
AKADEMİK PERSPEKTİFTEN HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ

Editör: Dr. Öğr. Üyesi Seçil Nazife PARLAK



yaz
yayınları

Akademik Perspektiften Histoloji ve Embriyoloji

Editör

Dr. Öğr. Üyesi Seçil Nazife PARLAK

yaz
yayınları

2025

**Akademik Perspektiften Histoloji ve
Embriyoloji**

Editör: Dr. Öğr. Üyesi Seçil Nazife PARLAK

© YAZ Yayınları

Bu kitabın her türlü yayın hakkı Yaz Yayınları'na aittir, tüm hakları saklıdır. Kitabın tamamı ya da bir kısmı 5846 sayılı Kanun'un hükümlerine göre, kitabı yayınlayan firmanın önceden izni alınmaksızın elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz, yayınlanamaz, depolanamaz.

E_ISBN 978-625-5838-41-4

Haziran 2025 – Afyonkarahisar

Dizgi/Mizanpaj: YAZ Yayınları

Kapak Tasarım: YAZ Yayınları

YAZ Yayınları. Yayıncı Sertifika No: 73086

M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar/AFYONKARAHİSAR

www.yazyayinlari.com

yazyayinlari@gmail.com

info@yazyayinlari.com

İÇİNDEKİLER

Embryological Period and Molecular Signalling Pathways	1
<i>Seçil Nazife PARLAK, Habibe GÜNDOĞDU</i>	
Leptin Expression in Adipose Tissue: Histopathological Studies	10
<i>Seçil Nazife PARLAK, Ayla ASLAN</i>	
Histoloji Embriyoloji Perspektifinde Yardımcı Üreme Tekniklerinde Yapay Zekânın Kullanımı	18
<i>Zeynep HAYIRLIOĞLU, Seda ŞİMŞEK</i>	
A Brief Journey into The Role of Histology in Philosophical and Scientific Revolutions.....	50
<i>Savaş Volkan GENÇ</i>	
Sperm Kromatin Organizasyonu ve Epigenetik Düzenlemeler	63
<i>Mehmet ÖZBEK</i>	

"Bu kitapta yer alan bölümlerde kullanılan kaynakların, görüşlerin, bulguların, sonuçların, tablo, şekil, resim ve her türlü içeriğin sorumluluğu yazar veya yazarlarına ait olup ulusal ve uluslararası telif haklarına konu olabilecek mali ve hukuki sorumluluk da yazarlara aittir."

EMBRYOLOGICAL PERIOD AND MOLECULAR SIGNALING PATHWAYS

Seçil Nazife PARLAK¹

Habibe GÜNDOĞDU²

1. INTRODUCTION

The embryological period is a critical phase of human development, encompassing the first eight weeks of gestation, during which the groundwork for all major organ systems is established. This phase is characterized by rapid cellular differentiation, tissue formation, and the emergence of distinct anatomical structures (Slepicka, 2021) (Figure 1).

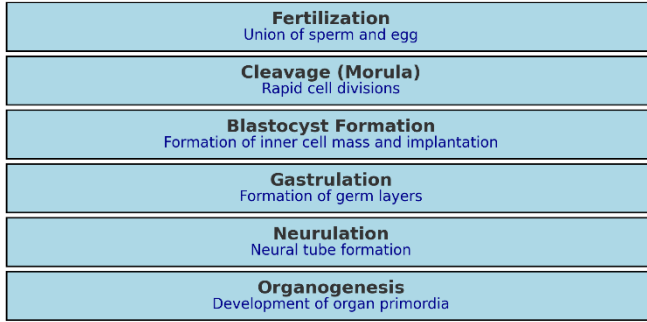


Figure 1. Stages of the embryological period

¹ Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Ağrı İbrahim Çeçen University, Ağrı, Turkey, e-mail: seeparlak@gmail.com, ORCID: 0000-0001-9577-986X

² Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Atatürk University, Division of, Erzurum, Turkey, e-mail: habibe.kars@hotmail.com, ORCID: 0000-0002-6151-4078

2. STAGES OF THE EMBRYOLOGICAL PERIOD

2.1.Pre-Embryonic Stage (Weeks 1–2)

The pre-embryonic stage begins with fertilization, typically occurring in the ampulla of the uterine tube. During this phase, the zygote undergoes cleavage, forming a morula and subsequently a blastocyst (Barrie, 2020). By the end of the first week, the blastocyst implants into the endometrial lining of the uterus. This process involves the differentiation of the trophoblast into cytotrophoblast and syncytiotrophoblast, which are critical for implantation and early placental development (Cindrova-Davies & Sferruzzi-Perri, 2022)

2.2.Embryonic Stage (Weeks 3)

The embryonic stage begins with gastrulation during the third week, forming the three germ layers: ectoderm, mesoderm, and endoderm. These layers form the basis of all tissues and organs. The notochord, derived from mesodermal cells, induces the overlying ectoderm to form the neural plate, initiating neurulation and the development of the neural tube—the precursor to the central nervous system (Catala, 2020).

2.3.Major Developments During Weeks 4–8

Week 4: Embryo folding transforms the flat trilaminar disc into a cylindrical shape, establishing the basic body plan. The primitive heart begins to beat, marking the start of the circulatory system (Pechriggl et al., 2022, Cochard & Dueñas, 2023).

Week 5: Limb buds emerge, and cranial development progresses rapidly. Neural crest cells migrate to contribute to craniofacial structures (Pakvasa et al., 2021).

Week 6: The digits of the hands and feet form through apoptosis-mediated sculpting (Saxena, Towers, & Cooper, 2017). The eyes and external ears develop further, while neuronal

circuits begin forming in the central nervous system (Sanderson, 2019).

Week 7: Ossification begins in bones, and the intestines herniate into the umbilical cord during midgut development (Mundy & Vilchez, 2018). Gonadal differentiation begins under the influence of the SRY gene in males (Rey, Josso, & Racine, 2020).

Week 8: The embryo takes on a distinctly human appearance, with well-established organ primordia. Cardiovascular and renal systems continue to mature (Sebastian & Borjeson, 2020).

3. MOLECULAR SIGNALING PATHWAYS IN EMBRYOGENESIS

Embryonic development is orchestrated by tightly regulated molecular signaling pathways controlling cell proliferation, differentiation, and morphogenesis. These pathways interact with transcription factors, growth factors, and extracellular matrix components to ensure the proper formation of tissues and organs.

3.1.Wnt/ β -Catenin Pathway

The Wnt/ β -catenin pathway regulates cell fate determination, axis formation, and organogenesis. During gastrulation, Wnt signaling is essential for mesoderm differentiation and neural crest cell migration. In limb development, it establishes the dorsal-ventral axis and guides bone morphogenesis. Dysregulation of Wnt signaling has been linked to congenital anomalies such as spina bifida and craniofacial defects (Rai et al., 2023).

3.2.Hedgehog Pathway

The Hedgehog signaling pathway, particularly Sonic Hedgehog (Shh), plays a vital role in neural tube patterning, somite development, and limb bud formation. Shh gradients regulate ventral neural tube differentiation and left-right asymmetry in organ placement. Disruptions in this pathway can result in holoprosencephaly, polydactyly, or cardiac defects (Cai et al., 2023).

3.3.Notch Signaling

Notch signaling ensures precise cell-to-cell communication during somitogenesis, angiogenesis, and neurogenesis. Oscillatory expression of Notch components coordinates the periodic formation of somites, which later differentiate into vertebrae and skeletal muscles. Aberrations in this pathway are associated with conditions like Alagille syndrome and spondylocostal dysostosis (Sparrow et al., 2002).

3.4.Fibroblast Growth Factor (FGF) Pathway

FGF signaling influences cell proliferation and differentiation, particularly in limb bud development and neural induction. It regulates proximodistal limb axis formation and interacts with Shh and Wnt pathways for coordinated development. Mutations in FGF receptors are implicated in skeletal dysplasias like achondroplasia (Moosa & Wollnik, 2016).

3.5.TGF- β /BMP Pathway

The TGF- β /BMP signaling pathway regulates cellular differentiation, apoptosis, and tissue patterning. BMP gradients establish dorsal-ventral patterning in neural tube and limb bud development. These pathways are critical for heart valve formation and craniofacial morphogenesis (Christensen et al., 2017).

4. MORPHOLOGICAL CHANGES MEDIATED BY SIGNALING PATHWAYS

4.1. Neural Tube Closure

Neural tube closure relies on Wnt, BMP, and Shh signaling. Defects in this process lead to anomalies like spina bifida.

4.2. Limb Formation

FGF signaling drives limb outgrowth, Shh establishes the anteroposterior axis, and Wnt regulates dorsal-ventral patterning.

4.3. Heart Development

Notch, TGF- β , and FGF pathways coordinate the formation of the heart tube, valve morphogenesis, and septation (Romero Flores et al., 2023).

5. CLINICAL IMPLICATIONS OF ABERRANT SIGNALING

Aberrant signaling can result in various congenital anomalies:

Neural Tube Defects Faulty Wnt or BMP signaling.

Craniofacial Malformations: Dysregulated Shh or TGF- β pathways.

Congenital Heart Defects: Mutations in Notch pathway genes.

Skeletal Dysplasias: FGF receptor mutations leading to conditions like achondroplasia (Moosa & Wollnik, 2016).

6. FUTURE DIRECTIONS IN EMBRYOLOGICAL RESEARCH

Emerging tools like single-cell RNA sequencing and CRISPR-Cas9 have revolutionized embryonic research, providing real-time insights into signaling pathways and morphological changes (Golchin et al., 2025). Epigenetic studies further elucidate how gene expression is regulated during development, paving the way for targeted therapies (Sadida et al., 2024).

7. CONCLUSION

The embryological period represents a foundation for human development. Understanding molecular signaling pathways driving these processes provides critical insights into developmental biology and congenital anomalies, offering avenues for therapeutic advancements.

REFERENCES

- Barrie, A. (2020). Embryo Development: From Zygote to Blastocyst. *Textbook of Assisted Reproduction*, 819-835.
- Cai, E., Barba, M. G., & Ge, X. (2023). Hedgehog Signaling in Cortical Development. *Cells*, 13(1), 21.
- Catala, M. (2020). Development of the Central Nervous System. *Textbook of Pediatric Neurosurgery*, 3-77.
- Christensen, S. T., Morthorst, S. K., Mogensen, J. B., & Pedersen, L. B. (2017). Primary cilia and coordination of receptor tyrosine kinase (RTK) and transforming growth factor β (TGF- β) signaling. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 9(6), a028167.
- Cindrova-Davies, T., & Sferruzzi-Perri, A. N. (2022, November). Human placental development and function. In *Seminars in Cell & Developmental Biology* (Vol. 131, pp. 66-77). Academic Press.
- Cochard, L. R., & Dueñas, A. N. (2023). *Netter's Atlas of Human Embryology-E-BOOK: Netter's Atlas of Human Embryology-E-BOOK*. Elsevier Health Sciences.
- Golchin, A., Shams, F., Moradi, F., Sadrabadi, A. E., Parviz, S., Alipour, S., ... & Aziz, S. G. G. (2025). Single-cell Technology in Stem Cell Research. *Current Stem Cell Research & Therapy*, 20(1), 9-32.
- Moosa, S., & Wollnik, B. (2016, May). Altered FGF signalling in congenital craniofacial and skeletal disorders. In *Seminars in Cell & Developmental Biology* (Vol. 53, pp. 115-125). Academic Press.
- Mundy, D. C., & Vilchez, G. (2018). Overview of the normal development of the human embryo and fetus. *The*

Diagnosis and Management of the Acute Abdomen in Pregnancy, 25-39.

- Pakvasa, M., Haravu, P., Boachie-Mensah, M., Jones, A., Coalson, E., Liao, J., ... & Reid, R. R. (2021). Notch signaling: its essential roles in bone and craniofacial development. *Genes & Diseases*, 8(1), 8-24.
- Pechriggl, E., Blumer, M., Tubbs, R. S., Olewnik, Ł., Konschake, M., Fortélny, R., ... & Sanudo, J. (2022). Embryology of the Abdominal Wall and Associated Malformations—A Review. *Frontiers in Surgery*, 9, 891896.
- Rai, S., Leydier, L., Sharma, S., Katwala, J., & Sahu, A. (2023). A quest for genetic causes underlying signaling pathways associated with neural tube defects. *Frontiers in Pediatrics*, 11, 1126209.
- Rey, R., Josso, N., & Racine, C. (2020). Sexual differentiation. *Endotext* [internet].
- Romero Flores, B. G., Villavicencio Guzmán, L., Salazar García, M., & Lazzarini, R. (2023). Normal development of the heart: a review of new findings. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 80(2), 79-93.
- Sadida, H. Q., Abdulla, A., Al Marzooqi, S., Hashem, S., Macha, M. A., Akil, A. S. A. S., & Bhat, A. A. (2024). Epigenetic modifications: Key players in cancer heterogeneity and drug resistance. *Translational Oncology*, 39, 101821.
- Sanderson, A. (2019). Translational approaches to measurement and analysis of the cochlear implant-tissue interface (Doctoral dissertation, University of Southampton).
- Saxena, A., Towers, M., & Cooper, K. L. (2017). The origins, scaling and loss of tetrapod digits. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1713), 20150482.

