



TEK KARBON SİKLSU ÜZERİNDEN ETKİ EDEN TAMAMLAYICI TEDAVİLERİN ERKEK İNFERTİLİTESİNDEKİ YERİ

Halil Lütfi CANAT

Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği

Ateş KADIOĞLU

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi

Üroloji Anabilim Dalı, Androloji Bilim Dalı, İstanbul

Sunuş

Değerli Meslektaşlarımız ve Tıpta Uzmanlık Öğrencileri,

Türk Üroloji Derneği eğitim, bilim ve teknoloji politikası çerçevesinde TÜAK tarafından koordine edilen kitap dizisinden “Tek Karbon Siklusu Üzerinden Etki Eden Tamamlayıcı Tedavilerin Erkek İnfertilitesindeki Yeri” derlemesini üyelerimiz ve tıpta uzmanlık öğrencilerinin kullanımına sunmaktan büyük mutluluk duymaktayız. Tıpta / Ürolojide üretilen bilginin yarılanma süresi beş yıl olup güncel bilginin meslektaşlarımıza ve tıpta uzmanlık öğrencilerine kısa sürede ve evrensel bilgi ışığında ulaştırılması önem kazanmaktadır.

Türk Üroloji Akademisi, Endoüroloji’de “Üriner Sistem Taş Hastalığının Tedavisi”, “Robotik Üroloji Güncelleme”, “Ürolojide Lazer Kullanımı”, Nöroüroloji’de “Üriner İnkontinans Tanı ve Tedavi”, “Pratik Ürodinami El Kitabı”, Androloji’de “Erkek ve Kadın Cinsel Sağlığı”, Üroonkoloji’de, “Üroonkoloji El Kitabı”, “Metastatik Böbrek Tümöründe Güncel Tedaviler Kılavuzu”, “Mesane Kanseri Güncelleme”, “Böbrek Kanseri Güncelleme”, “Testis Kanseri”, “Lokal İleri Evre Prostat Kanseri Kılavuzu”, “Mesane Kanseri İnteravezikal Tedaviler Kılavuzu”, “Kastrasyona Dirençli Prostat Kanseri Tedavi Kılavuzu”, “Prostat Kanseri Multiparametrik Manyetik Rezonans Görüntüleme ve Hedefe Yönelik Biopsi Kılavuzu”, Pediatrik Üroloji’de “Çocuk Ürolojisi Güncelleme Kitabı”, Genel Üroloji’de “Uretra Darlıklarına Yaklaşım” “Ürolojide Tıp Hukuku”, “TÜAK / Türkiye ESRU Asistan El Kitabı”, “Ürolojide Perioperatif Süreç Yönetimi”, “Uretra Darlıklarında Tanı, Tedavi ve Takip Protokolleri Kılavuzu”, 2014 EAU Güncelleme Kılavuzu, 2015 EAU Güncelleme Kılavuzu, 2016 EAU Güncelleme Kılavuzu, 2017 EAU Güncelleme Kılavuzu, Güncel Üroloji 2017, Güncel Üroloji 2018 kitabı ve 2018 EAU Güncelleme Kılavuzunu kullanıma sunmuştur.

Genel Üroloji’de “Cerrahi Sanatı El Kitabı” ve Üroonkolojide “Prostat Kanseri Güncelleme” eserlerini de en kısa sürede kullanıma sunacaktır.

“Tek Karbon Siklusu Üzerinden Etki Eden Tamamlayıcı Tedavilerin Erkek İnfertilitesindeki Yeri” derlemesi, Doç. Dr. Halil Lütfi Canat ve Prof. Dr. Ateş Kadioğlu editörlüğünde hazırlanmıştır. Yayına katkıda bulunan yazarlara teşekkür ederken kitabın meslektaşlarımıza / tıpta uzmanlık öğrencilerine katkısına olan inancımızın tam olduğunu vurgulamak isteriz.

Yayıncılıkta ilk kitapları / dergileri hazırlamak zor; bu yayınları devam ettirmek ise daha da zordur. TÜAK tarafından başlatılan ve koordine edilen bu yayınların elektronik versiyonları da oluşturulmuş ve kullanıma sunulmuştur. Saygılarımızla.

