



İstanbul Bilim Üniversitesi Florence Nightingale Tıp Dergisi

Istanbul Bilim University Florence Nightingale Journal of Medicine

Cilt (Volume) 1 - Sayı (Number) 1 - Nisan (April) 2015

İSTANBUL BİLİM ÜNİVERSİTESİ FLORENCE NIGHTINGALE TIP DERGİSİ

İSTANBUL BİLİM UNIVERSITY FLORENCE NIGHTINGALE JOURNAL OF MEDICINE

Cilt (Volume) 1 - Sayı (Number) 1 - Nisan (April) 2015

İstanbul Bilim Üniversitesi ve Florence Nightingale Grup Hastaneleri Yayın Organı
Journal of Istanbul Bilim University and Florence Nightingale Group Hospitals

Onursal Editör / Honorary Editor

Dr. Cemşid Demiroğlu

Yazı İşleri Müdürü

Responsible Manager

Dr. Çavlan Çiftçi

Editör / Editor-in-Chief

Dr. Çavlan Çiftçi

Editör Yardımcıları / Associate Editors

Dr. Aslı Çurğunlu

Dr. Tevfik Ecder

Yayın Koordinatörü / Publication Coordinator

Dr. Tevfik Ecder

Yayın Sekreteri / Publication Secretary

Dr. Cemalettin Camcı

Dr. Oytun Erbaş

İstanbul Bilim Üniversitesi Florence Nightingale Tıp dergisi yılda 3 sayı olarak (Nisan, Ağustos Aralık) yayınlanmaktadır.

Istanbul Bilim University Florence Nightingale Journal of Medicine is a peer-reviewed journal published three times a year (April, August, December).

Finansman / Funding: İstanbul Bilim Üniversitesi ve Florence Nightingale Grup Hastaneleri / *Istanbul Bilim University and Florence Nightingale Group Hospitals*

Dergide yayımlanan malzemenin telif hakkı İstanbul Bilim Üniversitesi Florence Nightingale Tıp Dergisi'ne aittir. Copyright ©2015 Her hakkı saklıdır.

Material published in the Journal is covered by copyright ©2015 Official Journal of Istanbul Bilim University Florence Nightingale Journal of Medicine. All rights reserved.

Yönetim yeri ve adresi / Executive office:
İstanbul Bilim Üniversitesi, Büyükdere Cad. No: 120
34394 Esentepe, Şişli, İstanbul
e-posta / e-mail: info@istanbulbilim.edu.tr

Yayıncı / Publisher:
Baycınar Tıbbi Yayıncılık ve Reklam Hiz. Tic. Ltd. Şti.
Örnek Mah., Dr. Suphi Ezgi Sok.,
No: 11, D: 6, 34704 Ataşehir, İstanbul, Türkiye
Tel: +90 216 - 317 41 14
Faks (Fax): +90 216 - 317 63 68
e-posta / e-mail: info@baycınartibbiyayincilik.com
Web: www.baycınartibbiyayincilik.com
Yayıncı Sertifika No: 17557

Yayın türü: Yerel süreli
Type of publication: Periodical
Baskı / Press:
Ege Reklam Basım Sanatları San.Tic. Ltd. Şti.
Esatpaşa Mah. Ziyapaşa Cad. No: 4, Ataşehir, İstanbul
Tel: 0216 470 44 70 Faks: 0216 472 84 05
www.egebasim.com.tr Matbaa Sertifika No: 12468
Basım tarihi / Press date:
23 Haziran 2015 / June 23, 2015
Baskı adedi / Circulation: 1500



Bu dergide kullanılan kağıt ISO 9706: 1994 standardına uygundur. / This publication is printed on paper that meets the international standard ISO 9706: 1994

National Library of Medicine biyomedikal yayın organlarında asitsiz kağıt kullanılması önermektedir.

National Library of Medicine encourages the use of permanent, acid-free paper in the production of biomedical literature.

Bu dergideki yazıların dergi standartlarına uygunluğunun kontrolü, dizimi, İngilizce/Türkçe özetlerin ve kaynakların denetimi, derginin yayına hazırlanması Baycınar Tıbbi Yayıncılık tarafından gerçekleştirilmiştir.

Pentoksifilin ve platelet aktive edici faktör sonrası spermatozoada meydana gelen ultrastrüktürel değişikliklerin kıyaslanması

Comparison of ultrastructural changes occurred in spermatozoa after the application of pentoxifylline and platelet-activating factor

Yasemin Özdemir, Evrim Ünsal, Canan Hürdağ

İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Sağlık Bilimler Enstitüsü, İstanbul, Türkiye

ÖZ

Amaç: Bu çalışma ile alternatif ajanların spermatozoon motilitesi ve ince yapısı üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçladık.

Hastalar ve yöntemler: Çalışmaya, infertilite merkezine başvurmuş olan normozoospermik (sayı 20 milyon/mL ve üzeri, motilite %50 ve üzeri, n=20) bireylerden elde edilen semen örnekleri dahil edildi. Elde edilen spermatozoonlara pentoksifilin (PF) ve platelet aktive edici faktör (PAF) ile muamele edildi. Pentoksifilin ve PAF ile muamele edilen spermatozoonların ince yapıları ve kontrol grubunda hiçbir ajanla muamele olmamış spermatozoonların ince yapıları geçirilmiş elektron mikroskopunda kıyaslanarak incelendi.

