

## SPERM DNA HASARI VE ÜREMEYE YARDIMCI TEKNİKLER

Fazilet Kübra BOYNUKALIN<sup>1</sup>, Süleyman GÜVEN<sup>2</sup>, Serdar GÜNALP<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Anatolia Tüp Bebek Merkezi, Ankara

<sup>2</sup> Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Trabzon

<sup>3</sup> Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Ankara

### ÖZET

*İnfertilite, doğurganlık çağındaki altı çiftten bir tanesinin sorunudur ve erkeğe bağlı problemler bu vakaların %40'ını kapsamaktadır. Geçtiğimiz on yıl içerisinde ejakülatta yer alan matür spermin nükleusundaki DNA bütünlüğünün değerlendirilmesinin erkek infertilitesinin nedenlerinden birini açığa çıkarabileceği tezi üzerinde çalışılmıştır. Sperm genetik materyalinin organizasyonundaki değişiklikler sonucu tanımlanan sperm DNA hasarının in vivo ortamda fertilitate potansiyelini olumsuz etkilediğine dair ortaya atılan kanıtlar her geçen gün artmaktadır. Sperm DNA hasarının IVF ve ICSI uygulamasının gebelik başarısı üzerine etkileri tartışmalıdır. Üremeye yardımcı tekniklerde bayan yaşı dışında herhangi bir önemli prognostik faktör belirlenmemiş olmasına rağmen, sperm DNA hasarını belirleyen testlerin üremeye yardımcı tekniklerde prognostik öneme sahip olduklarına dair kanıtlar öne sürülmektedir. Bu derlemenin amacı, sperm DNA hasar testlerinin klinik kullanımda yeri olup olmadığı ile ilgili kanıtların değerlendirilmesi ve bu alanda çalışmaya ihtiyaç duyulan konuların belirlenmesidir.*

**Anahtar kelimeler:** infertilite, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI), intrauterin inseminasyon (IUI), in vitro fertilizasyon (IVF), sperm DNA hasarı  
*Türk Jinekoloji ve Obstetrik Derneği Dergisi, (J Turk Soc Obstet Gynecol), 2014; Cilt: 11, Sayı: 1, Sayfa: 52-8*

### SPERM DNA DAMAGE AND ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNIQUES

#### SUMMARY

*Infertility affects one in six couples of childbearing age and male problems are responsible for 40% of these cases. One area of research that has been studied intensely during the past decade as a cause for male infertility is the integrity of DNA in the nucleus of mature ejaculated spermatozoa. Accumulating evidence suggests that disturbances in the organization of the genomic material in sperm nuclei are negatively correlated with the fertility potential of spermatozoa in vivo. The impact of sperm DNA damage on IVF and ICSI reproductive outcomes remain more controversial. Although no significant prognostic factor for the outcomes of assisted reproductive technique (ART) has been identified, except female age; there is accumulating evidence suggesting potential as a prognostic test for ART. The aim of this review to assess the evidence pertaining to the clinical utility of sperm DNA integrity testing and target areas that require more study.*

**Key words:** infertility, intracytoplasmic sperm injection (ICSI), intrauterine insemination (IUI), in vitro fertilization (IVF), sperm DNA damage  
*Journal of Turkish Society of Obstetrics and Gynecology, (J Turk Soc Obstet Gynecol), 2014; Vol: 11, Issue: 1, Pages: 52-8*

---

**Yazışma adresi:** Prof. Dr. Serdar Günalp, Hacettepe Üniversitesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Sıhhiye, Ankara  
Tel: (0532) 287 37 33  
e-posta: serdargunalp@yahoo.com

Alındığı tarih: 25.07.2013, revizyon sonrası alınma: 19.08.2013, kabul tarihi: 20.08.2013, online yayın tarihi: 21.08.2013

## GİRİŞ

Erkek germ hücrelerinin, DNA hasarına olan yatkınlıkların temelinde spermatogenezin geç döneminde DNA tamir mekanizmalarının azaltılarak düzenlenmesi yer alır. Ayrıca spermatogenez sırasında hücrelerin apoptosis yapma yetenekleri kaybetmeleri de sperm hücrelerinde gözlenebilen genetik hasarı açıklamaktadır. Sperm hücrelerinde görülen DNA hasarının oluşma mekanizmaları tam olarak bilinmese de üzerinde durulan üç temel mekanizma; sperm kromatin paketlenmesinde ortaya çıkan hasar, başarısız apoptosis ve oksidatif stressdir<sup>(1)</sup>.

