

T.C.
İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KLİNİK EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI



İLERİ PATERAL YAŞIN SPERM PARAMETRELERİ,
EMBRİYO KALİTESİ VE ÜREMEYE YARDIMCI TEDAVİ
YÖNTEMLERİNİN BAŞARI ORANI ÜZERİNE ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAŞAK AK

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. ENVER KEREM DİRİCAN

İSTANBUL, 2024

T.C.
İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KLİNİK EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI



İLERİ PATERAL YAŞIN SPERM PARAMETRELERİ,
EMBRİYO KALİTESİ VE ÜREMEYE YARDIMCI TEDAVİ
YÖNTEMLERİNİN BAŞARI ORANI ÜZERİNE ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BAŞAK AK

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. ENVER KEREM DİRİCAN

İSTANBUL, 2024

T.C.
İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ
TEZ ONAY BELGESİ

Klinik Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı **21111102008** numaralı öğrencisi Başak AK'ın “İleri Paternal Yaşın Sperm Parametreleri, Embriyo Kalitesi ve Üremeye Yardımcı Tedavi Yöntemlerinin Başarı Oranı Üzerine Etkilerinin İncelenmesi” adlı tez çalışması, Enstitümüz Yönetim Kurulunun 28.05.2024 tarih ve 2024/11 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından oy birliğiyle Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 06.06.2024

Doç. Dr. Enver Kerem DİRİCAN
Tez Danışmanı

Prof. Dr. Tülay İREZ
Jüri Üyesi

Dr. Öğr. Üyesi Süheyla AYKAÇ YAZICIOĞLU
Jüri Üyesi

ETİK BEYAN

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tezde;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

07 / 06 / 2024

Başak AK

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitim sürecimde, destek ve katkılarıyla değerli tecrübelerini, fikirlerini esirgemeyen saygı değer danışman hocam Prof. Dr. Tülay İREZ başta olmak üzere; tez çalışmamda bilgi ve tecrübesi ile beni destekleyen saygı değer tez danışmanım Doç. Dr. Enver Kerem DİRİCAN'a, yüksek lisans eğitimi sürecinin tüm aşamalarını benimle birlikte yaşayan bu eğitimi almamda destekçim olan sevgili eşime ve kızıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

BAŞAK AK

İÇİNDEKİLER

ETİK BEYAN.....	v
ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	x
KISALTMALAR LİSTESİ.....	vi
ÖZET.....	vii
ABSTRACT	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. İnfertilite	5
2.1.1. İleri Paternal Yaş ve İnfertilite	7
2.2. Yaşlanma.....	9
2.3. Yaşlanmanın Erkek Üreme Fonksiyonları Üzerine Etkileri.....	10
2.4 Spermatogenez.....	15
2.4.1. Sperm Parametreleri	19
2.4.2. Spermde Moleküler Değişiklikler.....	20
2.4.3. Sperm Kromatin Yapısı ve DNA Fragmentasyonu	22
2.5. Oksidatif Stres	26
2.6. Üreme Sağlığı ve Yaşlanma.....	29
2.6.1. Embriyo Gelişimi ve Kalitesi	32
2.6.2. İmplantasyon	37
2.7. Yardımcı Üreme Tedavi Yöntemleri.....	42
2.7.1. İntrauterin İnseminasyon (IUI).....	44
2.7.2. İn-vitro Fertilizasyon (IVF).....	45
2.7.3. İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI)	46
3. GEREÇ VE YÖNTEM	47
3.1. Çalışmanın Tasarımı.....	47
3.2. Hasta Seçimi	47

3.3. Çalışmada Kullanılan Yöntemler	48
4. BULGULAR	49
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ	65
7. KAYNAKÇA	66



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 4.1: 38 Yaş ve Altı Erkekler ile 39 Yaş ve Üstü Erkeklerle Ait Temel Laboratuvar Demografileri	49
Tablo 4.2: 38 Yaş ve Altı Erkekler ile 39 Yaş ve Üstü Erkeklerin IVF Sonuçları	50



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Testisin Kesiti ve Toplayıcı Sistemi (Rete testis, Efferent kanallar, Epididim, Vas deferens)	11
Şekil 2.2: Spermatogenez.....	16
Şekil 2.3: Spermin Yapısı	17
Şekil 2.4: ROS'un Spermatozoon Fonksiyonları Üzerindeki Şematik Gösterimi	28
Şekil 2.5: Döllenmiş Yumurta (Zigot)	32
Şekil 2.6: Fertilizasyon	33
Şekil 2.7: Blastosist Aşaması Embriyoları.....	34
Şekil 2.8: Klivaj Embriyolarında %10 Oranında Fragmentasyon	35
Şekil 2.9: Klivaj Dönemi Embriyo Kalitelenendirme Örnekleri	36
Şekil 2.10: Başarılı İmplantasyonda İlişkili Faktörler	40
Şekil 2.11:İmplantasyon Aşamaları	41

KISALTMALAR LİSTESİ

ABP: Androjen Bağlayıcı Protein

APA: İleri Baba Yaşı

ART: Asiste Reprodüktif Teknikler

BKİ: Beden Kitle İndeksi

BPH: İyi Huylu Prostat Hiperplazisi

DÇET: Dondurulmuş Çözölmüş Embriyo Transferi

DNA: Deoksiriboz Nökleik Asit

eFET: Elektif Frozen Embriyo Transferi

ESHRE: Avrupa Öreme Tıbbı ve Embriyoloji Derneği

FSH: Foliköl-Stimölan Hormon

GH: Germ Hücreleri

GIFT: Gamet Intrafallopian Transferi

HPT: Hipotalamus-Hipofiz-Testis

ICM: İç Hücre Kitlesi

ICSI: Intrastoplazmik Sperm Enjeksiyonu

IUI: İntrauterin İnseminasyon

IVF: İn Vitro Fertilizasyon

LH: Luteinizan Hormon

OS: Oksidatif Stres

PAE: Paternal Age Effect

PGC: Premordial Germ Hücreleri

PGT: Preimplantasyon Genetik Testi

RNA: Ribonükleik Asit

ROT: Reaktif Oksijen Türleri

SH: Sertoli Hücreleri

ST: Seminifer Tübülleri

TV-USG: Transvajinal Ultrasonografi

ÜYTE: Üremeye Yardımcı Tedavi

WHO :Worl Health Organization

YÜT: Yardımcı Üreme Teknikleri

ZIFT: Zigot Intrafallopian Transferi

ÖZET

İLERİ BABA YAŞININ SPERM PARAMETRELERİ, EMBRİYO KALİTESİ, EMBRİYO GELİŞİMİ VE ÜREMEYE YARDIMCI TEDAVİ YÖNTEMLERİNİN BAŞARI ORANLARI ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

İnfertilite, çiftlerde herhangi bir doğum kontrol yöntemi uygulanmadan, en az bir yıl düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebeliğin meydana gelmemesi durumudur. İnfertil çiftlerde kadın faktörü %40-%50'lik bir değerde etkili iken, % 30-%40' lık kısmını erkek faktörü oluşturmaktadır (Esteves ve Agarwai, 2013) Son yıllarda baba yaşının erkek infertilitesindeki önemini vurgulayan araştırmalar dikkati çekmektedir (Halvaei vd., 2020). Bu çalışmada, in vitro fertilizasyon (IVF) tedavisi görmüş olan çiftlerde 2 farklı yaş grubundaki erkeklerin (≤ 38 , ≥ 39) sperm parametreleri ve IVF tedavilerine etkileri incelenmiştir. İncelenen veriler ışığında erkek yaşları arasındaki farkların etkisi istatistiksel olarak test edilmiştir. Bu çalışmada; Akdeniz Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Üremeye Yardımcı Tedaviler Merkezi'ne 2021 ve 2022 yıllarında başvuran hastaların verileri analiz edildi. Tüm hastalarda semen analizleri WHO'ya göre uygulandı. Hastalarda toplanan olgun oosit sayıları, fertilizasyon oranları ve implantasyon oranları incelendi. Değerlendirme sonuçları erkek hastaların yaş grupları arasında karşılaştırılmıştır. Bu tez çalışmasına göre 39 yaş ve üzeri erkeklerin ÜYTE tedavilerinde fertilizasyon ve implantasyon oranlarının 38 yaş ve altı erkeklerle kıyaslandığında benzer sonuçlar verdiği görülmüştür. Ancak blastokist aşamasına ulaşan embriyo oranları incelendiğinde 39 yaş ve üstü erkeklerde istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş tespit edilmiştir ($P < 0,05$). Elde edilen sonuçlar ışığında, 39 yaş ve üzeri erkeklerde elde edilen azalmış embriyo gelişim oranlarının, transfer fazlası dondurularak saklanacak olan embriyo sayısında azalmaya neden olarak kümülatif canlı doğum oranlarında düşüşe neden olması öngörülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Semen Analizi, İleri Baba Yaşı, İn Vitro Fertilizasyon, İmplantasyon Oranı

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF ADVANCED FATHER'S AGE ON SPERM PARAMETERS, EMBRYO QUALITY, EMBRYO DEVELOPMENT AND SUCCESS RATES OF ASSISTANT REPRODUCTION TREATMENT METHODS

Infertility is defined as the failure to achieve pregnancy despite regular sexual intercourse without any form of birth control for at least one year in couples. In infertile couples, the female factor is effective at a rate of 40-50%, while the male factor constitutes 30-40% (Esteves ve Agarwai, 2013). Recent studies have drawn attention to the significance of paternal age in male infertility Halvaei vd., 2020). In this study, the sperm parameters and the effects on in vitro fertilization (IVF) treatments of men in two different age groups (≤ 38 , ≥ 39) in couples who have undergone IVF treatment were examined. Based on the analyzed data, the effects of differences in male ages were statistically tested. In this research, data from patients who applied to the Assisted Reproductive Treatments Center of Akdeniz University Health Research and Application Hospital in the years 2021 and 2022 were analyzed. Semen analyses were conducted according to WHO standards in all patients. The numbers of mature oocytes collected, fertilization rates, and implantation rates in patients were examined. The evaluation results were compared between the age groups of male patients. According to this thesis study, it has been observed that men aged 39 and over in Assisted Reproductive Technology (ART) treatments have similar fertilization and implantation rates compared to men under the age of 38. However, when the rates of embryos reaching the blastocyst stage were examined, a statistically significant decrease was detected in men over the age of 39 ($P < 0.05$). In light of the obtained results, it is anticipated that the reduced embryo development rates in men aged 39 and over may lead to a decrease in the number of embryos to be cryopreserved for transfer surplus, thereby causing a decline in cumulative live birth rates.

Key Words: Semen Analysis, Advanced Paternal Age, In Vitro Fertilization, Implantation Ra

1. GİRİŞ

İnfertilite, bir çiftin en az bir yıl veya daha uzun süre boyunca düzenli ve korunmasız cinsel ilişkiye rağmen hamile kalamaması durumudur ve bu, çiftlerin yaklaşık %15'ini etkileyen bir sorundur (Vander, 2018). Erkek partnerden kaynaklanan sorunlar nedeniyle infertilite vakalarının yaklaşık %50'si ortaya çıkmakta olup, erkeklerde infertilite prevalansının yaklaşık %7 olduğu bildirilmektedir (Kasman vd., 2021).

Erkeklerde üreme fonksiyonları ileri yaşlara kadar devam etmektedir ancak yaşlanmayla birlikte germinal epitelde dejeneratif değişiklikler meydana gelir ve sertoli ve leydig hücrelerinin sayısında ve fonksiyonunda azalmaya neden olmaktadır. Buna bağlı olarak testosteron düzeyi azalır ve spermatogenez etkilenir (Dong vd., 2022).

Erkek infertilitesi, testislerde sperm hücrelerinin tamamen yokluğundan sperm kalitesindeki belirgin değişikliklere kadar geniş bir yelpazede, çeşitli fenotipik durumlarla kendini gösterebilir (Almeida vd., 2017). Erkeklerde infertiliteye yol açan faktörler arasında spermatogenez sırasında oluşan aksaklıklar, varikosel, kanal tıkanıklıkları veya işlevsel bozuklukları “hormonal dengesizlikler” ya da “hipotalamus-hipofiz-testis” eksenindeki problemler bulunur. Erkek üreme sisteminde yaşa bağlı olarak görülen fizyolojik değişimler ise testisler “seminal veziküller, prostat ve epididimi” etkileyebilir (Dong vd., 2022).

Çocuk sahibi olmayı erteleme oranının yükselmesi, yaşam tarzı faktörleri, çevresel kirlenmeye maruz kalma, gelişmiş doğum kontrol yöntemlerinin yaygınlaşması, yardımcı üreme tekniklerinin kullanımının artması, obezite oranlarındaki yükselme, üreme döneminde ki erkeklerde aşırı kafein, sigara ve alkol tüketimi gibi pek çok faktör infertilite ile ilişkilendirilmektedir (Santiago vd., 2023).

İleri baba yaşı (APA) gebelik sırasında 40 yaşın üzerindeki erkek yaşı olarak kabul edilmekle birlikte, ileri baba yaşının (APA) tanımı konusunda fikir birliği yoktur. İleri yaştaki erkeklerde yaşa bağlı olarak üreme fonksiyonlarında oluşan değişiklikler zayıf

doğurganlık, dölleme başarısızlığı, olumsuz üreme sonuçları ile ilişkilendirilmekte; çocuğun sağlığı ve nesiller arası epigenetik aktarım açısından risk oluşturduğu belirtilmektedir (Ashapkin vd., 2023).

Erkek yaşının semen parametreleri üzerine etkisini araştıran çalışmalarda genel bir eğilim olarak yaş ile beraber canlılık, semen hacmi, ilerleyici hareketlilik ve normal morfolojide doğrusal bir azalmanın olduğu ancak yaşın sperm konsantrasyonu üzerinde tutarlı bir etkisinin olmadığı belirtilmektedir (Paoli vd., 2019). Literatürde yapılan araştırmalar, özellikle 35 yaş ve üstü bireylerde, temel semen parametrelerinin düşüş göstermeye başladığını ortaya koymuştur (Demirkol vd., 2021).

İleri yaş, seminal sıvının yanı sıra spermin miktarı, morfolojik yapısı ve moleküler yapısında çeşitli değişikliklere yol açabilmektedir. Spermde moleküler mekanizmaları düzenleyen ve spermin hareketliliği, morfolojisi ve dölleme yeteneği gibi birçok işlevi gerçekleştirmesini sağlayan çeşitli sinyal yolları tanımlanmıştır. Erkeklerde yaşlanmaya bağlı olarak sperm parametrelerinde görülen bozulmaların, bu sinyal yollarının mekanizmalarındaki değişikliklerden kaynaklanabileceği düşünülmektedir (Allouche-Fitoussi, Bakhshi ve Breitbart, 2019).

Embriyonik gelişimin erkek partnerin yaşından etkilenip etkilenmediği konusunda tartışmalar mevcuttur. İleri baba yaşının embriyo gelişimi ve kalitesi üzerine etkisine yönelik yapılan bazı çalışmalarda ;baba yaşı ile fertilizasyon, blastosist oluşum hızı, implantasyon oranı ve ortalama embriyo sayısı arasında negatif ilişki olduğu belirtilmiştir. Bölünme aşamasından sonraki embriyo gelişiminin, spermin yaşlanmasından önemli ölçüde etkilenebileceği ve bunun embriyo içindeki erkek genomik aktivasyonu ile eş zamanlı olarak blastosist oluşum oranında önemli bir azalmaya yol açabileceği, APA'nın blastosist oluşum hızı ile korelasyona sahip olduğu, ancak en kaliteli blastosistlerin oranı ile korelasyonunun olmadığı, bulunmuştur (Tarozzi vd., 2021).

Yardımcı üreme tedavi yöntemleri infertil çiftlerde; gelişen teknolojiyi ve kanıtlanmış tedavi yaklaşımlarını kullanarak mümkün olan en başarılı gebelik ve canlı doğum

oranlarına ulaşabilmeyi hedefler. ART, gametogenez, fertilizasyon ve erken embriyonik gelişimden perikonsepsiyonel dönemi kapsar ve germ hücrelerinde yoğun bir epigenetik yeniden programlama ile örtüşür (Wu vd., 2015).

Günümüzde en sık tercih edilen yardımcı üreme yöntemlerinden biri IVF'dir. Toplumda “Tüp Bebek” olarak adlandırılan “in-vitro fertilizasyon (IVF)” ovulasyon indüksiyonunu takiben spermler ve oositlerin laboratuvar ortamında bir araya getirilmesiyle doğal bir şekilde döllenmenin gerçekleşmesini sağlar. Döllenme gerçekleştikten sonra, embriyolar transservikal yöntemle uterusu yerleştirilmektedir (Yahşi, 2010).

ICSI, ejakülat veya cerrahi yöntemlerle testislerden elde edilen spermelerin yıkanması ve en uygun sperm seçilmesinden sonra, oositin zona pellucida tabakasında bir delik açılarak seçilen sperm oosite enjekte edilmesi işlemidir. Klasik IVF yönteminin düşük fertilizasyon oranlarına sahip olduğu veya sperm ciddi fertilizasyon problemleri yaşadığı durumlarda tercih edilmektedir. Bu yöntem, çok düşük sperm sayılarında bile döllenme olasılığı sağlamaktadır (Plachot vd., 2002).

Baba yaşının, anne yaşından bağımsız olarak, taze in vitro fertilizasyon ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (IVF/ICSI) döngülerinin sonuçları üzerinde, yani gebelik oranları, canlı doğum ve düşük oranları üzerinde etkilerine dair çelişkili kanıtlar bulunmaktadır. Baba yaşının üreme sonuçları üzerinde anlamlı olumsuz etki gösterdiği belirli bir yaş sınırı tespit edilememiştir ve IVF/ICSI tedavisinde baba yaşı için herhangi bir sınırlama getirilmemiştir (Marsidi, 2021).

İntrauterin inseminasyon (IUI), hafif erkek faktörlü veya açıklanamayan infertilitesi olan veya servikal mukus salgısının azaldığı infertil çiftlerin tedavisinde yaygın olarak kullanılan üremeye yardımcı tedavi yöntemidir. IUI yapılan çiftlerde ileri baba yaşının tek başına gebelik ve canlı doğum oranlarını etkilemediğini belirten çalışmalar mevcuttur ve ileri baba yaşının anne yaşından bağımsız değerlendirilmesi gerektiği belirtilmektedir (Starosta, Gordon ve Hornstein, 2020).

Bu araştırmada, ileri baba yaşının erkek infertilitesi ile bağlantısını belirlemek amacıyla; iki farklı yaş grubundaki (≤ 38 , ≥ 39) erkeklerde yaşa bağlı olarak sperm parametrelerinde meydana gelen değişimlerin, embriyo gelişimi ve kalitesi ile IVF tedavi sonuçlarına olan etkisinin incelenmesi hedeflenmektedir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnfertilite

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) infertiliteyi ;bir çiftin herhangi bir doğum kontrol yöntemi kullanmadan ve düzenli cinsel ilişki yaşamasına rağmen, bir yıl boyunca hamile kalamaması durumudur.İnfertilite, çiftlerin çocuk sahibi olma konusundaki isteklerini gerçekleştirememe durumunu ifade etmekte ve bu durumun tıbbi olarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu durumu yaşayan çiftlerin %15'i korunmasız ilişkiye rağmen hamilelik sağlayamamaktadır. Erkekler, infertilite vakalarının %20 ile %30'undan doğrudan sorumlu olmasının yanı sıra, tüm vakaların %50'sinde de katkı sağlamaktadır (Boitrelle vd., 2021).

Erkeklerdeki infertilite genetik, gelişimsel ve yaşam tarzı faktörlerinden kaynaklanabilmekte ve bunun sebepleri arasında “varikozel, kalp-damar hastalıkları, kanserler ile kronik veya otoimmün hastalıklar” bulunmaktadır. Erkek fertilitesindeki yaşa bağlı bozulmaların; reaktif oksijen türlerinin yol açtığı DNA hasarı, germ hattında yaşa bağlı de novo mutasyon birikimi, sperm metilasyonunda epigenetik değişiklikler değişikliklerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ancak, erkek infertilitesinin genel sağlığı nasıl etkilediğini anlamak için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir (Gonzalez vd., 2022).

Beden kitle indeksindeki (BKİ) ve artan yanlış yaşam tarzı faktörlerinin erkeklerde fertilité üzerinde etkili olabileceği ifade edilmiştir. Erkek üreme sistemi, oldukça karmaşık bir süreç olup, birçok tıbbi durumun spermatogenezi etkileme potansiyeline sahip olduğu bilinmektedir (Del Giudice vd., 2020).

İnfertil bireylerde, ek hastalık oranlarının yüksek olduğu, testis hacimlerinin daha küçük ve “folikül uyarıcı hormon (FSH)” seviyelerinin ise daha yüksek olduğu tespit edilmiştir (Murshidi, Choy ve Eisenberg, 2020). Bunun aksine, sağlıklı bir yaşam tarzını benimseyen bireylerde androjen hormon seviyelerinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Belladelli, Del Giudice ve Eisenberg, 2022). Bazı araştırmacılar, kronik

hastalıklar ve infertilite arasındaki ilişki nedeniyle, infertilite ile ölüm oranları arasında bir bağlantı olduğunu öne sürmektedir. Bu uzmanlar, semen kalitesinin erkek üreme sisteminin genel sağlık durumunun bir göstergesi olabileceğini savunmaktadır (Choy ve Eisenberg, 2018).

Erkeklerde yaşlanmayla birlikte testosteron seviyeleri düşer ve bu durum çeşitli fiziksel ve psikolojik değişikliklere neden olabilir. Bu değişiklikler arasında azalan cinsel istek, ereksiyon problemleri, sperm kalitesindeki bozulmalar ve fertilite oranlarında azalma bulunmaktadır. Testosteron seviyelerindeki azalma, erkeklerin cinsel işlevlerinde ve üreme sağlığında belirgin etkiler yaratmaktadır. Örneğin, düşük testosteron seviyeleri cinsel isteği azaltmakta ve ereksiyon problemlerine neden olmaktadır. Bunun yanı sıra, sperm kalitesinde bozulmalar gözlemlenmekte ve bu durum, sperm hareketliliği ve morfolojisinde olumsuz etkiler yaratmaktadır. Sonuç olarak, fertilite oranlarında bir düşüş meydana gelmektedir. Yaşlanan erkeklerin çocuklarında doğum kusurları ve hastalıkların görülme sıklığında artış olduğu da tespit edilmiştir. Bu durum, yaşlanan erkeklerin üreme hücrelerinin genetik bütünlüğünün bozulmasından kaynaklanabilmektedir (Geerkens vd., 2020). Testosteron seviyelerinin düşüşü erkeklerde, yalnızca cinsel ve üreme sağlığını etkilemekle kalmayıp, genel sağlık üzerinde de önemli bir etkiye sahiptir. Fiziksel olarak, kas kütlesinde azalma, vücut yağ oranında artış ve kemik yoğunluğunda düşüş gibi belirtiler ortaya çıkmaktadır. Psikolojik olarak ise, depresyon, yorgunluk ve bilişsel işlevlerde azalma gibi sorunlar yaşanmaktadır. Bu belirtiler, yaşlanma sürecinin bir parçası olarak değerlendirilmekte ve yaşlı erkeklerin yaşam kalitesini önemli ölçüde etkilemektedir.

Erkeğin fertilitesi genel sağlığı ile ilişkilendirilmektedir. Erkek infertilitesi ve genel sağlığı arasındaki altta yatan mekanizmaların tespiti için genetik, epigenetik, gelişimsel ve yaşam tarzı temelli faktörler gibi çeşitli olası etiyolojilerin daha fazla değerlendirilmesi gerekmektedir (Fallara vd., 2024).

2.1.1. İleri paternal Yaş ve İnfertilite

Çocuk sahibi olmayı erteleme eğiliminin artması, yaşam beklentilerinde artış, çevresel kirleticilere maruz kalma, gelişmiş doğum kontrolü seçenekleri, yardımcı üreme tekniklerinin kullanıma sunulması düşük doğum oranları ile ilişkilendirilmekte buna bağlı olarak infertil çift sayısı giderek artmaktadır (Couture vd., 2021).

İleri baba yaşı (APA) gebelik sırasında 40 yaşın üzerindeki erkek yaşı olarak kabul edilmektedir. APA hakkında pek çok belirsizliğin devam ettiği; sosyal, halk sağlığı, psikolojik, etik ve düzenleyici yönlerini araştıran çok sayıda çalışma yapıldığı ve bu araştırmalar ile demografik değişikliklerin ve sosyoekonomik faktörlerin, insanların evlilik ve çocuk sahibi olma yaşlarını ertelemelerine yol açtığı belirtilmektedir (Brandt vd., 2019).

İleri baba yaşının semen hacmi, sperm sayısı, canlılık ve hareketlilikte azalmaya; yapı ve morfoloji gibi parametrelerde ise bozulmalara neden olduğu ve genetik materyalde hasar oluşturabileceği bildirilmiştir. Yaş ilerledikçe özellikle spermatogonia mitozu, spermatosit mayozu ve sperm deformasyonu sırasında germ hücre kaybı ve bozulmuş spermatogenez gözlemlenmektedir (Paoil vd., 2019; Santiago vd., 2019). Spermin olgunlaşma sürecinde, DNA yapısında çeşitli hasarlar oluşur ve bu hasarlar üç ana mekanizma yoluyla meydana gelir: kromatin yapısının bozulması, oksidatif stres ve tamamlanmamış apoptoz. Bu DNA hasarlarına DNA fragmentasyonu adı verilmektedir (Vaughan vd., 2020).

Yapılan çalışmalarda, DNA fragmentasyonu ile anormal semen parametreleri arasında güçlü bir ilişki olduğunu göstermektedir. DNA hasarı, hücresel yaşlanmanın bir belirtisi olan genomik bütünlüğün bozulması ile yakından bağlantılıdır. Zaman içinde, genom bütünlüğünü koruyan mekanizmalar etkinliklerini kaybeder ve bu da genomik anormalliklerin ve DNA kırılmalarının artmasına yol açar. Sperm DNA hasarı veya fragmentasyonu, semen kalitesini değerlendirmede yaygın olarak kullanılan bir ölçüttür ve bu nedenle spermdeki genomik bütünlük infertilite açısından kritik bir öneme sahiptir. Araştırmalar, sağlıklı erkeklerde 40 yaşından sonra DNA

fragmentasyonunun daha hızlı arttığını ortaya koymuştur (Gonzalez vd., 2022; Agarwal vd., 2020). İleri yaştan getirdiği olumsuz etkilerden biri de çoklu mitotik bölünmelerin artışıdır. Yaşlandıkça, kök hücrelerin bölünme sayısındaki artış, DNA replikasyon hatalarının birikmesine yol açabilmektedir ve bu da sonuç olarak mutasyonların oluşmasına neden olmaktadır. Bu şekilde gerçekleşen DNA replikasyon hatalarının, bir sonraki nesilde kalıtsal hastalıkların ortaya çıkması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Goldmann, Veltman ve Gilissen, 2019).

Özellikle baba kaynaklı de novo mutasyonlar ve yapısal kromozomal anomalilerin artışı, çocukların sağlığını olumsuz yönde etkileyebilmektedir. İleri yaşta baba olmanın bir sonucu olarak, lösemi, Hodgkin dışı lenfoma, pediatrik merkezi sinir sistemi tümörleri ve meme kanseri gibi çocukluk çağı hastalıklarının riskinde artış gözlemlenmektedir. “Otizm, şizofreni, akondroplazi ve Apert sendromu” gibi hastalıkların gelişiminde babadan gelen mutasyonların önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bu tür hastalıklar “paternal yaş etkisi (PAE) bozuklukları” olarak adlandırılmaktadır (Fang vd., 2020).

Reaktif oksijen türleri (ROS), biyolojik sistemlerin metabolizmasının yan ürünleri olarak ortaya çıkan moleküllerdir. Hücresel süreçler, protein fosforilasyonu, çeşitli transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu, apoptoz, bağışıklık ve hücre farklılaşması gibi olaylar, ROS'un uygun seviyelerde bulunmasıyla düzenlenir. Ancak, aşırı ROS üretimi hücresel yapılara zarar verebilmektedir. Bu durum oksidatif stres (OS) olarak adlandırılmaktadır (Castleton vd., 2022).

