritik etkisi sebebiyle önem arz etmektedir.[8] Artmış sperm DNA fragmentasyonu (SDF) ile doğal gebelik sağlayama arasında güçlü bir ilişki gösterilmiştir (OR: 7,01, CI: 3,68–13,36).[9] Yüksek SDF oranlarının, yardımcı üreme tekniklerindeki düşük gebelik ve canlı doğum oranları, yüksek düşük oranları ile ilişkili olduğunu gösteren pek çok meta-analiz çalışma bulunmaktadır.[10–12] Yüksek SDF'nin oluşumunda oksidatif stres (OS), kromatin maturasyon bozuklukları ve apoptoz neden olarak gösterilmiştir.[13] Obez erkekler, normal kilolu olanlara göre daha yüksek OS ve SDF seviyelerine sahiptirler.[14–16] Reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı salındığı, obezite yada yağdan yüksek diyet gibi durumlarda, lipid peroksidasyonu kaynaklı oksidatif stres, DNA yapısal hasarı ve mitokondriyal disfonksiyon tariflenmiştir.[4,17] Açıklanamayan infertilite ve obezitenin birlikteliği temel sperm parametrelerine ilaveten SDF'nde araştırılmasını gerektiren sebeplerdendir. SDF ve kromatin kondensasyon kalitesi, sperm fonksiyonlarının araştırılmasında kullanılabilir testlerdir.[18]

İnfertilite göstergesi olarak %20'nin üzerindeki DNA fragmentasyon indeksi (DFI) değerleri anlamlı olarak kabul edilirken, meta-analizlerde YÜT başarısını etkilemede DFI'nin eşik değeri %25–32 olarak bulunmuştur.[8,19–21] Çalışmamızın amacı, beden kitle indeksinin hem klasik sperm parametreleri üzerinde, hem de SDF ve sperm kromatin bütünlüğü üzerindeki etkilerini araştırmaktır. Çalışmamız BKİ ile sperm kalite parametrelerinin ilişkisini üç ayrı açıdan (SDF, sperm maturasyonu, sperm kromatin kondensasyonu) inceleyen literatürdeki ilk insan çalışmasıdır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Prospektif kesitsel olarak kilonun sperm parametreleri üzerindeki etkisini inceleyen çalışmamızda, Mayıs-Aralık 2019 tarihleri arasında fakültemiz üroloji kliniğine, infertilite şikâyeti ile başvuran 18–45 yaş arası erkeklerin sperm parametreleri incelenmiştir. Çalışmaya dâhil edilen

erkekler, BKİ'ne göre; ideal kilolu (BKİ: 18,5–25), fazla kilolu (BKİ: 25–30) ve obez (BKİ: >30) olacak şekilde üç gruba ayrılmıştır.

Tüm gruplarda, 3–5 gün cinsel perhiz sonrası alınan semen örneği uygun şekilde hazırlandıktan sonra, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2010 semen analizi parametrelerine uygun olacak şekilde mikroskopik ve makroskopik olarak incelendi. Çalışmaya alınan erkeklerde kaydedilen parametreler, sperm konsantrasyonu, hareketliliği (ileri hareketli, yeri hareketli, hareketsiz), morfolojisidir (normal, baş, boyun, kuyruk).

Sperm DNA fragmentasyon analizi için akrinin oran (AO) testi, maturasyon analizi ve kromatin kondensasyon kapasitesi için anilin mavisi (AB) boyama, sperm kromatin kondensasyonu için de kromomisin A3 (CMA3) boyama yöntemi kullanıldı.

Akrinin Oranj ile SDF Değerlendirilmesi

Özel solüsyonlar ile yıkanarak plazma, ölü sperm ve diğer hücrelerden arındırılan semen örneğinden, 20 µl alınarak yayma preparat hazırlandı. Carnoy fiksatifinde yaklaşık bir saat bekletildikten sonra, havada kurutulup akrinin oranj boyasına alındı. Karanlık ortamda beş dakika boyada bekletildikten sonra distile suyla yıkayıp floresan mikroskopunda 450–490 nm dalga boyunda incelendi. Yeşil floresan görüntüsü veren sperm normal, sarı-turuncu floresan görüntüsü veren sperm ise hasarlı DNA'ya sahip olarak değerlendirilip, ortalama 100 sperm hücresi sayılarak DNA fragmentasyon yüzdesi (DFI) hesaplandı.

