

# İzole Teratozoospermi Grubu Hastalarda Sperm DNA Fragmentasyonu ve Maturasyonu Sonuçlarının Sperm Morfoloji Sonucu Normal Olan Hasta Grubu ile Embriyo Gelişim ve Gebelik Oranlarının Karşılaştırılması

## Comparison of Sperm DNA Fragmentation and Maturation Outcomes in Isolated Theratozoospermia Group Patients to Patients with Normal Sperm Morphology in Terms of Embryo Growth and Pregnancy Rates

<sup>İP</sup> Onat UĞURLU<sup>a</sup>, <sup>İP</sup> Recai PABUÇCU<sup>a</sup>, <sup>İP</sup> Emre Göksan PABUÇCU<sup>a</sup>, <sup>İP</sup> Müge KESKİN<sup>a</sup>,  
<sup>İP</sup> Tufan ARSLANCA<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, Ankara, TÜRKİYE

### ÖZET

**Amaç:** Birçok araştırma erkek infertilitesi ve gebelik başarısızlığının normal olmayan sperm morfolojisi ile ilişkili olduğunu saptamıştır. Öte yandan sperm DNA hasarı sadece infertil veya subfertil hastalarla sınırlı değil, sperm morfolojisi normal olan hastalarla da ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Yayınlanan pek çok yazıda ICSI ile sperm morfolojisi arasında bir ilişki bulunamamıştır. Sperm morfolojisinin sperm DNA'sını etkileyebileceğine dair araştırmalar mevcuttur. Paternal etkinin embriyo gelişim sürecindeki gen ekspresyonunun hangi aşamasında devreye girdiği, bu hasarlı DNA'nın embriyoyu hangi gelişim aşamalarında etkilediği araştırılmak istenmektedir. **Gereç ve Yöntemler:** Bu çalışmada hasarlı sperm DNA'sının sperm DNA fragmentasyon testiyle tespit edilip, normozoospermi ve izole teratozoospermi grubu hastalarda anlamlı bir sonuç vererek değişip değişmediği incelenecektir. **Bulgular:** Çalışmamızda ilk kez izole teratozoospermi ve normozoospermi hasta gruplarının sperm DNA fragmentasyon oranlarıyla embriyonel gelişimin büyük ölçüde etkilendiğini gözlemledik ve bu etkilene izole teratozoospermi hasta grubunda daha şiddetli ortaya çıkmaktadır. **Sonuç:** Sperm DNA fragmentasyon parametresinin izole teratozoospermi hasta grupları üzerine prediktif sonuçlar vereceğini düşünmekteyiz. İzole teratozoospermi hasta gruplarında normal morfolojili sperme rastlanmadığı için spermatogenesis süreci boyunca kromatin modellemesindeki değişiklikler hep aynı ve hatalı düzeyde gerçekleşmiş olmalıdır. Bunun bize izole teratozoospermi hasta grubu için prediktif sonuçlar verip vermediğini normal hasta gruplarıyla karşılaştırarak araştırılacaktır. Sperm DNA'sının izole teratozoospermi hasta grubunda daha iyi kromatin kondensasyonu göstermesi, sadece uygulanacak yardımcı üreme tekniği yönteminin seçilmesi açısından değil, tanısal ve tedavi edici bakış açısından da önemlidir. Paternal gen ifadesinin embriyonun erken ve geç dönemlerinde gerçekleştiğini ortaya koyan çalışmalar bulunmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Sperm DNA fragmentasyonu; sperm morfolojisi; embriyo gelişimi; gebelik oranları

### ABSTRACT

**Objective:** Many studies suggest that male infertility and pregnancy failure are associated with abnormal sperm morphology. On the other hand sperm DNA damage is not only limited to infertile or subfertile patients, but also it can be seen in patients with normal sperm morphology. In many published articles no relationship was found between ICSI and sperm morphology. There are studies showing that sperm morphology can affect sperm DNA. It is desired to investigate which paternal influence affects the gene expression of the embryo development process and in which development phase this damaged DNA intervenes in the development of the embryo. **Material and Methods:** In this study, it is aimed to compare the sperm DNA damage detected by DNA fragmentation test in normozoospermia and isolated teratozoospermia group. **Results:** In this study we observed that sperm DNA fragmentation rates affects the embryonal development in isolated teratozoospermia and normozoospermia patients. The effect was more severe in the isolated teratozoospermia group. **Conclusion:** Isolation of sperm DNA fragmentation parameter will give predictive results on teratozoospermia patient groups. Since normal morphology is not isolated in teratozoospermia patient groups, changes in chromatin modelling during the spermatogenesis process, will always be disturbed. Whether this provides predictive for the isolated teratozoospermia patient group must be investigated. Better condensation of chromatin of sperm DNA in isolated teratozoospermia patient group, will not only effect the choice of the assisted reproductive technique to be applied but also provide a diagnostic and therapeutic point of view. There are studies revealing that paternal gene expression will effect the early and late embryo development

**Keywords:** Sperm DNA fragmentation; sperm morphology; embryo development; pregnancy rate

**Correspondence:** Müge KESKİN

Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD, Ankara, TÜRKİYE/TURKEY

**E-mail:** mugekeskin1@hotmail.com



Peer review under responsibility of Turkish Journal of Reproductive Medicine and Surgery.