Dr. Ateş Kadioğlu
Türk Üroloji Akademisi Koordinatörü

Dr. R. Cankon Germiyoğlu
Türk Üroloji Derneği Başkanı

TEK KARBON SIKLUSU ÜZERİNDEN ETKİ EDEN TAMAMLAYICI TEDAVİLERİN ERKEK İNFERTİLİTESİNDEKİ YERİ

Doç. Dr. Halil Lütfi CANAT¹ ve Prof. Dr. Ateş KADIOĞLU²

¹Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği

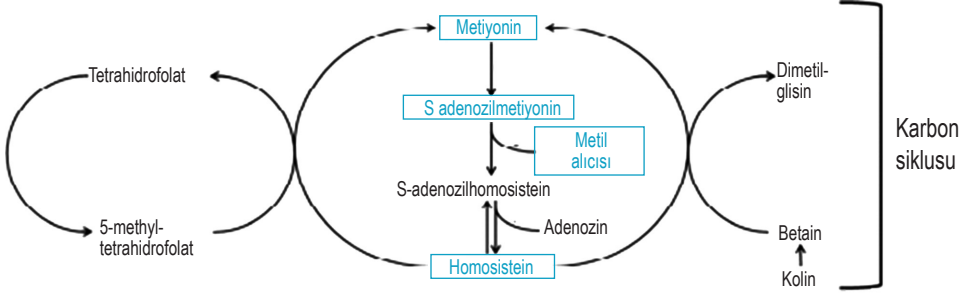
²İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı, Androloji Bilim Dalı, İstanbul

GİRİŞ

Düzenli ve korunmasız ilişkiye rağmen bir yıl boyunca gebelik oluşmaması durumuna infertilite denilmektedir. Fertilité sorununda erkeğe bağlı nedenler %50 oranında görülmekte olup bu erkeklerin %30-40'ında herhangi bir patoloji saptanamamaktadır (1). Erkek infertilitesindeki sorunların çoğunun tedavi edilebilir faktörlerden oluşması erkek infertilitesinin tanı ve tedavisinin önemini artırmaktadır. Erkek faktörüne bağlı fertilité problemi oluşturan başlıca nedenler; varikosel, idiyopatik-açıklanamayan infertilite, obstrüksiyon, inmemiş testis, immünolojik mekanizmalar, ilaç-radyasyon etkisi ve endokrin bozukluklardır. Bu nedenlerin çoğunun hücre düzeyinde etkisi serbest oksijen radikalleri nedeniyle ortaya çıkmaktadır. İnfertil erkeklerin %30-80'inde serbest oksijen radikalleri ile ilişkili sperm hasarının önemli bir faktör olduğu vurgulanmaktadır (2).

Serbest oksijen radikalleri aşırı reaktif kimyasal türler oldukları için hücre bileşenleri ile kolayca etkileşime girerek oksidatif strese neden olmaktadır. Başlıca serbest oksijen radikalleri; süperoksit, hidrojen peroksit, hidrosil, lipid hidroperoksit, peroksil ve peroksinitrit'tir (3).

Serbest oksijen radikallerinin oluşumunu veya bunların hücresel düzeyde oluşturduğu hasarı önlemek için vücutta çeşitli antioksidanlar bulunur. Bunlar, serbest oksijen radikallerini nötralize eden ve serbest radikal hasarını tamir etmeye yardımcı olan maddelerdir. Antioksidanların serbest oksijen radikali üreten anormal spermatozoalardan spermi koruduğu, lökositlerin ürettiği serbest oksijen radikallerini temizlediği ve sperm DNA hasarını önlediği bilinmektedir. Sperm DNA hasarının başlıca sebebi olarak görülen seminal sıvıdaki serbest oksijen radikallerinin sperm üzerindeki zararlı etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir (4).



ŞEKİL 1. Tek karbon siklusu.

