

ZİHİNSEL STRESİN SEMİNAL MDA VE SEMEN PARAMETRELERİ ÜZERİNE ETKİSİ

THE EFFECT OF MENTAL STRESS ON SEMINAL MDA AND SEMEN PARAMETERS

A. Serdar GÖZEN*, Sevgi ESKİOCAK**, A. Serkan KILIÇ*, Sabahat MOLLA***

* Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı, EDİRNE

** Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, EDİRNE

*** Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı, EDİRNE

ABSTRACT

Introduction: The prevalence of unexplained infertility is 15% among all infertility cases and mental distress has been suggested as a cause of it. Emotional stress can cause some abnormalities in semen parameters, although the basic biochemical principles of the relationship between mental stress and semen parameters are poorly understood. Recently there is emerging interest in reactive oxygen species (ROS) with respect of their unfavorable effect on fertility as a result of lipid peroxidation. In this study, the effects of mental stress on the Malondialdehyde (MDA) levels, an indirect indicator of lipid peroxidation and semen parameters were investigated.

Materials and Methods: Semen samples were collected from 36 healthy volunteer students of the fourth semester of the medical school just before (stress period) and 3 months after (non-stress period) the final examinations by masturbation. Psychological stress of the participants was measured with the State Trait Anxiety Inventory. After standard semen analysis, MDA activity was measured in the seminal plasma. The data of the stress and non-stress periods were compared via paired samples t test. Correlation analysis between MDA levels and sperm parameters was made for both stress and non-stress periods. A value of p less than 0.05 was considered statistically significant. Correlations between MDA levels and sperm parameters also were examined by Pearson Correlation test. A value of p less than 0.05 was considered statistically significant.

Results: During the stress period, stress scores were higher compared with the non-stress period (43.61±10.71 vs. 37.67±9.61). Our data showed that, sperm count, percentage of progressive motility and percentage of normal morphology significantly decreased during the stress period. Seminal plasma MDA levels were significantly higher during the stress period compared with the non-stress period (50.19±48.22 vs. 16.19±22.59 nmol/10⁹ spermatozoa). There was a positive correlation between seminal plasma MDA levels and percentage immobility at ½ and 2nd hours at the stress period. And seminal plasma MDA level was found to correlate negatively with the percentage normal morphology and total sperm count.

Conclusion: Our results indicate that mental stress can cause an unfavorable effect on semen parameters. Increased seminal plasma MDA levels at stress period may be a result of overproduction of ROS in semen. We would suggest that stress may cause oxidative stress in semen and in this way it could be responsible for male subfertility. We think that this subject deserves further studies.

Key words: Mental stress, seminal plasma MDA, semen parameters

ÖZET

İnfertilite olgularının %15'i bilinmeyen nedenlerden kaynaklanmaktadır. Bu nedenlerden birinin zihinsel stres olduğu ileri sürülmektedir. Zihinsel stresin sperm parametrelerine olumsuz etkileri olduğu bildirilmektedir; ancak bunun biyokimyasal temelleri tam olarak aydınlatılamamıştır. Son yıllarda fertilité potansiyeliyle ilgili sperm membran lipid peroksidasyonuna yol açan serbest oksijen radikalleri (SOR) üzerine ilgi artmıştır. Çalışmamızda zihinsel stresin seminal plazmada lipid peroksidasyonu son ürünlerinden birisi olan Malondialdehid (MDA) ve seminal parametreler üzerine etkisini birlikte değerlendirmeyi amaçladık.

Tıp Fakültesi 2. sınıfa devam eden gönüllü 36 erkek öğrenci çalışmaya alındı. Öğrencilerden final sınavları döneminde ve 3 aylık yaz tatillerinin bitiminde ortalama 3 günlük cinsel perhizin arkasından masturbasyon yöntemi ile semen örnekleri elde edildi. Aynı dönemlerde katılımcıların stres düzeyini belirlemek için Spielberg anksiyete ölçeği uygulandı. Standart semen analizinin ardından seminal plazmalarda MDA aktiviteleri ölçüldü. Stres ve non-stres dönemlerinde MDA ile sperm parametreleri korelasyon analizleri yapıldı. Bağımlı değişkenlerde t testi uygulanarak sonuçlar istatistiksel olarak değerlendirildi ve p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi. Seminal MDA düzeyleri ve sperm parametreleri arasındaki korelasyon Pearson korelasyon testi ile değerlendirildi ve p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