Son yıllarda yapılan değerlendirmeler sonrasında sperm DNA hasarını değerlendiren testlerle fertil ve infertil erkek tanımının daha net olarak yapılabileceği tezi ortaya atılmıştır. Hepimizin bildiği gibi erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde rutin semen analizi kullanılmaktadır. Semen analizi ile yapılan değerlendirmede sperm sayı hareketlilik ve morfoloji belirlenmektedir. Semen analizinin en önemli limitasyonu testin değerlendirilmesinde kişiler arası ve kişi içi değişkenlikler ortaya çıkabilmesidir. Ayrıca infertil erkeklerin yaklaşık %15'de normal semen analiz sonuçlarına rağmen infertilitenin kesin nedeni ortaya konulamamaktadır. Düşük sayı, motilite ve anormal morfoloji gibi bozuk semen parametreleri olan olgularda sperm DNA hasarı yüksek olarak belirlenmiştir. Normal semen parametrelerine sahip hastaların %8'inde sperm DNA hasarı belirlenmiştir<sup>(2)</sup>. Tüm bunların yanı sıra sperm DNA hasarının in vitro fertilizasyon (IVF), gerekse intrasitoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI) başarısını ön görücü değere sahip olduğuna dair kaygılar mevcuttur.

Bunun yanı sıra, sperm DNA hasarının gebelik prognozunu belirleyici etkisi olduğunu öne süren yayınlar mevcuttur. Bu derlemede amacımız sperm DNA hasarını tespit etmede kullanılan yöntemler ve sperm DNA hasarının IVF ve ICSI başarısı üzerine etkisini ve klinik gebelik sonuçları üzerine etkisini değerlendirmektir.

### SPERM DNA HASARINI TESPİT ETMEDE KULLANILAN YÖNTEMLER

Günümüzde, DNA hasarını tespit etmede kullanılan en sık yöntemler; Sperm Kromatin Yapısı Tayini (Sperm Chromatin Structure Assay) (SCSA),

Akridin Turuncu Testi (Acridine Orange Test- AOT), Toludin Mavisi (Toluidine Blue- TB), Anilin Mavisi (Aniline Blue), TUNEL [The Terminal Deoxynucleotidyl Transferase- Mediated Deoxyuridine (TdU) Triphosphate (dUTP) Nick End Labeling Assay], Asıl Çentik Okuma Tayini (In Situ Nick Translation Assay- INT), Tek Hücre Jel Elektrofrezisi (COMET), Sperm Kromatin Ayrılma Testi'dir (Halosperm Test- Sperm Chromatin Dispersion Test-SCD). Tüm bu testler değerlendirilirken göz önünde bulunması gereken noktalar, her testin tespit ettiği hasar tipinin aynı olup olmadığı ve her testin standart olup olmadığıdır.

#### *Sperm Kromatin Yapısı Tayini (Sperm Chromatin Structure Assay) (SCSA)*

SCSA anormal kromatin yapısına sahip DNA'nın, asit ve ısıya maruz kaldığında denatürasyonuna daha yatkın olması prensibine dayanarak geliştirilmiştir. Akridin turuncusu asit eklendikten sonra denatürasyona bağlı olarak renk değişimi göstermektedir. Bu renk değişimi akım sitometri tekniği kullanılarak belirlenmektedir. SCSA ile ölçülen DNA denatürasyonu, DNA fragmentasyon indeksi (DFI) olarak tanımlanmıştır. Bu testin en önemli avantajı standardizasyonunun olmasıdır<sup>(3)</sup>.

#### *Akridin Turuncu Testi (Acridine Orange Test- AOT)*

Akridin turuncu, nükleik asite özgü, katyonik, floresan bir boyadır. Çift sarmal DNA'ya bağlandığında ortaya çıkan eksitasyon ve emisyon ile, mRNA ya da tek sarmal DNA'ya bağlandığında ortaya eksitasyon ve emisyonun farklı olması prensibi ile kullanılan bir testtir. Teknikte floresan mikroskopu kullanılır ve hızlı, asit ve pahalı olmayan bir yöntemdir. Heterojen boyanma ile değerlendirmenin güçleşmesi, bazı renklerin tam ayrımının yapılamaması ve renklerin hızlı kaybolması tekniğin dezavantajları olarak karşımıza çıkmaktadır<sup>(4)</sup>.

