T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ORTA KIZILÖTESİ OPTİK BİYOSENSÖR KULLANARAK YAPAY SEMEN İÇERİSİNDE SPERMATOZOON VE HORMON MİKTARI ANALİZİ İLE ERKEK İNFERTİLİTE TESPİTİ

Hazırlayan
Melis TOKMAK

1. Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Çağrı SOYLU
2. Danışman
Prof. Dr. Ahmet ÜLGEN
Yüksek Lisans Tezi

Ocak 2021
KAYSERİ

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ORTA KIZILÖTESİ OPTİK BİYOSENSÖR KULLANARAK YAPAY SEMEN İÇERİSİNDE SPERMATOZOON VE HORMON MİKTARI ANALİZİ İLE ERKEK İNFERTİLİTE TESPİTİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan
Melis TOKMAK

1.Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Çağrı SOYLU
2.Danışman
Prof. Dr. Ahmet ÜLGEN

Ocak 2021
KAYSERİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Arş. Gör. Melis TOKMAK

İmza

“Orta Kızılötesi Optik Biyosensör Kullanarak Yapay Semen İçerisinde Spermatozoon ve Hormon Miktarı Analizi ile Erkek İnfertilite Tespiti” adlı Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Hazırlayan	**Danışmanlar**
Arş. Gör. Melis TOKMAK	Dr. Öğr. Üyesi M. Çağrı SOYLU
	Prof. Dr. Ahmet ÜLGEN
İmza	İmza

Biyomedikal Mühendisliği ABD Başkanı

Prof. Dr. Mahmut TOKMAKÇI

İmza

Dr. Öğr. Üyesi M.Çağrı SOYLU ve Prof. Dr. Ahmet ÜLGEN danışmanlığında Melis TOKMAK tarafından hazırlanan **"Orta Kızılötesi Optik Biyosensör Kullanarak Yapay Semen İçerisinde Spermatozoon ve Hormon Miktarı Analizi ile Erkek İnfertilite Tespiti"** adlı bu çalışma jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

25 / 01/ 2021

JÜRİ:

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi M.Çağrı SOYLU .....

Prof. Dr. Ahmet ÜLGEN .....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Gülşen AKDOĞAN .....

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Murat PEKER .....

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun ……...… tarih ve ……..……sayılı kararı ile onaylanmıştır.

……. /……../ ……

Prof. Dr. Mehmet AKKURT

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince her türlü yardımı ve fedakârlığı sağlayan, farklı bakış açısı ve bilimsel katkısı ile akademik gelişimime katkı sağlayan değerli hocam, tez danışmanım, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Çağrı SOYLU'ya, bilimsel katkıları ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, daima beni destekleyen ve cesaretlendiren değerli hocam, ikinci tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Ahmet ÜLGEN 'e teşekkürü borç bilirim.

Tüm tez sürecim boyunca yanımda olan başta Fatma Betül KÖŞKER hocama ve BioMED Sensörler Laboratuvarındaki tüm çalışma arkadaşlarıma teşekkürü borç bilirim.

Ayrıca tez çalışmam süresince numune alımında yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Oğuz EKMEKÇİOĞLU'na ve Erciyes Üniversitesi Üroloji Polikliniğine teşekkür ederim.

Ayrıca benim için zorlu geçen bu süreçte, maddi ve manevi olarak daima yanımda olan, görüşlerini hiçbir zaman esirgemeyen ve çalışmalarım boyunca beni yüreklendiren sevgili eşim Ahmet Eralp TOKMAK'a sevgilerimi sunarım.

Kişiliğimin oluşmasında katkı sağlayan, beni bu yaşıma kadar getiren, büyüten, emeklerini ve yürek dolu sevgisini esirgemeyen değerli Keskin ailesine teşekkürlerimi sunarım.

Arş. Gör. Melis TOKMAK

Ocak 2021, KAYSERİ

ORTA KIZILÖTESİ OPTİK BİYOSENSÖR KULLANARAK YAPAY SEMEN İÇERİSİNDE SPERMATOZOON VE HORMON MİKTARI ANALİZİ İLE ERKEK İNFERTİLİTE TESPİTİ

Melis TOKMAK

Erciyes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü
Yüksek Lisans Tezi, Ocak 2021
Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Mehmet Çağrı SOYLU
Prof. Dr. Ahmet ÜLGEN

ÖZET

Günümüzde infertilite, vaka sayısının arttığı küresel bir sağlık sorunudur. 12 aylık korunmasız cinsel ilişkiden sonra ya da kişinin üreme kapasitesinden kaynaklı klinik gebelik oluşmaması infertilite olarak tanımlanır. Erkek infertilitesinin teşhisinde altın standart spermiyogramdır. Spermiyogram, kişinin üreme sisteminin sağlıklı olup olmadığı ve sperm kalitesi hakkında bilgi sağlar. Spermiyogram kullanımında oluşan sınırlamaların başında tecrübeli personel ihtiyacı ve özel ekipman gerekliliği gelir. İnfertil değerlendirmesinde kullanılan diğer bir yöntemse kan numunesi ile hormonal değerlendirmedir. Hormonal değerlendirmede spermatogenezin başlangıcı olarak folikül uyarıcı hormon (FSH), luteinizan hormon (LH) ve testosteron belirteçleri kullanılır. Spektroskopik analiz yöntemleri, ışığın maddeyle olan etkileşimi sonucu oluşan titreşimin meydana getirdiği soğurma ile numunenin kimyasal özgüllüğü hakkında bilgi sağlar. Bu tez çalışması, verici tarafından gönderilen 1-20 μm dalga boyu arasındaki kızılötesi ışığın numunedeki organik bileşenlerle etkileşimi sonucu alıcı üzerinde 600 cm^{-1}- 4000 cm^{-1} aralığında oluşan gerilim bilgisini takip etmektedir. Vericinin sürme akımının kademeli olarak değişimi enerjide de bir artışa sebebiyet vermektedir. Enerjinin artması frekansı artırırken, dalga boyunu azaltır. İnfertil bireylere özgü sperm sayısı ile hormonal belirteç olan FSH ve testosteron miktarını belirlemek için en az 3'er tekrarlı deneyler yapılmıştır. 134 mA- 152 mA arasındaki sürme akımlarına karşı elde edilen alıcı gerilimleri sınıflandırılmış ve sperm miktarı için Ensemble ile sırasıyla %83,3, %88,9, FSH için KNN ile %97,9 ve testosteron için Ensemble ile %68,3, KNN ile sırasıyla %82,9, %85,9 doğruluk bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar tasarlanan optik sensörün infertilite teşhisinde kullanımı açısından umut vaad etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Erkek infertilitesi, Moleküler Absorbans, FSH, testosteron, sperm sayısı

DETECTION OF MALE INFERTILITY BY SPERMATOZOON AND HORMONE AMOUNT ANALYSIS IN ARTIFICIAL SEMEN USING A MEDIUM INFRARED OPTICAL BIOSENSOR

Melis TOKMAK

Erciyes University, Graduate School of Natural and Applied Sciences
Master Thesis, Janunary 2021
Supervisor: Assoc. (Dr.Öğr. Üyesi) Mehmet Çağrı SOYLU
Assoc. (Prof. Dr.) Ahmet ÜLGEN

ABSTRACT

Today, infertility is a global health problem with an increasing number of cases. Infertility is defined as the absence of clinical pregnancy after 12 months of unprotected sexual intercourse or due to the reproductive capacity of the person. The gold standard in the diagnosis of male infertility is spermiogram. Spermiogram provides information about whether the person's reproductive system is healthy and sperm quality. The most important limitations in the use of spermiograms are the need for experienced personnel and special equipment. Another method used in infertility evaluation is hormonal evaluation with a blood sample. FSH, LH and testosterone markers are used as the beginning of spermatogenesis in hormonal evaluation. Spectroscopic analysis methods provide information about the chemical specificity of the sample and the absorption caused by the vibration caused by the interaction of light with the substance. This thesis study follows the voltage information generated on the receiver in the range of 600-4000cm-1 as a result of the interaction of infrared light between 1-20 μm wavelength sent by the transmitter with organic components in the sample. The gradual change of the driving current of the transmitter causes an increase in energy. The increase in energy increases in frequency and decreases in wavelength. At least 3 repetitive experiments were conducted for the sperm count specific to infertile individuals and the amount of hormonal markers FSH and testosterone. Receiver voltages obtained against driving currents between 134-152 mA were classified, and for sperm amount 83.3%, 88.9% with Ensemble, 97.9% with KNN for FSH and 68.3% with Ensemble for testosterone, and 82.9% and 85.9%, with KNN, respectively. The results obtained show promise for the use of the designed optical sensor in the diagnosis of infertility.

Keywords: Male infertility, Molecular Absorbance, FSH, testosterone, sperm count

İÇİNDEKİLER

OPTİK BİYOSENSÖRLERLE NUMUNE ÖN HAZIRLANMASINA VE ETİKETLENMESİ GEREKMEKSİZİN SEMEN KALİTE ANALİZİ

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK ii

YÖNERGEYE UYGUNLUK iii

KABUL VE ONAY iv

TEŞEKKÜR v

ÖZET vi

ABSTRACT vii

İÇİNDEKİLER viii

KISALTMALAR xii

TABLOLAR LİSTESİ xiv

ŞEKİLLER LİSTESİ xv

GİRİŞ 1

1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER ve LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Spermatogenez 2

1.2. Spermatozoon (Sperm Hücresi) Yapısı 4

1.3. Sperm Analizi Parametreleri 6

1.4. Spermatogenezin Hormonal Kontrolü 6

1.5. Spermatozoonların Morfolojik Açıdan Sınıflandırılması 7

1.6. Spermatozoonların Morfolojik Bozukluklarının Önemi 10

1.7. Semen Genel Özellikleri ve Semen (Ejakulat) Oluşumu 11

1.8. İnfertilite (Kısırlık) 12

1.9. İnfertilite Prevelansı 12

1.10. Erkek İnfertilitesi 12

1.11. Erkek Hastanın Değerlendirilmesi 14

1.11.1. Öykü- Fiziki Muayene 14

1.11.2. Tanısal Testler 15

1.11.2.1. Klasik Semen Analizi 15

1.11.2.2. Semen Örneğinin Alınması 15

1.11.2.3. Semen Örneğinin Değerlendirilmesi 16

1.11.3. Endokrin Değerlendirme 18

1.11.4. Post-Ejakülatör İdrar Analizi 20

1.11.5. Ultrasonografi 20

1.11.6. Özel Semen ve Sperm Testleri 20

1.11.7. Genetik 21

1.12. Erkek İnfertilite Değerlendirmesinde Gelişmekte Olan Yöntemler 21

1.12.1. Smart-Phone Temelli Yöntemler 21

1.12.2. Yapay Zekâ ve Görüntü İşleme Tabanlı Yöntemler 21

1.12.3. Mikro Akışkan Tabanlı Yöntemler 22

1.12.4. Metabolomik, Proteomik ve Genomik Temelli Yöntemler 22

1.12.5. Biyosensör Temelli Yöntemler 23

1.12.5.1. Kâğıt Tabanlı Sensörler 23

1.12.5.2. Piezoelektrik Temelli Sensörler 23

1.12.5.3. Optik Temelli Sensörler 24

1.13. Işığın Fiziği 24

1.14. Spektroskopi ve Titreşimsel Spektroskopi Hakkında Bilgiler 26

1.14.1.İnfrared Spektroskopisinde Kullanılan Yöntemler 27

1.14.2. Orta Kızılötesi (Mid-İnfrared) Spektroskopisi 29

1.14.3. Mid-İnfrared Bölgede Yapılan İnfertilite Tespiti Çalışmaları 32

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal 33

2.1.1. Kimyasallar 33

2.1.2.Cihaz ve Ekipmanlar 34

2.1.3. Kullanılan Deney Düzeneği 35

2.2. Yöntem 36

2.2.1. Lam-Lamel Kullanımı ve Temizliği 36

2.2.2. Tasarlanan Sistemin Kalibrasyonu 37

2.2.3. Simüle Semenin Hazırlanması ve Uygulanması 38

2.2.4. FSH Analizi İçin Solüsyonların Hazırlanması ve Uygulanması 39

2.2.5. Testosteron Analizi İçin Solüsyonların Hazırlanması ve Uygulanması .. 39

2.2.6. Sperm Analizi Öncesinde Gerçekleşen Aşamalar 40

2.2.6.1. İzole Spermin Hazırlanışı ve Temini 40

2.2.6.2. Sperm Analizi İçin Solüsyonların Hazırlanması ve Uygulanması ... 40

2.2.7. Sinyal İşleme 41

2.2.8. Sınıflandırma Algoritmaları 43

2.2.8.1. K En Yakın Komşu (KNN) 43

2.2.8.2. Destek Vektör Makinaları (SVM) 44

2.2.8.3. Ensemble (Topluluk Öğrenimi) Algoritması 44

2.2.9. Sınıflandırıcı Performansını Değerlendirme Kriterleri 44

3. BÖLÜM

BULGULAR

3.1 FSH Analiz Sonuçları 46

3.2 Testosteron Miktarı Analiz Sonuçları 47

3.3 Sperm Sayısı Analiz Sonuçları 49

3.4 Sınıflandırma sonuçları 54

3.4.1 FSH Analizi İçin Sınıflandırma Sonuçları 54

3.4.2 Testosteron Analizi İçin Sınıflandırma Sonuçları 54

3.4.3 Sperm Analizi İçin Sınıflandırma Sonuçları 55

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ ve ÖNERİLER

4.1.Tartışma **57**
4.2.Sonuç ve Öneriler **58**
KAYNAKÇA **59**
ÖZGEÇMİŞ **70**

KISALTMALAR

DNA:	Deoksiribo Nükleik Asit
LH:	Luteinleştirici Hormon
FSH:	Folikül Uyarıcı Hormon (Follicle-Stimulating Hormone)
TSH:	Tiroid Uyarıcı Hormon
T:	Testosteron
GNRH:	Gonadotropin Salgılayan Hormon
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
CASA:	Bilgisayar Destekli Sperm Analizi
PAP:	Prostat Asit Fosfotaz
PSA:	Prostat Spesifik Antijen
SCSA:	Sperm Kromatin Yapısı Tayini
AOT:	Akridin Turuncu Testi
TB:	Toludin Mavisi
TDT:	Dna Nükleotideksotransferaz
DUTP:	Trifosfat
TUNEL:	The Terminal Deoxynucleotidyl Transferasemediated Deoxyuridine (Tdt) Triphosphate (Dutp) Nick End Labeling Assay]
NT:	Asıl Çentik Okuma Tayini (*In Situ* Nick Translation Assay)
COMET:	Tek Hücre Jel Elektroforezi
SCD:	Sperm Kromatin Ayrılma Testi (Halosperm Test) (Sperm Chromatin Dispersion Test)
FISH:	Floresan *In Situ Hibridizasyon*
ASA:	Anti Sperm Antikor
IBT:	İmmunobead Testi
MAR:	Anti-Globulin Reaksiyon
PCR	Polimeraz Zincir Reaksiyon
LC-MS:	Sıvı Kromatografisi- Kütle Spektrometresi
GC-MS:	Gaz Kromatografisi- Kütle Spektrometresi
NMR:	Nükleer Manyetik Rezonans
ATR:	Zayıflatılmış Toplam Yansıma

FTIR:	Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektroskopisi
NIR:	Yakın İnfrared
MIR:	Orta İnfrared
CCL_4:	Karbon Tetra Klorür
PBS:	Fostat Tampon Çözeltisi
KNN:	K En Yakın Komşu
SVM:	Destek Vektör Makinaları
TP:	Doğru Pozitif
FP:	Yanlış Pozitif
FN:	Yanlış Negatif
TN:	Doğru Negatif
ERR:	Hata Oranı
ACC:	Doğruluk

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.1 : Kruger kriterlerine göre sperm morfolojisi 8
Tablo 1.2: WHO-2010 Kriterlerine Göre Semen Parametreleri 9
Tablo 1.3: İnfertilitede Kadın ve Erkek Faktörü Yüzdeleri 14
Tablo 1.4: Klinik değerlendirmede bazal hormon seviyeleri.....18
Tablo 2.1: Kan ve semen örneklerinde FSH oranları 39
Tablo 2.2: Karmaşıklık matrisi (ing: confusion matrix) 44
Tablo 3.1: FSH Analizi İçin Sınıflandırma Sonuçları.....54
Tablo 3.2: Testosteron Analizi İçin Sınıflandırma Sonuçları 55

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1: Üreme sisteminde spermatoogenez olayı 3
Şekil 1.2: Spermatoozon Bölümleri ve İç Yapısı 5
Şekil 1.3: Erkek üreme sisteminin hormonal denetimi 7
Şekil 1.4: Standart Semen Analizi 16
Şekil 1.5: Dalga boyu, frekans bilgisi 25
Şekil 1.6: Elektromanyetik Dalga Bileşenleri 26
Şekil 1.7: Elektromanyetik spektrum (Işık Tayfı) 29
Şekil 1.8: Lambert-Beer yasası 30
Şekil 1.9: Transmitans-absorbans eğrisi 30
Şekil 1.10: Moleküler Titreşim Tipleri 31
Şekil 1.11: Mid- İnfrared spektrum analiz kısımları 31
Şekil 2.1: Devre İş Akış Şeması 35
Şekil 2.2: Sistem düzeneği 36
Şekil 2.3: Örnek deney verisi 42
Şekil 2.4: Sinyalde yerel maksimum ve minimum noktaların belirlenmesi 42
Şekil 2.5: Ortalaması alınan verilerden elde edilen grafik 43
Şekil 3.1: İnfertil bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları 46
Şekil 3.2: Fertil bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları 47
Şekil 3.3: Fertil bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları 48
Şekil 3.4: İnfertil bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları 49
Şekil 3.5: İnfertil tanısında kullanılan gruplar için belirlenen tüm konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları 50
Şekil 3.6: Normospermi bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları 51
Şekil 3.7: Oligospermi bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları 51

Şekil 3.8: Normospermi bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları.....52
Şekil 3.9: Oligospermi bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları.....53

GİRİŞ

Kısırlık küresel bir sorundur ve kısırlığa neden olan birçok etken vardır. Bu etkenler genel bir başlık altında toplanmak istenirse, kadın kaynaklı ve erkek kaynaklı olarak iki başlık altında toplanabilir. Günümüzde kısırlık üzerine oluşturulan istatiksel veriler hala net değildir. Bu durumun dünya genelindeki farklı toplumlarda ataerkil bir toplum yapısının süregelmesinden ötürü olabilir. Erkek kısırlığı, erkeğin doğurgan bir kadına hamilelik verememesi anlamına gelir. Erkeklerin, kısırlık vakalarının %20 - %30'undan tek başına, toplam vakaların ise %50'sine katkıda bulunduğu tespit edilmiştir [1]. Semen kalitesinin bozulduğunu gösteren çalışmalar 1980'li yılların başlarında araştırma konusu olmuştur. Bu sorunun ciddiyetini daha iyi anlayabilmek için meta- analiz çalışmaları yapılmış ve sağlıklı sperm sayısında azalma olduğu gözlemlenmiştir. Bu çalışmaların yanı sıra sperm hacmi ile ilgili ve sperm düşüş eğilimi bilgilerinin güncellendiği kapsamlı meta-analizler en son 2000'li yılların başlarında yapılmıştır [2]. Bundan sonra yürütülen birçok çalışma spermin hareketlilik, canlılık ve morfolojideki oransal düşüşünü vurgulamaktadır. Semen analizi erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde altın standart olarak kullanılsa da kusurlu bir araçtır. %89,6 duyarlılıkla, yani 10 erkekten 9'u hakkında gerçek infertilite teşhisi sağlayabildiği için günümüzde kullanılan en temel yöntemdir [2]. Süregelen yıllarda öngörülen erkek infertilitesi artışı, hassas sistemlere ihtiyaç duyulacağını ortaya koymaktadır.

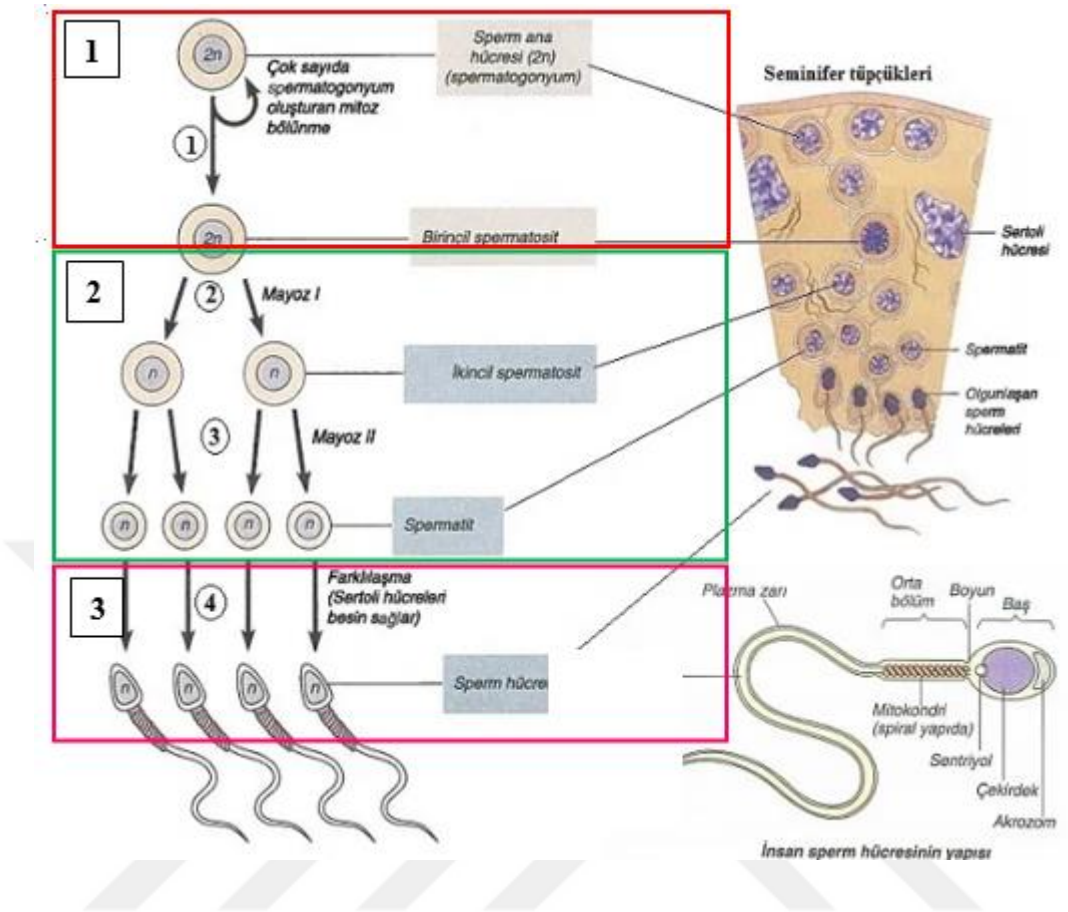
1. BÖLÜM

GENEL BİLGİLER VE LİTERATÜR ÇALIŞMASI

1.1. Spermatogenez

Spermatogenez, mayoz bölünme ve her bir hücresi haploid (n) gen taşıyan spermleri üretmek için olgunlaşmış spermde morfolojik farklılaşmayı sağlayan, gen kontrolünü ve spermatogonial hücre proliferasyonunu içerisinde barındıran uzun ve karmaşık bir süreçtir [3]. Spermatogenez, ergenlik (puberte (13-16 yaş)) ile birlikte başlar ve yetişkinlikte (andropoz dönemine kadar) hızı yavaşlayarak devam eder. Olgun-spermatozoa (matür) spermler cinsiyet (spermatogonium germ) hücrelerinden oluşmaktadır. Bu süreç spermatogoniumların mitoz ile çoğalma aşaması olan spermatositogenez, oluşan spermatogonium mayoz bölünme ile deoksiribonükleik asit (DNA) yapısının yarıya düştüğü aşama ve spermin matür hale ulaştığı spermiyogenez aşamalarını içerir [4].