Dergiye Geliş Tarihi: 28.01.2005

Yayına Kabul Tarihi: 12.08.2005 (Düzeltilmiş hali ile)

Stres skoru sınav döneminde tatil sonrası döneme göre anlamlı derecede yüksek bulundu (43.61 ± 10.71 ve 37.67 ± 9.61). Sperm konsantrasyonunun, ileri hızlı hareketli sperm yüzdesinin ve normal sperm morfolojisi yüzdesinin stres döneminde azalmış olduğu görüldü. Seminal plazmada oksidatif stres göstergesi olan MDA düzeyinin sınav döneminde, tatil dönüşündekine göre anlamlı olarak daha yüksek olduğu saptandı (50.19 ± 48.22 ve 16.19 ± 22.59 nmol/10⁹ spermatazoa). Stres dönemindeki MDA seviyesinin, hem ½ hem de 2. saatteki immotil sperm yüzdesi ile pozitif korelasyonda olduğu buna karşın normal morfoloji ve sperm yoğunluğu ile negatif bir korelasyon gösterdiği görüldü.

Bulgularımız; zihinsel stresin semen parametrelerini olumsuz etkilediğini, stres döneminde seminal plazma MDA düzeyinde artışın semende SOR'nin aşırı üretilmesinden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Sınav stresinin oksidatif stres oluşturabileceği ve bu yolla olası bir subfertilite nedeni olabileceğini düşünülebilir. Bu konuda daha ayrıntılı çalışmaların yapılması gerektiği kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: Zihinsel stres, seminal plazma MDA, semen parametreleri

GİRİŞ

Günümüzde hızlı sanayileşme, değişen yaşam koşulları, çevre kirliliği, olumsuz iş koşulları insanlar üzerinde stres oluşturmakta ve çeşitli hastalıkların ortaya çıkışında rol oynayabilmektedirler. İnfertilite problemlerinin %38'inin kadın, %20'sinin erkek, %27'sinin her iki cinse bağlı nedenlerden ve geri kalan %15'inin de bilinmeyen sebeplerden (idiyopatik) olduğu, bilinmeyen nedenlerin büyük bir bölümünün ise zihinsel stresle ilişkili olduğu ileri sürülmektedir^{1,2}. Akademik kaygıların ve sınavların zihinsel strese yol açtığı bildirilmektedir. Supe, tıp fakültesi öğrencilerinin yüksek stres düzeyine sahip olduklarını bildirmiştir³. Ahane-ku ve ark.⁴ tıp fakültesi öğrencilerinde final sınavları sırasında serum HDL kolesterol seviyesinin ve HDL-C/total kolesterol oranının koroner arter hastalığı açısından risk oluşturacak ölçüde değiştiğini bildirmişlerdir. Ülkemizde de tıp eğitimi yoğun çalışmayı gerektirmekte ve özellikle dönem bitirme sınavları döneminde öğrencilerin streslerinin daha da arttığı düşünülmektedir. Daha önceki çalışmalarda sperm konsantrasyonu, sperm hücrelerinin hareketliliği ve morfolojisi gibi semen kalitesi ile ilişkili çeşitli semen parametreleri üzerine stresin olumsuz etkileri olduğu bildirilmiştir⁵⁻⁸. Yapısal olarak normal, hareketli ve yeterli sayıdaki sperm-ler döllenmeyi sağlayabildiği için semen kalitesinin azalması fertilitenin azalmasına yol açmaktadır. Hareketli sperm-lerden özellikle ileri hızlı hareketli (a kategori) olanları fertilitate açısından önem taşımaktadırlar⁹. Yardımcı üreme yöntemleri kullanılan hastalarda da düşük sperm sayısından çok düşük motilite oranı sıklıkla infertilite nedeni olarak bildirilmektedir¹⁰.

Son yıllarda serbest oksijen radikallerinin (SOR) fertilitate potansiyeline olan etkisine ilgi artmıştır. İnfertil erkeklerin yaklaşık %25-40'ında se-

minal SOR üretiminde artış olduğu saptanmıştır^{11,12}. Özellikle süperoksid radikali (O₂⁻), hidrojen peroksit (H₂O₂), hipoklorid ve hidroksil radikali (OH) spermatazoada ve semendeki lökositlerde üretilmekte ve özellikle doymamış yağ asidinden zengin olduğu için SOR etkisine çok hassas olan sperm hücre lipid membranında lipid peroksidasyonuna (LPO) ve böylelikle hücresel hasara yol açmaktadır¹³.