Çok sayıda kanıt, yaşla birlikte oksidatif stresin arttığını göstermektedir. Oksidatif stresin neden olduğu zarar, yaşlanmakta olan erkeklerde spermin yapısal ve işlevsel bütünlüğünü bozan temel etkenlerden biri olarak görülmektedir. Spermdeki yüksek ROS seviyeleri, lipid peroksidasyonu, DNA hasarı, enzim inaktivasyonu ve protein oksidasyonu yoluyla sperm motilitesinde azalmaya neden olmaktadır (Nago vd., 2021).

Reaktif oksijen türleri (ROS), hücrel metabolizmanın yan ürünleri, olarak üretilmekte ve hücrel süreçlerin düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Ancak, aşırı ROS üretimi hücrel yapılara zarar vererek “oksidatif stres (OS)” adı verilen durumu ortaya çıkarmaktadır. Oksidatif stres, yaşla birlikte artmakta ve yaşlanan erkeklerde sperm fonksiyonlarını ve yapısal bütünlüğünü bozarak fertilitiyi olumsuz etkilemektedir. Yüksek ROS seviyeleri; spermde lipid peroksidasyonu, DNA hasarı, enzim inaktivasyonu ve protein oksidasyonu gibi zararlı etkilere yol açmakta ve sperm motilitesini azaltmaktadır (Castleton vd., 2022; Nago vd., 2021).

Embriyogenez süreci, fertilizasyondan implantasyona kadar geçen dönemi kapsamakta olup, bu süreçte birçok genomik aktivite, morfolojik, hücrel ve biyokimyasal değişiklik meydana gelmektedir. Embriyo gelişiminde hem oosit hem de sperm genomu önemli rol oynamaktadır. Ancak, bu genomik katkıların tam mekanizması memeli embriyogenezinde hala tam olarak anlaşılamamıştır (Simon vd, 2014).Literatüre göre, erken embriyo gelişiminde ilk iki embriyonik hücre bölünmesi öncelikle maternal genler tarafından kontrol edilmekte, paternal etkiler ise dört hücreli aşamada başlamaktadır. Sperm DNA hasarının olumsuz etkileri, embriyo gelişiminin ilerleyen aşamalarında daha belirgin hale gelmektedir(Opstal, Fieuws, Spiessens ve Soubry, 2021).

İleri baba yaşının doğurganlık oranları, düşük oranları ve yardımcı üreme tekniklerinin sonuçları üzerindeki etkisine ilişkin sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır ve bu çalışmaların sonuçları tartışmalıdır. İleri baba yaşıyla birlikte erkek germ hücrelerinde görülen sperm genomundaki bozulma; onarım başarısızlığına, de novo mutasyonlara ve yapısal kromozomal değişikliklerine yol açabilmekte; bu değişiklikler artmış gebelik kayıpları ve kötü obstetrik sonuçlarla ilişkilendirilmektedir. Paternal yaşın 45'in üzerinde olması durumunda, gestasyonel diyabet, erken doğum ve yenidoğan nöbet sıklığının da arttığı bildirilmiştir (Mayo vd., 2021).

2.2. Yaşlanma

Yaşlanma, hücresel ve fizyolojik fonksiyonlarda zamanla meydana gelen azalmalar ve psikolojik ve sosyal değişimlerle karakterize edilen çok yönlü bir olgudur (Ajayi vd., 2023). Bu doğal süreç, genetik faktörler, çevresel etkiler ve yaşam tarzı seçimleri gibi çeşitli unsurlardan etkilenmektedir. Yaşlanma sürecinde gözlemlenen fiziksel değişiklikler arasında kan basıncının yükselmesi, hareket kabiliyetinin azalması ve solunum kapasitesinin düşmesi bulunur. Bu sürecin nedenlerini ve nasıl işlediğini anlamak için çeşitli teoriler ortaya atılmıştır. Bunlar arasında “telomer teorisi, bağışıklık teorisi ve serbest radikal teorisi” yer almaktadır (Nguyen-Powanda ve Robaire, 2020).

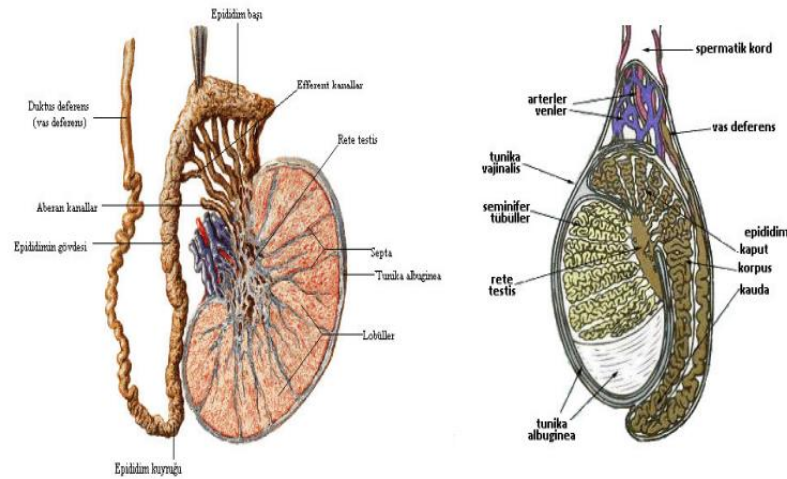
Antioksidan savunma sistemindeki dengesizlik, vasküler hastalıklar, diabetes mellitus, aksesuar üreme bezleri enfeksiyonu, obezite ve toksik maddelerin birikmesi yaşa bağlı erkek üreme sorunlarına neden olur (Ajayi vd., 2023). Erkeklerde yaşlanmaya hipotalamus-hipofiz-testis (HPT) eksenindeki temel değişiklikler ve düzensizlikler eşlik eder ve bunun sonucunda yaşlanmanın erkek doğurganlığı üzerindeki etkileri ortaya çıkar (Kaufman vd., 2019). Benzer şekilde kadınlar, yumurtalık rezervinde azalma ve hormonal dalgalanmalar da dahil olmak üzere üreme organlarında yaşa bağlı değişiklikler yaşamakta, bu da doğurganlığın azalmasına ve gebelik komplikasyon risklerinin artmasına neden olmaktadır (Frick, 2021). Yaşlanma, çeşitli içsel ve dışsal faktörlerin etkisiyle oluşan ve derinlemesine incelenmesi gereken bir süreç olarak bireyin yaşamını birçok yönden etkiler. Ayrıca, üreme ve üreme genetiği üzerindeki etkileri ile de yavruların sağlığını ve gelecekteki nesilleri etkileyebilir.

2.3. Yaşlanmanın Erkek Üreme Fonksiyonları Üzerine Etkileri

İlerleyen yaşla birlikte erkek üreme sisteminde ortaya çıkan fizyolojik değişiklikler, testisler, seminal veziküller, prostat ve epididim üzerinde etkili olmaktadır. Testisler, iki temel fonksiyondan sorumludur: erkek gamet hücresi olan spermatozoanın üretimi ve erkek üreme sistemi hormonları olan androjenlerin üretimi. Yaşlanmanın testiküler disfonksiyona ve spermatogenez de bozulmalara yol açtığı, bu nedenle erkeklerde

gonadotropin ve androjen hormonlarının seviyelerinde dalgalanmalar meydana geldiği belirtilmektedir. Testis metabolizması, 11 ile 40 yaş arasında artmakta ve 40 ile 90 yaş arasında yavaş yavaş azalmaktadır (Wolf vd., 2000).

Testislerin dış kısmı, yoğun bağ dokusundan oluşan ve tunika albuginea olarak adlandırılan kalın bir kapsülle çevrilidir. Tunika albuginea, testisin arka yüzeyinde kalınlaşarak mediastinum testis adını almaktadır. Erişkin bir insanın testis hacmi ortalama 30 ml'dir. Testis parankiması, tunika albugineadan kaynaklanan bölmelerle 200-300 lobüle ayrılmaktadır. Her bir lobülde 1 ila 4 seminifer tübül (ST) bulunmaktadır. Yaşlanma ile birlikte, seminifer tübüllerin bazal membranının tunika propria kalınlığı artmakta, seminifer epiteli azalmaktadır. Bu süreçte testislerde daha fazla damarlanma oluşmakta ve tübüller daralmaktadır (Gunes vd., 2016).



Şekil 2.1: Testisin Kesiti ve Toplayıcı Sistemi (Rete testis, Efferent kanallar, Epididim, Vas deferens) (Netter, 2003).

Yaşlanmanın etkisiyle, testislerin yapısında ve işlevlerinde meydana gelen bu değişiklikler, erkek üreme sağlığını olumsuz yönde etkileyebilmektedir. Testis metabolizmasının yaşa bağlı olarak değişmesi, sperm üretiminde ve hormonal dengede dalgalanmalara yol açmaktadır. Bu değişikliklerin sonucunda, testislerin spermatozoa ve androjen üretme kapasitesi azalmaktadır. Testislerin dışındaki kalın kapsül olan tunika albuginea, yaşlanma ile birlikte kalınlaşmakta ve testisin iç yapısında da belirgin değişiklikler meydana gelmektedir. Lobüller içinde bulunan seminifer

tübüller, yaşlanma ile daralmakta ve epitelyal hücrelerin sayısı azalmaktadır. Bu süreçler, testislerin genel işlevselliğini ve sperm üretim kapasitesini olumsuz yönde etkilemektedir. Seminifer tübülleri (ST), sertoli hücreleri (SH) ve farklı gelişim aşamalarındaki germ hücrelerini (GH) barındırmaktadır.. Sertoli hücreleri, tübüllerin yapısal düzenini sağlayan, spermatogenezde görev alan hücreleri çevreleyerek destekleyen prizmatik hücrelerdir. Sertoli hücreleri, germ hücrelerini düzenli olarak bölünüp farklılaşarak olgun spermatozoon oluşturan hücrelere dönüştürmektedir. Seminifer tübüllerin arasında gevşek bağ dokusundan oluşan interstisyel doku bulunmaktadır. Bu alanda fibroblastlar, kapillerler, lenfatikler ve testosteron üretiminde görevli Leydig hücreleri yer almaktadır. Leydig hücreleri, sitoplazmalarında bir steroid hormon olan testosteronu barındırmaktadır (Petersen, 2000).

Spermatogenez, spermatogonyumdan olgun sperm hücresinin gelişimi sürecidir. Ergenlikte spermatogonyumların proliferasyonu ile başlayan bu süreç, yaşam boyu devam etmektedir. Spermatogenez, seminifer tübüllerde meydana gelen ve sertoli, Leydig, peritübüler ve germ hücrelerini içeren kompleks bir süreç olup, endokrin ve parakrin düzenleyicilerin rol aldığı bir olgun erkek gamet oluşumuyla sonuçlanmaktadır (Petersen, 2000). Lüteinleştirici hormon (LH) Leydig hücrelerini, Folikül-Stimülan Hormon (FSH) ise sertoli hücrelerini uyarmaktadır. Testosteron üretimi ve spermatogenez, bu iki hormonun yönetiminde gerçekleşmektedir. Kan damarları ve seminifer tübüllerin arasında bulunan interstisyel boşluktaki Leydig hücreleri, testosteron üretiminden sorumlu iken; sertoli hücreleri, spermatogenezin sürdürülebilmesi için gerekli olan düzenleyici molekülleri ve besinleri sağlar. Testosteron ve FSH hormonları spermatogenezi dolaylı yoldan sertoli hücreleri üzerinden kontrol etmektedir (Papadopoulos ve Zirkin, 2021). Spermatogenez sürecinde, sertoli hücreleri, spermatozoaların olgunlaşması için gerekli olan mikroçevreyi sağlamaktadır.

Bu hücreler, germ hücrelerine besin sağlamakta, gelişimlerini destekleyen büyüme faktörleri ve hormonlar salgılamaktadır. Leydig hücreleri ise testosteron üretimiyle spermatogenezi desteklemektedir. Testosteron, spermatogenezin devamı için hayati öneme sahip olup, aynı zamanda erkeklerde ikincil cinsel karakteristiklerin

gelişiminde de rol oynamaktadır. LH ve FSH hormonları, bu sürecin düzenlenmesinde kritik bir rol oynamakta olup, eksikliklerinde spermatogenezde bozulmalar meydana gelebilmektedir. Spermatogenezin başarıyla gerçekleşmesi için, sertoli ve leydig hücrelerinin işlevselliği büyük önem taşımaktadır. (Pohl vd., 2021).

Yaşlanmanın spermatogenez üzerindeki etkileri incelendiğinde, yaşlı bireylerde testis morfolojisinde belirgin değişiklikler meydana geldiği görülmektedir. Yaşlanma süreci, Sertoli hücrelerinin ve spermatogonial kök hücrelerin fonksiyonlarını olumsuz yönde etkileyerek spermatogenezin etkinliğini azaltabilmektedir. Sertoli hücrelerinin lipit içeriğinde artış ve stoplazmasında vakuol oluşumu yaşanan testislerde sıklıkla gözlenen değişiklikler arasındadır. Bu değişiklikler, spermatogenezin etkinliğini azaltarak, sperm üretiminde ve kalitesinde düşüşlere yol açmaktadır. Ayrıca, tübülerde oluşan yapısal değişiklikler de yaşlanma sürecinin testisler üzerindeki olumsuz etkilerini göstermektedir (Pohl vd., 2021).

Testis hücrelerinin sayı ve fonksiyonundaki azalma,hipotalamus-hipofiz ilişkisi duyarsızlığının testosteron seviyesindeki azalmaya neden olduğu düşünülmektedir (Hauger vd., 2022). Testosteron konsantrasyonunun, yaşamın 3. ila 4. on yılından başlayarak yaşla birlikte giderek azalmakta ve yaşlılığa kadar devam etmektedir. Bu aşamalı azalma aynı zamanda eş zamanlı kilo artışı ve yaşlanmanın sıklıkla getirdiği diğer hastalıkları da önemli ölçüde etkilenmektedir (Kaufman vd., 2019).

Serum testosteron seviyelerindeki azalma,hipotalamus-hipofiz-testis eksenini uyarak FSH ve LH hormonlarının salınımını artırır. Yükselen FSH seviyelerinin sertoli hücrelerinde azalmaya neden olarak testislerin boyutunda ve buna bağlı olarak işlevinde azalmaya yol açtığı düşünülmektedir. Bu durum, sperm üretiminde ve testosteron salgı seviyelerinde azalmaya yol açarak doğurganlığı ve cinsel işlevi olumsuz yönde etkilemektedir (Mazur ve Lipshultz, 2018).

Testis yapısı ve işlevindeki değişiklikleri araştıran bir çalışmada, 40 yaş altı ve 50 yaş üstü erkeklerden alınan testis otopsi örnekleri karşılaştırılmıştırÇalışmada, genç ve yaşlı erkeklerin testis dokuları incelenerek, yaşlanmanın testis fonksiyonları

üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. 50 yaş üstü erkeklerde Leydig hücrelerinin sayısında belirgin bir düşüş gözlemlenmiş, bu da testosteron üretiminde azalmaya ve dolayısıyla testis işlevlerinde bozulmalara yol açmaktadır. Leydig hücreleri, testislerde testosteron üreten hücreler olup, sayılarındaki azalma testosteron seviyelerinin düşmesine ve buna bağlı olarak cinsel işlevlerde ve sperm üretiminde azalmaya neden olmaktadır. Araştırmanın sonuçları, yaşlanmanın testis yapısındaki ve işlevindeki değişiklikler üzerinde büyük bir etkisi olduğunu ortaya koymaktadır. Leydig hücre sayısındaki %44'lük azalma, yaşlanmanın hormon üretimi üzerindeki olumsuz etkilerini ve bunun sonucunda ortaya çıkan fizyolojik değişiklikleri açıkça göstermektedir. Sonuçlara göre, yaşlı erkeklerde Leydig hücre sayısında %44 oranında bir azalma gözlemlenmiştir. Bu bulgu, yaşlı erkeklerde testis fonksiyonlarının azalmasının, testosteron seviyelerinin düşmesi ve buna bağlı olarak doğurganlık ve cinsel işlevlerin azalması ile ilişkili olduğunu doğrulamaktadır (Neaves vd., 1984).

Yaşlanmaya bağlı olarak testosteron seviyesindeki azalma, spermatogenezi olumsuz etkilediği gibi, prostat kanseri riskini de azaltmaktadır.. Hipotalamus-hipofiz-testis hattında meydana gelen değişiklikler, prostat bezini de olumsuz etkileyerek bu bezin işlevlerinde bozulmalara yol açabilir. Seminal vezikül ve/veya prostat atrofisi, bu bezlerin salgılarındaki su ve protein gibi moleküllerin azalmasına neden olarak semen hacmi ve kalitesini düşürebilir. Yaşlanmayla birlikte görülen iyi huylu prostat hiperplazisi (BPH) ve prostat kanseri, erkeklerin genel sağlığını etkileyebilir. Ancak, bu durumlar sperm ve seminal plazma bileşenlerinde immünolojik infertiliteye yol açmamaktadır (Kumar vd., 2018).

Epididimis, testislerde üretilen sperm hücrelerinin taşınması, olgunlaşması, hareketlilik kazanması ve depolanmasında hayati bir rol oynamaktadır. Testislerden gelen olgunlaşmamış spermler, epididimis kanalındaki asidik ortamda 18-20 saat ile 3 hafta arasında olgunlaşarak ovumu dölleyebilecek hale gelmektedir. Bu süreçte, sperm hücreleri epididimis kanalları boyunca ilerlerken, epididimis epitel hücrelerinin salgıladığı sıvının etkisiyle önemli değişiklikler geçirirler. Epididimis işlevi büyük ölçüde androjen hormonlarının varlığına bağlıdır ve bu hormonlar, spermlerin olgunlaşması ve hareketliliği için gereklidir. Yaşlanma sürecinde testosteron

seviyelerindeki azalma, epididimis işlevlerini de olumsuz etkileyerek, sperm kalitesinde ve doğurganlıkta düşüşe neden olmaktadır .Bu nedenle, yaşlanmanın erkek üreme sağlığı üzerindeki etkilerini anlamak, doğurganlık sorunlarının çözümü ve tedavisi için önem arz etmektedir (Barrachina vd., 2022).

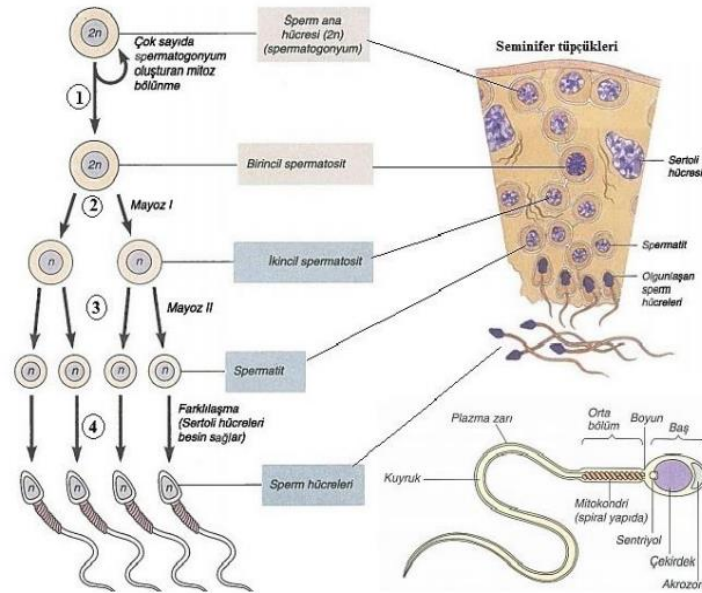
Erektile disfonksiyon (ED) cinsel ilişki için penisin yeterli ereksiyona ulaşamaması ve / veya sürdürmemesi olarak tanımlanmaktadır ve yaşam kalitesini önemli ölçüde etkileyen yaşlanma ile ilişkili yaygın bir hastalıktır (Goldstein vd., 2020).Bu tür sağlık sorunları, yaşlanmanın getirdiği doğal değişikliklerle birleşerek cinsel fonksiyon üzerinde daha belirgin ve karmaşık etkiler yaratabilmektedir.

2.4 Spermatogenez

Testisler, erkeklerde üreme sisteminin temel yapı birimini oluşturmaktadır. Skrotum içerisinde yer alan testislerde gametler ve erkek cinsiyet hormonu olan androjenler üretilmektedir. Androjenler, erkeklik hormonu olarak bilinen testosteronun üretimini sağlamaktadır. Testosteron hormonu, spermin üretilmesi ve ikincil cinsel karakterlerin oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. Spermin üretim sürecinde görev alan ve birbiriyle uyum içinde çalışan FSH ve LH hormonları, beynin alt kısmındaki hipofiz bezi tarafından salgılanmaktadır. FSH, sperm üretimini teşvik ederken; LH, testosteron üretimini uyarmaktadır (Tenover, 2003).

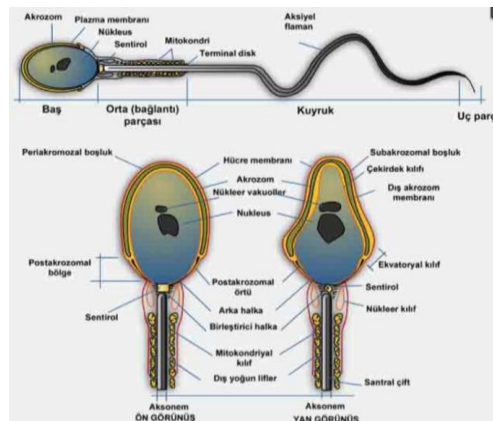
Spermilerin üretim yeri, testislerin içinde yer alan seminifer tübüllerdir. Seminifer tübüllerinin arasında bulunan Sertoli hücreleri, premordial germ hücrelerine ev sahipliği yaparak sperm üretim sürecini başlatır. Spermatogenez, spermin gelişim aşamalarını kapsarken; spermiyogenez, spermin işlevsel hale gelmesini sağlar. Premordial germ hücreleri (PGC), dişilerde yumurta hücrelerinin, erkeklerde ise sperm hücrelerinin oluşumunda kritik rol oynayan özel hücrelerdir. Ergenlik döneminin başlamasıyla birlikte, premordial germ hücreleri mitoz bölünmeler geçirerek spermatogonial kök hücrelere dönüşür. Bu kök hücreler, mitoz bölünmelerle spermatogonyum adı verilen hücreleri oluşturur (Nishimura ve L'Hernault, 2017).

Testisler, spermatogenez sürecinin gerçekleştiği yerlerdir. Bu süreç, spermilerin üretildiği kompleks bir biyolojik mekanizmadır. Testislerin içinde bulunan seminifer tübüller, sperm üretiminin başladığı ve devam ettiği yapılardır. Seminifer tübülleri çevreleyen Sertoli hücreleri, sperm hücrelerinin olgunlaşması için gerekli ortamı sağlar ve premordiaal germ hücrelerini barındırır. Sertoli hücrelerinin sağladığı destekle premordiaal germ hücreleri, sperm üretim sürecinin başlangıcını oluşturur. Premordiaal germ hücreleri, dişi üreme sisteminde yumurta hücrelerine, erkek üreme sisteminde ise sperm hücrelerine dönüşme potansiyeline sahip olan hücrelerdir. Bu hücreler, ergenlik dönemine kadar hareketsiz halde kalır ve ergenlik başladığında aktif hale gelerek mitoz bölünme ile spermatogonial kök hücrelere dönüşür. Spermatogonial kök hücreler, mitoz bölünmelerle spermatogoniumları üretir. Bu süreçler, sperm üretiminin temelini oluşturur ve spermatogenez olarak adlandırılır. Spermatogenez sırasında, spermatogoniumlar farklı gelişim evrelerinden geçerek olgun sperm hücrelerine dönüşür. Bu olgunlaşma sürecine ise spermiyogenez denir. Spermiyogenez, spermilerin hareket yeteneği kazanması ve dölleme kapasitesine ulaşması için gereklidir (Neto vd., 2021).



Şekil 2.2: Spermatogenez (Gilbert, 2000).

Spermatogoniumlar, mitoz bölünmeler geçirerek primer (birincil) spermatositleri oluştururlar. Hem spermatogoniumlar hem de spermatositler, 46 kromozom taşıyan diploid hücrelerdir. Bu aşamadan sonra, mayoz bölünmeler başlar ve kromozom sayısının yarıya düştüğü haploid hücreler oluşur. İlk olarak, mayoz I'in sonucunda sekonder (ikincil) spermatositler meydana gelir, ardından mayoz II tamamlanarak spermatitler oluşur. Primer spermatositler, 46 çift kromozom ve 4N yapısına sahipken, mayoz bölünmeler sonucunda oluşan spermatitler, 23 tek kromozom ve N yapısıdır. Spermatitler, henüz özelleşmemiş ve hareket yeteneği kazanmamış hücrelerdir. Bu hücreler, spermiyogenez süreci ile hareket yeteneği kazanarak haploid yapıda olgun sperm haline gelirler (Nishimura ve L'Hernault, 2017). Primer spermatositler 46 çift kromozom ve 4N yapıdayken, sekonder spermatositler 23 çift kromozom ve 2N yapısıdır. Mayoz II tamamlandığında, spermatitler 23 tek kromozom ve N yapısına sahip olur. Bu spermatitler henüz tam olarak fonksiyonel değildir ve olgun sperm hücrelerine dönüşmek için ek bir sürece ihtiyaç duyarlar. Bu süreç, spermiyogenez olarak adlandırılır ve spermatitlerin hareket yeteneği kazanarak döllenme kapasitesine sahip olgun sperm haline gelmesini sağlamaktadır (Nishimura ve L'Hernault, 2017). Sperm hücrelerinin oluşumu ve olgunlaşması, spermatogonyumlardan başlayıp spermatitlere ve nihayetinde olgun sperm haline kadar uzanan karmaşık bir süreçtir. Bu süreçte mitoz ve mayoz bölünmeler, hücrelerin kromozom sayısını düzenler ve spermatitlerin, spermiyogenez yoluyla fonksiyonel hale gelmesi sağlanır (Nishimura ve L'Hernault, 2017).



Şekil 2.3: Spermin Yapısı (Akbal, 2012).

Olgun bir sperm hücresi baş, boyun ve kuyruk olmak üzere 3 ana kısımdan meydana gelir. Spermin baş kısmında bulunan “çekirdek (nükleus)” genetik bilgiyi gelecek nesillere taşıyan DNA'yı barındırmaktadır. Ayrıca, baş bölgesinde döllenme sürecinde önemli rol oynayan çeşitli enzimleri barındıran akrozom adı verilen bir yapı bulunur. Spermin orta kısmını oluşturan boyun bölgesi, mitokondri ile çevrilidir ve hücrenin enerji kaynağını sağlar. Boyun kısmı, baş ile kuyruk arasında bir bağlantı görevi görmektedir. Spermin kuyruk bölgesi ise, mikrotübüllerden oluşur ve spermin hareketini sağlayan kamçı benzeri hareketlerle yön tayinini sağlar. Spermin bu bölümünde oluşan anormallikler, doğal yolla gebelik oluşumunu engelleyebilir ve infertiliteye yol açabilir (Almeida vd., 2017). Spermin boyun bölgesi, yüksek miktarda enerji üretmek için gereken mitokondrileri barındırır. Mitokondriler, hücre metabolizmasının enerji santralleri olarak işlev görür ve spermin hareketliliği için gerekli olan ATP'yi üretir. Boyun, spermin baş kısmını kuyruk kısmına bağlayarak yapısal bütünlük sağlar. Kuyruk kısmı, spermin hareket kabiliyetini sağlayan mikrotübüllerden oluşur. Mikrotübüller, kamçı benzeri hareketlerle spermin ilerlemesini ve yön tayinini mümkün kılar. Spermin bu hareket yeteneği, döllenme sürecinde yumurtaya ulaşmak için kritik öneme sahiptir. Kuyruk bölgesinde meydana gelen yapısal veya fonksiyonel bozukluklar, spermin hareketliliğini olumsuz etkileyerek doğal yolla gebelik oluşumunu engelleyebilir ve infertiliteye sebep olabilir (Almeida vd., 2017).

