

Temmuz 2025

Sayı 5

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. Başak YAVUZ

Uzm. Dr. Salih Yahya AKSANYAR

Uzm. Dr. Elif KOYUN ALVUROĞLU

Uzm. Dr. Semanur IŞIK

Uzm. Dr. Tenzile Beyza VURMUŞ

Tıbbi Biyolog Murat ERCAN

Serdar OKKALI

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 Aysın Pınar TÜRKMEN

Dr. Öğr. Üyesi Murat Serkant ÜNAL

Uzm. Dr. Emine AKSOY

Uzm. Dr. Ayşe Firuze BIYIK

Uzm. Dr. Şadiye CANPOLAT

Uzm. Dr. Ayça IŞIK

Uzm. Dr. Fatma Nur KARAKUŞ

Uzm. Dr. Neslihan KOÇ

Uzm. Dr. Gökşen Derya REİS KÖSE

Uzm. Dr. Betül SARI



BAŞKANDAN

Uzm. Dr. Emine AKSOY

Merhabalar,

HEMUD 5. Dönem Olağan Kurul toplantısı 28.05.2025 tarihinde Trabzon KTÜ Koru Otelde gerçekleştirilmiştir. Yeni yönetim ve denetim kurulu üye listeleri oluşturulmuştur. 4. dönemde görev alan tüm yönetim kurulu üyesi arkadaşlarımıza verdikleri emeklerinden dolayı teşekkür ediyorum. 4.dönemde birçok konuda çalışmalar yapılmış ve güzel sonuçlar alınmıştır. Web sayfamız aktif hale getirilmiş ve IVF laboratuvarına ait tüm dokümanlar web sayfasına yüklenmiştir. Her sayısında birbirinden önemli ve yararlı konuları içeren HEMUD online dergisi yayınlanmaya başlamıştır. Değerli hocalarımızın ve arkadaşlarımızın katılımlarıyla birbirinden güzel konuları içeren web sunumlarımız gerçekleştirilmiş ve güncel konularla gerçekleştirilmeye devam edecektir. Sağlık Bakanlığı ile birçok kez görüşülmüş ve asistanlık süreci içinde IVF eğitiminin alınması gibi önemli kazanımlar elde edilmiştir.

Yeni dönemde Sağlık Bakanlığı ile görüşmelerimiz devam edecektir. Olumlu gelişmelerin devamlılığının sağlanması ve uzmanlık alanımızdaki sorunların giderilmesi için çalışmak amaçlarımız arasında olacaktır.

Online dergimizin beşinci sayısında yine birbirinden güzel ve önemli konularla karşınızdayız. Bu sayının hazırlanmasında emeği geçen tüm yazarlara teşekkür eder, keyifli okumalar dileriz.

HEMUD 5. Dönem Yönetim Kurulu Başkanı
Uzm. Dr. Emine Aksoy

HEMUD Yönetim Kurulu

Uzm. Dr. Emine AKSOY

Dr. Öğr. Üyesi Aysın Pınar TÜRKMEN

Dr. Öğr. Üyesi Abdülkadir KUTLU

Uzm. Dr. Deniz Ekin ERBAŞ

Uzm. Dr. Betül SARI

Uzm. Dr. Berrin YANGIN

Uzm. Dr. Kenan DEMİR

Uzm. Dr. Emine UTLU ÖZEN

Uzm. Dr. Gökşen Derya REİS

İÇİNDEKİLER



SAYFA 1

SAĞLIK BİLİMLERİ ALANINDA PROJE YAZIMI:
TEMEL KONULAR VE ÖNEMLİ NOKTALAR

SAYFA 3

BİR YÖNTEM: CİNSEL SALDIRI VAKALARINDA
MENİ VE SPERM HÜCRESİ TESPİTİ

SAYFA 7

BİR CİHAZ: IVF LABORATUVARINDA
KULLANILAN İNKÜBATÖRLERİN ÇALIŞMA
PRENSİPLERİ VE ÇEŞİTLERİNE DAİR
KAPSAMLI BİR İNCELEME

SAYFA 16

ÜYTEM TANITIM: KONYA ŞEHİR HASTANESİ
TÜP BEBEK ÜNİTESİ

SAYFA 20

MAKALE ÖZETLERİ

SAYFA 41

HABERLER

SAĞLIK BİLİMLERİ ALANINDA PROJE YAZIMI: TEMEL KONULAR VE ÖNEMLİ NOKTALAR



Doç. Dr. Başak YAVUZ

İzmir Demokrasi Üniversitesi
Temel Tıp Bilimleri Bölümü
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Proje, bir probleme çözüm bulma amacıyla önceden belirlenmiş bir araştırma ekibinin, sınırlı bir bütçe kullanarak belirlenmiş bir süre dahilinde, önceden kararlaştırılmış metodlar aracılığıyla, olası riskleri yönetmek şartıyla, özgün bir araştırmayı yürütme ve elde edilen verileri analiz edebilme sürecidir.

Belirli bir konuda yeni bir fikrin bulunması, sonrasında bu fikrin bilim dünyası ile paylaşılabilmesini gerektirir. Herhangi bir alanda bir yeniliğin ortaya koyulabilmesi için bu hipotezin kanıtlanması gerekmektedir. Bir hipotezin kanıtlanabilmesi için ise, öncelikle bir amaç ve bu amaca ulaşabilmek için gerçekleştirilmesi gereken hedefler belirlenmelidir. Ayrıca bu hedefleri gerçekleştirecek yetkinlikte bir ekibe ve gerekli bütçeye ihtiyaç duyulacaktır. İşte bu noktada doğru projelendirme önem kazanmaktadır.

Sağlık bilimleri alanında çalışan araştırmacılar için bir fikrin projelendirilmesi ve gerekli bütçenin elde edilebilmesi çok önemlidir. Zira çalışma esnasında uygulanacak yöntem basamaklarının gerçekleştirilebilmesi için ciddi miktarlarda harcama kalemleri gerekebilmektedir. Bu nedenle de sağlık bilimlerinde bir fikrin doğru şekilde projelendirilebilmesi gerekmektedir. Proje önerisi hangi kuruma sunulacak olursa olsun, temel bazı başlıklar altında belli noktaların açıklığa kavuşturulması gerekmektedir. Bu başlıklar kısaca şu şekildedir;

- Konu, Kapsam ve Literatür Özeti
- Amaç ve Hedefler
- **Özgün Değer**
- Yöntem
- Proje Yönetimi

Yönetim Düzeni (İş Paketleri, Görev Dağılımı ve Süresi)

Başarı Ölçütleri ve Risk Yönetimi

- Proje Ekibi
- Kurumların Araştırma Olanakları
- Yaygın Etki

Bu başlıklardan en önemlisi özgün değerdir. Bir projenin ya çözülmemiş bir probleme yeni bir çözüm önerisi getirmesi ya da çözülmüş bir probleme daha iyi ve farklı bir çözüm önerisi getirmesi özgün değerdir. **Özgün değer çalışmanın orijinalliğidir.** "Sizin çalışmanızın ne ayrıcalığı var?" ya da "Kurum sizin çalışmanıza neden bütçe sağlasın?" sorularının cevabı projenin özgün yönlerini ortaya koyar. Özgün değer,

- Farklılığı ve yeniliği
- Hangi eksikliği nasıl gidereceği
- Hangi soruna nasıl bir çözüm geliştireceği
- İlgili bilim alanına metodolojik/kavramsal/kuramsal olarak ne gibi özgün katkılarda bulunacağı ile ölçülür.

Proje önerisinin özgün değeri ayrıntılı şekilde açıklanmalıdır. Projenin yenilik getirecek yönleri ve avantajları mutlaka vurgulanmalıdır. Proje önerisinde çalışılmak istenen konunun daha önceden çalışılmış ve literatürde bilinen bir konu olması sizin önerdiğiniz noktanın özgün olmadığını göstermez. "Daha önce etkin bir tedavi seçeneği bilinen şu konuda benim önerdiğim tedavi daha ucuz/yerli kaynaklardan elde edilen bir molekül/daha uygulanabilir/ daha kolay gibi öneriler özgün değeri ve projenin desteklenme olasılığını artıran önemli durumlardır. Özgün değer net olarak ortaya konulamaması veya gerçekçi olamaması durumunda, projenin diğer kısımları yüksek puan almış olsa bile proje desteklenemeyebilir. Bir proje önerisinin özgün sayılabilmesi için,

- Çözülmemiş bir problemi çözmeli
- Bir soruya cevap vermeli
- Yapılmamış bir gözlemi yapmalı
- Önceye göre daha yüksek çözünürlükte bir sonuç elde etmelidir.

SAĞLIK BİLİMLERİ ALANINDA PROJE YAZIMI: TEMEL KONULAR VE ÖNEMLİ NOKTALAR

Proje önerisi yazımında araştırmacıların zorlandığı bir diğer başlık da amaç ve hedeflerdir. Proje önerisinin amacı ve hedefleri açık, ölçülebilir, gerçekçi ve proje süresince ulaşılabilir nitelikte olacak şekilde yazılmalıdır. Bunun için de bir çalışmanın amacı ve hedefleri derken neyin kastedildiğinin tam olarak bilinmesi gerekir. Amaç, ulaşılmak istenen daha geniş çerçeveyi ifade eder. Yani çalışmanın gerçekleştirilmesi durumunda kanıtlanacak olan fikir amaç olarak ifade edilebilir. Hedef ise amaç ile çizilen çerçevenin içinde ulaşılmak istenen özel kapsamlı başarımlardır. Örneğin bir molekülün x hastalığındaki tedavi edici rolünü ortaya koymak bir amaçtır. Bu molekülün etkisini göstermek için etkilenen organdan örnekler alınıp histopatolojik olarak değerlendirilmesi ve verilerin ortaya konması ise hedeflerden biridir. Bir çalışmada birden fazla amaç ve her bir amaç için birden fazla hedef belirlenebilir. Hedefler amacı kanıtlamak için gidilen yollar olarak da tanımlanabilir.

Bir konuda yenilikçi bir fikri projelendirmek için çok üzerinde durulmayan ancak önem arz eden başlıklardan birisi de konu, kapsam ve literatür özetidir. Proje önerisinde ele alınan konunun kapsamı ve sınırları, projenin araştırma sorusu veya problemi açık bir şekilde ortaya konulmalı ve ilgili bilim/teknoloji alan(lar)ındaki literatür taraması ve değerlendirilmesi yapılarak proje konusunun literatürdeki önemi, arka planı, bugün geline durum, yaşanan sorunlar, eksiklikler, doldurulması gereken boşluklar vb. hususlar açık ve net bir şekilde ortaya konulmalıdır.

Literatür özeti yapılırken konuya mutlaka en geniş kapsamdan başlanarak giderek daraltılmalı ve en sonunda çalışmak istediğimiz noktaya ulaşılmalıdır. Konu genişten dara doğru ele alınmalı, tüm hususlar açıklanmalıdır. Değerlendirecek hakemler nasıl olsa bunu biliyordur diye atlanarak değil, belli basamaklar halinde literatür değerlendirilmelidir.

Konunun önemi vurgulanırken;

- Proje önerisinde ele alınan konunun kapsamı ve sınırları ile önemi literatürün eleştirel bir değerlendirmesinin yanı sıra nitel veya nicel verilerle açıklanmalıdır.

- Ham bir literatür özeti verilmemeli, önceki çalışmaların bir analizi yapılmalıdır.
- Öne çıkarılmak istenen konular (bilimsel, ekonomik, toplumsal, vb.) iyi vurgulanmalıdır.
- Konunun arka planı, nereden nereye geldiği iyi açıklanmalıdır.
- Sade ve anlaşılabilir bir dil kullanılmalıdır.

Sonuç olarak, Sağlık bilimlerinde proje önerisi yazımında ilk etapta dikkat edilmesi gereken hususlar bu şekildedir. Ancak unutulmamalıdır ki bir fikir projelendirilirken açıklanması gereken her başlık projemizin desteklenmesi açısından büyük önem taşır.

CİNSEL SALDIRI VAKALARINDA MENİ ve SPERM HÜCRESİ TESPİTİ



Murat ERCAN

Tıbbi Biyolog

Trabzon Adli Tıp Grup Başkanlığı

Biyoloji İhtisas Dairesi

Adli vakalarda cinsel suçlar, nesep davaları, cinayet, hırsızlık gibi suçların aydınlatılmasında DNA profillemenin önemi giderek artmaktadır. Başarılı bir profillemeye süreci için işlem basamaklarının bir bütün olarak doğru yönetilmesi ve yürütülmesi gerekmektedir. Delillerin olay yerinden toplanmasından, uygun şartlarda laboratuvarlara taşınması ve muhafaza edilmesine; laboratuvarlarda yapılan moleküler genetik incelemelerden, bu incelemelerin sonunda yapılan DNA tiplendirme ve elektroforegram analizlerine kadar her bir işlem, bu zincirin bir halkasını oluşturmaktadır. Bu kapsamda Adli Tıp Kurumu Biyoloji İhtisas Daireleri ile Polis ve Jandarma Kriminal Daire Başkanlıkları ülkemizde adli genetik alanında ağırlıklı olarak bilirkişilik hizmeti veren kuruluşlardır.

Adli vakaların aydınlatılmasında DNA profilinin eksiksiz tespiti kadar, söz konusu DNA profilinin orjininin tayini de yargısal süreçte önem arz etmektedir. Lekenin sperm içeren meni lekesi olmasıyla; tükürük, kan, idrar vb. ihtiva etmesi, davanın içeriğine göre farklı anlamlara gelebilmekte ve yargılamanın seyrini değiştirebilmektedir. Bu sebeple spermatozoon varlığına yönelik incelemelerin yetkin makamlarca yapılması gerekmektedir. Mağdurdan alınan bir sürüntünün sperm içerip içermediğinin tespitinin ardından söz konusu biyolojik numunedeki sperm hücresinin kime ait olduğunun tespiti için moleküler genetik incelemeye alınması gerekmektedir. Bu iki işlemin aynı laboratuvarlar tarafından yapılması elzemdir.

Adli tıpta süreç nasıl işler?

Bir cinsel saldırı şüphesinde, mağdurdan ya da olay yerinden toplanan deliller, usulüne uygun Kurumumuza gönderildiğinde, uygun ortamda leke tespiti için ön incelemeye alınırlar. Materyaller kıyafet vb ise görsel ve UV ışık altında yapılan ön incelemeler lekenin yerinin tespitine yardımcı olmaktadır. Görsel incelemede belirlemeyen meni lekesi, UV ışık altında (450-490 nm) özel filtreli gözlüklerle bakıldığında parlak renk vermektedir.



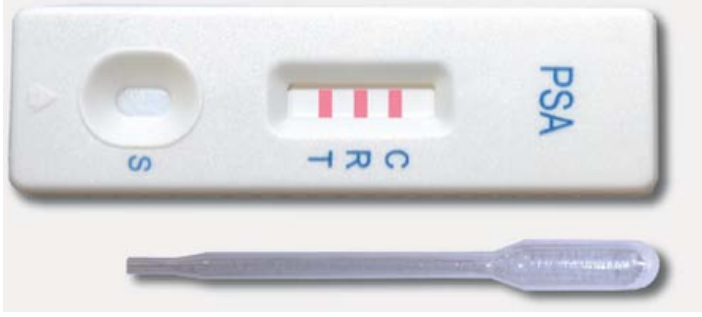
Resim 1. UV ışık altında leke tespiti

UV ışık ile tespit edilen lekeden, kumaşın türü ve kalınlığı göz önünde bulundurularak, kesilerek ya da sürüntü şeklinde örnekler alınır. Bu örnekler önce Prostat Spesifik Antijen testinden (PSA testi) geçer (1). PSA testi ile prostat bezinden salgılanan gamma-seminoprotein veya prostat spesifik antijen adındaki P30 tayini yapılarak meni varlığı tespit edilir (2). Seminal sıvıda P30 oranı çok yüksektir.

Tek başına meni tespiti, suçun aydınlatılmasında yeterli midir?

Kıyafetten, olay yeri delilinden ya da mağdurun sürüntü numunesinden alınan örneklerin öncelikle PSA kart testi ile meni içerip içermediğine bakılır. Bu test, prostat spesifik antijenine bağlanan antikoları içeren kaset testidir. Bu sebeple çok düşük veya çok yüksek konsantrasyonlarda hata payı mevcuttur (3). Tek başına PSA testi ile lekede meninin varlığını yorumlamak yanılgıya sebep olabilir.

CİNSEL SALDIRI VAKALARINDA MENİ ve SPERM HÜCRESİ TESPİTİ



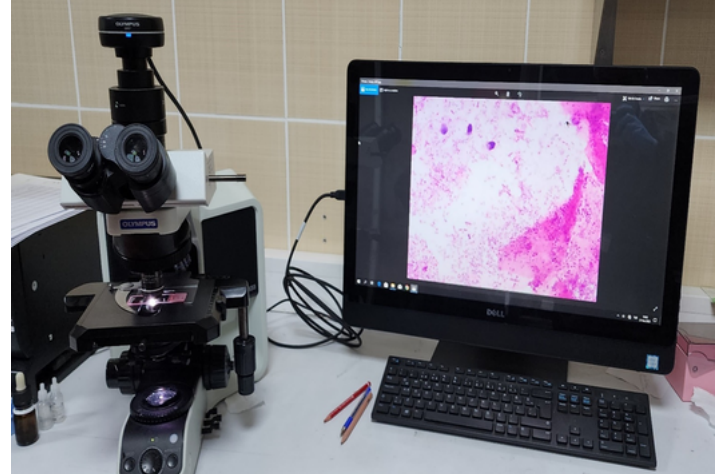
Resim 2. PSA kart testi

UV ışık altında bazı kimyasal lekelerin de meni benzeri parlak yansıma yapabileceği gibi aslında meni içeren örneklerden yapılan PSA kart testlerinin de yüksek dozun kanca etkisinden (Hook Effect) dolayı negatif sonuç vermesi olasıdır (4). Bunun tersi de gerçekleşebilir. Bu testler yönlendirici ancak kesin sonuca götürmeyen testlerdir. Bu nedenle ön incelemelerde UV ve PSA'dan sonraki aşamaya, yani mikroskobik incelemeye geçilir. Alınan örneklerin mikroskobik inceleme ile spermatozoon içeriği saptanır.

Preparat hazırlama süreci nasıldır?

Örnek bir tüpe alınır, izotonik su ile bir-iki saat kadar oda sıcaklığında vorteksle maserasyonu yapılır. Böylece sperm hücrelerinin sıvıya geçmesi sağlanır. Maserasyonun ardından bu sıvıdan (5-10 µl) lama yayılır. Alkol veya alevle fikse edilir. Lam, Diff-Quick Hematoksilen-Eozin kullanılarak boyanır (5). Tercihen immersiyon yağı ile 100x büyütmede mikroskop ile hazırlanan preparat incelenir. Hematoksilen spermatozoonun bazofilik kısmını (DNA, RNA) mavi-mor renge; eosin ise asidofilik kısmı pembe renge boyar.

Meni lekesinin varlığı sadece PSA testleri ile yorumlanmamalıdır. Meni varlığının kesin tespiti için mikroskobik inceleme yapılmalıdır (6). Şüphelinin, azospermik, aspermik, vasktomili olduğu durumlarda yapılacak mikroskobik incelemelerde sperm hücresine rastlanılmayacaktır. Bu da o suçun varlığını ispatta meni lekesinin tespitini önemli kılmaktadır. Eğer şüphelinin azospermik olduğu bilinirse, sadece meni varlığı suçun aydınlatılmasında destekleyici olabilmektedir.



