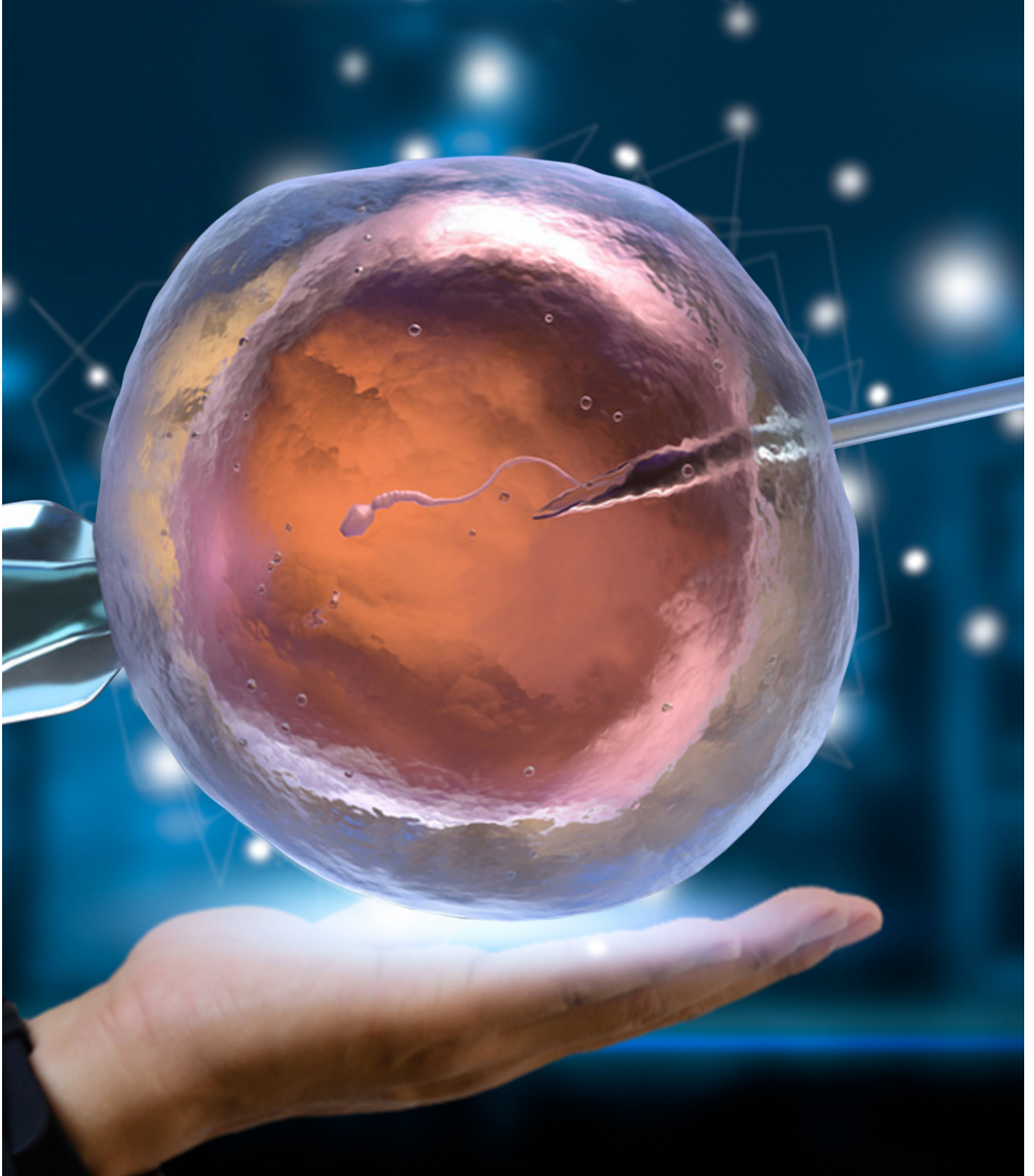


Temmuz 2023

Sayı 1

HEMUD Dergisi

Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Uzman Hekimleri Derneği'nin Yayınıdır



HEMUD Dergisi

Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Uzman Hekimleri Derneği'nin süreli yayınıdır.



HEMUD Adına İmtiyaz Sahibi

Uzm. Dr. Emine AKSOY

Editörler

Uzm. Dr. Ayşe Firuze BIYIK

Uzm. Dr. Neslihan KOÇ

Yayın Kurulu

Uzm. Dr. Emine AKSOY

Uzm. Dr. Ayşe Firuze BIYIK

Uzm. Dr. Şadiye CANPOLAT

Uzm. Dr. Fatma Nur KARAKUŞ

Uzm. Dr. Neslihan KOÇ

Uzm. Dr. Abdulkadir KUTLU

Bilimsel Kurul

Prof. Dr. Tahsin Murat AKTAN

Prof. Dr. Sevim AYDIN

Prof. Dr. Selçuk DUMAN

Prof. Dr. Ender ERDOĞAN

Prof. Dr. İmer OKAR

Prof. Dr. Bahar USLU

Prof. Dr. Ünal USLU

Doç. Dr. Başak BÜYÜK

Doç. Dr. Gökçen KERİMOĞLU

Doç. Dr. Deniz AKASATAR

Dr. Öğr. Üyesi Gülsemin ÇİÇEK

Dr. Öğr. Üyesi Derya ÖZTÜRK OKATAN

Dr. Öğr. Üyesi Yasemin SAVRANLAR

Dr. Öğr. Üyesi Aysin Pınar TÜRKMEN

Dr. Öğr. Üyesi Murat Serkant ÜNAL

Uzm. Dr. Emine AKSOY

Uzm. Dr. Ayşe Firuze BIYIK

Uzm. Dr. Şadiye CANPOLAT

Uzm. Dr. Ayça IŞIK

Uzm. Dr. Fatma Nur KARAKUŞ

Uzm. Dr. Neslihan KOÇ

Uzm. Dr. Gökşen Derya REİS KÖSE

Uzm. Dr. Betül SARI

Kapak Tasarımı

Med. illüstratör Nesrin YÜKSEL FIRAT



BAŞKANDAN

Prof. Dr. İmer OKAR

Histoloji ve Embriyoloji Uzmanlık Derneğimiz (HEMUD) Mayıs 2022 tarihinde 4. olağan genel kurulu toplantısı sonrası oluşturulan yeni yönetim kuruluyla yoluna devam etmektedir. Tıbbi histoloji ve embriyoloji uzmanlarının haklarını ve mesleki onurunu korumak amacıyla kurulan derneğimiz; ayrıca sorumlusu olduğumuz tıbbi histoloji ve embriyoloji laboratuvarı, androloji laboratuvarı ve IVF laboratuvarlarında en kaliteli hizmeti vermek ve bu laboratuvarlarda çalışan tüm personelin haklarını korumak amacını da taşımaktadır.

HEMUD Yönetim Kurulu olarak online dergimizin ilk sayısını çıkarmanın heyecanı içerisindeyiz. İlk sayımızın Cumhuriyetimizin kuruluşunun 100. yılına denk gelmesi bizler için ayrıca bir sevinç kaynağı oldu. Başlangıçta dergimizin yılda iki kez yayınlanmasını planlıyoruz. Amacımız Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı ile ilgili güncel bilgileri sizlere duyurmak ve bilgilendirmektir. Ayrıca hocalarımız, uzman ve asistan arkadaşlarımız ile mesleki bağı güçlendirmek ve bilgi alışverişinde bulunmak hedefimizdir. Dergimiz tıbbi histoloji, embriyoloji, infertilite ve rejeneratif tıp alanında içeriklerden oluşacaktır.

Dergimizin her bir sayısında; makale özetleri olacaktır. Kılavuz bilgilendirmeleri ve raporlar özet halinde sunulacaktır. Sağlık Bakanlığı'na bağlı Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezlerin (ÜYTEM) tanıtımına yer verilecektir. Laboratuvarlarda kullandığımız cihazlara ait bir tanıtım bölümü olacaktır. Bir bilim insanı tanıtımı yapılacaktır. Laboratuvar ve laboratuvar uygulamaları ile ilgili teorik ve pratik bilgiler içeren bir bölüm olacaktır. Son olarak da uzmanlık alanımızla ilgili haberler ve duyurulara yer verilecektir. Bu bölümler daha sonraki sayılarda sizlerden gelen talep üzerine yeniden şekillenebilecektir.

Bu sayının hazırlanmasında emeği geçen ve destek olan hocalarımıza ve meslektaşlarımıza HEMUD yönetim kurulu adına çok teşekkür ederim. Dergimizin hepimiz için hayırlı olmasını temenni ediyorum.

HEMUD Yönetim Kurulu

Prof. Dr. İmer OKAR

Dr. Öğr. Üyesi Aysın Pınar TÜRKMEN

Dr. Öğr. Üyesi Gülsemin ÇİÇEK

Uzm. Dr. Emine AKSOY

Uzm. Dr. Şadiye CANPOLAT

Uzm. Dr. Kenan DEMİR

Uzm. Dr. Berrin YANGIN DOĞRU

Uzm. Dr. Abdulkadir KUTLU

Uzm. Dr. Betül SARI

İÇİNDEKİLER



SAYFA 1

MAKALE ÖZETLERİ

SAYFA 34

TANITIM: ZEYNEP KAMİL ÜYTEM

SAYFA 37

CİHAZ: FLORESAN MİKROSKOP

SAYFA 40

BİR ANDROLOJİ LABORATUVARI
NASIL KURULUR?

SAYFA 43

MİKROSKOBUN KEŞFİ

SAYFA 45

MOZAİK EMBRİYOLARIN TRANSFERİNE
İLİŞKİN PGDIS GÖRÜŞ RAPORU (19
AĞUSTOS 2021)

SAYFA 50

HABERLER

MAKALE ÖZETİ

Review > Fertil Steril. 2019 Dec;112(6):994-999. doi: 10.1016/j.fertnstert.2019.10.031.

Add-ons in the laboratory: hopeful, but not always helpful

Sarah Armstrong ¹, Monique Atkinson ², Jeanette MacKenzie ³, Allan Pacey ⁴, Cynthia Farquhar ⁵



Hazırlayan:

Uzm. Dr. Fatma Nur KARAKUŞ

Eskişehir Yunus Emre Devlet Hastanesi
Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi

IVF laboratuvarında ilave tedavi yöntemleri: umut verici ancak her zaman yardımcı değil

ÖZET

Üremeye yardımcı tedavi (ÜYTE) uygulamalarındaki her aşama önemlidir ancak en önemlisi laboratuvar aşamasıdır. Başarı şansını artırmak için ilave tedavi yöntemleri önerilmektedir fakat yeni geliştirilen her tıbbi müdahalede olduğu gibi, ÜYTE laboratuvarındaki ilave yöntemler de rutin uygulama olarak hastalara sunulmadan önce iyi tasarlanmış çalışmalarla gerektendirilmelidir. İlave yöntemlerle canlı doğum şansını artırmak amaçlanmaktadır ancak güvenlikleri ve etkinlikleri net değildir. Ayrıca ilave yöntemlerin kullanımı çiftlere ekstra mali yük getirmektedir. Yaygın olarak kullanılan ilave yöntemlerin incelendiği bu yazıda, bu yöntemlerin rutin kullanıma girmesini destekleyecek herhangi bir kuvvetli kanıt bulunamamıştır.

ÜYTE laboratuvar uygulamaları, tüp bebek tedavisi sonuçları için kritik öneme sahiptir. Pek çok bilim adamı ve klinisyen başarı oranını artırmak için geleneksel laboratuvar prosedürlerine ilave yöntem arayışındadır. Günümüzde tüp bebek laboratuvarı, endüstri tarafından yönlendirilen bazı ilerlemelerle birlikte birçok hızlı değişiklik ve yenilikle karşı karşıyadır. İlave labora-

tuvar yöntemlerinin çoğu farmasötik düzenlemelerin dışındadır ve bu nedenle kullanıma girmeden önce titiz değerlendirmelere tabi olmaları gerekmektedir. Sonuç olarak birçoğu iyi tasarlanmış araştırmalarla desteklenmemektedir. İlave yöntemler, randomize kontrollü çalışmalar (RKÇ) gibi yüksek kaliteli çalışmalar tamamlanmadan çok önce rutin uygulamaların bir parçası

MAKALE ÖZETİ

haline gelebilmektedir. Bu yöntemlerin fayda ve zararlarının uygun bir şekilde değerlendirilmesi tedavi maliyeti açısından da önemlidir.

Birleşik Krallık İnsan Fertilizasyon ve Embriyoloji Kurumu (HFEA), İVF ilave yöntemlerini şöyle tanımlamaktadır: “.....size standart tedavinize ek olarak, genellikle ek bir ücret karşılığında, isteğe bağlı ekstralar sunulabilir. Son birkaç yıldır gündemde olan ve bazı çalışmalarda umut verici sonuçlar elde edilmiş yeni ortaya çıkan tekniklerdir ancak hamilelik veya doğum oranlarını iyileştirdikleri kanıtlanmamıştır.” (3).

Bu makalede, en yaygın olarak sunulan ilave laboratuvar yöntemlerinden bazıları tartışılarak, kullanımlarına ilişkin mevcut en iyi klinik kanıtlar özetlenmiştir (Şekil 1). Anöploidi taraması için preimplantasyon genetik testi (PGT-A), daha önceki pek çok yazıda tartışıldığı için, bu yazıda ele alınmamıştır.

TIME-LAPSE GÖRÜNTÜLEME

İnkübatörde gelişmekte olan embriyolar, implantasyon ve canlı doğum şansı en yüksek olanlarının seçimi için embriyologlar tarafından kontrol edilmektedir (4-9). Rutinde bu işlem, kültür petriyelerinin kontrollü inkübatör ortamından kısa süreliğine çıkarılıp mikroskop altında incelenmesi şeklindedir. Time-lapse sistemlerinde (TLS) ise gelişen embriyonun morfolojisi, erken mitotik bölünmelerin zamanlaması ve senkronizasyonu ve morfokinetik parametreleri oluşturan anormal klivaj paternleri, inkübatörden çıkarmaya gerek kalmadan izlenebilmektedir (10). Dünya çapında İVF kliniklerinde yaygın bir şekilde TLS alımı olmuştur (11).

TLS'nin potansiyel avantajları şunlardır:

- Embriyo gelişiminin time-lapse sekansının oluşturulabilmesi, gelişmekte olan embriyoların ayrıntılı dijital görüntülerinin mevcudiyeti

Category	Add-on	HFEA traffic light scoring
Gamete, endometrial and embryological	Time-lapse imaging of embryos*	●
	Assisted hatching*	●
	EmbryoGlue*	●
	Sperm DNA testing*	Not considered by HFEA
	Egg activation with calcium ionophore*	●
	Physiological intracytoplasmic sperm injection (PICSi)*	●
	Intracytoplasmic morphologic sperm injection (IMSI)*	●
	Preimplantation genetic screening (PGS) (on subset of chromosomes) [§]	●
	Endometrial receptivity array [†]	●
Surgical procedures	Endometrial scratching [†]	●
Drug therapies	Reproductive immunology [‡]	●
Key ● Evidence of clinical effectiveness and safety ● Conflicting clinical effectiveness ● Evidence of clinical ineffectiveness		

Şekil 1: İVF'te ilave tedavi yöntemlerinin etkinlik sınıflaması için HFEA trafik ışığı derecelendirmesi.

- Embriyolar kontrollü inkübatör ortamından çıkarılmadığı için, sıcaklık, pH, nem, gaz bileşimi gibi kültür parametrelerindeki istenmeyen değişimlerin ve mekanik etkilerin önlenmesi (12)
- Transfer için en uygun embriyonun seçimine yardımcı olan, morfokinetik parametreler ile seçme ve dışlama kriterlerinin kombinasyonundan oluşan yazılımın mevcudiyeti (12-14).

TLS'nin dezavantajları ise şunlardır:

- Bazı TLS'ler nemlendirilmediği için embriyo kültür droplarında artan osmolalite



- Siklus başına yaklaşık 1000 dolar (USD) maliyet (1, 15)

2019 yılında yayınlanan, dokuz RKÇ (n=2955) içeren Cochrane sistematik analizinde (16), konvansiyonel inkübasyon ile TLS arasında; biyokimyasal gebelik, devam eden gebelik, canlı doğum, düşük, ölü doğum oranları açısından anlamlı bir fark olduğuna dair yeterli kanıt bulunamamıştır. HFEA, TLS için bulunan düşük kaliteli kanıtların çelişkili olduğunu ve time-lapse görüntülemenin canlı doğum oranlarını arttırdığına dair yeterli kanıt bulunmadığını belirtmektedir (3).

ASSISTED HATCHING

Zona pellusida, döllenme ve embriyo gelişimi sırasında çeşitli süreçlerde rol alan aselüler glikoprotein yapıda bir kılıftır. Blastokist uterusu ulaştığında, zona pellusidadan çıkarak endometriyumla etkileşime geçer ve implante olur. İn vitro kültür sonucunda zona pellusida sertleşebilmektedir (17). Kalın ya da sert zona pellusida, embriyonun çıkışını zorlaştırmaktadır ve dolayısıyla embriyo implantasyon başarısını düşürmektedir (18).

Assisted hatching; mekanik olarak, asitle ya da lazer aracılığıyla gerçekleştirilebilir. Acid tyrode zona pellusidayı sindirerek bir çentik açar. Parsiyel zona diseksiyonunda, mikropipet aracılığıyla zona pellusida mekanik olarak kesilir. Lazer yardımcı uygulamada ise çok hassas ve kontrollü bir şekilde açıklık oluşturmak için fotoablasyon kullanılır.

Assisted hatching işleminin potansiyel avantajı, implante olacak embriyonun zona pellusidadan çıkışını kolaylaştırmaktır ancak embriyo hasarı ve çoğul gebelik gibi riskler de mevcuttur (19). Çalışmaların çoğunda birden fazla embriyo transfer edildiği için çoğul gebelik riskindeki artışın nedenini açıklamak güçtür ama yapılan inceltme işlemi sırasında gerçekleştirilecek olası

embriyo bölünmesi nedeniyle monozigotik ikizlerin meydana gelebileceği düşünülmektedir (20).

Otuz bir RKÇ'den oluşan Cochrane analizinde, inceltme işlemi uygulanan embriyolarda klinik gebelik oranında anlamlı bir artış gözlenirken (odds ratio [OR] 1.13, %95 güven aralığı [CI] 1.01–1.27; orta kalitede kanıt), canlı doğum oranlarında herhangi bir farklılık izlenmemiştir (9 RKÇ; OR 1.03, 95% CI) (19). 2016 yılında yayınlanan farklı bir sistematik derlemede de benzer sonuçlar elde edilmiş, canlı doğum oranlarında farklılık gözlenmezken (OR 1.09, 95% CI 0.92–1.30), zona inceltme yapılan grupta klinik gebelik ve çoğul gebelik oranlarında artış izlenmiştir (OR 1.50, 95% CI 1.11–2.01). Her iki sistematik derlemede de assisted hatching grubunda artmış çoğul gebelik oranları izlense de genellikle birden fazla embriyo transferi yapıldığı için bu verinin yorumlanması zordur (19,20). Elektif tek embriyo transferi sonrası monozigotik çoğul gebelik prevalansı % 1.36 idi ve zona inceltme de dahil olmak üzere embriyo manipülasyonlarıyla ilişkilendirildi (20). Başka bir kohort çalışmasında monozigotik ikiz gözlenme ihtimalinin blastokist transferlerinde klivaj embriyolarına göre daha yüksek olduğu bildirildi (21).

Çalışmalardaki taraflılık ve anlamlı istatistiksel heterojenite nedeniyle kanıtların kalitesi genel olarak zayıf ve orta düzeydedir. Ulusal Sağlık ve Bakım Mükemmeliyet Enstitüsü (NICE-UK) ve HFEA, assisted hatching yönteminin etkinliğine ve güvenliğine dair yeterli kanıt olmadığı görüşündedir (3,22). 2014 yılında Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (ASRM) tarafından assisted hatching ile ilgili kılavuzlar yayınlandı. Bu kılavuzlarda zona inceltmenin kötü prognozlu hastalarda klinik gebelik oranlarını biraz iyileştirdiğine dair iyi kalitede kanıtlar olduğu ancak canlı doğum oranlarını iyileştirdiği sonucuna varmak için yeterli kanıt olmadığı belirtildi. ASRM, zona inceltmeyi İVF tedavisi gören tüm hastalar için rutin olarak önermemektedir (23).

MAKALE ÖZETİ

HİYALÜRONİK ASİT

İnsanlarda implantasyon oranı düşüktür (%10-30) ve genç kadınlarda öploid embriyolarla yapılan IVF sikluslarında bile başarısızlığın en yaygın nedenlerinden biri implantasyon başarısızlığıdır (24). İmplantasyon oranlarındaki iyileşme gebelik ve canlı doğum ihtimalini arttırırken, çoklu embriyo transferine gereksinimi azaltarak çoğul gebelik riskini düşürür (25).

Konvansiyonel embriyo transfer medyumları implantasyon oranlarını arttırmak amacıyla hiyalüronik asitle (HA) desteklenmektedir. Hyalüronik asitin implantasyon üzerindeki olası etki mekanizmaları şunlardır:

- Anjiogenezi dolaylı olarak teşvik eder ve hücre-hücre ve hücre-matriks adezyonunu iyileştirir, böylece embriyonun apozisyonuna ve endometriyuma tutunmasına yardımcı olur.
- Yüksek viskozitesi sayesinde embriyo transferini geliştirir ve transferden sonra embriyoların uterus boşluğundan atılmasını önler.
- Preimplantasyon embriyosunda ve endometriyumda eksprese edilen primer hiyalüronik asit reseptörü CD44 için ligand işlevi görür.

2015 yılında yayınlanan 16 RKÇ'yi (n=3687) kapsayan Cochrane analizinde, hiyalüronik asitle desteklenmiş transfer medyumunu kullanılan grupta artmış canlı doğum oranları gözlenmiştir (OR 1.41, %95 CI 1.17-1.69; 6 RKÇ n=1950, orta kalitede kanıt düzeyi) (25). Başka bir RKÇ'de ise 581 İVF siklusunda, HA içeren medyum ile konvansiyonel medyum karşılaştırılmış ve anlamlı bir fark bulunamamıştır (26). Artmış çoğul gebelik oranı, artmış implantasyon ve gebelik oranının doğal bir sonucudur. Dolayısıyla HA destekli transfer medyumunu kullanılan kliniklerde elektif tek embriyo transferi prosedürü benimsenmeli, çoğul gebelikler yakından takip edilmeli, birden fazla embriyo transferi durumunda olası riskler konusunda hastalar yeterince bilgilendirilmelidir (2).

HFEA, hiyalüronik asitin faydaları konusunda hastaların, klinisyenlerin ve embriyologların emin olabilmesi için daha yüksek kalitede çalışmalara ihtiyaç olduğu kanaatindedir.

SPERM DNA FRAGMENTASYON ANALİZİ

Sperm örneğinin kalite belirteçleri sayı ve motiliteden ibaret değildir (27,28). Sperm DNA fragmentasyon analizi, canlı doğum gibi IVF tedavisinde istenilen sonuçları arttırmak amacıyla ileri bilgi sağlar. Sperm kromatin yapısı tayini (SCSA), sperm kromatin dispersiyon testi (SCD), terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT) aracılı deoksüridin trifosfat (dUTP) çentik ucu işaretleme (TUNEL), tek hücre jel elektroforezi/COMET analizi gibi bir dizi sperm DNA fragmentasyon analiz yöntemi geliştirilmiştir (29-36).

Defektif apoptozis, aşırı reaktif oksijen türevi üretimi, azalmış seminal antioksidan düzeyi, bazı ilaçların toksik etkileri, sigara kullanımı, çevre kirliliği, sistemik ateşle ilişkili artmış testis sıcaklığı, varikozel ve ileri yaş sperm DNA fragmentasyonuna neden olan faktörlerdir (29). Sperm DNA fragmentasyon analizi sayesinde, çiftlerin bu faktörlere maruziyetinin önlenmesi sağlanabilir.

Sperm DNA fragmentasyon analizinin klinik yönetimi etkileyerek çiftlere getireceği olası faydalar ile mali yük karşılaştırılmaktadır. Bu amaçla yapılan pek çok sistematik inceleme ve meta-analiz mevcuttur (29-36). Subfertil erkeklerde antioksidan kullanımının canlı doğum oranlarını arttırdığına yönelik düşük kalitede kanıtlar olsa da (37), bu çalışmaların yüksek DNA fragmentasyonuna sahip olan erkeklerden ziyade ÜYTE merkezlerine başvuran çiftlerde yapıldığı belirtilmelidir. DNA fragmentasyon indeksi (DFI) >%20 olduğunda spontan gebelik ihtimali oldukça düşükken, DFI >%30-40 olduğunda bu ihtimal neredeyse sıfırdır. Farklı DFI eşiklerindeki spontan gebelik ve yardımcı üreme ile gebelik oran-



larını karşılaştıran herhangi bir çalışma bulunmamaktadır (29).