Bulgular: Kontrol grubundaki normozoospermik bireylerden elde edilen spermatozoonların baş kısmındaki nukleusun, plazma membran ve aksonem yapısının korunmuş olduğu görüldü. Pentoksifilin ile muamele edilen spermatozoonlarda, baş kısmında glikokaliks yapısında yer yer bozulmalara sahip olduğu görüldü. Kuyruk kısmının orta parçasında motilitede önemli rolü olan 9+2 aksonem yapısının düzgün olduğu ve çevresindeki mitokondri yapılarında kristallerin kaybolduğu görüldü. Platelet aktive edici faktöre maruz bırakılan spermatozoon grubunda elonge başlı spermatozoonlar, plazma membran yapılarında yer yer bozulmalar olduğu gözlemlendi.

Sonuç: Çalışmamızda, spermatozoonların PF ve PAF'ye maruz kalmasının spermatozoon baş ve kuyruk yapısındaki olumsuz etkileri gösterilmiştir. Yardımlı üreme tekniklerinde de kullanılan bu ajanların olumsuz etkilerinin embriyo gelişimi üzerinde de etkili bir faktör olabileceğini düşünmekteyiz. Bu bağlamda PF ve PAF ile ilgili spermatozoon ince yapısının incelenmesi ve kıyaslanması ile ilgili araştırmaların artırılması bu konuda yardımcı olacaktır.

Anahtar sözcükler: Pentoksifilin; platelet aktive edici faktör; spermatozoon.

ABSTRACT

Objectives: In this study we aimed to examine the effect of these alternative agents on sperm motility and fine morphology.

Patients and methods: The semen samples obtained from normozoospermic man (20 million/mL, motility 50% and above, n=20) were treated with pentoxifylline (PF) and platelet-activating factor (PAF). A control group was created with this samples and we also aimed to examine by considering sperm morphology without applying any PF and PAF.

Results: In the control group obtained from normozoospermic individuals no change was observed in the head of the spermatozoon nucleus, the plasma membrane and axoneme. Pentoxifylline treated spermatozoa were found to have deterioration in various places in the glycocalyx structure of the head. 9+2 axoneme located in the mid-section of the tail which plays an important role in motility was observed to have had no structural changes and the cristae in the mitochondria had disappeared. Structural distortions were observed in the plasma membrane of the elongated spermatozoa in the sperm head groups exposed to PAF.

Conclusion: As a result, the application of PF and PAF had a negative effect on the ultrastructure of the head and flagellum of the spermatozoa. We believe that PF and PAF used in ART might have an adverse effect on embryo development. Increasing research on PF and PAF can help enlightened the fine structure and comparison of sperm in this context.

Keywords: Pentoxifylline; platelet-activating factor; spermatozoa.

Erkeğe bağlı infertilite düşük sayıda spermatozoon üretimi, spermatozoon motilitesinde azalma veya spermatozoon morfolojisinin yetersiz oluşu gibi özelliklerin tek başına veya birkaçının birlikte görüldüğü durumlarda ortaya çıkmaktadır.^[1]

Morfolojik bozukluk ve motilite sorunu olan semen örneklerinde fertilizasyon düşüklüğü ve embriyo kalitesinde yetersizlik görülmektedir. Son yıllarda infertil çiftlerin çocuk sahibi olabilme olasılıkları yardımcı üreme teknikleri (YÜT)'ndeki gelişmelere paralel olarak artmıştır. Özellikle erkek faktörlü infertilite açısından değerlendirildiğinde bu gelişmeler infertilitenin çözülebilir bir sorun olduğunu göstermiştir.

Progressif motilite spermatozoonun en çarpıcı özelliğidir ve oositi çevreleyen oosit-kümüls kompleksine hücrelerine nüfuz etmek için gereklidir.^[2]

Motiliteyi ve fertilizasyonu artırmaya yönelik kullanılan alternatif ajanlardan biri pentoksifilin (PF)'dir. Fosfodiesteraz inhibitörü olan PF, hücre içi siklik adenosin monofosfat (cAMP) düzeyini ve glikolizi yükselterek endojen adenosin trifosfat (ATP) yapımını artırmaktadır. Semende motil spermatozoonların uygun PF konsantrasyonunda, hiperaktiflik benzeri bir hareketliliğe ulaştıkları, ilerleme hızının flagellum hareketliliğinin ve lateral baş deplasmanının arttığı bilinmektedir. Ayrıca akrozom reaksiyonu yetmezliği saptanan olgularda da PF uygulanmasının fertilizasyon oranlarını artırdığı bildirilmiştir.^[3] Pentoksifilin bunların yanında, serbest radikaller tarafından oluşan peroksitleri ortadan kaldırarak antioksidan etkisi yapar ve spermatozoon plazma membranını korur. Pentoksifilin bu yararlı etkilerini bildiren çalışmaların yanı sıra, embriyo gelişimi üzerinde olumsuz etkileri olduğunu bildiren çalışmalar da vardır.^[4]