**Received:** 15 Dec 2020

**Accepted:** 09 Feb 2021

**Available online:** 04 Mar 2021

2587-0084 / Copyright © 2021 by Reproductive Medicine, Surgical Education, Research and Practice Foundation.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Paternal etkinin embriyo gelişim sürecindeki gen ekspresyonunun hangi aşamasında devreye girdiği, hasarlı sperm DNA'sının bu ifade edilişi embriyonun hangi gelişim aşamalarında etkilediği araştırılmak istenmektedir. Bu hasarlı sperm DNA'sının sperm DNA fragmentasyon testiyle tespit edilip, sperm morfolojisi normal ve izole teratozoospermi grubu hastalarda anlamlı bir sonuç vererek değişip değişmediği incelenecektir. Sperm DNA fragmentasyon parametresinin izole teratozoospermi hasta grupları üzerine prediktif sonuçlar vereceğini düşünmekteyiz. İzole teratozoospermi hasta gruplarında normal morfolojili sperme rastlanmadığı için spermatogenesis süreci boyunca kromatin modellemesindeki değişiklikler hep aynı ve hatalı düzeyde gerçekleşmiş olmalıdır.<sup>1,2</sup> Bunun bize izole teratozoospermi hasta grubu için prediktif sonuçlar verip vermediğini normal hasta gruplarıyla karşılaştırarak araştırılacaktır. Sperm DNA'sının izole teratozoospermi hasta grubunda daha iyi kromatin kondensasyonu göstermesi, sadece uygulanacak yardımcı üreme tekniği yönteminin seçilmesi açısından değil, tanısal ve tedavi edici bakış açısından da önemlidir. Embriyo gelişimleri üzerine etkileri konusunda da prediktif sonuçlar vermesi muhtemeldir.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmaya tüp bebek tedavisi görmek için Centrum Klinik Kadın Sağlığı Ve Tüp Bebek Merkezi'ne 2016-2017 yılları arasında başvuran 63 hasta dahil edilmiştir. Başvuran hastalarda erkeklerin sperm morfoloji değerlendirmesi sonuçlarına göre 34 birey izole teratozoospermi (zero normal), 29 birey normozoospermi'dir. Bu bireylerin tüp bebek tedavisine başlamadan önce Toluidine Blue yöntemiyle sperm DNA fragmentasyon oranları ölçülmüştür. Çalışma retrospektif bir çalışmadır, uygulanacak protokollerin bütün hastalar için belirli bir standartizasyonda olmasına dikkat edilmiştir. Çalışmaya katılan 63 hasta için uygulanmış protokoller çalışmada yer verilmiştir. Sperm Morfoloji sonuçları ve sperm DNA fragmentasyon sonuçları Centrum Klinik Kadın Sağlığı Ve Tüp Bebek Merkezi laboratuvar veritabanından elde edilmiştir. Sperm morfoloji değerlendirilmesi için SPERMAC Boyama Tekniği dışında uygulanmış hiçbir teknik araştırmaya dahil edilmemiştir. Sperm