Serbest oksijen radikalleri, erkeklerde iki yolla fertilitate problemlerine yol açabilmektedir. Bunlardan ilki; lipid peroksidasyonu yoluyla hücre membran bütünlüğünün bozulması, ikincisi; DNA bütünlüğü başta olmak üzere çeşitli hücresel komponentlerin yapısında değişiklik yapmalarındadır (5,6).

Tek karbon metabolik siklusu antioksidatif mekanizmada hücresel metilasyon için oldukça önemlidir (Şekil 1). Folik asit, B2, B3, B6, B12 gibi vitaminler bu siklusta rol alan önemli koenzimlerdir. Homosisteinin metiyonine dönüşümünde bu moleküllerin ortama hazır metil donör vermeleri ile hiperhomosisteinemisinin önüne geçilmekte ve DNA bütünlüğü korunmaktadır (7).

Sperm vücutta en fazla metilasyon reaksiyonunun gerçekleştiği hücrelerden biridir ve bu metilasyon DNA bütünlüğü için, uygun gen ekspresyonu için ve fertilizasyon sonrası embriyo gelişimi için elzemdir (8). Yukarıda bahsedilen vitaminlerin spermdeki oksidatif hasarı azalttığı ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmış olup bu derlemede, bu vitamin takviyelerinin erkek fertilitesine etkileri araştırılmıştır.

BETAİN

Betain, çift kutuplu dörtdü amonyum bileşigidir ve özellikle karaciğer ve böbrek olmak üzere çeşitli organların iç mitokondri zarından üretilir (9). Bu bileşik, Şekil 1'de görüldüğü gibi tek karbon metabolizmasında önemli bir metil donörüdür. Betain-homosistein metil transferaz (BHMT) enzimi substrat olarak betaini kullanır ve betaindeki metil grubunu homosisteine aktarır (10,11). Toksik bir ara ürün olan homosistein bu şekilde metiyonine dönüşür ve metiyonin de DNA, RNA ve histon gibi çok sayıda hücresel reaksiyonlarda metil grup sağlayıcısı olarak görev yapar. Birçok çalışmada betain aracılığıyla aktive olan tek karbon metabolizmasının, erkek fertilitesinde önemli bir basamak olduğu gösterilmiştir (12-16). Ayrıca

bu siklusun aksamasıyla ejakülatta artan homosistein düzeyinin spermatogenezi ve fertilitiyi olumsuz etkilediği çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (17,18).

Tek-karbon siklusu ile homosisteinin metiyonine dönüşümü sağlanarak vücudun endojen antioksidan sistemleri harekete geçirilmiş olur. Böylece egzogen olarak alınan yüksek dozda antioksidanların ortamdaki serbest oksijen radikallerini tamamen yok etmeleri önlenmiş olur. Zira; kapasitasyon ve akrozom reaksiyonlarının ihtiyaç duyduğu serbest oksijen radikallerinin tamamen ortadan kaldırılması istenmeyen bir durumdur. Tek karbon siklusunu harekete geçirmede etkili olan diğer vitaminler ise riboflavin (B2), niasin (B3), piridoksin (B6), folik asit ve kobalamin (B12)'dir (19).

Betain ile yapılan deneysel bir çalışmada yüksek ısısının testiküler hasarını önlemede betainin rolü araştırılmıştır. Erkek farelerde 7-9 haftalık 42°C sıcak su uygulamasından önce verilen oral betainin antioksidan kapasiteyi artırdığı ve yüksek ısıyla bozulan germinal epiteldeki rejenerasyonu hızlandırdığı gösterilmiştir. Ayrıca 14 günlük betain uygulaması ile epididimal spermatozoada sayı ve kalite artışı saptandığı gösterilmiştir (20). Sıçanlarla yapılan başka bir çalışmada iki aylık betain takviyesi ile epididimal spermatozoa sayı ve hareketinde artış, serum homosistein düzeyinde anlamlı azalma izlenmiştir (12). Ancak betainin spermatogeneze olan yararlı etkisinin mekanizması tam olarak açıklanabilmiş değildir. Artan motilite ve sperm membran bütünlüğünün; betainin antioksidatif özellikleri ile ve mitokondrideki koruyucu etkisi ile açıklanabilmektedir.