Erkek üreme sisteminde, özelleşmiş diploid (2n) hücrelere spermatogonyum denir. Bu özel yapılar puberte öncesi mitoz bölünme geçirerek sayılarını arttırır. Puberte ile birlikte sayıları artan spermatogonium hücreleri olgunlaşarak mayoz-I bölünme evresine hazırlanır. Bu evrede mayoz bölünme geçirmiş hücrelere birincil spermatosit (2n) adı verilir. 2n kromozomlu spermatositler mayoz-I bölünme sonrasında iki tane kromozomlu ikincil spermatosit hücresi oluşturur. İkincil spermatositlerden mayoz-II sonunda haploit (n) kromozomlu 4 hücre oluşur ve bu hücrelere spermatit adı verilir. Spermatogenez sırasında oluşan sperm (spermatozoa) hücreleri eşit miktarda büyüklükte ve aynı miktarda sitoplazmaya sahiptir.



Şekil 1.1: Üreme sisteminde spermatoogenez olayı [5]

Spermatogenezi özetle 3 aşamada inceleyebiliriz. Bu aşamalar sırasıyla aşağıdaki gibidir:

1. **Proliferasyon Fazı:** Germ hücreleri mitoz bölünme geçirerek kendisiyle aynı birçok hücre oluşturur.

2. **Redüksiyon Bölünme Fazı**: Proliferasyon fazında oluşan olgun germ hücreleri mayoz bölünme ile kromozom sayısını yarıya düşürür.

3. **Farklılaşma Fazı:** Sperm oluşumuna öncülük eden hücrelerin spermatogenezin her bir aşamada farklılık göstermesidir.

Erkek üreme organı testislerdir ve testislerin içerisinde seminifer tüpçükler vardır. Seminifer tüpçüklerinde, leydig, sertoli ve spermatogonyum hücreleri vardır.

- Leydig hücreleri, erkek germ hormonu testosteronu (androjen) salgılar.

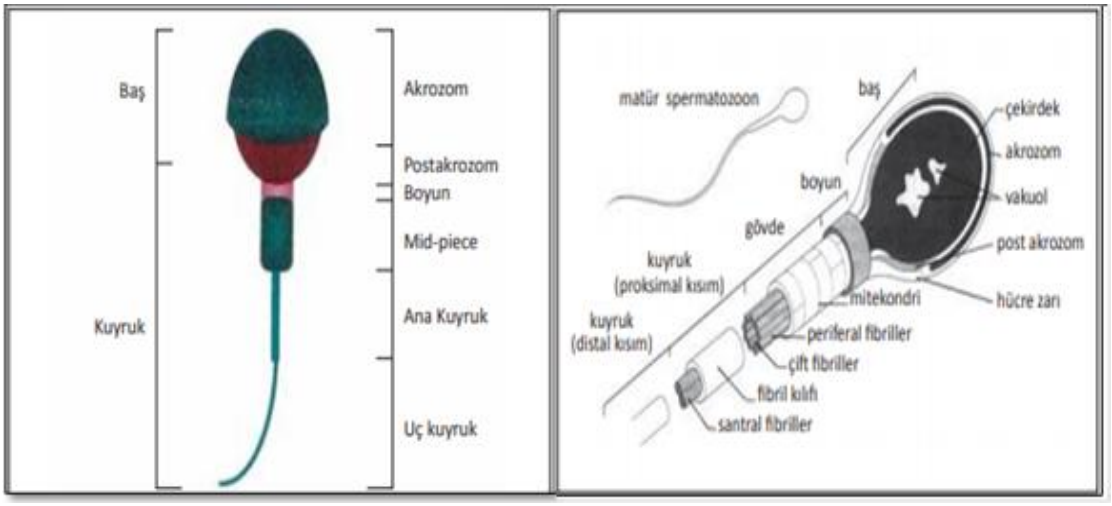
- Sertoli hücreleri, spermlerin beslenmesi ve korunmasında etkindir. Ayrıca inhibin hormonu üretir.

Seminifer tubulilerde oluşan spermlerin dölleme ve hareket yetenekleri yoktur. Bu spermler seminifer tubulilerden epididimis kanallarına geçer. Epididimis kanalları spermlerin olgunlaştığı, hareket ve dölleme yeteneği kazanması için uzun süre tutulduğu yerdir. Olgunlaşan spermler epididimisten vas deferens denilen sperm kanalına geçerek idrar kesesi üzerinden spermleri üretraya taşır. Üretraya ulaşan spermler buradan dışarı atılır. Yetişkin erkeklerde her gün 3 milyona yakın spermatogonium bu döngüye başlar.

1.2. Spermatozoon (Sperm Hücresi) Yapısı

Spermatozoonun keşfedilmesi 1677 yıllarına kadar uzanır. Mikroskop uzmanı olan Antony Von Leeuwenhoek, Sifiliz hastasının semenini (ejakülatını) incelerken bu hastalıkla ilişkili olduğunu düşündüğü hareketli hücrelerle karşılaştı. Bunun diğer memeli canlılarda gözlemlemeyi amaçlayan A.V. Leeuwenhoek, bu hücrelerin spermlerin normal bir bileşeni olduğunu ve üreme için gerekli olduğunu ortaya koydu. Sonra yapılan çalışmalar ise spermin tanımlanmasına yönelikti. 1700'lü yıllarda yapay gübreleme üzerinde çalışan Lazzaro Spallanzani, Dumas ve Prevost, özellikle K. Glliker'in sitolojik incelemeleri ve ardından 18. yüzyılın ikinci yarısında Newport ve Oscar Hertwig devam ettirmiştir. Bu çalışmalar ışığında spermatozoonun erkek organizmasından ayrılan, üreme sağlamak amacıyla yumurtayla birleşen ve yeni hücre oluşumuna öncelik eden bir yapısı olduğu sonucuna varıldı. Takip eden yüzyıllarda ise elektron mikroskobu ve kimyasal analiz ile yapılan araştırmalar sonucunda, çeşitli spermatozoa türlerinin tam yapısının ve fonksiyonunun netleştirilmesini ve gösterilmesini sağladı [6].

Bireysel spermatozoonun, hücresel gövdesini ve ileri doğru hareketini sağlayan ince titreşimli kuyruğu ile birlikte yaklaşık uzunluğu 50-60 μm'dir [6].



Şekil 1.2: Spermatoozon Bölümleri ve İç Yapısı [6]

Spermatozoon gerek yapısal gerekse fonksiyonel ve metabolik bakımdan incelenmesi için birkaç kısma ayrılır: Bu bölmeler baş, orta-parça, esas-parça ve kuyruk kısmından oluşur. Spermatozoanın tamamı plazmalemma veya plazma zarı ile kaplıdır [7].

Başın en önemli özelliği, içindeki kompakt genetik materyal olan kromatin bulunduran oval, yassılaştırılmış çekirdektir **(Şekil 1.2)**. Baş kısım içerisinde taşınan genetik materyal dişi gamete ulaşım ve yeni gamet oluşumu için etkilidir [7].

Sperm çekirdeğinin ön ucunda çift katmanlı ince bir zar kesesi olan akrozom bulunur **(Şekil 1.2)** [7]. Akrozomda, hiyalüronidaz, proakrozin, akrozin, esteraz, nöraminidaz, asit fosfataz, fosfolipaz, arilsülfataz B, N-asetil glukozaminidaz, arilamidaz, kollajenaz en önemli enzimlerdir [8].

Kuyruk uzunluğu yaklaşık 45-55 μm kadardır. Kuyruğu 4 farklı kısma incelenebilir. Bunlar boyun, orta parça, esas parça ve son parça olmak üzere dört kısımdan oluşur. Kuyruk çevresinde çeşitli katmanlarda mikrotübüller yapılar aksonem adlı yapının oluşumunu sağlar. Aksonem, kuyruğa hareketlilik, kalın ve diklik sağlayan yapılardır [9]. Kuyruğun başa yakın kısmında, aksonem, orta ve esas-parçalarda fibriller ile çevrelenmiştir. Aksonem çevresinde helikal yapıda sıralanmış mitokondriler ve arka kısmında yoğun fibrilleri çevreleyen fibröz bir kılıf bulunur. Bu fibriller ile fibröz kılıf kuyruğun iskeletini meydana getirir [7].

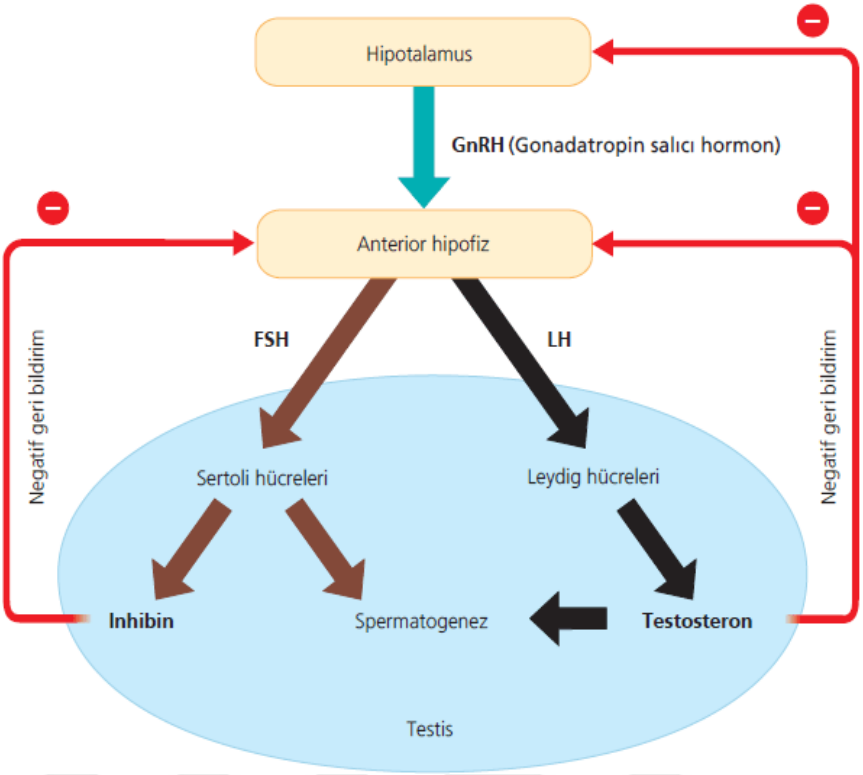
1.3. Sperm Analizi Paramatreleri

Sperm (spermiogram) testi değerlendirilirken 4 farklı kriter söz konusudur. Bu kriterler;

- Sperm Sayısı
- Sperm Motilitesi
- Sperm Morfolojisi'dir.

1.4. Spermatogenezin Hormonal Kontrolü

Testislerde seminifer tubuliler arasında bulunan Leydig hücreleri testosteron üretimini sağlamaktadır. Testosteronun testislerde oluşturduğu etki, seminifer tubulilerin sperm üretmesini sağlar. Kısaca; spermatogenez olayı testosteron üretimi olmadığında gözlenmez. Testosteronun Leydig hücreleri tarafından salgılanması, hipofiz ön lobu hücrelerinin salgıladığı Lüteinleştirici hormon (LH) tarafından kontrol edilir. Leydig hücreleri testosteron ve androjen salgılar. Ön hipofiz tarafından salgılanan diğer bir hormon olan folikül stimülan hormon (FSH) ise, Sertoli hücrelerini etkileyerek spermatogenezi kontrol eder. Ayrıca, Sertoli hücreleri üreme aşamasında spermleri besleyerek gelişimini destekler. Erkek üreme sistemini kontrol eden bu hormonal döngüde negatif geri bildirim kontrol mekanizması da yer alır. Erkeklerde eşey hormonları, iki geri bildirim mekanizması ile kontrol edilir. Birincisi kanda artan testosteron, hipotalamusu ve hipofizi uyararak GnRH, FSH ve LH'ın kandaki seviyesini azaltır. İkincisi ise Sertoli hücrelerinin salgıladığı inhibin hormonudur. İnhibin hipofizi ve hipotalamusu etkileyerek FSH'ın inhibisyonunu sağlar [8]. Testosteron düzeyinin artması, hipotalamusun serbestleştirici hormon (GnRH)'unu inhibe eder. İnhibe edilen GnRH hormonu, LH ve FSH salınımı azaltır. Ayrıca; glikoprotein yapısı olan Sertoli hücreleri inhibin salgılar [10]. Androjen, ikincil eşeysel karakterlerin ortaya çıkmasında etkili olan erkek eşey hormonlarının genel adıdır. Erkeklerde eşey hormonları iki ayrı geri bildirim mekanizması ile düzenlenir. Birincisi, kanda artan testosteron hipotalamusu ve hipofizi uyararak GnRH, FSH ve LH'ın kandaki seviyesini azaltır. İkincisi ise sertoli hücrelerinin salgıladığı inhibin hormonu hipofizi etkiler ve FSH salgısını azaltır [11].



Şekil 1.3: Erkek üreme sisteminin hormonal denetimi [11]

1.5. Spermatozoonların Morfolojik Açıdan Sınıflandırılması

Her bireyin sperm yapısı birbirinden oldukça farklıdır. Analiz edilecek örnekte sperme ait büyüklük ve şekilsel anormallikler ortaya çıkabilir. Bazen bu anormallikler, mutasyonlar veya genetik kaynaklı sorunlar olup spermin genel işlevini etkilemez. Bu durumların dışında, spermin döllenme aşamasında yumurta ile olan ilişkisini etkileyebilir. Genel olarak semen analizi veya infertilite teşhisi sırasında sperm morfolojisine bakılır. Ancak; sperm morfolojisi tek başına infertilitenin bir göstergesi değildir.

Normal fonksiyonlara sahip sağlıklı spermin morfolojik özellikleri Kruger kriterleri ve World Health Organization (WHO) kriterleri ile saptanmıştır [12].

Bu yöntemlerde incelenen sperm hücreleri işlemlerden geçirilerek spermin baş, boyun ve kuyruk kısımları detaylı olarak değerlendirilir. Değerlendirme sonucu, standartlara göre terminolojik olarak adlandırılır.

- **Kruger Kriterleri:** Kruger kriterleri, özellikle spermdeki şekil bozukluklarını mikroskobik bir yöntemle ele almaktadır. Bu kriterler ile baş, akrozom, kuyruk ve orta parça anormallikleri değerlendirilir.

Tablo 1.1 : Kruger kriterlerine göre sperm morfolojisi [13]

Baş	• **Uzunluk: 5-6 mikron** • **Genişlik: 2,5-3,5 mikron**
Akrozom	• Başın %40-70'ini oluşturmalı
Orta Parça	• Genişlik: 1 mikron • Uzunluk: 1,5 × baş uzunluğu
Kuyruk	• Boyu yaklaşık 45-55 mikron • Uniform • Orta parçadan daha ince • Kıvrılmamış • Kırık içermeyen
Sitoplazmik Damlacık	• Baş alanının %30-70'inden az • Sadece orta parçada lokalize

Tablo 1.1'de de belirtildiği gibi spermin baş kısmında bulunan akrozom miktarının sperm %40-70 civarında olması beklenir. Ayrıca spermin akrozom kısmı vakuol içermemelidir. Değerlendirilen sperm vakuol içeriyorsa da bu oran sperm başının %20'sinden fazlasını olmamalıdır. Post akrozomal bölgede ise hiçbir şekilde vakuol olmamalıdır. Sperm başının en ölçüsü 2- 3 µm civarında uzunluğu ise 3- 5 µm arasında olup oval ve kenarları düzgün bir şekilde olması gerekmektedir. Belirtilen kriterler dışındaki sperm baş şekilleri anormal olarak değerlendirilir [14].

Spermin boynu baş uzunluğunda ilerleyen ince ve sınırları belirli bir yapı olmalıdır.

Orta kısım, eni yaklaşık 1 µm boyu ise eninin 1,5 katı civarındadır. Silindir biçiminde ve baş kısmına uzun ekseni doğrultusunda bağlanmış bulunmalıdır. Bunun dışındaki diğer morfolojik farklılıklar anormal olarak değerlendirilir [13].

Kuyruk uzunluğu yaklaşık 35- 45 µm arasında ve düzgün yapıda olmalıdır. Kuyruk kırık olmadığı sürece kendi üzerinde veya halka şeklinde kıvrılıyor olması normaldir [15].

- **WHO Kriterleri:**

İnfertilitenin sadece sperm morfolojisine bağlı olmadığını düşünen WHO, Kruger Kriterlerini gereğinden fazla katı bulmuştur.

Tablo 1.2: WHO-2010 Kriterlerine Göre Semen Parametreleri [16]

PARAMETRE	**WHO 1999**	**WHO 2010**
Semen hacmi (mL)	≥ 2	1,5
Toplam sperm (10^6/ejakulate)	40	39(33-46)
Sperm sayısı/mL (10^6/ mL)	20	15(12-16)
Total motilite (a+b) (%)	>50	40(38-42)
Hızlı ileri hareketli (%)	25	32(31-34)
Vitalite (canlı spermatozoa, %)	75	58(53-63)
pH	≥ 7,2	≥ 7,2
Peroxidaz-pozitif lökosit (10^6/mL)	<1,0	<1,0

WHO kriterlerine göre normal sperm başı oval şekilde olup, uzunluğu 4,4-5 µm, en, 2,5-3,5 µmdir. Boynun ene oranı 1,5- 1,75 arasında olmalıdır. Kruger Kriterinde olduğu gibi spermin baş kısmında %40-%70 arasında akrozom bulunmalıdır. WHO'nın sperm boynu

ile ilgili bir değerlendirme mevcut değildir. Normal yapıda inceleme yapıldığında boyun, orta parça ve kuyruk kısmında şekil bozuklukları olmamalıdır. Sitoplazmik damlacık sperm başı büyüklüğünün 1/3'ünü geçmemelidir [17]. Şekli silindir ve etrafı dağınık olmamalıdır. Uzunluğu 35- 45 μm olması gereken kuyrukta herhangi bir kıvrım ve bükülme olmaması gerekmektedir. Bunun dışındaki değerlendirmeler anormal olarak kabul edilir.

1.6. Spermatozoonların Morfolojik Bozukluklarının Önemi

Spermin morfolojik incelenmesi spermatogenez sonucu oluşan spermlerin kalitesini belirlemede etkin bir faktördür. Semenin kalitesi, temelde spermlerin semen (ejakülat) içerisindeki sayısı, hareketlilik (motilitesi) ve fizyolojik görüntüsüne (morfolojisine) bakılarak değerlendirilir [18].

Spermatozoonların morfolojik açıdan değerlendirilmesi klinik açısından önemli bir yer tutmakla birlikte halen değerlendirmelerde kriter olarak gösterilmesi tartışma konusudur. Bunun nedenleri arasında morfolojiyi değerlendirirken bilimsel bir değerlendirme yapılmaması ve insana dayalı subjektif sonuç vermesidir. Örneğin hematopoetik hücrelerin aksine, infertil ve fertil erkeklerin semeninde bulunan çok çeşitli anormalliklerden kaynaklanır. Sadece belirli tip anormallikler ölçülebilir [19]. Günümüzde de bilgisayar destekli sperm morfoloji analiz (CASA) sistemlerinin çoğu uzman kullanım becerilerine dayanmaktadır.

Sperm morfolojisi, bir kişinin bedensel ve dolayısıyla testis sağlığının çok güçlü bir göstergesidir [20]. Sperm morfolojisi üzerine yapılan çalışmalarda normal spermin tanımı önemlidir. Normal sperm morfolojisinin iki noktayı dikkate alması gerekir. Birincisi spermatozoanın semende normal morfoloji ile anormal morfoloji oranıdır. İkincisi ise normal spermlerin tanımı ve karakteristiğidir. Ancak bu şekilde klinik değerlendirmede morfoloji yararlı kabul edilir. Ayrıca morfolojik olarak değerlendirmede biyolojik veri elde etmek için numune konsantre olmalıdır.

Literatüre bakıldığında, morfolojinin, hareketlilik ve konsantrasyondan bağımsız olarak in vivo ve in vitro olarak güzel bir sperm dölleme kapasitesinin biyolojik belirleyicisi olarak klinik bir alakası olduğu açıkça görülmektedir [21].

1.7. Semen Genel Özellikleri ve Semen (Ejakulat) Oluşumu

Normal çözünme (likefiye) olmuş semen örneği, homojen, gri-opalesan bir görünüme sahiptir. Ejakülasyonda atılan dışarıya çıkan ilk sıvı esasen spermden zengin prostat sıvısı iken, daha sonraki sıvılar büyük miktarda seminal vezikül sıvısını içerir. Semenin normal hacmi 2- 6 mL arasındadır. Semen pH'ı yaklaşık olarak 7,2'dir. Bu değer, seminal vezikülün alkalen salgısı ile prostat bezinin asidik salgısı arasındaki dengeyi temsil eder [22].

Semen, sellüler ve aselüler olmak üzere iki komponente ayrılır. Sellüler kısım spermatozoonlardan (%2- 5 arası) oluşur. Asellüler komponente ise seminal plazma adı verilir [23, 24].

Semen, spermatozoa içerebilen seminal sıvı olarak da bilinen organik bir sıvıdır. Dişi yumurtaları dölleyebilen semen cinsel bezler (gonadlar) tarafından salgılanır. Seminal sıvı içerisinde birçok enzim fruktoz ve sperm gibi birkaç bileşen içerir. Organik sıvı özelliği taşıyan bu seminal sıvı spermlerin hayatta kalmasını ve hareketlilik için gerekli olan desteği sağlar. Ayrıca seminal plazma, immunglobulinler, kemokinler ve sitokinler dahil çok sayıda immün regülatör faktör içerir. Bu faktörler erkek gametlerine karşı dişinin bağışıklık toleransını artırır ve bağışıklık cevabı düzenler [25].

Boşalma sırasında semen çeşitli bezlerden (seminal vezikül, prostat ve bulboüretral (cowper) bezi geçerek semen oluşumunu sağlar. Ejakulat hacminin yaklaşık 1,5- 2 mL'sini seminal vezikül, 0,5 mL'sini prostat, 0,1 - 0,2 mL'sini ise bulboüretral bezi salgıları oluşturur [26].

Seminal vezikül salgısı beyazımsı sarı renkte, visköz bir materyal olup, seminal sıvının büyük bir (%50 - 70) kısmını oluşturur [27]. Salgı içerisinde fruktoz, prostaglandin, amino asitler, askorbik asit, basit şekerler ve seminal veziküle özgü proteinler bulunmaktadır. Fruktoz, ejekülasyonla atılan spermin ana enerji kaynağıdır.

Burbourethral bezleri salgısı, seminal sıvının %2- 5'ini oluşturur.[14] Oldukça bol galaktoz, galaktozamin, galakturonik asit, metilpentoz ve ortalama miktarda sialik asit içerir.

Prostat bezi salgısı, seminal sıvının %20- 30'unu oluşturur ve hafif alkalidir (pH: 7,29). Salgı ürünleri; prostat asit fosfataz (PAP), prostat spesifik antijen (PSA), amilaz, sitrik asit, çinko ve fibrinolizindir [28].

1.8. İnfertilite (Kısırlık)

Kısırlık, çocuk sahibi olmak isteyen bireylerin, özellikle bulunduğu sosyal ortamlarda, strese yol açan psikolojik, ekonomik ve tıbbi etkileri olan bir durumdur. WHO, Uluslararası Yardımlı Üreme Teknolojisi İzleme Komitesi'ne göre kısırlık, 12 ay veya daha uzun süreli korunmasız cinsel ilişkiden sonra klinik hamileliğin sağlanamaması ile tanımlanan üreme sistemi hastalığıdır [29]. Ayrıca, 35 yaşından küçük kadınlarda kontrasepsiyon kullanmadan çiftin 12 aylık düzenli ilişkiden sonra gebe kalmaması ve 35 yaşından büyük kadınlarda kontrasepsiyon kullanmadan çiftin 6 ay düzenli cinsel ilişkiden sonra hamileliğin sağlanamaması olarak da tanımlanabilir [30].

1.9. İnfertilite Prevelansı

Kısırlık, dünya genelinde çiftlerin tahmini %15'ini etkilemekte [31] ve bu yüzdelik dilim yaklaşık olarak 48,5 milyon çifti kapsamaktadır.