Motiliteyle ilgili kullanılan diğer bir ajan da platelet aktive edici faktör (PAF)'dür. Özellikle motil spermatozoonlar üzerine etki gösteren PAF, spermatozoonda bulunan güçlü bir sinyal fosfolipiddir.^[5] Motilite kalitesini, kapasitasyonunu, akrozom reaksiyonunu ve fertilizasyon yeteneğini artırmaktadır.^[6] Yapılan çalışmalar, PAF sentezinin artışının motilite artışıyla birlikte, gelişmiş spermatozoon-oosit etkileşimiyle sonuçlandığını göstermiştir.^[7] Erkek faktörüne bağlı infertil çiftlerde PAF ile tedavide istatistiksel

olarak artış bildirilmiştir. İntrauterin inseminasyonda da spermatozoon yıkama işlemine PAF dahil edilmesi gebelik oranlarını önemli ölçüde artırmaktadır.^[8] Bu olumlu etkilerin yanında PAF'a ait olumsuz etkiler de bildirilmiştir ve spermatozoon motilitesi üzerindeki etkileri hala tartışmalıdır.^[2]

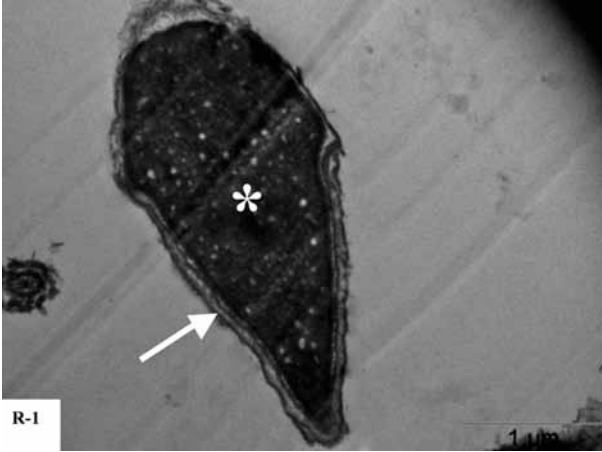
Bu bilgilere dayanarak, PF ve PAF'ın spermatozoon motilitesi ve ince yapısı üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçladık. Çalışmamızda normozoospermik örneklerden alınan spermatozoonlara PF ve PAF uygulandı. Membrandaki glikokaliks yapısını belirginleştiren rutenyum kırmızısı boyası ile boyanarak geçirimli elektron mikroskobu (TEM)'nda spermatozoonların ince yapıları incelendi ve kontrol grubuyla kıyaslandı.

HASTALAR VE YÖNTEMLER

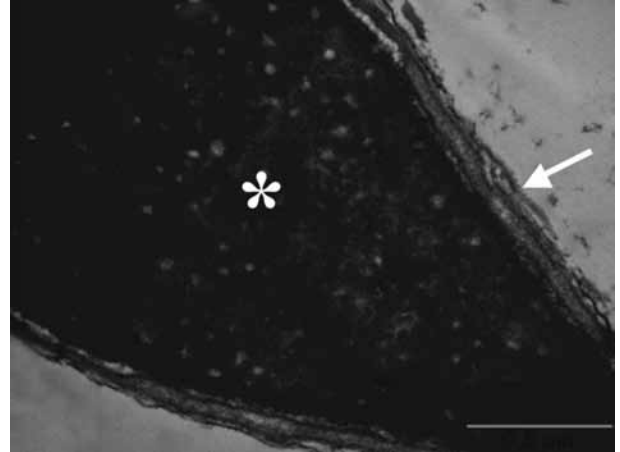
İstanbul Bilim Üniversitesi Klinik Araştırmaları etik kurul tarafından 27.11.2013 tarih ve 14-83 numaralı karar ile bu çalışma onaylanmıştır. Çalışmaya, infertilite merkezine başvurmuş olan yaşları 24-44 arasında değişen bireylerden alınan normospermik (sayı 20 milyon/mL ve üzeri, motilite %50 ve üzeri, n=20) semen örnekleri dahil edildi. Morfolojik değerlendirme için bir lama bir damla semen örneğinden damlatıldı. Damlatılan semenin miktarı spermatozoon sayısına bağlı olarak ayarlandı.

Pentoksifilin ve platelet aktive edici faktör uygulama protokolü

Tüm sistem bileşenleri örnek oda sıcaklığına ya da 37 °C'ye getirilir. Steril santrifüj tüpüne silika density solüsyonu ile gradient hazırlandı. Üzerine 2 mL likefiye olmuş semen eklenerek 350-400 g'de 15-20 dk santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında gözle görülür pellet yok ise işleme 5 dk'lık ikinci santrifüj ile devam edildi. Sperm wash medyumunda PF ile (1 mg/mL) stok solüsyon hazırlandı. Süpernatant atılıp süspanse edilen pellete 1 mL stok PF eklendi. Nihai konsantrasyonun 1.76 mM olması sağlandı. Platelet aktive edici faktöre 10 mL sperm wash eklendi ve kullanmadan önce 1 dk boyunca vortekslendi. Sperm wash medyumuna 3 mL PAF eklenip, pellet tekrar süspanse edildi. Final konsantrasyonun 10^{-7} M olması sağlandı. 37 °C'de 15 dk'lık inkübasyon sonrasında süpernatant atılarak üzerine uygun medyum eklendi.



