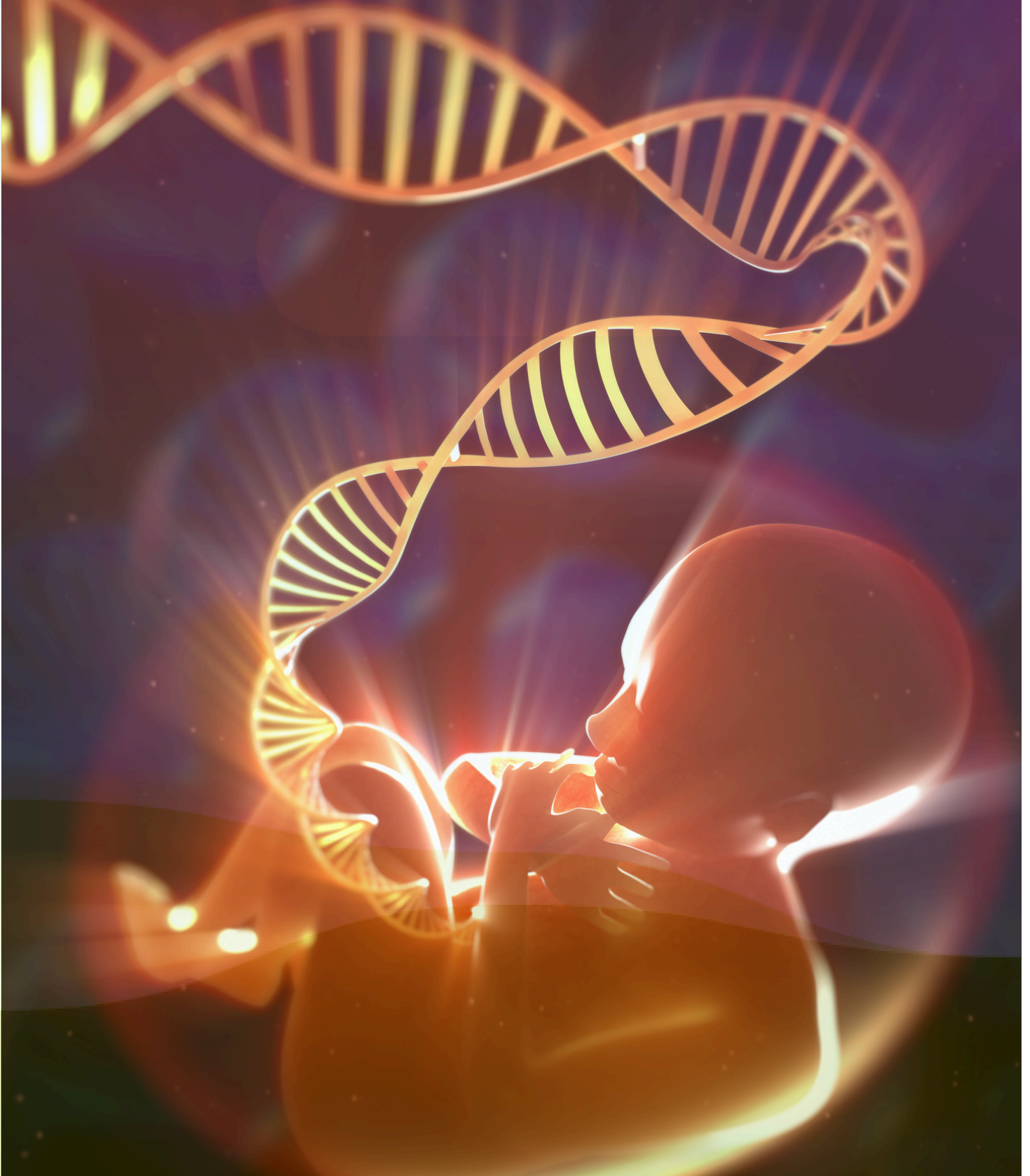


Aralık 2024

Sayı 4

HEMUD Dergisi

Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji Uzman Hekimleri Derneği'nin Yayınıdır



HEMUD Dergisi

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



HEMUD Adına İmtiyaz Sahibi

Uzm. Dr. Emine AKSOY

Editörler

Uzm. Dr. Ayşe Firuze BIYIK

Uzm. Dr. Neslihan KOÇ

Yayın Kurulu

Doç. Dr. Can KÖSE

Dr. Öğr. Üyesi Gülsemin ÇİÇEK

Dr. Öğr. Üyesi Derya ÖZTÜRK OKATAN

Uzm. Dr. Emine AKSOY

Uzm. Dr. Ayşe Firuze BIYIK

Uzm. Dr. Canan CANLI

Uzm. Dr. Sedanur YILMAZ DOĞAN

Uzm. Dr. Kübra ÖZUNCA

Dr. Ebru HATIRNAZ

Bio. Gamze KİBAR YAVUZ

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

Prof. Dr. Gökçen KERİMOĞLU

Doç. Dr. Başak BÜYÜK

Doç. Dr. Can KÖSE

Doç. Dr. Deniz AKA SATAR

Dr. Öğr. Üyesi Gülsemin ÇİÇEK

Dr. Öğr. Üyesi Derya ÖZTÜRK OKATAN

Dr. Öğr. Üyesi Yasemin SAVRANLAR

Dr. Öğr. Üyesi Aysin Pınar TÜRKMEN

Dr. Öğr. Üyesi Murat Serkant ÜNAL

Uzm. Dr. Emine AKSOY

Uzm. Dr. Ayşe Firuze BIYIK

Uzm. Dr. Şadiye CANPOLAT

Uzm. Dr. Ayça IŞIK

Uzm. Dr. Fatma Nur KARAKUŞ

Uzm. Dr. Neslihan KOÇ

Uzm. Dr. Gökşen Derya REİS KÖSE

Uzm. Dr. Betül SARI



BAŞKANDAN

Uzm. Dr. Emine AKSOY

HEMUD ailesi olarak dergimizin dördüncü sayısı ile karşınızdayız. Saygıdeğer Prof. Dr. İmer Okar Hocamız rahatsızlığı nedeniyle derneğimizin başkanlığından ayrılmak zorunda kalmıştır. HEMUD derneğimizin kurulduğu ilk günden beri tüm samimiyeti ve özverisi ile bizlere her konuda öncülük yapmış, destek olmuş ve dernek başkanlığını yürütmüştür. HEMUD yönetim kurulu olarak kendisine teşekkürlerimizi sunar acil şifalar dileriz.

Dergimizin bu sayısında yine birbirinden güzel ve önemli konulara yer verdik. Amacımız faydalı olacağını düşündüğümüz teorik bilgilerin yanında uzun yıllar sonucu tecrübe ile kazanılmış pratik bilgileri de sizlere aktarmaktır.

Dergimizin ilk bölümünü ülkemizde IVM (in vitro matürasyon) konusuna emeğini ve gönülünü vermiş sevgili Ebru Hatırnaz hocamızın in vitro matürasyonda laboratuvar yönetimi konulu yazısı oluşturmaktadır. Bir yöntem bölümünde Konya Meram Tıp Fakültesi'nden flow sitometrik analiz yorumlamasında oldukça yetkin Dr. Öğr. Üyesi Gülsemin Çiçek hocamız bizlere flow sitometriyi anlatacaktır. Flow sitometri yorumlaması çok titizlik gerektiren ve günümüzde kullanılan önemli bir tanı bir yöntemdir. Bir cihaz bölümünde Tekservis limited şirketinden sevgili Gamze Kibar Yavuz bizlerle embriyoskoplara ilgili önemli güncel bilgiler paylaşacaktır. Bir ÜYTE merkezi tanıtımı bölümünde Doç. Dr. Can Köse hocamız bizlere İzmir Şehir Hastanesi ÜYTE Merkezini tanıtmaktadır. Makale özetlerinde Uzm. Dr. Ayşe Firuze Bıyık, Uzm. Dr. Kübra Öztunca, Dr. Öğr. Üyesi Derya Öztürk Okutan ve Uzm. Dr. Canan Canlı'nın hazırlamış olduğu birbirinden güzel makaleler yer almaktadır. Son olarak haberler bölümünde camiamızdaki yeni gelişmelere yer verilmektedir.

Bu sayının hazırlanmasında emeği geçen ve destek olan herkese HEMUD ailesi olarak çok teşekkür ederiz. Keyifli okumalar dileği ile...

Uzm. Dr. Emine AKSOY

HEMUD Yönetim Kurulu

Dr. Öğr. Üyesi Aysin 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
Uzm. Dr. Emine UTKU ÖZEN

İÇİNDEKİLER



SAYFA 1

İN VİTRO MATÜRASYONDA LABORATUVAR
YÖNETİMİ

SAYFA 10

BİR YÖNTEM: FLOW SİTOMETRİ

SAYFA 13

BİR CİHAZ: EMBRİYOSKOP

SAYFA 16

ÜYTEM TANITIM: İZMİR ŞEHİR
HASTANESİ ÜYTEM

SAYFA 18

MAKALE ÖZETLERİ

SAYFA 56

HABERLER

İN VİTRO MATÜRASYONDA LABORATUAR YÖNETİMİ



Dr. Ebru S. Hatırnaz

İstanbul MOMART Tüp Bebek Merkezi

İn Vitro Maturasyon (IVM) "Cumulus Oocyte Complex (COC)" ile beraber alınmış immatür oositlerin, laboratuvar ortamında geliştirilmesi işlemidir. İmmatür oositlerin in vitro matürasyonu ilk olarak 1935'te tavşan oositleri kullanılarak gösterilmiştir (1). Daha sonra bu teknik insan oositlerine de uygulanmış ve 1991 yılında canlı bir doğum gerçekleştirilmiştir (2).

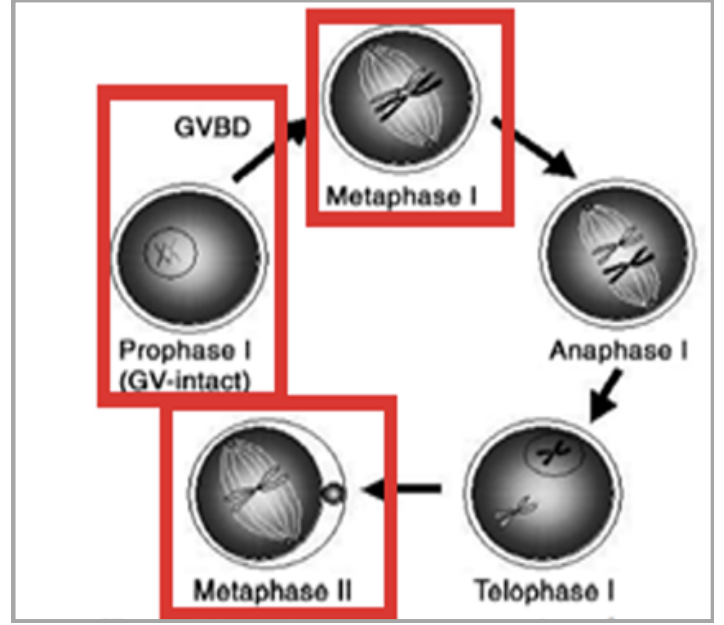
Oosit matürasyonu;

- Folikül ve granüloza hücre matürasyonu
- Zona pellucida matürasyonu
- Nükleer matürasyon
- Sitoplazmik matürasyon
- Genetik matürasyon
- Epigenetik matürasyon şeklinde birbirleriyle bağlantılı süreçlerin senkronizasyonu ile mümkün olmaktadır.

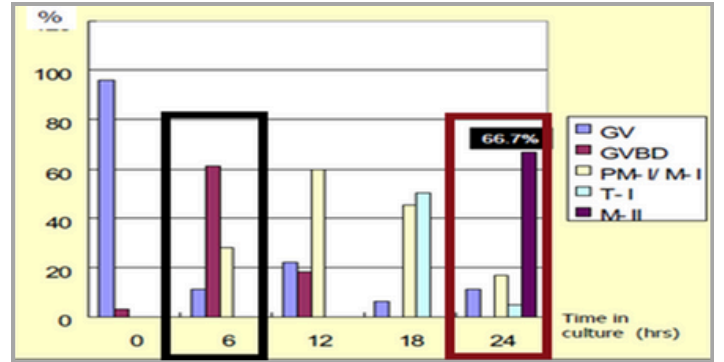
Oositin gelişimsel kompetansı folikülün aşamalı gelişimine paralel olarak; GV oositin "Germinal vezikül break down (GVBD)" aşamasından başlayarak, nükleer ve sitoplazmik matürasyon süreçlerinin senkronizasyonu ile döllenme sonrası embriyonik gelişimi destekleyecek şekilde metafaz II oosite dönüşme işlemidir.

Oosit matürasyonunun mekanizması:

- Mayotik resumption/GVBD
- Kromatin kondensasyonu
- Mayotik spindle formasyonu
- Homolog kromozomların seperasyonu ve segregasyonu
- Orantısız sitokinez/polar cisim ekstrüzyonu
- Mayotik re-arrest



Şekil 1. Oosit matürasyonunun mekanizması. Oositin mayoz bölünme aşamasında GV intact aşamadan ilerleyerek germinal vezikül yıkımı (GVBD) sırasında nükleer zarfın çözüldüğünü M1 oositin anafaz ve telofaz aşamalarından geçtiğini ve döllenme gerçekleşene kadar MII aşamasında beklediğini gösteren oosit nükleer olgunlaşma şeması.

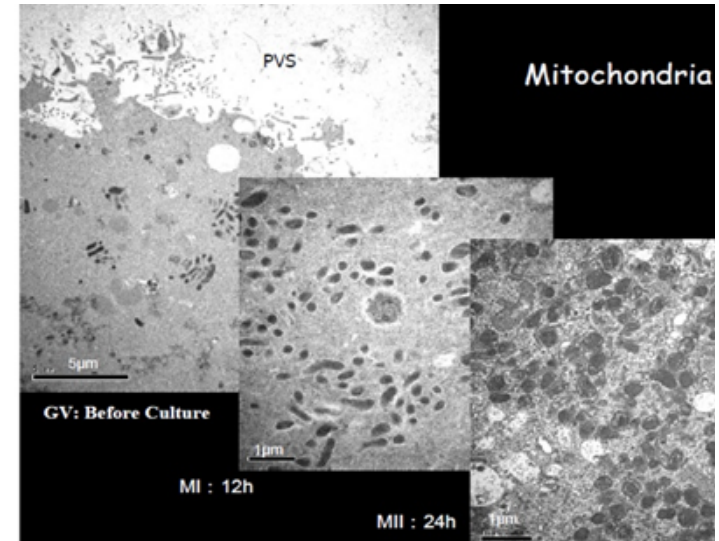
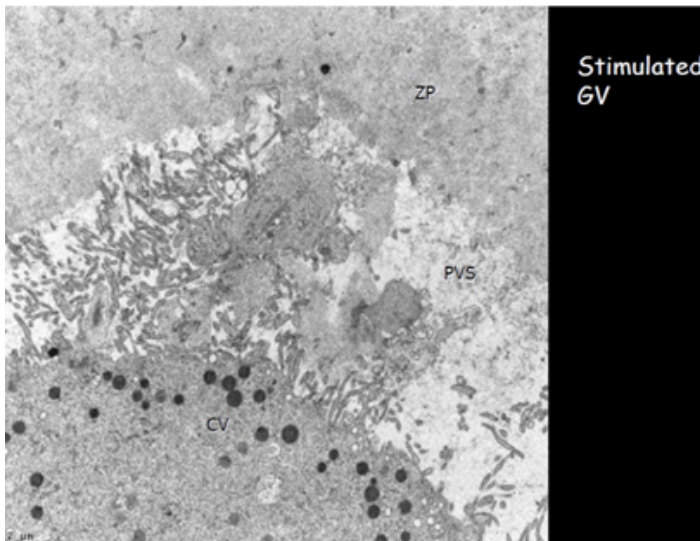
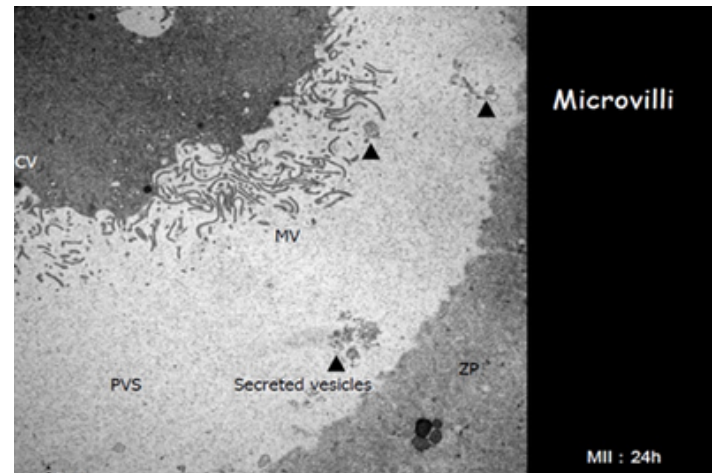
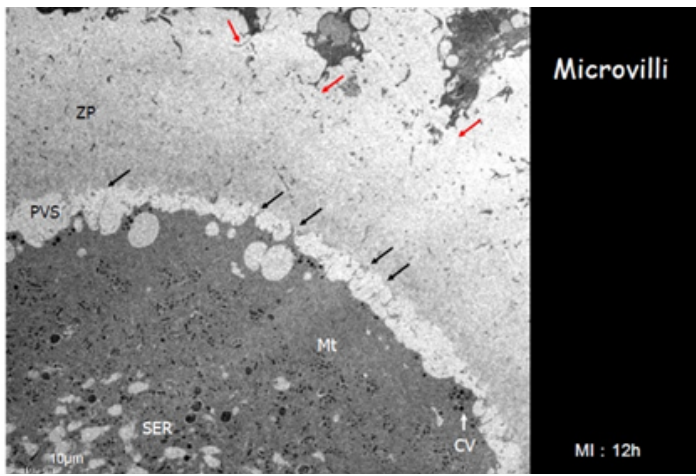
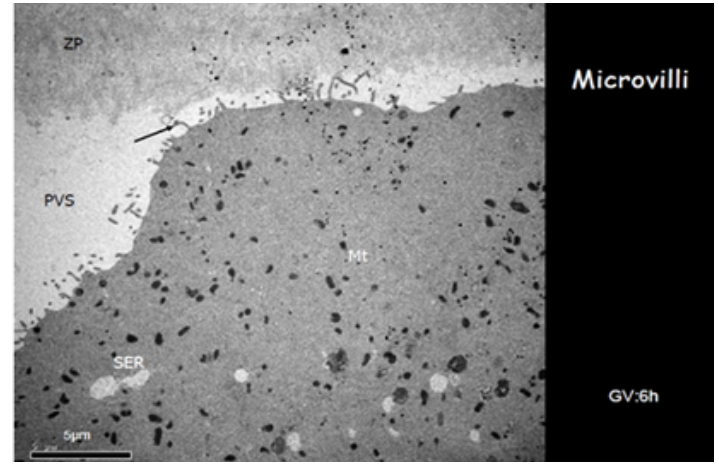


Şekil 2. IVM'nin kinetik analizi. GV'den MII'ye 24 saatlik süreç. Combelles ve ark., Human Reproduction, 2002.

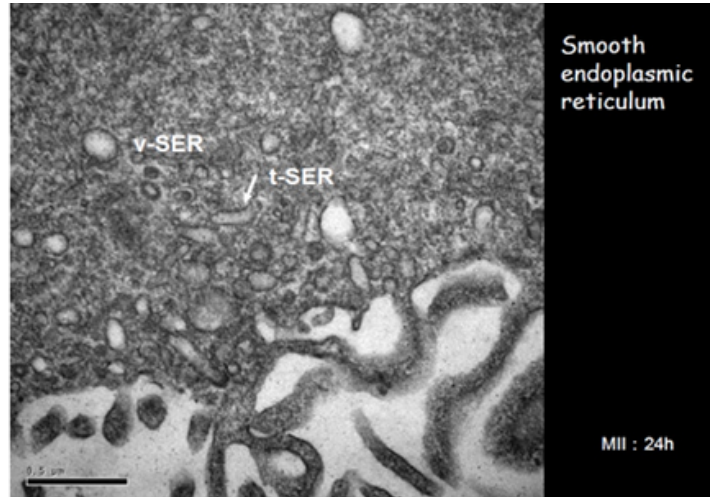
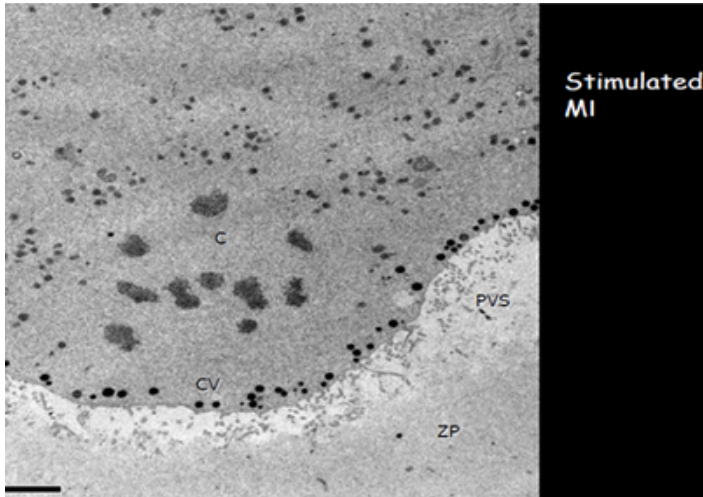
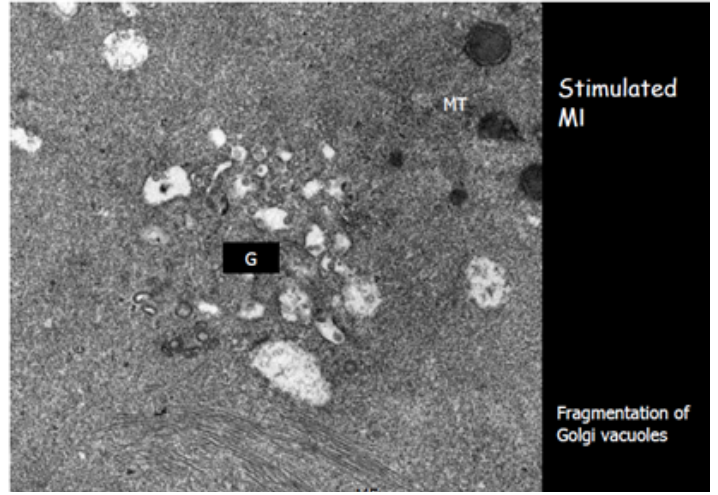
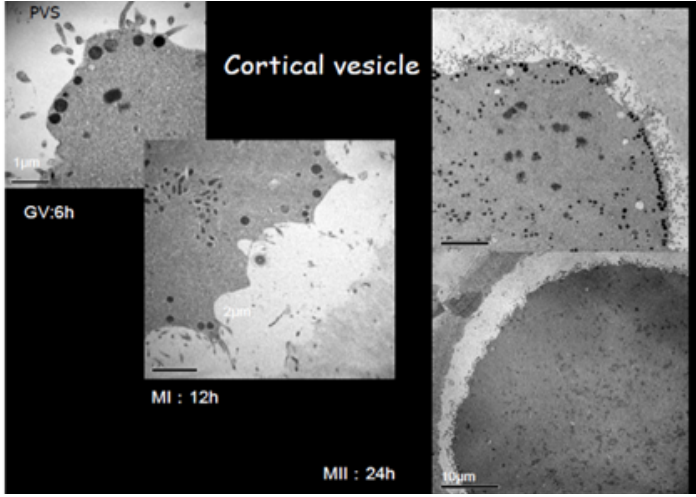
Oosit matürasyonunda nükleer matürasyonla sitoplazmik matürasyonun senkronize olması en önemli noktadır. Aşağıdaki sıralı yapılar yok, yetersiz veya dağılımı kötü ise sitoplazmik matürasyon yetersizdir anlamına gelir.

İN VİTRO MATÜRASYONDA LABORATUAR YÖNETİMİ

- 1) **Kortikal vezikül varlığı**; nihai matürasyonda perivitellin aralıkta salgılanan granül
- 2) **Mikrovilli gelişmesi**; perivitellin boşlukta belirgin
- 3) **Mitokondri gelişmesi ve agregasyonu**; MII oositte en yoğun GVBD ile başlar.
- 4) **Kümüls hücre-zona pellucida-oosit iletişimi**
- 5) **SER gelişimi**; MII aşamasında kaybolmadıysa MII aktif değildir!



İN VİTRO MATÜRASYONDA LABORATUAR YÖNETİMİ



Ovarian foliküler mikroçevre ve maternal sinyaller granüloza hücreleri ve kümülüs hücreleri ile oosite iletilir; oositin beslenmesi, büyümesi ve gelişimsel kompetansı sağlanır. Bu ilişki "BİDİREKTİONAL" veya "BİPOLAR PARTNERSHIP" olarak tanımlanır. Oositler etraflarındaki somatik hücreleri, oositi büyütmesi için sıkı bir şekilde kontrol ederler. Bu yüzden ki IVM kültür ortamlarına OSF-oocyte secreted factors ve supplement eklenmesi gelişimsel potansiyeli artırır.

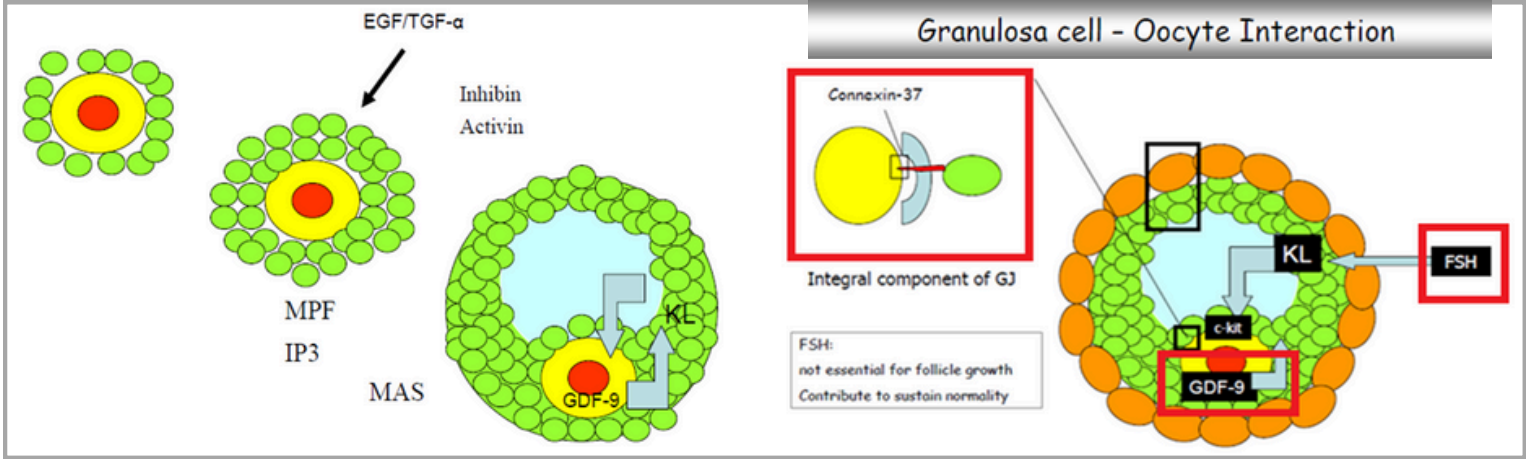
Granüloza ve kümülüs hücrelerinde bulunan Kit-Ligand (KL), oolemmada bulunan KL reseptörüne bağlanarak oositin büyümesini sağlar. Büyümekte olan oositlerde KL artar, büyümüş oositte ise azalır. Oosit bir yandan kümülüs

hücrelerini geliştirirken diğer yandan kümülüs hücre apoptozisini engeller. OOX (içinden oosit çıkarılmış kümülüs hücreleri) daha fazla apoptozis göstermiştir. Oositler mural granüloza hücrelerinde (MGC) ve kümülüs hücrelerinde DNA sentezini artırır. COC genişlemesi gonadotropinler ve EGF sayesinde olur. Ek olarak parakrin salgılanan Cumulus Expansion Enabling Factor (CEEf) de katkı yapar.

OSF (BMP 15 ve GDF 9);

1. Kümülüs hücre proliferasyonu,
2. Apoptotik süreç kontrolü,
3. Lüteinizasyon,
4. Oosit metabolizması,
5. Kümülüs ekspansiyonu süreçlerini düzenler (3).

İN VİTRO MATÜRASYONDA LABORATUAR YÖNETİMİ



Şekil 3. Granuloza hücresi ile oosit arasındaki ilişki

FOLİKÜLER UNIT

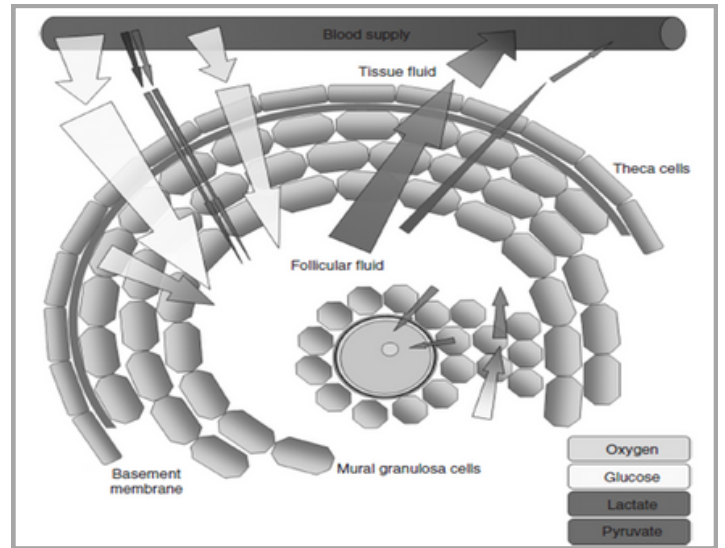
Mural granuloza hücreleri (MGC), kümülüs ve oosit ilişkisi. IVM'de önemli sorun, bu üçlü ilişkinin bozulması ve laboratuvar ortamının bunu tesis etme yetersizliğidir.

GAP JUNCTION

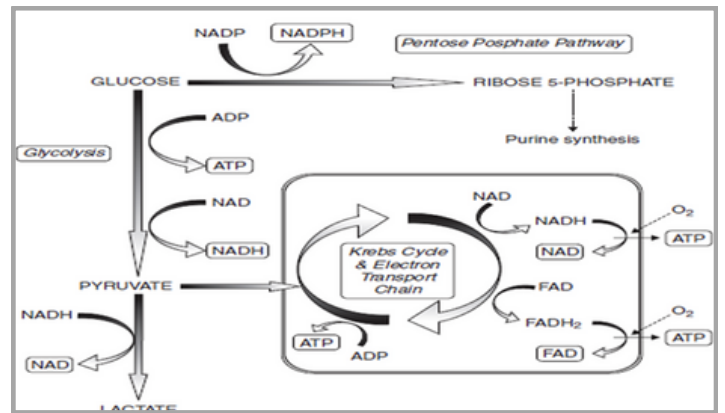
GJ'lar connexin hexamerlerinden oluşur ve over fizyolojisinde çok önemli role sahiptirler. Connexin 37 germ hücresi ile granuloza hücresi arasındaki, Connexin 43 ise granuloza hücresi arasındaki iletişimi sağlar. GJ ilişkisi GONADOTROPİNLERDEN BAĞIMSIZDIR! GJ; "Na, Klor, Ca ve C-AMP, C-GMP" geçişinde rol alır. Mayotik resumption aşamasında C-AMP düzeyi düşüşü başlatıcı role sahiptir. Tam olgun oositte artmış C-AMP ise ikinci mayotik arrestin sebebidir (4).