Kuzey Amerika, Avrupa ve Avustralya' da kısırlık oranlarının az gelişmiş ülkelere göre daha doğru olduğuna inanılmasının sebebi gelişmiş ülke olmalarından kaynaklanmaktadır. Avustralya'daki infertilite oranı yaklaşık %8-9'dur. Avustralya'da gözlemlenen bu oran Kuzey Amerika ve ABD oranları ile paraleldir. Orta Doğu ve yakın coğrafi bölgede erkek kısırlığının en yaygın olduğu görülmektedir. Erkeklerin kısırlığa katkısı da Orta Doğu'nun yakın coğrafi bölgesinde oldukça yüksektir [32]. Ayrıca, birincil kısırlık oranlarının ikincil kısırlıktan çok daha düşük olduğunu fark edilmektedir. Bu durum, gelişmekte olan ülkelerde meydana gelen yüksek oranlı çocuk evliliği, genç hamilelikten ve daha sonra cinsel yolla bulaşan hastalıkların ve pelvik enfeksiyonların gelişmesinden kaynaklanabilir [33].

Türkiye ise infertilite oranı yüksek olan ülkeler arasında yer almaktadır [34]. Türkiye'de infertilite oranının %10- 20 arasında değiştiği bildirilmektedir. Türkiye'de 1,5 - 2,0 milyon kişinin infertilite sorunu ile karşı karşıya kaldığı ve sorunun giderek arttığı belirtilmektedir [35].

1.10. Erkek İnfertilesi

Erkek kısırlığı, erkeğin doğurgan bir kadına hamilelik verememesi anlamına gelir. "Erkek faktörü" infertilitesi, sperm konsantrasyonunda ve / veya motilitesinde ve / veya

morfolojisinde, en az bir sperm analizinde 1 ve 4 hafta arasında alınan örnek numunede toplanan bir değişiklik olarak görülmektedir. Semen kalitesi erkek doğurganlığının taşıyıcılığını ifade eder. Günümüzde kısırlık ve engelli doğurganlık sorunları yıllar boyunca problem olarak görülmüştür. Bugün dünyadaki çiftlerin %8- 12'sini etkileyen önemli bir klinik problemdir. Tüm infertilite vakalarının yaklaşık %40- %50'si "erkek faktörü" infertilitesine bağlıdır ve tüm erkeklerin %2'si suboptimal sperm parametreleri sergileyecektir. Düşük sperm konsantrasyonunun, zayıf sperm hareketliliğinin veya anormal morfolojinin bir veya bir kombinasyonu olabilir [2]. Kısırlığa dair infertilite istatistik sonuçları belirlenirken WHO'ya göre bir çiftte en az 12 ay kısırlığı teşhis etmemektedir. Bununla birlikte demografik çalışmalar ise, beş yıllık bir süreç içerisinde bu istatistiği değerlendirir. Yapılan değerlendirmelerde en çok kullanılan istatistiksel metot "Keskinlik Faktörü" dür. Çünkü, keskinlik faktörü erkek kısırlığına ilişkin en çok aktarılan ve bildirilen istatistiktir. Ayrıca, bu konu üzerinde uygulanabilecek kesin bir istatistik henüz mevcut değildir [36].

Erkeklerin kısırlık vakalarının %20- 30'undan tek başına sorumlu oldukları ve toplam vakaların %50'sine katkıda bulunduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, bu sayı dünyanın bütün bölgelerini kesin olarak temsil etmemektedir. Nitekim, küresel düzeyde erkek kısırlığı oranları konusunda doğru istatistik eksikliği vardır. Korunmasız ilişki içinde olan çiftlerin %15'ini etkileyen bu oran kaynaklarda genel olarak belirtilmesine rağmen, dünyanın dört bir yanından alınan sayıların bir birleşimidir ve bu nedenle belirli ülkelerdeki ve bölgelerdeki oranları yansıtmamaktadır. Bu nedenle küresel ölçekte, erkek kısırlık oranlarıyla ilgili doğru bilgiler birçok nedenden dolayı eksiktir ve doğru bir şekilde bildirilmemiştir [37]. Ancak elde edilen bilgiler ışığında değerlendirilen erkek infertilitesi için aşağıdaki **Tablo 1.3** incelendiğinde bölgelerdeki infertilite vakalarının %6,4 ila %42,4'ünün erkek faktörüne bağlı olduğunu görebiliriz.

Tablo 1.3: İnfertilitede Kadın ve Erkek Faktörü Yüzdeleri [32]

	Nüfus	Kadın faktörü	Erkek faktörü	Kombinasyon
Fransa bölgeleri	1686 Çiftler	%30	%20	%39
Batı Sibirya	2000 Evli	%52,70	%6,4	%38,7
Güneydoğu Nijerya	314 Çiftler	%25,80	%42,4	%20,7
Moğolistan	430 Çiftler	%45,80	%25,6	%18,80
Polonya/Doğu Avrupa	Bildirilmeyen	Bildirilmeyen	%40-60	Bildirilmeyen
Mısır	190 Kadınlar	%82	%13-%46	Bildirilmeyen
İran Yazd Bölgesi	5200 Çiftler	%57,5	%25,3	%8
Sudan	710 Çiftler	%49,3	%36,2	Bildirilmeyen

1.11. Erkek Hastanın Değerlendirilmesi

Erkek kısırlığında tedavi edilebilir olan anormallikler ve kısırlık semptomu, kişisel yaşamı tehdit eden bir problem olmanın yanı sıra genetik koşullara bağlı kısırlığa neden olup gelecek nesiller içinde ayrıca tehdit oluşturmaktadır. Bunun için ilk adımda, hastanın geçmiş ve cinsel yaşam öyküsü uzman kişiler tarafından ayrıntılı olarak dikkate alınmalıdır. Çocukluk ve ergenlik döneminde geçirilen rahatsızlıklar, geçirilmiş cerrahi operasyonlar, kullanılan ilaçlar, gonadal toksinlere (radyoterapi, kemoterapi, vb.) maruziyet ve sistemik hastalıklar ise takip edilmesi gereken diğer hususlardır.

Erkek infertilitesi değerlendirilirken uzman kişiler tarafından hastanın fiziki muayenesinin yapılmış ve WHO kriterlerine uygun olarak birer ay arayla alınmış iki adet semen analizi sonucu göz önüne alınmalıdır [38]. Elde edilen tıbbi değerlendirmeye göre hastadan ek testler istenebilir. Bu testler endokrin değerlendirmesi, ultrasonografi, ek semen analizleri, post ejakulatuar idrar analizi ve infertilite için çeşitli özel test ya da genetik bir tarama olabilir.

1.11.1. Öykü- Fiziki Muayene

Erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde temel basamak olan fiziki muayenede uzman kişiler tarafından penis muayenesi yapılır. Bu muayenede;

- Üretral metüs yeri

- Testislerin palpasyonu, büyüklüğü
- Vazların varlığı ve yapışı
- Varikosel varlığı
- Vücut yapısı, kıllanma, meme gelişimi
- Rektal muayene

göz önüne alınan ölçütler arasındadır [39].

1.11.2. Tanısal Testler

Fertilizasyon olasılığını arttırmak için son on yılda birçok test yöntemi tanımlanmıştır [40]. Bu yöntemlerin bir kısmı deneysel olarak kalmış olsa da büyük bir kısmı infertilite teşhis ve tedavisinde rutin olarak kullanılmaktadır. Bu bölümde infertilite teşhisinde kullanılan temel yöntemlerden bahsedilecektir.

1.11.2.1. Klasik Semen Analizi

Semen analizi, erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde gerekli görülen ilk analizden birisidir [41]. Hastadan alınan numuneler arasında farklılıkların olabileceği düşünüldüğünden teşhis aşamasında toplanan ve taşınan iki numunenin de incelenmesi gerekir. Semen analizinde semen, spermatozoa ve spermin morfolojisi gibi özellikler değerlendirilirken hem infertilite hem de infertilite etiyolojisinin belirlenmesine yardımcı olmaktadır. Testin sonunda göz önünde bulundurulması gereken unsur semen analizinin infertilite için kesin sonuç vermemesidir. Semen analizi her ne kadar doğurganlıkla ilgili bir kavram olsa da kadın-erkek bireyler arasındaki doğurganlık hakkında bizlere bilgi vermemektedir. Semen analizi için çoğunlukla WHO tarafından yayınlanan sınırlar kullanılmaktadır [42].

1.11.2.2. Semen Örneğinin Alınması

Aşağıda sırasıyla ifade edilen semen örneği toplama ve dağıtma talimatları, WHO'nun 2010 yılı tavsiyelerine dayanmaktadır. Bu hususta aşamaları takip etmek analiz sonucunu etkileyecek durumlar için önem arz etmektedir [36]. Semen numunesinin toplanma ile analiz arasındaki süre ve maruz kaldığı sıcaklık analiz sonucunu etkileyen faktörlerdendir. Bu yüzden analiz yapılacak yere yakın bir odada semen numunesinin toplanması en uygun tercih olacaktır. Hastaya, semen numunesi nasıl verilmesi gerektiği

hakkında bilgi verilmelidir. Ayrıca semen analizi için önem taşıyan ilk fraksiyon kaybını bu aşamada önlemek büyük önem taşır. Böylelikle analiz sırasında oluşabilecek bilgi eksikliği ve yanlış sonuçlar engellenmiş olur.

- Hastadan alınacak örnek mastürbasyon ile alınmalıdır. Alınan spermatozoa steril bir cam veya plastikten yapılmış temiz, geniş ağızlı bir kaba boşaltılmalıdır.

- Spermatozoanın boşaltıldığı örnek kabı, analiz sonucunu etkileyebilecek sıcaklık dalgalanmalarının önlenmesi için 20 ° C ile 37 ° C arasındaki ortam sıcaklığında tutmak gerekir.

- Hastanın adı ve kimlik numarası ile teslim tarihi ve saati mutlaka etiketlenmelidir.

1.11.2.3. Semen Örneğinin Değerlendirilmesi

Klasik semen analizi için alınan semen örneğinin üzerinde ilk olarak makroskopik ve mikroskobik değerlendirme yapılır. Makroskopik semen değerlendirmesi yapılırken pH, hacim, yoğunluk ve semen görünümü dikkate alınır. Mikroskobik değerlendirmede ise sperm konsantrasyon, hareketlilik ve morfolojisi, yuvarlak hücre sayısı, aglütinasyon ve canlılık incelenir [43].



Şekil 1.4: Standart Semen Analizi [44]

- **Semenin Makroskopik Değerlendirilmesi**

Seminal sıvının akışa karşı direnci viskozite olarak tanımlanır. Bir pipet yardımıyla aspire edilen numunenin yerçekimine karşı düşüşü baz alınarak hesaplanır. Yüksek viskozite sperm konsantrasyonu ve hareketliliğinin ölçülmesini engelleyebilir.

Hastaya ait numunenin semen hacmi hesaplanırken cinsel bezlerinin aktifliğini ortaya konulmaktadır. Bu ölçüm, toplam spermatozoa sayısı ve terminal dışındaki hücre sayımının sonucunda ortaya konulur.

Semen pH'i daha öncede bahsedildiği gibi nötre yakın asidik bir değer taşır. Semen pH'ının değerlendirilmesiyle alkali seminal sekresyon ile asidik prostatik sekresyon arasındaki denge takip edilir. pH değerlendirmesi yapılırken pH kağıdından yararlanılır [45].

- **Semenin Mikroskopik Değerlendirilmesi**

Spermatozoonların birbirine yapışmasına aglütinasyon denir. Bu durum sperm hareketliliğini olumsuz etkiler. Aglütinasyon sperm sayısı ve spermin mikroskopik incelenmesinde aglütinasyon bölgesine göre değerlendirilir.

Hastadan alınan örnekte spermatozoonların yanında yuvarlak hücrelerde (lökosit, olgunlaşmamış germ hücreleri) görülebilir. Yuvarlak hücre konsantrasyonu $1x10^6$ hücre/mL'yi aşarsa, lökositler ve olgun olmayan mikrop hücreleri ayırt etmek smear sonra tekniği boyama, bir diferansiyel semen yapılmalıdır [36].

Birim hacim başına düşen sperm sayısı, sperm konsantrasyonu olarak tanımlanır. Üreme organlarının işlevselliği semen konsantrasyonunu etkiler. Sıvılaştırılmış semen örneği, alınan alikot (bir çözeltinin toplam miktarının bir bölümü) yardımıyla hemositometre ile ölçülebilir.

Sperm morfolojisi değerlendirilmesi en zor basamaklardan biri olmasına rağmen sperm kalitesinin belirlenmesinde kritik adımlardan biridir. Sperm morfolojisi değerlendirilirken numune iyice karıştırılmalıdır. Slayta sürülen numune sırasıyla havada kurutma sabitleme, boyama ve mikroskobik inceleme işlemlerine tabi tutularak değerlendirilir.

Alınan numune sıvılaştıktan sonra pH veya sıcaklıktaki değişimlerin varyasyon ve dehidrasyonunu önlemek için sperm hareketliliği değerlendirilir[44].

1.11.3. Endokrin Değerlendirme

Hormonal anormallikler erkek kısırlığında yaygın olmayan sebepler arasında yer almaktadır. Analiz sırasında bireylerin sperm konsantrasyonlarında anormal düşüklük, cinsel işlevde bozukluk, endokrinopatiyi düşündüren bulgular varsa hasta endokrin değerlendirmesine alınır. Endokrin değerlendirmede en yaygın karşılaşılan anormallik yüksek FSH'dır [46]. Başlangıç için endokrin değerlendirmesi serum FSH ve total testosteron konsantrasyon ölçümlerini içerir. Toplam testosteronun <300 ng/mL' den düşük olması ikinci bir değerlendirmeye ve serumsuz testosteron (T), lüteinleştirici hormon (LH), prolaktin (PRL) ölçümlerine ihtiyaç duymayı gerektirir [47]. Serum T, LH, FSH ve PRL konsantrasyonları arasındaki ilişkiler, anormal toplam T seviyelerinin kaynağının anlaşılmasına yardımcı olur [48]. Özellikle FSH ve leyding hücreleri tarafından testosteron üretimi spermatogenez için uygun seviyeye getirilebilir. Hasta bireyler için FSH hormonu yüksek değerlerde gözlemlenmektedir [49]. İnfertil bireylerin teşhisinde serumdan elde edilen FSH sonuçları klinik uygulamalarda testis biyopsilerinin yerini almıştır [50]. Yapılan çalışmalar incelendiğinde tek başına değerlendirilen FSH ya da LH/T oranının spermatogenezi başlatmasında belirli bir yere kadar etkisi olduğunu göstermiştir. Gonadotropin hormon özelliği taşıyan FSH ve LH aynı hormonal bez tarafından uyarıldığı için her iki hormonunda spermatogenezde etkin rol oynadığı söylenebilir [51].

Tablo 1.4: Klinik değerlendirmede bazal hormon seviyeleri

Klinik Durum	FSH	LH	T	PRL
Normal spermatogenez	Normal	Normal	Normal	Normal
Hipogonadotropik hipogonadizm	Düşük	Düşük	Düşük	
Anormal spermatogenez	Yüksek / normal	Normal	Normal	Normal
Tam testis yetmezliği / hipergonadotropik hipogonadizm	Yüksek	Yüksek		Normal
PRL salgılayan hipofiz tümörü	Normal / düşük	Normal / düşük	Düşük	Yüksek

Ayrıca, tiroid uyarıcı hormon (TSH) istenilen durumlarda endokrin değerlendirmesi için gerekli olabilir. Bunun yanı sıra infertilite de önemli belirteçlerden biride inhibin B konsantrasyonudur. İnfertil bireylerde bu değer oldukça düşüktür [52].

Endokrinal değerlendirmeye alınan erkek bireyler için FSH ve testosteron seviyesi birbirinden farklı anlamlılıklar göstermektedir. Literatüre bakıldığında infertil bireyler için yapılan seminal sıvı değerlendirmesi non-invaziv bir yöntem olması sebebiyle önemli bir yer tutar. Hormonal değerlendirme yapılan literatür çalışmalarında Schoenfeld ve arkadaşlarının 60 kişi üzerinde yaptığı (n_1 = 20 (normospermi)- n_2=20 (oligospermi)- n_3=20 (azospermi)) seminal sıvıda FSH analizi azospermi için 9,5(±1,29) mIU/mL, oligospermi için 10,6(±0,80) mIU/mL, normospermi içinse 9,6(±0,91) mIU/mL sonuçları elde edilmiştir. Testosteron sonuçları ise azospermi için 0,5(±0,074) ng/mL oligospermi için 0,5(±0,036) ng/mL, normospermi içinse 0,5(± 0,078) ng/mL'dir [53]. Louis Bujan ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada 83 örneklem ile (n_1=23 kontrol grubu olmak üzere) fertil ve infertil (n_1=9(azospermi)-n_2=52(oligospermi)-n_3=22(normospermi)) olarak ayrılan gruplar için verilen ortalama değerler sırasıyla 0,20 mIU/mL ve 0,65 mIU/mL bulunmuştur. Testosteron sonuçları ise sırasıyla ortalama değerler 0,63 ng/mL ve 0,6 ng/mL olarak bulunmuştur [54]. E. Karpas ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada ng/mL cinsinden verilen FSH değeri, normal aralıkta 30-230 ng/mL, ortalamada ise 107 ng/mL, testosteron değeri ise normal aralıkta 2,7-8,8 ng/mL, ortalamada 6 ng/mL olarak bulunmuştur [55]. L. Mossa ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada 44 örneklem ile (n_1=10 kontrol grubu olmak üzere) infertil ve fertil(n_2=12(asthenozoospermi)-n_3=52(oligospermi)- n_4=12(azospermi)) olarak ayrılan gruplar için FSH değerleri sırasıyla 2,26(±0,37) IU/L, 0,95(±0,48) IU/L, 2,15(±0,70) IU/L, 9,04(±6,52) IU/L'dir. Testosteron değerleri ise 1,74(±0,17) ng/mL, 1,32(±0,1) ng/mL, 1,92(±0,25) ng/mL, 1,78(±0,33) ng/mL olarak bulunmuştur [56]. Abbaticchio ve arkadaşı tarafından yürütülen çalışmada ise 110 kişi üzerinde değerlendirmesi yapılan FSH analizi sonuçları normospermi için (n_1=49) 4,6(±1,9) mIU/mL, oligospermi(n_2=42) için 4,2(± 2,2) mIU/mL, azospermi(n_3=19) için 3,6(±2,7) mIU/mL 'dir [57].

1.11.4. Post-Ejakülatör İdrar Analizi

Erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde kullanılan düşük maliyetli ve non-invaziv yöntemlerden biridir. Analiz sırasında FSH miktarı kritik öneme sahiptir. Anormal bireylerde gözlemlenmesi muhtemel olan yüksek FSH miktarına göre daha duyarlıdır. Bu analiz sonucunda bireyler için testis yetmezliği, herhangi bir üreme tıkanıklığının olup olmaması durumu ve az sperm sayısının belirlenmesinde etkin rol oynar [58].

1.11.5. Ultrasonografi

Erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde akla gelen ilk görüntüleme yöntemidir. Non-invaziv olmasının yanı sıra testis morfolojisi, kanal tıkanıklığı, varikosel ve diğer anormalliklerin belirlenmesinde kullanılır. İsteğe göre çeşitli çekim metotları bulunur [46].

1.11.6. Özel Semen ve Sperm Testleri

Çevresel stres ve birçok neden gibi gen mutasyonları ve kromozomal anomaliler spermatogenezin oluşumunda önemli rol oynadığından daha öncede bahsetmiştik. Yardımcı üreme tekniklerin bireyler için faydalı olması adına hastadan alınan numuneler belirli testlere tabii tutulmalıdır. Bu testlerin uygulanma durumu hastaya bağlı olarak değişim göstermektedir. DNA fragmantasyonu ve kromozomal anomalileri inceleyen testler bu testlerin başında yer almaktadır. DNA bütünlüğünü değerlendiren testler; Sperm Kromatin Yapısı Tayini (SCSA), Akridin Turuncu Testi (AOT), Toludin Mavisi (TB), Anilin Blue, The Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Mediated Deoxyuridine (TdT) Triphosphate (dUTP) Nick End Labeling Assay (TUNEL), Asıl Çentik Okuma Tayini (NT), Tek Hücre Jel Elektroforezi (COMET), Sperm Kromatin Ayrılma Testi ((Halosperm Test) -SCD) olarak bilinirken [59, 60] floresan *in situ Hibridizasyon* (FISH) testi kromozomal anomalileri değerlendiren test olarak bilinmektedir [61].

İnfertilitede antikorlar, sperm üzerinde belirli bölgelere bağlanırlar. Antikorların bağlanma durumuna göre spermde meydana gelen yığılma ve hareketsizleştirme infertiliteye sebep olabilir. Bu nedenle teşhis aşamasında kullanılan diğer bir test olan Antisperm antikor (ASA) yöntemi aktif bir şekilde kullanılmaktadır [62]. Bu yöntem

altında yapılan İmmunobead test (IBT) ve karışık anti-globulin reaksiyonu (MAR) testi sıkça kullanılan testler arasındadır [63].

1.11.7. Genetik

Genetik nedenlerden kaynaklı infertilite, erkek subfertilitesinin yaklaşık %10-15'ini karşılamaktadır [64]. Kromozomal bozukluklar ve gen mutasyonları genetik nedenlerin temelini oluşturmaktadır. Erkek infertilitesinin genetik temelini araştırmak, hasta bireyle eşi arasındaki fertilite durumu hakkında bilgi sunar [65].

1.12. Erkek İnfertilite Değerlendirmesinde Gelişmekte Olan Yöntemler

Rutin analizlerin dışına çıkıldığında sperm kalitesinin değerlendirilmesinde ve elde edilen verilerin sınıflandırılmasında gelişmekte olan birçok yöntem mevcuttur. Bu yöntemleri ana başlıklar halinde belirtecek olursak;

1.12.1. Smart-Phone Temelli Yöntemler

Akıllı telefonların teknolojik gelişimi yerinde analiz sonucu verebilen sistemlerin varoluşunda etkin rol oynamaktadır. Telefonlarda bulunan kameraları gelişimi ve mikroskoplara entegre uyumu spermi analiz etmede oldukça başarılı örnekler ortaya koymuştur. Cihazın küçük boyutlu ve taşınabilir olması en büyük avantajlarından birisidir [66]. Tek bilyeli lens mikroskobu ve lenssiz mikroskobik görüntüleme ve dijital mikroskobik görüntüleme temeli üzerine kurulmuş bu yöntemler aslında geleneksel olarak kullanılan bilgisayar destekli semen analizi mantığında uzman kişilere bilgi sunar [66, 67].

1.12.2. Yapay Zekâ ve Görüntü İşleme Tabanlı Yöntemler

CASA yöntemi analiz işlemlerine bir standart getirmiş olsa da günümüzde sperm hücrelerinin nasıl değerlendirileceği konusunda değişkenlik devam etmektedir. Spermin sınıflandırılması işlemini standartlaştırmak ve hızlandırmak yeni yöntemlere ihtiyaç duyulmasını sağlamıştır. Geleneksel makine öğrenimi yöntemleri, bu ihtiyacı karşılayan yöntemlerin oluşturulmasında ve sperm sınıflandırmasında büyük ilerleme sağlamıştır. Ancak baş bölgesi, çevre veya eksantriklik gibi hücre şekline dayalı tanımlayıcılar sınıflandırılmak istendiğinde sperm manuel olarak sınıflandırılması gerekmektedir [68].

Sperm kalitesinin değerlendirilmesinde özellikle literatürde desteklenen sperm penetrasyon ve semen analizi sonuçları kullanılarak görüntü işleme ve yapay zekâ alanında kullanılması amaçlanmıştır [69]. Özellikle makine öğrenimi yapay sinir ağları, tek hücre analizi ve hastalık teşhisi konusunda karmaşık verilerin hızlı ve doğru analizini sağlamıştır. Teşhis ile ilgili olarak, makine öğrenimi organ fonksiyonunu izlemek ve inme riskini tahmin etmek için görüntü işleme teknikleriyle birlikte kullanılmıştır [70]. Bir makine öğrenme tekniği olan derin öğrenme, son zamanlarda erkek infertilitesinde, morfolojik özelliklerine göre sperm DNA bütünlüğünü morfolojik parametrelerden tahmin ederek sınıflandırmak için kullanılmıştır [68, 71]. Sperm konsantrasyon ve motilitesi üzerine yoğunlaşan çalışmalarda sırasıyla %96,94, %81,81 doğruluk elde edilmiştir [72, 73].