- Sebastian, M. M., & Borjeson, T. M. (2020). Embryology and teratology. In *The Laboratory Rat* (pp. 863-890). Academic Press.
- Slepicka, P. F., Somasundara, A. V. H., & Dos Santos, C. O. (2021, June). The molecular basis of mammary gland development and epithelial differentiation. In *Seminars in Cell & Developmental Biology* (Vol. 114, pp. 93-112). Academic Press.
- Sparrow, D. B., Clements, M., Withington, S. L., Scott, A. N., Novotny, J., Sillence, D., ... & Dunwoodie, S. L. (2002). Diverse requirements for Notch signalling in mammals. *International Journal of Developmental Biology*, 46(4), 365-374.

LEPTIN EXPRESSION IN ADIPOSE TISSUE: HISTOPATHOLOGICAL STUDIES

Seçil Nazife PARLAK¹

Ayla ASLAN²

1. INTRODUCTION

Leptin is an important hormone secreted predominantly from white adipose tissue (WAT) which plays an important role in the regulation of energy homeostasis (Zhang et al., 1994). With the increase in adipose tissue mass, there is an increase in the level of leptin in the blood, resulting in a signal to the hypothalamus that energy reserves are sufficient, leading to a decrease in appetite and an increase in energy expenditure (Considine et al., 1996). However, leptin resistance can occur in states such as obesity and there is a reduction in the regulatory effects of leptin (Caro et al., 1996). The histopathological studies provide a more detailed study of the relationship between leptin expression in adipose tissues and obesity and metabolic diseases. Under this section, the histopathological aspects of leptin's expression in the adipose tissues and association with different inflammatory conditions and the underlying mechanisms of leptin resistance would be discussed.

¹ Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Ağrı İbrahim Çeçen University, Ağrı, Turkey, seeparlak@gmail.com, ORCID: 0000-0001-9577-986X.

² Department of Histology and Embryology, Faculty of Medicine, Atatürk University, Division of, Erzurum, Turkey, habibe.kars@hotmail.com, ORCID: 0000-0002-6151-4078.

2. ADIPOSE TISSUE AND LEPTIN PRODUCTION

2.1. Adipocyte Morphology and Leptin Synthesis

Synthesis of leptin occurs predominantly in adipocytes or fat cells (Ahima & Flier, 2000). Therefore, the topography and size of adipocytes directly affect the synthesis of leptin. Histopathologic investigations have shown that size of adipocytes increased in obese individuals, having been related to high levels of leptin (Cammisotto et al., 2005). Adipocyte hypertrophy may trigger inflammatory responses and may contribute to the development of leptin resistance (Kershaw & Flier, 2004).

2.2. Inflammation in Adipose Tissue-the Expression of Leptin

Chronic low-grade inflammation is a close correlate of adiposity and can modulate leptin expression in adipose tissues. Inflammatory cytokines for instance tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) and interleukin-6 (IL-6) could probably induce leptin gene expression (Mohamed-Ali et al., 1997). Histopathological studies reflected that conditional hyperleptinaemia and inflammation were associated with increased macrophage infiltrations in the fat tissue of obese subjects (Weisberg et al., 2003).

3. HISTOPATHOLOGICAL ANALYSIS OF PHYSIOLOGICAL EFFECTS OF LEPTIN

3.1. Effects on the Central Nervous System

Leptin decreases appetite and increases energy expenditure by binding to receptors within the hypothalamus (Schwartz, Woods, Porte Jr, Seeley, & Baskin, 2000). Histopathological studies provide insight concerning how leptin signaling influences neurocircuitry in the hypothalamus. For example, leptin inhibits the activities of orexigenic neurons such

as neuropeptide Y (NPY) and agouti-related peptide (AgRP), and it increases the activities of anorexigenic neurons like pro-opiomelanocortin (POMC (Elmquist, Ahima, Elias, Flier, & Saper, 1998). Under leptin resistance, these neuronal circuit alterations can be detected histopathologically (Lee & Mattson, 2014).

3.2. Effects on Peripheral Tissues

Leptin may cause an increase in insulin sensitivity in peripheral tissues such as muscle and liver, and stimulate fatty acid oxidation (Frühbeck, 2006). Such histopathological studies will reveal some of the actions of leptin in these tissues, e.g. by diminishing hepatic steatosis and lipids accumulated in muscle fibers. Further, leptin may also affect insulin secretion from pancreatic islets, which can later be evaluated histopathologically (Ickin Gulen, Guven Bagla, Yavuz, & Hismiogullari, 2015).

4. HISTOPATHOLOGICAL ASPECTS OF OBESITY AND LEPTIN RESISTANCE

4.1. Adipocyte Hypertrophy and Hyperplasia

Obesity is characterized by an increase in adipocyte size (hypertrophy) and number (hyperplasia). Histopathological examinations show that fat cells in the obese are larger than normal and that adipose tissue displays a rather irregular architecture (Robino et al., 2024). Adipocyte hypertrophy can cause excessive extracellular matrix (ECM) deposition and fibrosis of adipose tissue, further aggravating leptin resistance (Zhao, Zhou, Ma, Hao, & Li, 2024). Adipocyte hyperplasia is the generation of new adipocytes, and this occurs through differentiation of pre-adipocytes. Histopathologically, it is evident by the presence of undifferentiated mesenchymal cells in adipose tissue.

4.2. Inflammatory Changes in Adipose Tissue and Macrophage Infiltration

In obesity, adipose tissue is in a condition of chronic low-grade inflammation. Histopathological studies show that within the adipose tissue of obese individuals, macrophage infiltrates are present in great abundance (Shantaram et al., 2024). Macrophages trigger leptin resistance by secreting pro-inflammatory cytokines (such as TNF- α , IL-6, MCP-1) and disrupts insulin signaling (Vilariño-García et al., 2024). Macrophage polarization is important as well; M1 macrophages have pro-inflammatory effects, while M2 macrophages possess anti-inflammatory effects. Histopathologically, it can be ascertained that the number of M1 macrophages increases in the adipose tissue of obese individuals, while that of M2 macrophages decreases (Engin, 2024a).

4.3. Adipose Tissue Fibrosis and ECM Remodeling

In obesity, adipose tissue fibrosis is defined by the excessive deposition of ECM proteins. That is, proteins such as collagen, fibronectin, and laminin, which predispose to accumulation around adipocytes, break down the structure of adipose tissue (Wu & Coletta, 2025). Histopathological findings indicate that increased accumulation of collagen is evident in adipose tissue in obese individuals as well as the association of this condition with leptin resistance (Della Guardia & Shin, 2024). The remodeling processes in ECM also play an essential role; the imbalance between matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors (TIMPs) may also lead to ECM accumulation and fibrosis. Histopathological analyses might elucidate the changes in the expression level of MMP and TIMP in adipose tissue in obese individuals.

4.4. Cell Death and Necrosis

Adipocyte hypertrophy as well as inflammation can eventually lead to death of adipocytes (by apoptosis and necrosis). Histopathological studies have shown that adipose tissue in obese individuals has higher amounts of adipocyte death and necrosis areas (Engin, 2024b). Adipocyte death can further incite inflammatory responses, hence contributing to elevating leptin resistance. Necrotic adipocytes are cleared away by macrophages, although this may perpetuate the inflammatory response.

5. CONCLUSION

Leptin is a critical hormone produced by fatty tissues that regulates energy balance. The histopathological understanding of expression and effects of leptin takes a huge deal of importance in prevention and treatment of obesity and metabolic diseases. The histopathological aspects of obesity and leptin resistance include different factors such as hypertrophy of adipocytes, inflammation of adipose tissue, infiltration of macrophages, fibrosis and death of adipocytes. Further research in the future should be directed towards finding new strategies aimed at better understanding these mechanisms and enhancing leptin sensitivity. Histopathological studies have an important role in explaining the pathophysiology of leptin resistance since they evaluate the structural and functional changes occurring in adipose tissue.

REFERENCES

- Ahima, R. S., & Flier, J. S. (2000). Adipose tissue as an endocrine organ. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 11(8), 327-332.
- Cammisotto, P. G., Renaud, C., Gingras, D., Delvin, E., Levy, E., & Bendayan, M. (2005). Endocrine and exocrine secretion of leptin by the gastric mucosa. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*, 53(7), 851-860.
- Caro, J. F., Kolaczynski, J. W., Nyce, M. R., Ohannesian, J. P., Opentanova, I., Goldman, W. H., . . . Considine, R. V. (1996). Decreased cerebrospinal-fluid/serum leptin ratio in obesity: a possible mechanism for leptin resistance. *The Lancet*, 348(9021), 159-161.
- Considine, R. V., Sinha, M. K., Heiman, M. L., Kriauciunas, A., Stephens, T. W., Nyce, M. R., . . . Bauer, T. L. (1996). Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *New England Journal of Medicine*, 334(5), 292-295.
- Della Guardia, L., & Shin, A. C. (2024). Obesity-induced tissue alterations resist weight loss: A mechanistic review. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 26(8), 3045-3057.
- Elmqvist, J. K., Ahima, R. S., Elias, C. F., Flier, J. S., & Saper, C. B. (1998). Leptin activates distinct projections from the dorsomedial and ventromedial hypothalamic nuclei. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 95(2), 741-746.
- Engin, A. B. (2024a). in Obesity. *Obesity and Lipotoxicity*, 273.
- Engin, A. B. (2024b). Message transmission between adipocyte and macrophage in obesity. *Obesity and Lipotoxicity*, 273-295.

- Frühbeck, G. (2006). Intracellular signalling pathways activated by leptin. *Biochemical Journal*, 393(1), 7-20.
- Ickin Gulen, M., Guven Bagla, A., Yavuz, O., & Hismiogullari, A. A. (2015). Histopathological changes in rat pancreas and skeletal muscle associated with high fat diet induced insulin resistance. *Biotechnic & Histochemistry*, 90(7), 495-505.
- Kershaw, E. E., & Flier, J. S. (2004). Adipose tissue as an endocrine organ. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(6), 2548-2556.
- Lee, E. B., & Mattson, M. P. (2014). The neuropathology of obesity: insights from human disease. *Acta neuropathologica*, 127, 3-28.
- Mohamed-Ali, V., Goodrick, S., Rawesh, A., Katz, D., Miles, J., Yudkin, J., . . . Coppel, S. (1997). Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor- α , in vivo. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 82(12), 4196-4200.
- Robino, J. J., Plekhanov, A. P., Zhu, Q., Jensen, M. D., Scherer, P. E., Roberts, C. T., & Varlamov, O. (2024). Adipose Tissue Analysis Toolkit (ATAT) for automated analysis of adipocyte size and extracellular matrix in white adipose tissue. *Obesity*, 32(4), 723-732.
- Schwartz, M. W., Woods, S. C., Porte Jr, D., Seeley, R. J., & Baskin, D. G. (2000). Central nervous system control of food intake. *Nature*, 404(6778), 661-671.
- Shantaram, D., Hoyd, R., Blaszcak, A. M., Antwi, L., Jalilvand, A., Wright, V. P., . . . Lafuse, W. (2024). Obesity-associated microbiomes instigate visceral adipose tissue inflammation by recruitment of distinct neutrophils. *Nature Communications*, 15(1), 5434.

- Vilariño-García, T., Polonio-González, M. L., Pérez-Pérez, A., Ribalta, J., Arrieta, F., Aguilar, M., . . . Navarro, J. (2024). Role of leptin in obesity, cardiovascular disease, and type 2 diabetes. *International journal of molecular sciences*, 25(4), 2338.
- Weisberg, S. P., McCann, D., Desai, M., Rosenbaum, M., Leibel, R. L., & Ferrante, A. W. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *The Journal of clinical investigation*, 112(12), 1796-1808.
- Wu, L., & Coletta, D. K. (2025). Obesity and Type 2 Diabetes Mellitus: Insights from Skeletal Muscle Extracellular Matrix Remodeling. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*.
- Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L., & Friedman, J. M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 372(6505), 425-432.
- Zhao, J. Y., Zhou, L. J., Ma, K. L., Hao, R., & Li, M. (2024). MHO or MUO? White adipose tissue remodeling. *Obesity Reviews*, 25(4), e13691.