OOSİTİN BESLENMESİ VE METABOLİZMASI

Kümülüs hücreleri ile oosit arasında sıkı bir metabolik ilişki vardır. Kümülüs hücreleri yüksek oranda glikoz alma ve kullanma kabiliyetine sahiptir. Buradan oluşan karboksilik asit "Krebs siklusuna" girer (oksidatif fosforilasyon). Glikolitik enzim up regülasyonu MGC'de kümülüs hücreleri kadar olmamaktadır. Bu nokta önemlidir; çünkü IVM işleminde oositler kümülüs hücreleriyle çevrili olarak MGC'dan ayrılırlar. Büyük antral foliküllerde yüksek oksijen kullanımı artar ve oksidatif fosforilasyon devreye girer (3).



Şekil 4. Follikül ve oosit beslenmesi ve metabolizması



Şekil 5. Büyüme ve olgunlaşma sırasında follikül ve oosit metabolizmasında glikoz ve pirüvattan enerji üretimi

İN VİTRO MATÜRASYONDA LABORATUAR YÖNETİMİ

Oosit matür ve aktif MII olana dek düşük oksijen kullanımlı metabolizma ile glikoz ve pirüvat enerji kaynağı olarak kullanılırken aktif MII aşamasında oksidatif fosforilasyonun daha çok kullanıldığı gözlenir.

Tüm bu bilgiler ışığında IVM'de oosit-folikül ilişkisinin simüle edildiğini söyleyebiliriz.

In vivo şartlarda oosit folikül ilişkisi için,

- Mayotik ve gelişimsel kompetans
- Folikül kalitesi
- Metabolik uyum belirleyicidir.

In vitro matürasyonda ise;

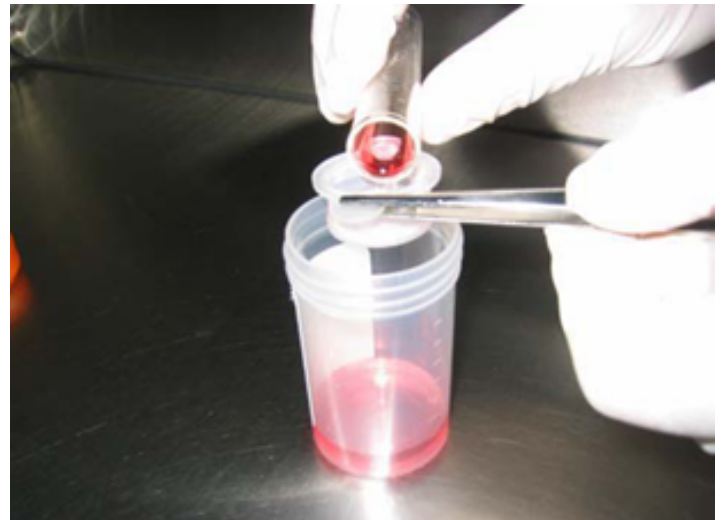
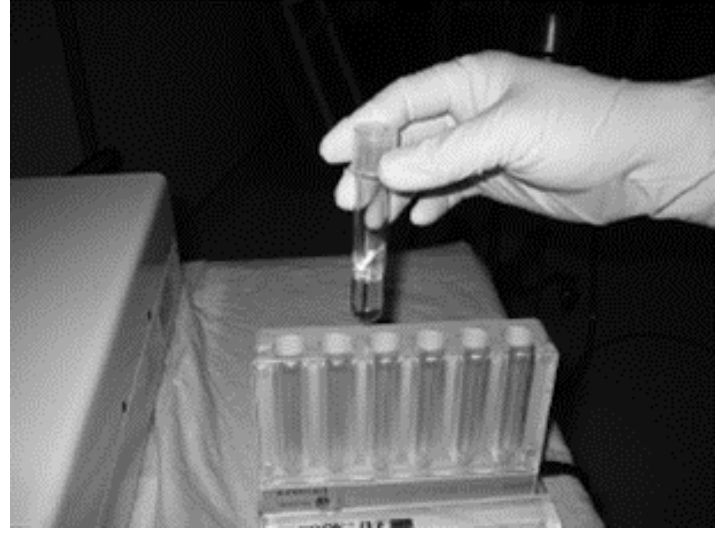
- Kültür koşulları
- Pitüiter hormonlar (FSH&hCG stok solüsyon)
- Folikül sıvısı, granüloza hücre, kümülüs eklenmesi
- Serum albümini fertilizasyon ve oosit gelişimsel kompetansı için vitaldir.

IVM başlangıçta sadece PCOS hastaları için önerilen bir tedavi olmasına karşın günümüzde kullanım alanları genişlemiştir. Ancak çoğunlukla IVF/ICSI'ye alternatif bir yaklaşım olarak görülmesi nedeniyle, ASRM uygulama komitesi tarafından 2020 yılında deneysel bir tedavi olmaktan çıkarılmış olmasına rağmen kendini tam olarak ifade edememiş bir yöntemdir (5).

ENDİKASYONLAR

- PCOS ve PCO görünümlü overler
- Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı
- Oosit matürasyon anomalileri (OMAS)
- Onkofertilite
- Rescue prosedürü-stimüle sikluslarda folikül gelişimi duran olgular
- Rezistan over sendromu
- PGD/PGS
- EFS-boş folikül sendromu
- Normoovulatuvar hastalar
- OHSS
- Cerrahi sperm elde edilen olgular
- Ovaryan doku harvesting
- Düşük over rezervli hastalar
- POF

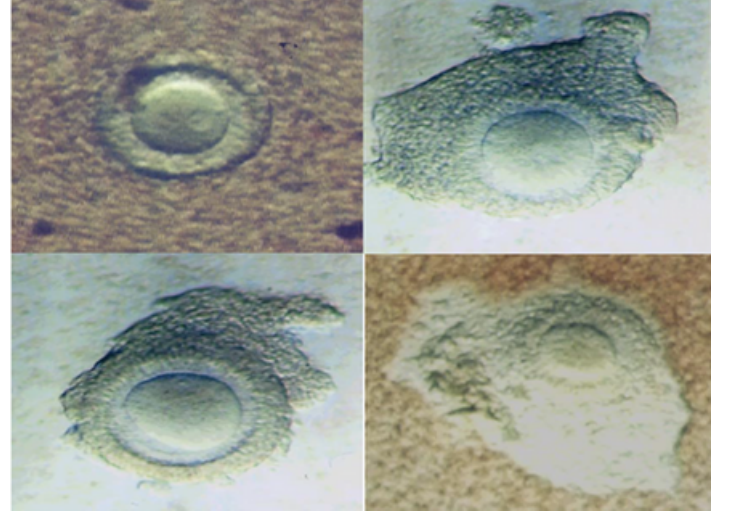
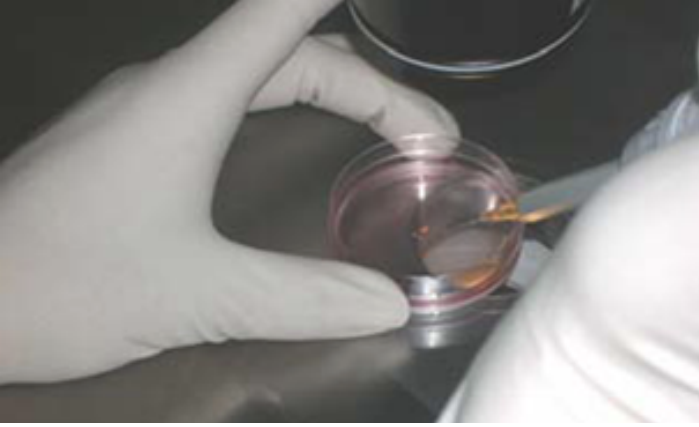
IVM LABORATUAR PROSEDÜRÜ



İN VİTRO MATÜRASYONDA LABORATUAR YÖNETİMİ



Foliküler aspiratlar değerlendirilmeden önce 70 mikrometrelik filtreden geçirilerek filtre edilir. Bu işlemden sonra cell strainer petri kabında yıkama medyumunu ile tatbik edilir. Elde edilen filtrat, stereomikroskop altında COC'lar araştırılmak üzere değerlendirmeye alınır. Elde edilen immatür oositler farklı formlarda görülebilir.



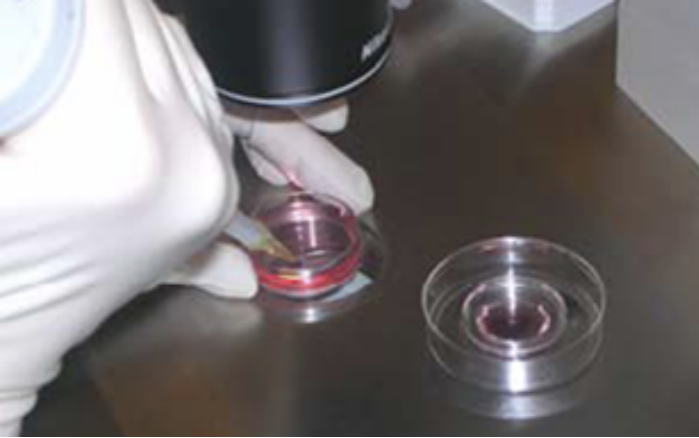
Elde edilen kümülüs oosit kompleksleri grade A, B ve C olarak sınıflandırılır (6).

Kümülüs tabakası > 5: Grade A

Kümülüs tabakası 3-4: Grade B

Kümülüs tabakası < 2: Grade C

En sık gözlenen form grade B olup; 3-4 katlı kümülüs hücresiyle kaplı oositlerde gelişimsel potansiyel daha iyi görülmüştür.



IVM'de yumurta toplama işleminde folikül aspirasyonları double lümen 17 gauge aspirasyon iğneleri ile ve 80-100 mmHg basınçla bir gün önceden 37°C sıcaklıkta inkübe edilen heparinli flushing medyum yardımı ile gerçekleştirilmektedir. Aspire edilen folliküller 37°C sıcaklıkta 14 ml'lik tüplerde toplanarak laboratuvara iletilir.



İN VİTRO MATÜRASYONDA LABORATUAR YÖNETİMİ

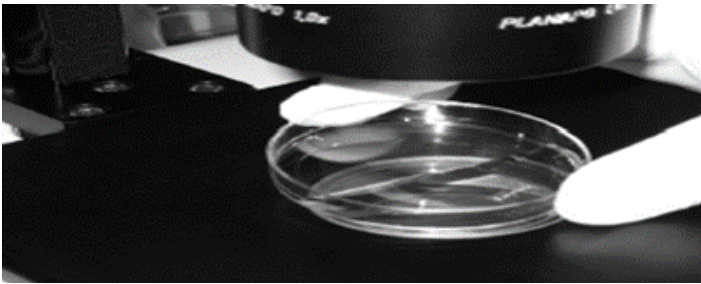
Tablo 1. Doğal ve FSH ile hazırlanmış hastaların sikluslarından elde edilen kümülüs-oosit kompleksinin (COC) morfolojisi

	<i>Natural cycles</i>	<i>FSH-primed cycles</i>
No. of cycles	108	98
Age of the woman (years)	32.76 ± 0.36	31.99 ± 0.40
Day of aspiration	8.94 ± 0.36	8.60 ± 0.28
No. of cycles retrieving at least one oocyte from follicles by laparoscopy (%)	57 (52.7) ^a	71 (72.4) ^a
No. of COC per aspiration	1.58 ± 0.11 ^b	1.94 ± 0.12 ^b
Total no. of oocytes	91	137
No. of grade A oocytes (%)	10 (11.0)	21 (15.3)
No. of grade B oocytes (%)	50 (54.9)	76 (55.5)
No. of grade C oocytes (%)	31 (34.1)	40 (29.2)

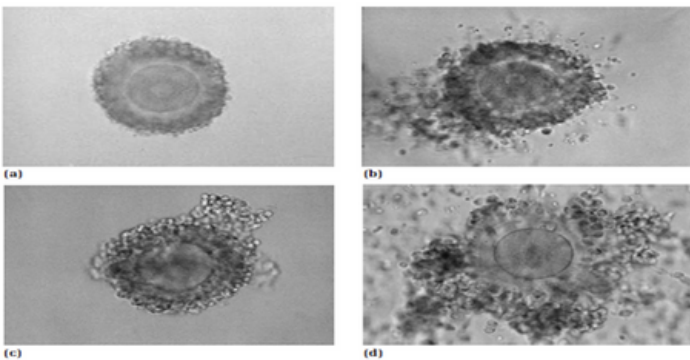
Values are means ± SD, unless otherwise stated.
Superscripts indicate statistically significant differences:
^aP < 0.01,
^bP < 0.05.

IVM ile elde edilen oositlerin matürasyon kontrollerinin yapılması ve matür olan oositlerin alınarak fertilizasyon sürecine gitmeleri için öncelikle oositlerin hangi olgunluk aşamasında oldukları belirlenmelidir. Bu amaçla;

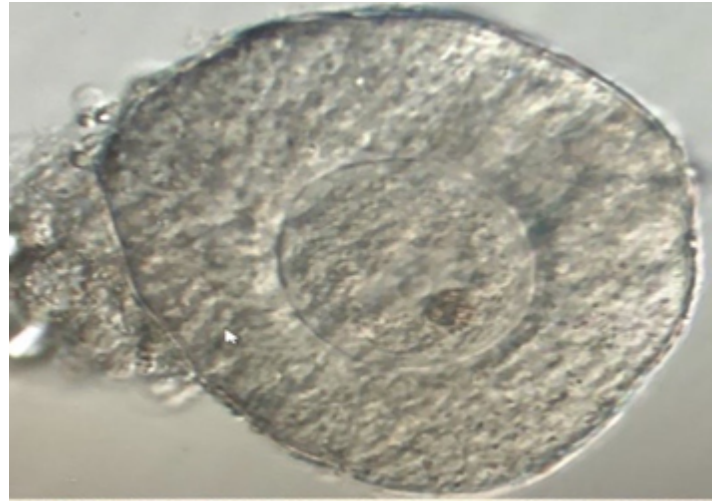
- Sliding metodu (6)



- Spreading metodu (6)



- Direkt invert mikroskop metodu



*Dr. Ebru Hatırnaz arşivinden

IVM'de kullanılan kültür ortamı

- MediCult LAG Medium
- MediCult IVM® Medium

Değerlendirme sonrası immatür oldukları tespit edilen oositler öncelikle bir gün önce hazırlanan LAG medyumuna alınarak 2-3 saat bekletilir. Bu esnada matürasyon medyumunu hazırlanır.

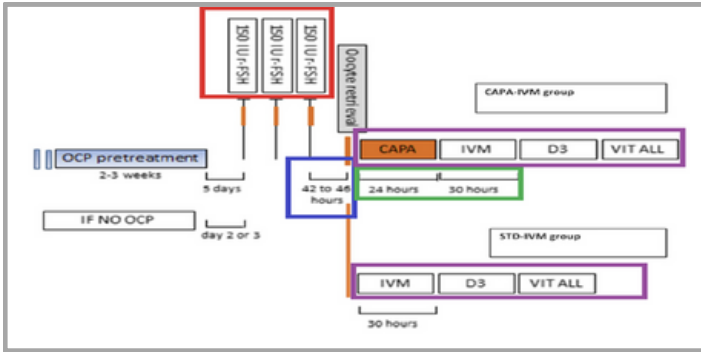
İN VİTRO MATÜRASYONDA LABORATUAR YÖNETİMİ

Matürasyon medyumunun komponentleri:

- IVM medyumuna
- Stok solüsyonları (FSH ve hCG)
- Hasta serumu

LAG medyumundan sonra matürasyon medyumuna alınan oositler 26-28 saat inkübe edilir. Ardından denüstasyon işlemi yapılarak mikroenjeksiyona hazır hale getirilir.

CAPA IVM denilen özel bir uygulamada ise oositler 24 saat "C tipi natriüretik peptit" içeren CAPA-IVM medyumunda bekletildikten sonra 30 saat bekleyecekleri (AREG) amfiregülin eklenmiş IVM medyumuna alınır. Burada amaç oositlerin bir süre mayotik arrest altında tutularak gelişimsel kapasitelerini kazanmaları için gereken yüksek cAMP seviyeleri sayesinde kapasitasyonla birlikte matürasyonu sağlamaktır. Sonuç olarak CAPA IVM standart IVM'e oranla daha yüksek oosit matürasyon oranları ve daha fazla iyi kalite embriyo gelişimine imkan sağlamaktadır. Küçük antral foliküllerden elde edilen oositlerde de etkili bir yöntemdir (7).



Oositler matür olduktan sonra uygulanan laboratuvar işlemleri ve ilerleyen embriyo kültürü aşamaları standart IVF prosedürleri ile aynıdır. Biz her ne kadar kendi pratiğimizde ICSI'yi tercih etsek de in vitro matüre edilen oositlerin fertilize edilmesi için IVF ile ICSI arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (8).

IVM, yardımcı üreme teknolojisinin en tartışmalı konularından biridir. Kapsamlı bir şekilde çalışılmış olmasına rağmen hala geleneksel bir tedavi seçeneği değildir ve alternatif bir tedavi olarak kabul edilmektedir. Ancak çalışmalar,

IVM'nin IVF kullanılan hemen her alanda kullanılabilirliğini ve fertilitite koruma ve OHSS yönetiminde güçlü bir yere sahip olduğunu göstermiştir (5).

Sonuç olarak IVF'nin dünyadaki ilk uygulamalarının IVM ile elde edilen oositlerle başladığından yola çıkılırsa IVF laboratuvarlarında ve ART pratiğinde IVM alternatif bir yaklaşımdan ziyade integral bir uygulama olarak kullanılmayı hak etmektedir. Gün geçtikçe artan zor vakalar, fertilitite koruma programları, oositlerin matürasyon anormallikleri ve son yıllarda IVM'nin sadece bir laboratuvar uygulaması olarak değil aynı zamanda ovaryan stimülasyon programlarıyla kombine edilmesi klinik kullanımdaki yerini giderek artırmaktadır. Rescue IVM prosedürlerinin gelişimi, immatür oositlerin vitrifikasyon çalışmaları, IVM oosit ve embriyolarının genetik, epigenetik ve perinatal sonuçları yüz güldürücüdür. ART pratiğinin geleceğinde yapay zeka gibi teknolojik gelişmelerin tedavilere adapte edilmesi kadar IVM protokollerinin de rutinde uygulanması bir gereklilik olarak gözükmemektedir. Bu nedenle her IVF laboratuvarının gerek klinik gerek laboratuvar uygulamaları konusunda IVM'yi tedavi seçeneklerinin arasına almaları önerilmektedir. Kültür ortamlarının geliştirilmesi ile beraber IVM daha etkin bir şekilde kullanılabilir hale gelecektir.

REFERANSLAR

1. Pincus G & Enzmann EV (1935). The comparative behaviour of mammalian eggs in vivo and in vitro. Journal of Experimental Medicine 62:665-675.
2. Cha KY, Koo JJ, Ko JJ, Choi DH, Han SY, Yoon TK (1991). Pregnancy after in vitro fertilization of human follicular oocytes collected from nonstimulated cycles, their culture in vitro and their transfer in a donor oocyte programme. Fertil Steril, 55:109-113
3. Gilchrist RB, Lane M, Thompson JG (2008). Oocyte-secreted factors: regulators of cumulus cell function and oocyte quality. Human Reproduction, 14(2):159-177

4. Sasseville M, Gagnon MC, Guillemette C, Sullivan R, Gilchrist RB, Richard FJ (2009). Regulation of Gap junctions in Porcine Cumulus-Oocyte Complexes: Contributions of Granulosa Cell Contact, Gonadotropins, and Lipid Rafts. *Molecular Endocrinology*, 23 (5):700-710
5. Hatırnaz Ş, Hatırnaz ES, Ata B, Dahan MD, Tannus S, Tan J, Tan SL (2018). Oocyte In Vitro Maturation: A systematic review. *Turkish Journal of Obstetrics and Gynecology*, 15(2):112-125
6. Utsonomiya T, Sato C, Shimada M, Mori T, Kumasako Y, Otsu E, Watanabe H (2007). Assesment of human oocyte developmental competence by cumulus cell morphology and circulating hormone profile. *Reprod Biomed Online*, 14(1):49-56
7. Sanchez B, Le AH, Ho VNH, Romero S, Ranst HV, De Vos M, Gilchrist RB, Ho TB, Vuong LN, Smitz J (2019). Biphasic invitro maturation (CAPA IVM) specially improves the developmental capacity of oocytes from small antral follicules. *Journal of Asisted Reproduction and Genetics*, 36:2135-2144
8. Walls M, Junk S, Ryan JP, Hart R (2012). IVF versus ICSI fort he fertilization of in vitro matured human oocytes. *Reprod Biomed Online*, 25(6):603-607

FLOW SİTOMETRİ



Dr. Öğr. Üyesi Gülsemin Çiçek
NEÜ Meram Tıp Fakültesi Öğretim Görevlisi

AKIM HÜCRE ÖLÇER (FLOW SİTOMETRİ)

Flow sitometri 1950'li yıllardan beri kullanılmaktadır. 1953 yılında Wallace Coulter tarafından patenti alınmıştır. Flow sitometri; ışık saçılımı, floresans ve emilim ölçümlerini kullanarak çok sayıda hücreyi tek tek, hızla analiz etmek için kullanılan bir yöntemdir. Diğer bir ifadeyle; hücreler akar halde iken akış kanalı boyunca lazer önünden geçen hücrelerin büyüklük, floresans özellikleri ve yüzey özelliklerinin karakterize edilmelerine flow sitometri denmektedir. Bu yöntemin gücü, belirlenebilen geniş hücresel parametre aralığında ve bu parametrelerin hücre popülasyonunda nasıl dağıldığına dair bilgi edinme yeteneğinde yatmaktadır. Flow sitometrik analizler hem boyut, membran potansiyeli ve hücre içi pH gibi hücresel özellikleri hem de DNA, protein, yüzey reseptörleri ve kalsiyum gibi hücresel bileşenlerin seviyelerini belirlemek için geliştirilmiştir. Flow sitometri; hızlı, nesnel ve nicel hesaplamalarla ve hücrelerin her birinden türetilen hesaplamalar ile korelasyonlar ve istatistiksel sonuçlar elde edilmesini sağlar (Resim 3).

Flow sitometri tarafından sağlanan saf nicel ölçümlerin aksine, on yedinci yüzyılda icat edilen bir teknik olan mikroskopi, hücre hakkında zengin bilgi içeren hücre görüntülerinin elde edilmesine olanak tanır. Geleneksel flow sitometri, göreceli hücre boyutunu tahmin etmek için ileri saçılmış ışığı ölçerken; mikroskopi, parlak alan görüntüsü aracılığıyla tam hücre boyutunu verir. Mikroskopi



Resim 1. Flow sitometri cihazı (<https://forsyth.org/>)

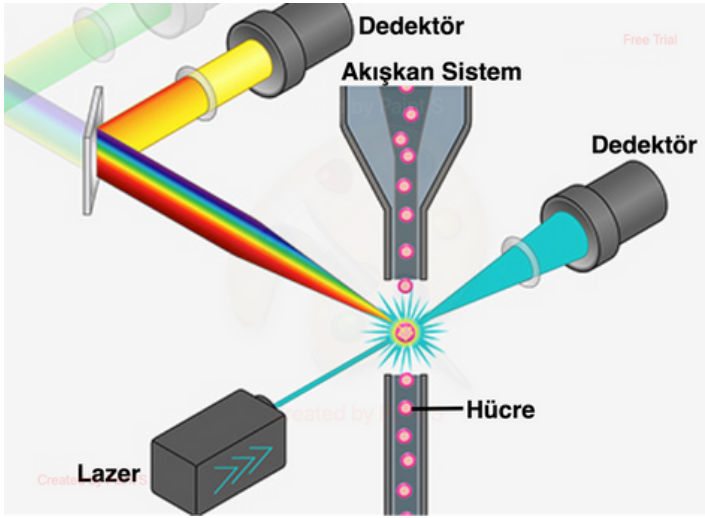
teknisindeki ilerlemeler, biyolojik yapı ve işlevin görüntülenmesine olanak tanıyan hem 3 boyutlu hem de olağanüstü ayrıntılı floresan hücre görüntüleri üretmiştir; ancak bu kadar yüksek içerikli görüntüler üretmek uzun süreler alabilir. Mikroskopi, karmaşık biyolojik yolların zaman aralıklı bir şekilde incelenmesi için uygun olsa da yalnızca yapışık hücrelerle çalışmak üzere tasarlanmıştır. Mikroskopi için, mekanik stabilite, homojen olmayan aydınlatma ve hücreden hücreye karışmama nedeniyle oluşan görüntü analizi sorunları, numune ve sıvı işleme ve hepsinden önemlisi hücre ayırmada düşük verim gibi birçok sorunlar bulunmaktadır. Geleneksel mikroskopi nispeten küçük örnek hacimleri için daha uygundur ve flow sitometrinin yüksek verimine ulaşamazlar.

Flow Sitometri Cihazının Bileşenleri

- Hücre veya parçacıkların cihaz boyunca akışını kontrol eden bir akışkan sistem,
- Bir veya birden fazla lazerden oluşan bir optik sistem,
- Yayılan floresan ve saçılma sinyallerini yakalamak için birden fazla filtre, ayna ve dedektör,
- Veri analizi için yazılıma entegre edilmiş bir elektronik ve veri toplama sistemi (**Resim 1**).

FLOW SİTOMETRİ

Işık saçılması ile herhangi bir belirteç olmadan da, parçacıkları saçılma özelliklerine göre ayırmak mümkündür. Flow sitometride, esasen lazer ışınıyla aynı hizada olan ileri saçılmadan ve ışına çoğunlukla dik olan yan saçılmadan bahsediriz (**Resim 2**). Yan saçılma hücrenin veya parçacığın karmaşıklığı veya granülaritesiyle ilişkilidir. Bir lateks boncuk karmaşıklık göstermez ancak çok sayıda nükleer lob ve granül içeren oldukça karmaşık bir sitoplazmaya sahip bir granülosit, önemli yan saçılma özelliklerine sahiptir ve diğer kan hücrelerinden iyi ayırt edilebilir. Bu nedenle, saçılma, kırmızı ve beyaz kan hücrelerinin en azından makul bir şekilde ayrılmasını sağlamak için kullanılabilir ve polarizasyonla birleştirilirse, herhangi bir etiketin yokluğunda granülositleri alt kümelere daha fazla ayırabilir.

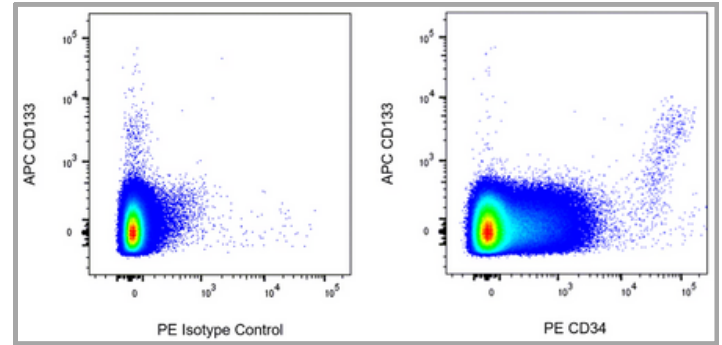


Resim 2. Flow sitometri cihazı çalışma prensibi

Işık saçılması ile herhangi bir belirteç olmadan da, parçacıkları saçılma özelliklerine göre ayırmak mümkündür. Flow sitometride, esasen lazer ışınıyla aynı hizada olan ileri saçılmadan ve ışına çoğunlukla dik olan yan saçılmadan bahsediriz (Resim 2). Yan saçılma hücrenin veya parçacığın karmaşıklığı veya granülaritesiyle ilişkilidir. Bir lateks boncuk karmaşıklık göstermez ancak çok sayıda nükleer lob ve granül içeren oldukça karmaşık bir sitoplazmaya sahip bir granülosit, önemli yan saçılma özelliklerine sahiptir ve diğer kan hücrelerinden iyi ayırt edilebilir. Bu nedenle, saçılma, kırmızı ve beyaz kan

hücrelerinin en azından makul bir şekilde ayrılmasını sağlamak için kullanılabilir ve polarizasyonla birleştirilirse, herhangi bir etiketin yokluğunda granülositleri alt kümelere daha fazla ayırabilir.

Floresans, flow sitometride tespitini temelini oluşturur. Temel kuantum mekaniği moleküllerin her bir moleküler yapıya özgü enerjiyi fotonlar olarak soğurmasını gerektirir. Bir fotonun emilmesi, molekülü temel durumundan uyarılmış bir duruma yükseltir. Molekülün yapısı, enerji durumunu uyarılmış bir duruma yükseltmek için enerjinin emilme olasılığını belirler. Toplam enerji; elektronik, titreşimsel, dönme, öteleme ve spin yönelimi bileşenlerinin toplamıdır. Uyarılmış elektronlar temel durumlarına döndüklerinde, bu enerjinin bir kısmını daha yüksek dalga boyundaki fotonlar olarak serbest bırakırlar. Bu moleküllere florofor, kromofor ve florokrom adı verilir çünkü enerjiyi emme ve serbest bırakma konusunda yüksek bir kapasiteye sahiptirler.



Resim 3. Flow sitometri cihazı analiz sonucu örneği (<https://www.bdbiosciences.com/>)

Kullanım Alanları

Flow sitometri; immünoloji, lökosit alt grup tayini, kanser araştırması, kök hücre araştırması, HIV enfeksiyonu, kan bankacılığı, organ nakilleri, hücrelerin ayrıştırılması, ilaç keşfi ve klinik teşhis dahil olmak üzere çeşitli alanlarda yaygın uygulamalara sahip çok yönlü bir araç haline gelmiştir.

Histoloji ve embriyolojide araştırma ve klinik kullanım alanlarından bazıları:

Canlılık Tayini

Canlı veya ölü hücreleri seçici olarak etiketleyen floresan boyalar kullanarak, flow sitometri hassas ve güvenilir canlılık ölçümleri sağlayabilir ve hücre canlılık yüzdelerinin belirlenmesini kolaylaştırabilir. Flow sitometri canlılık analizleri için yüksek hassasiyet sunar ve hücre canlılığındaki en ufak değişiklikleri bile tespit edebilir. Belirli belirteçlere veya boyalara dayanarak canlı, apoptotik ve nekrotik hücreler arasında ayırım yapabilir ve hücre sağlığı ve durumu hakkında daha ayrıntılı bilgi sağlayabilir.

Kök Hücre Fenotiplendirilmesi

Fenotipleme, yüzey veya hücre içi belirteçlerine dayanarak kök hücresi popülasyonlarının tanımlanması ve karakterizasyonunu içeren flow sitometrinin önemli bir uygulamasıdır. Flow sitometri, bir karışımda birden fazla fenotipik alt kümeyi belirleyebilir, tek bir hücreyi seçebilir ve hatta hücre ayırma adı verilen bir işlemle bu hücreyi izole edebilir.

Androloji

Sperm analizinde; canlılık, akrozomal durum, kapasitasyon, mitokondriyal durum, apoptotik belirteçler, oksidatif stres belirteçleri, DNA hasarı, sperm sayımı ve sperm boyutlandırması gibi birden fazla sperm karakteristiği flow sitometri tekniği ile aynı anda analiz edilebilmektedir. Flow sitometri, sperm kalitesinin analizinde spermatozoanın işlevselliğini daha iyi anlamayı hedefleyen yeni bir yaklaşım sağlamaktadır.