1.12.3. Mikro Akışkan Tabanlı Yöntemler

Mikro akışkan teknolojisi ayırma, manipülasyon, gamet/embriyo analizi ve kültür izleme gibi birçok yardımcı üreme teknikleri işlemlerini içermektedir. Gelişen teknoloji mikro akışkanlar sisteminin kâğıt tabanlı, damlacık tabanlı ve dijital baskı tabanlı gibi birçok kolda gelişimini sağlamıştır [74]. Sperm hareketliliği üzerine analiz yapımını destekleyen mikroakışkan cihazlar geçtiğimiz 10 yılda önemli gelişmeler kaydetmiştir. Optik algılama ve entegre edilebilirliğinin kolay olması sebebiyle mikroakışkan cihazlar bakım noktası infertilite teşhisi için kullanılabilir nitelikte cihazlardır [75]. Böylelikle floresans işaretleyicilerle etiketlenen spermin saptama küvetinde birikimi sonucu elde edilen sinyal değerlendirilir [76]. Erkek kısırlığının temel sebeplerinden biride Y kromozomu üzerinde oluşan mikrodelesyonlardır. Bu durumu saptamak adına Y kromozomu üzerinde birçok gen dizilimi söz konusu olduğundan ilgili bölgeyi tespit etmek için polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gerektirir. PCR, gelişmiş ekipman ve personel gerektirmesi sebebiyle sıklıkla kullanılan bir yöntem değildir. Bu sebeple multipleks PCR çipi yardımıyla erkek infertilitesi üzerine çalışmalarda söz konusudur [77].

1.12.4. Metabolomik, Proteomik ve Genomik Temelli Yöntemler

Geliştirilmiş sistem yaklaşımı olarak değerlendirilen ve son zamanların en popüler analiz yöntemlerini ortaya koyan diğer bir yaklaşım metabolomik, proteomik ve genomik çalışmalardır. Özellikle gelişmiş biyoinformatik ve analitik araçlarla desteklenen metabolomik çalışmalar alınan numune içerisinde lipid, karbonhidrat, vitamin, hormon

gibi hücre bileşenlerinin tanımlanması ve miktarının belirlenmesinde rol oynar [78, 79]. Metabolomik analizlerde raman spektroskopisi, sıvı kromatografisi kütle spektroskopisi (LC-MS), gaz kromatografisi kütle spektroskopisi (GC-MS), Nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi, infrared spektroskopi yöntemleri aktif olarak kullanılan sistemlerdir. Mevcutta yüksek teknolojiye sahip proteomik ve metabolomik yöntemler erkek kısırlığının nedenlerini araştırmada sıkça kullanılmaktadır. Ancak, bu yöntemlerin yüksek teknoloji ve uzman ekipman gerektirmesi, infertilite de analiz edilecek semen numunesinin karmaşıklığı ve çeşitliliği nedeniyle geleneksel olan bu yöntemlerde çeşitli sınırlamalar söz konusudur. Teşhis konusunda artan talepler hastalığın kilit anahtarı olarak tanımlanan stratejisi üzerine yoğunlaşıp daha hızlı ve hassas cihazlara erişmeyi amaçlamaktadır [80].

1.12.5. Biyosensör Temelli Yöntemler

1.12.5.1. Kâğıt Tabanlı Sensörler

Kağıt, 2007 yılında George Whitesides'in grubu tarafından mikroakışkan kağıt tabanlı analitik cihazın (μPAD) tanıtılması ile iki boyutlu bir mikroakışkan tanı platformu olarak tasarlandı [81]. Öncü çalışmalarından bu yana, kâğıt tabanlı teşhis araştırmalarında katlanarak bir artış oldu. Kâğıt tabanlı çalışmaların gelişiminde kağıtın ucuz ve her yerde bulunur olması, biyolojik olarak uyumlu olması, kılcal hareket yoluyla sıvıları emici olması ve harici pompalama kaynakları gerektirmemesi, sistem içerisinde kolayca değiştirilebilir olması ve güvenli bir şekilde imha edilebilir ve ölçeklenebilir olması etkin rol oynamıştır [82]. Lab-on-Chip uygulamalarının gelişiminde kâğıt tabanlı sensörler önemli bir yer tutar. Kâğıt tabanlı sistemler, rutinde kullanılabilen düşük maliyetli sistemler olarak geliştirilebilirler. Ancak bu sistemler ile yapılmak istenen sayıda canlı sperm hücresi sayımı, hareketlilik ve morfoloji takibi için pahalı ekipmanlar gerektirir [75]. Canlı ve hareketli sperm konsantrasyonları için sırasıyla 8,46 ve 15,18 milyon/mL tespit limitlerine ulaşılmıştır. Bu çalışmada takip edilen canlı, hareketli sperm konsantrasyonları ve motilite değerleri, standart klinik yaklaşımları karşılamaktadır [83].

1.12.5.2. Piezoelektrik Temelli Sensörler

Son zamanlarda üzerinde çalışılan microcantilever sensörler birçok sensörün gelişiminde etkili olduğundan aktif olarak çalışılmaktadır. Microcantilever sensörler, minyatür dalış

tahtasına benzetilebilir ve mikro işleme yöntemleri kullanılarak üretilen basit bir mikromekanik sistemdir. Brownian (çevresel termal hareket) hareketi dahil olmak üzere sensör üzerinde rezonans frekans değişimi mümkündür. Analiz sırasında gerçekleşen moleküler etkileşim sensör yüzeyinde farklı yüzey gerilimlerine neden olacaktır. Burada oluşan diferansiyel yüzey geriliminde meydana gelen sapmalar analiz hakkında bilgi verir. Geleneksel sensörlere kıyasla mikrocantilever sensörler küçültülebilirlik, hassasiyet, hızlı yanıt ve güvenilirlik açısından avantaj sağlar [84]. Genellikle bakteri analizlerinde kullanılır. Yapılan bir çalışma nanomekanik bir dalgalanma ile sperm hareketliliğinin takibinin mümkün olabileceğini ortaya koyulmaktadır. Bu yöntemle elde dilen dalgalanmanın genliği sperm hareketliliğini ifade eder [85].

1.12.5.3. Optik Temelli Sensörler

Kolorimetrik tabanlı sistemler genellikle biyomolekül ve metal iyonlarını tespit etmek için kullanılır. Kalitatif cevap veren bu sensörlerdeki yanıt gözle görülebilir niteliktedir. Kolorimetrik analiz için pahalı ekipman ve tecrübeli kişi gerektirmediğinden test maliyeti önemli ölçüde düşüktür. İnfertile analizi için yapılan bir çalışmada spermin doğru ve hızlı bir şekilde tanımlanması için zirkonyum metal çerçeveler tek sarmallı DNA ile birleştirilmiş altın nanopartiküller yardımıyla kolorimetrik bir sensor dizisi oluşturulmuştur [80]. Nosrati ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada, canlı ve hareketli spermleri tespit etmek amacıyla etiketleme yaparak oluşan renk değişimini takip etmişlerdir [83].

1.13. Işığın Fiziği

Günümüzde ışığın tanımlanmasında yaygın olarak kullanılan 3 teori mevcuttur:

- **Tanecik Modeli:** Tanecik teorisine göre ışık, kaynaktan çıkan sonsuz taneciğin birleşimidir. Bu tanecikler saydam ortamda doğrular boyunca hızlı şekilde ilerler. Aydınlanma, dağılma, reflektans, absorbans ve kırılma gibi olaylar ışığın tanecik modeliyle açıklanır. Bu teoriyle ilgili ilk hipotezler ise Isaac Newton tarafından ortaya atılmıştır.

- **Dalga Teorisi:** Bu teoriye ait hipotezler Huygens tarafından ortaya atılmıştır. Bu teoreme göre ışık kaynağına ait atomlar frekansı yüksek titreşimler oluşturur ve

bu titreşimler dalgalar halinde yol alır. Girişim, kırınım gibi olaylar ışığın dalga teorisi ile açıklanır.

Bu iki yargıdan oluşan ortak düşünce ışığın, ışık kaynağının aynı nokta olduğu ve aralarında faz farkı olduğu sonucunu verir.

- **Elektromanyetik Teori:** Işığın hem tanecik hem de dalgadan oluştuğunu öne sürer. Böylelikle ışık dalgalar halinde yayılan taneciklerden oluşur. Bu sebeple günümüzde düşük frekanslarda ışık, tanecik olarak; yüksek frekanslarda ise dalga şeklinde ifade edilir.

Fotoelektrik olayda ışık enerjisi tanecik özelliği taşıyan fotonlar üzerinden ifade edilecek olursa her bir fotonun enerjisi;

$Efoton = h*f = \frac{h*c}{\lambda}$ veya $c = \lambda * f$ şeklinde ifade edilir.

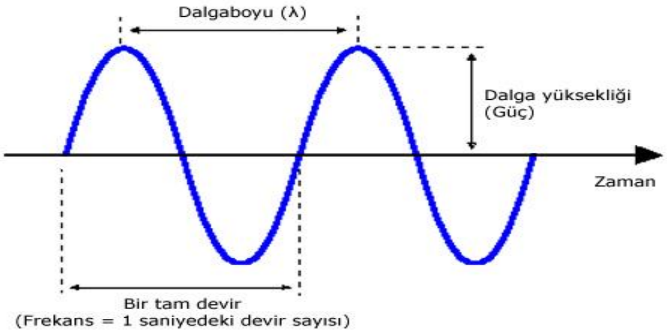
$Efoton$ = Foton enerjisi

h = Plank sabiti ($6.62607015 \times 10^{-34}$ J s)

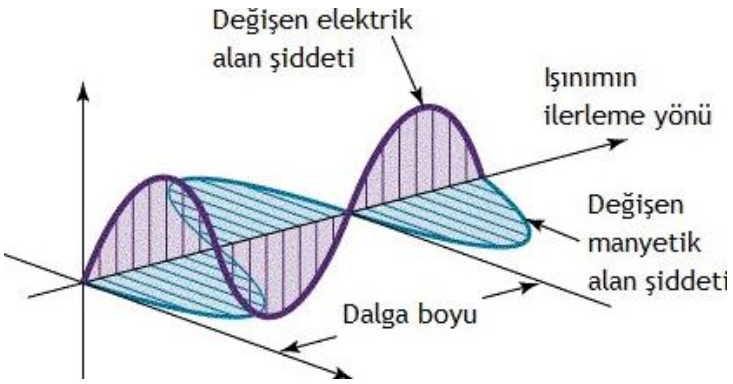
c = Işık Hızı (2.998×10^{10} cm/s)

λ = dalga boyu

f = frekans



Şekil 1.5: Dalga boyu, frekans bilgisi



Şekil 1.6: Elektromanyetik Dalga Bileşenleri [86]

Elektromanyetik dalgalar, yüklü parçacıkların etkileşime girilen alan ile oluşturduğu periyodik titreşimin bir sonucudur. Titreşimin yönüne bağlı olarak enine veya boyuna dalgalar oluşabilir. Enerji transferinin yönüne dik bir titreşim oluşursa enine, enerji transferinin yönüne paralel bir titreşim oluşursa boyuna dalgalar meydana gelir. Bütün elektromanyetik dalgalar ise birbirine dik iki bileşenli dalga özelliği taşır [86].

1.14. Spektroskopi ve Titreşim Spektroskopisi Hakkında Bilgiler

Spektroskopinin en basit tanımı; ışığın madde ile olan ilişkisini inceleyen analiz yöntemi olarak yapılabilir. Spektroskopik analizler, madde ile ışın arasında oluşan moleküler titreşim fenomeninin bir sonucudur. Bu fenomenin oluşmasında etkin olan mekanizmalar numunenin kimyasal özgüllüğü hakkında bilgi taşır [87].

Titreşim spektroskopinin temelinde yatan iki fiziksel mekanizma ışığın soğurulması ve fotonların esnek olmayan saçılma yapması durumudur. Işığın soğurulması, polikromatik kaynaktan iletilen radyasyonun, molekülü temel ve ilk uyarılmış enerji düzeyi arasındaki enerji fark kadar uyarması sonucu oluşan bir olgudur. Fotonların esnek olmayan saçılması ise kaynaktan gönderilen monokromatik ışığın molekül üzerinde esnek olmayan saçılmaya sebep olması sonucu oluşur. Titreşim spektroskopisi birçok biyolojik numunenin hem kantitatif hem de kalitatif olarak incelenmesine olanak sağlar. Molekül bağları kaynak tarafından gönderilen ışığın frekansı ile aynı frekansta titreşiyorsa soğurulma söz konusudur [88]. Titreşim geçişleri, elektronik geçişlere göre daha düşük enerji taşıdıklarından yakın infrared (NIR) ve orta infrared (MIR) bölgelerde karakterize edilirler [89]. Titreşimsel geçiş sırasında moleküldeki bağların ışığı esnek olmayan şekilde saçmasıyla oluşan yöntem Raman spektroskopisi olarak adlandırılırken;

moleküller ışık enerjisini absorplayarak daha üst titreşim enerji seviyesine uyarılıyorsa oluşan spektroskopik yöntem kızılötesi spektroskopisidir [90].

Kızılötesi spektroskopisi (İnfrared spektroskopisi), uzun yıllardır çok çeşitli alanlarda moleküler teşhis veya yapı tayini amaçlı kullanılmıştır. Kullanımdaki bu artışın temel sebebi analiz sırasında herhangi bir reaktif ürüne ihtiyaç duymamasıdır. Bu sayede tekrarlı analiz uygulamalarında maliyetin düşmesini sağlar. Ayrıca çeşitli vücut sıvılarının kliniksel parametrelerin bilinmesi birçok hastalığın teşhis ve tedavi aşamasında izlenimini kolaylaştırmaktadır [88].

1.14.1.İnfrared Spektroskopisinde Kullanılan Yöntemler

İnfrared spektroskopisinde kullanılan yöntemler 3 başlıkta değerlendirilebilir [91]. Bunlar;

- **Transmisyon yöntemi:** İnfrared analizde kullanılan en temel ve kullanımı en basit yöntemdir. Bu yöntemde belirli bir dalga boyunda gönderilen radyasyonun soğurulması söz konusudur. Katı, sıvı ve gaz formundaki numuneleri bu yöntemle analiz etmek mümkündür [92]. Su, IR-orta bölgesinin geniş bir kısmında güçlü, geniş hidroksil(-OH) soğurma gösterdiğinden, su içeren çözelti ya da sıvıların transmitans (geçirgenlik) spektrumları pek çok spektrum pikini örter. Suyun absorpsiyonu, moleküler ortam incelemelerinde bir problemdir. Su absorpsiyonunun bu denli önemli olmasının nedeni biyomoleküllere doğal ortam görevi görmesidir. Bu yüzden sulu çözeltilerin IR spektrumlarının en uygun ölçümü için optik yolun, dalga boyunun ve çözelti konsantrasyonlarının belirlenmesi gerekir [93].Genel olarak IR-spektroskopisinde su olabildiğince istenmez.

  Literatürde bu durumu elimine etmek için yapılan birçok araştırma mevcuttur. Uygulanan yöntemlere değinmek gerekirse; kurutma işlemi akla ilk gelen durum olabilir. Bunun için analiz yapılacak çözelti, mikroskop lamı veya metal bir plaka yardımıyla homojen kalınlığa dikkat edilerek kurutmaya bırakılır. Kuruyan numune üzerinde daha sonra analiz yapılabilir. Bu yöntem su absorpsiyonunun etkisini azaltmasının yanı sıra yüksek ısı nedeniyle numune üzerinde bozulmalara sebep olabilir [92].

İstenmeyen -OH bantlarını elimine etmede kullanılan diğer bir çözüm, çözücü etkeninin değiştirilmesi olabilir. Özellikle infrared bölgede yapılan çalışmalarda organik çözücülerle çalışmak bu anlamda daha mantıklıdır. Organik çözücüler üzerine yapılan çalışmalarda, CCL_4 (karbon tetra klorür) orta infrared bölge için en mantıklı yanıtı vermiştir [94].

Spektrumlar, zayıflatılmış bir toplam yansıtma (ATR) aksesuarı kullanılarak elde edilebilir [95-97]. Bunların yanı sıra bir çözücü olarak su kullanıldığında ortaya çıkan zorluklar suyun döteryum oksit ile ikame edilerek aşılabilir. Literatüre bakıldığında suyun yüksek absorbansını engellemek adına hidrojen izotopu olan döteryum oksitli (ağır su) çözeltilerde Fourier transform İnfrared spektroskopisi (FTIR) çalışmaları yapılarak suyun yüksek absorpsiyonunun etkisi azaltılmaya çalışılmıştır [91, 98, 99].

- **Yansıma yöntemi:**

  Geçirgenlik yöntemiyle analiz edilmesi zor olan numuneler ve daha öncede bahsettiğin gibi suyun absorpsiyonunu elimine etmek için tercih edilen bir yöntemdir. ATR, iç yansıma temeline dayanır. Bir kristale gelen radyasyon ışını kristal ile numune arasındaki geliş açısından daha büyük olduğunda iç yansımaya maruz kalır. Yansıma sırasında ışın, yansıtıcı yüzey üzerinde nüfuz alanı oluşturur. Bu alanda radyasyon ile etkileşime giren malzeme arasında bir miktar soğurma gerçekleşir. Sistem için ortama yansıyan ışın şiddetindeki azalma hesaplanarak spektrometre tarafında dalga boyunun bir fonksiyonu olarak değerlendirilir.

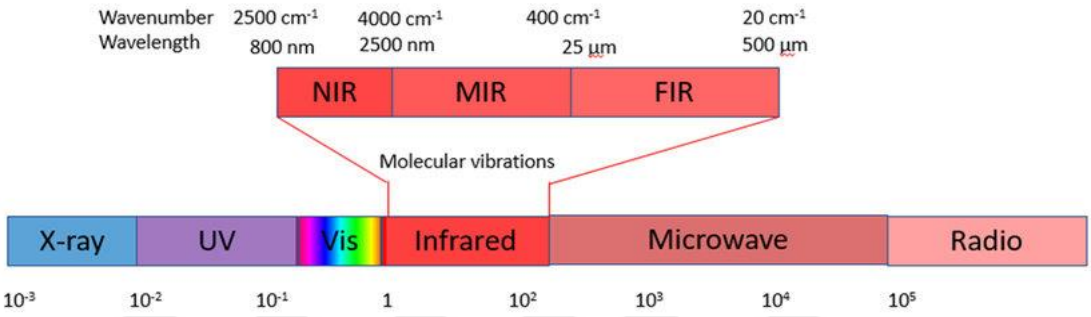
- **Emisyon yöntemi:**

  Belirli bir sıcaklık ya da başka bir enerji formuna (elektromanyetik, yüksek voltajda enerji boşalımı. vb.) sahip malzemeler çevrelerine infrared yayılım yaparlar. Kirchhoff yasasına dayanan olayın temelinde termal dengede bir cisim tarafından yayılan ya da emilen infrared radyasyon miktarının her dalga boyunda eşit olması gerektiği belirtilir. Bu yüzden kara(siyah) cisimler aynı sıcaklıkta mümkün olan maksimum yoğunluğa sahiptirler. Bir numunenin emisyonu hesaplanırken aynı sıcaklıktaki kara(siyah) cismin emisyonuna oranı şeklinde

ifade edilir. Emisyon yöntemini kullanımı daha çok sıcak gaz, metal yüzey kaplamaları analizlerinde karşımıza çıkar [91].

1.14.2. Orta Kızılötesi (Mid-İnfrared/MIR) Spektroskopisi

Biyolojik bilim çeşitliliğinin artması, analitik analizlerde numunenin kalitatif ve kantitatif olarak değerlendirilmesinde ihtiyaç duyulan doğruluk oranını artırmaktadır. İnfrared bölgenin bir bölgesi olan mid (orta) - infrared (4000-400cm^{-1}) bölgesi bu ihtiyacı karşılamaktadır [100].



Şekil 1.7: Elektromanyetik spektrum (Işık Tayfı) [101]

Bu bölgede yapılan analizler numunenin kimyasal özgüllüğünün tanımlanmasının yanı sıra fiziksel kimyası, dinamikleri ve biyomoleküler yapısı hakkında bilgi taşımaktadır [102]. Daha öncede belirtildiği gibi elektromanyetik radyasyonun madde ile etkileşiminde radyasyon enerjisine bağlı olarak çeşitli enerji geçişlerine neden olur. Bu olguda aktif rol alan foton için enerji hesaplanacak olursa;

$$E = h * v = \frac{h*c}{\lambda}$$

E = Foton enerjisi

h = Plank sabiti ($6.62607015 \times 10^{-34}$ J s)

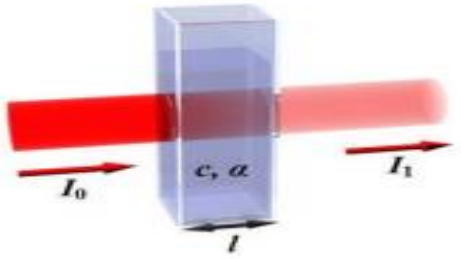
v = Dalga sayısı

c = Işık Hızı (2.998×10^{10} cm/s)

λ = dalga boyu

Absorpsiyon spektroskopisinin temelinde yatan olgu Lambert-Beer kanunudur [100]. Lambert - Beer kanununa göre homojen ve dağılmayan sıvı için konsantrasyon ile absorbansın doğru orantılı olduğu ifade edilir [87].

$$A = \varepsilon * l * c$$



$A =$ Absorbans

$\varepsilon =$ Molar absorptivite

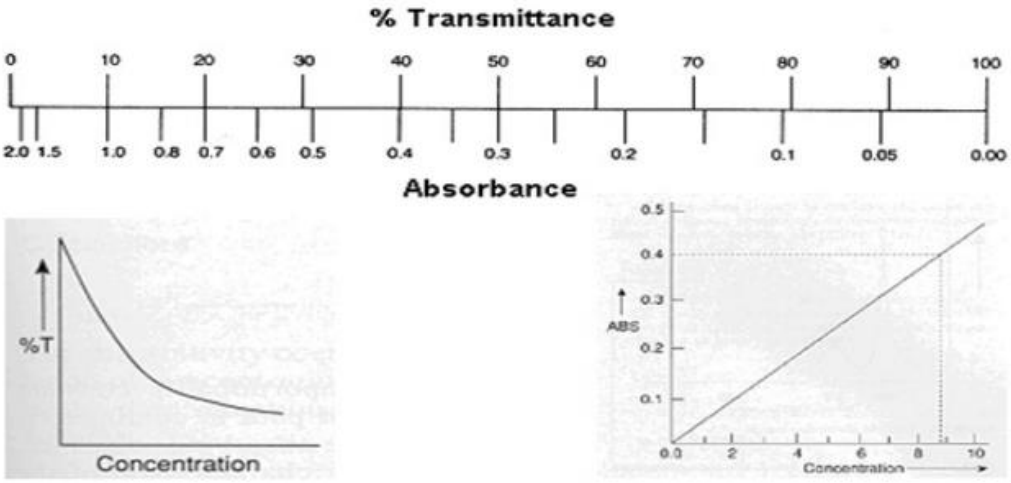
$l =$ Optik yol uzunluğu

c = Konsantrasyon (Mol/L)

Şekil 1.8: Lambert-Beer yasası [103]

$$A = -\log T$$

Bu eşitlikten yararlanılarak absorbans bilgisinden transmitansa geçiş yapılabilir.