Resim 3. Mikroskop altında sperm hücresi tespiti

Sperm hücresinin tespiti neden önemlidir?

Günümüzde bazı suçların aydınlatılmasında sperm hücrelerinin tespitine ihtiyaç duyulmaktadır. Mikrobiyolojinin babası olarak bilinen Antonie van Leeuwenhoek, 1677 yılında ilk kez mikroskop altında sperm hücresini gözlemlemiştir. Sperm hücresinin mikroskobik incelemeyle tespitinin ardından bu hücrelerin, aynı ortamda bulunan diğer hücrelerden ayrıştırılması amacıyla DNA izolasyonuna alınması gerekmektedir. Eğer ayrıştırma işlemi yapılmadan örnekler DNA izolasyonuna alınırsa leke, mağdura ya da başka şahıslara ait DNA'yı da içerebileceğinden; şüphelinin, sperm lekesinin asıl sahibi olup olmadığı anlaşılamayacaktır.

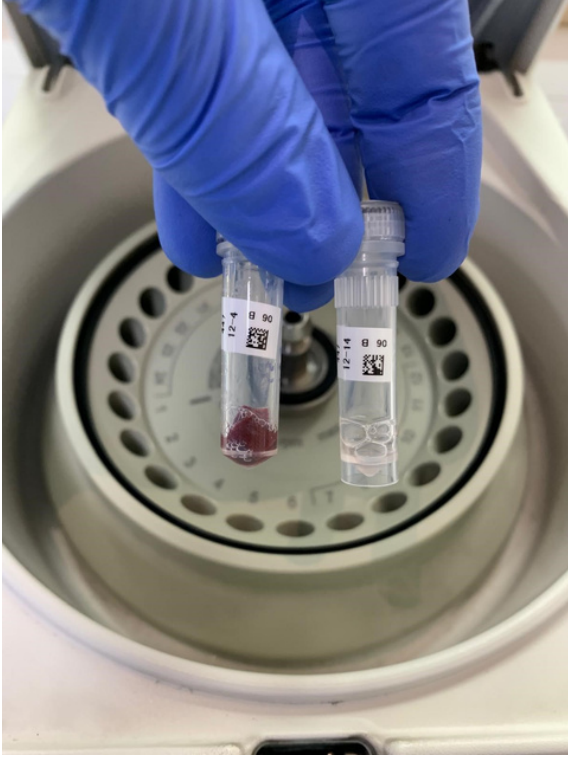
Farklı zamanlarda üst üste gelen iki leke, hayatın olağan akışı içinde pek tabi birbirine karışacaktır. Bu durum, aynı alan (çamaşır sepeti gibi) içerisindeki kıyafetlerde gözlemlenebilmektedir. Eğer farklı tipte hücreler ayrıştırılmaz ise, olay dışı diğer kişinin DNA'sı da meni lekesinin içinden çıkabilecektir. Bu nedenle, eğer aynı lekenin içinde karışmış halde iseler, sperm hücreleri ile diğer hücrelerin ayrıştırılıp farklı tüplerde izolasyona sokulması önemlidir.

Differential Lizis ne demektir?

Diferansiyel Lizis yöntemi, mikroskobik yöntemle leke içinde varlığını tespit ettiğimiz sperm

CİNSEL SALDIRI VAKALARINDA MENİ ve SPERM HÜCRESİ TESPİTİ

hücresinin, diğer hücrelerden bir dizi işlemle ayırıştırılma yöntemidir (7). Spermatozoonun hücre bütünlüğünü kaybetmeden, bulunduğu karışık hücre grubu içerisinde çekilip ayrılması önemli bir husustur.



Resim 4. Diferansiyel Lizis aşamasında ikiye ayrılan örnek.

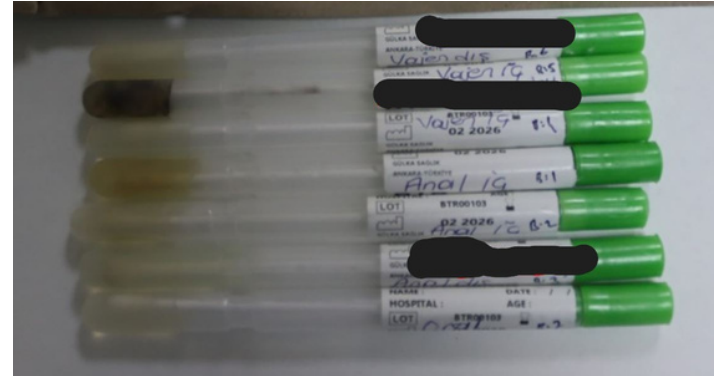
Nasıl uygulanır?

Mikroskopik inceleme bitene kadar tüp içerisinde bekleyen örnek, sperm tespitinin ardından sperm ayırıştırma işlemine alınır. Tüplere örneğin büyüklüğüne göre 150-250 µl ATL Buffer ve 10 µl Proteinaz K eklenir. 56 °C ısıtıcı blokta 1 saat inkübe edilir. 13000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilir. Süpernatantın 200-250 µl'si, mağdura ait DNA profilin belirlenmesi amacıyla DNA izolasyonunda kullanılmak üzere ayrı bir tüpe konur. Dipteki kalan kısım spermleri içermektedir. Ancak beraberinde bulunabilecek mağdura ait DNA moleküllerinin uzaklaştırılması için yıkama işlemi uygulanır. Örnek üzerine 500 µl distile su eklenir. 15 sn vortekslenir. 13000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilir. Süpernatant uzaklaştırılır. Yıkama basamağı 1-2 kez tekrar edilir. Dipte kalan kısım şüpheliye ait DNA profilinin belirlenmesi amacıyla DNA izolasyonunda kullanılır.

DNA örnek alımında nelere dikkat edilmelidir?

Delilin alınma, saklanma ve gönderilme koşullarından başlayarak sürecin bir bütün olarak başarılı bir şekilde ilerletilmesi gerekmektedir. Bu husus Adli Tıp Uygulama Yönetmeliği'nde, gönderilecek her bir materyal için detaylı bir şekilde tarif edilmiştir. Mağdurdan alınacak örnekler için aşağıdaki hususlar özellikle gözetilmelidir:

- Numunenin alınacağı odanın kontaminasyona açık olmaması.
- Numuneyi alacak kişilerin yetkin olması, tek kullanımlık maske-bone-eldiven-önlük giyinmesi.
- Numunenin jelsiz, pamuk uçlu sürüntü çubuklarıyla alınması.
- Muhafaza edilecekse soğuk zincirde bekletilmesi.
- Numunenin kokuşma ya da küflenmesine müsaade edilmemesi.
- Sürüntü örneğinin lam üzerine yayılmadan birime gönderilmesi.
- Mümkünse havada kurutulması.
- Daha önceden preparat hazırlanmış örnek gönderilecekse steril kutularda, kırılmasına müsaade edilmeyecek korunaklı koşullarda transfer edilmesi.
- Preparat halindeki örneklerle eldivensiz kesinlikle dokunulmaması.



Resim 5. Jelli tüpe alınmış sürüntüler sperm tespitimizi güçleştirmektedir.

Bahsedilen hususlara dikkat edildiği takdirde uygun şartlarda muhafaza edilen delillerden uzunca süre sonra bile sonuç elde edilebilir ve devamında DNA profillemeye başarılı bir şekilde yapılabilir.

CİNSEL SALDIRI VAKALARINDA MENİ ve SPERM HÜCRESİ TESPİTİ

REFERANSLAR

- (1) Hochmeister MN, Budowle B, Rudin O, Gehrig C, Borer U, Thali M, Dirnhofer R. Evaluation of prostate-specific antigen (PSA) membrane test assays for the forensic identification of seminal fluid. J Forensic Sci. 1999 Sep;44(5):1057-60. PMID: 10486959.
- (2) Akkaya H, "Çeşitli Sıvı Ortamlara Konulan İnsan Ejakulat Örneklerinde Sperm Hücrelerinin Ve Prostat Spesifik Antijen Varlığının Araştırılması" Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi.
- (3) SA. Harbison; Ri. Fleming, "Forensic body fluid identification: state of the art" Dovepress journal; 10 February 2016:(6) 12-13.
- (4) Kana Unuma 1, Hiroyuki Sato 2, Shuheng Wen 3, et al. "The proportion of false-positives in positive Seratec® prostate-specific antigen SemiQuant test results in postmortem screening for seminal fluid", Legal Medicine; 2023;62:102243.
- (5) Seyalioğlu, "Semen Tespitinde Farklı Yöntemlerin Karşılaştırılması", İstanbul Üniversitesi Adli Tıp Enstitüsü.
- (6) Suttipasit P. Forensic Spermatozoa Detection. Am J Forensic Med Pathol. 2019 Dec;40(4):304-311. doi: 10.1097/PAF.0000000000000517. PMID: 31687979.
- (7) Chapman BR, Blackwell SJ, Müller LH. Forensic techniques for the isolation of spermatozoa from sexual assault samples - A review. Forensic Sci Rev. 2020 Jul;32(2):105-116. PMID: 32712578.

IVF LABORATUVARINDA KULLANILAN İNKÜBATÖRLERİN ÇALIŞMA PRENSİPLERİ VE ÇEŞİTLERİNE DAİR KAPSAMLI BİR İNCELEME



Serdar OKKALI

DBS MED Teknoloji Çözümleri Ltd. Şti.
Genel Müdür

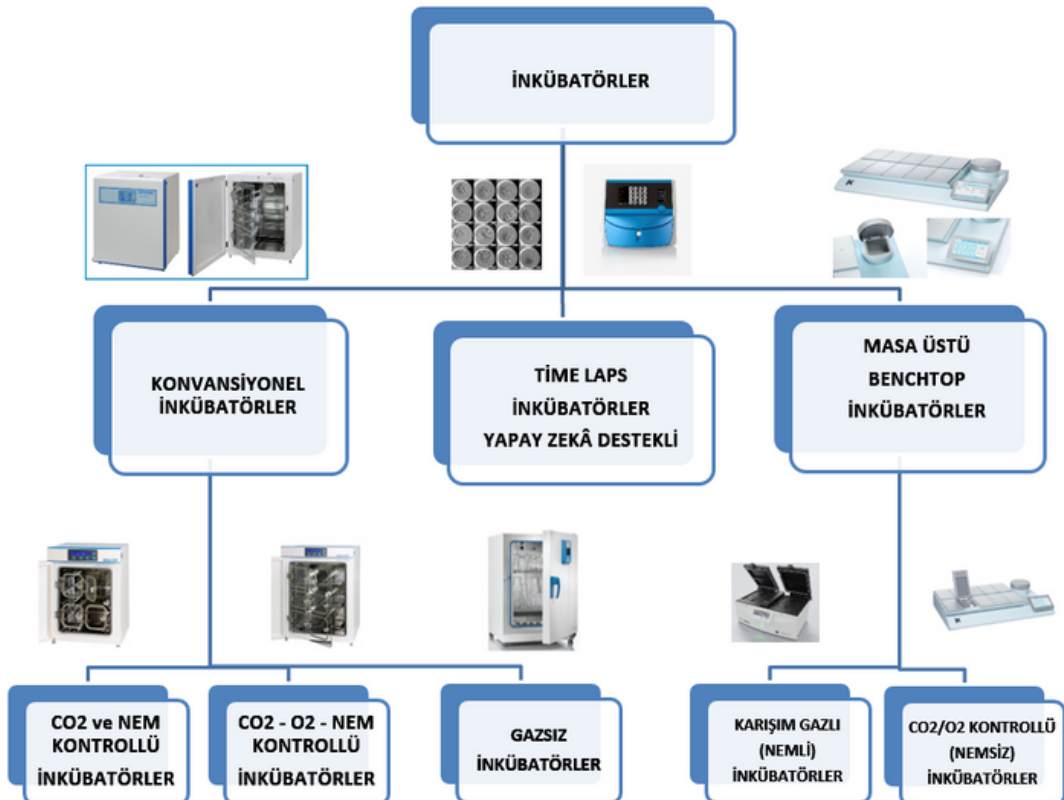
GİRİŞ

Tüp bebek işlemi, infertilite tedavisinde önemli bir adımdır. Embriyo transferinden önce, döllenmiş yumurtaların inkübe edilmesi süreci, tedavi başarısı açısından kritik bir öneme sahiptir. İnkübatörler, bu süreçte embriyoların gelişimi için gerekli olan uygun çevresel koşulları sağlamak için kullanılır.

Farklı inkübatör türleri, farklı teknoloji seviyelerine ve parametre kontrollerine sahip olup, tedavi sürecinin etkinliğini doğrudan etkileyebilir.

Tüp bebek (IVF) tedavisinde, embriyoların sağlıklı bir şekilde gelişmesi için ortam koşullarının kontrol edilmesi büyük önem taşır. İnkübatörler, bu ortamın sağlanmasında kritik bir rol oynamaktadır. İnkübatörlerin, embriyoların gelişim süreçlerini en uygun şekilde destekleyebilmesi için sıcaklık, nem, oksijen ve karbondioksit seviyelerinin hassas şekilde kontrol edilmesi gerekir. Bu ortam şartlarıyla pH dengesi sağlanır. Bu makalede, tüp bebek sektöründe kullanılan inkübatör türleri ve çalışma prensipleri ayrıntılı bir biçimde ele alınacaktır.

İnkübatörler; konvansiyonel, masa üstü çok gözlü inkübatörler ve time laps inkübatörler olarak üç ana sınıfta incelenebilir.



IVF LABORATUVARINDA KULLANILAN İNKÜBATÖRLERİN ÇALIŞMA PRENSİPLERİ VE ÇEŞİTLERİNE DAİR KAPSAMLI BİR İNCELEME

İNKÜBATÖR TÜRLERİ

Tüp bebek tedavisinde kullanılan inkübatörler, çeşitli parametreler ve teknolojiler ile donatılmıştır. Bu inkübatör türleri genellikle üç ana kategoriye ayrılır:

- Konvansiyonel İnkübatörler
- Time Laps (Yapay Zeka Destekli) İnkübatörler
- Masa Üstü (Benchtop) İnkübatörler.

Bu inkübatörler alt başlıkları, özellikleri, avantaj ve dezavantajları bakımından ayrıntılı olarak ele alınacaktır.

I.KONVANSİYONEL İNKÜBATÖRLER

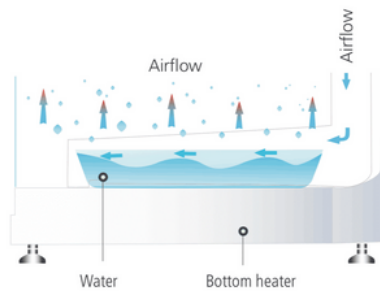
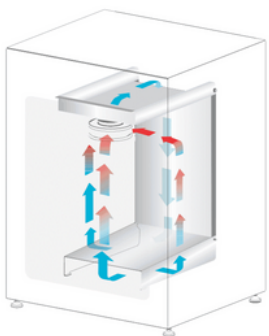
a.CO₂ ve Nem Kontrollü İnkübatörler

Özellikleri:

- CO₂ seviyesi ile pH dengesinin korunması sağlanır.
- %95-98 nem oranı, evaporasyonu önleyerek kültür ortamının stabil kalmasını sağlar.
- Genellikle sabit O₂ oranı (atmosferik seviye) ile çalışır.

Avantajları:

- Düşük maliyetlidir.
- Uzun yıllardır kullanılan güvenilir sistemlerdir.
- Kullanımı ve kalibrasyonu kolaydır.
- En güvenilir nem kontrolünü sağlar.



Dezavantajları:

- O₂ kontrolü olmadığı için hipoksik koşullar oluşturulamaz.
- Kapak açıldığında sıcaklık, nem ve gaz dengesinde dalgalanmalar olur.

b.CO₂, O₂ ve Nem Kontrollü İnkübatörler

Özellikleri:

- CO₂ ve O₂ seviyesi ayrı ayrı ayarlanabilir.
- Genellikle %5 CO₂ ve %5 O₂ ile çalışarak hipoksik bir ortam sağlar.
- CO₂ seviyesi ile pH dengesinin korunması sağlanır.

Avantajları:

- Embriyonik hücrelerin oksidatif stresten korunmasına katkı sağlar.
- Hipoksik ortam sayesinde blastosist gelişiminde artış sağlanabilir.
- Uzun yıllardır kullanılan güvenilir sistemlerdir.
- En güvenilir nem kontrolünü sağlar.

Dezavantajları:

- Kalibrasyon hassasiyeti gerektirir.
- Kapak açıldığında sıcaklık, gaz ve nem dengesinde dalgalanmalar olur.

c.Gazsız İnkübatörler

Özellikleri:

- Gaz kontrolü olmayan sadece sıcaklık kontrolü olan inkübatörlere **etüv** denir.
- Bu tip inkübatörler tüp bebek sektöründe dış ortam medyumları için kullanılmaktadır.
- Dış ortam medyumları MOPS, HEPES ya da her ikisini de barındırır ve gazsız ortamlarda kısa süreli hücre kültürünü sağlarlar.
- Gazsız inkübatörlerin tüp bebekteki kullanımı kısıtlıdır.
- Androloji laboratuvarında kullanılabilir veya yukarıda belirttiğiniz gibi dış ortam medyumları için kullanılabilir.

IVF LABORATUVARINDA KULLANILAN İNKÜBATÖRLERİN ÇALIŞMA PRENSİPLERİ VE ÇEŞİTLERİNE DAİR KAPSAMLI BİR İNCELEME

II. TİME LAPS İNKÜBATÖRLER (YAPAY ZEKÂ DESTEKLİ)

Özellikleri:

- Embriyoları kesintisiz olarak video kaydıyla izler.
- Yapay zeka algoritmaları embriyo gelişimini analiz eder.
- CO₂, O₂ ve nem seviyesi otomatik ve sabit şekilde korunur.
- Kapak açılmadan gözlem yapılabilirdiği için çevresel değişiklik minimuma iner.

Avantajları:

- Embriyo seçimi için zamanlama ve morfolojik verileri birleştirilerek objektif skorlamalar yapılabilir.
- Yüksek implantasyon oranlarına katkı sağlar.
- Kapak açılmadığı için çevresel stres faktörleri minimize edilir.

Dezavantajları:

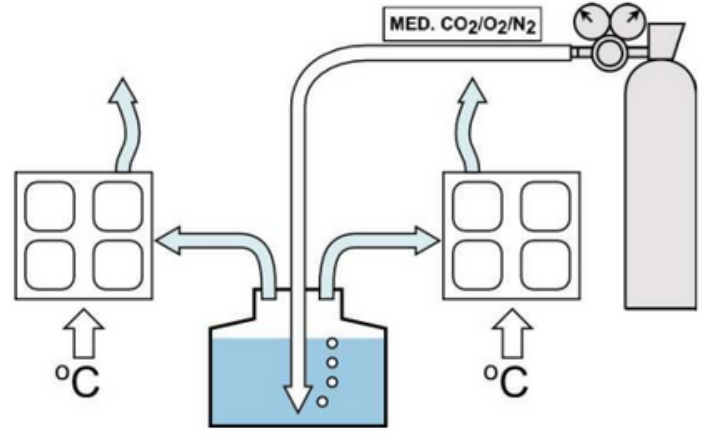
- Cihaz ve yazılım maliyetleri oldukça yüksektir.
- Karışım gaz kullanılması nedeniyle gaz ölçümü yapmaz, Uygun şekilde ve oranlarda hazırlanmış, güvenilir gaza ulaşım zorluğu vardır.
- Nemlendirme sistemi yoktur; bunun yerine medyum kaplama yağı ile kültür ortamı korunur.
- Verilerin yorumlanması için deneyimli embriyologlara ve teknik altyapıya ihtiyaç vardır.