KAYNAKLAR

1. Deniz Günnur, Yanıkkaya Demirel Gülderen. Akan Hücre Ölçer. Yelken Ajans Yayıncılık, 2014.
2. Bonilla DL, Paul A, Gil-Pulido J, Park LM, Jaimes MC. The Power of Reagent Titration in Flow Cytometry. *Cells*. 2024 Oct 11;13(20):1677. doi: 10.3390/cells13201677.
3. Martínez-Pastor F, Mata-Campuzano M, Alvarez-Rodríguez M, Alvarez M, Anel L, de Paz P. Probes and techniques for sperm evaluation by flow cytometry. *Reprod Domest Anim*. 2010 Jun;45 Suppl 2:67-78. doi: 10.1111/j.1439-0531.2010.01622.x.

4. Robinson, J. P. (2022). Flow Cytometry: Past and Future. *BioTechniques*, 72(4), 159–169. <https://doi.org/10.2144/btn-2022-0005>

5. Han Y, Gu Y, Zhang AC, Lo YH. Review: imaging technologies for flow cytometry. *Lab Chip*. 2016 Nov 29;16(24):4639-4647. doi: 10.1039/c6lc01063f.

6. Robinson JP, Ostafe R, Iyengar SN, Rajwa B, Fischer R. Flow Cytometry: The Next Revolution. *Cells*. 2023 July 17;12(14):1875. doi: 10.3390/cells12141875.

TİME LAPSE ÖZELLİKLİ MASA ÜSTÜ İNKÜBATÖRLER



Biyolog Gamze Kibar Yavuz

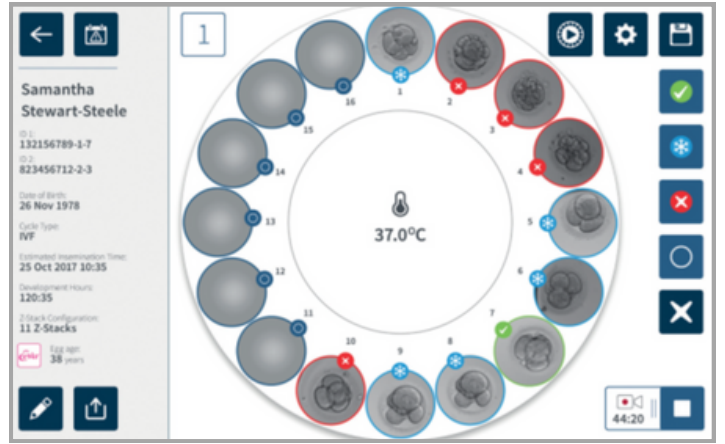
Tekservis Ltd. Şti.

Cihaz Satış ve Pazarlama Direktörü

Günden güne laboratuvarlarda daha fazla yer bulmaya başlayan masa üstü inkübatörler, time lapse ve yapay zeka desteğini de bünyesinde barındırmaya başladı. Laboratuvar içindeki kompakt tasarımları ile ön plana çıkan bu inkübatörler, özellikle alan darlığından yakın laboratuvarlar için büyük bir avantaj sunmakta. Sıcaklık, nem ve pH gibi parametreleri yüksek hassasiyetle kontrol edebilme özelliğine sahip olan inkübatörler, uzaktan izleme ve veri kaydetme özellikleri sayesinde, kullanıcılara inkübatör içindeki koşulları sürekli takip ve gerektiğinde müdahale etme imkanı kılmakta. Time lapse inkübatörler mikroskopi özelliği sayesinde, embriyonun gelişim süreci boyunca yüksek çözünürlüklü görüntüler elde edilebilmektedir. Bu görüntüler, kullanıcılara embriyonun durumu hakkında verdiği detaylı bilgilerle en uygun embriyonun seçilmesine yardımcı olmaktadır. Yapay zeka entegrasyonuna da açık olmaları ile seçimlerin daha güvenli ve isabetli olmasına katkı sağlamaktalar.

Time Lapse Imaging, Türkçede "Zaman Aralıklı Görüntüleme" anlamına gelmektedir. Bu teknik, belirli aralıklarla çekilen fotoğrafların birleştirilerek hızlandırılmış bir video oluşturulmasını sağlar. Time lapse videoları, uzun süreli olayları hızlandırarak kısa sürede izlenebilir hale getirir. Bu sayede embriyo gelişimi ayrıntıları ile takip edilebilmektedir. Embriyo gelişimini geriye dönük izleme şansı sunduğundan embriyo gelişimini kısa sürede incelenebilir hale getirir. Time lapse çekimleri, normal videolardan daha yüksek

çözünürlükte sonuçlar üretir. Bu sayede gelişim esnasındaki anomaliler de gözden kaçmayacaktır. Dolayısıyla karar aşamasında embriyo seçimi için büyük avantajlar elde edilecek, başarı oranlarının artırılmasına büyük katkı sunacaktır. Time lapse teknolojisini kullanan masa üstü inkübatörlerin bu işlemi birbirinden bağımsız haznelere içinde her hastanın embriyolarına özel olarak ayarlı ve konumlu, farklı kameralar yardımı ile yapılıdır.



Time lapse sistemi ile birlikte; klinik gebelik oranında %26, canlı doğum oranında %12 artış sağlandığı çalışmalar sonucunda ortaya konmuştur.

Embriyo İzlemede Yapay Zeka: Kapsamlı Bir Rehber

Embriyo izleme sürecinde yapay zekanın kullanımı, tüp bebek tedavilerinde çığır açıcı bir gelişme olarak karşımıza çıkıyor. Bu alanda yapay zekanın sunduğu avantajlar ve güvenilirlik, hem uzmanlar hem de hastalar tarafından merak edilen konular arasında yer alıyor. İşte bu konuya dair detaylı bir inceleme:

Embriyo İzlemede Yapay Zekanın Özellikleri

- **Görüntü Analizi:** Yapay zeka, embriyo görüntülerini yüksek çözünürlükte analiz ederek, embriyonun büyüme hızını, hücre bölünme düzenini, fragmentasyon oranını ve diğer morfolojik özellikleri detaylı bir şekilde değerlendirebilir.

TİME LAPSE ÖZELLİKLİ MASA ÜSTÜ İNKÜBATÖRLER

- **Veri Tabanlı Öğrenme:** Büyük veri setleri üzerinde eğitilen yapay zeka algoritmaları, milyonlarca embriyo (10 milyonun üzerinde) görüntüsünü analiz ederek, sağlıklı ve başarılı gebeliklere yol açan embriyo özelliklerini öğrenir.
- **Objektif Değerlendirme:** İnsan gözünün subjektif olabileceği değerlendirmelerde yapay zeka, objektif ve tutarlı sonuçlar sunarak, embriyo seçimi sürecinde daha güvenilir bir karar verme mekanizması oluşturur.
- **Tahmine Dayalı Analiz:** Yapay zeka, embriyonun gelecekteki gelişimini tahmin etmek için geçmiş verileri kullanarak, hangi embriyoların implantasyon ve gebelik potansiyelinin daha yüksek olduğunu belirleyebilir.

Yapay Zekanın Güvenilirliği Hangi Koşullara Bağlıdır?

- **Veri Kalitesi:** Yapay zeka sistemlerinin içeriğinde kullanılan veri setlerinin kalitesi, sistemin doğruluğunu doğrudan etkiler. Yüksek kaliteli, çeşitli ve etik olarak toplanmış veriler, daha güvenilir sonuçlar elde edilmesini sağlar.
- **Model Doğrulama:** Geliştirilen yapay zeka modellerinin, bağımsız veri setleri üzerinde doğrulanması ve validasyonu, sistemin güvenilirliğini değerlendirmek için kritik öneme sahiptir.
- **Uzman Desteği:** Yapay zeka sistemleri, uzman embriyologların deneyim ve bilgileriyle desteklendiğinde daha doğru ve güvenilir sonuçlar üretebilir.

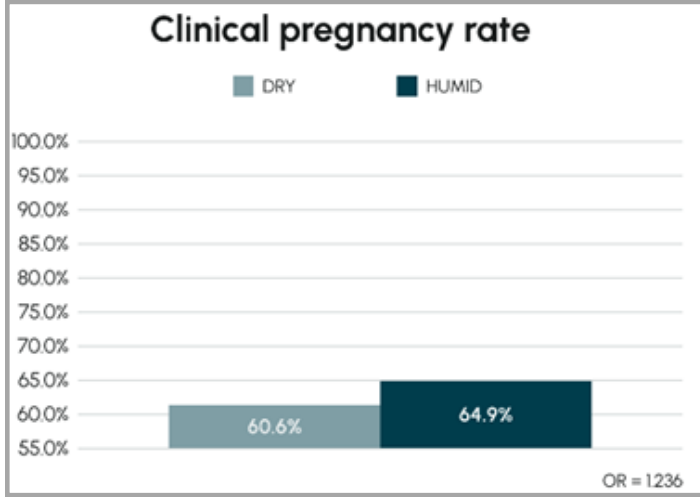
Time lapse özelliği ve yapay zeka desteği ile birlikte kullanılan cihazların şüphesiz kendi özellikleri de embriyo gelişimine katkı sağlamakta temel görevi almaktadır. Peki bu optimum katkı için nelere dikkat etmeliyiz?

- **İzleme İşlemi:** Time lapse teknolojisi desteği ile embriyolar, tutuldukları inkübatörden çıkarılmadan ve kültür süreci rahatsız edilmeden değerlendirilebildiğinden, irregüler ortam değişikliklerine maruz kalmalarının önüne geçilir. Dolayısıyla işlemin kalitesini arttırır. Birbirinden bağımsız olarak değerlendirebileceğimiz haznelerin önemi burada oldukça önemli hale gelmektedir.



- **Sıcaklık:** Cihazın hazne kapağının açılması gerektiği zorunlu durumlarda hazne içi sıcaklık değerlerindeki değişimlerin tekrar istenen değerlere ulaşması için geçen süreler minimum olmalıdır. Bu süreleri 1 dakikadan daha az bir süreye indirgeyen cihazlar mevcuttur. Haznenin sıcaklık stabilitesi, yeterli sıcaklık sensörleri ve harici sıcaklık prob portu, sesli sıcaklık alarmı ve harici alarm bağlantı seçenekleri sunmaları kullanıcı için önemlidir.
- **Nem:** Nemli kullanımın son zamanlarda işlem başarısına olumlu etkileri olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Nem, embriyo gelişimini etkileyebilecek ozmolalite seviyelerindeki artışları en aza indirmeyi amaçlar. Bu sistemlerin bazıları istenildiğinde nemli istenildiğinde kuru olarak kullanılabilir.

TİME LAPSE ÖZELLİKLİ MASA ÜSTÜ İNKÜBATÖRLER



yerinde ve acil çözümler sunabilmesidir. Tüm bunların yanında, alınan cihaz teknik servisin de çalışmasını hızlandıracak özellikte olmalıdır. Bazı cihazlarda hazneler birbirinden bağımsız çalışabildiği ve her bir hazne ayrı bir kamera yer aldığı için, herhangi bir hazne arızası durumunda işlemlere ara verilmeden cihaz çalışmaya devam edebilmektedir. Böylece laboratuvarında time lapse inkübasyon kesintisiz şekilde sürdürülebilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Valera ve ark (2022). Human reproduction, 37(9):1980-93

- **Işık:** Erken dönemde gelişmekte olan hassas embriyolara verdiği zararı azaltmak için kameralarda kullanılan ışığın dalga boyunun seçimi önem taşımaktadır.
- **Gaz:** Hızlı toplayan ve stabil olan gaz sistemleri vazgeçilmezdir.
- **Kesintisiz Analiz:** Her bir bölmede yüksek çözünürlüklü kamera bulunan ve kamera hareketini azaltan bireysel mikroskop bulunması bu cihazların başarısını destekler.



- **Teknik Servis:** Cihaz ile ilgili her konuda yeterliliğini kanıtlamış ve hızlı çözümler ortaya koyabilen güvenilir bir teknik servis laboratuvar içindeki her cihazda gerekli olduğu gibi time lapse inkübatörler için de hayati öneme sahiptir. Burada önemli olan cihazın alındığı firmanın teknik servisinin

İZMİR ŞEHİR HASTANESİ TÜP BEBEK ÜNİTESİ



Doç. Dr. Can KÖSE

İzmir Şehir Hastanesi
ÜYTEM Laboratuvar Sorumlusu

İzmir Ege Doğumevi Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde 2009 Nisan ayında hizmete açılan merkezimiz 2013'te Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi bünyesine katılmıştır. 2024 Ocak itibarıyla hizmetlerini İzmir Şehir Hastanesi bünyesinde devam ettirmektedir. Ege Bölgesi'nde Sağlık Bakanlığı'nın en büyük tüp bebek merkezi olma özelliğini taşımaktadır.



Ünitemiz; kadın doğum hekimleri Prof. Dr. Ahmet DEMİR (ÜYTE merkez sorumlusu), Doç. Dr. Ebru ŞAHİN GÜLEÇ, Doç. Dr. Esin KASAP ile histoloji ve embriyoloji hekimleri Doç. Dr. Can KÖSE (embriyoloji laboratuvar sorumlusu), Uzm. Dr. Nükhet İMDAT, Uzm. Dr. Şirin BAKTI DEMİRAY, Uzm. Dr. Yasemin ZÜMRÜT ve Uzm. Dr. Abdullah MAHİROĞLU ile hizmet vermektedir. Ayrı-



ca ünitemizde üç biyolog, bir laborant ve altı hemşire bulunmaktadır. Çalışan personelimiz alanlarında oldukça tecrübeli olup, çoğu ünitemiz hizmete girdiğinden bu yana birimimizde görev yapmaktadır. Bunun yanı sıra hizmet içi eğitimlerle çalışanlarımızın bilgileri sürekli olarak güncellenmektedir.



Merkezimizin laboratuvarlarında dünya standartlarında cihaz ve ekipmanla çalışılmaktadır. Fiziksel koşullar, çalışma rutini ve kalite kontrol prosedürlerimiz periyodik bakanlık denetlemelerine ek olarak bağımsız uluslararası denetmenlerce de değerlendirilmiştir. Merkezimiz bünyesinde çalışan uzman hekimlerimiz aynı zamanda bakanlığın periyodik denetleme heyetinde görev almaktadır.

İZMİR ŞEHİR HASTANESİ TÜP BEBEK ÜNİTESİ



Merkezimiz fiziksel olarak, embriyoloji laboratuvarı ile bağlantılı iki ameliyathane, iç androloji ve dış androloji laboratuvarı, cryo odası, postoperatif gözlem salonu bulunan steril ve yarı steril alandan oluşan ameliyathane bölümü ile; bir ön görüşme odası, üç poliklinik odası, hasta hazırlanma odası, arşiv, toplantı salonu, bekleme salonu ile ferah ve modern bir hizmet alanına sahiptir. Ünitimizin gaz ve havalandırma bağlantıları üniteye özel yapılmış olup binaya ait sistemden desteklenmektedir.

Her gün çocuk sahibi olmak isteyen çiftlerle yüz yüze görüşme yapılarak bireysel, kişiye özel tedavi seçenekleri sunulmaktadır. Gerekli görülen endikasyonlarda tüp bebek tedavisi planlanmaktadır. Ayrıca uygun çiftlere ovulasyon indüksiyonu ve intrauterin inseminasyon tedavileri de

uygulanmaktadır. Tedavi öncesi gerekli durumlarda laparoskopi ve histeroskopi yapılarak hastalar tüp bebek tedavisine hazırlanmaktadır. Ünitimizin kuruluşundan bu yana 8500'ün üzerinde çift tedaviye alınmıştır (sadece OPU yapılan taze siklus sayısı). Gebelik elde edilen çiftler ise hastanemizi tercih etmeleri durumunda, obstetri ve perinatoloji ünitelerimizde takip edilerek doğumları gerçekleştirilmektedir.

MAKALE ÖZETİ

> BMC Womens Health. 2023 Aug 9;23(1):416. doi: 10.1186/s12905-023-02540-8.

Effects of body mass index on IVF outcomes in different age groups

Dan Liu ^{# 1}, Li Li ^{# 1}, Ningyu Sun ^{# 1}, Xiaole Zhang ², Ping Yin ¹, Wuwen Zhang ¹, Panwei Hu ², Hua Yan ³, Qinhua Zhang ^{4 5}



Hazırlayan:

Uzm. Dr. Ayşe Firuze BIYIK

Trabzon Kanuni EAH

Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi

Vücut Kitle İndeksinin Farklı Yaş Gruplarında IVF Sonuçlarına Etkisi

ÖZET

Bu çalışmada, ilk IVF siklusunu geçiren bir grup kadında, vücut kitle indeksinin (VKİ) tüp bebek tedavi sonuçlarına olan etkilerinin analiz edilmesi amaçlandı. Ocak 2018 ile Aralık 2021 arasında Şanghay Geleneksel Çin Tıbbi Üniversitesi'ne bağlı Shuguang Hastanesi Üreme Tıbbi Merkezi'nde taze/donmuş embriyo transferi ile ilk in vitro fertilizasyon (IVF)/intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) siklusuna giren 986 kadına ait toplam 2311 siklus retrospektif kohort çalışmasında değerlendirildi. İlk olarak, dahil edilen hastalar VKİ'lerine göre dört gruba ayrıldı: düşük kilo ($VKİ < 18,5$ kg/m², 78 hasta), normal kilo ($18,5 \leq VKİ < 24$ kg/m², 721 hasta), fazla kilo ($24 \leq VKİ < 28$ kg/m², 147 hasta) ve obez ($VKİ \geq 28$ kg/m², 40 hasta). IVF sonuçları gonadotropin (Gn) ilaç günlerini, Gn dozunu ve yaşını, toplanan oosit sayısı, olgun oosit sayısı, döllenmiş oosit sayısı, klivaj, mevcut embriyo sayısı, yüksek kaliteli embriyo sayısı, implantasyon oranı, klinik gebelik oranı ve canlı doğum oranını içeriyordu. Daha sonra, elde edilen tüm veriler hasta yaşına göre üç farklı alt gruba ayrıldı: <30 yaş, 30-38 yaş ve >38 yaş; IVF gebelik sonuçları gruplar arasında karşılaştırıldı. Diğer üç grupla karşılaştırıldığında, düşük kilolu grupta daha fazla döllenmiş oosit, klivaj, embriyo ve daha düşük Gn dozajı ile ilaçlama günü vardı. Gruplar arasında toplanan oosit ve olgun oosit sayısı açısından bir fark yoktu. Ayrıca, aşırı kilolu grupta 30-38 yaş arasındaki kadınlarla karşılaştırıldığında, normal kilolu gruptakilerin implantasyon oranı, klinik gebelik oranı ve canlı doğum oranı anlamlı şekilde daha yüksekti (sırasıyla $p=0,013$ veya 1,75, $p=0,033$ veya 1,735, $p=0,020$ veya 1,252). Klinik gebelik oranı da normal kilolu grupta 30-38 yaş arasındakilerde obez gruba göre anlamlı şekilde daha yüksekti ($p=0,036$ veya 4,236). Sonuç olarak VKİ, 30-38 yaş aralığındaki kadınların gebelik sonuçlarını büyük ölçüde etkileyebilmesine rağmen, daha genç veya daha yaşlı kadınların sonuçları üzerinde neredeyse hiçbir etkisi yoktur.

MAKALE ÖZETİ

Obezite, dünya çapında giderek yaygınlaşan kronik bir hastalıktır; aynı zamanda kadın fertilitmesini de olumsuz etkiler. Normal kilolu kadınlarla karşılaştırıldığında, aşırı kilolu veya obez kadınlar infertilite, düşük, preeklampsi, gebelik diyabeti ve diğer gebelikle ilgili obstetrik komplikasyonlar açısından daha yüksek risk altındadır. Obez kadınlarda ovulasyon bozukluğu, hipotalamus-hipofiz-ovaryum aksında bozulma ve oosit kalitesinde defekt yaşama olasılığı daha yüksektir. Artan kanıtlar, obezitenin tüp bebek (IVF) prosedürlerinden sonra klinik sonuçları etkilediğini göstermektedir.

Obezite genellikle vücut kitle indeksine (VKİ) göre belirlenir ve kilogram cinsinden ağırlığın metre cinsinden boyun karesine bölünmesiyle hesaplanır. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre normal kilo $18,5 \leq VKİ \leq 24,99$ kg/m², fazla kilo $25 \leq VKİ \leq 29,9$ kg/m² ve obezite ise $VKİ \geq 30$ kg/m² olarak tanımlanır. Ancak Çin Sağlık Bakanlığı'na göre Çinlilerin vücut kitle indeksi, benzer Avrupa toplumlarına göre daha düşüktür; dolayısıyla modern metabolik hastalıkların bir göstergesi olarak vücut kitle indeksi Çinlilerde farklı işlev görmektedir.

Çin'deki Obezite Çalışma Grubu kendi VKİ sınıflandırma kriterlerini formüle etmiş ve düşük kiloyu $VKİ < 18,5$ kg/m², normal kiloyu ise $18,5 \leq VKİ < 24$ kg/m², aşırı kiloluyu $24 \leq VKİ < 28$ kg/m² ve obeziteyi $VKİ \geq 28$ kg/m² olarak tanımlamıştır. Yaş, IVF sonuçları için bağımsız bir negatif prognostik faktör olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, hastaların yaş grubuna göre VKİ'nin IVF gebelik sonuçları üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir.

MALZEMELER VE YÖNTEMLER

Çalışma tasarımı ve katılımcılar

Çalışma, Şanghay Geleneksel Çin Tıbbi Üniversitesi'ne bağlı Shuguang Hastanesi Üreme Tıbbi Merkezi'nde Çin'de yürütülmüştür. Ocak 2018 ile Aralık 2021 arasında taze/dondurulmuş embriyo

transferi ile ilk in vitro fertilizasyon (IVF)/intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) döngüsünü geçiren 986 kadına ait toplam 2311 siklus dahil edilmiştir. Blastosist transferleri, pre-implantasyon genetik test anöploidisi kullanılan döngüler ve polikistik over sendromu olan hastalar hariç tutulmuştur. Çalışma, Şanghay Geleneksel Çin Tıbbi Üniversitesi'ne bağlı Shuguang Hastanesi Kurumsal Araştırma ve Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Çalışma 12-283-SDR). Siklus bilgileri Shuguang üreme merkezi veri tabanından elde edilmiştir. Hastaların IVF/ICSI gebelik sonuçları tıbbi kayıtlardan veya telefon görüşmeleri yoluyla elde edilmiştir. Siklus özellikleri ve IVF/ICSI sonuçları (toplanan oosit sayısı, olgun oosit sayısı, döllenmiş oosit sayısı, klivaj, mevcut embriyo, yüksek kaliteli embriyo, implantasyon oranı, klinik gebelik oranı ve canlı doğum oranı) farklı VKİ'lere sahip ve farklı yaşlardaki hastalar arasında karşılaştırıldı.

Tüm kadınlara uygun olan ovaryan hiperstimülasyon protokolleri uygulandı. İnsan koryonik gonadotropini (hCG) foliküller olgunluğa ulaştığında, yani lider folikül >18 mm'ye ulaştığında, foliküller gelişimin son aşamalarını uyarmak için uygulandı. Transvajinal folikül aspirasyonu hCG uygulamasından 36 saat sonra yapıldı. Konvansiyonel inseminasyon veya ICSI standart teknikler kullanılarak gerçekleştirildi.

Embriyolar bölünme aşamasına ulaşana kadar 3 gün boyunca kültür edildi. Döllenme değerlendirilerek oositler normal şekilde döllenmiş (iki pronükleus) veya anormal şekilde döllenmiş (bir veya üç pronükleus) olarak sayıldı. Bölünme aşamasındaki embriyolar Hardarson'ın derecelendirme sistemine (2001) göre hücre sayısına ve fragmantasyon derecesine göre puanlandı. Uygun bir gelişim aşamasında, $<20\%$ fragmantasyon ve hafif derecede düzensiz boyutlu blastomerler (derece I, IIA ve IIB) ile embriyoların 3.gün embriyo aşamasına ulaşarak transfer için uygun oldukları tespit edildi.

MAKALE ÖZETİ

Taze embriyo transfer siklusları için, oosit toplandıktan sonra luteal destek başlatıldı ve embriyolar daha sonra uterusu transfer edildi. Dondurulmuş embriyo transfer siklusları için, luteal destek endometrial dönüşüm gününde başladı. Luteal destek sağlamak için 2 hafta boyunca progesteron sürekli salımlı vajinal jel kullanıldı. Embriyo transferinden 14 gün sonra serum β -hCG düzeyleri değerlendirildi.

Veri seti

Hormon uyarımı öncesinde VKİ ölçümü yapıldı. Hastalar VKİ'lerine göre dört gruba ayrıldı ve buna göre tedavi döngüleri uygulandı: düşük kilolu (VKİ <18,5 kg/m², 78 siklus), normal kilolu (18,5 ≤ VKİ <24 kg/m², 721 siklus), kilolu (24 ≤ VKİ <28 kg/m², 147 siklus) ve obez (VKİ ≥ 28 kg/m², 40 siklus). Elde edilen tüm veriler hasta yaşına göre <30 yaş, 30-38 yaş ve >38 yaş olacak şekilde üç gruba ayrıldı. Hastalardan yaş, infertilite tipi, birincil tanı, toplam IVF/ICSI siklusları sayısı, taze/dondurulmuş embriyo transfer siklusları, stimülasyon günleri, toplanan oositler, olgun oositler, döllenmiş embriyolar, klivaj, mevcut embriyolar ve yüksek kaliteli embriyolar ile toplam Gn dozu bilgileri toplandı.

Sonuç ölçümleri

Birincil sonuç, transvajinal ultrasonda fetal kalp atışı olan embriyonik kutba sahip bir intrauterin gebelik kesesinin varlığı olarak tanımlanan klinik gebelik oranıdır. İkincil sonuçlar arasında implantasyon oranı (ultrasonla tanımlanabilen kese sayısının embriyo transferi sayısına bölünmesi), canlı doğum oranları (≥24. gebelik haftasında canlı doğan bir bebeğin doğumu), Gn dozu, oosit ve embriyo sayısı yer almıştır. İmplantasyon pozitifliği serum gebelik testi (serum β -hCG) ile teyit edilmiştir. Ektopik gebelikler 6-8 gebelik haftasında ultrasonografik olarak intrauterin kesenin varlığı ile doğrulandı. Spontan abortus, 20. gebelik haftasından önce klinik veya devam eden gebeliğin kaybı olarak tanımlanmıştır.

İstatistiksel analiz

Verilerin analizi için SPSS 26.0 yazılımı kullanıldı. Normal dağılımlı ölçüm verileri ortalamaya ± standart sapma ($\bar{x} \pm S$) olarak gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalar varyans kullanılarak analiz edildi (ANOVA). Bağımsız gruplar arası karşılaştırmalar için Kruskal-Wallis testi kullanıldı ve sayım verileri için bileşen oran veya oranı (%) hesaplandı. Gruplar arasında sürekli ve kategorik değişkenleri karşılaştırmak için parametrik olmayan, ki-kare ve Cochran-Mantel-Haenszel testleri kullanıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

SONUÇLAR

Hastaların başlangıç özelliklerinin karşılaştırılması

986 hastadan toplam 2311 taze veya dondurulmuş embriyo transfer siklusları dahil edildi ve 325 klinik gebelik ile 277 canlı doğumla sonuçlandı. Hastaların demografik özellikleri ve tedavi özellikleri VKİ grupları arasında karşılaştırıldı (**Tablo 1**). İnfertilite türü, birincil tanı, toplam IVF/ICSI siklusları sayısı ve toplam taze/dondurulmuş embriyo transfer siklusları sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Dört grup arasındaki yaş farkı istatistiksel olarak anlamlıydı ($p < 0,05$).

Hastaların IVF özelliklerinin karşılaştırılması

IVF/ICSI özellikleri Gn ilaç günlerini, Gn dozajını ve alınan oosit sayısı, olgun oositleri, döllenmiş oositleri, klivajları, mevcut embriyoları ve yüksek kaliteli embriyoları içeriyordu. Düşük kilolu, normal kilolu, fazla kilolu ve obez grupları arasında alınan oosit, olgun oosit ve yüksek kaliteli embriyo sayısında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p > 0,05$). Obez grup tüm gruplar arasında en uzun Gn ilaçlama günlerine sahipti ($p < 0,05$) (**Şekil 1a**). Diğer gruplarla karşılaştırıldığında, obez grup en yüksek Gn dozajına sahipti ($p < 0,05$) (**Şekil 1b**). Ayrıca, döl-

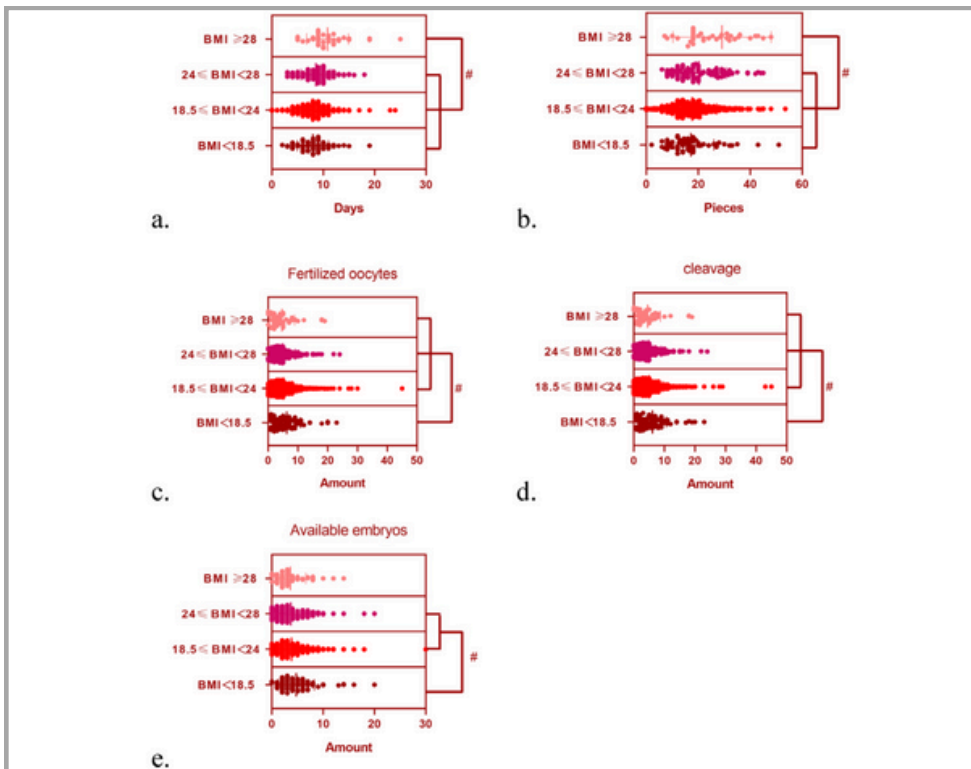
MAKALE ÖZETİ

lenmiş oosit sayısı ve klivaj düşük kilolu grupta en yüksekti ($p < 0,05$) (Şekil 1c, Şekil 1d). Ek olarak, mevcut embriyo sayısı düşük kilolu grupta normal kilolu ve yüksek kilolu gruplara göre istatistiksel olarak daha yüksekti ($p < 0,05$) (Şekil 1e) (Tablo 2).