Şekil 1. Normospermi grubunda; plazma membranı (ok) ve nukleus bütünlüğü (*) korunmuş normal spermatozoon baş görüntüsü (rutenyum kırmızısı x 30000).



Şekil 2. Normospermi grubunda; plazma membranı (ok) ve nukleus bütünlüğü (*) korunmuş normal spermatozoon baş görüntüsü (rutenyum kırmızısı x 60000).

Geçirimli elektron mikroskobu protokolü

Semen örnekleri %2.5'lik 1.1 M PBS tamponlu (pH 7.2) glutaraldehit fiksasyonu içerisinde +4 °C'de 4 saat immersiyon fiksasyonu yapıldıktan sonra tamponda yıkandı ve sonrasında %1'lik osmiyum tetraoksitle bir saat post-fiksasyon yapıldı.

Membrandaki glikokaliks yapısını göstermek için de rutenyum kırmızısı boyama yöntemi kullanıldı. Distile su ile %0.003 dilüsyonda stok rutenyum kırmızısı hazırlandı. %2.5 glutaraldehitte fikse edilen spermatozoon %1'lik osmiyum tetraoksit karışımı rutenyum kırmızısı ile post-fikse edildi. Yükselen alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. 60 °C'deki etüvde epon 812'ye gömüldü. Ultramikrotomla (Reichert, Supernova ultramikrotome) yaklaşık 60 nm kalınlığındaki ince kesitler uranil asetat ve kurşun sitrat ile kontrastlandı. İnce kesitler Jeol JEM 1011 TEM (JEOL USA, Inc., MA, USA) marka transmission elektron mikroskobu ile incelenip fotoğraflandı.

BULGULAR

Normospermi deney grubunun elektron mikroskobik bulguları

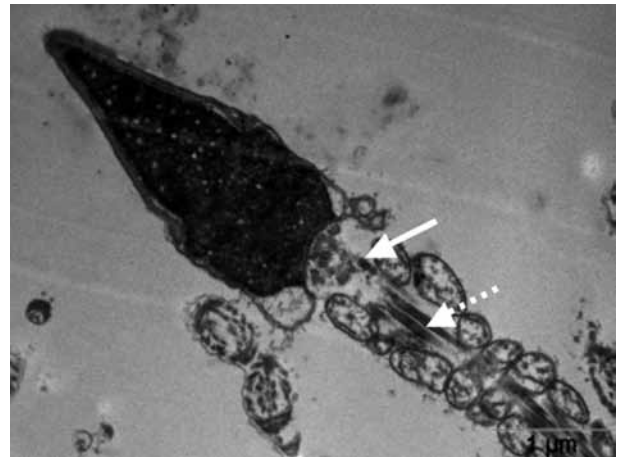
Geçirimli elektron mikroskobu çalışmamızda, normosperminin herhangi bir ajana maruz kalmamış kontrol grubu ile PF ve PAF uygulanmış gruplar incelendi. Bu örneklerimizin, spermatozoonda baş ve kuyruk olmak üzere iki kısmı değerlendirildi.

Normospermi grubunda, spermatozoonların baş kısmındaki nukleusun ve plazma membranının korunmuş olduğu (Şekil 1, 2) görüldü.

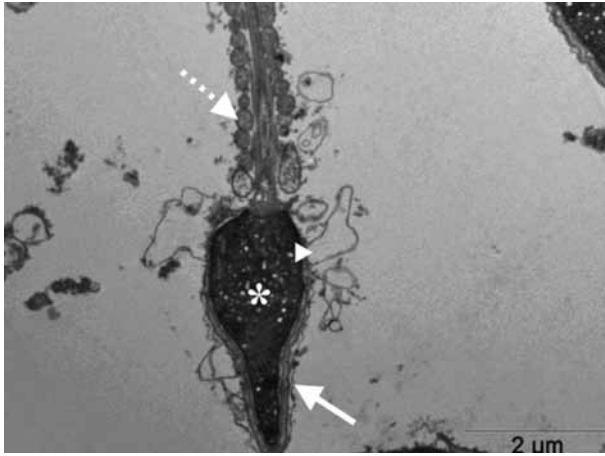
Normospermi grubundaki örneklerimizin orta parçasında mitokondriyon diziliminin düzgün, kuyruğun esas parçasında yer alan 9+2 aksonem ve fibröz örtü yapısının bütünlüğünün korunduğu gözlemlendi (Şekil 3).

Pentoksifilin ile muamele edilen grubun elektron mikroskobik bulguları

Pentoksifiline 15 dk maruz kalmış gruptaki spermatozoonların baş kısmının plazma membran yapısında (glikokaliks) yer yer bozulmalar olduğu



Şekil 3. Normospermi grubunda; flagella'nın esas parçasında normal fibröz örtü (ok) ve düzgün aksonem (kesik ok) yapısı (rutenyum kırmızısı x 30000).