Spermatogenezin her aşamasında, hücrelerin doğru bölünmesi ve farklılaşması, sağlıklı ve fonksiyonel spermlerin üretilmesi için kritik öneme sahiptir. Normal spermatogenez ve sperm fonksiyonu, erkek fertilesi için büyük önem taşımaktadır. Genç erkeklerle karşılaştırıldığında, yaşlı erkeklerin testislerinde spermatogenez sürecindeki artan bozulmalar nedeniyle sperm anormallikleri ve sperm disfonksiyonu daha sık görülmekte ve bu durum, sertoli ve leydig hücrelerinin fonksiyonlarını olumsuz yönde etkileyerek erkek infertilitesine yol açmaktadır. Yaş ilerledikçe, germ hücrelerinin apoptoz oranı artmakta, oksidatif hasara karşı dirençleri azalmakta ve genetik mutasyonların sıklığı artmaktadır. Yaşa bağlı olarak spermatogenez mekanizmasındaki bu bozulmalar, anormal sperm parametrelerine neden olabilmektedir (Gao vd., 2021).

2.4.1. Sperm Parametreleri

İleri baba yaşı; semen hacmi ve sperm sayısı, hareketlilik, morfoloji ve canlılık gibi çeşitli sperm parametrelerinde önemli düşüşlerle ilişkilendirilmiştir. Erkeğin üreme kapasitesinin belirlenebilmesi için sperm parametrelerinin değerlendirilmesi büyük öneme sahiptir. Semen analizi erkek fertilitésinin değerlendirilmesinde kullanılan semenin makroskopik ve mikroskopik özelliklerinin incelendiği tanı yöntemidir(Comar VA,2017).Dünya Sağlık Örgütü semen analizinde kullanılan yöntemlerin belirli bir standartta uygulanmasını sağlamak için ihtiyaca göre yanıt olabilmeye açısından güncel referans değerlerini belirlemek için bir dizi laboratuvar el kitabı yayınlamıştır(WHO,2021).

Semen analizi ile sperm konsantrasyonu, motilite, canlılık ve morfoloji gibi mikroskopik parametreler ile semenin hacmi, rengi, vizkozitesi, likefaksiyon süresi ve PH gibi makroskopik parametrelerde bakılmaktadır. Semen içindeki toplam sperm sayısı önemli bir sperm parametresidir ve ejakülat başına semenin mililitresinde minimum 15 milyon sperm bulunması gebelik oluşumu için yeterli kabul edilmektedir. Sperm sayısının az olması oligospermi ve semende canlı veya cansız sperm hücresinin olmaması azospermi olarak tanımlanmaktadır. Bir mililitre semende ki sperm sayısı sperm konsantrasyonu olarak tanımlanmaktadır. Bir mililitre semende 15 milyondan az sperm bulunması erkek fertilitésine için ciddi bir risk faktörüdür(Tocci A,2010).

Spermin baş , boyun ve kuyruk kısımlarında bulunan anomaliler sperm morfolojisinin değerlendirilmesinde etkilidir. WHO insan semen analizinin incelenmesine yönelik yayınladığı laboratuvar el kitabı 6. baskısında sperm morfolojisinin değerlendirilmesi için Kruger kriterlerinin dikkate alınmasını ve sperm morfolojisinin ideal özelliklerde olabilmeye için spermelerin en az %4'nün normal şekle sahip olması gerektiğini belirtmektedir. Sperm morfolojisinde oluşan sorunlar sperm sayısı yeterli olsa bile erkekte infertilite riskini artırmaktadır(Keel BA,2004).

Yaşla birlikte değiştiği bilinen, üreme aksesuar bezlerinin işlevinde azalma, hücresel onarım kapasitesindeki yetersizlik dahil olmak üzere hücresel ve fizyolojik

değişiklikler gibi birçok potansiyel mekanizma ile doku hasarı, germ hücrelerinde ve androjen düzeylerinde azalma , erkek üreme anatomisindeki yapısal değişiklikler, vasküler yetmezlik ve yaşlanmayla ilişkili sistemik hastalıklar yaştan sperm parametreleri üzerinde ki etkilerinin altında yatan mekanizmalar arasında sayılmaktadır (Jenkins, Aston ve Carrell, 2018).

Yakın zamanda yapılan sistematik bir incelemede ;90 çalışmadan elde edilen yaklaşık 93.839 erkeğin semen verileri değerlendirilmiş . Sonuçlar semen kalitesinde yaşa bağlı tutarlı bir düşüş olduğunu ; yaş, semen hacmi, toplam sperm sayısı, hareketlilik yüzdesi, ilerleyici hareketlilik ve normal morfolojide küçük ila orta dereceli düşüşlerle ilişkilendirilmiştir.Bu çalışmada sperm konsantrasyonunun yaş ilerledikçe azalmadığı, sperm DNA fragmentasyonunda ise önemli bir artış olduğu gözlemlenmiştir (Johnson vd., 2015). Başka bir çalışmada yaşa bağlı olarak morfolojideki ilk anlamlı düşüşün 35-39 yaş grubunda başladığı ve devam ettiği belirlendi (Kidd vd., 2001).

Bir başka çalışmada ilerleyen erkek yaşı, bir dizi klinik karıştırıcı faktörden bağımsız olarak, hareket,canlılık,hacim ve morfolojik olarak normal sperm oranında bir azalma ile ilişkilendirilmiş ; 40 yaş ve üzerinde daha fazla etkiye sahip olduğu belirtilmiştir. Her ne kadar bu ilişkilerin mekanizmaları büyük ölçüde açıklığa kavuşturulmamış olsa da; yaşla birlikte sperm kalitesinin kötüleşmesinin, erkek partnerin kadındaki infertilite durumunu telafi etme yeteneğini bozabileceği ve bunun sonucunda çiftin üreme potansiyelinin genel olarak zayıflamasının mümkün olabileceği vurgulanmıştır (Castellini vd., 2024).

2.4.2. Spermde Moleküler Değişiklikler

Erkek üreme sisteminin yaşlanması, moleküler, hücresel ve düzenleyici seviyelerdeki çok faktörlü değişikliklerle tetiklenir ve bireysel özellikler, yaşam tarzı ve çevresel faktörlerden güçlü bir şekilde etkilenmesine rağmen oldukça değişkendir. Yaşla birlikte biriken hasar testis, penis ve prostat gibi hedef organlarda değişikliklere neden olur.Hücresel yaşlanma kendisini çeşitli düzeylerde gösterebilir. Yaşlanan hücreler giderek "atık" ürünleri biriktirir ve bu da işlevsel olarak azalmaya neden olur (Kleshchev vd., 2023).

Gen İfadesindeki Değişiklikler

İlerleyen paternal yaş sperm fonksiyonunda, kromatin yeniden modellenmesinde, DNA onarımında ve mitokondriyal biyogeneze rol oynayan genlerin ifadesinde değişikliklere eşlik etmektedir. Düzensiz gen ekspresyon profilleri, sperm kalitesi ve doğurganlık potansiyelindeki yaşa bağlı düşüşlerin temelini oluşturabilir. Genç erkeklerle karşılaştırıldığında yaşlı erkeklerin sperm hücrelerinde; doğurganlık, embriyo gelişimi ve sağlığı ile ilişkili genlerin farklı ekspresyonu gözlemlenmiştir (Amaral vd., 2013).

Memeli mitokondrileri; apoptoz, otofaji, kalsiyum homeostazisi, yaşlanma, sinyalleme, kök hücre yenilenmesi ve bağışıklık tepkileri dahil olmak üzere diğer birçok hücresel sürece katıldıkları gösterilmiştir. Spermatogenez sırasında mitokondri, germ hücresi gelişimiyle birlikte sürekli morfolojik ve dağılımsal değişikliklere uğrar. Bu süreçlerdeki eksiklikler mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna ve anormal spermatogeneze yol açarak erkek infertilitesine neden olur. Son yıllarda mitokondri, erkek germ hücrelerinde piRNA biyogenezinin düzenlenmesindeki rollerinden dolayı büyük ilgi görmektedir (Wang, Yin, Wen ve Yuan, 2022).

Protein Profillerindeki Değişiklikler

Yaşlı bireylerden alınan sperm hücrelerinin proteomik analizleri sperm hareketliliği, kapasitasyon, dölleme ve embriyo gelişimi için hayati önem taşıyan proteinlerin varlığında ve translasyon sonrası modifikasyonlarında meydana gelen değişiklikleri ortaya çıkarmıştır. Değişen protein profilleri sperm fonksiyonunu ve üreme başarısını etkileyebilir. Protein bileşimindeki yaşa bağlı değişiklikler, sperm hareketliliğinin bozulmasına, dölleme kapasitesinin azalmasına ve DNA hasarına karşı duyarlılığın artmasına katkıda bulunabilir (Vertika, Singh ve Rajender, 2020).

Hücresel Metabolizmadaki Değişiklikler

Sperm hücreleri hareketlilik, kapasitasyon ve döllenme için gereken enerji gereksinimlerini karşılamak üzere metabolik adaptasyonlara uğramaktadır. Bozulmuş glikoz metabolizması, lipit metabolizması ve mitokondriyal fonksiyon da dahil olmak üzere hücresel metabolizmada yaşlanmaya bağlı bozulmalar, sperm kalitesini ve canlılığını etkileyebilir. Çalışmalar, yaşlı erkeklerin sperm hücrelerinde mitokondriyal fonksiyonun azaldığını ve oksidatif stres seviyelerinin arttığını, bunun da sperm kalitesi ve doğurganlıkta yaşa bağlı düşüşlere potansiyel olarak katkıda bulunduğunu göstermiştir (Agarwal ve Sengupta, 2020).

2.4.3. Sperm Kromatin Yapısı ve DNA Fragmentasyonu

DNA, iki polinükleotid zincirinden oluşan bir moleküldür. Her bir nükleotid, beş karbonlu bir şeker olan deoksiriboz, bir fosfat grubu ve dört çeşit azotlu baz içerir. Nükleotidler, fosfat grupları ve şeker molekülleri arasında oluşan fosfodiester bağları ile birbirine bağlanır. Azotlu bazlar ise iki ana gruba ayrılır: purinler (adenin ve guanin) ve pirimidinler (sitozin ve timin, RNA'da urasil). Bu azotlu bazlar, DNA'nın iki zinciri arasında karşılıklı olarak yer alır ve aralarındaki hidrojen bağları sayesinde çift sarmal yapı stabilize olur. Genler, genetik bilginin taşınmasından sorumlu olan DNA segmentleridir (Portin, 2013).

Sperm DNA'larında oluşan hasarın erkeklerde fertilitiyi olumsuz etkilediği düşünülmektedir. Sperm DNA parametrelerini değerlendiren bir çalışma, spermilerin farklı yaş gruplarında tipik bir yaşlanma paterni sergilediğini ve sperm telomer uzunluğunda sürekli bir artış ile karakterize edildiğini bulmuştur (Portin, 2014). Bu nedenle, bir dereceye kadar, telomer uzunluğu sperm kalitesinin moleküler bir belirteci olarak hizmet edebilir ve yaşlı erkeklerin doğurganlık potansiyelini tahmin edebilir. DNA metilasyonu ve kodlanmayan RNA düzenlemesi gibi epigenetik mekanizmalar; yaşlı spermilerin fonksiyonel düzenlemesinde yer alır. Yapılan bir çalışmada insan sperminin DNA metilasyon imzasının yaşı tahmin etmek için kullanılabileceğini ileri sürüldü (Jenkins vd., 2018).

Literatürde, spermde DNA hasarının üç ana mekanizma ile gerçekleştiği belirtilmektedir: kromatin yapısının bozulması, oksidatif stres ve abortif apoptoz. DNA, genetik bilgiyi taşıyan bir molekül olarak hücre çekirdeğine sığabilmek için bükülmekte ve yoğunlaşarak kromatin adı verilen yapıyı oluşturmaktadır. Bu yapıyı histon proteinleri ile stabilize etmekte ve histon proteinleri, gen bölgelerinin aktive edilmesi veya inhibe edilmesinden sorumludur (Laurentino vd., 2020).

Spermin kromatini, düzenli ve yoğun bir yapıya sahip olarak, spermin erkek ve dişi üreme yollarında ilerlemesini ve baba genomunun sağlıklı bir şekilde yumurtaya aktarılmasını sağlar. Kromatin hasarları, DNA zincirlerinin bütünlüğünün bozulması, histon-protamin sıkıştırmasının yanlış yapılması ve anormal kromatin yapıların oluşması gibi durumlarla ortaya çıkabilmektedir (Silva ve Schumach, 2019).

Sperm DNA'sı, çekirdekte oldukça kompakt bir biçimde bulunur ve somatik hücrelerin DNA'sından farklı olarak özel bir sıkıştırma süreci geçirir. Spermatogenez sırasında, histonlar önce geçiş proteinleri, daha sonra ise protaminlerle yer değiştirir. Bu dönüşüm, spermin DNA kalitesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar (Pohl, Gromoll, Wistuba ve Laurentino, 2021). Protaminler, sperm DNA'sının yoğunlaşmasını sağlamakla kalmaz, aynı zamanda genetik bilginin korunması, DNA bütünlüğünün sağlanması ve onarımı ile genetik materyalin aktarılmasında da hayati bir rol oynar. İnfertil erkeklerin sperm kromatinlerinde histon/protamin oranının azaldığı ve histon seviyesinin arttığı gözlemlenmiştir. Kusurlu protaminasyonun, sperm kalitesini düşürdüğü ve infertilite ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir (Zubkova ve Robaire, 2006).

Bazı literatür çalışmaları, DNA hasarı ile oksidatif stres arasında güçlü bir ilişki bulunduğunu ve sperm DNA hasarının ana kaynağının oksidatif stres olabileceğini öne sürmüştür. DNA bazları ve fosfodiester omurgaları oksidatif strese oldukça duyarlıdır ve bu yapıların peroksidasyonu, DNA zincirinin kırılması ve çapraz bağlanmasına neden olabilir. Bu durum, transkripsiyon, translasyon ve DNA replikasyonunun bozulmasına yol açabilir (Oliva, 2006).

Sperm mitokondrilerinin bütünlüğü, iç membrandaki sitokrom c'nin varlığıyla korunur. İnfertil erkeklerde, oksidatif stresin etkisiyle seminal plazmada artan sitokrom c seviyeleri mitokondriyal hasara neden olabilir. Mitokondri hasarı sonucu salınan proteinler, apoptoz sürecini hızlandırarak DNA hasarına yol açar. Sperm DNA hasarına dair bir diğer teori ise abortif apoptoz oluşumudur. Apoptoz, birçok organın fizyolojik olarak programlanmış hücre ölümü sürecidir. Testislerde ise, gereğinden fazla üretilen germ hücrelerinin ve hasarlı hücrelerin apoptoz yoluyla ortadan kaldırılması sağlanmaktadır (Winkle vd., 2009).

Spermelerde mitokondri, çekirdek zarı, kromatin ve plazma membranında bozulmalar, apoptotik cisimler, DNA fragmentasyonu ve fosfatidilserin kalıntılarının dışa çıkması gibi apoptozun karakteristik özellikleri gözlenebilmektedir. Bazı hücrelerde apoptoz süreci başlamış ancak apoptoz yollarındaki bir aksaklık nedeniyle bu süreç tamamlanamamıştır. Bu fenomene "abortif apoptoz" denir. Bu süreçteki aksaklıkların DNA'da hasara yol açtığı ve ayrıca sitoplazmik artıklar ve zayıf kromatin paketlemesi olan anormal sperm oluşumuna neden olduğu düşünülmektedir (Wang vd., 2003).

Oksidatif stresin, sperm hücrelerindeki mitokondrial hasara neden olarak sitokrom c seviyelerini artırdığı bilinmektedir. Bu artış, mitokondriden salınan proteinlerin apoptoz sürecini hızlandırmasına ve sonuç olarak DNA hasarına yol açmasına neden olmaktadır. Yaşlanmanın dış etkenleri arasında radyasyon, toksik maddeler, reaktif oksijen türleri (ROT) ve inflamasyon gibi endojen faktörler bulunmaktadır. Bu faktörlerin, DNA hasarının birikmesine yol açarak yaşlanmaya neden olduğu düşünülmektedir. İleri yaşın getirdiği olumsuzluklardan biri de çoklu mitotik bölünmelerdir. Yaşlandıkça kök hücrelerin bölünme sayısındaki artış, DNA replikasyon hatalarının birikmesine ve mutasyonların ortaya çıkmasına yol açabilir. Biriken DNA hasarı, hücresel fonksiyonların azalmasına ve gen ekspresyonunun düzensizleşmesine neden olur, bu da bozulmuş transkripsiyon, hücre döngüsünün durması ve apoptoz yoluyla hücre kaybına yol açar. Sonuç olarak, kök hücrelerin tükenmesi, doku homeostazının bozulmasına ve rejeneratif kapasitenin kaybına neden olur (Rosiak-Gill vd., 2019).

İleri yaşta baba olmanın, DNA hasarı ve metilasyon yoluyla mutasyonlara yol açabileceği ve bunun da bir sonraki nesilde kalıtsal hastalıklara sebep olabileceği düşünülmektedir. Otizm, şizofreni, akondroplazi ve Apert sendromu gibi hastalıkların patofizyolojisinde babadan gelen genetik kodda meydana gelen mutasyonların önemli bir rol oynadığı öne sürülmektedir. İleri yaşta baba olanların neden olduğu ve bir sonraki nesilde görülen bu hastalıklar “paternal age effect (PAE) disorders” olarak adlandırılmaktadır (Cioppi vd., 2019).

Yetişkin kök hücreler, yaşam boyunca doku homeostazını ve rejenerasyonunu sağlar. Ancak, yaşa bağlı olarak bu hücrelerde DNA hasarı birikir. Bu birikim, hücresel fonksiyonların azalmasına, gen ekspresyonunun düzensizliğine, bozulmuş transkripsiyona, hücre döngüsünün durmasına ve apoptoz yoluyla hücre kayıplarına neden olur (Agarwal vd., 2020).

Sperm DNA fragmentasyonunu değerlendirmek için en yaygın kullanılan üç yöntem “SCSA (Sperm Kromatin Yapı Testi), TUNEL (terminal deoksinükleotidil transferaz aracılı dUTP-nick uç etiketlemesi) ve Comet testidir.” Her yöntemin farklı türdeki sperm DNA fragmentasyonunu ölçtüğü ve dikkate alınması gerektiği belirtilmektedir (Pohl vd., 2019).

Yaşla birlikte DNA parçalanmasında meydana gelen değişiklikleri değerlendiren çalışmalar çelişkili sonuçlara ulaştı. Çoğu çalışma yaşla birlikte sperm DNA fragmentasyonunda artış bulurken (Sakkas ve Alvarez, 2010; Belloc vd., 2014), bazıları aynı ilişkiyi bulamadı (Zhang vd., 2021; Winkle vd., 2009). Bu durumun sperm DNA fragmentasyonunu değerlendirmek için kullanılan farklı tekniklerden kaynaklanabileceği ancak aynı zamanda çalışma popülasyonundaki, gönüllülere yönelik kayıt kriterlerindeki ve numune işlemedeki farklılıklardan da kaynaklanabileceği belirtilmektedir (Brahem vd., 2021).

Sperm DNA fragmentasyonu, yaşam boyu doğrusal bir seyir izlememekte, ancak ileri yaşla birlikte hızlanmaktadır. Araştırmalar, DNA fragmentasyonunun 40 yaşından sonra sağlıklı erkeklerde daha hızlı arttığını göstermektedir, bu da sperm DNA'sının

yaşla birlikte hasara daha yatkın hale geldiğini işaret etmektedir. Ancak, genç ve normal sperm parametrelerine sahip erkeklerde de yüksek DNA fragmentasyonu görülebilir, bu da yaş dışında başka faktörlerin de etkili olduğunu göstermektedir (Evenson vd., 2020).

DNA fragmentasyonundaki bu hızlanmanın, ileri yaşlarda spermilerin genetik bütünlüğünü koruma kapasitesinin azalmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Özellikle 40 yaşın üzerindeki erkeklerde, DNA onarım mekanizmalarının etkinliğinin azalması, oksidatif stresin artması ve hücrel yaşlanmanın etkileri, sperm DNA'sında daha fazla kırılma ve hasar oluşmasına yol açmaktadır. Bu artış, sperm kalitesini ve dolayısıyla fertilitiyi olumsuz yönde etkilemektedir. Genç erkeklerde de DNA fragmentasyonunun yüksek olması, çevresel faktörler, yaşam tarzı, genetik yatkınlık ve diğer sağlık sorunları gibi çeşitli etkenlerin rol oynayabileceğini göstermektedir. Bu durum, sperm DNA'sının bütünlüğünü korumanın karmaşık bir süreç olduğunu ve birçok farklı faktörden etkilendiğini ortaya koymaktadır. DNA fragmentasyonu, sperm kalitesini belirlemede önemli bir parametre olup, yüksek seviyelerde DNA hasarı, döllenme başarısını ve embriyo gelişimini olumsuz yönde etkileyebilmektedir (Khalafalla vd., 2021).

Sperm DNA bütünlüğü normal döllenmenin ve embriyo gelişiminin önemli belirleyicilerinden biridir. Yardımcı üreme teknolojisinin sonuçları ile spermdeki yüksek DNA hasarı arasındaki ilişkiyi araştıran çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Khalafalla vd., 2021). Yapılan birçok çalışma yüksek sperm DNA hasarının, bozulmuş döllenme, bozulmuş preimplantasyon, embriyo gelişimi, düşük ve yavrularda doğum kusurları dahil olmak üzere çok sayıda üreme süreciyle ilişkili olduğunu göstermiştir (Hum Reprod, 2008). Bazı çalışmalarda ise; DNA hasarı olan spermilerin, oositleri başarılı bir şekilde dölleyebildiğini ve iyi dereceli embriyolar oluşturabildiğini ve bunun da erken gebelik kaybına yol açtığını göstermiştir (Fertil Steril, 2013).

2.5. Oksidatif Stres

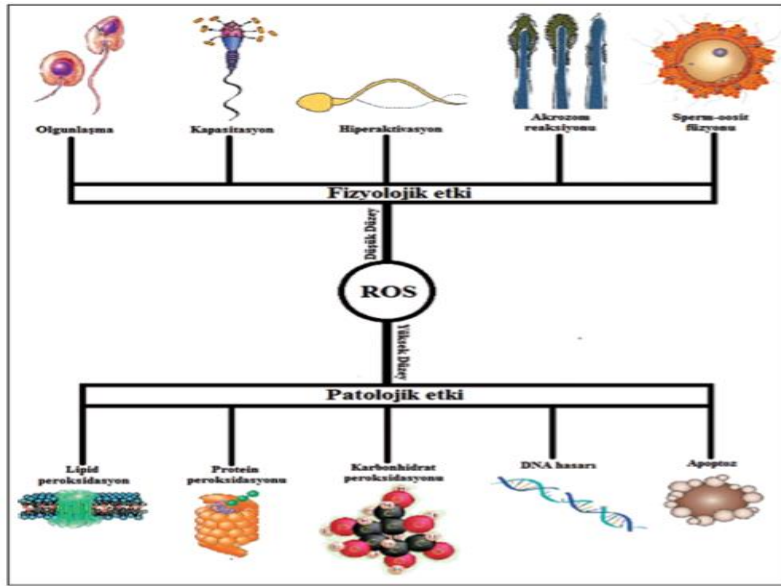
Oksidatif stres, reaktif oksijen türlerinin artışı ve antioksidan seviyelerinin yetersizliği sonucu oluşan bir dengesizliktir. Bu durum, hücreler ve dokularda ROT birikimi ile bunların vücuttan atılması arasındaki uyumsuzluktan kaynaklanır. Oksidatif stres, birçok kronik, inflamasyon veya otoimmün hastalığın gelişiminde rol oynar ve son zamanlarda infertilite nedenleri arasında önemli bir faktör olarak görülmektedir (Naher vd., 2013).

Reaktif oksijen türleri (ROT) sperm fonksiyonları üzerinde hem yararlı hem de zararlı etkilere sahip olabilir. Fizyolojik fonksiyonların sağlıklı bir şekilde sürdürülebilmesi için reaktif oksijen ve nitrojen türleri uygun seviyelerde düzenlenmelidir. Az miktarda ROT, kök hücreler, sperm ve yumurtadaki normal metabolizmanın bir ürünü olarak, kapasitasyon, akrozomal reaksiyon ve hiperaktivasyon gibi önemli üreme süreçlerini düzenlemektedir. Ancak, çalışmalar yaşa bağlı oksidatif stres ile erkek infertilitesi arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermekte ve ROT'un sperm kalitesi, hareketliliği ve canlılığı üzerindeki zararlı etkilerini vurgulamaktadır (Agarwal, Makker ve Sharma, 2008).

Yüksek ROT seviyeleri, sperm DNA'sına, membran lipidlerine ve proteinlerine zarar vererek sperm fonksiyonlarını bozar ve infertiliteye yol açar. ROT "lipid peroksidasyonu" yoluyla sperm hücrelerinin membran bütünlüğünü bozarak ve DNA'da kırılmalara ve mutasyonlara neden olarak sperm hareketliliğini ve fertilizasyon yeteneğini azaltır (Koshevoy vd., 2021).

Sperm hücrelerindeki oksidatif hasar; lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu, DNA fragmentasyonu ve mitokondriyal fonksiyon bozukluğu gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla meydana gelir. Süperoksit anyonu, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi ROS türevleri; sperm hücresi zarlarındaki lipidlerle reaksiyona girerek lipid peroksidasyonuna ve membran dengesizliğine yol açabilir (Chianese ve Pierantoni, 2021). ROS protein moleküllerini hedef aldığı anda protein oksidasyonu meydana gelir ve bu da yapısal değişikliklere ve fonksiyonel bozulmalara neden olur. Oksidatif hasarın bir işareti olan DNA fragmentasyonu, ROS'un neden

olduğu DNA iplikçik kırılmalarından ve baz modifikasyonlarından kaynaklanmaktadır ve sperm genomik bütünlüğünü tehlikeye atar. Oksidatif stres tarafından tetiklenen mitokondriyal disfonksiyon, mitokondriyal solunumu ve ATP üretimini bozar, sperm disfonksiyonunu ve infertiliteyi daha da şiddetlendirir. Bu mekanizmalar, sperm kalitesi ve doğurganlık potansiyelindeki yaşa bağlı düşüşlerle ilişkilendirilmiştir (Chianese ve Pierantoni, 2021).



Şekil 2.4: ROS'un Spermatozoon Fonksiyonları Üzerindeki Şematik Gösterimi (Türk, 2015).

İnsan spermi; olgun ve olgunlaşmamış spermatozoa, spermatogenezin farklı aşamalarından yuvarlak hücreler, lökositler ve epitel hücreleri gibi farklı hücre türleri içermektedir. Bu farklı hücre tiplerinden lökositlerin ve spermatozoonun ROS'un iki ana kaynağı olduğu gösterilmiştir (Agarwal ve Sengupta, 2020; Athayde vd., 2007). Sitoplazmik damlacıklar, zayıf sperm kalitesi ile artan ROS üretimi arasındaki eksik bağlantıyı açıklar. Spermiogenezdeki aksaklıkların bir sonucu olan bu yapılar önemli bir ROS kaynağıdır (Garrido vd., 2004).

ROS, tüm bazların modifikasyonu, bazsız alanların üretimi, silme, çerçeve kaymaları, DNA çapraz bağlantıları ve kromozomal yeniden düzenlemeler şeklinde DNA hasarına neden olur (Duru vd., 2000). OS ayrıca tek ve çift iplikli DNA

kırılmalarının yüksek frekanslarıyla da ilişkilidir (Aitken ve Krausz, 2001). ROS ayrıca nokta mutasyonu ve polimorfizm gibi gen mutasyonlarına neden olarak semen kalitesinin düşmesine neden olabilir (Spiropoulos vd., 2002).

Çalışmalar, ART için kullanılan geleneksel sperm hazırlama tekniklerinde yer alan tekrarlanan santrifüj döngülerini önemli ölçüde artmış ROS üretim seviyeleri ile ilişkilendirmiştir. ART prosedürlerinde ROS, oosit ve embriyo metabolizması, kümülüs hücreleri, sperm hazırlama sırasında lökosit kontaminasyonu ve kültür ortamı ile üretilebilir (Sharma, Said ve Agarwal, 2004).