Anilin Mavisi ile Sperm Maturasyonun Gösterilmesi

20 µl semen örneğinden hazırlanan yayma preparat, %2 glutaraldehit içinde yaklaşık üç saat oda sıcaklığında fiks edildi. Havada kurtulmasının ardından, %2 asetik asit ve %5 anilin mavisi içeren boya çözeltisinde, 30 dakika boyandı. Distile suyla yıkandıktan sonra, mikroskopta ortalama 100 sperm hücresi sayılarak sperm maturasyon yüzdesi hesaplandı. Maviye boyanmış hücreler maturasyon defektine uğramış, boyanmamış hücreler ise matür olarak değerlendirildi.

Kromomisin A3 ile Kromatin Kondensasyonunun Değerlendirilmesi

20 µl semen örneğinden hazırlanan yayma preparat havada kurutuldu. +4°C'de *carnoy* fiksatifinde beş dakika bekletildi. Fiksasyon sonrası yayma preparat MCI IIvane solüsyonu

ile çalkalandı. CMA3 boyasıyla karanlık ortamda 20 dakika boyandıktan sonra, preparat tekrar MCI IIvane solüsyonunda yıkandı. Kuruyan preparat floresan mikroskopunda görüntüledi. Ortalama 100 sperm hücresi sayılarak sperm kromatin kondensasyon yüzdesi hesaplandı. Yeşil görüntü veren spermler kondanse DNA içeren sperm, sarı görüntü veren spermler dekonpanse sperm olarak değerlendirildi.

İstatistik

Literatüre uygun parametrelerden, sperm konsantrasyon değişkeni baz alındığında, normal ve obez grup için ortalama değerleri sırasıyla 80,5 ve 48,3, ortak SD (*pool variance*)=35, %80 *power* dikkate alınarak, R programında yapılan hesaplama sonucunda, grup başına gereken sayının en az 19 olması gerektiği hesaplandı. Yapılan *power* analiz sonucunda, gereken kişi sayısı her deney grubu için 20 kişi olmak üzere toplam 60 kişi olarak belirlenmiştir. Normal dağılım gösteren verinin tanımlayıcı değerleri ortalama ve standart sapma (SD) olarak verilmiştir. Gruplar arası karşılaştırılma yapılırken, tek yönlü ANOVA kullanılmıştır. Tek yönlü ANOVA testi en az iki grubun anlamlı olarak farklı çıktığı durumlarda, ikili karşılaştırmalar için Tukey's HSD ve Games Howell *post hoc* analiz testleri kullanılmıştır. Devamlı değişkenler arasındaki korelasyonun değerlendirilmesi için Spearman korelasyon testi kullanılmıştır.

Etik Onay

Çalışmaya başlanmadan önce, Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu'na sunuldu ve 2019/28-11 sayılı ve 30.04.2019 tarihli etik kurul onayı alındı.

BULGULAR

Hastanemizde prospektif olarak gerçekleştirilen çalışmada, her üç grupta 20 hasta olacak şekilde toplam 60 erkek dahil edilmiştir. Bu üç gruptaki erkeklerden elde edilen semenler, klasik sperm parametreleri, sperm DNA fragmentasyonu,

sperm maturasyonu ve sperm kromatin kondensasyonu açısından karşılaştırılmış ve bu sayede beden kitle indeksinin erkek fertilitesi üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Grupların ortalama beden kitle indeksleri sırasıyla 22,97±1,05 kg/m² (Grup 1), 27,21±1,01 kg/m² (Grup 2), 33,11±2,20 kg/m² (Grup 3) olarak bulunmuştur ($p<0,001$). Çalışmamızda, grupların ortalama yaşları arasında anlamlı bir fark yoktur (28,50±6,19 vs 31,05±7,02 vs 33,00±6,31, $p=0,101$).