SOR'ler sperm metabolizma, morfoloji ve motilite bozukluklarına, sonuçta bozulmuş sperm fonksiyonu ve infertiliteye yol açabilmektedirler^{14,15}. Oksidatif stresin sperm genomu bütünlüğü üzerine olumsuz etkileri olduğu, yüksek frekanslarda tek ve çift sarmallı zincir kırığı şeklinde DNA hasarı ile hücre ölümüne neden olabileceği de bildirilmiştir^{15,16}.

Birçok yazar motil sperm oranı ile LPO potansiyelinin ters orantılı olduğu bildirilmektedir^{17,18}. Semendeki a kategori sperm-lerin LPO oluşumuna katkısı olmadığı saptanmıştır. A kategori sperm-lerin hücresel savunma sistemlerinin bu hücreleri SOR'e karşı koruduğu düşünülmektedir. Kademeli analizlerde sadece immotil (d kategori) sperm-lerin LPO oluşturmada rolü olduğu gösterilmiştir¹⁹.

Lipid peroksidasyon son ürünlerinden olan Malondialdehid (MDA) ve 4-hidroksinonenal; reaktif aldehid ürünleri olup bunlardan MDA'nın daha toksik olduğu bildirilmektedir²⁰.

Spermatazoalardan kontrol edilebilir düzeydeki SOR oluşumu fizyolojik bir proses iken, ileri derecede SOR oluşumu SOR ile antioksidan koruyucu mekanizmalar arasındaki dengenin bozulmasına ve hücre hasarına yol açabilmektedir²¹.

Daha önceki çalışmaların çoğunun infertil ve bu nedenle tedavi uygulanan olgularda yapılmış olduğu dikkat çekmektedir. Boivin ve ark'nın bildirdiği gibi infertilitenin kendisi ve tedavisi önemli bir stres faktörü olduğundan bu çalışmalarda infertilitenin mi stres yarattığı yada stresin mi infertiliteye neden olduğu tartışmalıdır²². Çalışmamızda stres faktörü olan ve bir klinik tanısı olmayan bir grupta, katılımcıların stres düzeylerini ölçerek; zihinsel stresin seminal plazmadaki lipid peroksidasyonu son ürünlerinden birisi olan MDA ve seminal parametreler üzerine etkisini birlikte değerlendirdik. Böylece zihinsel stres nedenli olası bir artmış oksidatif stresin infertiliteye neden olabileceğini ortaya koymayı amaçladık.

GEREÇ ve YÖNTEM

Olgu Seçimi ve Örneklem zamanları

Çalışma protokolü için yerel etik kuruldan ve çalışmaya katılanlardan onay alındı. Tıp fakültesi 2. sınıfa devam eden 64 erkek öğrenciden gönüllü 43 öğrenci çalışmaya katıldı. Şeker hastalığı, böbrek veya karaciğer hastalığı olmak, son 1 ay içinde enfeksiyon hastalığı geçirmek, analjezik, vitamin, kortizol ilaçlarını kullanmak, son bir yıl içerisinde ek bir ağır stres faktörüne sahip olmak (yakın akraba kaybı, ağır hastalık gibi), fizik muayenede ürolojik patoloji saptanması (varikosel, inmemiş testis) ve ağır sigara içicisi olmak (>1paket/gün) çalışmaya alınmama kriterleri olarak belirlendi. Bu kriterlere göre 4 öğrenci çalışmaya kabul edilmedi. Semen analizlerinde Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterlerine göre sperm sayısı normalin altında (<20x10⁶/ml) olan 2 öğrenci ve seminal lökosit sayısı anormal olan (>10⁶/ml) 1 öğrenci de çalışma dışı bırakıldı²³. Çalışmaya alınan 36 öğrenciden (20.17±1.00 yaşında) final sınavları döneminde ve yaz tatillerinin bitiminde (10.11±0.76 hafta sonra) ortalama 3 günlük (2-4 gün) cinsel perhiz sonrası mastürbasyon yöntemi ile klinikte semen örnekleri elde edildi.