ASRM (40) ve İngiliz Fertilité Topluluğu (41), mevcut sperm DNA fragmentasyon analiz yöntemlerinin IVF tedavi sonuçlarını güvenilir bir şekilde öngöremediği, dolayısıyla klinik kullanım için rutin olarak önerilemeyeceği görüşündedir. Gebeliği öngörmeye sperm DNA fragmentasyon ölçümlerinin sınırlı oluşu, diğer birçok faktörün de gebeliği etkilemesi gerçeğine ikincil olabilir. Özellikle oosit kalitesi ve yaşı, döllenme sonrası her iki ebeveynin genomundaki mevcut DNA hasarlarının tamirinde etkilidir. Meta-analizleri kullanarak kesin sonuçlara varamama, çalışmalar arasındaki heterojeniteden kaynaklanmaktadır. Dahil etme kriterleri, kullanılan DNA fragmentasyon testinin çeşidi, zamanlaması ve eşik değerleri çalışmalar arasında farklılık göstermektedir (29-43).

YAPAY OOSİT AKTİVASYONU

Total fertilizasyon başarısızlığı (TFF), IVF tedavisi gören çiftler için yıkıcı bir sonuçtur. IVF sikluslarındaki TFF oranı yaklaşık %3'tür (44). Globozoospermi gibi TFF için çeşitli risk faktörleri vardır. Yine de normal döllenmenin gözlenmediği önceki IVF sikluslarını takiben öngörülemeyen TFF gerçekleşebilmektedir (45). Fertilizasyon başarısızlığının altında yatan neden sperm veya oosit faktörleri olabilir. Nihayetinde döllenme sırasındaki moleküler olaylar dizisindeki normal işleyişin bozulmasından kaynaklanmaktadır. Oosit aktivasyonu, döllenme ve embriyo gelişimi için kritik basamaklardan biridir. Sperm oosite girmesiyle tetiklenerek fosfolipaz C zeta (PLC ζ) salınımı ve kalsiyum osilasyonları gözlenen fizyolojik bir süreçtir (46).

Oosit aktivasyonunun yapay olarak indüklenmesi, fertilizasyon başarısızlığı için olası bir tedavi olarak önerilmiştir. Kimyasal, mekanik ve elektriksel olmak üzere çeşitli yapay aktivasyon

yöntemleri, ooplazmaya kalsiyum akışına yol açar ve teorik olarak doğal oosit aktivasyonunu taklit eder (44).

RKÇ'leri inceleyen sistematik derlemeler, yapay oosit aktivasyonunun pratikte kullanımını önermek için yeterli klinik kanıt olmadığı sonucuna varmıştır (47). Özellikle canlı doğum oranı verisini içeren çalışmalar olmak üzere ileri çalışmalar gerekmektedir.

Oosit aktivasyonu; normal embriyo gelişimini, genomik imprinting ve gebelik sonucunu etkilemektedir. Yapay oosit aktivasyonunda meydana gelen muhtemelen bilinmeyen moleküler olayların yanı sıra normal kalsiyum osilasyonlarındaki önemli sapmalar; anormal gebelik, obstetrik veya neonatal sonuçların potansiyel nedenleridir (44). Bu konuyla ilgili veri miktarı sınırlıdır. 237 IVF siklusundan doğan 47 çocukta oluşan tanımlayıcı çalışmada, 3 aylık dönemde tespit edilen doğum özelliklerinin ve konjenital malformasyonların beklenen aralıkta olduğu bildirilmiştir (48) ancak çalışmaya dahil edilen çocuk sayısının yetersizliği göz önünde bulundurulmalıdır.

HFEA; daha önceki IVF sikluslarında fertilizasyon başarısızlığı gözlenen hastalarda yapay oosit aktivasyonu ile fertilizasyon oranlarında artış olabileceğini belirtmektedir ancak bu yöntemin etkinliğini kanıtlayan RKÇ'lerin ve güvenliğine dair izlem çalışmalarının bulunmadığını vurgulamaktadır (49).

İLERİ DÜZEY SPERM SEÇİM YÖNTEMLERİ

İleri düzey sperm seçim yöntemleri ile IVF tedavi sonuçlarını iyileştireceği beklentisiyle, döllenme için sağlıklı, olgun ve genetik olarak sağlam spermlerin seçimi amaçlanmaktadır. Hiyalüronik asite bağlanma yeteneği (fizyolojik intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu [PICSİ]), elektriksel yüke göre sperm seçimi (Zeta potansiyeli olarak da bilinmektedir.) (49), sperm apoptozuna göre



manyetik aktive hücre ayırma (MACS) yöntemleri bazı ileri düzey sperm seçim yöntemleridir. Bu yöntemler dünya çapında bazı merkezlerde kullanılmaktadır ancak etkinlikleri net değildir.

PICSI tekniğinde spermler, servikal mukusun ve kümülüs-oosit kompleksinin doğal polimerik sekresyonu olan HA ile inkübe edilmektedir. Çeşitli laboratuvar çalışmalarında, HA'ya bağlanmak için reseptör eksprese edilen spermlerde daha iyi bir morfoloji, motilite ve kromatin yapısı ile daha düşük bir DNA fragmentasyon oranı gözlemlendiği bildirilmiştir. Dolayısıyla PICSI, ICSI'de kullanılacak spermi belirlemek için faydalı bir teknik olabilir.

PICSI, Zeta potansiyeli ve MACS yöntemlerini içeren sekiz çalışmanın Cochrane analizinde, canlı doğum olasılığında herhangi bir artış bildirilmemiştir (50). PICSI yöntemini inceleyen geniş çaplı bir RKÇ'de de canlı doğum oranında artış gözlenmemiştir (51). Cochrane incelemesinden elde edilen kanıtlar, PICSI ile seçilen spermin canlı doğum veya klinik gebelik üzerinde çok az etkisi olabileceğini veya hiç etkisi olmadığını ancak düşükleri azaltabileceğini düşündürmektedir (50). Zeta potansiyeli ve MACS yöntemlerinin kullanımının canlı doğum, klinik gebelik ve düşük oranları üzerindeki etkisi, bu teknikler için kanıt kalitesinin çok düşük olması nedeniyle belirsizdir.

İleri düzey sperm seçim yöntemlerinin rutin pratikte kullanımı için ileri çalışmalar gerekmektedir. HFEA bu tekniklerin etkin ve güvenli olduğuna dair herhangi bir kanıt bulunmadığını belirtmektedir (3). Bu konuyla ilgili herhangi bir ASRM yönergesi de bulunmamaktadır.

Gelişmiş sperm seçim tekniklerinin kullanıldığı gebeliklerde konjenital anomali üzerine RKÇ'lerden elde edilen çok az veri vardır. ICSI kullanımıyla ilişkili riskler, ileri sperm seçim teknikleri için de geçerlidir ve hasta veya emb-

riyo için önemli bir ek risk yoktur. Sperm DNA fragmentasyonu yüksek olanların mı yoksa diğer subfertilite etiyolojilerine sahip hasta gruplarının mı bu gelişmiş sperm seçim tekniklerinden yararlanabileceği de belirsizdir. Gelecekte yapılacak araştırmalarda, gelişmiş sperm seçim tekniklerinin konjenital anomaliler ve diğer subfertilite alt grupları üzerindeki etkilerine odaklanılmalıdır.

MORFOLOJİK OLARAK SEÇİLMİŞ SPERMİN İNTRASİTOPLAZMİK ENJEKSİYONU (IMSI)

PICSI yönteminde olduğu gibi IMSI'de de fertilizasyon potansiyeli yüksek olan en iyi spermle- rin seçimi amaçlanmaktadır. IMSI'de sperm seçimi için; akrozom, post-akrozomal lamina, boyun, mitokondri, kuyruk ve nükleus, morfolojik olarak değerlendirilir (51). Bu değerlendirme yüksek büyütme altında (6000-13000) yapılır ve daha fazla zaman gerektirir. Spermi değerlendirmek ve seçmek için gereken zamanın uzunluğu önemli bir dezavantajdır (52). Hasta ve embriyo için olası riskler rutin ICSI işlemindeki risklerle benzerdir (3).

2013 yılında yayınlanan Cochrane analizinde; gebelik, canlı doğum ve düşük oranları açısından ICSI ve IMSI arasında fark gözlenmemiştir (53). Bu analizden günümüze sadece iki randomize çalışma yayınlanmıştır ve bu çalışmalarda da IMSI kullanımı ile canlı doğum oranlarında herhangi bir artış olmadığı bildirilmiştir (54, 55). Hem randomize hem de randomize olmayan çalışmaların sistematik bir incelemesi, randomize olmayan çalışmalarda IMSI kullanımının İVF tedavi sonuçları üzerinde olumlu etkisinin olduğunu, ancak randomize çalışmalarda olmadığını göstermiştir (56). Bu inceleme, doğru sonuçlara erişebilmek için iyi tasarlanmış RKÇ'lerin yapılmasının önemini hatırlatmaktadır.

Cochrane analizine dahil edilen çalışmaların hiçbirinde IMSI'nin konjenital anomaliler üzerine



olan etkisi hakkında bir veri bildirilmemiştir. IMSI ve ICSI ile doğan bebekleri karşılaştıran retrospektif bir analizde, IMSI grubundaki bebeklerin ICSI'dekilere kıyasla gestasyonel yaşa göre daha düşük ağırlıkta (<2500 gr) oldukları bildirilmiştir. Perinatal sonuçlarda başka hiçbir anlamlı derecede farklılık gözlenmemiştir (57).

SONUÇ

Yardımla üreme tekniklerinin başarısında laboratuvar teknikleri kritik öneme sahiptir. Tedavi sonuçlarını iyileştirmeye yönelik pek çok yenilik getirilse de, bu yeniliklerin etkinlikleri ve güvenliklerine dair yeterli kanıt bulunmamaktadır. Laboratuvar için araştırma öncelikleri geliştirmek ve geliştirilen yeni yöntemlere akılcı bir yaklaşım için; klinisyenler, embriyologlar ve hastalar arasında daha fazla işbirliği gerekmektedir. Güncel olarak elimizde kafa karıştıran ve yanıltıcı bir ilave yöntem menüsü bulunmaktadır. Hastaların hakettiği şekilde daha iyi, etkinliği ve güvenliği kanıtlanmış tedavi yaklaşımları için ileri çalışmalar gerekmektedir.

MAKALE ÖZETİ

Review

> World J Mens Health. 2022 Jan;40(1):30-37. doi: 10.5534/wjmh.210056.

Epub 2021 Apr 21.

Sperm DNA Fragmentation: A Critical Assessment of Clinical Practice Guidelines

Ashok Agarwal¹, Ala'a Farkouh², Neel Parekh³, Armand Zini⁴, Mohamed Arafa^{2 5 6}, Hussein Kandil⁷, Nick Tadros⁸, Gian Maria Busetto⁹, Rafael Ambar¹⁰, Sijo Parekattil¹¹, Florence Boitrelle¹², Hassan Sallam¹³, Sunil Jindal¹⁴, Edmund Ko¹⁵, Mara Simopoulou¹⁶, Hyun Jun Park^{17 18}, Mohammad Ali Sadighi¹⁹, Ramadan Saleh²⁰, Jonathan Ramsay²¹, Marlon Martinez²², Haitham Elbardisi^{5 23}, Juan Alvarez²⁴, Giovanni Colpi²⁵, Jaime Gosalvez²⁶, Donald Evenson²⁷, Rupin Shah²⁸



Hazırlayan:

Uzm. Dr. Ayşe Firuze BIYIK

Trabzon Kanuni EAH

Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi

Sperm DNA fragmentasyonu: klinik uygulama kılavuzlarının kritik bir değerlendirmesi

ÖZET

Sperm DNA fragmentasyonu (SDF), erkek infertilitesi ve olumsuz üreme sonuçlarıyla ilişkilidir. SDF'ye katkıda bulunanlar ve SDF'nin etiyolojileri yanı sıra SDF'nin etkileri ile ilgili birçok çalışmanın yayınlanmasıyla birlikte, erkek fertilitésinin değerlendirilmesi için SDF'nin uygulanmasında klinisyenlere yardımcı olacak kılavuzlara ihtiyaç duyulmaktadır. Bu yazıda yakın zamanda Agarwal ve arkadaşları ile Esteves ve arkadaşlarının yayınladığı iki klinik uygulama kılavuzu değerlendirilip karşılaştırılmıştır. Kılavuzlar arasındaki benzer öneriler bulunmuş ve farklar vurgulanmıştır.

MAKALE ÖZETİ

Sperm DNA fragmentasyonu (SDF), spermatozoa genomundaki tek veya çift sarmallı kırılmaları ifade eder. Olgun erkek gamet hücresi DNA hasarını onarma yeteneğinden yoksun olduğu için (1) oluşan bu kırılmalar devam etme eğiliminde olup erkek üreme potansiyelini ve sonuçlarını olumsuz yönde etkileyebilmektedir.

SDF üç ana mekanizma ile oluşabilir:

1. Apoptozise giden spermatozoanın süreci tamamlayamaması ve endonükleazların etkisi nedeniyle parçalanmış DNA'nın serbest kaldığı abortif apoptoz
2. Normal sperm kromatin sıkıştırma işlemi esnasında DNA çentiklerinin onarılmaması, kalıcı kırılmaların yanı sıra eksojen faktörler tarafından hasara daha duyarlı olan daha az kompakt DNA'ya yol açan kusurlu kromatin olgunlaşması
3. Reaktif oksijen türlerinin testislerde veya spermatozoa erkek üreme sistemi boyunca hareket ederken doğrudan DNA kırılmalarına neden olabildiği oksidatif stres (2).

Sperm DNA'sında hasar testislerde, genital kanallardan geçiş sırasında, ejakülasyondan sonra veya kriyoprezervasyon esnasında meydana gelebilir.

SDF'nin erkek fertilitesi ve üreme potansiyeli üzerinde olumsuz bir etkisi olabilir. SDF düzeyleri daha yüksek olan erkeklerde eşin doğal yollarla gebe kalma olasılığı daha düşüktür (3). Yüksek SDF, tekrarlayan gebelik kaybı riskinde belirgin artış ile ilişkilidir (4). Ayrıca, SDF seviyeleri yardımcı üreme teknolojilerinin (ART) sonuçlarını da etkileyebilir. Yüksek SDF değerlerinin intrauterin inseminasyon (IUI) sonrası gebelik ve doğum oranlarını olumsuz etkilediği (5); in vitro fertilizasyon (IVF) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) ile de düşük gebelik ve artan düşük oranları gözlendiği tespit edilmiştir (6,7).

Erkeklerde çeşitli durumlar, bozukluklar ve maruziyetler SDF ile ilişkilendirilmiştir. Variko-

seli infertil erkeklerde SDF'nin anlamlı olarak daha yüksek olduğu (8) ve varikosektomi sonrası DNA fragmentasyon indeksinin % 5'ten fazla azaldığı bildirilmiştir (9). Erkek genital trakt enfeksiyonları da yüksek SDF düzeyleri ile ilişkilidir ve antibiyotiklerle tedavi SDF düzeylerinin düşmesine neden olabilir (10). İleri yaş, obezite, sigara, radyasyon ve çevresel toksin maruziyetleri de artan sperm DNA hasarı ile ilişkilendirilmiştir (11). Öte yandan, daha kısa cinsel perhiz süresinin SDF düzeylerini düşürdüğü bildirilmiştir (12). Antioksidanların sperm DNA'sı üzerindeki etkisini inceleyen klinik çalışmalar SDF miktarında iyileşme olduğunu bildirmiştir (13, 14). Testiküler spermin, ejakülat spermine oranla daha az SDF'ye sahip olduğu, yapılan bazı araştırmalar sonucunda da testiküler sperm kullanımının artan klinik gebelik oranı ve azalan düşük oranları gibi daha iyi sonuçlar gösterdiği savunulmaktadır (15). Teorik olarak testiküler sperm, epididimal ve dış oksidatif strese daha az maruz kaldığı için daha az invaziv yöntemlerin başarısızlığından sonra kullanılabilir. Bununla birlikte, azospermik olmayan yüksek SDF'ye sahip erkeklerde ICSI için testiküler sperm kullanımına ilişkin yayınlanan makalelerin çoğu, yeterli kontrol grupları veya canlı doğum oranları bildirmeyen küçük kohortlar veya vaka serilerinden oluşmaktadır (16).

SDF'yi ölçen testler:

- Terminal deoksinükleotidil transferaz dUTP çentik ucu etiketleme (TUNEL) testi; DNA çentik bölgelerine etiketli bir nükleotid ekler ve daha sonra floresan derecesini değerlendirir,
- Sperm kromatin dağılımı (SCD); denatürasyondan sonra çekirdeğin etrafında sağlam DNA tarafından bir halo oluşumuna ve parçalanmış DNA ile daha küçük veya eksik bir halo oluşumuna dayanır,
- Akridine oranj (AO) kullanan ve kırmızı floresan (kırılma bölgelerinde tek sarmallı DNA

MAKALE ÖZETİ

- 'ya bağlı AO) ile yeşil floresan (çift sarmallı sağlam DNA'ya bağlı AO) arasındaki oran olarak tanımlanan DNA fragmentasyon indeksini ölçen sperm kromatin yapı deneyi (SCSA);
- kuyruklu yıldızın başında bozulmamış DNA kalırken parçalanmış DNA'nın bir kuyruk oluşturduğu tek hücreli bir elektroforez olan comet assay (17).

SDF'nin erkek fertilitesi üzerindeki zararlı etkisi ile ilgili artış gösteren çalışma ve raporlar bulunmakta, bu çalışmalar ayrıca SDF'yi artıran veya azaltan dolayısıyla üremeyi etkileyebilecek çeşitli faktörleri de gözden geçirmektedir. Bu çalışmalardan Agarwal ve ark. (18) kılavuzlarını Ağustos 2020'de "The World Journal of Men's Health"de yayınlarken, Esteves ve ark. (19) Ekim 2020'de "Andrologia" de yayınlamışlardır.

METODOLOJİ

Agarwal ve ark. (18) ile Esteves ve ark. (19) tarafından hazırlanan kılavuzlar incelenmiş ve aşağıdaki gibi değerlendirilmiştir:

- Her kılavuz tarafından yapılan öneriler
- Her tavsiyeye verilen not
- Tavsiyelerin dayandığı kanıtlar

Daha sonra her iki kılavuzun önerileri karşılaştırılmış, benzerlikleri çıkarılıp aralarındaki farkları vurgulanmıştır.

BULGULAR

Her iki kılavuz tarafından yapılan öneriler

Agarwal ve ark. (18) infertil bir çiftin değerlendirilmesinde SDF testinin uygulanmasına ilişkin bir klinik algoritma oluşturmuşlar, SDF testi için 6 endikasyon ve 7 yönetim stratejisi önermişlerdir. Her bir öneriyi Oxford Kanıta Dayalı Tıp Merkezi (OCEBM) öneri derecelerini kullanarak derecelendirmişlerdir (Tablo 1).

Esteves ve ark. (19) tavsiyelerini listeleyen iki tablo (kılavuzlarında Tablo 4 ve 5) sunmuşlardır. SDF testinin teknik yönleriyle ilgili 13 adet, endikasyonlarıyla ilgili de 28 adet olmak üzere toplam 41 tavsiyede bulunmuşlardır. Her bir tavsiyeyi OCEBM derecelerini kullanarak derecelendirmişler ve ayrıca uzman görüşüne dayalı başka bir güç derecesi vermişlerdir; her bir tavsiye ya güçlü (tavsiye çoğu kişiye uygulanmalıdır) ya da koşullu (duruma göre farklı seçenekler uygun olabilir) olmuştur.

Tablo 1. Agarwal ve ark. (2020) tavsiyeleri (18)

The following men should undergo SDF testing

1. Men with unexplained or idiopathic male infertility (Grade C)
2. Couples experiencing recurrent pregnancy loss (Grade C)
3. Men with modifiable lifestyle risk factors (Grade C)
4. Men with clinical varicocele (Grade C)
5. Infertile couples prior to initiating or after failure of IUI or IVF (Grade C)
6. Couples with recurrent miscarriage following ICSI (Grades B-C)

The following treatment approaches can lower SDF (Grade C)

1. Oral antioxidant therapy
2. Lifestyle modification, including diet modification and weight loss
3. Recurrent ejaculation
4. Control of infection and inflammation

Men with varicocele and high SDF should undergo varicocelectomy (Grades B-C)

Patients with persistently high SDF should be directed towards ICSI (Grade C)

Sperm processing and preparation or testicular sperm can be used for ICSI with recurrent miscarriage and high SDF (Grades B-C)

Tavsiyeler için kullanılan kanıtlar

Her iki kılavuz da tavsiyelerini dayandırmak için meta-analizler ve yüksek kaliteli makaleler kullanmıştır. Sadece bu kanıtları nasıl sundukları konusunda farklılık göstermişlerdir. Agarwal ve ark. (18) klinik durumlar ile SDF'yi ilişkilendiren çalışmaları özetlemiş (kılavuzlarında Tablo 2) ve bunu SDF testi endikasyonlarını önermek için kullanmıştır. Ayrıca, müdahaleler ile SDF'yi ilişkilendiren çalışmaları özetlemişler (kılavuz-



larında Tablo 3) ve bunu SDF için tedavi stratejileri önermek amacıyla kullanmışlardır. Her çalışmaya OCEBM kanıt düzeylerine göre bir derecelendirme vermişlerdir. Esteves ve ark. (19) kanıtları sırasıyla teknik yönler ve klinik endikasyonlarla ilgili iki tabloda (kılavuzlarında Tablo 2 ve 3) sunup her bir ifadeyi destekleyen çalışmaları belirtmişlerdir.

TARTIŞMA

SDF, erkek üreme potansiyelini ve üreme sonuçlarını etkileyebilen önemli bir faktördür. Klinik uygulamada SDF testinin uygulanması, araştırma veya öngörü amaçlı yapılabilir ve hedeflenen yönetim stratejilerine izin verebilir. Birçok üremeye yardımcı tedavi merkezinde normozoospermisi olan veya ICSI için yeterli spermatozoası bulunan erkeklerin fertilité değerlendirilmesi ihmal edilmektedir. Bu durum, erkek faktörü değerlendirmesi için bir ürolog veya androloğa sevk edilmeden önce birkaç başarısız ART döngüsüne yol açabilir. SDF seviyesi de dahil olmak üzere erkek partnerin hızlı bir şekilde değerlendirilmesi altta yatan patolojik faktörlerin erken tanımlanmasını sağlayabilir ve gereksiz müdahalelerin veya tekrarlanan başarısız ART'nin maliyetini ve yükünü azaltarak hedeflenen tedavi yollarına yönlendirebilir. SDF testini savunan ilk topluluk, 2017 yılında SDF testi endikasyonlarını tartışan ve önerilerde bulunan ve ayrıca SDF testlerini ve yönetim stratejilerini inceleyen The Society for Translational Medicine (STM) olmuştur (20).

Avrupa İnsan Üreme ve Embriyoloji Derneği (ESHRE), tekrarlayan gebelik kaybını açıklamak için bir araç olarak SDF testinin rolünü tartışmıştır (21). Avrupa Androloji Akademisi (EAA), ART için düşünülen oligoastenoteratozoospermik erkeklerde temel semen analizinde SDF testinin ilk testlere eklenmesini önermektedir (22). Avrupa Üroloji Birliği (EAU), SDF testini yalnızca açıklanamayan infertilitesi veya tekrarlayan gebelik kaybı olan çiftlerde önermektedir (23).

Son zamanlarda, Amerikan Üroloji Derneği (AUA) ve Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (ASRM) erkek infertilitesi hakkında bir kılavuz yayınladılar ve doğurganlığın ilk değerlendirmesinde SDF testi-ne karşı tavsiyede bulundular ancak tekrarlayan gebelik kaybı yaşayan çiftlerde kullanımını ve önemini savundular (24).

Sperm DNA fragmentasyon testi

Her iki kılavuz da SDF için dört geçerli test olarak TUNEL testi, Comet assay, SCSA ve SCD testini önermektedir. Her iki kılavuz da Santi ve ark. (25) tarafından yapılan ve SDF için %20'lik bir cut-off değerinin fertil erkekleri infertil erkeklerden ayırt edebileceğini belirten bir meta-analize atıfta bulunmaktadır.

Agarwal ve ark. (18) ayrıca çeşitli ortamlarda ve farklı üreme sonuçları için SDF testleri için yayınlanmış cut-off değerlerine sahip çalışmaları özetleyen bir tablo sunmuşlar. Ayrıca, ART için SDF testlerinin tanısai değerini artırmada oksidatif stresin bir belirteci olarak oksidasyon azaltma potansiyelini ölçmenin rolünü tartışmışlar ancak bu testlerin yerine önermemişlerdir.