Her üç grubun sperm konsantrasyonu sırasıyla 55,00±34,84 milyon/ml, 64,20±40,66 milyon/ml ve 47,65±27,39 milyon/ml olarak bulunmuş ancak aralarında istatistiki anlam gözlenmemiştir ($p=0,33$). Benzer şekilde ileri hareketli sperm yüzdeleri (%41,00±16,98 vs %42,60±16,06 vs %35,45±18,29, $p=0,39$) ve yerinde hareketli sperm yüzdeleri (%19,80±9,03 vs %19,00±8,04 vs %20,60±8,61, $p=0,84$) arasında anlamlı fark görülmemiştir. Erkeklerin normal morfolojiye sahip sperm yüzdeleri karşılaştırıldığında, üç grubun istatistiki olarak farklı olduğu görülmüştür (Grup 1: %4,00±1,89, Grup 2: %4,90±2,15, Grup 3: %3,15±1,60, $p=0,02$). Normal morfolojideki sperm sayılarının, Tukey HSD *post hoc* analizi ile yapılan çoklu karşılaştırma analizinde, grup 2 ve 3 arasında anlamlı fark görülürken (2 vs 3, $p=0,014$, %95 CI: 0,31–3,19), geri kalan ikili karşılaştırmalarda fark görülmemiştir (Tablo 1).

SDF'nu değerlendirmede kullandığımız akrinin oranj boyamada; grup 1, 2 ve 3'te boyanan hücrelerin yüzdesi sırasıyla %44,95±28,77, %45,35±21,50 ve %67,15±19,86 olarak bulunmuş ve tek yönlü ANOVA testinde gruplar arasında istatistiki anlamlı fark tespit edilmiştir ($p=0,005$). Gerçekleştirilen Games-Howell *post hoc* çoklu karşılaştırma analizinde, grup 3'ün ortalamasının, grup 1 ve 2'nin ortalamasından anlamlı oranda farklı olduğu tespit edilirken (1 vs 3, $p=0,02$ %95 CI: 3,04–41,36/2 vs 3, $p=0,003$ %95 CI: 8,06–42,6) grup 1 ve 2 arasında anlamlı fark görülmemiştir (1 vs 2, $p=0,93$ %95 CI: -17,5–23,8)

Sperm maturasyonu incelemesinde, grupların anilin mavisi ile boyanma yüzde ortalamaları, grup 1 için %42,45±27,35, grup 2 için %40,75 ± 23,26 ve grup 3 için

Tablo 1. İdeal kilolu (1), fazla kilolu (2) ve obez (3) grupların sperm konsantrasyon, motilite ve normal morfoloji değerlerinin karşılaştırılması

Gruplar arası karşılaştırma	1. Grup ($x \pm SD$)	2. Grup ($x \pm SD$)	3. Grup ($x \pm SD$)	Sig. (p)
Konsantrasyon	55,00±34,84	64,20±40,66	47,65±27,39	0,327
Motilite ileri	41,00±16,98	42,60±16,06	35,45±18,29	0,389
Motilite yerinde	19,80±9,03	19,00±8,04	20,60±8,61	0,840
Morfoloji normal	4,00±1,89	4,90±2,15	3,15±1,60*	0,019

Tablo 1'de 3 grup arasında sperm konsantrasyon ve motilite parametrelerinde istatistiki olarak anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p>0,1$). Normal morfolojideki sperm sayıları arasındaki karşılaştırmada ise istatistiki anlamlılık bulunmuştur ($p<0,05$). Normal morfolojideki sperm sayılarının, Tukey's HSD *post hoc* analizi ile yapılan çoklu karşılaştırma analizinde, grup 2 ve 3 arasında anlamlı fark görülürken ($p=0,014$, %95 CI: 0,31–3,19), geri kalan ikili karşılaştırmalarda fark görülmemiştir.

Tablo 2. İdeal kilolu (1), fazla kilolu (2) ve obez (3) grupların sperm DNA fragmentasyonu, maturasyonu ve kromatin kondensasyonu değerlerinin karşılaştırılması

Gruplar arası karşılaştırma	1. Grup (x ± SD)	2. Grup (x ± SD)	3. Grup (x ± SD)	Sig. (p)
Akridin oranj (+)	44,95±28,77	45,35±21,5	67,15±19,86	0,003
Anilin mavi (+)	42,45±27,35	40,75 + 23,26	67,80±19,99*	0,001
Kromomisin A3 (+)	38,90±23,39	45,35±21,50	65,25±17,79*	0,001