Semen Analizi

1 saat 37°C'de likefaksiyondan sonra standart semen analizi 2 ayrı gözlemci tarafından karşılıklı kontrol edilerek DSÖ kriterlerine göre gerçekleştirildi²³. Semen volümleri, sperm konsantrasyonları, sperm hücrelerinin hareket özelliği ve morfolojileri belirlendi. Sperm hücrelerinin hareketliliği ileri hızlı (a), ileri yavaş (b), yerinde hareketli (c) ve hareketsiz (d) olmak üzere 4 kategoride değerlendirildi.

rildi ve toplamın yüzdesi olarak ifade edildi. Hareketli ve hareketsiz kategorileri ayırt etmek amacıyla hareketlilik ayrıca a+b ve c+d hareketlilik olarak da hesaplanıldı. Semende ml'deki lökosit sayısı Neubauer sayma kamarası ile (sperm sayımı ile eşzamanlı olarak) saptandı ve normal (<1 milyon/ml) sayıda olanlar çalışmaya dahil edildi. *Diff-Quick* boyama ile sperm hücre morfolojileri değerlendirildi ve normal ve anormal formlar yüzde olarak not edildi.

Stres Düzeyinin Değerlendirmesi

Katılımcıların stres düzeylerini belirlemek amacıyla semen örneklerinin elde edildiği dönemlerde eşzamanlı olarak, kronik veya akut anksiyeteyi değerlendirmek için yaygın olarak kullanılan Spielberg yetişkinler için durum envanteri testi (*State Trait Anxiety Inventory*) (STAI) Türkçe'ye çevrilerek uygulandı. STAI kişinin kendini nasıl hissettiğine yönelik 20 sorudan oluşmakta, yanıtlar 4'lü Lickert skalası şeklinde olup toplam puan 20 ila 80 arasında değişmekte ve yüksek stres skoru anksiyetenin büyük olduğunu göstermektedir²⁴.

Biyokimyasal Analizler

Semen örnekleri 2000 devirde 5 dakika santrifüj edildikten sonra seminal plazmaları ayrıldı. Sperm hücre pelleti fosfat tamponlu salin (PBS) ile tekrar çözüldü ve membran lipid peroksidasyonu (10⁹ spermatazoada oluşan nmol MDA şeklinde ifade edildi) tespiti Ohkawa ve ark. tarafından tanımlanan tiobarbitürik asit yöntemi kullanılarak yapıldı²⁵. Thiobarbitürik asidin ile lipid peroksidasyon yıkılım ürünlerinin reaksiyonu sonucu oluşan renk spektrofotometrik olarak 532 nm'de ölçüldü. 1, 1, 3, 3-tetraetoksipropan kullanılarak standart eğri oluşturuldu. Biyokimyasal analiz için Sigma (St. Louis, USA) marka kimyasal malzeme kullanıldı.

Veri Analizi

SPSS 10.0 versiyon software kullanılarak bağımlı değişkenlerde *t* testi uygulandı, sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi yapıldı ve p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi. Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verildi. Seminal MDA düzeyleri ve sperm parametreleri arasındaki korelasyon Pearson korelasyon testi ile değerlendirildi ve p<0.05 anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Stresli ve stressiz dönemdeki saptanan stres skorları (43.61±10.71 ve 37.67±9.61) arasındaki

fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.01$). Aynı şekilde stresli ve stressiz dönemde saptanan seminal MDA düzeyleri arasındaki fark da (50.19 ± 48.22 ve 16.19 ± 22.59) istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.001$) (Şekil 1).



Şekil 1. Stresli ve stressiz dönemlerde stres skoru ve MDA düzeyleri

Stresli dönemde sperm konsantrasyonunun stressiz döneme göre anlamlı derecede azalmış olduğu ($p < 0.001$) ve morfolojik incelemelerde % anormal formların stres döneminde istatistiksel anlamlı oranda ($p < 0.001$) yüksek olduğu görüldü. Her iki dönemdeki semen volümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 1).

Sperm % hareketleri stresli ve stressiz dönemlerde değerlendirildiğinde ½ saatte a kategori, a+b kategori, c+d kategori sperm yüzdelerinin stresli dönemde stressiz döneme göre azalmış ve aradaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu (sırasıyla $p < 0.05$, $p < 0.01$ ve $p < 0.01$) saptandı. Buna karşın d kategori sperm oranının stresli dönemde artmış olduğu ve aradaki farkın stressiz döneme göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptandı ($p < 0.01$) (Tablo 2).