Tablo 1. Hastaların başlangıç özelliklerinin karşılaştırılması

Variable	BMI (kg/m ²)				P Value
	BMI < 18.5	18.5 ≤ BMI < 24	24 ≤ BMI < 28	BMI ≥ 28	
Number of patients	78	721	147	40	0.004*
Age (mean±SD)	32.56±4.62	34.21±5.12	34.33±4.77	32.30±5.07	
BMI (mean±SD)	17.80±0.63	20.93±1.40	25.29±0.99	30.52±2.68	
Type of infertility: n (%)					
Primary infertility	54 (69.2)	421 (58.4)	80 (54.4)	25 (62.5)	0.176
Secondary infertility	24 (30.8)	300 (41.6)	67 (45.6)	15 (37.5)	
Primary diagnosis: n (%)					
Tubal factors	58 (74.4)	537 (74.5)	105 (71.4)	29 (72.5)	0.457
Male factor	13 (16.7)	100 (13.9)	30 (20.4)	7 (17.5)	
Uterine factor	0 (0)	18 (2.5)	2 (1.4)	1 (2.5)	
Other/unexplained	7 (8.9)	66 (9.1)	10 (6.8)	3 (7.5)	
Total number of fresh IVF/ICSI cycles	93	905	187	56	
Fresh IVF/ICSI cycles (mean±SD)	1.19±0.51	1.26±0.53	1.27±0.54	1.40±0.54	0.592
Total number of frozen embryo transfer	88	785	154	43	
Frozen embryo transfer (mean±SD)	1.35±0.59	1.31±0.61	1.38±0.70	1.39±0.67	0.097

Data are presented as mean±standard deviation or n (%). * $P < 0.05$ as compared with the control group



Şekil 1. Hastaların BMI'lerine göre IVF/ICSI siklusu özellikleri. Not: Diğer gruplarla karşılaştırıldığında, obez grup en uzun Gn siklusuna sahipti ($P < 0,05$) (a). Diğer gruplarla karşılaştırıldığında, obez grup en yüksek GN dozajına sahipti ($P < 0,05$) (b). Ayrıca, döllenmiş oosit sayısı düşük kilolu grupta en yüksekti ($P < 0,05$) (c). Bölünme sayısı düşük kilolu grupta en yüksekti ($P < 0,05$) (d). Ek olarak, mevcut embriyo sayısı düşük kilolu grupta normal kilolu ve yüksek kilolu gruplara göre istatistiksel olarak daha yüksekti ($P < 0,05$) (e)

MAKALE ÖZETİ

Tablo 2. Hastaların BMI'lerine göre IVF/ICSI siklusu özellikleri

Variable (mean±SD)	BMI (kg/m ²)				P Value
	BMI < 18.5	18.5≤BMI < 24	24≤BMI < 28	BMI≥28	
Gn medication days	7.98±3.02	7.90±2.84	8.48±2.73	10.83±4.08	0.000*
Gn dosage (piece, 75IU/ piece)	17.16±8.86	17.61±9.52	20.21±10.43	29.11±18.94	0.000*
Retrieved oocytes	7.61±5.39	6.39±5.09	6.34±4.99	5.98±4.98	0.061
Mature oocytes	5.13±3.36	4.91±4.13	4.19±3.07	4.54±2.99	0.576
Fertilized oocytes	6.23±4.60	5.08±4.28	4.94±4.08	4.64±4.27	0.020*
Number of cleavage	6.11±4.49	4.99±4.39	4.83±4.08	4.53±4.21	0.017*
Available embryos	4.76±3.49	3.84±3.08	3.71±3.16	3.60±3.04	0.017*
High quality embryos	3.57±3.14	2.98±2.62	2.89±2.72	2.67±2.62	0.134

Data are presented as mean ± standard deviation. *P < 0.05 as compared with the control group

Gebelik sonuçlarının karşılaştırılması

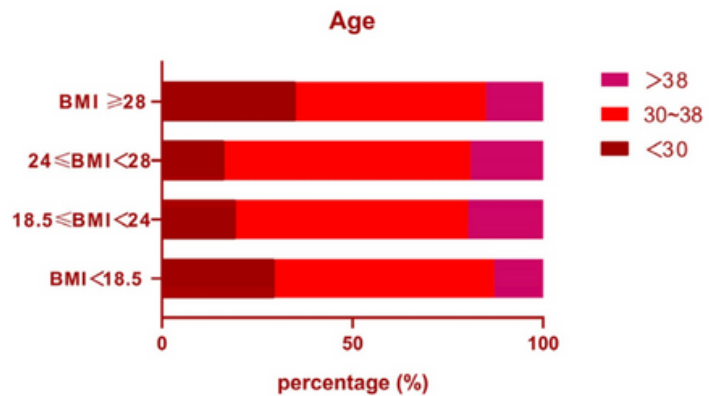
Normal kilolu grup en yüksek klinik gebelik oranına (%27,3) ve implantasyon oranına (%18,1) sahipken, obez grupta spontan düşük oranı %26,7 olup, bu gruptaki canlı doğum oranının yalnızca %60'ına katkıda bulunmuştur (**Tablo 3**). Bu, obez hastaların yardımcı üreme teknolojisi kullanılarak hamile kalabilmelerine rağmen, bunların >%50'sinin canlı çocuk sahibi olmak için doğum yapamayabileceğini göstermektedir. Dört grup arasında düşük kilolu hastalar %88,5 canlı doğum ile en yüksek orana sahiptir (**Tablo 3**). Dört grubun yaş profillerine bakıldığında da yaşların çoğunun 30 ila 38 yaşlarında yoğunlaştığını ve bunun da sonuçları etkilemiş olabileceği düşünülmektedir (**Şekil 2**).

IVF/ICSI uygulanan hastalarda gebelik sonuçlarını etkileyen faktörler

Gebelik sonuçları bağımlı değişken olarak alındı (başarı=1, başarısızlık=0) ve tek değişkenli analizde anlamlı farklılık gösteren faktörler (yaş ve VKİ) bağımsız değişkenler olarak alındı. Yaş (yaş<30 yıl=1, 30≤yaş≤38 yıl=2, yaş>38 yıl=3) ve VKİ (VKİ <18,5=1, 18,5 ≤ VKİ <24=2, 24 ≤ VKİ <28=3, VKİ ≥ 28=4) lojistik regresyon modeline dahil edildi. Hem yaş hem de VKİ gebelik sonucunu etkileyen negatif faktörlerdi (p<0.05) (**Tablo 4**).

Yaşa göre sınıflandırılmış ayrıntılı klinik sonuçlar

Yaşın etkisini dışlamak için hastalar üç alt gruba ayrıldı: <30 yaş, 30 ile ≤38 yaş ve >38 yaş. İmplantasyon oranı, klinik gebelik oranı ve canlı doğum oranı, 30-38 yaş arası kadınlarda normal kilolu grupta, kilolu gruba göre anlamlı derecede daha yüksekti (p=0,013 veya 1,75, p=0,033 veya 1,735, p=0,020 veya 1,252) (**Tablo 5**). Ek olarak, klinik gebelik oranı da 30-38 yaş arası kadınlarda normal kilolu grupta obez gruba göre anlamlı derecede daha yüksekti (p=0,036 veya 4,236). Ayrıca, diğer gruplar arasında embriyo implantasyon oranı, klinik gebelik oranı ve canlı doğum oranında anlamlı bir fark yoktu (**Tablo 5**).



Şekil 2. Her gruptaki hastaların yaş dağılımı. Not: Hastaların çoğu 30-38 yaş aralığındaydı ve düşük kilolu ve obez gruplarda 30 yaş altı daha fazla hasta vardı

MAKALE ÖZETİ

Tablo 3. Vücut kitle indeksine göre gebelik sonuçları

Variable	BMI (kg/m ²)			
	BMI < 18.5	18.5 ≤ BMI < 24	24 ≤ BMI < 28	BMI ≥ 28
Total Embryos transferred: n (mean ± SD)	205 (1.95 ± 0.21)	1712 (1.90 ± 0.30)	339 (1.92 ± 0.28)	96 (1.92 ± 0.27)
Total Sacs	32	310	46	17
Implantation rate (%)	15.6	18.1	13.6	17.7
Ectopic pregnancies	0	2	0	2
Spontaneous abortion: n (%)	0 (0)	32 (13.0)	5 (13.2)	4 (26.7)
Clinical pregnancies: n (%)	26 (24.8)	246 (27.3)	38 (21.5)	15 (30)
Live births: n (%)	23 (88.5)	212 (86.2)	33 (86.9)	9 (60.0)

Data are presented as mean ± standard deviation or n (%)

Tablo 4. IVF/ICSI uygulanan hastalarda gebelik sonuçlarını etkileyen faktörlerin lojistik regresyon analizi

Variable	B	SE	Wald	P	OR	95%CI
Age	-1.166	0.117	99.252	0.000*	0.312	0.248–0.392
BMI	-.230	.115	3.977	0.046*	0.794	0.634–0.996

*P < 0.05

Tablo 5. Yaşa göre sınıflandırılmış ayrıntılı klinik sonuçlar

Age	Variable	BMI (kg/m ²)																	
		BMI < 18.5 VS 18.5 ≤ BMI < 24			BMI < 18.5 VS 24 ≤ BMI < 28			BMI < 18.5 VS BMI ≥ 28			18.5 ≤ BMI < 24 VS 24 ≤ BMI < 28			18.5 ≤ BMI < 24 VS BMI ≥ 28			24 ≤ BMI < 28 VS BMI ≥ 28		
		χ ²	P	OR	χ ²	P	OR	χ ²	P	OR	χ ²	P	OR	χ ²	P	OR	χ ²	P	OR
< 30	Implantation rate	2.261	0.133	1.623	0.025	0.873	1.067	0.131	0.717	1.200	1.892	0.169	0.657	0.497	0.481	0.740	0.057	0.811	0.889
30–38		4.320	0.038	0.547	0.016	0.900	0.956	1.895	0.169	0.528	6.213	0.013	1.750	0.008	0.929	0.967	1.950	0.163	1.810
> 38		0.000	1.000	0.999	0.240	0.636	1.580	1.367	0.512	—	0.538	0.588	1.590	1.409	0.622	—	0.881	1.000	—
	χ ² _{MH} (P Value)	/			0.000 (0.994)				0.059 (0.808)	/			0.000 (0.992)				0.172 (0.678)		
	OR _{MH} (95% CI)	/			1.035 (0.626–1.713)				0.872 (0.452–1.680)	/			0.958 (0.553–1.660)				1.202 (0.642–2.251)		
< 30	Clinical pregnancy rate	0.486	0.486	1.337	0.062	0.804	0.878	0.303	0.582	0.719	1.200	0.273	0.657	1.672	0.196	0.538	0.119	0.730	1.221
30–38		2.100	0.147	0.626	0.044	0.834	1.086	1.562	0.333	2.653	4.566	0.033	1.735	4.393	0.036	4.236	1.382	0.362	0.410
> 38		0.003	1.000	1.045	0.335	0.619	1.744	1.449	0.500	—	0.632	0.427	1.669	1.459	0.610	—	0.866	1.000	—
	χ ² _{MH} (P Value)	/			0.000 (0.994)				0.059 (0.808)	/			0.000 (0.992)				0.172 (0.678)		
	OR _{MH} (95% CI)	/			1.035 (0.626–1.713)				0.872 (0.452–1.680)	/			0.958 (0.553–1.660)				1.202 (0.642–2.251)		
< 30	Live birth rate	1.814	0.228	0.393	6.830	0.019	—	0.020	1.000	0.875	3.430	0.107	—	1.089	0.373	2.227	6.061	0.037	—
30–38		1.452	0.616	—	4.828	0.061	—	16.000	0.008	—	6.658	0.020	1.252	17.20	0.011	—	4.107	0.111	—
> 38		1.658	0.486	—	0.833	1.000	—	—	—	—	0.206	1.000	1.800	—	—	—	—	—	—
	χ ² _{MH} (P Value)	0.003 (0.957)			/		/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	OR _{MH} (95% CI)	1.147 (0.360–3.654)			/		/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

TARTIŞMA

Obezite kadın infertilitesiyle yakından ilişkilidir ve sadece gebelikte zorluklara yol açmakla kalmaz, aynı zamanda kürtaj ve gebelikte ilgili komplikasyon riskini de artırır. Obezitenin gö-

rülme sıklığı sürekli arttığından, giderek daha fazla kilolu ve obez kadın IVF tedavisi için başvurmaktadır. Bu nedenle, farklı BMI'lerin hastaların IVF sonuçları ve gebelik sonuçları üzerindeki etkilerini araştırmak önemlidir.

MAKALE ÖZETİ

Birçok çalışma BMI'nin IVF/ICSI sonuçları üzerindeki etkisini incelemiş, ancak farklı sonuçlara ulaşmıştır; bazıları BMI'nin gebelik oranı ve canlı doğum oranı üzerinde hiçbir etkisi olmadığını öne sürerken diğerleri BMI'nin hastaların canlı doğum oranında azalmaya yol açabileceğini öne sürmüştür. BMI ile IVF gebelik sonuçları arasındaki ilişkiye dair önceki çalışmalarla karşılaştırıldığında mevcut çalışmanın gücü, oosit kalitesini ve IVF sonuçlarını belirleyen en önemli faktör olan yaşı da içeren bir analizden kaynaklanmaktadır. Filipa ve ark. yaş ve BMI'nin üremeye yardımcı tedavi sonuçları üzerindeki etkisini inceledi ve ulaştıkları sonuçlar bizim bulgularımızla tutarlıydı. Sonuçlarımız hem yaşın hem de BMI'nin gebelik sonucunu etkileyen olumsuz faktörler olduğunu göstermektedir. Düşük kilolu grupta toplanan oosit sayısı, döllenmiş oosit sayısı ve klivaj sayısı diğer üç gruptakinden daha fazlaydı ve canlı doğum oranı diğer gruplardan biraz daha yüksekti, bu durum hastanın yaşıyla ilişkili olabilir. Yapılan diğer araştırmalar, BMI'nin IVF/ICSI uygulanan 30-38 yaş aralığındaki kadınların gebelik sonuçlarını büyük ölçüde etkileyebileceğini, ancak daha genç veya daha yaşlı kadınların sonuçları üzerinde neredeyse hiçbir etkisinin olmadığını ortaya koymuştur.

IVF/ICSI klinik gebelik oranı, normal kilolu hastalarda, 30-38 yaş aralığındaki aşırı kilolu hastalara ve obez hastalara kıyasla sırasıyla 1.735 ve 4.236 kat daha yüksektir. Ancak, 38 yaş üstü kadınlarda, BMI'nin olumsuz etkisi göz ardı edilebilir. Bu nedenle BMI, bu çalışmada IVF/ICSI uygulanan kadınların, özellikle de 30-38 yaş aralığındakilerin gebelik sonuçları üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir. Artan hasta yaşı, infertilitenin nedenlerini değerlendirirken en önemli faktördür. Doğurganlık 35 yaşından itibaren azalır ve yaş yardımcı üreme teknolojileri kullanarak hamile kalmak isteyen kadınların gebelik sonuçlarını önemli ölçüde etkiler. Çalışma sonuçlarına göre, 38 yaş üstü olmanın gebelik sonuçları üzerindeki olumsuz etkileri, artan BMI'nin neden

olduğu etkilerden çok daha büyük olabilir. Ayrıca, BMI'nin olumsuz etkileri, çok fazla faktörden etkilenebilecek <30 yaşındaki kadınlarda anlamlı değildir.

Çalışmamızın bazı sınırlamaları vardır. Birincisi, obezite grubunun örneklem büyüklüğü nispeten küçüktü, bu da sonuçlarda sapmalara neden olmuş olabilir. İkincisi, çalışma yalnızca annelerin BMI'lerine odaklanmış ve babaların BMI'lerinin etkisini göz ardı etmiştir; bu nedenle analiz yeterince kapsamlı olmayabilir. Erkek obezitesi, önemli ölçüde olmasa da, subfertilite şansını artırarak daha düşük gebelik oranlarına yol açar. Üçüncüsü, infertilite faktörlerinin analizinde ovulasyon bozukluklarının detaylandırılmaması, klinik bireyselleştirilmiş tedaviye rehberlik ederken bazı kusurlara yol açabilmektedir. Dördüncüsü, bu çalışma IVF sonuçları üzerinde etkisi olabilecek dört stimülasyon protokolünü içeriyordu. Son olarak, bu çalışma retrospektifti ve araştırmacının daha önce bir müdahalesi yoktu, bu nedenle sonuçlarda önyargı olması kaçınılmazdı.

Sonuç olarak BMI, IVF/ICSI geçiren kadınların gebelik sonuçlarını büyük ölçüde etkiler. IVF/ICSI tedavisinden önce VKİ değerlendirmesi ve uygun müdahale (örneğin diyet düzenlemesi, fiziksel egzersiz ve akupunktur, geleneksel Çin tıbbi ve cerrahi gibi etkili tıbbi destekli tedaviler), özellikle 30-38 yaş arasındaki kadınlarda gebelik sonuçlarını olumlu yönde etkileyebilir. Düşük kilolu kadınların gebelik sonuçları normal kilolu kadınlardan daha kötü olmasa da, VKİ'nin hala potansiyel bir etki faktörü olduğu görülmüştür.

MAKALE ÖZETİ

Review > [Mater Today Bio. 2023 Mar 11:19:100608. doi: 10.1016/j.mtbio.2023.100608.](#)
eCollection 2023 Apr.

Exosomes: New regulators of reproductive development

Chang Chen¹, Zhenhao Zhang¹, Xu Gu¹, Xihui Sheng¹, Longfei Xiao¹, Xiangguo Wang¹



Hazırlayan:

Uzm. Dr. Kübra ÖZUNCA

SBÜ Van Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Ekzosomlar: Üreme Gelişiminin Yeni Düzenleyicileri

ÖZET

Ekzosomlar, 30-150 nm boyutlarında, birçok hücre tipi tarafından salınabilen ve vücut sıvısında dolaşabilen ekstraselüler veziküllerin (EV) bir alt tipidir. Hedef hücrelerin gen ifadesi profilini ve işlevini düzenleyen uzun mesafeli bir hücre-hücre iletişim mekanizması olarak işlev görürler. Artan kanıtlar, ekzosomların çeşitli karmaşık üreme süreçlerini düzenlemede merkezi bir rol oynadığını göstermektedir. Ancak üreme gelişimindeki rollerini ayrıntılı bir şekilde tanımlayan bir inceleme henüz mevcut değildir. Bu inceleme, ekzosomların gametogenez, fertilizasyon, erken embriyonik gelişim, implantasyon, plasentasyon ve gebelik gibi erken üreme süreçlerine katkısı hakkındaki bilgilerimizi vurgulamaktadır.

Tartışma esas olarak memeli soyağacına ilişkin literatürden alınmış olup; özellikle insan üremesinde, laboratuvar ve hayvancılık modellerinde ekzosomların rollerine vurgu yapılmıştır.

MAKALE ÖZETİ

1. GİRİŞ

Hücre dışı veziküller (EV'ler), hücreler tarafından hücre dışı boşluğa bırakılan zar kökenli veziküllerdir ve hücre-hücre iletişimde ve bir dizi biyolojik sürecin düzenlenmesinde önemli rol oynarlar. Son on yılda EV'lerin sınıfları ve özellikleri ile fizyolojik ve patolojik rolleri hakkındaki bilgi hızla artmıştır. EV'lerin üç ana grubu; apoptotik cisimler, mikroveziküller ve ekzosomlardır. Üç tür EV arasında ekzosomlar, 30–150 nm çapında ve 1,13–1,19 g/mL yoğunluğunda spesifik fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olan EV'lerdir. Ekzosomlar, köken hücreye bağlı olarak lipitler, proteinler, mRNA'lar, miRNA'lar ve DNA'lardan oluşur. Farklı hücre tiplerinden gelen ekzosomlarda, yaklaşık 4400 protein, 194 lipit, 1639 mRNA ve 764 miRNA dahil olmak üzere çok çeşitli yapısal elemanlar tanımlanmıştır. Bu nedenle, ekzosomlar nanometre ölçeğindeki boyutları, mükemmel stabiliteleri, biyoyuumlulukları, geçirgenlikleri, düşük toksisiteleri ve düşük immünojeniteleri nedeniyle ilaç taşıyıcıları (drug transport carriers) geliştirmek için ideal hedeflerden biri haline gelmiştir.

Ekzosomların işlevleri hücrenin kökenine bağlıdır ve bağışıklık tepkisi, antijen sunumu, programlanmış hücre ölümü, anjiyogenez, inflamasyon, pıhtılaşma ve morfogenez taşıyıcıları ile gelişim ve farklılaşma sırasında polaritenin oluşturulmasında rol oynarlar. Artan kanıtlar, ekzosomların üreme gelişimi ve üreme hastalıklarında merkezi bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Bu makalede, insan, laboratuvar ve hayvancılık modellerinde gametogenezden erken gebeliğe kadar hassas ve karmaşık üreme sürecinde ekzosomların rolünü özetledik. Ek olarak, biyomoleküllerin doğal taşıma ortamı ve ekzosomlar için bir ilaç dağıtım platformunun geliştirilmesi nedeniyle, ekzosomlar hücreler arası iletişime katılırlar ve kargoları (taşıdıkları içerikler) üreme hastalıkları için tanısal biyobelirteçler veya terapötik (tedavi edici) adaylar olarak kullanılabilir.

2. EKZOSOMLAR

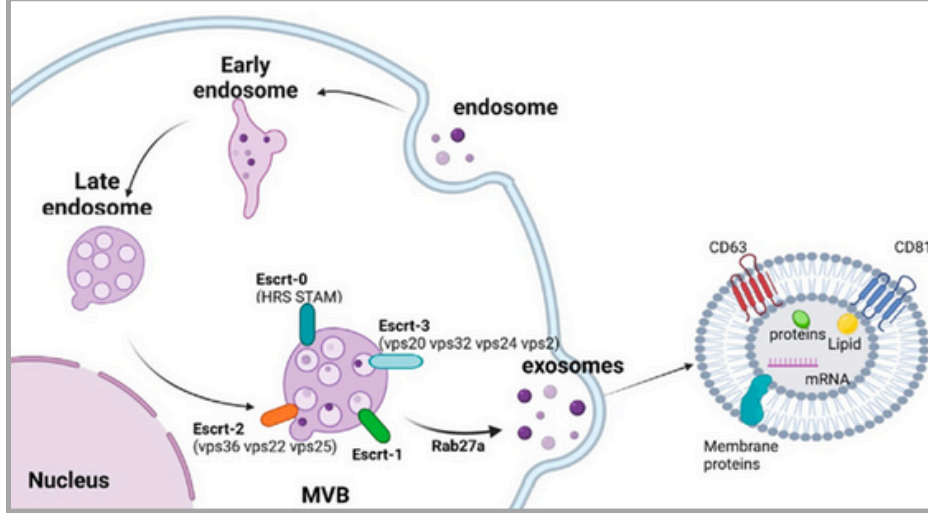
2.1. Ekzosom oluşumu ve taşınması

Farklı hücreler tarafından salınan ekzosomlar benzer biyosentez yollarına sahiptir ve bunların hepsi endozom kaynaklıdır (**Şekil 1**). Erken sekretuar bir endozom, hücre içi plazmik membran invajinasyonu ile oluşur ve daha sonra içeriye doğru tomurcuklanarak proteinleri, nükleik asitleri ve diğer maddeleri sararak daha fazla olgunlaşmasını sağlar ve endozomda bulunan intraluminal vezikülleri (ILV) oluşturur; bunlara multiveziküler cisimler (MVB) denir. Sonunda, ILV'ler plazma membranıyla birleşir ve ekzosomlar olarak hücre dışına salınır. Bu nedenle, ekzosomlarda bulunan proteinlerin çoğu, homojenizasyonun ve ekzosomların standardize sınıflandırılmasının temeli olan endositoz ağına bağlıdır. Taşıma için gerekli olan endozomal ayırma kompleksi (ESCRT), endozomlarda ekzosom oluşumunun merkezi moleküler mekanizmasını oluşturur.

ESCRT mekanizması yaklaşık otuz proteinden oluşur. Bunlar; dört protein kompleksi (ESCRT-0, 1, 2, 3) ile VPS4, VTA1 ve ALIX gibi diğer yardımcı proteinleri kapsamaktadır. ESCRT mekanizması, ESCRT-0'ın ubikitin bağlayıcı alt birimleri aracılığıyla ubikitinlenmiş proteinlerin endozomal membranın belirli alanlarında tanınması ve sekestre olması ile başlatılır. Kargo bağlama yeteneğine sahip ESCRT-1 ve 2 kompleksleri de etkilere girer. ESCRT-1 ve 2 kompleksleriyle gerçekleşen etkileşimden sonra oluşan kompleks, tomurcuklanma sürecini desteklemede rol oynayan bir protein kompleksi olan ESCRT-3 ile birleşecektir. Son olarak, ESCRT-3 membran separasyonunu teşvik eder ve veziküllerin parçalanmasına neden olur, böylece ILV'ler oluşur.

Ekzosomların oluşum sürecine gelince, sfingomiyelin inhibitörü GW4869'un; makrofajlar, epitel hücreleri, interstisyel hücreler ve diğer hücrelerde poliveziküllerin oluşumunu, gelişimini

MAKALE ÖZETİ



Şekil 1. Ekzosomların oluşumu ve salgılanması. Ekzosomların oluşumu, plazma zarının invajinasyonunu ve intraluminal veziküllerin ve multiveziküler cisimlerin oluşumunu içerir. Plazma zarının ilk invajinasyonu erken oluşan endozomu oluşturur. ESE'ler olgun, geç oluşan endozomlara dönüşür ve sonunda MVB'ler oluşturur. MVB'ler birden fazla ILV içerir. MVB'ler lizozomlar veya otofagozomlar ile gerçekleştirilen füzyon sonucu parçalanır veya plazma zarıyla kaynaşarak içerdikleri ILV'leri ekzosomlar olarak hücre dışına bırakır. Ekzosomların salgılanması ve taşınması esas olarak MVB zarındaki taşıma için gerekli endozomal ayırma kompleksi (ESCRT) tarafından sağlanır.

bloke ederek MVB'lerden ekzosom salınımını inhibe ettiği ve böylece çeşitli patofizyolojik süreçleri düzenlediği kanıtlanmıştır. Ancak, bazı çalışmalar GW4869'un apoptozu indüklemeyen dozlarda ekzosom salgılanmasını teşvik edebileceğini, apoptozu indükleyen daha yüksek konsantrasyonlarda ise ekzosom salgılanmasını inhibe edebileceğini bulmuştur. Bu nedenle lipitler, amidler, tetraspaninler veya ısı şoku proteinleri tarafından desteklenen ILV'lerin ve MVB'lerin oluşumu için ESCRT'den bağımsız bir mekanizmanın daha olduğu söylenebilir. Ek olarak, MVB'lerin oluşumu kalsiyum bağımlı bir mekanizmadır ve dimetil amilorid (DMA) sodyum-kalsiyum değişim inhibitörü olarak ekzosomların salınımını engellemek için kullanılır.

Fertilite çalışmalarında, GW4869, yalnızca endometrial matriks hasarında ve erken düşüklerde ekzosomların mekanizmasını açıklamak için bir ekzosom inhibitörü olarak kullanılmıştır. DMA; Na⁺, H⁺ ve Ca²⁺ değişimini düzenlemesi

nedeniyle spermin dölleme yeteneğinde ve oosit olgunlaşmasının düzenlenmesinde ayrı bir rol oynayabilir. Kısacası, GW4869 çeşitli çalışmalarda tercih edilen ekzosom inhibitörüdür. Ancak araştırmacılar, GW4869'un inhibitör etkisini farklı çalışmalarda yeniden değerlendirmelidir (Farklı mekanizmalarla etki eden inhibitörlerin bir arada kullanılması daha kapsamlı bir etki sağlayabileceği için ek çalışmalar yapılmalıdır).

Oluşum sırasında ekzosomlar plazma zarından ayrılarak otokrin, parakrin ve endokrin olmak üzere 3 farklı şekilde salgılanmaya hazır hale gelirler. Ekzosomların hücre dışı ortama salındıktan sonra alıcı hücrelerle etkileşime girme, protein, lipit ve nükleik asit içeriklerini aktarma yeteneği fizyolojik ve patolojik süreçlerdeki rollerini belirler. Zar proteinlerinin doğrudan hücre-hücre teması sırasında aktarıldığı bildirilmiştir. Endositoz, membran füzyonu ve reseptör-ligand aracılı etkileşimler, ekzosomların hedef hücrelere girmesinin üç ana yoludur.

MAKALE ÖZETİ

2.2. Ekzosomların izolasyonu ve tanımlanması

Ekzosomları diğer EV'lerden tamamen ayırmak zor olsa da ekzosomlar için bir dizi standartlaştırılmış izolasyon ve tanımlama yöntemi araştırmacılar tarafından yaygın olarak kabul görmüş ve uygulanmıştır. Bugüne kadar, ekzosom çalışmalarında en yaygın kullanılan ayırma yöntemleri ultra hızlı santrifüjleme ve polietilen glikol (PEG) çökeltilmesine dayanan ekzosom izolasyon kitidir. Bu yöntemlerin dışında ekzosomların tanımlanmasında fincan şeklini gözlemlemek için elektron mikroskopları kullanılmış ve 30-150 nm aralığındaki parçacık boyutlarını ölçmek için Nanopartikül İzleme Analizi (NTA) kullanılmıştır. Ek olarak Western blot analizi, ekzosomlardaki pozitif belirteç proteinlerin (transmembran proteinler CD63, CD9, CD81, çözümlü protein TSG101 ve ALIX) ve negatif belirteç proteinlerin (endoplazmik retikulum proteini-Kalnexin, nükleer proteinler-histon ve Golgi proteini-GM130) yüksek ekspresyonunu tespit etmek için kullanılmıştır. Şu anda, uluslararası standart üç pozitif proteini (ekzosom transmembran proteini ve çözümlü protein dahil olmak üzere) ve bir negatif proteini tespit etmektedir.

3. GAMETOGENEZ VE OLGUNLAŞMADA EKZOSOMLARIN ROLÜ

Yüksek organizmaların eşeyli üremesinde sperm ve yumurta, nesil değişiminin köprüsü ve genetik yaşamın devamının yaşam halkasıdır. Germ hücrelerinin olgunlaşması ve işlevi gelecekteki üreme başarısı için kritik öneme sahiptir. Artan kanıtlar, ekzosomların sperm ve yumurtanın oluşumunda ve olgunlaşmasında önemli roller oynadığını göstermektedir.