DNA fragmentasyonu için Toluidine Blue testi dışında uygulanmış hiçbir teknik araştırmaya dahil edilmemiştir. Embriyo gelişim skorları ve Beta hCG değerleri bu hasta grupları için Embriyoloji Centrum Klinik Kadın Sağlığı Ve Tüp Bebek Merkezi Embriyoloji laboratuvar defterine ayrıntılı olarak istenilen kriterler çerçevesinde işlenmiştir, bu verilerin tamamlayıcısı ve gerek ek bilgilerin tedariki için hastalara ait Embriyoloji Laboratuvar formlarına ulaşılmıştır. Embriyo transferinden 12 gün sonra Centrum Tüp Bebek gebelik takip listesinden hastaların Beta hCG değerleri kontrol edilmiş ve pozitif veya negatif şeklinde sonuç raporlanmıştır. Beta hCG değeri, gebelik sonucu negatif olan kadınlarda (ve embriyonun tutunmaması halinde) sıfır veya sıfıra çok yakın (0.1-0.001) olacaktır. Gebelik varlığında değer genellikle 10'un üzerinde hatta 50, 100 veya daha yüksek değerlerdedir. Kanda Beta hCG değeri yükselişi takip edilir ve ilgili doktor vaginal ultrasonografi ile kese oluşumunu kontrol etmiştir. Araştırmaya kruger kriterlerine göre sperm morfoloji sonuçları, sperm DNA fragmentasyon yüzdesi sonuçları, semen hacmi (ml), sperm konsantrasyonu, toplam sperm sayısı, toplam sperm motilitesi, ileriye doğru sperm hareketliliği, toplanan oosit sayısı, toplanan olgun oosit sayısı, fertilize olan oosit sayısı, fertilizasyon oranı, 3.gün gelişen embriyo sayısı, 3.gün gelişen embriyo oranı, blastokist embriyo sayısı, blastokist embriyo oranı, transfer edilen embriyo sayısı, embriyo gelişim skorları, gebelik oranlarını tayin edebilmek için Beta hCG değerleri, implantasyon oranı dahil edilmiştir. Araştırmada 18-65 yaş arası hastalar incelenmiştir. OPU (oocyte pick-up) günü spermleri kullanılacak bireyin işlem öncesinde son 6 ay herhangi bir ilaç kullanmamıştır. Semeni doğrudan ejakülasyon yoluyla vermiştir. Erkek bireylerde sperm morfolojisi ve sperm DNA fragmentasyon test sonuçlarını içeren hastalar araştırmaya dahil edilmiştir. Kadınlarda AMH değerleri normal, endometrium kalınlığı normal bireyler araştırmaya dahil edilmiştir. 18-65 yaş dışındaki hastalar araştırmaya dahil edilmemiştir. Sperm örneğini mastürbasyonla ejakülasyon dışında herhangi bir yolla verenler araştırmaya dahil edilmemiştir. Erkeklerde ilaç kullanan bireyler araştırmaya dahil edilmemiştir. Yine erkeklerde 14 günden fazla perhizli bireyler araştırmaya

dahil edilmemiştir. Kadınlarda AMH değeri az olan ve endometriyum kalınlığı anormal olan bireyler araştırmaya dahil edilmemiştir. OPU (oocyte pick-up) günü oosit alınamayan çift araştırmadan çıkarılmıştır. Semende sperme rastlanmayan (azospermik) birey ve eşi araştırmadan çıkarılmıştır.

## BULGULAR

Çalışmaya 63 hasta katılmıştır. Bunların 34 tanesi izole teratozoospermi olan hasta grubudur ve Grup A olarak tanımlanmıştır. Hastaların geriye kalan 29 tanesi normozoospermi olan hasta grubudur ve yüzde 4 normal ve üzeri sperm morfolojisine sahiptir, Grup B olarak tanımlanmıştır (Tablo 1).

Tablo 1 izole teratozoospermi (Grup A) ve normozoospermi (Grup B) gruplarının ortalamaları arasındaki ilişkiler Üçüncü günde izole teratozoospermik grupta yer alan çiftlerin embriyo gelişim kaliteleri ile sperm DNA fragmentasyon oranları arasında 0,05 anlamlılık düzeyinde ( $P \leq 0,05$ ) bir ilişki vardır. Bu ilişki sperm DNA fragmentasyon oranı %0-10 arasında olan grupta grade 1 de %44,4'tür ve bu değer istatistiksel açıdan anlamlıdır. Sperm DNA

fragmentasyon oranının en düşük olduğu bu aralıkta iyi kalitede embriyo gelişmesi beklenen bir durumdur. Sperm DNA fragmentasyon oranı %11-20 olduğu aralıkta grade 2'de %50 iken grade 1'de %18,8'dir. Sperm DNA fragmentasyon oranının %11-20 olduğu bu aralıkta embriyolar grade 2'de daha fazla gelişim göstermiştir. Sperm DNA fragmentasyon oranı %21-30 olduğu aralıkta grade 2'de %68,3'tür. Sperm DNA fragmentasyon oranının %21-30 olduğu bu aralıkta embriyolar grade 2'de diğer bütün gruplara oranla daha fazla gelişim göstermiştir. Sperm DNA fragmentasyon oranı %30 ve üzeri olduğu grupta grade 3'te %51,2'dir. Sperm DNA fragmentasyon oranının %30 ve üzeri olduğu grupta embriyolar grade 3'de diğer bütün gruplara oranla daha fazla gelişim göstermiştir. Bu bakımdan üçüncü günde izole teratozoospermik grupta sperm DNA fragmentasyon oranı arttıkça gelişen embriyo kalitesi düşmüştür, arrest oranı artmıştır. Üçüncü günde normozoospermik grupta yer alan çiftlerin embriyo gelişim kaliteleri ile sperm DNA fragmentasyon oranları arasında 0,05 anlamlılık düzeyinde ( $P \leq 0,05$ ) bir ilişki vardır. Bu ilişki sperm DNA fragmentasyon oranı %0-10 arasında olan grupta grade