#### *Toludin Mavisi (Toluidine Blue -TB)*

TB, fosfat rezidülerini boyayan temel boyadır. Doğru olarak paketlenmemiş kromatin yapısı ve fragmente uçlarda yer alan fosfat boyanmaya zemin hazırlar. Normal mikroskop ile değerlendirmek yeterli olur ancak kişiler arası ve kişi içi değişkenliklere açıktır<sup>(4)</sup>.

### **Anilin Mavisi (Aniline Blue)**

Anilin mavisi, asidik bir boyadır ve hasarlı DNA'ya sahip spermde rezidüel histonların açığa çıkması sonucu nükleoproteinlere daha kolay ulaşılır ve bu durum anilin mavisinin DNA'yı boyamasını sağlar. Basit ve ucuz bir tekniktir, analiz için ışık mikroskobu yeterlidir; ancak AOT'de olduğu gibi heterojen boyanma tekniğinin en önemli dezavantajıdır<sup>(5)</sup>.

### **TUNEL [The Terminal Deoxynucleotidyl Transferase-Mediated Deoxyuridine (TdT) Triphosphate (dUTP) Nick End Labeling Assay]**

TUNEL testi ile hem tek hem de çift DNA zincirindeki hasarlar tespit edilebilmektedir. TdT enzimi ile tek veya çift DNA zincirindeki kırıklar dUTP ile birleşir ve bu noktalar işaretlenir. İşaretlenen noktalar ışık mikroskopisi, floresan mikroskopisi ya da akım sitometrisi ile değerlendirilir. TUNEL testi SCSA'dan sonra sperm DNA hasarını tespit etmekte en sık kullanılan testtir. TUNEL testi ile asıl tespit edilen DNA hasarından çok DNA kırıklarıdır. SCSA gibi standardizasyonun tam sağlanamamış olması testin en önemli dezavantajıdır<sup>(6)</sup>.

### **Asıl Çentik Okuma Tayini (In Situ Nick Translation Assay- NT)**

NT, TUNEL testi ile aynı prensiplere dayanarak uygulanan bir testtir. TUNEL testinden tek farkı sadece tek zincir DNA kırıklarını tespit etmektedir ve DNA polimeraz I'in katalize ettiği bir enzimatik reaksiyon kullanılmaktadır. Diğer testlerle karşılaştırıldığında sensitivitenin daha düşük olduğu belirlenmiştir.

### **Tek Hücre Jel Elektrofrez (COMET)**

Yoğunluğu azaltılmış sperm agoroz jel tabakaları arasına yerleştirilir ve floresan bağlayan boya eklenmiş elektroforetik bir gradiente maruz bırakılır. Hasarlı DNA'ya sahip yapı elektrofrez esnasında hareket eder ve kuyruklu yıldız görüntüsü ortaya çıkar. Sağlam DNA yapısı ise hareket etmez. Boyanma yoğunluğu ve kuyruklu yıldızın kuyruk uzunluğu DNA fragmentasyonunun derecesini belirler. Kullanımını kısıtlayan durumlara bakıldığında subjektif bir değerlendirme yapılması ve testin değerlendirilmesi için tecrübeye ihtiyaç duyulmasıdır.

### **Sperm Kromatin Ayrılma Testi (Halosperm Test)**

Agoroz jele yüklenen spermin, nükleer proteinleri uzaklaştırmak için asit veya alkali solüsyon ile denature edildikten sonra sperm lizisinin sağlanacağı tampon solüsyonu ile muamele edilir. Sağlam DNA'ya sahip sperm santral bir kor etrafında ayrılmış DNA halkalarına bağlı periferik halo görüntüsü oluşur. Halo görüntüsünü değerlendirmek için yapılan boyamada eozin yada Azure B kullanılmış ise direkt ışık mikroskopunun kullanılması yeterlidir. Floresan boyalar kullanılmış ise floresan mikroskopu kullanılmalıdır. Tekniğin basit olması ve pahalı olmaması en önemli avantajlarından biridir. Ancak kişiler arası ve kişi içi değerlendirme farklılıkları tekniğinin en önemli dezavantajıdır. Tablo I'de testlerin prensipleri, avantajları ve dezavantajları özetlenmiştir.