3.1. Spermatogenez ve olgunlaşmada ekzosomların rolü

3.1.1. Spermatogenez

Spermatogenez, dört aşamaya ayrılabilen çok karmaşık bir hücre farklılaşma sürecidir: spermatogonial kök hücre çoğalması ve farklılaşması,

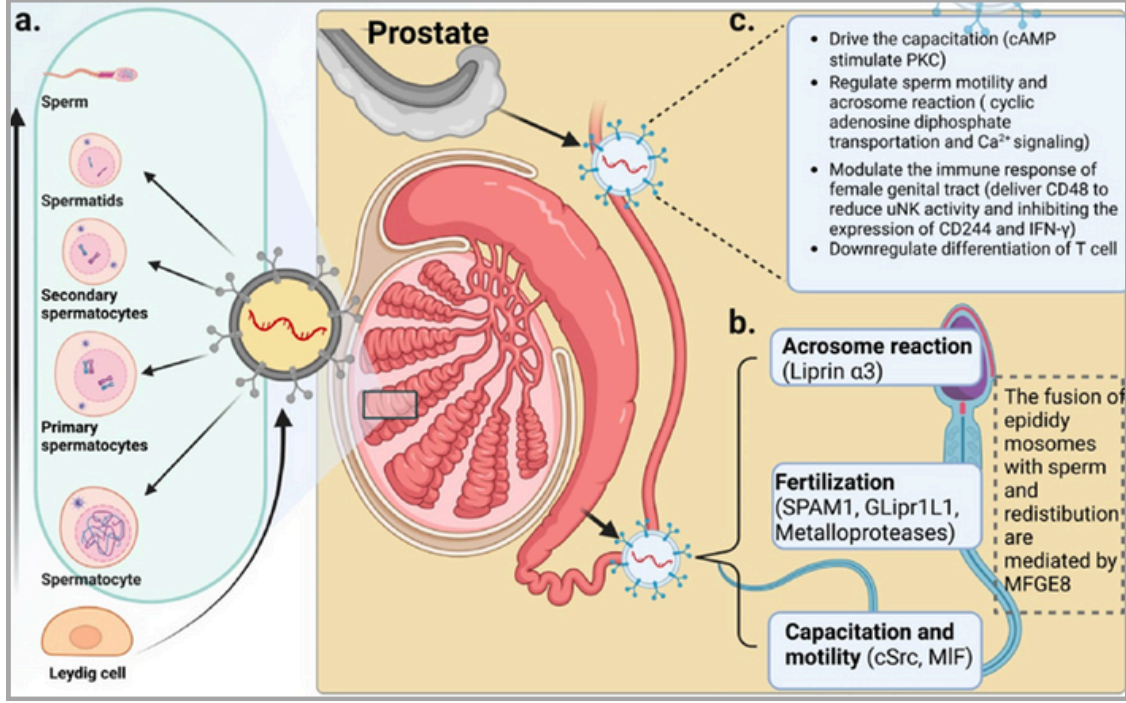
spermatogonial mayoz, spermatogenez ve sperm olgunlaşması. Spermatogenez sırasında gelişen germ hücrelerini saran, besin sağlayarak ve kan-testis bariyerinin oluşumuna katılarak germ hücresi gelişimini ve spermatogenezini koordine eden hücreler Sertoli hücreleridir. Son çalışmalar, testisteki Sertoli hücreleri tarafından salınan ekzosomların sperm farklılaşması sırasında spermatogonik tübüllere girebileceğini öne sürmektedir (**Şekil 2A**). Ancak, ekzosomların testis dokusunda spermatogenez ve olgunlaşmadaki rolü hakkında çok az rapor bulunmaktadır.

3.1.2. Spermiotelozis

Semen, spermatozoa ve aksesuar gonadlardan (seminal vezikül ve prostat) gelen salgılardan (spermatoplazma) oluşur; testis ve epididim salgılarının toplam hacmi %60, prostat salgısı yaklaşık %30 ve diğer aksesuar gonadlar yaklaşık %10'dur. Seminal plazmadan ekzosomlar tarafından taşınan bu biyoaktif düzenleyici moleküllerin spermatogenez, modifikasyon süreci ve fertilizasyonun düzenlenmesinde rol oynadığına dair artan kanıtlar bildirilmiştir (**Şekil 2B**). Testis spermatogonik tübülleri tarafından üretilen spermler epididime ulaştığında henüz işlevsel değildir. Ekzosomlar, sperm testisleri terk edip epididime girdiğinde çok sayıda modifikasyona aracılık eder. İnsan, sığır ve fare modellerinde, epididimozomların içeriği epididim sıvısından kaynaklanır, epididimal kauda ve kaput sırasıyla farklı kargo içeriklerinin eklenmesini sağlar. Bir kedi deney modelinde; epididimal kaput, korpus ve kauda kaynaklı ekzosomal proteinlerin hareketlilik, zona pellucida bağlanması, akrozom reaksiyonu ve teratospermi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Sperm adezyon molekülü 1 (SPAM1), glioma patogenezi ile ilişkili 1 benzeri protein 1 (GliPr1L1) ve metalloproteazlar döllenmede önemli roller oynar. Proto-onkogen tirozin protein kinaz Src (cSrc) ve makrofaj göç inhibitör faktörü (MIF) kapasitasyon ve hareketlilik üze-

MAKALE ÖZETİ



Şekil 2. Spermatogenez ve olgunlaşmada ekzosomların rolü. Seminal plazmadan türetilen ekzosomların spermatogenez, modifikasyon ve fertilizasyon yeteneğinin düzenlenmesinde rol oynadığına dair artan kanıtlar bildirilmiştir. (A) Testisteki Sertoli hücreleri tarafından salgılanan ekzosomlar sperm farklılaşması sırasında spermatogenez tübüllere girebilir. (B) Testis spermatogenez tübülleri tarafından üretilen spermeler fertil değildir. Ekzosomlar sperm testisleri terk edip epididime girdiğinde çok sayıda modifikasyona aracılık eder. Epididimozomların içeriği epididimal sıvıdan kaynaklanır, kaudal ve distal alanda farklı kargo içeriğine sahiptir. Epididimal caput, corpus ve cauda kaynaklı ekzosomal proteinler hareketlilik, döllenme ve akrozom reaksiyonu ile ilişkilidir. (C) Ejakülata içindeki sperm henüz tam olarak işlevsel değildir ve önce kapasitasyona uğramalıdır ve prostasom kapasitasyon yanıtını yönlendirebilir ve kadın genital yolunun bağışıklık yanıtını düzenleyebilir.

rinde etkiye sahiptir. Liprin $\alpha 3$, sperm akrozom reaksiyonuna girmesi için önemli bir bileşendir. Dahası, epididimozomal kargo (içerik) sperm içine dahil edilir ve salgılandıkları epididim bölgesine bağlı olarak sperm belirli bölgelerine taşınır. Bu moleküllerden bazıları kamçı liflerine taşınır ve sperm hareketliliğinde önemli roller oynar. Zona pellucidaya bağlı moleküller plazma zarına taşınır ve akrozomu kaplar.

Epididimozomların spermle füzyonu ve inklüzyonların yeniden dağılımı MFGE8 tarafından sağlanır. Prostat, erkeklerdeki en büyük aksesuar

gonaddır. Prostat epitelinden prostat kanallarına salgılanan salgılar, ejakülata altıda birini oluşturur ve bu daha sonra vas deferensten gelen spermle karışır. Ejakülata içindeki sperm henüz tam olarak işlevsel değildir, önce kapasitasyona uğramalıdır. Prostat, protein kinaz C aktivitesini uyararak için cAMP salgılar ve bu da kapasitasyonu yönlendirir. Ek olarak, prostat ayrıca siklik adozin difosfat ve Ca^{2+} sinyal moleküllerini sperm taşıyarak. Ca^{2+} 'un hücre içi düzenlenmesi, akrozom reaksiyonu sırasında sperm hareketliliği ve oositlerle etkileşim için kritik öneme sahiptir (**Şekil 2C**).

MAKALE ÖZETİ

Sperm ve seminal sıvıdan türetilen ekzosomların etkileşiminin yalnızca ejakülasyondan sonra gerçekleşmesi, bunların birleşmesinin ve kargo (içerik) transferinin çoğunun dışı genital kanalının alt kısmında gerçekleştiği anlamına gelir.

Sperm dışı genital kanalına girdiğinde, seminal sıvıdan türetilen ekzosomlar hem sperm hem de gelişen yarı allojenik konseptusa karşı maternal bağışıklık yanıtını kalıcı olarak düzenler. CD48 eksprese eden prostasom, uNK (uterin NK) içindeki CD244 ekspresyonunu inhibe edebilir, uNK aktivitesini ve interferon- γ (IFN- γ) salgılanmasını azaltabilir. Bu da sperm dışı genital kanalını geçmesi ve ardından embriyo implantasyonu için koruyucu nitelikte olabilir. Ek olarak, CD48 ifade eden prostasom, spermi dışı genital kanalının kompleman sisteminin saldırısından korur.

Bir domuz deney modelinde elde edilen sonuçlara göre, ekzosomlar T hücresi farklılaşmasını down regüle ederek dışı genital kanalındaki spermatozoaları koruduğu, inflamatuvar yoldaki değişikliğin embriyo implantasyon penceresini düzenlemede önemli bir unsur olabileceği görülmüştür.

Erkek gamet ve dışı genital sistemi, döllenme ve daha sonra embriyoların implantasyonu için hazırlık aşamasında dinamiktir. İlgili çalışmalar, genital kanalın asit-baz ortamının ekzosomların ve sperm bağlanma bölgesini etkilediğini bulmuştur. Asidik bir ortam, ekzosomların ve sperm orta bölümünün kaynaşmasını; nötr bir ortam, ekzosom ve sperm başının kaynaşmasını teşvik eder. İn vitro modellerde, spermatozoanın endometrial hücrelerden türetilen ekzosomları da alabildiği ve sperm kapasitasyon potansiyelini artırabildiği gösterilmiştir.

3.2. Oogenezde ekzosomların rolü

3.2.1. Ovulasyondan önce

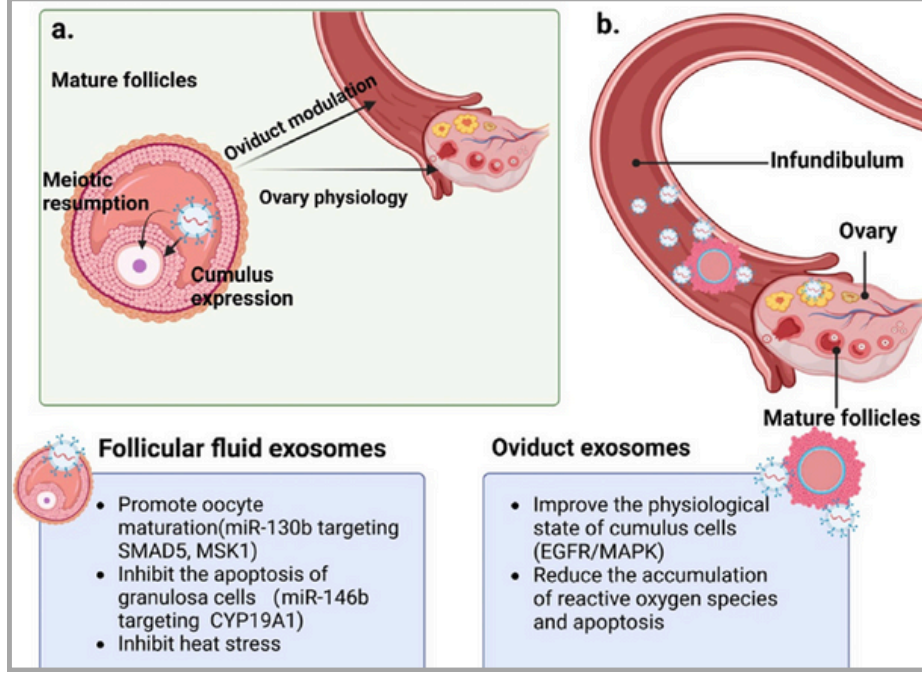
Olgun bir over folikülü, birkaç hücre popülasyonu ile çevrili bir oosit içerir. Oosite en yakın tabaka, zona pellucidadır bunu takiben korona radiata hücreleri, kümülüs ooforus hücreleri ve granüloza hücreleri bulunur. Foliküler hücrelerin dış kısmında ise teka interna ve teka externa tabakaları yer almaktadır. Foliküler hücre salgısı (FF) proteinler, hormonlar ve ekzosomlar dahil olmak üzere çeşitli bileşenler içerir. Son çalışmalar, foliküler sıvı (FF) türevi ekzosomların kümülüs hücre hipertofisi ve oositlerin mayotik sürecinin devamı, ovaryum fizyolojisi, döllenmeye hazırlıkta fallop kanalı modülasyonu ve embriyonik gelişim gibi çeşitli fertilité süreçlerinde hayati ve destekleyici bir rol oynadığını göstermiştir.

Yukarıda belirtilen süreçler, mitogjenle aktive olan protein kinazı (MAPK), TGF- β 'yi, ErbB'yi, WNT'yi ve ubiquitin aracılı yolları etkileyen ekzosomlar tarafından iletilen miRNA ve mRNA tarafından düzenlenir (**Şekil 3A**). Örneğin, ekzosomal miR-130b, sığır oositlerinin gelişimi sırasında SMAD5'i ve MSK1'i hedefleyerek oosit matürasyonu ile kümülüs ve granüloza hücrelerinin proliferasyonunu teşvik eder. Domuz fertilité modellerinde, ekzosomal miR-146b foliküler atrezi sırasında önemli ölçüde ekspresyon artışı göstermiş olup CYP19A1'i inhibe ederek ovaryum granüloza hücrelerinin apoptozunu artırdı. Buna ek olarak, FF türevi ekzosomların oositi ısı stresinden de koruyabildiği gösterilmiştir.

3.2.2. Ovulasyondan sonra

Oositler ovulasyondan sonra fallop kanalına girer. Fallop kanalından türetilen ekzosomlar (Oc-Exo) hücre yoğunluğu, canlılık ve çoğalma dahil olmak üzere kümülüs hücrelerinin fizyolojik durumunu iyileştirebilir ve reaktif oksijen türlerinin birikimini ve apoptoz oranını azaltabilir (**Şekil 3B**).

MAKALE ÖZETİ



Şekil 3: Oogenezde ekzosomların rolü. Over folikülü ile kümülüs hücreleri arasındaki iletişim, folikül olgunlaşması ve döllenme yeteneğine sahip, embriyonik gelişimi destekleyen bir oosit üretmek için çok önemlidir. (A) Son çalışmalar, foliküler sıvı (FF) türevi ekzosomların kümülüs hücre hipertrofisi ve oositlerin mayotik sürecinin devamı, ovaryum fizyolojisi, döllenmeye hazırlıkta fallop kanalı modülasyonu ve embriyonik gelişim gibi çeşitli fertilité süreçlerinde hayati ve destekleyici bir rol oynadığını göstermiştir. (B) Ovidukt ekzosomları (Oc-Exo); hücre yoğunluğu, canlılık ve çoğalma dahil olmak üzere kümülüs hücrelerinin fizyolojik durumunu iyileştirebilir ve reaktif oksijen türlerinin birikimini ve apoptozu azaltabilir.

Oc-Exo ayrıca epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR)/MAPK sinyal yolu aracılığıyla GW4869 veya gefitinib tedavisi sürecinde kümülüs hücrelerinin fizyolojik durumunu etkili bir şekilde iyileştirebilir. Ek olarak, ovaryum folikülü ile kümülüs hücreleri arasındaki iletişim folikül olgunlaşması ve döllenme yeteneğine sahip, embriyonik gelişimi destekleyen bir oosit üretmek için çok önemlidir.

4. EKZOSOMLAR TARAFINDAN FERTİLİZASYONUN DÜZENLENMESİ

4.1. Kadın genital kanalında sperm yolculuğu

Sperm; fertilizasyon alanına ulaşmadan önce vajen, uterus ve fallop kanalından geçmeli,

ardından oositle karşılaşarak akrozom reaksiyonu ve vitellin membran reaksiyonunu tetiklemeli, son olarak fertilizasyonu tamamlamalıdır. Fertilizasyon son derece karmaşık bir düzenleyici işlemdir. Spermilerin çoğu dişi genital kanalda depolanır ve dişi genital kanal hücrelerinden türetilen ekzosomlar sperm dölleme yeteneğini sürdürmede önemli roller oynar. Sperm uterus-tan geçerken uterus hücresi tarafından türetilen ekzosomlar (uterozomlar), sperm döllemesi için gerekli olan ve kümülüs hücresini geçebilme yeteneğini artıran transmembran proteinleri ile glikozil fosfatidilinositol bağlantı proteinini (SPAM1) içerir (**Şekil 4A**). Sperm fallop kanalından geçerken oosit kaynaklı, sperm yüzeyine özgül membran glikoproteini Ca²⁺-ATPase 4

MAKALE ÖZETİ

(PMCA4) taşıyan ekzosomlar (Oc-Exo) zona pellusidanın hidrolizine karşı direncini artırır ve zona pellusidayı sertleştirerek polispermiyi engeller, sperm hareketliliğini iyileştirir, erken sperm kapasitasyonunu önler. Oc-Exo ayrıca uygun zamanlarda tirozin fosforilasyonunun indüksiyonunu artırarak da sperm kapasitasyonunu destekleyerek akrozom reaksiyonunu tetikler (**Şekil 4B**).

4.2. Sperm-oosit füzyonu

Sperm-oosit füzyonu sürecinde, insan semenden türetilen ekzosomlar, glutasyon peroksidaz-5 (GPX5), SPAM1, prostat spesifik antijen (PSA), kinezin aile üyesi 5B (KIF5B), anneksin A2 (ANXA2) ve kallikrein 2 (KLK2) içerikleri aracılığıyla sperm-oosit füzyonu sürecine katılırlar. Sperm dölleme yeteneği, bu proteinlerin ifadesindeki herhangi bir anormallikten etkilenebilir. Oositten türetilen ekzosomların (Oo-Ekzo) sperm oosit teması sonrası meydana gelen akrozom reaksiyonunda da önemli roller oynadığı gösterilmiştir. CD81'i taşıyan Oo-Ekzo, CD9'un transferinden sorumludur. Her iki tetraspanin de sperm-oosit füzyonunda rol oynar ve birbirlerinden bağımsız hareket eder (**Şekil 4C**). Bugüne kadar, ekzosomların gamet/embriyo-maternal etkileşimleri hangi mekanizmayla düzenlediğine ilişkin pek çok cevapsız soru bulunmaktadır. Bu nedenle, ekzosomların rolünün üreme hormonları çalışmalarıyla birlikte açıklığa kavuşması gerektiğini düşünmekteyiz.

5. ERKEN EMBRİYONİK GELİŞİMDE EKZOSOMLARIN ROLÜ

5.1. Fallop tüpünde gelişen ve taşınan embriyo

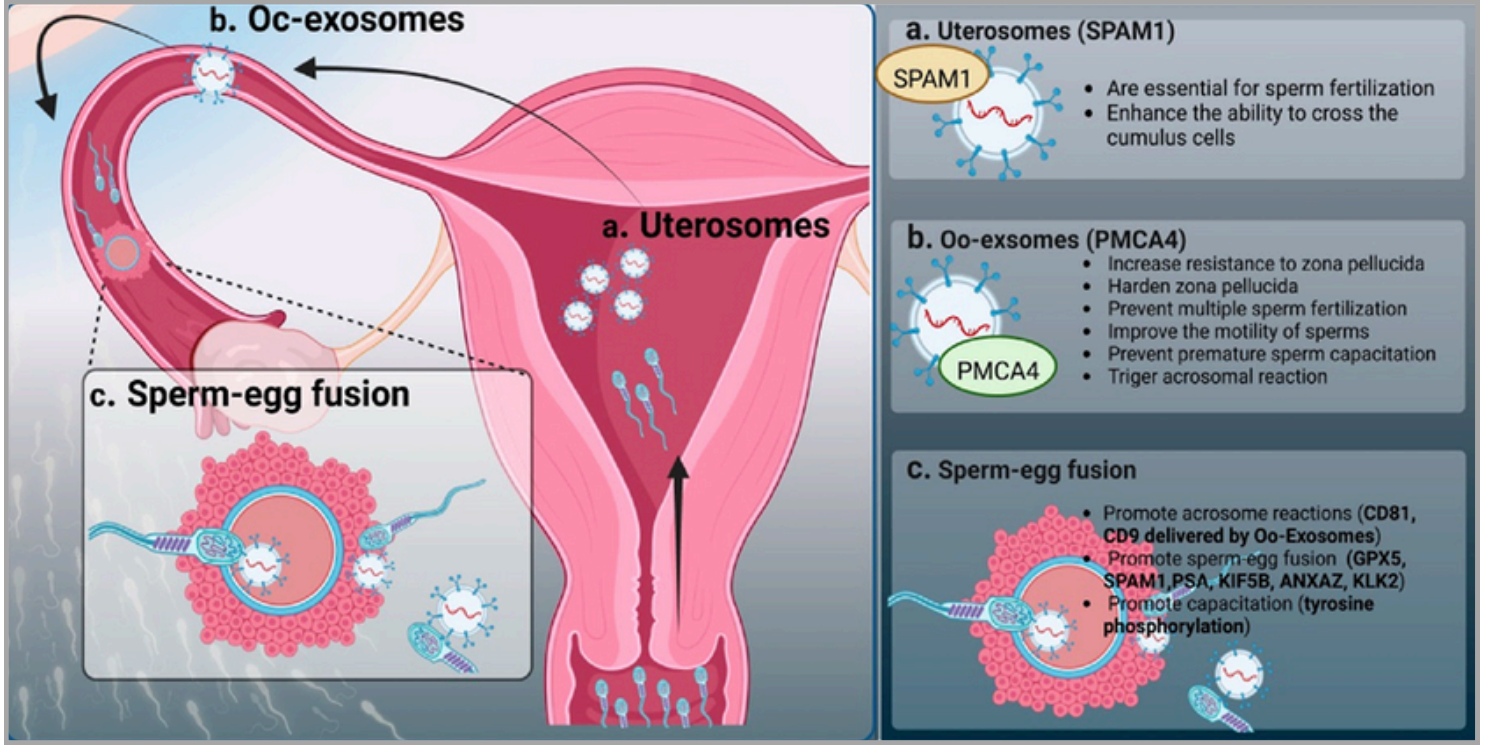
Memeli preimplantasyon embriyolarının gelişimi, fertilizasyondan implantasyona kadar olan dönemi kapsar. Embriyonun fallop tüpünden uterusu göçü sırasında, embriyo farklı gelişim aşamalarından geçer (bölünme, morula, blastula ve gastrula). Ekzosomlar, embriyo-maternal iletişim için moleküllerin iki yönlü taşınmasını sağlar (**Şekil 5**).

Sığır fallop kanalı yıkama sıvısından türetilen etiketli in vivo ekzosomlar, in vitro üretilen embriyolar tarafından alınmıştır. Hem in vivo ekzosomların hem de sığır fallop kanalı epitel hücrelerinden izole edilen in vitro ekzosomların, sığırlardan in vitro üretilen embriyoların gelişimi ve kalitesi üzerinde olumlu bir etki gösterdiği gösterilmiştir. Kütle spektrometrisi analizleri, fallop kanalı yıkama sıvısından ve fallop kanalı epitel hücrelerinden türetilen ekzosomların protein içeriğinin önemli ölçüde farklı olduğunu gösterdi. İn vitro'da, ekzosom takviyesi sığır embriyolarının transkripsiyonunu değiştirdi ve embriyonik gelişimi kontrol etmede ekzomal miRNA kargolarının olası bir rolü olduğunu öne sürdü. Bir fare deney modelinde fallop kanalı epitel hücrelerinden türetilen ekzosomların in vitro eklenmesi apoptoz oranındaki düşüş ve embriyonik hücre farklılaşmasındaki iyileşme nedeniyle nakledilen farelerin doğum oranını arttırmıştır.

5.2. Embriyo ve uterus arasındaki iletişim, implantasyondan önce

Embriyolar blastula evresinden geçip uterusu girerken blastula üç hücre tipinden oluşur: dış epitel trofektoderm (Tr), ilkel endoderm (PE) ve pluripotent iç hücre kütleleri (ICM). Blastula ile uterus arasındaki bağlantı, daha sonraki implantasyonu mümkün kılmak için güçlendirilir. Örneğin, insan blastulasından türetilen miR-661, endometrial epitel hücreleri tarafından alınır ve blastula uygun implantasyon bölgesine ulaşana kadar blastulanın adezyonunu engeller. İnsan trofoblast ve endometriyal epitel hücrelerinin (hEEC'ler) birlikte kültürünün in vitro bir çalışması, ekzosomların trofoblasttan endometriyal hücrelere özgü RNA'ları (LINCo0478 ve ZNF81) paketleyip taşıdığını ve bunun sonucu olarak da endometriyal hücrelerde transkripsiyon seviyelerinin azaldığını göstermiştir. İn vitro ve in vivo çalışmalar implantasyon penceresi sırasında, insan endometriyum epitelinden türetilen ekzosomların özgül miRNA'lar taşıdığını ve bu ekzosomal miRNA'ların endometriyumdan embriyolara da geçebildiğini bildirmiştir.

MAKALE ÖZETİ



Şekil 4. Ekzosomlar tarafından fertilizasyonun düzenlenmesi. Sperm, döllenme bölgesine ulaşmak için vajen, rahim ve fallop tüpünden geçmelidir, dişi genital kanal hücrelerinden türetilen ekzosomlar sperm döllenme yeteneğini sürdürmede önemli roller oynar. (A) Sperm uterusdan geçtiğinde, uterusdan türetilen ekzosomlar (uterozomlar) sperm döllenmesi için gereklidir ve kümülüs hücrelerini geçme yeteneklerini artırır. (B) Sperm fallop kanalından geçtiğinde, sperm yüzeyine özgül membran glikoproteini Ca^{2+} -ATpase 4 (PMCA4) taşıyan Oosit ekzosomları (Oc-Exo), zona pellucidanın hidrolizine karşı direncini artırır ve zona pellucidayı sertleştirerek polispermiyi engeller, sperm hareketliliğini iyileştirir, erken sperm kapasitasyonunu önler. (C) Sperm-oosit füzyonu sürecinde, semen kökenli ekzosomların ve Oosit ekzosomlarının (Oo-Ekzo) akrozom reaksiyonunda önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir.

Bunlar arasında, miR-30d'nin ekzosomlarda membran ile çevrelenerek, endometrial epitel hücreleri tarafından salındığı ve embriyonik adezyon ve implantasyonla ilgili genleri düzenleyerek embriyonun trofektodermine aktarıldığı gözlemlenmiştir. Ek olarak, bir fare deney modelindeki dormant embriyoya endometriyum epitelinden türetilen ekzosomlar ile muamele sonucu let-7, C-MYC/mTORC1 ve mTORC2 sinyal yollarının inhibisyonu ile embriyonik diyapozun indüklendiği görülmüştür. Aynı zamanda, blastulayı oluşturan hücrelerde ekzosomal iletişim yoluyla işlev ve gelişim basamaklarının düzenlendiği gösterilmiştir. Somatik hücre nükleer transferi

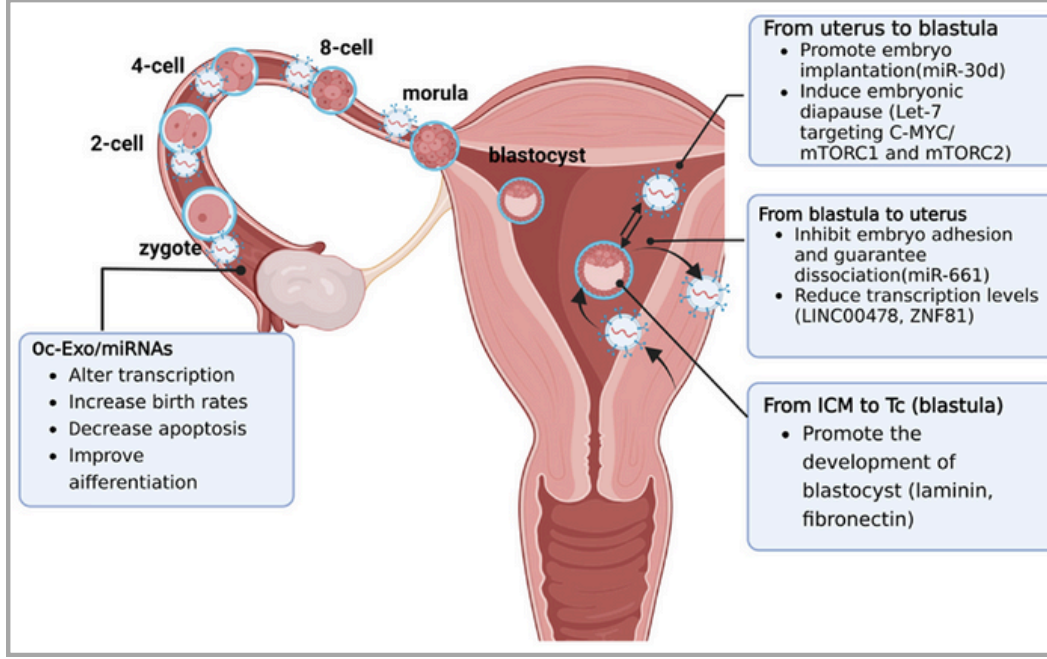
(SCNT) embriyolarının diğer SCNT embriyolarından türetilen ekzosomlara maruz bırakılması blastosist oluşum oranını artırır. Farelerde, laminin ve fibronektin preimplante blastosist ICM'sinden türetilen ekzosomlarda bulunur ve trofektoderm hücrelerinin (TE) hücre yüzeyindeki integrinlerle etkileşime girerek blastosist implantasyonunun başarı oranını artırır.

6. EMBRİYO İMPLANTASYONUNDA EKZOSOMLARIN ROLÜ

6.1. Endometriyal reseptivitenin oluşması

Embriyo implantasyonu üç işleme ayrılabilir:

MAKALE ÖZETİ



Şekil 5. Erken embriyonik gelişimde ekzosomların rolü. Memeli preimplantasyon embriyosunun gelişimi döllenmeden implantasyona kadar olan dönemi kapsar. Embriyo fallop kanalından uterusu göç ederken farklı metabolik aşamalardan geçer (bölünme, morula, blastula ve gastrula). Fallop kanalından türetilen ekzosomlar embriyonun gelişimi üzerinde olumlu bir etki gösterir. Uterin ekzosomlar embriyo implantasyonunu destekleyebilir ve embriyonik diyapozu indükleyebilir. Blastula ekzosomları embriyo adezyonunu engelleyebilir, ayrışmayı sağlar ve bazı genlerin transkripsiyon seviyelerini azaltabilir. Ayrıca ICM ekzosomları blastosist gelişimini de destekleyebilir.

endometrial reseptivite oluşumu, endometrial desidualizasyon ve trofoblast invazyonu. Endometrial reaktivite ve embriyo implantasyonuna hazır olma durumu, endometrium ile embriyo arasındaki iletişim sürecinde ekzosomların katılımıyla tamamlanır. Bir çalışma, implantasyon öncesi aşamada uterus sıvısından türetilen ekzosomların varlığında hücre apoptozunda rol oynayan proteinlerin daha yüksek miktarda olduğunu bildirirken, implantasyon aşamasında uterus sıvısından türetilen ekzosomların varlığında hücre adezyonunda rol oynayan proteinlerin daha yüksek miktarda olduğunu bildirmiştir. Dahası, en yüksek sayıda ekzosom, menstrüel döngünün luteal fazında uterus sıvısında gözlenir. Ekzosomların bol miktardaki kargo içerikleri, embriyo implantasyonunda özel rolleri olan fibulin1 (FBLN1), CYR61, CD55 ve heparan sülfat-

proteoglikan 2 (HSPG2) gibi proteinleri içerir. Uterusun bağışıklık ortamı, embriyo implantasyonunun başarısını sağlamada önemli bir rol oynar. Örneğin, sığır uterus yıkama sıvılarından (UF) türetilen ekzomal BTA-miR-98, bağışıklık sistemiyle ilişkili birkaç geni (Katepsin C, IL-6, Kaspaz-4 ve IKBKE) olumsuz yönde düzenler ve periimplantasyon döneminde konseptüsün endometriyal epitele bağlanmasını teşvik eder.