Erkek infertilite tedavisi için antioksidanların kullanılabileceği ROS için referans değerleri oluşturmak önemlidir. Bu antioksidanların dozu ve süresi de belirlenmeli ve standartlaştırılmalıdır. ART prosedürlerinin kullanımındaki artışla birlikte, sperm hazırlama ortamını desteklemek için optimum antioksidan kombinasyonları geliştirme çabası önemlidir (Oosterhuis vd., 2000).

Oksidatif stresi ve bunun yaşlanan sperm hücreleri üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmak için çeşitli müdahaleler önerilmektedir. Vitaminler (örneğin C vitamini, E vitamini), mineraller (örneğin çinko, selenyum) ve fitokimyasallardan (örneğin koenzim Q10, likopen) oluşan antioksidan takviyesi, ROS düzeylerini azaltmada, antioksidan kapasiteyi artırmada ve sperm kalitesini iyileştirmede umut vaat etmektedir (Ribas-Maynou ve Yeste, 2020). Dengeli beslenme, düzenli egzersiz, tütün ve aşırı alkol tüketiminden kaçınma ve stres yönetimi, oksidatif stresi azaltarak üreme sağlığını iyileştirebilir. Ayrıca, mitokondriyal hedefli antioksidanlar ve gen düzenleme teknikleri gibi yeni ortaya çıkan tedaviler, yaşlanan bireylerde oksidatif hasarı giderme ve sperm fonksiyonunu koruma potansiyeline sahiptir. Ancak bu müdahalelerin klinik ortamlardaki etkinliğini ve güvenliğini değerlendirmek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır (Amor, 2021).

2.6. Üreme Sağlığı ve Yaşlanma

Sosyo-ekonomik faktörlerin etkisi ile yaşam tarzında oluşan değişiklikler, çocuk sahibi olma yaşının artmasına neden olmaktadır. İlerleyen yaş kadın ve erkek için infertilite riskini artırmaktadır. Kadın doğurganlığı menopoza sona ererken, erkeklerde üreme işlevleri yaşa bağlı olarak azalsada yaşam boyu devam etmektedir (Kaufman ve Vermeulen, 2005).

Erkeklerde yaşlanma ve üreme sağlığı arasındaki ilişki çok yönlüdür ve çeşitli fizyolojik, genetik ve çevresel faktörleri kapsamaktadır. Artan erkek yaşının hipotalamus-hipofiz-testis ekseninin her seviyesinde etkisi vardır, bu da dolaşımdaki androjen seviyelerinin azalmasına ve buna bağlı olarak hedef organlarda androjenik etkilerin azalmasına yol açmaktadır (Kaufman ve Vermeulen, 2005). Gonadal fonksiyonlarda ve testislerde yaşa bağlı azalma genellikle geç başlangıçlı hipogonadizm (LOH) olarak tanımlanır. LOH, libido kaybı, erektil disfonksiyon, kas kütlesi kaybı, iç organlarda yağ artışı, metabolik sendrom, anemi, azalmış kemik yoğunluğu, depresif duygudurum, azalmış canlılık, terleme ve sıcak basması gibi çok sayıda semptomu içermektedir (Nieschlag, 2020).

İleri baba yaşının ;üreme hormonlarının üretimi, cinsel işlev, sperm parametreleri, doğurganlık, gebelik sonuçları ve yavrularda bazı doğum kusurları ve hastalıkların görülme sıklığı gibi üreme işlevleri üzerinde; farklı düzeylerdeki değişikliklerle ilişkili olduğu belirtilmiştir (Nieschlag, 2020). Yaşlı erkeklerde artan folikül uyarıcı hormon (FSH) konsantrasyonu, mayoz sırasında germ hücresi dejenerasyonu ile ilişkilendirilmiş ve günlük sperm üretimi üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (O'Shaughnessy, 2014).

İlerleyen yaşla birlikte erkelerde üreme sağlığı üzerinde etkili olan; cinsel işlev bozuklukları oluşmakta, infertil çiftlerde erkek cinsel işlev bozukluğu infertiliteye nedeni olabilmekte ancak daha sıklıkla infertiliteden kaynaklandığı düşünülmektedir (Mola, 2015). Yaşla bağlı olarak testislerdeki sertoli hücrelerinin, leyding hücrelerinin ve germ hücrelerinin sayıları azalmaktadır. Bununla birlikte seminifer tübüllerinin bazal membranında kalınlaşma, seminifer epitelinde azalma ve testiste kusurlu damar yapısı oluşabilmektedir (Sibert, Lacarrière ve Rives, 2014).

Literatürde bir çalışmada erkek obezitesi, düşük sperm konsantrasyonu ve düşük progresif hareketli sperm sayısı oranının artmasıyla ilişkilendirilmiştir (Hammoud vd., 2008).

3698 infertil erkeğe ait retrospektif kesitsel veriler kullanılarak yapılan bir çalışmada aksesuar bezlerindeki enfeksiyon oranında gözlenen artış sperm sayısında yaşa bağlı düşüş ile ilişkilendirilmiştir (Rolf, Kenkel ve Nieschlag, 2002).

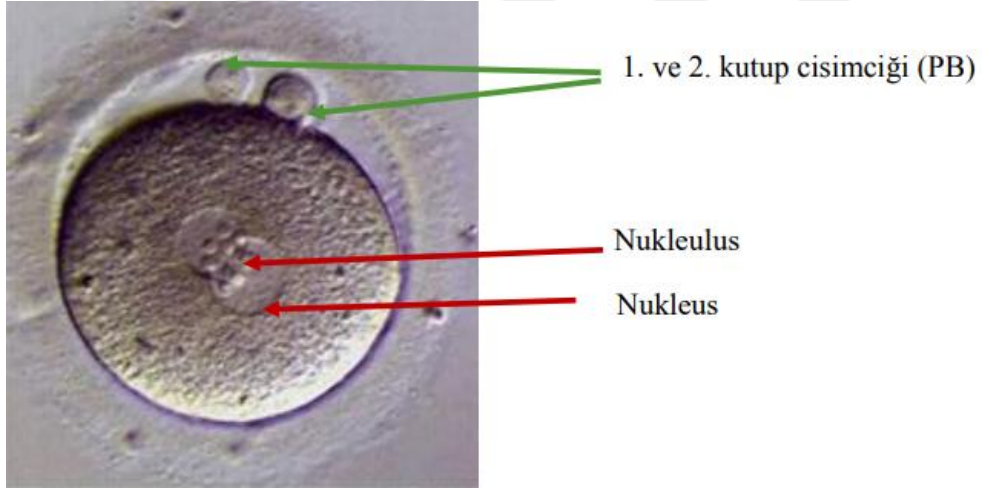
Erkeklerde germ hücreleri embriyogenez sırasında ortalama 30 mitotik bölünmeye uğrar, spermatozoa ise her 16 günde bir mitotik bölünme gerçekleştirir ve bu süreç erkeklerde yaşam boyu devam eder. Yetişkin erkeklerin germ hücrelerinde sürekli gerçekleşen mitotik replikasyonlar sonucu DNA fragmentasyon oranları ve zararlı nokta mutasyonların riski artar (Kong vd., 2012). Bu nedenle ilerleyen baba yaşı insanlarda gen havuzunda mutasyonların birikmesine ve gelecek nesillere aktarılacak resesif genetik bozuklukların daha yüksek oranda görülmesine neden olabilmektedir (Humm ve Sakkas, 2013). İleri yaşta babalığın neden olduğu hastalıklar “paternal age effect (PAE)” disorders" olarak adlandırılmaktadır (Goldmann, Veltman ve Gilissen, 2019). APA ile en güçlü şekilde ilişkili olan PAE bozukluklarına FGFR2, FGFR3 ve RET genlerindeki mutasyonların neden olduğu belirtilmektedir (Moura vd., 2024). İlerleyen yaşla birlikte sürekli gerçekleşen spermatogenezin bir sonucu olarak, erkek gametin yaşa bağlı ayrılmayan anöploidilere karşı daha az hassas olduğu belirtilmiştir. Ancak APA'nın anaploidi riskinde ki artışa etkisine dair bilgiler çelişkili ve yetersiz bulunmaktadır (Ariad vd., 2024).

Bir çiftin doğurganlığı üzerinde babalık yaşının etkisine yönelik yapılan az sayıda çalışma vardır ve sonuçlar çelişkilidir. Standart sperm parametreleri veya endokrin parametreleri yaşa bağlı olarak dölleme kapasitesinin, düşük oranlarının, gebelik ve gebelik sonuçlarının standart göstergeleri değildir. Yaşa bağlı olarak gerçekleşen bu değişiklikler kromozom veya DNA bütünlüğü düzeyindeki değişimlerin göstergeleri olabilir. Literatürde birçok çalışma, gebelik süresi ve doğurganlık oranı, aborts oranı ile APA'nın negatif ilişkili olduğunu göstermiştir (Kaltsas vd., 2023).

Erkeklerde yaşla birlikte üreme sağlığında gerçekleşen değişikliklerin ve üreme sonuçlarında ki olumsuz etkilerin altında yatan biyolojik mekanizmaların çoğu hala tam olarak anlaşılamamıştır. Daha kapsamlı çalışmalar önerilmektedir (Kaltsas vd., 2023).

2.6.1. Embriyo Gelişimi ve Kalitesi

Embriyogenez, fertilizasyon ile başlayan ve implantasyona kadar olan süreci ifade eder ve bu süreç, çeşitli genlerin ve bu genlerin çevreleri ile olan ilişkilerinin sonucu gerçekleşen morfolojik, hücresel ve biyokimyasal değişiklikleri içerir. İnsan embriyo gelişiminde, döllenmeden sonraki erken evre, anneye ait RNA'lar ve oogenez sırasında sentezlenen proteinlerle desteklenir ve gelişimin ilk aşamaları bu moleküller tarafından düzenlenir. Embriyo 4 ila 8 hücreli aşamaya geldiğinde, embriyonik genlerin ekspresyonu başlar ve maternal RNA ile proteinlerin etkisi azalır. Bu süreçte genetik faktörlerin işlevleri sonucu anne ve fetüs arasındaki hücresel etkileşimler ve plasantasyon gibi farklılıklar meydana gelmektedir (Ushizawa vd., 2004).



Şekil 2.5: Döllenmiş Yumurta (Zigot) (Ünal, 2019).

Fertilizasyon, dişi ve erkek gametlerin fallopi tüpünün ampulla bölgesinde birleşmesiyle gerçekleşir ve bu süreç insanda yaklaşık 7 saat sürer ve döllenme sürecinden önce, spermin epididimiste olgunlaşması ve dişi üreme yollarında sperm kapasitasyonu adı verilen iki önemli olayı gerçekleştirmesi gerekmektedir. Ejakülasyonun ardından sperm, dişi üreme kanalında, spermatozoa ile dişi genital

sistem mukozasının etkileşimi sonucunda fertilizasyon yeteneği kazandığı fonksiyonel ve morfolojik değişikliklerin meydana geldiği kapasitasyon aşamasını tamamlamaktadır (Gardner vd., 2004).

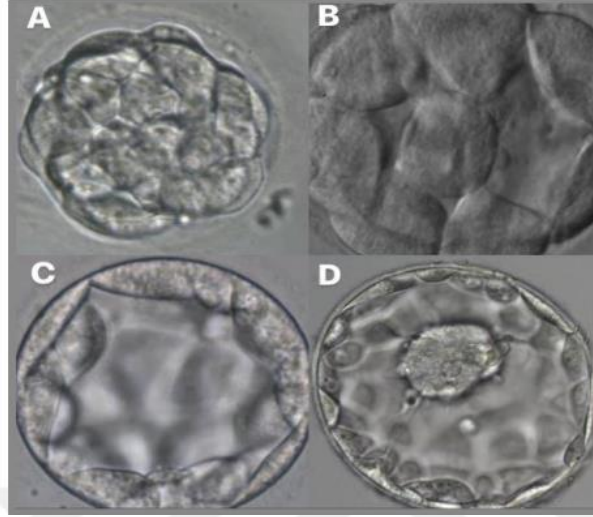
Maturasyon ve kapasitasyon süreçlerini tamamlamış olan sperm, oositin çevresini saran korona radiata yakınında akrozom içeriği olan hiyaluronidaz enzimini serbest bırakır ve akrozom reaksiyonu gerçekleşir. Sperm, korona radiatayı geçtikten sonra “zona pellucida (ZP) ile karşılaşır ve ZP'deki ZP3 proteinine” bağlanarak akrozomda bulunan akrosin enzimlerini salar. Bu enzimler sayesinde ZP'yi aşan sperm, oosite ulaşır ve membranı oosit membranı ile birleşir. Sperm hücre içeriği oosite aktarılır ve haploid maternal ve paternal kromozomlar birleşerek “diploid kromozomlu zigotu” oluşturur (Gardner vd., 2004). Embriyoda sperm ve oosite ait pronukleusların (PN) döllenmeden sonra merkezde eşit büyüklükte ve yan yana dizilmiş olarak gözlemlenmesi, homojen ve vakuolsüz sitoplazmaya sahip olması ile birlikte embriyo kalitesi hakkında ilk değerlendirmeler sağlanabilmektedir. Normalden daha küçük veya daha büyük yapıya sahip pronukleus varlığı embriyonun geç döllenmesine, kromozomal anomali ve fragmantasyon riskinde artışa neden olmaktadır (Magli vd., 2012).



Şekil 2.6: Fertilizasyon (Magli vd., 2012)

Fertilizasyonu takiben gerçekleşen ilk mitoz bölünmeler ile ayrılma süreci başlar. Zigot katlanarak devam eden mitoz bölünmeler sonucu eşit büyüklükte ve daha küçük hacme sahip “blastomer” adı verilen yavru hücreleri oluşturur. Art arda devam eden bölünmeler ile 48 saat sonra 4 blastomerli, 60 saat sonra 8 blastomerli embriyo yapısı oluşmaktadır (Gardner vd., 2004).

Fertilizasyondan üç gün sonra embriyo, 12-16 blastomerden oluşan "Morula" yapısını oluşturur. Dördüncü günde, morulanın iç ve dış hücre kitlesi ayrılır. Bu ayrılma ile blastomerler arasında oluşan boşluk endometriyal sıvı ile dolarak "blastosöl" adını alır. Blastosöl oluşumu ile embriyo "blastosist" adını alır; iç hücre kitlesi "embriyoblast", dış hücre kitlesi ise "trofoblast" olarak adlandırılır (Magli vd., 2012).



Şekil 2.7: Blastosist Aşaması Embriyoları (Magli vd., 2012).

A. Hücrelerin birleşmeye başladığı morula evresindeki erken blastosist. B. Hücreler arası boşluğun oluştuğu “erken evre blastosist (kavitasyon)”. C. Dış trofektoderm tabakası ve “iç hücre kitlesinin (ICM)” yeni oluşmaya başladığı erken blastosist. D. “İç hücre kitlesi (ICM) ve trofektoderm tabakasının” belirgin olduğu blastosist. Preimplantasyon genetik tanı, in vitro fertilizasyon yöntemlerinden biridir.

Fertilizasyondan sonra hızla artan mitoz bölünmeler ile blastosist endometriyuma tutunur ve plasenta oluşumunu başlatır. Bu implantasyon süreci, fertilizasyondan sonraki 5-6 gün içinde gerçekleşmektedir. Anneye ait genler tarafından organize edilir. Bu evre, embriyonun ileri gelişim aşamaları üzerinde büyük etkiye sahiptir (Magli vd., 2012).

Embriyo gelişimi sırasında, sürekli mitotik bölünmeler sonucunda oluşan çekirdeksiz hücre yapılarına fragman adı verilir. Fragman oranı, embriyonun implantasyonu ve anoploidi ile ilişkisinin belirlenmesinde etkili olmaktadır. Meydana gelen embriyolar;

blastomer simetrisi ve büyüklüğü, her bir blastomerdeki nukleus varlığı ve fragmentasyon yüzdesi gibi parametreler açısından değerlendirilmektedir (Holte vd., 2007).



Şekil 2.8: Klivaj Embriolarında %10 Oranında Fragmentasyon (Magli vd., 2012).

Düşük oosit kalitesi ve düşük sperm kalitesi embriyo gelişimi üzerine olumsuz etki etmektedir. Sperm kalitesinin belirlenmesinde geleneksel semen analizi yetersiz kalmaktadır. Genom ve epigenom bütünlüğü, fertilizasyon, normal embriyo gelişimi ve başarılı implantasyon için genetik testler daha etkili olmaktadır. Sperm DNA hasarı, embriyo gelişimiyle negatif ilişkilendirilmekte olup DNA hasarının artan düşük riskine etken olabileceği ancak RIF (tekrarlayan implantasyon başarısızlıklarıyla) ile ilişkisinin henüz tespit edilmediği belirtilmektedir (Margalioth vd., 2006; Munné, 2006).

Embriyo kalitesi, embriyonun sağlığı, gelişimi ve implantasyon potansiyelinin değerlendirilmesi anlamına gelmektedir. Bu değerlendirme, embriyonun hücresel yapısı, bölünme hızı, hücrelerin simetrisi ve genel sağlık durumu gibi faktörlere dayanmaktadır. Embriyo kalitesi, değerlendirme yapılan güne göre yorumlanır. Örneğin, ikinci gün yapılan değerlendirmede embriyonun 3-4 hücreye sahip olması ideal kabul edilirken, üçüncü gün yapılan değerlendirmede 7-8 hücreye sahip olması ve gelişim gününe uygun hücre sayısına ulaşması beklenmektedir. Granülasyon göstermeyen, düzenli sitoplazmik dağılıma sahip olması ve %10 oranında

fragmentasyon içermesi de kaliteli bir embriyo için gerekli kriterler arasında yer almaktadır (Thompson vd., 2016).



Şekil 2.9: Klivaj Dönemi Embriyo Kalitelenendirme Örnekleri (Ünal, 2019).

Embriyolarda aneoploidinin esas olarak anneye ait faktörlerden kaynaklı olduğu belirtilmektedir. Babaya ait faktörlerin embriyo anöploidisine katkısı yoğun bir tartışma konusu olmaya devam etmektedir. Erkek gametin embriyonik cinsiyet kromozomu anöploidilerinin oluşumunda rol oynayabileceği belirtilmektedir (Thompson, Brown ve Sutton-McDowall, 2016).

Sperm hücresinin gelişmekte olan embriyo üzerindeki etkisini tam olarak anlamak için, hem erkek hem de dişi gametlerin oluşum basamaklarında meydana gelen farklı adımların yanı sıra, preimplantasyon embriyo gelişimindeki ilk protein yapısında oluşan nicel ve nitel değişikliklerin de dikkate alınması gerektiği belirtilmektedir (Castillo, Jodar ve Oliva, 2018).

İnsan sperm proteinlerini derlemek, kökenlerini tanımlayabilmek ve oosit döllemesi, preimplantasyon embriyogenizi ve epigenetik kalıtım sırasındaki ilişkilerini incelemek üzere yapılan bir çalışmada; sperm, oosit, embriyo ve ek üreme hücreleri ile sıvıları üzerindeki proteomik çalışmalar için kapsamlı bir bilimsel literatür araştırması gerçekleştirilmiş. Spermde 6871, oositte 1376 ve blastosistte 1300 protein tanımlanmış ve rapor edilmiştir. Sperm proteomunun daha derin bir analizi ile dölleme süreçlerinde rolü bilinen 103 protein ve erken embriyo gelişiminde rolü olan 93 protein

tespit edilmiştir. Bu proteinlerden bazılarının, embriyo genom aktivasyonundan sonra gen ekspresyonunun düzenlenmesi için kritik olabileceği vurgulanmış. Döllenme, embriyo gelişimi ve babaya ait epigenetik kalıtım süreçlerinde spesifik sperm protein gruplarının rollerini araştıran daha kapsamlı çalışmaların gerekli olduğu belirtilmiştir (Castillo, Jodar ve Oliva, 2018).

2.6.2. İmplantasyon

İmplantasyon, genetik yapıları ve immün sistemleri tamamen farklı olan embriyoya ve anneye ait dokuların birleşmesi sürecidir. Blastosist ve endometriyumun aktif olarak eş zamanlı katıldığı bir süreçtir. İmplantasyon ile embriyonun maternal dokuya sıkı ya da gevşek bir şekilde bağlanması ve gerekli besinlere ulaşarak gelişimi sağlanır. Bu süreç, embriyo ile endometriyum arasında çift yönlü bir etkileşimi gerektirir ve implantasyon öncesi bu iki yapıda eş zamanlı kapsamlı bir hazırlık aşaması başlamaktadır (Sengupta ve Ghosh, 2014; Matsumoto, 2017).

İmplantasyon, uterus ve blastosisti etkileyen moleküllerin senkronize olarak apozisyon, adezyon ve invazyon aşamalarını içeren karmaşık bir süreçtir. Bu süreç, büyüme faktörleri “adezyon ve adezyon engelleyici faktörler, prostaglandinler, sitokinler, ekstraselüler matriks proteinleri ve immünolojik” faktörleri içeren bir sistem aracılığıyla gerçekleşir (Matsumoto, 2017).

İmplantasyon öncesi uterus ovaryum kaynaklı steroid hormonlar tarafından yönetilen bir farklılaşması süreci geçirerek ;blastosisti kabul etmeye hazır olduğu aşamaya gelmektedir.Bu aşamada endometriyumda progesteron salınımına bağlı olarak hücrel ve morfolojik değişiklikler gerçekleşir. Endometrium implantasyon sürecinde, fetüsün gelişimi için damardan zengin hale gelerek desidua adını alır.Endometrial stroma hücreleri de farklılaşarak desidual hücrelere dönüşür embriyoyu beslemek üzere lipid ve glikojen depolar (Egashira ve Hirota, 2013; Harem, 2016).

İmplantasyon öncesinde endometriyum epiteli de birtakım değişiklikler geçirir. Epitel hücrelerinin yassılaştığı ve mikrovillus sayısının azaldığı belirlenmiştir. Birçok türde mikrovillusların yerini pinopod adı verilen endometrial epitel hücrelerinin membranlarındaki mikro çıkıntılar almaktadır. Pinopodlar, uterodamlar olarak da bilinir ve doğal menstrüel siklusun 19-21. günleri arasında oluşur. İnsan embriyoları için önemli tutunma alanlarıdır (Dunn ve Kelly, 2003).

Pre-implantasyon aşamasında endometriyum, östrojen ve progesteronun uygun zamanlardaki karşılıklı etkileşimi sayesinde, hücre çoğalması ve yeniden şekillenme gibi belirgin değişiklikler geçirerek embriyoyu kabul etme yeteneği (reseptivite) kazanır (Elnashar ve Aboul-Enein, 2004).

Endometrial reseptivite, implantasyona uygun bir embriyoya engel olabilecek inhibitör bileşenlerin kaybı ve endometriyumun embriyonun uterin epiteline adezyon ve invazyonuna izin veren özellikleri kazanması anlamına gelir. Bu aşamada, endometriyum küçük bir östrojen piki ile embriyoya karşı adezyon ve invazyon yeteneği kazanır. Ovulasyondan ortalama altı gün sonra endometriyum implantasyona hazır hale gelir ve bu durum yaklaşık dört gün sürer (Aplin, 2000).

Embriyonun implantasyonuna olanak tanıyan bu sürece "implantasyon penceresi" denir. Her menstrual döngüde, endometriyum kısa bir süre için implantasyona uygun hale gelir. İmplantasyon penceresinin oluşumunda progesteron ve östrojen hormonlarının regülasyonu, proliferasyon ve farklılaşmayı düzenleyen ana faktörler olarak rol oynamaktadır (Emiliani vd., 2005; Ercan ve Ceyhan, 2024).

Endometriyum farklılaşmasında ve implantasyon aşamalarında önemli rol oynayan hücre adezyon molekülleri arasında prostaglandinler, lösemi inhibitör faktör integrinler, kaderinler, selektin immünoglobulin süper ailesinin üyeleri bulunmaktadır. Her biri, endometrial yenilenme ve embriyo implantasyonunu etkilemektedir (Aplin ve Ruane, 2017).

Prostaglandinler (PG), implantasyon döneminde aktif olan biyoaktif lipid bileşikleridir. Vasküler geçirgenlik, stromal desidualizasyon, blastosist büyümesi ve gelişimi, embriyonun taşınması, trofoblast göçü ve implantasyon sırasında hücre dışı matrisin yeniden şekillenmesi gibi birçok metabolik faaliyette görev alırlar (Aplin ve Ruane, 2017).

“Lösemi inhibitör faktör (LIF), glikoprotein” yapısında bir sitokin olup, insan “endometriyumunda menstrüel” döngüye bağlı olarak eksprese edilir. En yüksek LIF seviyesi, döngünün 19-25. günleri arasında, implantasyon döneminde görülür. Foliküler sıvıda ovulasyon sırasında artan LIF, ovulasyon, erken embriyonik gelişim ve implantasyonda rol oynayabilir. Ayrıca, plasentadaki trofoblast fonksiyonunu ve vaskülogenezisi düzenler (Aghajanova, 2004).

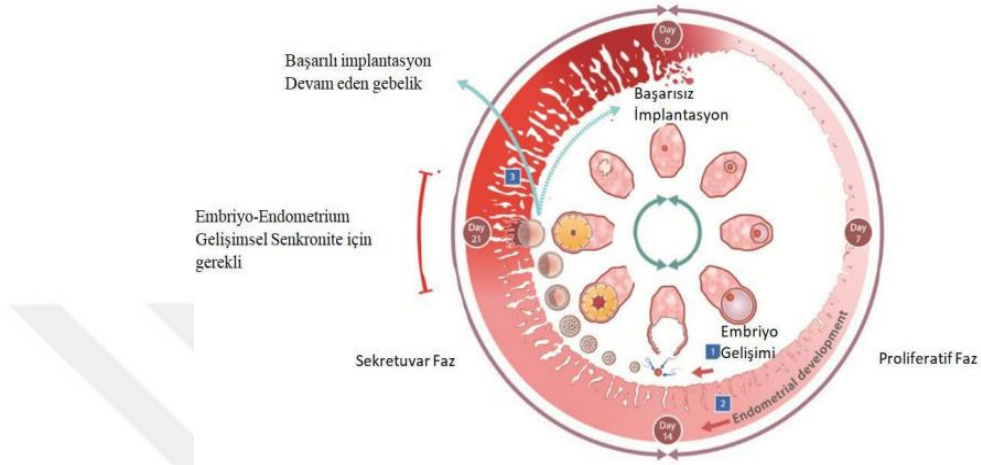
İntegrinler, hücrelerin ekstrasellüler matrikse bağlanması, hücre göçü, bölünmesi ve apoptozun inhibisyonunda rol oynayan heterodimerik proteinlerdir. Ayrıca, hücre-hücre yapışma molekülleri olarak görev yapmaktadırlar (Aplin, 1997).

Kaderinler, hücrelerin çevreleriyle etkileşime geçerek implantasyona katkıda bulunan hücre adezyon molekülleridir. Selektinler ise, dolaşımdaki lökositler ve endotel arasındaki ilk etkileşimi sağlayan kalsiyum bağımlı glikoproteinlerdir. Hem “blastosistin endometriyuma” tutunmasında hem de “sitotrofoblastların invazyonunda” önemli rol oynarlar (Cruse, Lewis ve Wang, 2004; Shih ve Wang vd., 2002).

Kemokinler, bağışıklık sisteminde işlev gören sitokinlerdir. Uterusta, kemokinlerin trofoblastları implantasyon bölgesine yönlendirdiği ve endometriyumda ekspresyonlarının implantasyon penceresi sırasında en yüksek seviyeye ulaştığı tespit edilmiştir (Salamonsen, Hannan ve Dimitriadis, 2007).

