

Prob tabanlı aynı odaklı lazer endomikroskopi (pCLE)–in-situ olarak spermatozoanın lokalizasyonunun görüntülenmesinde yeni bir teknik

Trottmann, M., Stepp, H., Sroka, R., et al
Journal of Biophotonics, No 5, 415–421(2015)

Avrupa'da her 60 çiftten biri üreme çağlarında çocuk sahibi olamamaktadır. Bu çiftlerin %50'sinde sorun erkek kaynaklıdır. Tüm infertil erkek hastaların %10'una ise azospermi tanısı konmaktadır. Bu tip durumlarda testiküller sperm ekstraksiyonu (TESE) *in-vitro* fertilizasyon (IVF) öncesi gerekli sperm eldesi için yapılabilir. Bu prosedürde spermatoza eldesi testisten kesi ile minimum 3 adet doku örneği alınarak yapılmaktadır. Örnekler genelde rastgele bölgelerden alınmaktadır. Şu ana kadar sperm eldesi için en uygun alanı işlem öncesi belirlemeye yardımcı bir seçenek bulunmamaktadır. MikroTESE başarılı sperm eldesi ihtimalini arttırsa da oldukça invaziv bir işlem olmakta ve tüm hastaların %7.5'inde hipogonadizme yol açabilmektedir.

pCLE, tüm görüntüleme yöntemlerinin aksine, floresan teknik aracılığıyla mikron skalasında görüntü sağlamaktadır. "Aynı odaklı" (confocal) teknik sayesinde de dokunun mikro mimarisi ve hücrel morfolojisi 60 µm'a kadar görülebilmektedir. pCLE fleksibl fiberoptik problemlerle endoskoplara monte edilebilir ve dokuların *in-vitro* endoskopisinde kullanılabilir. Respiratuar ve gastrointestinal sistemde kullanımı denenmiştir. Ancak pCLE erkek genital traktında hiç kullanılmamıştır. Bu çalışmanın amacı pCLE'nin ejakülat ve testiküler dokuda kullanımının fizibilitesini araştırmaktır.

Çalışmada ejakülat incelemesi, yaşları 21 ile 54 arasında değişen 8'i infertil, 3'ü fertil 11 hastayla; sperm dokusu incelemesi, yaşları 26 ile 52 arasında değişen 10 transseksüel hastayla yapıldı. Transseksüel hastaların hepsi işlem öncesi yaklaşık 3-4 seneden beri estradiol kullanan hastalardı. Bir hasta ek olarak didrogesteron, bir hasta da ek olarak goserelin asetat kullandı. Medikasyonun sonucu olarak bu hastaların testislerindeki spermatozoa miktarındaki dramatik azalmanın, spermatozoa lokalizasyonunu belirlemek için daha ideal bir model oluşturacağı düşünüldü.

Ejakülat örnekleri Dünya Sağlık Örgütü'nün Laboratuvar El Kitabı'nın 5. edisyonu baz alınarak standart spermio-

gram şeklinde yapıldı. Sonrasında pCLE ve aynı odaklı lazer tarama mikroskopisi (CLSM) ile inceleme yapıldı. Görüntüleme işleminin optimizasyonu için farklı floresan maddeler ve konsantrasyonlar da denendi. Bu maddeler 3 ila 5 dakika süre süreyle dokulara topikal olarak verildi. Prob ile testiküler doku incelemesi, skrotum ve tunica albuginea insizyonlarından sonra prob dokuyla direkt temas ettirilerek yapıldı. Ejakülatın prob ile incelenmesi ise, yıkanmış ejakülat boya solüsyonunda bekletildikten sonra gerçekleştirildi. pCLE ile CLSM verileri arasındaki istatistiksel fark incelenirken $p < 0.05$ anlamlı kabul edildi.

Ejekülatındaki spermin görüntülenmesinde pCLE ile faz kontrast mikroskop arasında benzerlik saptandı. pCLE ve CLSM'de tüm floresan maddelerle benzer boyanma patternleri gözlemlendi. Spermin baş kısmı genelde Floresan Alcon ile boyanırken, FITC ile boyamada hem boyun hem de kuyruk kısmı görüldü. Transseksüel erkeklerdeyse testisteki spermatozoa pCLE ve CLSM'de bariz olarak görülebildiği not edildi. On erkeğin 3'ünde tübüler lümendeki tek spermatozoon görüntüldü. İlk önce pCLE ile belirlenen spermatozoa'nın yeri CLSM ile konfirme edildi (Cohen's Kappa katsayısına göre $p = 0.00078$).

Ejakülat ve testis dokusuna dair verilerdeki korelasyon, testisteki spermin saptanmasında pCLE'nin yeni bir tanı aracı olabileceğini destekler nitelikte olduğu görüldü. Dahası, pCLE ile ilk kez testisteki canlı spermatozoa lokalize edilebildiği için TESE sonuçlarının daha optimize olması umudu da oluştu. pCLE'nin özellikle mikroTESE ile combine edilebileceği düşünüldü. Daha önce gastrointestinal traktta kullanılan Floresan Alcon'un insizyon sonrası spermatozoanın görüntülenmesine de uygun olduğu görüldü. Uygulanan floresan maddelerin literatürde herhangi bir yan etkisi şu ana kadar da bildirilmedi. Spermatozanın fertilizasyon kapasitesinin floresana maruz kalmakla bozulmadığı, çiftleştirme amacıyla hayvanlardaki rutin kullanımdan dolayı da bilinmekteydi.

Sonuç olarak çalışma, pCLE'nin androloji alanında testis dokusundaki spermatozoanın yerini göstermede kullanılabilecek yeni bir diyagnostik araç olabileceğini gösterdi.

Çeviri

Dr. Emir Akıncıoğlu, Prof. Dr. Barış Altay
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji AD