**Tablo I: Sperm DNA hasarı değerlendirme testleri.**

	<b>Prensip</b>	<b>Yöntem</b>	<b>Avantaj</b>	<b>Dezavantaj</b>
SCSA	DNA denatürasyonuna duyarlılık	Akım sitometrisi	Standardize olması Duyarlılığı yüksek Klinik olarak önemli	Özel ekipman gerektirir
AOT	DNA denatürasyonuna duyarlılık	Floresan Mikroskopisi	Basit ve ucuz	Kişiler arası değerlendirme farkı ve diğer testlerle korele değil
TUNEL	Tek ve çift zincir kırıkları	Akım sitometrisi Floresan mikroskopisi	Duyarlılığı yüksek Klinik olarak önemli	Özel ekipman gerektirir Laboratuvarlar arası değerlendirme farklılıkları
COMET	Tek ve çift zincir kırıkları	Tek hücre elektrofrez Floresan mikroskopisi	Duyarlılığı yüksek Kantitatif bir test	Zaman alıcı Standardize olmamış
Anilin Mavi Boyaması	Lizin rezidülerini ve artık histonları boyar	Parlak alan mikroskopisi	Basit ve ucuz	Laboratuvarlar arası değerlendirme farklılıkları Heterojen boyanma
Toluidin Mavi Boyaması	Fosfat rezidülerini boyar	Parlak alan mikroskopisi	Basit ve ucuz	Laboratuvarlar arası değerlendirme farklılıkları Heterojen boyanma

## SPERM DNA HASARININ KLİNİK ÖNEMİ

### Erkek İnfertilitesi

Literatürde gerek anormal sperm parametrelerine sahip gerekse normal semen parametrelerine sahip erkeklerde fertilité potansiyelini değerlendiren çalışmalar mevcuttur. Evenson ve ark. 1999 yılında yaptıkları çalışmada 165 fertil kabul edilen çifti prospektif olarak değerlendirmiş ve gebe kalma potansiyelini belirleyen en iyi belirleyicinin SCSA ile belirlenen DNA fragmentasyonu olduğu belirlenmiştir<sup>(7)</sup>. Giwerzman ve ark. 137 fertil erkek hasta ile 127 subfertil olarak tanımlanan erkek hasta SCSA kullanılarak DFI değerlendirilerek karşılaştırılmıştır. Semen analizi parametreleri normal olsa bile DFI %20'nin üzerine çıktığında fertilité potansiyeli düşmektedir<sup>(8)</sup>. Saleh ve ark. 2002'de yapmış oldukları çalışmada fertil ve normal semen parametrelerine sahip infertil hastalar ile anormal semen parametrelerine sahip erkeklerde sperm DFI SCSA testi kullanılarak değerlendirilmiştir ve infertil hastalarda DFI anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. Semen parametreleri normal olan ve anormal olan infertil erkeklerin DFI arasında fark saptanmamıştır<sup>(9)</sup>. ASRM tarafından 2013 yılında yayınlanan sperm DNA hasarını değerlendiren testlerin klinik kullanımı üzerine kılavuzda sperm DNA hasar testlerinin fertil ve infertil erkekleri ayırmakta yararlı olduğunu destekleyen yayınlar bulunduğunu ancak bu çalışmaların kanıt derecelerinin zayıf olduğunun altı çizilmiştir<sup>(10)</sup>.

### Yardımcı Üreme Teknikleri

#### *Intrauterin İnseminasyon (IUI)*

IUI; infertilite tedavisinde sıkça kullanılan tedavi yöntemlerinden biridir. Açıklanamayan infertilite, anovulasyon ve ciddi olmayan erkek faktörü IUI endikasyonları arasında yer almaktadır. Allen ve ark. 1985 yılında yayınladıkları derlemede TUNEL testi kullanarak yapılan DNA fragmentasyon değerlendirilmesinin IUI başarısını öngörmeye yeri olduğunu vurgulamıştır<sup>(11)</sup>. 2002 yılında Duran ve ark. 154 IUI siklusunu prospektif olarak değerlendirmiş ve DNA fragmentasyonunu gebe kalamayan olgularda anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. Yine bu çalışmada TUNEL testi kullanarak yapılan DNA fragmentasyonu %12'nin üzerinde olan olgularda gebelik elde edilememiştir<sup>(12)</sup>. 2004 yılında Bungum ve ark. DNA fragmentasyonunun SCSA ile değerlendirerek IVF, ICSI ve IUI tedavisinde