Başarılı bir implantasyon için, döllenme sonucunda oluşan zigotun blastosist aşamasına kadar düzgün bir şekilde gelişmesi, embriyonun aktivasyon kazanması, endometriyumun reseptif hale gelerek blastosistin invazyonuna izin vermesi ve

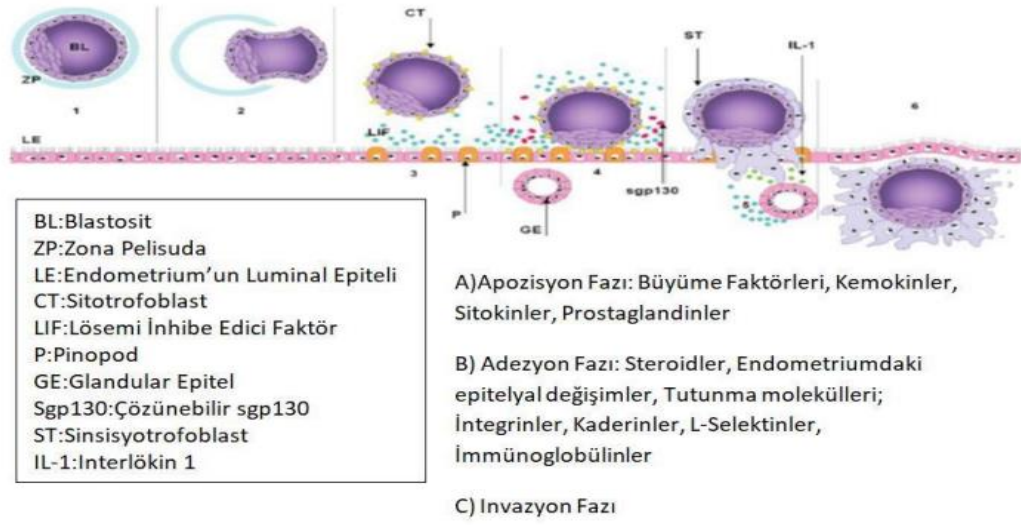
moleküler olarak programlanmış hücre büyümesi ve farklılaşmaya sahip kaliteli bir embriyo ile endometrium ve embriyo arasındaki bilgi alışverişi gerekmektedir. Bu etkileşime, çeşitli genler, hormonlar, adezyon molekülleri ve sitokinler gibi birçok faktör tarafından aracılık edilmektedir (Teh vd., 2016; Yılmaz ve Tekmen, 2019).



Şekil 2.10: Başarılı İmplantasyonda İlişkili Faktörler (Teh vd., 2016).

İmplantasyon süreci, döllenmeden 7 ile 8 gün sonra embriyonun uterin epiteline apozisyonu ve adezyonu ile başlar ve bu aşama hücre dışı bileşen düzenleyici proteinler, sitokinler ve adezyon molekülleri tarafından düzenlenir. İmplantasyon sırasında, blastosist trofoblastlarının maternal hücrelerle temas etmesi sonucu, sitokinler, büyüme faktörleri ve reseptörler etkileşime girerek membranlar arasında "junctional" kompleksler oluşturur (Teh vd., 2016).

“İmplantasyonda integrinler ve selektinler” gibi adezyon molekülleri ile salgılanan enzimler ve matriks bileşenleri, blastosistin uterin epiteline adezyonunu ve invazyonunu başlatır. Bu süreçte “embriyoblast epiblast ve hipoblastlara, trofoblastlar ise sinsityotrofoblast ve sitotrofoblastlara” farklılaşır. Trofoblast hücreleri endometrium epiteli altına girerek invazyon gerçekleştirir. İmplantasyonun son aşamasında, maternal damar invazyonu ile spiral arter duvarları yıkılır, endovasküler trofoblastlar sinüzoidal sak oluşturarak plasenta oluşumunu başlatır (Teh vd., 2016; Yılmaz ve Tekmen, 2019).



Şekil 2.11: İmplantasyon Aşamaları (Fitzgerald vd., 2008).

İmplantasyon üç aşamada gerçekleşmektedir:

1. Apozisyon (Hazırlık): Fertilizasyondan yaklaşık 6 gün sonra, blastosistin zona pellucidadan çıkarak uterusu ulaşması ve implantasyonun gerçekleşeceği uygun endometriyum bölgesine yaklaşarak gerçekleştirdiği stabil olmayan ilk tutunma aşamasıdır. Parakrin sinyalleme muhtemelen blastosisti implantasyon bölgelerine çeker ve zona pellucidadan çıkış gibi sonraki aşamaları düzenler. Blastosist, implantasyon penceresinin başlangıcında endometriyuma kademeli olarak eklenir. Apozisyon, trofoblastların apikal yüzeylerinin, uterus epitelinin apikal yüzeyine tutunması ile başlamaktadır. Bu dönemde, maternal hücreler ve embriyo arasındaki iletişim büyüme faktörleri, kemokinler, sitokinler ve prostaglandinler aracılığıyla gerçekleşmektedir (Gardner vd., 2010).
2. Adezyon, blastosistin endometrial epitel yüzeyine stabil olarak bağlanması aşamasıdır ve embriyonun “uterusa” tutunmasıyla “endometriyal epitel” hücreleri ve trofoblastlar arasında pinopod adı verilen bağlantılar oluşur. İnsanlarda bu faz, ovulasyondan 6 ile 7 gün sonra “implantasyon penceresi” olarak adlandırılan dönemde gerçekleşir (Taşkın, 2019).

3. İnvazyon (Gömölme Süreci): Embriyonik trofoblastın endometriyuma penetre olması ve anne ile vasküler bir ilişki kurmak için bazal membranı delerek stromaya ilerlemesi aşamasıdır. Trofoblastlar, sırasıyla endometriyum, miyometriyumun 1/3'lük kısmı ve uterin vasküler yapılara infiltrasyonu ile devam etmektedir (Yılmaz ve Tekmen, 2019).

İmplantasyon, yardımcı üreme tekniklerinin başarısında kritik bir adımdır. Başarı, embriyo kalitesi, endometriyal alıcılık ve dengeli bir embriyo-endometriyum etkileşimine bağlıdır. Başarısız implantasyonun infertiliteye sebebiyet vereceği veya invitro fertilizasyon başarısızlıklarının nedeni olabileceği belirtilmektedir (Taşkın, 2019).

Maternal faktörler; uterusun anatomik anomalileri ve patolojileri, endometriyal reseptivitenin düşük olması veya maternal toleransın sağlanamaması durumları ile yetersiz implantasyonun sebebi olarak değerlendirilebilmektedir (Bashiri vd., 2021).

Blastosistin gelişim aşamasında meydana gelen sorunlar, genetik anormallikler veya embriyonun moleküler mekanizmasına dayanan problemler embriyo kaynaklı başarısız implantasyon nedenleri olarak düşünülmektedir. İmplantasyon penceresi döneminde annenin ve embriyonun senkronizasyonunun sağlanamaması durumunda implantasyonun gerçekleşememe sebebi olarak belirtilmektedir (Bashiri vd., 2021).

İmplantasyonun başarısı döllenmiş sperm ve oositin kalitesine ve uygulanan yardımcı üreme tekniklerinin türüne bağlıdır. Bu nedenle yardımcı üreme tekniklerinin başarısızlığında embriyonun gelişimini etkileyen erkek faktörleri rol oynayabilmektedir. Literatürde ,paternal faktörlerin implantasyon üzerine etkilerine yönelik az sayıda çalışma bulunmaktadır ve sonuçlar çelişkilidir (Bashiri vd., 2021).

2.7. Yardımcı Üreme Tedavi Yöntemleri

Yardımcı üreme teknikleri, gelişen teknolojiyi ve kanıtlanmış tedavi tekniklerini kullanarak doğal yollarla gebelik elde edemeyen çiftlerin mümkün olan en sağlıklı ve

en başarılı gebelik sonuçlarını elde edebilmesini amaçlayan ileri teknolojilerden oluşmaktadır. Günümüzde bu tekniklerin gelişmesi ve yaygınlaşmasıyla, daha önce çocuk sahibi olma şansı olmayan birçok infertil çift, kendi çocuklarına sahip olma şansını elde etmiştir (Kırca ve Öngen, 2020).

İnfertil bir çiftin tedavisine başlamadan önce, infertilite nedeninin veya nedenlerinin doğru bir şekilde belirlenmesi gerekmektedir. Tanımlanan nedenlere göre, infertil çiftte özel en uygun ve etkili tedavi yöntemleri seçilerek uygulanmalıdır (World Health Organization, 2009).

Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT) infertil çiftlerde anne ve babaya ait üreme hücreleri ile oluşan embriyoların işlenmesini içeren yaygın tedavi yöntemleridir. “İn vitro fertilizasyon (IVF), intrauterin inseminasyon (IUI) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI)” gibi yöntemleri, donör veya çiftin kendi üreme hücreleri kullanılarak geliştirilmiştir (Kırca ve Öngen, 2020).

İlk geliştirilen ve en yaygın kullanılan yardımcı üreme yöntemi, 1978'deki ilk başarılı gebelikten sonra yaygınlaşan “in vitro fertilizasyon (IVF)” yöntemidir. “Asiste Reprodüktif Teknikler (ART) ve Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT) infertilite tedavisinde” yaygın olarak kullanılmaktadır, ancak implantasyon ve gebelik oranları henüz istenilen seviyelere ulaşmamıştır (Wennerholm ve Bergh, 2020).

Yardımcı üreme teknikleriyle gerçekleştirilen her embriyo transferi için canlı doğum oranının yaklaşık %30 olduğu ve implantasyon başarısızlıklarının %70 kadarının altında yatan nedenlerin henüz tam olarak belirlenemediği ifade edilmektedir. Bu nedenle, her geçen gün yeni parametrelerin değerlendirilmekte olduğu, bazı parametrelerin etkisinin kanıtlandığı, bazılarının ise hala tartışmalı olduğu vurgulanmaktadır (Wennerholm ve Bergh, 2020).

Teknolojinin ilerlemesiyle çeşitli YÜT'ler geliştirilmiştir (Akın ve Şahin, 2020):

- *“Intrauterin İnseminasyon*
- *Gamet Intrafallopian Transferi*
- *Zigot Intrafallopian Transferi*
- *İn Vitro Fertilizasyon ve Embriyo Transferi*
- *Tubal Embriyo Transferi*
- *Dondurulmuş Çözölmüş Embriyo Transferi*
- *Intrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu”*

Gamet Intrafallopian Transferi (GIFT) yöntemi, ovölasyon indüksiyonunun ardından laparoskopi ile alınan oositlerin spermle birlikte doğrudan fallop tüplerine transfer edilmesi işlemini içerir(Taşkın, 2016).

Zigot Intrafallopian Transferi (ZIFT): Kadından toplanan oositler ve erkeğin spermi inkübe edilmekte ve in vitro koşullarda gerçekleştirilen fertilizasyon sonrası oluşan zigot evresindeki embriyo, laparoskopik yöntemle fallop tüpüne yerleştirilmektedir. (Kızılkaya Beji, 2020).

Tubal Embriyo Transferi: Dondurulmuş veya kültür ortamında 24 saatten daha uzun süre bekletilmiş embriyoların, laparoskopi yöntemiyle fallop tüplerine transfer edilmesidir(Akın ve Şahin, 2020).

Dondurulmuş Çözölmüş Embriyo Transferi (DÇET) yöntemi, daha önce yapılan taze siklularda dondurulan embriyoların çözdürölerek kullanılması işlemidir. “Over stimölasyon protokollerinin gelişmesi, vitrifikasyon işlemleriyle yüksek canlı embriyo oranları” elde edilmesi ve hiperstimölasyon riski taşıyan kadınlarda “all-freeze” stratejisinin başarılı bir şekilde uygulanabilmesi bu yöntemin avantajlarıdır (Budak vd., 2021).

2.7.1. Intrauterin İnseminasyon (IUI)

Açıklanamayan infertilite tedavisinde yaygın olarak kullanılan intrauterin inseminasyon (IUI), diğler yardımcı üreme tekniklerine göre vücut bütönlüğünü daha

az etkilediği ve daha kolay olduğu için birinci basamak tedavi olarak tercih edilir. Bu yöntemde, erkeğin yıkanmış ve özel kültür solüsyonu ile işlenmiş spermeleri, kadının ovulasyon döneminde kanül veya enjektör ile doğrudan uterus içine verilir. IUI, erkek faktörü infertilitesi, servikal mukus bozuklukları, endometriozis, dispareni gibi durumlarda tercih edilir. Avrupa Üreme Tıbbı ve Embriyoloji Derneği'ne (ESHRE) göre, IUI sonrası canlı doğum oranları %8.9 olarak belirtilmiştir (Kabukçu ve Çabuş, 2021; El-Khaya vd., 2012; Gezginc vd., t.yok; Kupka vd., 2014).

İleri baba yaşının sperm parametreleri ve canlı doğum oranları üzerindeki etkisini 1576 IUI döngüsü verilerinin geriye dönük analizi ile inceleyen bir çalışmada, ileri baba yaşı ile sperm parametreleri arasında bir korelasyon olmadığı ve IUI sonrası çiftlerde ileri baba yaşının gebelik sonuçlarını etkilemediği belirtilmiştir (Tatsumi vd., 2018). ART uygulamalarında, in vitro döllenen bir oositin ortamı, laboratuvar parametreleri, kültür ortamı ve kültür süresi gibi faktörler nedeniyle fallop tüpleri veya uterustaki in vivo ortamdan farklı olduğu için, ART'de kullanılan kültür ortamı ve uzun kültür dönemlerinin fenotipi etkileyebilecek değişikliklere yol açabileceği belirtilmiştir. Buna karşılık, IUI sırasında döllemenin doğal ortamda gerçekleşmesi nedeniyle, ileri baba yaşının sperm parametreleri ve dölleme bozuklukları üzerindeki etkisini daha doğru bir şekilde yansıtabilmektedir (Akın ve Şahin, 2020).

2.7.2. In-Vitro Fertilizasyon (IVF)

İn vitro fertilizasyon (IVF), laboratuvar ortamında oosit ve spermin bir araya getirilmesiyle spermin kendi yetenekleri ile oositi döllemesi esasına dayanan bir yöntemdir. Daha detaylı bir ifadeyle, IVF; kontrollü ovaryan stimülasyon sağlamak amacıyla ekzojen gonadotropin verilerek oluşturulan oositlerin, transvajinal ultrasonografi (TV-USG) rehberliğinde vajinal yoldan toplanması ve laboratuvar koşullarında gerçekleştirilen fertilizasyon sonucu elde edilen embriyoların, transservikal yolla endometrial kaviteye transfer edilmesi işlemlerini kapsamaktadır. Günümüzde infertilite tedavisinde en çok tercih edilen yardımcı üreme tekniklerinden biri olan IVF'de, her embriyo transferi için canlı doğum oranı yaklaşık %30 olarak belirtilmiştir (Akın ve Şahin, 2020).

IVF yönteminin basit ve düşük maliyetli olması, oosite uygulanan etkisinin daha az olması ve spermin dış müdahale olmaksızın oosit ile birleşmesi gibi avantajlar sunmaktadır. IVF, tubal faktör, anovulasyon ve açıklanamayan infertilite, ileri evre endometriozis gibi başka yöntemlerle tedavi edilemeyen kesin endikasyonların yanı sıra, diğer tedavilerin başarısız olduğu multifaktöriyel infertilite durumlarında da kullanılmaktadır (Akın ve Şahin, 2020; Bauer vd., 2017).

IVF uygulamalarında başarıyı etkileyen en önemli faktör olarak kadının yaşı belirtilmektedir. Artan anne yaşı ile birlikte daha az oosit elde edilir. Bununla birlikte oositte oluşabilecek anomali riskinin kadın yaşına bağlı olarak arttığı vurgulanmaktadır. Bu durum artan embriyo anoploidi oranları ve daha düşük embriyo implantasyon oranları ile ilişkilendirilmektedir. Artmış anöploidi prevalansı da yardımcı üreme tekniklerindeki düşük oranı ile ilişkilendirilmiştir. 35 yaşın altında % 15'ten az, 38 yaşında % 20, 40 yaşında % 29 ve 44 yaş üzerinde % 60 olarak belirtilmektedir (Bauer vd., 2017).

2.7.3. Intrasiitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI)

ICSI, bir sperm hücresinin özel bir pipet yardımıyla oositin sitoplazmasına enjekte edilmesi işlemi olup, genellikle erkek kaynaklı infertilite vakalarında kullanılır. Bu yöntem, sperm konsantrasyonunun 2 milyon/ml'den az, sperm motilitesinin %5'ten düşük ve normal sperm morfolojisinin %4'ten düşük olduğu durumlarda tercih edilmektedir (Delilbaşı, 2008).

Ejakülatta sperm hücresi bulunmayan vakalarda, cerrahi yöntemlerle epididimal veya testiküler sperm elde edilerek ICSI uygulanır. Klasik IVF yöntemi başarısız olan hastalarda, ileri yaş kadın faktörü veya düşük over rezervi olan kadınlarda da ICSI tercih edilir (Delilbaşı, 2008).

ICSI işlemi öncesinde yeterli sayıda olgun oosit elde etmek için, çeşitli yöntemler ile ilaçlar kullanılarak ovaryumlar uyarılır. Bu işlemler, hastanın yaşı, önceki denemeleri, oosit rezervi ve FSH düzeyine göre kişiye özel olarak belirlenir (Delilbaşı, 2008).

Ovaryumda bulunan foliküller istenilen büyüklüğe ulaştığında ve uygun östrojen seviyeleri sağlandığında, hastaya HCG enjekte edilir. Bu protokolden 36 saat sonra, ultrasonografi eşliğinde vajinal yolla yumurta toplama işlemi (OPU) gerçekleştirilir (Gürsoy, 2008).

Yumurtalar toplandıktan sonra, denüasyon işlemiyle oositin etrafındaki kümülüs ve granüloza hücreleri temizlenir. Elde edilen olgun oositler, yıkanarak en iyi hareket ve morfolojiye sahip spermle mikromanipülasyon mikroskobu kullanılarak kültür ortamında birleştirilir ve ICSI işlemi gerçekleştirilir (Gürsoy, 2008).

İleri baba yaşının , YÜT sonuçlarına etkisi oldukça tartışmalı olmakla birlikte APA kötü embriyo kalitesi, fertilizasyon ve implantasyon oranlarında azalma gebelik ve canlı doğum oranlarında düşüş ile aynı zamanda IVF/ICSI gebeliklerinde artan düşük oranlarıyla ilişkilendirilmiştir (Eisenberg, 2022).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmanın Tasarımı

Bu çalışmada, in vitro fertilizasyon (IVF) tedavisi görmüş olan çiftlerde 2 farklı yaş grubundaki erkeklerde (≤ 38 , ≥ 39) yaşa bağlı olarak sperm parametreleri ve IVF tedavilerine etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada; Akdeniz Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Üremeye Yardımcı Tedaviler Merkezi'nde 2021 ve 2022 yıllarında tedavi gören hastaların verileri analiz edildi.

Çalışma için “ 30.05.2024/352 sayılı kararı ile Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul onayı alınmıştır.”

3.2. Hasta Seçimi

Çalışmaya dahil olma kriterleri

Çalışmaya endokrinolojik ve/veya metabolik bozukluklar göstermeyen erkekler dahil edilmiştir. Bununla beraber kadın yaşının 25-35 arasında olması, en az 1 olgun oosit elde edilmiş olması, taze ejakulat spermi kullanılmış olması şeklindedir. Elektif frozen embriyo transferi (eFET) ve preimplantasyon genetik testi (PGT) hastaları ile fertilite korunması hastaları dahil edilmemiştir.

3.3. Çalışmada Kullanılan Yöntemler

Retrospektif kohort çalışması olarak planlanmış olup ek yöntem ve araç ek tanı ve tedavi yöntemi kullanılmadı. Çalışmaya özel herhangi bir ek laboratuvar testi bulunmamaktadır. Kadın ve erkek yaşları dosya kayıtlarından elde edildi.

Çalışmada semen analizleri WHO kriterlerine göre gerçekleştirildi. Embriyo kültür ortamları, tek basamaklı kültür ortamlarında IVF parafin yağı (Ovoil, Vitrolife, İsveç) kullanılarak hazırlandı. Folikül aspiratlarından izole edilen kümülüs ooforus kompleksleri (COC), MOPS ile tamponlanmış insan serum albümini içeren kültür ortamlarına “(G-MOPS Plus, Vitrolife, İsveç)” alındı. Hassas iğnelerle fazla kümülüs hücrelerinden arındırılan bu kompleksler, dengelenmiş “fertilizasyon medyumuna (G-IVF Plus, Vitrolife, İsveç)” içeren kaplara konuldu. İki saatlik inkübasyon sonrası, “enzimatik sindirme (Hyase, Vitrolife, İsveç) ve pipetleme ile kümülüs ooforus ve korona radyata” hücrelerinden ayrılan olgun oositler, G-MOOPS solüsyonuna aktarılarak ICSI yöntemiyle döllendirildi. Enjekte edilen oositler, taze, dengelenmiş ve insan serum albümin içeren time lapse medyumlarına “(G-TL Plus, Vitrolife, İsveç)” yerleştirildi. Embriyolar, pronükleer aşama ve 3-5. gün değerlendirmesine kadar aynı medyumda tutuldu. Oosit toplama işlemi sonrası 14. günde β -HCG ≥ 25 olması durumunda gebelik pozitif olarak kabul edildi. İmplantasyon oranı, transvajinal ultrasonografi ile gözlenen gestasyonel kese sayısının transfer edilen embriyo sayısına bölünmesiyle hesaplandı. 6-8. gestasyonel haftalarda gestasyonel kese içinde fetal kalp atımı saptanması klinik gebelik olarak tanımlandı.

Toplanan oosit sayıları, olgun oosit sayıları, sağlıklı fertilizasyon oranları (2PN sayısı/MII sayısı), blastokist aşamasına ulaşan embriyo oranları (gelişen embriyo

sayısı/2PN sayısı) ve implantasyon oranları (fetal kalp atımı sayısı/transfer edilen embriyo sayısı) dosya kayıtlarından elde edilerek hesaplandı.

Yüzdelere arasındaki farklılıkları belirlemek için Khi kare, ortalamalar arasındaki farklılıkları belirlemek için T-Testi kullanıldı. Tüm analizlerde $p < 0,05$ değeri anlamlı kabul edildi. Araştırmada yer alacak olan hastalar Akdeniz Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi'nde infertilite tanısı ile üremeye yardımcı tedavi alanlar olup 2021-2022 dosya kayıtlarından alındı. İstatistikçi desteği alınmamıştır.

4. BULGULAR

Bu retrospektif kohort çalışmasında Ocak 2021 – Aralık 2022 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Sağlık Uygulama ve araştırma Hastanesi ÜYTE Merkezine başvuran infertil hastalardan çalışma kriterlerine uyan 38 yaş ve altı ($n=460$) ve 39 yaş ve üzeri ($n=199$) hasta gruplarında (toplam 659) üremeye yardımcı tedavi sonuçları incelendi. 38 yaş ve altı ile 39 yaş ve üzeri erkeklerin ÜYTE tedavilerinin ortalama değerleri kıyaslandığında her iki grup arasında sırasıyla kadın yaşı (30,3 [$\pm 2,9$]; 30,5 [$\pm 2,9$], $P=NS$) toplanan oosit sayıları (12,8 [$\pm 8,9$]; 12,8 [$\pm 10,1$], $P=NS$), olgun oosit sayıları (10,3 [$\pm 7,4$]; 10,3 [$\pm 8,8$], $P=NS$), toplam sperm sayısı (19,7 [$\pm 13,2$]; 19,5 [$\pm 13,1$], $P=NS$), yüzde sperm motilitesi (70,2 [$\pm 16,6$]; 68,8 [$\pm 19,3$], $P=NS$), yüzde progressif motil oranı (62,1 [$\pm 17,4$]; 61,1 [$\pm 19,3$], $P=NS$) aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü (Tablo 1).

Tablo 4.1: 38 Yaş ve Altı Erkekler ile 39 Yaş ve Üstü Erkeklerle Ait Temel Laboratuvar Demografileri

	38 ve ALTI (n=460)	39 ve ÜSTÜ (n=199)	<i>P değeri</i>
KADIN YAŞI	30,3	30,5	NS
TOPLANAN OOSİT	12,8	12,8	NS
MATÜR (MII)	10,3	10,3	NS
SPERM SAYISI (x106	19,7	19,5	NS

MOTİLİTE (%)	70,2	68,8	NS
PROGRESSİF MOTİLİTE (%)	62,1	61,1	NS

ÜYTE tedavilerine 38 yaş ve altı ile 39 yaş ve üzeri erkeklerin etkileri incelendiğinde, sırası ile fertilizasyon (%52; %49, P=NS) ve implantasyon (%44; %42,1, P=NS) oranları arasında istatistiksel bir fark olmadığı gözlemlendi. Blastokist aşamasındaki embriyo gelişim oranları incelendiğinde (%45,5; %41,4, P=0,01) 39 yaş ve üzeri erkeklerde embriyo gelişim oranlarının istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha zayıf olduğu görüldü (Tablo 2)

Tablo 4.2: 38 Yaş ve Altı Erkekler ile 39 Yaş ve Üstü Ürkeklerin IVF Sonuçları

	38 ve ALTI (n=460)	39 ve ÜSTÜ (n=199)	<i>P değeri</i>
FERTİLİZASYON (%)	52	49,6	NS
EMBRIYO GELİŞİMİ (%)	45,5	41,4	< 0,05
İMLANTASYON (%)	44,6	42,1	NS

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Gelişen toplumlarda, birçok kişi kariyer planlaması, ekonomik kaygılar, sosyo - kültürel değişimler gibi çeşitli faktörlerle çocuk sahibi olamayı ertelemektedir. Kadın yaşının doğurganlık, üreme sonuçları ve yavru sağlığı üzerindeki etkilerine yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Ancak baba yaşının infertilite üzerine etkilerine ilgi son yıllarda artış göstermiştir ve az sayıda çalışma bulunmaktadır.

İleri baba yaşı (APA); semen hacminde, toplam sperm sayısında, sperm hareketliliğinde, sperm canlılığında ve morfolojisinde azalma ve sperm DNA fragmentasyonunda artışla ilişkilendirilmektedir (Halvaei ve Litzky, 2020).

Sperm parametrelerinde oluşan değişikliklere bağlı olarak baba yaşının embriyo kalitesini, fertilizasyonu ve implantasyon oranları ile doğum ve düşük oranlarını, YÜT yöntemleri sonuçlarını olumsuz etkileyerek infertilite nedeni olabileceği belirtilmektedir (Halvaei ve Litzky, 2020).

Çalışmamızda iki farklı yaş grubundaki erkeklerde, yaşa bağlı olarak sperm parametrelerindeki değişimlerin; embriyo gelişim ve kalitesi ile IVF tedavilerinin sonuçları üzerindeki etkisinin incelenmesi ve ileri baba yaşının infertilite ile ilişkili olduğunun ortaya konması amaçlanmıştır. Bu amaçla ≤ 38 yaş erkekler ile ≥ 39 yaş erkelerin sperm parametreleri ve IVF tedavi sonuçlarına etkileri incelenmiştir.

Sperm Parametreleri

Literatürde, yaşın sperm parametreleri üzerine etkilerine yönelik yapılan çalışmalarda; genel bir eğilim olarak semen hacmi, normal morfoloji ve ilerleyici motilitenin yaşla birlikte azaldığı, sperm konsantrasyonunun yaşla tutarsız bir ilişkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Johnson vd., 2015). Kumar ve diğ., semen hacmi, toplam sperm sayısı, sperm motilitesi ve morfolojinin ortalama değerlerinin çalışmalarında yaşın artmasıyla birlikte sürekli bir düşüş gösterdiğini bulmuşlardır (Kumar vd., 2017).

Demirkol ve diğ., semen parametrelerindeki değişiklikleri farklı yaşı gruplarına göre analiz etmek ve semen kalitesindeki düşüş için yaşı eşığini belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında; erkek hastaları yaşı grupları 20-29, 30-34, 35-39, 40-44 ve 45-55 yıl olacak şekilde sınıflandırmış ve yaptıkları çalışma ile infertil erkeklerde yaşılanmanın semen parametrelerini olumsuz etkilediğini belirlemişlerdir. İlerleyen yaşıla birlikte, infertil erkeklerde sperm motilitesi, morfolojisi ve canlılığında önemli ve doğrusal bir azalma gözlemlediklerini ancak semen hacminde, sperm konsantrasyonunda ve toplam sperm sayısında doğrusal bir düşüş olmadığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte sperm motilitesi, morfolojisi ve canlılığındaki düşüşün 35 yaşı ve üstünde devam ettiğini vurgulamışlardır. Yaşı grupları arasında sperm konsantrasyonu ve toplam sperm sayısı açısından önemli bir fark olmasına rağmen, ilerleyen yaşıla birlikte bu parametrelerde önemli bir azalma olmadığı kaydedilmiştir (Demirkol vd., 2021). Bununla birlikte yapılan bir meta-analiz çalışmasında; sperm sayısının artan yaşıla değişmediğini, ancak yaşılı erkeklerde sperm konsantrasyonunun potansiyel olarak semen hacminin azalmasına bağlı azaldığı bulunmuştur (Kumar vd., 2017). Başka bir literatür çalışmasında testiküler sperm ekstraksiyonunda yaşı sperm elde etme oranı ile ilişkili olmadığı bulunmuştur (Ramasay vd., 2014).