Şekil 4. Pentoksifiline maruz kalan grupta; spermatozoon başı membran yapısında yer yer bozulmalar (ok), kromatinde granüller (*) ve vakuollü yapı (ok başı) ile düzenli sıralanmış mitokondri (kesik ok) görüntüsü (rutenyum kırmızısı x 15000).

ve vakuollü ve granüllü bir kromatin yapısına sahip olduğu görüldü (Şekil 4). Kuyruk kısmının orta parçasında, motilitede önemli rol oynayan aksonem yapısındaki 9+2 bütünlüğünün düzgün olduğu ancak çevresindeki mitokondriyon kristallerinin kaybolduğu görüldü (Şekil 5). Spermatozoon kuyruğunun esas kısmında da kontrole yakın aksonem yapısı ve dynein kolları görüldü (Şekil 6).

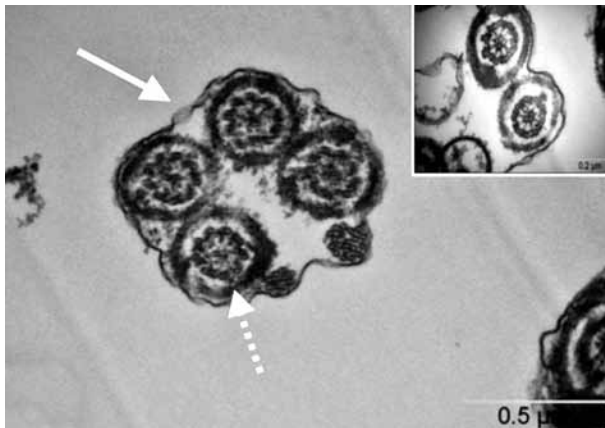
Platelet aktive edici faktör ile muamele edilen grubun elektron mikroskopik bulguları

Platelet aktive edici faktöre maruz kalmış gruplarda elonge başlı spermatozoonların

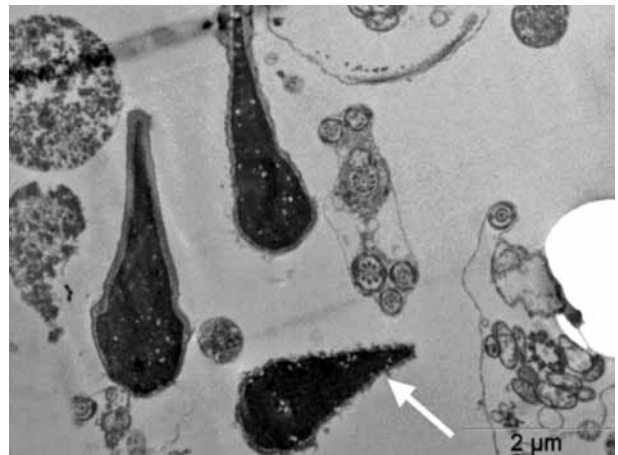


Şekil 5. Pentoksifiline maruz kalan grupta; spermatozoonun orta kısmındaki aksonem yapısındaki (9+2) bütünlüğünün düzgün olması (ok) ve çevresindeki mitokondri yapılarındaki kristallerinin kaybı (kesik ok) görüntüsü (rutenyum kırmızısı x 120000).

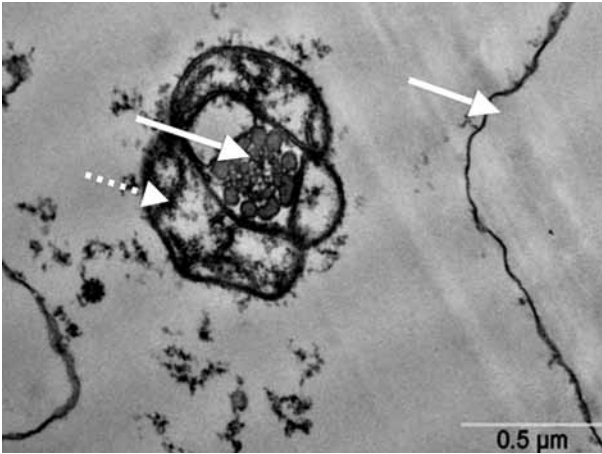
olduğu gözlemlendi (Şekil 7). Bu spermatozoonların baş kısmının plazma membran yapısının yer yer bozulduğu vakuollü ve granüllü bir kromatin yapısına sahip olduğu görüldü (Şekil 7). Bu grubun bazı örneklerinde atılamamış sitoplazmik artığın yer aldığı gözlemlendi (Şekil 8). Ancak spermatozoonların kuyruk kısmının orta parçasında yer alan mitokondriyonların kristallerinin kaybolduğu ve mitokondri matriks bölgesinin vakuollü bir görünüm aldığı düzenli sıralanmış fibröz örtünün olduğu görüldü (Şekil 8). Bunun yanı sıra spermatozoonların kuyruğunun esas parçasında, kontrole yakın motilitede önemli rol oynayan düzgün 9+2



Şekil 6. Pentoksifiline maruz kalan grupta; spermatozoon kuyruğunun esas kısmında kontrole yakın aksonem yapısı (ok) ve dynein kollarının (kesik ok) görüntüsü (rutenyum kırmızısı x 120000 (inset) x 60000).