Hint inciri olarak bilinen *Opuntia ekstresi* yoğun olarak betain içermektedir. Bu ekstre ile birlikte kombine edilen B vitaminleri, çinko, N-asetil sistein ve E vitamini kombinasyonu ile yapılan bir çalışmada iki kez yardımcı üreme tekniğine rağmen fertilitate elde edilemeyen 84 çiftin erkek partnerlerine bu kombinasyon verilmiştir. Çiftlerden %21'inde spontan gebelik elde edilmiş ve tamamında canlı doğum gerçekleşmiştir. Kalan 66 çiftten dördüne IUI, 18'ine IVF, 44'üne ICSI yapılmış ve klinik gebelik oranı %47.6, canlı doğum oranı %39.3 olarak belirtilmiştir. Sonuç olarak infertil erkeklere yüksek dozda güçlü antioksidanlar vermek yerine tek karbon siklusunu aktive eden hafif besinsel destek vererek sperm DNA fragmentasyon, indeksinde ve gebelik oranlarında anlamlı artış sağlanabildiği rapor edilmiştir (19).

L-SİSTİN

L-sistin, sistein aminoasitinin oksitlenmiş hali olup sülfür içeren bir yapıya sahiptir. Glisin ve glutamik asit ile birleşerek glutatyonu oluşturur. Glutatyon, sperm an-

tioksidan sistemlerinin başlıca elemanlarından olup hücreleri oksidatif stresten korur. L-sistin ek olarak glutatyon üretimini doğrudan harekete geçiren özelliğe de sahiptir (21).

Deneysel bir çalışmada L-sistein uygulaması ile sperm antioksidan enzim sisteminin başlıcaları olan katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz miktarlarında anlamlı artış izlenmiştir. Yine bu çalışmada L-sistein ile total ve progresif sperm motilitesinde anlamlı artış olduğu gösterilmiştir (22). Topraggaleh ve arkadaşları benzer şekilde bufalo semen kriyoprezervasyonunda 7.5 mmol sistein ve 15 mmol glutamin ile intraselüler serbest oksijen radikallerinde azalma, artmış motilite ve artmış membran bütünlüğünü göstermişlerdir (23). Erkek infertilitesinin tedavisinde tek başına kullanılmasını destekleyen randomize, plasebo kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır.

ÇİNKO

Çinko, DNA yapımı ve protein sentezinde rol alan çok sayıda enzimin esansiyel kofaktörüdür. Ayrıca testiküler steroidogeneziste, testis gelişiminde, spermatozoidin oksijen kullanımında, nükleer kromatin kümelenmesinde, akrozom reaksiyonunda, akrosin aktivitesinde, sperm kromatin stabilizasyonunda, testosterondan dihidrotestosteron oluşumunda önemli rolleri olan bir iyondur (24,25).

Antioksidan ve antiapoptotik etkileri olan çinko, çok sayıda makromolekülün yapı ve fonksiyonunda görev alır. Çinko eksikliği ile ilişkili olarak; oligospermi, hipogonadizm ve immün sistem fonksiyonlarında bozulma olduğu bilinmektedir (26). Ayrıca diabetik hastalardaki oligoastenozospermimin çinko eksikliği ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (27). Başka bir randomize, plasebo kontrollü çalışmada çinko ve folik asit kombinasyonu ile oligoastenoteratozospemik subfertil hastalarda sperm fonksiyonlarındaki anlamlı düzelme gösterilmiştir (28).

Çinko takviyesinin astenoozospemik 100 hastada değerlendirildiği plasebo kontrollü bir çalışmada, tedavi sonunda çinko alan grupta sperm sayısı ve hareketliliği ile fertilizasyon kapasitesinde anlamlı artış, antisperm antikor düzeylerinde ise anlamlı azalma gözlemlendiği bildirilmiştir (29). Wong ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada 103 fertil, 107 infertil hastada seminal plazma çinko düzeyleri karşılaştırılmış ve infertil hastalarda seminal plazma çinko düzeylerinin daha düşük olduğu, seminal plazma çinko düzeyi ile sperm sayısı, motilitesi ve canlılığı arasında anlamlı korelasyon olduğu gösterilmiştir (30). Cochrane veritabanı analizinde de infertil erkeklerde çinko takviyesinin canlı doğum, gebelik oranı ve sperm hareketliliğinde anlamlı artış sağladığı belirtilmektedir (31).

