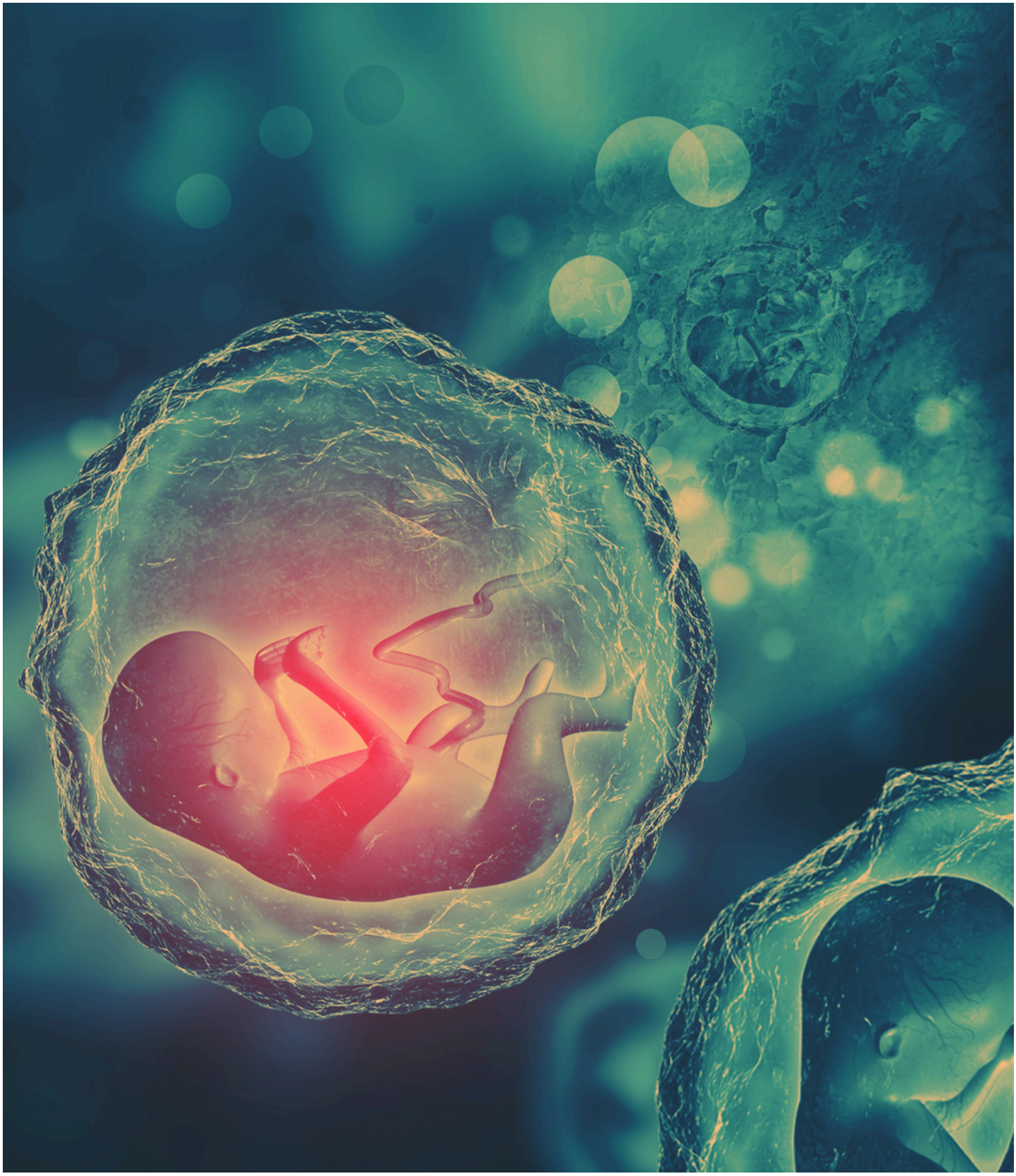
Haziran 2024
Sayı 3

HEMUD Dergisi

ISSN=2980-3594

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. Deniz Ekin ERBAŞ
Uzm. Dr. Abdulkadir KUTLU
Uzm. Dr. Murat TAŞ
Uzm. Dr. Mediha Gül TOL
Uzm. Dr. Tuğba ZENGİN
Biyolog Ayça AYÇİÇEK
Elektrik-Elektronik Mühendisi Gökhan SOMYÜREK

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 AKA SATAR
Dr. Öğr. Üyesi Gülsemin ÇİÇEK
Dr. Öğr. Üyesi Derya ÖZTÜRK OKATAN
Dr. Öğr. Üyesi Yasemin SAVRANLAR
Dr. Öğr. Üyesi Aysın 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

EDİTÖRDEN

Uzm. Dr. Ayşe Firuze BIYIK

HEMUD ailesi olarak dergimizin üçüncü sayısı ile karşınızdayız. Amacımız faydalı olacağını düşündüğümüz teorik bilgilerin yanında uzun yıllar sonucu tecrübe ile kazanılmış pratik bilgileri de sizlere aktarmaktır. HEMUD ailesi olarak birlikteliğimizin güçlenmesi ve mesleki anlamda kaliteli hizmet sunulmasının yanı sıra ÜYTE merkezlerindeki kayıt, takip formları, defterler gibi dokümantasyonların sunulup kolay erişiminin sağlanması ve standardizasyonun oluşturulması da hedeflerimiz arasındadır.

Dergimizin bu sayısında birbirinden önemli konulara yer verdik. Bir önceki sayıyla başlayan 'Bir üremeye yardımcı tedavi merkezi nasıl kurulur?' yazı serisinin devamı niteliğinde; merkezin fiziksel özellikleri nelerdir, nelere dikkat edilmelidir, merkezdeki gaz sistemi nasıl olmalıdır, laboratuvar için hangi cihazlar alınmalıdır, OPU ve TESE ameliyathaneleri için gerekli cihazlar nelerdir, hasta odaları, poliklinikler, USG odası ve merkezin diğer bölümleri nasıl düzenlenmelidir, mobilyalar nasıl planlanmalıdır gibi önemli soruları cevaplamaya çalıştık. Örnek verilen cihazların, mobilyaların sayısı ortalama bir sayı olup ÜYTE merkezinin bulunduğu yerde hizmet vereceği nüfusa göre değişkenlik gösterebilir. Ayrıca yazımızın sonuna proje onayı alınmış bir şehir hastanesi ÜYTEM planı eklenmiştir.

'Sıfır'dan beş'e IVF hasta dokümantasyonu' konu başlığında bir ÜYTE merkezinin ihtiyacı olan formlar ve defterler ayrıntılı bir şekilde anlatılmıştır. Yazı metninin sonundaki linke tıkladığınız zaman bu formlara ulaşabilirsiniz.

Bir metod bölümünde apoptozis ve TUNEL testi ayrıntılı bir yazı ile anlatılmıştır. Bir cihaz tanıtımı bölümünde ise laminar hava akım kabinleri hakkında bilgi sahibi olabilirsiniz. Bir ÜYTE merkezi tanıtımı bölümünde Ankara Bilkent Şehir Hastanesi ÜYTEM tanıtımına yer verilmiştir.

Son olarak yine birbirinden güzel makale özetleri ve haberler bölümü yer almaktadır. Bu sayının hazırlanmasında emeği geçen ve destek olan herkese HEMUD ailesi olarak çok teşekkür ederiz. Keyifli okumalar dileği ile…

Uzm. Dr. Ayşe Firuze BIYIK

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

BİR ÜYTE MERKEZİ NASIL KURULUR? -2-

SAYFA

IVF HASTA DOKÜMANTASYONU -2-

SAYFA

APOPTOZİS VE TUNEL

SAYFA

CİHAZ: LAMİNAR AKIM HAVA KABİNİ

SAYFA

ANKARA BİLKENT ŞEHİR HASTANESİ ÜYTEM

SAYFA

MAKALE ÖZETLERİ

SAYFA

HABERLER

BİR ÜYTE MERKEZİ NASIL KURULUR? -2-

Uzm. Dr. Emine AKSOY
Trabzon Kanuni EAH
ÜYTEM Laboratuvar Sorumlusu

İNŞAAT AŞAMASINDA NELERE DİKKAT EDİLMELİDİR?

Dergimizin 2. sayısında mimari planlamadan bahsetmiştik. Bir ÜYTE merkezi planlanırken öncelikle yönetmelikte belirtilen minimum metrekareler göz önünde tutularak plan çizilir.

Merkezin bölümleri **genel** ve **uygulama** olmak üzere iki bölümden oluşur. Genel bölüm merkeze giriş kapısından itibaren başlar. Kontrollü otomatik açılır kapanır kapılarla (buzlu cam ya da film kaplamalı) ayrılmış, steril olmayan ve yarı steril alana merkezin genel bölümleri konumlandırılır. Merkezin uygulama bölümü ise steril alanda, birbirleriyle zorunlu bağlantılar olması gereken yerler (sperm verme odası, androloji laboratuvarı, embriyoloji laboratuvarı ve OPU odası) dikkate alınarak konumlandırılır.

Androloji laboratuvarı ile sperm verme odası arasındaki duvarda yaklaşık 55 cm x 50 cm ebatlarında çift taraflı açılabilen buzlu camlı bir pencere olmalıdır. Embriyoloji laboratuvarı ve OPU odası arasındaki kapının üzerine zeminden mesafesi yaklaşık 110 cm olacak şekilde takriben 55 cm x 50 cm ebatlarında, sadece embriyoloji laboratuvarına doğru tek taraflı açılabilen buzlu camlı bir pencere olmalıdır.

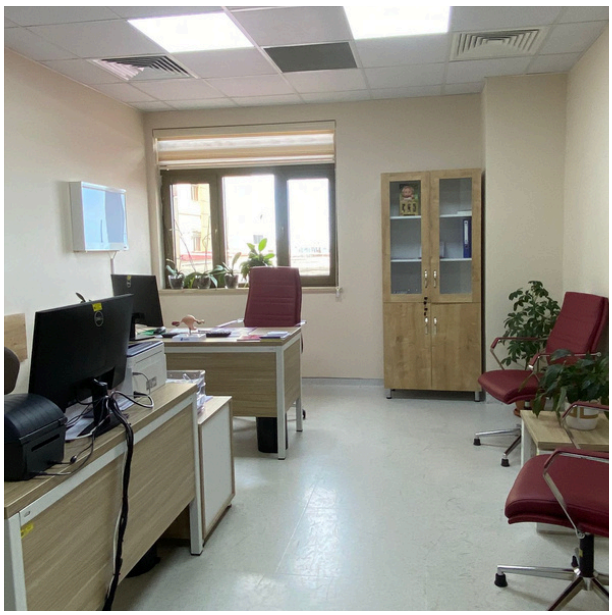
Laboratuvar kapılarının genişlik ölçüsü ise laboratuvardaki cihazlar düşünülerek planlanmalıdır.

Androloji ve embriyoloji laboratuvarlarında, cihazların yerleşimi için iş akışına ve çalışmaya en uygun olacak şekilde kroki çizilir. Cihazların sayısına ve ölçülerine göre laboratuvar içi tezgahların ölçüleri belirlenir. Tezgah corian, granit veya doğal mermer gibi antistatik ve antibakteriyel malzemeden yapılmalıdır. Sarf malzemeler için yeterince tezgah altı dolap planlanmalıdır. Tezgah üzerine inkübatörler arası mesafe en az 25-30 cm olacak şekilde inkübatörler yerleştirilmelidir. Tezgah derinliği en az 80 cm, tezgah yüksekliği ise yaklaşık 80 cm olmalıdır. Tezgah altı kapaklı dolaplara raflar konulmalı ayrıca çekmeceli bölümü de olmalıdır.

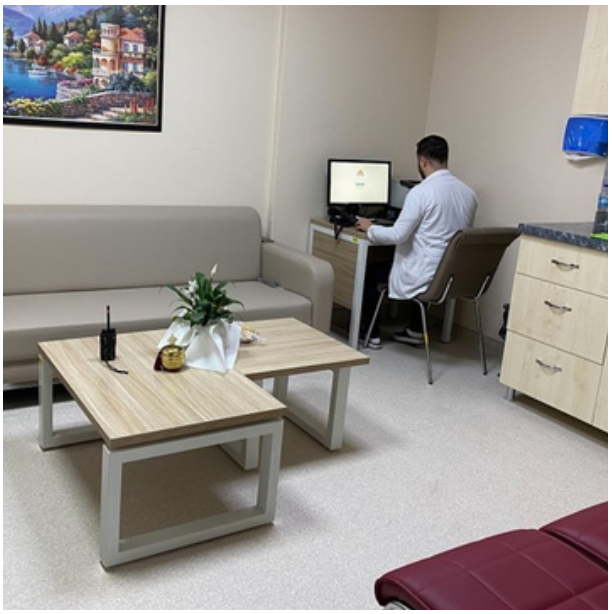
Embriyoloji laboratuvarındaki laminar kabin OPU odasına bitişik olan duvara yerleştirilmelidir. Böylece OPU sırasında follikül sıvısının taşındığı tüplere erişim kolay olur. Ayrıca embriyo transferi sırasında kataterin hastaya ulaşımı en kısa sürede gerçekleşir. Tavandaki havalandırma sisteminin hava üfleyen kapakları inkübatörlerden ve antivibrasyon masadan uzak bir yere yerleştirilmelidir. Tercihen antivibrasyon masanın dayandığı duvarın üst kısmına loş aydınlatmalı bir aplik yerleştirilebilir ya da embriyoloji laboratuvarı tavan orta kısmına ışığının şiddeti ayarlanabilir bir lamba yerleştirilebilir.

Laboratuvardaki cihazların yerleri belirlendikten sonra cihazların ihtiyacı olan elektrik prizlerinin sayısı ve lokasyonu belirlenir. Yer döşemesi PVC (polivinil klorür) gibi antibakteriyel ve antistatik malzemeden olmalıdır. Ameliyathane ve laboratuvar kısmında duvarlarda girinti çıkıntı olmamalı, dolap varsa tercihen gömme olmalıdır. Duvar boyası ise su bazlı olmalıdır.

BİR ÜYTE MERKEZİ NASIL KURULUR? -2-



BİR ÜYTE MERKEZİ NASIL KURULUR? -2-



BİR ÜYTE MERKEZİ NASIL KURULUR? -2-

1. Merkezin Fiziksel Şartları

Merkezin hizmet birimlerinin, doğrudan birbiriyle bağlantılı ve bitişik konumda olması zorunludur. Merkeze merdivenle giriliyorsa katlar arası sedye ile hasta taşınmasına olanak sağlayacak şekilde merdivenin sahanlık ölçüsü en az 1,2 metre olmalıdır. Merdiven rıhtlarının engellilerin çıkışını zorlaştırmayacak şekilde düz bir satıhla bitirilmesi, merkez girişine % 8 eğimli rampa yapılması zorunludur. Hasta dolanımının olduğu tüm koridorların genişliği en az 2 metre olmalıdır. Yapının taşıyıcı sistemi itibari ile kolon ve benzeri çıkıntılar sebebiyle koridorlardaki genişliğin 2 metrenin altına düşmesi halinde, 2 metre genişlik şartı bu bölümlerde aranmayabilir. Zemin dışında yerleşimli merkezlerde, ulaşımın kolaylıkla sağlanabileceği, ilgili mevzuata uygun bir adet sedye asansörü bulunmalıdır.

Embriyoloji ve androloji laboratuvarında aletlerin kesintisiz olarak çalışması için kesintisiz güç kaynağına (UPS: Uninterruptible Power Supply)ihtiyacı vardır. UPS, elektrik kesintisi ve voltaj düşüklüğü sırasında jeneratör devreye girene kadar cihazları olumsuz etkilerden koruyacaktır. Elektrik tesisatında 220-230 V, 50 Hz şehir şebeke cereyanı olmalıdır. Ayrıca otomatik olarak devreye giren ve elektrik projesinde hesaplanan kurulu gücün en az % 70'i oranında uygun güç ve nitelikte bir jeneratör bulunmalıdır. Her bir alan/oda için ihtiyaç olan UPS, şebeke prizi, telefon prizi, data prizi, komitatör anahtarı, klasik lamba anahtarı, Tv prizi ve tavan aydınlatması için yeterli sayıda led panel planlanmalıdır. Embriyoloji laboratuvarına inkübatör alarm sistemi için mutlaka telefon dış hattı çekilmelidir.

Merkez merkezi ısıtma sistemi ile ısıtılır. Bölge ve mevsim şartlarına göre merkezi soğutma veya split klima benzeri sistem kurulur. Hastaların ve personelin kullandığı bütün alanlar uygun şekilde havalandırılır ve yeterli güneş ışığı ile enerji kaynaklarından yararlanılarak aydınlatılmaları sağlanır. Steril alandaki embriyoloji ve androloji laboratuvarı, dondurma saklama alanı, OPU odası, TESE odası gün ışığı alan pencereye sahip olmamalıdır. Havalandırma sistemi dışarıdan aldığı havayı HEPA ve karbon filtrelerinden geçirerek, nemlendirip belli bir pozitif basınçla ortama verebilecek özellikte olmalıdır. Hava temizleme sistemi havadaki 0,3 mikrometre ve daha büyük partiküllerin % 99,5 ini azaltmaktadır. Havalandırma ve ısıtma sistemi özellikle embriyoloji laboratuvarı, ameliyathane gibi steril alanlarda en az ISO Class 7, GMP için Class B, USA için de Class 100000 ölçümlerine uygun standartta 0,05-0,15 inç pozitif basınçlı hava özelliğinde olmalıdır.

Steril alanda ameliyathane girişindeki el yıkama (Scrub) ünitesi, androloji laboratuvarı ve depo alanında su tesisatı olmalıdır. Genel alanda ise poliklinik, USG Odası, hasta odaları, personel odası, tuvalet ve duş yerlerine ait su tesisat yerleri belirlenerek temiz su çıkışı ve pis su giderlerinin düzenlemesi yapılmalıdır.

Steril alanlarda yalıtımlı şifreli otomatik kapılar kullanılmalıdır ve tercihen sızdırmazlık özelliğine sahip olan hermetik kapılar olmalıdır. Hava kalitesi farkı olan bölümler için (sperm verme odası-androloji laboratuvarı arasındaki numune verme penceresi gibi) pass-box sistemi olmalı ve bu şekilde sterilizasyonun ve hava kalitesinin korunmasına dikkat edilmelidir.

2. Gaz sistemi nasıl olmalıdır?

Merkezde konvansiyonel inkübatörler için kullanılacak gazlar CO_2 ve saf N_2 gazıdır. Günümüzde inkübatörlerde mikser-karıştırıcı sistem mevcut olduğundan daha önceden kullanılan mix gaz kullanılmamaktadır. Mix gaz geçmiş dönemlerde laminar kabin içindeki cam fanuslarda petrilerin gazlanması için kullanılmaktaydı. Yeni nesil inkübatörlerin bazı marka ve modelleri için mix gaz sistemine ihtiyaç vardır. Dolayısıyla kullanılacak inkübatörlerin hangi tipte olacağı ku-

BİR ÜYTE MERKEZİ NASIL KURULUR? -2-

rulum aşamasında henüz bilinemediğinden ilerleyen dönemlerde bir sorun olmaması adına gaz hatlarında her bir inkübatör için ayrı ayrı olmak üzere CO_2 gazı, saf N_2 gazı ve mix gaz olmak üzere üç boru hattı çekilmelidir. Laminar kabin içine monte edilecek mini inkübatör de unutulmamalıdır. Mini inkübatör O_2 kontrollü ise CO_2 ve N_2 gazı; değilse sadece CO_2 gazı çekilmelidir. Laboratuvarda mix gaz ihtiyacı olan inkübatör olmasa bile mix gaz boru hattı yedek hat gibi düşünülebilir. Kullanılan boru çapları 6 mm ila 10 mm aralığında olmalıdır.

OPU odası ve embriyoloji laboratuvarında inkübatörler için kullanılacak olan gazlar merkezi gaz santralinden borularla çekilmeli ya da merkeze yakın konumda, dolum tüplerinin yer aldığı kapısı kilitli, sabitlenmiş ve alarm sistemine sahip bir gaz odası planlanmalıdır. Kullanılacak gazların inkübatörlere belirli bir basınçla ve kesintisiz gelmesi önemlidir. Boru hatlarının inkübatörlere giriş yerinde regülatör, yani basınç düşürücü olmalıdır. Gaz odasında tüpten gaz çıkış basıncı embriyoloji laboratuvarına olan mesafeye göre (boruların uzunluğuna göre) 4-6 bar arasında olmalı ve inkübatörlere gaz giriş basıncı regülatörle ayarlanarak ortalama 0,8 bar maksimum 1,5 bar olmalıdır. Regülatör hassasiyeti 0-1,5 bar aralığında olmalıdır. Gaz ulaşımının kesintisiz olması için tüplere yerleştirilen change over sistemi olmalıdır. İnkübatör O_2 kontrollü ise hem CO_2 hem de N_2 gazı için iki adet regülatör, O_2 kontrolsüz ise sadece CO_2 gazı için bir adet regülatör olmalıdır. Gaz odasının düzeneği, olması gereken tüplerin özellikleri ve sayısı ayrıntılı bir şekilde şartname ile belirtilmelidir (örnek şartname için buraya tıklayınız).

Deniz seviyesinden yüksekliğe göre değişmekle birlikte inkübatörler için yaklaşık %6 CO_2, %5 O_2 ve % 95 neme ihtiyaç vardır.

ÜYTE Merkezinde ayrıca kullanılan gazlar; embriyo ve gonad dokusu/hücresi dondurma için kullanılan sıvı azot gazı, hasta yatak başları için O_2 gazı, ayrıca OPU ve TESE ameliyathaneleri için rutinde olmamakla birlikte gerektiğinde kullanılan N_2O (azot protoksit) gazıdır.

OPU ve TESE odası ameliyathane özelliklerini taşımalıdır. Vakum, N_2O gazı, kuru hava ve anestezi gaz tahliye sistemleri (AGSS) olmalıdır. Ayrıca gözlem odalarında hasta yatak başlarında merkezi gaz dağıtım sistemi, hasta odası aydınlatması, elektrik ve telefon priz bağlantıları, acil çağrı sistemi tesisatı olmalıdır.

BİR ÜYTE MERKEZİ NASIL KURULUR? -2-

BİR ÜYTE MERKEZİ NASIL KURULUR? -2-

3. Laboratuvar için hangi cihazlar alınmalıdır?

Embriyoloji ve androloji laboratuvarlarında bulunması zorunlu cihaz listesi (ÜYTE 2014 Mart Yönetmeliği Ek-7) aşağıda listelenmiştir:

Merkezlerde Bulunması Gereken Araç ve Gereç Listesi

Embriyoloji laboratuvarı
1. Laminar flow hood (yüzeyi ısıtmalı)
2. İnkübatör (en az 2 adet ve CO2, O2 kontrollü)
3. Mikroskoplar; a) Stereoskopik (diseksiyon) Mikroskop (Laminar flow hooda monte edilmiş ve alttan aydınlatması olan, en az iki adet) b) İnverted Mikroskop
4. Çok gözlü laboratuvar tüpü ısıtıcısı (en az üç adet)
5. Buzdolabı ve dondurucusu
6. PHmetre
7. Laboratuvar tipi termometre
8. Mikropipetler
9. Kültür için gerekli ve yeterli miktarda steril sarf malzemesi
10. Embriyo transferi için gerekli alet ve steril sarf malzemesi
11. Mikromanüplatör sistemi (İnvert mikroskoba yerleştirilmiş ve yüzeyi ısıtıcılı)
12. Toksik gaz filtreleme sistemi
13. İnkübatör Alarm Sistemi
14. Oda ısısını gösteren laboratuvar tipi termometre
15. Sıvı azot tankları (depo, embriyo, yedek tankları)
16. Dondurma ve çözme işleminde gerekli olan donanım ve malzemeler

Androloji Laboratuvarı:
1.Faz kontrast ataçmanlı standart laboratuvar mikroskobu,
2.Laboratuvar tipi santrifüj,
3.Sperm sayımı için gerekli standart ölçüm aletleri,
4.Buzdolabı,
5.İnkübatör (etüv)
6.Laminar flow hood,
7.Taşınabilir ısıtıcılı tabla.