Şekil 7. Platelet aktive edici faktöre maruz kalan gruptaki; spermatozoon baş kısmındaki membran yapısında yer yer bozulmalar (ok) (rutenyum kırmızısı x 15000).



Şekil 8. Platelet aktive edici faktöre maruz kalan gruptaki spermatozoonun orta kısmındaki aksonem yapısındaki (9+2) bütünlüğünün düzgün olması (ok) ve çevresindeki mitokondri yapılarındaki kristallerinin kaybı (kesik ok) görüntüsü (rutenyum kırmızısı x 60000 (inset) x 120000).

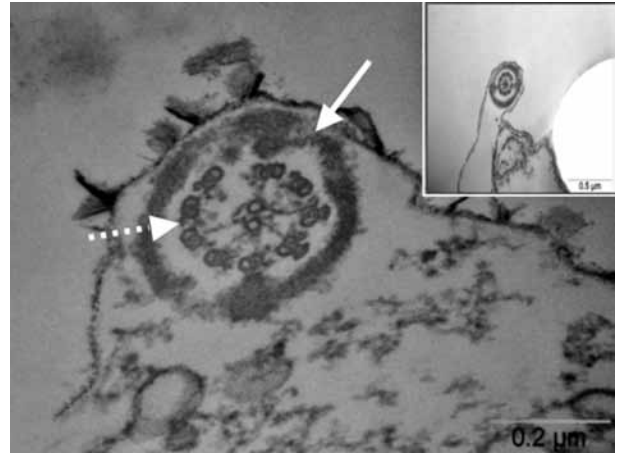
aksonem yapısının ve dynein kollarının olduğu gözlemlendi (Şekil 9).

TARTIŞMA

İnfertilite, en az bir yıl korunmasız ilişkiye rağmen gebe kalınamaması durumu olarak tanımlanır.^[9] Dünya genelinde infertilite her yedi çiftten birini etkilemektedir.^[10] Bu endişe verici veriler infertilitenin Dünya Sağlık Örgütü tarafından artık hastalık sınıfına alınmasına neden olmuştur.^[11]

Erkek faktörüne bağlı infertilite, düşük sayıda spermatozoon üretimi, spermatozoon motilitesinde azalma veya spermatozoon morfolojisinin yetersiz oluşu gibi özelliklerin tek başına veya birkaçının birlikte görüldüğü durumlarda ortaya çıkmaktadır. Morfolojinin *in vitro* fertilization (IVF)'da gebelik oranları üzerine etkisi olduğu bilinmektedir.^[11]

Klasik IVF, pek çok infertil çift için etkili bir tedavi yöntemi olmasına rağmen şiddetli erkek infertilitesinin görüldüğü olgularda etkili değildir.^[12] Böyle durumlarda bireyin spermatozoonunun direkt oosit içine enjekte edildiği intra sitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) tekniği uygulanmaktadır. İngiltere'de yaklaşık olarak tüm IVF olgularının %52'sini ICSI oluşturmaktadır.^[13] Bu tekniğe rağmen, ICSI sikluslarının %1-5'i halen başarısızlıkla sonuçlanmaktadır.^[14]



Şekil 9. Platelet aktive edici faktöre maruz kalan gruptaki spermatozoon kuyruğunun esas kısmında kontrole yakın aksonem yapısı (ok) ve dinein kollarının (kesik ok) görüntüsü (rutenyum kırmızısı x 120000 (inset) x 60000).

Bu başarısız sonuçlar bilim adamlarını döllenme oranlarını artırmaya yönelik farklı farmakolojik ajanlar kullanma yoluna sevk etmiştir. Fakat şimdiye kadar yapılan çalışmalarda bu ajanların embriyo gelişimi üzerindeki kesin etkisi belirlenmiş değildir. Çalışmamızın, YÜT'de kullanılmaya başlanan bu ajanların spermatozoon ince yapısındaki etkilerini belirleyerek embriyo gelişimi üzerindeki etkisine ışık tutacağımızı düşünmekteyiz.

Spermatozoonun fertilizasyon yeteneğini etkileyen en önemli iki parametre morfolojik özelliği ve motilitesidir.^[1] Bu ajanlar içinde bulunan PF, IVF laboratuvarlarında motiliteyi artırmaya yönelik en yaygın kullanım alanı bulan ajandır.