Parametreler	Stresli Dönem	Stressiz Dönem	p değeri
MDA (nmol/10⁹ sperm)	50.19±48.22	16.19±22.59	0.000
Stres skoru	43.61±10.71	37.67±9.61	0.001
Toplam sperm sayısı	124.44±88.47	158.75±84.4	0.000
Normal morfoloji (%)	42.78±16.32	51.11±14.30	0.000
Anormal morfoloji (%)	57.22±16.32	48.89±14.30	0.000
Semen volümü (ml)	3.40±0.98	3.37±1.00	0.908

Tablo 1. Stresli ve stressiz dönemlerde MDA, Stres skoru, Sperm sayısı, % Morfolojik formlar, semen volümleri düzeyleri ve aradaki farkların istatistiksel anlamlılığının karşılaştırılması (İstatistiksel olarak anlamlı veriler koyu olarak belirtilmiştir).

½ saat (%) hareketlilik kategorileri	Stresli Dönem	Stressiz Dönem	P değeri
a hareketlilik ½ saat (%)	19.31±10.93	23.89±10.29	0.017
b hareketlilik ½ saat (%)	25.00±7.37	27.08±6.69	0.125
c hareketlilik ½ saat (%)	22.22±6.37	21.25±6.80	0.400
d hareketlilik ½ saat (%)	33.47±12.53	27.78±9.74	0.003
a+b hareketlilik ½ saat (%)	44.31±16.39	50.97±13.57	0.002
c+d hareketlilik ½ saat (%)	55.69±16.39	49.03±13.57	0.002

Tablo 2. Stresli ve stressiz dönemlerde ½ saat hareketlilik oranları ve aradaki farkların istatistiksel anlamlılığı (İstatistiksel olarak anlamlı veriler koyu olarak belirtilmiştir).

½ saat (%) hareketlilik kategorileri	Stresli Dönem	Stressiz Dönem	P değeri
a hareketlilik 2 saat (%)	13.89±9.72	18.61±8.91	0.016
b hareketlilik 2 saat (%)	23.33±7.75	25.28±7.74	0.202
c hareketlilik 2 saat (%)	24.17±6.15	22.92±6.90	0.383
d hareketlilik 2 saat (%)	38.61±12.91	33.19±10.22	0.007
a+b hareketlilik 2 saat (%)	37.22±15.60	43.89±13.48	0.007
c+d hareketlilik 2 saat (%)	62.78±15.60	56.11±13.48	0.007

Tablo 3. Stresli ve stressiz dönemlerde 2. saat hareketlilik oranları ve aradaki farkların istatistiksel anlamlılığı (İstatistiksel olarak anlamlı veriler koyu olarak belirtilmiştir).

2. saatte hareketlilik oranları stresli dönemde stressiz döneme göre a kategori, a+b kategori, c+d kategorilerde istatistiksel anlamlı oranlarda düşmeler göze çarparken (sırasıyla $p<0.05$, $p<0.01$ ve $p<0.01$), d kategori spermelerde istatistiksel anlamlı bir artış ($p<0.01$) izlendi (Tablo 3).

Korelasyon analizlerinde: Stresli dönemde anlamlı derecede yüksek olan seminal plazma MDA düzeyinin, hem $\frac{1}{2}$ hem de 2. saatteki hareketsiz sperm yüzdesi ile pozitif korelasyonda olduğu, normal morfoloji ve sperm sayısı ile negatif bir ilişki gösterdiği görüldü (Tablo 4). Stressiz dönemde seminal plazma MDA düzeyi ile hareketsiz sperm yüzdesi arasında negatif korelasyon saptandı (Tablo 5).

Stresli dönemde MDA ile Korelasyon	R değeri	P değeri
$\frac{1}{2}$ saat d hareketlilik (%)	0.381	0.022
2. saat d hareketlilik (%)	0.340	0.043
%Normal morfoloji	-0.397	0.016
% Anormal morfoloji	0.397	0.016
Total sayı (Mil.)	-0.684	0.000

Tablo 4. Stresli dönemde seminal MDA düzeyi ile istatistiksel olarak anlamlı bulunan % hareketlilik kategorileri, % Morfoloji ve sperm sayı korelasyonlarının p ve r değerleri.