Esteves ve ark. (19) SDF testinin kullanımına ilişkin daha kapsamlı kanıtlar ve teknik öneriler sunmuşlar. Önerilen dört testle elde edilen sonuçların farklı şekilde raporlandığını, her zaman benzer sonuçlar vermeyebileceğini ancak laboratuvar içinde ve laboratuvarlar arasında iyi bir korelasyonla birbirleriyle iyi ilişkilendirildiklerini söylemişler. Ayrıca test sırasında ölçülen SDF seviyesini etkileyen faktörleri de tartışmışlardır. Bunlar arasında perhiz süresi, ejakülasyon ile çözülme ve test arasındaki süre, çözülmeden sonra SDF seviyesini etkileyen kriyomedya türü ve dondurma tekniği ile sperm işleme teknikleri bulunur. Bu faktörleri kontrol etmek için de önerilerde bulunmuşlardır: 2-5 günlük perhiz süresi, herhangi bir müdahalenin etkisini izlemek için sabit perhiz ve testin saf semenin likefaksiyonundan sonraki 30-60 dakika içinde, örnek donmuşsa çözme işleminden hemen sonra yapılması.

MAKALE ÖZETİ

Tablo 2. Her iki kılavuzun önerilerinin karşılaştırılması

	Agarwal et al (2020) [18]	Esteves et al (2020) [19]
Technical aspects regarding SDF testing		
Assays used to measure SDF are: TUNEL, SCSA, SCD, and Comet	The four assays were discussed as those used for SDF testing, along with pros, cons, and estimated cost No explicit recommendations	The four assays were described and any of the four is recommended to test for SDF (Grade B)
Conditions for testing	No recommendation	Recommendations regarding abstinence length and dealing with frozen specimens were made (various grades)
Thresholds for discriminating fertile and infertile men	Cut-off of 20% described in text No explicit recommendations	Cut-off of 20% (SCSA, TUNEL, SCD) and 26% (Comet) (Grade B)
Thresholds for predicting reproductive outcomes	Various cut-off values in different conditions summarized in a table No explicit recommendations	Thresholds exceeding 20-30% indicate a higher likelihood of adverse reproductive outcomes (Grade B)
Indications for SDF testing		
UMI & IMI	Recommended (Grade C)	Recommended (Grades B-C)
RPL	Recommended (Grade C)	Recommended (Grades B-C)
IUI	Recommended (Grade C) (before or after failure)	Recommended (Grades B-C) (before or after failure)
IVF	Recommended (Grade C) (before or after failure)	Recommended (Grades B-C) (before or after failure)
ICSI	Recommended (Grades B-C) (only after failure due to recurrent miscarriage)	Recommended (Grades B-C) (before and after failure)
Clinical varicocele	Recommended (Grade C)	Recommended (Grade C)
Risk factors	Recommended (Grade C)	Recommended (Grade C)
Sperm cryopreservation	No recommendation	Recommended (Grade D)
Management of SDF		
Antioxidant use	Recommended (Grade C)	No recommendation
Recurrent ejaculation	Recommended (Grade C)	No recommendation
Control of inflammation	Recommended (Grade C)	No recommendation
Lifestyle modification	Recommended (Grade C)	Recommended within the context of testing (Grade C)
Varicocelectomy	Recommended (Grades B-C)	Discussed within the context of testing No explicit recommendation
ICSI if persistently high SDF	Recommended (Grade C)	Recommended (Grades B-D) - grades varied depending on context of elevated SDF (UMI/IMI/RPL or IUI or IVF or risk factors)
Alternative Method of Sperm Selection after failed ICSI	Recommended (Grades B-C)	No recommendation
Testicular Sperm after failed ICSI	Recommended (Grades B-C)	Recommended (Grade B)

Grades for recommendations are based on Oxford Centre for Evidence-Based Medicine (OCEBM) grades of recommendation.

SDF: sperm DNA fragmentation, TUNEL: terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labelling, SCSA: sperm chromatin structure assay, SCD: sperm chromatin dispersion, UMI: unexplained male infertility, IMI: idiopathic male infertility, RPL: recurrent pregnancy loss, IUI: intrauterine insemination, IVF: *in vitro* fertilization, ICSI: intracytoplasmic sperm injection.



Esteves ve ark. YÜT'de SDF'nin öngörü potansiyelini de tartışmışlar ve %20-%30 eşik değerlerinin gerek spontan gerekse ART sonrası olumsuz gebelik sonuçlarıyla ilişkili olduğu sonucuna varmışlar ancak bu öngörünün mutlak olmadığını da kabul etmişlerdir. Bu testlerin öngörücü gücünü etkileyen faktörlerle ilgili; (1) DNA hasarının türü, bölgesi ve kapsamı, (2) etkilenen hücre sayısı, (3) oositin SDF'yi onarma yeteneği, (4) IVF/ICSI ile gebeliği tahmin etmede kadın yaşı, ve (5) semen hazırlığı üzerinde durmuşlardır.

Her iki kılavuz da dört SDF testini karşılaştıran tablolar sunmuştur. Esteves ve ark. her bir testin prensibi, cut-off değerleri ve her biri için numune gereklilikleri hakkında daha kapsamlı bir açıklama sunarken, Agarwal ve ark. her birinin artılarını, eksilerini ve tahmini maliyetini sunmuştur.

Sperm DNA fragmentasyonu testi endikasyonları

Genel olarak, her iki kılavuz da SDF testinin gerekli olabileceği benzer durumları listelemiştir. Agarwal ve ark. literatürdeki kapsamlı verileri, SDF'yi hem doğal hem de yardımla üreme için gebelik sonuçları veya hasta koşulları ve infertiliteye katkıda bulunabilecek faktörler gibi çeşitli durumlarla ilişkilendiren bir tabloda özetlemiştir. Esteves ve ark. da SDF'nin ART üzerindeki etkisini kapsamlı bir şekilde incelemiş ve ART başarısızlığından sonra ART'ye (IUI, IVF veya ICSI) başlamadan önce SDF testini önermiştir.

Her iki kılavuz da klinik varikoselde SDF testini ameliyat önerisini yönlendirmek için bir araç olarak tartışmış ve önermiştir. Esteves ve ark. subklinik varikoselde test yapılmamasını önermiştir. Her iki kılavuz da idiyopatik erkek infertilitesi, açıklanamayan erkek infertilitesi ve tekrarlayan gebelik kaybı için SDF testi yapılmasını önermiştir. Ayrıca her ikisi de yaşam tarzı ve maruziyet risk faktörlerinin olumsuz etkilerini gözden geçirmiştir. Esteves ve ark. SDF testi için

bir endikasyon olarak sperm kriyoprezervasyonunu da dahil etmiş ve dondurmanın artan oksidatif stres nedeniyle spermi olumsuz etkileyebileceğine dair kanıt sağlamıştır.

Sperm DNA fragmentasyonunun yönetimi

Esteves ve ark. test endikasyonları bağlamında yönetime ilişkin kanıtları tartışmış ve yönetim stratejileri önermiştir. Bunlar arasında altta yatan faktörlerin tedavisi, yaşam tarzı önerileri, SDF seviyeleri yüksek kalırsa ICSI ve ICSI başarısız olursa testiküler sperm eldesi bulunmaktadır. Anormal SDF seviyelerinin tespit edildiği durumlarda bir uzman tarafından kapsamlı bir değerlendirme yapılmasının önemini vurgulamışlardır.

Agarwal ve ark. yönetim stratejileri için bir bölüm ayırmış ve her bir stratejiye ilişkin kanıtları özetleyen başka bir tablo sunmuştur. Antioksidan kullanımının yararına ilişkin 1. seviye kanıtlara atıfta bulunmuşlardır. Varikoselektominin yararına ilişkin kapsamlı kanıtlar sunmuşlar ve genital sistem enfeksiyonlarının tedavisinde antibiyotiklerin rolünü tartışmışlardır.

Esteves ve ark. cinsel perhiz süresi ve bunun SDF seviyesi üzerindeki etkisini, göz önünde bulundurulması gereken bir faktör olarak değerlendiren; Agarwal ve ark. bunu bir tedavi stratejisi olarak önermiş ve tekrarlayan ejakülasyonu SDF'yi azaltmanın bir yolu olarak sunmuşlardır.

Esteves ve ark. gibi, Agarwal ve ark. da SDF yüksekliği devam eden erkeklerin ICSI'ye yönlendirilmesi gerektiğini ve ICSI başarısızlığında testiküler spermin kullanılabileceğini savunmuştur. Bununla birlikte, Agarwal ve arkadaşları ayrıca daha az invaziv bir yöntem olarak ICSI başarısızlığında sperm seçim tekniklerinin kullanılmasını tavsiye ederek kanıt sağlamışlar. Gerekçeleri ise şunlardır: (1) SDF testi testiküler sperm için doğrulanmamıştır, bu da testiküler SDF seviyelerinin yorumlanmasını zorlaştırmaktadır, (2) bir-

MAKALE ÖZETİ

kaç çalışma testiküler sperm kullanımının ART sonuçları üzerinde olumlu bir etkisi olduğunu bildirse de kanıt kalitesi düşüktür ve son olarak (3) ICSI'de testiküler kaynaklı sperm kullanımı konusunda fikir birliği yoktur.

Son olarak, en iyi uygulama için bir rehber olarak kullanılabilecek her iki kılavuza ait önerileri Tablo 3'te birleştirdik ve özetledik.

Tablo 3. Her iki kılavuzun önerilerinin karşılaştırılması

Testing for SDF

- **Any of the following assays can be used to provide valid and reliable information on SDF levels: TUNEL, Comet, SCSA, and SCD**
- **A cut-off level of 20% can be used to distinguish fertile from infertile men**
- Cut-off values for prediction of various pregnancy outcomes differ according to various factors, but adverse outcomes are generally associated with levels above 20%–30%
- Testing for SDF should be done after 2–5 days of ejaculatory abstinence
- SDF tests should be performed within 30–60 minutes after liquefaction or immediately after thawing

Indications for SDF testing

- **Unexplained or idiopathic male infertility**
- **Recurrent pregnancy loss**
- **Clinical varicocele**
- **Lifestyle risk factors**
- **Before or after failure of ART–IUI, IVF, ICSI**
- Recurrent pregnancy loss after ICSI
- Sperm freezing

Management of SDF

- **Lifestyle advice and modification**
- Use of antioxidants
- Recurrent ejaculation
- **Treatment of underlying conditions – varicocelectomy, antibiotics**
- **Use of ICSI if SDF persistently elevated**
- Another method for sperm selection after failed ICSI
- **Testicular sperm for failed ICSI**

Items in bold are common to both guidelines.

SDF: sperm DNA fragmentation, TUNEL: terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labelling, SCSA: sperm chromatin structure assay, SCD: sperm chromatin dispersion, ART: assisted reproductive technologies, IUI: intrauterine insemination, IVF: *in vitro* fertilization, ICSI: intracytoplasmic sperm injection.

SONUÇLAR

Sonuç olarak, her iki kılavuz da SDF testine ilişkin kapsamlı kanıtlar ve bilgiler sunarak benzer durumlar için test yapılmasını önermektedir. Esteves ve ark. SDF testinin teknik yönlerini geniş bir şekilde değerlendirip tavsiyede bulunmaktadır. Agarwal ve ark. daha çok tedavi stratejilerine odaklanmakta ve olası yönetim yaklaşımlarına ilişkin bir algoritma sunmaktadır. Her iki kılavuz da kapsamlı, SDF konusunda bilgi edinilmesini sağlayacak ve birbirlerini tamamlayacak niteliktedir.

MAKALE ÖZETİ

> Fertil Steril. 2021 Dec;116(6):1483-1490. doi: 10.1016/j.fertnstert.2021.06.049. Epub 2021 Aug 8.

Sperm DNA fragmentation index and cumulative live birth rate in a cohort of 2,713 couples undergoing assisted reproduction treatment

Sladjana Malić Vončina¹, Amelie Stenqvist², Mona Bungum³, Tommy Schyman⁴, Aleksander Giwercman¹



Hazırlayan:
Uzm. Dr. Neslihan KOÇ
Trabzon Kanuni EAH
Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi

Yardımcı üreme tedavisi gören 2.713 çiftlik bir kohortta sperm DNA fragmantasyon indeksi ve kümülatif canlı doğum oranı

Amaç: Sperm DNA fragmantasyon indeksi (DFI) yüksek olan çiftlerde ilk seçilen yardımcı üreme tedavisi tipinin kümülatif canlı doğum oranını (CLBR) nasıl etkilediğini araştırmak.

Hastalar: 2007-2017 yılları arasında yardımcı üreme tedavisi gören toplam 2.713 infertil çift çalışmaya dahil edildi. Çiftlere sunulan tüm IVF/ICSI tedavileri (üç sıklusa kadar taze ve ilgili tüm donmuş embriyo transferleri) olmak üzere toplam 5.422 siklus değerlendirildi.

Ana Sonuç Ölçütleri: Birincil sonuç CLBR idi. İkincil sonuçlar, döllenme oranı ve düşük oranıydı.

Sonuç: IVF grubunda CLBR değerleri normal DFI'li çiftler için, yüksek DFI'li (≥ 20) çiftlere kıyasla daha yüksek (sırasıyla, konservatif CLBR tahmini için %48,1'e karşı %41,6 ve kadın yaşı için düzeltme yapıldıktan sonra optimal CLBR tahmini için %55,6'ya karşı %51,4) bulundu. ICSI grubunda DFI'ye bağlı bir fark görülmedi.

Tartışma: Sonuçlarımız, yardımcı üremenin ilk siklusunda ICSI yerine IVF uygulanırsa, yüksek bir DFI'nin istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük bir CLBR öngördüğünü gösterdi.



MAKALE ÖZETİ

İsveç'teki tüm çocukların yaklaşık %4'ü, yardımcı üreme tedavisi (assisted reproductive technology-ART); standart in vitro fertilizasyon (in vitro fertilization-IVF) veya intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (intracytoplasmic sperm injection-ICSI) sonucu dünyaya gelmiştir. Önemli fiziksel ve psikolojik stresle ilişkili olmasının yanı sıra, IVF/ICSI tedavileri, hem tedavilerin maliyeti hem de çalışma saati kaybı nedeniyle kaynak tüketir. Bu nedenle hem hastalar hem de toplum üzerindeki yükü en aza indirmek için ART tedavilerini canlı doğum oranı (live birth rate-LBR) açısından mümkün olduğunca verimli hale getirmek önemlidir.

Bugün, ICSI ve standart IVF arasındaki seçim, temel olarak geleneksel bir semen analizinin sonuçlarına; ham semen numunesindeki spermatozoanın konsantrasyonu ve motilitesi ile sperm hazırlama prosedürlerine dayanmaktadır. Standart IVF ile düşük fertilizasyon oranı gibi diğer faktörler sonraki döngülerde ICSI'ye geçişe yol açabilir.

Birkaç çalışma, yüksek bir sperm DNA fragmentasyon indeksinin (DFI) kötü bir ART sonucu ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Biz —ilk ART siklusu için— sperm kromatin yapı testi (sperm chromatin structure assay-SCSA) ile değerlendirilen DFI >20 ise, canlı doğum olasılık oranının (OR) DFI <20 olan siklusa kıyasla yaklaşık 0,6 olduğunu bildirdik. Yayınlanan verilerin tümüyle olmasa da bazılarıyla uyumlu olarak ICSI tedavileri için de böyle bir etki bulamadık.

ART uygulanan hastalarda DFI testinin rutin olarak yapılıp yapılmaması hala tartışma konusudur. DFI ölçümlerini standart bir prosedür olarak uygulamakla ilgili olarak maliyet-yarar analizleri yapmanın önündeki engellerden bazıları; mevcut verilerin tek siklusa dayanması, birden fazla siklus içeren ART prosedürlerinin karmaşıklığı ve IVF ve ICSI'nin yanı sıra bir çift sunulan taze ve dondurulmuş embriyo transfer-

lerinin birlikteliğinin dikkate alınmamasıdır. Bu nedenle, bir çiftte sunulan tüm tedavileri içeren kümülatif LBR (cumulative live birth rate-CLBR), ART'nin sonucu için daha iyi bir ölçü olabilir.

Merkezimizde IVF ve ICSI için kullanılan ejakülat spermlerinin SCSA DFI analizleri 2007 yılından itibaren rutin olarak yapılmaktadır. Bu nedenle çalışmanın birincil amacı, ilk ART tedavisinin IVF veya ICSI olmasına bağlı olarak yüksek bir DFI'nin CLBR üzerindeki etkisini araştırmaktır. İkincil amaçlar olarak, DFI'nin IVF ve ICSI tedavilerinde fertilizasyon oranları (fertilization rate-FR) ve düşük oranı üzerindeki etkisini de araştırdık.

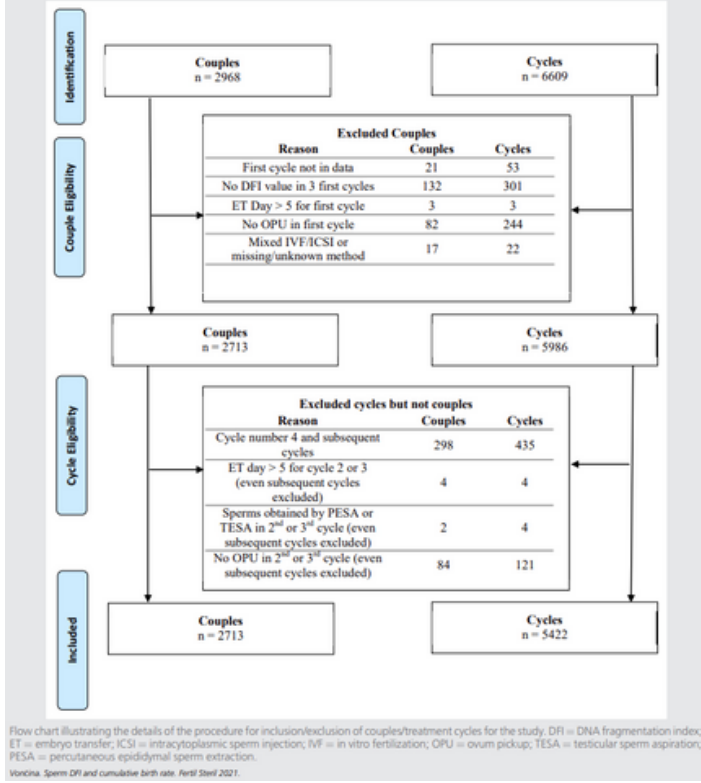
MATERYAL VE METOT

Veriler, 2007 ve 2017 yılları arasında Malmö, İsveç'teki Skåne Üniversitesi Hastanesi, üçüncü basamak Üreme Tıbbi Merkezinde (RMC) ART sikluslarına ilişkin boylamsal bir kohort çalışmasından elde edilmiştir.

Kohort özellikleri

En az bir yıldır infertilitesi olup, 2007 ile 2017 yılları arasında RMC, Malmö'de IVF/ICSI tedavisi almış ve IVF/ICSI tedavisi için kullanılan bir ejakülat için en az bir DFI değerine sahip çiftlerin araştırmaya katılmaları istendi. Dahil etme kriterleri; kadının ≤ 40 yaşında olması, vücut kitle indeksinin <30 kg/m² olması veya vücut kitle indeksi 30-35 kg/m² ise ≥ 10 kilo vermiş olması, her iki partnerin de sigara içmemesi, erkek partnerin >55 yaşında olmaması ve $\geq 1 \times 10^6$ /mL sperm konsantrasyonuna sahip olmasıydı. Çalışmaya, 5.422 taze ve donmuş siklusu olan 2.713 çift dahil edildi (Şekil 1). Bir IVF/ICSI tam döngüsü, yumurtalık uyarımı ile ortaya çıkan taze ve donmuş tüm embriyo transferleri olarak tanımlandı. İlk siklusta standart IVF gerçekleştirme kriteri, ejakülatın gradyan santrifüjlenmesinden sonra $\geq 5 \times 10^6$ spermatozoaya sahip olmasıydı.

MAKALE ÖZETİ



Şekil 1: Çalışmaya seçilen çiftlerin dahil edilme/dışlanma kriterleri

İstatistiksel analiz

Çiftler, mevcut ilk yöntem (IVF veya ICSI) göre iki gruba ayrıldı. Tedavi grupları ve alt gruplar için tanımlayıcı istatistikler, Student t testi kullanılarak karşılaştırıldı. DFI kategorize edilirken çiftin ilk kullanılabilir DFI değeri dikkate alındı. Konservatif ve optimal CLBR'ler hesaplandı. Konservatif CLBR, bir sonraki döngüye ilerlemeyen çiftlerin canlı doğum yapma olasılığının sıfır olacağını varsayıyordu. Optimal CLBR, bir sonraki döngüye ilerlemeyen çiftlerin, bir sonraki döngüye ilerleyen çiftlerle aynı canlı doğum olasılığına sahip olacağını varsayıyordu. Her siklus için, o siklusa kadar ve o siklus dahil olmak üzere canlı doğum yapan çiftlerin sayısı güncel gruptaki toplam çift sayısına bölündü. Düşük oranı, düşük sayısının gebelik sayısına bölünmesiyle hesaplandı. Önceki bulgular, DFI >%20 olduğunda standart IVF tedavilerinde canlı doğum şan-

sının azaldığını göstermiştir. Buna göre DFI <%20 normal olarak ve DFI ≥%20 yüksek olarak kategorize edildi. Literatür araştırmasına göre düşük sayısının, DFI >%40 olduğunda önemli ölçüde arttığı görüldü. Bu nedenle, düşük yapma oranı analiz edilirken cut-off seviyesi olarak %40'lık bir DFI kullanıldı.

BULGULAR

Dahil edilen tüm çiftler arasında %36,0'ı bir kürü, %28,1'i iki kürü ve geri kalan %35,9'u üç kürü tamamladı. Tablo 1, ilk tedaviye göre gruplandırılmış birinci tam döngünün başlangıcındaki çiftlerin temel özelliklerini sunar.

IVF grubunda (n=1,718) çiftlerin %71,2'si (n=1,224) tüm sikluslar için IVF yaptırmış ve %27,7'si (n=476) ICSI'ye geçmiştir. Bu gruplar için ortalama (±SD) DFI değerleri sırasıyla %12,9 (±%7,46) ve %15,7 (±%9,12) idi.

Tablo 1: Tedavi tipine göre ilk tedavi siklusunda çiftlerin temel özellikleri

Baseline characteristics of couples at the first treatment cycle according to the treatment type.			
Variables	Total	ICSI	IVF
Couples (n)	2,713	995	1,718
Age women (y)	32.4 (4.1)	31.8 (4.1)	32.8 (4.1)
BMI women	23.6 (3.3)	23.7 (3.3)	23.5 (3.3)
DFI (%)	15.9 (9.8)	19.7 (11.3)	13.7 (8.1)
FR (%)	53.0 (28.0)	59.65 (26.7)	49.3 (28.0)
Good quality embryo (n)	2.0 (1.7)	1.9 (1.7)	2.0 (1.7)

Note: The group characteristics are expressed as mean (SD). The DFI is the first available value in the database for a couple. BMI = body mass index; DFI = DNA fragmentation index; FR = fertilization rate.

Voncina. Sperm DFI and cumulative birth rate. Fertil Steril 2021.

DFI, tedavi tipi ve FR

FR; IVF için %49, ICSI için %59'du. DFI ile FR arasında IVF için negatif istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardı (-0,34; %95 güven aralığı [CI]: -0,49, -0,19; P<.001), bu da DFI'deki her yüzde puanlık artış için FR'de yüzde 0,34 puan azalma anlamına geliyordu. ICSI için anlamlı bir ilişki yoktu (0,002; %95 GA:-0,106, 0,11; P=.973).

MAKALE ÖZETİ

DFI, tedavi tipi ve CLBR

IVF grubundaki iki DFI kategorisi karşılaştırıldığında, CLBR değerleri normal DFI grubunda yüksek DFI grubuna göre daha yüksekti (konservatif CLBR için %48,1'e karşı %41,6; optimal CLBR için %55,6'ya karşı %51,4) ve düzeltilmemiş bir modelde her iki tahmin için de istatistiksel anlamlılık düzeyine ulaştı (sırasıyla $P = .042$ ve $P = .019$). Bu fark, kadın yaşı için düzeltme yapıldıktan sonra yalnızca optimal CLBR tahminleri için istatistiksel olarak anlamlı kaldı (konservatif ve optimal tahminler için sırasıyla $P = .115$ ve $P = .045$). ICSI tedavi kategorilerinde DFI'ye bağlı fark görülmedi (%45,0'a karşı %46,5, $P = .638$ konservatif CLBR tahminleri için normal ve yüksek DFI; %53,7'ye karşı %52,9, $P = .973$ optimum CLBR tahminleri için normal ve yüksek DFI) (tablo 2). İlk ART siklusunda ejakülat üzerinde ölçülen DFI değerlerinin %87'sine dayanan bir duyarlılık analizi, daha önce sunulan risk tahminlerinde herhangi bir değişiklik göstermedi.