Pentoksifilin, bir metilksantin bileşiği olup kafein ve teofilin ile aynı farmakolojik sınıfa aittir. Kafeine olan üstünlüğü yarı ömrünün daha uzun ve suda çözünürlüğünün daha fazla olmasındandır. Bu gruba ait ajanların, fosfodiesterazı inhibe ederek hücre içi cAMP düzeyini artırdığı bilinmekte ve bu yolla adenosin trifosfat yapımını kolaylaştırarak spermatozoon motilitesinde artışa neden olacağı savunulmaktadır.^[15] Pentoksifilin etkisiyle biriken cAMP, spermatozoon kuyruğundaki protein fosforilasyonunu indükleyen cAMP'ye bağımlı kinazları uyarır ve böylece spermatozoon motilitesinde artış görülür.^[16] Pentoksifilinin ayrıca testiste mikrosirkülasyonu artırarak spermatozoon parametreleri üzerinde olumlu etki yapması beklenmektedir. Pentoksifilinin erkek infertilitesinde en yaygın

kullanımı *in vitro* spermatozoon motilitesinin artırılması amaçlanmıştır.^[15]

Tesarik ve ark.,^[4] PF'in 2-deoksiadenozin ile kombine edilmesinin motilitedeki etkinliği daha da artırdığını gözlemişlerdir. Bu konuda yapılan başka bir çalışmada da bu kombinasyonun embriyo gelişimini olumsuz etkilediği bildirilmiştir.

Yapılan çalışmaların çoğu *in vitro* kullanımında spermatozoon motilite yüzdesinde belirgin artışlar olduğunu göstermektedir. Fakat kullanım sonrası fertilizasyon ve gebelik oranlarına pozitif etkisi tartışmalıdır.^[15]

Zararlı etkileri de tartışmalı olan PF'nin yardımcı üreme tekniklerinde kullanılması için çok daha fazla çalışma yapılmalıdır.^[17]

Ayrıca çalışmamızda rutenyum kırmızısı boyası ile belirginleştirdiğimiz glikokaliks; glikoprotein, glikolipit, proteoglikan gibi glikokonjugatlardan oluşmaktadır. Memelilerde, testiküler germ hücrelerinin glikoproteinleri spermatozoon farklılaşması ve spermatogenezde Sertoli hücreleriyle etkileşimi de önemlidir. Glikokaliks aynı zamanda, dışı immün sistemine karşı spermatozoon korunmasında, akrozom reaksiyonlarında ve spermatozoonun oositi dölleme yeteneğinde önemli rol oynamaktadır. Erkek infertilitesi bazı durumlarda spermatozoon yüzeyindeki glikokonjugatların değişikliği sonucu görülebilmektedir. Pentoksifilin, spermatozoon plazma membran bütünlüğünü koruduğu da bildirilmiştir.^[18]

Spermatozoonun dölleme oranlarını artırmaya yönelik kullanılan farmakolojik ajanlardan diğeri de PAF'dir. Fakat PAF'nin kullanımı PF'ye oranla daha yenidir.

Platelet aktive edici faktör, özellikle motil spermatozoonlar üzerine etki göstermektedir. Araştırmacılar çeşitli dokularda da varlığını ortaya çıkarmışlardır.^[19]

Platelet aktive edici faktörün spermatozoon motilitesi üzerindeki etkisinin cAMP aracılığı ile olduğu görülmektedir. Ancak diğer hücrelerde, IP3 ve hücre içi Ca^{+2} etkisi ile gerçekleşmektedir. Dolayısı ile PAF etkisi cAMP, IP3 ve Ca^{+2} seviyelerine bağlıdır.^[7]

Intrauterin aşılama (inseminasyon) spermatozoon yıkama işlemine PAF eklenmesi motiliteyi ve gebelik oranlarını artırmaktadır.^[8] Bununla birlikte bu önemli gelişme sadece semen analizin normal olduğu durumlarda görülebilir.^[19]

Roudebush ve ark.nın^[8] 165 hasta üzerinde yaptıkları çalışmada, normal semen özellikleri ile başvuran ve PAF kullanılan grupta gebelik oranı %29.8 olurken kontrol grubunda %17.9 olarak bulunmuştur. Erkek faktörüne bağlı infertilitede ise PAF ile tedavi uygulanan grupta gebelik oranları %36.8 iken kontrol grubunda %26.1 bulunarak istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir artış görülmüştür. Lyso-PAF ile muameleden ise motilite etkilenmemiştir. Bu da spermatozoon üzerindeki motilite etkisinin PAF'a bağlı olduğunu ortaya koymaktadır.^[19]

Pentoksifilin ve PAF uygulama sonrası spermatozoonun tüm ince yapısı TEM ayrıntılı şekilde incelendi.

Elektron mikroskopunda spermatozoonun ince yapısını inceleyen bu araştırmamızda karşılaştırma yapabilmek için daha önceden yapılmış yeterli sayıda çalışma bulamadık.