III. MASA ÜSTÜ (BENCHTOP) İNKÜBATÖRLER

a. Karışım Gazlı (Nemli) Masa Üstü İnkübatörler

Özellikleri:

- CO₂/O₂ karışımı kullanılır.
- Yüksek nem oranına sahiptir.
- Kompakt yapılarıyla masa üstünde kullanılabilir.



Avantajları:

- Yer tasarrufu sağlar.
- Hızlı ısı ve gaz geri dönüş süresi vardır.
- Kısa süreli manipülasyonlar için idealdir.

Dezavantajları:

- Karışım gaz kullanılması nedeniyle gaz ölçümü yapamaz, piyasadan alınan gaza güvenilmesi gereklidir.
- Karışım gaz için harici gaz mixer kullanılması durumunda yaklaşık 2 inkübatör ücreti kadar ek maliyete neden olur.
- Sınırlı hacim nedeniyle büyük laboratuvarlarda yetersiz kalabilir.
- Sadece 2 kapağı olduğu için sık kapak açma durumlarında homojen ortamı korumak zor olabilir.

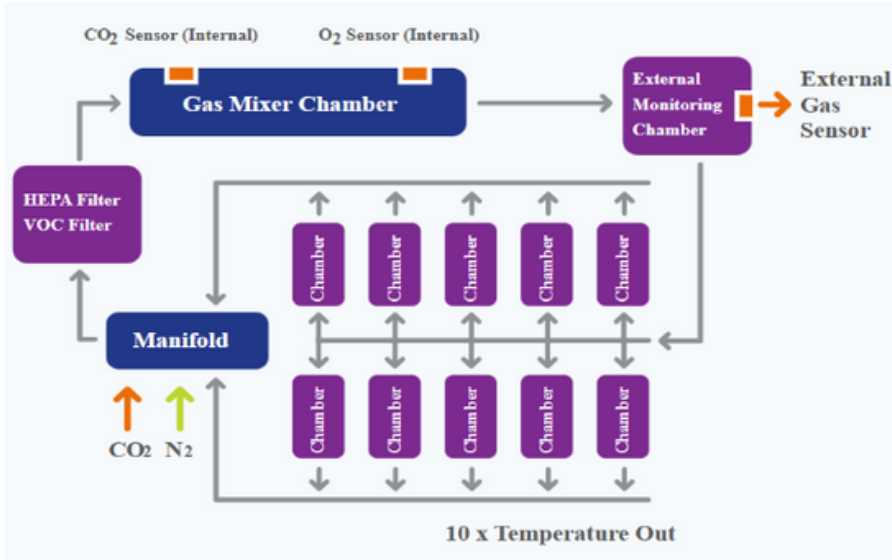
b. Co₂/O₂ Kontrollü (Nemsiz) Masa Üstü İnkübatörler

Özellikleri:

- Nemlendirme sistemi yoktur; bunun yerine medyum kaplama yağı ile kültür ortamı korunur.
- CO₂ ve O₂ seviyeleri hassas olarak kontrol edilir.
- 6, 10 ve 12 bağımsız gözlü modeller bulunmaktadır.
- Bazı modellerde 14ml tüp koyulabilen hazırlık gözü bulunmaktadır.

IVF LABORATUVARINDA KULLANILAN İNKÜBATÖRLERİN ÇALIŞMA PRENSİPLERİ VE ÇEŞİTLERİNE DAİR KAPSAMLI BİR İNCELEME

- Örneklerin karıştırılmasını önlemek için ekran üzerinde hasta isimleri girilen simülasyon ekranları bulunmaktadır.



Avantajları:

- Mikrobiyal kontaminasyon riski düşüktür.
- Stabil bir ortamda daha uzun süreli kültür yapılabilir.
- Gaz ve sıcaklık dalgalanması minimum seviyededir.
- Her numune ayrı gözde saklandığı için kapak açılmalarından daha az etkilenir

Dezavantajları:

- Nem yoktur.

Her inkübatör tipi, kullanım amacı, laboratuvar kapasitesi, maliyet ve başarı oranları açısından farklılıklar göstermektedir. Geleneksel inkübatörler temel ihtiyaçları düşük maliyetle karşılarken, time-laps sistemleri modern IVF uygulamalarında başarı oranlarını artırmak için geliştirilmiştir. Masaüstü sistemler ise yer, hız ve stabilite avantajı sunarak klinik süreçleri optimize eder.

IVF LABORATUVARINDA KULLANILAN İNKÜBATÖRLERİN ÇALIŞMA PRENSİPLERİ VE ÇEŞİTLERİNE DAİR KAPSAMLI BİR İNCELEME

İNKÜBATÖRLERİN ÇALIŞMA PRENSİPLERİ

İnkübatörler, embriyoların gelişim süreçlerini izlemek ve bu süreçleri en verimli şekilde desteklemek amacıyla beş temel parametreyi kontrol eder:

1. Sıcaklık Kontrolü: Embriyoların sağlıklı bir şekilde gelişebilmesi için insan vücudu sıcaklığında (yaklaşık 37°C) bir ortam sağlamak önem arz etmektedir. İnkübatörler, bu sıcaklık seviyesini çok hassas bir şekilde kontrol eden cihazlardır. Bu hassasiyet $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$ 'yi geçmemelidir.

2. Karbondioksit (CO₂) Seviyesi: Embriyoların metabolik süreçleri için CO₂ ve O₂ dengesinin doğru sağlanması önemlidir. İdeal koşullarda CO₂ seviyesi %5-6 civarında; oksijen seviyesi genellikle %5 olmalıdır. Bulunulan yerin rakımına göre bu değerlerin değişiklik gösterebileceği göz ardı edilmemelidir. CO₂ değeri ile amaçlanan önemli nokta pH seviyesini dengelemektir. Anne rahmi ortamının oluşturulması için ideal pH değeri 7,28/7,30 aralığındadır. Bu değer CO₂ ters orantılı olarak değişiklik göstermektedir. CO₂ değeri değiştirilerek pH dengelenmiş ve embriyo gelişimi için ideal şartlar sağlanmış olur.

3. Oksijen seviyesi: Doğal ortamda, yani annenin fallop tüplerinde ve rahminde embriyolar yaklaşık %2-8 arasında bir oksijen seviyesine maruz kalır. Bu nedenle:

- Standart inkübatörlerdeki %20 O₂ (atmosfer seviyesi), embriyo gelişimi için ideal ortamdan yüksektir ve embriyo gelişimini olumsuz etkileyebilir.
- Düşük oksijen (yaklaşık %5 O₂) seviyesi ise, daha doğal bir ortam sağlayarak:
 - Embriyo kalitesini artırır,
 - Blastosist gelişimini destekler,
 - Gebelik ve implantasyon oranlarını iyileştirir.

İnkübatörler düşük seviyeli oksijen kontrolünü azot gazıyla sağlarlar. Atmosferde yüksek oranda olan azot gazı inkübatör içerisinde-

deki oksijen miktarını süpürerek düşürür. Yani atmosferde %20 oranında oksijen vardır. İnkübatörün içerisine oksijen verirse %20 oran yükselecektir.

Oksijen oranını düşürmek için azot gazı kullanılır, inkübatörün içerisindeki azot gazı seviyesi arttıkça oksijen seviyesi azalacaktır. Sensörler aracılığıyla oksijen yüzdesi ölçülür ve istenilen miktara gelene kadar inkübatör içerisine azot gazı verilir. Bu şekilde azot gazıyla düşük seviye oksijen miktarı sağlanmış olur.

4. Nem Seviyesi: Nem oranı, embriyoların hücre fonksiyonlarını sürdürebilmesi için önemlidir. Bu nedenle inkübatörler, nemi sabit tutmak için ek özellikler barındırır.

IVF İnkübatörlerinde Önerilen Nem Seviyesi

IVF (in vitro fertilizasyon) inkübatörlerinde nem seviyesi, embriyo gelişimi ve kültür ortamının stabilitesi açısından kritik bir parametredir.

Embriyo gelişimi için inkübatörlerde nem oranının %85 ile %100 arasında olması önerilmektedir. Yüksek nem, kültür ortamındaki buharlaşmayı azaltarak osmolalite ve pH seviyelerinin stabil kalmasına yardımcı olur. Düşük nem seviyeleri, kültür ortamındaki suyun buharlaşmasına neden olarak osmolaliteyi artırıp embriyo gelişimini olumsuz etkileyebilmektedir.

Nemli bir ortam, kültür ortamının pH seviyesinin stabil kalmasına yardımcı olur. Düşük nem seviyeleri ise pH değişimlerine yol açarak embriyo gelişimini olumsuz etkileyebilmektedir.

Embriyo Gelişimi ve Klinik Sonuçlar

Yüksek nemli inkübatör ortamında embriyoların gelişimi daha hızlı ve kaliteli olmuştur. Özellikle preimplantasyon genetik testi yapılan embriyoların gebelik şansı artmıştır.

IVF LABORATUVARINDA KULLANILAN İNKÜBATÖRLERİN ÇALIŞMA PRENSİPLERİ VE ÇEŞİTLERİNE DAİR KAPSAMLI BİR İNCELEME

Uygulama ve Dikkat Edilmesi Gerekenler

- **Nem Seviyesi Takibi:** İnkübatörlerde nem seviyesinin düzenli olarak izlenmesi ve %90–100 aralığında tutulması önemlidir.
- **Su Rezervuarları Kullanımı:** Nem seviyesini artırmak için inkübatör tabanına steril su içeren kaplar yerleştirilebilir. Ancak, suyun buharlaşmasıyla ortamın nem seviyesi değişebilir, bu nedenle düzenli kontrol gereklidir.
- **Otomatik Nem Kontrol Sistemleri:** Modern inkübatörlerde entegre nem kontrol sistemleri bulunabilir. Bu sistemler, nem seviyesini otomatik olarak ayarlayarak stabil bir kültür ortamı sağlar. Ayrıca nem kontrollü sistemler nemli ortamı sıcak buharla sağladığı için daha hijyenik olacaktır ve kontaminasyon riski çok azalacaktır.
- **Hijyen ve Kontaminasyon Riski:** Nemli ortamlar, mikroorganizma üremesi için uygun koşullar oluşturabilir. Bu nedenle, inkübatörlerin düzenli dezenfeksiyonu ve su kaynaklarının hijyenik olması sağlanmalıdır.

Nemli inkübatörlerin dezavantajını da unutmamak gerekir. Nem haznesi her zaman için kontaminasyon kaynağıdır. Bu nedenle suyun sürekli değiştirilmesi ve inkübatörün sık temizlenmesi gerekmektedir veya nem kontrollü inkübatörlerde nem sıcak su buharı ile sağlanır ise kontaminasyon oluşmayacağından nem kontrollü inkübatörler tercih edilmelidir.

5. İnkübatörlerde Kullanılacak Gaz Seçimi:

IVF inkübatörleri, embriyo kültürü için gerekli olan çok hassas çevresel koşulları sağlar. Bu cihazların gaz dağıtım sistemleri, üretim sürecinden başlayarak kullanım aşamasına kadar sterilite ve hassasiyet esaslarına uygun olmalıdır. Yanlış üretim yanlış kurulum veya uygunsuz bağlantı işlemleri, embriyo gelişimini olumsuz etkileyebilir ve IVF başarı oranlarını düşürebilir.

A. Üretim Aşamasında Hijyenik Şartlar

a. Temiz Oda Üretimi:

İnkübatör gaz dağıtım sistemleri ISO 14644-1 standardına göre en az ISO Class 7 seviyesinde temiz odalarda üretilmelidir (ISO 14644-1, 2015). Bu, partikül kontaminasyonunu ve mikroorganizma bulaş riskini minimize eder.

b. Malzeme Seçimi:

Gaz ile temas eden tüm parçalar,

• Tıbbi sınıf paslanmaz çelik (AISI 316L)

• Biyouyumlu silikon tüpler

• Teflon (PTFE) kaplamalı hortumlar gibi malzemelerden üretilmelidir. Bu malzemeler gaz sağlığını korur, gazın kontaminasyonunu önler.

c. Montaj Sonrası Sterilizasyon:

Gaz kanalları ve bağlantı elemanları üretim sonrası ETO (etilen oksit) veya gamma ışınları ile sterilize edilmelidir. Elde edilen ürünler steril ambalaj içinde son kullanıcıya ulaştırılmalıdır.

B. Cihaza Bağlanırken Uygulanması Gereken Prosedürler

a. Gaz Kaynaklarının Seçimi ve Doğrulama:

Kullanılacak gazlar (CO₂, O₂, N₂):

• Tıbbi gaz standardı taşınmalıdır,

• EN ISO 7396-1:2016 standardına uygun olmalıdır.

Gaz tüpleri bağlantıdan önce mutlaka saflık testinden geçirilmelidir (çoğu IVF laboratuvarı %99.995 saflık- "5.0 grade" gaz kullanır).

b. Tüp ve Bağlantı Hijyeni:

Bağlantı hortumları:

• Kullanımdan önce alkol bazlı dezenfektanlar ile temizlenmelidir.

• Uçlar steril kapaklarla korunmalıdır.

• Hortumlar bağlantı öncesinde steril bir ortamda açılmalıdır.

c. Filtrasyon:

1. İnkübatöre giren tüm gazlar, 0.2 mikron partikül ve bakteri filtrasyonuna sahip gaz filtresi üzerinden geçirilmelidir.

IVF LABORATUVARINDA KULLANILAN İNKÜBATÖRLERİN ÇALIŞMA PRENSİPLERİ VE ÇEŞİTLERİNE DAİR KAPSAMLI BİR İNCELEME

Bu filtreler:

- Yüksek verimli olmalı,
- 6 ayda bir değiştirilmeli (veya üretici tavsiyesine göre değiştirilmeli)
- Toksik gazları tutmalıdır

2. İnkübatöre giren gazlar Hepa filtreli granül karbonlu inline filtreden geçirilmelidir.

d. Basınç Regülasyonu:

Gaz basınçları cihazın maksimum tolerans aralığı:

- 0.5–1.0 bar arası bir giriş basıncı tercih edilir. Yüksek basınç inkübatör iç ortamında dalgalanmalara yol açabilir.

C. Kurulum Sonrası Doğrulamalar

a. Gaz Kompozisyonu Kalibrasyonu:

İnkübatör CO₂ ve O₂ sensörleri, üretici tavsiyesine göre sertifikalı gaz kalibrasyon setleri kullanılarak ayarlanmalıdır.

b. Sızıntı Testleri:

Bağlantılar yapıldıktan sonra helium leak test ya da basit sabun köpüğü testi ile tüm bağlantılarda kaçak kontrolü yapılmalıdır.

c. Stabilizasyon Süreci:

İlk gaz bağlantısından sonra inkübatörün iç atmosferi (CO₂, O₂, sıcaklık ve nem) istenilen seviyeye gelene kadar (genellikle 12–24 saat) kullanılmamalıdır.

6. IVF İnkübatörlerinde Hava Dolaşımı:

Önemi ve Kriterler: İn vitro fertilizasyon (IVF) laboratuvarlarında kullanılan inkübatörlerin iç ortam kalitesi, embriyo gelişimi üzerinde doğrudan etkili olduğu için hava dolaşımı büyük bir öneme sahiptir. Hava dolaşımı hem gaz kompozisyonunun homojenliğini hem de sıcaklık ve nemin stabilitesini sağlar. Özellikle CO₂, O₂ konsantrasyonlarının ve pH değerinin doğru seviyelerde tutulabilmesi için etkili bir hava akışı hayati rol oynar. Hava dolaşım sisteminin tasarımı ve yönetimi, inkübatörün tipine göre değişiklik gösterir. Bu bağlamda konvansiyonel inkübatörler ve çok gözlü (benchtop) inkübatörler için farklı kriterler söz konusudur.

A. Konvansiyonel (Klasik, Büyük Hacimli) İnkübatörlerde Hava Dolaşımı Önemi

Büyük iç hacim nedeniyle, gazların ve sıcaklığın her noktaya eşit şekilde dağılması gerekir. İnkübatörün iç hacminin büyük olması nedeniyle ortam havasının stabilitesi fan ile sağlanır. Fan ile inkübatör içinde havanın dolaşabilmesi için rafların delikli olması gerekmektedir. İnkübatör haznesi nemli olduğu için ön tarafta bulunan gözlem camı buğu yapabilir.

DİKKAT EDİLMESİ GEREKEN KRİTERLER	
KRİTER	AÇIKLAMA
Laminer Akış Sistemi	İnkübatör içinde havanın tek yönde ve sabit hızda akması sağlanmalı; türbülans en aza indirilmelidir.
Hızlı Re-Stabilizasyon	Kapı açıldıktan sonra sıcaklık ve gaz dengesi 5 dakika içinde eski haline dönmelidir.
Homojen Gaz Dağılımı	CO ₂ ve O ₂ Konsantrasyonlarında bölgesel farklılık olmamalı, Maksimum $\pm 0.5\%$ tolerans kabul edilir
Sıcaklık Homojenliği	İç sıcaklık farkı maksimum $\pm 0.3^{\circ}\text{C}$ olmalıdır.
HEPA/ULPA Filtrasyon	Hava sirkülasyonu sırasında partikül ve mikrobiyal kontaminasyonun önlenmesi için $\geq 99.99\%$ verimli filtre kullanılmalıdır.

IVF LABORATUVARINDA KULLANILAN İNKÜBATÖRLERİN ÇALIŞMA PRENSİPLERİ VE ÇEŞİTLERİNE DAİR KAPSAMLI BİR İNCELEME

İnkübatör buğulanmasını önlemek için ön kapak ısıtması kullanılmalıdır. Konvansiyonel inkübatörlerin yeni jenerasyonlarında devirdaim fanının önüne konulan Hepa filtre ile dolaşan hava steril edilmektedir. Kapı açılmaları sırasında ortamın hızlıca eski stabil haline dönmesi, hava dolaşım verimliliğine bağlıdır.

B.Çok Gözlü (Benchtop / Multi-Chamber) İnkübatörlerde Hava Dolaşımı Önemi

Çok gözlü inkübatörlerde her bir odacık (chamber) bağımsız çalışır. Bu yüzden lokal ortamın korunması, klasik inkübatörlere göre daha kolaydır. Kapı açılmaları bir bölmeye özgü olduğu için genel hava dolaşımını daha az etkilenir. Dolaşan havanın odalar arasındaki geçişi ile kontaminasyon olmaması için iki farklı filtre yöntemi kullanılır. Birincisi Voc filtre filtrenin içerisinde aktif karbon ve “Hepa filtre” vardır. İkincisi Uv filtre bunun için uv lamba olan bir odacık vardır. İnkübatör gözlerine taze hava girer ve çıkan hava bu iki filtreden geçerek inkübatörün içerisindeki gaz mikser odasına girer burada gaz oranları ayarlandıktan sonra tekrar inkübatör gözlerine gönderilir.

Bu sayede inkübatör gözlerinde hep temiz ve aynı oranda hava bulunur. Bu inkübatörlerin dezavantajı ise nem olmamasıdır.

Konvansiyonel inkübatörlerde hava dolaşımı, büyük hacim nedeniyle homojenlik ve hızlı toparlanma açısından kritik öneme sahiptir. Çok gözlü inkübatörlerde ise, bölme bazlı lokal hava kontrolü sayesinde daha stabil ve güvenli bir mikro çevre sağlanabilir.