Bu cihazlara embriyoloji laboratuvarında çok önemli bir yere sahip olan lazer sisteminin eklenmesi de uygundur. Ayrıca inkübatörlerin gaz ve nem ölçümleri için gaz analizatörü alınabilir. Alınması zorunlu olan laboratuvar tipi termometre için aynı zamanda gaz ölçümü de yapan cihaz tipleri tercih edilebilir. Embriyoloji laboratuvarı için gerekli laminar kabin en az 180 cm genişliğinde olmalıdır ve cihazda mikroskop ışık kaynağını geçiren cam yüzey standart olarak ısıtmalı olmalıdır.

BİR ÜYTE MERKEZİ NASIL KURULUR? -2-

İnkübatör sayısı ÜYTE merkezinin hizmet vereceği bölge ihtiyacına ve beklenen hasta sayısına göre belirlenmeli, hem konvansiyonel hem de benchtop inkübatörlerden seçilmelidir. Laminar kabin içine yerleştirilen mini inkübatör laboratuvardaki OPU hazırlığında, OPU sırasında ve OPU sonrası inkübasyonda büyük kolaylık sağlayacaktır.

Androloji laboratuvarı için gerekli ısıtmasız yüzeyli laminar kabin en az 120 cm genişliğinde olmalıdır. Androloji laboratuvarı için vorteks mutlaka olmalıdır. Faz kontrast mikroskop dışında 100x objektifi olan bir ışık mikroskobu özellikle morfoloji değerlendirmesinde yardımcı olacaktır. Makler kamerası en az iki adet olmalıdır. Santrifüj cihazı sayısının biri soğutmalı olmak üzere toplamda iki olması önerilir. Günümüzde kullanılan sperm yıkama medyumları bikarbonat tamponla desteklendiği için kullanım öncesi inkübatörde gazlanmaya ihtiyaç yoktur. HEPES tamponlu medyum kullanılmayacak ise ısıtma amaçlı etüv kullanmak daha doğru bir yaklaşım olur. Bu durumda androloji laboratuvarında inkübatör yerine etüv alınması ihtiyacı karşılayacaktır.

OPU ve TESE Ameliyathaneleri için gerekli araç gereçler nelerdir?

Ameliyathane	TESE için cerrahi set	Jinekolojik muayene, müdahale	Merkez için gerekli diğer araç gereçler
Ameliyathane masası (Taşınabilir Hidrolitik)	Cerrahi küvet	Histerometri	Jinekolojik Muayene masası üç motorlu(2 adet)
Ameliyathane tavan lambası (Tek başlıklı)	Düz makas	Over pensi	Seyyar muayene lambası (muayene ve IUI odası için 2 adet)
Anestezi cihazı	Portekü	Tek dişli	Kirli çamaşır toplama arabası
USG (Guide + transvajinal prob ilaveli)	İnce uçlu düz penset	Spekulum	Tıbbi atık arabası
OPU pompası (Oosit Pick Up)	Cımbız uçlu düz penset	Penset	Monitor (hasta başına yatak sayısı kadar)
Koter cihazı (bipolar başlıklı)	Düz dişli penset	Portekü	Terlik arabası,
Aspiratör (tek kavanozlu)	Moscito klemp	Klemp	Çöp kutuları
Seyyar muayene lambası	Düz küçük klemp	Düz makas	Jinekolojik Muayene masası üç motorlu (2 adet)
Çelik malzeme alet dolabı (yatay)	Mikrocerrahi makas	Histerometri	Sedye
Çelik malzeme alet dolabı (dikey)	Çamaşır klempi	Over pensi	Tekerlekli sandalye
Mayo masa dört ayaklı (2 adet)	Bistüri sapı		Serum askılık
Ameliyathane önü el yıkama evyesi (ikili fotoselli)	Pasuman klembi		LCD poliklinik monitörü
Acil müdahale ve tedavi arabası (2 adet)	Tas		
	Tepsi		

BİR ÜYTE MERKEZİ NASIL KURULUR? -2-

4. Hasta odaları, poliklinikler, USG odası ve merkezin diğer bölümleri nasıl düzenlenmelidir?

Hasta gözlem odalarında yatak sayısı birden fazla ise yatak aralarına mahremiyet için perde çekilmelidir. Yatak başı komodin, refakatçi koltuğu, dolap ve TV olmalıdır. Ayrıca hemşire çağrı sistemi olmalıdır.

USG odasında folikül ölçümünde kolaylık sağlayacak hasta soyunma-giyinme kabinleri yerleştirilmelidir. USG alanı bir paravan veya mahremiyet için perde ile ayrılmalıdır. Merkezde mahremiyete uyacak şekilde uygun yerlere kamera sistemi yerleştirilmelidir.

Merkezde kullanılacak mobilya, beyaz eşya, TV ve diğer aletlerin planlaması yapılmalıdır. Mobilya ve dekorasyon malzemeleri sağlam, silinebilir, kir tutmayan, ıslandığında bozulmayacak, su tutmayacak ve cila gerektirmeyecek özellikte olmalıdır. Yeni açılacak bir merkez için örnek olması açısından aşağıda örnek bir planlama verilmiştir.

Bekleme salonu:

- Sekreter bankosu
- Çalışma koltuğu
- 1 adet tabure
- Banko yanına büyük boy etajer
- Büyük boy sehpa (yaklaşık 90x60 cm)
- Tekli ve ikili bekleme koltukları (en az 30 kişilik)
- TV, telefon, fotokopi makinası-yazıcı, bilgisayar, barkot okuyucu, poliklinik hasta ekranı

Toplantı/hasta bilgilendirme odası:

- Konsey masası
- 10 sandalye
- 1 çalışma masası
- Bilgisayar
- 1 çalışma koltuğu
- Mini buzdolabı
- Telefon, TV (seminer ve sunum için)

Poliklinik:

- 2 adet çalışma masası + 2 çalışma koltuğu
- 2 adet hasta görüşme koltuğu
- 2 adet küçük sehpa
- Kitaplık
- 2 adet bilgisayar, yazıcı, barkot okuyucu, telefon

USG odası:

- USG
- 1 adet küçük çalışma masası
- 2 tabure
- 2 /3 /4 adet soyunma kabini (perde ile bölünebilir) İlaç alet arabası
- Dolap

Embriyolog-hasta görüşme odası

- Çalışma masası
- Çalışma koltuğu
- İkili veya üçlü koltuk
- Tek kişilik dolap
- Kitaplık
- Bilgisayar, yazıcı, telefon

Doktor odası:

- Çalışma masası
- Çalışma koltuğu
- İkili veya üçlü koltuk
- Tek kişilik dolap
- Kitaplık
- Bilgisayar, yazıcı, telefon

Personel dinlenme odası:

- Çalışma masası
- Çalışma koltuğu
- Oturma koltuk takımı
- Tezgah altı- üstü dolabı olan bir lavabo
- Büyük-küçük sehpa
- Mini buzdolabı
- Telefon
- Yeterince genişse masa ve sandalyeler

BİR ÜYTE MERKEZİ NASIL KURULUR? -2-

Androloji laboratuvarı:

- Çalışma masası
- Tezgah, tezgah altı ve üstü dolap
- Etajer
- 2 adet sandalye, 2 adet sırtlı tabure
- Bilgisayar, yazıcı, telefon ve diğer zorunlu cihazlar

Embriyoloji laboratuvarı:

- Tezgah, tezgah altı dolaplar
- 2 adet çekmeceli büyük boy etajer
- 2 adet küçük boy etajer
- 3 adet sırtlı tabure, bilgisayar, yazıcı ve diğer zorunlu cihazlar

Dondurma odası:

- Küçük çalışma masası
- Sandalye, dolap, tabure

OPU odası:

- 3 adet tabure ve diğer zorunlu cihazlar

Hasta gözlem odaları:

- Hasta yatağı
- Komodin
- Tek kişilik dolap
- Refakatçi koltuğu
- Serum askılık
- TV

Sperm odası:

- Tek kişilik dolap
- Koltuk
- Sehpa, TV, DVD player

Soyunma odaları:

- Tek kişilik giysi dolabı (en az 20 adet)
- Ayrıca 2-3 adet terlik/ayakkabı raflığı (YxGxD=100x120x30 cm gibi)
- Depolama için dolaplar
- Arşiv dolapları (kilitli) olmalıdır.

Merkezde bulundurulması zorunlu asgari ilaç listesi ve acil durumlar için bulundurulacak araç gereç listesi aşağıda verilmiştir.

Merkezde Bulundurulması Zorunlu Asgari İlaç Listesi

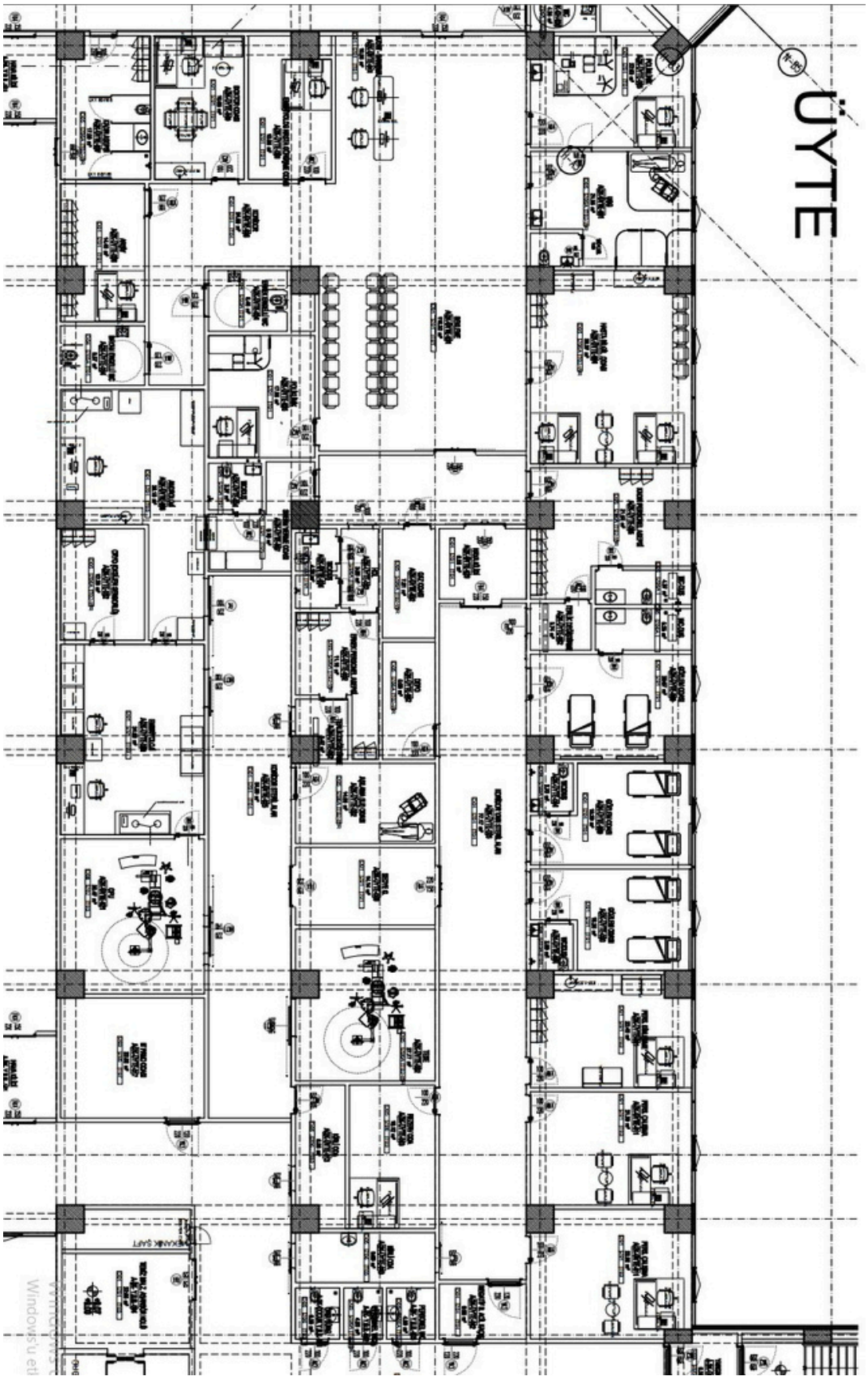
1	Kortikosteroid ampul	3 adet	12	Sodyum bikarbonat % 8,4	2 adet
2	Antispazmodik ampul	3 adet	13	Calciumglukonat %10	2 adet
3	Antianksietik ampul	3 adet	14	Antihistaminik	5 adet
4	Polivinilprolidine iyot solüsyonu 500cc	1 adet	15	Antihipertansif ajanlar – ACE inhibitörleri (kaptopril)	1 kutu
5	%5 dextroz 500 cc	2 adet	16	Diüretik	3 adet
6	% 0,9 lukNaCl. 500 cc	2 adet	17	Antikoagülan	3 adet
7	1/3 İzodeks 500 cc	1 adet	18	Narkotik olmayan analjezikler ve antipiretikler	3 adet
8	Analjezik	5 adet	19	Antiasit, Antiemetik	3 adet
9	Antiaritmik ilaçlar	5 adet	20	Antikonvülzan	3 adet
10	Adrenalin 1 mg	5 adet	21	Anestetikler	3 adet
11	Atropin sulphat 0,5 mg	5 adet			

BİR ÜYTE MERKEZİ NASIL KURULUR? -2-

Acil Durumlar İçin Bulundurulacak Araç-Gereç Listesi

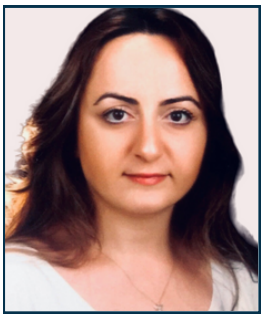
Muayene masası	1 adet	Seyyar oksijen Tüpü	1 adet
Sterilizatör	1 adet	Aspiratör	1 adet
Tansiyon aleti	1 adet	Bisturi	Yeterli sayıda
Steteskop	1 adet	Ambu cihazı	1 adet
Refleks çekici	1 adet	Laringoskop	1 adet
Dil basacağı	Yeterli sayıda	Negatoskop	1 adet
İdrar torbası	Yeterli sayıda	Acil ilaç dolabı	1 adet
Küçük cerrahi müdahale seti	Yeterli sayıda	Seyyar lamba	1 adet
Çeşitli enjektör	Yeterli sayıda	Airway	Yeterli sayıda
Nazogastrik sonda	3 adet	Endotrakeal tüp	Yeterli sayıda
Oftalmaskop	1 adet		

BİR ÜYTE MERKEZİ NASIL KURULUR? -2-



Buraya tıkladığınızda HEMUD ana sayfasında planın daha büyük haline ulaşabilirsiniz.

İVF HASTA DOKÜMANTASYONU -2-



Uzm. Dr. Tuğba ZENGİN
Trabzon Kanuni EAH
Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi

SIFIR'DAN BEŞ'E ADIM ADIM IVF HASTA DOKÜMANTASYONU

Üremeye yardımcı tedavi merkezlerinde hasta kayıtlarının sistemli bir şekilde dosyalanması kalite yönetiminde önemli basamaklardan biridir. Bu kayıtlar mevzuat hükümlerine uygun, anlaşılır, gerekli tıbbi verileri içeren, hasta ve çalışan haklarını gözeten bir şekilde hazırlanmalı, 2005/7 sayılı Başbakanlık Genelgesi ile uygulamaya konulmuş 'Standart Dosya Planı' projesine göre de 30 yıl boyunca arşivlenmelidir.

Bir hasta için sıfırıncı gün hazırlığından beşinci güne kadar olan süreç ve sonrasındaki işlemleri göz önünde bulundurduğumuzda pek çok evrakın düzenlenmesi söz konusu olmaktadır.

Dergimizin bu sayısında adım adım bu basamakların dokümantasyonu hakkında yardımcı olmayı amaçlamaktayız.

Merkeze başvurup tedaviye alınan hasta için öncelikle tüp bebek tedavisi uygulanacak çiftlere ait bilgilendirme formu ve aydınlatılmış onam belgesi* düzenlenmeli, çiftin tedavi süreci ve olası tüm haller hakkında ayrıntılı bir şekilde bilgilendirilerek imzaları alınıp hasta dosyasına koyulmalıdır.

EMBRİYO TAKİBİ

Hastanın OPU (oocyte pick-up) günü öncesinde OPU günü (sıfırıncı gün) hazırlığı yapılırken embriyo takip formu* düzenlenmeli ve bu forma hastanın;

- Kimlik bilgileri,
- Özgeçmişi (geçmiş deneme sayısı ve bu denemelerin kısa bilgisi),
- Mevcut tıbbi durumu (hormon değerleri, beklenen folikül sayısı vs.),
- IVF endikasyonu,
- Uygulanan tedavi protokolü gibi bilgileri yazılmalıdır.

OPU günü;

- Yumurta toplama, denüdasyon, ICSI işlemlerinin yapılış saatleri ve uygulayıcı bilgileri,
- Oosit matürasyonu ve morfolojisi,
- Sperme ait sayısal ve morfolojik veriler embriyo takip formuna kaydedilmelidir.

Birinci gün PN kontrolüne ait bilgiler, 2., 3. ve 5. gün ise embriyoların kalitesi kabul görmüş, yaygın bilinirliği olan sınıflandırma sistemlerine göre embriyo takip formuna yazılmalıdır.

EMBRİYO TRANSFERİ

Transfer günü geldiğinde gerekli bilgilendirmeler yapılarak, çiftin embriyo transferine rızaları olduğunu beyan ettikleri embriyo transferi onam formuna* imzaları alınır. Bu formda; hasta kimlik bilgileri, dosya numarası, işlem tarihi, transfer edilen embriyo/embriyoların kalitesi, geride kalan embriyo olup olmadığı, transfer işleminin nasıl gerçekleştiği, kullanılan transfer kataterı ve işlemi uygulayan hekimlerin adsoyad ve imzaları bulunmalıdır.

EMBRİYO DONDURMA

Embriyo transferi yapıldıktan sonra geride kalan iyi kalitedeki embriyolar çiftin talebi doğrultusunda dondurulabilir. Dondurma işlemi için

İVF HASTA DOKÜMANTASYONU -2-

çiftin rızasını beyan eden embriyo saklama bilgi (onam) formuna* imzaları alınır. Bu formda; çiftin kimlik bilgileri, dosya numarası, işlem tarihi, ikametgâh adresi ve telefon numarası, kaç tane embriyo dondurulduğu, dondurulma tekniği, dondurma süresi, işlemin nasıl yapıldığı, başarı oranı, riskleri, ücreti ve yasal düzenlemeleri gibi bilgiler yer alır.

Bir yılın sonunda saklama süresinin uzatılmasına dair dilekçe verilmediği takdirde en geç bir ay sonra embriyoların imha edileceği belirtilir. Formda ayrıca ÜYTE ünite sorumlusunun, ÜYTE laboratuvar sorumlusunun ve işlemi uygulayanın imzası olmalıdır.

EMBRİYO ÇÖZME

Embriyo çözme işleminde çiftin kimlik bilgileri, dosya numarası, işlem tarihi, ikametgâh adresi ve telefon numarası, kaç embriyonun çözdürüldüğü, çözdürme tekniği, işlemin nasıl yapıldığı, başarı oranı, riskleri, ücreti ve yasal düzenlemeleri, çözdürülen embriyonun hangi amaçla kullanılacağı gibi bilgileri içeren embriyo çözme bilgi ve onam formu* doldurulur. Formun sonunda evli çiftin her ikisinin, ÜYTE ünite sorumlusunun, ÜYTE laboratuvar sorumlusunun ve işlemi uygulayanın imzası olmalıdır.

GONAD DOKUSU/HÜCRELERİ DONDURMA

Uygun endikasyon (azospermi, kriptozoospermi, kanser tedavisi, fertiliteyi etkileyebilecek cerrahi işlemler, düşük over rezervi, erken menapoz riski vb.) varlığında sperm ya da oositlerin dondurularak saklanması gerekebilmektedir.

Dondurma işlemi öncesinde;

- Dondurma endikasyonunu belirten imzalı kaşeli ilgili hekim yazısı,
- Son 6 ay içinde yapılmış seroloji test sonucu,
- Tümör vb. endikasyonlarda patoloji raporu,
- Erkek için spermiyogram sonucu ve
- Gonad dokusu/hücreleri saklama bilgi ve onam formu* düzenlenip hasta dosyasına koyulmalıdır.

Saklama öncesinde EDTA'lı bir tüpe alınan kandan DNA kimliklendirme testleri yapılır ve bu bilgiler hasta dosyasına konulup bir örneği de aileye verilir.

Gonad dokusu/hücreleri saklama bilgi ve onam formunda; hastanın kimlik bilgileri, dosya numarası, işlem tarihi, ikametgâh adresi ve telefon numarası, hangi dokunun/hücrenin dondurulduğu, dondurma tekniği, dondurma süresi, işlemin nasıl yapıldığı, başarı oranı, riskleri, ücreti ve yasal düzenlemeler belirtilir. Formda dondurulma tarihi esas alınmak kaydıyla bir yılın sonunda sürenin uzatılmasına dair dilekçe verilmediği takdirde en geç bir ay sonra imha edileceği bilgisi yer alır. Formun sonunda hastanın, ÜYTE ünite sorumlusunun, ÜYTE laboratuvar sorumlusunun ve işlemi uygulayanın imzası olur.

GONAD DOKUSU / HÜCRELERİ ÇÖZME

Merkezde dondurulmuş halde saklı tutulan gonad dokusu/hücrelerin çözme işlemi için gonad dokusu/hücreleri çözme bilgi ve onam formu* düzenlenmelidir. Bu formda; hastanın kimlik bilgileri, dosya numarası, işlem tarihi, ikametgâh adresi ve telefon numarası, hangi dokunun/hücrenin çözdürüldüğü, çözdürme tekniği, işlemin nasıl yapıldığı, başarı oranı, riskleri, ücreti ve yasal düzenlemeleri yer almalıdır. Formun sonunda ise kişinin, ÜYTE ünite sorumlusunun, ÜYTE laboratuvar sorumlusunun ve işlemi uygulayanın imzası olmalıdır.

Yapılan işlemlerin genel takibi için hasta özelinde tutulan tüm bu formların dışında aşağıdaki tabloda belirtilen kayıt defterleri ve diğer formlar hazırlanmalı, işlemlerle eş zamanlı veri girişleri yapılmalıdır.

İVF HASTA DOKÜMANTASYONU -2-

Tüm bunların yanında; embriyo ile ilgili yapılacak uygulamalarda eşlerin işlem esnasında birlikte bulunmalarının ve rızalarının alınmasının zorunlu olduğu ve gonad dondurma/çözme işleminde de 18 yaş altı hastalarda yasal vasilerinin rızalarının alınması gerektiği unutulmamalıdır.

* Form ve kayıt defteri örneklerinin tamamına https://www.hemud.org/?sayfa=ivfDoc2 adresinden ulaşabilirsiniz.