Tablo 2’de yapılan tek yönlü ANOVA testi ile yapılan karşılaştırmaya göre, üç grup arasında sperm DNA fragmentasyonu, sperm maturasyonu ve sperm kromatin kondensasyonu değerlerinde istatistiksel anlamlılık bulunmuştur (p<0,01). Ortalama akridin oranj pozitifliği (SDF) için gerçekleştirilen Games-Howell post hoc çoklu karşılaştırma analizinde, grup 3’ün ortalamasının grup 1 ve 2’nin ortalamasından ile anlamlı oranda farklı olduğu tespit edilirken (1 vs 3, p=0,02 %95CI: 3,04–41,36/2 vs 3, p=0,003 %95CI: 8,06–42,6) grup 1 ve 2 arasında anlamlı fark görülmemiştir (1 vs 2, p=0,93). Grupların kendi arasında sperm maturasyonu (anilin mavi pozitifliği) ortalamalarını karşılaştırma için gerçekleştirilen Games-Howell post hoc çoklu karşılaştırma analizinde, grup 3’ün ortalamasının grup 1 ve 2’nin ortalamasından ile anlamlı oranda farklı olduğu tespit edilirken (1 vs 3, p=0,005 %95CI: 6,8–43,9/2 vs 3, p=0,001 %95CI: 10,3–43,7) grup 1 ve 2 arasında anlamlı fark görülmemiştir (1 vs 2, p=0,97 %95 CI: -17,9–21,3). Koromomisin A3 pozitifliği için gerçekleştirilen Tukey HSD post hoc analiz testinde, grup 3’ün grup 1 ve 2 ile karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunurken (1 vs 3, p=0,001, %95 CI, 10,28–42,42/2 vs 3, p=0,008, %95 CI 4,66–35,14), grup 1 ve 2 arasında fark görülmemiştir (1 vs 2, p=0,64, %95 CI: -23,78–10,88).

%67,80±19,99 olarak tespit edilmiştir. Gruplar arasında yapılan tek yönlü ANOVA testi ile istatistiki anlamlı fark bulunmuştur (p=0,001). Grupların ikili karşılaştırmaları için gerçekleştirilen Games-Howell *post hoc* çoklu karşılaştırma analizinde, grup 3’ün ortalamasının grup 1 ve 2’nin ortalamasından anlamlı oranda farklı olduğu tespit edilirken (1 vs 3, p=0,005 %95 CI: 6,8–43,9/2 vs 3, p=0,001 %95 CI: 10,3–43,7), grup 1 ve 2 arasında anlamlı fark görülmemiştir (1 vs 2, p=0,97 %95 CI: -17,9–21,3).

Sperm kondensasyonunu gösteren kromomisin A3 pozitifliği, grup 1’de %38,90±23,39, grup 2’de %45,35±21,50 ve grup 3’de %65,25 ± 17,79 olarak saptanmıştır. Tek yönlü ANOVA testinde en az iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark görülmüştür (p=0,001). Kromomisin A3 pozitifliği için gerçekleştirilen Tukey HSD *post hoc* analiz testinde, grup 3’ün grup 1 ve 2 ile karşılaştırılmasında anlamlı fark bulunurken (1 vs 3, p=0,001, %95 CI, 10,28–42,42/2 vs 3, p=0,008, %95 CI 4,66–35,14), grup 1 ve 2 arasında fark görülmemiştir (1 vs 2, p=0,64, %95 CI: -23,78–10,88) (Tablo 2).

Erkeklerin tamamında yapılan Sperman analizinde, akridin oranj pozitifliği hem kromosin A3 pozitifliği (r=0,798, p=0,001), hem de anilin mavisi pozitifliğiyle (r=0,902, p=0,001) çok güçlü bir korelasyon göstermiştir. Ayrıca kromomisin A3 ile anilin mavisi pozitifliği arasında da güçlü bir korelasyon görülmüştür (r=0,77, p=0,001)

TARTIŞMA

Toplumda yaygınlığı artmakta olan obezite, yarattığı sistemik hastalıkların yanında, hem erkek hem de kadında üreme potansiyeline zarar vermektedir. Kilo artışının erkek fertilitesi ile olan olumsuz ilişkisinin sebepleri arasında endokrin bozukluklar, adipokinler, inflamatuvar mediyatör seviyeleri ve reaktif oksijen ürünlerindeki (ROS) artış, testiküler sıcaklık disregülasyonu gösterilmektedir. [4] Düzeltilebilir faktörler arasında sayılan obezitenin, hem

spontan gebelik hem de yardımcı üreme yöntemleri üzerindeki olumsuz etkisi göz önüne alınarak, çalışmamızda BKİ’nin hem klasik hem de yapısal sperm parametreleri üzerindeki etkisi incelenmiştir.