**TABLO 1:** İzole teratozoospermi (Grup A) ve normozoospermi (Grup B) gruplarının ortalamaları arasındaki ilişkiler.

	Grup A	Grup B	P
Hasta Sayısı	34	19	
Semen Hacmi (ml)	3,456±1,509	3,31±1,448	NS
Sperm Konsantrasyonu ( $10^6/\text{ml}$ )	32,38±18,47	35,55±22,184	NS
Toplam Sperm Sayısı ( $10^6/\text{Ejakülat}$ )	108,07±79,57	108,59±81,40	NS
Toplam Sperm Motilesi (PR+NP,%)	45,82±7,868	51,97±12,385	$P \leq 0,05$
İleriye Doğru Sperm Hareketliliği (PR,%)	31,12±6,044	38,55±12,243	$P \leq 0,05$
Sperm Morfolojisi (Normal Fmrlar, %)	0 (Zero Normal)	5,9±1,611	$P \leq 0,05$
Sperm DNA Fragmentasyon Oranı	23,491±11,672	13,991±12,3	$P \leq 0,05$
Toplanan Oosit Sayısı	8,62±5,075	9,76±4,564	NS
Toplanan Olgun Oosit Sayısı	7,21±4,491	8,07±4,131	NS
Fertilize Olan Oosit Sayısı	3,88±2,371	7,86±4,147	$P \leq 0,05$
Fertilizasyon Oranı (%)	53,88	97,44	$P \leq 0,05$
3. Gün Gelişen Emb. Sayısı	3,71±2,236	7,41±4,339	$P \leq 0,05$
3. Gün Gelişen Emb. Oranı (%)	95,45	94,3	NS
Blast Emb. Sayısı	2,24±1,924	6,28±3,9	$P \leq 0,05$
Blast Gelişme Oranı (%)	57,58	79,82	$P \leq 0,05$
Transfer Edilen Embriyo Sayısı	1,68±0,475	1,97±0,186	$P \leq 0,05$
Gebelik Oranı (%)	26,47	55,17	$P \leq 0,05$
İmplantasyon Oranı (%)	22,81	40,35	$P \leq 0,05$

1'de %72,2'dir. Sperm DNA fragmentasyon oranının en düşük olduğu bu aralıkta iyi kalitede embriyo gelişmesi beklenen bir durumdur. Sperm DNA fragmentasyon oranı %11-20 olduğu aralıkta grade 1'de %52 iken grade 2'de %40'tır. Sperm DNA fragmentasyon oranının %11-20 olduğu bu aralıkta embriyolar grade 1'de daha fazla gelişim göstermiştir. Sperm DNA fragmentasyon oranı %21-30 olduğu aralıkta grade 2'de %59,4 iken grade 1'de %15,6'dır. Sperm DNA fragmentasyon oranının %21-30 olduğu bu aralıkta embriyolar grade 2'de daha fazla gelişim göstermiştir. Sperm DNA fragmentasyon oranı %21-30 olduğu aralıkta grade 3 oranında beklenen değer üstünde çıkmıştır ve bu fark istatistiksel açıdan anlamlıdır. Sperm DNA fragmentasyon oranı %30 ve üzeri olduğu grupta grade 2'de %61,5'tir ve istatistiksel açıdan anlamlıdır. Bu bakımdan üçüncü günde normozoospermik grupta sperm DNA fragmentasyon oranı arttıkça grade 1 aşamasına ulaşan embriyo oranı düşmüştür. Arrest oranları birbirlerine yakın değerlerdedir. Beşinci günde izole teratozoospermik grupta yer alan çiftlerin embriyo gelişim kaliteleri ile sperm DNA fragmentasyon oranları arasında 0,05 anlamlılık düzeyinde ( $P \leq 0,05$ ) bir ilişki vardır. Bu ilişki sperm DNA fragmentasyon oranı %0-10 arasında ve embriyo gelişim kalitesi grade 1'de olan hastalarda %11,1'dir ve bu oran diğer bütün gruplarda grade 1 embriyo kalitesi açısından en yüksektir. Sperm DNA fragmentasyonunun en düşük olduğu bu grupta grade 1 embriyo geliştirme oranı en yüksek olması beklenen bir durumdur. Aynı zamanda grade 4'te %38,9'luk bir değerle istatistiksel açıdan anlamlıdır bu grade 4'te embriyoların gelişimlerini yavaşlatmıştır. Sperm DNA fragmentasyon oranı %11-20 olduğu aralıkta grade 2'de %41,9 iken grade 1'de %3,2'dir. Sperm DNA fragmentasyon oranının %11-20 olduğu bu aralıkta grade 2 embriyo gelişim kalitesi diğer bütün gruplardan daha yüksektir. Sperm DNA fragmentasyon oranı %21-30 olduğu aralıkta grade 3'de %35,9'dur ve istatistiksel açıdan anlamlıdır. Sperm DNA fragmentasyon oranı %30 ve üzeri olduğu grupta grade 1 embriyo gelişimi gözlemlenmemiştir, grade 3 embriyo gelişim oranı %47,4'tür ve bu değer diğer bütün gruplardan daha yüksektir ve grade 5 embriyo gelişim oranı diğer bütün gruplardan yüksektir, değerler istatistiksel açıdan anlamlıdır