Günlük sperm üretimi yaşıla negatif ilişkilendirilmiş ve 50 yaşından büyük erkeklerde %30'dan fazla azaldığı belirtilmiştir. Yapılan bir çalışma da erkeklerin meni yaşıının her 5 yılda bir 0,22 ml azaldığı ve sperm sayısının 41 yaşından itibaren önemli ölçüde azalmaya başladığı bulunmuştur (Verón vd., 2018).

Benzer şekilde erkek yaşıının artmasıyla sperm toplam motilitesinin her 5 yılda bir %1 azaldığı belirtilmektedir (Begueria ve Garcia, 2014). Pino ve ark., 40-50 yaşıındaki erkeklerle karşılaştırıldığında 50 yaşıin üzerindeki erkeklerde ilerleyici motilite oranının iki kat azaldığını bulmuşlardır (Pino vd., 2020).

Yakın zamanda yapılan iki çalışma da 41 ve 41,5 yaşılarından itibaren sperm sayısında önemli bir azalma olduğunu bulmuştur (Verón vd., 2018). Sperm morfolojisi ve yaşı arasındaki ilişkiyi inceleyen bir derlemede, 14 çalışmadan dokuzu yaşıla ilişkili normal

sperm yüzdesinde bir azalma olduğunu belirlemiştir diğer beş çalışma bir ilişki göstermemiştir (Kidd, Eskenazi ve Wyrobek, 2001).

Johnson ve ark. tarafından yapılan metodolojik olarak daha güçlü sistematik literatür taramasında, erkek yaşının düşük bir normal sperm yüzdesi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Johnson vd., 2015). Bir diğer çalışmada Sperm canlılığının yaşlanmayla birlikte sürekli olarak azaldığı ve yaş kesme değerinin canlılık için 41.5 yıl olduğu tespit belirtilmiştir (Verón vd., 2018).

Sperm morfolojisinde yaşa bağlı değişiklikleri ve genel popülasyondaki erkeklerde sperm morfolojik kusurlarının belirli kombinasyonlarının prevalansını araştırmak amacıyla yapılan bir araştırmada; farklı yaş gruplarındaki (18–19, 20–24, 25–29, 30–34, 35–40 ve 40 yaş üstü) 1266 gönüllüde sperm morfolojisini incelemek üzere her meni örneğinden 200 sperm değerlendirilmiş. Kıvrımlı ve kısa sperm kuyruklarının sıklığının, gençlere kıyasla 40 yaş üstü erkeklerde arttığı; ancak yaşlanmanın, morfolojik olarak normal sperm yüzdesini etkilemediği ve 40 yaşın üzerindeki erkeklerde, amorf, uzun veya boşluklu kafalarla birlikte sarmal kuyruk kombinasyonlarında artış gözlemlendiği belirtilmiştir. Sperm morfolojisinde yaşa bağlı bozulmalar tespit edilmiştir (Kleshchev, Osadchuk ve Osadchuk, 2023).

Çalışmamızda; 38 yaş ve altı ile 39 yaş ve üzeri erkeklerin sperm parametreleri karşılaştırıldı. Toplam sperm sayısı, yüzde sperm motilitesi ve yüzde prograssif motil sperm oranı arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü. İleri baba yaşının semen parametreleri üzerine etkilerine yönelik yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bu durumun ,semen analizinde ortaya çıkan farklı durumlardan ve hasta grupları arasında ki farklılıklardan kaynaklanabileceği daha kapsamlı yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu belirtilmektedir.

Spermde Moleküler Değişiklikler

İleri paternal yaşın, sperm hücrelerinde çeşitli moleküler değişikliklere yol açarak sperm fonksiyonunun ve genomik bütünlüğün çok yönlü olarak etkilediği belirtilmektedir (Jenkins vd., 2014).

Yaşla birlikte spermde gerçekleşen epigenetik değişiklikleri incelemek üzere yapılan bir çalışmada; 23 ila 56 yaş arasındaki 17 sperm vericisinden 1990 ile 2008 yılları arasında alınan semen örnekleri incelenerek yaşı sperm DNA metilasyonundaki değişikliklere etkisi değerlendirilmiştir. Çalışmada yaşla birlikte hipometile edilen 139 bölge ve yaşla birlikte hipermetile edilen 8 bölge olduğu ve 117 gen, metilasyon değişiklikleri ile ilişkilendirilmiştir. Elde edilen veriler ile spermde gözlemlenen aday genlerin yaşa bağlı metilasyonun insidansının artmasına katkıda bulunma olasılığı olduğu belirtilmiştir. Ve spermde yaşa bağlı metilasyon değişikliklerini yöneten mekanizmalara yönelik daha kapsamlı çalışmalar önerilmektedir (Guo vd., 2023).

Erkek infertilitesinin moleküler mekanizmalarının teşhisinde ve bulunmasında seminal plazmanın metabolik ölçümlerinin yaygın olarak kullanıldığı belirtilmektedir. Bu alanda yapılan retrospektif bir çalışmada; yaşlı erkeklerde semen metabolomu ve proteomunun semen kalitesini etkileyip etkilemediğinin ve semen kalitesini öngörmede biyobelirteç olarak görev yapıp yapmadığının değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Sperm kalitesindeki yaşa bağlı değişiklikleri anlamak için klasik semen analizi yapılan 12825 erkeğe ait sonuçlar analiz edilmiştir. yapılmıştır. Yaşlanan semeni tanımlamak için dört metabolite dayalı bir biyobelirteç paneli oluşturduklarını ve semen metabolomu ve sperm proteomundaki değişikliklerin yaşlı erkeklerde semen kalitesindeki düşüşle ilişkili olduğunu vurgulamışlardır (Guo vd., 2023).

Biz çalışmamızda spermde moleküler değişiklikleri analiz etmedik ancak spermde yaşa bağlı olarak gen ifadesinde, protein profillerinde ve hücre metabolizmasındaki değişikliklerin erkek fertilitesi üzerine etkileri olduğunu ortaya koyan çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Sperm Kromatin Yapısı ve DNA Fragmentasyonu

Sperm kromatin yapısı, DNA'nın sperm çekirdeği içindeki organizasyonunu ve paketlenmesini ifade eder ve paternal genomun bütünlüğünü ve stabilitesini korumada önemli bir rol oynar. Sperm çekirdeği, spermatogenez sırasında histonların

yerini alan özel proteinler olan protaminlerin etrafında düzenlenen DNA ile sıkı bir şekilde doludur. Bu kompakt yapı, DNA'yı hasardan korur. Döllenme ve embriyonik gelişim sırasında stabilitesini sağlar (da Silva ve Schumacher, 2019).

Aşırı DNA yoğunlaşması veya eksik protaminasyon gibi sperm kromatin yapısındaki anormallikler, paternal genomun bütünlüğünü tehlikeye atabilir. Bozulmuş kromatin yapısı sperm kalitesinin azalması, doğurganlığın azalması ve gebelik kaybı riskinin artmasıyla ilişkilendirilmiştir (Pohl vd., 2021).

Sperm DNA fragmentasyonu, sperm hücrelerindeki DNA iplikçiklerinde kırılma veya hasarın varlığını ifade etmektedir. Bu durum, spermin oluşumu sırasında ve/veya taşınması esnasında gerçekleşebilmektedir. Spermatogenez sürecinde, apoptoz meydana geldiğinde ve spermiyogenez sırasında spermin yeniden şekillendiği dönemde, DNA ipliklerinde kırılma veya kopmalar oluşabilir, bu da DNA fragmentasyonu ve kromatin hasarına yol açabilir. Spermin seminifer tübüller ve epididim boyunca taşınması sırasında, hidroksil radikalleri ve nitrik oksit gibi oksijen radikalleri oluşur ve bu radikaller DNA fragmentasyonu ve kromatin hasarına neden olabilir (Rosiak-Gill ve ark., 2019).

İleri paternal yaş ile farklı sperm parametreleri ve sperm DNA fragmentasyonu arasındaki olası korelasyonları araştırmayı amaçlayan bir retrospektif çalışmada; 2681 erkek hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Yapılan analizler sonucu; 50 yaşın üzerindeki erkeklerin sperm hacmi, sperm konsantrasyonu ve sperm DNA hasarı riskinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir. 41 yaş üstü erkeklerde sperm konsantrasyonundaki düşüşlerin daha yüksek olduğu ve 31 yaş üstü erkeklerde de sperm hareketliliğinde ki azalma riskinin daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Konsantrasyonun sabit olması durumunda; yaşın artışının hacim ve hareketlilik anomalilerinde daha fazla artışa neden olduğu ve hacimin sabit tutulması durumunda yaş arttıkça hareketlilik ve konsantrasyon anomalilerinde artış olduğu bununla birlikte hareketlilik sabit olduğunda ise artan yaşın normal semen hacimlerini azalttığı belirlenmiştir ((Pino, Sanz, Valdés, Crosby ve Mackenna, 2020).

Zini ve ark., (2008). Sperm DNA hasarının IVF ve ICSI sonrası gebelik kaybı riskinin önemli ölçüde artmasıyla ilişkili olduğu sonucuna varmıştır. Robinson ve ark., (2012) yaptıkları çalışma ile sperm DNA parçalanmasının yalnızca ART sonrasında değil aynı zamanda spontan gebelik sonrasında da düşük oranları üzerindeki etkisini ortaya koydu. Bugüne kadar verilerin büyük bir kısmı, sperm DNA hasarının ICSI sonrası gebelik oranları üzerinde saptanabilir bir etkisinin olmadığını ve geleneksel IVF sonrası gebelik oranları üzerinde ılımlı bir etkinin olduğunu göstermektedir (Zini vd., 2008).

Nijs ve arkadaşlarının IVF veya ICSI uygulanan 278 hasta üzerinde yaptığı araştırmada, erkek yaşının sperm konsantrasyonu, motilitesi veya morfolojisi üzerinde etkisinin olmadığı, ancak DNA fragmentasyonunda belirgin bir artış görüldüğü belirtilmiştir (Nijs, De Jonge, Cox, Janssen, Bosmans ve Ombelet, 2011).

Potansiyel erkek faktörü infertilitesi olan erkeklerde; yaş ile sperm kromatin yapısının, sperm DNA fragmentasyonu arasındaki ilişkileri belirlemek ve bu verileri sağlıklı vericilerden elde edilen sonuçlarla karşılaştırmak amacıyla yapılan retrospektif çalışmada; 25.445 erkek çalışmaya dahil edilmiştir. Belirli bir yaşta hem DFI değerlerinin farklı özellikler gösterdiği ve yaşın otomatik olarak bir DNA fragmentasyon dizini oluşturulmasını engellediği belirlenmiştir. Ancak rutin testlerle çözümlenemeyen infertil olgularda ve çoklu düşük olgularında DFI, değerlendirmesinin potansiyel erkek infertilitesinin tespitinde rol oynayabileceği belirtilmiştir (Evenson vd., 2020).

Artan baba yaşının sperm kromatin bütünlüğüne etkisine yönelik az sayıda çalışma bulunmaktadır. Rosiak diğ., İleri baba yaşının sperm DNA bütünlüğü üzerindeki etkisini incelemek üzere yapıkları analizde , ≥ 40 yaş grubu erkeklerde < 40 yaş grubuna göre sperm DNA hasarı olasılığının arttığını ve ileri baba yaşının sperm kromatin bütünlüğü ile negatif ilişkili olduğunu belirlemişlerdir (Rosiak-Gill, 2019).

Yaşın sperm kromatin yapısı ve DNA fragmentasyonu üzerine etkilerine yönelik çalışmamızda analiz yapmadık ancak erkek doğurganlık potansiyelinin

değerlendirilmesi ve infertilite tedavi stratejilerinin yönlendirilmesi açısından çok önemli faktörlerdir. Daha geniş çalışmaların yapılması önerilmektedir.

Oksidatif Stres

Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri (ROT) ile antioksidan mekanizmalar arasındaki dengenin bozulması durumudur. Reaktif oksijen türleri, yüksek derecede oksitleyici serbest radikal ajanlardır. Seminal plazmadaki aktif lökositler ve spermdeki mitokondriler, spermdeki başlıca ROT kaynakları olarak kabul edilmektedir (Aitken, 1994).

Oksidatif stresin, lipid membran bileşenlerinin oksidasyonunu engelleyerek membran akışkanlığı ve geçirgenliğini bozduğu, bunun da spermde yapısal ve fonksiyonel bütünlüğün bozulmasına yol açtığı belirtilmektedir. Bu yapısal ve fonksiyonel bozulmalar, spermde işlev bozukluklarına neden olarak infertiliteye yol açar. Sperm mitokondrisinde ATP üretimi sırasında oluşan yüksek ROT seviyeleri, en bilinen oksidatif stres kaynaklarından biri olarak kabul edilmektedir (Aitken, 1994).

Selvaratnam ve ark.,germ hücrelerinde yaşlanmaya ve oksidatif hasara karşı oluşan tepkileri belirlemek amacıyla yaptıkları çalışmalarında ;genç ve yaşlı kahverengi sıçanlardan izole ettikleri germ hücreleri üzerinde yaptıkları analizlerle;yaşlı germ hücrelerinin canlılığında azalma olduğunu tespitetmişler.Yaşlanmanın ROS seviyelerinde artışa ve spermatositlerde DNA hasarına neden olduğunu bulmuşlardır (Selvaratnam vd., 2015).

Yapılan bir meta-analiz çalışmasında, ROS'un IVF sonrası dölleme oranı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir etkiye sahip olduğu sonucuna varılmıştır, ve IVF'den önce semen örneklerinde ROS seviyelerinin ölçülmesinin IVF sonucunun tahmin edilmesinde yararlı olabileceği belirtilmiştir. Ayrıca kültür ortamındaki yüksek ROS seviyelerinde; düşük blastosist oranı, düşük dölleme oranı, düşük bölünme oranı, ve ICSI ile yüksek embriyonik parçalanma oranları gözlemlendiğini bununla birlikte IVF ve ICSI döngülerinde düşük gebelik oranları tespit edilmiştir (Bedaiwy, 2004).

Çalışmamızda oksidatif stresin etkilerine yönelik bir analiz yapılmamıştır. Ancak, oksidatif stresten kaynaklanan hasarın, yaşlanan erkeklerde spermin fonksiyonel ve yapısal bütünlüğünü bozan ana faktörlerden biri olduğu kabul edilmektedir.

Üreme Sağlığı ve Yaşlanma

Yaşlanma, tüm organlar ve sistemler üzerinde etkili olan, geri dönüşü olmayan değişikliklerden oluşan ve birçok faktörün etkisiyle gerçekleşen bir süreçtir. İlerleyen yaşla birlikte erkeklerde üreme kapasitesindeki azalmanın, üreme organlarında meydana gelen morfolojik ve moleküler değişikliklerin bir kombinasyonundan kaynaklandığı belirtilmektedir. Bu değişikliklerin genellikle yaşa bağlı hastalıklar veya yaşam boyunca üreme organlarında oluşan kusurlara neden olan olumsuz çevresel faktörler nedeniyle ortaya çıkabileceği ifade edilmektedir (Nguyen-Powanda ve Robaire, 2020). Spermatogenez ve sperm fonksiyonu, erkek fertilitesi için büyük önem taşımaktadır. Genç erkekler ile karşılaştırıldığında, yaşlı erkeklerin testislerinin spermatogenez basamaklarını bozma, sperm disfonksiyonuna ve sperm anomalilerine neden olma eğiliminde olduğu gözlemlenmektedir (Neto vd., 2016).

Johnson ve arkadaşları, testis hacminin ergenlik döneminde arttığını, 30 yaşında en yüksek seviyeye ulaştığını ve 60 yaşından sonra önemli ölçüde azaldığını tespit etmiştir (Johnson vd., 1986). İnsan testisleri üzerinde yapılan bazı çalışmalarda ise, testis tübüler çapının daraldığı, bazal membranda kalınlaşma olduğu ve Sertoli hücre sayısında azalma olduğu belirtilmiştir. Ayrıca, bireyler arasında farklılıklar gösteren yaşa bağlı değişimlerin tespit edildiği ifade edilmiştir (Dakouane vd., 2005).

Literatürde, birçok çalışmada serum testosteron düzeylerinin yaşlı erkeklerde genç erkeklere oranla daha düşük olduğu belirtilmiştir (Harman vd., 2001). Bununla birlikte yapılan diğer bir çalışmada; serum testosteron konsantrasyonlarında 20 yaştan 80 yaşa kadar kademeli fakat ilerleyici bir azalma olduğunu belirlenmiştir (Harman vd., 2001).

Yaşa bağlı olarak leydig hücre popülasyonlarında gerçekleşen değişikliklere yönelik yapılan araştırmalarda farklı sonuçlar tespit edilmiştir. Bazı çalışmalar yaşlı bireylerde

leydig hücre sayısının azaldığını göstermiştir (Neaves vd., 1984). Bununla birlikte tersi sonuçlar veren araştırmalar da mevcuttur. Ichihara ve ark., araştırmaları sonucu testislerdeki leydig hücrelerinin sayısının yaşla birlikte iki katına çıktığını, ancak bu hücrelerin ortalama hacminin azaldığını gözlemlemiştir (Ichihara vd., 1993).

Benzer şekilde yaşın sertoli hücreleri üzerindeki etkilerine yönelik çalışma sonuçları çelişkilidir. Yapılan bir çalışmada seminifer epitel hacminde ki azalmaya bağlı olarak; 50 yaşın üzerinde ki erkeklerde 30 yaşın altında ki erkeklere oranla sertoli hücre sayısının azaldığı belirtilmiştir (Johnson vd., 1986). Başka bir çalışma ise yaşlı erkeklerde spermatidler ile uzun spermatidlerin sertoli hücre oranlarına göre daha düşük olması haricinde germ hücresi ve sertoli hücre oranlarının değişmediğini bildirmiştir (İang vd., 2014).

Yapılan çalışmalarda yaşa bağlı olarak erkeklerde özellikle spermatogenez sırasında gerçekleşen mitoz ve mayoz bölünmeler ile sperm deformasyonu sonrasında germ hücre kaybının gerçekleştiği buna bağlı olarak spermatogenezde anomaliliklerin görüldüğü belirtilmiştir (Jenkins vd., 2018).

Embriyo Gelişimi ve Kalitesi

Üremenin başarısı sağlıklı gametler ile gerçekleşen normal döllenme ve erken embriyo gelişimine dayanmaktadır. Bu aşamalardan herhangi birinde meydana gelen değişimler infertiliteye neden olmaktadır. Embriyogenez dişi üreme hücresi oosit ile erkek üreme hücresi spermin çekirdek ve stoplazma komponentlerinin dişi üreme kanalında birleşerek yeni bir birey olan totipotent yapıdaki zigotu oluşturması ile başlar. Zigot katlanarak artan mitotik bölünmeler ile ilk olarak eşit büyüklükteki yavru hücreler olan blastomerleri oluşturur ve fertilizasyondan yaklaşık 5 gün sonra oluşan (250-300 hücreli) blastosistin endometriyal stromaya tutunması ile tamamlanır (Vassena vd., 2011).

Kaliteli embriyo, gelişim gününe uygun hücre sayısı ve hücre yapısında granülasyon içermeyen düzenli stoplazmaya sahip olan embriyo olarak tanımlanmaktadır. YÜT

'de embriyo transferi genellikle 3.veya 5. günde gerçekleştirilmektedir.5.gün embriyolarının embriyo ve endometrial gelişim açısından daha uygun olması nedeniyle 2./3. gün embriyolarına göre implantasyon şansının daha fazla olduğu belirtilmektedir (Margalioth vd., 2006).

İleri paternal yaş artan embriyo fragmentasyon oranları, düzensiz blastosist oluşumu gecikmiş embriyo bölünmesiyle ve azalan implantasyon oranları ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca araştırmalar, yaşlı babalardan elde edilen embriyoların daha yavaş gelişimsel kinetik sergilediğini; blastosist oluşumu ve embriyonun dışarı tomurcuklanması (hatching) gibi önemli gelişimsel dönüm noktalarına ulaşma süresinin daha uzun olduğunu ileri sürmüştür (Liu vd., 2020)

Babaya ait faktörlerin embriyonun gelişimi üzerine etkisine yönelik yapılan bazı çalışmalarda; IVF uygulamalarında oositlerin döllemesinde dondurulmuş veya morfolojik olarak anormal sperm kullanıldığında anlamlı derecede daha düşük bölünme oranları ve blastosist oluşum oranlarının tespit edildiği belirtilmiştir (Janny ve Menezo, 1994).

Baba genomunun embriyonik gelişime etkisine yönelik yapılan retrospektif bir çalışmada; Coban O, et al., 3995 çiftten 4930 oosit bağış döngüsünü incelenerek; fertilizasyon oranı, transfer edilen embriyoların kalitesi ve gebelik sonuçları üzerine etkilerini gözlemlenmiştir. Baba yaşının kullanılan oosit sayısı, normal semen parametreleri, dölleme, klinik gebelik ve canlı doğum oranları ile negatif korelasyon gösterdiği bulunmuştur. Baba yaş grupları arasında embriyo kalitesinin ortalama sayısı 3.gün embriyolarında karşılaştırılabilmiş ancak 5. gün embriyo transferlerinde karşılaştırılamamıştır.5.gün embriyo transfer döngülerinde, sadece normal sperm ile elde edilen döngü oranı, ayrılan oosit sayısı ve gebeliğin istatistiksel olarak anlamlı olduğu bulunmuştur. Baba yaşının üreme sonuçlarını birçok parametre nedeniyle etkileyebileceği ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyon donör döngülerinde infertilite değerlendirmeleri sırasında dikkate alınması gerektiği ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır (Coban vd., 2023).

Literatürde IVF tedavisi gören çiftlerde erkek yaşının embriyo büyümesi ve/veya kalitesine etkilerini inceleyen bir çalışmada ;IVF tedavisi almayı planlayan 87 çiftten toplam 1057 embriyo incelenmiş; sperm parametreleri, gebelik oranları ve embriyo özellikleri değerlendirilmiş. İleri yaşta ki erkeklerin 3. günde sekiz blastomerden oluşan bir embriyo üretme olasılığının genç erkeklere oranla daha düşük olduğu ve APA'nın erken embriyonun büyümesini etkilediği belirtilmiştir.APA'ya dair altta yatan mekanizmaların araştırılmasına yönelik daha büyük çalışmaların yapılması gerektiği vurgulanmıştır (Opstal vd., 2021).

İleri baba yaşının doğurganlık üzerine etkilerini inceleyen retrospektif bir kohort çalışmada ; dahil edilen 381 hasta; baba yaşına göre <35 yaş, 35-39 yaş veya ≥ 40 yaş alt gruplara ayrılarak ,anne yaşı 35 yaş altıyla sınırlandırılmıştır.Çalışmada embriyo kalitesi ve klinik sonuçlara ilişkin veriler sonucu implantasyon ve gebelik oranının ≥ 40 yaş grubunda anlamlı derecede düşük olduğu belirtilmiştir.Elde edilen sonuçlarla;döllenme ve kaliteli embriyo oranlarında önemli ölçüde fark olmadığı ,40 yaşın üzerindeki baba yaşının iyi semen parametreleriyle bile yardımcı üreme teknolojisi başarı oranını etkileyebilecek bir risk faktörü olabileceğini vurgulamışlardır (Lu vd., 2023).

Luna ve ark. Yaşın embriyo gelişimi üzerin etkilerini inceledikleri çalışmalarında ; baba yaşı <40 ,40-49, >50 yaş gruplarına ayrılarak hastalar dahil edilmiştir. Yaş gruplarında yaş <40 yaştan 40-49 yaşına ve >50 yaşına doğru arttıkça, 3. Günde oluşturulan sekiz hücreli embriyo sayısının ,blastokist oluşum oranının ve 6. günde dondurulabilecek embriyo sayısının giderek azaldığı belirtilmiştir (Luna vd., 2009).

Bu çalışmaların sonuçlarına benzer bir şekilde yaptığımız analizler sonucu; çalışmaya dahil ettiğimiz 38 yaş ve altı erkekler ile 39 yaş ve üstü erkeklerde; blastosist aşamasındaki embriyo gelişimi sırası ile ≤ 38 yaş %45,5; ≥ 39 yaş %41,1 tespit ettik.Ve blastosist aşamasındaki embriyo gelişim oranlarının 38 yaş ve üstü erkelerde anlamlı derecede zayıf olduğunu belirledik. Bu durum baba yaşının artmasına bağlı olarak erkek genomik aktivasyonunun embriyo gelişimine yansımından kaynaklı olabilir.

İmlantasyon

İmlantasyon embriyonun endometrial dokulara sıkı yada gevşek bir şekilde bağlanması olayıdır. İmlantasyon çok sayıda farklı molekülün birlikte görev aldığı embriyo ve uterus arasında apozisyon ,adezyon ve invazyon aşamalarını içeren kompleks bir süreçtir. İmlantasyon başarısızlığı infertiliteye veya invitro fertilizasyon başarısızlıklarına neden olabilmektedir. İmlantasyon yetersizliği; uterusun anatomik anomalileri endometriyal reseptivitenin düşük olması veya maternal toleransın sağlanamaması gibi anneye ait faktörlerden yada blastosist gelişim aşamasında meydana gelen sorunlar, genetik anormallikler gibi embriyodan kaynaklı nedenlerle gerçekleşebilir (Thomas vd., 2010).

Baba yaşının doğal gebelikler üzerine etkilerine yönelik yapılan bir retrospektif çalışmada; rastgele seçilmiş 6.188 kadın çalışmaya dahil edilmiş, >40 baba yaşının infertilite için önemli bir risk faktörü olduğunu, ancak bunun sadece >35 yaştaki kadınlarda gözlemlendiğini belirtmiştir (de La Rochebrochard, 2003).

Literatürde 3.174 doğal gebelik üzerine yapılan başka bir çalışmada ise ;baba yaşının, 20-29 yaş anne yaşı grubundaki implantasyon ve düşük oranını etkilemediğini, 30-34 yaş anne yaşı grubunda ise baba yaşı ≥ 40 olduğunda bu oranın arttığı belirtilmiştir ve tüm baba yaş gruplarında ≥ 35 anne yaşı grubunda üreme sonuçlarının olumsuz etkilendiği vurgulanmıştır (de La Rochebrochard, 2002).

12.538 oosit bağışı vakasını inceleyen bir meta-analiz çalışmasında; implantasyon oranlarını değerlendiren altı çalışmadan dördü, ileri baba yaşı ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki olmadığını belirtmiş (Sagi-Dain, Sagi ve Dirnfeld, 2015). Campos ve ark., yaptıkları çalışmada, ileri anne yaşı ile baba yaşı arasında bir ilişki olduğunu tespit edip bir alt grup analizi yapmış 39 yaşından büyük çiftlerdeki implantasyon oranlarının; genç erkeklere, genç kadınlara veya hem genç erkeklere hem de kadınlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşük olduğunu gözlemlemiş (Campos vd., 2008). Buna karşılık Luna ve ark. üç erkek yaş grubunu (<40, 40-49 ve >50 yaş) karşılaştırırken implantasyon oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark

bulamadıklarını ancak 50-59 yaşları arasındaki ve 60 yaş üstündeki erkeklerin alt grup analizleri sonrası ikinci grupta implantasyon oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğunu göstermişlerdir (Luna vd., 2009).

Yaptığımız çalışmada literatür çalışmalarının sonuçlarına benzer olarak baba yaşının implantasyon üzerinde ki etkisini inceledik ; implantasyon oranlarını ≤ 38 yaş erkeklerde %44 ve ≥ 39 %42,1, olarak belirledik yaş grupları arasında istatistiksel bir fark olmadığı gözlemlendik.