ön görücü etkisi olup olmadığı belirlenmiştir. IUI tedavisinde DFI %27'nin altında olan olgularda, biyokimyasal gebelik, klinik gebelik oranları belirgin olarak daha yüksek saptanmıştır; ancak canlı doğum oranlarında fark bulunamamıştır<sup>(13)</sup>. Yine Bungum ve ark. 2007'de yaptıkları değerlendirmede IUI tedavisinde SCSA ile yapılan değerlendirmede DFI %30'un altında olan olgularda canlı doğum oranı belirgin olarak daha yüksek saptanmıştır<sup>(14)</sup>. Thomson ve ark. 53 IUI siklusunda TUNEL yöntemi kullanarak ve biyokimyasal belirteçler kullanarak yapılan DNA fragmentasyonu değerlendirilmesinin başarıyı öngörücü etkisi saptanmıştır<sup>(15)</sup>.

Literatürde DNA fragmentasyonunun değerlendirilmesinin IUI başarısını ön görücü olduğunu destekleyen yayınlar bulunmasına rağmen, ASRM bu yayınların kanıt düzeyinin zayıf olması nedeniyle kullanımını önermemektedir<sup>(10)</sup>.

#### *İn Vitro Fertilizasyon (IVF) ve İntrasitoplasmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI)*

Konvansiyonel IVF ile karşılaştırıldığında ICSI; daha yüksek fertilizasyon oranlarına sahiptir. Ancak ICSI daha invazif bir metottur ve spermatozoanın doğal seçilme süreci bypass edilir. Avrupa IVF Denetleme programı tarafından yapılan değerlendirmede üremeye yardımcı tekniklerin kullanıldığı hastaların %70'inde ICSI tekniği kullanıldığı belirlenmiştir<sup>(17)</sup>. Uzun yıllardır üremeye yardımcı tekniklerden hangisinin kullanılacağına karar vermek için sperm sayısı, hareketliliği ve morfolojik değerlendirilmesi kullanılmaktadır. Bu parametrelerin yanı sıra DNA fragmentasyonunun gerek kullanılacak tekniğin belirlenmesinde gerekse bu teknikler kullanıldığında gebelik başarısını ön görmede yeri olup olmadığı son yıllarda yapılan pek çok çalışma ile değerlendirilmiştir.

Klasik IVF ile SCSA tekniği kullanılarak yapılan DNA hasarı tespiti yapılmış çalışmalar değerlendirildiğinde IVF başarısını ön görmede yeri olduğuna dair pek çok çalışma yer almaktadır<sup>(18-21)</sup>. Diğer taraftan yine SCSA tekniği kullanılarak yapılan bazı çalışmalarda sperm DNA hasarının IVF başarısını ön görmede yeri olmadığı gösterilmiştir<sup>(22,23)</sup>. TUNEL yöntemi kullanılarak yapılmış çalışmalar gözden geçirildiğinde 7 çalışmaya rastlanmış ve Benchaib ve ark. yapmış olduğu çalışma dışında kalan çalışmaların hepsinde DNA hasarının IVF başarısını ön gördüğü sonucuna varılmıştır<sup>(24-30)</sup>. Simon ve ark. yapmış

oldukları çalışmada COMET tekniği kullanılarak DNA hasarı değerlendirildiğinde IVF başarısını ön görmeye DNA hasarının bağımsız bir değişken olduğu sonucuna varmışlardır<sup>(31)</sup>. 2006 yılında yapılan bir metaanalizde DFI (%30 olan vakaların gebe kalma şansının DFI (%30 olan vakalara göre 2 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir<sup>(32)</sup>). 2011 yılında yapılan başka bir metaanalizde ise DNA hasarının IVF başarısı ile negatif korelasyon gösterdiği belirlenmiştir<sup>(33)</sup>. Tüm bu değerlendirmelere rağmen 2013 yılında ASRM yayınlamış olduğu bültende IVF tedavisinde DNA hasarının değerlendirilmesinin gerekliliğinin kanıt düzeyinin zayıf olduğunu dile getirmiştir<sup>(10)</sup>.