ve gelişim yavaşlamıştır. Bu bakımdan beşinci günde izole teratozoospermik grupta sperm DNA fragmentasyon oranı arttıkça gelişen embriyolar grade 2, grade 3'de embriyo gelişimleri yavaşlamıştır. Embriyo arrest oranları ise sperm dna fragmentasyon oranı arttıkça artmıştır. Beşinci günde normozoospermik grupta yer alan çiftlerin embriyo gelişim kaliteleri ile sperm DNA fragmentasyon oranları arasında 0,05 anlamlılık düzeyinde ( $P \leq 0,05$ ) bir ilişki vardır. Bu ilişki sperm DNA fragmentasyon oranı %0-10 arasında ve grade 1 embriyo gelişim kalitesine sahip olan hastalarda %56,6'dır. Sperm DNA fragmentasyonunun en düşük olduğu bu grupta grade 1 embriyo geliştirme oranı en yüksek olması beklenen bir durumdur. Sperm DNA fragmentasyon oranı %11-20 olduğu aralıkta grade 2'de %51,2'dir. Sperm DNA fragmentasyon oranının %11-20 olduğu bu aralıkta grade 2 embriyo gelişim kalitesi diğer bütün gruplardan gözlenen ve beklenen değerler göz önünde bulundurulduğunda en yüksektir. Sperm DNA fragmentasyon oranı %21-30 olduğu aralıkta grade 5'te %10,7 oranında gelişim göstermiştir. Grade 5 evresindeki beşinci gün embriyolarında gözlenen ve beklenen değerler göz önünde bulundurulduğunda istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık ortaya koymuştur ve bu evrede embriyolar yavaşlamaya başlamıştır. Sperm DNA fragmentasyon oranı %30 ve üzeri olduğu grupta değerler birbirine çok yakındır, gözlenen değerler beklenen değerleri geçememiştir. Grup A ve grup B yer alan çiftlerin sperm morfolojileri ile embriyo gelişim kaliteleri arasında 0,05 anlamlılık düzeyinde ( $P \leq 0,05$ ) bir ilişki vardır. İzole teratozoospermik grupta yer alan çiftlerin grade 3, grade 4, grade 5 embriyo oranları sırasıyla %34,9, %19 ve %14,3'tür, arrest oranı ise %6,3'tür, bu değerler gözlenen beklenen değer açısından istatistiksel açıdan anlamlıdır. Normozoospermik grupta ise grade 1 ve grade 2 embriyo gelişimi sırasıyla %47,9 ve %30,7'dir ve gözlenen beklenen değer açısından istatistiksel açıdan anlamlıdır. Normozoospermik grup grade 1 embriyo geliştirme açısından daha başarılıdır. **Tablo 2** izole teratozoospermi (Grup A) ve normozoospermi (Grup B) gruplarının sperm DNA fragmentasyon oranlarına göre gebelik oranlarının karşılaştırılması İzole teratozoospermik grupta yer alan çiftlerin sperm DNA fragmentasyon oranları ile

**TABLO 2:** İzole teratozoospermi (Grup A) ve normozoospermi (Grup B) gruplarının sperm DNA fragmentasyon oranlarına göre gebelik oranlarının karşılaştırılması.