DEFTERLER	DİĞER FORMLAR	
Embriyo dondurma çözme kayıt defteri	Spermiogram formu	İnkübatör kontrol ve bakım formu
Gonad dokusu dondurma çözme kayıt defteri	Sperm analiz kabı teslim formu	Azot tankı kontrol bakım formu
Embriyoloji laboratuarı kayıt defteri	İlaç protokolü formu	Buzdolabı ısı takip formu
Androloji laboratuar kayıt defteri	Yumurta toplama işlemi öncesi bilgi formu	
Tese kayıt defteri	Yumurta toplama işlemi sonrası bilgi formu	
Ameliyathane kayıt defteri	Embriyo transfer sonrası hastayı bilgilendirme formu	
Gebe izlem defteri	Temizlik takip formu	

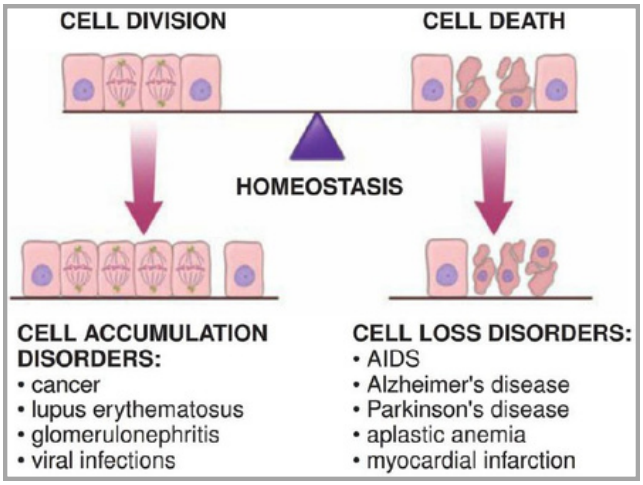
APOPTOZİS VE TUNEL

Uzm. Dr. Abdulkadir KUTLU
Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Hastanesi

APOPTOZİS VE TUNEL
(Terminal Deoxynucleotidyl Transferase dUTP Nick End-Labeling)

Apoptozis

Bütün çok hücreli organizmalarda olduğu gibi insanlarda da hücre proliferasyonu ve hücre ölümü hızları net hücre üretimini belirler. Bu hızların herhangi birindeki anormallik, hücre birikim bozukluklarına (hiperplazi, kanser vb) ya da hücre kaybı bozukluklarına (atrofi, dejeneratif hastalıklar vb.) neden olabilir. Bu nedenle, hücre üretimi ve hücre ölümü arasındaki denge dikkatlice sürdürülmelidir.



Hücre ölümü, kazara oluşan hücre hasarından ya da hücrelerin kendi kendilerini yok etmelerine neden olan durumlardan kaynaklanır. Bu iki farklı ana hücre ölüm mekanizması nekroz ve programlı hücre ölümüdür. Nekroz, kazaen hücre ölümünün görüldüğü patolojik bir süreçtir. Hücreler akut hücre hasarına ve plazma membranında hasara neden olan olumsuz fiziksel ya da kimyasal şartlara (hipotermi, hipoksi, radyasyon, düşük pH, hücre travması vb) maruz kaldıkları zaman ortaya çıkmaktadır. Diğer ana hücre ölüm mekanizması olan ve önceleri apoptoz olarak adlandırılan "programlı hücre ölümü" ise günümüzde, tetikleyen mekanizmaya bakılmaksızın intraselüler bir ölüm programının aracılık ettiği herhangi bir hücre ölümü çeşidi olarak daha genel tanımlanmaktadır. Zira paraptozis, piroptozis, nekroptozis gibi farklı programlı hücre ölüm mekanizmaları mevcuttur. Apoptozis ise yine bu başlık altındaki fakat fizyolojik bir süreci ifade etmektedir. Bu süreç normal embriyolojik gelişimden, overlerdeki foliküler atreziye kadar pek çok fizyolojik olay esnasında meydana gelebilir.

Öte yandan apoptozis, süreç olarak fizyolojik olsa da hücreyi apoptoza sürükleyen sebepler her zaman fizyolojik olmayabilir. Hücreyi içsel olarak kodlanmış bu intihar programına iten serbest radikaller, oksidanlar, UV ve iyonize edici radyasyon gibi dış tetikleyiciler de mevcuttur. Bu ve benzeri aktivatörlerin miktarlarını ya da etkilerini doğrudan/dolaylı olarak arttırdığı ya da azalttığı düşünülen pek çok durum ise sıklıkla bilimsel araştırma konusu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu durum da doğal olarak dokudaki apoptozisin ölçülmesi ihtiyacını doğurmaktadır.

Apoptoza uğrayan tüm hücrelerde bazı karakteristik morfolojik ve biyokimyasal özellikler görülür. Bunlar; DNA fragmantasyonu, hücre hacminde azalma, mitokondriyal fonksiyon kaybı, membran kabarcıklanması ve apoptotik cisimciklerin oluşumu şeklinde sıralanabilir. DNA fragmantasyonu nükleusta meydana gelir ve hücrenin ölümünü sağlayan geri dönüşümsüz bir olay-

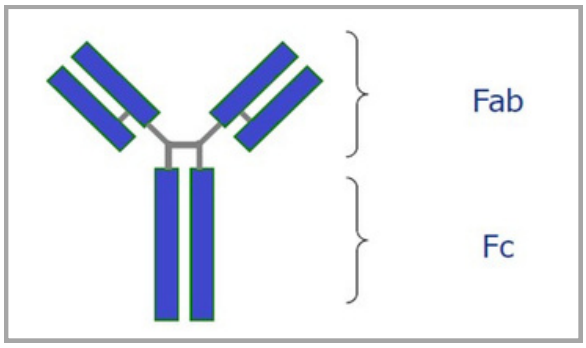
APOPTOZİS VE TUNEL

dır. Nüklear endonükleazların Ca+2 bağımlı ve Mg+2 bağımlı aktivasyonunun sonucudur. Bu enzimler, seçici olarak DNA'yı kırarak küçük oligonükleozomal fragmanlar oluştururlar. Daha sonra nüklear kromatin kümelenir ve nükleus, nüklear zarf tarafından sınırlandırılmış ayrık fragmanlar şeklinde bölünür.

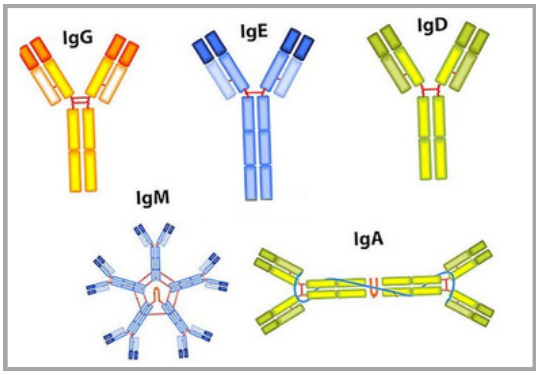
İmmünohistokimya

İmmünohistokimyasal yöntemlerde temel hedef, tespit edilmek istenen hücrenin yüzeyindeki ayırt edici bir antijeni görünür hale getirmek ve hedef hücreleri diğerlerinden ayırt edebilmektir. Bu amaca ise antijen-antikor kompleksleri oluşturularak ulaşılır. Antikorlar serumda bulunan gammaglobulin fraksiyonudurlar ve genelde **immunglobulin (Ig)** olarak isimlendirilirler. İmmunohistokimyada kullanılan antikorlar genelde IgG sınıfına aittir.

Antikorlar 2 ağır zincir ve 2 hafif zincir olmak üzere 4 polipeptid içeren "Y" şeklinde moleküllerdir. Klasik Y yapısında antikorda spesifik kısım **Fab**, alt kısım **Fc** olarak adlandırılır.



Fab kısmı, her antikorda farklı aminoasit dizilimine sahip olması ve farklı antijenlere spesifik olarak bağlanmasından dolayı değişken bölge olarak adlandırılır. Fc kısmı ise sabit bölge olup tüm antikor çeşitlerinde aynıdır. Antikorlar ağır zincir kısımlarına göre kendi içinde IgG (gamma), IgE (epsilon), IgD (delta), IgM (mu) ve IgA (alpha) olmak üzere türlerine ayrılırlar. Hafif zincir kısmı ise içerdiği polipeptid yapısına göre kappa veya lambda olarak tarif edilir.



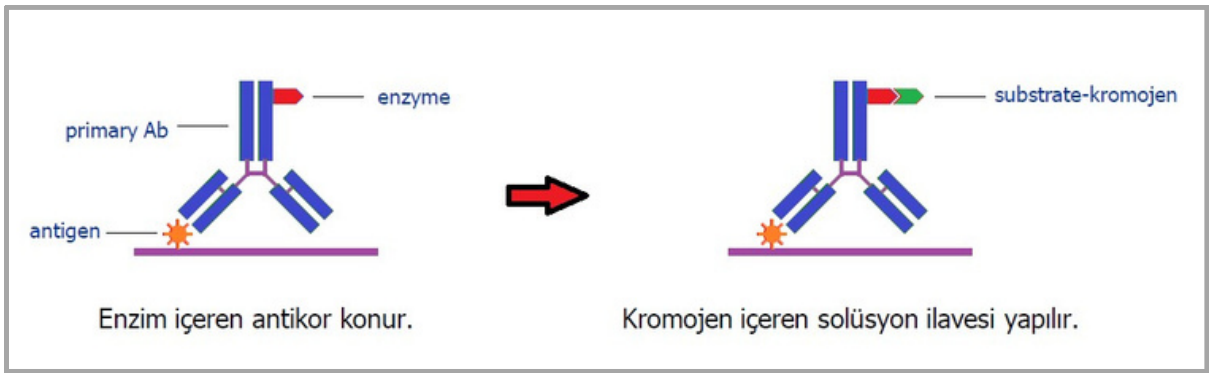
İdeal bir immünohistokimyasal boyamada;

- Antikor-antijen etkileşimi; hidrofobik veya iyonik etkileşimlerle, Van der Waals veya hidrojen bağları ile sağlanabilir.
- Antikor, antijene karşı yüksek afinitede olmalıdır.
- Bağlanma kuvveti yüksek olmalıdır.
- Yüksek konsantrasyonda antijen-antikor kompleksi elde edilmelidir.
- Sıcaklık arttıkça, bağlanma daha hızlı olmaktadır.
- Uygun olmayan veya uzamış fiksasyon bağlanma yeteneğini önemli ölçüde azaltır.

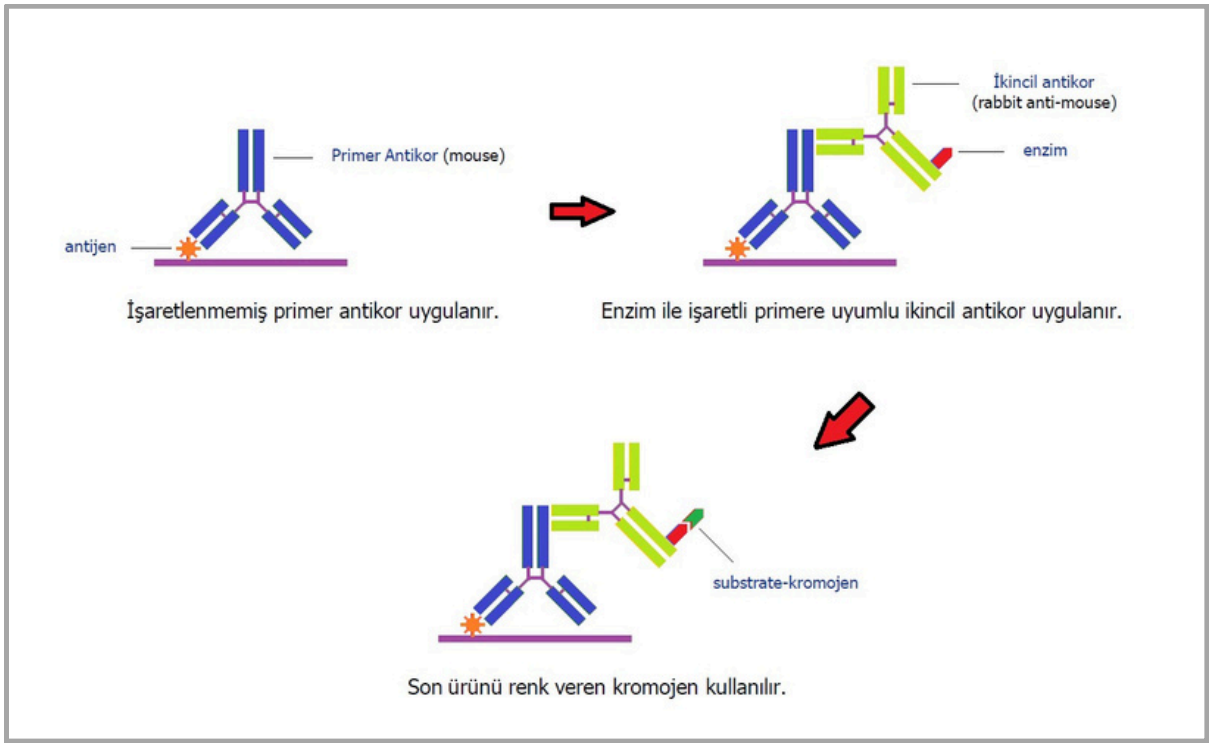
Araştırmalarda çeşitli immunohistokimya protokolleri kullanılmaktadır:

- Direkt Yöntem
- İki-Basamaklı İndirekt Yöntem
- Üç-Basamaklı İndirekt Yöntem
- Peroxidase-Antiperoxidase (PAP) Yöntem
- Alkaline-Antialkaline Phosphatase (APAAP) Yöntemi
- Avidin-Biotin Kompleks (ABC) Yöntemi
- İşaretlenmiş Streptavidin-Biotin (LSAB) Yöntemi

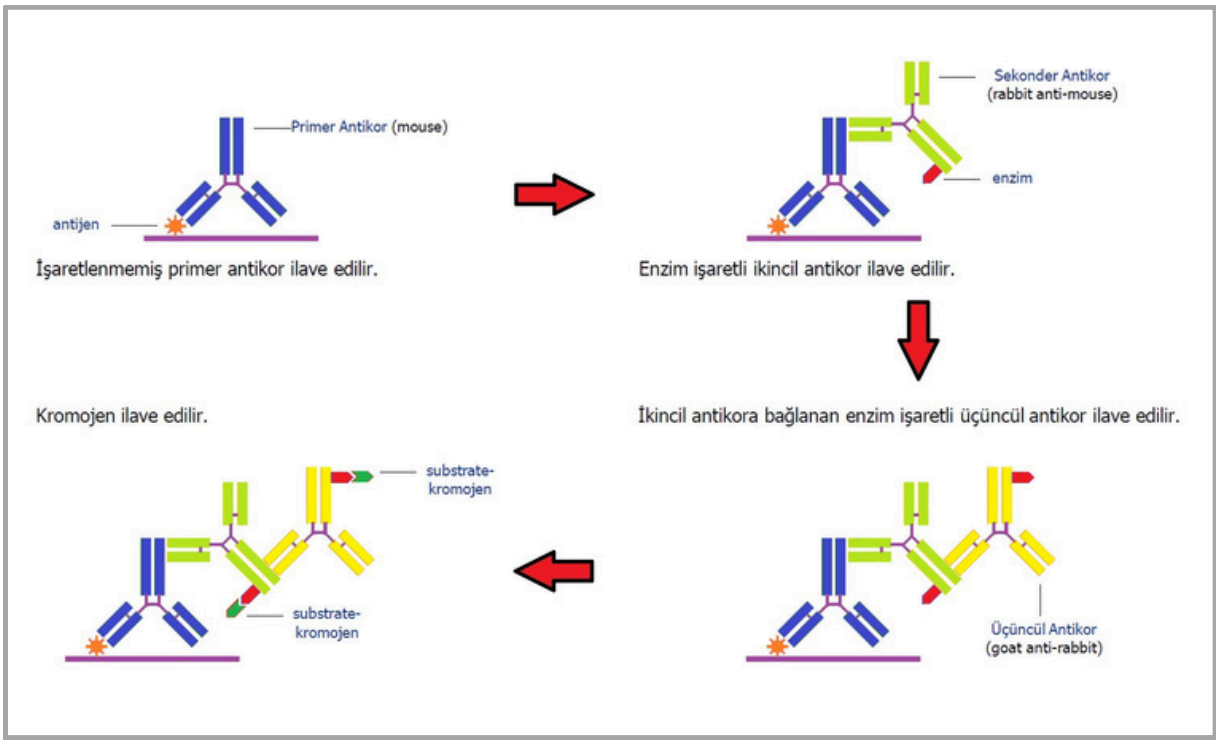
Direkt yöntemde enzim-işaretli primer antikor kullanılır. Enzim olarak sıklıkla Horse-Radish Peroxidase (HRP) veya Alkaline Phosphatase (AP) tercih edilir. Spesifisitesi daha azdır.



İki basamaklı indirekt yöntemde enzim-işaretli ikincil antikor kullanılır. Primer antikor işaretli değildir. Primer antikorun üretildiği kaynak ile sekonder antikor uyumlu olmalıdır. Direkt yöntemden daha spesifiktir.



Üç-basamaklı indirekt yöntemde iki-basamaklı indirekt yöntemden farklı olarak enzim-işaretli üçüncül antikor kullanımı vardır. Hem ikincil hem de üçüncül antikor aynı enzim ile konjuge edilmiş olmalıdır. Çok sayıda sekonder ve tersiyer antikor bağlantısı gerçekleştiğinden elde edilen boyanma daha spesifiktir.



Antijen-antikor komplesini görünür hale getirmek için enzim ve kromojenler gereklidir. Sıklıkla kullanılan enzimler HRP ve AP iken sıklıkla kullanılan kromojenler 3-amino-9-ethylcarbazole (AEC) ve 3,3'-diaminobenzidine (DAB)'dir.

TUNEL Metodu (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase dUTP Nick End-Labeling)

TUNEL boyama metodunun protokol ve boyanma spesifisitesi açısından temelde direkt yönteme uyduğu söylenebilir. Ancak bazı farkları nedeniyle uygulama açısından direkt yönteme kıyasla biraz daha karmaşıktır. Şöyle ki TUNEL metodunda enzimle işaretli primer antikorun bağlanacağı spesifik bir antijen bulunmamaktadır. Zira TUNEL metodu dokudaki spesifik bir antijeni değil apoptozun karakteristik morfolojik ve biyokimyasal özelliklerinden biri olan DNA fragmantasyonlarını görünür hale getirmeyi hedefler. Lakin apoptoza uğrayan hücrenin DNA'sında meydana gelen bu kırıklar primer antikorun bağlanmasına uygun yapıda değildir. Bu sebeple TUNEL metodunda ilk olarak bu DNA kırıklarına primer antikorun bağlanabileceği antijenik bir yapı kazandırılmaya çalışılır. Ardından kırıklara bağlanan enzim işaretli primer antikorlar kromojenlerle renklendirilerek fragmante DNA bölgeleri görünür hale getirilir.

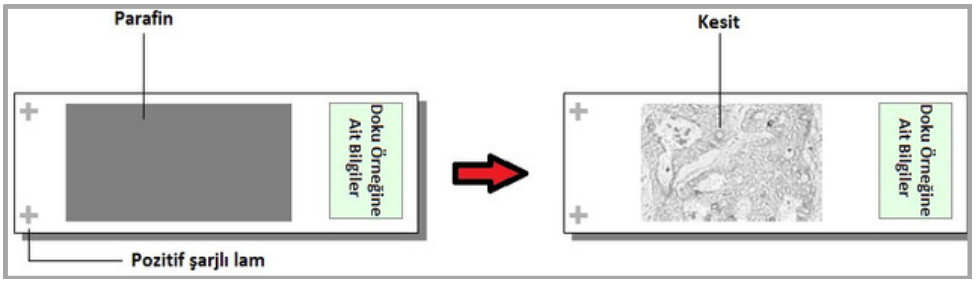
APOPTOZİS VE TUNEL

Fiksatif	Uygulama alanı	İnceleme	Avantaj	Dezavantaj
Formalin (% 10)	Parafin bloklar	Işık Mikroskobu	Doku hazırlığı iyidir.	Non spesifik boyama riski bulunmaktadır.
Paraformaldehit (% 4)	Frozen kesitler, Kültür hücreleri, Boyama sırasında post-fiksasyon Parafin bloklar	Işık ve Floresan Mikroskobu	Nonspesifik boyanma azdır.	Hücre yapısı korunmasında problemler olabilir.
Gluteraldehit (% 0.2-2.5)	Parafin bloklar, Epon yarı-ince veya ince kesitler	Elektron ve Işık Mikroskobu	Hücre yapısı çok iyi korunur.	Non spesifik boyama riski yüksektir.
Aseton, Metanol, Ethanol Karışımı (1/1)	Frozen kesitler, Paraformaldehit ile tespit edilen kesitlere postfiksasyon, kültür hücreleri	Işık ve Floresan Mikroskobu	Kültür hücrelerine birincil antikor girişi çok iyidir.	Hücre yapısı çok iyi korunamaz ve nonspesifik boyama riski yüksektir.

Parafin bloklardan elde edilen kesitlerin protokol sonrası ışık mikroskobu altında incelenece-ği bu yöntemde işleme ilk olarak deparafinizasyon ile başlanır. Bu amaçla önce 58°C'lik fırında yeterli süre bekletilen preparatlar, devamında ksilen ve azalan dereceli alkol serilerinden geçirilip distile suyla yıkanır.

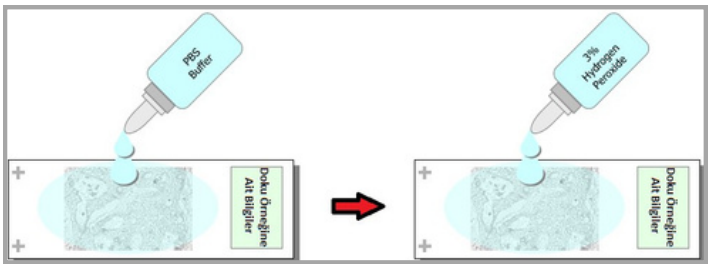
Tablo 1: TUNEL boyama prosedürü

Deparafinizasyon Prosedürü	
Uygulama	**Süre**
Fırın (58°C)	45 dakika
Ksilen	5 dakika
Ksilen	5 dakika
Ksilen	5 dakika
%100 Alkol	5 dakika
%96 Alkol	5 dakika
%70 Alkol	5 dakika
Distile Su (Yıkama)	30 saniye



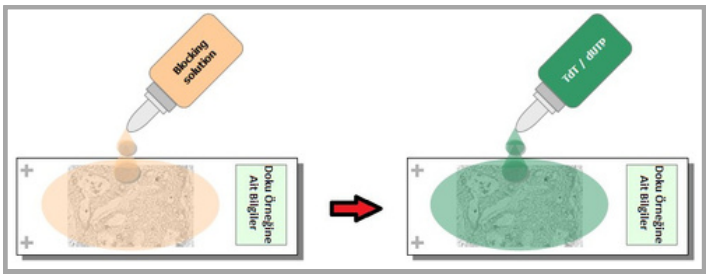
APOPTOZİS VE TUNEL

Deparafinizasyon ve rehidrasyonun ardından "Phosphate Buffered Saline (PBS)" solüsyonuyla yıkanan preparatların pH dengesi sağlanır. Bir sonraki basamakta "%3'lük Hidrojen Peroksit" solüsyonu ile dokudaki tüm endojen peroksidazlar doyurulur. Bu işlemin amacı non-spesifik boyanmayı en aza indirmeye çalışmaktır. İlerleyen aşamalarda kullanılacak olan kromojen, yalnızca primer antikorun üzerindeki peroksidazlara bağlanmalı, endojen peroksidazlarla etkileşmemelidir.