ICSI siklusları ile pek çok basamağın bypass edilmesi sonucu sperm DNA hasarının sonuç üzerine olabilecek etkinin minimize edildiği kanaati yaygındır. ICSI sikluslarında DNA hasarının başarıyı ön görmeye yeri olup olmadığını belirlemek amacıyla pek çok çalışma yapılmıştır. Bungum ve ark. 2004 yılında yapmış oldukları çalışmada ICSI uygulanan DFI(27 olan olgularda eve canlı bebekle gitme olasılığının, DFI (27 olan olgularla karşılaştırıldığında 2.5 kat daha yüksek olduğu saptanmıştır<sup>(13)</sup>). Aynı çalışmada IVF uygulanan grupta bu oran 3.6 olarak saptanmıştır. Literatürde DNA hasarının ICSI sonuçları üzerine olumsuz etkisi olduğunu destekleyen pek çok çalışma vardır<sup>(19,20,25,27-29,34)</sup>. Ancak Bungum ve ark. 2007 yılında yaptıkları çalışmada ICSI başarısının DFI<30 olan olgular ile DFI > 30 olan olguların gebelik başarısı açısından bir fark olmadığı belirlenmiştir<sup>(14)</sup>. Yine bu sonuçları destekleyen çalışmalar vardır<sup>(18,22,26,35-37)</sup>. DFI düzeyi >50 olan ICSI yapılan olgularda yapılan değerlendirmede fertilizasyon oranının ve klinik gebelik oranlarının etkilenmediği belirlenmiştir<sup>(38)</sup>. 2008 yılında yapılan bir metaanalizde DNA hasar testlerinin gebelik sonuçları ile ilişkisi değerlendirilmiş ve küçük ama istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır. Ancak bu sonucun DNA hasarı değerlendiren testlerin rutin kullanıma girmesi için yeterli kanıt teşkil etmediği sonucuna varılmıştır<sup>(39)</sup>. Tüm bu çalışmalarda DNA hasarının tespiti için SCSA başta olmak üzere farklı teknikler kullanılmıştır. Kullanılan bu teknikler içerisinde standardize olduğu kanıtlanan tek yöntem SCSA'dır. ASRM'nin 2013 yılında yayınlamış olduğu bültende ICSI tedavisinde rutin olarak DNA hasarının değerlendirilmesi için yeterli kanıt olmadığı vurgulanmıştır.

## SONUÇ

Spermatozoda gerçekleşecek doğru bir DNA paketlenme sistemi, fertilizasyon ve embriyo gelişimi için oldukça önemlidir. Sperm DNA hasarının tespitinde kullanılan pek çok test bulunmaktadır. Bu testlerin bir kısmında subjektif kriterlere dayanılarak değerlendirme yapılmaktadır. Objektif değerlendirme yapılanların bir kısmında ise standardizasyon sorunu yaşanmaktadır. Günümüzde en sık kullanılan DNA hasar tespiti testi olan SCSA standardize bir test olması açısından avantajlıdır. Sperm DNA hasarı tespitinin fertil ve infertil ayrımının yapılmasında kullanımını destekleyen çalışmalar olmasına karşın kanıt düzeyleri yeterli değildir. Ayrıca kullanılacak yardımcı üreme tekniklerinin seçilmesinde belirlenmiş konuları yoktur. Yapılan çalışmalarda DNA hasar tespitinin, sperm morfolojik değerlendirilmesine üstünlüğü olmadığı gösterilmiştir<sup>(40,41)</sup>. Tüm bu sonuçlar göz önüne alındığında sperm DNA hasar tespitinin rutin kullanımda yeri yoktur.

## KAYNAKLAR

1. Agarwal A, Said TM. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility. Hum Reprod Update 2003;9(4):331-45.
2. Zini A, Bielecki R, Phang D, Zenzes MT. Correlations between two markers of sperm DNA integrity, DNA denaturation and DNA fragmentation in fertile and infertile men. Fertil Steril 2001;75(4):674-7.
3. Evenson DP, Kaspersen K, Wixon RL. Analysis of sperm DNA fragmentation using flow cytometry and other techniques. Soc Reprod Fertil Suppl 2007;65:93-113.
4. Shamsi MB, Imam SN, Dada R. Sperm DNA integrity assays: diagnostic and prognostic challenges and implications in management of infertility. J Assist Reprod Genet 2011;28(11): 1073-85.
5. Erenpreiss J, Bars J, Lipatnikova V, Erenpreisa J, Zalkalns J. Comparative study of cytochemical tests for sperm chromatin integrity. J Androl 2001;22(1):45-53.
6. Tamburrino L, Marchiani S, Montoya M, Elia Marino F, Natali I, Cambi M et al. Mechanisms and clinical correlates of sperm DNA damage. Asian J Androl 2012;14(1):24-31.
7. Evenson DP, Jost LK, Marshall D, Zinaman MJ, Clegg E, Purvis K et al. Utility of the sperm chromatin structure assay