HİSTOLOJİ EMBRİYOLOJİ PERSPEKTİFİNDE YARDIMCI ÜREME TEKNİKLERİNDE YAPAY ZEKÂNIN KULLANIMI

Zeynep HAYIRLIOĞLU¹

Seda ŞİMŞEK²

1. GİRİŞ

İnfertilite dünya genelinde yaklaşık 80 milyon çifti etkileyen önemli bir sağlık sorunudur ¹ Yardımcı üreme teknikleri (YÜT), özellikle in vitro fertilizasyon (IVF), 1978’den bu yana geliştirilerek günümüze dek 10 milyondan fazla bebeğin dünyaya gelmesini sağlamıştır. Bununla birlikte, IVF başarı oranları halen sınırlıdır; canlı doğum şansı genellikle %20–40 aralığında kalmakta ve hastaların çoğunluğu ilk denemede gebelik elde edememektedir. Embriyo seçimi gibi kritik aşamalar, deneyimli embriyologların görsel morfolojik değerlendirmesine dayanmakta olup gözlemciler arası farklılıklar ve öznellik nedeniyle standardizasyonu zordur. Bu durum, YÜT uygulamalarında başarıyı etkileyen önemli bir kısıt oluşturmaktadır ¹.

Son yıllarda yapay zekâ (YZ) ve makine öğrenimi tekniklerindeki hızlı gelişmeler, tıp alanında pek çok yeniliğe öncülük ettiği gibi, YÜT uygulamalarında da dikkate değer fırsatlar sunmaktadır. YZ’nin büyük ve karmaşık veri setlerini işleyerek gizli kalıpları ortaya çıkarabilme gücü, her hasta için

¹ Selçuk üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji AD. Konya, zeynepodabashayirlioglu@gmail.com, ORCID: 0009-0000-1506-3352

² Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji A.D. Konya, sedaatay89@gmail.com, ORCID: 0000-0003-4237-5831.

daha kişiselleştirilmiş tanı ve tedavi yaklaşımlarını mümkün kılmaktadır ². YÜT sürecindeki geniş veri yelpazesi – örneğin embriyo gelişim zaman serileri, hasta hormon düzeyleri, genetik ve metabolomik profiller YZ destekli sistemlerle anlamlandırılabilir hale gelmektedir. Nitekim IVF uygulamalarında YZ; embriyo kalitesinin objektif skorlanması, implantasyon ve canlı doğum olasılıklarının tahmini, ovaryan stimülasyon protokollerinin optimize edilmesi, genomik ve metabolomik verilerin analizi ve sperm/oosit seçimi gibi çok sayıda alanda kullanılmaya başlamıştır ³. Bu bölümde, YZ'nin embriyoloji ve histoloji temelli preklinik YÜT uygulamalarındaki rolü güncel literatür ışığında incelenecektir. Embriyo ve gamet değerlendirmesinden doku ve histopatolojik görüntü analizine, hayvan model çalışmalarından YZ'nin laboratuvar entegrasyonuna kadar konunun tüm boyutları ele alınacak; mevcut kazanımlar, sınırlılıklar ve geleceğe yönelik beklentiler akademik bir bakış açısıyla ortaya konacaktır.

2. EMBRİYO DEĞERLENDİRME VE MORFOKİNETİK YORUMDA YZ KULLANIMI

IVF'de başarılı gebelik için en uygun embriyonun seçilmesi anahtar adımdır. Günümüzde embriyolar genellikle morfolojik kriterlere göre değerlendirilmekte, hücre sayısı, fragmantasyon oranı, blastomer simetrisi ve zona pellucida kalınlığı gibi parametreler embriyologlar tarafından puanlanmaktadır ¹. Ancak bu gözlemsel yöntem deneyime dayalı olup yüksek düzeyde öznel bir süreçtir; farklı embriyologlar aynı embriyoyu farklı skorlayabilir ve aynı embriyolog bile zaman içinde tutarsız değerlendirmeler yapabilir ¹. Nitekim çok merkezli çalışmalar, embriyo değerlendirmesinde gözlemciler arası uyumun düşük olduğunu göstermiştir. Bu durum, en kaliteli

embriyonun seçilememesine ve dolayısıyla canlı doğum oranlarının düşmesine yol açabilmektedir. Gerçekten de geleneksel embriyo seçimi yöntemleriyle IVF’de başarı oranı %30 civarında kalmaktadır ⁴. Bu zorlukların üstesinden gelmek üzere son yıllarda zaman atlamalı görüntüleme (time-lapse) ve YZ tabanlı yaklaşımlar ön plana çıkmıştır.

Morfokinetik değerlendirme, embriyo gelişiminin zaman içinde izlenerek kritik olayların (ör. pronükleus oluşumu, ilk bölünme, blastokist oluşumu) zamanlamasının kaydedilmesini içerir. Time-lapse embriyo izleme sistemleri sayesinde inkübatör içindeki embriyoların sürekli görüntüleri alınarak her embriyo için bir gelişim zaman çizelgesi oluşturulabilmektedir. Bu yöntem, embriyoları inkübatörden çıkarmadan 24 saat kesintisiz izleme olanağı sunarak hem kültür koşullarını stabilize etmekte hem de insan gözüyle kaçırılacak ayrıntıları yakalamaktadır ¹. Ancak oluşan veri miktarı oldukça fazladır ve manuel olarak analiz edilmesi güçtür. İşte bu noktada YZ devreye girmektedir: *Derin öğrenme* algoritmaları embriyo gelişim videolarını tarayarak önemli morfokinetik olayları otomatik tespit edebilmektedir. Örneğin, yakın tarihli bir çalışmada Transformer tabanlı bir derin öğrenme modeli ile farklı marka inkübatörlerden elde edilen embriyo videolarında 1. gün pronükleus evresinden 5. gün blastokist evresine kadar 11 ayrı gelişim aşaması otomatik olarak saptanmıştır ⁵. Bu model, embriyologlar arası değişkenlik gösteren evre tanımlama işini standartlaştırarak önemli morfokinetik parametrelerin nesnel ve hızlı biçimde ölçümünü sağlamıştır.

YZ’nin embriyo değerlendirmesindeki en çarpıcı kullanım alanı, embriyo canlılık potansiyelinin öngörülmesidir. Geleneksel morfolojiye dayalı seçim, embriyonun implantasyon kabiliyetini sınırlı doğrulukla tahmin edebilirken, YZ algoritmaları çok sayıda görüntüden öğrenerek implantasyon ve gebelik sonuçlarını öngörmede üstün performans

sergileyebilmektedir. Bir sistematik derlemede, embriyo seçiminde YZ destekli karar sistemlerinin, embriyologların morfoloji değerlendirmesine kıyasla daha yüksek doğrulukta sonuçlar verdiği ve klinik ekipleri geride bıraktığı bildirilmektedir ⁴. Özellikle derin sinir ağları kullanılarak geliştirilen modeller, statik embriyo görüntülerinden implantasyon olasılığını tahmin etmede başarılı bulunmuştur ¹. Örneğin tek bir blastokist görüntüsünden embriyonun öploid olup olmadığını ve transfer sonrası başarılı bir gebelikle sonuçlanma ihtimalini hesaplayan YZ araçları geliştirilmiştir ³. Bu modeller binlerce embriyo görüntüsü ve bilinen sonuçlar (PGT-A ile doğrulanmış kromozom yapısı veya gebelik sonucu) ile eğitilerek non-invaziv bir şekilde embriyonun genetik durumunu tahmin edebilmektedir. Nitekim “Embriyo Sıralama Akıllı Sınıflandırma Algoritması” adı verilen bir YZ modelinin, blastokist görüntülerinden 46 kromozomlu embriyoları tanıyabildiği ve bu embriyoların implantasyon potansiyelinin yüksek olduğunu gösterdiği rapor edilmiştir ³. Bu sayede invaziv bir biyopsi ve genetik test gerekmesizin hangi embriyoların genetik açıdan sağlıklı olabileceği öngörülebilir. Benzer şekilde, YZ kullanılarak erken düşük riski taşıyan embriyoları ayırt etme yönünde de çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin, normal morfoloji ve gelişim gösterse dahi ilk trimesterde düşükle sonuçlanabilecek embriyoları, time-lapse videolarından öğrenen bir derin öğrenme modeli belli bir doğrulukla tespit edebilmiştir ³.

YZ tabanlı embriyo değerlendirme sistemleri, embriyo skorumlama sürecini de otomatikleştirmektedir. Örneğin, bazı modern time-lapse yazılımları embriyoları A, B, C kalite kategorilerine veya implante olma olasılıklarına göre puanlayan entegre YZ algoritmaları içerir. *iDAScore* gibi ticari sistemler, embriyologların herhangi bir manuel girdi olmadan embriyo morfolojisini analiz edip bir canlılık skoru üretebilmektedir ⁶. Bununla birlikte, YZ'nin gerçekten klinik sonuçları iyileştirip

iyileştirmedeği sorusu henüz tam yanıt bulmamıştır. İlk randomize kontrollü çalışmalar, YZ destekli embriyo seçiminin geleneksel yöntemle kıyasla benzer gebelik sonuçları verdiğini göstermektedir ⁷. Örneğin çok merkezli bir çalışmada, YZ tarafından yüksek puan alan embriyoların transferi ile embriyologların standart morfolojik seçimi arasında klinik gebelik oranları bakımından fark saptanmamıştır (YZ grubu %46,5; kontrol %48,2) ⁷. Bu bulgu, YZ'nin en azından klasik yöntemle eşdeğer olduğunu gösterirken, üstünlüğünün kanıtlanması için daha geniş ölçekli klinik çalışmalara ihtiyaç duyulduğunu ortaya koymaktadır ⁶.

YZ embriyo değerlendirmesinde hız, tutarlılık ve öngörü kabiliyetini artırarak devrim niteliğinde bir potansiyele sahiptir. Morfokinetik verilerin otomatik analizi sayesinde embriyo seçiminde insana bağlı varyasyonlar azalmakta, embriyologlar daha objektif verilere dayalı karar verebilmektedir. YZ destekli sistemler henüz embriyologların deneyimini tamamen ikame etmese de bir karar destek aracı olarak implantasyon olasılığı en yüksek embriyoyu belirlemede büyük fayda sağlayacağı öngörülmektedir.

3. GAMET KALİTESİ VE YZ İLE DEĞERLENDİRME

Erkek ve kadın gametlerinin kalitesi, başarılı döllenme ve sağlıklı embriyo gelişimi için temel belirleyicilerdendir. Klinik pratikte sperm kalitesi genellikle konsantrasyon, motilite ve morfoloji gibi klasik parametrelerle değerlendirilir; oosit kalitesi ise matürasyon durumu ve mikroskopik görünümüne göre öngörülmeye çalışılır. Ancak bu geleneksel değerlendirmeler sınırlı duyarlılığa sahiptir ve sonuçlar analiz yapan kişiye göre değişebilir. YZ tabanlı yaklaşımlar, gamet değerlendirmesinde

hem objektiviteyi artırmak hem de hız kazandırmak üzere devreye girmektedir.

Sperm Analizi: Semen örneklerindeki sperm hücreleri, boyama ile veya mikroskopik olarak incelenerek morfolojik açıdan “normal” veya “anormal” kategorilerine ayrılır. Klasik manuel morfoloji analizi hem zaman alıcı hem de gözlemciye bağlı değişkenlik gösteren bir süreçtir. YZ bu alanda, görüntü tanıma becerileri ile devrim yaratmaktadır. Derin öğrenme tabanlı görüntü sınıflandırma modelleri binlerce sperm görüntüsünden öğrenim sağlayarak, yeni bir sperm hücresinin morfolojisini insan seviyesinde veya daha yüksek doğrulukla normal/anormal şeklinde sınıflandırabilir. Nitekim 2019 yılında Javadi ve arkadaşları, insan sperm hücrelerinin boyalı preparatlardaki görüntülerini otomatik olarak analiz eden derin öğrenme tabanlı bir sistem geliştirmiş ve bu sistemin embriyologların değerlendirmesine yakın doğrulukta sonuçlar verdiğini göstermişlerdir ⁸. Benzer şekilde ResNet-50 konvolüsyonel sinir ağı mimarisi kullanılarak oluşturulan bir başka model, sperm hücrelerini baş, akrozom, orta parça ve kuyruk bölgelerindeki şekil bozukluklarına göre normal veya anormal olarak başarılı biçimde sınıflandırmıştır ³. Özellikle derin öğrenme, sperm hücresinin birden çok bölgesindeki (akrozom, baş, boyun, kuyruk gibi) kusurları aynı anda değerlendirebilmekte ve böylece geleneksel tekil kriterlere dayanan yöntemlere üstünlük sağlamaktadır. Bu tür YZ modelleri, laboratuvar mikroskopundan alınan görüntüler üzerinde gerçek zamanlı çalışarak, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) için en iyi spermin seçilmesine yardımcı olabilecek bir dijital danışman işlevi görebilir. Örneğin anormal bir baş yapısına sahip olan spermeleri otomatik olarak tespit eden bir model, embriyoloğa hızlı bir şekilde uyarı vererek bu spermelerin ICSI için seçilmemesini sağlayabilir. Bu, özellikle yüksek büyütme altında sperm seçimi

(IMSI) yapılan durumlarda insan hatasını azaltıp süreci hızlandırabilir ³.