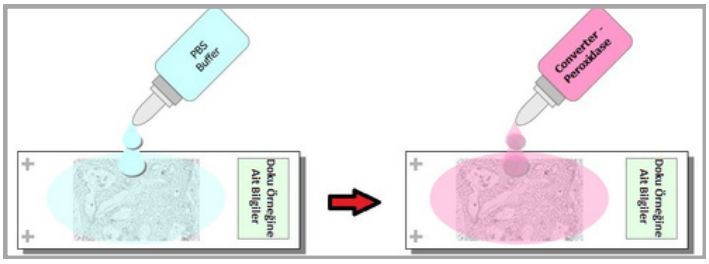


Yıkama işlemlerinden sonra doku sıklıkla serum içeren bir "Protein Block" solüsyonu ile muamele edilir. Bu blok solüsyon sayesinde, doku kesitlerinin belirli yerlerinde, hidrofobik ve elektrostatik kuvvetlerin etkisiyle, spesifik immün serumun non-immonulojik bağlanmasının ve dolayısıyla non-spesifik boyanmaların önüne geçilmiş olur.

Daha sonra DNA kırıklarının işaretlendiği ve kırıklara bir nevi antijenite kazandırılan kritik bir basamağa geçilir. Bu basamakta dokuya, DNA'daki fragmante bölgelere eklenmek üzere "nonizotopik işaretli nükleotidler (dUTP)" ve bu eklemeyi yapacak enzim olan "terminal deoksinükleotidil transferaz (TdT)" karışımı uygulanır. Bu işlem bir enzimatik reaksiyon içerdiğinden doğru sıcaklık ve nem oranına sahip bir ortamda yeterli süre inkübasyon önem taşır. Bu basamakta yapılan hata ya da eksiklikler fragmante DNA bölgelerinin yeterince görünür hale gelmesine mâni olacak ve dolayısıyla apoptotik hücrelerin tespitini zorlaştıracaktır.



Dokular PBS ile yıkandıktan sonra bir başka kritik basamağa geçilir. Bir önceki basamakta yapılan uygulama sayesinde artık DNA kırıkları işaretlenmiş ve enzim işaretli primer antikorların yapışmasına müsait hale gelmiştir. Şimdi ise sıra bu bölgelere primer antikorların tutunmasındadır. Bu amaçla dokuya "converter peroksidaz" yani "horseradish peroxidase (HRP) enzimi ile işaretli primer antikor" uygulanır.

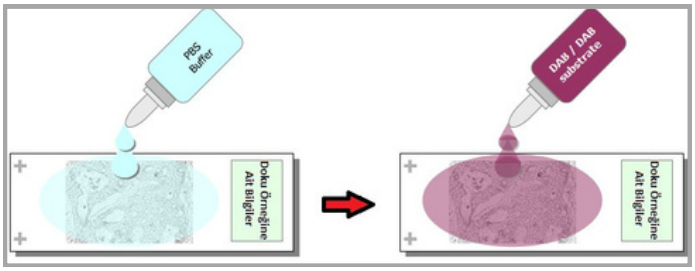


Bu uygulamada da doğru sıcaklığa ve nem oranına sahip ortamda yeterli süre inkübasyon zaruridir. Aksi taktirde apoptozisin tespitinde sorunlar yaşanacaktır. Antikorun inkübasyonunda süre, antikor konsantrasyonuna bağlıdır. Yüksek konsantrasyondaki antikor için daha kısa inkübasyon süresine ihtiyaç vardır. Sıcaklık düştükçe inkübasyon süresi artar. Antikor-antijen reaksiyonu 37°C'de oda sıcaklığına göre daha hızlıdır. Sıcaklığın artması ile daha yüksek konsantrasyonda antikora ihtiyaç duyulur. Ayrıca sıcaklığın artması ile nemli ortam ihtiyacı da artar. +4 °C'de tüm gece inkübasyon tercih edilebilmektedir.

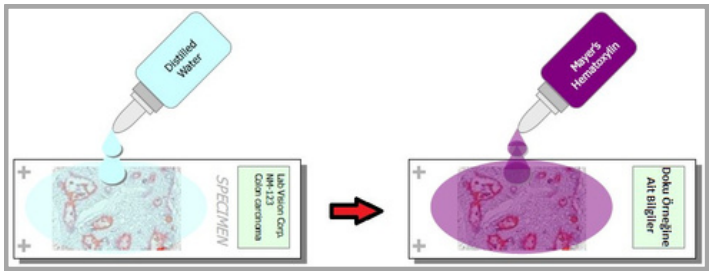
Bu işlemin ardından dokular yine PBS ile yıkanır. Artık enzim işaretli primer antikorlar kırıkla-

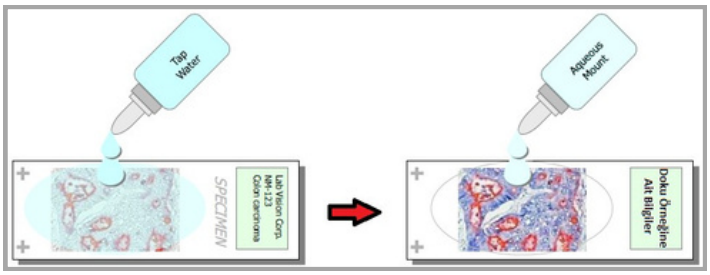
APOPTOZİS VE TUNEL

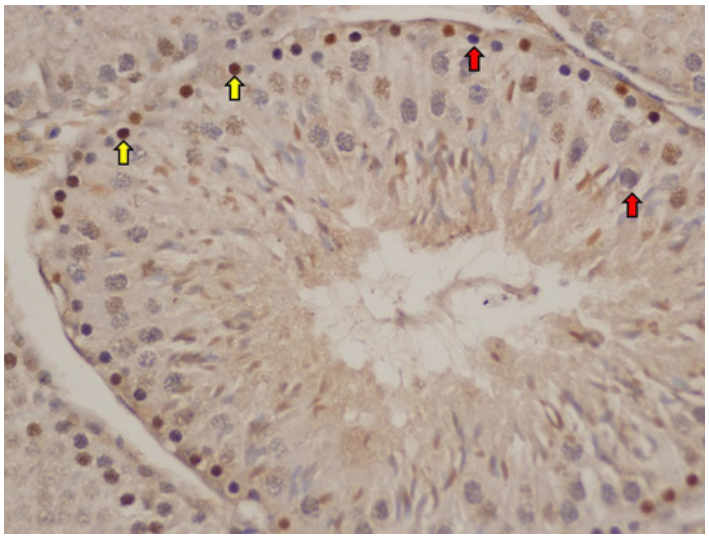
ra tutunmuş olduğundan yapılması gereken, kromojen uygulamasıyla bu bölgeleri görünür hale getirmektir. Bu aşamada kromojenik bir madde olan "3,3'-diaminobenzidin tetrahidroklorür (DAB)" kullanılır. DAB immünohistokimya uygulamalarında HRP ile birlikte kullanılan hassas bir kolorimetrik substrattır. Peroksidazla konjuge antikorların kırıklara bağlandığı yerlerde, çözünmeyen kahverengi renkli bir ürün vermek üzere HRP ile reaksiyona girer. Fakat reaksiyon için ortamda peroksite ihtiyaç vardır. Bu nedenle DAB solüsyonu, önce yoğunluğu onda birine düşecek şekilde "DAB Substrate" ile yani "Stabil Peroksit Substrat Tamponu (HRP subtratı)" ile karıştırılır (DAB / DAB Substrate = 1/9). Bu sayede reaksiyon için gerekli peroksit sağlanmış olur. HRP; DAB gibi substratların hidrojen peroksit oksidasyonunu katalize eder. Elektronlar HRP tarafından DAB'dan peroksite aktarılarak çözünmeyen kahverengi bir ürün elde edilir. Bu kahverengi çökelti alkolde ve diğer organik çözücülerde çözünmez; bu da onu geleneksel karşıt boyaların ve kapama medyumunun kullanılmasını gerektiren immünohistokimyasal boyamalar için mükemmel bir substrat yapar.



Kromojen uygulamasının ardından distile suyla yıkanan preparatlar, kalan doku kısımlarının görünür hale gelmesi için karşıt boya olarak hematoksilenle boyanırlar. Çeşme suyuyla yapılan yıkamanın ardından son olarak artan dereceli alkol serilerinden geçirilip ksilene bırakılır ve kapama medyumu ile kapatılırlar.







Resim: Testis dokusunda kahverengi TUNEL (+) hücreler ve mor TUNEL (-) hücreler (TUNEL, 400X)

Tablo 2: TUNEL boyama prosedürü

Uygulama	Özellikli Ortam	Süre
Phosphate Buffered Saline (PBS)	-	2x5 dakika
Hydrogen Peroxide Block	-	15 dakika
Distile Su (Yıkama)	-	5 dakika
PBS	-	2x5 dakika
Protein Block	-	10 dakika
Enzyme Solution (TdT) + Label Solution (fluorescein-dUTP)	37 °C etüv, nemli ortam	1,5 saat
PBS	-	2x5 dakika
Converter Peroxidase (anti-fluorescein antibody-peroxidase)	37 °C etüv, nemli ortam	30 dakika
PBS	-	3x5 dakika
DAB Kromojen Kit	Karanlık ortam	2 dakika
Distile Su (Yıkama)	-	5 dakika
Hematoksilen	-	2 dakika
Çeşme Suyu (Yıkama)	-	5 dakika
%70 Etanol	-	5 dakika
%96 Etanol	-	5 dakika
%100 Etanol	-	5 dakika
Ksilen	-	5 dakika

Firmalara Ait Bazı Öneriler

- Birincil antikorun uygulanmasından önce doku kesitini protein blok solüsyonu ile oda sıcaklığında veya 37°C'de 5 dakika inkübe edin.
- İnkübasyondan sonra preparatı tamponda bir kez durulayın (tercihe bağlı)
- Doku kesitlerini 10 dakikadan fazla inkübe etmeyin aksi taktirde istenen boyamada azalma meydana gelebilir.
- Arka plan boyaması özellikle yüksek olan antikorlar için, protein bloğu PBS içinde 1:5-1:10 oranında seyreltin ve bloke etme adımına ek olarak yıkama tamponu olarak da kullanın.
- Parafin kesitlerde fiksasyon sırasında pikrik asit kullanılmışsa, kesitleri gece boyunca PBS içinde inkübe edin ve ardından birkaç PBS yıkaması yapın.

Kaynaklar

- Ross MH, Pawlina W. Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas. In: Demir R, çeviri editör. 6. baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 2017. 784-829.
- Güleş, Ö., & Eren, Ü. (2008). Apoptozun belirlenmesinde kullanılan yöntemler. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 19(2), 73-78.
- Loo, D. T. (2002). TUNEL assay: an overview of techniques. In situ detection of DNA damage: Methods and protocols, 21-30.
- Darzynkiewicz, Z., Galkowski, D., & Zhao, H. (2008). Analysis of apoptosis by cytometry using TUNEL assay. Methods, 44(3), 250-254.
- Kyrylkova, K., Kyryachenko, S., Leid, M., & Kioussi, C. (2012). Detection of apoptosis by TUNEL assay. Odontogenesis: methods and protocols, 41-47.
- Loo, D. T. (2011). In situ detection of apoptosis by the TUNEL assay: an overview of techniques. DNA Damage Detection In Situ, Ex Vivo, and In Vivo: Methods and Protocols, 3-13.
- Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvar Kayıtları
- ScienCell Research Laboratories TUNEL Apoptosis Assay Intructions
- Thermo Scientific Ultra V Block Instructions For Use
- Thermo Scientific UltraVision LP Detection System HRP Polymer & DAB Plus Chromogen Instructions For Use
- Thermo Scientific DAB Substrate Instructions
- Abcam Tunel-staining Principles (https://www.abcam.com/kits/tunel-staining#Principles)

IVF ÇALIŞMA KABİNLERİ

Ayça AYÇİÇEK
CooperSurgical Türkiye

Gökhan SOMYÜREK
CooperSurgical Türkiye

IVF ÇALIŞMA KABİNLERİ

IVF çalışma kabini, HEPA tarafından filtrelenmiş hava akışına ek olarak bütünleşik stereomikroskop, ısıtıcı yüzey, gaz ve nemlendirme gibi standart özelliklerin yanı sıra IVF uygulamalarına yönelik bir takım opsiyonel ekipmanları da içeren bir laminar akış kabin çeşididir.

IVF laboratuvarında embriyoloji uygulamaları için steril ve kontamine olmayan bir çalışma alanı sağlar. Bu özelliklerde kontrollü bir çalışma ortamı, oosit ve sperm hücreleri ile embriyo manipülasyonu esnasında kritik öneme sahiptir.

Laminar Akış Tanımı ve Çalışma Prensibi

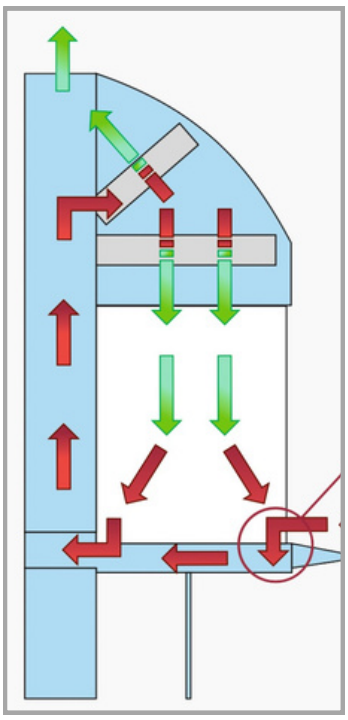
Laminar akış, ortama verilen hava kütlesinin sabit hızda ve birbirine karışmadan paralel olarak, bir hava pistonu gibi hareket etmesidir. Sözü edilen laminar hava akışı çalışma kabini içinde bulunan, kabin boyutuna göre bir ya da iki fan motoru ile yönlendirilir. Laminar akış devamlılığını sağlamak için HEPA filtre çıkışında çalışma alanının tamamını kapsayacak ölçüde ve paralel olarak ayrı bir laminatör kullanımı tercih eden üreticiler bulunmaktadır.

IVF Çalışma Kabini Tipleri

Class I (çalışılan örneği koruma) veya **Class II** (çalışılan örneği ve çalışan kişiyi koruma) olarak iki ayrı tipte olabilir. Hava akış çevrimi ve havanın filtrelerden geçişi aşağıdaki kesitlerde belirtilmiştir.

Şekil 1. Class I, ön filtreden geçirmek koşuluyla ortamdan fan aracılığı ile emilen hava (sarı-kırmızı) HEPA filtreye yönlendirilir. HEPA filtreden geçişi sırasında partiküllerinden arındırılmış hava (mavi) çalışma kabini arka paneli alt tarafında bulunan boşluklar ve çalışma kabini ön tarafındaki cam açıklığından laboratuvara geri verilir.

IVF ÇALIŞMA KABİNLERİ



Şekil 2. Class II, çalışma alanı ön tarafındaki deliklerden geçirmek koşuluyla ortamdan fan aracılığı ile emilen hava (kırmızı) ana ve egsoz HEPA filtrelerine yönlendirilir. Bu yapı içinde önceden belirlenmiş oranlarla %30 hava egsoz HEPA filtreden, %70 hava da ana HEPA filtreden geçer. Bu geçişlerde partiküllerinden arındırılmış hava (yeşil) laboratuvara ve dik şekilde çalışma alanına geri verilir.

HEPA ve Ön Filtre

İngilizce bir kısaltma olan HEPA, High Efficiency Particulate Arrestance kelimelerinin baş harflerinden türetilmiştir. Türkçe'ye yüksek etkinlikte partikül tutma filtresi olarak çevirebiliriz. HEPA filtrenin ne kadar etkin olduğu H sınıfına göre standardize edilmiştir. IVF çalışma kabinlerinde **H-14** sınıfı HEPA filtre kullanımı yaygındır. Bu sınıftaki bir filtre, Eurovent EN 13091:1999, EN1822-1 standartlarına göre 0,3µm'den büyük partiküllere karşın %99,995 ve üzeri oranda etkindir.

HEPA filtre kullanım ömrü IVF uygulamalarında 17.000 saat (iki yıl) tipik olarak üreticiler tarafından belirtilmekte olup her yıl sızdırmazlık, hava akış hızı ve partikül ölçümleri yaptırılmak suretiyle takip edilmelidir.

HEPA filtreyi korumak için çalışma kabini üst ya da arka tarafında önceden açılmış kanallarda ön filtre kullanılır. Kabin üreticisinin tercihine göre standart EU3 elyaf veya karbon emdirilmiş elyaf filtreler bu amaç için uygundur. Tipik olarak üç aylık kullanım sonrasında yenilenmelidir.

Ölçüler ve Temel Opsiyonlar

Yaygın olarak 900, 1.200, 1.500 ve 1.800 mm genişliklerinde üretiliyor olup alan sıkıntısı olan laboratuvarlar için yine tüm çalışma kabini özelliklerine sahip 660 mm genişliğinde üretim de yapılmaktadır.

Bu ölçüler içinde en genişi 1.800 mm olan kabin sadece çift stereomikroskop ve çift ısıtmalı yüzey donanımına sahip olup ülkemiz ÜYTE Yönetmeliği'ne göre embriyoloji laboratuvarında bir adet bulunması zorunludur.

IVF ÇALIŞMA KABİNLERİ

Çalışma kabini büyüklüğüne göre bir ya da iki adet stereomikroskop montajı günümüz çalışma kabinlerinde ışık açılım camının da ısıtmalı olması özelliğini beraberinde getirir. Mikroskop ışık kaynağı da LED olarak birçok üretici tarafından çalışma kabini ile birlikte gönderilmektedir.

Çalışma kabinlerinde iç aydınlatma özelliği temel olarak sunulurken UV lamba ve sterilizasyon süresince kullanıcı güvenliğini sağlayacak ekipmanlar opsiyoneldir.

Stereomikroskop üzerinde görüntüleme sistemi kullanılacaksa çalışma alanı arka alanda ya da kabin ön yüzünde aktarılacak görüntü için monitör opsiyonlar listesine eklenmelidir.

Bazı koşullarda çalışma kabini içinde karışım gaz kullanılarak geçici inkübatör ortamı yaratılabileceği gibi mini inkübatörler için de çalışma alanı arka panelinde üretim esnasında alan açılması talep edilebilir.

İhtiyaçların Belirlenmesinde Dikkat Edilmesi Önerilen Noktalar

Günümüz üreticileri farklılaşma ve ihtiyaçları yönetmek adına geniş bir opsiyon listesi sunmaktadır. Bu aşamada gerçek ihtiyacın belirlenmesi, uzun ömürlü bir cihaz olduğu düşünülerek opsiyon değerlendirilmesi yapılması fayda sağlayacaktir.

- Ölçüye karar verilmesi (en az bir adet ikili IVF çalışma kabini olması zorunlu)
- Kullanıcı konforunu etkileyen çalışma stand yüksekliği, fan gürültü seviyesi ve aydınlatma özellikleri
- Yerleştirilecek alanın belirlenmesi, periyodik bakımlarda ve filtre değişimlerinde laboratuvar işleyişine en az etki edecek marka ve modelin seçimi
- Eğer varsa mevcut stereomikroskoplarla uyumu, görüntü aktarım seçeneklerine karar verilmesi
- İnkübatör montajı ya da karışım gaz kullanım seçeneklerinin değerlendirilmesi
- Paslanmaz çelik ve ışık açılım cam gibi ısıtmalı yüzeylerin doğruluk ve çözünürlük değerleri
- Ana menü ve sık kullanılan fan hızı, ısıtma ve ışık şiddeti gibi ayarların kolay erişebilir olması
- Üretici referans ve üretim kalite kontrol belgeleri

Bakımlar

Tüm laboratuvar cihazlarında olduğu üzere çalışma kabinleri için de üreticinin önerdiği sıklık ve tipte bakım ile kontrollerin yapılması önemlidir.

Günlük, haftalık ve aylık programlarda temizlik yapılması, belirtilen zamanlarda filtre değişimi yapılması gerekir.

Yıllık olarak sıcak yüzeylerin kalibrasyonu, HEPA filtre testleri yenilenmelidir.

Ankara Bilkent Şehir Hastanesi ÜYTEM

Uzm. Dr. Murat TAŞ
Ankara Bilkent Şehir Hastanesi
ÜYTEM

Dr. Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, 1925 yılında Hacı Musa Mahallesinde kerpiçten yapılma bir binada 5 yataklı olarak Doğumevi adıyla 1 kadın hastalıkları ve doğum uzmanı, 1 çocuk hastalıkları uzmanı ile 1 başhemşire ve 2 ebeyle hizmet vermeye başlamıştır. 1929 yılında ilk inşa edilen bu bina yetersiz gelmeyince kadınlar için 15 yatak, süt çocukları için 15 yatak alabilecek başka bir binaya taşınmıştır. 1935 yılında yine aynı semtte daha büyük bir binaya geçilmiştir. Bu üçüncü Doğumevi binası da ihtiyacı karşılayamayınca Sağlık Bakanlığı tarafından 3 Mart 1949 yılında açılışı yapılan 300 yataklı bir hastane kurulmuş olup, bu hastanenin başhekimliğine İstanbul'un tanınmış Kadın Hastalıkları ve Doğum uzmanlarından Dr. Zekai Tahir Burak getirilmiştir. U harfi biçimindeki plana göre biri güneyde bulunan 6 katlı, diğerleri doğuda ve batıda bulunan her biri 4 katlı 3 bloktan oluşan modern bir hastane ortaya çıkmıştır. Bu modern binada; iklimlendirme tesisleri, hidroterapi servisi, konferans ve sinema salonları, buz imalathanesi, yedek elektrik jeneratörü ve otomatik telefon santrali gibi Türkiye'de bulunmayan örnek tesisler de yer almıştır. 1959 yılında yapılan ilave ve 1975 yılında yapılan ek ameliyathane ve doğum salonlarıyla 400 yatak kapasitesine ulaşmıştır.

1990 yılında Türkiye'de kamuda ilk Tüp Bebek Merkezi faaliyete başlamıştır. Kurulduğu ilk günden itibaren Kadın Hastalıkları ve Doğum uzmanlığı asistan eğitimi verilen hastanede binlerce Kadın Hastalıkları ve Doğum uzmanı yetişmiştir.

Dr. Zekai Tahir Burak Hastanesi hizmet verdiği 94 yılın sonunda 1 Eylül 2019 yılında Ankara Bilkent Şehir Hastanesi'ne taşınarak Kadın Doğum Hastanesi olarak hizmet vermeye devam et-

Ankara Bilkent Şehir Hastanesi ÜYTEM

mektedir. Hastanenin taşınmasıyla birlikte Tüp Bebek Kliniği de taşınmış ve Türkiye'de Şehir Hastaneleri içinde hizmet vermeye başlayan ilk Üremeye Yardımcı Teknikler Merkezi olmuştur. Avrupa'nın ve Türkiye'nin en büyük hastanesi olan Ankara Bilkent Şehir Hastanesi 1.312.358 m² kapalı alana sahiptir. Toplam yatak sayısı 4190 olup, Kadın Doğum Hastanesi 563 yataklıdır. Dr. Zekai Tahir Burak Hastanesi'nde verilmekte olan ÜYTE Klinik ve Laboratuvar Sertifika Eğitimi, Ankara Bilkent Şehir Hastanesi'nde de 12 Ekim 2019 tarihinde eğitim ruhsatını alınarak 6 aylık dönemler ile devam etmektedir.

1990 yılında Dr. Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde kamuda kurulan ilk Tüp Bebek Merkezi'nden itibaren günümüze kadar Ankara Bilkent Şehir Hastanesi'nde binlerce infertil çiftin tedavisi sağlanmıştır ve hem sertifika eğitimine hem de akademik çalışmalarına devam etmektedir. Ayrıca hastalarımıza Tüp Bebek Okulu adı altında 15 günde bir olmak üzere tüp bebek işlemleri hakkında kadın hastalıkları ve doğum uzmanı, üroloji uzmanı, histoloji ve embriyoloji uzmanı, psikolog ve diyetisyenden oluşan bir ekip tarafından eğitim verilmektedir.