- as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. *Hum Reprod* 1999;14(4):1039-49.
8. Giwercman A, Lindstedt L, Larsson M, Bungum M, Spano M, Levine RJ et al. Sperm chromatin structure assay as an independent predictor of fertility in vivo: a case-control study. *Int J Androl* 2010;33(1):e221-7.
  9. Saleh RA, Agarwal A, Nelson DR, Nada EA, El-Tonsy MH, Alvarez JG et al. Increased sperm nuclear DNA damage in normozoospermic infertile men: a prospective study. *Fertil Steril* 2002;78(2):313-8.
  10. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. The clinical utility of sperm DNA integrity testing: a guideline. *Fertil Steril* 2013;99(3):673-7.
  11. Allen NC, Herbert CM, Maxson WS, Rogers BJ, Diamond MP, Wentz AC. Intrauterine insemination: a critical review. *Fertil Steril* 1985;44(5):569-80.
  12. Duran EH, Morshedi M, Taylor S, Oehninger S. Sperm DNA quality predicts intrauterine insemination outcome: a prospective cohort study *Hum Reprod* 2002;17(12):3122-8.
  13. Bungum M, Humaidan P, Spano M, Jepson K, Bungum L, Giwercman A. The predictive value of sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters for the outcome of intrauterine insemination, IVF and ICSI. *Hum Reprod* 2004; 19(6):1401-8.
  14. Bungum M, Humaidan P, Axmon A, Spano M, Bungum L, Erenpreiss J et al. Sperm DNA integrity assessment in prediction of assisted reproduction technology outcome. *Hum Reprod* 2007;22(1):174-9.
  15. Thomson LK, Zieschang JA, Clark AM. Oxidative deoxyribonucleic acid damage in sperm has a negative impact on clinical pregnancy rate in intrauterine insemination but not intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril* 2011; 96(4):843-7.
  16. Hammadeh ME, Stieber M, Haidl G, Schmidt W. Association between sperm cell chromatin condensation, morphology based on strict criteria, and fertilization, cleavage and pregnancy rates in an IVF program. *Andrologia* 1998;30(1):29-35.
  17. de Mouzon J, Goosens V, Bhattacharya S, Castilla JA, Ferraretti AP, Korsak V et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2006: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2010;25(8):1851-62.
  18. Boe-Hansen GB, Fedder J, Ersboll AK, Christensen P. The sperm chromatin structure assay as a diagnostic tool in the human fertility clinic. *Hum Reprod* 2006;21(6):1576-82.
  19. Larson KL, DeJonge CJ, Barnes AM, Jost LK, Evenson DP. Sperm chromatin structure assay parameters as predictors of failed pregnancy following assisted reproductive techniques. *Hum Reprod* 2000;15(8):1717-22.
  20. Larson-Cook KL, Brannian JD, Hansen KA, Kasperson KM, Aamold ET, Evenson DP. Relationship between the outcomes of assisted reproductive techniques and sperm DNA fragmentation as measured by the sperm chromatin structure assay. *Fertil Steril* 2003;80(4):895-902.
  21. Virro MR, Larson-Cook KL, Evenson DP. Sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters are related to fertilization, blastocyst development, and ongoing pregnancy in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril* 2004;81(5):1289-95.
  22. Payne JF, Raburn DJ, Couchman GM, Price TM, Jamison MG, Walmer DK. Redefining the relationship between sperm deoxyribonucleic acid fragmentation as measured by the sperm chromatin structure assay and outcomes of assisted reproductive techniques. *Fertil Steril* 2005;84(2):356-64.
  23. Lin MH, Kuo-Kuang Lee R, Li SH, Lu CH, Sun FJ, Hwu YM. Sperm chromatin structure assay parameters are not related to fertilization rates, embryo quality, and pregnancy rates in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection, but might be related to spontaneous abortion rates. *Fertil Steril* 2008;90(2):352-9.
  24. Benchaib M, Lornage J, Mazoyer C, Lejeune H, Salle B, Francois Guerin J. Sperm deoxyribonucleic acid fragmentation as a prognostic indicator of assisted reproductive technology outcome. *Fertil Steril* 2007;87(1):93-100.
  25. Borini A, Tarozzi N, Bizzaro D, Bonu MA, Fava L, Flamigni C et al. Sperm DNA fragmentation: paternal effect on early post-implantation embryo development in ART. *Human Reprod* 2006;21(11):2876-81.
  26. Host E, Lindenberg S, Smidt-Jensen S. The role of DNA strand breaks in human spermatozoa used for IVF and ICSI. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000;79(7):559-63.
  27. Huang CC, Lin DP, Tsao HM, Cheng TC, Liu CH, Lee MS. Sperm DNA fragmentation negatively correlates with velocity and fertilization rates but might not affect pregnancy rates. *Fertil Steril* 2005;84(1):130-40.
  28. Seli E, Gardner DK, Schoolcraft WB, Moffatt O, Sakkas D. Extent of nuclear DNA damage in ejaculated spermatozoa impacts on blastocyst development after in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2004;82(2):378-83.
  29. Henkel R, Kierspel E, Hajimohammad M, Stalf T, Hoogendijk C, Mehnert C et al. DNA fragmentation of spermatozoa and assisted reproduction technology. *Reprod Biomed Online* 2003;7(4):477-84.
  30. Frydman N, Prisant N, Hesters L, Frydman R, Tachdjian G, Cohen-Bacrie P et al. Adequate ovarian follicular status does not prevent the decrease in pregnancy rates associated with high sperm DNA fragmentation. *Fertil Steril* 2008;89(1):