DFI ve düşük oranı

Üç siklusu tamamladıktan sonra kohortun hesaplanan genel düşük oranı tahminleri Tablo 3'te sunulmuştur. Cut-off değeri olarak %40'lık bir DFI kullanıldığında, ilk DFI değerinin <%40 olduğu grupta düşük yapma oranı %31,3 iken, DFI'nin

≥%40 olduğu grupta %39,1'dir (OR= 1,44; %95 GA 0,83–2,51; $P = .195$) (Tablo 3).

TARTIŞMA

Sperm DFI'si ≥%20 olan çiftlerin -daha düşük DFI değerlerine sahip olanlara kıyasla- ilk tedavi siklusu için ART yöntemi olarak standart IVF kullanıldığında daha düşük bir CLBR elde ettiğini bulduk, oysa bu ICSI tedavisi için doğru değildi. Konservatif hesaplama modeli için %16 ve optimal tahmin için %8'lik bağıl fark, düzeltilmemiş modellerde istatistiksel olarak anlamlıydı ve ikinci hesaplama yöntemi için, kadın yaşı için düzeltme yapıldıktan sonra bile bu şekilde kaldı.

Ek olarak bu farkın, en azından kısmen, ICSI prosedürlerinde değil, klasik IVF'te DFI ve FR arasındaki negatif bir ilişki ile açıklanabileceğini bulduk. DFI ≥%40 olduğunda göreceli olarak %25 daha yüksek düşük oranı vardı; ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Bildiğimiz kadarıyla bu, DFI ile ilgili tek bir siklusun sonucunu değil, CLBR'yi inceleyen ilk rapordur ve ART bağlamında DFI testinin yararlılığına ilişkin süregelen tartışmaya katkıda bulunur. Birkaç çalışma, yüksek bir DFI'nin daha kötü

Tablo 2: Tedavi tipine göre ilk tedavi siklusunda çift-lerin temel özellikleri

Cumulative live birth rate according to sperm DNA fragmentation index (<20% vs. ≥20%) and method of fertilization (IVF vs. ICSI).							
Cumulative live birth rate % (95% CI)							
Group	Cycle	Couples ^a (live births)	DFI <20%		DFI ≥20%		
			Conservative	Optimal	Couples ^a (live births)	Conservative	Optimal
IVF	1	1,413 (376)	26.6 (24.3; 28.9)	26.6 (24.4; 29.0)	305 (54)	17.7 (13.4; 22.0)	17.7 (13.9; 22.4)
	2	856 (205)	41.1 (38.6; 43.7)	44.2 (41.5; 47.0)	210 (45)	32.5 (27.2; 37.7)	35.3 (30.0; 41.3)
	3	479 (98)	48.1 (45.5; 50.7) ^b	55.6 (52.7; 58.6) ^c	113 (28)	41.6 (36.1; 47.2) ^b	51.4 (44.9; 58.2) ^c
ICSI	1	580 (137)	23.6 (20.1; 27.1)	23.6 (20.4; 27.3)	415 (99)	23.9 (19.8; 28.0)	23.9 (20.0; 28.2)
	2	372 (72)	36.0 (32.1; 39.9)	38.4 (34.4; 42.7)	279 (59)	38.1 (33.4; 42.7)	40.0 (35.3; 45.0)
	3	209 (52)	45.0 (41.0; 49.1) ^d	53.7 (49.0; 58.6) ^e	163 (35)	46.5 (41.7; 51.3) ^d	52.9 (47.6; 58.3) ^e

Note: CI = confidence interval; CLBR = cumulative live birth rate; DFI = DNA fragmentation index; ICSI = intracytoplasmic sperm injection; IVF = in vitro fertilization.

^a Couples with at least one live birth per complete cycle.

^b Unadjusted/adjusted comparison of DFI<20% vs. DFI ≥20% for the conservative CLBR, $P = .042/.115$.

^c Unadjusted/adjusted comparison of DFI<20% vs. DFI ≥20% for the optimal CLBR, $P = .019/.045$.

^d No statistical significance in either the unadjusted or adjusted comparison of DFI<20% vs. DFI ≥20% for the conservative CLBR.

^e No statistical significance in either the unadjusted or adjusted comparison of DFI<20% vs. DFI ≥20% for the optimal CLBR.

Vončina. Sperm DFI and cumulative birth rate. Fertil Steril 2021.

MAKALE ÖZETİ

Tablo 3:

Overall miscarriage rate and association with sperm DNA damage extent.				
Cycle	Group	No. of pregnancies	No. of miscarriages	Miscarriage rate (%)
All three cycles	Overall	1,926	607	31.5
Cycle 1		996	313	31.4
Cycle 2		592	184	31.1
Cycle 3		338	110	32.5
All three cycles	DFI <40%	1,862	582	31.3 ^a
	DFI ≥40%	64	25	39.1 ^a

Note: DFI = DNA fragmentation index.
^a No statistically significant difference between groups.
Vorčina. Sperm DFI and cumulative birth rate. Fertil Steril 2021.

bir ART sonucu ile ilişkili olabileceğini göstermiş olsa da, bu yöntemin klinik kullanımı hala sorgulanmaktadır. Önceki çalışmaların bariz bir kısıtlılığı, yalnızca tek bir tedaviye dayanmaları, oysa hastanın ve toplumun bakış açısından, tüm tedavilerin kümülatif sonucunun önemli ölçüde daha büyük olmasıydı.

Genellikle ilk ART siklusunda uygulanan fertilizasyon yöntemi büyük ölçüde ham ejakülat üzerinde ve yüzdürme veya gradyan santrifüjleme prosedüründen sonra yapılan standart bir semen analizi ile belirlenir. Birinci veya sonraki herhangi bir siklusta tedavinin başarısız olması durumunda, standart IVF, örneğin yetersiz fertilizasyon nedeniyle ve/veya hastanın talebi üzerine ICSI olarak değiştirilebilir. Bu nedenle, ilk ART prosedürü için en uygun yöntemi seçmek için yeni bir kriter getirmenin CLBR üzerinde herhangi bir etkisinin olup olmayacağı önemli bir sorudur.

Çalışmamız, ilk ART girişiminden önce karar verme sürecine bir DFI analizinin dahil edilmesinin genel tedavi sonuçlarını iyileştirebileceğini göstermiştir. DFI ≥%20 olan ve geleneksel kriterlere göre standart IVF uygulanan çiftlerin %18'inde CLBR, DFI <%20 olan çiftlerden daha düşüktü; ICSI yöntemiyle tedavi edilen çiftler için ise DFI düzeyi herhangi bir rol oynamadı. Kadın yaşı için düzeltme yapıldıktan sonra, konservatif hesaplama yönteminde değil ama optimal hesaplama yöntemi uygulandıktan sonra

fark istatistiksel olarak anlamlı kaldı. İkincisi, tedaviyi bırakan çiftlerin sonraki döngüde canlı doğum olasılığının sıfır olduğu varsayımına dayanıyordu. Bu, bazı kötü prognozlu çiftler için doğru olsa da, İngiliz ve İskandinav araştırmaları, ART ile tedavi edilen tüm çiftlerin yalnızca %25-30'unun bu kategoriye ait olduğunu göstermiştir.

CLBR'deki %4'lük bir fark (%51,4 ile %56,6 arasında) nispeten küçük olarak kabul edilse de, yakın zamanda yayınlanan bir sistematik derlemede belirtildiği gibi, %1'lik bir iyileşme bile dünya çapında her yıl binlerce ek canlı doğum anlamına gelecektir. Ayrıca, birçok çift bir IVF kliniği seçerken LBR'nin birincil öneme sahip olduğunu düşünür ve merkezler arasındaki farkın sıklıkla <%5 olduğu bildirilir. Ayrıca araştırmacılar, üreme tıbbındaki en büyük çalışmaların LBR'de makul gelişmeler tespit etmesinin olası olmadığı ve meta-analizlerin bu eksikliği telafi etmediği sonucuna varmışlardır. Bu nedenle, bulgularımızın klinik olarak anlamlı olduğunu düşünüyoruz.

DFI ≥%40 ve <%40 olan çiftler arasındaki düşük oranlarındaki fark %8'e yakındı ancak istatistiksel olarak anlamlı değildi. Yüksek DFI grubunda 64 siklus ve 25 düşük ile tip II hata riski göz önünde bulundurulmalıdır.

Çalışmamızın en büyük gücü, >5.000 tedavi siklusunun dahil edilmesi ve CLBR'yi klinik son



nokta olarak kullanma olasılığıydı. Ek olarak, tüm tedaviler tek merkezde yapıldı ve ART sikluslarının >90 'ı tek embriyo transferi olarak yapıldı. Hesaplamalar ilk ART siklusu için uygulanan yöntemeye dayanıyordu ancak vakaların yalnızca 87 'sinde bu tedavi için kullanılan ejakülatin DFI değeri mevcuttu. DFI'de önemli birey içi farklılıklar bildirilmiş olmasına rağmen, erkeklerin sadece küçük bir kısmının yüksekten düşük DFI değerlerine geçtiğini veya bunun tersini bulduk. Ayrıca ilkinden sonraki ART tedavilerinin birine ait DFI'de önemli bir değişiklik nedeniyle yanlış sınıflandırma, yüksek ve düşük DFI grupları arasındaki CLBR farkını azaltma eğiliminde olacaktır. Duyarlılık analizi, yalnızca ilk sikluslarında DFI ölçümü olan çiftlere bakıldığında sonuçların sabit kaldığını gösterdi.

Bazı çiftlerde uygulanan 2. ve 3. kürlerde ART tedavisinin tipindeki değişikliği dikkate almadık. Bu bir zayıflık olarak görülebilse de avantajı, proje tasarımımızın tedavi stratejisi değişikliğine ilişkin kararların çeşitli olası prognostik faktörlere dayandığı gerçek yaşam durumunu yansıtmasıydı. İlginç bir şekilde, zayıf fertilizasyon veya fertilizasyon başarısızlığı, standart IVF'den ICSI'ye geçişin yaygın bir nedeniydi ve çalışmamız, önceki bulgulara benzer şekilde IVF'te DFI ile FR arasında negatif bir ilişki gösterdi ancak bu durum ICSI tedavilerinde geçerli değildi.

SONUÇ

Sonuç olarak, verilerimiz ilk ART siklusunda standart IVF kullanımının (bir çiftte sunulan üç tam tedavi siklusu tasarımı) DFI ≥ 20 olan vakalarda, DFI'si bu seviyenin altında olanlara kıyasla daha düşük bir CLBR anlamına geldiğini göstermiştir.

MAKALE ÖZETİ

Review

> Br J Biomed Sci. 2022 Feb 2;79:10129. doi: 10.3389/bjbs.2021.10129. eCollection 2022.

Round Cells in Diagnostic Semen Analysis: A Guide for Laboratories and Clinicians

S Long ¹, S Kenworthy ²



Hazırlayan:

Uzm. Dr. Şadiye CANPOLAT

Antalya EAH

Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi

Tanısal semen analizinde yuvarlak hücreler: laboratuvarlar ve klinisyenler için bir kılavuz

ÖZET

Seminal sıvıdaki yuvarlak hücreler, lökositler ya da immatür germ hücreleri olarak tanınır. Semen analizi yapan laboratuvarlar genellikle bu hücre tiplerini birlikte konsantrasyon olarak rapor eder. Bu hücrelerin (özellikle lökositlerin) infertilitedeki klinik önemi tartışma konusu iken bu hücre tiplerini ayırt etmek için kullanılan yöntemler çoğu tanı laboratuvarının kapsamı dışındadır. Bu makale, yuvarlak hücrelerin tanımlanması, ayırt edilmesi ve yorumlanması için yardımcı olmayı; klinisyenleri, hastaların gereksiz antibiyotik kullanımını azaltmaya ve ileri değerlendirmeye yönlendirmeyi amaçlamaktadır.

Çoğu laboratuvar, tanısal semen analizini (TSA) mevcut Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ/WHO) kılavuzlarıyla uyumlu hale getirirken, TSA teknikleri ve klinik tedavi, hücresel ve moleküler sperm fonksiyonunu inceleyen araştırmalardaki gelişmeye kıyasla zorlukla ilerlemiştir (3). Semende bulunan lökositler ve immatür germ hücreleri birlikte "yuvarlak hücreler" olarak tanımlanır (2). WHO 2021, yuvarlak hücre konsantras-

yonu tespiti için yöntemleri ve bu hücre tiplerinin doğrulanması için daha fazla özgül tekniği detaylandırır. Yuvarlak hücreleri tiplerine ayırmak uzmanlık gerektirir ve fertilite ve müteakip eylemler üzerindeki etkisi laboratuvar/klinisyen yaklaşımı için net bir şekilde tanımlanmamıştır. Bu makale, yuvarlak hücreleri tanımanın, hücre tipleri arasında ayırım yapmanın önemini gözden geçirmeyi ve bunu hem laboratuvar hem de klinik açıdan ele almayı amaçlamaktadır.

MAKALE ÖZETİ

Tablo 1: Fertilite sorgusunda semen analizini değerlendirmek için asgari hasta öyküsü içeriği

Question	Justification
Have you had any illnesses within the past 6 months?	To ascertain if any febrile illnesses or other infections that may contribute to sperm quality and findings (38).
How often do you ejaculate through either sexual intercourse or masturbation?	Discussed within text.
Have you had any surgery?	Some abdominal surgery may cause disruption of the reproductive tract. At the very least, the surgery may have been due to a GU issue.
Have you ever had any cancer treatment?	Cancer treatment may include the use of cytotoxic drugs. These can induce severe oligozoospermia, azoospermia or an increase in germ cell populations (35).
Do you take any recreational drugs, smoke or drink alcohol?	Several studies document the effects of recreational drugs and alcohol on sperm parameters and round cells (39-42). The use of these drugs may also impact sexual and endocrine function.
Have you been diagnosed with any conditions? This may be genetic or otherwise.	This is an open question but can be tailored and adapted depending on the service. It is aimed at understanding if there are any issues that may impact fertility or findings in semen.

Lökositlerin Bağışıklık Yanıtındaki Önemi ve Semen ile İlişkisi

Lökositler semende; nötrofiller %12, makrofajlar %0,9 ve lenfositler %0,1 olmak üzere sperm dışı hücrelerin %13'ünü oluşturur (6). Semende yüksek lökosit varlığının genellikle genitoüriner sistem (GÜS) enfeksiyonunu, aksesuar bez enfeksiyonunu veya enflamatuar süreci işaret ettiği varsayılır (7, 8). Bildirilen bakteriyospermi prevalansı değişkendir (%6-68) (9) ancak lökositospermik örneklerin yaklaşık %50-80'inde mikrobiyal enfeksiyon bulunamamıştır (10).

Semen örneklerinin rutin mikrobiyolojik kültürü ile ilgili çeşitli kısıtlılıklar mevcuttur. Bu konudaki standart işleyiş prosedürleri ve ilgili kılavuzlar sınırlıdır ve normal zengin seminal sıvı mikrobiyomu ile yaygın olmayan patojenleri ve diğer enfektif ajanları içermez. Multiplex PCR ve yeni nesil dizileme teknikleri daha fazla bilgi vermeye başlamıştır (9, 12).

Prostatite neden olan etkenler arasında *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella*, *Enterococcus*, *Enterobacter*, *Proteus* ve *Serratia* türleri bulunur (13). *E. coli* testi pozitif olan semptomatik prostatit hastalarının (13) bir kısmında cilt florası kontaminasyonundan kay-

naklandığı görülmektedir (14-16). Erkek aksesuar bez enfeksiyonlarına (MAGI) sıklıkla lökositospermi, reaktif oksijen türlerinde (ROS) artış ile sperm kalitesi ve fonksiyonunda azalma eşlik eder (17, 18). Aksesuar bezlerde enfeksiyon varlığı klinik olarak obstrüksiyona, orşite ve seminal sıvı üretiminde bozulmaya neden olabilir (17). Ejakulatuar kanal tıkanıklığında (EDO), semen analizinde düşük seminal pH, düşük hacim ve azospermi belirgindir. *E. coli*'ye ek olarak, gram-negatif bakteriler *Neisseria gonorrhoea*, *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* ve mantar etkeni *Candida albicans* dahil olmak üzere çeşitli mikroorganizmalar MAGI'ye katkıda bulunabilir (17, 18). Bakteriyel kaynaklı idrar yolu enfeksiyonlarının (iYE), epitelyal hücre kemokin üretimine yanıt olarak büyük ölçüde başlangıçtaki nötrofil toplanmasına dayandığına dair kanıtlar vardır (20).

Nötrofiller peroksidaz pozitif hücreler olarak sınıflandırılır. Peroksidaz pozitifliği intrinsik miyeloperoksidaz (MPO) içeren granülositlerle sınırlıdır (21). MPO, klorür iyonları (Cl) ve bromür iyonları (Br) dahil maddeleri, hipokloröz asit (HOCl) gibi radikal olmayanlar ve radikaller (en az bir eşlenmemiş elektron içeren moleküller) dahil olmak üzere reaktif ürünlere oksitlediği için önemlidir (21).

MAKALE ÖZETİ

Tablo 2: Erkeklerde gonokokal olmayan üretrit (NGU) etkenleri

Aetiology of NGU	Proportion of cases (%)
<i>Chlamydia trachomatis</i>	20-50%
<i>Mycoplasma genitalium</i>	10-30%
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	5-10%
<i>Trichomonas vaginalis</i> (UK)	1-5%
Urinary tract infection	1-5%
Adenovirus	2-4%
Herpes simplex virus	2-3%
Miscellaneous	Less than 5%

Viral enfeksiyonlar, enfeksiyon sırasında üretradan veya dolaşımdan kaynaklanır (22). Bulgular, idrar yolları dışı kaynaklı enfeksiyonun ardından semende lökositlerin görünümü ile sınırlıdır ancak bu özellikle B lenfositlerin humoral antikor üretimi yaptığı viral enfeksiyonların en son aşaması düşünüldüğünde dikkate alınmalıdır.

Semende lökosit sayısının vazektomi sonrası %85-90 oranında azalması, büyük çoğunluğunun muhtemelen testis ve epididimden kaynaklandığını göstermektedir (22). Semende küçük bir lökosit popülasyonu normal kabul edilir ve muhtemelen dejenere olan hücrelerin ortadan kaldırılmasında rol oynar (27) ancak semende anormal derecede düşük lökosit sayısının in vitro fertilizasyon kapasitesini olumsuz etkilemesi nedeniyle sperm fonksiyonu için gerekli olduğu ileri sürülmektedir (28) ve sperm kapasitasyonu, sperme ek olarak lökositler tarafından üretilen düşük ROS seviyeleri ile düzenlenir (29).

İnsan ejakülatında lökositlerin dışında hasarlı sperm, immatür sperm ve germ hücreleri dahil olmak üzere diğer ROS kaynaklarını da vurgulamak gerekir (31). ROS, normal sperm fonksiyonu için gerekliken redoks sisteminde bir dengesizlik olduğunda oksidatif strese (OS) neden olabilir. Aşırı ROS üretimi lipid peroksidasyonuna, sperm motilitesinde azalmaya, DNA fragmentasyonunda artışa ve sperm apoptozuna neden olabilir (32).

Semende Sperm Hücresi Progenitörlerinin Varlığı

Germ hücrelerinin, sperm dışı hücrelerin % 84'ünü oluşturarak yuvarlak hücre varlığında baskın hücre tipi olduğu bildirilmiştir (6) ancak referans normal seviye nicel olarak tanımlanmamıştır (24). Semende yuvarlak hücrelerin, özellikle germ hücrelerinin varlığı, influenza gibi geçici enfeksiyon ataklarından sonra epitelyumun aktif rejenerasyonuna veya spermiyogenezin tamamlanmasında başarısızlığa bağlı olabilir (34). Testiküler olgunlaşmanın durması ile germ hücre dökülmesinde de bir artış olabilir. Burada erken arrest sırasında germ hücreleri primer spermatosit seviyesini, geç arrestte ise yuvarlak spermatid seviyesini geçemez (35). Artmış mastürbasyon sıklığından (37) veya gebelik için sık cinsel ilişki gerektiği konusundaki yanlış inançtan dolayı uzun süreli sık boşalması olan erkeklerde matür sperm tedarikinde bir azalma ile birlikte immatür sperm ve germ hücrelerinin sayısında artış olduğu da kaydedilmiştir (36).

Lökositosperminin Fertilitede ve Hastaya Yaklaşımında Anlamı ve Klinik Önemi

Tüm semen örneklerine, hastanın sağlığına ilişkin bazı önemli soruların yanıtlandığı bir kabul formu eşlik etmelidir (öneriler için Tablo 1'e bakınız).

GÜS enfeksiyonları, semptomlar öykü alma ile birlikte değerlendirilerek teşhis edilmelidir (fizik muayene ile tamamlanabilir) (43). Semptomlar işeme fazı değişikliklerini, üretral akıntıyı, ağrıyı (özellikle boşalmada) ve testiküler/lokal hassasiyeti içerebilir. Bir hasta asemptomatik ise olası maruziyeti gösteren anlamlı kanıtlar olmadıkça enfeksiyonun tanımlanması çok daha zor olacaktır ve kesin tanı konulamayabilir.

Semen analizinde yüksek sayıda lökosit saplanan hastalar için birincil endişe alanlarından



biri, bunların hem mikroskopik bakıda spermin doğrudan işlevleri üzerinde hem de spermiyasyonu ve/veya spermatogenezi engelleyerek hastanın fizyolojisi üzerinde neden olabilecekleri olası zararlı etkilerdir.

Bakteriyel prostatit; dizüri, sık idrara çıkma ve artan idrar retansiyonu ile seyretmekle birlikte ağrı, ateş, titreme, halsizlik ve mide bulantısı gibi ciddi belirtilerle sonuçlanabilir (13). Yeterli tıbbi öykü alınırken kateterizasyon veya transrektal biyopsi prosedürleri gibi iyatrojenik nedenler sorgulanabilir ancak vakaların çoğunun toplumdan edinilmiş olduğu tahmin edilmektedir (13). Non-gonokoksik üretrit (NGU), bir dizi etken mikroorganizmadan kaynaklanabilir (Tablo 2) (44). Hastalar üretral akıntı, dizüri, üretral batma/kaşıntı ile başvurabilir ya da asemptomatik olabilir (45). Akıntının varlığı, polimorfonükleer lökositler içeren pürülan semenle sonuçlanır, direk yayma ve hızlı boyama teknikleri kullanılarak kolayca gösterilebilir veya orta akım idrar çubuk testinde $>1+$ olarak saptanabilir (46). Uzun süreli veya tekrarlayan NGU'lu erkeklerde komplikasyon olarak epididimoorşit (EO) gelişebilir. EO, testis endokrin fonksiyonunu etkilemenin yanı sıra testise ve takiben spermatogeneze doğrudan zarar verebilir (47,48).

İnfertil çiftler üzerinde yapılan çalışmalarda, mevcut veya geçmiş enfeksiyona dair bariz bir kanıt olmaksızın, çeşitli yaşam tarzı faktörlerinin seminal lökosit popülasyonunu arttırdığı gösterilmiştir. Bunlar arasında sigara içmek, esrar ve ağır alkol kullanımı yer alır (49). Lökositlerin ve germ hücrelerinin diğer nedenleri Tablo 3'te verilmiştir.