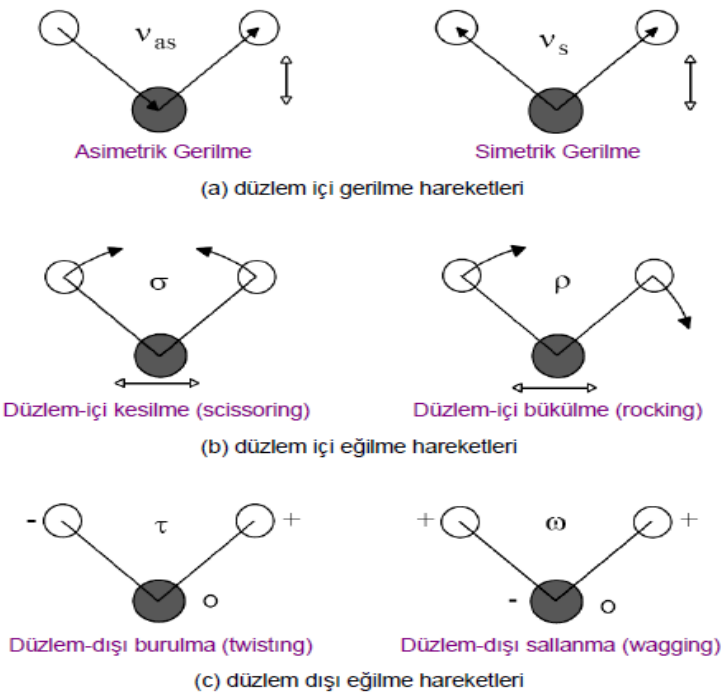


Şekil 1.9: Transmitans-absorbans eğrisi [104]

Absorpsiyon temeline dayalı orta infrared bölgeden elde edilen spektrumda x ekseni dalga numarası bilgisini taşırken y ekseni absorbans ya da yüzde geçirgenlik bilgisini taşır. MIR spektrumları molekül içi bağlarda meydana gelen gerilme ve eğilme titreşimlerinin yasımasıdır [105].

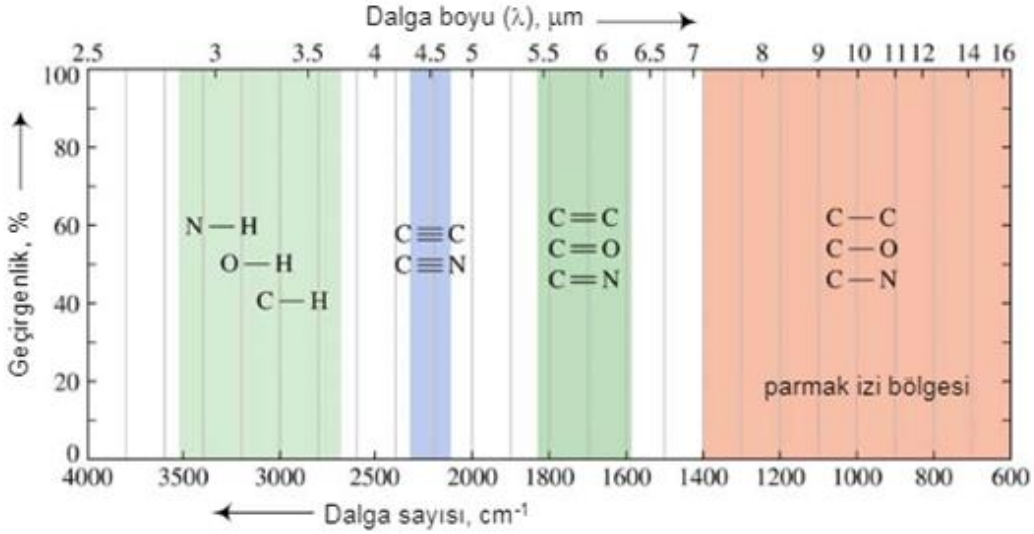
Gerilme titreşimi: İki atomun ortak eksem boyunca birbirine yakınlaşıp uzaklaşmalarını ifade eder. (Asimetrik-Simetrik)

Eğilme titreşimi: Molekül içi bağların açısal değişimlerini ifade eder. (Makaslama-Sallanma-Burulma-Bükülme)



Şekil 1.10: Moleküler Titreşim Tipleri [106]

Mid-infrared spektrum yapısal bilgi açısından 3 kısımda incelenebilir.



Şekil 1.11: Mid- İnfrared spektrum analiz kısımları [106]

- 3000 cm^{-1}' in üzerindeki bölge; hidroksil veya amino gruplarının bantlarının,
- 3000 ile 1500 cm arasındaki bölge; açil zincirinin ve karbonil ve alken gruplarının gerilme titreşimlerinin,

- <1500 cm^{-1} bölge ise; asil zincirinin ve işlevselleştirilmiş grupların eğilme titreşimleri ve bazı gerilme titreşimlerinin gözlemlemlendiği kısımdır.

<1500 cm^{-1} bölgesi, bölgede oluşan yüksek bant sayısı nedeniyle bir bileşiğin parmak izi olarak kabul edilir. Böylece numuneye ait spesifik bant bilgisine ulaşımı kolaylaştırır. 1500 cm^{-1}' in üzerindeki bölgede numuneler için benzer spektrumlar gözlemlenebilir. Birden çok işlevsel grubun tek bir frekans aralığında fotonları emebileceğini, ancak işlevsel bir grubun çoğu zaman birden çok karakteristik soğurmaya sahip olduğunu not etmek önemlidir [105].

1.14.3. Mid-İnfrared Bölgede Yapılan İnfertilite Tespiti Çalışmaları

Biyolojik matrislerin karmaşıklığı MIR bölge için NIR spektrumuna benzer çıktılar üretir. Ancak parmak izi bölgesinde yapılan analizlerde çok değişkenli ve birçok veri analizi kullanımı MIR teknikleri için ilgiyi arttırmaktadır. Biyomedikal uygulamalarda kullanılan MIR teknikleri; iletim/yansıma FTIR spektroskopi/mikroskopi, ATR, MIR haritalama/ görüntüleme mikroskobu olarak sıralanabilir [107].

Erkek infertilitesinin tedavi ve teşhisine yönelik çalışmalar birçok alanda uzun süredir devam etmektedir. Ancak idiopatik infertilite tanısı gibi hâlen infertilite hakkında açıklanamayan problemler söz konusudur. Gelişmekte olan yöntemler arasında değerlendirilen metabolik analiz yöntemlerinin bu tür problemler giderilmesi anlamında önerilmektedir. Alınan numuneler üzerinde metabolit miktarının belirlenmesi ve numunenin kalitesi hakkında yapılan yorumların problemlere çözüm olabileceği belirtilmektedir. Metabolik çalışmalarda kullanılan yöntemlerin başında optik ve optik olmayan spektroskopi yöntemleri gelir. Optik olmayan yöntemler NMR, LC-MS, GC-MS iken optiksel yöntemler ise FTIR, NIR, Raman spektroskopisi ‘dir [108]. Bu başlık altında daha çok optiksel yöntemden biri olan FTIR üzerinde durulacak olup mid-infrared bölgede gerçekleştirilen infertiliteye yönelik çalışmalar üzerinde durulacaktır [109-111].

Semen numunesi üzerinde yapılan çalışmalarda FTIR analizleri, semen için parmak izi özelliği taşıyan bileşenlerin yanı sıra, lipit amino asit, sitrat ve enzim bileşenleri hakkında bilgi sağlamıştır [111]. İnfertilite teşhisinde ilk basamak olan semenin metabolomik analizi, hasta birey hakkında birçok bilgi sağlar.

2. BÖLÜM

MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Kimyasallar

- Etil Alkol (Merck: 1117272500)
- Distile su (Erciyes Üniversitesi Çevre Mühendisliği laboratuvarından temin edildi.)
- Fosfat Tamponlu Serum Çözelti (Phosphate Buffered Saline (PBS)) (Chembio)
- İçerisine ek kalsiyum ve magnezyum edilerek pH'ı 7,2 olacak şekilde solüsyon hazırlanmıştır.
- Folikül Stimülan Hormon (FSH) (Sigma Aldrich: F 4021-10 µg)
- Testosteron (Sigma Aldrich: 86500)
- Sodyum fosfat monobazik ($NaH_2PO_4.H_2O$- Erciyes Üniversitesi Çevre Mühendisliği laboratuvarından temin edildi.)
- Sodyum fosfat dibazik anhidrat (NaH_2PO_4 (susuz)- Erciyes Üniversitesi Çevre Mühendisliği laboratuvarından temin edildi.)
- Sodyum sitrat dihidrat ($Na_3C_6H_5O_7.2H_2O$- Erciyes Üniversitesi Çevre Mühendisliği laboratuvarından temin edildi.)
- Potasyum klorür (KCl)
- Potasyum hidroksit (KOH- Merck: 1050331000)

- Fruktoz ($C_6H_{12}O_6$- Erciyes Üniversitesi Gıda Mühendisliği laboratuvarından temin edildi.)
- Glikoz (anhidrat) ($C_6H_{12}O_6$ (susuz)- Erciyes Üniversitesi Gıda Mühendisliği laboratuvarından temin edildi.)
- Laktik asit ($C_3H_6O_3$- Erciyes Üniversitesi Çevre Mühendisliği laboratuvarından temin edildi.)
- Üre (CH_4N_2O- Erciyes Üniversitesi Çevre Mühendisliği laboratuvarından temin edildi.)
- Büyükbaş Serum Albümini (Bovine Serum Albumin (BSA)) (Sigma Aldrich: A2153)
- Magnezyum klorür hekzahidrat ($MgCl_2.6H_2O$- Merck: 105886.1000)
- Kalsiyum klorür dihidrat ($CaCl_2.2H_2O$- Carlo Erba Reagent:433381)
- Çinko klorür ($ZnCl_2$- Merk:108815.1000)

- **2.1.2.Cihaz ve Ekipmanlar**
- Emitter (Boston Electronic- Infrared Source Series 7x)
- Dedektör (Thermopile Sensor TS118-3)
- İşlemsel Kuvvetlendirici (Op-amp) (OP07x Precision Operational Amplifiers)
- Çok turlu potansiyometre
- Akım sınırlayıcı devre
- Güç kaynağı
- Arduino Uno R3
- Karıştırıcı (Vorteks)- Stuart
- Hassas Tartı – Radwag

- Etüv (Nüve)
- Matlab (2018b) programı

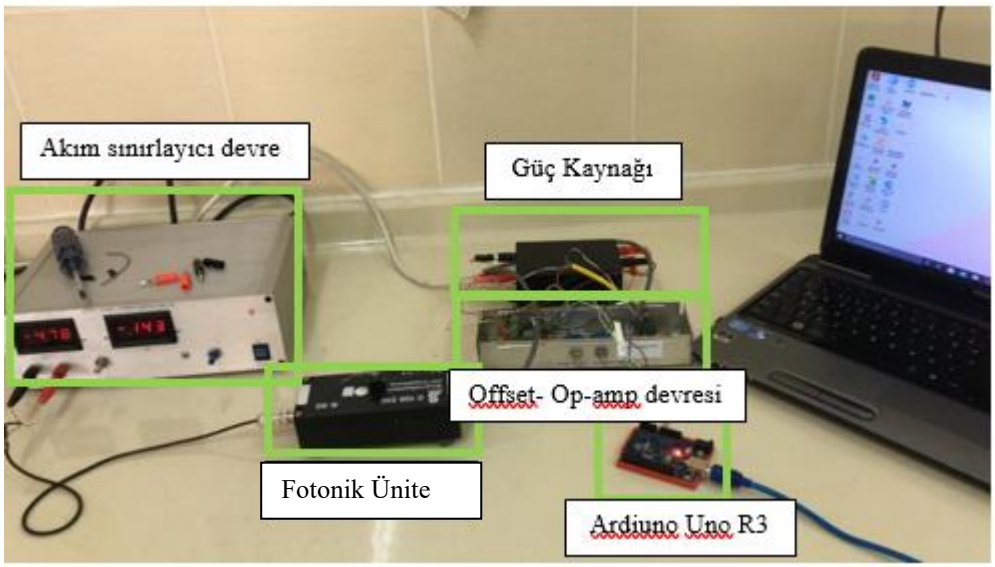
2.1.3. Kullanılan Deney Düzeneği

Tasarımı yapılan deney düzeneği emitter yapısına kontrollü akım akışı sağlamak amacıyla akım sınırlayıcı devre, analizi gerçekleştirdiğimiz fotonik ünite, gerekli offset ve kuvvetlendirme işlemlerini gerçekleştirdiğimiz Offset-Op-Amp devresi, sonuçları reat-time takibini yapabilmek adına Arduino UNO R3 işlemcisi ve güç kaynağından oluşmaktadır. Ölçüm, lam-lamel arasına yerleştirilen numunenin fotonik üniteye yerleştirilmesi ve real-time ölçüm alınması şeklinde devam etmektedir.



Şekil 2.1: Devre İş Akış Şeması

Akım sınırlayıcı devre, emiter kontrolünü yapmak amacıyla fotonik üniteye istenilen voltaj ve akımı sağlamaktadır. Fotonik ünite içerisinde emiter ve dedektör spektrometre düzenine göre yerleştirilmiştir. Fotonik ünitede yer alan emiterden gelen polikromatik ışığın odaklanması için ince kenarlı bir mercek kullanılmıştır. Ayrıca emiterin değişen voltaj ve akıma karşı oluşturduğu ısı etkisinin minimize etmek için küçük bir soğutucu yerleştirilmiştir. Böylelikle emiterden gönderilen ışığın numuneden geçirilerek detektöre ulaşması sağlanmıştır. Dedektör çıkışından elde edilen maksimum 1 mV' luk genlik yükselteç devresi yardımıyla yaklaşık olarak 1000 kat arttırılmıştır. Artırılmış genlik değerinin 0-10 V arasında değerlendirilmesi için offset devresi kurulmuştur. Elde edilen voltaj çıkışı, real-time olarak matlab-arduino iletişimi ile kayıt altına alınmıştır.



Şekil 2.2: Sistem düzeneği

2.2. Yöntem

Bu tez için kullanılan yöntem enerji ve dalga boyu arasındaki ilişkiye dayanmakta olup sistem üzerinde soğurulmaya dayalı ölçümler alınmıştır. Bilindiği üzere enerji ve frekans arasında doğrusal bir ilişki vardır [112]. Emiterden gönderilen ışığın enerjisinde dalga boyuna bağlı olarak meydana gelen değişim numunede bir kısım soğurmaya sebep olmaktadır. Sonuç olarak dedektöre ulaşan ışık bilgisi (geçirgenlik) değerlendirilmiştir.

2.2.1. Lam-Lamel Kullanımı ve Temizliği

Emisyon spektroskopisi dışında tüm spektroskopik yöntemlerde numune kaplarına ihtiyaç duyulur. Çalışılan dalga boyu aralığı küvet (hücre) seçimi için önem arz etmektedir. Küvet seçiminde dikkat edilmesi gereken ilk temel husus çalışılan dalga boyu aralığında geçirgen olmasıdır. Görünür bölgede genellikle cam küvetler tercih edilir. Özellikle asidik solüsyon analizlerinde soft camlar, bazik solüsyon analizlerinde ise borosilikat cam kullanımı yaygındır. 350 nm altında gönderilen ışık cam küvet tarafından soğurulacağı için genellikle bu bölge için kuvars ve erimiş silikat hücre tercih edilir. İnfrared bölgede ise kullanımı en yaygın olan hücre sodyum klorür kristalleridir [104]. Tasarlanan sistem için mid-infrared aralığı kullanıldığını daha öncede belirtmiştik. Bu bölgede kullanılabilecek küvet yapısı ilk olarak kuvars şeklinde belirlense bile optik yol uzunluğunun uzun (1 cm) olması numunenin küvete konulması durumunda dedektör de tepki oluşturmamıştır. Bu durum; optik yol uzunluğundan, çözücü bileşiğin infrared

bölgedeki soğrulma karakteristiğinden veya mid-infrared bölgenin yüksek su absorpsiyonu sağlamasından kaynaklı olduğu düşünülebilir. Bütün bu durumlar irdelenerek en uygun seçimin lam-lamel arasında yapılan analiz olduğu belirlendi. Kullanılan lam-lamellerin temizlik aşamalarından bahsedecek olursak;

- Kullanılan lam-lameller çeşme suyunda temizlendikten hemen sonra saf sudan geçirilmiştir.
- Ölçüm sonuçlarının etkilenmemesi adına Lam-lameller kesinlikle fırça ile temizlenmemiştir. Lam-lamel üzerinde oluşacak herhangi bir çizik ya da mat yüzey oluşumu ölçüm sonuçlarını etkilemektedir.
- %10'luk çamaşır suyunda 1 gün boyunca bekletildikten sonra etil alkol ve saf su temizliği yapılarak lam-lameller etüv yardımıyla kurutulmuştur.

2.2.2. Tasarlanan Sistemin Kalibrasyonu

1. Sistem üzerinde akım sınırlayıcı devre ışık yolu açıkken 0,71-0,72 V' a gelecek şekilde ayarlanır. Akım uygulamadan önce bu değer devre için 3,65 V'dir. Bu durumun karşılığı %0,0 T'dir.
2. 0.71-0.72 V eşiği kalibrasyon için önemlidir. Bu voltaj değerine denk gelen akımın fazlası dedektörü saturasyona sokar. Bu akım değeri ise 142-145 mA civarındadır. Bu işlemde optimum dedektör aralığı böylece belirlenmiş olur.
3. Ölçüme başlamadan önce Lam-lamel arasına yerleştirilen kör çözelti için offset ayarı yapılır. Başlangıçta ışık yolu açıkken elde edilen voltaj değeri yükselir. Yani %100 T' nin altında değişir. Bu değeri tekrar %100 transmitansa çekmek için akım biraz daha arttırılabilir.
4. Kör ölçümünde;

a) Işık yolu açıkken offset devresi çıkışı 10.0 V (%100,0 T) olarak ayarlanır.

b) Işık yolunu siyah cisimle kapatıldığında ise offset devre çıkışı 0 V (%0,0 T) olarak ayarlanır.

c) Yukarıdaki b ve c şıkları 2- 3 kez tekrar edilir. Bu işlem basamaklı yaklaşım metodu olup, otomatik pH metreleri tampon çözeltilerle ayarlarken de benzer yol kullanılır. Böylelikle sistem transmitans değerlerini okumaya hazır hale gelir. Örneğin; V=0,375 volt ise %T=37,5' dir. Absorbans değeri ise;

A =- log 0,375= -(-0,426) = 0,426 'dir.

2.2.3. Simüle Semenin Hazırlanması ve Uygulanması

Deneyler sırasında kullanılacak simüle semen yapısı literatür taraması yapılarak belirlenmiştir. Ölçümde kullanılacak simüle semen , insandan alınan örnekler ile karşılaştırıldığında sırasıyla pH: semen 7,7, simüle 7,7; sitrat :(mg/100mL) semen 528, simüle 523; klorür : (mg/100mL) semen 142, simüle142; kalsiyum :(mg/100mL) semen 27,6, simüle 27,6; magnezyum :(mg/100mL) semen 11, simüle 11; potasyum: (mg/100mL) semen 109, simüle 109; sodyum :(mg/100mL) semen 300, simüle 484; çinko :(mg/100mL) semen 16,5, simüle 16,5;osmolarite (mosm) semen 354, simüle 340; fruktoz :(mg/100mL) semen 272, simüle 272; glukoz :(mg/100mL) semen 102, simüle 102; protein :(g/100mL) semen 5,04, simüle 5,04; laktik asit :(g/100mL) semen 62;simüle 62; üre :(g/100mL) semen 45, simüle 45; tampon kapasitesi (slyke) : semen 25, simüle 38 'dir. Simüle semen hazırlanışından bahsedecek olursak toplamda 100 mL olarak hazırlanacak solüsyon 50 şer mL'lik iki ayrı basamakta hazırlanmaktadır. İlk 50 mL için; 0,123M' lik 5,46 mL sodyum fosfat monobazik ile 0,123M' lık 49,14 mL' lik sodyum fosfat dibazik anhidrat karıştırılmıştır. Ardından sırasıyla 813 mg sodyum sitrat dihidrat, 90,8 mg potasyum klorür 88,1 mg potasyum hidroksit, 272 mg fruktoz, 102 mg glukoz(anhidrat), 62 mg laktik asit, 45mg üre, 5,04 g BSA konularak ilk karışım hazırlanmaktadır. Ardından ikinci 50 mL için her biri 15,13 mL distile su içinde hazırlanacak 3 farklı karışım elde edilecektir. Ayrı kaplara konulan distile su içerisine sırasıyla 101 mg kalsiyum klorür dihidrat, 92 mg magnezyum klorür hekzahidrat ve 34,4 mg çinko klorür konularak karıştırılır. Daha sonra sırasıyla kalsiyum klorür solüsyonu, magnezyum solüsyonu ve çinko solüsyonu hazırlanarak ikinci 50 mL' lik fosfat tampon solüsyonu elde edilir. Hazırlanan her iki 50 mL 'lik karışım birbirine karıştırılarak simüle semen örneği hazırlanmış olur [113].

2.2.4. FSH Analizi İçin Solüsyonların Hazırlanması ve Uygulanması

FSH, α ve β zincirlerinden oluşan heterodimerik bir glikoprotein yapısıdır. α zinciri aktif olmamakla analiz sırasında istenen özgüllük β zincirine özgüdür. α zinciri 89, β zinciri 115 amino asit taşır. Kuru toz halinde gelen ürün 5 mL 'lik PBS ile sulandırılarak 2 mg/L Stok çözelti hazırlanmıştır. Protein yapısının bozulmaması için steril şırınga kullanılmıştır. Ürün sulandırıldığında 2- 8 ˚ C de bir aya kadar saklanabilmektedir. Daha önce atıf yapılan [54] makalede fertil ve infertil bireyler için ortalama FSH miktarları mIU/mL cinsinden şu şekilde verilmektedir:

Tablo 2.1: Kan ve semen örneklerinde FSH oranları [54]

	KAN ÖRNEĞİ		**SEMEN ÖRNEĞİ**	
FSH (mIU/mL)	FERTİL BİREYLER	İNFERTİL BİREYLER	FERTİL BİREYLER	İNFERTİL BİREYLER
	1,12	4,78	0,25	0,89

Literatürle desteklenen daha önce kaynak olarak gösterilmiş [55] bir başka FSH analizi değerlendirildiğinde kan örneğinden elde edilen ortalama FSH değeri 107 ng/mL cinsinden verilmiştir. Birim farklılıklarını ortadan kaldırmak üzere oran orantı hesabı yapılarak fertil bireyler için ortalama FSH değeri 23 ng/mL bulundu. Bu oranın yaklaşık 3,56 katı infertil bireyler için değerlendirildiğinde 81,88 ng/mL infertil bireylerde ortalama değer olarak belirlendi. Stok çözeltiden seyreltme (dilüsyon) işlemi yapılarak belirlenen konsantrasyonlar hazırlandı. Analiz sırasında infertil bireyler için; 120 ng/mL, 100 ng/mL, 80 ng/mL, 60 ng/mL, 40 ng/mL, fertil bireyler için 30 ng/mL, 20 ng/mL, 10 ng/mL konsantrasyonlarının ölçümü yapıldı.

2.2.5. Testosteron Analizi İçin Solüsyonların Hazırlanması ve Uygulanması

Testosteron, androjen grubuna ait bir steroid hormondur. Erkeklerde testis, kadınlarda yumurtalıkta üretilir. Erkek infertilitesinde spermin oluşumunda önemli ölçüde etkilidir [114]. Etil alkol içerisinde çözünen testosteron 10 mg/mL stok olacak şekilde hazırlandı. Seyreltme işlemine tabi tutulan stokta 1 ng/mL ye kadar PBS içerisinde açma işlemi

gerçekleştirilmiştir. İnfertil ve fertil bireyler için belirlenen konsantrasyonlar son stok (1 ng/mL) üzerinden seyreltilerek oluşturuldu. Literatür değerlendirmesi yapıldığında infertil ve fertil bireyler arasında net bir sınır değer olmadığı görülmektedir [53-56, 115, 116]. Bu durum muhtemelen analizlerde elde edilen örneklem büyüklüğünden kaynaklanmaktadır. 2,2 ng/mL, 2 ng/mL, 1,8 ng/mL, 1,4 ng/mL, 1,2 ng/mL,1 ng/mL, 0,8 ng/mL, 0,6 ng/mL, 0,4 ng/mL, 0,2 ng/mL konsantrasyonlarında çözeltiler hazırlanarak ölçümler alındı. Sınıflandırma da 0,8 ng/mL ve 1 ng/mL konsantrasyonları hem fertil hemde infertil bireyler için kesişim aralığı olarak değerlendirildi. Fertil bireyler için konsantrasyon aralığı 2,2- 0,8 ng/mL olarak değerlendirilirken infertil bireyler için 1- 0,2 ng/mL olarak değerlendirildi.