Her iki inkübatör tipinde de laminar akış, hızlı stabilizasyon, homojen sıcaklık ve gaz dağılımı, etkili filtrasyon olmazsa olmaz kriterlerdir. Bu kriterlere uygun olmayan hava dolaşımı, embriyo gelişimini, blastosist kalitesini ve IVF başarı oranlarını olumsuz etkileyebilir.

İnkübatör Türlerinin Mukayesesine Dayalı Değerlendirme

İnkübatör türlerinin karşılaştırılmasında, her bir türün avantajları ve sınırlamaları göz önünde bulundurulmalıdır.

DİKKAT EDİLMESİ GEREKEN KRİTERLER	
KRİTER	AÇIKLAMA
Bölmeli Sistem	Her odacık için ayrı gaz akışı ve sıcaklık kontrolü olmalıdır. Bölmeler arası hava geçişi olmamalıdır.
Hızlı Gaz Replenishment	Küçük hacimlerde gaz seviyesi 1-2 dakikada eski seviyeye dönmelidir.
Minimal Hava Türbülansı	Küçük odacıklarda türbülans minimize edilmeli, düşük hızda laminar akış sağlanmalıdır.
Kapak Isıtması	Kapak ısıtması sayesinde odacık içerisindeki ısı stabilitesi sağlanmalıdır.
Kapı Sensörleri	Her bölmenin kapı açılmasını algılayan sensörler olmalı ve buna göre otomatik gaz enjeksiyonu yapılmalıdır.

IVF LABORATUVARINDA KULLANILAN İNKÜBATÖRLERİN ÇALIŞMA PRENSİPLERİ VE ÇEŞİTLERİNE DAİR KAPSAMLI BİR İNCELEME

Konvansiyonel inkübatörler, genellikle nem hassasiyetinin önemli olduğu durumlarda ve yüksek kapasiteli yerlerde tercih edilirken, masaüstü inkübatörler ayrı odacıklara sahip olduğu için gaz stabilitesi ve kontaminasyon riskinin az olması nedeniyle tercih edilirler.

Masaüstü inkübatörlerin nemli gazlı ve karışım gazlı versiyonları, özellikle daha düşük hacimli laboratuvarlar ve klinikler için uygun olabilir. Nemli gazlı konvansiyonel inkübatörler, nem dengesinin ön planda tutulduğu durumlarda, karışım gazlı inkübatörler ise ayrı odacıklar ve nem istenilen durumlar için idealdir. Ayrı gaz kontrolü yapan inkübatörler ise en hassas ortam yönetimini sunmaktadır.

SONUÇ

Tüp bebek tedavisinde kullanılan inkübatörler, embriyoların sağlıklı bir şekilde gelişebilmesi için kritik öneme sahiptir. Farklı inkübatör türleri, kliniklerin ihtiyaçlarına ve bütçelerine göre seçilmelidir. Masaüstü (Benchtop) inkübatörler, gaz kontrolü ve ortam stabilitesi konusunda üstünlük sağlarken, konvansiyonel inkübatörler daha ekonomik nemli ve yüksek kapasiteli çözümler sunmaktadır. Nemli gazlı inkübatörler, nem dengesini ön planda tutarken, karışım gazlı inkübatörler nemli ortam sağlar ancak gaz ölçümü olmadığı için tedarikçiden gelen gaza güvenilmesi gerekmektedir. Ayrı gaz kontrolü yapan inkübatörler ise en ideal ortam koşullarını sağlamaktadır. Tüm inkübatör cihazlarının problemsiz ve doğru çalışması için yıllık bakımlarının yetkili mühendisler tarafından yapılıp gerekli sarfların önerilen periyotlarda değiştirilmesi elzemdir.

Her inkübatör türü, belirli tedavi ihtiyaçlarına ve klinik gereksinimlere göre seçilmelidir, böylece embriyoların gelişimi optimize edilerek tüp bebek tedavisinin başarı oranları artırılabilir.

REFERANS

Meintjes, M. et al. (2009). Embryo culture under low oxygen tension: a multicenter study evaluating the effect on IVF outcome. Reproductive Biomedicine Online.

KONYA ŞEHİR HASTANESİ TÜP BEBEK ÜNİTESİ



Uzm. Dr. Salih Yahya AKSANYAR

Konya Şehir Hastanesi Tüp Bebek Ünitesi

Konya Eğitim ve Araştırma Hastanesi'nde, kuruluş ve açılışında mevcut laboratuvar sorumlumuz Uzm. Dr. Müşerref Sultan MERMER ve HEMUD dernek başkanımız Uzm. Dr. Emine AKSOY hocalarımızın emekleri sonucu Haziran 2012 tarihinde Sağlık Bakanlığı tarafından ruhsatlandırılarak Tüp Bebek Merkezimiz Eylül 2020 yılında Konya Şehir Hastanesi bünyesine taşınmış ve Ocak 2021 tarihinde hasta kabulüne başlamıştır.

Kliniğimiz Konya'da Sağlık Bakanlığına bağlı hizmet veren tek Tüp Bebek Merkezi olmakla birlikte hastanemiz içinde yaklaşık 1000 m²'lik bir alanda bölgenin tüm ihtiyaçlarını karşılaması düşünülmüş, geniş, ferah, konforlu ve standartlara uygun olarak kurulmuştur.

Deneyimli ekibimiz ve modern tıbbi laboratuvarımızla birlikte, Konya şehri ve çevresinde çocuk sahibi olmak isteyen ancak henüz bu hayali gerçekleştiremeyen infertil çiftlere yönelik ekonomik ve etkili tedavi imkanları sunarak, hastalarımıza umut olmaya devam etmektedir. Merkezimiz sadece Tüp Bebek Merkezi olarak değil, bir infertilite Kliniği olarak da hizmet vermektedir.

Amacımız; çiftlerin çocuk sahibi olma isteklerini gerçekleştirmelerine yardımcı olmak ve bu süreci kolaylaştırmaktır. infertilite tedavilerinde sunduğumuz modern yaklaşımlar ve rehberlik sayesinde, çiftlerin duygusal ve fiziksel zorlukları en aza indirilirken olumlu bir deneyim yaşamalarını sağlamak hedefimizdir. Toplumun sağlığını ve ailelerin mutluluğunu artırmaya yönelik bu çabalara devam ederek, gelecekte de daha fazla

çiftin hayalini gerçekleştirmelerine yardımcı olmayı amaçlıyoruz.

Tüp Bebek Merkezi olarak, kuruluşumuzdan bu yana bilimsel ve uluslararası standartlarda kanıtlanmış en güvenli ve modern yöntemleri uygulayarak, hastalarımızın mahremiyetine ve sağlığına büyük bir özen göstermekteyiz. Alanında uzmanlaşmış 7 hekim ve deneyimli ekibimizle birlikte, hastalarımıza yüksek kalitede tedavi ve destek sunmaktayız.

Kadın Doğum Hekimlerimiz;

- Dr. Öğr. Üyesi Dilay GÖK KORUCU (ÜYTEM ünite sorumlusu)
- Dr. Öğr. Üyesi Ümmügölsüm ESENKAYA
- Uzm. Dr. Halime GÖKTEPE

Tıbbi Histoloji ve Embriyoloji hekimlerimiz;

- Uzm. Dr. Müşerref Sultan MERMER (ÜYTEM laboratuvar sorumlusu)
- Uzm. Dr. Berrin YANGIN
- Uzm. Dr. Rümeyza Hilal DATLI
- Uzm. Dr. Salih Yahya AKSANYAR

Ayrıca kliniğimizde 3 laborant, 2 hemşire, 3 destek personeli ve 4 sekreter görev yapmaktadır.

Kliniğimiz, Tüp Bebek Merkezi poliklinik hizmeti, Kadın Doğum ve Çocuk Hastanesi G Blok 1. Katında yer alan 3 poliklinik odasında sunulmaktadır. Bünyemizde;

- Kan alma odası
- Hasta görüşme odası
- Bekleme salonu
- 2 adet ameliyathane (TESE, OPU)
- Embriyoloji Laboratuvarı
- Androloji Laboratuvarı bulunmaktadır.

Ayrıca, işlem öncesi ve sonrasında hastalarımızın rahatça dinlenebileceği 6 yatak kapasiteli 3 hasta odası, sperm verme odası, aşılama odası ve hastalarımızı karşılayan sekreterlik bankosu bulunmaktadır. Tüm bu alanlar, hastalarımıza konforlu ve etkili bir tedavi süreci sunmak amacıyla tasarlanmıştır.

KONYA ŞEHİR HASTANESİ TÜP BEBEK ÜNİTESİ



Hasta hazırlık, ayılma ve gözlem odaları, sperm verme odası ve hemşire bankosunun bulunduğu yarı steril alan



Androloji laboratuvarı, embriyoloji laboratuvarı, OPU ameliyathanesi ve TESE ameliyathanesinin bulunduğu steril alan

KONYA ŞEHİR HASTANESİ TÜP BEBEK ÜNİTESİ



Androloji laboratuvarımız



Embriyoloji laboratuvarımız

KONYA ŞEHİR HASTANESİ TÜP BEBEK ÜNİTESİ



Opu ve transfer işlemlerini yaptığımız ameliyathanemiz

Tüp Bebek Merkezimizde Yapılan İşlemler

- OPU (Oocyte Pick –Up) Yumurta Toplama
- ICSI (İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu)/ Mikroenjeksiyon
- Rutin Sperm Elde Etme Yöntemleri
- TESE, MESA (Cerrahi Sperm Arama)
- Embriyo ve Oosit Ko-Kültürü
- Embriyo Freezing – Thawing
- Sperm Freezing- Thawing
- TESE Materyali Freezing- Thawing
- Oosit Freezing- Thawing
- Assisted Hatching (AH) Yardımlı Tutunma İşlemi
- Spermiyogram
- Sperm Yıkama ve Boyama Yöntemleri
- Yumurtalık uyarımı ve IUI (İntrauterin İnseminasyon, Aşılama)
- PRP hazırlama ve uygulama gibi hücresel tedaviler uygulanmaktadır.

Kliniğimizde Kullanılan Teknolojik Cihazlar

- Laminar Flow Hood Cihazı (Yüzeyi Isıtmalı)
- İnkübatör Cihazı
- Stereoskopik Mikroskop
- Ters Işık (İnverted) Mikroskop
- Mikromanipülatör Sistemi
- Toksik Gaz Filtreleme Sistemi Cihazları
- Faz Kontrast Laboratuvar Mikroskobu
- Santrifüj Cihazı
- Ameliyathane Mikroskobu

Editorial > Hum Reprod Open. 2025 Mar 20;2025(2):hoaf011. doi: 10.1093/hropen/hoaf011.
eCollection 2025.

Why the hypothesis of embryo selection in IVF/ICSI must finally be reconsidered

Norbert Gleicher^{1 2 3 4}, Sonia Gayete-Lafuente^{1 2}, David H Barad^{1 2}, Pasquale Patrizio^{1 5},
David F Albertini^{1 6}



Hazırlayan:
Uzm. Dr. Semanur IŞIK
Kütahya Şehir Hastanesi

IVF/ICSI'de Embriyo Seçimi Hipotezi Neden Yeniden Gözden Geçirilmelidir?

ÖZET

Embriyo seçimi (ES), IVF sürecinde en iyi embriyoyu belirlemeyi amaçlayan ve 40 yıldır uygulanan temel bir yöntemdir. Ancak PubMed'deki 36.492 makale arasında, ES'in standart embriyo ve oosit morfolojisi dışında bilimsel olarak kanıtlanmadığını sorgulayan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Seçilmemiş hasta gruplarında ES, kümülatif gebelik ve canlı doğum oranlarını artırmada başarısız olmuştur. ES'in tek faydası, gebeliğe kadar geçen sürede marjinal bir kısalma sağlamasıdır, bu da sadece çok sayıda yumurta ve embriyosu olan iyi prognozlu hastalarda gözlemlenmiştir. İn vitro maturasyon hariç, alınan oositler ve bunlarla elde edilen embriyolar, sınırlı kümülatif gebelik ve doğum şansı sunar. Buna rağmen, ES hipotezi hem araştırmalara yön vermiş hem de IVF'ye birçok 'add-on' eklenmesine yol açmıştır. Bu nedenle, ES'e yapılan yatırımlar embriyo aşaması yerine oosit toplama öncesine kaydırılmalıdır.

Anahtar Kelimeler: IVF / Embriyo Seçimi (ES) / ES metodları / Kümülatif gebelik oranı / Kümülatif canlı doğum oranı / İnfertilite / Yapay zeka (AI)

MAKALE ÖZETİ

GİRİŞ

IVF'nin doğal siklulardan gonadotropin stimülasyonuna geçişiyle başarılı bir infertilite tedavisi olduğu kısa sürede anlaşılmıştır. Bu yöntem, çoğul gebelik riskini azaltarak intrauterin inseminasyona kıyasla avantaj sağlamıştır. Artan embriyo verimi, daha az embriyo transferini ve embriyo seçimini (ES) teşvik etmiştir. 40 yılı aşkın süredir araştırmaların odağında olan ES ise, IVF sonuçlarını iyileştirecek etkili ve maliyet açısından uygun tedavi seçenekleri sunmakta yetersiz kalmıştır.

2017 civarında, IVF'ye eklenen yeni uygulamaları tanımlamak için "add-on" terimi ortaya atılmış ve bu yöntemlerle ES'in geliştirilmesi hedeflenmiştir (**Şekil 1**). Ancak bu add-on uygulamaları, çoğu zaman IVF başarısını artırmada yetersiz kalmış ve son 20 yılda dünya genelinde canlı doğum oranlarının düşmesine katkıda bulunmuştur.

Blastosist kültürü (BSC) ve anöploidi için preimplantasyon genetik testi (PGT-A) gibi birçok ES yöntemi, IVF'nin standartları arasına girmiştir. Time-lapse görüntüleme (Dünya çapında birçok merkeze yüksek maliyetlerle sunulmuştur) ile yapılan yakın zamanlı çok merkezli randomize bir çalışmayla da bu görüş daha da desteklenmiştir. Bu görüş yazısında detaylıca açıklandığı gibi, embriyo seçimi (ES) hâlâ doğrulanmamış bir hipotezdir ve biyolojik veriler ışığında çok daha önce terk edilmesi gerekirdi. Bunun gerçekleşmemesi, büyük ölçüde ES'e yönelen endüstriyel ve yatırım desteklerinden kaynaklanmaktadır. Son dönemde bu yatırımlar, ES'te uzmanlaştığını iddia eden ve ticari olarak sunulan yapay zeka (AI) ürünleriyle sürmektedir. Ancak yakın tarihli bir klinik çalışma, embriyoların manuel morfolojiyle ya da derin öğrenme yöntemleriyle değerlendirilmesi arasında anlamlı bir fark olmadığını göstermiştir. Embriyo seçimine (ES) duyulan inanç, sermaye piyasalarının infertilite tedavilerini kârlı ve sürekli yatırım yapılabilir bir alan olarak görmesini sağlamıştır.

Bu durum, özellikle son on yılda IVF' in küresel ölçekte ticari yapısını köklü biçimde değiştirmiştir. Bu süreçte, gelir sağlayan yeni add-on uygulamaların kullanımı da belirgin şekilde artmıştır.

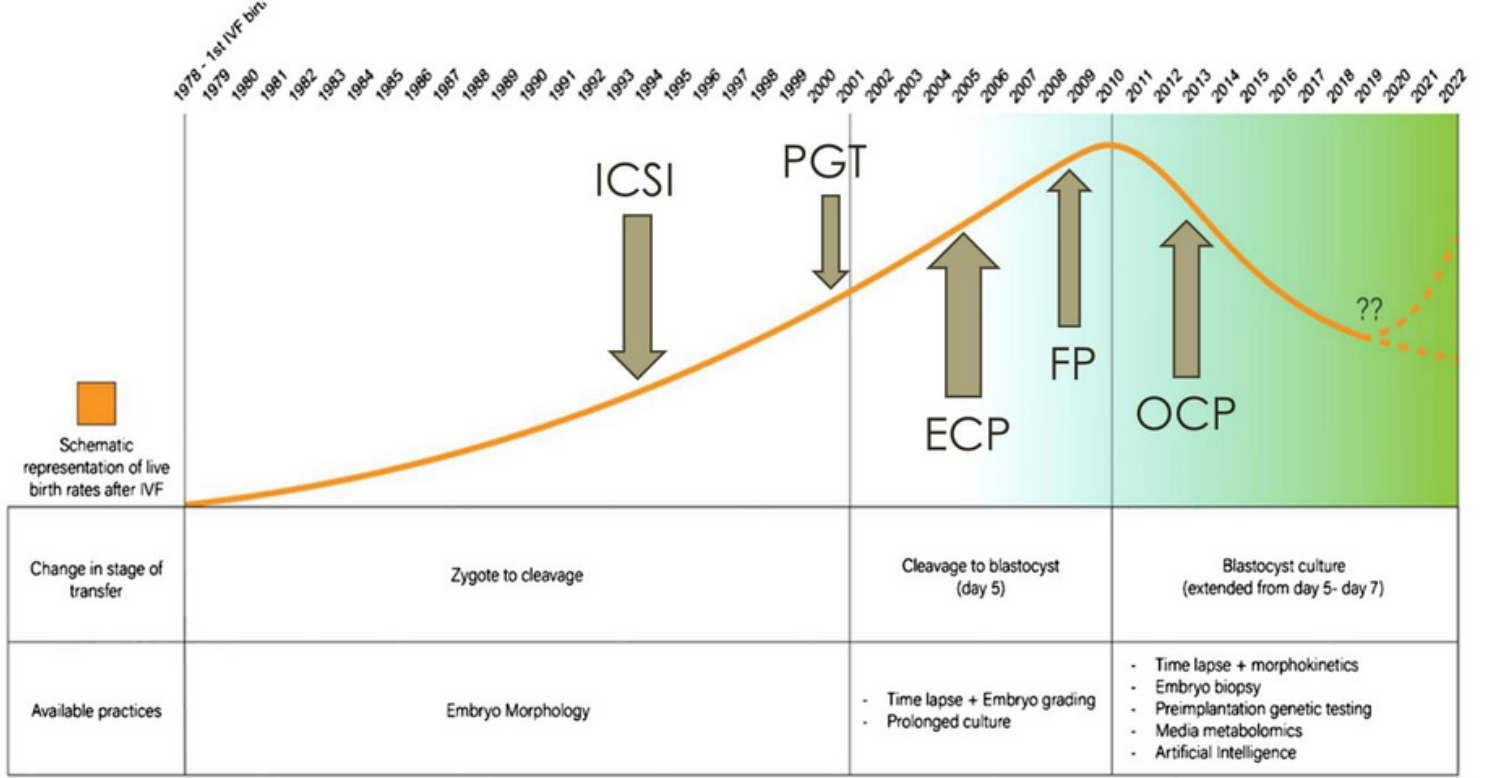
Bu görüş yazısı, standart oosit ve embriyo morfolojisinin ötesine geçerek ES yoluyla IVF sonuçlarını iyileştirme çabalarının başarısız olduğunu ortaya koymaktadır. Bu nedenle, araştırmaların artık farklı alanlara yönelmesi gerektiği vurgulanmaktadır.