Yuvarlak hücrelerin laboratuvarında tanımlanması, ayırıcı tanıyı ve ardından hastanın yeniden gözden geçirilmesini sağlamalıdır. "Yuvarlak hücrelerin" ilk tespitinden elde edilecek olası sonuç, hastanın semptomları, öyküsü, semen analizi ve hasta yönetimi olanakları ile uyum

Tablo 3: Semende lökosit ve germ hücre varlığının nedenleri

Leucocytes in semen	Germ cells in semen
Bacterial infection	Varicocele
Viral infection	Cytotoxic treatment i.e., chemotherapy
Recovery from illness	Cryptorchidism
Stress and acute illness	Maturation arrest
Chronic illness	Prolonged frequent ejaculation
	Recreational drug use including alcohol and smoking
	Trauma

içinde olmalıdır. Bu süreç en doğru klinisyen tarafından gerçekleştirilir. Önemli sayıda yuvarlak hücre görüldüğünde ayırıcı tanı gerçekleştirilmelidir (tahmini sayım için hemositometre kullanımı geçerli bir yöntemdir). WHO 2021 ile uyumlu olarak $\geq 1 \times 10^6$ yuvarlak hücre/ml konsantrasyonunun önemli olduğunu düşünülmektedir (2). Bu aşamadaki laboratuvar yaklaşımı, hasta öyküsüne, önceki semen analizine ve ayırıcı tanının sonucuna bağlı olacaktır. Şekil 1'deki yol yuvarlak hücrelerin saptanmasıyla ilgili raporlamayı ve yaklaşımı desteklemek için laboratuvara özgü bir yönlendirmenin olmadığı durumlarda önerilmektedir. Bu yol eğitim, yeterlilik, klinik gözetim ve yöntemlerin/personelin sınırlamaları ile belirlenecektir. Ejakülatı etkileyebilecek klinik hususlar ve çeşitli faktörleri öne süren Avrupa Üroloji Derneği'nin (EAU) kılavuzu (53) ve WHO 2021 (2) gibi ilgili çok az kılavuz mevcuttur. Pozitif peroksidaz testi ve bir tanı laboratuvarının takip edip geliştirebileceği mikrobiyolojik kültürler dışında tam olarak önerileri yoktur. Bu nedenle laboratuvar, sevk eden klinisyen tarafından toplanan bilgileri tamamlayabilir. Bir klinisyen hastayı incelerken ileri araştırma gerektiren semptomlar olduğunu farkederse, semen analizi tekrarı veya üremeye yardımcı tedavi (ART) için yönlendirmeden önce yerinde test yapmayı veya gerekirse spesifik testler, eş takibi ve hastayı tedavisi için bir genitoüriner kliniğine sevk etmeyi düşünmelidir. Tanımlanabilir bir nedeni olmayan hastalarda, klinisyen antioksidanları, yaşam tarzı değişikliklerini sağladıktan sonra testi tekrar etmeyi düşünebilir. Bazı du-

MAKALE ÖZETİ

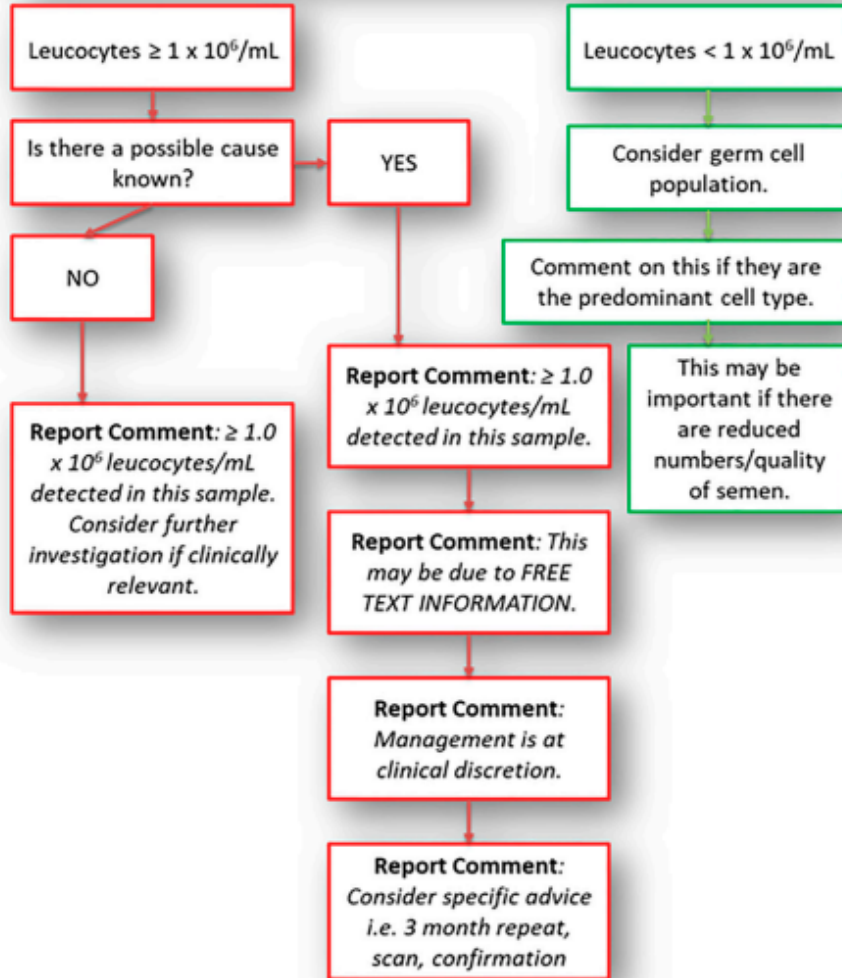
rumlarda radyolojik inceleme yöntemleri gerekebilir. Ultrason taramaları genellikle teşhiste yararlı bir araçtır ancak tüm hastalar için endike değildir.

Yuvarlak Hücreleri ve Diğer Görüntüleri Tanımlamak İçin Laboratuvar Yöntemleri

Yuvarlak hücrelerin analizi genellikle morfolo-

jik inceleme sırasında boyalı yayma üzerinde yapılacaktır. Yuvarlak hücrelerin konsantrasyonu, konsantrasyon analizi için uygulanan aynı yöntem kullanılarak tespit edilecektir (altın standart, geliştirilmiş Neubauer hemositometre olarak belirtilmektedir) (2). Bu noktada yaklaşım ayırıcı tanının gerekli olup olmadığına veya yuvarlak hücre tahmininin kullanılıp kullanılmayacağına karar vermek olacaktır. Birçok laboratuvar nihai raporda klinik olarak ilişkili bir bilgi ver-

Possible Actions Following Differentiation



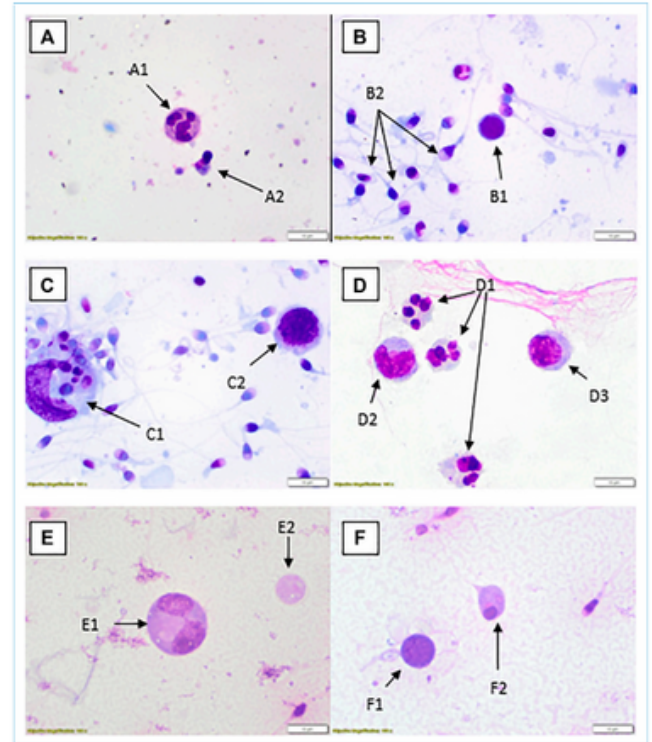
Şekil 1: Semende lökosit ve germ hücre varlığının nedenleri

MAKALE ÖZETİ

mecektir ancak sayı $\geq 1 \times 10^6$ /ml olarak hesaplanırsa, basitçe yuvarlak hücrelerin mevcut olduğunu belirten bir yorum içerebilir. Yuvarlak hücrelerin raporlanması lökositlerin veya germ hücrelerinin oranına dair hiçbir bulgu vermez. Sorunlar, laboratuvarların isterlerse ayırıcı tanıyı nasıl yapacağına ve yaptıklarında ise son kullanıcının bu bilgilerle ne yapacağına ilişkin yöntemlerden kaynaklanmaktadır.

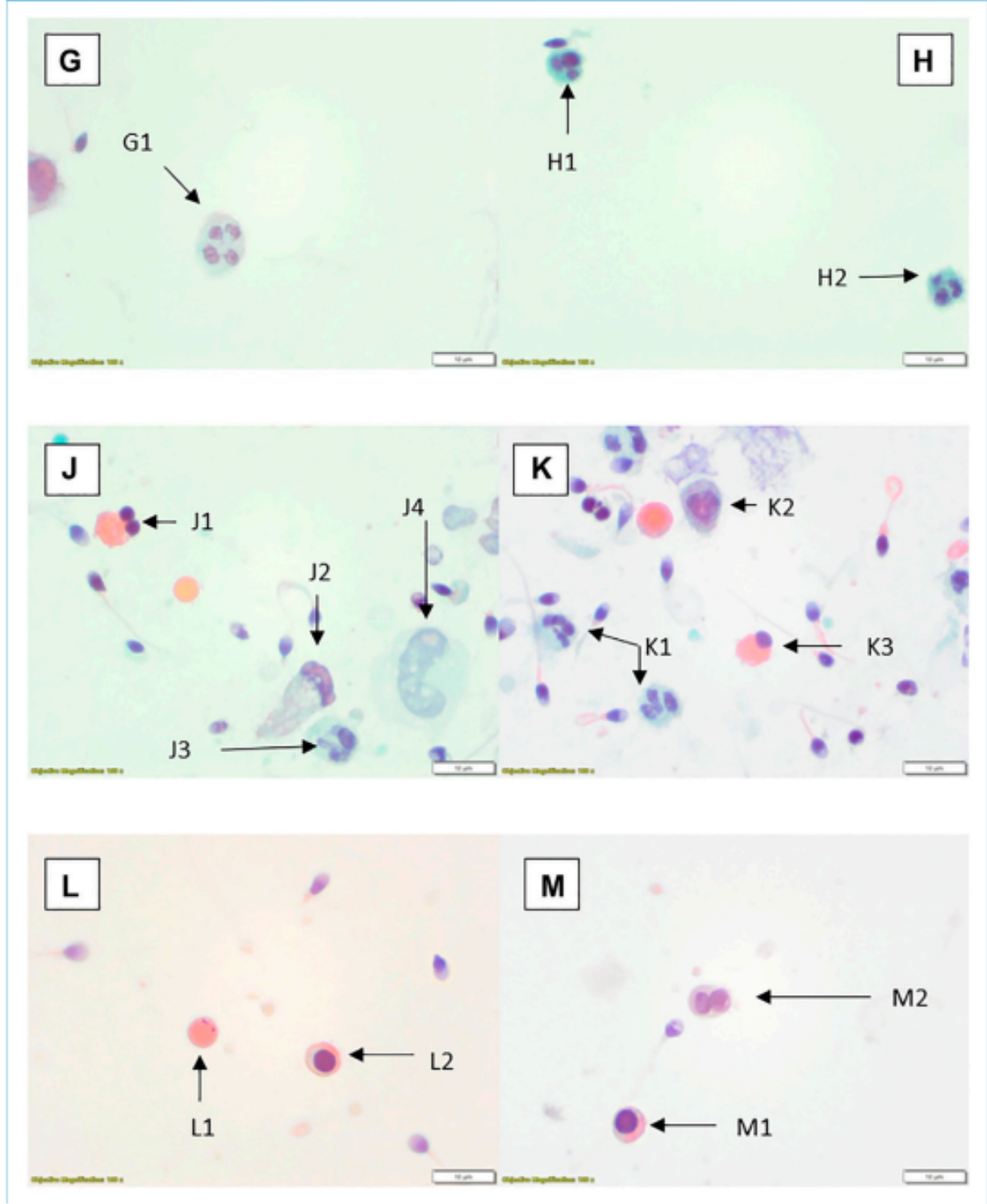
WHO, yuvarlak hücrelerin miktarının belirlenmesi için önerilen yöntemler pratik veya laboratuvar için uygun olmayabilir demektedir. Lökositlerin değerlendirilmesi için seminal granülosit elastaz testi, immünokimya ve peroksidaz testi dahil olmak üzere uygulanabilecek birçok yöntem vardır (54). Tavsiye edilen en basit yöntem granülositlerde bulunan peroksidaz enziminin boyanmasıdır. Peroksidaz enzimi ile boyamanın sınırlılığı, kronik enfeksiyonda olduğu gibi son aşamalarda bir hastalığı veya enfeksiyonu değil, yalnızca erken evrede aktif bir hastalığı veya enfeksiyonu tanımlayacak olmasıdır (55). Genellikle daha az tercih edilen seçenek, boyalı preparatlar ve morfolojik ayrımın kullanılmasıdır ancak özellikle peroksidaz testi gibi yöntemler granül içermeyen hücreleri veya aktif bileşiklerini salmış hücreleri kaçırdığında, subjektif olmakla birlikte boyalı preparatların kullanımı klinik olarak ilgili bilgileri verebilmektedir. Boyama ve ayırıcı tanı, özellikle preparasyonun lökosit tespitinde kullanılabilen rutin kan yaymalarından farklı olması nedeniyle, hücrelerin yanlış yorumlanmasına yol açabilir. Hücrelerin sitolojik subjektif yorumundaki bu çelişkiler, özellikle servikal sitoloji olmak üzere sitoloji disiplinleri arasında yıllarca bir tartışma konusu olmuştur (56). Örneğin boyalı semen yaymalarında, nötrofilleri çok çekirdekli spermatidlerle karşılaştırırken nötrofil çekirdek segmentleri arasındaki küçük kromatin köprülerini görsel olarak belirlemede zorluklar olabilir. Bu, peroksidaz değerlendirmelerinin, diğer boyama yöntemlerine kıyasla subjektif yorumlamayı destekleyebileceği bir yordandır. . WHO 2021 yönergeleri

"lökositler ile immatür germ hücreleri arasında yüksek bir kesin ayırım yapmanın mümkün olmadığını" belirtirken (2), bu vurgunun referansının 1966 yılına ait olduğunu (58) ve daha fazla çalışmanın ve verinin gerekli olduğunu belirtmek gerekir. 2003'te yapılan küçük bir çalışma (59), peroksidaz pozitifliği ve elastaz düzeylerinin ilişkisini gözden geçirdi ve iki test arasında hiçbir korelasyon bulamadı, bu da semende peroksidaz testinin lökositlerin mutlak bir belirleyicisi olmayabileceğini göstermektedir. Alternatif yöntemler bu makalede ele alınmamıştır. Fotomikrografik görüntüler (Şekil 2-6), laboratuvar profesyonellerine farklı hücrelerin tanımlanması için küçük bir atlas sunacaktır.

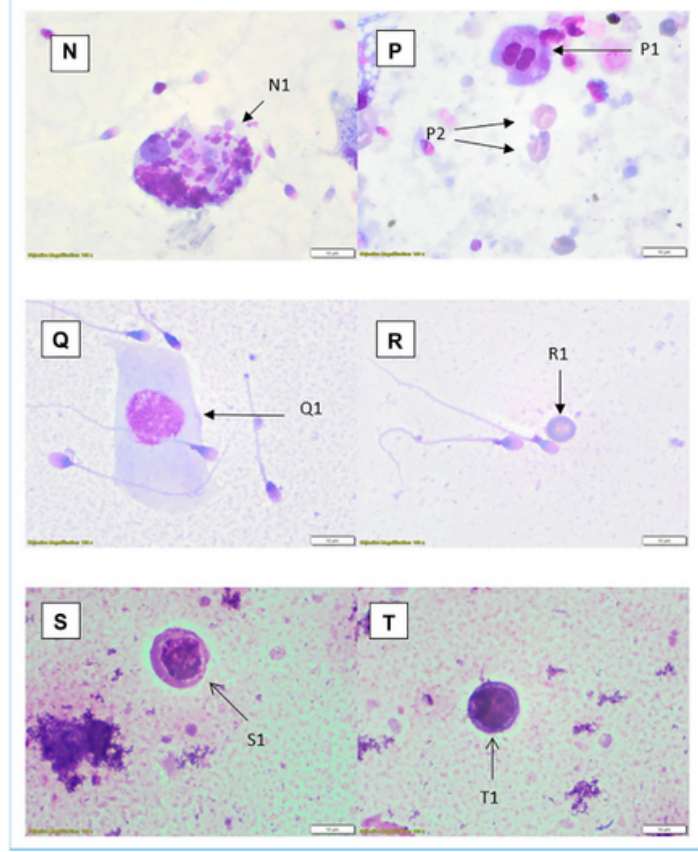


Şekil 2: Rapid Romanowsky boyama, $\times 100$ objektif ve $\times 10$ optik ile görüntüleme. (A) Nötrofil (A1), spermatid (A2). (B) Olası lenfosit (B1), çoklu spermatozoa (B2). (C) fagosite edilmiş materyal içeren büyük fagositik makrofaj (C1), lenfosit (C2) (D) Üç nötrofil (D1), iki monosit (D2, D3). (E) Bölünen spermatosit (E1), sitoplazmik kalıntı (E2). (F) Olası lenfosit (F1), spermatid (F2).

MAKALE ÖZETİ



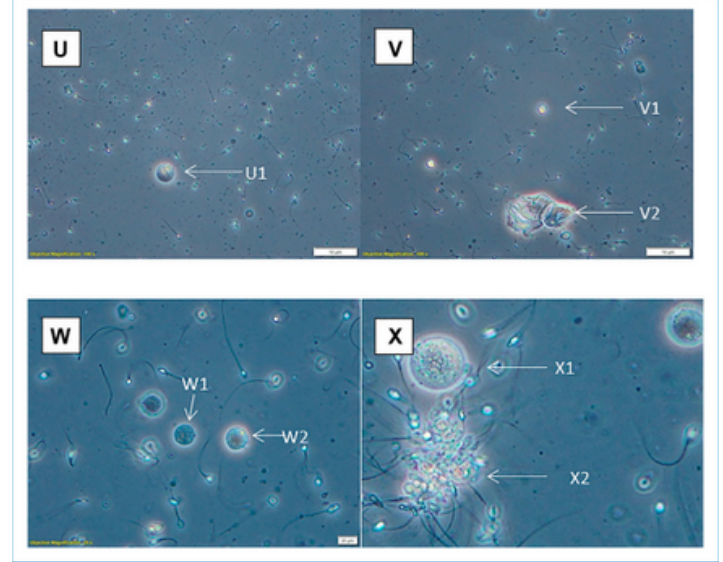
Şekil 3: Papanicolaou boyama, x100 objektif ve x10 optik ile görüntüleme. (G) Nötrofil (G1). (H) İki küçük nötrofil (H1, H2). (J) Spermatid (J1), olası dejenere/hasarlı nötrofil (J2), nötrofil (J3), olası dejenere monosit (J4). (K) Nötrofiller (K1, K2), spermatid (K3). (L) Sitoplazmik kalıntı (L1), spermatosit (L2). (M) Spermatosit (M1), spermatidler (M2).



Şekil 4: Rapid Romanowsky boyama, ×100 objektif ve ×10 optik ile görüntüleme. (N) Fagositik makrofaj (N1). (P) Spermatid (P1), eritrositler (P2); santrifüjlenmiş örnek (Q) Skuamöz epitel hücresi (Q1). (R) Eritrosit (R1). (S) Küçük monosit (S1). (T) Olası lenfosit (T1).

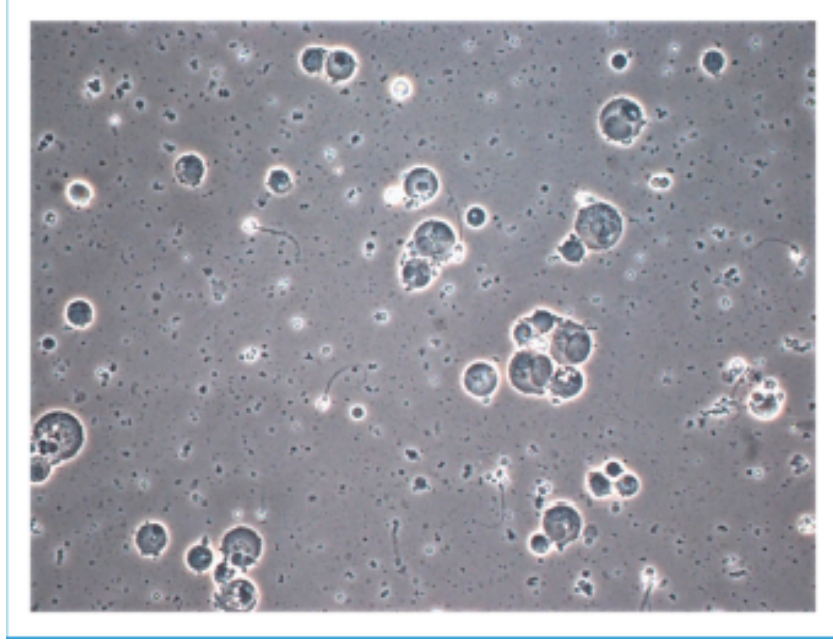
TARTIŞMA

Semende lökositlerin önemi ve anlamı çok sayıda çalışmada tartışılmıştır. Bu iyi bilinmesine rağmen laboratuvarlar, analizin tamamen sayısal olduğu durumlarda hekimlere yorum için yeterli bilgi sağladıklarından emin olamamaktadır. Bu, gereksiz antibiyotik reçeteleri de dahil olmak üzere uygun olmayan tedavi uygulama riskini veya erkek sağlığını, sperm kalitesini ve gebe kalmaya çalışan çifti iyileştirme olasılığını kaçırma riskini artırır. Klinisyenleri doğru teşhis araç-



Şekil 5: Faz kontrast mikroskop, ×20 optik ile görüntüleme. (X hariç yapay olarak %50 büyütülmüş). (U) Olası spermatid (U1). (V) Spermatid (V1), skuamöz epitel hücreleri (V2). (W) Spermatidler (W1, W2). (X) Spermatozoid (X1), debris ve sperma-tozoa agregasyonu (X2).

larını kullanmaya yönlendirmek için laboratuvar bulgularının yanı sıra hastanın uygun şekilde gözden geçirilmesi de dikkate alınmalıdır. Hastalar, özellikle cinsel yolla bulaşmayan GÜS enfeksiyonları ile ilgili olarak alaka düzeyini yanlış anlayabileceğinden, raporlama ve hasta incelemesine hassas bir yaklaşım sağlamak çok önemlidir. Laboratuvarlar, güvenilir sonuçlar ve sonuçların net olmasını sağlayarak, gerektiğinde yeterli tavsiyelerde bulunarak klinisyenleri yönlendirebilir. Netlik veya tavsiyenin gerekli olduğu durumlarda, özellikle olağan dışı veya anormal görünen birçok hücrenin belirtildiği durumlarda, teşhis sürecinde andrologları desteklemek için hematologlar ve sitopatologlardan yararlanılabilir veya konsültasyon görüşünün kullanılması, uygulamaya değer bir yaklaşım olabilir. Gerekirse doğrulama ile birlikte eğitim ve yeterlilik değerlendirmeleri, laboratuvar profesyonellerinin hücreleri tanıma becerisine dair güvence sağlamak için her zaman



Şekil 6: Şekil 6. Faz kontrast mikroskop, $\times 40$ objektif, $\times 20$ optik ile görüntüleme. Uzun süreli cinsel perhiz sonrası (10 günlük ejakülasyonu) hastadan alınan semenin fotomikrografisi, çoklu spermatositleri, spermatidleri ve yaşlanmış spermi gösteriyor. Ayrı olan nükleer yapıların çok daha yuvarlak ve tek biçimli görünümü, örneğin Şekil 2, A1 ve D1 hücrelerinde görüldüğü gibi, ince kromatin köprüleriyle birleştirilmiş kaba kümelenmiş kromatin loblarına sahip nötrofillerden açıkça ayırt edilir. Hücreler spermatid çekirdekleri içeren spermatidden olgun sperme değişen aşamalara ve spermin ortaya çıkmasından dolayı vakuollere sahip olabilir.

önemli olacaktır. Genel amaç, tek tek akyuvar tiplerine ve germ hücre türlerine göre kategorik olarak ayırmayın aksine, hekime baskın hücre popülasyonu hakkında bir fikir vermek olmalıdır. Yüksek düzeyde eğitilmiş personelin semen analizine katıldığı laboratuvarlarda, bu ayırım daha ileri bir testle üstlenilebilir. Bu, laboratuvarları yalnızca katı alt referans limitleri ve yüzdelikler yerine, klinik karar değerlerine yönlendiren mevcut WHO 2021 yönergeleriyle birlikte ele alındığında, hasta yönetimi yaklaşımının analizin merkezinde olduğu bir yere taşıyacaktır. Aynı zamanda doğru yönetim planlarının ortak bir karar ve paylaşılmış bir sorumluluk ile yapılmasıyla hastaya uygun klinik incelemeyi sağlayacaktır.

MAKALE ÖZETİ

Review

> JBRA Assist Reprod. 2022 Nov 9;26(4):627-630. doi: 10.5935/1518-0557.20220013.