Sperm kalitesinin bir diğer önemli boyutu olan motilite de YZ ile analiz edilebilmektedir. Geleneksel bilgisayar destekli sperm analizi (CASA) sistemleri, videolar üzerinden sperm hareket parametrelerini ölçse de YZ bu videolardaki kompleks hareket modellerini daha derinlemesine anlamlandırma potansiyeline sahiptir. Ottl ve arkadaşlarının *motilitAI* adını verdikleri çalışmada, mikroskop altında kaydedilmiş sperm videoları derin öğrenme modellerine işlenerek sperm hareket paternleri sınıflandırılmıştır. Bu yaklaşımla spermiler ileri doğru hareketli, yerinde hareketli (progresif olmayan) veya hareketsiz şeklinde ayrılmış ve özellikle ileri hareketli spermileri tanımda yüksek bir doğruluk yakalanmıştır ($R^2 \approx 0,74$) ⁹. Geleneksel analizlerde en zor tespit edilen progresif olmayan hareket durumunu dahi kısmen ayırt edebilen bu model, çok sayıda spermin motilitesini eş zamanlı ve objektif bir şekilde değerlendirme imkânı sunmaktadır. Bu tür YZ destekli motilite analizleri, androloji laboratuvarlarında rutin spermiyogram değerlendirmesini otomatikleştirerek hem zaman tasarrufu sağlayabilir hem de insan kaynaklı varyasyonu en aza indirebilir.

YZ, sperm analizi dışında doğrudan testis dokusundan sperm hücresi aranması gibi spesifik konularda da yardımcı olmaktadır ki bu konu ileriki bölümde ayrıntılı ele alınacaktır. Burada kısaca değinmek gerekirse, mikro-TESE gibi işlemlerde testis dokusu içinde az sayıdaki spermin bulunması çok zaman alıcı olabilir. Derin öğrenme modelleri, karmaşık testis doku görüntülerinde nadir sperm hücrelerini tespit ederek cerrahi sperm arama işlemlerini hızlandırma potansiyeline sahiptir ^{10,11}.

Oosit Analizi: Dişi gamet kalitesinin değerlendirilmesi, en az sperm kadar güçlükler barındırır. Oositlerin olgunluk durumu (metafaz-II olup olmaması), sitoplazmik granüller

görünüm, zona pellucida kalitesi ve polar cisimcik varlığı gibi morfolojik kriterler, başarılı döllenme ve embriyo gelişimiyle ilişkili bulunmakla birlikte, oosit kalitesini öngörme konusunda sınırlı bir başarı sağlar. Bu noktada yapay zekâ, embriyo seçiminde olduğu gibi, oosit görüntülerinden öğrenerek ileriye dönük tahminler yapma kabiliyetiyle devreye girmektedir. Özellikle döllenmemiş olgun oositlerin fotoğraflarından yola çıkarak bu oositlerin blastokist aşamasına ulaşp ulaşamayacağını öngören YZ modelleri geliştirilmiştir. 2024 yılında yayınlanan bir çalışmada, 37 binden fazla olgun insan oositi görüntüsü ile eğitilen derin öğrenme modeli, oosit kalitesini değerlendirmede genelleştirilebilir ve sağlam bir performans sergilemiştir ¹¹. Model tarafından yüksek kalite skoru atanan oositlerin ileri gelişim göstererek blastokist oluşturma ihtimalinin anlamlı derecede daha yüksek olduğu saptanmıştır ¹¹. Bu non-invaziv oosit değerlendirme aracı, sadece statik mikroskop görüntüsüne dayanarak çalışmakta ve embriyo gelişimiyle korele bir skor üretebilmektedir. Böylece normalde sadece döllenme ve kültür sonrasında anlaşılabilecek olan oosit kapasitesi hakkında, daha döllenme öncesinde bilgi sağlanabilmektedir. YZ desteğiyle fertilizasyon için en umut vadeden oositleri seçmek mümkün olursa, özellikle sınırlı sayıda oosit elde edilebilen ileri yaş olgularında veya oosit dondurma programlarında önemli kazanımlar elde edilebilir. Nitekim bir pilot çalışmada, fare oositlerinin ışık mikroskobu görüntülerinden kapsamlı morfolojik özellikler çıkaran ve bunları kullanarak oositlerin matürasyon potansiyelini tahmin eden bir makine öğrenimi çerçevesi sunulmuştur. Bu model, zona pellucida'nın doku özelliği ve sitoplazmadaki parçacıkların boyutu gibi insanın subjektif olarak yorumlamakta zorlanacağı özelliklerin, oositin olgunlaşp olgunlaşamayacağını belirlemede kritik olduğunu ortaya koymuştur. Hatta bu özelliklerin insan oositlerinin gelişimsel potansiyelini öngörmeye de uygulanabileceği ileri sürülmüştür ¹². Böylece YZ, oosit kalitesini etkileyen gizli

morfolojik biyobelirteçleri de ortaya çıkarabilecek bir araştırma aracı işlevi görmektedir.

Toparlamak gerekirse, YZ uygulamaları gamet değerlendirmesinde hem erken tanı hem de seçim süreçlerine önemli katkılar sunmaktadır. Sperm için otomatik morfoloji ve motilite analizleri, laboratuvarın rutin iş yükünü azaltırken daha tutarlı sonuçlar üretebilir. Oosit için geliştirilen modeller ise, hangi oositlerin ileri embriyo gelişimine elverişli olduğunu öngörerek IVF başarısını artırmaya yönelik yeni bir parametre sağlayabilir. Bu teknolojiler, özellikle mikroenjeksiyon yapılacak sperm seçiminden, IVF veya ICSI'ye alınacak oositlerin belirlenmesine kadar pek çok adımda karar destek mekanizmaları olarak kullanılabilir.

4. YZ TABANLI DOKU VE HİSTOPATOLOJİK GÖRÜNTÜLEME ANALİZİ

İmplantasyon başarı oranı, sadece embriyo kalitesine değil, aynı zamanda endometriyum alıcılığını da yakından ilgilendirir. Benzer şekilde, erkek infertilitesinde testis dokusunun durumu ve içinde fonksiyonel sperm hücresi bulunup bulunmaması belirleyici bir faktördür. Geleneksel olarak bu dokuların değerlendirilmesi, ultrason görüntülerinin veya histolojik preparatların uzmanlarca yorumlanmasını gerektirir. Yapay zekâ, tıbbi görüntü analizindeki üstün becerileri sayesinde, üreme tıbbında doku düzeyindeki analizleri de otomatikleştirip nesnelleştirmeye başlamıştır.

Endometriyum Analizi: Sağlıklı bir gebelik için embriyonun rahim duvarına tutunması (implantasyon) gerekir ve bu da endometriyal reseptivite kavramını gündeme getirir. Klinik pratikte endometriyumun uygunluğu genellikle ultrason ile endometrium kalınlığının ölçümü ve üçlü çizgi deseni gibi özelliklerin gözlenmesiyle değerlendirilir. Ayrıca *Endometrial*

Reseptivite Dizisi (ERA) gibi moleküler testler ile endometriumun gen ekspresyon profiline bakılarak en uygun transfer zamanı belirlenmeye çalışılır. YZ tabanlı görüntü analiz teknikleri, invaziv olmayan bir şekilde endometriyal reseptiviteyi öngörme doğruluğunu artırmayı hedeflemektedir. Özellikle ultrason görüntülerinin işlenmesi yoluyla endometrium dokusunun otomatik değerlendirilmesi mümkündür. Örneğin son yıllarda geliştirilen bir yöntemde, üç boyutlu transvajinal ultrason görüntülerinde endometrium alanını bir U-Net derin öğrenme modeli ile otomatik olarak segmente eden ve endometrium kalınlığını ölçen bir sistem tanımlanmıştır. Bu modelin, uzman doktor ölçümleriyle %94 oranında uyumlu kalınlık ölçümleri yapabildiği ve tekrarlanabilirliği yüksek bir sonuç verdiği bildirilmektedir ¹³. Benzer şekilde, Wang ve arkadaşlarının 2022 tarihli bir çalışmasında, 3D U-Net mimarisi kullanılarak endometriumun üç boyutlu ultrason görüntülerinden otomatik segmentasyonu gerçekleştirilmiş; bu yolla ölçülen endometrium kalınlıklarının altın standart manuellere uyumlu ve yüksek hassasiyetli olduğu gösterilmiştir. Bu otomatik ölçüm yöntemi, klinikte gözlemciler arası farklılık sorununu büyük ölçüde ortadan kaldıracabilecek bir araçtır ¹³.

Endometriyal reseptivitenin değerlendirilmesinde tek kriter kalınlık değildir; endometriumun yapısal ve doku karakteristiği de önemlidir. Bu kapsamda, EndoClassify adı verilen YZ modeli, *dikkat mekanizmalı U-Net* kullanarak endometriumun ultrason görüntülerindeki katmanlı yapısını segmente etmekte ve *GoogLeNet Inception* mimarisi ile bu görüntülerden bir reseptivite skoru üretmektedir ³. Bu model, sadece görüntüyü değil, hastanın yaşı, vücut kitle indeksi, gravidası, over rezervi gibi demografik verileri ve ayrıca o siklustaki elde edilen oosit sayısı, maturasyon oranı, fertilizasyon oranı gibi embriyolojik verileri de entegre ederek kapsamlı bir değerlendirme yapmaktadır ³. EndoClassify, ultrason

görüntüsünde dış endometriyal tabakaların belirginliği, dış tabaka kalınlığı, endometriyal orta hat (echogenic line), toplam endometrium kalınlığı, orta hatta bitişik hipoeoik tabaka varlığı ve dış tabakaların toplam kalınlığa oranı gibi altı ana özelliği nicelleştirip bir algoritmaya dökmüştür. Schuff ve arkadaşlarının çalışmasında geliştirilen bu modelin, embriyo transferi öncesi endometriyal uygunluğu öngörmede yardımcı olabileceği ileri sürülmüştür ¹⁴. Bu tür bir YZ tabanlı endometriyum analizi, ileride kişiye özel transfer zamanlaması için de yol gösterici olabilir.

Testis ve Histopatoloji Analizi: Erkek infertilitesinde, özellikle azoospermi vakalarında, testis dokusunun durumu hem tanı hem de tedavi planlaması açısından kritik öneme sahiptir. Testis biyopsisinin patolojik incelemesiyle Johnsen skoru gibi histolojik değerlendirmeler yapılır ve spermatogenez derecesi 1'den 10'a kadar sınıflandırılır. Ancak klasik histopatolojik değerlendirme, patologlar arası subjektif farklılıklar gösterebilir ve tüm dokuyu taramak zaman alır. Yapay zekâ, dijital patoloji görüntülerini kullanarak bu alanda da devreye girmiştir. 2021 yılında Ito ve arkadaşları, H&E boyalı testis biyopsi kesitlerini Google Cloud AutoML Vision platformu ile analiz ederek Johnsen skorunu otomatik olarak belirleyen bir model geliştirmiştir ¹⁵. Ito ve ark. tarafından sunulan u çalışmada 7155 adet yüksek büyütme görüntü ve geniş alanlı kesitlerden elde edilen yaklaşık 10 bin alt görüntü kullanılarak model eğitilmiş; Johnsen skoru 1–3, 4–5, 6–7 ve 8–10 olacak şekilde dört kategoriye ayrılmıştır ¹⁵. Sonuçta ortaya çıkan YZ modeli, testis biyopsilerindeki seminifer tübül görüntülerini ilgili Johnsen skor aralığına oldukça yüksek bir doğrulukla atayabilmiştir. Bu araç sayesinde, bir merkezin kodlama bilgisi olmaksızın otomatik bir testis histoloji sınıflandırması yapabildiği ve geleneksel yöntem kadar tutarlı sonuçlar alınabildiği gösterilmiştir. Önemlisi, bu YZ aracı sayesinde bir patolog, çok sayıda preparattaki tüm tübülleri

hızlıca tarayarak spermatogenez seviyesini objektif biçimde raporlayabilir, böylece değerlendirme daha hızlı ve yeniden üretilebilir hale gelir ¹⁵. Bu tür uygulamalar, non-obstrüktif azoospermide hangi vakaların TESE ile sperm bulma şansının olduğunu öngörmeye kadar genişleyebilecek pratik çıktılarına sahiptir.