FOLİK ASİT

Folik asit, B grubu vitaminlerden birisi olup DNA sentezi, RNA transferi ve esansiyel aminoasitlerin oluşumunda görev almaktadır. Folik asit, tek karbon siklusunda diğer B vitaminleri ile etkileşime girerek antioksidatif mekanizmada önemli rol oynar (19). Ayrıca lipid peroksidasyonunu inhibe ederek hücre zarını ve DNA'yı serbest oksijen radikallerinden korur (25). Boxmeer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada seminal plazmadaki düşük folik asit konsantrasyonunun artmış sperm DNA hasarı ile korele olduğu, sperm DNA hasarı arttıkça sperm motilite ve morfolojisinde anlamlı bozulma olduğu gösterilmiştir (17).

Wong ve arkadaşlarının yaptığı randomize, plasebo kontrollü çalışmada folik asitin subfertil hastalardaki etkinliği değerlendirilmiştir. Bu çalışmada folik asitin sperm konsantrasyonunda artış sağladığı, motilite ve morfolojiye etkili olmadığı gösterilmiştir (30). Başka bir çalışmada yardımcı üreme tekniklerinde folik asit kullanımının gebelik oranlarında anlamlı artış yaptığı gösterilmiştir (32).

Yapılan benzer çalışmaların ortak sonucu olarak folik asitin sperm konsantrasyonunda artış yaptığı ve sperm DNA stabilitesine olan etkisi ile erkek infertilitesinin tedavisinde kullanılabileceği önerilmektedir.

NİASİN (B3 vitamini), RİBOFLAVİN (B2 vitamini), PİRİDOKSİN (B6 vitamini), B12 vitamini

Niasin, tüm organizmada protein, karbonhidrat ve yağ metabolizması için gerekli suda çözünen B grubu vitaminlerden biridir. Önemli metabolik rolleri olan NAD ve NADP'nin öncüsüdür. DNA tamiri ve protein ekspresyonunda önemli rolleri vardır (33). Ayrıca diğer B vitaminleri ile birlikte tek karbon metabolik siklusu aracılığıyla endojen antioksidan mekanizmaları harekete geçirmektedir (19).

Riboflavin, yapısında Ribitol ve Dimetilizoalloksazin halkası içeren ve elektron transport zincirinde görev alan birçok enzimin (D-Amino asit Oksidazlar, Sitokrom-c-Redüktaz, Aldehid Oksidaz, Süksinik Dehidrogenaz, Nitrat, Nitrit Redüktaz, Ksantin Oksidaz) koenzimidir. Aktif formları flavin mononükleotid ve flavin adenin dinükleotid'dir. Riboflavin yetmezliğinin Avrupa ülkelerindeki oranı %7 ile %20 oranında değişmektedir (34). Riboflavinin lipid peroksidasyonu ve oksidatif strese karşı koruyucu etkileri bilinmektedir (35). Ayrıca riboflavin takviyesinin tek karbon siklusu üzerinden hiperhomosisteinemi tedavisinde etkili olduğu gösterilmiştir (36). İdiyopatik erkek infertilitesinde; tek karbon metabolizmasında görevli, riboflavinin de koenzimi olduğu metilentetrahidrofolat redüktaz enzimindeki defektin araştırılması gerektiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (37).