Stressiz dönemde MDA ile Korelasyon	R değeri	P değeri
$\frac{1}{2}$ saat a+b hareketlilik (%)	-0.388	0.019
$\frac{1}{2}$ saat c+d hareketlilik (%)	0.388	0.019
$\frac{1}{2}$ saat d hareketlilik (%)	0.452	0.006
2 saat a+b hareketlilik (%)	-0.405	0.014
2 saat c+d hareketlilik (%)	0.405	0.014
2 saat b hareketlilik (%)	-0.370	0.027
2 saat d hareketlilik (%)	0.422	0.010
% Normal morfoloji	-0.595	0.000
% Anormal morfoloji	0.595	0.000
Total sayı (Mil.)	-0.589	0.000

Tablo 5. Stressiz dönemde seminal MDA düzeyi ile istatistiksel olarak anlamlı bulunan % hareketlilik kategorileri, % Morfoloji ve sperm sayı korelasyonlarının p ve r değerleri.

TARTIŞMA

İnfertilite problemlerinin %15'i idiyopatik olarak sınıflanmakta, bunların da büyük bir bölümünün zihinsel stresle ilişkili olduğu ileri sürülmektedir^{1,2}. Daha önceki çalışmalarda sperm kon-

santrasyonu, sperm hücrelerinin hareketliliği ve morfolojisi gibi semen kalitesi ile ilişkili çeşitli semen parametrelerine stresin olumsuz etkiler oluşturduğu bunun sonucunda sperm sayısının, hareketli sperm oranlarının ve normal morfolojili sperm oranlarının azaldığı bildirilmiştir⁵⁻⁸. Fenster ve ark. yakın akrabasını kaybedenlerde semen kalitesinin bozulduğunu, ancak çalışma ortamının yarattığı strese semen kalitesinde değişiklik olmadığını bildirmektedirler⁷. Olgularımızda final sınavları dışında stres oluşturacak (ağır-kronik hastalık, yakın akraba kaybı gibi) başka bir emosyonel faktör olanlar ve ürolojik patoloji saptanan olgular çalışma dışı bırakıldığı için olası tek olumsuz faktörün zihinsel sınav stresi olduğunu düşünmekteyiz. Biz de bu çalışmamızda yukarıdaki yazarların bulguları ile benzer şekilde sınav döneminde semen parametrelerinden sperm yoğunluğunda, ileri hızlı sperm hücresi oranında, normal morfoloji oranlarında stresli dönemde azalma olduğunu ve aynı parametrelerin stressiz tatil sonrası dönem ile istatistiksel olarak anlamlı farklar oluştuğunu gözlemledik. Bu bulgulara dayanarak semen kalitesinin final sınavlarının yol açtığı zihinsel stresten olumsuz etkilendiğini, özellikle döllenme için önemli olan ileri hareketli a kategori sperm sayısının ve normal formların azalmasının stres dönemi süresince fertilité açısından risk oluşturabileceğini söyleyebiliriz.

Subfertil erkeklerin seminal plazmalarında SOR'nin sperm parametreleri üzerine olumsuz etki oluşturdukları bildirilmektedir. Subfertil erkeklerin spermelerindeki SOR kaynağının kendi spermatazoları mı yoksa infiltré lökositlerden mi kaynaklandığı tartışmalıdır²⁶. Biz çalışmamızda semende anormal lökosit sayısına sahip olguları (dört olgu) çalışma dışı bırakarak spermatazoon faktörü üzerinde yoğunlaşmayı amaçladık. SOR'lar özellikle doymamış yağ asidinden zengin ve bu nedenle SOR etkisine çok hassas olan sperm hücre lipid membranında LPO'a ve böylelikle hücresel hasara yol açmaktadırlar¹³.

LPO direkt hasarını membran yapısında değişikliklere neden olarak gösterirken, indirekt hasarını ise reaktif aldehidler aracılığıyla göstermektedir. İndirekt hasarı meydana getiren reaktif aldehidler; membran bileşenlerinde çapraz bağlanmalar ve polimerizasyona neden olarak membran yapısının bozulması katkıda bulunurlar. SOR hasarı sonucu oluşan LPO'nun indirekt bir indikatörü olan MDA

birçok çalışmada oksidatif stres göstergesi olarak kullanılmıştır^{10,27-29}. Storey ve ark. göre spontan LPO fizyolojik şartlarda çok düşük oranda olmaktadır³⁰. Biz de seminal plazmada oksidatif stres göstergesi olarak MDA'yı kullandığımız çalışmamızda olguların stresli dönemde stressiz döneme göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış olan MDA düzeyleri saptadık. Bu bulgu ışığında zihinsel stresin oksidatif stres nedenlerinden biri olabileceğini düşünürüz.