Seçimin İlkesi

Doğurgan çiftlerde üreme başarısızlıklarının çoğu, embriyolardaki genetik istikrarsızlık nedeniyle erken dönemde oluşur. İnfertil bireylerde ise üreme süreçlerinin verimliliği daha düşüktür. Bu nedenle, sağlıklı ve üreme yetkinliği olan bireylerde doğurganlığı etkileyen faktörler ile infertil bireylerin IVF sürecinde karşılaştıkları durumlar ayrı değerlendirilmelidir. Sonuç olarak, infertil çiftlerin üreme sonuçlarını iyileştirme çabaları, doğal konsepsiyon mekanizmalarından bağımsız ele alınmalıdır.

Normalde foliküller ve oositler doğal bir seçim süreciyle işler; her döngüde genellikle yalnızca bir oosit yumurtlanır ve döllenir. Bu mekanizma, IVF'de daha fazla oosit elde etme fikrine ilham vermiştir. Ancak artan oosit ve embriyo sayısı, 'en iyi' olanı seçmeyi gerekli kılmıştır. Embriyo morfolojisinin, gebelik ve canlı doğum şansı yüksek ya da düşük embriyoları ayırt edebildiği anlaşıncaya, ES hipotezi yaygın kabul görmüştür. Ancak sorun, morfolojik değerlendirmelerin ötesine geçilerek ES'in daha da geliştirilebileceği varsayımında yatmaktadır. Bu varsayım, ES'in sadece 'iyi' ve 'kötü' embriyoları ayırt etmekle kalmayıp, IVF döngüsü sonuçlarını sayısal olarak öngörebileceğini ve 'anormal' embriyoları güvenle dışlayabileceğini öne sürmüştür.

MAKALE ÖZETİ



Şekil 1: IVF Canlı Doğum Oranlarının Zaman Çizelgesi ve Temel Teknolojik Kilometre Taşları (1978-2022). Bu şematik illüstrasyon, 1978–2022 yılları arasında IVF’de canlı doğum oranlarındaki artışı ve bu süreci şekillendiren temel teknolojik gelişmeleri göstermektedir. Oklarla, ICSI, PGT, embriyo ve oosit kriyoprezervasyonu (ECP, OCP), doğurganlığın korunması (FP) gibi uygulamaların tanıtıldığı yıllar belirtilmiştir. Alt bölüm, embriyo gelişim aşamaları ve seçim stratejilerindeki değişimi yansıtır. Şekil semboliktir; gerçek oranları temsil etmemektedir ve hasta yaşı, elektif tek embriyo transferi (eSET) uygulamaları veya transfer edilen embriyo sayısı gibi değişkenleri kapsamamaktadır.

ES henüz doğrulanmamış bir hipotez olmasına rağmen, önde gelen profesyonel toplumlar tarafından güçlü şekilde desteklenmiş ve IVF uygulamalarında çeşitli add-on’ların rutinleşmesine yol açmıştır. En dikkat çeken add-on’lar rutin blastosist kültürü ve PGT-A’dır. Ancak, ES’in embriyoları güvenilir şekilde ayırt edemediğini en açık gösteren add-on da yine PGT-A olmuştur. Bu yöntemin hedeflenen amaca ulaşmadığı Amerikan Üreme Tıbbi Derneği (ASRM) ve Yardımlı Üreme Teknolojisi Derneği (SART) tarafından resmen kabul edilmiştir. Sonuç olarak, son yirmi yılda potansiyel olarak iyi gebelik şansı taşıyan birçok embriyo kaybedilmiştir ve bu durum hala devam etmektedir.

Doğal kümülatif gebelik şansı zamanla artmış olsa da, IVF’de elde edilen oosit ve embriyo sayısının önemini vurgulamak için yakın zamanda bir çalışma yapılmıştır. Bu gözlem, 'infertilite'yi yaşa bağlı olarak belirli zaman dilimi içerisinde gebelik elde edememe durumu olarak tanımlamış ve tek bir döngüde elde edilen oosit ve embriyo sayılarının kümülatif gebelik ve doğum şansını belirlediğini bir kez daha doğrulanmıştır. İnsanlarda tek bir oositle canlı doğum oranlarının düşük olduğu bilinmektedir. Ayrıca, 2014–2020 yılları arasında blastosist kültürü ve PGT-A gibi ES odaklı add-on’ların kullanımına rağmen, bu oranlarda bir iyileşme gözlemlenmemiştir.

MAKALE ÖZETİ

Her oosit/embriyo kohortu, basit bir matematiksel yaklaşımla önceden belirlenmiş bir kümülatif gebelik ve canlı doğum olasılığını temsil eder. Bu olasılıklar, ancak embriyoloji laboratuvarının kalitesine bağlı olarak değişebilir. Hangi embriyonun ilk transfer edileceği, kümülatif gebelik ve canlı doğum şansını etkilemez. Embriyo seçiminin (ES) sağladığı tek katkı, gebeliğe ulaşma süresinin birkaç ay kısalmasıdır ve bu da yalnızca iyi prognozlu hastalar için geçerlidir.

ES, ilk olarak bölünme aşaması morfolojisiyle değerlendirilmiş ve 1998'de blastosist aşamasına kadar uzatılan embriyo kültürüyle IVF sonuçlarının iyileştiği öne sürülmüştür. Ancak bu çalışmada, katılımcıların çoğunun iyi prognozlu hastalar olması sıklıkla göz ardı edilmiştir. Ayrıca, bu hastalar blastosist aşamasına kadar kültürle başka bir seçim sürecine tabi tutulmuştur, çünkü kötü prognozlu hastalar bu aşamaya kadar hayatta kalan embriyo üretememektedir.

Bu nedenle, söz konusu çalışmanın sonuçları şu nedenlerle yanıltıcıdır:

- (i) Çalışma, büyük ölçüde iyi prognozlu hastalarla yapılmış olmasına rağmen, bulguların tüm IVF hastalarına genellenebileceği hatalı sonucuna varılmıştır,
- (ii) Blastosist aşaması kültürünün kümülatif canlı doğum oranlarını artırmadığı göz ardı edilmiştir;
- (iii) Kötü prognozlu hastalar genellikle blastosist aşamasına kadar gelişebilen embriyo üretememektedir,
- (iv) IVF döngüsü sonuçlarının referans embriyo transferine göre raporlanması, aslında az sayıda ya da hiç blastosist üretmeyen kötü prognozlu hastaların verilerinin dışlanmasına ve dolaylı olarak seçilmesine neden olmuştur.

Sonuç olarak, Gardner ve ark. makalesinde bildirilen gebelik ve canlı doğum oranları abartılmıştır. Bu durum, infertilite tedavileriyle ilgili çalışmaların sonuçlarının raporlanmasında sık karşılaşılan bir istatistiksel hata olup, tıbbi literatür okuyucularının daha eleştirel bir bakış açısına sahip olması gerektiğini göstermektedir.

Seçilmemiş genel popülasyonlarda yapılan çalışmalar, uzatılmış embriyo kültürünün klinik olarak anlamlı bir avantaj sağlamadığını göstermiştir. Bu yöntem, embriyo gelişiminin bölünme ve blastosist aşamaları arasında durduğu senaryolarda elde edilen embriyo kohortunun kümülatif gebelik şansını olumsuz etkileyebilir çünkü böyle bir embriyo, bölünme aşamasında transfer edilse, normal gebelik veya canlı doğumla sonuçlanabilirdi. Dolayısıyla, kümülatif gebelik ya da canlı doğum şansı üzerindeki olumsuz etki, yalnızca genişletilmiş kültürün değil, aynı zamanda kötü embriyoloji uygulamaları ya da diğer klinik yetersizliklerin sonucu da olabilir.

İyi embriyoloji laboratuvarlarında bile, blastosist aşamasına ulaşamayan bazı embriyoların klivaj aşamasında transfer edilerek normal gebelikler ve doğumlar üretebileceği gösterilmiştir. Bazı yayınlar, tek IVF/ICSI döngülerinde, klivaj aşamasındaki embriyo transferlerinin, blastosist aşamasındaki transferlere kıyasla küçük bir sonuç avantajı sağladığını belirtmektedir. Daha kötü prognozlu hastalar için klivaj aşaması, iyi prognozlu hastalar için ise blastosist aşaması tercih edilmesi, hasta seçimi ve önyargıların etkisiyle sonuçların yorumlanmasını zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, genel olarak, bu sonuçlar evrensel klivaj aşaması transferini hafifçe destekler niteliktedir. Seçilmemiş genel infertilite popülasyonlarında ise, blastosist aşamasındaki embriyo transferi, klivaj aşamasına kıyasla anlamlı bir avantaj göstermemiştir.

ASRM tarafından onaylanan blastosist aşamasına kadar embriyo kültürü, ABD'deki çoğu IVF kliniklerinde her yaştan hastalar için rutin hale gelmiştir. Ancak IVF kliniklerindeki hastaların sadece %15-20'sini oluşturan iyi prognozlu hastalar, zaten en yüksek gebelik şansına sahip olduklarından, blastosist kültürünün rutin kullanımı klinik ya da ekonomik açıdan mantıklı olup olmadığı sorgulanabilir.

MAKALE ÖZETİ

En popüler ikinci ES tekniği olan PGT-A, genellikle rutin blastosist kültürüne bağlıdır ve kümülatif gebelik ve canlı doğum şansını önemli ölçüde azaltmaktadır. PGT-A'nın en sık karşılaşılan sorunu, yanlış-pozitif sonuçlarla iyi embriyoların transfer edilmesini engellemesidir. Ayrıca, PGT-A, blastosist aşamasına kadar kültür ve embriyo kriyoprezervasyonu gerektirdiğinden, genellikle kötü gebelik ve doğum sonuçlarıyla ilişkilidir. Bu üç faktör birbirini olumsuz etkileyerek genel sonuçları kötüleştirmektedir.

Temel embriyoloji biliminin ötesinde, ES'in başarılı olma ihtimalinin düşük olduğu, kapalı inkübasyon sistemleri ve time-lapse görüntüleme deneyimlerinden de anlaşılmaktadır. IVF döngüsü sonuçlarını iyileştirmek için önerilen diğer add-on'lar gibi, bunlar da şimdiye kadar başarılı olamamış ve standart embriyoloji uygulamalarından daha iyi performans göstermemiştir. Derin öğrenme tabanlı yapay zekanın ES'ye katkı sağlayıp sağlamayacağı da şüpheli görünmektedir. Çünkü yapay zeka bile, embriyolar arasında tespit edilecek önemli bir fark gerektirir ve bugüne kadar derin öğrenme, IVF'de manuel morfolojiye dayalı ES ile karşılaştırıldığında üstünlük sağlayamamıştır.

Klinik IVF uygulamaları

Şekil 1, IVF'deki iki ana eğilimi gösteriyor:

- (1) Add-on'ların eklenmesi
- (2) Embriyoların in vitro kültürde kalma süresi.

IVF tarihine bakıldığında, kültür süresi sürekli olarak uzamış, zigot aşaması transferlerinden başlayarak 3. gün bölünme aşaması transferine, sonra bölünme ve blastosist aşaması transferine ve nihayetinde rutin blastosist aşaması transferine kadar ilerlemiştir. Bu gelişmeyle birlikte, IVF'ye eklenen test ve prosedürlerin sayısı artmış, hastalar ek ücretler ödemeye başlamıştır. Ancak 2010'dan bu yana, dünya çapında canlı doğum oranları çoğunlukla düşmüştür. IVF'de birden fazla add-on kullanımı, olumsuz etkileri artırabilir ve ek sağlık endişelerine yol açabilir.

Örneğin, genişletilmiş embriyo kültürünün epigenetik stres yarattığı ve insan yavrularının kısa ve uzun vadeli sağlığını etkileyebileceği bildirilmiştir. Bu etki, ilk olarak hayvan modellerinde tanımlanmış, daha sonra insanlarda da gözlemlenmiştir.

DNA onarım genlerinin ve hücre döngüsü kontrol genlerinin yetersiz veya aşırı ekspresyonu, ex vivo oksidatif stres ve embriyoların blastosist aşamasına doğru artan metabolizması gibi faktörler endişe yaratmaktadır. Bu durum, mitokondriyal metabolizmanın değişmesine, DNA hasarına yol açabilir. Ayrıca, embriyo gelişiminde erken aşamalarda görülen kalite sorunları, blastosist aşamasına kadar gelişimi engellemeyebilir. Uzun süreli embriyo kültürü ise erken doğum ve plasenta previa gibi komplikasyon risklerini artırabilir.

PGT-A yoluyla ES, her embriyo için transfer uygunluğunu belirler. Blastosist aşaması kültürü ve embriyo kriyoprezervasyonu, genellikle elektif tek embriyo transferi ile ilişkilidir ve düşük gebelik ve canlı doğum oranlarıyla bağlantılıdır. Bu durum, PGT-A'nın en büyük kümülatif olumsuz sonuca sahip add-on olduğunu gösterir. Eğer kullanılacaksa, embriyo değerlendirmesi için daha çoklu tabanlı platformlar dikkate alınmalıdır. IVF alanı, insan embriyolarındaki anöploidinin kendiliğinden düzelme yeteneğini yeni anlamaya başlamıştır. Anöploid hücreler, öncelikle fetüsün embriyonik hücre soyunda düzelirken, ekstra-embriyonik hücrelerde bu yetenek sınırlıdır. Bu nedenle, PGT-A sırasında alınan biyopsiler, fetüsün genetik durumunu yansıtmayabilir. Ayrıca, anöploid olarak etiketlenen embriyolar blastosist aşamasında kendi kendini düzeltebilir, bu da yanlış pozitif sonuçlara ve gebelik potansiyeli taşıyan embriyoların atılmasına neden olabilir.

İyi yumurtalar iyi embriyolar oluşturur

Add-on'lar, özellikle kötü prognozlu hastalarda önemli endişelere yol açmaktadır. PGT-A sikluslarında 'mozaik' ve 'anöploid' olarak tanımla-

MAKALE ÖZETİ

nan, transfer edilmeyen embriyoların transferinden sonra beklenmedik şekilde iyi canlı doğum oranları elde edilmiştir. Ancak, birçok IVF kliniği bu embriyoları transfer etmeyip genellikle atmaktadır, bu da hastaların kümülatif gebelik potansiyelini azaltmaktadır. Kötü prognozlu hastalarda, blastosist yerine bölünme aşamasındaki embriyoların transferi, daha iyi gebelik ve canlı doğum şansı sağlayabilir.

Doğal döngülerde, foliküller dalgalar halinde olgunlaşırken yalnızca bir baskın folikül ovulasyona ulaşır ve genellikle bu, '**en iyi**' oosit ve '**en uygun**' embriyoyu sağlar. Bu varsayım, yumurtalık stimülasyonunun 'daha düşük kalitede' oositler ürettiği sonucuna yol açar. Ancak IVF'nin genel başarısı, bu düşük kalite seviyesinin aslında çok önemli olmadığını gösteriyor. IVF deneyimi, standart morfolojinin ötesinde, benzer olgunluk derecelerine sahip düşük kaliteli oositler arasında bile heterojenliğin küçük olduğunu ortaya koymuştur.

Bir kohorttaki kardeş embriyolarının, akraba olmayan embriyolara göre daha benzer olması beklenir. Bu durum, özellikle genç oosit donörlerinde doğrulanmış olup, "daha iyi" ve "daha zayıf" oosit donörleri arasında canlı doğum oranlarında farklılıklar oluşmaktadır. Bu da, bireylerin genç yaşta bile "daha iyi" ya da "daha kötü" oositlere sahip olabileceğini gösterir. Sonuç olarak, embriyoların gebeliğe yol açma kabiliyeti, oositlerden değil, hastaların kendilerinden kaynaklanır. Yani, belirli bir hasta için embriyo kohortları, hastalar arasındaki embriyo kohortlarından daha benzer olacaktır. Bu, IVF döngülerinde embriyo seçim stratejilerinin (ES) verimsiz olmasının başka bir nedenidir.

Buraya nasıl geldik ve bu konuda ne yapmalıyız?

Tıbbın ilk etik görevi zarar vermemek, ikinci görevi ise uygun risk-yarar ve maliyet-yarar oranları ile hastaların yararına hareket etmektir;

bu, PGT-A aracılığıyla ES ile tekrar vurgulanmıştır. ES'i çevreleyen dört temel soru IVF uygulamalarına yön vermektedir:

- (i) Döllenmeden sonra hangi embriyonik aşama büyük olasılıkla gebelik oluşturacaktır?
- (ii) Hangi morfolojik, biyokimyasal veya genetik belirleyiciler gebelik oluşturma şansı en yüksek olan embriyoları en iyi şekilde tanımlar?
- (iii) ES stratejilerinin başarısı nasıl değerlendirilecektir?
- (iv) Çoklu veya seçmeli tek embriyo transferi sağlıklı yavrular üretmenin en güvenli ve en verimli yoludur?

Buradan, bu dört sorunun aslında aynı cevaba sahip olduğu sonucuna varılabilir. Embriyo seçimi (ES), tek bir oosit veya embriyo bulgularından ziyade, bireysel hastaların genel özelliklerine dayanarak bakımın bireyselleştirilmesini öneriyor. Bu yaklaşım, IVF'yi 'hassas tıp' alanına dönüştürecek ve böylece IVF döngüsü sonuçlarını en üst düzeye çıkaracaktır.

Son zamanlarda, İtalyan meslektaşlarımız, ES'nin potansiyel duygusal sonuçlarına dikkat çekmişlerdir. Özellikle, hastaların 'en iyi' embriyo ile gebe kalamayarak yalnızca 'ikinci en iyi' seçeneklerle kalmaları durumunda yaşayabilecekleri hayal kırıklığına vurgu yaparak psikolojik endişeleri gündeme getirmişlerdir. Bu bağlamda, 'en iyi' embriyoları aramayı ve bunlara atıfta bulunmayı bırakmanın zamanı gelmiştir.

REFERANSLAR

<https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11928228/>

MAKALE ÖZETİ

> Sci Total Environ. 2024 Aug 10:937:173522. doi: 10.1016/j.scitotenv.2024.173522. Epub 2024 May 25.