Klasik sperm analizinde gruplar arasında sperm konsantrasyonu, ileri ve yerinde hareketlilik açısından anlamlı bir fark bulunmasa da, obez erkeklerin sperm konsantrasyonları (55 milyon/ml vs 47,65 milyon/ml; p>0,1) ve ileri hareketliliği (%41 vs %35,4; p>0,1) ideal kilolu gruba göre daha düşüktü. Literatürde BKİ ile sperm parametreleri arasında bir ilişki olmadığını söyleyen meta-analizler olduğu gibi, 21 çalışmayı inceleyen diğer bir meta-analizde obez erkeklerde normal kontrollere göre oligospermik ve azospermik vakaların daha yüksek oranda görüldüğü raporlanmıştır. [5,6] Guo ve ark. tarafından gerçekleştirilen, 25 çalışma, 26814 erkeği inceleyen meta-analizde, fazla kilo total sperm sayısı ve semen hacmini olumsuz etkilerken, obezite total sperm sayısı, konsantrasyonu ve semen hacmini anlamlı olarak azaltmıştır. Aynı meta-analizde sperm hareketliliği ile kilo artışı arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır. [22] Bu konudaki 28 çalışmayı içeren güncel bir meta-analizde, obezite ile düşük sperm kalitesi parametreleri (semen hacmi, sperm sayısı ve konsantrasyonu, sperm vitalitesi ve morfolojisi) arasındaki anlamlı ilişki teyit edilirken, aynı çalışmada inhibin B, total testosteron ve SHBG seviyelerinde düşüş, östradiol seviyelerinde artış gösterilmiştir. [23] Obezitenin sperm kalitesi üzerinde olumsuz etkisi genel literatüre kabul görse de, hangi sperm kalite parametrelerini etkilediği geniş hasta sayılarını içeren meta-analizlerde bile farklılık göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda obez grup, 33,1 kg/m² BKİ ortalaması ile ağırlıklı olarak sınıf 1 obez erkeklerden oluşmaktadır. Semen kalitesindeki farklılıkların özellikle 2. ve 3. sınıf obez erkeklerde daha belirgin olduğunu belirtilen çalışmalar, gruplarımız arasında istatistiki anlamlı sperm sayı ve konsantrasyon farkı olmamasını anlamlandırmaktadır. [23,24] Güncel literatür ile uyumlu olarak, çalışmamızda obez grupta sperm morfolojisi anlamlı

oranda daha düşük bulunmuştur (%3,15±1,60, p=0,02). Ayrıca çalışmamıza benzer şekilde, klasik sperm parametrelerinden sadece morfoloji ile obezite ilişkisini anlamlı bulan pek çok çalışma mevcuttur.^[5,25]