- 92- 7.
31. Simon L, Lutton D, McManus J, Lewis SE. Sperm DNA damage measured by the alkaline Comet assay as an independent predictor of male infertility and in vitro fertilization success. *Fertil Steril* 2011;95(2):652-7.
  32. Evenson D, Wixon R. Meta-analysis of sperm DNA fragmentation using the sperm chromatin structure assay. *Reprod Biomed Online* 2006;12(4):466-72.
  33. Zini A. Are sperm chromatin and DNA defects relevant in the clinic? *Syst Biol Reprod Med* 2011;57(1-2):78-85.
  34. Simon L, Brunborg G, Stevenson M, Lutton D, McManus J, Lewis SE. Clinical significance of sperm DNA damage in assisted reproduction outcome. *Human Reprod* 2010;25(7):1594-608.
  35. Gandini L, Lombardo F, Paoli D, Caruso F, Eleuteri P, Leter G et al. Full-term pregnancies achieved with ICSI despite high levels of sperm chromatin damage. *Human Reprod* 2004; 19(6):1409-17.
  36. 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;20(12):3476-80.
  37. Tarozzi N, Nadalini M, Stronati A, Bizzaro D, Dal Prato L, Coticchio G et al. Anomalies in sperm chromatin packaging: implications for assisted reproduction techniques. *Reprod Biomed Online* 2009;18(4):486-95.
  38. Dar S, Grover SA, Moskovtsev SI, Swanson S, Baratz A, Librach CL. In vitro fertilization-intracytoplasmic sperm injection outcome in patients with a markedly high DNA fragmentation index (>50%). *Fertil Steril* 2013;100(1):75-80.
  39. Collins JA, Barnhart KT, Schlegel PN. Do sperm DNA integrity test predict pregnancy with in vitro fertilization? *Fertil Steril* 2008;89(4):823-31.
  40. Maettner R, Sterzik K, Isachenko V, Strehler E, Rahimi G, Alabart JL et al. Quality of human spermatozoa: relationship between high-magnification sperm morphology and DNA integrity. *Andrologia* 2013. doi:10.1111/and.12114.
  41. Sivanarayana T, Krishna ChR, Prakash GJ, Krishna KM, Madan K, Rani BS et al. CASA derived human sperm abnormalities: correlation with chromatin packing and DNA fragmentation. *J Assist Reprod Genet* 2012;29(12):1327-34.