Tablo 1. Metilentetrahidrofolat redüktaz polimorfizmi olan erkeklerde folat ve B12 vitamininin sınır değerin altında ve üstünde alınımının semen parametrelerine etkisi

	Sperm konsantrasyon (10 ⁶ /mL)	Sperm progresif hareketliliği (%)	Sperm morfolojisi (%)
B9, 12 vitamin alımı < cut off	13.8 ± 1.6	29.1 ± 2.1	26.8 ± 1.3
B9, 12 vitamin alımı > cut off	29.5 ± 1.2*	50.2 ± 1.6*	29.1 ± 1.9

**p* < 0.001

Piridoksin, B6 vitamini olarak da bilinir. Özellikle protein metabolizmasında önemli bir koenzimdir ve birçok nörotransmitterin sentezinde rol oynar. Ayrıca tek karbon siklusundaki metil donörlerini aktive ederek veya koenzim olarak görev yaparak homosistein düzeyinin artışına engel olmaktadır (19). Homosisteinin transsülfürasyonla sisteine dönüştürülmesi de piridoksinle bağımlı reaksiyonla oluşur. Artan homosistein düzeyinin sperm DNA bütünlüğünü bozduğu ve uygun gen ekspresyonuna engel olduğu bilinmektedir (38).

B12 vitamini, insan vücudunda yapılamadığından egzogen olarak alınmalıdır ve özellikle hayvansal kaynaklı gıdalarla alınabilmektedir. Vitamin B12 eksikliğinde makrositer anemi ve bazı nöropsikiyatrik hastalıklar ortaya çıkabilmektedir. Ayrıca son yıllarda eksikliğinde tek karbon siklusundaki aksamaya bağlı olarak hiperhomosisteinemiyle ilişkili bozukluklar da tanımlanmıştır (39).

İdiyopatik erkek infertilitesindeki sorumlu genlerden birinin tek karbon siklusundaki metilentetrahidrofolat redüktaz enziminin polimorfizmidir (40). Güncel bir çalışmada (41) bu enzimdeki polimorfizm durumunda B12 vitamini ve folik asit takviyesi ile homosistein düzeylerinin azaldığı ve semen parametrelerinde düzelme olduğu gösterilmiştir (Tablo 1).

DeneySEL bir çalışmada; varikosel oluşturulan sıçanlarda iki aylık riboflavin, niacin, piridoksin, folik asit ve B12 vitamin takviyeleri yapılmış ve tek karbon siklusundaki değişimler izlenmiştir. Tedavi verilmeyen grupla karşılaştırıldığı zaman sperm konsantrasyonunda, motilitesinde ve morfolojisinde anlamlı düzelme izlenmiştir. Ayrıca sperm kromatin yoğunluğunda ve sperm DNA hasarında anlamlı azalma izlenmiştir. Bu değişimlerin tek karbon siklusu aracılığı ile endojen antioksidan sistemlerin aktivasyonu ile gerçekleştiği belirtilmiştir (42).

SONUÇ

İnsan vücudunda spermin, çok sayıda metilasyon reaksiyonunun gerçekleştiği hücrelerin başında geldiği bilinmektedir. Metilasyon reaksiyonları DNA bütünlüğü için, uygun gen ekspresyonu için ve fertilizasyon sonrası embriyo gelişimi için oldukça önemlidir. Tek karbon metabolik siklusu, antioksidatif mekanizma da hücrel metilasyon için önemli rol oynamaktadır. Folik asit, B2 (riboflavin), B3 (niasin), B6 (piridoksin), B12 vitaminleri ve betain gibi bu siklusta rol alan ajanların takviyesinin idiyopatik erkek infertilitesinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

REFERANSLAR

1. Turek PJ. Male reproductive physiology. Campbell-Walsh Urology, 10th Edition, Editor: Wein AJ. Philadelphia: Sunders, 2012; 591-615
2. Agarwal A, Nallella KP, Allamaneni SS, Said TM. Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Repro Biomed Online*. 2004;8:616-627
3. Ratnam DV, Ankola DD, Bhardwaj V, Sahana DK, Kumar MN. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *Journal of Controlled Release* 2006;113:189-207
4. Agarwal A, Cho CL, Esteves SC. Should we evaluate and treat sperm DNA fragmentation? *Current opinion in obstetrics & gynecology*. 2016;28(3):164-71
5. Salas -Huetos A, Bulló M, Salas -Salvadó J. Dietary patterns, foods and nutrients in male fertility parameters and fecundability: a systematic review of observational studies. *Hum Reprod Update*. 2017 Jul 1;23(4):371 -389.
6. Asadi N, Bahmani M, Kheradmand A, Rafieian -Kopaei M. The Impact of Oxidative Stress on Testicular Function and the Role of Antioxidants in Improving it: A Review. *J Clin Diagn Res* 2017; 11: IE01 -IE05.
7. Singh K, Jaiswal D. One -carbon metabolism, spermatogenesis, and male infertility. *Reprod Sci* 2013; 20: 622 -30.
8. Kumar M, Kumar K, Jain S, Hassan T, Dada R. Novel insights into the genetic and epigenetic paternal contribution to the human embryo. *Clinics (Sao Paulo)* 2013; 68 : 5 -14.
9. Craig SA. Betaine in human nutrition. *Am J Clin Nutr* 2004;80:539-49.
10. Sunden SL, Renduchintala MS, Park EI, Miklasz SD, Garrow TA. Betaine-homocysteine 28 methyltransferase expression in porcine and human tissues