Sperm DNA fragmantasyonu, sperm maturasyon eksikliği ve kromatin kondensasyon kusuru oranlarından her üçü de, obez erkeklerde, normal ve fazla kilolu erkeklere göre daha yüksek oranda bulunmuştur (akridin oranı: p<0,01, anilin mavisi: p<0,01, CMA3: p<0,01). Literatürde, COMET, SCSA ve TUNEL gibi değişik yöntemlerle, SDF ve BKİ arasındaki ilişki incelendiğinde, aralarında anlamlı bir ilişki saptayan çalışmalar olduğu gibi, bağlantı gösterilemeyen çalışmalarda mevcuttur.^[8] SCSA veya TUNEL testi kullanılan dört çalışmada, SDF ile obezite arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.^[26-29] Alkaline COMET yöntemi ile gerçekleştirilen bir çalışmada, bizim çalışmamızla benzer olarak BKİ >30 kg/m² olan hastalar daha yüksek SDF ile ilişkilendirilmiştir.^[14] Comet ve SCSA testleri kullanılan iki çalışmada ise, dna fragmantasyon indeks oranı obez erkeklerde anlamlı oranda daha fazla görülmüştür.^[30,31] AO testi ile SDF değerlendirilmesi yapılan çalışmalarda, infertil erkeklerin fertil erkeklere göre, varikoseleli olan erkeklerin de, infertil erkeklere göre daha yüksek oranda AO pozitifliğine sahip olduğu gösterilmiştir.^[32] Literatürde ilk defa çalışmamızda, obez erkeklerin normal ve fazla kilolu erkeklere göre daha yüksek AO pozitifliğine (SDF) sahip olduğu gösterilmiştir. AO yüksekliği, IVF başarısı ve gebelik sonuçlarıyla ters orantılı olduğundan, yardımcı üreme tekniği düşünen ve erkeğin obez olduğu çiftlerde önem taşımaktadır.^[18] DNA protaminasyon eksikliğini işaret eden CMA3 testi pozitifliği, sperm morfolojisi, motilitesi ve konsantrasyonu ile negatif korelasyon gösterirken, DFI (TUNNEL) ile pozitif korelasyon göstermektedir.^[33] Güncel literatürde anormal kromatin paketlenmesinin sadece astenozoospermi ile anlamlı ilişki olduğunu iddia eden çalışmalarda mevcuttur.^[34] Çalışmamızda gene literatürde ilk defa, obez erkeklerin, normal ve fazla kilolu erkeklere göre daha fazla CMA3 pozitifliğine sahip olduğunu gösterilmiştir. Yardımcı üreme tekniklerinin başarısına etkisi sebebi ile CMA3-BKİ ilişkisi gene önem taşımaktadır.^[18] Protaminasyon eksikliği olan immatür spermeleri gösteren anilin mavisi yöntemi ile incelendiğinde de, obez erkeklerde immatür sperm oranı diğer iki gruba göre anlamlı oranda yüksektir. Yardımcı üreme yöntemlerinde fertilizasyon, bölünme, gebelik, IVF ve ICSI başarısı için anilin mavisi pozitif sperm oranının %20–29 arası olması gerektiğini gösteren çalışmalar mevcutken, obez grubumuzda bu oran %67,8 olarak saptanmıştır. Anilin mavisi yüksekliği normal sperm parametrelerine sahip hastalarda da görülebilirken, astenozoospermi ve teratozoospermi ile

de ilişkilendiren çalışmalar mevcuttur.^[18,35,36] Çalışmanın kısıtlamaları arasında erkeklerin hormon parametrelerinin bakılmamış olması sayılabilir.

SONUÇ

Çalışmamızda beden kitle indekslerine göre ayrılan gruplar arasında konsantrasyon, hareketlilik gibi klasik sperm parametrelerinde anlamlı farklılık görülmezken, sperm morfolojisinin obez grupta daha düşük olduğu görülmüştür. Ayrıca obez erkeklerin, normal ve fazla kilolu erkeklere göre anlamlı oranda daha yüksek SDF yüzdesine (akridin oranı), protaminasyon kusuruna (CMA 3) ve maturasyon eksikliğine (anilin mavisi) sahip olduğu gösterilmiştir. Sperm DNA hasarının (direkt veya paketlemeye bağlı), spontan gebelik ve yardımcı üreme yöntemlerinin başarısı ile bağlantısı düşünülürse, erkek faktörü/açıklanamayan infertilitesi olan obez erkeklerde, klasik sperm parametreleri normal olsa dahi sperm DNA testleri yapılabilir.

Etik Kurul Onayı

Çalışma, Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylandı. (onay tarihi ve sayısı: 30.04.2019/2019/28-11).

Hakem Değerlendirmesi

Dış bağımsız.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar ilişkisi olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansal Destek

Herhangi bir mali destek alınmamıştır.

Ethics Committee Approval

The study was approved by Biruni University Non-Interventional Research Ethics Committee. (date and number of approval: 30.04.2019/2019/28-11).

Peer-review

Externally peer-reviewed.

Conflict of Interest

No conflict of interest was declared by the authors.

Financial Disclosure

No financial support has been received.