Hastanemiz Üremeye Yardımcı Teknikler Merkezi; içinde 3 poliklinik muayene odası, 1 histereskopi odası, 1 üroloji poliklinik muayene odası, 2 ameliyathane, 2 hasta gözlem odası, embriyoloji ve androloji laboratuvarları, dondurma saklama alanı, toplantı salonu, arşiv ve doktor/personel dinlenme odalarından oluşan kompleks bir yapıdan oluşmaktadır. Merkezimizde 2024 Nisan ayı itibariyle 3 Kadın Hastalıkları ve Doğum Profesörü, 1 Üroloji Uzman Doktoru, 7 Histoloji ve Embriyoloji Uzman Doktoru, 2 Biyolog, 1 Laboratuvar Teknisyeni, 3 Hemşire, 3 Ebe, 5 Sekreter ve 6 Yardımcı Personelle hizmet vermektedir.

Embriyoloji laboratuvarımızda; 3 tanesi ikili ve 1 tanesi tekli steromikroskop içeren toplam 4 adet laminar flow çalışma kabini, 3 adet konvansiyonel ve 2 adet benchtop olmak üzere toplam 5 adet inkübatör, 1 tanesi lazer sistemi ve mikromanipülatör içeren toplam 3 adet inverted mikroskop, 1 adet medikal laboratuvar buzdolabı mevcuttur. Androloji laboratuvarımızda 1 adet tekli faz kontrast mikroskobu içeren laminar flow çalışma kabini, 1 adet etüv, 1 adet santrifüj ve 1 adet buzdolabı mevcuttur. Dondurma ve saklama alanımızda ise 5 adet embriyo için azot tankı, 4 adet sperm için azot tankı, 2 adet embriyo ve sperm için enfekte azot tankı ve 1 adet depolama tankı mevcuttur. TESE ameliyathanemizde 1 adet MikroTESE ameliyat mikroskobumuz mevcuttur.

Merkezimizde bulunan Androloji Laboratuvarı dışında Kadın Doğum Hastanemiz B-1 katında dış androloji laboratuvarımız vardır. Bu laboratuvarımızda spermiyogram analizleri ve infertilite polikliniği ile koordineli bir şekilde IUI(aşılama) işlemleri yapılmaktadır. Bu laboratuvarımızda 2 adet mikroskop, 1 adet etüv, 1 adet santrifüj ve 1 adet otomatik sperm sayım cihazı mevcuttur.

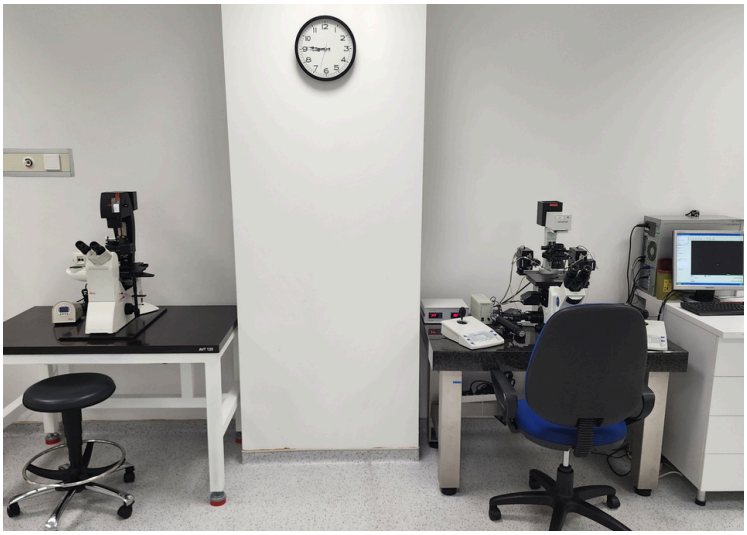
Merkezimizde yıllık ortalama 600 civarında Tüp Bebek siklusu ve 1200 civarında IUI(aşılama) siklusu yapılmaktadır. Merkezimiz polikliniklerine başvuran hastaların muayene ve tetkikleri ile gerektiği durumlarda ofis/histereskopi yapılmakta, her gün toplanan konseyde değerlendirilmekte ve endikasyonlarına göre IVF/ICSI veya IUI sikluslarına başlanmaktadır. Ovulasyon indüksiyonu tedavisine başlanan hastalarımız her gün kadın doğum profesörü hocalarımız tarafından görülmekte ve tedavileri planlanmaktadır. OPU (yumurta toplama işlemi)'dan sonra klasik IVF (In Vıtro Fertilization) ve ICSI (IntraCytoplasmic Sperm Injection), AHA (Assisted Hatching) işlemi,embriyo dondurulması ve çözülmesi, gonad hücreleri (Oosit ve Sperm) dondurulması ve çözülmesi, embriyo biyopsisi, TESE/PESA gibi cerrahi yolla sperm elde edilmesi gibi tüm dünyada IVF alanında uygulanan teknikler gerçekleştirilmektedir. Merkezimizde tüp bebek hastaları dışında aktif olarak onkoloji hastalarına da hizmet

Ankara Bilkent Şehir Hastanesi ÜYTEM

verilmekte olup malignite nedeniyle başvuran hastalara fertilite koruyucu yaklaşım olan embriyo ve gonad hücreleri (oosit ve sperm) dondurma işlemi yapılmaktadır.

Merkezimiz SGK kapsamında sağlam çocuk amacıyla genetik geçişli hastalıkların tespiti ve kök hücre vericisi kardeş doğmasına yönelik Tüp Bebek + PGT (Preimplantasyon Genetik Tanı) alanında Türkiye'de pilot hastane olarak hizmet veren tek Tüp Bebek Merkezi olup, kamuda tek olan Genetik Tanı Laboratuvarımız ile koordineli bir şekilde çalışmakta ve SUT'ta yer alan başta SMA, Talasemi gibi kalıtsal hastalıklar nedeniyle başvuran çiftlerin embriyolarına embriyo biyopsisi yapılıp, sağlıklı embriyoların tespiti ile embriyo transferi yapılmaktadır.

Ankara Bilkent Şehir Hastanesi ÜYTEM



MAKALE ÖZETİ

Nutritional supplements and IVF: an evidence-based approach

Roger J Hart [1]

Affiliations + expand

PMID: 38184959 DOI: 10.1016/j.rbmo.2023.103770

Hazırlayan:
Uzm. Dr. Deniz Ekin Erbaş
Ankara Etlik Şehir Hastanesi
ÜYTEM

BESİN TAKVİYELERİ ve IVF: KANITA DAYALI BİR YAKLAŞIM

ANAHTAR MESAJ

IVF tedavisi gören pek çok kadın, reçete edilen besin takviyelerini almakta veya bu takviyeleri kendi kendine kullanmaktadır. Akdeniz diyeti uygulamak doğrudan basit bir müdahale olsa da bu konuda kanıtlar sınırlıdır. Ayrıca bazı durumlarda dehidroepiandrosteron, ko-enzim Q10, melatonin ve omega-3 yağ asitleri takviyelerinin kullanımından fayda sağlanabilmektedir.

ÖZET

IVF tedavisi gören pek çok kadın tedavi sırasında takviye almaktadır. Bu derlemenin amacı, bu besin takviyelerini sistematik olarak gözden geçirmektir. İncelenen tedaviler; dehidroepiandrosteron (DHEA), melatonin, ko-enzim Q10 (CoQ10), karnitin, selenyum, D vitamini, miyo-inositol, omega-3, Çin bitkileri ve diyet müdahaleleridir. Literatür taraması Mayıs 2023'e kadar yapılmıştır. Veriler, en basit beslenme yaklaşımının Akdeniz diyetini benimsemek olacağını göstermektedir. Yumurtalık stimülasyonuna zayıf yumurtalık yanıtını tedavi etmek için, döngü başlamadan önce DHEA ve CoQ10 almaya başlamak kontrol tedavilerinden daha iyi sonuç vermektedir. Ayrıca, CoQ10 kullanımının bazı yararları olabilir ancak yumurtalık stimülasyonuna zayıf yanıt veren veya kötü embriyonik gelişim gösteren ileri yaş kadınlar için bu durum net değildir. Melatonin kullanımının bazı IVF sonuçlarına faydası olduğu görülmektedir ancak hangi hasta grubunun fayda sağlayacağı ve uygun doz belirsizdir. Polikistik over sendromu olan kadınlar için uygun doz yine belirsiz olsa da miyo-inositol kullanımı faydalı olabilir. Ayrıca D vitamini takviyesinin yeri henüz açıklığa kavuşturulmamıştır ve omega-3 serbest yağ asitleri takviyesi, klinik ve embriyolojik IVF sonuçlarında iyileşmelere yol açabilir.

MAKALE ÖZETİ

GİRİŞ

Üreme uzmanlarının hepsi, stimülasyonun hassas ayarını bulmaya çalışmaktadırlar. Bir hastanın gebe kalmasına yardımcı olmak için, önceki tedavi döngüleri düşük yumurtalık yanıtı, kötü embriyonik gelişim veya devam eden sağlıklı bir gebelik oluşmama sebeplerinden dolayı iptal edilmiş olan hastalarda sağlık uzmanları olarak kadının gebe kalmasına yardımcı olacak 'sihirli değneği' aramaktayız.

Fertilite toplantılarındaki oturumlar genellikle yumurtalık stimülasyon profillerini ve implantasyon oranlarını iyileştirmek için adjuvan tedavilerin kullanımına ilişkin sunumları içerir. Bununla birlikte, IVF sonuçlarını iyileştirmek için adjuvan tedavilerin kullanımına ilişkin literatür ya eksiktir ya da bir tedavinin yararı açısından sonuçlar sık sık değişiyor gibi görünmektedir. Psikolojik sorunlar için farmakolojik olmayan takviyelerin kullanımı, tedavinin bir parçası olarak fayda sağlıyor gibi görünse de (Chu ve ark., 2017), IVF tedavisi gören kadınlar için besin takviyelerinin önceki bir incelemesi, IVF'te üreme sonuçları üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabilecek tek besin takviyesinin folik asit takviyesi ve Akdeniz diyeti olduğu sonucuna varmıştır (Kermack ve Macklon, 2015).

Bu derlemenin amacı, kadınlara IVF tedavisi sırasında reçete edilebilecek veya kendi istekleriyle alabilecekleri besin takviyelerinin sistematik bir incelemesini yapmaktır. Bu derlemenin amaçları doğrultusunda 'beslenme' terimi, hastanın kendi kendine başlayabileceği, ancak üremeyi etkileyen standart bir ilaç olarak kabul edilmeyen oral bir tedavi olarak yorumlanmaktadır. 'Beslenme' teriminin bu şekilde geniş yorumlanmasının nedeni, bu incelemenin farklı stimülasyon protokolleri, büyüme hormonu, testosteron uygulaması gibi genellikle sadece tedavi eden klinisyen tarafından reçete edildiğinde kullanılabilen tedavileri hariç tutmasıdır. Bu nedenle, hastanın kendi kendine alabileceği takviyelere odaklanılmaktadır, çünkü bu takviyeler genellikle 'reçetesiz' olarak kolayca temin edilebilir ya da tedavi eden klinisyen tarafından tavsiye edilebilir veya reçete edilebilir.

Bu derleme, Cochrane incelemesinde (Showell ve ark., 2020) analiz edilen, birçok kadının bir fertilite kliniğine başvururken aldığı çoklu antioksidan ajanları ele almamakta bunun yerine bir IVF döngüsünde yumurtalık yanıtını, embriyonik gelişimi ve canlı doğum oranlarını iyileştirmek amacıyla klinisyenler tarafından sıklıkla önerilen veya reçete edilen tedavilere odaklanmaktadır. Zayıf yumurtalık yanıtı rapor edilen çalışmalardaki heterojen dahil etme kriterleri nedeniyle belirli bir duruma göre tanımlanmamıştır.

Ele alınan takviyeler dehidroepiandrosteron (DHEA), melatonin, koenzim Q10 (CoQ10), karnitin, selenyum, D vitamini, miyo-inositol, omega-3 ve Çin bitkileridir. İncelenen her bir takviye için mevcut veri tabanının kısa bir özetini sağlamak amacıyla, ilk olarak en güncel meta-analiz veya sistematik inceleme, en son randomize kontrollü çalışma (Randomized Controlled Trial-RCT) veya bunlar mevcut değilse en güncel gözlemsel veriler sunulmuştur.

ARAMA STRATEJİSİ

22 Mayıs 2023 tarihinde PubMed, EMBASE, Science Direct, Cochrane Google Scholar ve Cochrane Controlled Trials Register'da 1 Ocak 2015'ten 22 Mayıs 2023'e kadar IVF tedavisinde, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonunda (ICSI) veya yardımcı üreme teknolojisinde oosit sayısı, embriyo veya blastosist gelişimi ve klinik gebelik veya canlı doğum oranları açısından diyet takviyeleri, kullanılan vitaminler, adjuvanlar ile ilgili olarak yayınlanan ingilizce literatür taraması yapılmıştır. Diğer tıbbi konu başlıkları (Medical Subject Headings-MeSH) terimleri ve anahtar kelimeler melatonin, CoQ10 ve vitamin D konularının belirli yönleriyle ilgili makaleleri bulmak için kullanılmıştır. Arama stratejisinin

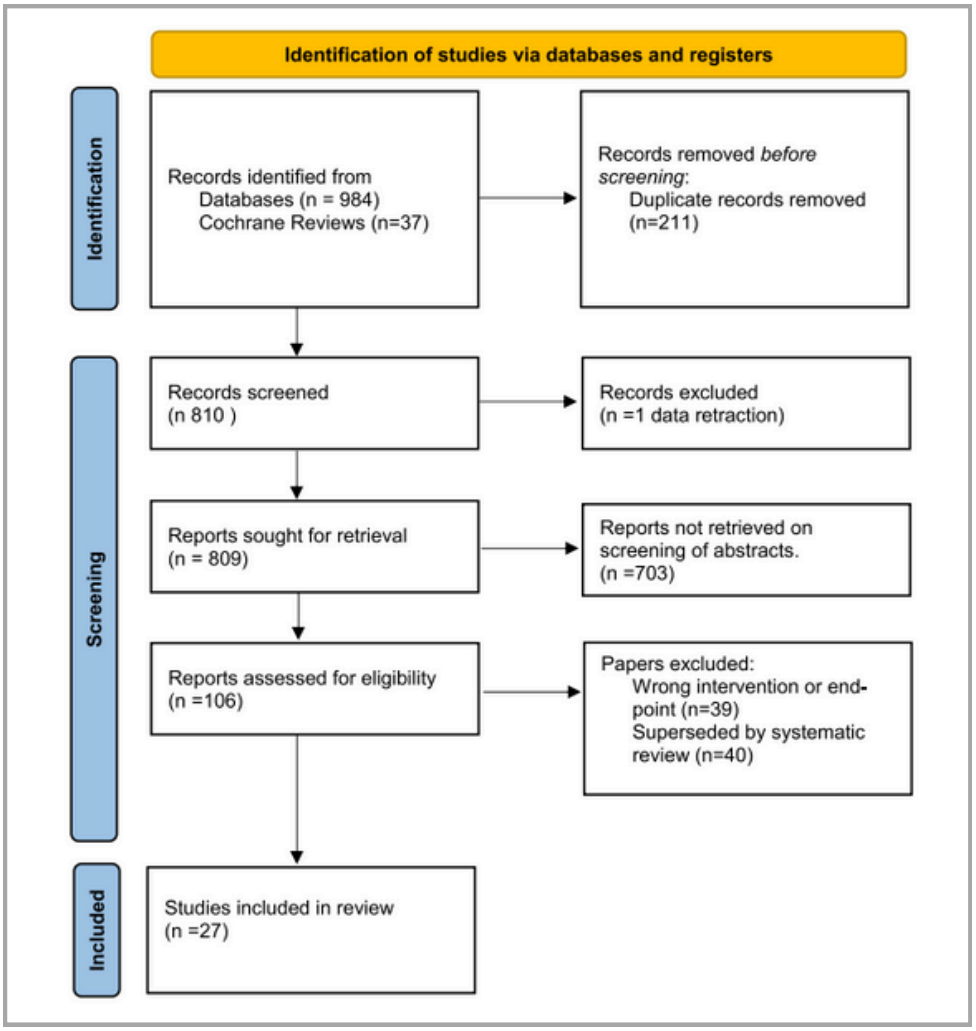
tamamı **Tablo-1** 'de listelenmiştir.

Yazar (R.J.H.), King Edward Memorial Hastanesi kütüphane personeli tarafından gerçekleştirilen arama sonucunda elde edilen özetlerin bir incelemesini yapmıştır. Veriler, sistematik incelemeler ve meta-analizler için tercih edilen raporlama öğeleri (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-analyses-PRISMA) 2020 kılavuzuna (Page ve ark., 2021) göre yorumlanmış ve bir PRISMA akış şeması oluşturulmuştur (**Şekil-1**). Uygunluk açısından değerlendirilen 106 rapordan 39'u yanlış müdahale nedeniyle, 40'ı ise bir sistematik incelemenin yerini aldığı için hariç tutulmuştur. Dahil edilen 27 ana çalışmanın özeti **Tablo-2**'de verilmiştir.

Tablo-1: Bu sistematik incelemede kullanılan IVF'teki beslenme takviyelerine ilişkin arama stratejisinin özeti

Parameter	Definitions
Search date	22 May 2023
Sources searched	PubMed, EMBASE, BioMed Central, PsycInfo, Science Direct, Cochrane Google Scholar and the Cochrane Controlled Trials Register Limited to publications dated from 1 January 2015 to 2023
	Search criteria used for the title and abstract were: Reproductive Techniques, Assisted OR Fertilization in Vitro OR Sperm Injections, Intracytoplasmic OR IVF (keyword) or ICSI (keyword) (include all subheadings) AND Supplement (keyword) OR add-on (keyword) adjuvant (keyword) OR vitamin (include all subheadings) AND Oocyte number (keyword) OR embryo development (keyword) OR blastocyst (keyword) OR pregnancy (keyword) OR clinical pregnancy (keyword) OR livebirth (keyword) OR side-effect Other MeSH terms and keywords used to find articles on specific aspects of the topic were: Melatonin, CoQ10, Vitamin D
Other information sources checked	Reference lists of included studies were searched to identify additional relevant papers
Inclusion criteria	Published in an English-language peer-reviewed journal Studies limited to the following treatments: IVF, frozen embryo transfer, minimal stimulation IVF Studies that involved giving the female partner nutritional supplements before and/or during her IVF stimulation and recorded the IVF outcomes: oocyte number, embryo and blastocyst development, and pregnancy and live birth rates Studies involving data collection and/or comparison with a contemporary cohort of individuals from the general population or who underwent a randomized controlled trial, or a systematic review of such papers
Exclusion criteria	Articles not published in English Articles where it was not possible to identify the fertility treatment employed Studies analysing an intervention with conventional gonadotrophin or hormone or adjuvant therapies that are not considered nutritional supplements, such as FHS, LH, human chorionic gonadotrophin, testosterone, oestrogens, progesterone, metformin or clomiphene Studies that involved treatment of the male partner or sperm donor Studies that involved treatment of the laboratory culture media Studies without an identifiable comparison cohort and case studies Studies where it was not possible to identify the fertility treatment employed to enable analysis of the IVF outcomes
Categories of studies	Case-control studies, cohort studies, randomized control trials, systematic reviews AND
Method for assessing and interpreting the evidence	Abstracts were provisionally classified and full-text articles obtained for critical appraisal. Each publication was evaluated by one reviewer (R.J.H.)

MeSH, Medical Subject Headings.



Şekil-1: IVF'te besin takviyeleri ile ilgili çalışmaların belirlenmesi için PRISMA 2020 akış diyagramı

MAKALE ÖZETİ

Tablo-2: IVF tedavisi gören kadınlar için besin takviyelerine ilişkin dahil edilen çalışmaların özeti

Authors (year)	Type of study	Dosage	Inclusion criteria	Outcomes	Benefit?
CoQ10					
Xu et al. (2018)	Non-blind RCT	200 mg three times per day for 2 months	Age <35 years, AMH <1.2 ng/ml and AFC <5 (n = 169)	Improvement in: duration of stimulation (↓) dose of gonadotrophin required (↓), number of oocytes collected (↑), fertilization rate (↑) and embryo quality (↑). No difference in CPR (↔) or LBR (↔)	±
Gat et al. (2016)	Retrospective study	CoQ10 600 mg/day + DHEA 75 mg/day, or DHEA 75 mg/day alone for on average 11 months	Age; combined treatment 39 ± 2.7 years versus DHEA alone 39.2 ± 3.6years, AFC <6, and previous poor response <4 eggs retrieved during IVF (n = 330 compared with 467 historical controls taking DHEA)	The dual intervention recorded an increase in ovarian antral follicles (↑) and more dominant follicles at the time of trigger before IVF (↑). No differences in pregnancy rates (↔) or oocytes retrieved (↔)	+
Qi et al. (2022)	Retrospective study	CoQ10 30 mg/day for 2 months before IVF treatment alone or in combination with acupuncture, with standard IVF	Age ≥35 years old, with DOR: AFC <5, AMH <1.2 ng/ml; BMI <30 kg/m^2; or FSH <18 IU/l; with tubal or male factor infertility (n = 330)	Both the CoQ10 interventions led to a higher AFC at the start of treatment (↑), number of mature oocytes collected (↑) and improvement in embryo quality (↑), with improvements in CPR and LBR only for dual therapy (↑)	+
Bentov et al. (2014)	RCT (terminated early)	600 mg/day CoQ10 or placebo for 2 months	Age 35–43 years, BMI <37 kg/m^2, baseline FSH <20 IU/l (n = 39)	Prematurely terminated; at close: no significant difference in rate of aneuploidy (↔) (46.5% in the CoQ10 group versus control 62.8%) or CPR (↔) (33% for the CoQ10 group versus control 26.7%)	−
Showell et al. (2020)	Systematic review and meta-analysis, 63 RCT, with a subset of 4 RCT on CoQ10 use in subfertile women attending a fertility clinic, not exclusively undergoing IVF	Included dosage from 60 to 300 mg/day	Indication previous POR, age 36–43 years with expected poor ovarian response or anovulatory PCOS (n = 397 women)	CoQ10 associated with increased CPR (↑) versus placebo or no treatment (OR 2.49, 95% CI 1.50–4.13; $P < 0.001$, $I^2 = 47\%$). LBR (OR 1.50, 95% CI 0.78–2.88; $P = 0.23$; 2 RCT, 225 women) (↔)	+
Myo-inositol					
Mendoza et al. (2017)	Systematic review and meta-analysis 8 RCT	Myo-inositol dose 1.2–4 g/day	PCOS patients undergoing ICSI treatment (n = 1,019)	Myo-inositol supplementation did not improve oocyte quality (↔) (OR 2.21, 95% CI 0.83–5.89), embryo quality (↔) (OR 1.62, 95% CI 0.39–6.71) or pregnancy rate (↔) (OR 1.28, 95% CI 0.87–1.89) and more oocytes were retrieved (↓) in the control patients than the myo-inositol-treated patients (mean difference 1.518, 95% CI 3.63–0.59)	−
Zheng et al. (2017)	Systematic review and meta-analysis 7 RCT	Myo-inositol 4 g/day	Patients <42 years (4 studies included women with PCOS, 3 studies excluded women with PCOS) (n = 935)	Myo-inositol supplement group showed improved CPR (↑) (OR 1.45, 95% CI 1.08–1.95) and reduced miscarriage (↓) (OR 0.26, 95% CI 0.12–0.59). Grade 1 embryo proportion increased (↑) (OR 1.73, 95% CI 1.10–2.74), germinal vesicles and degenerated oocytes retrieved decreased (↓) (OR 0.31, 95% CI 0.11–0.86), and less stimulation required (↓) (mean difference −327.40, (95% CI −567.38 to −87.42) No differences in total oocytes retrieved (↔) or mature oocytes retrieved (↔)	+

Tablo-2: (Devam ediyor)