6.2. Embriyo implantasyonu

Yapılan bir çalışmada, endometriyum kaynaklı ekzosomların trofoblast hücrelerinin proliferasyonunu ve adezyonunu düzenleyerek implantasyonu desteklediği gösterilmiştir (**Şekil 6**). Trofoblast hücrelerine etki eden endometriyal epitel hücresi (EEC) kaynaklı ekzosomlara yanıt olarak; yüksek fibronektin üretimi, adezyon ka-

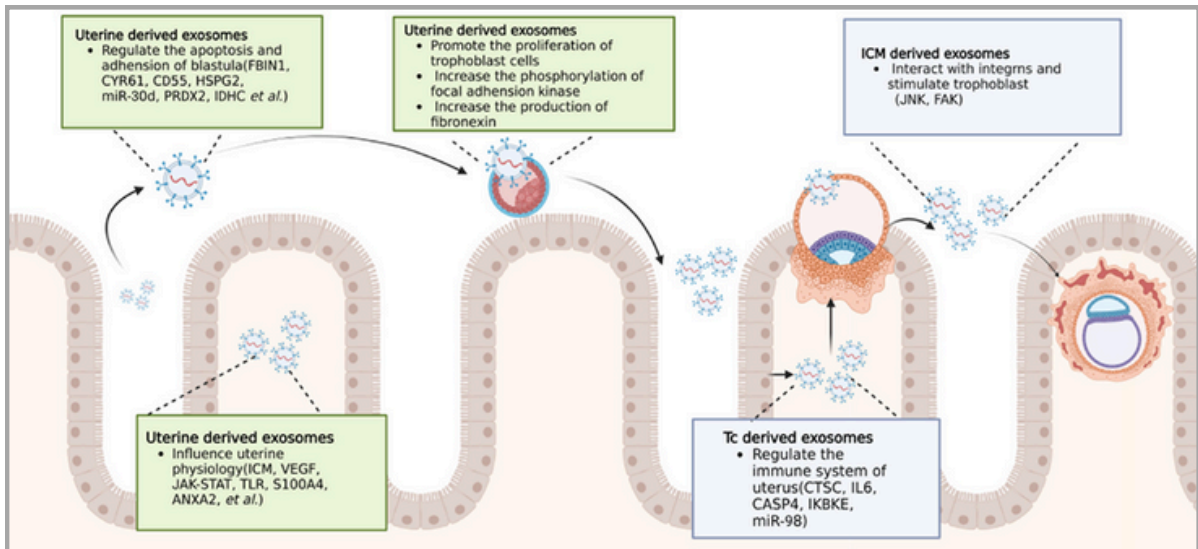
MAKALE ÖZETİ

biliyeti ile fokal adezyon kinazın ifadesinde ve fosforilasyonunda önemli derecede artış olduğu bildirilmiştir. Birkaç çalışma, maternal miRNA'ların preimplantasyon embriyosu için transkripsiyon regülatörü olarak hareket edebileceğini öne sürmüştür. Bir *in vitro* modelde, ekzosomal HSA-miR-30d'nin, fare embriyolarının trofoektodermi tarafından alınıp ve embriyo adezyonunda rol oynayan belirli molekülleri kodlayan genlerin (ITG β 3, ITG α 7 ve CDH5) dolaylı aşırı ekspresyonuna yol açtığı gösterilmiş. Buna ek olarak, başka bir çalışmada, EEC'lerden türetilen ekzosomların uterus fizyolojisini etkilediği ve embriyo implantasyonunu otokrin bir şekilde düzenlediği bildirildi.

Ekzosomal miRNA'ların, adezyon protein ailesinin üyelerini, hücre dışı matrisi (ECM), vasküler endotelial büyüme faktörünü (VEGF), JAK-STAT'ı ve Toll benzeri reseptör (TLR) sinyal yollarını hedefleyerek endometrial reseptiviteyi ve embriyo implantasyonunu modüle ettiği tah-

min edilmektedir. Proteomik bir analiz, fertil kadınların uterus sıvısından türetilen ekzosomların infertilite sorunu olan kadınlara kıyasla embriyo implantasyonunun bilinen öngörücülerini (PRDX2 ve IDHC), endometrial reseptiviteyi oluşturan molekülleri (S100A4, FGB, SERPING1, CLU ve ANXA2) ve implantasyon başarısına katkıda bulunan molekülleri (CAT, YWHAE ve PPIA) taşıdığını doğrulamıştır. Bir başka çalışmada, embriyo kaynaklı ekzosomlar, implantasyon aşamasında koyunların uterus sıvısında da tespit edilmiş ve bunlar ZP'den geçerek çevredeki kültür ortamına salındıkları gözlenmiştir.

Ekzosomlar, embriyonik kök hücrelerin kültür sıvısında ve çeşitli türlere ait *in vitro* kültür embriyolarında tespit edilmiştir. *In vitro* bir çalışma, ICM'den türetilen ekzosomal laminin ve fibronektinin, trofoblastların yüzeyleri boyunca bulunan integrinlerle etkileşime girdiğini ve Jun N-terminal kinaz (JNK) ve fokal adezyon kinazın (FAK) aktivasyonunu tetikleyerek trofoblast



Şekil 6. Embriyo implantasyonunda ekzosomların rolü. Embriyonun uterusu implantasyonu esas olarak endometriyum ile blastula arasındaki uygun iletişime bağlıdır. Blastula, ICM ve trofoblast hücrelerinden (Tc) oluşur. Çalışmalarda, endometriyal kaynaklı ekzosomların blastulanın apoptozunu ve yapışmasını düzenlediği, uterus fizyolojisini etkilediği, trofoblast hücrelerinin çoğalmasını desteklediği ve FAK fosforilasyonunu ve fibronexin üretimini artırdığı gösterilmiştir. Bunlara ek olarak embriyodan elde edilen ekzosomlar integrinlerle etkileşime girerek trofoblastı uyarır ve uterusun bağışıklık sistemini düzenler.

MAKALE ÖZETİ

hücrelerinin göçünü uyardığını göstermiştir. Sonuç olarak, ekzosomlarda bulunan çeşitli proteinler ve mikroRNA'lar, endometrial reseptivite ve embriyo implantasyonu gibi biyolojik süreçlerle ilişkilidir ki bu sebeple ekzosomlar endometrial reseptivite ve embriyo implantasyonunu modüle eden yeni biyobelirteçler haline gelmiştir (**Tablo 1**).

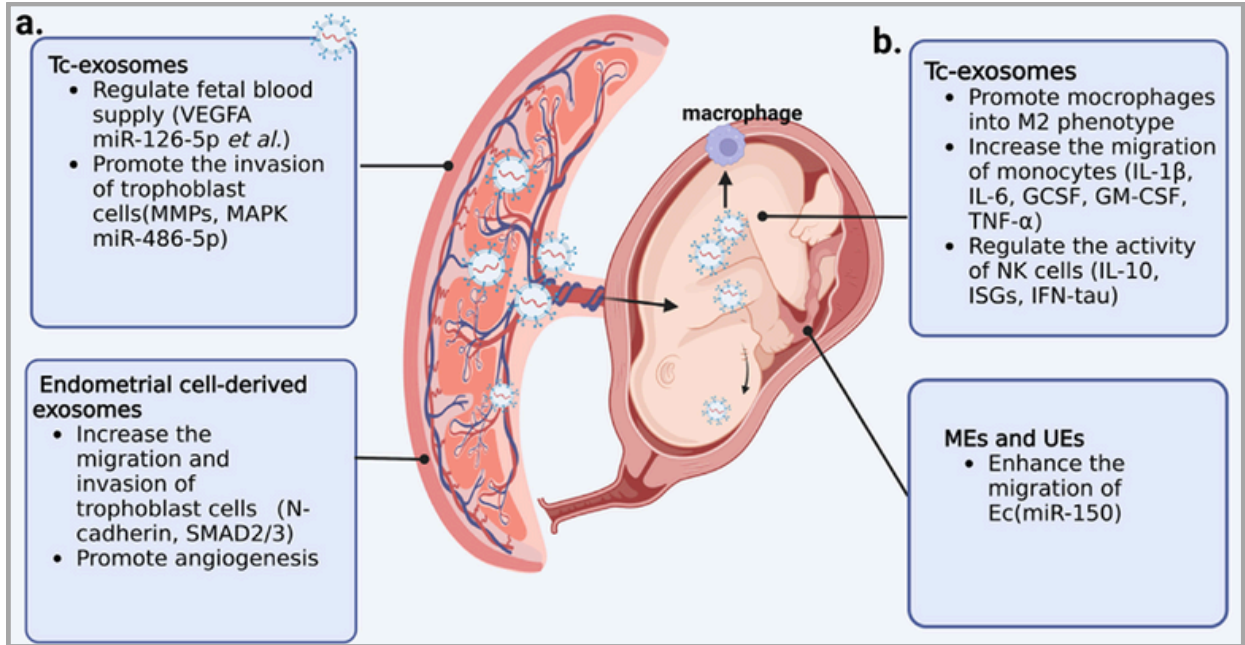
7. PLASANTASYONDA EKZOSOMLARIN ROLÜ

7.1. Plasental trofoblast hücrelerinden türetilen ekzosomların plasantasyondaki rolü

Plasenta, fetüs ile anne arasındaki besin alışverişi için geçici bir organdır ve plasental trofoblast hücrelerinin invaziv göçü, plasantasyon ile gebeliğin sürdürülmesinin temel unsurudur. Gebelik sırasında, çeşitli plasental hücre tipleri tarafından salgılanan (plasentadan türetilen) ekzosomlar (p-Exo) çeşitli büyüme faktörleri, DNA

fragmentleri, miRNA ve mRNA açısından zengindir ve bunlar maternal uterusun fizyolojik fonksiyonunu ve fetal gelişimi düzenlemede rol oynar (**Şekil 7A**). p-Exo salınımı, gebeliğin ilk üç ayında maternal dolaşımda sürekli olarak artar. p-Exo, maternal kanda gebelikten sonraki 6. haftaya kadarlık bir dönemde tespit edilebilir ve seviyeleri gebelik yaşıyla birlikte artar. Proteomik bir analiz, trofoblast hücrelerinden 282 ekzosomal proteinin izole edildiğini, bunlardan 147 proteinin ekzosom içinde olmayıp mikroveziküllerin plazma zarında ifade edildiğini göstermiştir. p-Exo, gebelik sırasında kan damarlarındaki değişiklikler yanı sıra plasental fonksiyon ve fetal büyümeyi de yansıtır.

Trofoblast hücrelerinden türetilen ekzosomlar (Tc-Exo), MMP'ler ve MAPK tarafından aracılık edilen ilgili sinyal yollarını aktive ederek villusun dışındaki trofoblast hücrelerinin invazyonu-



Şekil 7. Plasantasyon ve gebelikte ekzosomların rolü. (A) Trofoblast hücreleri (Tc) kaynaklı ekzosomlar, fetal kan tedarikini düzenlemede ve plasantasyon sürecinde trofoblast hücrelerinin invazyonunu teşvik etmede rol oynar. Aynı zamanda, endometriyal hücre kaynaklı ekzosomlar trofoblast hücrelerinin göçünü ve invazyonunu artırır, anjiyogenezi teşvik eder. (B) Gebelik sırasında, trofoblast kaynaklı ekzosomlar makrofajları M2 fenotipine teşvik eder, monositlerin göçünü artırır ve NK hücrelerinin aktivitesini düzenler.

MAKALE ÖZETİ

nu destekleyebilir. Plasental mikrovasküler endotel hücrelerinden türetilen ekzosomal miR-486-5p, IGF1'i hedefleyerek trofoblast hücrelerinin çoğalmasını ve invazyonunu düzenler. p-Exo, erken gebelik sırasında hipoksinin varlığında çeşitli mekanizmalar yoluyla anjiyogenezi indükleyebilir. Örneğin, insan plasentasından alınan mezenkimal kök hücrelerden (MSC) türetilen ekzosomlar, insan göbek kordonu endotel hücrelerinin (HUVEC) anjiyogenezi artırır. Diğer çalışmalar, maternal ve kordon kanı serumundan elde edilen ekzosomların, miR-210-3p, miR-376c-3p, miR-151a-5p, miR-296-5p, miR-122-5p ve miR-550a-5p dahil olmak üzere anjiyogenez ilişkili miRNA'ların taşınması yoluyla endotel hücrelerinin çoğalmasını, göçünü ve anjiyogenezi artırabileceğini göstermiştir. Gebeliğin üçüncü trimesteri sırasında p-Exo; VEGF-A, anjiyogenik uyarıcılar, vasküler büyüme faktörleri ve miRNA ları ileterek fetal kan tedarikini düzenleyebilir. Benzer şekilde, domuz trofoblast ektoderm hücrelerinden (PTE) türetilen ekzosomlar da anjiyogenezde önemli roller oynayan birkaç miRNA'yı taşır (örneğin miR-126-5p, miR-296-5p, miR-16 ve miR-17-5p).

7.2. Plasentasyonda endometrial hücrelerden türetilen ekzosomların rolü

Tüm bunların ötesinde stromal/desidual hücrelerden türetilen ekzosomlar plasentasyonda önemli araçlar olarak araştırmalara konu olmuştur.

İn vitro desidualize edilmiş endometrial stromal hücrelerden türetilen ekzosomlar trofoblast hücrelerinin migrasyonunu ve invazyonunu artırır. Bu ekzosomlar trofoblast hücrelerinde N-kadherin ekspresyonu ile SMAD2 ve SMAD3'ün fosforilasyonunu artırır. Stromal hücrelerden türetilen ekzosomlar endotel hücrelerine alınır ve anjiyogenezin düzenlenmesinde parakrin etki gösterir. Stromal hücrelerden türetilen ekzosomlar, insan göbek kordonu endotel hücrelerinin tüp oluşumunu in vitro olarak indükleyebilir. Epitel ve stromal hücrelerin ötesinde, endomet-

riyal mezenkimal stromal hücrelerden türetilen ekzosomlar, embriyolarda vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü-AA (PDGF-AA) gibi proanjiyogenik moleküllerin salınımını tetikler.

8. GEBELİĞİN SÜRDÜRÜLMESİNDE EKZOSOMLARIN ROLÜ

Neredeyse tüm türlerde, plasenta ve fetüs anenin bağışıklık sistemi saldırısından kaçınmasını sağlayan immünolojik bir ayrıcalıktan yararlanır. Bu nedenle, endometrial yatağın immünomodülasyon başarılı bir gebelik için çok önemlidir. Bir fare gebelik modelinde, desidudaki makrofajların, trofoblast hücrelerinin çoğalması için aktif ancak toleranslı bir immün mikroçevre oluşturduğu gözlenmiştir. Gittikçe artan çalışmalar, ekzosomların maternal uterusun bağışıklık toleransını düzenleyerek gebeliğin sürdürülmesindeki önemli rollerini ortaya koymuştur (**Şekil 7B**). Tc-Exo, desidual makrofajların M2 fenotipine diferansiyasyonunu regüle ederken öte yandan fetüse karşı maternal bağışıklık toleransını ve vaskülarizasyonu destekler. Monositlerin, endositoz yoluyla trofoblast hücrelerinden türetilen ekzosomları hızla alarak monositlerin göçünü teşvik ettiği; IL-1 β , IL-6, G-CSF, GM-CSF ve TNF- α üretimini artırdığı izlenmiştir. Embriyo kaynaklı ekzosomlarda tespit edilmiş olan progesteron kaynaklı blokaj faktörü (PIBF), CD4+ ve CD8+ periferik T hücrelerinin yüzeyine yapışarak IL-10 üretimini uyarır ve NK hücrelerinin aktivitesini düzenler. Başka bir çalışmada, gebe ve gebe olmayan kadınların serumundan elde edilen ekzosomların NK hücreleri tarafından alındığı ve daha sonra NK hücrelerinde kaspaz-3 aktivitesini artırdığı bildirilmiştir. Ek olarak, fonksiyonel Fas ligandı (FasL) ve TNF ile ilişkili apoptoz indükleyen ligand (TRAIL) da insan p-Exomu tarafından taşınmış ve bağışıklık hücrelerinin apoptozunu indükleyerek fetüse immün tolerans niteliği kazandırmıştır. Ruminant gebelik modellerinde, p-Exo tarafından interferon taşındığı ve gebeliğin sürdürülebilirliğinde rol al-

MAKALE ÖZETİ

Tablo 1. Üreme aktivitesinin farklı evrelerinde eksozomların ve kargolarının ilişkili fonksiyonları

Reproductive stage	Species	Biomarkers	Related function/pathway	Reference
oogenesis	Human	miR-337-5p, miR-370, miR-455-5p, miR-483-5p, miR-449a, miR-339-3p, miR-493, miR-542-5p, miR-874, miR-887, miR-886-5p, miR-654-3p, miR-503, miR-489, miR-31, miR-134, miR-190b, miR-10b, miR-95, miR-135b, miR-203, miR-21-5p, miR-99b-3p, miR-140-3p, miR-218	WNT MAPK ErbB TGFβ	[54,123]
		Bovine	miR-640, miR-654-5p, miR-873, miR-1272, has-let-7c, miR-21, miR-26b, miR-30b, miR-33a, miR-132, miR-155, miR-191, miR-451, miR-526b, miR-582-5p, miR-573, miR-491-5p, miR-450b-3p, miR-221, miR-373, miR-449b, miR-324-3p, miR-363, miR-199a-5p	ubiquitin-mediated pathway, neurotrophin signaling, MAPK signaling and insulin signaling pathways
	Horse	miR-24	Decrease the secretion of estradiol	[125]
		miR-132	Increase the secretion of estradiol	
			Regulate the secretion of hCG/LH in periovulatory granulosa cells	
			Show different between small and large follicles	
		miR-222	Increase the secretion of estradiol	
		miR-125	Express differently in large and small follicles	
		miR-19b	Express differently in large and small follicles	
		miR-199 miR-212	Mediate follicular-luteal transition	
Spermatogenesis	Human	miR-181a	Regulate the secretion of hCG/LH in periovulatory granulosa cells	[126]
		ELSPBP1	Prevent cellular proliferation	
		CRISP1	Enhance protection against oxidative stress, ROS removal, sperm capacitation	
		SPAM1	Regulate calcium channels in sperm membranes	
	Human	Ubiquitin	Regulate the interaction between sperm and oocyte	[127]
		ANXA2	Eliminate defective sperm	
		KIF5B	Promote membrane transport and fusion	
		LDHC, HK1, PNP, APRT, SLC2A14	Promote membrane transport and fusion	
		HIST1H2B, MSMB, MPO, MIF, KLK2	Ensure the release and function of exosomes	
			Promote spermatozoa's energy production	
Fertilization	Rat	PMCA4a	Promote sperm DNA organization, semen liquefaction, sperm-egg fusion	[130]
	Mice and Human	Izumo	Prevent premature sperm capacitation Modulate sperm-egg fusion	[131]
Early embryonic development	Mice	miR-21	Promote embryonic development on the 4-cell and 8-cell stages	[132]
			Adjust pluripotency	[133]
	Human	miR-290, miR-291, miR-292, miR-293, miR-294, miR-295	Promote embryonic development	[134]
		miR-372 miR-20a-5p, miR-20a-5p	Affect the development ability of blastula before implantation	[135]
Embryo implantation	Mice	miR-142-3p	Indicate blastocyst implantation failure	[136]
		Let-7a/g	Promote implantation Induce embryonic diapause	[75]
	Human	miR-21	Promote embryonic development	[137]
		miR-31	Promote endometrial receptivity	[138]
		miR-200	Inhibit proliferation and receptive ability	[139]
		HLA-G	Avoid maternal immune rejection of embryos mediate communication with target cells	[140]
Pregnancy	Bovine	Matrix metalloproteinase (MMP)	Affect the invasive ability of trophoblast cells	[141]
	Mice	miR-126	Remodel the uterine vasculature	[142]
	Human	Albumin, Apolipoprotein E, Apolipoprotein M, Eukaryotic translation elongation factor 2, ATPase, class V, type 10A, Group-specific component (vitamin D binding protein),HBD, Myosin heavy chain 9 (MYH9)	Promote the migration of vascular smooth muscle cells	[143]
		miR-520c-3p	Regulate partial steps of spiral artery remodelling	[144]
		B7-H1 (CD274), B7-H3 (CD276), human Leukocyte antigen-G5 molecules (HLA-G5)	Modify the maternal immunological environment	[145]
		miR-517b	Regulate tumor necrosis factor-mediated signaling	[146]
		miR-516b-5p, miR-517-5p, miR-518a-3p	Target the PI3K-Akt and the insulin signaling pathways	[147]
		Syncytin-2	Modulate immune response	[148]
		Heat shock protein family E (HSPE1)	Induce the differentiation of human CD4+T cells	[149]
		Bovine	miR-499	Target the Lin28B/let-7 signaling axis and maintain a slight proinflammatory profile

MAKALE ÖZETİ

dığı gözlenmiştir.

Ekzosomal miRNA'lar ayrıca gebelik sırasında birçok işlevin aracılığı olarak araştırmalara yön vermiştir. Bir in vitro modelde, plasenta kaynaklı ekzosomal BTA-miR-499'un, ineklerin ve diğer memelilerin erken gebelik döneminde maternal-fetal arayüzde Lin28B/let-7'yi hedef alarak nükleer faktör-KB'nin (NF-KB) aktivasyonunu inhibe ettiği görülmüştür. Maternal kaynaklı ekzosomlar (ME) ve göbek kordonundan kaynaklanan ekzosomlar (UE'ler) endotel hücrelerinin (EC'ler) göçünü büyük ölçüde artırır; bu da çoğunlukla ekzosomal miRNA'ların farklı ifade profillerine atfedilir. IUGR'lı domuzlarda anjiyogenez, göbek kordonu kaynaklı ekzosomal miR-150 ile ilişkilidir.

Uterustaki hücrelerin iletişimini düzenlemenin yanı sıra bazı çalışmalar, ekzosomal kargo içeriklerinin gebelik sırasında sistemik kan dolaşımı yoluyla fetüsten maternal uterus dokusuna taşınabileceğini göstermiştir. Örneğin, ekzosomal serum total bilirubin, normal gebelikte gebelik boyunca maternal dolaşıma salındığı; T ve NK hücrelerinin yanıtını engellemede immün düzenleyici bir role sahip olduğu öngörülmektedir.

9. BEKLENTİLER VE YETERSİZLİKLER

Çeşitli EV sınıfları arasında, ekzosomlar kargo içeriklerinin rastgele olmayıp düzenlenmiş olması ve hücre-hücre iletişimde önemli roller oynaması yönüyle ilgi çekmiştir. Ancak, bazı mikrokabarcıklar (100–1000 nm) çap olarak ekzosomlar (30–150 nm) kadar büyüktür ve bunları tamamen ayırmanın kesin bir yolu yoktur. Bu nedenle EV'ler literatürün büyük bölümünde yaygın olarak kullanılmaktadır. Mikroveziküller ile ekzosomları etkili bir şekilde ayırt etmek, mikroveziküller ile ekzosomların işlevlerini daha doğru bir şekilde anlayabilmek için acilen teknik bir araca ihtiyaç vardır.

Üreme organları tarafından hastalık koşulları altında salınan ekzosomlar ve bunların inklüzyonları, ilgili hastalıkların teşhisi için son derece önemlidir. Hepimizin bildiği gibi, üreme süreci karmaşık bir düzenleyici süreçtir; gametogenezden fertilizasyonun olgunlaşmasına, gebeliğin oluşması, tanınması, sürdürülmesi hatta doğuma ve emzirmeye kadar sinir, endokrin ve bağışıklık sistemleri tarafından çok merkezli olarak düzenlenir. Hormon merkezli endokrin regülasyon, aslında zaman ve mekânın dinamik bir değişimini yansıtır. Örneğin, östrus döngüsünün dört dönemi, zamana bağlı olarak farklı hormonlar tarafından düzenlenir. Şimdiye kadar yayınlanan literatürün çoğu, ekzosomların ideal bir ortamda üremedeki rolünü incelemiştir; ancak ekzosomların rolü üzerindeki sinir, endokrin ve bağışıklık durumlarının etkilerine ilişkin fazla açıklama yapılmamıştır. Üreme sürecinin düzenlenmesinde önemli rol oynayan nörolojik, endokrin ve bağışıklık durumlarının araştırmada tam olarak dikkate alınmasının gerekliliğine; reproduktif işaretleme ve infertilite tanısında gerçekten de ekzosomal biyobelirteçlerinin kullanılmasının, omikler gibi yeni nükleik asit ve protein teknolojilerinin yardımıyla derinlemesine taranması gerektiğine inanıyoruz.

Ekzosomların çeşitli fizyolojik ve patolojik işlemleri düzenlediği göz önüne alındığında, ekzosomların yüksek biyoyuymuluk ve düşük immünojenisite özelliklerinin yanı sıra plasenta bariyerini geçebilme yeteneklerinden yararlanılmalı. Hedefe yönelik moleküler yüzey modifikasyonunun daha fazla kullanılması, ilaç iletim sistemlerinin belirli üreme organlarına göre özelleştirilmesini mümkün kılacak ve bu da üreme ilacı geliştirme ve yeni tedavi yöntemleri alanında daha büyük bir rol oynayacaktır.

REFERANS

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590006423000686?via%3Dihub#cebibo010>

MAKALE ÖZETİ

BU MAKALEDE BİZLERE NE ANLATILMAYA ÇALIŞILDI?

Ekzosomlar günümüzde infertilite çalışmalarında da dahil olmak üzere pek çok alanda araştırmalara konu olmaktadır. Ekzosomlar bu popüleritesini; kolay elde edilebilir olması, hücre/doku/organ nakillerine göre immünite açısından daha uyumlu olması, birçok hücreden salınabilmesi ile neredeyse her ortamda kilit noktalarda mekanizmalara yön vermesine borçludur. Aynı zamanda hücre kültür ortamları ve gen teknolojisinin kullanıldığı ortamlarda içeriğinin modüle edilebilirliği sayesinde terapötik ajan olmaya uygun olması da popüleritesini destekleyen ve devam etmesini sağlayan ek özelliklerinden biridir.

Bu makalede çeşitli hücrelerden salınan ve reproduktif yaşama etki eden ekzosomlara değinilmiştir. Üreme ve gelişme basamaklarının her birinde (gametogenez, fertilizasyon, erken embriyonik gelişim, implantasyon, plasentasyon ve gebelik) ekzosomların yer alabildiği ve gerek inhibitör gerek indükleyici etki ile bu aşamaları regüle edebildiği gösterilmiştir.

Ekzosomların fertilite sürecinde genel olarak etki ettiği yerlere bakacak olursak ;

Spermatogenez; testisteki Sertoli hücreleri tarafından salınan ekzosomların sperm farklılaşması sırasında spermatogenik tübüllere girebileceğini öne sürülmüştür fakat ekzosomların testis dokusunda spermatogenez ve olgunlaşmadaki rolü hakkında çok az rapor bulunmaktadır. (Keşfedilmeye açık alanlardan biri)

Spermiotelozis; Sertoli hücresi, epididimis, prostat, seminal vezikül kaynaklı ekzosomlar semene katkıda bulunur. Seminal plazmadan kaynaklanan ekzosomlar spermatogenez, modifikasyon süreci ve fertilizasyonun düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Epididimal kaput, korpus ve kauda kaynaklı ekzosomal proteinlerin sperm hareketliliği, zona pellucida bağlanması, akro-

zom reaksiyonu ve teratospermi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Erkek genital kanal boyunca salgılanan bazı ekzosomal içerikler, protein kinaz C aktivasyonu ile cAMP artışına neden olarak hücre içi Ca²⁺ konsantrasyonunun düzenlenmesi ile sperm kuyruğu mobilitesinde düzenleyici rol oynar. Dişi genitalde semene eklenen ekzosomlar ile bağışıklık yanıtı düzenlenir, uNK aktivitesi ve interferon- γ (IFN- γ) salgılanması azaltılabilir. Ekzosomlar T hücresi farklılaşmasını down regüle ederek dişi genital kanalındaki spermatozoaları korurlar. Aynı zamanda ortamın asit-baz dengesinin korunmasında da rol alırlar.

Oogenez; over kaynaklı ekzosomların oosit matürasyonu ile kümülüs ve granüloza hücrelerinin proliferasyonunu teşvik ettiği, fallop tüpü kaynaklı ekzosomların oositi ısı stresinden koruyabildiği görülmüştür. Aynı zamanda fallop kanalından türetilen ekzosomlar (Oc-Exo) hücre yoğunluğu, canlılık ve proliferasyon dahil olmak üzere kümülüs hücrelerinin fizyolojik durumunu iyileştirebilir ve reaktif oksijen türlerinin birikimini ve apoptoz oranını azaltabilir. Total etkiye bakacak olursak fonksiyonel bir oosit oluşumu için gerekli koşulları sağlarlar.

Fertilizasyonun düzenlenmesi; sperm dölleni için gerekli olan ve kümülüs hücresini geçebilme yeteneğini artıran transmembran proteinleri ekzosomal içerikle taşınır. Kadın genital kanal yolculuğunda sperm maruz kaldığı ekzo-somal içerik zona pellucidayı sertleştirerek poli-spermiyi engeller, sperm hareketliliğini iyileştirir, erken sperm kapasitasyonunu önler. Ayrıca uygun zamanlarda tirozin fosforilasyonunun indüksiyonunu artırarak sperm kapasitasyonunu destekleyip akrozom reaksiyonunu tetikler. Yine bu süreçte rol alan ekzosomlar sperm-oosit füzyonunda rol alan tetraspaninlerin transferi ve füzyon sırasındaki moleküler değişimleri regüle eder. Ekzosomların üreme hormonlarına etkisi henüz tam olarak anlaşılammıştır.

MAKALE ÖZETİ

Erken embriyonik gelişimde; Fallop kanalı epitel hücrelerinden izole edilen in vitro ekzosomların, embriyo gelişimi ve kalitesi üzerine olumlu etki ettiği gösterilmiştir. Buradaki ekzosomlar blastula uygun implantasyon bölgesine ulaşana kadar blastulanın adezyonunu engeller. İn vitro ve in vivo çalışmalar implantasyon penceresi sırasında, insan endometriyum epitelinden türetilen ekzosomların özgül miRNA'lar taşıdığını ve bu ekzosomal miRNA'ların endometriyumdan embriyolara da geçebildiğini bildirmiştir. Somatik hücre nükleer transferi (SCNT) embriyolarının diğer SCNT embriyolarından türetilen ekzosomlara maruz bırakılması blastosist oluşum oranını artırmıştır.

Endometriyal reseptivitenin oluşması; Bir çalışma, implantasyon öncesi aşamada uterus sıvısından türetilen ekzosomların varlığında hücre apoptozunda rol oynayan proteinlerin daha yüksek miktarda olduğunu bildirirken, implantasyon aşamasında uterus sıvısından türetilen ekzosomların varlığında hücre adezyonunda rol oynayan proteinlerin daha yüksek miktarda olduğunu bildirmiştir. Sığır uterus yıkama sıvılarından (UF) türetilen ekzomal BTA-miR-98, bağışıklık sistemiyle ilişkili birkaç geni (Katepsin C, İnterlökin-6, Kaspaz-4 ve IKBKE) olumsuz yönde düzenler ve periimplantasyon döneminde konseptüsün endometriyal epitele bağlanmasını teşvik eder.

Embriyo implantasyonu; endometriyum kaynaklı ekzosomların trofoblast hücrelerinin proliferasyonunu ve adezyonunu düzenleyerek implantasyonu desteklediği gösterilmiştir. EEC'lerden türetilen ekzosomların uterus fizyolojisini etkilediği ve embriyo implantasyonunu otokrin bir şekilde düzenlediği bildirilmiştir. Ekzosomlarda bulunan çeşitli proteinler ve miRNA'lar, endometrial reseptivite ve embriyo implantasyonu gibi biyolojik süreçlerle ilişkilidir ki bu sebeple ekzosomlar endometrial reseptivite ve embriyo implantasyonunu modüle eden yeni biyobelirteçler haline gelmiştir.