- and chromosomal localization of the human gene. *Arch Biochem Biophys* 1997;345:171-4.
11. Millian NS, Garrow TA. Human betaine–homocysteine methyl transferase is a zinc metalloenzyme. *Arch Biochem Biophys* 1998;356:93-8.
 12. Alirezaei M, Jelodar G, Ghayemi Z. Antioxidant defense of betaine against oxidative stress induced by ethanol in the rat testes. *Int J Pept Res Ther* 2012;18:239-47.
 13. Slow SANDY, Lever MICHAEL, Chambers ST, George PM. Plasma dependent and independent accumulation of betaine in male and female rat tissues. *Physiol Res* 2009;58:403-10.
 14. Kelly TL, Neaga OR, Schwahn BC, Rozen R, Trasler JM. Infertility in 5, 10- 4 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)-deficient male mice is partially alleviated by lifetime dietary betaine supplementation. *Biol Reprod* 2005;72:667-77.
 15. Kheradmand A, Alirezaei M, Birjandi M. Ghrelin promotes antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in the rat ovary. *Regul Pept* 2010;162:84-9.
 16. Zhang BR, Buhr M, Kroetsch T, Leibo SP. Glycine betaine improves survival of fresh bovine spermatozoa. *Reprod Fertil Dev.* 2001;13:187-92.
 17. Boxmeer JC, Smit M, Utomo E, Romijn JC, Eijkemans MJ, Lindemans J, Laven JS, Macklon NS, Steegers EA, Steegers-Theunissen RP: Low folate in seminal plasma is associated with increased sperm DNA damage. *Fertil Steril* 2009, 92(2):548–556.
 18. Tunc O, Tremellen K: Oxidative DNA damage impairs global sperm DNA methylation in infertile men. *J Assist Reprod Genet* 2009, 9–10:537–544.
 19. Dattilo M, Cornet D, Amar E, Cohen M, Menezo Y. The importance of the one carbon cycle nutritional support in human male fertility: a preliminary clinical report. *Reprod Biol Endocrinol.* 2014 Jul 29;12:71.
 20. Shadmehr S, Fatemi Tabatabaei SR, Hosseinifar S, Tabandeh MR, Amiri A. Attenuation of heat stress-induced spermatogenesis complications by betaine in mice. *Theriogenology.* 2018 Jan 15;106:117-126.
 21. Piste P. Cysteine –Master Antioxidant. *Inter J Pharm Chem Biol Sci* 2013;3:143-9
 22. Iqbal S, Riaz A, Andrabi SM, Shahzad Q, Durrani AZ, Ahmad N. L-Cysteine improves antioxidant enzyme activity, post-thaw quality and fertility of Nili-Ravi buffalo (*Bubalus bubalis*) bull spermatozoa. *Andrologia.* 2016 Nov;48(9):855-861.