KAYNAKLAR

1. Yanovski JA. Obesity: Trends in underweight and obesity - scale of the problem. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;14:5–6. [\[CrossRef\]](#)
2. NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Worldwide trends in body-mass index, underweight, overweight, and obesity from 1975 to 2016: a pooled analysis of 2416 population-based measurement studies in 128.9 million children, adolescents, and adults. *Lancet.* 2017;390:2627–42. [\[CrossRef\]](#)
3. Zhu G, Zhang Y, Dong J, Liu Y, Zhao F, Li T, et al. Association Between Body Mass Index and Male Sperm Apoptosis and Apoptosis-Related Factors. *Diabetes Metab Syndr Obes.* 2021;14:1043–51. [\[CrossRef\]](#)
4. Mintzioti G, Nigdelis MP, Mathew H, Mousiolis A, Goulis DG, Mantzoros CS. The effect of excess body fat on female and male reproduction. *Metab Clin Exp* 2020;107:154193. [\[CrossRef\]](#)
5. MacDonald AA, Herbison GP, Showell M, Farquhar CM. The impact of body mass index on semen parameters and reproductive hormones in human males: a systematic review with meta-analysis. *Human Reprod Update.* 2010;16:293–311. [\[CrossRef\]](#)

6. Sermondade N, Faure C, Fezeu L, Shayeb AG, Bonde JP, Jensen TK, et al. BMI in relation to sperm count: an updated systematic review and collaborative meta-analysis. *Human Reprod Update*. 2012;19:221–31. [\[CrossRef\]](#)
7. Belloc S, Cohen-Bacrie M, Amar E, Izard V, Benkhalifa M, Dalléac A, de Mouzon J. High body mass index has a deleterious effect on semen parameters except morphology: results from a large cohort study. *Fertil Steril*. 2014;102:1268–73. [\[CrossRef\]](#)
8. Agarwal A, Majzoub A, Baskaran S, Panner Selvam MK, Cho CL, Henkel R, et al. Sperm DNA Fragmentation: A New Guideline for Clinicians. *World J Mens Health*. 2020;38:412. [\[CrossRef\]](#)
9. Zini A. Are sperm chromatin and DNA defects relevant in the clinic? *Syst Biol Reprod Med*. 2011;57:78–85. [\[CrossRef\]](#)
10. Chen Q, Zhao J-Y, Xue X, Zhu G-X. The association between sperm DNA fragmentation and reproductive outcomes following intrauterine insemination, a meta analysis. *Reprod Toxicol*. 2019;86:50–5. [\[CrossRef\]](#)
11. Sugihara A, Van Avermaete F, Roelant E, Punjabi U, De Neubourg D. The role of sperm DNA fragmentation testing in predicting intra-uterine insemination outcome: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2020;244:8–15. [\[CrossRef\]](#)
12. Cissen M, van Wely M, Scholten I, Mansell S, Bruin JPD, Mol BW, et al. Measuring Sperm DNA Fragmentation and Clinical Outcomes of Medically Assisted Reproduction: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2016;11:e0165125. [\[CrossRef\]](#)
13. Sakkas D, Alvarez JG. Sperm DNA fragmentation: mechanisms of origin, impact on reproductive outcome, and analysis. *Fertil Steril*. 2010;93:1027–36. [\[CrossRef\]](#)
14. Fariello RM, Pariz JR, Spaine DM, Cedenho AP, Bertolla RP, Fraietta R. Association between obesity and alteration of sperm DNA integrity and mitochondrial activity. *BJU Int*. 2012;110:863–7. [\[CrossRef\]](#)
15. Yang Q, Zhao F, Hu L, Bai R, Zhang N, Yao G, Sun Y. Effect of paternal overweight or obesity on IVF treatment outcomes and the possible mechanisms involved. *Sci Rep*. 2016;6:29787. [\[CrossRef\]](#)
16. Pearce KL, Hill A, Tremellen KP. Obesity related metabolic endotoxemia is associated with oxidative stress and impaired sperm DNA integrity. *Basic Clin Androl*. 2019;29:6. [\[CrossRef\]](#)
17. Bakos HW, Mitchell M, Setchell BP, Lane M. The effect of paternal diet-induced obesity on sperm function and fertilization in a mouse model. *Int J Andrology*. 2011;34:402–10. [\[CrossRef\]](#)
18. Dutta S, Henkel R, Agarwal A. Comparative analysis of tests used to assess sperm chromatin integrity and DNA fragmentation. *Andrologia*. 2021;53:e13718. [\[CrossRef\]](#)