Plasentasyon; İn vitro desidualize edilmiş endometrial stromal hücrelerden türetilen ekzosomlar trofoblast hücrelerinin migrasyonunu ve invazyonunu artırır. Bu dönemde salınan ekzosomlar; trofoblast hücrelerinin invazyonunu destekleyebilir, maternal uterusun fizyolojik fonksiyonunu ve fetal gelişimi düzenlemede rol oynayabilir, anjiogenezi düzenleyebilirler.

Gebeliğin sürdürülmesi; Gittikçe artan çalışmalar, ekzosomların maternal uterusun bağışıklık toleransını düzenleyerek gebeliğin sürdürülmesindeki önemli rollerini ortaya koymuştur. Tc-Exo, desidual makrofajların M2 fenotipine diferansiyasyonunu regüle ederken öte yandan fetüse karşı maternal bağışıklık toleransını ve vaskülarizasyonu destekler. Ayrıca bu dönemdeki ekzosomlar, bağışıklık hücrelerinin apoptozunu indükleyerek fetüse immun tolerans niteliği kazandırmıştır.

Sonuç olarak ekzosomlar, reproduktif sürecin her aşamasında birden fazla hücreden salınarak yer almakta ve bu sürecin sağlıklı işleyişi için oldukça önem arz etmektedirler. Fakat hücre dışı içeriklerin çeşitliliği nedeniyle ekzosomal içeriklerin biyolojik süreçlere olan etkilerinin birçoğu, tam mekanizmalarıyla anlaşılammış olup gelecekte çözülmeyi beklemektedir.

MAKALE ÖZETİ

Review > Hum Reprod Update. 2023 Mar 1;29(2):177-196. doi: 10.1093/humupd/dmac037.

SARS-CoV-2, fertility and assisted reproduction

Baris Ata ^{1 2}, Nathalie Vermeulen ³, Edgar Mocanu ⁴, Luca Gianaroli ⁵, Kersti Lundin ⁶, Satu Rautakallio-Hokkanen ⁷, Juha S Tapanainen ^{8 9}, Anna Veiga ¹⁰



Hazırlayan:

Dr. Öğr. Üyesi Derya ÖZTÜRK OKATAN

KTÜ Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ABD

SARS-CoV-2, Doğurganlık ve Yardımla Üreme

ESHRE COVID-19 çalışma grubu, SARS-CoV-2, COVID-19 ve COVID-19 aşılmasının doğurganlık ve yardımla üreme üzerindeki etkisine ilişkin mevcut verileri ve bilgileri özetledi. Yapılan çalışmada COVID-19'un kadın üreme organları, gametler ve endokrin fonksiyonu üzerine etkisi; erkek üreme organları, gametler ve endokrin fonksiyonu üzerine etkisi, embriyolar üzerine ve ÜYTE sonuçlarına etkisi ile COVID-19 aşısının insanda üreme üzerine gözlenen sonuçları özetlenmiştir.

Koronavirüsler, viral spike (S) proteininin hücre reseptörlerine bağlanması ve S proteininin

hazırlanması üzerine konak hücre proteazları tarafından konak hücrelere girer. SARS-CoV-2, hücreye bağlanmak ve virüs-hücre füzyonu için anjiyotensin converting enzim 2 (ACE2) reseptörünü ve hücre proteazı tip II transmembran serin proteazı (TMPRSS2) kullanır. Bu şunu gösteriyor ki, ACE2 ve TMPRSS2'nin birlikte ekspresyonu, hücrelerin enfeksiyona yatkın olma potansiyelini öngörebilir. SARS-CoV-2 viral girişi için bir başka olası mekanizma da (diğerleri tarafından doğrulanmamış), CD147 veya Basigin reseptörü (BSG) aracılığıyla ve proteaz olarak sistin proteaz katepsin L (CTSL) aracılığıyla gerçekleşmektedir.

MAKALE ÖZETİ

COVID-19'un kadın üreme organları, gametler ve endokrin fonksiyonu üzerindeki etkisi

Çeşitli çalışmalar SARS-CoV-2 virüsünün kadın üreme fonksiyonlarını ve dolayısıyla potansiyel olarak kadın doğurganlığını etkileyebileceğini göstermektedir. Virüsün konak hücrelere ACE2/TMPRSS2 yolu ya da BSG/CTSL yolu üzerinden girdiği gösterilmiştir. Bu mekanizmaların her ikisi de folikül gelişimi ve korpus luteum oluşumu sırasında endometriyal ve yumurtalık fonksiyonuna aracılık etmede rol oynayabilir.

Kadın alt genital sistemi üzerindeki etkisi

Nazofarengeal SARS-CoV-2 PCR testi pozitif olan 38 kadından alınan vajinal örneklerin değerlendirilmesinde, örneklerin hiçbirinde virüs tespit edilmemiştir. Bu bulgular, şiddetli COVID-19 pnömonisi olduğu doğrulanmış 10 kadından alınan vajinal sıvıyı, COVID-19 pozitif 35 kadından alınan serviko-vajinal sekresyonları COVID-19 semptomlarının başlamasından sonraki 8 ila 41 gün arasında 35 kadından alınan vajinal sıvı ve servikal pul pul dökülmüş hücreleri değerlendiren çalışmalarla da desteklenmiştir. Bu yayınlar, virüsün kadınlardan erkeklere vajinal ilişki yoluyla bulaşma riskinin düşük olduğunu göstermektedir. Bununla birlikte, çelişkili sonuçlar da bildirilmiştir. İki çalışmada, COVID-19 pozitif hastalardan alınan 35 vajinal örneğin 2'sinde (%5,7) ve akut COVID-19'lu kadınlardan alınan 80 vajinal sürüntü örneğinin 10'unda SARS-CoV-2 RT-PCR-pozitif sonuçlar bildirilmiştir. Üçüncü bir çalışmada SARS-CoV-2 tespiti için transkripsiyon aracılı amplifikasyon kullanılmış ve 61 vajinal örneğin 5'inde (%8,2) ve 38 servikal sürüntü örneğinin 4'ünde (%10,53) viral varlık bulunmuştur.

Kadın üst genital sistemi ve oositler üzerindeki etkisi

Mevcut scRNA-seq veri kümelerinden, fallop

tüpünde ACE2 ve TMPRSS2'nin birlikte ekspresyonu bildirilmiştir. Plasentada ACE2'nin protein ifadesinin yanı sıra yüksek mRNA ifadesi de bildirilmiştir. Histerektomi geçiren hastalardan alınan üreme dokuları incelendiğinde, myometriyum, uterus, yumurtalıklar veya fallop tüplerinde ACE2'nin TMPRSS2 veya CTSL ekspresyonu ile birlikte ekspresyonu bulunmamıştır. Bir başka analiz, endometriyumun stromal veya epitel hücrelerinde ACE2'nin önemli bir ekspresyonunun olmamasına ve embriyo implantasyonu sırasında ACE2 ve TMPRSS2'nin birlikte ekspresyonunun olmamasına dayanarak endometriyum için SARS-CoV-2 enfeksiyonunun düşük etkinliğini bildirmiştir. Gen ekspresyonu verilerinin 112 hastayı kapsayan 5 çalışmadan birleştirilmesi, endometriyumda ACE2'nin düşük ekspresyonunu, TMPRSS2'nin orta ekspresyonunu ve sınırlı birlikte ekspresyonunu doğrulamıştır. Henarejos-Castillo ve ark. ile Vilella ve ark. çalışmalarında da BSG'nin endometriyumda yüksek oranda eksprese edildiğini bildirmiştir, ancak BSG mekanizmasının viral enfeksiyonla ilgisi konusunda hemfikir değillerdir.

Endometriyal örneklerin SARS-CoV-2 RNA içerdiği tespit edilmemiştir. Oosit alımından <48 saat önce SARS-CoV-2 nazofarengeal RNA testi pozitif çıkan 16 kadından alınan foliküler sıvı ve kümülüs hücreleri de incelenmiş, örneklerin hiçbirinde viral RNA tespit edilmemiştir. Ayrıca, OPU sırasında alınan endometriyal biyopsilerde histopatolojik değişiklik görülmemiştir. Yazarlar, çalışmanın yalnızca az sayıda hastayı içermesi, hiçbirinin ciddi COVID-19 semptomları göstermesi ve hepsinin farklı viral yüklere sahip olması nedeniyle sonuçlarının dikkatle değerlendirilmesi gerektiğine dikkat çekmişlerdir. Ayrıca, testler nazofarengeal örnekler için onaylanmış bir teknikle gerçekleştirilmiştir. Yine de, diğer çalışmalar SARS-CoV-2-pozitif kadınlardan alınan foliküler sıvıda virüsün bulunmadığını doğrulamıştır. ScRNA-seq veri seti araştırmasına dayanarak, uterusun SARS-CoV-2 enfeksiyonu açısından düşük risk altında olduğu düşünülmektedir.

MAKALE ÖZETİ

Over foliküler hücrelerinde (kümülüs ve granüloza hücreleri), BSG ve CTSL mRNA ekspresyonu, düşük miktarda BSG ve CTSL proteinlerinin birlikte ekspresyonunu göstermiştir. ACE2 mRNA ve protein ekspresyonunun, hCG uygulamasından sonra insan ovulatuvar foliküllerinde upregulasyon olduğu bildirilmiştir. Yumurtalık foliküllerini ve işlevlerini etkileyen SARS-CoV-2 enfeksiyonu mümkün görünmektedir ve yakın zamanda, en azından laboratuvarında, granüloza ve kümülüus hücrelerinin SARS-CoV-2 ile birlikte kültürü yoluyla doğrulanmıştır. ART uygulanan, semptomları olmayan veya hafif semptomları olan 16 COVID-19-pozitif kadından alınan kümülüus hücrelerinde SARS-CoV-2 viral RNA'sı bulunmamıştır. ACE2 ve TMPRSS2'nin birlikte ekspresyonu, insan yumurtalık korteksi ve medullasında ve scRNA-seq veri setlerine dayalı oositlerde de bildirilmiştir. Oositlerde, ACE2 ve TMPRSS2'nin birlikte ekspresyon derecesi olgunlukla birlikte artmıştır.

ScRNA-seq veri setlerinin kullanıldığı bir başka çalışmada, ACE2'nin esas olarak antral foliküllerin oositlerinde, antral foliküllerin granüloza hücrelerinde ve ovulasyon öncesi foliküllerde gametogenez sırasında eksprese edildiği, TMPRSS2'nin ise oositlerde veya granüloza hücrelerinde daha düşük ekspresyona sahip olduğu bildirilmiştir.

Araştırma için bağışlanan insan primer oositlerinin immünohistokimya ve konfokal mikroskopi çalışmaları, insan oositlerinde ACE2 ve BSG'yi görselleştirmiş ve oolemmada BSG'nin varlığını ve ACE2'nin yokluğunu ortaya koymuştur. Ancak başka bir çalışmada, BSG proteini oositlerde tespit edilmemiştir. SARS-CoV-2-pozitifken (PCR testi) over stimülasyonu ve oosit toplama işlemi yapılan iki kadından alınan 16 olgun oositin değerlendirilmesi, oositlerin hiçbirinde viral RNA olmadığını göstermiştir.

Sonuçlar

- Virüsün vajinal ilişki yoluyla bulaşma riski düşüktür.
- Miyometriyum, uterus, yumurtalıklar veya fallop tüplerinde ACE2 ve TMPRSS2'nin birlikte ekspresyonu yoktur, bu da SARS-CoV-2 enfeksiyonuna karşı duyarlılığın olmadığını veya çok düşük olduğunu gösterir.
- Oositler SARS-CoV-2 enfeksiyonuna duyarlı olmak için reseptör/proteaz mekanizmasına sahip gibi görünmektedir, ancak oositlerde viral RNA şimdiye kadar tespit edilmemiştir.

Önerilen gelecek araştırmalar

- Yayınlanan scRNA-seq veri setlerine dayalı olarak bildirildiği üzere SARS-CoV-2 için giriş faktörlerinin birlikte ekspresyonu, enfekte has-taların doku ve hücrelerinin değerlendirilmesiyle doğrulanmış mıdır?
- SARS-CoV-2 oositleri enfekte edebilir mi?

COVID-19: Over rezervi ve foliküler fonksiyon üzerindeki etkisi

Over rezervi ve cinsiyetle ilişkili hormonlardaki (sex-related hormones) değişiklikler teorik olarak SARS-CoV-2 gibi viral enfeksiyonlardan kaynaklanabilir ve fertilite ve fekundite üzerinde potansiyel bir etkiye sahip olabilir. Çalışmalar COVID-19'lu kadınlarda anti-Müllerian hormon (AMH), antral folikül sayısı (AFC), folikül stimüle edici hormon (FSH), luteinize edici hormon (LH), östradiol, prolaktin ve testosteron seviyelerini değerlendirmiştir. FSH, LH, östradiol ve AMH'nin erken foliküler faz serum seviyeleri, COVID-19 nedeniyle hastaneye yatırılan kadınlar ve kontroller arasında benzerdi. Benzer şekilde, asemptomatik kadınlarda (ART döngüsünün başında COVID-19 testi pozitif veya negatif çıkanlar) son 12 ay içinde ölçülen AMH düzeyleri ile

MAKALE ÖZETİ

ART döngüsüne başlarken ölçülen AMH düzeyleri arasındaki fark benzerdi. Buna karşılık, aynı yaştaki 151 sağlıklı kontrolle karşılaştırıldığında, COVID-19'lu 78 kadında anlamlı derecede düşük serum AMH düzeyleri rapor edildi. Bu çalışmada ayrıca COVID-19 hastalarında daha yüksek FSH, prolaktin ve testosteron seviyeleri bildirilmiştir. Bu, viral enfeksiyonla ilişkili hipofiz ve yumurtalık fonksiyon bozukluğunu akla getirdi, ancak çalışmanın sonuçları, hastalar ve kontroller arasındaki numune toplama zamanındaki (yani adet döngüsünün farklı evresi) farklılıktan etkilenmiş olabileceğinden bu sonucun geçerliliği henüz doğrulanmamıştır. COVID-19 öncesi ve sonrasında açıklanamayan infertilitesi olan 132 kadında over parametrelerini değerlendiren gözlemsel bir çalışma, serum AMH, FSH, LH, FSH/LH oranı veya östradiol seviyeleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını bildirmiştir. Bu çalışmada, iki değerlendirme arasında ortalama dokuz ay vardır. Güven verici olmakla birlikte, bu sonuçlar COVID-19 testleri hiç pozitif çıkmayan veya herhangi bir semptom bildirmeyen 34 kadın ile COVID-19 semptomları olan ve testleri en az bir kez pozitif çıkan 46 kadının karşılaştırıldığı bir çalışma ile kısmen doğrulanmıştır.

Diğer çalışmalarda olduğu gibi, ovulasyonun tetiklendiği gün serum östradiol, bazal serum östradiol, bazal serum progesteron, AMH veya AFC düzeylerinde gruplar arasında fark bulunmamıştır. Bununla birlikte, çalışmada COVID-19 grubundaki kadınların foliküler sıvı interlökin-1 beta ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) seviyelerinin önemli ölçüde daha düşük olduğu da bildirilmiştir. COVID-19 hastalarından alınan foliküler sıvı, steroidojenik akut düzenleyici protein, östrojen reseptörü beta ve VEGF ekspresyonunda azalma ve kültürlenmiş granuloza hücrelerinden DNA hasarının bir belirteci olan γ H2AX ekspresyonunda artış göstermiştir. Benzer şekilde, endotel hücre kültürlerinin COVID-19 hastalarından alınan foliküler sıvı ile muamele edilmesi, hücre göçünün önemli ölçüde azalmasına ve γ H2AX ekspresyonunun artmasına

neden olmuş, ancak VEGF ekspresyonu veya hücre proliferasyonu etkilenmemiştir. Foliküler sıvıda orta veya yüksek SARS-CoV-2 IgG seviyelerine sahip kadınlarda, düşük antikör seviyelerine sahip kadınlara kıyasla önemli ölçüde daha az (olgun) oosit toplanmıştır. Ancak yazarlar, farklı foliküler sıvı antikör seviyelerine sahip kadınların yaş, BMI, AFC ve AMH gibi temel özellikler açısından benzer olup olmadığını bildirmemiştir. Kontrollerle karşılaştırıldığında, COVID-19 grubunda 35 yaşın üzerindeki kadınlardan önemli ölçüde daha az oosit toplanmıştır, ancak daha genç yaş grubunda (<35 yaş) fark bulunmamıştır. Buz moleküler bulgular ilgi çekici olmakla birlikte, dölleme, bölünme, blastulasyon, öploidi, gebelik ve canlı doğum oranları gibi daha önemli olan embriyolojik ve klinik sonuçlar rapor edilmemiştir. Diğer çalışmalar, COVID-19 sonrası ART'ye giren tüm kadınların foliküler sıvısında viral antijenlerin değil SARS-CoV-2 IgG antikörlerinin varlığını doğrulamıştır ancak steroidogenez veya LH/hCG tetikleyicisine foliküler yanıt olarak ölçülen foliküler fonksiyon üzerinde herhangi bir etkisi olmamıştır.

Tartışma

Çoğu çalışma COVID-19'un yumurtalık rezervi, yumurtalık fonksiyonu veya foliküler sıvı parametreleri üzerinde önemli bir etkisi olduğunu bildirmemiştir.

MAKALE ÖZETİ

Andrologia / Volume 2024, Issue 1 / 3802703

Research Article | [Open Access](#) | [CC](#) [i](#)

Clinical Pregnancy and Live Birth Outcomes after Intracytoplasmic Injection of Fresh versus Frozen Testicular Sperm

Yuqin Zhu, Nengyong Ouyang, Xiaohui Ji, Qingxue Zhang✉, Haijing Zhao✉

First published: 20 April 2024

<https://doi.org/10.1155/2024/3802703>



Hazırlayan:

Uzm. Dr. Canan Canlı

Kayseri Şehir Hastanesi

ÜYTEM Laboratuvar Sorumlusu

Fresh ve Frozen Testis Sperminin İntrasitoplazmik Enjeksiyonundan Sonra Klinik Gebelik ve Canlı Doğum Sonuçları

ÖZET

Bu çalışma frozen testis sperminin potansiyelini araştırırken aynı zamanda fresh veya frozen testis sperminin intrasitoplazmik enjeksiyonunun klinik gebelik ve canlı doğum sonuçlarını retrospektif analiz etmektedir. Çalışmaya Ocak 2017-Aralık 2021 yılları arasında intrasitoplazmik sperm enjeksiyonunda (ICSI) fresh veya frozen testis spermi kullanılan 468 infertil çift dahil edilmiştir. Gruplar fresh testis spermi kullanılanlar (n=324) ile frozen testis spermi kullanılanlar (n=144) olarak ikiye ayrılmıştır. Sonuçlarda fertilizasyon oranı, embriyo gelişimi, klinik sonuçlar ve yenidoğan doğum parametreleri değerlendirilmiştir. İki grup arasında 2PN, 3. gün (G3) embriyo, yüksek kaliteli embriyo, blastosist oluşum, klinik gebelik, canlı doğum ve erken doğum oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Preterm doğum oranı frozen ICSI grubunda, fresh ICSI grubundan daha düşük olsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir (%5,6'ya karşı %15,1). İki grup arasında klinik gebelik ve doğum sonuçları ile yenidoğan doğum parametrelerinde farkedilebilir bir ayrım olmamıştır. Bu bulgular frozen testis sperminin pratik değer taşıdığını ve klinik pratikte dikkate alınması gerektiğini göstermektedir.

MAKALE ÖZETİ

1. GİRİŞ

Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT), doğal yollardan gebelik elde edemeyen çiftlere tıbbi müdahalelerle umut olmuştur ve bu çiftlerin %50'sinin etyolojisinde erkek kaynaklı nedenler bulunmaktadır. Erkek infertilitesi araştırmalarında fare modellerinde çeşitli antihipertansif ilaçların rolü olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle antihipertansif ilaç seçimlerinde erkek hastaların üreme sağlığı dikkate alınmalıdır. Düşük testosteron konsantrasyonları olan erkeklerde enflamatuvar ve mikrobiyal formlarda erkek aksesuar bez iltihabı ve sperm kalitesinde bozulma görülmektedir. Ejaküle semen örneğinde yüksek lökosit varlığı, akrozom ve çekirdek dahil spermin yapısal bütünlüğünü olumsuz etkilemektedir.

Azoospermi (ejaküle edilen semen örneğinde spermin bulunmaması), infertil erkeklerin %5-10'unu oluşturur. Testis sperm ekstraksiyonu (TESE) ile ICSI entegrasyonu erkeğin azospermik olduğu çiftlerde gebelik sağlanması için umut verici yöntemlerdir. TESE ve oosit toplama (OPU) işlemlerinin eş zamanlı yapılabilmesi, TESE ile elde edilen fresh spermlerin ICSI'de kullanılmasının ardından fazla spermlerin sonraki sikluslar için dondurularak saklanabilmesiyle tekrarlayan testis biyopsilerinin yapılmasının önüne geçer.

ICSI uygulamalarında TESE ile elde edilen taze ve dondurulmuş spermler arasındaki sonuçları karşılaştıran çalışmalar olsa da mevcut çalışmalarda kapsamlı yenidoğan doğum parametreleri ve embriyolojik gelişimi gösteren parametreler eksiktir. Bu çalışma, fresh ve frozen testis sperminin kullanıldığı ICSI uygulamalarında klinik gebelik ve canlı doğum sonuçlarını da karşılaştırarak literatüre katkı sağlamayı amaçlamıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Çalışma Popülasyonu

Ocak 2017 ile Aralık 2021 yılları arasında TESE ile elde edilen taze veya dondurulmuş spermler kullanılarak ICSI uygulamalarına giren hastaların verileri toplandı. Dahil etme kriterleri şu şekildedeydi: **(i)** azospermi tanısı almış erkekler; **(ii)** şiddetli oligozoospermi veya astenozoospermi tanısı almış erkekler; **(iii)** oligoozoospermi veya astenozoospermi tanısı almış erkekler; **(iv)** tekrarlanan sikluslar dahil tüm sikluslar. TESE ile elde edilen fresh veya frozen spermlerle birlikte ICSI'yi içerenler; **(v)** otolog fresh testis spermi; **(vi)** otolog frozen testis sperminin kullanımı.

Dahil etmeme kriterleri: **(i)** geleneksel In Vitro Fertilizasyon (IVF), kısa süreli fertilizasyon, yarım-ICSI veya preimplantasyon genetik test sikluslarına giren hastalar; **(ii)** in vitro matürasyonu içeren sikluslar; **(iii)** oosit vitrifikasyonunu içeren sikluslar; **(iv)** konvansiyonel IVF'de belirsiz nedenlerle total dölllenme başarısızlığı yaşanan önceki sikluslar; **(v)** oositlerin zona pellusidalarında tırtıklı/mumsu anormallikleri olan önceki sikluslar; **(vi)** donör fresh sperm kullanımı; **(vii)** donör frozen sperm kullanımı. Toplam 468 siklus analiz edildi ve 324'ü fresh testis spermi grubuna, 144'ü frozen testis spermi grubuna dahil edildi.

2.2. Testiküler Sperm Hazırlığı

Testis dokuları perkütan testis sperm aspirasyonu yoluyla parsiyel olarak elde edildi ve kültür ortamı içeren bir petriye yerleştirildi. Testiküler sperm hazırlama adımları: **(i)** Testis dokusu 1 ml hacimli bir şırınga ile parçalandı ve motil spermler mikroskopla incelendi. Daha sonra, petri en az 30 dakika inkübatörde bekletildi. **(ii)** Sedi-mentasyon: Tüm testis dokusu süspansiyonu konik tabanlı santrifüj tüpüne alındı ve 8-10 dakika sonra, sıvının üst tabakası yeni bir konik tabanlı santrifüj tüpüne aktarıldı. **(iii)** Santrifüjleme: Tutulan üst tabaka sıvısı 300 g'de 10 dk santrifüjlendi. Santrifüjlemenin ardından, üstteki sıvı atılarak dipte kalan 0,1 ml kısım bırakıldı.

MAKALE ÖZETİ

Dipte kalan bu kısım iyice karıştırıldı ve daha sonra kullanılmak üzere inkübatöre yerleştirildi.

2.3. Testiküler Spermilerin Dondurulması ve Çözülmesi

Testis biyopsisinden elde edilen veya ICSI işleminden sonra kalan fresh testis spermini dondurmak için mikro-vitrifikasyon kullanıldı. İşlem sırası: **(i)** Steril bir strawın ön ucu keskinleştirildi. **(ii)** Köpük kutu, 5 cm boşluk kalana kadar sıvı nitrojen ile dolduruldu. **(iii)** 0,1 ml hacminde sperm içeren sedime eşit hacimde sperm dondurma solüsyonu eklenerek karıştırıldı. **(iv)** Bu karışımdan yaklaşık 20 µl steril strawın ön ucuna damlatıldı ve sıvı nitrojen buharına maruz bırakıldı. **(v)** Yaklaşık 40 sn sonra karışım beyazlaştı ve katılaştı. Daha sonra sıvı nitrojene yerleştirildi ve saklama için strawın dış kılıfı ile kapatıldı. Dondurulmuş testis spermeleri daha sonra kullanılmak üzere sıvı nitrojende saklandı.

Çözme prosedürü: **(i)** Dondurulmuş testis spermi içeren straw sıvı nitrojenden hızla çıkarıldı ve yaklaşık 10 saniye 37°C'de yağa daldırıldı. **(ii)** Dondurulmuş testis spermi pipet ile ICSI dishindeki bir droba taşındı. **(iii)** Yaklaşık 15-20 dakika sonra motil sperm, sonraki ICSI işleminde kullanılmak üzere mikroskop ile gözlemlendi.

2.4. Fertilizasyon, Embriyo Kültürü ve Değerlendirme

OPU'dan sonra taze veya dondurulmuş testis spermeleri ICSI işleminde kullanıldı. ICSI'den 16-20 saat sonra zigotlarda iki pronükleus ve ikinci polar body görülmesi normal döllenme olarak tanımlandı. Zigotlar 1. gün (D1) G1-plus medium, 3. gün (D3) G2-plus medium içeren kültür ortamlarında, %5 O₂ ve %6 CO₂ şartlarını sağlayan inkübatör içinde kültüre edildi.

Bölünme evresindeki embriyolar İstanbul Konsensus'u kriterlerine göre değerlendirildi. Puan-

lamada sırasıyla hücre sayısı, hücre boyutu ve fragmantasyonu temsil eden üç sayısal bileşen kullanıldı. Örneğin, 8 hücreli grade I embriyolar "811", düzensiz hücre boyutlu 8 hücreli Grade II embriyolar "821" olarak ve %10'dan az fragmantasyonu olan 8 hücreli Grade II embriyolar "812" olarak gösterildi. 3. gün (D3) yüksek kaliteli embriyolar, "811, 812, 821, 711 ve 911" olarak tanımlandı.

2.5. Embriyo Transferi ve Klinik Sonuç

Embriyolar OPU sonrası 3. Gün (D3) veya 5. Gün (D5) transfer edildi. İnsan koryonik gonadotropin (HCG) seviyesi embriyo transferinden 12-14 gün sonra değerlendirildi ve HCG'nin 10 µ/ml seviyesini aşması pozitif kabul edildi. Fetal kalp atışının tespiti ve klinik gebeliğin doğrulanması USG ile yapıldı. Takip ve değerlendirmeler doğuma kadar düzenli uygulandı. Takibi eksik üç vaka erken düşük oranı ve canlı doğum oranı ile ilgili analizlerin dışında tutuldu. Prematüre doğum, gebelik yaşının 28 veya üzeri ancak 37 haftadan az olması olarak tanımlanırken, düşük doğum ağırlığı 2,5 kg'dan az olarak tanımlandı.

2.6. İstatistiksel Analiz

İstatistik için SPSS sürüm 25.0 kullanıldı. Non-parametrik değişkenler Mann Whitney-U testi ile parametrik değerler Ki-kare testi kullanılarak analiz edildi. P değeri <0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. SONUÇLAR

3.1. İki Grubun Demografik Verileri ve Hormonal Özellikleri

Fresh testis spermi grubu ile frozen testis spermi grubu arasında erkek ve kadın yaşı, toplanan oosit sayısı, kadın bazal hormon düzeyleri (FSH, LH ve E₂) ve endometrial kalınlık açısından anlamlı bir fark gözlenmedi (P > 0,05) (**Tablo 1**).

MAKALE ÖZETİ

Tablo 1: İki grubun Demografik Verileri ve Hormonal Özellikleri

Demografik ve Hormonal	Fresh Testiküler Sperm (N=324)	Frozan testiküler sperm (N=144)	Wilcoxon	
			Z değeri	P değeri
Kadın yaşı (yıl)	32.00 (28.00, 36.00)	31.00 (28.00, 35.00)	0.529	0.597
Erkek yaşı (yıl)	34.00 (30.25, 39.00)	34.00 (30.00, 39.00)	0.499	0.618
İnfertilite faktör	—	—	1.786	0.181
Yalnızca erkek faktör	283 (87.35%)	130 (90.28%)	—	—
Erkek ve kadın faktör	41 (12.65%)	14 (9.72%)	—	—
Toplanan oosit sayısı	12.00 (7.00, 17.00)	13.00 (6.00, 18.00)	0.075	0.940
FSH (m IU/ml)	7.60 (6.47, 8.83)	7.55 (6.33, 9.22)	0.370	0.711
LH (m IU/ml)	4.08 (3.02, 5.73)	4.19 (3.31, 5.53)	0.600	0.549
E2 (pg/ml)	42.00 (32.00, 56.00)	42.15 (32.00, 61.25)	0.390	0.697
Endometrial kalınlık (mm)	11.20 (9.90, 13.60)	10.85 (9.00, 13.00)	1.848	0.065

FSH, folikül stimulan hormon; LH, luteinize edici hormon; E2 estradiol

3.2. Embriyo Gelişim Parametrelerinin Analizi

Fresh testis spermi grubu ile frozen testis spermi grubu arasında oosit matürasyon oranı, normal dölleme oranı, 3. gün (D3) embriyo oranı, 3. gün (D3) yüksek kaliteli embriyo oranı ve blastosist gelişimi oranı açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır ($P > 0,05$) (Tablo 2).

3.3. Klinik Gebelik ve Canlı Doğum Sonuçlarının Karşılaştırılması

Toplam 317 fresh embriyo transfer döngüsü (fresh testis spermi grubu: $n=235$, frozen testis spermi grubu: $n=82$) gerçekleştirildi. İki grup arasında intrauterin implantasyon oranı, klinik gebelik oranı, canlı doğum oranı, doğum ağırlığı ve doğum boyunda önemli bir fark gözlenmedi ($P > 0,05$) (Tablo 3).