Yardımcı Üreme Tedavi Yöntemleri

Yardımcı üreme tedavi yöntemleri kendiliğinden gebe kalamayan infertil çiftlerin çocuk sahibi olmasını sağlamak amacıyla kullanılan tüm tedavi işlemleri kapsamaktadır.YÜT ile infertil çiftlere infertilite nedenlerine en uygun tedavi seçenekleri uygulanmakta ve çok sayıda çift çocuk sahibi olabilmektedir (Kırca ve Öngen, 2020).

Gelişen teknolojiye bağlı olarak YÜT yöntemleri de gelişmektedir.İn vitro fertilizasyon (IVF), intrauterin inseminasyon (IUI) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) bu alanda yaygın olarak kullanılan gelişmiş tedavi teknikleridir. İleri baba yaşının ART sonuçları üzerine etkilerine yönelik az sayıda çalışma bulunmaktadır ve sonuçlar çelişkilidir.Yapılan bir kohort çalışmasında baba yaşının anne yaşından bağımsız olarak IVF/ICSI sikluslarının sonuçları üzerindeki etkisi incelenmek üzere çalışmaya 4833 siklus dahil edilmiş ve çok değişkenli bu modelde anne yaşının tüm alt grupları için canlı doğum oranlarının baba yaşının 50'nin üzerinde olduğu sikluslarda azaldığı belirtilmiştir (Morris vd., 2021).

Horta ve ark.,ileri baba yaşının, idiyopatik infertilitesi olan çiftlerde kadın yaşından bağımsız olarak klinik IVF/ICSI sonuçları ile ilişkisini inceledikleri çalışmalarında;2425 çiftin döngüsünün analizi sonucu artan yaşla birlikte klinik verilerin kademeli bir şekilde azaldığını ve 50 yaş üstü erkeler ile 40 yaş altı erkekler

karşılaştırıldığında canlı doğum ve klinik gebelik sonuçlarının anlamlı derecede azaldığı belirlenmiştir (Horta vd., 2019).

Anne yaşının farklı değerlerinde baba yaşının intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) sikluslarının sonuçları üzerindeki etkisini araştıran bir çalışmada; 3837 ICSI döngüsünden elde edilen toplam 21.960 enjekte edilmiş oosit dahil edilerek ; anne ve baba yaşının temel etkilerinin embriyo gelişimi, implantasyon ve gebelik sonuçları üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Etkileşim terimi katsayılarının blastosist gelişimi, en kaliteli blastosist, implantasyon, gebelik, düşük ve canlı doğum oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirtilmiştir. Baba yaşının her 1 yıllık artışında canlı doğum ihtimali 37 yaşındaki kadınlarda % 1, 38 yaşındaki kadınlarda % 1,6, 39 yaşındaki kadınlarda % 2,4 ve 42 yaşındaki kadınlarda % 5 azaldığı tespit edilmiştir. Etkileşim süresindeki 1 yıllık artışın; gebelik oranını %0,4, canlı doğum oranını %0,8 azalttığı, düşük oranını %1,2 artırdığı belirtilmiştir. Ve anne yaşının blastülasyon, blastosist kalitesi ,implantasyon, gebelik, düşük ve canlı doğum oranı üzerindeki etkilerinin baba yaşının her yıl artmasıyla önemli ölçüde kötüleştiği belirtilmiştir (Setti vd., 2022).

Yakın zamanda yapılan bir meta-analiz çalışması ile donör oosit döngülerinde baba yaşı ile canlı doğum oranı arasındaki ilişkiye yönelik 10.527 yumurta donasyonu döngüsünde 11 çalışmayı incelemiş ve donör oosit siklusların da artan baba yaşının canlı doğum oranları üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığını belirlemişlerdir (Begon vd., 2023). ART sonuçlarında baba yaşının IUI sonuçları üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada, 2.276 IUI siklusu incelenmiştir. Artan yaş ile toplam hareketli hücre hacminin ve morfolojinin negatif ilişkilendirildiği ve 50 yaşın üzerinde ki erkeklerde gebelik oranlarında anlamlı bir düşüş görüldüğü belirtilmiştir (Carballo vd., 2013).

Biz yapmış olduğumuz çalışmamızda baba yaşının ,YÜT yöntemlerine katılan 2 farklı yaş grubunda ki erkeklerin IVF sonuçları üzerinde anlamlı bir fark olmadığını tespit ettik.

6.SONUÇ

Bu tez çalışmasında, artan baba yaşı ile embriyo gelişim oranları arasında bir ilişki olduğu ve bu etkinin de embriyo gelişim oranlarında gerilemeye neden olduğu tespit edilmiştir ($p<0,05$). Ancak sonuçlarımızdan da görüleceği gibi bu gerileme, fertilizasyon ve implantasyon oranlarına yansımamıştır.

Bilindiği üzere ÜYTE uygulamalarında hem yasal düzenlemelere istinaden hem de anne ve bebek sağlığını korumak amacıyla tek embriyo transferi tercih edilmektedir. Bu da transfer fazlası embriyoların dondurularak saklanması gerektirmektedir. Bu tez çalışmasının sonuçlarına göre, ileri baba yaşının daha az embriyo gelişimi ile sonuçlanacağı düşünülebilir. Daha az embriyo gelişimi ise dondurularak saklanacak transfer fazlası embriyo sayısında bir düşüşe ve bunula ilişkili olarak çiftin ilk tedavisinin olumsuz sonuçlanması halinde dondurularak saklanmış embriyolar ile geçecek embriyo transfer sayısında bir azalmaya neden olabilir.

7. KAYNAKÇA

- Agarwal A, Makker K, Sharma R. Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update. *Am J Reprod Immunol*. 2008 Jan;59(1):2-11.
- Agarwal A, Barbăroăie C, Ambar R & Finelli R 2020 The impact of single- and double-strand DNA breaks in human spermatozoa on assisted reproduction. *International Journal of Molecular Sciences* 21 3882.
- Agarwal A, Barbăroăie C, Ambar R & Finelli R 2020 The impact of single- and double-strand DNA breaks in human spermatozoa on assisted reproduction. *International Journal of Molecular Sciences* 21 3882
- Agarwal, A., & Sengupta, P. (2020). Oxidative stress and its association with male infertility. *Male infertility: contemporary clinical approaches, andrology, ART and antioxidants*, 57-68.
- Agarwal, A., & Sengupta, P. (2020). Oxidative stress and its association with male infertility. *Male infertility: contemporary clinical approaches, andrology, ART and antioxidants*, 57-68.
- Aghajanova L. Leukemia inhibitory factor and human embryo implantation. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2004;1034: 176-183.
- Aitken J, Fisher H. Reactive oxygen species generation and human spermatozoa: The balance of benefit and risk. *BioEssays*. 16(4);259–67, 1994.
- A. M. Elnashar ve G. I. Aboul-Enein, “Endometrial receptivity”, 2004
- Aitken RJ, Buckingham DW, West KM. Reactive oxygen species and human spermatozoa: Analysis of the cellular mechanisms involved in luminol- and lucigenin-dependent chemiluminescence. *J Cell Physiol*. 151(3);466–77, 1992.
- Aitken RJ, Krausz C: Oxidative stress, DNA damage and the Y chromosome. *Reproduction* 2001; 122: 497–506.
- Ajayi AF, Onalapo MC, Omole AI, Adeyemi WJ, Oluwole DT. Mechanism associated with changes in male reproductive functions during ageing process. *Exp Gerontol*. 2023 Aug;179:112232.

- Akbal C. Sperm Oluşumu ve Fizyolojisi. Türkeri L, Özer A, Narter F (editörler). İstanbul: Üroonkoloji Derneği Moleküler Üroloji Kitabı. 2012: 653-659.
- Akın Ö, Şahin E. Yardımcı üreme teknikleri ve hemşirelik yaklaşımı. Sakarya Üniversitesi Holistik Sağlık Derg. 2020;3:55– 75
- Allouche-Fitoussi D, Bakhshi D, Breitbart H. Signaling pathways involved in human sperm hyperactivated motility stimulated by Zn²⁺. Wiley Online Libr. 86(5);502–15, 2019.
- Almeida S, Rato L, Sousa M, Alves MG, Oliveira PF. Fertility and Sperm Quality in the Aging Male. Curr Pharm Des. 2017 Nov 28;23(30):4429-4437.
- Amor, H., Shelko, N., Mohammed, M., Jankowski, P. M., & Hammadeh, M. E. (2021). Role of antioxidants supplementation in the treatment of male infertility. *Antioxidants-Benefits, Sources, Mechanisms of Action*.
- Aplin JD, Ruane PT. Embryo-epithelium interactions during implantation at a glance. Journal of Cell Science. 2017;130(1): 15-22
- Aplin JD. Adhesion molecules in implantation. Reviews of Reproduction. 1997;2(2): 84-93.
- Aplin, J. D. (2000). The cell biological basis of human implantation. Best Practice ve Research Clinical Obstetrics ve Gynaecology, 14, 757- 764.
- Ariad D, Madjunkova S, Madjunkov M, Chen S, Abramov R, Librach C, McCoy RC. Aberrant landscapes of maternal meiotic crossovers contribute to aneuploidies in human embryos. Genome Res. 2024 Feb 7;34(1):70-84
- Ashapkin V, Suvorov A, Pilsner JR, Krawetz SA, Sergeyev O. Age-associated epigenetic changes in mammalian sperm: implications for offspring health and development. Hum Reprod Update. 2023 Jan 5;29(1):24-44.
- Athayde KS, Cocuzza M, Agarwal A, Krajcir N, Lucon AM, Srougi M, Hallak J: Development of normal reference values for seminal reactive oxygen species and their correlation with leukocytes and semen parameters in a fertile population. *J Androl* 2007; 28: 613–620.

- Barrachina F, Battistone MA, Castillo J, Mallofré C, Jodar M, Breton S, Oliva R. Sperm acquire epididymis-derived proteins through epididymosomes. *Hum Reprod*. 2022 Apr 1;37(4):651-668.
- Bashiri Z, Amidi F, Amiri I, Zandieh Z, Maki CB, Mohammadi F, Amiri S, Koruji M. Male Factors: the Role of Sperm in Preimplantation Embryo Quality. *Reprod Sci*. 2021 Jul;28(7):1788-1811
- Bauer UE, Barfield WD, Morris K, Folger SG, Boulet SL, Chang J, et al. 2015 Assisted Reproductive Technology National Summary Report. Centers Dis Control Prev Am Soc Reprod Med Soc Assist Reprod Technol. 2017;1–80
- Bedaiwy MA, Falcone T, Mohamed MS, Aleem AA, Sharma RK, Worley SE, Thornton J, Agarwal A: Differential growth of human embryos in vitro: role of reactive oxygen species. *Fertil Steril* 2004; 82: 593–600.
- Begon E, Lefebvre T, Arbo E, Bouée S, Darné B, Jaffré F, Languille S, Mellouhi D, Pont JC, Rousset N, Fréour T. Does paternal age affect the live birth rate in donor oocyte cycles? A systematic review and meta-analysis. *J Assist Reprod Genet*. 2023 Mar;40(3):617-626.
- Beguiria R, Garcia D, et al. Paternal age and assisted reproductive outcomes in ICSI donor oocytes: is there an effect of older fathers? *Hum Reprod*. 2014;29(10):2114–2122.
- Belloc S, Benkhalifa M, CohenBacrie M, Dalleac A, Amar E & Zini A 2014 Sperm deoxyribonucleic acid damage in normozoospermic men is related to age and sperm progressive motility. *Fertility and Sterility* 101 1588–1593.
- Boitrelle F, Shah R, Saleh R, Henkel R, Kandil H, Chung E, Vogiatzi P, Zini A, Arafa M, Agarwal A. The Sixth Edition of the WHO Manual for Human Semen Analysis: A Critical Review and SWOT Analysis. *Life (Basel)*. 2021 Dec 9;11(12):1368.
- Borght M Vander, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clin. Biochem*. 62: 2-10, 2018

- Brahem S, Mehdi M, Elghezal H & Saad A 2011 The effects of male aging on semen quality, sperm DNA fragmentation and chromosomal abnormalities in an infertile population. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 28 425–432.
- Brandt JS, Cruz Ithier MA, Rosen T, Ashkinadze E.. Advanced paternal age, infertility, and reproductive risks: a review of the literature. *Prenat Diagn* 2019;39:81–87.
- Budak Ö, Doğanay S, Bostancı MS, Akdemir N, Cevrioğlu S, Toprak V, Özküler S. Dondurulmuş Çözülmüş Embriyo Transferi öncesi günü progesteron seviyesinin in-vitro fertilizasyon başarısına etkisinin incelenmesi. *Online Türk Sağlık Bilimleri Derg.* 2021;6:282–90.
- C. L. Dunn, R. W. Kelly, ve H. O. D. Critchley, “Decidualization of the human endometrial stromal cell: an enigmatic transformation.”, *Reprod. Biomed.* Online, c. 7, sayı 2, ss. 151–61, Eyl. 2003.
- Campos I, Gómez E, Fernández-Valencia AL, Landeras J, González R, Coy P, Gadea J. Effects of men and recipients' age on the reproductive outcome of an oocyte donation program. *J Assist Reprod Genet.* 2008 Sep-Oct;25(9-10):445-52
- Carballo E, Roque A, Durán-Monterrosas LA, Kably Ambe A. El valor de la edad paterna en los resultados de inseminación intrauterina [The value of paternal age on the outcome of intrauterine insemination]. *Ginecol Obstet Mex.* 2013 Jun;81(6):329-33. Spanish.
- Castellini C, Cordeschi G, Tienforti D, Barbonetti A. Relationship between male aging and semen quality: a retrospective study on over 2500 men. *Arch Gynecol Obstet.* 2024 Mar 29.
- Castillo J, Jodar M, Oliva R. The contribution of human sperm proteins to the development and epigenome of the preimplantation embryo. *Hum Reprod Update.* 2018 Sep 1;24(5):535-555.

- Castleton PE, Deluao JC, Sharkey DJ, McPherson NO. Measuring reactive oxygen species in semen for Male preconception care: A scientist perspective. *Antioxid (Basel)*. (2022) 11(2):264.
- Chianese, R., & Pierantoni, R. (2021). Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) production alters sperm quality. *Antioxidants*, 10(1), 92.
- Choy JT, Eisenberg ML. Male infertility as a window to health. *Fertil Steril*. 2018 Oct;110(5):810-814.
- Cioppi F, Casamonti E, Krausz C. Age-Dependent De Novo Mutations During Spermatogenesis and Their Consequences. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1166:29-46.
- Cioppi F, Casamonti E, Krausz C. Age-Dependent De Novo Mutations During Spermatogenesis and Their Consequences. *Adv Exp Med Biol*. 2019;1166:29-46.
- Coban O, Serdarogullari M, Pervaiz R, Soykok A, Yarkiner Z, Bankeroglu H. Effect of paternal age on assisted reproductive outcomes in ICSI donor cycles. *Andrology*. 2023 Mar;11(3):515-522/
- Comar VA, Petersen CG, Mauri AL, Mattila M, Vagnini LD, Renzi A. Influence of the abstinence period on human sperm quality: analysis of 2, 458 semen samples. *JBRA Assist Reprod*. 2017;21:306–12
- Couture V, Delisle S, Mercier A, Pennings G.. The other face of advanced paternal age: a scoping review of its terminological, social, public health, psychological, ethical and regulatory aspects. *Hum Reprod Update* 2021;27:305–323
- Cruse JM, Lewis RE, Wang H. Molecules, cells and tissues of immunity. *Immunology Guidebook*. Elsevier Academic Press, 1st ed, 2004
- da Silva PFL, Schumacher B. DNA damage responses in ageing. *Open Biol*. 2019 Nov 29;9(11):190168.

- da Silva PFL, Schumacher B. DNA damage responses in ageing. *Open Biol.* 2019 Nov 29;9(11):190168.
- Dakouane M, Bicchieray L, Bergere M, Albert M, Vialard F, Selva J. A histomorphometric and cytogenetic study of testis from men 29-102 years old. *Fertil Steril.* 2005 Apr;83(4):923-8.
- de La Rochebrochard E, Thonneau P. Paternal age ≥ 40 years: an important risk factor for infertility. *Am J Obstet Gynecol.* 2003 Oct;189(4):901-5.
- de la Rochebrochard E, Thonneau P. Paternal age and maternal age are risk factors for miscarriage; results of a multicentre European study. *Hum Reprod.* 2002 Jun;17(6):1649-56
- Del Giudice F, Kasman AM, Ferro M, Sciarra A, De Berardinis E, Belladelli F, Salonia A, Eisenberg ML. Clinical correlation among male infertility and overall male health: A systematic review of the literature. *Investig Clin Urol.* 2020 Jul;61(4):355-371.
- Delilbaşı L. İn Vitro Fertilizasyon (IVF) Laboratuvar Yöntemleri. İn: Delilbaşı L. (eds). Ankara: Öncü Basımevi; 2008;1-32
- Demirkol MK, Barut O, Dogan NT, Hamarat MB, Resim S. At What Age Threshold does the Decline in Semen Parameters Begin? *J Coll Physicians Surg Pak.* 2021 Jan;31(1):4-7.
- Demirkol MK, Barut O, Dogan NT, Hamarat MB, Resim S. At What Age Threshold does the Decline in Semen Parameters Begin? *J Coll Physicians Surg Pak.* 2021 Jan;31(1):4-7.
- Donatella Paoli, Giulia Pecora, Francesco Pallotti, Fabiana Faja, Marianna Pelloni, Andrea Lenzi, Francesco Lombardo, Cytological and molecular aspects of the ageing sperm, *Human Reproduction*, Volume 34, Issue 2, February 2019, Pages 218–227
- Dong S, Chen C, Zhang J, Gao Y, Zeng X, Zhang X. Testicular aging, male fertility and beyond. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022 Oct 13;13:1012119.

- Dong S, Chen C, Zhang J, Gao Y, Zeng X, Zhang X. Testicular aging, male fertility and beyond. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022 Oct 13;13:1012119
- E. J. Margalioth, A. Ben-Chetrit, M. Gal, ve T. Eldar-Geva, “Investigation and treatment of repeated implantation failure following IVF-ET”, *Hum. Reprod.*, c. 21, sayı 12, ss. 3036–3043, Ara. 2006.
- E. J. Margalioth, A. Ben-Chetrit, M. Gal, ve T. Eldar-Geva, “Investigation and treatment of repeated implantation failure following IVF-ET”, *Hum. Reprod.*, c. 21, sayı 12, ss. 3036–3043, Ara. 2006.
- Egashira, M. & Hirota, Y. (2013). Uterine receptivity and embryo–uterine interactions in embryo implantation: lessons from mice. *Reproductive Medicine and Biology*, 12, 127-132.
- Eisenberg ML. Can a father be too old? *Fertil Steril*. 2022 Dec;118(6):999-1000.
- El-Khayat W, El-Mazny A, Abou-Salem N, Moafy A. The value of fallopian tube sperm perfusion in the management of mild-moderate male factor infertility. *International Journal of Gynecology and Obstetrics* 2012; Vol. 117, issue 2:178–81
- Emiliani, S., Delbaere, A., Devreker, F. & Englert, Y. (2005). Embryo–maternal interactive factors regulating the implantation process: implications in assisted reproductive treatment. *Reproductive BioMedicine Online*, 10, 527-540
- Ercan C. M., Ceyhan S.T. Endometriyal Receptivitede Güncel Durum. *TSRM Üreme sağlığı ve infertilite derneği*. [Internet] Available from: <https://www.tsrn.org.tr/pro/egitim/tsrnderlemeler/endometriyal-reseptivitedeguncel-durum>
- Esteves SC, Agarwai A. (2013). the azospermic male: current knowledge and future perspectives. *Clinics (Sao Paulo)*, 68(1):1-4.
- Evenson DP, Djira G, Kasperson K, Christianson J. Relationships between the age of 25,445 men attending infertility clinics and sperm chromatin structure assay

- (SCSA®) defined sperm DNA and chromatin integrity. *Fertil Steril*. 2020 Aug;114(2):311-320.
- Evenson DP, Djira G, Kasperson K & Christianson J 2020 Relationships between the age of 25,445 men attending infertility clinics and sperm chromatin structure assay (SCSA®) defined sperm DNA and chromatin integrity. *Fertility and Sterility* 114 311–320.
- F. Pellestor, B. Andréo, F. Arnal, C. Humeau, ve J. Demaille, “Maternal aging and chromosomal abnormalities: new data drawn from in vitro unfertilized human oocytes.”, *Hum. Genet.*, c. 112, sayı 2, ss. 195–203, Şub. 2003
- Fallara G, Pozzi E, Belladelli F, Boeri L, Capogrosso P, Corona G, D'Arma A, Alfano M, Montorsi F, Salonia A. A Systematic Review and Meta-analysis on the Impact of Infertility on Men's General Health. *Eur Urol Focus*. 2024 Jan;10(1):98-106
- Fang Y, Wang Y, Peng M, Xu J, Fan Z, Liu C, Zhao K, Zhang H. Effect of paternal age on offspring birth defects: a systematic review and meta-analysis. *Aging (Albany NY)*. 2020 Nov 20;12(24):25373-25394.
- Fitzgerald, J. S., Poehlmann, T. G., Schleussner, E., & Markert, U. R. (2008). Trophoblast invasion: the role of intracellular cytokine signalling via signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3). *Human reproduction update*, 14(4), 335-344.
- Frick, A. P. (2021). Advanced maternal age and adverse pregnancy outcomes. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*, 70, 92-100.
- Gao J, Yuan R, Yang S, Wang Y, Huang Y, Yan L, Jiang H, Qiao J. Age-related changes in human conventional semen parameters and sperm chromatin structure assay-defined sperm DNA/chromatin integrity. *Reprod Biomed Online*. 2021 May;42(5):973-982.

- Gardner DK, Weissman A, Howles CM, Shoham Z. Textbook of Assisted Reproductive Techniques Laboratory and Clinical Perspectives. London and New York, A Martin Dunitz Book, 2004.
- Gardner DK, Weissman A, Howles CM, Shoham Z. Textbook of Assisted Reproductive Techniques Laboratory and Clinical Perspectives. London and New York, A Martin Dunitz Book, 2004
- Gardner, D., Weissman, A., Howles, C. & Shoham, Z. (2010). Yardımla üreme teknikleri temel kitabı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Garrido N, Meseguer M, Simon C, Pellicer A, Remohi J: Pro-oxidative and anti-oxidative imbalance in human semen and its relation with male fertility. *Asian J Androl* 2004; 6: 59–65
- Geerkens MJM, Al-Itejawi HHM, Nieuwenhuijzen JA, Meuleman EJM, Lissenberg-Witte BI, van Moorselaar RJA, Vis AN. Sexual Dysfunction and Bother Due to Erectile Dysfunction in the Healthy Elderly Male Population: Prevalence from a Systematic Review. *Eur Urol Focus*. 2020 Jul 15;6(4):776-790.
- Gezginc K, Cicek NM, Colakoğlu M, Celik C, Capar M, Akyurek C. İntrauterin
- Gilbert, S. F. (2000). Developmental Biology (6. bs.) [Elektronik sürüm]. Sunderland: Sinauer Associates. Erişim: 02 Mayıs 2019.
- Goldmann JM, Veltman JA, Gilissen C. De Novo Mutations Reflect Development and Aging of the Human Germline. *Trends Genet*. 2019 Nov;35(11):828-839.
- Goldstein I, Goren A, Li VW, Tang WY, Hassan TA. Epidemiology Update of Erectile Dysfunction in Eight Countries with High Burden. *Sex Med Rev*. 2020 Jan;8(1):48-58.
- Gonzalez DC, Ory J, Blachman-Braun R, Nackeeran S, Best JC, Ramasamy R. Advanced Paternal Age and Sperm DNA Fragmentation: A Systematic Review. *World J Mens Health*. 2022 Jan;40(1):104-115.

- Gonzalez DC, Ory J, Blachman-Braun R, Nackeeran S, Best JC, Ramasamy R. Advanced Paternal Age and Sperm DNA Fragmentation: A Systematic Review. *World J Mens Health*. 2022 Jan;40(1):104-115.
- Gunes S, Hekim GN, Arslan MA, Asci R. Effects of aging on the male reproductive system. *J Assist Reprod Genet*. 2016 Apr;33(4):441-54.
- Guo Y, Li J, Hao F, Yang Y, Yang H, Chang Q, Kong P, Liu W, Jiao X, Teng X. A new perspective on semen quality of aged male: The characteristics of metabolomics and proteomics. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2023 Jan 4;13:1058250
- Gürsoy R.H. ICSI Tüm Olgularda Uygulanmalı Mıdır?. II. Üreme Tıbbı Derneği Kongresi. Ankara, Bayt Bilimsel Araştırmalar Basın Yayın, 2008
- Halvaei I, Litzky J, Esfandiari N. Advanced paternal age: effects on sperm parameters, assisted reproduction outcomes and offspring health. *Reprod Biol Endocrinol*. 2020 Nov 13;18(1):110.
- Halvaei I, Litzky J, Esfandiari N. Advanced paternal age: effects on sperm parameters, assisted reproduction outcomes and offspring health. *Reprod Biol Endocrinol*. 2020 Nov 13;18(1):110.
- Hammoud AO, Wilde N, Gibson M, Parks A, Carrell DT, Meikle AW. Male obesity and alteration in sperm parameters. *Fertil Steril*. 2008 Dec;90(6):2222-5.
- Harem, İ. Ş. (2016). Desidual Hücreler. *Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 5, 202-207.
- Harman SM, Metter EJ, Tobin JD, Pearson J, Blackman MR; Baltimore Longitudinal Study of Aging. Longitudinal effects of aging on serum total and free testosterone levels in healthy men. *Baltimore Longitudinal Study of Aging. J Clin Endocrinol Metab*. 2001 Feb;86(2):724-31.
- Hauger RL, Saelzler UG, Pagadala MS, Panizzon MS. The role of testosterone, the androgen receptor, and hypothalamic-pituitary-gonadal axis in depression in ageing Men. *Rev Endocr Metab Disord*. 2022 Dec;23(6):1259-1273.