19. Santi D, Spaggiari G, Simoni M. Sperm DNA fragmentation index as a promising predictive tool for male infertility diagnosis and treatment management - meta-analyses. *Reprod Biomed Online*. 2018;37:315–26. [\[CrossRef\]](#)
20. Evenson D, Wixon R. Meta-analysis of sperm DNA fragmentation using the sperm chromatin structure assay. *Reprod Biomed Online*. 2006;12:466–72. [\[CrossRef\]](#)
21. Majzoub A, Arafa M, Mahdi M, Agarwal A, Said S, Al-Emadi I, et al. Oxidation-reduction potential and sperm DNA fragmentation, and their associations with sperm morphological anomalies amongst fertile and infertile men. *Arab J Urol*. 2018;16:87–95. [\[CrossRef\]](#)
22. Guo D, Wu W, Tang Q, Qiao S, Chen Y, Chen M, et al. The impact of BMI on sperm parameters and the metabolite changes of seminal plasma concomitantly. *Oncotarget*. 2017;8:48619–34. [\[CrossRef\]](#)
23. Salas-Huetos A, Maghsoumi-Norouzabad L, James ER, Carrell DT, Aston KI, Jenkins TG, et al. Male adiposity, sperm parameters and reproductive hormones: An updated systematic review and collaborative meta-analysis. *Obesity Rev*. 2021;22:e13082. [\[CrossRef\]](#)
24. Andersen JM, Herning H, Aschim EL, Hjelmsæth J, Mala T, Hanevik HI, et al. Body Mass Index Is Associated with Impaired Semen Characteristics and Reduced Levels of Anti-Müllerian Hormone across a Wide Weight Range. *PLoS One*. 2015;10:e0130210. [\[CrossRef\]](#)
25. Shayeb AG, Harrild K, Mathers E, Bhattacharya S. An exploration of the association between male body mass index and semen quality. *Reprod Biomed Online*. 2011;23:717–23. [\[CrossRef\]](#)
26. Lu J-C, Jing J, Chen L, Ge Y-F, Feng R-X, Liang Y-J, Yao B. Analysis of human sperm DNA fragmentation index (DFI) related factors: a report of 1010 subfertile men in China. *Reprod Biol Endocrinol*. 2018;16:23. [\[CrossRef\]](#)
27. Oliveira JBA, Petersen CG, Mauri AL, Vagnini LD, Renzi A, Petersen B, et al. Association between body mass index and sperm quality and sperm DNA integrity. A large population study. 2018;50:e12889. [\[CrossRef\]](#)
28. Bandel I, Bungum M, Richtoff J, Malm J, Axelsson J, Pedersen HS, et al. No association between body mass index and sperm DNA integrity. *Hum Reprod*. 2015;30:1704–13. [\[CrossRef\]](#)
29. Tunc O, Bakos HW, Tremellen K. Impact of body mass index on seminal oxidative stress. *Andrologia*. 2011;43:121–8. [\[CrossRef\]](#)
30. Kort HI, Massey JB, Elsner CW, Mitchell-Leef D, Shapiro DB, Witt MA, Roudebush WE. Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. *J Androl*. 2006;27:450–2. [\[CrossRef\]](#)
31. Chavarro JE, Toth TL, Wright DL, Meeker JD, Hauser R. Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic. *Fertil Steril*. 2010;93:2222–31. [\[CrossRef\]](#)
32. Talebi AR, Moein MR, Tabibnejad N, Ghasemzadeh J. Effect of varicocele on chromatin condensation and DNA integrity of ejaculated spermatozoa using cytochemical tests. *Andrologia*. 2008;40:245–51. [\[CrossRef\]](#)
33. Manochantr S, Chiamchanya C, Sobhon P. Relationship between chromatin condensation, DNA integrity and quality of ejaculated spermatozoa from infertile men. *Andrologia*. 2012;44:187–99. [\[CrossRef\]](#)
34. Dehghanpour F, Fesahat F, Yazdinejad F, Motamedzadeh L, Talebi AR. Is there any relationship between human sperm parameters and protamine deficiency in different groups of infertile men? *Rev Int Androl*. 2020;18:137–43. [\[CrossRef\]](#)
35. Kim H-S, Kang MJ, Kim SA, Oh SK, Kim H, Ku S-Y, et al. The utility of sperm DNA damage assay using toluidine blue and aniline blue staining in routine semen analysis. *Clin Exp Reprod Med*. 2013;40:23–8. [\[CrossRef\]](#)
36. Hammadeh ME, Zeginiadev T, Rosenbaum P, Georg T, Schmidt W, Strehler E. Predictive value of sperm chromatin condensation (aniline blue staining) in the assessment of male fertility. *Arch Androl*. 2001;46:99–104. [\[CrossRef\]](#)