Oksidatif streste SOR etkisi ve LPO ile sperm membran fonksiyonu kaybolmakta, genetik yapı, metabolizma, morfoloji ve motilite bozuklukları oluşmakta, sonuçta bozulmuş sperm fonksiyonu ve yapısı infertiliteye yol açabilmektedir¹⁴⁻¹⁶. Çeşitli yazarlarca motil sperm oranı ile LPO potansiyelinin ters orantılı olduğu bildirilmektedir^{17,18,31}. Ayrıca sadece immotil (d kategori) spermelerin LPO oluşturmada rolü olduğu da gösterilmiştir¹⁹. Biz de çalışmamızda seminal MDA ve sperm parametrelerinin stresli ve stressiz dönemlerdeki korelasyon analizlerini yaptık. Stresli dönemde anlamlı derecede yüksek olan seminal plazma MDA düzeyinin, hem ½ hem de 2. saatteki immotil sperm yüzdesi ile pozitif korelasyonda olduğu, normal morfoloji ve sperm yoğunluğu ile negatif bir ilişki gösterdiğini saptadık. Ayrıca stressiz dönemde seminal MDA düzeyi ile immotil sperm yüzdesi arasında negatif korelasyon olduğunu gördük. Bu bulgulara dayanarak zihinsel stresin oksidatif strese neden olabileceğini ve bunun da semen hareketliliği, morfoloji ve sayısını olumsuz etkileyebileceğini söyleyebiliriz.

SONUÇ

Bulgularımız; sınav stresinin oksidatif stres oluşturabileceğini düşündürmektedir. Oksidatif stres göstergesi olan seminal MDA düzeyi ile hareketli sperm yüzdesi arasındaki pozitif ilişki; artan oksidatif stresten kaynaklanabileceği gibi, hareketli spermatozoaların LPO oluşumuna katkısının artmasından da kaynaklanabilir.

Bu bulgular ile sınav döneminde oluşan zihinsel stresin oksidatif strese ve semen kalitesinde bozulmaya yol açtığı düşünülebilir. Bu bulgular zihinsel stresin oluşan oksidatif stres nedeniyle infertilite gelişimine katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Bu konuda daha geniş bir olgu grubunda oksidatif stresin diğer göstergelerinin ve

karşı koruyucu mekanizmaların da araştırılmasının gerekli olduğu kanısındayız.

KAYNAKLAR

- 1- **Sheiner EK, Sheiner E, Carel R, Potashnik G, Shoham-Vardi I:** Potential association between male infertility and occupational psychological stress. *J. Occup. Environ. Med.* 44: 1093-1099, 2002.
- 2- **Hjollund NH, Jensen TK, Bonde JP, Henriksen TB, Andersson AM, Kolstad HA, Ernst E, Givercman A, Skakkebaek NE, Olsen J:** Distress and reduced fertility: A follow-up study of first-pregnancy planners. *Fertil. Steril.* 72: 47-53, 1999.
- 3- **Supe AN:** A study of stress in medical students at Seth G.S. Medical College. *J. Postgrad. Med.* 44: 1-6, 1998.
- 4- **Ahaneku JE, Nwosu CM, Ahaneku GI:** Academic stress and cardiovascular health. *Acad. Med.* 75: 567-568, 2000.
- 5- **Clarke RN, Klock SC, Geoghegan A, Travassos DE:** Relationship between psychological stress and semen quality among in-vitro fertilization patients. *Hum. Reprod.* 14: 753-758, 1999.
- 6- **Pook M, Krause W, Rohrlé B:** Coping with infertility: Distress and changes in sperm quality. *Hum. Reprod.* 14: 1487-1492, 1999.
- 7- **Fenster L, Katz DF, Wyrobek AJ, Pieper C, Rempel DM, Oman D, Swan SH:** Effects of psychological stress on human semen quality. *J. Androl.* 18: 194-202, 1997.
- 8- **Morelli G, De Gennaro L, Ferrara M, Dondero F, Lenzi A, Lombardo F, Gandini L:** Psychosocial factors and male seminal parameters. *Biol. Psychol.* 53: 1-11, 2000.
- 9- **Sigman M and Jarow JP:** Male infertility. In PC Walsh (ed in chief), AB Retik, ED Vaughan, AJ Wein (eds) *Campbell's Urology* eighth edition. Philadelphia, W.B. Saunders ch. 43, 3114-3147, 2003.
- 10- **Verma A, Kanwar KC:** Effect of vitamin E on human sperm motility and lipid peroxidation in vitro *Asian J Androl.* 1: 151-154, 1999.
- 11- **Sharma RK, Agarwal A:** Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology*, 48: 835-50, 1996.
- 12- **Lewis SE, Sterling ES, Young IS, Thompson W:** Comparison of individual antioxidants of sperm and seminal plasma in fertile and infertile men. *Fertil. Steril.* 67: 142-147, 1997.
- 13- **Tarin JJ, Brincs J, Cano A:** Antioxidants may protect against infertility. *Hum Reprod.* 13: 2371-6, 2000.
- 14- **Twigg J, Fulton N, Gomez E, Irvine DS, Aitken RJ:** Analysis of the impact of intracellular reactive oxygen species generation on the structural and functional integrity of human spermatozoa: Lipid peroxidation, DNA fragmentation and effectiveness of antioxidants. *Hum Reprod.*, 13: 1429-36, 1998.
- 15- **Cummins JM, Jequier AM, Kan R:** Molecular biology of human male infertility: Links with aging, mitochondrial genetics, and oxidative stress? *Mol Reprod Dev.* 37: 345-62, 1999.
- 16- **Lenzi A, Gandini L, Picardo M:** A rationale for glutathione therapy. *Hum Reprod.* 13: 1419, 1998.
- 17- **Suleiman SA, Elamin Ali M, Zaki ZMS, El-Malik EMA, Nasr MA:** Lipid peroxidation and human sperm