The Effects of Toxic Heavy Metals Lead, Cadmium and Copper on the Epidemiology of Male and Female Infertility

Aliasghar Manouchehri ¹, Samira Shokri ², Mohadeseh Pirhadi ², Mohammad Karimi ³,
Saber Abbaszadeh ⁴, Ghazal Mirzaei ⁵, Mahmoud Bahmani ⁶



Hazırlayan:

Uzm. Dr. Merve DURMUŞ KAYGISIZ

Erzurum Şehir Hastanesi

Androloji Laboratuvarı

Zehirli Ağır Metaller Kurşun, Kadmiyum ve Bakırın Erkek ve Kadın İnfertilitesinin Epidemiyolojisine Etkisi

ÖZET

İnfertilite, modern toplumda dünya çapında önemli sayıda çifti etkileyen önemli bir sorundur. Ağır metaller ve diğer bir dizi faktör, infertiliteye nedensel olarak bağlanmıştır. Bu çalışmanın amacı ağır metaller olan kurşun, kadmiyum ve bakırın erkek ve kadın infertilitesinin epidemiyolojisi üzerindeki etkisini belirlemektir. PubMed, Google Scholar, Science Direct ve diğer bilimsel veritabanlarında erkek ve kadın infertilitesi ve ağır metaller gibi ilgili anahtar kelimeler kullanılarak 1982'den 2020'ye kadar yayınlanan makaleler arandı. Sonuçlar, son yıllarda infertil bireylerin sayısının arttığını göstermiştir. Çeşitli çevresel, mesleki ve genetik faktörler potansiyel nedenler olarak tanımlanmıştır. Ağır metaller kurşun, kadmiyum ve bakır; sperm motilitesinde değişiklikler, semen kalitesinde azalma veya yumurta üzerindeki etkiler gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla çiftlerde infertiliteye neden olur. Radyasyon (iyonize veya mikrodalga) ve ısı gibi fiziksel olgulara maruz kalma, stres ve zihinsel bozukluklar, sigara, solunum kirleticileri (kurşun), böcek ilaçları ve böcek ilaçlarından kaynaklanan kimyasallar, anestezi gazları, cıva ve sitotoksik ilaçlar da infertilitenin başlamasına katkıda bulunabilir.



Sanayileşmeden kaynaklanan yaşam tarzı değişiklikleri kadın ve erkek sağlığını etkilemiştir. Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) göre üreme sağlığı, potansiyel olarak kısırlığa yol açabilecek bir dizi faktörden etkilenmektedir (Sarvari ve ark, 2010). İnfertilite çoğu ülkede büyüyen bir halk sağlığı sorunudur ve vakalar 1955'ten beri %50 artmıştır. İnfertilitenin toplumların ekonomik ve sosyal gelişimi üzerindeki etkisi mikro ve makro düzeyde hissedilmektedir (Haslegrave & Olatunbosun, 2003; Shafi ve ark., 2016; Direkvand-Moghaddam ve diğerleri, 2014).

Epidemiyolojik çalışmalar, dünyada infertilite prevalansının ortalama %10 olduğunu göstermektedir. En düşük ve en yüksek prevalans sırasıyla Avustralya ve Afrika'ya aittir (Direkvand Moghaddam ve ark, 2016). Amerika Birleşik Devletleri'nde infertilite prevalansı %10-15'tir (Marchlewicz ve diğerleri, 2007), Çin'de %9 civarındadır (Che & Cleland, 2002) ve İran'da %13,2'dir (Zarif Golbar Yazdi ve ark, 2020). Çalışmalar, çiftlerin altıda birinin kısırlıktan muzdarip olduğunu ve bunun ortaya çıkmasıyla ilişkili unsurlar olarak çevresel, mesleki ve özellikle genetik faktörlerin tanımlandığını göstermektedir (Irvine, 1998).

Çevre kirliliği ve ağır metallere maruz kalma dünyada büyüyen sorunlardır. Ağır metaller erkeklerde ve kadınlarda çeşitli üreme fonksiyonlarını değiştirir; sperm sayısı, hareketliliği, canlılığı ve spermatogenezde azalmaya, hormonal dengesizliğe, foliküler atreziye ve gecikmiş yumurta olgunlaşmasına yol açar. Ağır metaller doğurganlığın önemli bir toksikolojik yönünü oluşturur. Bazı metallere üreme toksinleri denir ve "endokrin bozucular (EB'ler)" olarak bilinirler. Bu toksik metallerin bazılarına maruz kalmamak kaçınılmazdır (Clementi ve diğerleri, 2008).

Kadmiyum ve kurşun, hormon seviyelerini değiştiren ve doğurganlık sorunlarına neden olan metallerden en çok çalışılanlardandır (Ghahremani & Ghaem, 2005). Bellas ve ark. (2001), infertilite vakalarının yaklaşık %5'inin çiftliklerde ultra yüksek frekanslı radyasyona, ağır metallere, herbisitlere ve böcek ilaçlarına maruz kalmanın zararlı etkilerinden kaynaklandığını göstermiştir. Radyoloji, endüstriyel ve kimyasal solvent fabrikaları, rafineriler ve kurşun madenlerinde çalışmak gibi bazı meslekler de kişinin doğurganlık durumunu etkileyebilir (Koskimies ve ark., 2010; Wegner ve ark., 2010). Arabalardan çıkan egzoz dumanları gibi hava kirleticiler, erkek ve kadınların gametogenezinde kurlara neden olur (Carré ve ark., 2017).

Kadmiyum ve bakır, üreme sistemi üzerinde yıkıcı etkilere sahip olabilir ve kısırlığa yol açabilirler (Asadi ve ark., 2013). Bir çalışma, cıva ve kurşuna maruz kalmanın normal aktiviteyi bozabileceğini ve sperm motilitesini bozabileceğini göstermiştir (Bellas ve ark., 2001). Hayvan çalışmaları, farklı konsantrasyonlarda ağır metallerin balık sperminin hareketliliğini ve ultra-morfolojik parametreleri üzerindeki etkilerini, düşük konsantrasyonlarda bile spermin hareketini etkileyebileceğini açıklamıştır. Kurşun, hipofiz bezinin ağırlığını azaltır, sonuç olarak LH ve FSH konsantrasyonunda azalmaya yol açar. LH'nin östrojen ve progesteron hormonlarındaki değişiklikler üzerinde doğrudan etkisi vardır. LH'deki azalmalar östrojen ve progesteron konsantrasyonlarında düşüşlere neden olur (Parvizi ve Ellendorff, 1982).

Bilimin ilerlemesi, endüstriyel gelişme, bu kimyasallarla yapılan ürünlerin piyasaya sürülmesi ve yaşam tarzı değişiklikleri, psikolojik ve sosyal sonuçları olan erkek ve kadın infertilite vakalarının sayısını artırdı. Bu çalışma, toksik ağır metaller olan kurşun, kadmiyum ve bakırın erkek ve kadın kısırlığı üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladı.

MAKALE ÖZETİ

ARAÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma, 1982-2021 yılları arasında yayınlanan makalelerin taranması şeklinde yapılmıştır. Bu amaçla Magiran, Google Scholar, SID, Scopus, PubMed, Science Direct ve ISI veritabanlarında infertilite, ağır metaller, kurşun, kadmiyum, bakır, erkek ve kadın anahtar kelimeleri ile makale taraması yapılmıştır.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Dünyanın son yüzyılda sanayileşmesi, birçok yönden insan yaşam koşullarını iyileştiren ürünlerin üretimine yol açmış olsa da bazı durumlarda bu ürünler veya bunları üretmek için yaratılan işler halk sağlığına zararlıdır ve diğer organlardan daha hassas olan üreme sistemi de dahil olmak üzere insan vücudunun çeşitli organlarında meydana gelen rahatsızlıklara yol açmaktadır. Ağır metaller insan vücuduna hava yolu, su ve yiyecekler yoluyla girebilir. Kadmiyum, çevreye en yaygın dağılan metallerden biridir. Bu metal, böbrekler ve karaciğer dahil olmak üzere vücudun çeşitli dokularına zarar verir. Kadmiyum, toksik maddeler ön listesinde yer almakta ve hastalıkla bağlantılı yüksek riskli toksik maddeler arasında yedinci sırada yer almaktadır. İnsan vücudunda, ovaryumlar ve testisler de dahil olmak üzere yetişkinlerin üreme organlarında ciddi hasara neden olur. Kadmiyum, vücudun organları üzerinde iki mekanizma ile olumsuz etkilere neden olur; birçok enzimde çinkonun yerini alırken diğer yandan da proteinlerin tiyol grupları ile reaksiyona girerek ve onların yapı ve fonksiyonlarını değiştirerek toksik etki gösterir (Hajı Ghasemkhan, 2007).

Kadmiyum, Nijerya'daki infertil çiftlerden 60 gönüllü erkekte incelenmiştir. Araştırmacılar, kadmiyumun spermatogenez üzerindeki güçlü yıkıcı etkisinin sistematik sitotoksiteden kaynaklanabileceğini ileri sürmüşlerdir (Akinloye ve ark., 2006). Hemmati Borujeni

ve ark. (2020), erkek sıçanlarda kadmiyum klorür uygulamasının germ hücrelerinin yıkımına ve azalmasına yol açtığını göstermiştir. Dişi sıçanlarda oositlerde artan kadmiyum birikimi ile metafaz II'ye ulaşan oosit sayısı önemli ölçüde azalır (Pisa ve ark., 1990). Ağır metallerin deve doğurganlığı üzerindeki etkisiyle ilgili bir çalışma, plazma magnezyum ve kadmiyum konsantrasyonları ile sperm anormallikleri yüzdesi arasında pozitif bir korelasyon gösterdi (Meligy ve ark., 2019). Kadmiyum sperm tüplerine zarar verir ve hücre dejenerasyonuna neden olur. Çalışmalar, sigara ve mesleki risk yoluyla ağır metallerle maruz kalmanın neden olduğu tümörleri tanımlamıştır. Tipik bir sigara 1.5 µg/r kadmiyum içerir (Chia ve ark., 1994) ve sigara içenlerde astenozoospermiye neden olur (Omu ve ark., 1995).

Sperm DNA'sının sağlığı, döllenme ve doğurganlıkta anahtar faktörlerden biridir. Sperm DNA'sı endojen ve eksojen faktörler tarafından zarar görebilir ve fetüsün sağlığını tehlikeye atabilir (Simon ve ark., 2013). Kadmiyuma maruz kalma testiküler oksidatif stresi ve epididimde ROS üretimini artırabilir, sperm üretimini, motilitesini, antioksidan kapasitesini azaltabilir ve lipid peroksidasyonunu artırabilir (Marchlewicz ve ark., 2007). Yetişkin erkek sıçanlara 1 veya 5 mg kadmiyum klorürün (CdCl₂) subkutan enjeksiyonu, testis, ventral prostat ve seminal veziküllerin ağırlığında anlamlı düşüşlerle, azospermi ve oligospermi ile sonuçlanır (Saksena ve diğerleri, 1977).

Kurşun, sinir sistemine, böbreklere, akciğerlere, kemik iliğine büyük ölçüde zarar verir ve bozulmuş hemoglobin biyosentezine ve anemiye, hipertansiyona, düşüklere, erken doğuma, erkek infertilitesine ve öğrenme bozukluklarına neden olur (Shimbo ve ark., 2001). Kurşun çevresel bir kirletici olarak kabul edilir. Bu nedenle kurşunun etki mekanizması, kalsiyuma bağlanarak hücrenin endotel sistemlerini bozabilecek şekildedir. Kurşuna maruz kalma (yıllarca 40g/dl veya



25g/dl) doğurganlığı azaltır ve düşük, erken doğum, düşük doğum ağırlığı riskini artırır (Bellinger, 2005).

Açıklanamayan erkek infertilitesi, çeşitli kimyasal maddelere çevresel ve mesleki maruziyete de bağlanabilir. Önemli ölçüde kurşuna maruz kalan bireylerin, maruz kalmanın hipofiz ve tiroid hormonları üzerindeki etkilerinden dolayı yumurtalık ve testis büyümesi üzerinde olumsuz etkiler gösterme olasılığı daha yüksektir (Sokol, 1987). Kurşun zehirlenmesi vakalarının genellikle işçileri etkilediği bildirilmektedir (Khan ve ark., 1995). Kalantari ve ark., bir eritme tesisinin fırın alanında çalışan kişilerde kurşun seviyelerinin diğer bölgelerden gelen işçilerde görülen seviyelerden daha yüksek olduğunu ve ayrıca tesisin diğer bölgelerine atanan işçilere göre daha yüksek prolaktin ve progesteron seviyelerine sahip olduklarını bulmuşlardır (2009). Sharma ve ark., gebelik ve doğum sonrası kurşunun göreceli etkilerini değerlendirmiştir (2013). Kurşun asetat, fetal ve neonatal yaşam sırasında yumurtalık gelişiminde ciddi hasara neden olabilir, primer ve sekonder foliküllerde değişikliklere neden olabilir ve üreme sistemi işlevini bozabilir (Sharma ve ark., 2013). Omari ve ark. (2015), Kenya'da satılan markaların sigara dumanında bulunan ağır metal sayısını araştırdı ve kurşunun tüm sigara markalarında en yüksek konsantrasyona sahip olduğunu buldu. Epidemiyolojik ve hayvan araştırmalarından elde edilen deneysel verilerin incelenmesi, farklı konsantrasyonlarda kurşunun spermatogenez fonksiyonunu, sperm fonksiyon parametrelerini ve üreme hormonlarını bozduğunu göstermektedir (Teijón ve ark., 2006).

Chowdhuri ve ark. (2001), kurşunun spermin yumurtalara bağlanma yeteneğini önemli ölçüde azalttığını göstermiştir. Kurşun kontaminasyonu farelerde sperm hareketliliğini ve canlılığını azaltmıştır (Golshan-Iranpour & Emami, 2011). Cıvanın sıçan spermi üzerinde şiddetli toksik etkileri de rapor edilmiştir (Pacey ve

ark., 1994). Bakır, insan vücudunun ihtiyaç duyduğu temel elementlerden biridir. Bu element karaciğerde depolanır ve hemoglobin yapımında ve vücudun dokularına oksijen verilmesinde yer alan kimyasal etkileşimlerde bir katalizör görevi görür (Preston & Snell, 2001; Babaei ve ark., 2012). İnfertil erkeklerin semen plazmasındaki bakır miktarı, fertil bireylere göre anlamlı derecede yüksektir. Bakır, oksidatif hasarın etkilerine aracılık edebilir ve spermatogenez ve erkek infertilitesinde önemli bir rol oynayabilir. 100 mg/l'nin üzerindeki konsantrasyonlarda bakır, *Dicentrarchus labrax* balıklarında sperm hareketliliğini etkilemiştir (Kime ve ark., 1996).

SONUÇ

Farklı çevresel risk faktörleri, insan vücudunun çeşitli organlarında bozukluklara yol açabilir. Bazı çevresel faktörler erkeklerde konsantre sperm üretimine neden olabilir. Kurşuna, diğer ağır metallere ve böcek ilaçlarına maruz kalma, erkek ve kadın kısırlığıyla ilişkilendirilmiştir. Isıya aşırı maruz kalma, mikrodalga radyasyonu, ultrason ve diğer sağlık riskleri ve kısırlık gibi diğer faktörler arasındaki ilişki konusunda hâlâ tartışmalar sürmektedir.

Zeynep Kamil ÜYTEM



Uzm. Dr. Gökşen Derya REİS KÖSE

Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları EAH
ÜYTEM Laboratuvar Sorumlusu

Mısır'da başlayıp, türlü zorlukları aşarak İstanbul'a uzanan bir aşkın; yoksul bir ailenin çocuğu olarak Malatya'da dünyaya gelen Yusuf Kamil'le, Mısır Valisi Kavalalı Mehmet Ali Paşa'nın kızı Züheyla Zeynep'in hikayesinin 141 yıllık tezahürüdür Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi.

Züheyla Zeynep Sultan, Hidiv Sarayı'nın prensesiydi ve Kahire'nin yoksullarına yardım eder, herkesin dertleriyle ilgilenmek isterdi. Yusuf Kamil ise zeki, becerikli, dürüst ve çalışkan olmasıyla tanınırdı.

Züheyla Zeynep ve Yusuf Kamil, Yusuf Kamil'in Mısırdaki Hidiv Sarayı'nda katip olarak işe başlamasından sonra tanışırlar. Bu süreçte Mehmet Ali Paşa'nın takdir ve beğenisini kazanır Yusuf Kamil. Züheyla Zeynep'le evlenmek isteyenler çoktur ancak Mehmet Ali Paşa, Yusuf Kamil'le evlenmesini ister kızının. Bu evlilik Hidiv sarayında pek hoş karşılanmaz. Kamil Paşa'nın Sultan Abdülmecid tarafından da fazlaca itibar görmesiyle, Mısır'ın ileri gelen eşraf ve devletlileri kendisine cephe alır. Mehmet Ali Paşa'nın ve ardından yerine geçen oğlu İbrahim Paşa'nın da ölmesiyle vali olan Abbas Paşa boşanmalarını zorunlu kılar ve Kamil Paşa'yı sürgüne yollar. Kamil Paşa hastalanır, doktor verilmez; ya boşanacaktır ya da zindana atılacaktır. Tam zindana girecekken Zeynep Sultan'ın bir terlik içerisinde gönderdiği gizli mektubu alır. Mektupta, "Hastasın, zindana girme. Seni ömrümün sonuna kadar bekleyeceğim." yazmaktadır.



Kamil Paşa bu satırları okuduktan sonra gönül rahatlığıyla kendisine uzatılan boşanma belgesini imzalar ve boşanırlar.

Kamil Paşa ancak sürgündeki üç ayı dolduktan sonra Sultan Abdülmecid'i durumdan haberdar edebilir. İstanbul'a döner ve yine Sultan Abdülmecid'in fermanıyla Zeynep Sultan'ın da İstanbul'a gelmesi sağlanır. Uzunca bir zaman sonra Zeynep ve Kamil nihayet birbirlerine kavuşurlar. Geçen zaman içerisinde yaşları da geçmiştir ve çocukları olmaz; ancak pek çok öksüz ve yetime kol kanat gererler, anne-baba olurlar.

Hastane yapma fikri yardımseverliklerinin nihai sonuçlarından biridir. Yer olarak Üsküdar seçilir. 24 Haziran 1875'te temeli atılır; ancak ne yazık ki 10 Ekim 1876'da Kamil Paşa Hakk'ın rahmetine kavuşur. Onun ölümünden sonra Zeynep Sultan işe devam eder. İnşaat 7 yıl sürer. 2 Mart 1882 Perşembe günü görkemli bir törenle açılışı yapılır.

Açılışından bu yana, kısa aralıklarla farklı konularda hizmet vermiş olsa da bina kadın ve çocuk hastalıkları hastanesi olarak görev yapıyor ve Zeynep Sultan ile Kamil Paşa hastane bahçesindeki ebedi istirahatgahlarında uyuyorlar.

Zeynep Kamil ÜYTEM



Geçen 140 yılı aşkın sürede binlerce çocuk dünyaya burada gözlerini açtı. Binlerce çocuk tedavi edildi. Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Hastanesi, alanında ülkenin en aktif çalışan, en öncü hastanelerinden biri oldu. Bu rolünü yine ülkenin en çok hastaya ulaşan üremeye yardımcı tedavi merkezlerinden birini kurarak taçlandırdı. İstanbul'da bulunan hastaneler içerisinde ilk üremeye yardımcı tedavi merkezi 2000 yılında hastanemizde kuruldu. 2003 yılından itibaren üremeye yardımcı tedavi yöntemleri konusunda eğitim vermek üzere yetkilendirildi.



Ünitemizde günümüze kadar yaklaşık 20 bin ailenin infertilite tedavisi gerçekleştirilmiştir. Eğitim yetkisi olan merkezimizde, klinikte ve embriyoloji labortavuvuarında görev alacak yüzün üzerinde adaya eğitim verilmiştir.

Doğal yollarla çocuk sahibi olamayan çiftlerin umut yolculuklarında çok önemli bir durak Zeynep Kamil. Bu hasta gruplarında; gereğinde klasik ovulasyon indüksiyonu ve intrauterin inseminasyon (aşılama), gereğinde IVF (klasik tüp bebek) ve ICSI (mikroenjeksiyon) işlemleri, assisted hatching, embriyo ve gonad hücrelerinin dondurulup çözülmesi ile testis biyopsisi gibi etkinliği bilimsel düzeyde kanıtlanmış tüm tanı ve tedavi yöntemleri, ayrıca; laparaskopi ve histereskopi gibi cerrahi girişimler uygulanabilmektedir. Merkezimizde ayda yaklaşık olarak 150 çiftin aşılması ve yine 150-200 çiftin tüp bebek tedavisi gerçekleştirilmektedir.



Embriyoloji laboratuvarımızda 2 tanesi ikili, 1 tanesi tekli olmak üzere toplamda 5 adet stereo mikroskop içeren 3 adet laminar flow hood bulunmaktadır. İnkübatörlerimiz; üçü benchtop, biri konvansiyonel ve ikisi kabin içi olmak üzere toplam 6 tanedir. İki tane lazer sistemi dona-

Zeynep Kamil ÜYTEM



nımlı ve mikromanipülatörlü invert mikroskopumuz bulunmaktadır. Mikro TESE cerrahisi için ameliyathane mikroskopumuz vardır. Androloji laboratuvarımızda 2 adet tekli laminar flow hood, 1 adet etüv, 2 adet santrifüj ve 2 adet faz kontrast mikroskobu vardır. Embriyoloji ve androloji laboratuvarlarında ayrı ayrı birer adet buzdolabı kullanılmaktadır. Ayda yaklaşık 30 hastaya ait embriyo ve gonad dokusunun dondurularak saklanması ve çözülerek transfere hazır hale getirilmesi işlemi yapılmaktadır. Merkezimizde hepatit B hastaları gibi kontaminasyon riski olan hastalara ait örneklerin saklandığı 1 adet kontaminasyon tankı olmak üzere toplam 10 adet azot tankı bulunmaktadır.



Merkezimiz 5 kadın doğum uzmanı, 6 histoloji ve embriyoloji uzmanı, 2 biyolog, 2 tıbbi laborant, 8 hemşire, 4 sekreter ve 2 yardımcı personelle hizmet vermektedir. Tüm unsurlarıyla ekip olmanın bilincinde, kalite standartlarını ön planda tutarak, büyük bir iş birliği içerisinde, Zeynep Kamil'li olmanın sorumluluğu ve onuruyla çalışmaktayız.



Floresan Mikroskop



Hazırlayan:

Prof. Dr. Ender ERDOĞAN

Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji AD

Floresan mikroskobu, bir görüntü oluşturmak için floresans özelliğini kullanan optik mikroskoplardır. Işığın organik ve inorganik numuneler tarafından soğurulması ve müteakiben yeniden ışıması, tipik olarak fosforesans/fotoluminesans olarak tanımlanır (1). İngiliz bilim adamı George G. Stokes ilk olarak 1852'de floresansı tanımladı ve florspar mineralinin ultraviyole aydınlatıldığında kırmızı ışık yaydığını gözlemledi (2). Günümüzdeki gibi floresan mikroskoplar 20. yy başlarında (3), immünfloresan işaretlemeler ise ikinci yarısında kullanılmaya başlanmıştır (4).

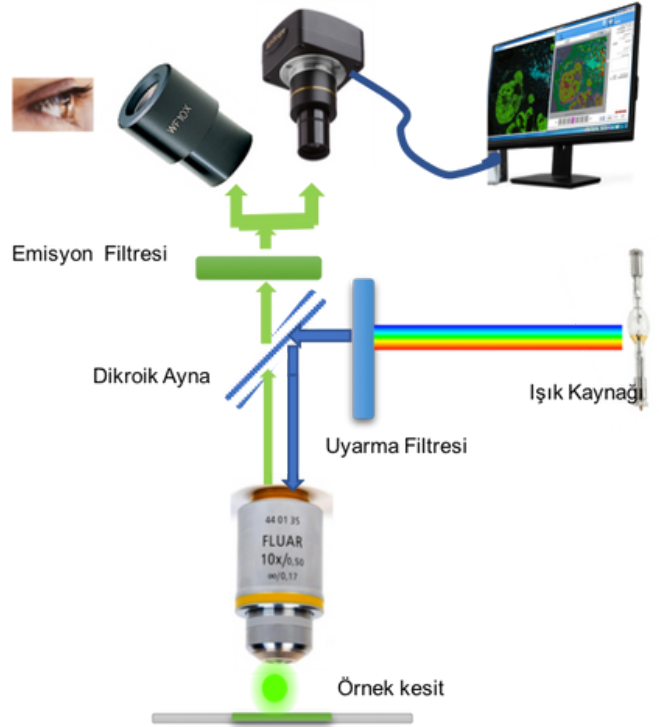
Genel özellikler

Florokromlarla işaretlenmiş kesitler, belli bir dalga boyundaki floroformlarca absorbe edilen ışıyla aydınlatılır (uyarma/excitation) ve Stokes yasasına göre; absorbe edilen ışıktan farklı bir renkte (daha uzun bir dalga boyunda) ve küresel olarak tüm yönlerde yayılan ancak uyarma ışık şiddetine göre oldukça düşük bir (yayılım/emisyon) ışık ile görüntü alınır (5). Bu da yansıyan ışının preparata gönderilen ışıktan ayrımını/seçimini kolaylaştırır.