- Holte, J., Berglund, L., Milton, K., Garello, C., Gennarelli, G., Revelli, A. Ve Bergh, T. (2007). Construction of An Evidence-Based Integrated Morphology Cleavage Embryo Score for Implantation Potential of Embryos Scored and Transferred on Day 2 After Oocyte Retrieval Human Reproduction, 22:548–557.
- Horta F, Vollenhoven B, Healey M, Busija L, Catt S, Temple-Smith P. Male ageing is negatively associated with the chance of live birth in IVF/ICSI cycles for idiopathic infertility. Hum Reprod. 2019 Dec 1;34(12):2523-2532.
- Humm KC, Sakkas D. Role of increased male age in IVF and egg donation: is sperm DNA fragmentation responsible? *Fertil Steril*. 2013; 99(1): 30-36.
- Ichihara I, Kawamura H, Pelliniemi LJ. Ultrastructure and morphometry of testicular Leydig cells and the interstitial components correlated with testosterone in aging rats. *Cell Tissue Res*. 1993;271:241–255.
- In vitro fertilization- intracytoplasmic sperm injection outcome in patients with a markedly high DNA fragmentation index (>50%).*Fertil Steril*. 2013; 100: 75-80
- iang H, Zhu WJ, Li J, Chen QJ, Liang WB, Gu YQ. Quantitative histological analysis and ultrastructure of the aging human testis. *Int Urol Nephrol*. 2014;46:879–885.
- J.M. Kaufman, B. Lapauw, A. Mahmoud, G. T’Sjoen, I.T. Huhtaniemi Aging and the male reproductive system *Endocr.Rev.*, 40 (4) (2019), pp. 906-972
- Janny L, Menezo YJ. Evidence for a strong paternal effect on human preimplantation embryo development and blastocyst formation. *Mol Reprod Dev*. 1994;38:36–42.
- Jenkins TG, Aston KI, Cairns B, Smith A, Carrell DT. Paternal germ line aging: DNA methylation age prediction from human sperm. *BMC Genomics* (2018) 19(1):763

- Jenkins TG, Aston KI, Carrell DT. Sperm epigenetics and aging. *Transl Androl Urol*. 2018 Jul;7(Suppl 3):S328-S335.
- Jenkins TG, Aston KI, Carrell DT. Sperm epigenetics and aging. *Transl Androl Urol*. (2018) 7(Suppl 3):S328–S35. doi: 10.21037/tau.2018.06.10
- Jenkins TG, Aston KI, Pflueger C, Cairns BR, Carrell DT. Age-associated sperm DNA methylation alterations: possible implications in offspring disease susceptibility. *PLoS Genet*. 2014 Jul 10;10(7):e1004458.
- Johnson L, Petty CS, Neaves WB. Age-related variation in seminiferous tubules in men. A stereologic evaluation. *J Androl*. 1986 Sep-Oct;7(5):316-22.
- Johnson L, Küçük CS, Neavlar Dünya Bankası. Erkeklerde seminifer tübüllerde yaşa bağlı değişiklikler. Stereolojik bir değerlendirme. *J Androl*. 1986;7:316–322. yap:10.1002/j.1939–4640.1986.tb00939.x
- Johnson SL, Dunleavy J, Gemmell NJ, Nakagawa S. Consistent age-dependent declines in human semen quality: a systematic review and meta-analysis. *Ageing Res Rev*. 2015;19:22–33.
- Johnson SL, Dunleavy J, Gemmell NJ, Nakagawa S. İnsan semen kalitesinde yaşa bağlı düşüşler: Sistematik bir inceleme ve meta-analiz. *Yaşlanma Res Rev* 2015; 19:22-33.
- Johnson SL, Dunleavy J, Gemmell NJ, Nakagawa S. İnsan semen kalitesinde yaşa bağlı düşüşler: Sistematik bir inceleme ve meta-analiz. *Yaşlanma Res Rev* 2015; 19:22-33.
- Kabukçu C, Çabuş Ü. İntrauterin inseminasyon uygulanan hastalarda serum vitamin D seviyesinin gebelik ile ilişkisi. *Pamukkale Tıp Derg*. 2021;14:233–41.
- Kaltsas A, Moustakli E, Zikopoulos A, Georgiou I, Dimitriadis F, Symeonidis EN, Markou E, Michaelidis TM, Tien DMB, Giannakis I, Ioannidou EM, Papatsoris A, Tsounapi P, Takenaka A, Sofikitis N, Zachariou A. Impact of Advanced

- Paternal Age on Fertility and Risks of Genetic Disorders in Offspring. *Genes* (Basel). 2023 Feb 14;14(2):486
- Kasman AM, Li S, Zhao Q, Behr B, Eisenberg ML. Relationship between male age, semen parameters and assisted reproductive technology outcomes. *Andrology*. 2021 Jan;9(1):245-252.
- Kaufman JM, Lapauw B, Mahmoud A, T'Sjoen G, Huhtaniemi IT. Aging and the Male Reproductive System. *Endocr Rev*. 2019 Aug 1;40(4):906-972.
- Kaufman JM, Vermeulen A. Yaşlı erkeklerde androjen seviyelerinin azalması ve klinik ve terapötik sonuçları. *Endokr Rev*. 2005;26(6):833-876
- Keel BA. How reliable are results from the semen analysis? *Fertil Steril*. 2004;82:41–4
- Kemal Duru N, Morshedi M, Oehninger S: Effects of hydrogen peroxide on DNA and plasma membrane integrity of human spermatozoa. *Fertil Steril* 2000; 74: 1200–1207.
- Khalafalla K, Majzoub A, Elbardisi H, Bhathella A, Chaudhari A, Agarwal A, Henkel R, AlMarzooki T, Burjaq H, Arafa M. The effect of sperm DNA fragmentation on intracytoplasmic sperm injection outcome. *Andrologia*. 2021 Nov;53(10):e14180.
- Kırca N, Öngen M. İnfertilite Tedavilerinde Etik Sorunlar. *Türkiye Biyoetik Derg*. 2020;7:12–20.
- Kırca N, Öngen M. İnfertilite Tedavilerinde Etik Sorunlar. *Türkiye Biyoetik Derg*. 2020;7:12–20
- Kızılkaya Beji N. Kadın Sağlığı ve Hastalıkları, 3. Baskı, Nobel Tıp Kitapevi, 2019.
- Kidd SA, Eskenazi B, Wyrobek AJ. Effects of male age on semen quality and fertility: A review of the literature. *Fertil Steril* 2001; 75(2):237-48. doi: 10.1016/s0015-0282(00) 01679-4.

- Kidd SA, Eskenazi B, Wyrobek AJ. Erkek yaşının semen kalitesi ve doğurganlığı üzerindeki etkileri: Literatürün gözden geçirilmesi. *Fertil Steril* 2001; 75 (2):237-48. doi: 10.1016 / s0015- 0282 (00) 01679-4.
- Kleshchev M, Osadchuk L, Osadchuk A. Age-Related Changes in Sperm Morphology and Analysis of Multiple Sperm Defects. *Front Biosci (Schol Ed)*. 2023 Sep 27;15(3):12.
- Kleshchev M, Osadchuk L, Osadchuk A. Age-Related Changes in Sperm Morphology and Analysis of Multiple Sperm Defects. *Front Biosci (Schol Ed)*. 2023 Sep 27;15(3):12
- Kong A, Frigge ML, Masson G, Besenbacher S, Sulem P, Magnusson G, Gudjonsson SA, Sigurdsson A, Jonasdottir A, Jonasdottir A, Wong WS, Sigurdsson G, Walters GB, Steinberg S, Helgason H, Thorleifsson G, Gudbjartsson DF, Helgason A, Magnusson OT, Thorsteinsdottir U, Stefansson K. Rate of de novo mutations and the importance of father's age to disease risk. *Nature*. 2012 Aug 23;488(7412):471-5.
- Koshevoy, V., Naumenko, S., Skliarov, P., Fedorenko, S., & Kostyshyn, L. (2021). Male infertility: Pathogenetic significance of oxidative stress and antioxidant defence.
- Kumar N, Singh AK, Choudhari AR. Impact of age on semen parameters in male partners of infertile couples in a rural tertiary care center of central India: A cross-sectional study. *Int J Reprod Biomed* 2017; 15(8):497-502
- Kumar S, Singh R, Malik S, Manne U, Mishra M. Prostate cancer health disparities: An immuno-biological perspective. *Cancer Lett*. 2018 Feb 1;414:153-165
- Kupka MS, Ferraretti AP, de Mouzon J, Erb K, D'Hooghe T, Castilla JA, et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2010: Results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod*. 2014;29(10):2099–113.
- L. Simon, K. Murphy, M.B. Shamsi, L. Liu, B. Emery, K.I. Aston, J. Hotaling, D.T. Carrell, Paternal influence of sperm DNA integrity on early embryonic

development, *Human Reproduction*, Volume 29, Issue 11, 1 November 2014, Pages 2402–2412,

Laurentino S, Cremers JF, Horsthemke B, Tuttelmann F, Czeloth K, Zitzmann M, et al. A germ cell-specific ageing pattern in otherwise healthy men. *Aging Cell* (2020) 19(10):e13242

Liu SJ, Sun JB, Hao X, Han Z, Wen X, Wang XY, Zhou CJ, Liang CG. Blastocyst hatching site is regularly distributed and does not influence foetal development in mice. *Sci Rep*. 2020 Feb 12;10(1):2475.

Lu XM, Liu YB, Zhang DD, Cao X, Zhang TC, Liu M, Shi HJ, Dong X, Liu SY. Effect of advanced paternal age on reproductive outcomes in IVF cycles of non-male-factor infertility: a retrospective cohort study. *Asian J Androl*. 2023 Mar-Apr;25(2):245-251

Luna M, Finkler E, Barritt J, Bar-Chama N, Sandler B, Copperman AB, Grunfeld L. Paternal age and assisted reproductive technology outcome in ovum recipients. *Fertil Steril*. 2009 Nov;92(5):1772-5

Luna M, Finkler E, Barritt J, Bar-Chama N, Sandler B, Copperman AB, Grunfeld L. Paternal age and assisted reproductive technology outcome in ovum recipients. *Fertil Steril*. 2009 Nov;92(5):1772-5.

MAGLI, M. Cristina, et al. Atlas of human embryology: from oocytes to preimplantation embryos. *Hum Reprod*, 2012, 27.Suppl 1: 1-91.

Magli, M. C., Jones, G. M., Lundin, K., Van den Abbeel, E. ve diğerleri. (2012) Atlas of Human Embryology: From Oocytes to Preimplantation Embryos. *Human Reproduction*, Volüm 26, Ek 1.

Marsidi, AM, Kipling, LM, Kawwass, JF, and Mehta, A. Influence of paternal age on assisted reproductive technology cycles and perinatal outcomes. *Fertil Steril*. (2021) 116:380–7.

- Matsumoto H. Molecular and cellular events during blastocyst implantation in the receptive uterus: clues from mouse models. *J Reprod Dev.* 2017;63(5):445-54
- Mayo JA, Lu Y, Stevenson DK, Shaw GM, Eisenberg ML. Parental age and preterm birth: a population-based cohort of nearly 3 million California livebirths from 2007 to 2012. *J Perinatol.* 2021 Sep;41(9):2156-2164.
- Mazur DJ, Lipshultz LI. Infertility in the Aging Male. *Curr Urol Rep.* 2018 May 17;19(7):54.
- Mola JR. Erectile Dysfunction in the Older Adult Male. *Urol Nurs.* 2015 Mar-Apr;35(2):87-93. PMID: 26197627.
- Morris G, Mavrelos D, Odia R, Viñals Gonzalez X, Cawood S, Yasmin E, Saab W, Serhal P, Seshadri S. Paternal age over 50 years decreases assisted reproductive technology (ART) success: A single UK center retrospective analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2021 Oct;100(10):1858-1867
- Moura S, Hartl I, Brumovska V, Calabrese PP, Yasari A, Striedner Y, Bishara M, Mair T, Ebner T, Schütz GJ, Sevcsik E, Tiemann-Boege I. Exploring FGFR3 Mutations in the Male Germline: Implications for Clonal Germline Expansions and Paternal Age-Related Dysplasias. *Genome Biol Evol.* 2024 Feb 1;16(2):evae015
- Munné, S. (2006). Chromosome Abnormalities and Their Relationship to Morphology and Development of Human Embryos *Reproductive Biomedicine Online*, 12:234–253.
- Murshidi MM, Choy JT, Eisenberg ML. Male Infertility and Somatic Health. *Urol Clin North Am.* 2020 May;47(2):211-217.
- Nago M, Arichi A, Omura N, Iwashita Y, Kawamura T, Yumura Y. Aging increases oxidative stress in semen. *Investig Clin Urol* (2021) 62(2):233–238.
- Naher ZU, Ali M, Biswas SK, Mollah FH, Fatima P, Hossain MM, Arslan MI. Effect of oxidative stress in male infertility. *Mymensingh Med J.* 2013 Jan;22(1):136-42.

- Neaves WB, Johnson L, Porter JC, Parker CR Jr, Petty CS. Leydig cell numbers, daily sperm production, and serum gonadotropin levels in aging men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1984 Oct;59(4):756-63.
- Neaves WB, Johnson L, Porter JC, Parker CR Jr, Petty CS. Leydig cell numbers, daily sperm production, and serum gonadotropin levels in aging men. *J Clin Endocrinol Metab.* 1984;59:756–763.
- Neto FTL, Bach PV, Najari BB, Li PS, Goldstein M. Spermatogenesis in humans and its affecting factors. *Semin Cell Dev Biol.* 59:10–26, 2016.
- Neto FTL, Flannigan R, Goldstein M. Regulation of Human Spermatogenesis. *Adv Exp Med Biol.* 2021;1288:255-286.
- Netter FH; Atlas of Human Anatomy, 2005;3. Baskı.
- Nguyen-Powanda P, Robaire B. Oxidative stress and reproductive function in the aging male. *Biology (Basel).* 9(9);1–15, 2020
- Nguyen-Powanda P, Robaire B. Oxidative stress and reproductive function in the aging male. *Biology (Basel).* 9(9);1–15, 2020.
- Nicoletta Tarozzi, Marco Nadalini, Giovanni Coticchio, Carlotta Zacà, Cristina Lagalla, Andrea Borini, The paternal toolbox for embryo development and health, *Molecular Human Reproduction*, Volume 27, Issue 7, July 2021, gaab042
- Nieschlag E Late-onset hypogonadism: a concept comes of age. *Andrology.* 2020;8(6):1506–11.
- Nijs M, De Jonge C, Cox A, Janssen M, Bosmans E, Ombelet W. Correlation between male age, WHO sperm parameters, DNA fragmentation, chromatin packaging and outcome in assisted reproduction technology. *Andrologia.* 43(3);174–9, 2011.
- Nishimura H, L'Hernault SW. Spermatogenesis. *Curr Biol.* 2017 Sep 25;27(18):R988-R994.

- Oliva R. Protamines and male infertility. *Hum Reprod Update*. 12(4);417– 35, 2006
- Oosterhuis GJ, Mulder AB, Kalsbeek-Batenburg E, Lambalk CB, Schoemaker J, Vermes I. Measuring apoptosis in human spermatozoa: a biological assay for semen quality? *Fertil Steril*. 2000 Aug;74(2):245-50.
- O'Shaughnessy PJ. Hormonal control of germ cell development and spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol*. 2014 May;29:55-65.
- Paoli D., Pecora G., Pallotti F., Faja F., Pelloni M., Lenzi A., Lombardo F. Cytological and Molecular Aspects of the Ageing Sperm. *Hum. Reprod*. 2019;34:218–227. doi: 10.1093/humrep/dey357.
- Papadopoulos V, Zirkin BR. Leydig cell aging: Molecular mechanisms and treatments. *Vitam Horm*. 2021;115:585-609.
- Petersen PM, Pakkenberg B. Stereological quantitation of leydig and sertoli cells in the testis from young and old men. *Image Anal Stereol*. 2000;19:215–218. doi:10.5566/ias.v19.p215-218
- Pino V, Sanz A, Valdes N, Crosby J, Mackenna A. The effects of aging on semen parameters and sperm DNA fragmentation. *JBRA assisted reprod* (2020) 24(1):82–86.
- Pino V, Sanz A, Valdés N, Crosby J, Mackenna A. The effects of aging on semen parameters and sperm DNA fragmentation. *JBRA Assist Reprod*. 2020 Jan 30;24(1) 86-82
- Plachot M, Belaisch-Allart J, Mayenga JM, Chouraqui A, Tesquier L, Serkine AM. Outcome of conventional IVF and ICSI on sibling oocytes in mild male factor infertility. *Hum Reprod*. 2002, 17(2):362-369
- Pohl E, Gromoll J, Wistuba J, Laurentino S. Healthy ageing and spermatogenesis. *Reproduction*. 2021 Apr;161(4):R89-R101.
- Pohl E, Gromoll J, Wistuba J, Laurentino S. Healthy ageing and spermatogenesis. *Reproduction*. 161(4);R89–101, 2021.

- Pohl E, Gromoll J, Wistuba J, Laurentino S. Healthy ageing and spermatogenesis. *Reproduction*. 2021 Apr;161(4):R89-R101.
- Pohl E, Höffken V, Schlatt S, Kliesch S, Gromoll J, Wistuba J. Ageing in men with normal spermatogenesis alters spermatogonial dynamics and nuclear morphology in Sertoli cells. *Andrology*. 2019 Nov;7(6):827-839.
- Pohl E, Hoffken V, Schlatt S, Kliesch S, Gromoll J & Wistuba J 2019 Ageing in men with normal spermatogenesis alters spermatogonial dynamics and nuclear morphology in Sertoli cells. *Andrology* 7 827–839.
- Portin P. The birth and development of the DNA theory of inheritance: sixty years since the discovery of the structure of DNA. *J Genet*. 2014 Apr;93(1):293-302.
- Ramasamy R, Trivedi NN, Reifsnyder JE, Palermo GD, Rosenwaks Z, Schlegel PN. Age does not adversely affect sperm retrieval in men undergoing microdissection testicular sperm extraction. *Fertil Steril*. 2014
- Ribas-Maynou, J., & Yeste, M. (2020). Oxidative stress in male infertility: causes, effects in assisted reproductive techniques, and protective support of antioxidants. *Biology*, 9(4), 77
- Rolf C, Kenkel S, Nieschlag E. Age-related disease pattern in infertile men: increasing incidence of infections in older patients. *Andrologia*. 2002 Sep;34(4):209-17.
- Rosiak-Gill A, Gill K, Jakubik J, Fraczek M, Patorski L, Gaczarzewicz D, Kurzawa R, Kurpisz M, Piasecka M. Age-related changes in human sperm DNA integrity. *Aging (Albany NY)*. 2019 Aug 13;11(15):5399-5411.
- Rosiak-Gill A, Gill K, Jakubik J, Fraczek M, Patorski L, Gaczarzewicz D, Kurzawa R, Kurpisz M, Piasecka M. Age-related changes in human sperm DNA integrity. *Aging (Albany NY)*. 2019 Aug 13;11(15):5399-5411.
- Rosiak-Gill A, Gill K, Jakubik J, Fraczek M, Patorski L, Gaczarzewicz D, Kurzawa R, Kurpisz M, Piasecka M. Age-related changes in human sperm DNA integrity. *Aging (Albany NY)*. 2019 Aug 13;11(15):5399-5411.

- Sagi-Dain L, Sagi S, Dirnfeld M. Effect of paternal age on reproductive outcomes in oocyte donation model: a systematic review. *Fertil Steril*. 2015 Oct;104(4):857-865.e1.
- Sakkas D & Alvarez JG 2010 Sperm DNA fragmentation: mechanisms of origin, impact on reproductive outcome, and analysis. *Fertility and Sterility* 93 1027–1036.
- Salamonsen, L. A., Hannan, N. J. & Dimitriadis, E. (2007). Cytokines and chemokines during human embryo implantation: roles in implantation and early placentation. Paper presented at the Seminars in reproductive medicine.
- Sandra Amaral, Alexandra Amaral, Joao Ramalho-Santos. Yaşlanma ve erkek üreme işlevi: mitokondriyal bir bakış açısı. *Ön. Biosci. (Okul Ed)* 2013 , 5(1), 181–197
- Santiago J, Silva JV, Santos MAS, Fardilha M. Age-Dependent Alterations in Semen Parameters and Human Sperm MicroRNA Profile. *Biomedicines*. 2023 Oct 28;11(11):2923.
- Santiago J., Silva J.V., Alves M.G., Oliveira P.F., Fardilha M. Testicular Aging: An Overview of Ultrastructural, Cellular, and Molecular Alterations. *J. Gerontol. Ser. A*. 2019;74:860–871. doi: 10.1093/gerona/gly082
- Schmid TE, Eskenazi B, Baumgartner A, Marchetti F, Young S, Weldon S, Anderson D & Wyrobek DJ 2007 The effect of male age on sperm DNA damage in healthy non-smokers. *Human Reproduction* 22 180–187.
- Selvaratnam J, Paul C, Robaire B. Male Rat Germ Cells Display Age-Dependent and Cell-Specific Susceptibility in Response to Oxidative Stress Challenges. *Biol Reprod*. 2015 Sep;93(3):72.
- Sengupta J, Ghosh D. Multi-level and multiscale integrative approach to the understanding of human blastocyst implantation. *Prog Biophys Mol Biol*. 2014;114(1):49-60.

- Setti AS, Braga DPAF, Guilherme P, Vingris L, Iaconelli A Jr, Borges E Jr. Paternal ageing impacts blastulation and the outcomes of pregnancy at different levels of maternal age: A clustering analysis of 21,960 oocytes and 3837 ICSI cycles. *Andrologia*. 2022 Sep;54(8):e14485.
- Shabir, S., & Singh, M. P. (2022). The aging: Introduction, theories, principles, and future prospective. In *Anti-Aging Drug Discovery on the Basis of Hallmarks of Aging* (pp. 1-17). Elsevier.
- Sharma RK, Said T, Agarwal A: Sperm DNA damage and its clinical relevance in assessing reproductive outcome. *Asian J Androl* 2004; 6: 139–148.
- Shih IeM, Hsu MY, Oldt RJ 3rd, Herlyn M, Gearhart JD, Kurman RJ. The Role of E-cadherin in the Motility and Invasion of Implantation Site Intermediate Trophoblast. *Placenta*. 2002;23(10): 706-715.
- Sibert L, Lacarrière E, Safsaf A, Rives N. Fonctions testiculaires du sujet âgé [Aging of the human testis]. *Presse Med*. 2014 Feb;43(2):171-7.
- Sperm DNA damage is associated with an increased risk of pregnancy loss after IVF and ICSI: systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*. 2008; 23: 2663-2668
- Sperm DNA damage is associated with an increased risk of pregnancy loss after IVF and ICSI: systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod*. 2008; 23: 2663-2668
- Spiropoulos J, Turnbull DM, Chinnery PF: Can mitochondrial DNA mutations cause sperm dysfunction? *Mol Hum Reprod* 2002; 8: 719–721.
- Starosta A, Gordon CE, Hornstein MD. Predictive factors for intrauterine insemination outcomes: a review. *Fertil Res Pract*. 2020 Dec 11;6(1):23.
- T, Belladelli F, Del Giudice F, Eisenberg ML. Male fertility as a marker for health. *Reprod Biomed Online*. 2022 Jan;44(1):131-144.
- T. W. (Thomas W. . Sadler ve J. Langman, Langman’s medical embryology., 11th ed. /. Philadelphia: Lippincott William & Wilkins, 2010.

- Taşkın L. Doğum ve Kadın Sağlığı Hemşireliği Kitabı, Akademisyen Kitapevi, 14. Baskı, 2016.
- Taşkın, L. (2019) Doğum ve Kadın Sağlığı Hemşireliği (Akademisyen Kitabevi)16. Baskı.
- Tatsumi T, Ishida E, Tatsumi K, Okada Y, Saito T, Kubota T, Saito H. Advanced paternal age alone does not adversely affect pregnancy or live-birth rates or sperm parameters following intrauterine insemination. *Reprod Med Biol*. 2018 Jul 24;17(4):459-465.
- Teh, W. T., mcbain, J., & Rogers, P. (2016). What is the contribution of embryoendometrial asynchrony to implantation failure?. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 33(11), 1419-1430.
- Teh, W. T., mcbain, J., & Rogers, P. (2016). What is the contribution of embryoendometrial asynchrony to implantation failure?. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 33(11), 1419-1430.
- Tenover JS. Declining testicular function in aging men. *Int J Impot Res*. 2003 Aug;15 Suppl 4:S3-8.
- The effect of sperm DNA fragmentation on miscarriage rates: a systematic review and meta-analysis.*Hum Reprod*. 2012; 27: 2908-2917
- Tocci A, Lucchini C. WHO reference values for human semen. *Human reproduction update*. 2010;16:559.
- Thompson JG, Brown HM, Sutton-McDowall ML. Measuring embryo metabolism to predict embryo quality. *Reprod Fertil Dev*. 2016;28(1-2):41-50.
- TÜRK, G. (2015). Reaktif Oksijen Türlerinin Spermatozoon Fonksiyonları Üzerindeki Fizyolojik ve Patolojik Etkileri. *Türkiye Klinikleri Reproduction and Artificial Insemination-Special Topics*, 1(3), 26-34.

- Ushizawa, K., Herath, C. B., Kaneyama, K., Shiojima, S., Hirasawa, A., Takahashi, T., ... & Tsujimoto, G. (2004). cDNA microarray analysis of bovine embryo gene expression profiles during the pre-implantation period. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2(1), 77.
- Ünal, Sevil. *Dondurulmuş çözülmüş ve taze embriyo transferinin embriyo canlılığı ve gebelik sonuçlarına etkisi*. 2019. Master's Thesis. Biruni Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Van Opstal J, Fieuws S, Spiessens C, Soubry A. Male age interferes with embryo growth in IVF treatment. *Hum Reprod*. 2021 Jan 1;36(1):107-115.
- Van Opstal J, Fieuws S, Spiessens C, Soubry A. Male age interferes with embryo growth in IVF treatment. *Hum Reprod*. 2021 Jan 1;36(1):107-115.
- Vassena R Boue S Gonzalez-Roca E Aran B Auer H Veiga A Belmonte JCI. Waves of early transcriptional activation and pluripotency program initiation during human preimplantation development. *Development* 2011;138:3699–3709
- Vaughan DA, Tirado E, Garcia D, Datta V, Sakkas D. DNA fragmentation of sperm: a radical examination of the contribution of oxidative stress and age in 16 945 semen samples. *Hum Reprod*. 2020;35(10):2188–96.
- Verón GL, Tissera AD, Bello R, Beltramone F, Estofan G, Molina RI, Vazquez-Levin MH. Impact of age, clinical conditions, and lifestyle on routine semen parameters and sperm kinematics. *Fertil Steril*. 2018 Jul 1;110(1):68-75.e4.
- Verón GL, Tissera AD, Bello R, Beltramone F, Estofan G, Molina RI, et al. Yaş, klinik durumlar ve yaşam tarzının rutin semen parametreleri ve sperm kinematığı üzerindeki etkisi. *Fertil Steril* 2018; 110 (1):68-75.e4.
- Verón GL, Tissera AD, et al. Impact of age, clinical conditions, and lifestyle on routine semen parameters and sperm kinematics. *Fertil Steril*. 2018
- Vertika S, Singh KK, Rajender S. Mitochondria, spermatogenesis, and male infertility - An update. *Mitochondrion*. 2020 Sep;54:26-40.

- Wang X, Sharma RK, Sikka SC, Thomas AJ, Falcone T, Agarwal A. Oxidative stress is associated with increased apoptosis leading to spermatozoa DNA damage in patients with male factor infertility. *Fertil Steril*. 80(3);531–5, 2003.
- Wang X, Yin L, Wen Y, Yuan S. Mitochondrial regulation during male germ cell development. *Cell Mol Life Sci*. 2022 Jan 24;79(2):91.
- Wennerholm UB, Bergh C. Perinatal outcome in children born after assisted reproductive technologies. *Upsala J Med Sci*. 2020;125:158–66.
- Winkle T, Rosenbusch B, Gagsteiger F, Paiss T, Zoller N. The correlation between male age, sperm quality and sperm DNA fragmentation in 320 men attending a fertility center. *J Assist Reprod Genet*. 2009; 26:41–46. 10.1007/s10815-008-9277-3
- Winkle T, Rosenbusch B, Gagsteiger F, Paiss T & Zoller N 2009 The correlation between male age, sperm quality and sperm DNA fragmentation in 320 men attending a fertility center. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics* 26 41–46.
- Wolf KN, Wildt DE, Vargas A, Marinari PE, Kreeger JS, Ottinger MA, et al.. Age-dependent changes in sperm production, semen quality, and testicular volume in the black-footed ferret (*Mustela nigripes*). *Biol Reprod* (2000) 63(1):179–87. doi: 10.1095/biolreprod63.1.179
- World Health Organization, 2009. Infertility. Erişim Tarihi: 14.10.2022 https://www.who.int/health-topics/infertility#tab=tab_1 /
- World Health Organization, laboratory manual for the examination and processing of human semen 6th ed. World Health Organization; 2021.
- Wu Y, Kang X, Zheng H, Liu H, Liu J. Effect of Paternal Age on Reproductive Outcomes of In Vitro Fertilization. *PLoS One*. 2015 Sep 9;10(9):e0135734.
- Yahşi S., Primer infertil kadınlarda psikososyal sorunların IVF başarısı üzerine etkileri. Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi, Uzmanlık Tezi, Kocaeli, 2010.

Yılmaz, F. & Tekmen, I. (2019). İmplantasyon Sürecinde Embriyo, Endometriyum Farklanması ve Moleküler Yolaklar. Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi, 39, 212-220.

Zhang F, Li J, Liang Z, Wu J, Li L, Chen C, Jin F, Tian Y. Sperm DNA fragmentation and male fertility: a retrospective study of 5114 men attending a reproductive center. J Assist Reprod Genet. 2021 May;38(5):1133-1141.

Zini A, Meriano J, Kader K, Jarvi K, Laskin CA, Cadesky K. Potential adverse effect of sperm DNA damage on embryo quality after ICSI. Hum Reprod. 2005 Dec;20(12):3476-80.

Zubkova E V., Robaire B. Effects of ageing on spermatozoal chromatin and its sensitivity to in vivo and in vitro oxidative challenge in the Brown Norway rat. Hum Reprod. 21(11);2901–10, 2006.