2.2.6. Sperm Analizi Öncesinde Gerçekleşen Aşamalar

2.2.6.1. İzole Spermin Hazırlanışı ve Temini

Sperm numuneleri, Prof. Dr. Oğuz EKMEKÇİOĞLU' nun destekleriyle Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji polikliniğinden etik kurul izniyle alınmıştır. Örnekler sağlıklı bireylerinin spermlerinin izole edilmesi ile oluşturulmuştur.

Seminal sıvı içerisinde uzun süre kalan sperm hücreleri canlılığı ve hareketlilik konusunda olumsuz etkilenebilir. Bu yüzden sperm hücrelerinin izole edilmesi yardım üreme teknikleri için önemli bir adımdır. Sperm izolasyonunda kullanılan yöntemler Swim-up yöntemi, Gradient yöntemi, PICSI/spermslow yöntemi ve Microchip yöntemi olarak sıralanabilir. Bu yöntemler arasında gradient yöntemi tüm ejakülat örneklerine uygulanabilirliği açısından en çok kullanılan yöntemdir [38]. Bu yöntem sırasında kullanılan yıkama (wash) ve separate (ayırma) solüsyonları (sırasıyla 2/3 oranı kullanıldı.) sayesinde ejakülat konulacak deney tüpünde yoğunluk katmanı oluşturularak santrifüje konulur. Santrifüj, 10 dk için 20 rpm (dakikadaki devir sayısı) hızında çalıştırılarak numunenin yoğunluk katmanlarına ayrılması sağlanır. Katmanlara ayrılan numunenin en alt katmanından sperm hücreleri izole edilerek alınır.

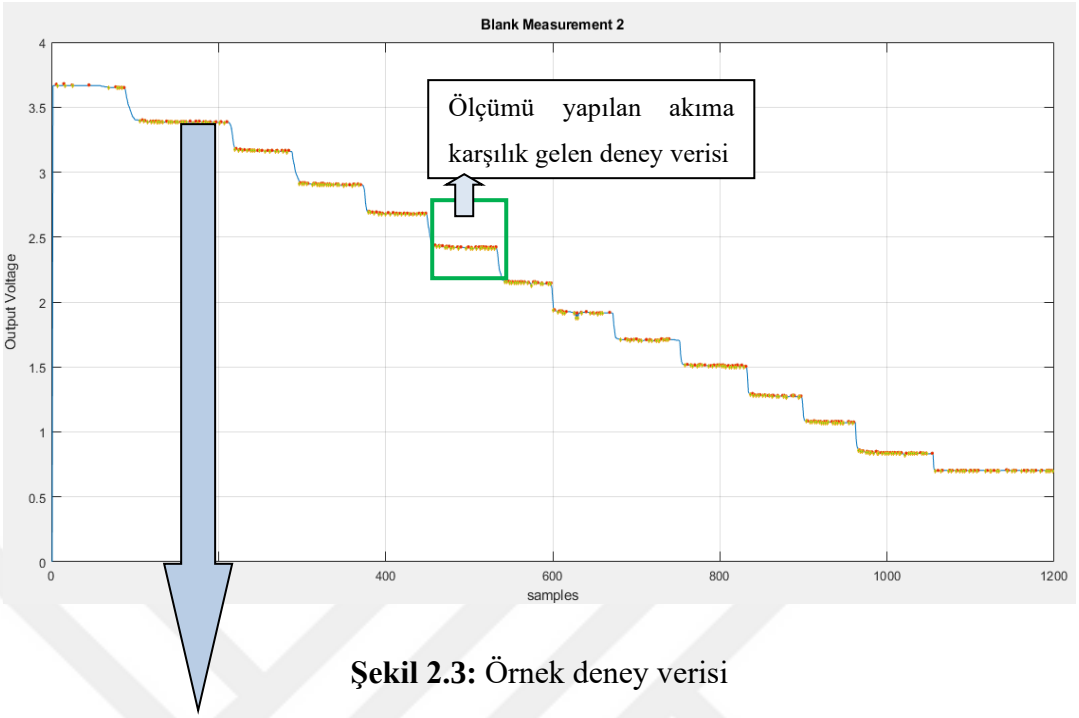
2.2.6.2. Sperm Analizi İçin Solüsyonların Hazırlanması ve Uygulanması

İzole edilen sperm hücreleri stok olarak kullanıldı. Makler sayımı yapılan stoklarda yaklaşık olarak $80x10^6$ sperm hücresi bulunmaktadır. Standart ekleme yöntemi kullanılarak $20x10^6$, $15x10^6$, $10x10^6$, $5x10^6$, $1x10^6$ sperm/mL konsantrasyonlarında

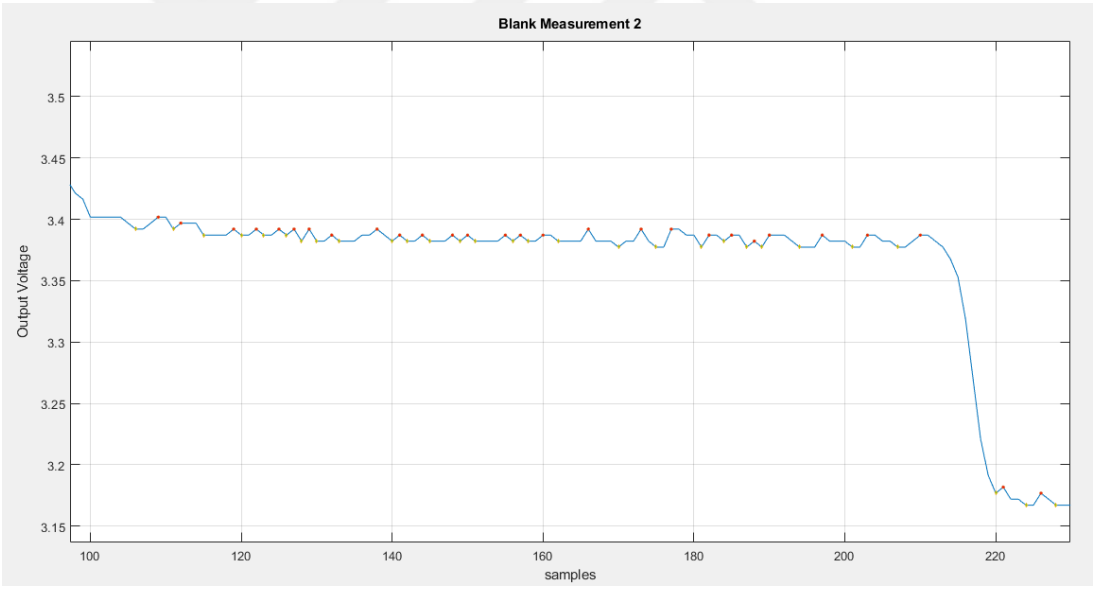
sperm örnekleri hazırlandı. Bu konsantrasyonlar sperm sayısına göre infertilite tanısında kullanılmaktadır [117]. $20x10^6$, $15x10^6$ sperm/mL konsantrasyonuna sahip numuneler normospermi, $10x10^6$, $5x10^6$, $1x10^6$ sperm/mL konsantrasyonuna sahip numuneler ise oligospermi olarak kabul edilmiştir.

2.2.7. Sinyal İşleme

Real- time olarak alınan sinyaller akıma karşılık voltaj çıkışını göstermektedir. Sinyal işleme sırasında pik analizi kullanılmıştır. Pik analizi birçok sinyal işleme algoritmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu analizin kullanımındaki temel amaç; belirli bir eşik dahilinde zaman, frekans veya faz alanında verilen bir sinyal ya da güç spektrumunda bir veya birden fazla tepe araması yapmak ve bu tepe aralığının doğru şekilde belirlenmesini sağlamaktır. Pik analizinde bulunan tepeler sinyalin yerel maksimum noktalarıdır. Pik analizinde oluşabilecek tek kısıtlama uygun aralık ve eşiğin belirlenmesi olacaktır. Tepe oluşumu sinyalde ayrılmaz bir süreç olmasına rağmen tepe noktası arama işlemi diferansiyel özellik taşır. Pik analizi sırasında pik konumunun doğru hesaplanması, yerel maksimum ve minimum noktaları ve sıfır geçişlerinin iyi belirlenmesi ve sinyal gürültüsünün elimine edilmesi dikkat edilecek hususlardandır. Pik analizi için elektrokardiyogram sinyali R tepe algılama, Kızılötesi spektroskopi, optik ve fotometri, akış sitometrisi, çok tepeli floresan emisyon spektrumu vb. yaygın kullanım alanlarıdır [118, 119]. Aşağıda verilen **Şekil 2.3** ‘de örnek deney verisi gösterilmektedir. Veri üzerinde işaretli her bir yatay kısım ölçüm sırasında akıma karşılık gelen ölçümleri göstermektedir.

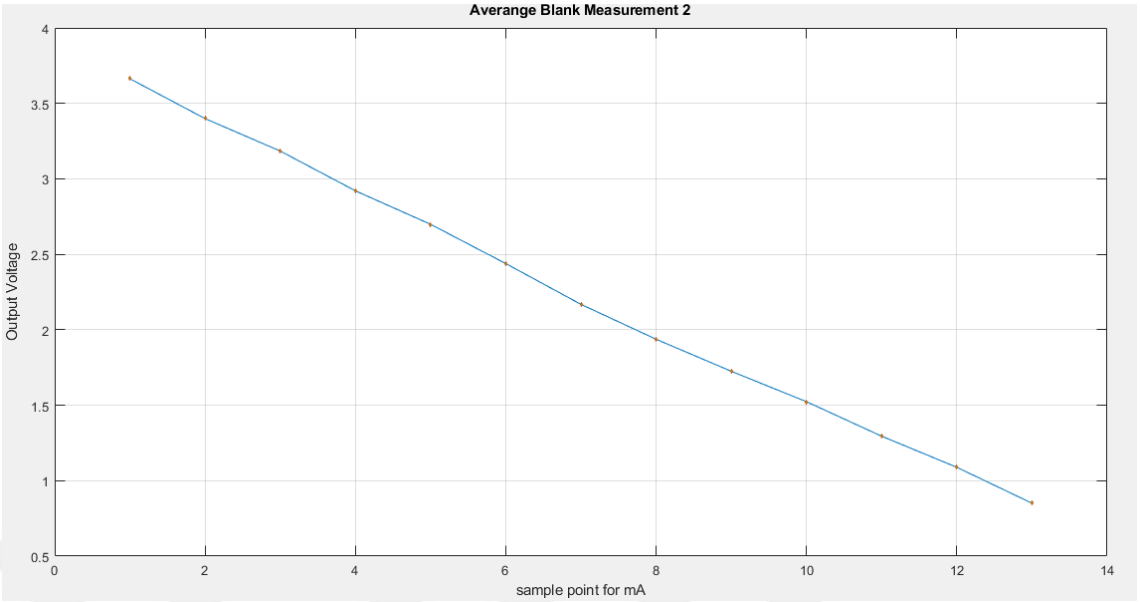


Şekil 2.3: Örnek deney verisi



Şekil 2.4: Sinyalde yerel maksimum ve minimum noktaların belirlenmesi

Pik analizi yapılan sinyalde her bir akıma karşılık gelen verilerin yerel maksimum ve yerel minimum noktalarının ortalaması almıştır. Ortalaması alınan deney verisinin örneği **Şekil 2.5**'deki gibidir.



Şekil 2.5: Ortalaması alınan verilerden elde edilen grafik

Bu ortalama değerler üzerinden elde edilen veriler sınıflandırma algoritmalarının veri girişi olarak kullanılacaktır.

2.2.8. Sınıflandırma Algoritmaları

Tezin bu aşamasında simüle semen içerisinde değerlendirilen FSH, testosteron için sınıflandırma grupları fertil ve infertil şeklinde yapılırken; sperm analizlerinde sperm sayılarına göre oligospermi, normospermi infertilite çeşidi ve pozitif, negatif kontrollerin ayrı kategori olarak kabul edildiği bir sınıflandırma yapılmıştır. Bu başlık altında değerlendirilen sınıflandırma algoritmaları veri seti için en yüksek doğruluk oranı veren algoritmalardır.

2.2.8.1. K En Yakın Komşu (KNN)

Örnek tabanlı makine öğrenmesi algoritmalarındandır. Örnek tabanlı öğrenme algoritmaları eğitim setindeki verilere göre değerlendirme işlemi yapar. Bu yüzden yeni karşılaşılan örnek, eğitim setinde yer alan örneklerle benzerliğine bakılarak değerlendirilir. Örneğin veri noktasına en yakın komşuya olan uzaklık durumuna göre değişen k değerinin dikkate alındığı bir sınıflandırma yöntemidir [120, 121].

2.2.8.2. Destek Vektör Makinaları (SVM)

Eğitimli bir öğrenme modeli olan DVM, farklı sınıfları ayırt etmek için en uygun hiper düzlemi bulur. Böylece farklı destek vektörleri arasındaki uzaklığın maksimum olması sağlanır. İki ya da daha çok sınıflı verilerin ayrılmasında doğrusal ve doğrusal olmama durumuna göre 2' ye ayrılır. Söz konusu algoritma dağılım fonksiyonundan bağımsız olup ikinci dereceden fonksiyonların optimizasyonunda sıklıkla kullanılır [122, 123].

2.2.8.3. Ensemble (Topluluk Öğrenimi) Algoritması

Topluluk öğrenimi, sınıflandırma için çeşitlilik sağlayan bir algoritmadır. Sağlanan bu çeşitlilik ile birden fazla sınıflandırma modeli oluşturularak tahmin edilecek sınıfın oylama ile karşılaştırılması sonucu oluşan sınıflandırma işlemidir. Topluluk öğrenimi, bagging (torbalama), boosting (yükseltme), stacking (yığma) ve voting (oylama) olmak üzere 4 farklı kategoride değerlendirilir [124].

2.2.9. Sınıflandırıcı Performansını Değerlendirme Kriterleri

Tezin bu kısmında sınıflandırıcı performansını değerlendirilirken sıklıkla kullanılan parametreler ve bunların formülleri yer almaktadır. Sınıflandırma işleminde elde edilen verilerin gösterilmesi ve tahmin edilmesi istenen verilerin gösterimi için karmaşıklık matrisi kullanılır [125].

Tablo 2.2: Karmaşıklık matrisi (ing: confusion matrix)

	Gerçek pozitif (1)	**Gerçek negatif (0)**
Tahmini pozitif (1)	TP	FP
Tahmini negatif (0)	FN	TN

- **Doğruluk:** Modelin başarısını veren parametredir. Aşağıdaki gibi hesaplanır.

  Doğruluk = $(TP + TN) / (TP + TN + FP + FN)$

  Hata Oranı (ERR) = 1 – ACC (ing. accuracy)

- **Duyarlılık:** Duyarlılık, gerçekten infertil olan örneklerin kaç tanesinin pozitif olarak tahmin edildiğini göstermektedir.

  Duyarlılık = TP / (TP + FN)

- **Özgünlük:** Fertil olan bireyleri tahmin etme başarısıdır.

  Özgüllük = TN / (TN + FP)

- **Kesinlik:** İnfertil olarak tahmin edilen örneklerin kaç tanesinin pozitif olduğu saptanmaktadır.

  Kesinlik = TP / (TP + FP)

- **F-Ölçüsü:** Kesinlik ve duyarlılık değerlendirme ölçütlerinin harmonik ortalamasıdır.

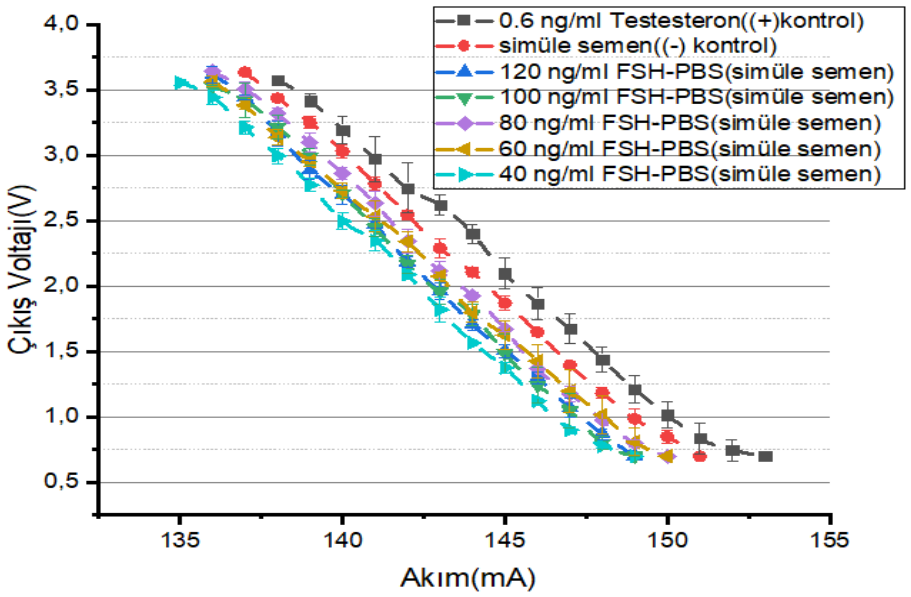
  F-Ölçüsü= 2∗(kesinlik∗duyarlılık) / (kesinlik+duyarlılık)

3. BÖLÜM

BULGULAR

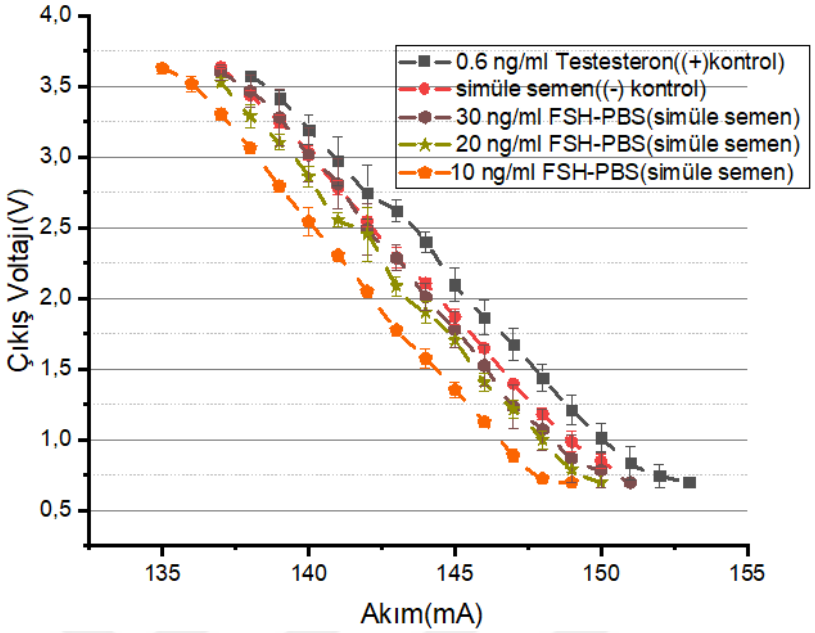
3.1 FSH Analiz Sonuçları

Pozitif kontrolün 0,6 ng/mL testosteron, negatif kontrolün ise simüle semenle yapıldığı FSH analizlerinde her bir konsantrasyon için 3'erli deney tekrarı yapılmıştır. **Şekil 3.1** de verilen grafikte infertil bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları şekildeki gibi çizdirildi.



Şekil 3.1: İnfertil bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları

Şekil 3.2 'de verilen grafikte fertil bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları şekildeki gibi çizdirildi.



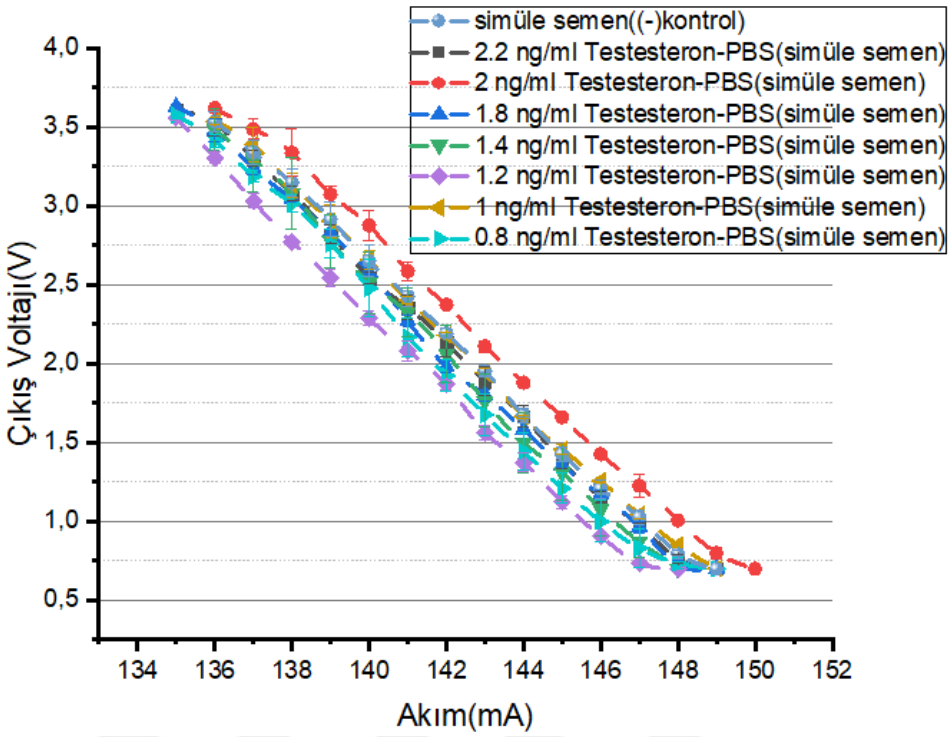
Şekil 3.2: Fertil bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları

134 mA ve 152 mA aralığından 1 mA artan adım aralığı ile uygulanan sürme akımı sonucunda; negatif kontrol olan simüle semen için elde edilen çıkış gerilimi 143 mA'de 2,29 V iken, en yüksek FSH konsantrasyonu olan 120 ng/mL FSH-simüle semen numunesinde aynı çıkış voltajına 142 mA sürme akımında ulaşılmıştır. Bunun sebebi artan termal etki ile tepe noktaların daha küçük dalga boyuna kaymasındandır.

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde infertil ve fertil bireylere ait konsantrasyonlar için her iki grubun kendi içinde farklılıklar gösterdiği belirlendi. Konsantrasyon miktarlarının ng/mL cinsinden olması bu farklılıkların küçük farklılıklar olabileceği düşüncesini oluşturabileceğinden elde edilen sonuçlar sınıflandırma işlemine tabi tutuldu.