Tablo 2: İki grubun Embriyolojik Parametrelerin Karşılaştırılması

Sonuçlar	Fresh testis spermi (N=324)	Frozan testis spermi (N=144)	X ² değeri	P değeri
Oosit matürasyon oranı (%)	78.1 (3268/4185)	78.3 (1420/1813)	0.041	0.840
2PN fertilizasyon oranı (%)	69.6 (2273/3268)	68.2 (968/1420)	0.889	0.346
G3 embriyo oranı (%)	90.1 (1976/2192)	88.5 (814/920)	1.943	0.163
G3 kaliteli embriyo oranı (%)	29.6 (648/2192)	27.6 (254/920)	1.201	0.273
Blastosist oluşum oranı (%)	51.1 (582/1139)	53.3 (255/478)	0.683	0.409

MAKALE ÖZETİ

Tablo 3: İki Grubun Gebelik ve Doğum Sonuçlarının Karşılaştırılması

Sonuçlar	Fresh testiküler sperm (N=324)	Frozen testiküler sperm (N=144)	Median (95% CI)	X ² değeri	
				t değeri	p değeri
Ortalama implante edilen embriyo sayısı	1.73 ± 0.5	1.78 ± 0.45	—	-0.85	0.398
Implantasyon oranı	136/406 (%33.5)	47/146 (%32.2)	—	0.083	0.774
Erken düşük oranı	10/112 (%8.93) ^a	2/41 (%4.88) ^b	—	0.24	0.627
Klinik gebelik oranı	114/235 (%48.5)	42/82 (%51.2)	—	0.178	0.673
Canlı doğum oranı	95/233 (%40.8) ^a	36/81 (%44.4) ^b	—	0.333	0.564
Prematüre doğum oranı	13/95 (%13.7)	2/36 (%5.6)	—	0.994	0.319
Deformite oranı	3/114 (%2.6)	1/43 (%2.3)	—	0.000	1.000
Düşük doğum ağırlığı insidansı	28/112 (%25.0)	6/43 (%13.95)	—	2.21	0.137
Doğum ağırlığı (kg)	3.10 (2.60, 3.36)	2.83 (2.50, 3.15)	0.05 (-0.15-0.24)	0.372	0.710
Doğum boyu (cm)	50.00 (48.00, 50.00)	49.00 (48.00, 50.50)	0.00 (-1.00-1.00)	0.379	0.704

^a İki vaka, fresh sperm kullanılarak klinik gebelik elde edildikten sonra takipten çıkarıldı.
^b Bir vaka, frozen sperm kullanılarak klinik gebelik elde edildikten sonra takipten çıkarıldı.

4. TARTIŞMA

Erkek infertilitesi etyolojisinde varikosel, kriptorşidizm ve hipogonadizm vb. olabileceği gibi oligozoospermi, astenozoospermi ve/veya terato-zoospermi gibi DSÖ referans değerlerinin altında sperm parametreleri ile karakterize idiyopatik infertilite de olabilir. Birkaç araştırma, frozen testis spermi kullanılarak yapılan ICSI sikluslarında, fresh testis spermi ile yapılanlara benzer klinik sonuçlar göstermiştir. Bizim çalışmamızın sonuçları da bunu doğrularak, fresh ve frozen testis spermi grupları arasında klinik gebelik oranı, düşük oranı veya canlı doğum oranında önemli bir fark olmadığını ortaya koymuştur. Dahası, dondurulmuş testis spermi kullanılarak yapılan ICSI, doğum deformitelerinin sıklığını artırmamış veya doğum ağırlığını ve boyunu etkilememiştir. Özellikle, çalışmamız mikro pipet ve kriyo tüp grupları arasında normal sperm

morfolojisi ve DNA fragmantasyon indeksinde hiçbir farklılık göstermemiş ve mikro pipet ile sperm kriyoprezervasyonunun etkinliğini doğrulamıştır. Sonuç olarak, mikro-vitrifikasyon ve ICSI'den sonra biyopsi veya fresh testis spermnin korunmasının, klinikte uygulanabilir olduğunu ve hastaları tekrarlanan TESE'den koruyarak hasta konforu sağladığını ve cerrahi maliyetleri düşürdüğünü göstermiştir.

Huang ve ark., ART destekli gebeliklerde erken doğum riskinin doğal gebeliklere göre 1,72 kat daha fazla olduğunu göstermiştir (OR=1,72, %95 CI (1,60, 1,85)), bu nedenle ART'de erken doğum riskini düşünmek önemlidir. Çalışmamızda frozen testis spermi grubuna kıyasla fresh testis spermi grubunda daha yüksek erken doğum oranı gözlemledik, ancak bu istatistiksel olarak anlamlı değildi (%13,7'ye karşı %5,6, P=0,319). Benzer şekilde, çoğul gebelik oranı iki

MAKALE ÖZETİ

grup arasında karşılaştırılabilir (21,1'e karşı 19,4, $P > 0,05$). Bu bulgular frozen ve fresh testis spermi grupları arasında erken doğum oranında ($P = 0,224$) ve çoğul gebelik oranında ($P = 0,329$) önemli bir fark olmadığını bildiren Wu ve ark. önceki çalışmalarıyla uyumludur. Ayrıca, çalışmamız frozen testis spermi grubunda klinik gebelik oranının (51,2%-48,5%, $P = 0,673$) ve canlı doğum oranının (44,4%-40,8%, $P = 0,564$) daha yüksek olduğunu göstermiştir. Bu sonuç, frozen-fresh işlemi sırasında yüksek motiliteye sahip spermlerin seçilmesine bağlayan Meng ve ark. sonuçlarıyla uyumludur.

5. SONUÇ

Mikro-vitrifikasyon teknikleri, testis spermi kriyoprezervasyonu için pratik bir alternatif sunarak, diğer yöntemlerin maliyetini ve etik kaygıları ortadan kaldırmaktadır. Bulgularımız, frozen ve fresh testis spermlerinin karşılaştırılabilir klinik sonuçlar gösterdiğini ve yüksek sperm kurtarma oranlarına sahip olduğunu göstermektedir. Mikro-vitrifikasyon korumasının basitliği ve rahatlığı, klinik uygulamada tercih edildiğini göstermektedir.

MAKALE ÖZETİ

> Fertil Steril. 2022 Jun;117(6):1177-1182. doi: 10.1016/j.fertnstert.2022.02.020.

The role of assisted hatching in in vitro fertilization: a guideline

Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address: asrm@asrm.org



Hazırlayan:

Uzm. Dr. Sedanur YILMAZ DOĞAN

Trabzon Kanuni EAH Tüp Bebek Merkezi

Assisted Hatching'in İn Vitro Fertilizasyonda Rolü

Blastosistin hatch olması implantasyona giden yolda çok önemli bir basamaktır. İnsan üreme verimliliğini sınırlayan birçok faktörden biri blastokist veya zona pellucida (ZP)'daki anormallikler sebebiyle çatlamanın başarısız olmasıdır. Assisted hatching (AH), in vitro fertilizasyonda implantasyon ve gebelik oranlarını artırmak için ZP'nın yapay olarak inceltilmesi ya da delinmesidir. Kısmi zona diseksiyonu sonrası implantasyon oranlarında artış ilk olarak 1990 yılında rapor edilmiştir. Hastalar üzerinde yapılan randomize bir çalışmada, yumurta toplama işleminden 72 saat sonra yapılan Tyrode çözeltisi ile ZP delme işlemi; kalın ZP, yüksek fragmentasyon oranları, ileri anne yaşı gibi kötü prognoz durumlarında embriyolara seçici olarak

uygulandığında implantasyon oranlarında artış olduğu öne sürüldü. Bu ön raporlardan sonra birçok yardımcı üreme teknolojisi (ART) klinik sonuçları iyileştirmek amacıyla AH'i programlarına dahil etmiştir. AH fertilizasyondan sonraki 3.-5. ve 6. günde embriyo transferinden önce ZP'yi Tyrode solüsyonuyla inceltme, cam mikro-iğne yardımıyla kısmi ZP diseksiyonu yapma, lazer fotoablasyon ya da piezo mikromanipülatörü kullanarak ZP'da açıklık oluşturma gibi çeşitli yöntemlerle yapılır. Günümüzde AH genellikle embriyo transfer gününde lazer vasıtasıyla tam kat AH yapılarak kullanılır. AH ne kadar faydalı olsa da embriyo hasarı ve/veya blastomer hasarıyla birlikte embriyo canlılığında azalma gibi birçok komplikasyona sebep olabilmektedir.

MAKALE ÖZETİ

Ek olarak ZP'ya uygulanan yapay manipülasyonlar monozigot ikizlik (MZT) riskinde artışa sebep olabilmektedir. AH bazı durumlarda ZP'yı hatch yapmak için değil de preimplantasyon genetik test esnasında biyopsi işlemini kolaylaştırmak amacıyla ya da embriyo dondurma işleminden önce embriyonun kollapsee olabilmesi için kullanılır. Bu durumlarda AH kullanımı zaten gerekli olduğu için kılavuzda yer almamıştır. Bu kılavuzun amacı taze ve donmuş embriyo sikluslarında embriyo transfer gününde uygulanan AH'in canlı doğum oranları, klinik gebelik, implantasyon ve MZT üzerine olan etkilerini değerlendirmektir.

ÖNCEKİ ÇALIŞMALARDAKİ SINIRLAMALAR

AH etkinliğini değerlendirmede önceki çalışmaların sonuçlarını yorumlamanın birçok zorluğu vardır. Güncel ART uygulamalarında çoğu klinik embriyo transferinden önce tam kat lazer-AH'i kullanmaktadır. Önceden yayınlanan birçok çalışma günümüzde sık kullanılmayan hatch yöntemlerini içermekteydi (Örn; Tyrode solüsyonu, parsiyal zona diseksiyonu). Bu kılavuz ise sadece embriyo transfer gününde uygulanan tam kat lazer-AH ile gebelik sonucunu incelemektedir. Mevcut literatürün diğer kısıtlamaları, birçok araştırmanın yetersiz güçte olması ve canlı doğum yerine klinik veya devam eden gebelik gibi ikincil sonuçları rapor etmesidir.

METOD

Metodoloji ek 1'de belirtilmiştir.

TAZE EMBRİYO TRANSFERİNDE AH CANLI DOĞUM ORANLARINI ARTIRIR MI? FAYDALI OLDUĞU HASTA GRUPLARI HANGİLERİ?

Bu kılavuz taze embriyo transferinde AH ile ya da AH olmadan canlı doğum oranlarını değerlendirmek amacıyla, bir yüksek kaliteli randomize kontrollü çalışma (RKÇ), 2 orta kaliteli RKÇ, 5 orta kaliteli sistematik inceleme ve 4 orta kalite kohort çalışmasına atıfta bulunmaktadır.

Yüksek kaliteli bir RKÇ'de iyi prognozlu 203 hastanın 121 tanesine AH ile 82 tanesine AH olmadan 3. gün transferi planlandı. Dahil edilme kriterleri; 39 yaşından küçük olmak, önceden birden fazla başarısız döngü geçirmemiş, birinci veya ikinci IVF döngüsünde olmak; açıklanamayan infertilite, endometriozis veya erkek faktörü ya da tubal faktör ve iyi kalitede bölünme aşamasında embriyoya sahip olmaktır. İki grup arasında klinik gebelik oranlarında (% 53 vs.% 54, P=0.92), düşük oranlarında (% 13 vs. %15, P=0.64) veya canlı doğum oranlarında herhangi bir fark görülmeydi(%47 vs. %46, P=0.9). Orta kalitede bir RKÇ'de, ileri anne yaşına sahip 210 kadın (>37 yaş) ve tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan 796 kadında (>2 siklus) AH'in faydaları değerlendirilmiştir. Hastalar transfer gününde randomize edilmiş ve yalnızca düşük kaliteli embriyoları olan ve ZP kalınlığı >16 mm olan kadınlar hariç tutulmuştur. AH'den sonra, ileri anne yaşına sahip kadınlarda (%15.1 vs %21, P=0.12) veya tekrarlayan implantasyon başarısızlığı olan kadınlarda (%27,1 vs %26,9 P=0.57) klinik gebelik oranlarında bir fark bulunmamıştır. Çalışma canlı doğum oranlarını değerlendirmemiştir. Bir randomize çalışma da (n= 60) , dondurulmuş donör oositlerinden elde edilen taze transfer embriyoların AH ile gebelik oranı üzerinde hiçbir fayda sağlamadığını göstermiştir (sırasıyla %43,3 ve %33,3; P=0.19), ancak bu durum nispeten küçük örneklem ile ilişkili olabilir. 2004-2006 yılları arasında Yardımla Üreme Teknolojisi Derneği (SART) veri tabanının 225.000'den fazla taze transfer döngüsüyle yaptığı retrospektif analizde AH kullanımının artan klinik gebelik oranıyla ilişkili olduğu bulunmuştur (odds ratio[OR]: 1,29, %95 güven aralığı [CI], 1,27-1,32; P<.001). Araştırmacılar hastaları yaşa veya tanıya göre sınıflandırmamıştır. SART verilerinin sonraki retrospektif analizinde 2004-2011 yılları arasında, azalmış over rezervinin birincil tanı olduğu vakalarda AH sonuçları incelendiğinde, AH uygulanan hastalarda canlı doğum oranlarının aslında önemli ölçüde daha düşük olduğu görülmüştür (düzeltilmiş odds ratio [aOR]: 0.77; %95 CI, 0.71-0.84).

MAKALE ÖZETİ

Japonya'da yapılan büyük bir çalışmada, tüm yaş gruplarında 35.000'den fazla taze siklus incelenmiş ve AH grubundaki hastalarda kontrol grubundaki hastalara göre daha düşük canlı doğum oranları bulunmuştur (OR: 0,87, %95 CI: 0,82-0,93). Araştırmada analiz 35 yaş üstü kadınlarla sınırlandırıldığında, yaş, döllenme yöntemi, kültür süresi, stimülasyon protokolü ve luteal destek (aOR:0,88, %95 CI: 0,79-0,98) kontrol edildikten sonra bile AH daha düşük canlı doğum oranlarıyla (OR:0,88, %95 CI:0,81-0,95) ilişkili olmaya devam etmiştir. Bu çalışmaların kısıtlanma nedenleri arasında AH'nin teknik metodlarındaki veri eksikliği, azalmış yumurtalık rezervinin nasıl teşhis edildiği ve AH'nin neden yapıldığı bulunmaktadır. 39 yaş üstü ilk IVF siklusunda olan 892 kadınla yapılan retrospektif çalışmada klivaj dönemde transfer edilen embriyoya uygulanan lazer-AH'in düşük doğum oranlarına sebep olduğu (OR:0,36, 95% CI: 0,19-0,68), blastokist döneminde uygulanan lazer-AH'in ise sonuçlar üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı gözlemlenmiştir.

Birçok meta-analiz, AH'in faydalarını incelemeye çalışmıştır ancak hepsinin sınırlamaları bulunmaktadır. Çünkü AH'i farklı teknik yöntemleri uygulayarak kullanan çalışmaları ve kılavuza dahil edilmeyen çalışmaları içermektedir. Biz yalnızca lazer-AH kullanan önemli çalışmaları içeren metaanalizleri dahil ettik. Yapılan 36 RKÇ'nin meta-analizinde AH ile klinik gebelik oranlarında anlamlı bir artış bulunmuştur (OR: 1,16, %95 GA:1,00- 1,36, orta düzeyde heterojenlik [$I^2=48,4$]), ancak analiz lazer kullanılan 18 çalışma ile sınırlandırıldığında herhangi bir iyileşme görülmemiştir (OR:1,03, %95 GA: 0,81-1,30).

Yalnızca lazer-AH sonrası canlı doğum oranlarını bildiren 5 çalışma değerlendirildiğinde, AH ile anlamlı bir iyileşme görülmemiştir (OR:1,19, %95 GA:0,77-1,83).

Analiz, iyi prognoza sahip hastaları (daha önce başarısız siklus öyküsü olmayanlar) değerlen-

diren 21 çalışmayla sınırlandırıldığında da anlamlı bir iyileşme görülmemiştir (OR:1,18, %95 CI:0,98-1,40, orta düzeyde heterojenlik [$I^2=33,9$]). AH'in birden fazla teknik yönteminin kullanıldığı 28 çalışmayı içeren bir başka meta-analizde, AH uygulamasının tüm hastalar için klinik gebelik oranlarında anlamlı bir artışa yol açmadığı bulunmuştur (rölatif risk [RR]:1,11, %95 GA: 1,00-1,24). 35 yaş üstü hastalarla sınırlandırılan bir sistematik incelemede, lazer kullanılan 3 çalışmada canlı doğum oranında (RR: 0,88, %95 CI: 0,65-1,18) veya klinik gebelik oranında (RR: 0,92, %95 CI: 0,76-1,12) anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Cochrane derlemesine dahil edilen tüm çalışmaların (28 RKÇ) ilk değerlendirmesinde AH ile klinik gebelik oranında bir artış olduğu gösterilmiştir (OR:1,29; %95 GA: 1,12-1,49).Araştırmacılar analizi daha sağlam metodolojiye sahip yüksek kaliteli çalışmalarla (16 RKÇ) sınırlandırıldığında, klinik gebelik oranındaki iyileşme zayıflamıştır (OR:1,20, %95 GA:1,00-1,45, $P=0,05$). 12 çalışmanın alt grup analizlerinde, lazer-AH kullanılan grupta klinik gebelik oranı AH grubundan biraz daha iyi tespit edilmiştir (OR:1,27, %95 GA:1,03-1,56). Canlı doğumları bildiren çalışmaların (7 RKÇ) analizinde, AH önemli bir iyileşme sağlamamıştır (OR:1,13, %95 CI:0,83-1,54). 2012'de güncellenmiş Cochrane Derlemesi 31 RKÇ'yi içermiştir; bunlardan 5'i lazer-AH'yi değerlendirmiş ve AH uygulanan kadınlarda canlı doğum oranında bir iyileşme bulunmamıştır (OR, 1,01; %95 GA, 0,81-1,26). Araştırmacılar, lazer-AH uygulanan kötü prognozlu hastaları değerlendirmemiştir.

Özet Açıklama

Rastgele seçilen popülasyonda gebelik oranlarını değerlendirmek için yapılan bir çalışmada AH uygulanan embriyolar ile uygulanmayanlar arasında önemli ölçüde fark olmadığına dair orta düzeyde kanıt vardır. Kötü prognozlu hastalarda lazer-AH ile canlı doğum oranlarını iyileştirmeye ilişkin veriler net değildir.

MAKALE ÖZETİ

Yorum

Lazer-AH, IVF uygulanan tüm hastalar için rutin olarak önerilmemelidir. Kötü prognozlu hastalarda bir öneride bulunmak için yeterli veri yoktur.

DONDURULMUŞ EMBRİYO TRANSFERİNDE AH CANLI DOĞUM ORANLARINI ARTIRIR MI? FAYDALI OLDUĞU HASTA GRUPLARI HANGİLERİ?

Dondurulmuş embriyolarda canlı doğum oranlarını değerlendirmek için, bu kılavuz 2 orta kaliteli RKÇ'ya, bir yüksek kaliteli meta-analize, 3 orta kaliteli meta-analize ve 2 orta kaliteli büyük veri tabanı çalışmasına atıfta bulunmaktadır. Bu çalışmalar dondurulmuş embriyo transferinde (DET) AH uygulanan kadınlarda canlı doğum oranlarında bir iyileşme göstermemiştir. Bir RKÇ'de, dondurulmuş embriyo transferi değerlendirildiğinde AH grubunda (n=96) blastokist transferinden sonra canlı doğum oranları, kontrol grubuna (n=102) kıyasla (5. Gün %40.6-%28.4) anlamlı bir fark göstermemiştir, ancak transfer 6. Gün blastokistleri ile sınırlandırıldığında canlı doğum oranında bir artış gözlenmiştir (AH grubu n = 72, kontrol grubu n = 75, canlı doğum oranı %43.1- %26.7, $P < 0,05$). Orta kalitede bir çalışma DET yapılacak 180 kadında AH'in faydalarını değerlendirdi. Hastalar transfer günü rastgele olarak gruplara ayrıldı ve sadece düşük kaliteli embriyoları olan hastalar dışlandı. Klinik gebelik oranı, AH kullanılarak dondurulan grupta kontrol grubuna kıyasla iyileşti (%31,1 -%11,1, $P = 0,001$). Kontrol grubundaki gebelik oranının %11,1 olması dikkat çekici olup bu da bu sonuçların genellenemeyeceğini göstermektedir. Bir Cochrane sistematik incelemesinde, donmuş embriyo transferi yapılacak AH uygulanan hastalar arasında gebelik oranlarında önemli bir iyileşme görülmedi. Cochrane sistematik incelemesi, 2012 yılında 9 ek çalışma ile güncellendi ve benzer sonuçlar bulundu. Bir meta-analiz, donmuş embriyo transferi yapılan hastalar arasında AH olan grupta ve AH olmayan grupta can-

lı doğum için 1.2 OR bildirmiştir. Başka bir meta-analiz, donmuş embriyo transferinde AH'in gebelik sonuçları üzerindeki etkisini değerlendirerek canlı doğum oranında bir fayda göstermediğini tespit etmiştir (OR: 1.09, 95% CI: 0.77-1.54). Japonya'da 59.000'den fazla DET döngüsünü inceleyen büyük bir veri tabanı çalışması, AH grubundaki hastalar ile kontrol grubundaki hastalar arasında canlı doğum oranlarında önemli bir fark gözlemedi (OR, 0.93; %95 CI, 0.84-1.03). 2004-2013 yılları arasında SART veritabanında ilk DET döngülerinin geriye dönük analizinde, 151,533'den fazla döngüde AH kullanımının canlı doğum oranında hafif bir azalma ile ilişkili olduğunu bulmuştur (34.2%-35.4%, $P = 0,001$). 42 yaşından büyük kadınlarda AH sonrası canlı doğum oranındaki azalma daha belirgindi, ancak bu grup için örneklem boyutu küçüktü (AH (-) %30, AH(+) %14; $P < 0,001$).

Özet Açıklama

DET uygulanan hastalarda, lazer-AH ile canlı doğum oranındaki iyileşme konusunda veriler karışıktır.

Yorum

DET döngülerinde lazer-AH için bir öneri yapmak üzere yeterli veri yoktur.

AH MONOZİGOTİK İKİZLİĞİ ARTIRIR MI?

AH'in monozigot ikizliği (MZT) artırıp artırmadığını değerlendirmek için, bu kılavuz 8 orta kalitede retrospektif kohort çalışmasına, 1 orta kalitede büyük veri tabanı çalışmasına, 6 orta kalitede meta-analize ve 2 orta kalitede vaka-kontrol çalışmasına atıfta bulunmaktadır.

AH uygulanan vakalarda MZT oranlarının arttığını destekleyen birkaç orta kalitede çalışma bulunmaktadır. Aksine, AH ile MZT riskinin artmadığını gösteren birkaç orta kalitede çalışma da bulunmaktadır. Ocak 2005'ten Temmuz 2018'e kadar 40 çalışmanın orta kalitede bir meta-analizi, IVF sonrası MZT olan ve olmayan kadınları

MAKALE ÖZETİ

değerlendirdi. AH (+) ve AH (-) IVF'i karşılaştıran 16 çalışmada, AH ile MZT arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki vardı (OR: 1.17, %95 CI: 1.09–1.27, $P < 0,0001$; orta derecede heterojenite [$I^2 = \%29$]). Ancak, analiz yalnızca yüksek kaliteli kohort ve vaka-kontrol çalışmalarıyla sınırlı olduğunda bu ilişki doğrulanamadı (OR: 1.00, %95 CI: 0.81–1.24, $P = 0,99$, orta derecede heterojenite [$I^2 = \%53$]). Ayrıca, AH yöntemleri (lazer, mekanik ve kimyasal) çalışmalarda değişmektedir. 2004-2010 yılları arasında SART veri tabanının bir analizi, 197,327 gebeliği değerlendirdi ve bunlardan 2,924'ü MZT ile sonuçlandı. Çok değişkenli analizde, AH'in MZT oluşumunda 5. veya 6. gün embriyolarında etkisi önemsizken (AH (+) aOR: 1.77–3.29 ve AH (-) OR: 2.43–3.36), 2. veya 3. gün embriyolarında AH'in önemli bir etkisi vardı (AH(+) aOR: 2.05–2.48 ve AH (-) 1.00).

Birçok orta kalitede çalışma, AH ile MZT riskinde bir artış gösterse de, hepsinin önemli sınırlamaları vardır. İkizlerin türünü bildirmemek, farklı AH yöntemlerin kullanılması, MZT'yi doğrudan ultrason eksikliği ve farklı embriyo transfer günleri olması bunlardan birkaçıdır. 2003-2012 yılları arasında ABD Ulusal ART Gözetim Sistemi (NASS) veri tabanından elde edilen 28.596 gebelik üzerine yapılan bir analizde, AH uygulanan hastalarda 2. veya 3. gün embriyo transferi MZT riskini önemli ölçüde artırırken (düzeltilmiş RR, 2.16; %95 CI, 1.53-3.06), 5. ve 6. gün blastokist embriyo transferinde aynı risk gözlemlenmemiştir.

2000-2010 yılları arasında NASS verilerinin analizinde 751,879 döngüyü içeren başka bir retrospektif çalışmada 3. gün veya 5. gün embriyo transferi yapılan vakalarda AH'in 337,109 döngüde (%44.8) kullanıldığı tespit edilmiş. MZT riski, AH uygulanan hastalarda 3.gün embriyo transferinden sonra artmıştır (aOR: 1.77, %95 CI: 1.31–2.38). NASS çalışmalarında retrospektif analizin doğası nedeniyle birçok değişkeni kontrol etmek zordur. SART veri tabanı kullanan IVF embriyo transfer döngülerine dayalı bir vaka-

kontrol çalışmasında, (n=535,503), AH uygulandıktan sonra MZT riski açısından 11,247 gebelik değerlendirildi. Birden fazla değişken (hasta yaşı, transfer edilen embriyo sayısı, önceki döngü sayısı, tanı, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu kullanımı ve dondurulmuş embriyo kullanımı) ayarlanmasından sonra, AH'in diğer çoklu gebeliklerle (aOR, 3.2; %95 CI, 1.2–8.0) ve tekil gebeliklerle (aOR, 3.8; %95 CI, 1.8–9.8) karşılaştırıldığında MZT riskinin artmasıyla ilişkili olduğu bulundu. NASS ve SART veri setlerinin bir sınırlaması, AH yöntemi hakkında bilgi sağlamalarına rağmen, bu çalışmanın zaman çerçevesi göz önüne alındığında, muhtemelen lazer-AH değildi.

Benzer sayıda orta kalitede çalışma, AH ile MZT riskinde artış olmadığını öne sürüyor. Ancak AH ile MZT riskinde artış göstermeyen birçok çalışma; bildirilen MZT gebelik sayısının sınırlı olması, transfer edilen embriyo sayısında tutarsızlık olması, AH yöntemiyle ilgili yetersiz veri olması veya hatch olmuş bölünme aşamasındaki embriyoları hatch olmayan blastokistlerle karşılaştırdığından yetersiz güçteydi. 2000-2007 yılları arasında otolog ve yumurta donasyonu olan 4,976 gebeliği analiz eden IVF döngülerinin retrospektif bir incelemesinde, AH (+) veya AH (-) 3. gün embriyo transfer döngüleri arasında MZT oranlarında önemli ölçüde fark olmadığı bulunmuştur (%1.1–%1.3, aOR:0.94, %95 CI:0.26–3.44, $P=0,74$).

Özet Açıklama

MZT'nin AH ile olan riskine ilişkin veriler karışıktır. Çeşitli çalışmalardan elde edilen bazı kanıtlar AH ile MZT arasındaki ilişkiyi yüksek oranda desteklemektedir. Ancak benzer sayıda çalışma AH sonrası MZT'de artış olmadığını ileri sürmektedir.

Yorum

AH ile MZT arasındaki ilişki bu sonucun nadir olması, mevcut çalışmaların çelişkili bulgulara sahip olması nedeniyle kesin sonuca varmak için yeterli değildir.

HABERLER

1) Bursa Şehir Hastanesi ÜYTE Merkezi 12.11.2024'te açılmış olup 3 kadın hastalıkları ve doğum uzmanı, 1 tıbbi histoloji ve embriyoloji uzmanı ile bölge halkına hizmet vermektedir. İçerisinde androloji laboratuvarı, sperm numune odası, hasta bilgilendirme alanı, uygulama alanı, personel çalışma/dinlenme odası gibi bir çok bölümü içermektedir. Temel semen analizinden başlayarak intrauterin inseminasyon için sperm hazırlama da dahil birçok androlojik test yapılmaktadır.



2) Kayseri Şehir Hastanesi ÜYTE Merkezi 8 Ekim 2024 tarihinde açılışının birinci yılını kutlamıştır. Tüp Bebek Ünitesi Kadın Doğum ve Çocuk Hastanesi Kulesi 5.katında aktif olarak hizmet vermektedir. Üniteye 2 kadın doğum uzmanı, 3 tıbbi histoloji ve embriyoloji uzmanı, 2 hemşire, 2 laboratuvar teknisyeni, 2 sekreter ve 1 temizlik hizmeti görevlisi görev yapmaktadır.



HABERLER

3) 16. Ulusal ve 2. Uluslararası Histoloji ve Embriyoloji Kongresi (NICHE2024; 16th National and 2nd International Congress of Histology and Embryology), Türk Histoloji ve Embriyoloji Derneği tarafından 26-28 Eylül 2024 tarihleri arasında Sakarya Üniversitesi'nin ev sahipliğinde Turgut Özal Kültür ve Kongre Merkezinde başarılı bir şekilde düzenlenmiştir.

**16th NATIONAL AND
2nd INTERNATIONAL
CONGRESS OF HISTOLOGY AND EMBRYOLOGY**

**26-28 SEPTEMBER
2024**
SAKARYA UNIVERSITY



4) Tüp Bebek ve İnfertilite Derneği tarafından organize edilen Tüp Bebek ve İnfertilite Derneği Kongresi'nin üçüncüsü bu yıl 26 - 29 Eylül 2024 tarihleri arasında Elexus Hotel, Kıbrıs'ta düzenlenmiştir.



HABERLER

5) XI. Üreme Tıbbi ve Cerrahisi Derneği (ÜTCD) Kongresi, XIX. Akdeniz Ülkeleri Üreme Tıbbi Derneği (MSRM) Kongresi ve OVİN 2024 Ovülasyon İndüksiyonu, İnfertilite ve ART'de Tartışmalı Konular ve Güncel Yaklaşımlar Sempozyumu 30 Ekim – 3 Kasım 2024 tarihleri arasında Nirvana Cosmopolitan Hotel ve Kongre Merkezi – Antalya'da gerçekleştirilmiştir.



6) TSRM'nin 12. Bilimsel Kongresi 14 – 17 Kasım 2024 tarihleri arasında Kaya Palazzo Otel & Kongre Merkezi Antalya'da gerçekleştirilmiştir.

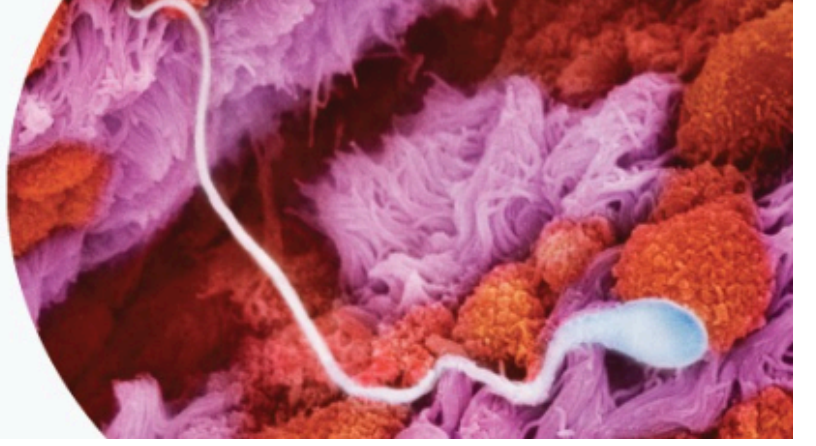


HABERLER

7) ESHRE bu yıl 40. kongresini 7-10 Temmuz 2024 tarihleri arasında Amsterdam'da gerçekleştirmiştir.

ESHRE 40th Annual Meeting

Amsterdam, The Netherlands
7-10 July 2024



8) **ASRM 2024**, 19-23 Ekim 2024 tarihleri arasında Denver, Colorado'da düzenlenmiştir.