Authors (year)	Type of study	Dosage	Inclusion criteria	Outcomes	Benefit?
Merviel et al. (2021)	Systematic review 11 RCT	Myo-inositol 1.2–4 g/day (majority dose 4 g/day)	Patients with PCOS (n = 1,055)	Conclusion: 'Myo-inositol 4 g day^{-1} (2 g twice day^{-1}), three months prior to ovarian stimulation, is effective in normalizing ovarian function, improving oocyte and embryo quality'	+
Nazari et al. (2020)	RCT	Myo-inositol 4 g/day started 1 month pre-IVF in conjunction with 400 μg folic acid	Patients undergoing ICSI with POR defined as: AFC < 5 or AMH < 1.2 ng/ml, aged 20–45 years with ovulatory cycles, basal FSH <15 mIU/ml and BMI 18–30 kg/m^2 (n = 112)	No difference regarding dose of gonadotropin used (↔) or total number of oocytes (↔) and mature oocytes (↔) retrieved. Higher number of grade A embryos (↑) (67.2% versus 36.5%, $P < 0.001$) and higher fertilization rate with the intervention (↑) (88.3% versus 72.3%, ($P = 0.001$). Pregnancy rates were not different (↔)	+
Wdowiak and Filip (2020)	RCT	Combination therapy of myo-inositol (initially 2 g/day then reduced to 0.6 g/day), melatonin, vitamin D, α-lactalbumin and folic acid (commenced 3 months before the ICSI cycle)	All ovulatory patients undergoing first cycle of IVF with ICSI despite partners with normal semen parameters), aged 20–35 years (n = 100)	Myo-inositol was associated with improvements in oocyte quality (↑), blastocyst development (↑) and CPR (↑) (42% versus 24% in the control group)	+
Mohammadi et al. (2021)	RCT	Myo-Inositol 4 g/day for 12 weeks prior to IVF treatment	20–43 years, POR defined as: AFC <7 or AMH <1.2 ng/ml with BMI 19–25 kg/m^2; excluded PCOS patients undergoing ICSI (n = 60)	Higher fertilization rate (↑) (68.6% versus 40.8%) and lower requirement for gonadotropin stimulation (↓) in the intervention group. No difference in the number of oocytes retrieved (↔), number of MII oocytes (↔) or CPR (↔)	±
Melatonin					
Hu et al. (2020)	Systematic review and meta-analysis 10 RCT (3 studies included combination therapies and 1 studied melatonin added to the culture medium)	Melatonin 2–8 mg/day	Various inclusion criteria; first IVF cycle, unexplained infertility, unexplained infertility with sleep disturbance, mixed aetiology, PCOS, POR, 'low oocyte quality' (n = 1023)	Higher CPR with melatonin (↑) (OR 1.43, 95% CI 1.11–1.86), but no effect on LBR (↔) (OR 1.38, 95% CI 0.78–2.46). Melatonin was associated with an increased number of oocytes collected (↑) (mean difference 0.34, 95% CI 0.01–0.67), number of mature oocytes (↑) (mean difference 0.56, 95% CI 0.27–0.85) and number of good-quality embryos (↑) (mean difference 0.36, 95% CI 0.18–0.55), 3 RCTs; no effect on miscarriage rate (↔) (OR 1.28, 95% CI 0.65–2.51)	+
Mejlhede et al. (2021)	Systematic review and meta-analysis 7 RCT (2 studies included combination therapies)	Melatonin 3–8 mg/day during the IVF treatment	Various inclusion criteria; unexplained infertility, unexplained infertility with sleep disturbance, mixed aetiology, PCOS, POR, 'low oocyte quality' (n = 889)	Higher mature oocyte count with melatonin (↑) (mean difference 1.82, 95% CI 0.37–3.27). CPR (↔) (OR 1.35, 95% CI 0.97–1.87). No difference in number of oocytes collected (↔), embryo quality (↔) or miscarriage rate (↔)	+
Fernando et al. (2018)	Pilot dose-finding RCT	Placebo or melatonin 2 mg/day or melatonin 4 mg/day or melatonin 8 mg twice per day during IVF stimulation	First cycle of IVF (n = 160)	No differences between the groups for CPR (↔), LBR (↔), total oocyte number (↔), number of mature oocytes (↔), number of fertilized oocytes (↔) or number or quality of embryos (↔). Combining all melatonin groups in comparison with placebo, CPR was 21.7% for melatonin versus 15.0% for placebo (↔) (OR 1.57, 95% CI 0.59–4.14)	±

Tablo-2: (Devam ediyor)

Authors (year)	Type of study	Dosage	Inclusion criteria	Outcomes	Benefit?
DHEA					
Nagels et al. (2015)	Systematic review and meta-analysis 8 RCT	DHEA 75 mg/day for 6–12 weeks prior to IVF cycle (most studies 12 weeks)	Patients undergoing IVF for POR with various definitions. Mean ages of patients across studies 30–40 years (*n* = 878)	DHEA was associated with an increase in ongoing pregnancy or live birth: live birth or ongoing pregnancy rate (↑) (OR 1.81, 95% CI 1.25–2.62) and CPR (↑) (OR 1.34, CI 1.01–1.76)	+
Qin et al. (2017)	Systematic review and meta-analysis 4 RCT, 4 retrospective studies, 1 observational study	DHEA 75 mg/day for 6–12 weeks prior to the IVF cycle (most studies 12 weeks)	Patients undergoing IVF for POR with various definitions with wide age range inclusion criteria (*n* = 540 active treatment versus 668 controls)	Treatment with DHEA was associated with an increase in CPR (↑) (OR 1.47, 95% CI 1.09–1.99) in comparison to control, with no differences in the number of oocytes retrieved (↔) or miscarriage rate (↔)	+
Neves et al. (2022)	Systematic review and meta-analysis 8 RCT	DHEA 75 mg/day for 6–12 weeks prior to the IVF cycle (most studies 12 weeks)	Patients undergoing IVF for POR with various definitions, with wide age range inclusion criteria (*n* = 1782)	Treatment with DHEA was not associated with an increase in oocyte yield (↔), mature oocytes collected (↔), embryo development (↔), miscarriage rate (↔), CPR (↔) or LBR (↔)	±
Wang et al. (2023)	Systematic review and meta-analysis 8 RCT, 5 observational studies, 3 retrospective studies	DHEA 60–90 mg for 8–12 weeks (most studies 75 mg/day)	Patients with POR by various definitions, one study's inclusion was age >37 years (*n* = 1998)	DHEA administration was associated with more oocytes collected (↑) (mean difference 1.09, 95% CI 0.38–1.80), mature oocytes (↑) (mean difference 0.78, 95% CI 0.16–1.40), fertilized oocytes (↑) (mean difference 0.84, 95% CI 0.42–1.26) and top-quality embryos developed (↑) (mean difference 0.60, 95% CI 0.34–0.86). Higher CPR (↑) (RR 1.35, 95% CI 1.13–1.61) and ongoing pregnancy rate (↑) (RR 1.82, 95% CI 1.34–2.46), live birth rate (↔) (RR 1.35, 95% CI 0.94–1.94)	+
Vitamin D					
Zhou et al. (2022)	Systematic review and meta-analysis 5 RCT (3 from Iran, 2 from Italy)	Dose regimen for individual studies: vitamin D 32,000 IU/day for 12 weeks, calcitriol pills 0.25 μg/day for 4 weeks, a single dose of 600,000 IU of vitamin D or 50,000 IU vitamin D weekly for 6–8 weeks (2 studies)	Infertile patients undergoing IVF treatment with vitamin D deficiency (serum vitamin D <30 ng/ml) (mean BMI 20.8–26.9 kg/m^2 and mean age 28.5–35.9 years across the studies) (*n* = 938)	Vitamin D supplementation was associated with an increased biochemical pregnancy rate (↑) (RR 1.53, 95% CI 1.06–2.20) but not CPR (↔), fertilization rate (↔), embryo quality (↔) or miscarriage rate (↔)	±
Meng et al. (2023)	Systematic review 9 RCT, 3 observational studies	Various vitamin D doses and regimens for 6–9 weeks (1 study was a single depot dose), some studies were combination therapies, most studies measured vitamin D concentrations pre-treatment, and vitamin D status pre-treatment varied	Inclusion criteria of the studies varied and included all patients, patients with PCOS, vitamin D-deficient patients and patients with implantation failure (*n* = 2548)	Vitamin D use was associated with an increased CPR (↑) in vitamin D-deficient patients (OR 1.70, 95% CI 1.24–2.34), with no difference in the rate of miscarriage (↔). When the vitamin D concentration in serum before treatment was <75 nmol/ml, CPR doubled (↑) (post-treatment over control OR 2.06, 95% CI 1.32–3.22). Suggested favourable dose is 1000–10,000 IU/day for 30–60 days	+
Bezerra Espinola et al. (2021)	Pilot RCT	A combination intervention of myo-inositol, melatonin, α-lactalbumin and folic acid versus control, the same	Unselected patients undergoing IVF, age <42 years, BMI 18.5–25 kg/m^2, basal FSH <15 IU/l (*n* = 100)	Implantation rate in the group with addition of vitamin D increased (↑) (37.1%) in comparison to the non-vitamin D-supplemented group (19.2%) (*P* = 0.015). No differences	+

Tablo-2: (Devam ediyor)

Authors (year)	Type of study	Dosage	Inclusion criteria	Outcomes	Benefit?
		supplements plus the addition of 2000 IU/day. Vitamin D supplementation in the luteal phase		in ongoing pregnancy (↔) or miscarriage (↔) rate	
L-Carnitine					
Sheida et al. (2023)	RCT	L-Carnitine 3 g/day from stimulation until trigger	Patients with PCOS aged 18–40 years undergoing IVF (n = 83)	L-Carnitine was associated with higher serum oestradiol concentrations (↑) on the day of oocyte triggering (2974.67 versus 1954.62 pg/ml, P = 0.01). No difference in the number of retrieved oocytes, (↔), mature oocytes (↔), fertilization rate (↔) or embryo development (↔)	±
Chinese herbs					
Guo et al. (2014)	Non-blind RCT	Intervention of combination of Chinese herbs versus placebo	433 women undertaking IVF for either tubal or male factor infertility, ovulatory, age 22–42 years, basal FSH <15 IU/l, AFC ≥5 (n = 433)	Taking the Chinese herb supplement was associated with an increase in fertilization rate (↑) (58.5% versus 54.7%, P = 0.003), high-quality embryo rate (↑) (52.1% versus 48.7%, P = 0.036) and CPR (↑) (44.2% versus 34.8%, P = 0.043). No difference in the number of oocytes collected (↔) or LBR (↔)	+
Song et al. (2021)	Multicentre RCT	Ding-Kun pill (>30 components) twice daily 5–6 weeks before IVF trigger	Patients starting IVF ≥35 years, BMI <35 kg/m^2, basal AFC <5 or AMH <1.2 ng/ml, or previous POR (<4 oocytes after standard ovarian stimulation) (n = 462)	Ding-Kun led to the development of more top-quality blastocysts (median 2 versus 1, P = 0.003) and increased high-quality embryo rate (↑) (P = 0.014); no differences in CPR (↔) or ongoing pregnancy rate (↔) between the Ding-Kun pill and placebo	±
Omega-3 fatty acids					
Abodi et al. (2022)	Systematic review 3 RCT, 2 observational studies	Intake of foods as a source of omega- 3 fatty acids as assessed by food frequency questionnaires, or supplementation with omega-3 (1 study tablet of 180 g EPA + 120 g DHA/day; 1 study a 6-week dietary supplementation of olive oil for cooking, an olive oil-based spread, + a daily drink with 10 μg vitamin D and 2 g omega-3) compared with women without a high intake of omega-3, or when given over 4–6 weeks	Patients starting IVF; studies included patients with BMI 18–35 kg/m^2, age 19–42 years (n = 731)	No synthesis of data undertaken due to the heterogeneity of the studies and risk of bias, although all studies demonstrated a benefit of omega-3 (either dietary or supplemental) on embryonic development (↑)	+
Antioxidants					
Showell et al. (2020)	Systematic review and meta-analysis 63 RCT including a subgroup of 18 RCT for outcome CPR, 9 RCT for outcome LBR in patients undergoing IVF	Studies of subfertile women attending a fertility clinic, interventions included treatments with combinations of antioxidants, *N*- acetylcysteine, melatonin, L-arginine, myo-inositol, carnitine, selenium, vitamin E, vitamin B complex, vitamin C,	Subgroup of patients undergoing IVF taking a antioxidant supplement versus placebo or standard treatment (n = 2341 for outcome CPR, n = 806 for outcome LBR)	Subgroup analysis focusing on patients undergoing IVF treatment demonstrated no increase in CPR (↔) for use of antioxidants when compared with placebo or standard treatment (OR 1.15, 95% CI 0.95–1.40; I^2 = 0%) or LBR (↔) compared with placebo or no intervention (OR 1.36, 95% CI 0.96–1.93; P = 0.08, I^2 = 0%)	

Tablo-2: (Devam ediyor)

Authors (year)	Type of study	Dosage	Inclusion criteria	Outcomes	Benefit?
		vitamin D and calcium, CoQ10 and omega-3 versus placebo, no treatment/standard treatment or another antioxidant			
Resveratrol					
Ochiai et al. (2019)	Retrospective study	Resveratrol 200 mg/day throughout the IVF and embryo transfer cycle	All patients undergoing cleavage stage embryo transfer (excluded poor-prognosis patients, age >43 years or poor-quality embryos transferred) versus no supplement (n = 204 taking resveratrol versus 7073 without)	After matching patients by age at the time of oocyte retrieval, embryo grade and stage, the number of embryos transferred, and fresh or frozen cycle, multivariate logistic regression analysis showed that resveratrol supplementation halved the CPR (OR 0.54, 95% CI 0.34–0.85) and doubled the risk of miscarriage (OR 2.60, 95% CI 1.07–6.33)	–

(↓), negative significant difference; (↑), positive significant difference; (↔), no significant difference; (+), general positive benefit from use; (–), generally no benefit from use.

AFC, antral follicle count; AMH, anti-Müllerian hormone; BMI, body mass index; CI, confidence interval; CoQ10, co-enzyme Q10; CPR, clinical pregnancy rate; DHA, docosahexaenoic acid; DHEA, dehydroepiandrostenedione; DOR, diminished ovarian reserve; EPA, eicosapentaenoic acid; ICSI, intracytoplasmic sperm injection; LBR, live birth rate; MII, metaphase II; OR, odds ratio; PCOS, polycystic ovary syndrome; POR, poor ovarian response; RCT, randomized controlled trial; RR, risk ratio.

BESLENME TEDAVİLERİ

CoQ10

CoQ10 iç mitokondriyal membranın temel bileşenlerinden biridir ve enerji substratı olan adenozin trifosfatın üretilmesini sağlayan oksidatif fosforilasyon gerçekleşirken, mitokondriyal solunum zincirinde elektron taşınmasından sorumludur; ayrıca oosit için bir antioksidan görevi görür (Xu ve ark., 2018). Gözlemsel çalışmalar CoQ10'un foliküler sıvı konsantrasyonunun yaşla birlikte azaldığını (Ben-Meir ve ark., 2015b) ve düşük CoQ10 düzeyinin oosit anöploidisi ile ilişkili olabileceğini göstermektedir (Bentov ve ark., 2014). Bu nedenle, 'düşük oosit kalitesi' tespit edilen kadınlar için infertilite tedavisi sırasında CoQ10 kullanımı önemlidir. CoQ10 takviyesinin mantığı, oosit kalitesindeki yaşa bağlı düşüşün, oosit mitokondriyal fonksiyonunun azalması ve oosit içinde artan oksidatif stres ile ilişkili olduğuna inanılmasıdır (Rodriguez-Varela ve Labarta, 2021). Yeterli mitokondriyal fonksiyon, mayotik iğciğin doğru düzenlenimi, doğru kromozomal segregasyon, oosit olgunlaşması ve döllenmesi için zorunludur ve normal embriyonik gelişimi sağlar (Rodriguez-Varela ve Labarta, 2021). Çin'de, kör olmayan randomize bir CoQ10 çalışması (2 ay boyunca günde üç kez 200 mg), kötü prognoza sahip 35 yaşından küçük 169 kadın üzerinde gerçekleştirilmiştir. Hipotez yüksek oksidatif stresin yumurtalık fonksiyonunda erken düşüşten sorumlu olduğunu ve bunun CoQ10 takviyesi ile iyileşebileceğiydi. Tedaviden sonra gerekli stimülasyon süresi, gerekli gonadotropin dozu, toplanan oosit sayısı, fertilizasyon oranı ve embriyo kalitesindeki iyileşme açısından olumlu sonuçlar kaydedilmiş ve klinik gebelik oranı veya canlı doğum üzerinde kullanımın faydası olmadığı gösterilmiştir (Xu ve ark., 2018). Ortalama 11 ay boyunca CoQ10 (ve DHEA) kullanımına ilişkin retrospektif bir çalışma, yumurtalık stimülasyonuna daha önce zayıf yanıt veren ve inseminasyon tedavisi veya IVF uygulanan 330 kadını içermektedir. Çalışma grubu tedavi döngüsünden önce DHEA alan, önceki döngüde

MAKALE ÖZETİ

kötü yanıt verenler kohortundan elde edilen bir kontrol grubu (467 hasta) ile karşılaştırılmıştır. IVF grubunda gebelik oranlarında veya alınan oositlerde herhangi bir fark kaydedilmemiştir (Gat ve ark., 2016). Bu 2 aylık ön tedavi için CoQ10' un tek başına ve akupunktur ile birlikte standart IVF ile karşılaştırıldığı gözlemsel bir çalışmaya benzerdir. Stimülasyona zayıf yanıt vermesi beklenen 330 kadın için stimülasyon her iki CoQ10 müdahalesi de tedavinin başlangıcında daha yüksek olan antral folikül sayısında ve klinik gebelik oranlarında iyileşmelere yol açmıştır (Qi ve ark., 2022). Yazarların vardığı sonuç, IVF tedavisi için yumurtalık stimülasyonundan önce oral CoQ10 takviyesinin yumurtalık tepkisini ve foliküler ortamı iyileştirebileceği; Xu ve meslektaşları tarafından vurgulanan oosit ve embriyonik sonuçların iyileşmesine yol açabileceğidir (Xu ve ark., 2018). Ancak ne yazık ki ileri yaş hastalarda, yaşa bağlı oosit bozulmasını düzeltmek için çok geç olabileceğini ve bunun da daha yüksek anöploidi oranlarına yol açabileceği öne sürülmektedirler (Rodriguez-Varela ve Labarta, 2021).

Miyo-inositol

Doğal olarak oluşan bir şeker olan miyo-inositol, insülin sinyal iletiminin hücre içi aracı olarak insülin duyarlılığını artırdığına inanıldığı için polikistik over sendromu (PCOS) olan kadınlarda kullanılmıştır (Merviel ve ark., 2021; Motuhifonua SK ve ark., 2023). Bölünmüş olarak günde 4 g dozunda, oosit kalitesi kötü olan (Merviel ve ark., 2021) ve stimülasyona zayıf yumurtalık yanıtı olan kadınlarda muhtemelen hücre içi kalsiyum salınımları üzerinde olumlu bir etkisi olduğu öne sürülmüştür (Nazari ve ark., 2020). İnsanlarda dokuz inositol izomeri bulunur ve miyo-inositol en çok olanıdır. Miyo-inositol, D-inositole dönüştürülür. İnsülinin etkisi altında chiro-inositol üretilir ve bu da glikojen üretimini uyarır ve glikoz alımını kolaylaştırır (Teede ve ark., 2023).

Literatürde miyo-inositolün potansiyel faydasına ilişkin çelişkili raporlar bulunmaktadır. Ayrıca, uluslararası PCOS kılavuzlarının yakın zamanda yayınlanmasıyla birlikte, PCOS'lu kadınlar için inositolden elde edilecek olası faydalar olsa da, uygun dozun belirsiz olduğunu ve daha olumlu sonuçların elde edilip edilemeyeceğinin de belirsiz olduğunu vurgulamak önemlidir. Bunun yerine metformin kullanılabilir; bu nedenle yeni çalışmalar gereklidir (Teede ve ark., 2023).

Melatonin

Melatonin, serbest radikal temizleyicisi olmasının yanı sıra uyku/uyanıklık döngüsünde de rol oynamaktadır (Mejlhedeve ark., 2021). IVF tedavisi gören kadınlarda melatonin kullanımına ilişkin 2020 sonuna kadar yayınlanan çalışmaları içeren yedi RCT'nin sistematik bir incelemesi, kullanımı için bazı potansiyel umutlar olduğunu bildirmiştir. Melatonin kullanıldığında daha fazla oosit olgunlaşmasına rağmen benzer sayıda oosit toplanmıştır. Çeşitli çalışmalarda farklı embriyonik değerlendirme ölçümleri bildirilmesine rağmen, embriyo kalitesinde bir fark bildirilmemiştir (Mejlhede ve ark., 2021). Melatonin kullanımı için potansiyel bir faydayı güçlendiren daha fazla kanıt, 2019'un sonunda çeşitli klinik endikasyonlar için 10 RCT'nin daha önceki bir sistematik incelemesinde rapor edilmiştir. Ayrıca iki sistematik incelemeye dahil edilen birçok çalışmada (Hu ve ark., 2020; Mejlhede ve ark., 2021) melatonin yalnızca stimülasyonla eş zamanlı olarak reçete edilmiştir ve folikülogenez süresi nedeniyle döngü öncesi başlangıçtan bir fayda elde edilebileceği varsayılabilir; bu konuda büyük çalışmalar beklenmektedir.

DHEA

DHEA, adrenal bez ve yumurtalık tarafından üretilen endojen bir androjendir ve androstenedion, testosteron ve nihayetinde östradiolün (veya dihidrotesteronun) bir steroid prekürsörüdür; yumurtalık rezervinin azaldığı ve embriyonik

gelişimin kötü olduğu düşünülen kadınlar için potansiyel bir tedavi olarak uzun yıllardır kullanılmaktadır (Neves ve ark., 2022). Tarihsel olarak, 2015 yılında zayıf yumurtalık yanıtı endikasyonu için IVF döngülerinde DHEA ile ön tedaviyi inceleyen sekiz RCT'nin Cochrane incelemesi, DHEA kullanımının daha yüksek canlı doğum veya devam eden gebelik oranlarıyla ve klinik gebelikle ilişkili olduğunu göstermiştir (Nagels ve ark., 2015). Bu, birkaç başka meta-analiz tarafından desteklenmiştir. 2017'de bazı gözlemsel verilerin dahil edilmesiyle, DHEA ile ön tedavi gören azalmış yumurtalık rezervi olan kadınlar için klinik gebelik oranları önemli ölçüde artmıştır (Qin etal., 2017). DHEA'nın dozajının ve tedaviye başlama zamanlamasının belirsiz olduğunu ve literatürde önemli ölçüde değişiklik gösterdiğini belirtmek önemlidir, ancak DHEA genellikle tedaviye başlamadan 1 ile 12 ay önce günde 50-90 mg dozunda uygulanır (Neves ve ark., 2022).