		Gebelik			
		Pozitif		Negatif	
		n	%	n	%
Grup A	0-20	7/15	46,7	8/15	53,3
	21	2/19	10,5	17/19	89,5
Grup B	0-20	14/23	60,9	9/23	39,1
	21	2/6	33,3	4/6	66,7

Grup A:  $p \leq 0,05$ Grup B:  $p > 0,05$ 

gebelik oranları arasında 0,05 anlamlılık düzeyinde ( $p \leq 0,05$ ) bir ilişki vardır. Buna göre izole teratozoospermik grupta sperm DNA fragmentasyon oranı %0-20 aralığındaki gebelik oranı, %21 ve üzeri sperm DNA fragmentasyon istatistiksel anlamda daha yüksektir. Çalışmada normozoospermik grupta yer alan çiftlerin sperm DNA fragmentasyon oranları ile gebelik oranları arasında 0,05 anlamlılık düzeyinde ( $p > 0,05$ ) bir ilişki yoktur. Buna göre normozoospermik grupta sperm DNA fragmentasyon oranı %0-20 aralığındaki gebelik oranı, %21 ve üzeri sperm DNA fragmentasyon oranından daha yüksektir ancak bu fark istatistiksel açıdan anlamlı değildir (Tablo 2).

## SONUÇ

Şiddetli teratozoospermi olan hasta gruplarında ICSI işlemi sonrası fertilizasyon, gebelik oranı ve embriyo kalitesi sonuçlarını değerlendiren bir çalışmada; sperm morfolojisi %0 ve %4 arası her değerdeki çıktıları değerlendirmiş, kontrol grubunda %5-7 arası ile %7 ve yukarısı gibi iki kategoriye ayırıp, bu değişiklikleri kontrol grubuyla karşılaştırmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde her grup için fertilizasyon oranları %74-77 aralığında dağılmıştır ve istatistiki açıdan anlamlı sonuç bulunamamıştır. Benzer şekilde %50-60 aralığında dağılmış gebelik oranları gözlemlenmiştir ve istatistiki açıdan anlamlı değildir. Blastokist embriyo kalitesi %0 normal grupta, %5 ve üzeri olan grupla kıyaslandığında yüksek çıkmış ve bu değer istatistiki açıdan anlamlıdır (37% vs. 28%;  $P < 0,005$ ). Ancak bu değeri daha iyi anlamak için hasta gruplarını daha ayrıntılı incelemişler ve %0 normal morfolojili hasta grubu eşle-

rinde primer infertilite sebebi erkek faktörü olarak saptanmış, %7 ve yukarısında ovulatuvar disfonksiyon, tubal faktör ve endometriosis gibi kadın faktörleri, çiftlerin %45'inde primer tanı olarak saptanmıştır. Buna karşılık %7 ve yukarısında motilite, sperm sayısı gibi erkek faktörleri %14 oranında saptanmıştır. Çalışma ICSI ile Kruger kriterlerine göre morfolojik inceleme yapılmış spermle fertilizasyon oranları, klinik gebelik oranları ve blastokist embriyo kalitesi arasında bir ilişki bulunamamıştır. Sperm morfolojisini Kruger kriterlerine göre değerlendirip normal sperm oranını %4 ve altını kötü, %4-14 arasını iyi, %14'ten büyük olanları çok iyi olmak üzere üç grup altında inceleyen bir başka çalışmada fertilizasyon, gebelik ve implantasyon oranları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır.<sup>3-5</sup> Konvensiyonel IVF ve ICSI ile yapılan olguların morfoloji gruplandırmalarında Kruger kriterleri kullanılıp grupları normal sperm oranı %5 altındakiler, %5-9 arasındakiler ve %10'dan büyük morfolojili olmak üzere üç grup altında inceleyen bir başka çalışmada konvensiyonel IVF sonuçlarında normal sperm morfolojisi %10'dan büyük olan grupta olan grupta %68 fertilizasyon, %10'dan küçük olan grupta ise %54 fertilizasyon gözlemlenmiş, bu farklılık istatistiksel 76 açıdan anlamlı bulunmuştur ( $P=0.00002$ ). Normal morfolojili sperm oranı %5 altında olan grupta fertilizasyon oranı %35 bulunmuş ve iyi prognoz gösteren gruptan istatistiksel açıdan önemli ölçüde düşük değerde anlamlı sonuç verdiğini göstermiştir ( $p=0.016$ ). Gebelik oranları bütün gruplarda beklenen değerde çıkmış ve farklılık gruplar arasında gözlemlenmemiştir. ICSI tedavisi uygulanmış grupta fertilizasyon ve gebelik oranları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Bu çalışma literatürde %14 olan normal morfoloji sınırının %10'a çekilmesinin ve yeni cut-off değeri olabileceğinin altını çizmiştir.<sup>6</sup> Sperm DNA fragmentasyonu ile sperm morfolojisini karşılaştıran bir çalışmada 19 hasta üzerinde yapılan klinik araştırma sonucunda fertil grupta, sperm DNA fragmentasyonu ile normal morfolojili sperm ilişkisi göstermemiştir. Ancak infertil grupta normal morfolojili spermle (%4 ve üzeri) ilişki göstermiştir.<sup>7</sup> Bunun yanında sperm DNA fragmentasyonu ile sperm morfolojisi arasında negatif kore-