Araştırmamızın sonuçları doğrultusunda, spermatozoonların PF ve PAF gibi ajanlara maruz bırakılmasının motiliteye olan olumlu etkisi dışında spermatozoon baş ve kuyruk yapısı üzerinde az da olsa olumsuz etkileri olduğunu görmekteyiz. Yardımlı üreme tekniklerinde de kullanılan bu ajanların olumsuz etkilerinin embriyo gelişimi üzerinde de etkili bir faktör olabileceğini düşünmekteyiz. Canlı spermin seçimini anlayanı sağlayan hipozmotik swelling test (HOST) özellikle total immotil sperm örnekleri için kullanılan bir yöntemdir. Ancak sperm hücreleri üzerinde oluşturulan tüm kimyasal ajanların olası bilinmeyen negatif etkilerini bertaraf edebilmek için canlı spermin mekanik olarak seçilmesi iyi bir yaklaşım olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu yöntem mikroenjeksiyon sırasında sperm hücresinin kuyruk bölgesinin orta kısmından miroenjeksiyon pipeti ile "V" şeklinde bir kıvrılma oluşturulup oluşturulmamasına dayanmaktadır. Frajl sperm hücrelerinin canlı, rijit ve temasa şekil değiştirme ile yanıt vermeyen hücrelerin ise cansız olduğu mekanik olarak anlaşabilmektedir. Böylesi mekanik yolla canlı sperm seçimi daha konservatif bir yöntem olarak karşımıza çıkmakta ve PAF ve PF gibi ajanların negatif etkileri göz önünde bulundurulduğunda öncelikli kullanımı refere edilebilmektedir. Bu bağlamda PF ve PAF ile ilgili spermatozoon ince yapısının incelenmesi ve kıyaslanması ile ilgili araştırmaların artırılması yöntem tercihi konusunda aydınlatıcı olacaktır.

Çıkar çatışması beyanı

Yazarlar bu yazının hazırlanması ve yayınlanması aşamasında herhangi bir çıkar çatışması olmadığını beyan etmişlerdir.

Finansman

Yazarlar bu yazının araştırma ve yazarlık sürecinde herhangi bir finansal destek almadıklarını beyan etmişlerdir.

KAYNAKLAR

1. Delilbaşı L. In vitro fertilization (IVF) laboratuvar yöntemleri. İstanbul: Güneş Tıp Kitabevleri; 2008.
2. Krausz C, Gervasi G, Forti G, Baldi E. Effect of platelet-activating factor on motility and acrosome reaction of human spermatozoa. Hum Reprod 1994;9:471-6.
3. Tesarik J, Mendoza C. Sperm treatment with pentoxifylline improves the fertilizing ability in patients with acrosome reaction insufficiency. Fertil Steril 1993;60:141-8.
4. Tesarik J, Thébault A, Testart J. Effect of pentoxifylline on sperm movement characteristics in normozoospermic and asthenozoospermic specimens. Hum Reprod 1992;7:1257-63.
5. Toledo AA, Mitchell-Leef D, Elsner CW, Slayden SM, Roudebush WE. Fertilization potential of human sperm is correlated with endogenous platelet-activating factor content. J Assist Reprod Genet 2003;20:192-5.
6. Zhu J, Brackett NL, Aballa TC, Lynne CM, Witt MA, Kort HI, et al. High seminal platelet-activating factor acetylhydrolase activity in men with spinal cord injury. J Androl 2006;27:429-33.
7. Roudebush WE, Massey JB, Elsner CW, Shapiro DB, Mitchell-Leef D, Kort HI. The significance of platelet-activating factor and fertility in the male primate: a review. J Med Primatol 2005;34:20-4.
8. Roudebush WE, Toledo AA, Kort HI, Mitchell-Leef D, Elsner CW, Massey JB. Platelet-activating factor significantly enhances intrauterine insemination pregnancy rates in non-male factor infertility. Fertil Steril 2004;82:52-6.
9. Erdemir F, Fırat F, Gençten Y. Sperm morfolojisinin değerlendirilmesi ve klinik önemi. Turk Urol Sem 2011;2:11-7.
10. Boivin J, Bunting L, Collins JA, Nygren KG. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. Hum Reprod 2007;22:1506-12.
11. Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J, Ishihara O, Mansour R, Nygren K, et al. The International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technology (ICMART) and the World Health Organization (WHO) Revised Glossary on ART Terminology, 2009. Hum Reprod 2009;24:2683-7.
12. Wilkes S, Chinn DJ, Murdoch A, Rubin G. Epidemiology and management of infertility: a population-based study in UK primary care. Fam Pract 2009;26:269-74.
13. HFEA: Latest UK IVF figures-2009 and 2010. [http://www.infea.gov.uk/ivffigures-2006.html]
14. Nasr-Esfahani MH, Deemeh MR, Tavalae M. Artificial oocyte activation and intracytoplasmic sperm injection. Fertil Steril 2010;94:520-6.
15. Yovich JM, Edirisinghe WR, Cummins JM, Yovich JL. Influence of pentoxifylline in severe male factor infertility. Fertil Steril 1990;53:715-22.
16. Tournaye H, Devroey P, Camus M, Van der Linden M, Janssens R, Van Steirteghem A. Use of pentoxifylline in assisted reproductive technology. Hum Reprod 1995;10:72-9.
17. Henkel RR, Schill WB. Sperm preparation for ART. Reprod Biol Endocrinol 2003;1:108.
18. Aliabadi E, Karimi F, Talaei-Khozani T. Effects of L-carnitine and pentoxifylline on carbohydrate distribution of mouse testicular sperm membrane. Iran J Med Sci 2013;38:107-15.
19. Roudebush WE. Seminal platelet-activating factor. Semin Thromb Hemost. 2007;33:69-74.