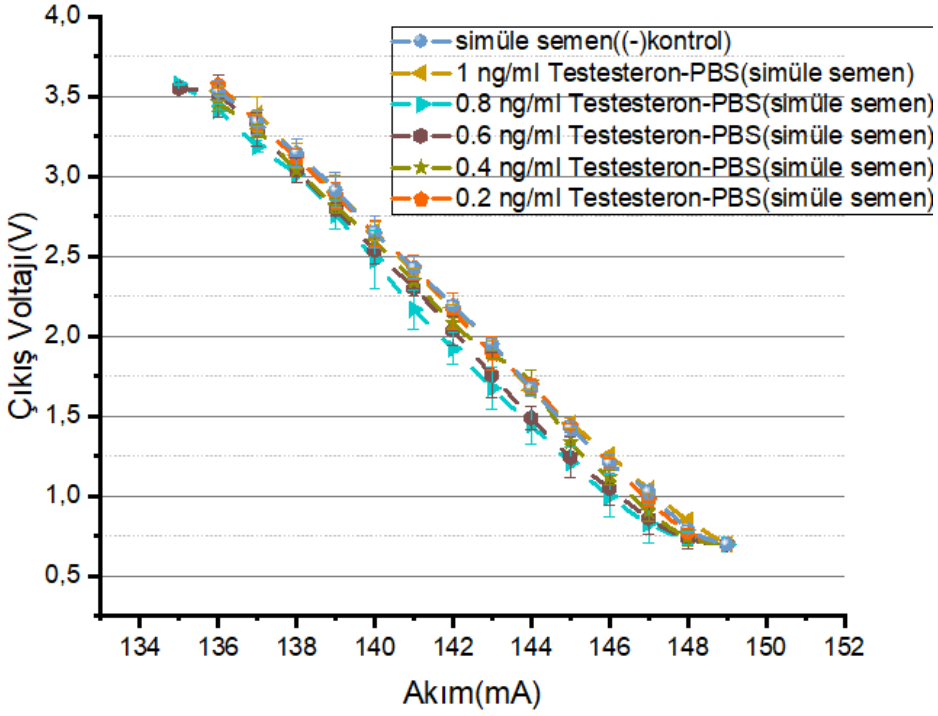
3.2 Testosteron Miktarı Analiz Sonuçları

Negatif kontrolün simüle semenle yapıldığı testosteron analizleri her bir konsantrasyonun 3'erli tekrarları şeklinde devam etmiştir. **Şekil 3.3 '**de verilen grafikte fertil bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları şekildeki gibi çizdirildi.



Şekil 3.3: Fertil bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları

Şekil 3.4 'de verilen grafikte infertil bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları şekildeki gibi çizdirildi.



Şekil 3.4: İnfertil bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları

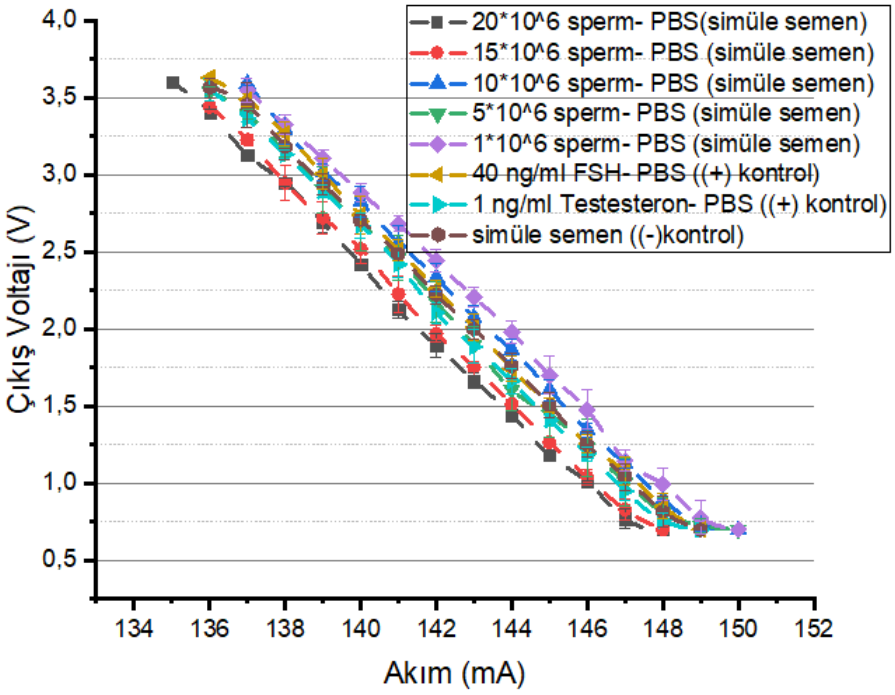
134 mA ve 152 mA aralığından 1 mA artan adım aralığı ile uygulanan sürme akımı sonucunda; negatif kontrol olan simüle semen için elde edilen çıkış gerilimi 143 mA'de 2 V iken, en yüksek testosteron konsantrasyonu olan 2,2 ng/mL testosteron-simüle semen numunesinde aynı çıkış voltajına 142 mA sürme akımında ulaşılmıştır. Bunun sebebi artan termal etki ile tepe noktalarının daha küçük dalga boyuna kaymasındandır.

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde infertil ve fertil bireylere ait konsantrasyonlar için her iki grubun kendi içinde farklılıklar gösterdiği belirlendi. Daha öncede bahsedildiği gibi 1 ng/mL ve 0,8 ng/mL ortak veri olarak değerlendirilmiştir. Konsantrasyon miktarlarının ng/mL cinsinden olması bu farklılıkların küçük farklılıklar olabileceği düşüncesini oluşturabileceğinden elde edilen sonuçlar sınıflandırma işlemine tabi tutuldu.

3.3 Sperm Sayısı Analiz Sonuçları

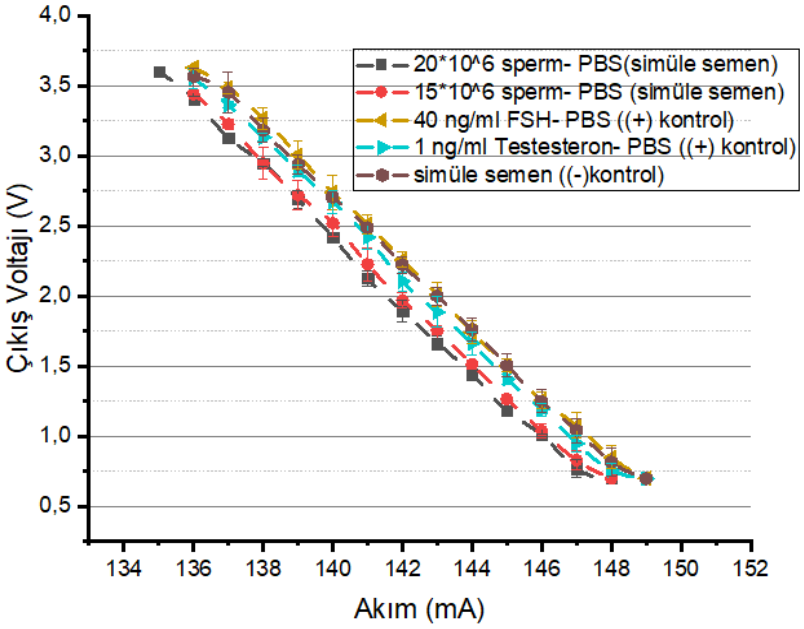
Pozitif kontrolün 1 ng/mL testosteron (50µL) ve 40 ng/mL FSH (50µL) ile negatif kontrolün ise simüle semenle yapıldığı sperm sayısı için yapılan analizlerde her bir konsantrasyon için 3'erli deney tekrarı yapılmıştır. İlk değerlendirme için 50µL simüle

semen, 50 µL sperm kullanılmıştır. **Şekil 3.5** 'de verilen grafikte sperm sayısına göre infertil tanısında kullanılan gruplar (normospermi, oligospermi, azospermi) için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları şekildeki gibi çizdirildi.



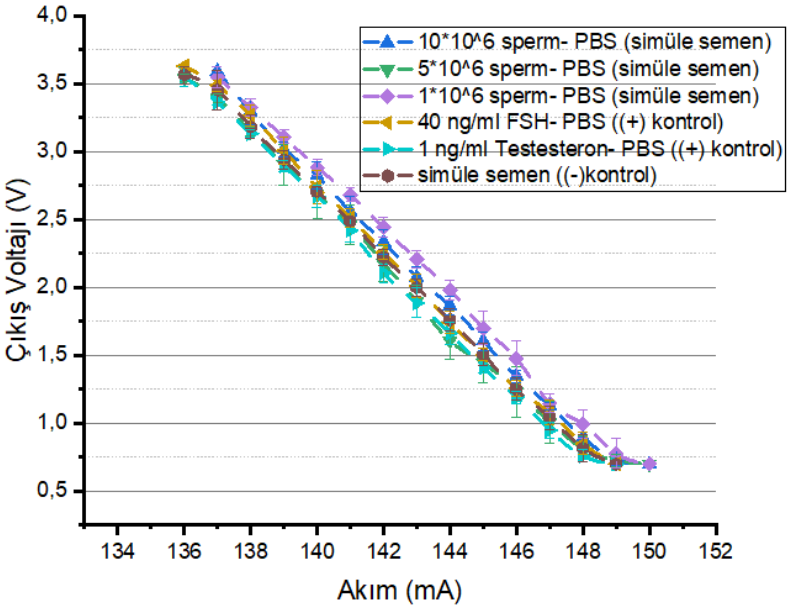
Şekil 3.5: İnfertil tanısında kullanılan gruplar için belirlenen tüm konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları

Şekil 3.6 'da verilen grafikte normospermi bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları şekildeki gibi çizdirildi.



Şekil 3.6: Normospermi bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları

Şekil 3.7' de verilen grafikte oligospermi bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları şekildeki gibi çizdirildi.



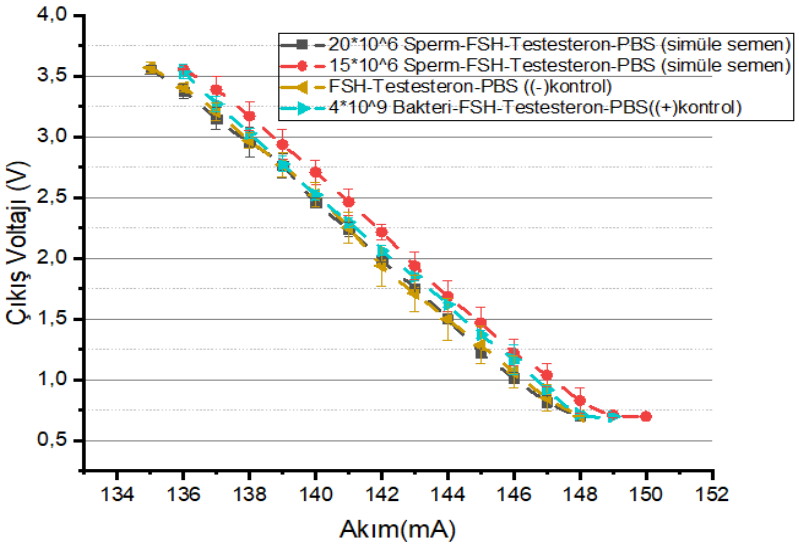
Şekil 3.7: Oligospermi bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları

134 mA ve 152 mA aralığından 1 mA artan adım aralığı ile uygulanan sürme akımı sonucunda; negatif kontrol olan simüle semen için elde edilen çıkış gerilimi 143 mA'de 2 V iken, en yüksek sperm konsantrasyonu olan $20x10^6$ sperm/mL- simüle semen numunesinde aynı çıkış voltajına 141 mA sürme akımında ulaşılmıştır. Bunun sebebi artan termal etki ile tepe noktalarının daha küçük dalga boyuna kaymasındandır.

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde sperm sayısı bakımından infertil bireylerin tanısında kullanılan konsantrasyon grupları kendi içinde farklılıklar göstermiştir. Daha sonra elde edilen sonuçlar sınıflandırma işlemine tabi tutulmuştur.

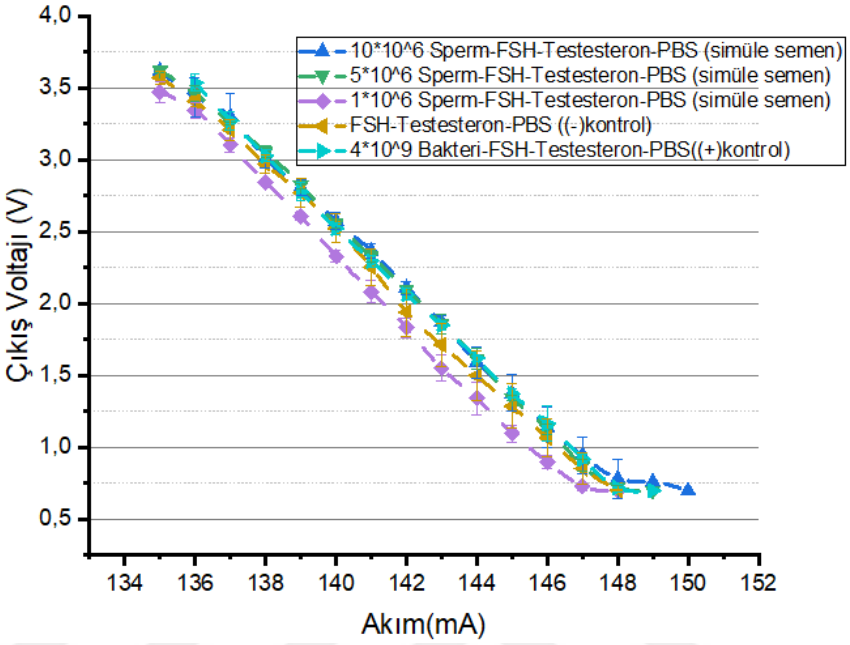
Sperm analizi için yapılan diğer bir değerlendirme ise pozitif kontrolün bakteri $4x10^9$ konsantrasyonlu *Bacillus clausii* bakterisi- (25µL)) ile negatif kontrolün ise FSH (25µL)- testosteron (25µL)- PBS (25µL)- simüle semenle (25µL) yapıldığı deneylerdir. Yapılan analizlerde her bir konsantrasyon için 3'erli deney tekrarı yapılmıştır. Sperm sayısına göre infertil tanısında kullanılan gruplar (normospermi, oligospermi, azospermi) için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları şekildeki gibi çizdirildi.

Şekil 3.8' de verilen grafikte normospermi bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları şekildeki gibi çizdirildi.



Şekil 3.8: Normospermi bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları

Şekil 3.9' da verilen grafikte oligospermi bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları şekildeki gibi çizdirildi.



Şekil 3.9: Oligospermi bireyler için belirlenen konsantrasyonların ortalama ve standart sapma sonuçları

134 mA ve 152 mA aralığından 1 mA artan adım aralığı ile uygulanan sürme akımı sonucunda; negatif kontrol olan simüle semen için elde edilen çıkış gerilimi 143 mA'de 1,75 V iken, en yüksek sperm konsantrasyonu olan $20x10^6$ sperm/mL- simüle semen-FSH-testosteron numunesinde aynı çıkış voltajına 142 mA sürme akımında ulaşılmıştır. Bunun sebebi artan termal etki ile tepe noktalarının daha küçük dalga boyuna kaymasındandır.

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde sperm sayısı bakımından infertil bireylerin tanısında kullanılan konsantrasyon grupları kendi içinde farklılıklar göstermiştir. Daha sonra elde edilen sonuçlar sınıflandırma işlemine tabi tutulmuştur.

3.4 Sınıflandırma sonuçları

Tezin bu aşamasında her bir analiz için MATLAB programı yardımıyla elde edilen sınıflandırma sonuçları verilecektir.

3.4.1 FSH Analizi İçin Sınıflandırma Sonuçları

FSH için yapılan pik analizi sonucu yerel maksimum ve minimum noktalarından oluşturulan veri setinin sınıflandırma sonuçları **Tablo3.1'** deki gibidir.

Tablo 3.1: FSH Analizi İçin Sınıflandırma Sonuçları

Sınıflandırma Yöntemi	Çapraz Doğrulama	Doğruluk oranı
Tree	%10	%95.7
Ensemble	%10	%95.7
SVM	%10	%95.7
KNN	%10	%97.9

3.4.2 Testosteron Analizi İçin Sınıflandırma Sonuçları

Testosteron için yapılan pik analizi sonucu elde edilen yerel maksimun ve minimun noktalardan veri seti oluşturulmuştur. Oluşturulan veri setleri için 3 farklı düzenleme yapılmıştır. Bu düzenlemeler sırasıyla 1ng/mL ve 0,8 ng/mL konsantrasyonlarının hem fertil hem infertil bireyler için uygulandığı veri seti, 1ng/mL ve 0,8 ng/mL konsantrasyonlarının sadece infertil gruplar için uygulandığı veri seti, 1 ng/mL ve 0,8 ng/mL konsantrasyonlarının sadece fertil gruplar için uygulandığı veri seti şeklindedir. Testosteron için oluşturulan veri setinin sınıflandırma sonuçları **Tablo 3.2'** deki gibidir.

Tablo 3.2: Testosteron Analizi İçin Sınıflandırma Sonuçları

Sınıflandırma Yöntemi	Çapraz Doğrulama	Doğruluk oranı
Tree (Ortak veri her iki gruplara dahil)	%10	%68,3
KNN (Ortak veri fertil gruplara dahil)	%10	%82,1
KNN (Ortak veri infertil gruplara dahil)	%10	%85,9

1ng/mL ve 0,8 ng/mL konsantrasyonlarının hem fertil hem infertil bireyler için uygulandığında; Karar ağacı algoritmasında doğruluk oranı %68,3 olarak bulunmuştur.

1ng/mL ve 0.8 ng/mL konsantrasyonlarının sadece fertil gruplar için uygulandığında; KNN algoritmasında doğruluk oranı %82,1 olarak bulunmuştur.

1ng/ml ve 0.8 ng/mL konsantrasyonlarının sadece infertil gruplar için uygulandığında; KNN algoritmasında doğruluk oranı %85,9 olarak bulunmuştur.

Elde edilen sonuçlarda 1ng/mL ve 0,8 ng/mL konsantrasyonlarının ortak veri olarak kullanılması beklenildiği gibi doğruluk oranını düşürmüştür.

3.4.3 Sperm Analizi İçin Sınıflandırma Sonuçları

Sperm analizi için yapılan pik analizinden elde edilen yerel maksimum ve minimum noktalarından oluşturulan veri setinin sınıflandırma sonuçları;

İlk değerlendirme için (50µL simüle semen, 50 µL sperm) ensemble algoritmasında doğruluk oranı %83,3 olarak bulunmuştur.

İkinci değerlendirme için ise (sperm(25µL)- testosteron (25µL)- PBS (25µL)- simüle semenl (25µL)) ensemble algoritmasında doğruluk oranı %88,9 olarak bulunmuştur.

4. BÖLÜM

TARTIŞMA-SONUÇ VE ÖNERİLER

4.1.Tartışma

Erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde kullanılan rutin yöntem semen analizidir. İnfertilitenin değerlendirilmesinde en temel işlem ejakulat (semen)om incelenmesidir. Bu işlem sonucunda infertiliteden süphelenilmesi hormonal bir değerlendirmeyi gerektirir. İnfertilite için belirlenen ilk kriterler 1970'li yıllarda WHO tarafından ortaya atılmıştır [126]. WHO tarafından belirlenen bu kriterler üzerinde yapılan güncellemeler evrensel hale gelmiştir. Semen analizi, kullanışlı ve kolay bir test olmasının yanı sıra erkek bireyin üreme sisteminin sağlıklı olup olmadığını ve sperm üretme kapasitesi hakkında bilgi verir. Buna rağmen semen analizinin kullanımı bazı sınırlamaları beraberinde getirir. Semenin değerlendirilmesinde uzman kişiye duyulan ihtiyaç ve özel ekipman gereksinimi en temel sınırlamalardandır. Sperm sayımı makler kamera, hemositometre (Thoma, Bürker Türk) ve birçok yöntem yardımıyla gerçekleştirilir [127]. Rutinde kullanılan bu cihazlar numune ön hazırlığına ihtiyaç duyar.

Erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde ihtiyaç duyulan diğer bir değerlendirme ise hormonal değerlendirmedir. Literatüre bakıldığında hormonal değerlendirme için sıklıkla kullanılan numune kan örneğidir. İnvaziv olarak alınan kandan elde edilen serum çoğu zaman can yakıcı olmakla beraber enfeksiyon riskininde yüksek olduğu bir yöntemdir. Hormonal değerlendirmede FSH, LH ve testosteron analizi spermatogenez için önemli belirteçlerdendir [51].

Günümüzde rutin yöntemlerin dışında semen analizine alternatif yöntemler aranmaktadır. Üzerinde çalışılan alternatif yöntemler arasında spektroskopik analiz bu tez için aranan yöntem olmuştur. Bu temelden yararlanılarak ortaya konulması amaçlanan optik sensör, mid-infrared bölgede absorbans bilgisi sağlamaktadır. Spektroskopik analizlerin

temelinde ışığın maddeyle olan ilişkisi değerlendirilir. Bu etkileşim sonucunda meydana gelen titreşim numune üzerinde soğurma oluşturarak numuneye özgü kimyasal bilgi sağlar. Böylelikle analiz edilecek numunenin tanımlanması ve sınıflandırılması daha mümkün hale gelir.

4.2.Sonuç ve Öneriler

Bu tez çalışmasında infertilite teşhisinin hızlı, kolay, güvenilir sonuçlar veren, numune ön hazırlığı gerektirmeyen, uzman kişi ve sisteme ihtiyaç duymayan, non-invaziv bir teknik oluşturulması amaçlandı. Elde edilen sonuçlar, infertil birey teşhisinde kullanılabilecek optik sensör kullanımını vaat etmektedir.

Tez çalışmamın geliştirilmesi adına yapılabilecek öneriler şu şekilde sıralanabilir;

- Akım sınırlayıcı devre için mikro işlem tabanlı bir sistem kurulabilir.
- Ölçüm esnasında her bir akım değerine karşılık gelen değerler bu sayede eşit olarak belirlenebilir.
- Lam-Lamel yerine infrared ışığa karşı daha geçirgen olan hücre yapıları kullanılabilir.
- Tasarımı açısından sistem daha küçültülebilir.
- Offset devresi çıkışının 10V ‘a kadar takip edebilmek için Arduino yerine farklı bir fiziksel programlama platformu kullanılabilir.
- Sinyal işleme ve sınıflandırmanın ortak uygulandığı entegre bir yazılım programı geliştirilebilir.
- Sınıflandırma algoritmaları geliştirilerek daha yüksek doğruluklar elde edilebilir.
- Sperm kalitesinin belirlenmesinde kullanılan morfoloji ve hareketliliğin takip edilmesi adına ek sistem ya da sistem tasarımı yapılabilir.

KAYNAKÇA

1. Agarwal, A., Mulgund, A., Hamada, A., Chyatte, M.R., 2015. A unique view on male infertility around the globe. **Reproductive biology and endocrinology : RB&E, 13** : 37-37.
2. Kumar, N.Singh, A.K., 2015. Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature. **Journal of human reproductive sciences, 8(4)** : 191-196.
3. Shukla, K.K., Mahdi, A.A., Rajender, S., 2012. Apoptosis, spermatogenesis and male infertility. **Frontiers in bioscience (Elite edition), 4** : 746-754.
4. SAĞLIĞI, E.Ü. Çevresel etkenler ve spermatogenez.
5. **http://www.biyolojidersim.com/gametogenez-1-spermatogenez/**.[cited 2019 04.11];
6. Baccio, B., 1986. Evolutionary trends in sperm structure. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology , 85(1)** : 29-36.
7. Garner, D.L., Hafez, E.S.E., 2016. Spermatozoa and Seminal Plasma, 96-109. Reproduction in Farm Animals.
8. Kahraman, D.S., 2008. Erkeklerde Kan Ve Seminal Plazmada Çinko, Bakır, Kurşun Ve Kadmiyum Düzeylerinin Sperm Parametreleri Üzerine Etkileri. Tıp Fakültesi, Tıpta Uzmanlık, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, T.C. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi.
9. Hancock, A.D., Kretser, D. M., 1992. The axonemal ultrastructure of spermatozoa from men with asthenospermia. **Fertility and Sterility, 57:** 661-664.
10. Hansson, V., Calandra, R., Purvis, K., Ritzen, M., French, F. S, 1976. Hormonal Regulation of Spermatogenesis. **Vitamins&Hormones, 34**: 187-214, 92a, 193-214.
11. Sulagna Dutta, P.S., Suriyani Muhamad, 2019. Male reproductive hormones and semen quality. **Asian Pac J Reprod, 8(5)** p: 189-194.
12. WC., F., 2015. World Health Organization (WHO) laboratory manual for the examination and processing of human semen. .
13. Erdemir, F., Fırat, F., Gençten, Y. Sperm morfolojisinin değerlendirilmesi ve klinik önemi. **Turk Urol Sem, 2**: 11-7.