lasyonun olduğunu gösteren pek çok çalışma mevcuttur.<sup>7,8</sup> Simon ve ark. infertil hastalarda sperm DNA fragmentasyon oranının embriyonik gelişime etkisini inceleyen bir çalışmada IVF ve ICSI tedavisi sonrasında gelişen embriyoları ikinci, üçüncü ve beşinci gün gözlemlenmişler ve gelişim kalitelerini iyi orta ve kötü olarak gruplandırıp sperm dna fragmentasyonu oranını %30 ve altı düşük, %31 ve %70 arası orta, %70 ve yukarısını yüksek sperm gruplarından nasıl etkilendiklerini incelemişlerdir.<sup>6-8</sup> ICSI sonrası, iyi kaliteli embriyoların yüzdesinde ve sperm DNA fragmentasyon oranı arttıkça düşük kaliteli embriyoların yüzdesinde bir artış gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, klasik IVF sonrası böyle bir korelasyon gözlenmemiştir. Embriyo gelişiminin ilerlemesi, 2. günden 3. güne kadar olan DNA hasar grupları arasında istatistiksel olarak farklı değildir ( $P>0,05$ ). Ancak embriyo gelişimi 3. günden 5. güne analiz edildiğinde DNA hasar grupları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark görülmüştür ( $P\leq 0,05$ ). Klinik gebelik oranları düşük DNA hasar grubunda %69,7, orta DNA hasar grubunda %68,6 ve yüksek DNA hasar grubunda %44,8 idi ve bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur.<sup>10</sup> Bizim yaptığımız çalışmada embriyonel gelişimin sperm DNA fragmentasyonu ile ilişkisi sonuçlarında en çok benzeyen çalışma Simon ve ark.'nın yaptığı çalışmadır. Biz, beşinci günde geriden gelen embriyo ve arrest oranında takip ettik, raporladık. Beşinci günde blast gelişimini geç expanded blast ve daha iyi gelişim kalitelerini bir grup olacak şekilde, full blast ve erken expanded blast arası gelişimi bir grup, early blast ve full blast arası gelişimi bir grup altında inceledik. Gelişen embriyo sayılarının düşük olmasından dolayı istatistiksel açıdan bir inceleme yapabilmek için bu tarz bir gruplandırma yapılması gerekmektedir. Benzer şekilde sperm DNA fragmentasyon oranı %50 ve yukarısında olan hasta sayısı az olduğundan ve embriyonel gelişimlerin takibinin bu grupta yapılmasının anlam ifade etmeyeceğinden dolayı %30 ve yukarı sperm DNA fragmentasyon oranı altına dahil ettik. Ayrıca sperm morfolojisinin iki grup altına alınıp izole teratozoospermik grupta ve normozoospermik grupta ayrı ayrı incelenmesi, her bir grup için embriyonel gelişimin sperm DNA'sından etkilenme derecesini or-

taya koymaktadır. Çalışmamızda ilk kez izole teratozoospermi ve normozoospermi hasta gruplarının sperm DNA fragmentasyon oranlarıyla embriyonel gelişimin büyük ölçüde etkilendiğini gözlemledik ve bu etkilenme izole teratozoospermi hasta grubunda daha şiddetli ortaya çıkmaktadır. Bu sonucun izole teratozoospermi morfolojik bozukluk sebebiyle kromatin modellemesindeki değişiklikler hep aynı ve hatalı düzeyde gerçekleşmiş olabilmesinden kaynaklanabilir. Daha önce klivaj embriyolarının evreleri ve gelişim hızlarının blastokist embriyolara dönüşmesi arasındaki ilişki gözlemlenmiştir.<sup>9-12</sup> Bu ilişkinin iyi gelişim gösteren daha hızlı gelişen embriyolarda daha yüksek gebelik oranları sağladığını göstermiştir.<sup>13</sup> Sperm DNA fragmentasyon oranının, embriyonik gelişme ile doğrudan ilişkili olduğunu düşünmekteyiz. Sperm DNA fragmentasyonunun, tamir mekanizmaları, transkripsiyon ve hücre dönüşümündeki kontrol mekanizmasını etkileyebileceğini göstermiştir.<sup>14</sup> Buna göre paternal sperm DNA'sının embriyonik bölünmeleri etkilediğini gösteren çalışmalarda mevcuttur.<sup>15</sup> İzole teratozoospermik ve normozoospermik grupta standart swim-up yöntemine göre Microfluidics yöntemi tercihi yapılması önerilmektedir.