D Vitamini

D vitamini, güneş ışığına maruz kalındığında deride üretilebildiği gibi besinlerle de alınabilir; D2 ve D3 olmak üzere iki formdan oluşur. İster deriden üretilsin ister diyetle alınsın, aktivitesi için biyolojik olarak aktif D vitamini formu olan 1,25-dihidroksivitamin D'yi oluşturmak üzere karaciğer ve böbreklerde hidroksilasyon reaksiyonu gereklidir (Holick ve ark.,2011). D Vitamini reseptörleri vücudun çoğu dokusunda bulunur ve bu nedenle çok sayıda fizyolojik işlevde rol oynar; ayrıca 200'e kadar genin düzenlenmesinde de rol oynamaktadır (Nagpal ve ark., 2005). Düşük serum D vitamini konsantrasyonunun, normal kilolu kadınlarda infertiliteye yol açtığı (Paffonive ark., 2014) ve bu durumu potansiyel olarak iyileştirmek için bu tür takviyelere ihtiyaç duyulduğu belirtilmektedir. Bununla birlikte başka bir çalışmada bu takviyelerden herhangi bir fayda elde edilip edilmeyeceği veya bunun nerede gerçekleşeceğinin belirsiz olduğu belirtilmiştir (Abedi ve ark.,2019; Paffoni ve ark., 2019). Ayrıca, D vitamini eksikliği düşükle ilişkilendirilmiştir (Tamblyn ve ark., 2022) ve D vitamin düzeyi yüksek olan kadınların öploid blastosist geliştirme olasılığının daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Arnanz ve ark., 2021), ancak takviyenin D vitamini eksikliği olan kadınlar için IVF sonuçlarını iyileştirip iyileştirmeyeceği belirsizdir (Shenve ark., 2019, Somigliana ve ark., 2021). D vitamini takviyesinin etkisinin hastanın etnik kökenine bağlı olarak değişme olasılığı vardır (Eller ve ark., 2023). Aynı şekilde, benzer bir zamanda yayınlanan başka bir sistematik derleme, Ağustos 2021'e kadar RCT'yi içermiş ve D vitamini eksikliği olan kadınlara odaklanmıştır; D vitamini takviyesi klinik gebelikte veya herhangi bir embriyolojik sonuçta iyileşmeye yol açmamıştır (Zhou ve ark.,2022). Bu çalışmalar yorumlanırken, çalışmaların sınırlı sayıda ülkede ve farklı yöntemlerle gerçekleştirildiklerine dikkat etmek önemlidir. D vitaminin değişen dozu ve takviye süresi, sonuçların genellenebilirliğini etkilemektedir (Zhou veark., 2022). Sadece D vitamini konsantrasyonlarının artan yağ doku miktarından olumsuz etkilendiğini değil, aynı zamanda bu durumun malabsorpsiyona yol açan bariatrik cerrahi, antikonvülsan tedavi ve güneş ışığına zayıf maruziyet nedeniyle daha da kötüleştiğini belirtmek önemlidir (Holick ve ark., 2011). Yakın zamanda yapılan gözlemsel bir çalışma, D vitamini eksikliğinin IVF döngüsünde mevcut olgun oosit sayısının azalması ve blastosist oluşum oranının düşmesi ile ilişkili olduğuna dair daha önce bildirilen verileri yinelemiştir. Ayrıca, artmış doğal öldürücü (Natural Killer) hücreler de dahil olmak üzere periferik kanda hücresel bağışıklık aktivasyonu yaptığı bildirilmiştir. Hücre üretimi ve B-hücre oranlarının artışının yanı sıra, D vitamini eksikliği olan kadınlarda T-yardımcı/T-sitotoksik hücre oranları üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir ve bu da yumurtalık dışı sistemik bir etkiyi düşündürmektedir (Wu ve ark., 2018).

L-Karnitin

L-Karnitin endojen bir bileşiktir; lizin ve metiyoninden oluşur ve yağ asitlerinin mitokond-

MAKALE ÖZETİ

riyal membran boyunca taşınmasına yardımcı olarak oksidasyon sürecinin vazgeçilmez bir parçasıdır (Mohd Shukri ve ark., 2022). PCOS'lu bazı kadınlarda L-karnitinin düşük serum konsantrasyonları ve takviyesinden elde edilen metabolik faydalar bildirilmiştir (MohdShukri ve ark., 2022). L-Karnitin ayrıca antioksidan ve antiapoptotik özelliklere sahiptir (Agarwalve ark., 2018). Asil karnitin birikiminin, düzensiz mitokondriyal yağ asidi oksidasyonunun bir belirteci olduğuna inanılmaktadır (Hoppel, 2003). Serum ve foliküler sıvı karnitin ve metabolitlerinin ölçümünü içeren bir çalışmada, daha fazla oosit ve embriyo üreten hastalarda serum ve foliküler sıvı karnitin ve asetil karnitinin göreceli olarak tükendiği kaydedilmiş ve bu da yazarların IVF tedavisinin, vücudun karnitin havuzunda bir azalmaya ol açtığını, bu nedenle de karnitin tedavisi gören hastaların karnitin takviyesinden fayda sağlayabileceği hipotezini geliştirmelerine neden olmuştur (Va ´rnagy ve ark., 2013).

Çin bitkileri

Birçok hasta, gebe kalmalarına yardımcı olması için Çin bitkisel tıbbından (Chinese herbal medicine-CHM) yararlanmıştır ve birçoğu IVF döngülerinde bu tür bitkileri almaya devam edecektir; ancak bu kullanımların çok azı bir RCT tarafından incelenmiştir ve bu alandaki çalışmaların çoğunun Çin'de yapıldığı ve diğer popülasyonlarda tekrarlanması gerekebileceği kabul edilmektedir. Doğurganlık tedavisi için kullanılan CHM'nin esası, geleneksel Çin tıbbında geleneksel olarak üreme tıbbı teorisinin odak noktası olan 'böbreği tonifiye etmektir' (Liu ve ark. 2021). Tubal faktör veya erkek faktörü nedeniyle standart IVF tedavisi gören 433 kadın üzerinde yapılan bir çalışmada, kadınlar rastgele (kör olmayan), Çin bitkileri veya plasebo ile takviye grubuna ayrılmıştır (Guove ark., 2014). Birkaç parametrede istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu bildirilmiş olsa da, çalışma kör olmadığı ve Çin bitkileri rejimi çok karmaşık olduğu için bildirilen farkların klinik önemi dikkate alınmalıdır (Guo ve ark., 2014). Başka bir RCT, IVF'ye başlayan, 35 yaşın üzerinde olan ve düşük serum AMH veya antral folikül sayısına sahip olan veya yumurtalık stimülasyonuna beklenen zayıf yanıt veren 462 hastayı incelemiştir; DKP kullanımı daha yüksek kaliteli blastosistlerin gelişmesine yol açmıştır, ancak sonuçta DKP ile plasebo arasında klinik veya devam eden gebelik oranlarında hiçbir fark olmamıştır (Songve ark., 2021). Ayrıca, PKOS'lu kadınlar için, 10 RCT'yi içeren CHM kullanan çalışmaların bir meta-analizi, IVF tedavisi gören PKOS'lu kadınların klinik gebelik oranları açısından CHM kullanımının bir miktar faydası olduğunu ve ovaryan hiperstimülasyon sendromu oranında bir azalma olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, kullanılan CHM miktarı tutarsızdı ve CHM'nin farklı bileşenleri arasında sınırlı bir örtüşme vardı, bu da analizde önemli heterojenliğe yol açtı ve dolayısıyla bulguların genellenebilirliğini sınırladı (Liu ve ark.,2021).

Omega-3 çoklu doymamış yağ asitleri

Omega-3 yağ asitleri, fındık ve balık gibi gıdalardan elde edilir, genel sağlık ve üreme sonuçları üzerinde algılanan potansiyel olumlu etkileri nedeniyle IVF literatüründe en çok çalışılan yağ asitleridir (Abodi ve ark., 2022; Stanhiser veark, 2022). Omega-3 takviyesi gebe kalmaya çalışılan günlerin en az %20'sinde alınırsa doğal gebe kalma süresinde bir azalma ile ilişkilendirilmektedir (Stanhiserve ark., 2022). a-Linolenik asit, kısa zincirli bir omega-3 yağ asididir ve dokosaheksaenoik asit (DHA) ve eikosapentaenoik asit (EPA) uzun zincirli omega-3 yağ asitleridir. Omega-3 yağ asidi alımına ilişkin 2021 sonuna kadar beş çalışmanın dahil edildiği sistematik bir incelemede (Abodi ve ark., 2022), beş çalışmanın tümü omega-3 yağ asitlerinin, IVF klinik sonuçlarını ve morfoloji-morfokinetik parametrelere göre değerlendirilen embriyo kalitesini iyileştirmede faydalı olabileceğini göstermiştir; ancak çalışmaların heterojenliği nedeniyle meta-analiz yapılamamıştır (Abodi ve ark.,2022). Ayrıca, derlemedeki bireysel çalışmalar IVF hasta-

larının belirli alt popülasyonlarına odaklanmamış, her yaştan hastayı içermiş ve takviyelerin dozları ve diyet değerlendirmesi açısından tutarsız olmuştur (Abodi vd.,2022).

Antioksidanlar

Bu derlemenin odak noktası olmamakla birlikte, IVF için antioksidan tedavilerini, besin takviyeleri hakkında sunulan verilerden ayırmak zordur. Antioksidanlar, dokulardaki oksidatif hasarı azaltan kimyasallardır. Oksidatif stres, reaktif oksijen radikallerinin oluşumu ile vücudun reaktif oksijen radikallerinin etkilerini nötralize etme yeteneği arasındaki dengesizliktir. Reaktif oksijen radikalleri ve reaktif nitrojen radikalleri oosite zarar verebilir, oosit olgunlaşmasının son aşamalarını bozabilir ve kümülüs-oosit kompleksi içinde oosit metabolizmasının ayrılmaz bir parçası olan kümülüs hücre fonksiyonunu bozabilir (Camp ve ark., 2023; Mauchart ve ark.,2023). Ayrıca reaktif oksijen radikalleri döllenme sırasında ve embriyonik gelişim sırasında spermatozoadan, seminal plazmada bulunan lökositlerden, sperm hazırlama yönteminden veya kültür ortamı, inkübasyondaki oksijen konsantrasyonu ve ışığa maruz kalma gibi laboratuvar ortamından daha fazla zarar verebilir (Mauchart ve ark.,2023). Sonuç olarak, reaktif oksijen radikallerinin fazlalığı oosit kalitesi için zararlı olduğundan, takviyenin potansiyel olarak faydalı olabileceğine inanılmaktadır. 2019 sonuna kadar yayınlanan 63 RCT'nin Cochrane incelemesi (Showell ve ark.,2020), infertil kadınlar için "plasebo", "tedavi yok" veya "başka bir antioksidan ile tedavi" gruplarını karşılaştırmıştır ve oral antioksidan takviyesinin bir bütün olarak kullanımını analiz etmiştir. İnceleme, kanıt kalitesinin çok düşük olması nedeniyle antioksidanların plaseboya kıyasla canlı doğum oranının birincil sonucunu iyileştirip iyileştirmediğinin belirsiz olduğu sonucuna varmıştır. Düşük kaliteli kanıtların ikincil sonucu da antioksidanların plasebo veya hiçbir tedavi/standart tedavi ile karşılaştırıldığında klinik gebelik oranını iyileştirebileceğini göstermiştir. Buna ek olarak, kanıtlar antioksidan kullanımının düşük sonucu açısından bir fark yaratmadığını ve düşük oranda gastrointestinal rahatsızlıklara yol açtığını göstermektedir.

Resveratrol

Üzüm, fındık, kızılcık ve kırmızı şarapta bulunan resveratrolün (doğal olarak oluşan bir sirtuin aktivatörü) granüloza hücrelerindeki mitokondriyal sayıları uyardığına, enerji üretimini artırdığına ve embriyonik gelişimin erken aşamalarında iyileşmelere yol açabileceğine dair bazı ilginç veriler ortaya çıkmaktadır (Gerli ve ark., 2022). Günde 200 mg resveratrol takviyesi alan 102 kadının retrospektif incelemesi, bu katılımcıları takviye almayanlarla eşleştirmiş ve kötü prognozlu hastaları hariç tutmuştur. Hastalar oosit alımı sırasındaki yaşları, embriyo evresi, transfer edilen embriyo sayısı ve taze veya dondurulmuş döngü olup olmadığına göre eşleştirildikten sonra, çok değişkenli lojistik regresyon analizi, resveratrol takviyesinin klinik gebelik oranını yarıya indirdiğini ve düşük riskinde iki kat artışa yol açtığını göstermiştir. Bu ön çalışma, endometriyum ve embriyo implantasyonu üzerinde potansiyel bir olumsuz etkiye işaret etmektedir ve daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir (Ochiai ve ark., 2019). Resveratrol kullanımının potansiyel endometriyal zararı olabileceği görülse de, kullanımının folikülogenez üzerindeki etkisi umut verici görünmektedir. Sonuç olarak, resveratrolün hem folikül gelişimi hem de endometriyum üzerindeki etkisini açıklığa kavuşturmak için bu alanda daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Diyet müdahaleleri

Diyet kısıtlaması bir besin takviyesi olmasa da, besinsel olarak eksik ve ketotik bir durumdur. Aşırı kilolu veya obez olmak klinik gebelik ve canlı doğum oranları açısından, IVF tedavisinin başarı oranını önemli ölçüde düşürmekte ve

MAKALE ÖZETİ

düşük yapma riskini artırmaktadır (Rittenberg veark., 2011). Sonuç olarak, kanıtlar güçlü olmasa ve sistematik incelemeler çelişkili sonuçlar bildirse de, gebe kalmaya çalışan kadınlar için kilo verme müdahalelerinin, doğal doğurganlığı artırdığına dair bir algı vardır (RCT-2020 ortalarına kadar) (Boyle ve ark.,2022; Hunter ve ark., 2021). Bugüne kadar iki büyük RCT'den elde edilen kanıtlar, obezite için yaşam tarzı müdahalesinden sonra canlı doğum şansının artmadığını gösterdiğinden (Einarsson ve ark., 2017; Mutsaerts ve ark.,2016), IVF tedavisi öncesinde kilo verme müdahalelerinden bir fayda elde edilip edilmediğini değerlendiren sistematik bir incelemenin sonucu beklenmektedir (Evans-Hoeker ve ark., 2022). Bir hastanın IVF tedavisine başlamadan önce tüketebileceği diyet türüyle ilgili olarak, Akdeniz diyetinin (fındık, bitkisel yağlar, sebzeler, meyveler, balık ve baklagiller açısından zengin, düşük süt ürünleri alımı) IVF tedavisinden sonra gebelik şansı açısından en faydalı olduğu ve daha yüksek foliküler B6 vitamini ve folat konsantrasyonları ile ilişkili olduğu görülmektedir (Vujkovic ve ark., 2010). Çift kör RCT, 6 haftalık bir Akdeniz diyet müdahalesinde (omega-3 yağ asitleri ve D vitamini ile zenginleştirilmiş günlük bir takviye içeceğin yanı sıra ilave zeytinyağı), embriyonik gelişim ile ilgili bazı önemli faydalı ilişkiler göstermiştir. Bu çalışma nispeten kısa bir müdahale süresine sahiptir ve hem erkek hem de kadın partnerler tedavi edilmiştir, bu da potansiyel bir fayda varsa bunun nereden kaynaklanabileceğini belirlemeyi zorlaştırmaktadır (Kermack ve ark., 2020). Daha önce yapılan gözlemsel bir çalışma, Akdeniz diyetine uymanın, özellikle 35 yaşın altındaki kadınlarda klinik gebelik ve canlı doğum oranları açısından olumlu sonuçlar doğurduğunu öne sürmüştür (Karayiannis ve ark., 2018). Buna karşılık, 'Batı diyeti' göz önüne alındığında, hayvan araştırmalarından elde edilen kanıtlar (Gonnella ve ark., 2022), yüksek yağlı bir diyetin oosit olgunlaşması ve foliküler gelişim üzerinde olumsuz etkilerle ilişkili olduğunu, folikül ve oosit içindeki inflamasyon ve oksidatif stres belirteçlerini artırdığını; foliküler olgunlaşma ve oosit büyümesi ile ilgili genlerin ekspresyonunu etkilediğini göstermektedir; ayrıca embriyolarda gelişimsel kusurlara yol açan anormal metilasyon seviyeleri ile de ilişkilidir (Gonnella ve ark., 2022). Bireylerin beslenme düzenlerine ilişkin 2021 ortasına kadar olan literatürün sistematik bir incelemesi (Kellow ve ark., 2022), orta veya yüksek yanlılık riski olan (12 kohort çalışması) ve katılımcıların %7'sinin erkek olduğu 13 çalışmayı rapor etmiştir. Yazarlar, IVF tedavisi ile birlikte en yüksek canlı doğum oranı ile ilişkili diyeti belirleyememekle birlikte, en iyi IVF sonuçları ile ilişkili dört diyet modeli belirledikleri sonucuna varmışlardır; "doğurganlık yanlısı diyet", "Hollanda'nın önerdiği ulusal diyet", "Akdeniz diyeti" ve "İran geleneksel tıp diyeti". Bu diyetlerin ortak özellikleri, meyve ve sebze alımının yüksek olması, tam tahıllar, baklagiller, kabuklu yemişler, balık ve tekli doymamış veya çoklu doymamış yağ alımının yüksek olması ve alımın sınırlı olmasıdır. Bu diyetler B vitaminleri, antioksidanlar, omega-3 çoklu doymamış yağ asitleri ve lif bakımından zengin; doymuş yağ, şeker ve sodyum bakımından fakirdir. Bazı çelişkili veriler nedeniyle yazarlar, yüksek pestisit içeren meyve ve sebze alımının klinik doğurganlık sonuçları üzerindeki potansiyel etkisinin araştırılmasını teşvik etmiştir. Sonuç olarak, belirli bir beslenme şekli diğerine tercih edilemez (Sanderman ve ark., 2022), ancak şeker açısından zengin yüksek yağlı bir diyetten kaçınmak ve işlenmemiş gıdalar içeren diyeti teşvik etmek önerilmektedir.

SONUÇLAR

IVF tedavisi gören kadınlara yardımcı olacak olası terapötik stratejilerle ilerlemeyi kolaylaştırmak için literatürden sonuçlar çıkarmaya çalışırken en basit yaklaşım, IVF tedavisi görürken Akdeniz diyetini benimsemek olacaktır. Ancak daha fazla takviye isteniyorsa, gebe kalmada yaşanan güçlüğün altında yatan nedenin daha fazla aydınlatılması gerekir. Örneğin düşük yumur-

MAKALE ÖZETİ

talık yanıtında yazarlar (Zhang ve ark., 2020), 2018 verileriyle kadınlara reçete edilen DHEA ve CoQ10'un kontrol tedavisinden daha iyi olduğunu öne sürmektedir. Ayrıca, CoQ10 kullanımının bazı yararları olabilir ancak yumurtalık stimülasyonuna zayıf yanıt veren veya kötü embriyonik gelişimi olan ileri yaş kadınlar için uygun olup olmadığı ya da ileri yaş kadınlar için kültür ortamında kullanılıp kullanılmayacağı belirsizdir.

PCOS'lu kadınlar için miyo-inositol kullanımının bir faydası olabilir; ancak uygun doz net değildir ve metformin kullanmanın daha etkili olup olmayacağı da net değildir; sonuç olarak karşılaştırmalı çalışmalar gereklidir (Teede ve ark., 2023). Bazı IVF sonuçlarında melatonin kullanımı için olumlu veriler görünmektedir, ancak hangi hasta popülasyonlarının en fazla fayda sağlayabileceği ve uygun dozun ne olacağı açık değildir. D vitamini takviyesinin yeri henüz netleşmemiştir ve sistematik incelemenin sonuçları merakla beklenmektedir. L-karnitinin IVF tedavisinde besin takviyesi olarak kullanımını destekleyen herhangi bir kanıt bulunmamakla birlikte, omega-3 yağ asitleri takviyesi alınması IVF tedavisi gören kadınlar için klinik ve embriyolojik sonuçlarda iyileşmelere yol açabilir; elde edilebilecek herhangi bir potansiyel faydayı netleştirmek için daha tutarlı çalışmalar gereklidir. Resveratrolün folikülogenezde ve kötü embriyonik gelişimde kullanımına ilişkin umut verici erken veriler olsa da, endometriyum üzerinde zararlı bir etkiye sahip olduğu görüldüğü için, açıklığa kavuşturulması açısından daha fazla araştırma gerekmektedir.

MAKALE ÖZETİ

What Does Intracytoplasmic Sperm Injection Change in Embryonic Development? The Spermatozoon Contribution

Sandrine Chamayou [1], Filippo Giacone [1], Rossella Cannarella [2 3], Antonino Guglielmino [1]

Affiliations + expand

Hazırlayan:
Uzm. Dr. Mediha Gül Tol
Burdur Devlet Hastanesi

İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu Embriyo Gelişiminde Neleri Değiştirir? Spermatozoon Katkısı

ÖZET:
İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) , değişen sperm parametrelerine bağlı ciddi erkek infertilitesini çözmek için bulunan ve günümüzde infertilite tedavisinde dünya çapında uygulanan bir tekniktir. Sperm hareketliliği, morfolojisi veya miktarı ne olursa olsun, ameliyatla elde edilen veya ejakülattan alınan numunelerden elde edilen herhangi bir sperm ile ICSI gerçekleştirilir. Bu derlemenin amacı, embriyo gelişimi ve kinetiğinin ICSI tekniğiyle, mikro-enjekte edilmiş sperm ile değiştirilip değiştirilemeyeceğini araştırmaktı. Yayınlanan veriler ICSI'nin zigot kinetiğini öngördüğünü göstermektedir. Ayrıca ICSI'de in vitro fertilizasyona (IVF) göre fertilizasyon oranı daha yüksektir ve daha fazla blastosist elde edilmektedir. Sperm parametreleri, morfoloji ve canlılık, DNA içeriği (sperm DNA fragmantasyonu seviyeleri, mikrodelesyonlar ve kromozomal anormallikler), RNA içeriği, epigenetik ve sperm geri kazanım bölgesi (testis, epididim ve ejakülat) gibi sperm özellikleri, fertilizasyon ve blastosist oranları ile embriyo kinetiği üzerinde farklı şekillerde etkiye sahiptir. ICSI, çiftlerin infertilitesi için en yaygın çözüm olsa da, erkek infertilitesinin nedenleri, normal embriyonik gelişime ve sağlıklı yavrulara katkıda bulunacak yetkin bir spermin oluşturulmasında oldukça önemlidir.

MAKALE ÖZETİ

Giriş

İn vitro fertilizasyon (IVF) temel olarak jinekolojik kısırlığı çözmek için geliştirilmiş bir yöntemken; intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) değişen sperm parametreleri nedeniyle erkek bazlı infertilitede, total fertilizasyon başarısızlığında(TFF), dondurulmuş-çözülmüş oositler ile cerrahi olarak elde edilen sperm kullanıldığında ve preimplantasyon genetik test (PGT) durumunda da tercih edilen in vitro fertilizasyon yöntemidir. ICSI, dondurulmuş-çözülmüş sperm hücresiyle ve olgunlaşmamış spermatozoa ile de gerçekleştirilebilir.

Geleneksel IVF'de sperm zona pellusidayı(ZP) geçer ve mikromanipülasyon olmadan fertilizasyon gerçekleşirken; ICSI'de ise sperm mikromanipülasyonla oosite enjekte edilir yani zona pellusidaya bağlanma ve seçim süreci atlanmış olur.

ICSI, azoospermi ve globozoospermi gibi nedenlerle teknik veya biyolojik açıdan fertilizasyonun mümkün görünmediği hastalarda da embriyo oluşumuna imkan sağlar. Bu durumda akla iki soru gelmektedir: IVF ile karşılaştırıldığında ICSI tekniğinin embriyo gelişimi üzerinde herhangi bir önemi var mıdır? Ve ICSI'de mikro enjekte edilen sperm embriyo gelişimini nasıl değiştirir?