Testis dokusunun YZ ile analizine bir diğer örnek, deneysel hayvan modellerinden gelmektedir. Spermatogenez evrelerinin tespiti için makak maymunu testisinde yapılan bir çalışmada, tam kesit dijital görüntüler üzerinde her seminifer tübülün evresini (I–XII arası) otomatik tanıyan bir derin öğrenme modeli geliştirilmiştir. Yaklaşık 5000 tübül kesitinin analizinde model, tübüllerin %78’ini doğru evreyle eşleştirmiş ve evre dağılım haritası çıkarmıştır ¹⁶. Bu şekilde oluşturulan evre haritaları, deneysel ortamlarda sperm üretim bozukluklarının topografik desenlerini inceleme fırsatı sunmaktadır. Ayrıca, insan patolojisinde de benzer yaklaşımla, örneğin bir testis biyopsisinde aktif spermatogenez gösteren odakların haritalanması mümkün olabilir. Gerçekten de YZ destekli dijital patoloji ile testis içinde sperm bulunan bölgelerin saptanması üzerinde çalışmalar mevcuttur. Bazı çalışmalarda, konvolüsyonel sinir ağları kullanılarak karmaşık testis dokusu içerisinde nadir sperm hücrelerini tespit eden modellerin geliştirildiği ve cerrahi sperm arama (mikro-TESE) işlemlerinin hız ve başarısını artırabileceği belirtilmektedir ^{10,11}. Bu, pratikte örneklemenin daha etkin yapılmasını ve operasyon sırasında karar verme sürecinin iyileşmesini sağlayabilir.

Embriyo Dokuları: Preimplantasyon embriyolar, implantasyon öncesi dönemde invaziv bir şekilde incelenmedikleri için “embriyo dokusu” analizi kavramı, çoğunlukla araştırma amaçlı çalışmalarda karşımıza çıkmaktadır. Örneğin, embriyolardan biyopsi ile alınan hücrelerde (trophectoderm biyopsisi) yapılan genetik testler günümüzde

yaygın olsa da bunun görüntü analizi yoluyla yapılması henüz mümkün değildir. Bunun yerine, embriyonun *kültür ortamında bıraktığı metabolitler* veya *salgıladığı maddeler* üzerinden dolaylı değerlendirmeler geliştirilmektedir. YZ, bu tür geniş ölçekli “omik” verileri analiz ederek embriyo hakkında çıkarımlar yapma konusunda da kullanılmaya başlanmıştır (gelecek perspektifi bölümünde bu konuya değinilecektir). Bununla birlikte, embriyoya ait histolojik veya doku görüntülerinin YZ ile analizi, insan dışı primatlar veya deney hayvanları üzerinde yürütülen temel araştırmalar haricinde, klinik uygulamada yer almamaktadır.

Genel olarak bakıldığında, YZ destekli doku ve histopatoloji analizi, üreme tıbbında tanısal doğruluğu ve verimliliği artırma potansiyeline sahiptir. Endometrium için ultrason görüntülerinin YZ ile işlenmesi, doğru zamanda doğru hastaya embriyo transferi yapılmasına katkı sağlayabilir. Testis için dijital patoloji ve YZ, hangi hastaların germ hücre yetmezliği yaşadığını objektif verilerle ortaya koyabilir ve uygun hastalarda sperm bulma şansını artırabilir. Bu teknolojiler henüz yaygın kullanıma girmemiş olsa da araştırma bulguları umut vericidir ve klinik validasyonların tamamlanmasıyla birlikte YZ’nin laboratuvar tanı süreçlerine entegrasyonu hızlanacaktır.

5. HAYVAN MODELLERİYLE YZ DESTEKLİ REPRODÜKSİYON ARAŞTIRMALARI

Hayvan modelleri, üreme biyolojisi alanında hem temel mekanizmaların anlaşılması hem de yeni teknolojilerin geliştirilmesi açısından vazgeçilmez bir araçtır. YZ’nin YÜT uygulamalarındaki kullanımı da ilk olarak deneysel hayvan modellerinde test edilmekte ve başarıyla sonuçlanan yaklaşımlar zamanla klinik uygulamaya aktarılmaktadır. Bu bölümde,

kemirgen ve çiftlik hayvanı modellerinde YZ destekli reproduksiyon araştırmalarına dair örnekler ele alınacaktır.

Kemirgen Modelleri: Fare ve sıçan gibi kemirgenlerin üreme fizyolojisi, insanlar dahil memelilerde ortak pek çok özelliği paylaştığından, YZ uygulamalarının geliştirilmesi için uygun bir test ortamı sunar. Örneğin, yukarıda bahsedilen otomatik spermatogenez evreleme çalışması makak maymunu yerine fare testisiyle de yapılabilirdi ve benzer şekilde her seminifer tübül çapının gelişim evresi YZ ile belirlenebilirdi. Nitekim literatürde, fare testis kesitlerinde bilgisayar destekli spermatogenez evre tayini yapıldığına dair çalışmalar bulunmaktadır ¹⁶. Bunun yanı sıra, farelerde in vitro fertilizasyon ve embriyo kültürü süreçleri YZ algoritmalarının eğitimi için büyük miktarda veri sağlamaktadır. Örneğin, bir çalışmada fare zigotlarının time-lapse görüntülerinden yararlanılarak embriyo gelişiminin erken dönemde duraklayıp duraklamayacağını tahmin eden bir YZ modeli geliştirilmiştir. Bu model, henüz birkaç hücreliyen ileriye dönük olarak hangi embriyoların blastokist aşamasına ulaşamayacağını belirli ölçüde öngörebilmiştir. Hayvan modellerinde yapılan bu tür çalışmalar, insan embriyoları üzerinde etik veya pratik nedenlerle yapılamayacak deneylerin yolunu açmakta ve YZ için gerekli büyük veri setlerinin elde edilmesini kolaylaştırmaktadır.

Büyük Hayvan ve Çiftlik Hayvanı Modelleri: Sığır (bovine) ve at gibi büyük memeliler, üreme biyoteknolojilerinin gelişiminde önemli rol oynar. Özellikle sığırlarda geniş ölçekli embriyo üretimi ve transferi uygulamaları, YZ için ideal bir test alanı oluşturur. Bovine embriyolarının kalite değerlendirmesi ve sınıflandırılması için derin öğrenme modelleri başarıyla uygulanmıştır. 2022 yılında yapılan bir çalışmada, in vitro üretimle elde edilmiş sığır embriyolarının görüntülerini analiz etmek üzere modifiye edilmiş konvolüsyonel sinir ağı tabanlı bir model kullanılmış; bu model embriyoların kalitesini yüksek

doğrulukla tahmin edebilmiştir ¹⁷. YZ destekli bu otomatik değerlendirme sayesinde embriyologların zaman alan subjektif değerlendirmelerine alternatif objektif bir skor elde edilmiş, hatta modelin performansının geleneksel yöntemlerden istatistiksel olarak daha iyi olduğu gösterilmiştir ¹⁷. Bu bulgu, sığır embriyolarında YZ kullanımının insan uzmanlarıyla kıyaslanabilir veya üstün olabileceğine işaret etmektedir. Benzer şekilde, sığır oositlerinin kalitesinin derin öğrenme ile tahmin edilmesi yönünde çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin bir araştırmada, ışık mikroskopuyla çekilmiş olgunlaşmamış sığır oositlerinin görüntülerini analiz eden bir model geliştirilmiştir. Bu model, oosit görüntülerinden yola çıkarak söz konusu oositin blastokist oluşturma kapasitesini tahmin etmiş ve uzman embriyologların değerlendirmesiyle kıyaslandığında daha tutarlı ve objektif sonuçlar vermiştir ¹⁸. Bu sayede, büyükbaş hayvan embriyo üretiminde hangi oositlerin kullanılacağı veya dondurulacağı konusunda isabetli kararlar verilebileceği vurgulanmıştır.

YZ'nin hayvan modellerindeki bir diğer uygulama alanı, üreme davranışlarının ve fizyolojik parametrelerin takibi olabilir. Örneğin, süt sığırlarında kızgınlık takibi için sensörlerden gelen büyük veriler (vücut ısısı, hareketlilik gibi) makine öğrenimi ile analiz edilerek en uygun tohumlama zamanının belirlenmesi çalışmaları mevcuttur. Benzer şekilde, tavşan veya domuz gibi modellerde farklı hormonal düzeylerin veya genomik işaretçilerin değerlendirilmesinde YZ teknikleri kullanılmaktadır. Bu çalışmalar her ne kadar doğrudan YÜT kapsamında olmasa da elde edilen yöntem ve sonuçlar insan üremesiyle ilgili içgörüler sağlayabilir.

Hayvan modelleri ayrıca, YZ algoritmalarının güvenlik ve etkinlik testleri için de gerekli ortamı sağlar. Örneğin, IVF laboratuvarlarının otomasyonu konusunda geliştirilen robotik sistemler ilk olarak hayvan embriyoları üzerinde denenmiş ve

preklinik doğrulamaları yapılmıştır ¹⁹. Bu sayede, insan uygulamasına geçmeden önce YZ kontrollü işlemlerin güvenli olduğundan emin olunmaktadır. Nitekim dünyanın ilk otomatik IVF denemesinde kullanılan sistem, insan oositlerine geçmeden evvel hayvan modellerinde kapsamlı testlerden geçirilmiştir ¹⁹.

Hayvan modelleri YZ destekli üreme araştırmalarında bir test sahası işlevi görmektedir. Burada elde edilen başarılar, yöntemlerin optimize edilmesi ve güvenlik sınamalarının tamamlanmasının ardından insan üreme tıbbına entegre edilmektedir. Sığır ve kemirgenlerde elde edilen bulgular, YZ'nin hem gamet hem embriyo değerlendirmesinde evrimsel olarak korunan prensipleri yakalayabildiğini göstererek insan uygulamalarına ışık tutmaktadır. Gelecekte, farklı türlerin üreme verilerinin entegre analiziyle YZ algoritmaları daha da güçlenecek ve türler arası çıkarımlarla insan infertilitesine yenilikçi çözümler sunabilecektir.

6. YZ'NİN YÜT LABORATUVARLARINA ENTEGRASYONU

YZ'nin YÜT alanındaki başarılı uygulamaları, bu teknolojinin klinik laboratuvarlara entegrasyonu konusunu gündeme getirmiştir. Bir IVF laboratuvarında YZ'nin etkin biçimde kullanılabilmesi için hem teknik altyapı hem de iş akışının yeniden düzenlenmesi gerekebilir. Entegrasyon sürecinde, YZ araçlarının embriyolog ve klinisyenlerin karar destek sistemleri olarak konumlanması ve mevcut protokolleri aksatmadan onlara değer katması hedeflenmektedir.

Günümüzde bazı ileri IVF merkezleri, time-lapse inkübatörler ile entegre YZ yazılımlarını rutin olarak kullanmaya başlamıştır. Bu sistemler, embriyolar inkübatörde gelişirken eş zamanlı olarak görüntüleri analiz edip bir canlılık skoru üreterek embriyologlara önerilerde bulunabilmektedir. Örneğin,

uluslararası kullanıma sunulan bazı YZ yazılımları (Life Whisperer, iDAScore vb.), embriyo görüntülerini bulut tabanlı bir platforma yükleyip birkaç dakika içinde her embriyo için implantasyon ihtimalini yüzde olarak rapor edebilmektedir. Böyle bir rapor, embriyolog için ikinci bir görüş niteliği taşıyarak hangi embriyoyu transfer edeceği kararını destekler. Karar destek sistemleri (Decision Support Systems) olarak adlandırılan bu uygulamalar, son kullanıcı olan embriyologlar için anlaşılır arayüzlerle sunulmaktadır. Genellikle bir embriyo listesi ve yanlarında YZ skoru şeklinde gösterilen bu çıktı, embriyolog tarafından klinik diğer verilerle birlikte yorumlanarak son karar verilir. Bu noktada, laboratuvar personelinin YZ çıktısını doğru yorumlayabilecek şekilde eğitimi de entegrasyonun önemli bir parçasıdır. YZ'nin önerdiği puan veya sınıflandırmanın ne anlama geldiği, güven aralıkları ve modelin olası yanılgıları konusunda farkındalık sağlanmalıdır.