Klasik bir floresan mikroskobu konvansiyonel ışık mikroskobuna göre farklı olarak Johan S. Ploem tarafından geliştirilen ve ikinci bir (üstten/epi-fluoresan) aydınlatma düzeneğine sahiptir (6). Burada genellikle çok daha kuvvetli ve daha beyaz bir ışık veren ışık kaynakları; civa buharlı lamba, xenon veya led lambalar kullanılır. Son yıllarda ayrı bir güç kaynağı gerektirmemesi, soğuk ışık sağlaması, bu nedenle de enerji tasar-

rufu ve daha uzun kullanım ömürlerine sahip olmaları nedeni ile led ışık kaynakları tercih edilmektedir.

Işık kaynağı ile objektif arasında belli dalga boyunda ışık sağlayan uyarma filtreleri ve özel bir çift kırıcı dikroik/dikromatik ayna bulunurken objektif ile oküler arasında preparattan yansıyan ışığı seçen dikroik ayna ve emisyon filtreleri bulunur. Filtreler ve dikroik ışın ayırıcı, numuneyi işaretlemek için kullanılan floroformun uyarma ve emisyon özelliklerine uyacak şekilde seçilir (1,5). Bir epi-illüminasyonlu floresan mikroskop şeması Şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. Klasik trinoküler epi-floresan mikroskop kesiti

Çoğu mikroskop firması kullanıcı tercihi göre filtre küplerinden oluşan filtre çarklı konfigürasyonu seçeneğini ile bir mikroskopta birden fazla filtre seti montajı imkanını sunar. Maksimum floresan yoğunluğunu elde etmek için, bir floroform genellikle uyarma eğrisinin pikindeki dalga boylarında uyarılır ve algılama için de emisyon tepe noktasını da içeren geniş bir emisyon dalga boyu aralığına sahip filtre seçilir.

Objektif olarak; floroformların kullandığı dalga

Floresan Mikroskop

boylarındaki ışığı daha iyi geçiren (fluor/fluorit /fluatar vs) ve emisyon yapılan ışık zayıf olduğundan bu görüntüyü yüksek çözünürlükle alabilecek NA değerleri objektifler ile bu görüntüyü kaydetmek için de yüksek çözünürlüklü dijital kameralar tercih edilir.

Düzgün yapılandırılmış bir mikroskopta, ortaya çıkan floresan yapıların çok koyu (veya siyah) bir arka plan üzerinde yüksek kontrastla üst üste gelmesi için göze yalnızca emisyon ışığı ulaşmalıdır. Bu sayede aynı preparatta birden fazla işaretli floroforlar farklı filtreler ile ayrı ayrı görüntülenebilir. Günümüzde, farklı filtre kanallarından elde edilen bu görüntüler yine mikroskop görüntü analiz yazılımları ile üst üste çakıştırılabilir.

Bir kesitin floresan mikroskopunda incelenmesi için floresan bir boya (florofor/florokrom) ile işaretli olması gerekir. Floresan floroforlar ile işaretli bir preparat da ancak bir floresan mikroskop ile incelenebilir. Biyolojik yapıların bazıları kendiliğinden (otofloresan) bu özelliğe sahipken, tıbbi ve biyolojik incelemelerde daha çok özel floresan boyalarla işaretleme kullanılır. Bu boyaların bazıları (DAPI ve HOECHST gibi nükleik asit boyaları ve aktini işaretlemede kullanılan fallodin gibi toksinler ile kollajeni işaretleleyen Collagen Hybridizing Peptide gibi proteinler) doğrudan bir biyolojik proteini/molekülü işaretleyebilirken, çoğu kere de bir antikora eklenerek numunedeki antijenik yapıların spesifik ve hassas bir şekilde işaretlenmesini (immün-floresan) sağlar. Florokrom problemlerden ilk bulunanı (Coons, 1942) FITC (Fluoresan İsoyosiyanat) olup; 490 nm mavi ışık ile uyarılmakta ve yaklaşık 519 nm'de yeşil floresan emisyon vermektedir (7). Daha sonra Rhodamin (TR-ITC, tetrametil isoyosiyanat) bulunmuş olup; yaklaşık 570 nm kırmızı floresan emisyonu sahiptir. Son yıllarda özellikle lazer-konfokal ve multi-foton mikroskopların yaygın kullanımı ile spektromdaki hemen hemen tüm renklerde emisyon yapan floroforlar da sentezlenmiştir.

Ayrıca genetikte sağlanan gelişmeler ile knock-in ile biyolojik yapı ve organizmaların floresan bir proteini sentezlemesi de sağlanarak hücre/dokuların doğrudan canlı floresan incelen-

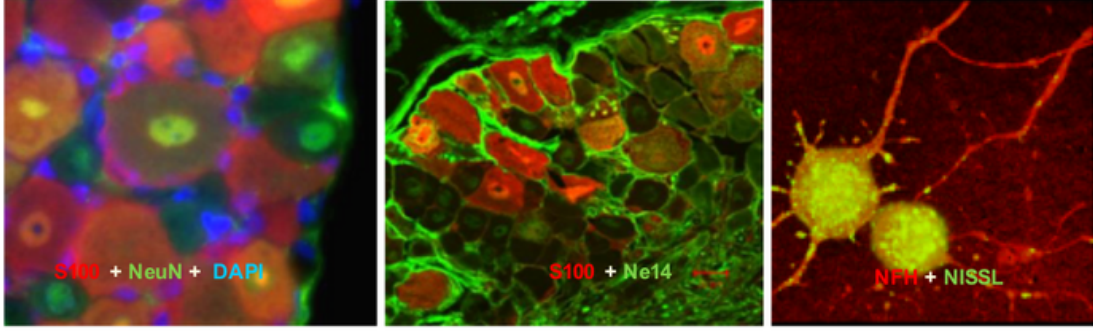
me imkânı da doğmuştur.

Avantaj/dezavantajları

Florokromlarda aydınlatma ve görüntüleme süreci Prof. Alexander Jablonsky tarafından 1930'daki doktora tezinde tanımlanan floresans prensibine dayandığından görüntüleme süreci belli bir zamanla sınırlıdır (8). Bu olaya fosforesans denir. Bir süre sonra photobleaching (solma) olayı gerçekleştiğinden floroforlar floresans yeteneklerini kaybeder ve yeterince kuvvetli görüntülenemezler. Bunun üstesinden gelmek için; optik kalitesi yüksek objektifler yanı sıra, işaretleme ve inceleme sürecinin karanlık bir ortamda yapılması; incelemenin planlı ve hızlı bir şekilde gerçekleştirilmesi, görüntülerin kaydedilmesi, daha stabil (Alexa (9), dyLight (10), Q-dots (11) gibi) ve dayanıklı yeni nesil floroforlar ile solmayı geciktirecek kimyasal ve kapatma medyumlarının kullanılması önemlidir. Canlı floresan incelemelerde ışığın da canlılığa toksik etki yapabileceği (fototoksikite) unutulmamalıdır. Yine dikkatsizce seçilen florokromların uyarma ve emisyon eğrilerinin birbirleri ile çakışan bölgelerinden yalancı pozitif floresans alınması (photo-bleeding) olasılığı da akılda tutulmalıdır. Ayrıca elde edilen görüntü konfokal mikroskoptaki seçilen belli bir Z düzleminden elde edilen optik kesit görüntüsünün aksine kesitin tümünden yansıyan görüntüyü içerdiğinden kesit kalınlığı arttıkça görüntüde de 'blurlaşma' (bulanık) görülür. Bu nedenle; konfokal mikroskoptaki 20-50 mikrometrelik kalın kesitlerin aksine klasik floresan mikroskopta 3-4 mikrometrelik ince kesitler tercih edilir. Floresan ve konfokal mikroskopilerdeki bu fark, Şekil 2'de gösterilmiştir.

Uygun immün işaretleme ile aynı seansta ikili (double) ve üçlü (triple) işaretleme yapılabilmesi ve bu işaretlemeyle daha rahat yorum ve analizlerinin yapılabilmesi dolayısı ile de birden fazla antijenik fenotipin birbiri ile aynı preparatta kıyaslanabilmesi de ışık mikroskopi esaslı immünohistokimyasal işaretlemeyle göre avantaj sağlar. Örneğin: bir kortikal beyin kesitinde astrosit ve oligodendrosit gibi belirli bir gliya hücrelerini veya spesifik bir işaretleme ile de nöronu ayırt ederken myelin, nörotübül, nörofilament veya akson gibi bir yapı veya organeller de ayrıca gösterilebilir (Şekil 2).

Floresan Mikroskop



Şekil 2. Bir arka kök gangliyonunda (DRG): Konvansiyonel floresan mikroskop ile alınmış üçlü immünhistokimyasal işaretleme (5 µm) (sol resim) ve konfokal mikroskoplara alınmış ikili işaretleme (50 µm) (orta resim), DRG kültüründe: ikili işaretleme; granüler endoplazma retikulumu NISSL/Neurotrace ile aksonlar ise NFH (nörofilament H) ile işaretlenmiştir (sağ re-sim) (E. Erdoğan'a ait farklı çalışmalardan alınmıştır).

Kaynakça

1. Can Alp (2018), Yaşam Bilimlerinde A'dan Z'ye Mikroskopi, Ankara Nobel Tıp Kitabevi, pp: 127-259.
2. Stokes, GG (1852), On the change of refrangibility of light. Philosophical Transactions of the Royal Society of London, 142: 463-562.
3. Koehler, A. (1894). New Method of Illumination for Photomicrographical Purposes. Journal of the Royal Microscopical Society. 14: 261-262.
4. Coons AH, Creech HJ, Jones RN (1941), Immunological properties of an antibody containing a fluorescent group. Proc Soc Exp Biol Med; 47: 200-202.
5. Stockert JC, Blázquez-Castro A (2017), Fluorescence Microscopy in Life Sciences ISBN: 978-1-68108-519-7, Benthan Science Publisher, Amsterdam.
6. Coumans FAW, van der Pol E, Leon WMM (2012), Flat-top illumination profile in an epifluorescence microscope by dual microlens arrays. Cytometry Part A, 81A (4), 271-350.
7. Riggs JL, Seiwald RJ, Burckhalter JH (1958). Isothiocyanate Compounds as Fluorescent Labeling Agents for Immune Serum. The American Journal of Pathology. 34 (6): 1081-1097. PMID 13583098
8. Davidson MW (2009), Alexander Jablonski, PhD: Fluorescence Spectroscopy. Lab Med 40 (11), 694-695.
9. Alexa Fluor Dyes:
<https://www.thermofisher.com/tr/en/home/brands/molecular-probes/key-molecular-probes-products/alexa-fluor.html> Erişim tarihi: 13.07.2023
10. DyLight Fluors - Technology and Product Guide.
<https://www.thermofisher.com/tr/en/home/life-science/antibodies/antibody-labeling/large-scale-antibody-protein-labeling-kits/dylight-antibody-labeling-kits.html> Erişim tarihi: 13.07.2023
11. Alivisatos, P. (August 17, 2007). Less is More in Medicine. Scientific American. 17 (3): 72-79.

Bir Androloji Laboratuvarı Nasıl Kurulur?



Uzm. Dr. Emine AKSOY

Trabzon Kanuni EAH

ÜYTEM Laboratuvar Sorumlusu

Androloji laboratuvarı erkek infertilitesinde temel test olan sperm analizinden, gonad hücresinin (sperm) veya gonad dokusunun (testis) dondurulup saklanması işlemine kadar üreme sağlığı ile ilgili bir çok test ve incelemenin yapıldığı; ayrıca aşılama ve tüp bebek tedavisinde sperm örneğinin hazırlandığı laboratuvardır. Androloji laboratuvarının bu hizmetleri başarılı ve güvenli bir şekilde verebilmesi için yeterli teknik alt yapı ve donanımına sahip olması gerekir.

Androloji laboratuvarı ihtiyaca göre kamu ve özel hastane bünyesinde kurulabilir. Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi (ÜYTEM) içerisinde olabilir veya bağımsız bir birim olarak ayrı bir alanda konumlandırılabilir. Bağımsız bir ünite olması halinde androloji laboratuvarı ile birlikte; sperm verme odası, uygulama alanı, hasta kabul ve bekleme alanı, hasta bilgilendirme odası, personel dinlenme ve çalışma odası, hasta ve personel için lavabo-tuvalet olmalıdır.

Androloji laboratuvarı: Sperm verme odası ile bağlantılı, içerisinde gerekli olan araç ve gereç ile lavabo bulunan, en az 8 m2 büyüklüğünde laboratuvardır. Isısı ayarlanabilir olmalıdır.

Sperm verme odası: Androloji laboratuvarıyla bağlantısı bir pencere ile sağlanan, içinde lavabo ve duş bulunan, gerekli donanımına sahip özel bir oda şeklinde olmalıdır.

Uygulama bölümü: En az 7 m2 büyüklüğünde,



içerisinde lavabo bulunan, intrauterin inseminasyon (IUI) ve hücresel tedavilerin uygulanacağı bir oda şeklinde oluşturulur.

Hasta kabul ve bekleme alanı: Yeterli genişlikte ve rahat şekilde döşenmiş bir hasta kabul alanı ile hasta ve yakınlarının bekleyebilecekleri bir alan bulunur.

Hasta bilgilendirme odası: Hastaların bilgilendirilmesi ve eğitimi amacıyla düzenlenen en az 10 m2 büyüklüğünde odadır. Hasta ve yakınlarına bilgilendirme yapılabilecek şekilde düzenlemeler yapılır. Bilgisayar, çalışma masası, sandalyeler, dolap vs. olmalıdır.

Dondurma saklama alanı: Bu alan bölgenin ve ilin ihtiyacına göre düzenlenir. Dondurulması gereken numunelerin (sperm, gonad dokusu, kök hücre vb.) saklanması için düzenlenen en az 6 m2 büyüklüğünde bir alandır. Bu alan androloji ünitesi içerisinde kapı ile ayrılmış bir birim olabileceği gibi uygulama alanı içerisinde dondurulmuş numunelerin saklama alanı olarak da oluşturulabilir. Bu alanda sıvı azot ana depo tankları ve yedek tank bulunur. Planlanan ilave her bir tank için 1 m2 alan eklenir.

Merkezde gerekli olan tıbbi ve teknik donanım

Laboratuvar, hizmetin sürekliliği için gerekli enerji, güç kaynağı, su, iletişim, bilişim gibi or-

Bir Androloji Laboratuvarı Nasıl Kurulur?



tam destek sistemlerini içerecek şekilde ya-
pılandırılır.

Laboratuvar teknik alanlarının kapıları,
acil durumda çıkışa engel olmayacak şekilde
otomatik kayar kapı veya dışarı doğru açıla-
bilen kapılar olmalıdır. Ayrıca yetkisiz kişi-
lerin girişlerine engel olacak şekilde düzen-
leme yapılmalıdır.

Laboratuvar ile varsa dondurma-saklama
alanının zemini ve tezgahlar antibakteriyel,
antistatik malzeme ile kaplı olmalıdır.

Laboratuvarın havalandırma sistemi; taze
hava üfleyen, mikroorganizma geçirmeyecek
şekilde filtre sistemi ile desteklenmiş olma-
lıdır. Pencere kesinlikle olmamalı varsa iptal
edilmelidir.

Personel durumu: Laboratuvar sorumlusu o-
larak tıbbi histoloji ve embriyoloji uzmanı, en
az bir tıbbi laborant olmak üzere ideali iki
tıbbi laborant veya bir tıbbi laborant ve bir
biyolog, bir sekreterden (üroloji poliklinik
sekreteri de olabilir) oluşur.

Androloji laboratuvarı için olması gereken cihazlar

1. Faz kontrast mikroskop
2. Etüv
3. En az bir adet santrifüj cihazı

4. Laminar flow kabin
5. Vorteks cihazı
6. Makler kamerası (en az iki adet)
7. Otomatik pipet seti (stantlı)
8. Isıtıcı tabla
9. Buzdolabı
10. Oda tipi termometre
11. Dijital termometre
12. Sperm ve gonad dokusu dondurma işlemi varsa; sıvı azot ana depo tankı, dondurulmuş örnek depolama tankı ve koruyucu ekipman

Androloji laboratuvarı için olması gereken sarf malzemeler

1. Sperm yıkama medyum
2. Sperm ayrıştırma medyum
3. Steril plastik pastör pipeti
4. Non steril plastik pastör pipeti
5. Steril konik santrifüj tüpü (15cc)
6. Non steril konik santrifüj tüpü (15cc)
7. Yuvarlak tabanlı aspirasyon tüpü (5 cc)
8. Lam, lamel
9. Otomatik pipet ucu
10. Steril numune kabı
11. Sperm boyama solüsyonu seti
12. Üçlü şale seti
13. Penset
14. İnsülin enjektörü
15. IUI katateri
16. Parafilm
17. Laboratuvar temizlik solüsyonu
18. Dondurma tüpü (cryovial) (sperm/gonad do-
kusu dondurma işlemi varsa)
19. Sperm dondurma medyum (sperm/gonad
dokusu dondurma işlemi varsa)

Androloji laboratuvarı için pratik bilgiler

- Günümüzde kullanılan sperm yıkama med-
yumları bikarbonat tamponla desteklendik-
leri için kullanılmadan önce inkübatörde
gazlanmaları zorunlu değildir. Dolayısıyla
laboratuvarda yalnızca HEPES tamponlu
medyum kullanılmayacak ise ısıtma amaçlı
etüv kullanımı daha uygun bir yaklaşım olur.

Bir Androloji Laboratuvarı Nasıl Kurulur?

- Sperm yıkama medyumunda içerisindeki human serum albümin (HSA) miktarı %5 ve üzeri olmalıdır.
- İdeal olanı; sperm sayımı için bir faz kontrast mikroskop ve sperm morfoloji değerlendirmesi için bir ışık mikroskobu olmasıdır.
- Laminar flow kabin Class II düzeyinde, yüzeyi ısıtmasız, iki kişinin çalışmasına uygun olacak şekilde en az 120 cm olmalıdır.
- Faz kontrast mikroskobunun, makleler kamerasında sayım için 20'lik büyütme objektifi olmalıdır.
- Faz kontrast mikroskobunun, sperm morfoloji değerlendirmesi için 100'lük büyütme objektifi olmalıdır.
- İdeal olanı; biri soğutmalı özellikte iki adet santrifüj olmasıdır.
- Buzdolabının büro tipi olması yeterlidir.
- Androloji laboratuvarında mutlaka internet bağlantılı bilgisayar ve yazıcı olmalıdır.



Mikroskobun Keşfi



Uzm. Dr. Betül SARI

SBÜ İstanbul Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Tüp Bebek Ünitesi

İnsan gözü 200–250 μm 'den daha büyük olan nesneleri görebilir. Daha küçük canlı ve nesneleri görmek için ise mikroskop gereklidir. Mikro dünyanın kapılarını açan, görünmezi görünür, bilinmezi bilinir kılan mikroskopların icadı bilim dünyasında yeni keşiflere yol açarken tıp dünyasında hastalıkların teşhis ve tedavisi açısından da çok önemli olmuştur.

Günümüzde çok çeşitli mikroskoplar kullanılmaktadır. Bunlar ışık kaynağına göre gözle görünen ve gözle görünmeyen ışınların kullanıldığı mikroskop türleri olarak iki ana gruba ayrılır.

Gözle görünen ışınların kullanıldığı mikroskop türleri:

- Aydınlatık alan mikroskobu
- Karanlık alan mikroskobu
- Faz kontrast mikroskobu
- Polarizasyon mikroskobu
- İnterferens mikroskobu
- İnvirt mikroskobu

Gözle görülmeyen ışınların kullanıldığı mikroskop türleri :

- Ultraviole mikroskobu
- Fluoresan mikroskobu
- Konfokal mikroskobu
- Elektron mikroskobu

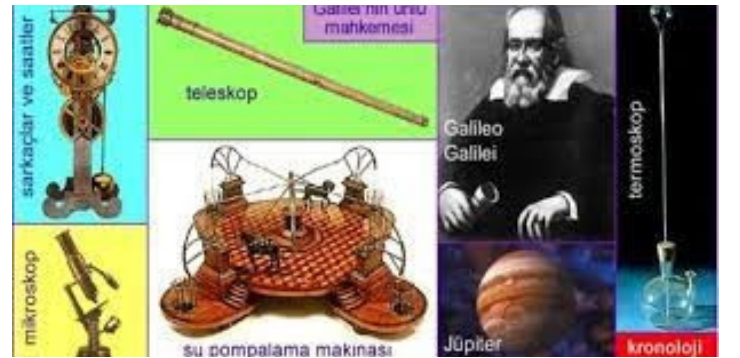
Bilimin en önemli buluşlarından olan mikroskobun icadının ilk temelleri Romalılar tarafından atılmıştır. 13.yüzyılda Romalılar, ortası kalın kenarları ince olan camların cisimleri daha büyük gösterdiğini keşfetmişler, mercimeğe benzeyen

bu camları latince mercimek kelimesinden türeyen lens adını vermişlerdir. Bu camlar daha sonra optik sektöründe kullanılmaya başlanmıştır.

Mikroskobu ilk keşfedenin kim olduğu konusunda kesin bir bilgi yoktur. Aynı anda birçok bilim insanının çalışması olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte Hollandalı Hans Janssen ve oğlu Zacharias Janssen, 16. Yüzyılda birden fazla merceğin cisimleri daha fazla büyütebileceğini düşünerek iki merceği tüp şeklinde bir alete koyarak cisimlerin tek mercekten olandan çok daha büyük göründüklerini gözlemlemiştir. Bu gözlem sayesinde ilk optik mikroskobun keşfi gerçekleşmiştir.



Galileo Galli ise casus camı adını verdiği mikroskobu ile cisimleri çok daha fazla büyüterek böcekleri incelemiş ve resmetmiştir.

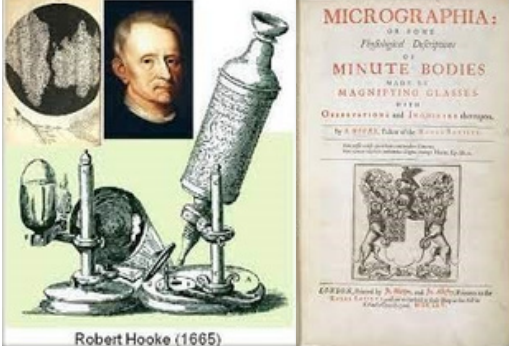


Galileo Galli ve buluşları

Robert Hooke optik mikroskobu enstrüman yapımcısı olan Christopher Cock ile birlikte geliştirmiştir. Birçok canlıyı ve nesneyi inceleyen Robert Hooke "Micrograpia" isimli bir kitap yayımlamıştır. Kitabında incelediği şeylerin çizimlerini de yapan Hooke incelediği

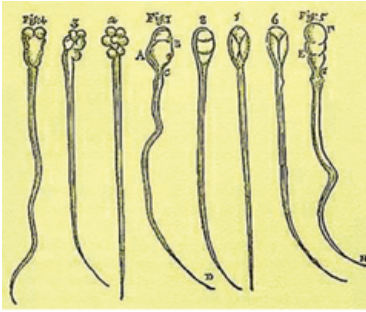
Mikroskobun Keşfi

şişe mantarında keşfettiği boş odacıklara 'hücre' ismini vererek literatüre hücre tanımını kazandırmıştır.



Robert Hooke (1665)

Anton van Leeuwenhoek bir kumaş tüccarıdır ve nesneleri 270 kat büyüten bir mikroskop üretilip birçok inceleme yapmıştır.



Anton van Leeuwenhoek'in çizdiği sperm resimleri

Bu yeni mikroskop ile Robert Hooke, kendi dişinden aldığı örnekleri inceleyerek 'mikroorganizmalar'ı keşfetmiştir.

19. yüzyılda Louis Pasteur mikroskoptan yararlanarak hasta hayvanlardaki bakterileri incelemiş ve bu mikroorganizmaların hastalıklara neden olduğunu göstermiştir. Pasteur bugün bilinen birçok aşının da buluşunu yapmıştır.