14. Konk, D., 2019. İn Vitro Antioksidan Uygulamasının Sperm Fonksiyonları Üzerine Etkisi. Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans, T.C.Biruni Üniversitesi Sağlık Bilimleri Ensititüsü.
15. Kadıoğlu, A., Kendirci, M., Aktan, G., Yaman, Ö., Çayan, S., 2011. WHO Laboratuar El Kitabı. İnsan semeninin incelenmesi ve işlemlerden geçirilmesi. Türk Üroloji Derneği.
16. Geneva, S., 2010. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen 5 edition.
17. Kadıoğlu, T.C., Tellaloğlu, S., Semen Analysis. **Turkish Journal of Urology**. 115-221
18. Erimşah, S., Seçkin, İ., Uludağ, S., İrez, T., et al., 2008. Sperm Morfolojisi ve Kromatin Kondensasyon Defektleri Arasındaki Korelasyon. **Cerrahpaşa Tıp Dergisi, 39(4) :**128-135
19. van den Hoven, L., Hendriks, J.C.M., Verbeet, J.G.M., Westphal, J.R., 2015. Status of sperm morphology assessment: an evaluation of methodology and clinical value. **Fertility and Sterility, 103(1)** p: 53-58.
20. Menkveld, R., Holleboom, C.A.G., Rhemrev, J.P.T., 2011. Measurement and significance of sperm morphology. **Asian journal of andrology, 13(1)** p: 59-68.
21. Ombelet, W., Menkveld, R., Kruger, T.F., Steeno, O., 1995. Sperm morphology assessment: historical review in relation to fertility. **Hum Reprod Update, 1(6)** : 543-57.
22. 1–271". in *WHO Laboratuvar El Kitabı*, 2011. Türk Üroloji Derneği İstanbul Nobel Tıp Kitabevleri.
23. Rodriguez-Martinez, H., Kvist, U., Ernerudh, J., Sanz, L., et al., 2011. Seminal plasma proteins: what role do they play?. **Am J Reprod Immunol, 66(1)**:11-22.
24. Vitku, J., Kolatorova, L., Hampl, R., 2017. Occurrence and reproductive roles of hormones in seminal plasma. **Basic Clin Androl, 27** p: 19.
25. Souček, K., Slabáková, E., Ovesná, P., Malenovská, A., 2010. Growth/differentiation factor-15 is an abundant cytokine in human seminal plasma. **Human Reproduction, 25(12)** p: 2962-2971.
26. Walsh, P. C., Campbell, M. F., Retik, A. B., Study guide Campbell's urology 8th edition. Philadelphia,

27. Ross MH, P.W., 2014. 784–830". Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas, (Baykal B Ç.,) Editor: Palme Yayıncılık.

28. Aalberts, M., Stout, T.A., Stoorvogel, W., 2014. Prostasomes: extracellular vesicles from the prostate. **Reproduction, 147(1)** p: R1-14.

29. Zegers-Hochschild, F., Adamson, G.D., de Mouzon, J., Ishihara, O., 2009. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) revised glossary of ART terminology, **Fertil Steril, 92(5)**: 1520-4.

30. 2013. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. **Fertil Steril, 99(1)** : 63.

31. Ombelet, W., Cooke, I., Dyer, S., Serour, G., 2008. Infertility and the provision of infertility medical services in developing countries. **Human Reproduction Update, 14(6)** : 605-621.

32. Agarwal, A., Mulgund, A., Hamada, A., Chyatte, M.R., 2015. A unique view on male infertility around the globe. **Reprod Biol Endocrinol , 13(1)** : 37.

33. Inhorn, M.C., 2004. Middle Eastern Masculinities in the Age of New Reproductive Technologies: Male Infertility and Stigma in Egypt and Lebanon. **18(2)** : 162-182.

34. Lunenfeld, B., Van Steirteghem, A., 2004. Infertility in the third millennium: implications for the individual, family and society: Condensed Meeting Report from the Bertarelli Foundation's Second Global Conference. **Human Reproduction Update, 10(4)** : 317-326.

35. Rutstein, S. O., Iqbal H. S., 2004. Infecundity, infertility, and childlessness in developing countries. DHS Comparative Reports No. 9. Calverton, Maryland, USA: ORC Macro

36. World Health, O., 2010. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. World Health Organization: Geneva.

37. Agarwal, A., Mulgund, A., Hamada, A., Chyatte, M.R., 2015. A unique view on male infertility around the globe. **Reprod Biol Endocrinol, 13(1)** : 37.

38. World Health Organization., 2010. WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen.

39. Speroff, L.Fritz, M.A., 2005. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. lippincott Williams & wilkins.

40. Aitken, R.J., 2006. Sperm function tests and fertility. **29(1)** : 69-75.
41. Franken, D.R.Oehninger, S., 2012. Semen analysis and sperm function testing. **Asian journal of andrology, 14(1)** : 6-13.
42. Sigman, M.Zini, A., 2009. Semen Analysis and Sperm Function Assays: What Do They Mean?. **Semin Reprod Med, 27(02)** : 115-123.
43. Caraballo, M.K., Giroski, A.M., Sharma, R., Agarwal, A., 2019. Semen Analysis, 19-27". in *Male Infertility in Reproductive Medicine*. CRC Press.
44. Baskaran, S., Finelli, R., Agarwal, A., Henkel, R. Diagnostic value of routine semen analysis in clinical andrology. **Andrologia**, : e13614.
45. Comhaire, F.Vermeulen, L., 1995. Human semen analysis. **Human Reproduction Update, 1(4)** p: 343-362.
46. Kobayashi, H., Nagao, K., Nakajima, K., 2012. Focus Issue on Male Infertility. **Advances in Urology,** : 823582.
47. AbuFaza, M., Abdelazim, I.A., Osman, H.S., Alsharif, D.A., 2016. Evaluation of infertile men: Mini-review. **Asian Pacific Journal of Reproduction, 5(6)** p: 459-461.
48. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. 2015. Diagnostic evaluation of the infertile male: a committee opinion. **Fertility and Sterility, 103(3)** p: e18-e25.
49. Levalle, O., Zylbersztein, C., Aszpis, S., Aquilano, D., 1998. Recombinant human follicle-stimulating hormone administration increases testosterone production in men, possibly by a Sertoli cell-secreted nonsteroid factor. **83(11)** : 3973-3976.
50. Behre, H., Yeung, C., Holstein, A., Weinbauer, G., et al., 2001. Diagnosis of male infertility and hypogonadism, 89-124". in *Andrology*. Springer.
51. Simoni, M., Weinbauer, G.F., Gromoll, J., Nieschlag, E., 1999. Role of FSH in male gonadal function. **Ann Endocrinol (Paris), 60(2)** : 102-6.
52. Kumanov, P., Nandipati, K., Tomova, A., Agarwal, A.J.F., 2006. Inhibin B is a better marker of spermatogenesis than other hormones in the evaluation of male factor infertility. **86(2)** : 332-338.
53. Schoenfeld, C.Y., Amelar, R.D., Dubin, L., Numeroff, M., 1978. Follicle-Stimulating Hormone, Luteinizing Hormone, and Testosterone Levels Found in Human Seminal Plasma. Presented at the Ninth World Congress on Fertility and

Sterility and the Thirty-Third Annual Meeting of The American Fertility Society, April 12 to 16, 1977, Miami Beach, Fla. **Fertility and Sterility, 29(1)** : 69-71.

54. Bujan, L., Mieusset, R., Audran, F., Lumbroso, S., et al., 1993. Increased oestradiol level in seminal plasma in infertile men. **Human Reproduction, 8(1)** : 74-77.
55. Karpas, A.E., Matsumoto, A.M., Paulsen, C.A., Bremner, W.J., 1983. Elevated serum follicle-stimulating hormone levels in men with normal seminal fluid analyses. Supported by NIH grant P50-HD-12629 and by the Veterans Administration. **Fertility and Sterility, 39(3)** : 333-336.
56. Khalil, Z., Selman, M., A.L. Mossa, H., Al-Anbari, L., 2017. Relationship of FSH, LH, DHEA and Testosterone Levels in Seminal Plasma with Sperm Function Parameters in Infertile Men. **Merit Research Journal of Medicine and Medical Sciences, 5** : 627-634.
57. Abbaticchio, G.Giorgino, R., 1983. FSH and LH in human semen: a diagnostic trial for male infertility. **Arch Androl, 10(1)** : 85-9.
58. Naz, M.Kamal, M., 2017. Classification, causes, diagnosis and treatment of male infertility: a review. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine, 17(2)** : 89-109.
59. H., K., 2011. Sperm DNA Hasarı Tespit Yöntemleri. **Turk Urol Sem., 2** : 18-23.
60. Ribas-Maynou, J., García-Peiró, A., Fernández-Encinas, A., Abad, C., 2013. Comprehensive analysis of sperm DNA fragmentation by five different assays: TUNEL assay, SCSA, SCD test and alkaline and neutral Comet assay. **1(5)**: 715-722.
61. Ş., Y., 2019. Sperm DNA Fragmantation Analysis Methods in Infertile Couples for Assessing Genomic Instability. **İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu Dergisi, 7** p: 67-80.
62. Bieniek, J.M., Drabovich, A.P., Lo, K.C., 2016. Seminal biomarkers for the evaluation of male infertility. **Asian journal of andrology, 18(3)** p: 426-433.
63. Iammarrone, E., Balet, R., Lower, A.M., Gillott, C., 2003. Male infertility. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology, 17(2)** : 211-229.
64. Ferlin, A., Arredi, B., Foresta, C., 2006. Genetic causes of male infertility. **Reproductive Toxicology, 22(2)** : 133-141.

65. Asero, P., Calogero, A.E., Condorelli, R.A., Mongioi', L., 2014. Relevance of genetic investigation in male infertility. **Journal of Endocrinological Investigation, 37(5)** p: 415-427.
66. Kobori, Y., Pfanner, P., Prins, G.S., Niederberger, C., 2016. Novel device for male infertility screening with single-ball lens microscope and smartphone. **Fertility and Sterility, 106(3)** p: 574-578.
67. Kobori, Y., 2019. Home testing for male factor infertility: a review of current options. **Fertility and Sterility, 111(5)** p: 864-870.
68. Riordon, J., McCallum, C., Sinton, D., 2019. Deep learning for the classification of human sperm. **Computers in Biology and Medicine, 111** : 103342.
69. Lamb, D.J.Niederberger, C.S., 1993. Artificial intelligence in medicine and male infertility. **World Journal of Urology, 11(2)** p: 129-136.
70. Rong, G., Mendez, A., Bou Assi, E., Zhao, B., et al., 2020. Artificial Intelligence in Healthcare: Review and Prediction Case Studies. **Engineering, 6(3)** : 291-301.
71. Wang, Y., Riordon, J., Kong, T., Xu, Y., 2019. Prediction of DNA Integrity from Morphological Parameters Using a Single-Sperm DNA Fragmentation Index Assay. **Advanced Science, 6(15)** : 1900712.
72. Başarslan Ş., İ.S., Ekmekçioğlu O.,, 2017, 12-14 October Image Processing Assisted Sperm Analysis. 167-171. Medical Technologies National Congress (TIPTEKNO).
73. Gümüşçü, A.Tenekeci, M., 2018. Spermiogram Görüntülerinden Hareket Belirleme Yöntemleri ile Aktif Sperm Sayısının Tahmini. **Gazi Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi.**
74. Kashaninejad, N., Shiddiky, M.J.A., Nguyen, N.T., 2018. Advances in Microfluidics-Based Assisted Reproductive Technology: From Sperm Sorter to Reproductive System-on-a-Chip. **Advanced Biosystems, 2(3)** p: 1700197.
75. Kanakasabapathy, M.K., Sadasivam, M., Singh, A., Preston, C., et al., 2017. An automated smartphone-based diagnostic assay for point-of-care semen analysis. **Science translational medicine, 9(382)** : eaai7863.
76. McCormack, M.C., McCallum, S., Behr, B., 2006. A Novel Microfluidic Device for Male Subfertility Screening. **The Journal of Urology, 175(6)** : 2223-2227.

77. Ha, S., Ju, J., Ahn, Y., Hwang, S., 2007. Separation type multiplex PCR chip for detecting male infertility. 344-345. in 2007 Digest of papers Microprocesses and Nanotechnology.

78. Başaran, E., Aras, S., Cansaran-duman, D., 2010. General Outlook and Applications of Genomics, Proteomics and Metabolomics. **Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi**, **67(2)** : 85-96.

79. Mehrparavar, B., Minai-Tehrani, A., Arjmand, B., Gilany, K., 2019. Metabolomics of Male Infertility: A New Tool for Diagnostic Tests. **Journal of reproduction & infertility, 20(2)** : 64-69.

80. Sun, Z., Wu, S., Ma, J., Shi, H., 2019. Colorimetric Sensor Array for Human Semen Identification Designed by Coupling Zirconium Metal–Organic Frameworks with DNA-Modified Gold Nanoparticles. **ACS Applied Materials & Interfaces, 11(40)** : 36316-36323.

81. Martinez, A.W., Phillips, S.T., Butte, M.J., Whitesides, G.M., 2007. Patterned Paper as a Platform for Inexpensive, Low-Volume, Portable Bioassays. **Angewandte Chemie International Edition, 46(8)** : 1318-1320.

82. Gong, M.M.Sinton, D., 2017. Turning the Page: Advancing Paper-Based Microfluidics for Broad Diagnostic Application. **Chemical Reviews, 117(12)** : 8447-8480.

83. Nosrati, R., Gong, M.M., San Gabriel, M.C., Pedraza, C.E., 2016. Paper-Based Quantification of Male Fertility Potential. **Clinical Chemistry, 62(3)** : 458-465.

84. Hansen, K.M.Thundat, T., 2005. Microcantilever biosensors. **Methods, 37(1)**: 57-64.

85. Wu, S., Zhang, Z., Zhou, X., Liu, H., 2017. Nanomechanical sensors for direct and rapid characterization of sperm motility based on nanoscale vibrations. **Nanoscale, 9(46)** p: 18258-18267.

86. **https://muhendistan.com/elektromanyetik-radyasyon-nedir/**

87. Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A., Kiliç, E., 2000. Enstrümantal analiz ilkeleri. Ankara: Bilim Yayıncılık.

88. Bunaciu, A.A., Aboul-Enein, H.Y., Fleschin, Ş., 2015. Vibrational Spectroscopy in Clinical Analysis. **Applied Spectroscopy Reviews, 50(2)** : 176-191.

89. Zude, M., 2008. Optical monitoring of fresh and processed agricultural crops. CRC press.

90. Bunaciu, A.A., Fleschin, Ş., Hoang, V.D., Aboul-Enein, H.Y., 2017. Vibrational Spectroscopy in Body Fluids Analysis. **Critical Reviews in Analytical Chemistry, 47(1)** : 67-75.

91. Stuart, B.H., 1997. Biological applications of infrared spectroscopy.

92. Stuart, B., 2000. Infrared Spectroscopy, in *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*.

93. Venyaminov, S.Y.Prendergast, F.G., 1997. Water (H2O and D2O) Molar Absorptivity in the 1000–4000 cm^{-1} Range and Quantitative Infrared Spectroscopy of Aqueous Solutions. **Analytical Biochemistry, 248(2)** : 234-245.

94. Wang, H.S., Lu, F., Zhai, H.J., 2007. A method to collect an infrared spectrum in solution. **Analytical sciences : the international journal of the Japan Society for Analytical Chemistry, 23(7)** : 869-870.

95. De Bruyne, S., Speeckaert, M.M., Delanghe, J.R., 2018. Applications of mid-infrared spectroscopy in the clinical laboratory setting. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, 55(1)** : 1-20.

96. Dubois, J.Shaw, R.A., 2004. Peer Reviewed: IR Spectroscopy in Clinical and Diagnostic Applications.

97. Grdadolnik, J., 2002. ATR-FTIR spectroscopy: Its advantages and limitations. **Acta Chimica Slovenica, 49** : 631-642.

98. Falk, M., Ford T.A, 1966. Infrared spectrum and structure of liquid water. **44(14) Canadian Journal of Chemistry,** : 1699-1707.

99. Freda, M., Piluso, A., Santucci, A., Sassi, P., 2005. Transmittance Fourier transform infrared spectra of liquid water in the whole mid-infrared region: temperature dependence and structural analysis. **Appl Spectrosc, 59(9)**: 1155-9.

100. Haas, J.Mizaikoff, B., 2016. Advances in Mid-Infrared Spectroscopy for Chemical Analysis. **9(1)** p: 45-68.

101. Fox, G., 2020. The Brewing Industry and the Opportunities for Real-Time Quality Analysis Using Infrared Spectroscopy. **Applied Sciences, 10**.

102. Beć, K.B., Grabska, J., Huck, C.W., 2020. Biomolecular and bioanalytical applications of infrared spectroscopy – A review. **Analytica Chimica Acta, 1133** : 150-177.

103. Ayvaz M., 2014. LaboratuvarTekniği. **https://docplayer.biz.tr/1287065-Laboratuvar-teknigi-adnan-menderes-universitesi-tarimsal-biyoteknoloji-bolumu-tby-118-muavviz-ayvaz-yrd-doc-dr-9-hafta-11-04.html**

104. T.M.E.Bakanlığı, 2012. Kimya Teknolojisi-Spektofotometre. **http://www.megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/Spektrofotometre.pdf**

105. Abbas, O., Pissard, A., Baeten, V., 2020. 3 - Near-infrared, mid-infrared, and Raman spectroscopy, 77-134". in Chemical Analysis of Food (Second Edition), Pico Y., Editor., Academic Press.

106. Beşergil, B., Enstrümantal Analiz, Cihazlar, FTIR, IR Uygulamalar. **https://docplayer.biz.tr/3825803-Enstrumantal-analiz-cihazlar-ftir-ir-uygulamalar.html**; 8.1:GİRİŞ

107. Wang, L.Mizaikoff, B., 2008. Application of multivariate data-analysis techniques to biomedical diagnostics based on mid-infrared spectroscopy. **Analytical and Bioanalytical Chemistry, 391(5)** p: 1641-1654.

108. Minai-Tehrani, A., Jafarzadeh, N., Gilany, K., 2016. Metabolomics: a state-of-the-art technology for better understanding of male infertility. **Andrologia, 48(6)** : 609-616.

109. Abramovich, A.Shulzinger, A., 2015. Diagnostic and Analysis of Human Sperm Characteristics Using Fourier Transform Infrared Spectroscopy. **Open Journal of Urology, 5(6)** : 97.

110. Gilany, K., Pouracil, R.S.M., Sadeghi, M.R., 2014. Fourier transform infrared spectroscopy: a potential technique for noninvasive detection of spermatogenesis. **Avicenna journal of medical biotechnology, 6(1)** : 47-52.

111. Hackshaw, K.V., Miller, J.S., Aykas, D.P., Rodriguez-Saona, L.J.M., 2020. Vibrational Spectroscopy for Identification of Metabolites in Biologic Samples. **25(20)** : 4725.

112. Boyer, T.H., 2018. Blackbody radiation in classical physics: A historical perspective. **American Journal of Physics, 86(7)** : 495-509.

113. Owen, D.H.Katz, D.F., 2005. A Review of the Physical and Chemical Properties of Human Semen and the Formulation of a Semen Simulant. **26(4)** : 459-469.

114. Walker, W.H., 2011. Testosterone signaling and the regulation of spermatogenesis. **Spermatogenesis, 1(2)** : 116-120.

115. Moreno-Escallon, B., Ridley, A.J., Wu, C.H., Blasco, L., 1982. Hormones in seminal plasma. **Arch Androl, 9(2)** : 127-34.

116. Mićić, S., Dotlić, R., Ilić, V., Genbaćev, O., 1986. Seminal plasma hormone profile in infertile men with and without varicocele. **Arch Androl, 17(3)** : 173-8.

117. Krausz, C., 2011. Male infertility: Pathogenesis and clinical diagnosis. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, 25(2)** : 271-285.

118. Ventzas, D.Petrellis, N., 2011. Peak Searching Algorithms and Applications. Proceedings of the IASTED International Conference on Signal and Image Processing and Applications, SIPA 2011.

119. Scholkmann, F., Boss, J., Wolf, M., 2012. An Efficient Algorithm for Automatic Peak Detection in Noisy Periodic and Quasi-Periodic Signals. **Algorithms, 5** : 588-603.

120. Küçük, H., Tepe, C., 2013. Classification of emg signals by k-nearest neighbor algorithm and support vector machine methods. 1-4. *2013 21st Signal Processing and Communications Applications Conference (SIU)*.

121. Tasci, E.Onan, A., 2017. K-en yakın komşu algoritması parametrelerinin sınıflandırma performansı üzerine etkisinin incelenmesi. **Akademik Bilişim,** 1-8

122. Abdalla, S.Erdoğmuş, Ş., 2014. Destek vektör makineleriyle sınıflandırma problemlerinin çözümü için çekirdek fonksiyonu seçimi. **Eskişehir osmangazi üniversitesi iktisadi idari bilimler fakültesi dergisi, 9** : 175-198.

123. Mutlu, A.Y.Kılıç, V., 2018. Machine learning based smartphone spectrometer for harmful dyes detection in water. 1-4". in *2018 26th Signal Processing and Communications Applications Conference (SIU)*.

124. Yildirim, P., Birant, K.U., Radevski, V., Kut, A., et al., 2018. Comparative analysis of ensemble learning methods for signal classification. 1-4. in *2018 26th Signal Processing and Communications Applications Conference (SIU)*.

125. Kaynar, O., Görmez, Y., Yildiz, M., Albayrak, A., 2016. Makine Öğrenmesi Yöntemleri ile Duygu Analizi - Sentiment Analysis with Machine Learning Techniques. 17-18. In *International Artificial Intelligence and Data Processing Symposium (IDAP'16).*

126. Wang, C.Swerdloff, R.S., 2014. Limitations of semen analysis as a test of male fertility and anticipated needs from newer tests. **Fertility and Sterility, 102(6)** : 1502-1507.

127. Christensen, P., Stryhn, H., Hansen, C., 2005. Discrepancies in the determination of sperm concentration using Bürker-Türk, Thoma and Makler counting chambers. **Theriogenology, 63(4)** : 992-1003.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Melis TOKMAK
Uyruğu: Türkiye (T.C)
Doğum Tarihi ve Yeri:
Medeni Durum:
e-mail:
Yazışma Adresi:

EĞİTİM

Derece	**Kurum**	**Mezuniyet Tarihi**
Yüksek Lisans	Erciyes Üniversitesi-Biyomedikal Mühendisliği	2018-2021
Lisans	Erciyes Üniversitesi-Biyomedikal Mühendisliği	2011-2016
Lise	Perşembe Anadolu Lisesi	2007-2011

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	**Kurum**	**Görev**
2018-Halen	Erciyes Üniversitesi-Biyomedikal Mühendisliği	Arş. Gör.

YABANCI DİL

İngilizce- YÖKDİL:75

YAYINLAR

1. Tokmak, M., Soylu, M. Ç., & Ülgen, A., (2020). International Eurasian Conference on Biotechnology and Biochemistry (BioTechBioChem 2020) (pp.124). Ankara, Turkey

2. Keskin, M., Soylu, M. Ç., & Yiğiter, H., (2019). Gıdada Kalite Analizi için Elektro-Optik Sensör Uygulamaları. 4.İnternational Conference on Materials Science and Technology (pp.905). Ankara, Turkey

3. SOYLU, M. Ç., KÖŞKER, F. B., KESKİN, M., KESER, K., & CERAN, K., (2018). Biyosensör Uygulamaları için 3-Mercaptopropyltrimethoxysilane Tabanlı Kaplama Yöntemlerinin İncelenmesi. Tıp Teknolojileri Ulusal Kongresi (pp.253-256). Lefkoşa, Turkey

4. SOYLU, M. Ç., KESKİN, M., KESER, K., CERAN, K., & KÖŞKER, F. B., (2018). Kuvars kristal mikroterazi ile genetik tespitte yüzey kaplama etkisi. International Eurasian Conference on Science, Engineering and Technology (pp.2). Ankara, Turkey

5. SOYLU, M. Ç., KESKİN, M., KESER, K., CERAN, K., AKYOL, M., AKAR, A. S., ... ŞAHİN, H. (2018). Basit bir biyosensör tasarımı piezo disk element. International Eurasian Conference on Science, Engineering and Technology (pp.1). Ankara, Turkey