YZ'nin laboratuvara entegrasyonunun bir diğer boyutu, veri altyapısının oluşturulmasıdır. YZ modelleri etkili olabilmek için dijital veriye ihtiyaç duyar; dolayısıyla laboratuvarda gerçekleşen işlemlerin mümkün olduğunca dijital olarak kayıt altına alınması gerekir. Bu bağlamda, örneğin embriyo takip formlarının elektronik ortamda tutulması, ultrason ve mikroskop görüntülerinin arşivlenmesi, hasta verilerinin yapılandırılmış biçimde kayıt altına alınması önem kazanır. Tüm bu veri, YZ algoritmalarının öğrenmesi ve performansını artırması için kullanılabilir. Büyük klinik ağları, sahip oldukları verileri bir araya getirerek daha geniş YZ modelleri eğitmekte ve bu modelleri tüm şubelerinde uygulamaya koymaktadır. Ancak burada dikkat edilmesi gereken konu, verilerin standart hale getirilmesidir. Farklı laboratuvarlar arasında sınıflama ve notasyon farkları varsa, YZ modelleri genelleme yapmakta zorlanabilir. Dolayısıyla entegrasyon sürecinde, veri standardizasyonu ve kalite kontrol mekanizmaları da tesis

edilmelidir. Örneğin her embriyo için aynı tanımsal parametrelerin kaydedildiği ortak bir protokol benimsemek, YZ'nin farklı merkezlerde tutarlı çalışmasına yardımcı olacaktır².

Laboratuvara YZ entegrasyonunun belki de en yenilikçi boyutu, robotik otomasyon ile birleşmesidir. Son dönemde, YZ ile kontrol edilen robotik sistemlerin IVF laboratuvarındaki manuel işlemleri devralmaya başladığı görülmektedir. Özellikle ICSI işleminin otomasyonu konusunda çarpıcı gelişmeler yaşanmıştır. 2023 yılında yayınlanan bir vaka raporunda, dijital olarak kontrol edilen ve YZ destekli bir ICSI robotu ile döllenmiş oositlerden sağlıklı bir bebek dünyaya geldiği bildirilmiştir¹⁹. Bu sistem, ICSI'nin 23 adımının yaklaşık yarısını (%49,6) tam otonom olarak gerçekleştirmiş; geri kalan adımlar ise uzaktan bir operatör tarafından dijital ortamda yönlendirilmiştir. Sonuçta elde edilen fertilizasyon ve blastokist gelişim oranları, tamamen insan eliyle yapılan kontrol grubuna benzer bulunmuştur¹⁹. Bu başarı, YZ'nin yalnızca görüntü analizi değil, aynı zamanda mekanik işlemlerin otomasyonu için de kullanılabileceğini göstermektedir. Böyle bir sistemde YZ, mikroskop görüntüsünden en iyi spermi seçmekte, lazerle kuyruğunu immobilize etmekte ve robotik mikromanipülatörü yönlendirerek spermi oosite en uygun noktadan en az hasarla enjekte etmektedir. Tüm bu süreç, insan embriyolog gözetiminde olsa da iş yükünü ve insana bağlı değişkenliği büyük ölçüde azaltmaktadır. Otomatik ICSI gibi uygulamalar henüz deneysel olmakla birlikte, ileride laboratuvarların tam otomasyona geçmesinin önünü açabilir. Bu tür sistemlerin geniş çapta benimsenmesi durumunda, dünyanın herhangi bir yerindeki bir embriyolog, başka bir ülkedeki laboratuvarın robotunu uzaktan kontrol ederek işlem yapabilir hale gelecektir. Bu da hem coğrafi engelleri azaltacak hem de standardizasyonu global ölçekte artıracaktır.

YZ'nin laboratuvara entegrasyonunda etik ve yasal boyutlar da göz önüne alınmalıdır (bir sonraki bölümde ayrıntılı

tartışılacaktır). Örneğin bir YZ algoritması laboratuvarda rutin kararlarda kullanılıyorsa, hatalı öngörüler yaptığında sorumluluk kime ait olacaktır? Entegrasyon aşamasında bu gibi soruların yanıtları için kurallar belirlenmeli, YZ sistemleri “kara kutu” şeklinde çalışmak yerine kullanıcıya en azından temel bir açıklana bilirlik sunmalıdır ². Günümüzde bazı YZ tabanlı embriyo seçim yazılımları, modelin neden belirli bir embriyoya yüksek skor verdiğini açıklamaya yardımcı olacak ısı haritaları veya belirgin özellik vurgulamaları gibi araçlar sunmaya başlamıştır. Bu sayede embriyolog, YZ’nin karar mantığını kısmen de olsa anlayabilir ve kendi deneyimiyle örtüşüp örtüşmediğini değerlendirebilir.

YZ’nin YÜT laboratuvarlarına entegrasyonu kademeli olarak ilerleyen ancak kaçınılmaz bir süreç gibi görünmektedir. İlk etapta karar destek aracı olarak başlayan bu teknoloji, zamanla otomasyon sistemleriyle birleşerek laboratuvar iş akışını kökten değiştirme potansiyeline sahiptir. Bu entegrasyon sürecinin başarıyla yürütmesi için insan faktörünün merkezde kalması, yani YZ’nin bir yardımcı rolünde olduğu ve nihai kararların uzmanlarca verildiği bir çerçevenin korunması önemlidir. Bu sayede yapay zekâ, embriyologların yerini alan değil, onların etkinliğini ve verimliliğini artıran bir yenilik olarak değer kazanacaktır.

7. SINIRLILIKLAR, VALİDASYON VE REGÜLASYON

YZ’nin YÜT alanındaki uygulamaları büyük umut vadetse de klinik pratiğe tam entegrasyon öncesinde dikkate alınması gereken çeşitli sınırlılıklar ve zorluklar vardır. Bunların başında model genellenebilirliği, veri kalitesi, etik-endişeler ve düzenleyici gereklilikler gelmektedir.

Veri Kaynaklı Sınırlılıklar: YZ modellerinin başarısı, büyük ölçüde eğitildikleri veri setlerinin kapsamına ve temsil gücüne bağlıdır. IVF klinikleri arasında protokol ve hasta popülasyonu farklılıkları olduğundan, bir merkezde geliştirilen model bir başka merkezin verilerinde beklenen performansı göstermeyebilir. Örneğin, sadece belirli bir ırk veya yaş grubu hastaların verileriyle eğitilmiş bir embriyo skorlama modeli, daha farklı demografiye sahip bir hasta grubunda yanılabilir. Bu nedenle geniş ve çeşitli veri setlerine ihtiyaç vardır. Ancak pratikte veri paylaşımı, mahremiyet ve rekabet gibi sebeplerle kısıtlı olabilmektedir. Ayrıca farklı laboratuvarların embriyo kalite notları veya klinik sonuç tanımları değişebildiğinden, veri tanımlarındaki tutarsızlıklar modelin genel başarısını sınırlayabilir². YZ araçlarının genellenebilirliğini artırmak için, çok merkezli ve standardize edilmiş veri kümeleriyle modellerin yeniden eğitilmesi gerekebilir. Bir diğer veri ile ilgili sınırlama, etiketleme sürecinin zahmetli olmasıdır. Örneğin binlerce embriyo görüntüsünün kaliteli biçimde anotanması veya her birinin implantasyon sonucunun takibi büyük emek gerektirir. Bu durumda modeller bazen yansız (unlabeled) verilerden de öğrenebilen yarı-denetimli tekniklere yönelmektedir.

Model Kaynaklı Sınırlılıklar: YZ modelleri genellikle bir “kara kutu” olarak görülür; yani girdi olarak aldığı veriden nasıl bir iç işlemle çıktıya ulaştığı tam şeffaf değildir. Özellikle derin öğrenme modellerinde bu sorun belirgin olup, bir embriyoya verilen puanın ardındaki nedenler açıklanamayabilir. Bu açıklana bilirlik eksikliği, kullanıcılar ve düzenleyici otoriteler nezdinde güven sorununa yol açabilir². Bir embriyolog, YZ’nin önerisini kendi bilgisiyle çelişkili bulursa hangi tarafın haklı olduğunu değerlendirmekte zorlanabilir. Bu nedenle, model kararlarının belirli ölçüde izah edilebilir olması idealdir. Örneğin bir YZ modeli “bu embriyo %60 implantasyon olasılığına sahip” diyorsa, mümkünse hangi özelliklerden dolayı bu sonuca

vardığını belirtmelidir. Araştırmacılar, derin öğrenme modellerinin kararlarını görselleştirmek için *Grad-CAM* gibi yöntemlerle embriyo görüntüsünde hangi bölgelerin modele etki ettiğini göstermeye başlamışlardır. Yine de açıklana bilirlik konusunda alınacak daha çok yol vardır.

Validasyon ve Klinik Kanıt: YZ uygulamalarının klinik kullanımı için, diğer tıbbi teknolojilerde olduğu gibi, etkinlik ve güvenliğinin kanıtlanması gerekir. Şu ana dek YZ destekli embriyo seçim veya tedavi optimizasyon araçlarıyla ilgili yayınlanan randomize kontrollü çalışma sayısı sınırlıdır. Mevcut çalışmalardan birinde, YZ ile seçilen embriyonun transfer edildiği hastalar ile geleneksel yöntemle seçilen embriyonun transfer edildiği hastalar karşılaştırılmış ve klinik gebelik oranlarında anlamlı bir fark bulunmamıştır ⁷. Bu, YZ'nin en azından geleneksel yöntemle karşı daha kötü olmadığını (non-inferiority) gösterse de, üstünlüğünü kanıtlamak için yeterli değildir ⁷. YZ modelleri genellikle retrospektif verilerle geliştirilip doğrulanmaktadır; oysa klinik karar desteği olarak kullanıldıklarında prospektif olarak test edilmeleri gerekir. Devam eden bazı çok merkezli çalışmalar YZ'nin canlı doğum oranlarına etkisini prospektif olarak değerlendirmeyi hedeflemektedir ⁶. Bu çalışmaların sonuçları, YZ'nin gerçekten hasta başına düşen gebelik şansını artırıp artırmadığını ortaya koyacaktır. Ayrıca, herhangi bir yeni YZ aracının laboratuvar iş akışına girmesiyle tedavi süreç zamanlamalarının (örneğin gebeliğe ulaşma süresi) veya maliyet-etkinliğinin nasıl etkilendiği de değerlendirilmelidir ⁶. Eğer YZ belirgin bir fayda getirmiyorsa, uygulanmasının gerekliliği sorgulanabilir; öte yandan hafif bir iyileşme bile binlerce hastaya uygulandığında önemli kazanımlar sağlayabileceği için bu denge iyi analiz edilmelidir.

Etik ve Hukuki Meseleler: YZ'nin karar destek aracı olarak kullanımı bazı etik soruları gündeme getirir. Örneğin, eğer

YZ bir embriyoya düşük skor verip elenmesini önerirse ve embriyolog da bu nedenle o embriyoyu transfer etmezse, fakat aslında o embriyo sağlıklı bir bebek olma potansiyeline sahip idiye, bu durumda sorumluluk kime aittir? Bu tür durumlar için, YZ'nin sadece öneri niteliğinde olduğu ve nihai kararın uzmana ait olduğu vurgusu yapılmalıdır. Ayrıca YZ sistemlerinin geliştirilmesinde ve kullanımında bias konusu da önem kazanır. Eğer eğitim verisinde belirli bir etnik grubun hastaları yoksa veya az temsil edildiyse, model o gruba ait hastalarda tutarsız sonuç verebilir. Bu nedenle geliştiriciler, modellerini eğitirken demografik ve klinik çeşitliliği sağlamaya dikkat etmelidir. Bir diğer etik konu, YZ ile elde edilen iç görülerin kötüye kullanılma potansiyelidir. Örneğin bir YZ modeli embriyo kalitesini tahmin ederken cinsiyet veya potansiyel genetik hastalıklarla ilgili bir öngöründe de bulunabiliyorsa bunun embriyo seçiminde kullanılması tartışmalara yol açacaktır. “Tasarım bebek” kavramının gündeme gelmemesi için, YZ kullanımının sıkı etik kurallarla denetlenmesi gerekir.