### Finansal Kaynak

*Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.*

### Çıkar Çatışması

*Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.*

### Yazar Katkıları

**Fikir/Kavram:** Recai Pabuçcu; **Tasarım:** Recai Pabuçcu Emre Gökşan Pabuçcu Onat Uğurlu; **Denetleme/Danışmanlık:** Emre Gökşan Pabuçcu; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Onat Uğurlu; **Analiz ve/veya Yorum:** Onat Uğurlu Recai Pabuçcu; **Kaynak Taraması:** Onat Uğurlu; **Makalenin Yazımı:** Müge Keskin; **Eleştirel İnceleme:** Tufan Arslanca; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Onat Uğurlu; **Malzemeler:** Onat Uğurlu.

## KAYNAKLAR

1. Durán-Pastén ML, Fiordeliso T. GnRH-Induced Ca(2+) Signaling Patterns and Gonadotropin Secretion in Pituitary Gonadotrophs. Functional Adaptations to Both Ordinary and Extraordinary Physiological Demands. *Frontiers in Endocrinology*. 2013;4:127. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
2. Muciaccia B, Boitani C, Berloco BP, Nudo F, Spadetta G, Stefanini M, et al. Novel Stage Classification of Human Spermatogenesis Based on Acrosome Development1. *Biology of Reproduction*. 2013;89(3):60, 1-10-60, 1-10. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
3. Hafez ESE, Hafez SD. *Atlas of Clinical Andrology*. Taylor & Francis; 2005. p. 16, 30. [[Crossref](#)]
4. Buffone MG, Wertheimer EV, Visconti PE, Krapf D. Central role of soluble adenylyl cyclase and cAMP in sperm physiology. *Biochimica et biophysica acta*. 2014;1842(0): 2610-20. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
5. Filatov MV, Semenova EV, Vorob'eva OA, Leont'eva OA, Drobchenko EA. Relationship between abnormal sperm chromatin packing and IVF results. *MHR: Basic science of reproductive medicine*. 1999;5(9):825-30. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
6. Sakkas D, Manicardi GC, Tomlinson M, Mandrioli M, Bizzaro D, Bianchi PG, et al. The use of two density gradient centrifugation techniques and the swim-up method to separate spermatozoa with chromatin and nuclear DNA anomalies. *Hum Reprod*. 2000;15(5):1112-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
7. Kheirollahi-Kouhestani M, Razavi S, Tavalae M, Deemeh MR, Mardani M, Moshtaghian J, et al. Selection of sperm based on combined density gradient and Zeta method may improve ICSI outcome. *Hum Reprod*. 2009;24(10):2409-16. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
8. Zahedi A, Tavalae M, Deemeh MR, Azadi L, Fazilati M, Nasr-Esfahani MH. Zeta potential vs apoptotic marker: which is more suitable for ICSI sperm selection? *J Assist Reprod Genet*. 2013;30(9):1181-6. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)] [[PMC](#)]
9. Ainsworth C, Nixon B, Aitken RJ. Development of a novel electrophoretic system for the isolation of human spermatozoa. *Hum Reprod*. 2005;20(8):2261-70. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
10. Garolla A, Fortini D, Menegazzo M, De Toni L, Nicoletti V, Moretti A, et al. High-power microscopy for selecting spermatozoa for ICSI by physiological status. *Reprod Biomed Online*. 2008;17(5):610-6. [[Crossref](#)]
11. Bartoov B, Berkovitz A, Eltes F, Kogosovsky A, Yagoda A, Lederman H, et al. Pregnancy rates are higher with intracytoplasmic morphologically selected sperm injection than with conventional intracytoplasmic injection. *Fertil Steril*. 2003;80(6):1413-9. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
12. Gianaroli L, Magli MC, Collodel G, Moretti E, Ferraretti AP, Baccetti B. Sperm head's birefringence: a new criterion for sperm selection. *Fertil Steril*. 2008;90(1):104-12. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]
13. Marquez C, Sandalinas M, Bahce M, Alikani M, Munne S. Chromosome abnormalities in 1255 cleavage-stage human embryos. *Reprod Biomed Online*. 2000;1(1):17-26. [[Crossref](#)]
14. Munne S. Chromosome abnormalities and their relationship to morphology and development of human embryos. *Reprod Biomed Online*. 2006;12(2):234-53. [[Crossref](#)]
15. Fisch JD, Rodriguez H, Ross R, Overby G, Sher G. The Graduated Embryo Score (GES) predicts blastocyst formation and pregnancy rate from cleavage-stage embryos. *Hum Reprod*. 2001;16(9):1970-5. [[Crossref](#)] [[PubMed](#)]