Prevalence and implications of microplastic contaminants in general human seminal fluid: A Raman spectroscopic study

Ning Li ¹, Huijun Yang ², Yunling Dong ², Bin Wei ², Liyang Liang ³, Xiang Yun ⁴, Jiaqi Tian ², Yongfei Zheng ⁵, Shuyin Duan ⁵, Lin Zhang ⁶



Hazırlayan:

Uzm. Dr. Elif KOYUN ALVUROĞLU

Kahramanmaraş Necip Fazıl Şehir Hastanesi

Genel İnsan Seminal Sıvısında Mikroplastik Kirleticilerin Yaygınlığı ve Etkileri: Raman Spektroskopik Bir Çalışma

ÖZET

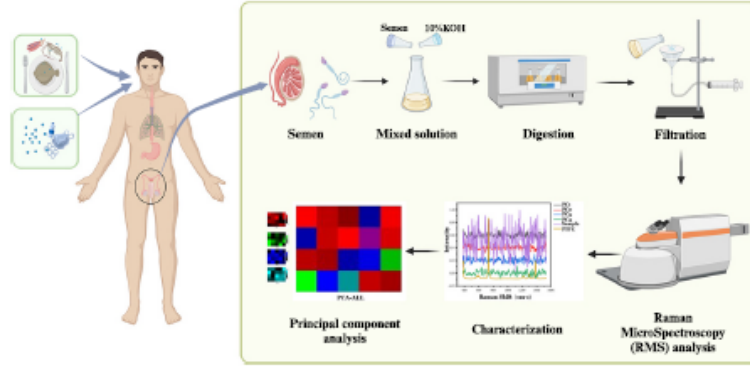
Mikroplastikler, kirli bölgelerden alınan insan sperminde tespit edilen ve her yerde bulunan çevresel kirleticilerdir, ancak genel popülasyondaki yaygınlıkları ve etkileri büyük ölçüde keşfedilmemiştir. Bu çalışma mesleki maruziyeti olmayan bireylerde mikroplastik varlığını, polimer türlerini ve semen kalitesi parametreleriyle ilişkilerini incelemek amacıyla Çin'in Jinan kentinde evlilik öncesi sağlık değerlendirmesine tabi tutulan 40 katılımcıdan semen örnekleri toplanarak gerçekleştirilmiştir. Mikroplastik polimerleri tanımlamak, miktarını belirlemek ve kategorize etmek için Raman mikrospektroskopisi kullanılmış, sperm hareketliliği bilgisayar destekli analiz yoluyla değerlendirilmiş ve morfolojisi Diff-Quik boyama yoluyla değerlendirilmiştir. Demografik özellikler, semen parametreleri, ve mikroplastik içeriği arasındaki korelasyonlar istatistiksel analiz ile incelenmiştir. Mikroplastiklerin tüm semen örneklerinde tespit edildiğini ve örnek başına 2 partikül (0,72 ila 7,02 µm arasında değişmektedir) bulunduğunu tespit ettik. En yaygın olanı polistiren (%31) olmak üzere sekiz farklı polimer tespit edilmiştir. Polistirene maruz kalan semen, polivinil klorüre maruz kalan gruba kıyasla daha yüksek sperm ilerleyici hareketliliği göstermiştir (%43,52 ± 14,21 vs %19,04 ± 13,46). Sperm morfolojik anormallikleri gözlenmiş ancak spesifik plastik tipleriyle anlamlı şekilde ilişkilendirilmemiştir. Sonuç olarak, bu çalışma mesleki olarak maruziyeti olmayan bireylerin semenlerinde mikroplastik kontaminasyonunu ortaya koymaktadır; polistiren, polietilen ve polivinil klorür en yaygın olanlarıdır ve sperm progresif motilitesi ile farklı korelasyonlar sergilemektedir ve mikroplastik maruziyetinin potansiyel üreme etkileri hakkında daha fazla araştırma yapılması gerektiğini vurgulamaktadır.

MAKALE ÖZETİ

HIGHLIGHTS

- An early study to detect microplastics in semen from a general population cohort
- Eight MP polymer types were identified, with PS, PE, and PVC most prevalent.
- Raman microspectroscopy enabled sub-micron microplastic characterization.
- PS and PVC correlated with differential effects on sperm motility.

GRAPHICAL ABSTRACT



GİRİŞ

Son yıllarda plastik üretimindeki artışla birlikte, mikroplastikler çevre ve insan sağlığı için ciddi bir tehdit haline gelmiştir. 2015'te 381 milyon ton olan küresel plastik üretiminin 2050'de 1,1 milyar tonu aşması beklenmektedir. Büyük plastikler zamanla mikro ve nanoplastiklere dönüşerek tüm ekosistemlere yayılmıştır. Mikroplastikler artık her yerde bulunmakta ve en derin okyanustan el değmemiş dağlık bölgelere kadar küresel olarak ekosistemlere nüfuz etmektedir. Küçük boyutları besin zincirlerine kolayca girmelerini sağlar ve giderek artan sayıda araştırma mikroplastik alımının hayvanlarda ve insanlarda fizyolojik işlevleri olumsuz etkileyebileceğini göstermektedir. Deniz ürünleri, su, hava gibi yollarla insanlar düzenli olarak mikroplastiklere maruz kalmaktadır. Ancak, bu maruziyetin boyutu ve etkileri hâlâ tam olarak bilinmemekte olup, halk sağlığı açısından büyüyen bir endişe kaynağıdır. Mikroplastikler idrar, kan, deri, dışkı ve anne sütü gibi insan sıvı ve dokularında yaygın olarak tespit edilmektedir. Bu maruziyet, gastrointestinal ve solunum sistemlerinde inflamasyon ve oksidatif stres gibi olumsuz etkiler yaratabilir. Ancak mikroplastiklerin üreme ve doğurganlık üzerindeki etkileri hala belirsizdir. Erkek infertilitesinin artan bir sorun olduğu ve spermatogenezdeki bozuklukların %40'ının nedeninin

bilinmediği belirtilmektedir. Mikroskopik araştırmalar, mikroplastiklerin kan-testis bariyerini zayıflatabileceğini ve hayvan modellerinde sperm kalitesini bozabileceğini göstermektedir. Özellikle polistren mikroplastiklerine maruz kalan farelerde sperm üretiminde azalma ve anormal sperm oranlarında artış gözlenmiştir. Ancak, mikroplastiklerin insanlardaki üreme üzerindeki etkilerini tam olarak anlamak için daha fazla araştırma gerekmektedir. Mikroplastikleri tespit etmek için kullanılan geleneksel yöntemler, optik mikroskopi ve Fourier Transform Infrared (FTIR) spektroskopisidir, ancak bu tekniklerin sınırlamaları vardır. Optik mikroskopi görsel tanımlamaya izin verir ancak çözünürlük ve polimer bileşimini doğrulayamama ile sınırlıdır. FTIR, kimyasal karakterizasyon için kızılötesi emilim izi sağlar, ancak titiz numune hazırlama gerektirir ve küçük boyutlarla (<20 µm) mücadele eder. Raman mikroskobu, düşük numune hazırlığı ile tahribatsız analiz yapabilen, 1 µm'ye kadar çözünürlük sunarak mikroplastiklerin moleküler bileşimini ve yapısını belirlemede avantaj sağlamaktadır. Örneğin, bu yöntemle yapılan bir çalışmada, kirli bir bölgedeki erkeklerden alınan semen örneklerinde 16 pigmentli mikroplastik parça tespit edilmiştir. Mikroplastiklere maruz kalmanın insan sağlığını etkileyen potan-

MAKALE ÖZETİ

siyel bir faktör olduğunu gösteren araştırmaların giderek artması nedeniyle, insan kontaminasyonunun boyutunu ve üreme sonuçlarıyla ilişkisini anlamak zorunludur. Mikroplastiklerin insan sağlığı üzerindeki potansiyel etkilerini incelemek amacıyla yapılan bu çalışmada, konfokal Raman mikroskobu kullanılarak insan spermindeki mikroplastikler tanımlanmış ve farklı plastik polimerlerin sperm parametreleri üzerindeki etkileri karşılaştırılmıştır. Bu araştırma, mikroplastik maruziyetinin sperm üretimi üzerindeki etkilerini daha iyi anlamayı hedeflemektedir.

METOTLAR

Çalışma denekleri ve semen örneği toplama

Bu çalışma, Çin'in Jinan kentinde, okyanus kıyısına 180 km uzaklıkta, plastik üretim tesisi bulunmayan, genellikle kirli bir alanda gerçekleştirilmiştir. Jinan'daki mikroplastik dozları, aşırı kirli bölgelerde yaşayan nüfuslara odaklanan önceki araştırmalardan farklı olarak, daha tipik maruz kalma seviyelerini temsil etmektedir. Dahil edilme kriterleri, Üreme Tıbbi Merkezi'nde rutin evlilik öncesi sağlık değerlendirmelerinden ve semen analizinden geçen, bilinen üreme hastalıkları olmayan ve 2 ila 7 gün arasında değişen bir süre boyunca herhangi bir cinsel aktiviteden kaçınan katılımcıları kapsamaktadır. Dışlama kriterleri, zihinsel/psikolojik bozukluk tanısı konmuş katılımcılar, bilgilendirilmiş onam vermeyi reddedenler, semen kalitesini veya sperm hareketliliğini etkilediği bilinen ilaç kullanımı olan bireyler, ilgili değişkenler hakkında eksik verisi olan vakalar, plastik veya kirlilikle ilgili yüksek riskli meslekleri olan katılımcılar ve bilinen üreme hastalıkları veya durumları (ör. erkek infertilitesi, varikosel, kriptorşidizm) olan bireylerdir. Pratik olarak, semen örneklerinin toplanması mastürbasyon yoluyla yapılmış ve her bir örnek doğrudan 5 ml'lik gaz geçirmez bir cam kaba bırakılmıştır. Çalışma protokolü Shandong Anne ve Çocuk Sağlığı Hastanesi Etik

Kurulu tarafından onaylanmıştır (No.2021-121). Çalışmaya dahil edilmeden önce tüm katılımcılardan imzalı bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Semen sindirimi ve filtrasyonu

Semen örnekleri, kontaminasyonu önlemek amacıyla steril koşullarda işlenmiştir. İlk olarak 37°C'de sıvılaştırılmış, ardından %10'luk KOH çözeltisi ile muamele edilip 40°C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Sonrasında, 1,2 µm cam elyaf filtre membranı kullanılarak filtrelenmiş ve elde edilen filtreler aseptik bir ortamda kurutulup konfokal Raman mikroskobu analizi için saklanmıştır. Detaylı işlem akış şeması grafiksel olarak sunulmuştur.

Diff-Quik boyama deneyi

Semen örnekleri mikroskobik analizden önce Diff-Quik boyama kiti ile boyanmıştır. Örnekler PBS solüsyonunda seyreltilip, santrifüj edilerek sperm peletleri elde edilmiştir. Bu peletler taze PBS ile yeniden süspanse edilip, sperm yaymaları oluşturulmuş ve ardından Diff-Quik boyama işlemi uygulanmıştır. Boyama sonrası, morfolojik değerlendirme, Dünya Sağlık Örgütü (WHO) semen analiz kılavuzuna dayalı olarak otomatik mikroskop sistemi ile yapılmış ve her yayma lamı başına en az 200 sperm incelenmiştir.

Konfokal Raman mikroskop analizi

Semen örneklerindeki mikroplastikleri tanımlamak için konfokal Raman mikroskobu kullanılmıştır. Numune partikülleri bir membran filtre üzerine bırakıldıktan sonra, 785 nm lazer kaynağıyla detaylı Raman spektrumları elde edilmiştir. Plastik partiküller, 500-1500 cm⁻¹ aralığında ölçülüp, sinyal-gürültü oranını artırmak için her bir parçacık için 5 kez ölçüm yapılmıştır. Mikroskop objektifi, sistematik olarak partikülleri tarrarken, hiperspektral Raman haritaları oluşturulmuştur. Spektrumlar, Renishaw spektral kütüphanesiyle karşılaştırılarak %85 benzerlik göste-

MAKALE ÖZETİ

ren polimerler kaydedilmiş ve doğrulama analist tarafından yapılan detaylı inceleme ile gerçekleştirilmiştir.

Semen örneklerinde mikroplastik analizi için kalite kontrolü

Plastik kontaminasyonunu önlemek amacıyla, semen örnekleri Uluslararası Standartlar Örgütü (ISO) Sınıf 5 temiz odasında işlenmiş ve 450°C'de temizlenmiş, 0,1 µm filtrelenmiş ultra saf su ile durulanmış borosilikat cam kavanozlara toplanmıştır. Laboratuvar personeli, pamuklu önlük, eldiven ve maske giymiştir. Örnekler, plastik kontaminasyonunu önlemek için mühürlü cam kaplarda saklanmış ve nakliye için fermuarlı torbalara yerleştirilmiştir. Sonraki işlemlerde kalıntı plastikleri ortadan kaldırmak için 500 ° C'de 5 saat boyunca yakılan pamuklu laboratuvar giysileri ve cam eşyalar kullanılmıştır. Ekipman ve çalışma yüzeyleri, numuneler arasında çapraz kontaminasyonu önlemek için ultra saf su ve etanol ile temizlenmiştir. Ayrıca, plastik seviyelerini izlemek için boş kontroller de aynı işleme prosedürlerine tabi tutulmuştur. Mikroplastiklerin miktarı, referans kütüphaneleriyle doğrulanan Raman mikrospektroskopik tanımlamalarla belirlenmiş ve tanımlanamayan partiküller sayımlardan çıkarılmıştır.

İstatistiksel analiz

Veriler, Excel 2019 ve R 4.2 ile analiz edilmiştir. Sürekli değişkenler ortalama ve standart sapmaları (SD) ile kategorik değişkenler yüzde ve frekansla sunulmuştur. Mikroplastik türleri arasındaki farklılıklar Wilcoxon testiyle karşılaştırılmış, $P < 0.05$ anlamlı kabul edilmiştir.

SONUÇLAR VE TARTIŞMA

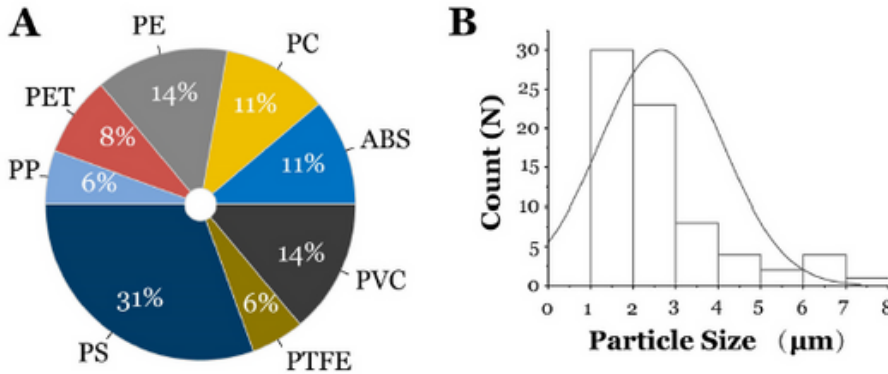
Seminal sıvıdaki mikroplastiklerin tanımlanması

Bu çalışmada, 36 kişiden semen örnekleri toplanarak kimyasal analiz yapılmıştır.

Şekil 1'de gösterildiği gibi kimyasal analiz polistiren (PS, %31), polietilen (PE, %14), polivinil klorür (PVC, %14), akrilonitril-bütadien-stiren (ABS, %11), polikarbonat (PC, %11), polietilen tereftalat (PET, %8), polipropilen (PP, %6) ve politetrafloroetilen (PTFE, %6) dahil olmak üzere çeşitli mikroplastik polimerlerin yaygın varlığını ortaya çıkarmıştır. Bu bulgular, Montano ve arkadaşlarının önceki çalışmalarıyla uyumludur ve büyük boyutlu mikroplastiklerin oranının düşük olduğunu göstermektedir.

N. Li et al.

Science of the Total Environment 937 (2024) 173522



Şekil 1. Semen örneklerinde mikroplastik polimerlerin ve partikül boyutlarının analizi. (A) Tespit edilen çeşitli mikroplastik polimer türlerinin dağılımını gösteren bir grafik. (B) Gözlemlenen mikroplastik boyutlarının aralığını ve sıklığını gösteren bir uydurma eğrisi ile tamamlanan bir grafik; burada ABS akrilonitrilebütadien-stiren, PC polikarbonat, PE polietilen, PET polietilen tereftalat, PP polipropilen, PS polistiren, PVC polivinil klorür ve PTFE politetrafloroetilen anlamına gelmektedir.

MAKALE ÖZETİ

Bu çalışmada tespit edilen mikroplastikler genellikle siyah ve kahverengimsi sarı renkteyken, mikroplastiklerin renkleri polimer türüne, üretim sırasında kullanılan katkı maddelerine veya boyalara, çevresel maruziyete ve bozunma süreçlerine bağlı olarak değişebilmektedir. Mikroplastiklerin bileşimi, kökeni ve renginin yanı sıra, analiz özellikle partikül boyutuna odaklanmış ve mikroplastik partiküllerin çoğunun 0,72 ve 6,46 µm aralığında, ortalama çapının $2,60 \pm 1,46$ µm ve uluslararası kabul görmüş standartlarla uyumlu olduğunu ortaya koymuştur. Lazer konfokal Raman spektroskopisi kullanımı tutarlı bir şekilde PS, PE ve PVC'yi baskın mikroplastikler olarak ortaya çıkarmış, bölgesel örnek heterojenliğini ve yaşam tarzı değişikliklerini potansiyel faktörler olarak düşündürmüştür.

PCA algoritması kullanılarak mikroplastik çıkarımı

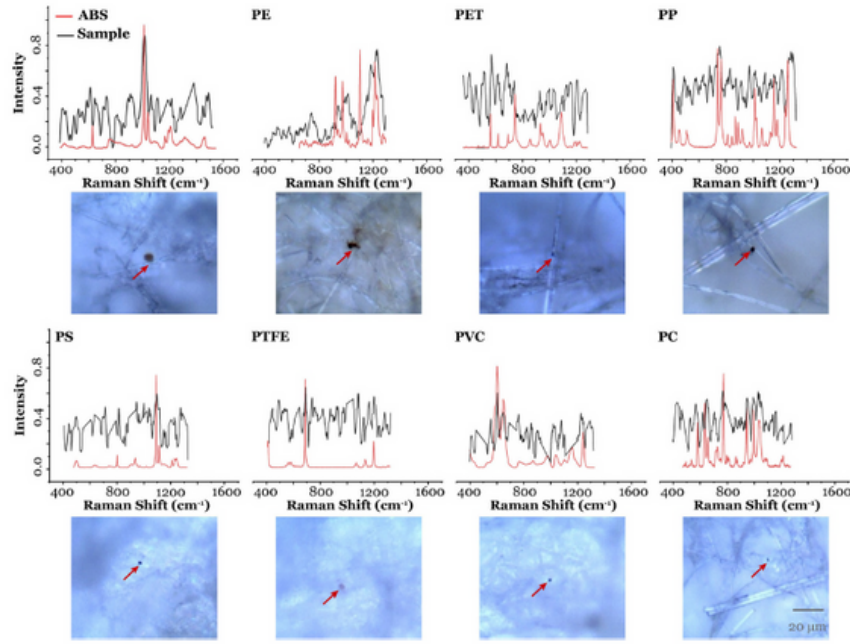
Bu çalışmada, mikroplastik türlerini tanımlamak için PCA algoritması kullanılarak Raman spektrumları analiz edilmiştir. Bulgular, PCA'nın arka plan faz gürültüsünü etkili bir şekilde azalttığını ve böylece farklı mikroplastik türlerinin kesin olarak tanımlanmasını sağladığını göstermektedir. **Şekil 2** ve **Ek Şekil S1**'de gösterildiği gibi, sindirilmiş semen örneklerinde gözlenen mikroplastikler kırmızı oklarla işaretlenmiş, ardından her bir temel bileşenin spektral imzasını standart bir referans örneğinkiyle hizalamak için otomatik en küçük kare algoritması kullanılmıştır. Her bir temel bileşenin kalitesi, 0,90'ı aşan bir kalite skoru polimer tipinin doğru bir şekilde belirlendiğini gösterirken, uyumun doğruluğuna göre tespit edilmiştir. Bu çalışmada tespit edilen mikroplastiklerin kökenleri, katılımcıların mesleki maruziyetleri ve yaşam tarzı alışkanlıkları dikkate alınarak analiz edilmiştir. Çoğu katılımcı ofis personeli olup, ofis ortamlarında sentetik tekstil, halı, mobilya ve plastik ekipmanlardan salınan mikroplastiklere maruz kalmaktadır. Ayrıca dış mekan hava kirliliği, ofis içindeki yemek ve içecek ambalajları da potansiyel mikroplastik maruziyet kaynakları olarak belirlenmiştir.