Ernst Ruska ise ışık yerine elektron demeti kullandığı elektron mikroskobunu ile nesneleri yaklaşık bir milyon kez büyötmeyi başaran elektron mikroskobunu bulmuştur.



Ernst Ruska (1906-1988)



İki Alman bilim insanı Gerd Binnig ve Heinrich Rohrer, taramalı tünelleme mikroskobu geliştirmiştir. Bu mikroskoplar bilgisayarlar ile kontrol edilebilmekte ve bu mikroskoplar ile üç boyutlu görüntü alınabilmektedir.



Bilim çok güçlü bir ışıktır ve tüm varoluşu aydınlatır. Geçmiş, şimdi ve gelecekte pozitif bilimin ışığına katkıda bulunan herkese sevgi ve saygılarımla...

Mozaik Embriyoların Transferine İlişkin PGDIS Görüş Raporu (19 Ağustos 2021)



Uzm. Dr. Emine AKSOY

Trabzon Kanuni EAH

ÜYTEM Laboratuvar Sorumlusu

Uluslararası Preimplantasyon Genetik Tanı Derneği (PGDIS)

PGT (Preimplantasyon Genetik Tanı) sürecinde teknik yeterlilik ve tüm test sonuçlarının doğru yorumlanması dahil olmak üzere, embriyo analizinin tüm aşamalarında kalite süreçlerinin uygulanmasına öncülük eder. Bir önceki PGDIS görüş beyanından (2019) bu yana, mozaik embriyo transferinin olası sonuçları konusunda belirsizlik devam etmektedir. Bu raporun amacı, mevcut en son bilgileri gözden geçirmek ve mozaik embriyo transferiyle ilgili test laboratuvarlarına, kliniklere, klinisyenlere ve genetik danışmanlara; PGDIS adına düzenlenen önceki 2016 ve 2019 (Cram ve ark., 2019) belgelerinin yerine geçecek güncellenmiş bir özet sağlamaktır.



ÖZET

PGT-A gibi kromozomal testler, morfolojiye dayalı embriyo seçimlerinde istenmeden yapılan anöploid embriyo transferini önleyerek IVF sonuçlarını iyileştirir. NGS (Next Generation Sequencing) gibi daha yeni teknolojiler bazı embriyoların, trofektoderm (TE) mozaizmi düşündüren, intermadiate tam veya segmental kromozom kopya sayısı sonuçlarına sahip gibi görünebileceğini ortaya çıkarmıştır. TE mozaik araştırması sonucuna sahip bir embriyo bazı hastalarda transfer için tek seçenek olabilir.

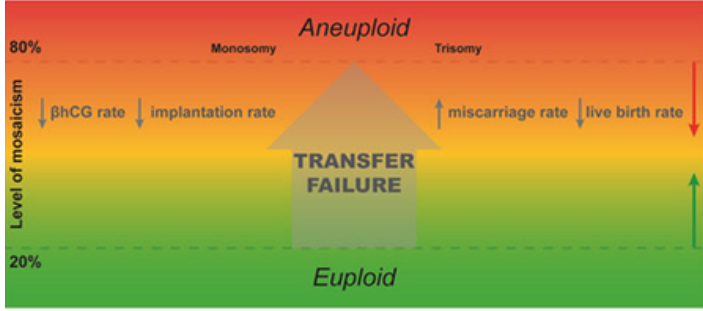
Son veriler mozaik embriyoların anormal doğum riski olmadan transfer edilebileceğini göstermektedir. Yayınlanmış birkaç kontrollü çalışmada, mozaik embriyo transferlerinin, artan implantasyon başarısızlığı ve düşük oranları ile ilişkili olduğunu (şekil 1) ve yüksek oranlı mozaik embriyolarda hastadan iyi sonuç alma ihtimalinin azaldığını öne sürer. Düşük oranlı mozaik embriyoların transferinde, bazı grupların öploid embriyolara benzer sonuçlar gösterdiği raporlar bulunurken (Capalbo ve ark., 2021), bazı gruplar da daha yüksek gebelik başarısızlığı oranları bildirir (Wang ve ark., 2021). Mozaik embriyo transferlerinin sonuçlarıyla ilgili veriler hala sınırlıdır, sadece 1000'den fazla vakanın takibine ait sonuçlar mevcuttur. Bu görüş raporunda, mozaik embriyoların işe yararlılığı ve transferine ilişkin tartışmalara yardımcı olmak için laboratuvarlara, kliniklere, klinisyenlere ve danışmanlara rehberlik edilir.

Giriş

Anöploidi için PGT-A'nın amacı, morfolojiye dayalı embriyo seçimlerine özgü anöploid embriyo transferinin sayısını ve etkisini azaltarak, IVF transfer sonuçlarını iyileştirmektir. Bir öploid embriyo transferinin, anöploid embriyolara göre implantasyon, gebelik ve canlı doğum için daha iyi oranlara sahip olduğu gösterilmiştir. İlk çalışmaların çoğu, bölünme aşaması biyopsisi ile sınırlı FISH analizi kullanılarak gerçekleştirilen PGT-A'nın bir avantajını gösterememiştir. Artık embriyonun kromozomal durumunun değerlendirilmesinde optimal olanın birkaç TE hücresinin biyopsisi ile birlikte kapsamlı kromozom analizi

Mozaik Embriyoların Transferine İlişkin PGDIS Görüş Raporu (19 Ağustos 2021)

olduğu kabul edilmektedir. Erken evre biyopsisi-nin (3.gün) embriyo sonuçlarını kısıtlama potan-siyeli olduğundan artık tercih edilmemektedir. Bununla birlikte, tek seferde birden fazla hücre-nin analizi, intermediate kromozom (tam/seg-mental) kopya sayısı olasılığını ortaya çıkarır.



Mozaik Embriyo İnsidansı

Kromozom mozaikliği, genellikle embriyoların sadece küçük bir kısmında olmasına rağmen, yaygın olarak gözlenir. Array CGH ve NGS tabanlı yöntemler gibi hassas teknolojiler, uniform anöploidileri (biyopsideki tüm hücreleri etkileyen) mozaik anöploidilerden (biyopsideki yalnızca bazı hücreleri etkileyen) değişken bir şekilde ayırt edebilir. Blastokist aşamasında, NGS yöntemleri kullanılarak rapor edilen mozaik insidansı klinikler arasında oldukça değişkendir; %2'den %40'a kadar değişir ve kliniklerin büyük çoğunluğu araştırılan yaş grubuna bağlı olarak %5-15 arasında oran verir. Belirli bir klinikte sürekli olarak yüksek mozaik embriyo insidansı, hasta yaş grubu, klinik tedavi ve spesifik embriyoloji uygulamaları ile ilişkili olabilirken; tüm kliniklerde yüksek mozaik insidansı, daha zayıf test laboratuvarı uygulamalarının göstergesi olabilir. Bu durumlarda klinik ve test laboratuvarı, uygulamalarını gözden geçirmelidir. Genetik laboratuvarları embriyo mozaik oranlarını ve cut-off değerlerini açıklamalıdır. Bu, kliniklerin kendi performanslarını ve laboratuvarın analitik yeteneklerini değerlendirmelerine yardımcı olacaktır.

Mozaik Embriyoların Transfer Sonuçları

Mozaik embriyo transferi sonrası başarılı gebelikleri bildiren ilk yayınlanmış çalışmadan bu yana (Greco ve ark., 2015), diğer gruplar da daha

fazla sayıda mozaik embriyo içeren sonuçlar bildirmiştir (Munne ve ark., 2017; Victor ve ark., 2019a; Viotti ve ark., 2021; Zhang ve ark., 2019; Zore ve ark., 2019). Bu çalışmalar, mozaik veya mozaik segmental embriyoların sağlıklı gebeliklerle sonuçlandığını ortaya koymuştur (Tiegs ve ark., 2021; Viotti ve ark., 2021) ancak; bu tür transferler düşük implantasyon oranları ve sıklıkla daha yüksek düşük oranları ile ilişkilidir (Wang ve ark., 2021). Mozaik embriyo transfer verileri yaklaşık 1000 mozaik embriyoyu kapsamaktadır. Mozaik embriyoların büyük bir kısmı önemli düzeyde gelişimsel yetkinliğe sahiptir ve transfere uygundur. Genel olarak, düşük mozaik embriyoların (%50 altı) transferinden sonra yüksek başarı oranları elde edilirken, TE biyopsi örneğinde daha yüksek anormal hücre seviyesine sahip mozaik embriyolarda (%50 üzeri) gebelik olasılığı daha düşüktür. Mozaik embriyo transferinden sonra oluşan gebeliklerin prenatal teşhislerinin neredeyse tümü, normal öploid fetüslerdir ve bildirilen canlı doğumlarda kromozomal sendromlar görülmemiştir. Mozaik embriyo transferleri ile sendromik olmayan çok düşük seviyeli bir mozaik bebek (Kahraman ve ark., 2020) ve etkilenen bir bebek (Mounts ve ark., 2019) doğmuştur. Yakın zamanlarda, mozaik embriyoların analizi ile mozaik blastokistlerin kromozomal yapısı hakkında ek bilgiler ortaya çıkmıştır (Viotti ve ark., 2021). Genel olarak, ilk biyopside yüksek mozaiklik düzeyi varsa, sonraki TE ve ICM biyopsileri tam bir anöploidi gösterir. Bununla birlikte, sonraki TE ve ICM biyopsilerinde daha düşük bir mozaiklik seviyesi saptanan birçok embriyo uniform öploidir (Marin ve ark., 2021; Ou ve ark., 2020; Victor ve ark., 2019).

Bu Durum Klinik Uygulamada Anöploidi Testini Nasıl Etkiler?

TE biyopsi sonuçlarının çoğu (>%85) tüm kromozomlar için tek tip öploid veya bir ya da daha fazla kromozom için tam anöploid olmasına rağmen, embriyo biyopsilerinin küçük bir kısmı, bir veya daha fazla kromozom için intermediate kopya sayısı değişiklikleri gösterebilir. TE biyopsilerinde tespit edilen mozaik insidansı teorik olarak fetüs ve/veya plasenta üzerinde (plasental disfonksiyon, sendromik canlı doğumlar vb.) klinik

Mozaik Embriyoların Transferine İlişkin PGDIS Görüş Raporu (19 Ağustos 2021)



Figure 1 Classification of human preimplantation embryos based on their chromosomal status.

Hum Reprod Update, Volume 26, Issue 3, May-June 2020, Pages 313–334, <https://doi.org/10.1093/humupd/dmzo50>

etkilere sahip olabilir. Mozaik embriyoların transferi, hastaya uygun danışmanlık ve alternatifler tartışıldıktan sonra düşünülebilir. Doğal gebeliklere kıyasla gerçek risk düşüktür (Viotti ve ark., 2021) ve minör TE mozaikliği veya artefaktlar arasında muhtemelen gerçek mozaik transferlerini temsil eder.

Genetik Laboratuvarı için

Kromozom kopya sayısını ölçmek için kullanılan NGS ve ilişkili veri analizlerinin bazen yanlış bir şekilde mozaiklik gösterebilir (Fragouli ve ark., 2019; Marin ve ark., 2021). Teorik olarak, mozaiklik değerleri şu durumlarda yanlış sonuçlanabilir:

- (i) Zayıf biyopsi tekniği
- (ii) Zayıf numune işleme/taşıma
- (iii) Suboptimal DNA amplifikasyonu ve kütüphane oluşturma
- (iv) Kromozom haritalama yerlerini standardize etmek için kullanılan algoritmaların seçimi

IVF Kliniği için

Sürecin kalan embriyo üzerindeki etkisini en aza indirmek ve aynı zamanda sağlam, dengeli bir amplifikasyon sağlamak için 5-10 TE hücresine biyopsi yapılması önerilir. Embriyo üzerinde minimum etki oluşturmak için her zaman özen gösterilmelidir. Orijinal embriyonik hücreleri yansıtan bir DNA ürünü elde etmek için hem yıkama ve yükleme protokolleri hem de biyopsi sırasında hücrelere verilen hasar en aza indirilmelidir.

Genetik Danışman/Klinik Destek için

Literatürde ve sosyal medyada yer alan bilgilerin çeşitliliği ve kalitesi, mozaik embriyoların tüp bebek tedavisindeki yararlılığına ilişkin anlayışlarda kafa karışıklığına yol açar. PGT-A, transfer sonuçlarını iyileştirmek için en başarılı olma potansiyeline sahip kromozomal yapıdaki embriyoların seçimini sağlar. Anöplid embriyolarda gebelik başarısızlığı tartışılmaz olduğu gibi

Mozaik Embriyoların Transferine İlişkin PGDIS Görüş Raporu (19 Ağustos 2021)

başarılı bir gebelik için dengeli bir kromozom dizisinin gerekliliği de tartışılmazdır. Ara seviyenin varlığı, mozaik (karma) durum olarak adlandırılır. Embriyodan sadece küçük bir parça alındığından, mozaik durum biyopsi yapılan bölge ile sınırlı olabilir veya embriyonun diğer kısımlarında mevcut olabilir. Herhangi bir kişinin çalışılan embriyolarında, transfer edilebilir embriyosu olmayabilir veya mozaik olarak sınıflandırılan birkaç embriyosu olabilir. Her bir hasta özeldir ve farklıdır. Bu nedenle, karar verme sürecinin uygun bir profesyonel ile tam olarak tartışılması gerekir.

Unutulmamalıdır ki mozaik embriyolar her zaman var olmuştur ve bu şekilde tanımlanmadan önce de tüp bebek sürecinde kullanılmıştır. Transfer için seçilen öploid embriyolardan bazılarının, trofektodermin başka bir bölgesinden biyopsi alınması halinde mozaik olabileceği de bilinmelidir. Mozaisizmin doğası ve erken embriyonik gelişim sırasında ortaya çıkma şekli göz önüne alındığında, mozaik olarak karakterize edilen tek bir biyopsi örneği, embriyonun geri kalanının da mozaik olduğunu kanıtlamaz.

Klinisyen için Öneriler

Kromozomal profilde embriyonun ilgili kromozom kopya sayısı basit ve resimli bir şekilde sunulabilir. Preimplantasyon embriyolarından biyopsi alınan hastalara, bir veya az sayıda hücrenin örneklenmesine dayalı herhangi bir genetik testin, teknik ve biyolojik faktörlerin etkisiyle %100 doğru olamayacağı söylenmelidir. Anöploid testi için hasta bilgileri ve onay formları, mozaik sonuç olasılığını içerecek şekilde düzenlenmelidir. Genel olarak, başka endikasyonlar ortaya çıkmadıkça (hasta tercihi gibi), normal öploid sonuca sahip blastokistlerin transferine öncelik verilmelidir. Mozaik bir embriyonun transfer edilmesi, bir öploid embriyonun transferine kıyasla risksiz değildir. Bir mozaik blastokistin transferini düşünürken, hastayla aşağıdaki seçenekler tartışılabilir:

- (i) Transfer için bir öploid blastokist belirleme şansını artırmak için başka bir PGT-A döngüsü
- (ii) Potansiyel risklerle ilgili olarak uygun konsültasyondan sonra mozaik blastokistin transferi

Prenatal Seçenekler

Öploid veya mozaik PGT'den sonra oluşan bir gebeliğin prenatal tanısı PGDIS tarafından önerilir. Bu, gebe kalma yöntemi veya önceki genetik testlerden bağımsız olarak, prenatal tanının her gebelik için tartışılması ve sağlanması gerektiğini belirten mevcut ACOG/ACMG tavsiyeleriyle tutarlıdır.

Noninvaziv Test

Erken ebelik araştırmaları için, söz konusu mozaik kromozomu/kromozomları içeren 24 kromozomlu NIPT metodolojisi tercih edilmelidir. Birçok ülkede bulunan basit 5 kromozomlu NIPT testleri (21, 18, 13, X ve Y) bazı özel araştırmalar için uygun olmayabilir. PGT-A tarafından tespit edilen segmental anöploidinin, NIPT'nin tespit sınırlarının altında olabileceğine dikkat edilmelidir. Laboratuvar segmentin algılama sınırları içinde olup olmadığının farkında olmalıdır. Non-invazif testlerin sadece plasental kromozom durumunu değerlendirebileceği ve bunun her zaman kalan yapıları veya fetüsü yansıtmadığı bilinmelidir.

İnvaziv Test

Gebeliğin 14. haftasından itibaren yapılan amniyosentez, fetüsün kromozomal durumunun en iyi göstergesidir. Daha erken gebelik aşamasında, koryon villus örnekleme (CVS) düşünülebilir, ancak NIPT'de olduğu gibi, yalnızca fetal kromozomdan farklı olabilen plasental kromozom yapısını ortaya çıkarabilir. Her durumda, tüm seçeneklerle ilgili yönlendirici olmayan bir danışmanlık sunulmalıdır.

Transferi Düşünülen Mozaik Embriyoların Önceliklendirilmesine İlişkin Öneriler

1. Daha yüksek düzeyde mozaisizme sahip embriyolar, daha düşük düzeyde mozaisizme kıyasla daha az olumlu sonuçlarla ilişkilendirilebilir. Şu anda yüksek dereceli mozaik embriyo transferleri konusunda çok az deneyim bulunmaktadır. Mozaisizmin relatif yüzdesi, sonucun ilgili spesifik kromozom(lar)dan daha iyi bir göstergesi gibi görünmektedir ve bu nedenle raporlamaya ve hasta tartışmasına dahil edilmelidir.

Mozaik Embriyoların Transferine İlişkin PGDIS Görüş Raporu (19 Ağustos 2021)

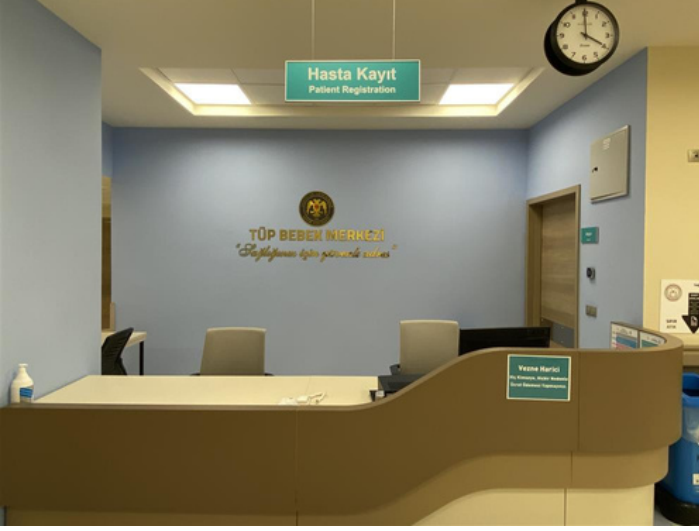
2. Bir mozaik embriyo transfer etme kararı, mozaicism düzeyine veya mozaicism türüne göre (tüm kromozom/segmental değişiklikler) önceliklendirilebilir. Benzer mozaicism seviyelerine sahip iki embriyodan birinin transferi ile ilgili bir seçim yapılacaksa, tercih embriyo morfolojisine, daha yüksek morfolojik derecenin daha iyi sonuç verme eğiliminde olmasına veya varyasyonun doğasına göre değerlendirilebilir (segmental mozaik embriyo transferleri, tüm kromozom mozaik embriyo transferlerine göre öploid embriyolara daha benzer sonuçlar verir).

SONUÇ

PGT için genomik teknolojilerdeki gelişmeler, tam kromozom ve sonuçlara ilişkin mevcut bilginin eksik olduğu ve hala gelişmekte olan segmental mozaicism alanları dahil olmak üzere, kromozom anormalliklerinin daha eksiksiz bir spektrumunun tanımlanmasına olanak sağlamıştır. Mozaik embriyo transferinin kaçınılmaz olduğu tarihsel IVF sonuçları, doğal gebeliklere kıyasla canlı doğumlarda kromozom bozuklukları için artan risk göstermedi. Mozaik embriyoların transferi, çiftler için nispeten güvenli bir seçenek gibi görünmektedir; herhangi bir gebelik için geçerli risklerin ötesinde doğum için düşük veya minimum olumsuz sonuç riski vardır. NIPT'nin birçok nadir (canlı olmayan) trizomiye bile tespit edebildiği gösterilmiştir (Scott ve ark., 2018). Böylece, orijinal TE mozaicism sonucunun non-invaziv ve invazif takibi artık mevcuttur. Araştırma düzeyinde, bağışlanan mozaik embriyoların kromozom analizi, ilk biyopsi değerlendirme-lerinin önemine ışık tutmaya devam ediyor ve mozaik embriyoların genetik yapısı hakkında değerli bilgiler veriyor. Benzer şekilde, doğum sonrası plasentanın ayrıntılı kromozom incelemesi, transfer edilen mozaik embriyoda gözlenen mozaicismin doğası ve derecesi hakkında değerli bilgiler katacaktır. Daha ileri bilgiler ortaya çıktıkça bu bildirim güncellenecektir.

HABERLER

1) İstanbul Kartal Dr. Lutfi Kırdar Şehir Hastanesi ÜYTE Merkezi Aralık 2022'de hizmete açılmıştır. Bir profesör ve bir doktor öğretim üyesi olmak üzere iki kadın hastalıkları ve doğum uzmanı, bir tıbbi histoloji ve embriyoloji uzmanı, iki hemşire, bir biyolog, bir tıbbi laborant, üç sekreter ve iki yardımcı personel ile bölge halkına hizmet vermektedir.



2) Erzurum Şehir Hastanesinde Androloji Ünitesi Ocak 2023'de açılmış olup iki tıbbi histoloji ve embriyoloji uzmanı, bir biyolog ve iki tıbbi laborant ile bölge halkına hizmet vermektedir. İçerisinde androloji laboratuvarı, sperm numune odası, hasta bilgilendirme alanı, uygulama alanı, personel çalışma-dinlenme odası gibi bir çok bölümü içermektedir. Temel semen analizinden başlayarak intrauterin inseminasyon için sperm hazırlama da dahil birçok androlojik test yapılmaktadır.



HABERLER

3) Trabzon Kanuni Eğitim ve Araştırma Hastanesi ÜYTE Merkezi Kasım 2022'de hizmete açılmıştır. Bir profesör, bir doçent, bir doktor öğretim üyesi ve bir operatör doktor olmak üzere dört kadın hastalıkları ve doğum uzmanı, üç tıbbi histoloji ve embriyoloji uzmanı, bir üroloji uzmanı, altı hemşire, üç tıbbi laborant, iki sekreter, bir hasta kabul görevlisi ve iki yardımcı personel ile bölge halkına hizmet vermektedir.



4) Antalya Eğitim ve Araştırma Hastanesi ÜYTE Merkezi Mayıs 2022'de hizmete açılmıştır. Bir profesör, bir doçent ve bir operatör doktor olmak üzere üç kadın hastalıkları ve doğum uzmanı, dört tıbbi histoloji ve embriyoloji uzmanı, beş hemşire, iki biyolog, bir tıbbi laborant, iki sekreter ve iki yardımcı personel eşliğinde bölge halkına hizmet vermektedir.



HABERLER

5) Kadın hastalıkları ve doğum konuları ile beraber embriyoloji ve fonksiyonel tıp oturumlarını da içeren 6. Karadeniz Jinekoloji ve Obstetrik Kongresi 2-4 Haziran 2023 tarihleri arasında Trabzon'da başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir.



6) Pediatri dünyasının ünlü kurumu Scientex Conference serisinin bu yılki toplantılarının onur konuğu keynote speaker olarak kurucu başkanımız Prof. Dr. Bahar Uslu idi. Başlığı "Embriyodan çocukluğa etik, hukuk ve yeni düzenlemeler" olan konuşmada ayrıca derneğimizin tanıtımı da yapıp kuruluş amacı anlatıldı. Konuşmanın önemi pediatristlerin de içinde bulunduğu katılımcılarla birlikte dünyada ilk kez embriyo haklarının konuşulduğu, Türk modeli olarak uzmanlığımızın öneminin vurgulandığı, yeni hukuksal ve hiyerarşik düzenlemelerin önerildiği, tüp bebek camiası ile etik ve hukukçuların buluştuğu bir toplantı olmasıydı.



INTERNATIONAL CONFERENCE ON PEDIATRICS AND HEALTHCARE

MAY 22-23, 2023 | DUBAI, UAE

Theme: Promoting excellence by examining the field of Pediatrics and Healthcare

Start In **0** Days **0** Hours **00** Minutes **00** Seconds

[CLICK TO BRO](#)



W
E
B
I
N
A
R

KEYNOTE
SPEAKER
2023

International Webinar on
PEDIATRICS AND HEALTHCARE

Title: From an embryo to your child, ethics, law and new regulations
Prof. Bahar Uslu, Quinnipiac University, USA



[Submit Abstract](#) [Register Now](#)

pediatrics@scientexevents.com +1 202 773 8420 www.pediatric.scientexconference.com