Regülasyon: YZ tabanlı yazılımlar, pek çok ülkede tıbbi cihaz kategorisinde değerlendirilmeye başlanmıştır. Örneğin Amerika Birleşik Devletleri'nde Gıda ve İlaç Dairesi (FDA), bazı YZ tabanlı görüntü analiz yazılımlarına onay vermeye başlamıştır ve bunları yazılım olarak tıbbi cihaz (SaMD) çerçevesinde değerlendirmektedir. Avrupa Birliği'nde ise 2021'de yürürlüğe giren tıbbi cihaz tüzüğü (MDR), YZ içeren yazılımların yüksek riskli cihazlar olabileceğini ve sıkı denetim gerektirdiğini belirtmektedir. Bununla birlikte, hâlihazırda YZ'nin sağlık hizmetlerinde kullanımına özgü müstakil bir yasa ya da düzenleme mevcut değildir; var olan genel tıbbi cihaz yönetmelikleri ve veri koruma yasaları çerçevesinde durum idare edilmektedir ². Örneğin Birleşik Krallık'ta YZ uygulamaları, 2002 tarihli Tıbbi Cihaz Regülasyonları ve 2018 Veri Koruma Yasası kapsamında ele alınmaktadır ². Düzenleyici kurumlar bir

yandan inovasyonu teşvik ederken diğer yandan hasta güvenliğini korumaya çalışmaktadır. IVF alanında YZ kullanımı henüz göreceli olarak yeni olduğundan, spesifik kılavuzlar ve standartlar gelişim aşamasındadır. Bazı uzman dernekleri, YZ uygulamalarının validasyonu ve klinik kullanımı için çerçeve oluşturmaya yönelik çalışma grupları kurmuştur.

Regülasyonun bir diğer boyutu da standardizasyondur. Farklı YZ sistemlerinin performansını karşılaştırmak ve minimum kabul kriterlerini belirlemek için standart metrikler ve test veri setleri tanımlanması önerilmektedir. Örneğin bir YZ embriyo skrolama sisteminin en azından %X doğrulukla implantasyon tahmini yapabilmesi veya belirli bir vaka senaryosunda embriyolog kararlarıyla %Y oranında uyuşması gibi kriterler tanımlanabilir. Bu tarz standartlar, piyasaya sürülen YZ araçlarının belirli bir kalite düzeyinin altına düşmemesini sağlayacaktır. Ayrıca üretici firmaların, algoritmalarını sürekli izleme ve güncelleme sorumluluğu da olmalıdır; zira YZ modelleri “öğrenmeye devam edebilir” ve zaman içinde performansları değişebilir. Bu nedenle, sürüm kontrolü, performans izleme ve geri bildirim mekanizmaları gibi hususlar da düzenleyici denetimin bir parçası haline gelmelidir.

YZ destekli YÜT uygulamalarının yaygınlaşması öncesinde, kapsamlı validasyon çalışmalarına ve sağlam bir düzenleyici çerçeveye ihtiyaç vardır. Bias, açıklana bilirlilik ve sorumluluk konularında önlemler alınması; modellerin farklı popülasyon ve merkezlerde sınanması ve yasal mevzuatın teknolojik gelişmelere paralel olarak güncellenmesi önem arz etmektedir. Bu sayede hem hastaların güvenliği sağlanacak hem de yeniliklerin klinik pratiğe güvenle entegre olması mümkün olacaktır.

8. GELECEK PERSPEKTİFİ: OMİK VERİ ENTEGRASYONU VE KİŞİSELLEŞTİRİLMİŞ YÜT

Önümüzdeki yıllarda YZ destekli üreme tıbbının en heyecan verici ufuklarından biri, çok yönlü veri entegrasyonu ve bunun getireceği kişiselleştirilmiş tedavi olanaklarıdır. Şu anda embriyo ve gamet seçimi ağırlıklı olarak morfolojik verilere dayansa da bir embriyonun implantasyon potansiyelini veya bir çiftin infertilite nedenini belirleyen moleküler düzeyde pek çok faktör bulunmaktadır. *Omik* teknolojiler, üreme hücreleri ve endometrium hakkında derinlemesine bilgi sağlama potansiyeline sahiptir. YZ ise bu çok boyutlu ve büyük veriyi analiz edip anlamlandırmada en güçlü araçtır.

Omik Verilerin Entegrasyonu: Kişiselleştirilmiş YÜT için, her hasta ve hatta her embriyo için birden fazla veri katmanının bir arada değerlendirilmesi gerekecektir. Örneğin bir embriyonun genetik durumu, metabolik aktivitesi ve klasik morfolojik skoru birlikte ele alındığında, implantasyon potansiyelini tek başına morfolojiden daha doğru yansıtabilir. Nitekim 2023 yılında yapılan bir çalışma, embriyo kültür ortamı metabolit profili ile embriyo morfolojisi verilerini makine öğrenimi modellerinde birleştirerek implantasyon başarısını öngörmeye çalışmıştır. Bu çalışmada, harcanan kültür medyumundan elde edilen NMR metabolomik verileri ile embriyoya ait görüntü ve gelişim bilgileri birlikte modele verilmiş ve bu çoklu veri setinin tekil verilerden daha iyi bir tahmin gücü sağladığı gösterilmiştir ²⁰. Özellikle yapay sinir ağı (YSA) modellerinin kompleks veri yapılarıyla başa çıkmada daha başarılı olduğu, küçük örneklemli durumlarda klasik yöntemlere göre aşırı uyum riskini düzenleme yoluyla üstesinden gelebildiği belirtilmiştir. Bu sonuçlar, birden fazla veri katmanının entegre edildiği YZ modellerinin embriyo implantasyon potansiyelini tahminde umut vadettiğini ortaya koymaktadır ²⁰.

Benzer şekilde, endometrium tarafında da omik veriler devreye girebilir. ERA testi olarak bilinen endometrial reseptivite array, endometriumdan alınan küçük bir biyopside yüzlerce genin ekspresyon düzeyine bakarak rahim içinin uygun olup olmadığını değerlendirir. Bu geniş gen ifade verisi, aslında bir YZ modeli için zengin bir girdi teşkil eder. Gelecekte bir YZ sistemi, hastanın genetik profili, endometriyal gen ekspresyon verisi, hormon seviyeleri ve önceki deneme sonuçlarını birlikte işleyerek, o hasta için en ideal transfer zamanını ve protokolü önerebilir. Makine öğrenimiyle kişiselleştirilmiş tedavi protokolü tasarımı üzerine ilk adımlar atılmış durumdadır ³. Örneğin, hastanın yaşı, vücut kitle indeksi, infertilite nedeni ve hormonal parametreleri gibi verileri alıp optimal gonadotropin dozunu ve stimülasyon süresini öneren modeller rapor edilmiştir. Bu tür modeller, gelecekte “şu hasta için en iyi tedavi yaklaşımı nedir?” sorusuna yanıt vermede hekime yardımcı olabilir.

Büyük Veri ve Kişiselleştirme: YÜT alanında biriken veri yalnızca laboratuvar verileri değildir; aynı zamanda her hastanın klinik geçmişi, genetik özellikleri ve hatta yaşam tarzı bilgileridir. Örneğin tekrarlayan implantasyon başarısızlığı (RIF) olan bir hasta grubunun detaylı klinik ve moleküler analizi, YZ tarafından incelendiğinde bu grubun içinde farklı alt desenler (subendotipler) olabilir. Kimi hastada sorun embriyodan ziyade endometriumdan, kimisinde immünolojik faktörlerden kaynaklanabilir. Yapay zekâ, bu tür karmaşık desenleri tespit ederek hastaları kişiselleştirilmiş alt gruplara ayırabilir ve böylece tedaviyi o gruba özgü optimize etmeyi sağlayabilir ⁶. Örneğin, “tekrarlayan başarısızlık” tanısı almış heterojen bir hasta popülasyonunda YZ, benzer özelliklere sahip alt kümeler saptayarak her birine farklı stratejiler önerilmesini sağlayabilir. Bu, klasik yaklaşımda gözden kaçan nüansların tedaviye yansıtılması anlamına gelir.

Omik veri entegrasyonu konusunda halen aşılması gereken önemli engeller bulunmaktadır. Öncelikle, omik veriler çok büyük boyutludur ve klinik pratiğe uygulanması maliyetli ve zaman alıcı olabilir. Her embriyo için metabolomik analiz veya her hasta için tam genom dizilemesi yapmak güncel pratikte mümkün değildir. Ayrıca omik verilerin yorumu da zordur; farklı çalışmalarda tutarsız bulunan biyobelirteçler mevcuttur. Örneğin, bir çalışmada kültür ortamındaki belirli bir amino asit embriyo kalitesiyle ilişkili bulunurken, başka bir çalışmada bu teyit edilemeyebilir. Bu alandaki kanıtların henüz ön araştırma düzeyinde olduğu, klinik sonuçlarını iyileştirmede omik yaklaşımların şu ana dek belirgin bir katkı sunmadığı eleştirileri vardır. Ayrıca, omik verilerin laboratuvar rutine sokulması mevcut iş akışına karmaşıklık katacaktır; sonuçların elde edilme süresi, teknik varyasyonlar gibi problemler vardır. YZ'nın bu noktada devreye girip giremeyeceği henüz belli değildir. Bir görüşe göre, YZ gelişmiş pattern tanıma yeteneği sayesinde omik verilerden anlamlı sonuçlar çıkarmada insan zekâsının önüne geçebilir ve karmaşık genomik/proteomik imzaları klinik açıdan faydalı öngörülere dönüştürebilir. Öte yandan, omik yaklaşımların sonuçlarını iyileştireceğine dair net kanıtlar ortaya çıkana dek bunların araştırma aracı olarak kalabileceği düşünülmektedir ⁶.

Gelecekte, multimodal YZ kavramı ART alanında öne çıkacaktır. Bu, farklı veri tiplerini aynı anda işleyebilen entegre algoritmalar anlamına gelir. Örneğin bir “embriyo seçimi” modeli, sadece embriyo görüntüsünü değil, aynı zamanda o embriyoya ait transkriptom verisini, anne adayının uterus reseptivite profilini ve belki babaya ait spermiogram verisini birlikte değerlendirebilir. Böyle bir model, her bir verinin tek başına sağlayacağından daha zengin bir karar altyapısı sunacaktır. Bu sayede gerçekten kişiye ve embriyoya özgü bir seçme işlemi gerçekleştirilebilir. Bu vizyonun hayata geçmesi için gereken

teknolojik altyapı her geçen gün gelişmektedir. Aynı zamanda biyolojik tarafta da non-invaziv omik testlerin gelişmesi gerekecektir.

Kişiselleştirilmiş ART sadece embriyo seçimiyle sınırlı değildir; stimülasyon protokolünden transfer zamanlamasına, hatta destekleyici tedavilere kadar her adımı içerir. Yapay zekâ, tüm bu adımlarda geçmiş veriden öğrenerek en iyi kombinasyonu belirleme konusunda kullanılabilir. Örneğin, on binlerce IVF siklusunun verisini tarayan bir YZ modeli, belirli özellik kombinasyonuna sahip hastalarda A protokolünün B protokolüne göre %X daha yüksek başarı sağladığını öğrenip, benzer yeni bir hasta geldiğinde bunu önerebilir. Bu yaklaşım, hekimlerin yıllar içinde edindiği deneyimi çok daha büyük bir kolektif deneyim havuzuna genişleterek her bir hasta için en isabetli planı çıkarmayı amaçlar.

Bu gelecek perspektifi içinde bir diğer önemli konu da hastanın süreçlere katılımı olacaktır. YZ ve dijital sağlık uygulamaları sayesinde hastalar kendi verilerine daha fazla erişebilecek ve süreci daha iyi anlayabilecektir. Örneğin bir hasta, transfer edilecek embriyosunun YZ skoru hakkında bilgilendirilip, bu skorun ne anlama geldiğini öğrenebilir. Hatta ileride hastalara ait mobil uygulamalar üzerinden, tedavi süreçlerinin gidişatını takip eden ve YZ destekli geri bildirim veren sistemler gündeme gelebilir (kullanılan ilacın dozu, ultrason sonuçları vb. parametrelere dayanarak “bu ay şu kadar follikül bekleniyor” gibi).