Mikroplastik türlerinin spermlerin morfolojisi ve hareketliliği ile ilişkisi

Çin'deki artan kısırlık ve düşen doğum oranlarının yanı sıra, mikroplastiklerin üreme sağlığı üzerindeki zararlı etkileri giderek daha fazla kabul edilmektedir. Ancak, araştırmalar genellikle akut maruziyetin sonuçlarına odaklanmaktadır. Semen örneklerinin kapsamlı incelemesi, **Şekil 3**'te gösterildiği gibi, yok, kısa, bükülmüş, kıvrılmış, düzensiz kamçı ve akrozom eksiklikleri dahil olmak üzere bir dizi morfolojik sperm anormalliğini ortaya çıkarmıştır. Wilcoxon rank-sum testi kullanılarak yapılan istatistiksel analiz, sperm ileri hareketliliği ve hareketsiz spermatozoon sıklığında önemli farklılıklar ortaya koymuştur. Özellikle PE ($26,40 \pm 8,69$) ve PVC ($19,04 \pm 13,46$) ile ilişkili olarak ileri hareketlilik oranında %95'lik klinik referans aralığının (≥ 32) altında belirgin bir düşüş gözlenmiştir. Buna karşın, PS ($43,52 \pm 14,21$) ile PET, PP, PTFE, PC ve ABS'den oluşan birleşik grup ($35,02 \pm 13,71$) normal aralıkta ileri hareketlilik göstermiştir. Öte yandan, hareketsiz spermatozoon sıklığında PE ($57,74 \pm 10,65$), PVC ($65,64 \pm 15,85$), PS ($37,12 \pm 16,10$) ve birleşik gösterge ($49,31 \pm 16,17$) arasında artış gözlenmiştir. Bu farklılıklar farklı plastik polimerlerin potansiyel etkisine işaret etse de, ölçülen tüm sperm parametreleri %95 klinik referans aralıkları dahilinde olduğundan klinik önemi belirsizliğini korumaktadır. Önceki fare çalışmaları, PS mikroplastiklerinin sperm kalitesinde bozulmaya ve sperm deformitelerinde artışa neden olduğunu göstermektedir. Ayrıca, PS maruziyetinin testosteron seviyelerinde düşüş, spermatogenezde bozulma ve testis iltihabına yol açtığı doğrulanmıştır. Ancak, bu fare çalışmalarındaki yüksek doz maruziyet sonuçları, çalışmamızda tespit edilen düşük seviyelerdeki mikroplastiklerle doğrudan kıyaslanamaz. Genel olarak, mikroplastiklerin erkek üreme sağlığına yönelik potansiyel zararlı etkileri, özellikle kronik maruziyet durumunda önemli olabilir, ancak daha fazla araştırma gerekmektedir. Bu gözlemler mikroplastiklerin sperm sapmalarına etkisi konusunda ikna edici olsa da, mikroplastik maruziyeti ile sperm sap-

MAKALE ÖZETİ

maları arasında doğrudan nedensellik ilişkisini kurmaya yönelik çalışmalar devam etmektedir. Çeşitli mikroplastik türlerinin erkek üreme sistemi üzerindeki risk değerlendirmesi henüz erken aşamalıdır. Ancak, artan kanıtlar, mikroplastiklerin germ hücreleri üzerinde oksidatif stres ve apoptoza yol açarak doğrudan toksikolojik etkiler oluşturduğunu göstermektedir.



Şekil 2. İnsan seminal sıvısındaki mikroplastiklerin konfokal Raman mikroskop analizi. Bu şekil, 0,25 μm algılama eşiğine sahip bir inVia™ konfokal Raman mikroskobu (50 $\times$ objektif) kullanılarak yakalanan mikroplastiklerin Raman spektrumlarını ve ilgili morfolojik görüntülerini sunmaktadır; burada ABS akrilonitril-bütadien-stiren, PC polikarbonat, PE polietilen, PET polietilen tereftalat, PP polipropilen, PS polistiren, PVC polivinil klorür ve PTFE politetrafloroetilen anlamına gelmektedir.

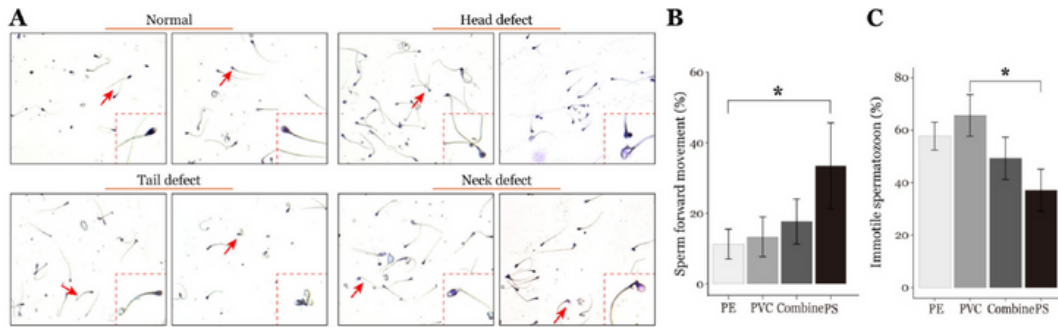


Fig. 3. Variation in sperm motility across different microplastic polymers. (A) Representative images from the Diff-Quik staining assay illustrating sperm morphology. (B-C) Comparative analysis of sperm forward-moving and immotile proportions among the groups. Statistical significance denoted by $p < 0.05$.

Şekil 3. Farklı mikroplastik polimerler arasında sperm hareketliliğindeki değişim. (A) Sperm morfolojisini gösteren Diff-Quik boyama deneyinden temsili görüntüler. (B-C) Gruplar arasında ileriye doğru hareket eden ve hareketsiz sperm oranlarının karşılaştırmalı analizi. İstatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ ile gösterilmiştir.

MAKALE ÖZETİ

SONUÇ

Sonuç olarak, bu çalışmada test edilen tüm semen örnekleri mikroplastik içermekte olup, PS tanımlanan sekiz polimer arasında en yaygın olanıdır. Farklı mikroplastik polimerlere maruz kalmanın sperm ilerleyici hareketliliği üzerindeki etkileri çeşitlilik gösterirken, bu durum mikroplastiklerin yaygın varlığı ve potansiyel üreme toksisitesi açısından erkek doğurganlığını nasıl etkilediğine dair daha fazla araştırma yapılması gerektiğinin altını çizmektedir.

Review > J Assist Reprod Genet. 2020 Jan;37(1):53-61. doi: 10.1007/s10815-019-01640-5.

Epub 2019 Dec 10.

Microbial contamination in assisted reproductive technology: source, prevalence, and cost

E D Borges ^{1 2}, T S Berteli ³, T F Reis ⁴, A S Silva ⁵, A A Vireque ⁶



Hazırlayan:

Uzm. Dr. Tenzile Beyza VURMUŞ

Marmara Üniversitesi Pendik Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Yardımcı üreme teknolojisinde mikrobiyal kontaminasyon: kaynak, yaygınlık ve maliyet

ÖZET

En katı laboratuvarlar ve klinikler bile mikrobiyal kontaminasyon oluşumuna eğilimlidir. Özellikle tüp bebek (IVF) araştırma ve uygulama merkezlerinde olası kaynakların sayısı oldukça fazladır. Ortam havası, personel ve sterilize edilmemiş malzemelerin yanı sıra, hastalardan gelen foliküler sıvı ve semen, çok çeşitli bakteri ve mantarların embriyo kültürlerine girmesi için çok yaygın bir geçiş yoludur. Buna rağmen kontaminasyon vakalarına ilişkin bildirimler nadir olduğundan, birçok klinik bu konuyu ihmal edilebilir bir risk olarak görmektedir. Mikrobiyolojik kontaminasyon hastanın embriyolarının ölümüne yol açabilir ve bu durum hem hasta hem de klinikler için ek maliyetlere neden olabilir. Diğer endişe verici sonuçlar arasında DNA parçalanması, düşük kaliteli embriyolar, erken gebelik kaybı veya erken doğum ve daha fazla araştırma gerektiren olası uzun vadeli hasarlar yer almaktadır.

MAKALE ÖZETİ

GİRİŞ

Yardımcı üreme teknolojileri (ART) ile elde edilen embriyolar, sürecin çeşitli aşamalarında mikroorganizmalar tarafından kontaminasyona karşı hassastır. HIV, HBV ve HCV gibi viral patojenlere özel önem verilmekte olup, ART protokolleri doğrudan bu ölümcül virüslerin bulaşma riskini en aza indirmeyi amaçlamaktadır. Bununla birlikte sperm, oosit ve embriyolar da endişe verici sonuçlara yol açan bakteri ve mantar kaynaklı kontaminantlardan etkilenmektedir. Kontaminasyon, işyerindeki ortam havasından, donörlerin üreme sistemi mikrobiyotasından veya in vitro işlemler sırasında mikroorganizmaların yanlışlıkla girmesinden kaynaklanabilir. İnsan gametlerinin ve bunlara eşlik eden sıvıların bir dizi mikroorganizmayı taşıdığı bilinmektedir. Bu nedenle, semen, yumurtalık folikül sıvısı, fallop tüpü yıkamaları, periton sıvısı ve endometrial aspiratlar gibi biyolojik sıvılar, IVF sistemine mikrobiyolojik enfeksiyon için olası geçitlerdir; embriyoların ve taşıyıcılarının kontaminasyon riskini artırır. Transfer edildiğinde embriyolar, mikroorganizmaları uterusun mikroçevresine taşıyabilir, yerel mikrobiyotayı değiştirebilir ve gebelik sırasında implantasyonu ve hayatta kalmayı tehlikeye atabilir. Genellikle, vücudumuzdaki mikroorganizmaların varlığına yalnızca aktif bir enfeksiyonla ilişkili olduklarında dikkat edilir; ancak insan vücudu, üreme sağlığı da dahil olmak üzere insan fizyolojisinin birçok yönü üzerinde doğrudan etkisi olan mikrobiyota adı verilen kişisel ekolojik mikroorganizma topluluğuyla sürekli etkileşim halindedir. Bu alandaki araştırmalar nispeten yeni olmasına rağmen son çalışmalar bu etkileşimin IVF sonuçlarını nasıl etkileyebileceğini göstermiştir.

Embriyoloji laboratuvarına tesadüfi bir etkenin girme olasılığını azaltmayı amaçlayan iyi IVF laboratuvar uygulamaları için çok sayıda protokol ve kılavuz bulunmasına rağmen, biyolojik sıvılar ve çevresel hava gibi diğer bakteri ve mantar kontaminasyon kaynaklarını tespit etmek ve

izlemek için kullanılabilecek standart protokoller bulunmamaktadır. Ayrıca, mevcut kılavuzlar tüm IVF klinikleri ve laboratuvarlarının tüm prosedürlerin kayıtlarını tutmasını talep etmesine rağmen, yıllık raporlarında mikroorganizmaların yaygınlığı hakkında nadiren bilgi yer almaktadır ve bu da IVF laboratuvarlarında mikrobiyal kontaminasyon sıklığının kesin olarak tahmin edilmesini oldukça zorlaştırmaktadır. Bu konuyu ele alan yayın ve olgu sunumlarının sınırlı sayıda olması, kontaminasyon olaylarının büyük ölçüde hafife alındığını düşündürmektedir. Bu nedenle bu derlemede, hem endojen hem de ekzojen kaynaklı mikroorganizmaların IVF siklus sonuçlarına olan etkisine ilişkin en son bilgiler özetlenmiştir. Ayrıca teyit edilmiş kontaminasyon vakalarının sıklığını ve bu tür olayların klinikler ve hastalar üzerindeki etkisini en aza indirmek için neler yapılabileceği tartışılmaktadır.

YÖNTEMLER/ARAŞTIRMA KRİTERLERİ

Üç uluslararası arama motoru/veritabanında (PubMed, Scopus ve Google Scholar) ilgili anahtar kelimeler kullanılarak bibliyografik arama yapıldı. Arama terimleri arasında "yardımcı üreme teknolojisi" veya "tüp bebek tedavisi" ile "mikroorganizmalar" veya "mikrobiyolojik kontaminasyon"un bir kombinasyonu yer alıyordu; herhangi bir kombinasyon daha sonra "sonuç", "yaygınlık", "insidans" ve "maliyetler" terimleriyle eşleştirildi. Sadece insan çalışmaları dahil edildi ve gereksiz bilgilerin dahil edilmesinden kaçınmak için son derleme makalelerine öncelik verildi.

Üreme sistemindeki mikroorganizmalar

İnsan vücudu, insan hücrelerinin sayısından bile daha fazla sayıda mikroorganizma topluluğuna ev sahipliği yapmaktadır. Her organizmada yaşayan mikroorganizma topluluklarına topluca "mikrobiyota", bu toplulukların insan fizyolojisiyle etkileşimlerine, ürünlerine ve gen kataloglarına ise "mikrobiyom" adı verilir.

MAKALE ÖZETİ

Son zamanlarda bu etkileşimlerin incelenmesine büyük ilgi duyulmaktadır ve daha fazla bilgi edildikçe, çoğu organın (hepsinin değilse bile) fizyolojik işlevlerinin yerel mikrobiyotadan büyük ölçüde etkilendiği yönünde güçlü kanıtlar ortaya çıkmaktadır. Kısa bir süre öncesine kadar hem erkek hem de kadın üreme sisteminin pek çok bölümünün steril olduğu düşünülüyordu; ancak artık bunların da kendilerine ait mikrobiyotaya ev sahipliği yaptığı biliniyor. Son zamanlarda, kadın üreme sistemi mikrobiyotasının, insan vücudundaki toplam bakteri yükünün yaklaşık %9'unu oluşturduğu bildirilmektedir.

Mikrobiyomun kadın doğurganlığı üzerindeki etkisi

Klinik olarak semptomatik enfeksiyonun, inflamasyonla birlikte üreme fonksiyonunu etkilediği iyi bilinmektedir. Ancak insan mikrobiyotasında klinik olarak sıklıkla saptanamayan ince değişikliklerin üreme sağlığında önemli bir rol oynayabileceği ve vücudun diğer bölgelerindeki çeşitli hastalık durumlarını etkileyebileceği bildirilmiştir. Ayrıca son yapılan araştırmalar infertilite sorunu yaşayan kadınların sağlıklı ve doğurgan kadınlara göre farklı üreme yolu mikrobiyotasına sahip olduğunu göstermektedir. Bazı bakteri gruplarının (örneğin Chlamydia, Gonococcus, Enterococcus spp.) kadın üremekanalından izole edilmesi ile kötü gebelik sonuçları ve daha yüksek düşük oranları gibi artan ilişkili riskler arasında korelasyon olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde, bu bakteri gruplarının yokluğu ile Lactobacillus'un varlığı ve daha iyi sonuçlar arasında bir bağlantı olduğu yönünde kanıtlar bulunmaktadır. Son zamanlarda vajinal mikrobiyom baskın türlerine göre beş gruba ayrılmıştır. Bunlardan dördü "Lactobacillus-dominated" (LD) olarak sınıflandırılmış ve aşağıdaki Lactobacillus türlerinden biri (Lactobacillus crispatus, Lactobacillus gasseri, Lactobacillus iners ve Lactobacillus jenseii) (Lactobacillus crispatus, Lactobacillus gasseri, Lactobacillus iners ve Lactobacillus jenseii) baskın temsilci iken, kalan

grup Gardnerella, Prevotella, Corynebacterium, Atopobium, Megasphaera ve Sneathia dahil olmak üzere daha çeşitli sayıda cinsin mevcut olduğu "Lactobacillus baskın olmayan" (NLD) olarak sınıflandırılmıştır. İlginç bir şekilde, yüksek gebelik başarısı oranlarına sahip sağlıklı kadınlar sürekli olarak LD gruplarıyla ilişkilendirilmiştir.

Uterus mikrobiyomu da araştırılmıştır. Lactobacillus'un bolluğu ile üreme sonuçları arasında daha da güçlü bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Lactobacilli yüzdesi üreme sonuçlarıyla açıkça ilişkili olup; implantasyon, gebelik ve canlı doğum oranları LD gruplarına ait kadınlarda NLD gruplarına ait olanlardan daha yüksekti. Endometrial sıvı kompozisyonunun incelendiği çalışmalarda da benzer bir örüntü gözlenmiştir. Sonuçlar, IVF tedavisi gören hastaların çoğunluğunun NLD mikrobiyomuna sahip olduğunu ve LD endometriumunun implantasyonu destekleyebileceğini göstermektedir.

Pelzer ve arkadaşları foliküler sıvıdan izole edilen mikroorganizmaların herhangi bir ekzojen besin maddesine ihtiyaç duymadan 28 haftadan daha uzun süre canlı kalabildiğini gözlemlemiştir. Sıvı örneklerinde tanımlanan bakteri türlerinin çoğu anaerob olup, genellikle IVF kültür ortamlarında geleneksel olarak kullanılan antimikrobiyaller olan penisilin, streptomisin veya gentamisin tarafından hedef alınmıyordu. Sonuç olarak, belirli bakteri türlerinin varlığının olumsuz IVF sonuçlarıyla bağlantılı olduğu ortaya çıkmıştır.

Benzer şekilde, Ricci ve arkadaşları genital yol patojenlerinin IVF başarısızlığıyla ilişkili olabileceğini göstermiştir. 285 infertil çiftle yapılan bir çalışma, bunların %46,3'ünün IVF tedavisinden önce devam eden asemptomatik genital yol enfeksiyonuna sahip olduğunu ortaya koymuştur. Toplam 855 örnekte (bunların 285'i semen örneği, 285'i vajinal sürüntü ve 285'i endoservikal sürüntü) mikrobiyolojik analiz yapıldı ve 25

MAKALE ÖZETİ

farklı mikrobiyal türe ait 195 klinik suş bulundu. En sık görülen bulgu %24,1 (47/195) prevalansla *Enterococcus faecalis* idi. Sıkça tanımlanan diğer mikrobiyal türler arasında *Streptococcus agalactiae* (%15,9), *Escherichia coli* (%15,4), *Mycoplasma hominis* (%10,8), *Candida spp.* (%8,2) ve *Ureaplasma urealyticum* (%5,1) yer almaktadır. 14 semen örneğinde ve 16 vajinal veya endoservikal sürüntü örneğinde iki farklı patojenin birlikte varlığı tespit edilirken, üç örnekte üç patojenin eş zamanlı varlığı gözlemlendi. Aynı çalışmada, spesifik genital sistem patojenlerinin IVF başarısızlığıyla ilişkili olup olmadığı da araştırılmış ve mikrobiyolojik test sonuçları ile IVF sonuçları arasında bir korelasyon aranmıştır. IVF tedavisi sırasında enfekte olmayan çiftlerde başarı oranları enfekte çiftlere göre biraz daha yüksekti. Mikrobiyolojik veriler, spesifik patojenlerin (*E. faecalis*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *G. vaginalis*, *E. coli*) başarısız (IVF-) çiftlerde başarı (IVF+) çiftlere göre daha yaygın olduğunu gösterdi; ancak her patojenin geçici olarak IVF sonucuyla ilişkilendirildiği durumlarda anlamlı bir fark bulunmadı. Analiz, IVF sonucunu etkilemediği görülen patojenlerin ardışık olarak dışlanması sonrasında genital sistem patojenleri açısından pozitif olan çiftlerin incelenmesiyle gerçekleştirildi. *E. faecalis*, *U. urealyticum*, *M. hominis*, *G. vaginalis* ve *Trichomonas vaginalis*'ten oluşan grup IVF+ çiftlere göre IVF- çiftlerde daha yaygındı, ancak farklar anlamlı değildi. *T. vaginalis*'in eliminasyonu, mikrobiyal grubun prevalansının IVF- (%36,3) çiftlerde IVF+ (%16,7) çiftlere göre anlamlı derecede daha yüksek olduğunu gösterdi. *G. vaginalis* hariç, IVF başarısızlığıyla anlamlı şekilde ilişkili olan en küçük enfeksiyöz grup *E. faecalis* ve/veya *U. urealyticum* ve/veya *M. hominis*'ti. IVF+ çiftlerin analizi, mikrobiyolojik testlerde 35 çiftin 30'unun (%85,7) negatif sonuç verdiğini, *E. faecalis* ve/veya *U. urealyticum* ve/veya *M. hominis* ile enfekte olan çiftlerden ise sadece 67 çiftin 5'i'nin (%7,5) başarılı bir IVF elde edebildiğini gösterdi. Bu mikrobiyal grup açısından pozitif olan IVF çiftleri arasında *E. faecalis* ve *U. urealyticum*

yaklaşık %90 oranında tespit edilirken, IVF sonucu kötü olan çiftlerin tamamında *M. hominis* tespit edildi. Her kadının mikrobiyomunun bileşimi benzersiz ve oldukça değişken olmasına rağmen, güncel bir hipotez, IVF için gerekli olan kontrollü over hiperstimülasyonu gibi dışsal faktörlerin bu bileşimi değiştirebileceğini ve üreme sağlığı sonuçları üzerinde doğrudan etkisi olabileceğini öne sürmektedir. Son çalışmalar bir arada değerlendirildiğinde, IVF döngüsünden önce kültürler kullanılarak kötü sonuçlarla ilişkili mikroorganizmaların aranması için kadın mikrobiyotasının incelenmesinin ve ayrıca en iyi gebelik sonuçlarıyla ilişkili tüm mikrobiyomu karakterize etmek için daha ileri teknoloji kullanılması önemini doğrulamaktadır.