23. Topraggaleh TR, Shahverdi A, Rastegarnia A, Ebrahimi B, Shafiepour V, Sharbatoghli M, Esmaeili V, Janzamin E. Effect of cysteine and glutamine added to extender on post-thaw sperm functional parameters of buffalo bull. *Andrologia*. 2014 Sep;46(7):777-83.
24. Maret W. Zinc and human disease. *Met Ions Life Sci*. 2013;13:389-414.
25. Ebisch IMW, Thomas CMG, Peters WHM, Braat DDM and Steegers-Theunissen RPM. The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. *Hum Reprod Update*. 2007;13: 163- 174.
26. Prasad AS. Zinc in human health: effect of zinc on immune cells. *Mol Med*. 2008; 14:353-357.
27. Zhao Y1, Zhao H, Zhai X, et al. Effects of Zn deficiency, antioxidants, and low-dose radiation on diabetic oxidative damage and cell death in the testis. *Toxicol Mech Methods*. 2013; 23:42-7.
28. Raigani M, Yaghmaei B, Amirjannti N, et al. The micronutrient supplements, zinc sulphate and folic acid, did not ameliorate sperm functional parameters in oligoasthenoteratozoospermic men. *Andrologia*. 2014;46(9):956-62.
29. Omu AE, Dasthi H, Al- Othman S. Treatment of asthenozoospermia with zinc sulphate: andrological, immunological and obstetric outcome. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1998 Aug;79(2):179-84.
30. Wong WY, Merkus HM, Thomas CM, Menkveld R, Zielhuis GA, Steegers-Theunissen RP. Effects of folic acid and zinc sulphate on male factor subfertility: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Fertil Steril*. 2002;77(3):491-8.
31. Showell MG, Mackenzie-Proctor R, Brown J, Yazdani A, Stankiewicz MT, Hart RJ. Antioxidants for male subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*. 2014;12:CD007411).
32. Tremellen K, Miari G, Froiland D, Thompson J. Aust NZ. A randomised control trial examining the effect of an antioxidant (Menevit) on pregnancy outcome during IVF-ICSI treatment. *J Obstet Gynaecol*. 2007 Jun;47(3):216-21.
33. Nelson DL, Cox MM. *Lehninger Principles of Biochemistry*, 5. Ed-3. Pr, W.H. Freeman and Company, New York; 2008:519.
34. Powers HJ. Riboflavin (vitamin B-2) and health. *Am J Clin Nutr* (2003) 77(6):1352–60.
35. Ashoori M, Saedisomeolia A. Riboflavin (vitamin B2) and oxidative stress: a review. *Br J Nutr* (2014) 111(11):1985–91.
36. Strain JJ, Dowey L, Ward M, Pentieva K, McNulty H. B-vitamins, homocysteine metabolism and CVD. *Proc Nutr Soc* (2004) 63(4):597–603.

37. Karimian M, Colagar AH. Association of C677T transition of the human methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene with male infertility. *Reprod Fertil Dev.* 2016 Apr;28(6):785-94.
38. Singh K, Jaiswal D. One -carbon metabolism, spermatogenesis, and male infertility. *Reprod Sci* 2013; 20: 622 -30.
39. Salinas M, Flores E, López-Garrigós M, Leiva-Salinas C. Vitamin B12 deficiency and clinical laboratory: Lessons revisited and clarified in seven questions. *Int J Lab Hematol.* 2018 May;40 Suppl 1:83-88.
40. Lee HC, Jeong YM, Lee SH, Cha KY, Song SH, Kim NK, Lee KW & Lee S. (2006) Association study of four polymorphisms in three folate-related enzyme genes with non-obstructive male infertility. *Hum Reprod* 21, 3162–3170.
41. Najafipour R, Moghbelinejad S, Aleyasin A, Jalilvand A. Effect of B9 and B12 vitamin intake on semen parameters and fertility of men with MTHFR polymorphisms. *Andrology.* 2017 Jul;5(4):704-710.
42. Mohammadi P, Hassani-Bafrani H, Tavalae M, Dattilo M, Nasr-Esfahani MH. One-carbon cycle support rescues sperm damage in experimentally induced varicocele in rats. *BJU Int.* 2018 May 11. doi: 10.1111/bju.14385. [Epub ahead of print].

PARTOGEN
İLAÇ SAN. TİC. LTD. ŞTİ.

IMPRYL[®]
Mitochondrial Micronutrients

Partogen İlaç San. Tic. Ltd. Şti.'nin (Impryl) koşulsuz katkılarıyla