IVF ve ICSI'nin Fertilizasyon Süreçlerinin Karşılaştırılması

Rutin IVF, doğal fertilizasyon sürecini taklit eder. Oosit, kümülüs-korona radiata kompleksine nüfuz edip ZP'ye ulaşmak için hyaluronidaz enzimlerini serbest bırakan, akrozomal reaksiyonlara giren motil spermler ile çevrilir. Daha sonra spermin başı ZP3 glikoproteinine bağlanır ve sperm perivitellin aralığa geçer. Bundan sonra bir sperm, metafaz II oosit zarı ile temas eder. Sperm başının ekvatoryal bölgesi, oositin çevresindeki mikrovilluslara temas eder ve her iki gamet bir araya gelerek plazma zarları kaynaşır. Gamet füzyonunun hemen ardından oositin submembran veziküllerinden kalsiyum iyonları serbest bırakılır ve böylece sitoplazmik zarın depolarizasyonu yoluyla diğer spermlerin penetrasyonu engellenir. Ca+2 salınımı, polispermiyi önlemenin yanı sıra hücreler arası pH'da ve oksidatif metabolizmada artışa neden olarak oositin solunumunu ve metabolizmasını uyarır. Spermin çok sıkı bir şekilde paketlenmiş olan nükleer kromatini, gametlerin füzyonundan sonra yoğunlaşmaya başlar. Sperm DNA'sı ile kompleks oluşturan protamin proteinlerinin yerini histon proteinleri alır. Kromatin, artık pronukleus olarak adlandırılan çekirdeğin içinde yayılır ve oositin nükleer materyaline yaklaşır. Bu arada metafaz II oosit, hızlı bir şekilde anafaz II ve telofaz II'nin birbirini takip etmesiyle ikinci mayoz bölünmesini tamamlar. İkinci polar cisim perivitellin aralıkta serbest bırakılır. Her iki pronükleus da görünür hale gelir. DNA replikasyonu gelişen pronükleuslarda meydana gelir; pronükleuslar birbirine yaklaştıkça bir kromozom iki kromatit oluşturur. Daha sonra pronükleus zarları parçalanır ve kromozomlar birbirine karışır. Böylece tek hücre aşamasındaki embriyoya ulaşılmış olur. Anne ve babaya ait kromozomlar, sperm sentrozomundan türetilen mitotik iğ etrafında hızla organize olur.

ICSI'de sperm, metafaz II oosit ile kaynaşmak için kümülüs-korona radiata kompleksine ve ZP'ye nüfuz etmeden, ooplazmaya doğrudan mikro-enjekte edilir. ICSI öncesi spermin hareketsizleştirilmesi gerekir ki bu işlem sperm zar permeabilitesini artırır ve oosit aktivasyonu için gerekli olan 'sperm sitozolik faktörlerinin' salınmasına neden olur. Sperm mikroenjeksiyonundan sonra, kortikal veziküllerden Ca+2 salınımına bağlı olarak oosit zarı depolarizasyonu gözlemlenebilir. İki pronükleus zigot aşamasında ortaya çıkar ve kaybolur. IVF ile döllenmiş oositlerde ve

MAKALE ÖZETİ

ICSI ile döllenmiş oositlerde diğer in vitro embriyo gelişimi aşamaları benzerdir.

IVF ve ICSI'nin Embriyo Gelişim Süreçlerinin Karşılaştırılması

Yardımcı üreme tekniklerinde (ART), belirli bir ortamda veya belirli bir hasta grubunda bir prosedürün etkinliğini değerlendirmek için farklı temel klinik ve biyolojik performans göstergeleri (KPI) uygulanır. ICSI fertilizasyona yardımcı olduğundan, ICSI'nin IVF'ye karşı avantajı referans fertilizasyon oranını %5 oranında arttırmasıdır (ICSI'de %80'e karşın IVF'de %75) . Verilerimize göre, KPI 'klinik olarak kullanılabilir bir blastosist üretmek için gereken oosit sayısı' ICSI' de IVF ile karşılaştırıldığında daha düşüktür. Yani ICSI ile daha az oositle daha fazla blastosist gelişebilmektedir. Bu sonuç, over stimülasyon protokolleri, infertilitenin endikasyonları veya kadın yaşı ne olursa olsun geçerlidir.

Günümüzde, in vitro fertilizasyondan sonra embriyo gelişiminin tamamı, inkübatörlerde time -lapse monitorizasyon kullanılarak tamamen gözlemlenebilir. Bodri ve arkadaşlarının çalışmasında, ICSI embriyolarında IVF embriyolarıyla karşılaştırıldığında pronukleusların solması (1,5 saat) ve 4 hücreli aşamaya (1,1 saat) geçiş sürelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu. ICSI embriyolarında IVF embriyolarına kıyasla 2 hücreli ve 3 hücreli aşamaların yanı sıra pronukleus solmasına ilişkin istatistiksel olarak anlamlı bulgular, kardeş oositleri ve farklı kohort oositleri kullanan diğer gruplar tarafından da desteklenmiştir. Pronükleusların solması sırasında gözlemlenen bu bekleme süresi farkı, embriyo gelişimi devam ettikçe azalır ve 5 hücreli aşamadan blastosist aşamasına doğru kaybolur.

ICSI'de spermin penetrasyon anının kesin olarak bilinmesine karşın, IVF'de döllenme sürecinin daha uzun olduğu ve kesin olarak belirlenemediği unutulmamalıdır. IVF'de spermin kümülüs hücreleri ve ZP yoluyla penetrasyonunun yanı sıra gamet füzyonunun 1 saat süreceği tahmin edilebilir. Sonuç olarak, ICSI'nin gözlemlenebilir iki pronükleus süresini kısalttığı ancak embriyo kinetiğini değiştirmediği için ilk bölünme aşamalarının öngörülebildiği söylenebilir.

Normozoospermili çiftlerde IVF veya ICSI'den elde edilen kardeş blastosistlerde öploidi, anöploidi ve mozaiklik oranları benzerdir.

Embriyo Gelişiminde Spermin Etkisi

Sperm Parametreleri

Sperm sayısı (oligozoospermi), sperm hareketliliği (astenozoospermi) veya sperm morfolojisi (teratozoospermi) gibi en az bir sperm parametresi değiştiğinde seçilen fertilizasyon yöntemi ICSI'dir.

Pek çok ICSI çalışmasında, ejakülasyondan sonra sperm parametresi değişikliğinin embriyo gelişimi ile ilişkisi olabileceği düşünülmedi ve ICSI' nin, semen parametrelerindeki değişiklik nedeniyle olan erkek infertilitesini çözdüğü sonucuna varıldı. Bununla birlikte, ICSI veya IMSI sonuçlarındaki mikro-enjekte edilen spermin morfolojisini ilişkilendiren veriler, embriyo gelişimi üzerinde baba etkisinin olduğunu kanıtladı. ICSI'de morfolojik olarak anormal spermin mikroenjeksiyonu, fertilizasyon ve implantasyon oranlarının azalmasına neden olabilir. IMSI'de, mikro enjekte edilen sperm başındaki vakuollerin artan hacmi, azalan blastosist oranıyla ve pronükleer solma süresini takiben embriyo gelişimindeki bir gecikmeyle ve bölünme aşaması boyunca devam eden bir gecikmeyle ilişkilendirilmiştir. Sperm başındaki vakuoller yanlış sperm DNA paketlemesinin, protamin organizasyonunun ve DNA parçalanmasının işareti olabilir. Globozoospermi, akrozom eksikliğine bağlı olarak yuvarlak başlı sperm ve kıvrımlı bir kuyruk ile karakterize edilen nadir bir morfolojik sperm

MAKALE ÖZETİ

anomalisidir. Bu spermlerde globozoospermik olmayan spermlerle karşılaştırıldığında döllenme oranı azalır. ICSI, globozoospermisi olan infertil erkeklerin %0,1'inden azı için bir çözüm yoludur. Oosit aktivasyonu, sperme özgü fosfolipaz PLCζ'nın yetersiz ekspresyonuna, kusurlu sperm kromatin yoğunlaşmasına ve sperm DNA hasarına bağlı olarak başarısız olur. Mutlak astenozoospermide, fertilizasyon oranı önemli ölçüde azalmıştır. Oligoastenoteratozoospermi kombinasyonunun, 4 hücreli ve 5 hücreli aşamaların ve hücre bölünmesi senkronizasyonunun gecikmesi ile ilişkili olduğu bulunmuştur.

Sperm DNA'sı

Spermatogenezin daha sonraki aşamalarında sperm nükleusunda protaminlerle histon proteinleri yer değiştirir ve sperm başında mümkün olduğunca az yer kaplamak için DNA sıkı bir şekilde paketlenir. Bu moleküler yeniden şekillenme epididim seviyesinde meydana gelir. Sperm DNA fragmantasyonu (SDF) fizyolojik olabildiği gibi birçok klinik ve çevresel faktörün de sperm DNA bütünlüğü üzerinde olumsuz etkileri olduğu ve SDF yüzdesini arttırdığı bilinmektedir. Çok sayıda çalışma, SDF ile erkek infertilitesi ve IVF veya ICSI sonrası artan düşük oranı arasındaki doğrudan ilişki üzerinde durmaktadır. Düşük SDF kaliteli oosit tarafından onarılabilirken; yüksek SDF seviyeleri, embriyonal gelişimde morfokinetik gecikme ve sonuçta daha düşük blastosist ve gebelik oranları ile ilişkilendirilmiştir.

Embriyonik anöploidinin ana faktörü anne yaşı olarak bilinir ancak sperm de özellikle sperm konsantrasyonu azalmışsa anöploidiye katkıda bulunabilir. Baba yaşının 50'nin üzerinde olması, hasarlı DNA, daha düşük blastosist oranı ve daha yüksek sayıda trizomik embriyo ile ilişkilidir. Açıkçası, anöploid embriyo riski gonozomal anöploidili (47,XXY;47,XYY) erkeklerde özellikle yüksektir. Erkek partnerin taşıdığı yapısal kromozomal anomalilerin embriyo gelişimini olumsuz etkilediği vurgulanmaktadır.

Y kromozomunun q11de AZFa, AZFb ve AZFc spesifik lokuslarındaki mikrodelesyonlar genetik infertilite nedenidir. AZF mikrodelesyonlu hastalardan alınan spermlerde fertilizasyon oranının daha düşük olduğu ancak embriyo gelişiminin benzer olduğu bulunmuştur.

Sperm RNA'sı

Çeşitli moleküler biyoloji teknikleri, sperm hücresinin mRNA, miRNA, rRNA, piRNA'lar, lncRNA, siRNA, tRF'ler gibi hem kodlayan hem de kodlamayan RNA içeriğinin karakterizasyonuna imkan sağlamıştır. İnsan sperminde büyüme faktörlerini, transkripsiyon faktörlerini veya protein kinazları kodlayan bir dizi transkript, fertil kontrollerle karşılaştırıldığında infertil hastalarda farklı ölçüde bulunmuştur. Sperm enjeksiyonu sonrası oositin fertilize olmaması klusterin, kalmegin ve entegratör kompleksi alt birim I mRNA'sını içeren bazı sperm RNA'ları kaynaklı olabilir. Fare çalışmaları epididimal geçiş sırasında edinilen kodlamayan RNA'ların embriyogenezde rol oynadığını göstermiştir. Embriyo kinetiği ile ilgili olarak, miRNA'nın embriyo bölünme aşamalarını geciktirdiği ve yüksek kaliteli embriyoların yüzdesini azalttığı görülmektedir.

Fertilizasyon sürecinde, oosit aktivasyonunda, kromatin yeniden şekillenmesinde ve DNA onarımında yer alan genleri kodlayan ve spermle taşınan çeşitli mRNA'ların seviyelerini analiz eden bir pilot çalışma, oligoozoospermik hastalarda normozoospermik kontrollere göre 21 mRNA'nın önemli ölçüde daha düşük seviyede olduğunu bildirmiştir. Bu hastalarda dejenere embriyoların toplam %90' morula aşamasına ulaşamamıştır.

Ortaya çıkan kanıtlar, sperm RNA'sının erken embriyo gelişiminde ve embriyo kinetiğinde etkisi olduğunu göstermektedir.

MAKALE ÖZETİ

Sperm Epigenetiği

Epigenetik, DNA dizilerinde değişiklik olmadan gen fonksiyonunda mitotik ve/veya mayotik olarak kalıtsal değişiklikleri içerir ve aynı genomun birkaç farklı transkriptoma dönüşmesini sağlar. Sperm, spesifik bir metilasyon profiline sahip benzersiz bir epigenetik imzaya sahiptir. Sperm genomunun histon-protamin geçişine uğramayan kısmında tutulan histonlar, genom aktivasyonunu ve susturulmasını düzenleyen metilasyon, asetilasyon, fosforilasyon ve ubikitinasyon gibi kimyasal modifikasyonlara maruz kalır. Veriler, bu epigenetik faktörlerin embriyogenez sırasında transkripsiyonel düzenlemeyi etkileyebileceğini ve erken embriyonik gelişime ekstra genomik olarak katkıda bulunabileceğini göstermektedir.

Sperm Hücresinin Kaynağı

ICSI'de mikro enjeksiyon için sperm hücresi, ejakülat numunesinden veya azospermik erkeklerde testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE), testiküler sperm aspirasyonu (TESA), mikrocerrahi epididimal sperm aspirasyonu (MESA), perkütan epididimal sperm aspirasyonu (PESA) gibi cerrahi yöntemlerle elde edilebilir. Sperm hücresi kaynağına göre bakıldığında ejakülе spermde fertilizasyon oranı daha yüksek olup bunu epididimal ve testis örneklerinden elde edilen sperm takip etmektedir. TESE veya TESA ile elde edilen spermin mikro enjeksiyonu sonucu zigotta ikinci polar cisimciğin daha erken atılması, pronükleus görünümünde gecikme ve daha uzun bir pronükleer aşama gözlenir ve bu embriyolar bölünme aşamasında 3, 5, 7, 8 ve 9 hücre aşamalarına daha erken ulaşırken morula ve blastosist aşamalarına daha sonra ulaşır.

Embriyo kinetiği epididimal sperm numunesinde, testis numunelerine göre ejakülе edilmiş semene daha çok benzerlik göstermektedir.

Blastosist evresi ise testis ve ejakülat numunesine göre daha geç gözlenir. Sperm hücresinin Sperm hücresinin erkek genital sistemi boyunca olgunlaşmasının, embriyo kinetiği üzerinde etkileri söz konusudur. Testis seviyesinde sperm DNA'sı histonlarla sarılıdır, henüz sıkıştırılmamıştır ve daha az parçalanmıştır. Epididimal veya ejakülе sperm ile karşılaştırıldığında testiküler spermdeki zigot kinetiğinin değişimi, oositin, daha olgun bir spermde olduğu gibi protaminleri histonlarla değiştirmeye veya parçalanmış DNA spermini onarmaya ihtiyaç duymamasıyla açıklanmaktadır. Testiküler spermde sentriyol olgunlaşması yeterince olmadığından, embriyoda 1 hücreli aşamadan 3 hücreli aşamaya kadar sıklıkla eşit olmayan bölünme gözlenir. Epididim, spermin motilite kazanmasını sağlamanın yanısıra moleküler sperm olgunlaşmasında da rol oynar. Epididimde spermin eksik moleküler olgunlaşması, zayıf embriyo gelişimini ve ejakülе sperm ile karşılaştırıldığında daha düşük ICSI sonuçlarını açıklayacaktır.

Sperm Kriyoprezervasyonu

Semen kriyoprezervasyonu sperm mRNA düzeylerini azaltsa bile kriyoprezerve edilmiş spermden elde edilen embriyolar, taze ejakülе spermden elde edilen embriyolarla karşılaştırıldığında benzer gelişim ve kinetiğe sahiptir. Sperm kriyoprezervasyonunun olumsuz etkileri sperm motilitesinin ve canlılığının kaybıdır ancak sperm vitrifikasyon protokolü epigenetik olarak güvenlidir ve geleneksel dondurmayla karşılaştırıldığında küçük biyolojik değişikliklere neden olur.

Azospermisi olan hastalarda testiküler veya epididimal spermlerin kriyoprezervasyonunun, taze testis veya epididimal örneklerle karşılaştırıldığında ICSI sonuçları ve embriyo gelişimi üzerinde etkisinin olmadığı bulunmuştur.

Diğer Sperm Nedenleri

Bilimsel literatüre göre diğer sperm nedenleri embriyo gelişimini ve kinetiğini etkileyebilir. Örneğin; semen numunesinde reaktif oksijen türle-

MAKALE ÖZETİ

rinin yüksek seviyeleri, düşük embriyo kalitesi ve düşük blastosist oranı ile ilişkilendirilmiştir. Şaperon içeren T kompleksi gibi sperm proteinlerinin bolluğu, erken embriyo kalitesiyle ilişkilidir ve idiyopatik infertilitesi olan çiftlerde ICSI sonuçlarının öngörücü bir biyobelirteci olarak düşünülebilir.

Tartışma

Teknik protokol sayesinde ICSI, mikroenjeksiyonu takiben gametlerin gözlemlenmesine ve hücre kalitesi/morfolojisi ile ICSI sonuçlarının prospektif olarak ilişkilendirilmesine olanak sağlar. Time-lapse teknolojisi ile donatılmış son nesil inkübatörler sayesinde, ICSI'nin invazivliğinin embriyo gelişimi üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığı görülmektedir. Aksine, in vitro tedaviyi artırarak daha fazla zigot sayısına ve dolayısıyla döngü başına transfer edilecek veya dondurulacak daha fazla sayıda blastosiste yol açmaktadır.

Bununla birlikte, in vitro embriyo gelişimini sperm morfolojisi, DNA konfigürasyonu, sperm RNA içeriği veya sperm kaynağına göre daha derinlemesine değerlendirecek olursak; sperm hücresinin olgunlaşmasının embriyo gelişimi, gebelik şansı ve düşük riskleri üzerinde doğrudan bir etkisi olduğunu gözlemleriz.

Embriyo kinetiği ve ICSI sonuçları ile ilişkili çalışmalar, erkek genital kanalındaki sperm olgunlaşma sürecinin önemini vurgulamaktadır. Dölleyici bir sperm hücresi sadece 23 monokromatin kromozom ve bir sentriyolden ibaret değildir, aynı zamanda erken embriyo aşamalarından sonra ortaya çıkan ve bunlardaki herhangi bir bozulmanın embriyonun geleceğini etkileyeceği, kodlayıcı olan ve kodlayıcı olmayan belirli RNA molekülleri içerir.

Bu derlemeden, fertilizasyon oranının sperm morfolojisi (terato ve özellikle globozoospermi), canlılığı, DNA mikrodelesyonu (AZF), RNA içeriği, sperm epigenetiği ve sperm hücresinin kaynağı (testis, epididim ve ejaküle) tarafından etkilendiği sonucuna varılabilir. Zigot kinetiği, mikroenjekte edilen spermin morfolojisine ve özellikle de baş vakuollerinin varlığına göre değişmektedir. Bu sonuç olası bir yüksek SDF seviyesi ile açıklanabilir. Aynı şekilde, bölünmeden morula aşamasına kadar embriyo kinetiği ve blastosist oranı sperm başı vakuollerinden, yüksek SDF seviyelerinden ve epigenetik faktörlerden etkilenir. Döllenme oranı ve zigot-embriyo-blastosist kinetiğindeki farklılıklar, sperm geri kazanım bölgesinin(testis, epididim ve semen) yapısal durumunun ve sperm moleküler içeriğinin ilk zigot anlarından sonra embriyo gelişimini ne kadar etkilediğini doğrulamaktadır(**Tablo 1**). İlginç bir şekilde, sperm kriyoprezervasyonunda taze numuneye göre kıyaslandığında embriyo gelişiminde anlamlı bir fark görülmemiştir. Mikroenjekte edilen spermin DNA parçalanmasının kesin durumunu ve kodlayan/kodlamayan RNA içeriğini tam olarak bilemediğimizden dolayı sperm nedenleri ve embriyo gelişimi üzerindeki etkileri hakkındaki bilgilerimiz sınırlı kalmaktadır.

Doğal fertilizasyonda kadın üreme sistemi, oosite yaklaşmasına izin verilen sperm popülasyonunu moleküler ve genetik uyumluluk süreçleri yoluyla seçerken, IVF laboratuvarında mikroenjekte edilecek sperm, en iyi hareketlilik ve morfolojiye dayalı olarak seçilir. Aslında, en iyi spermi seçmek için sperme invaziv olmayan ve dişi üreme sistemindeki seçimi taklit eden farklı stratejiler geliştirilmektedir (polarize ışık, anneksin V kolonları, hyaluronik asit plakalarında inkübe etme, hareketli spermlerin mikroakışkan kanallardan geçmesi gibi yöntemler). Bununla birlikte bu tekniklerin etkinliğine dair veri eksikliği ve sperm yıkama, swim-up veya dansite gradient yöntemi gibi klasik sperm preparatlarına kıyasla sperm hazırlama maliyetlerinin fazlalığı, bunların ÜYTE laboratuvarlarında geniş çapta uygulanmasını engellemektedir.

Tablo 1: Embriyo gelişimini değiştiren sperm/spermatozoon özelliklerine atıfta bulunan kaynaklar

Sperm/Spermatozoon Characteristic	Fertilization Rate	Blastocyst Rate	Zygote Kinetic	Cleavage Kinetic	Morula Kinetic	Blastocyst Kinetic
Oligoastenoteratozoospermia				[49]		
Absolute astenozoospermia	[48]					
Globozoospermia	[46]					
Abnormal spermatozoon morphology	[37]					
Sperm head vacuole		[38–40]	[40,41]	[40,41]		
Increased SDF		[51–54]	[51–54]	[51–54]	[51–54]	
Chromosome abnormality						[57,60]
AZF microdeletions	[59]					
RNA content		[73–75]		[73]		
Epigenetic	[81,82]	[81,82]				
Sperm recovery site						
Testicular	[6]		[84–86]	[84–86]	[84–86]	[84–86]
Epididymis	[6]	[85]		[85]		

SDF: sperm DNA fragmentation.

Yakın zamana kadar, infertilite nedenlerinin kadın merkezli olduğu düşünülse de artık sperm-le ilgili nedenler de dikkate alınmalıdır. İleri baba yaşı, artan de novo mutasyonlarla ilişkilidir. AZF mikrodelesyonlarının olası amplifikasyon etkisi hakkında hala çok az şey bilinmektedir. Diyet, çevre ve oksidatif stres gibi dış faktörlerin, spermin yanı sıra oositin gamet işlevselliğini de tehlikeye attığı ve sonuç olarak embriyo sağlığı üzerinde olumsuz etkileri olduğu görülmektedir. Doğal gebeliklerle karşılaştırıldığında, ART ve özellikle erkek infertilitesi durumunda ICSI'den doğan bebeklerde majör kromozomal defekt riski %42 oranında artmaktadır.

Sonuç

Sağlıklı embriyo gelişimine oositin olduğu kadar sperm hücresinin de katkısı vardır. ICSI çiftlerde infertiliteyi çözmek için en yaygın çözüm olsa da, erkek infertilitesinin nedenlerini ve bunun sperm hücresi yeterliliği üzerindeki olası etkilerini göz ardı etmemeliyiz. Mikroenjeksiyon öncesi sperm hücresinin biyokimyasal yapısını ve DNA/RNA içeriğini bilmek için invazif olmayan tanı araçlarının gelecekte geliştirilmesi, spermatogenezin anlaşılmasında ve ayrıca erkek infertilite nedenlerinin ve yetkin bir sperm hücresinin oluşturulması için uygun koşulların anlaşılmasında belirleyici olacaktır. Çeşitli nedenlerle farklı kıtalarda ve onlarca yıldır sperm kalitesinin düşüşünün durmadığı bir dünyada, fertilizasyon oranlarını iyileştirmek için erkek infertilite sorunlarını çözmeye yönelik sorumlu ve küresel bir kararlılık gerekmektedir.

HABERLER

1) Samsun Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tüp Bebek Merkezi 7 Mayıs 2024 tarihinde üç kadın hastalıkları ve doğum uzmanı, üç tıbbi histoloji ve embriyoloji uzmanı, yedi hemşire, iki laboratuvar teknisyeni, dört sekreter ve üç yardımcı personel ile bölge halkına hizmet vermeye başlamıştır.