- motility. Protective role of vitamin E. *J Androl*, 17: 530-537, 1996.
- 18- **Aitken RJ, Harkiss D, Buckingham DW:** Analyses of lipid peroxidation mechanisms in human spermatozoa. *Mol Reprod Dev*, 35: 302-315, 1993.
- 19- **Rhemrev JP, Vermeiden JP, Haenen GR, De Bruijne JJ, Rekers-Mombarg LT, Bast A:** Progressively motile human spermatozoa are well protected against in vitro lipid peroxidation imposed by induced oxidative stress. *Andrologia*, 33: 151-8, 2001.
- 20- **Gutteridge JM:** Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*, 41: 1819-28, 1995.
- 21- **Sharma RK, Agarwal A:** Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology*, 48: 835-50, 1996.
- 22- **Boivin J, Shoog-Svanberg A, Andersson L, Hjelmstedt A, Bergh T, Collins A:** Distress level in men undergoing intracytoplasmic sperm injection versus in-vitro fertilization. *Hum. Reprod*, 13: 1403-1406, 1998.
- 23- **World Health Organization (WHO):** Laboratory Manual for the Examination of Human Sperm and Semen Cervical Mucus Interaction, 3rd ed. Cambridge University Press, New York, 1993.
- 24- **Spielberger CD, Gorsuch RL, Lushene RE:** STAI Manual for the State-Trait Anxiety Inventory. Consulting Psychologists Pres, Palo Alto, CA, USA, 1970.
- 25- **Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K:** Assay for Lipid Peroxides in Animal Tissues by Thiobarbituric Acid Reaction. *Anal. Biochem*, 95: 351-358, 1979.
- 26- **Aitken RJ, Clarkson JS:** Cellular basis of defective sperm function and its association with the genesis of ROS by human spermatazoa. *J. Reprod Fertil*, 81: 459-469, 1987.
- 27- **Köksal IT, Usta M, Orhan I, Abbasoglu S, Kadioglu A:** Potential role of reactive oxygen species on testicular pathology associated with infertility. *Asian J Androl*, 5: 95-9, 2003.
- 28- **McKinney KA, Lewis SE, Thompson W:** The effects of pentoxifylline on the generation of reactive oxygen species and lipid peroxidation in human spermatazoa. *Andrologia*, 28: 15-20, 1996.
- 29- **Köksal IT, Tefekli A, Usta M, Erol H, Abbasoglu S, Kadioglu A:** The role of reactive oxygen species in testicular dysfunction associated with varicocele. *BJU Int*, 86: 549-52, 2000.
- 30- **Storey BT, Alvarez JG, Thompson KA:** Human sperm glutathione reductase activity in situ reveals limitations in the glutathione antioxidant defence systems due to supply of NADPH. *Mol Reprod Dev*, 49: 400-407, 1998.
- 31- **Aitken RJ, Fisher H:** Reactive oxygen species generation and human spermatozoa. The balance benefit risk. *Bioassay* 16: 259-267, 1994.