Mikrobiyomun erkek doğurganlığı üzerindeki etkisi

Erkek üreme sisteminin de aktif bir mikrobiyotaya sahip olduğu ve enfeksiyonlara ev sahipliği yapabileceği gösterilmiştir; bu, seminal sıvı örneklerinde yıkama teknikleri uygulandıktan sonra bile varlığını sürdürebilen bakterilerin varlığıyla desteklenmektedir. Qing ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, infertilite tanısı konulan erkeklerin idrar örneklerinde *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium* ve *Ureaplasma urealyticum*'un varlığını belirlemek ve bunu semen parametreleriyle ilişkilendirmek için RNA tespit tekniğine dayanan yeni bir test yöntemi kullanıldı. Sonuçları, sperm DNA'sında oluşan hasar yoluyla doğurganlığın bozulmasıyla ilişkili olabilecek bakteri türlerinin nispeten yüksek bir yaygınlığını gösterdi. Ayrıca, bir çalışmada IVF döngülerinin ICSI'ye kıyasla maya kontaminasyonuna daha yatkın olduğu gösterilmiş olup, bu durum enfeksiyon vakalarında erkek kaynaklı etkenin büyük bir etkiye sahip olduğunu ve ICSI hazırlığı sırasında bu etkenin ortadan kaldırılabilceğini düşündürmektedir. Ancak mikroorganizmaların yaygınlığı ve erkek doğurganlığı üzerindeki etkileri konusunda elimizdeki mevcut veriler henüz

MAKALE ÖZETİ

kesin değildir. Yine çok yakın zamanda yapılmış kapsamlı bir incelemede Jue ve Ramasamy, en yaygın mikroorganizmalardan bazılarının pozitif semen kültürüne sahip olmasının, doğurgan erkeklerde semen kalitesinin bazı yönlerinde azalma ile ilişkili olduğu sonucuna varmış olsalar da, doğurgan erkekler ile ART arayan erkekler arasında gözlemlenen görülme sıklığı arasında anlamlı bir fark olmadığı sonucuna varmışlardır. Bu durum, IVF veya kriyoprezervasyon öncesinde rutin semen kültürü yapılmasının bir endikasyonu olmayabileceğini düşündürmektedir.

Antibiyotik profilaksisi

Antibiyotik kullanımı, istenmeyen mikrobiyolojik enfeksiyonlarla başa çıkmanın veya bunları önlemenin yaygın bir yoludur. Ancak, birçok klinik tarafından rutin olarak sunulmasına rağmen, son zamanlarda yapılan inceleme çalışmaları, antibiyotik profilaksisinin genellikle ART ile ilişkili prosedürlere giren hastaların çoğunluğu için önerilmediği sonucuna varmıştır. Bunun istisnası, pelvik inflamatuvar hastalık (PID) öyküsü, endometriozis veya daha önce birden fazla pelvik cerrahi geçirmiş olmak gibi risk faktörlerinden etkilenenlerdir. Sağlıklı hastalarda ET sırasında antibiyotik profilaksisi klinik gebelik oranlarını etkilememiştir. Ayrıca geniş spektrumlu antibiyotik kullanımının, başarılı implantasyon sonuçlarıyla ilişkilendirilen *Lactobacillus* türlerinin sayısını azaltabileceği düşünülmektedir. Benzer şekilde aktif enfeksiyonu olan erkeklerde antibiyotik tedavisi etkili olup sperm konsantrasyonunu önemli ölçüde artırırken, sağlıklı erkeklerde de profilaksi önerilmemektedir, çünkü uzun süreli antibiyotik kullanımı erkek infertilite nedenlerinden biridir.

IVF ve embriyo kültürü protokolleri, enfeksiyon oranlarını azaltmak için penisilin, streptomisin veya gentamisin gibi antibiyotiklerin profilaktik kullanımını içerir. Ancak Magli ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada antibiyotiksiz ortamda kültüre edilen embriyoların bölünme ora-

nı daha yüksek bulunmuştur. Blastosist aşamasına ulaşan embriyo sayısı da konsantrasyondan bağımsız olarak penisilin ve streptomisin içeren ortamda kültüre edilen embriyolara göre anlamlı derecede daha yüksekti. Protein sentez inhibitörü olan bir aminoglikozit olan gentamisin şu anda en güvenli seçenek olarak sunulmasına rağmen, kültür ortamına eklenmesi embriyo gelişimini iyileştirmemiştir. IVF kültürleri sırasında etkinliğin artırılması amacıyla antibiyotiklerin optimum kullanımının belirlenmesi için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır ve bu arada en iyi öneri dış kaynaklardan bulaşma riskini en aza indirmektir.

Dış kaynaklı mikroorganizmalar

Mikroorganizmaların dış ortamdan bulaşma kaynakları arasında en önemlileri personel, çevre havası ve kirli materyallerdir. Bakteriler ve mantarların her türlü ortamda gelişebildiği ve insanlar ve aletler aracılığıyla dış ortamlardan laboratuvara kolayca taşınabildiği bilinmektedir. Çok küçük bir bakteri türü olan mikoplazmanın tespiti ve kontrolü özellikle zordur. Fetal sığır serumu gibi hayvansal kökenli materyallerin kullanımı, *M. arginini* ve *A. laidlawii* mikoplazma türleri için kaynak olabilirken; personel, özellikle ağız pipetleme tekniğini kullanarak, *M. orale*, *M. fermentans* ve *M. hominis* için başlıca kaynaktır. İnsan derisi de olası bir bulaşma kaynağıdır. Deri hücreleri *Staphylococcus epidermidis* ve *Corynebacterium spp.* ile kolonize edilmiştir. Dökülen deri hücreleri laboratuvardaki rutin temizlikler sırasında süpürülen toz parçacıklarının çoğunu oluşturur.

Hava kalitesinin bir IVF laboratuvarı için önemli göz önüne alındığında, hava kalitesi kontrolüne yönelik özel gerekliliklerin sağlanması amacıyla Avrupa Birliği ve Brezilya tarafından düzenleyici yönergeler tanımlanmıştır. Bunlarda laboratuvarın temiz tutulması ve mikrobiyal kontaminasyondan arındırılması, inkübatörlerdeki havanın arıtılması ve bakteri ve mantar kontami-

MAKALE ÖZETİ

nasyonunu en aza indirmek için gelen gazların filtrelmesi gerektiği belirtilmektedir. İstenilen kaliteye ulaşmak için, işlem boyunca kullanılan tüm ürünlerin dikkatlice seçilmesi, embriyoların sterilizasyon maddelerine veya bunların kalıntılarına maruz kalmaması gibi birçok öneriye uyulması gerekmektedir.

Görünüşte herkesin kazandığı bir senaryo olmasına rağmen, bu tür katı kurallara eleştirel yaklaşanlar da bulunmaktadır. Bu nedenle karar alma sürecini iyileştirmek ve dolayısıyla klinik sonuçların iyileştirilmesini sağlamak için laboratuvar ortamını etkileyen tüm değişkenlerin dikkate alınması önemlidir. Bu anlamda hava kalitesi konusunda daha kontrollü çalışmalara ve hava kalitesi ve izleme uygulamalarının nasıl uygulanacağına ilişkin daha kesin kılavuzlara ihtiyaç duyulmaktadır.

Kontaminasyon vakalarının IVF'ye etkisi

ART kliniklerinde karar alma sürecine yardımcı olması açısından dikkate alınması gereken önemli bir faktör, kontaminasyon olaylarının gerçek sıklığının ve etkisinin değerlendirilmesidir. Güncel kılavuzların çoğu, tüm IVF klinikleri ve laboratuvarlarının her işlemin ayrıntılı kayıtlarını tutmasını talep etmesine rağmen, çoğu raporda kontaminasyon olaylarıyla ilgili bilgi yer almadığından, IVF laboratuvarlarında mikrobiyal kontaminasyon sıklığının kesin olarak tahmin edilmesine izin verilmemektedir. Sterilite gereklilik düzeyleri ve özellikle mikrobiyolojik kontrolle yönelik izleme uygulamaları konusunda kılavuzlar ve protokoller arasındaki standardizasyonun eksikliği sorunu daha da ağırlaştırmaktadır. Çevrede ve hem foliküler hem de seminal sıvılarda mikroorganizmaların yaygınlığı göz önüne alındığında, kontaminasyon vakalarının büyük ölçüde hafife alındığı varsayımı mantıklıdır.

Kontaminasyon olaylarının sayısı ile ilgili çok az sayıdaki çalışmadan birinde, Kastrop ve arkadaşları kendi laboratuvarlarında yaptıkları 8 yıl-

lık gözlem sonucunda tüm IVF prosedürleri arasında %0,86 oranında mikrobiyal kontaminasyon olduğunu bildirmişlerdir (herhangi bir kontaminasyon vakası göstermeyen ICSI prosedürleri dahil edildiğinde %0,68). Gözlem süresince görülmeye sıklığı %0,40' tan başlayarak %1,30'lara kadar çıktı. Bu sayılar daha önce %0,35 ve %0,69 olarak bildirilen vaka sayıları ile örtüşmektedir.

Maya ile kontamine olmuş ortam ile IVF sonuçları arasındaki ilişkiyi inceleyen benzer bir retrospektif çalışmada Klein ve arkadaşları, fertilizasyon kontrolü ile ET arasındaki herhangi bir zamanda mikroskopik değerlendirmeye dayanarak şüpheli embriyo kültüründe olası maya kontaminasyonunu doğrulamak amacıyla 1998-2006 yılları arasında gerçekleştirilen tüm oosit toplama işlemlerini analiz ettiler. 8 yıllık süre içerisinde gerçekleştirilen 11.816 oosit toplanmasının 51'inde (%0,43) kullanılmış besiyerinin mikroskopik incelemesi sonucunda maya kontaminasyonu şüphesi oluştu. Bu oositlerin kullanıldığı in vitro üretim döngülerinin 26'sında daha önce elde edilmiş mikrobiyolojik veriler mevcuttu ve maya kontaminasyonunun varlığı bunların 21'inde doğrulandı; bu da doğrulanmış maya kontaminasyonunun genel insidansının %0,18 olduğunu gösteriyordu.

Amerikan Üreme Tıbbı Derneği (ASRM) ve Avrupa İnsan Üreme ve Embriyoloji Derneği (ESHRE), ortam havası izleme de dahil olmak üzere iyi IVF laboratuvar uygulamaları için yönergeler sunmaktadır. Ancak biyolojik sıvılar gibi diğer mikrobiyal kontaminasyon kaynaklarını tespit etmek ve izlemek için herhangi bir kılavuz veya standart protokol bulunmamaktadır. İnsan embriyo kültürüne biyolojik sıvılar yoluyla bulaşan mikrobiyal kontaminasyonu azaltmak için çeşitli yaklaşımlar önerilmiştir. ICSI sikluslarında uygulanan mikro swim-up (MSU) yönteminin, semenin normal mikrobiyotasından kaynaklanabilecek enfeksiyon sorunlarının önlenmesine katkı sağlayabileceği, ICSI sırasında elimine edilen erkek kaynaklı bir enfeksiyon olabileceği

MAKALE ÖZETİ

düşünülmektedir. Ancak döllenme, embriyo gelişimi ve gebelik açısından etkinliği henüz araştırılmamıştır. Daha önce IVF kültürü sırasında kontamine olmuş, zona içermeyen dondurulmuş blastosistlerin transferi de kontaminasyonun gebelik oranları üzerindeki etkilerini önlemek için başarılı bir yaklaşım olarak önerilmiştir, ancak bu tekniğin güvenliğini destekleyen yeterli veri bulunmamaktadır.

IVF sonuçları tartışılırken genellikle ET ve gebelik dikkate alınan parametreler olmasına rağmen, embriyo üretimi sırasında bakteriyel ve fungal kontaminasyonun tüm olası etkilerini değerlendirmek ancak IVF ile doğan bireyleri kapsayan uzunlamasına bir çalışma ile mümkün olabilir.

Maliyetler

ART prosedürlerinde mikrobiyal kontaminasyonun neden olduğu hasar, doğrudan laboratuvar ve klinik maliyetlerine yansiyabilir ve bu da hizmeti arayan kişileri etkileyebilir. Mikrobiyal kontaminasyonun maliyeti, bu kontaminasyonların yaygınlığı (%0,7 civarında), yıllık IVF siklusu sayısı ve IVF işleminin maliyetine göre tahmin edilebilir. 2017 yılında ABD'de yaklaşık 284.385 IVF döngüsü gerçekleştirildi. Bu rakamlar göz önüne alındığında, yaklaşık 1990 döngünün çoğu vaka da ET olmaksızın mikrobiyolojik kontaminasyonla sonuçlandığı tahmin edilmektedir. Bu da hasta başına bu kontaminasyonlar için tahmini maliyetin yaklaşık 10.000 \$ ve toplam maliyetin yaklaşık 19,9 milyon \$ olacağı anlamına gelmektedir. Ayrıca, bu tahminler, embriyo kültürlerinde tespit edilemeyen kontaminasyon nedeniyle gebelik elde edemeyen kadınların maliyetlerini içermemektedir; bu durum gebelik oranlarını düşürmüş olabilir. Bunları hesaba kattığımızda genel etkinin etkileyici olduğu görülmektedir. 2017 yılında, Birleşik Krallık genelindeki 119 lisanslı fertilitite kliniğinde 75.000'den fazla IVF döngüsü gerçekleştirildi ve IVF'nin maliyeti genellikle tedavi döngüsü başına yaklaşık 5.000

£ (6.500 ABD Doları) civarındaydı. Aynı parametreler kullanılarak ABD'de mikrobiyal kontaminasyonun maliyeti tahmin edildiğinde, İngiltere'deki toplam maliyet yaklaşık 3,4 milyon ABD dolarıdır. Brezilya'da ortalama her bir tüp bebek seansının maliyeti 15.000 R\$ (4.000 ABD\$)'dir. 2017 yılında bildirilen 36.370 tüp bebek döngüsü ve tahmini %4,8 mikrobiyal kontaminasyon oranları göz önüne alındığında, tüp bebek tedavilerindeki mikrobiyolojik kontaminasyonun yıllık toplam maliyeti yaklaşık 26,1 milyon R\$a (7 milyon ABD\$) ulaşmaktadır ki bu, tüp bebek klinikleri ve hastaları için göz ardı edilemez bir maliyettir.

Araştırmanın sınırlamaları

Çalışmamız nispeten yeni bir konuyu ele aldığından daha önce yapılmış literatür bilgileri yeterli değildi. Ancak, dahil edilen tüm referansların güvenilir veri tabanlarında indekslendiğine dikkat etmek önemlidir.

Sonuçlar

Günümüzde IVF klinikleri ve laboratuvarlarında kontaminasyon olaylarının sıklığına ilişkin detaylı bir araştırma bulunmamaktadır. Bu nedenle, olası tehditleri belirlemek ve embriyo kalitesine ve sonraki gelişimine müdahale etmeden bunları durdurmanın bir yolunu bulmak için, ART alanında mikroorganizmalar ile açığa çıkan gametler arasındaki ilişkinin anlaşılmasına yönelik çabalar sürdürülmelidir. Kültür tabanlı yaklaşımlarla mikroorganizmaların tespiti ve tanımlanmasından elde edilen veriler çok yararlı ve bilgilendirici olmasına rağmen, bu tür teknikler kullanılarak tanımlanan türlerin oranı daha ileri teknoloji ile karşılaştırıldığında çok sınırlı olduğundan dikkatli bir şekilde yorumlanmalıdır.

IVF' de yer alan doku ve sıvıların tam bir prospektif mikrobiyolojik incelemesini elde etmek için 16S rRNA dizilimi gibi daha gelişmiş tekniklerin kullanılması teşvik edilmektedir.

MAKALE ÖZETİ

Ayrıca, in vitro olarak gebe bırakılan embriyoların mikroorganizma enfeksiyonlarıyla temas ederek erişkin yaşama geçmesi durumunda oluşabilecek olası olumsuz etkilerin belirlenmesi amacıyla uzunlamasına çalışmalar yapılmalıdır. Bu arada, gametlerin hazırlanmasını iyileştirmeye veya değiştirmeye yönelik yeni yaklaşımlar da tartışılmalıdır. Riskler önemsiz gibi görünse de kontaminasyon olayları uzun vadede, özellikle hastanın fiziksel ve ruhsal refahı göz önüne alındığında, klinik üzerinde büyük etkilere sahip olabilir.

Son olarak, insan mikrobiyomu ve hem erkek hem de kadınların üreme sistemleriyle etkileşimleri üzerine daha fazla araştırma yapılması, ART uygulamaları sırasında mikroorganizmaların yönetimini iyileştirmek için önemli görünmektedir. Şüphesiz ki bu, konu üzerinde yapılacak bundan sonraki tartışmalara yön verecek ve IVF tedavilerinde biyolojik sıvı örneklerinin mikrobiyal kontaminasyonuna yönelik rutin taramanın yapılıp yapılmayacağına ilişkin karara yardımcı olacaktır. Mikrobiyomun etkisinin daha iyi anlaşılması, özellikle bilinmeyen faktörlerden kaynaklanan infertiliteye sahip hastalarda genel olarak daha iyi sonuçlara yol açabilir.

HABERLER

1) Malatya Eğitim ve Araştırma Hastanesi: Haziran 2025'de açılan Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezi 3 kadın hastalıkları ve doğum uzmanı, 2 histoloji ve embriyoloji uzmanı, 2 laboratuvar teknikeri, 4 hemşire, 1 sekreter ve 1 personel ile bölge halkına hizmet vermektedir.



2) 7. Klinik Embriyoloji Derneği kongresi 23-25 Mayıs 2025 tarihleri arasında İstanbul Lazzoni Hotel'de başarılı bir şekilde düzenlenmiştir.