Sonuç olarak, YZ destekli omik veri entegrasyonu, üreme tıbbında bireyselleştirilmiş tedavinin kapılarını aralamaktadır. Bu sayede “herkese uyan” protokoller yerine, her çiftin özgün nedenlerine ve her embriyonun kendine has özelliklerine göre optimize edilmiş stratejiler geliştirmek mümkün olacaktır. Bu vizyonun gerçekleşmesi, disiplinler arası iş birliğini

(biyoinformatik, moleküler biyoloji, klinik embriyoloji vb.) ve kapsamlı bilimsel araştırmaları gerektirir. İlk sonuçlar umut verse de, omik yaklaşımların gerçekten IVF başarı oranlarını anlamlı düzeyde artırıp artırmayacağı henüz net değildir ve bu yöntemlerin etkinliğinin uygun tasarımı çalışmalarla kanıtlanması gerekecektir ⁶. Yine de tıbbın pek çok alanında olduğu gibi, üreme tıbbının geleceği de veri odaklı ve YZ destekli olacaktır.

9. SONUÇ

Yapay zekâ, son on yılda sağlık hizmetlerinde paradigma değişimine yol açan bir teknoloji olarak ortaya çıkmıştır. Üreme tıbbı ve yardımcı üreme teknikleri de bu dijital dönüşümden payını almaktadır. Histoloji ve embriyoloji temelli preklinik düzeyde başlayan YZ uygulamaları, embriyo seçiminden sperm ve oosit değerlendirmesine, endometriyal analizlerden hayvan model çalışmalarına dek geniş bir spektrumda başarılı örnekler sunmuştur. Literatürdeki bulgular, YZ'nin hız, tutarlılık ve öngörü gücü açısından insan deneyimini tamamlayıcı ve onu aşmayı vaat eden yönlerini ortaya koymaktadır. Özellikle embriyo değerlendirmede morfokinetik analizlerin otomasyonu, subjektif kararlardaki değerkenliği azaltarak daha standardize bir uygulama sağlamıştır. Gamet kalitesinin objektif metriklerle ölçölmesi, mikroskobik anomalilerin ve hareket paternlerinin insan gözünün ötesinde bir duyarlılıkla saptanması mümkün hale gelmiştir. Endometrium ve testis gibi dokuların YZ ile incelenmesi, tanı süreçlerinde yeni bir dönemin habercisidir; klinisyene daha zengin bilgi sunarak tanı doğruluğunu artırabilecek araçlar gelişmektedir.

Bununla birlikte, YZ'nin YÜT alanına tam entegrasyonu için dikkatle yönetilmesi gereken bir geçiş dönemi söz konusudur. Klinik validasyonların tamamlanması, modellerin farklı

popölasyonlarda sınılanması ve düzenleyici çerçevesinin oluşturulması bu teknolojinin günlük pratiğe güvenle girebilmesi için şarttır. Ayrıca, YZ her ne kadar güçlü bir araç olsa da insan faktörü ve klinik bağlamdan bağımsız düşünülemez. Bir YZ sisteminin önerisi, deneyimli bir hekimin veya embriyoloğun bilgisi ve hasta özelindeki durumuyla birlikte değerlendirilmelidir. YZ destekli bir dünyada bile, tedaviler hastalarla birebir iletişim halinde yürütölmekte ve her birey eşsiz özellikler taşımaktadır. Bu nedenle, YZ'nin bir *asistan* rolünde, insan uzmanının ise karar verici rolünde olduğu bir denge, başarılı ve etik bir uygulama için en uygun senaryodur.

Geleceğe baktığımızda, YZ ve büyük verinin bütünleşmesiyle kişiselleştirilmiş ve daha etkili yardımcı üreme tedavileri ufukta görünmektedir. Omik veri entegrasyonu ve çoklu veri katmanlarının analizi, her hasta için en ideal tedavi protokolünü ve her embriyo için en doğru seçimi mümkün kılabilir. Bu sayede infertilite tedavilerinde başarı oranlarının artırılması, hasta yükünün azaltılması ve belki de süreçlerin kısaltılması söz konusu olacaktır. Ayrıca, laboratuvar otomasyonunun YZ ile birleşmesi, gelecekte standart ve tekrarlanabilir sonuçlar elde etmeyi kolaylaştıracaktır.

KAYNAKLAR

1. Wang G, Wang K, Gao Y, et al. A generalized AI system for human embryo selection covering the entire IVF cycle via multi-modal contrastive learning. *Patterns (N Y)*. Jul 12 2024;5(7):100985. doi:10.1016/j.patter.2024.100985
2. Kakkar P, Gupta S, Paschopoulou KI, et al. The integration of artificial intelligence in assisted reproduction: a comprehensive review. *Frontiers in Reproductive Health*. 2025;7:1520919.
3. Orovou E, Tzimourta KD, Tzitimidou-Chatzopoulou M, Kakatosi A, Sarantaki A. Artificial Intelligence in Assisted Reproductive Technology: A New Era in Fertility Treatment. *Cureus*. Apr 2025;17(4):e81568. doi:10.7759/cureus.81568
4. Salih M, Austin C, Warty RR, et al. Embryo selection through artificial intelligence versus embryologists: a systematic review. *Hum Reprod Open*. 2023;2023(3):hoad031. doi:10.1093/hropen/hoad031
5. Canat G, Duval A, Gidel-Dissler N, Boussoimmier-Calleja A. A novel deep learning approach to identify embryo morphokinetics in multiple time lapse systems. *Scientific Reports*. 2024;14(1):29016.
6. Hanassab S, Abbara A, Yeung AC, et al. The prospect of artificial intelligence to personalize assisted reproductive technology. *Npj digital medicine*. 2024;7(1):55.
7. Illingworth PJ, Venetis C, Gardner DK, et al. Deep learning versus manual morphology-based embryo selection in IVF: a randomized, double-blind noninferiority trial. *Nature Medicine*. 2024:1-7.

8. Javadi S, Mirroshandel SA. A novel deep learning method for automatic assessment of human sperm images. *Computers in biology and medicine*. 2019;109:182-194.
9. Ottl S, Amiriparian S, Gerczuk M, Schuller BW. motilitAI: A machine learning framework for automatic prediction of human sperm motility. *iscience*. 2022;25(8)
10. Vasilescu SA, Goss DM, Gurner KH, et al. A biomimetic sperm selection device for routine sperm selection. *Reproductive BioMedicine Online*. 2025;50(2):104433.
11. Goss DM, Vasilescu SA, Vasilescu PA, et al. Evaluation of an artificial intelligence-facilitated sperm detection tool in azoospermic samples for use in ICSI. *Reproductive BioMedicine Online*. 2024;49(1):103910.
12. Letort G, Eichmuller A, Da Silva C, et al. An interpretable and versatile machine learning approach for oocyte phenotyping. *J Cell Sci*. Jul 1 2022;135(13)doi:10.1242/jcs.260281
13. Wang X, Bao N, Xin X, et al. Automatic evaluation of endometrial receptivity in three-dimensional transvaginal ultrasound images based on 3D U-Net segmentation. *Quantitative Imaging in Medicine and Surgery*. 2022;12(8):4095.
14. Schuff RHA, Suarez J, Laugas N, Ramirez MLZ, Alkon T. Artificial intelligence model utilizing endometrial analysis to contribute as a predictor of assisted reproductive technology success. *Journal of IVF-Worldwide*. 2024;2(2)
15. Ito Y, Unagami M, Yamabe F, et al. A method for utilizing automated machine learning for histopathological classification of testis based on Johnsen scores. *Scientific reports*. 2021;11(1):9962.

16. Mecklenburg L, Luetjens CM, Romeike A, et al. Deep Learning-Based Spermatogenic Staging in Tissue Sections of Cynomolgus Macaque Testes. *Toxicol Pathol.* Jan 2024;52(1):4-12. doi:10.1177/01926233241234059
17. Turki T, Wei Z. Improved deep convolutional neural networks via boosting for predicting the quality of in vitro bovine embryos. *Electronics.* 2022;11(9):1363.
18. Costa M, Strumane A, Raes A, Van Soom A, Babin D, Aelterman J. Deep-Learning Based Quantification of Bovine Oocyte Quality From Microscopy Images(). *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc.* Jul 2023;2023:1-4. doi:10.1109/embc40787.2023.10340258
19. Mendizabal-Ruiz G, Chavez-Badiola A, Hernández-Morales E, et al. A digitally controlled, remotely operated ICSI system: case report of the first live birth. *Reproductive BioMedicine Online.* 2025:104943.
20. Cheredath A, Uppangala S, C. S A, et al. Combining machine learning with metabolomic and embryologic data improves embryo implantation prediction. *Reproductive Sciences.* 2023;30(3):984-994.

A BRIEF JOURNEY INTO THE ROLE OF HISTOLOGY IN PHILOSOPHICAL AND SCIENTIFIC REVOLUTIONS

Savaş Volkan GENÇ¹

1. INTRODUCTION

Derived from the Greek words *histos* (tissue) and *logos* (study), histology is a branch of biology concerned with the microscopic structure of tissues. Histology is defined as the scientific study of the microscopic structure of cells and tissues—also known as microanatomy. The term “histology” first appeared in a book written in 1819 by the German anatomist and physiologist Karl Meyer, who based it on the microscopic studies of the Italian physician Marcello Malpighi (Helmenstine, 2025).

Historically, histology has played a central role not only in the advancement of biomedical sciences but also in philosophical inquiries into the nature of life, matter, and scientific observation. This role is not merely technical but profoundly philosophical, raising fundamental questions about the nature of life, the limits of perception, and the construction of scientific knowledge. Histology represents a unique convergence of experimental, theoretical, and philosophical dimensions. The reliance on the microscope as a tool to see the unseen challenged traditional concepts of perception and reality. Furthermore, discoveries at the cellular and molecular levels transformed biological understanding from vitalistic views to mechanical

¹ Assoc. Prof. Dr. (D.V.M.), Department of Veterinary History and Deontology, Faculty of Veterinary Medicine, Burdur Mehmet Âkif Ersoy University, Turkey, svgenç@mehmetakif.edu.tr ORCID: 0000-0002-9153-060X.

materialism. In recent years, the intersection of histology with biotechnology and synthetic biology has brought forth ontological and ethical questions that transcend traditional disciplinary boundaries.

This chapter aims to provide a brief body of knowledge as a prelude to a reflective discussion on histology's role in these philosophical and scientific revolutions and to present a short analysis of its origins and future potential.

2. HISTORICAL BACKDROP

Although histology was formalized as a scientific discipline in the 19th century, its roots reach back to ancient natural philosophy. Greek philosophers—most notably Aristotle—laid the groundwork for biological inquiry through their descriptions of organismal structures, even if limited to what the naked eye could perceive (Leroi, 2014). For over a thousand years, Galen's anatomical writings dominated the scientific world, integrating physiological function with morphological form despite the absence of microscopic tools.

The Renaissance revival of anatomy—sparked by Vesalius and advanced by Harvey's discovery of blood circulation—set the stage for a future micro-anatomical focus. Histology emerged precisely at the intersection of descriptive morphology and experimental physiology (Porter, 1997). The invention and refinement of the microscope in the 17th century opened the way to a pivotal technological and epistemological breakthrough, fundamentally altering humanity's perception of the biological world.

Robert Hooke's *Micrographia* (1665) introduced the term “cell” after observing cork tissue, while Antonie van Leeuwenhoek revealed the existence of microorganisms, the so-

called “animalcules” (Gest, 2004). These discoveries expanded the perceptual limits of natural philosophy. Their epistemological impact was profound: observation was now mediated by instruments, challenging traditional notions of direct perception. By unveiling microorganisms, microscopic studies questioned the completeness of macroscopic knowledge. Philosophically, this marked a rupture in epistemology—nature could no longer be grasped directly but had to be interpreted and guided through instruments. The microscope thus raised new questions about representation, objectivity, and the limits of human perception (Hanson, 1981).

3. FROM CELLS TO MOLECULES: REDUCTIONISM AND HOLISM

Twentieth-century advances ushered in *molecular histology*, highlighting structures at the levels of DNA, RNA, and proteins. This shift intensified debates between reductionist and holistic philosophies of science. Molecular histology yielded insights into gene expression, protein localization, and intracellular signalling, revolutionising cancer research, developmental biology, and pathology (Bechtel & Richardson, 1993). While Francis Crick’s “Central Dogma” (1958) epitomised reductionist aspirations, systems biology and epigenetics soon exposed the limits of that view (Bechtel & Richardson, 1993; Cobb, 2017). The molecular turn also sparked renewed criticism of excessive reductionism. Philosophers such as Rosenberg (1994) and Morange (2008) argued that understanding living systems requires accounting for higher-level structures and interactions. By emphasising emergent properties and network effects that cannot be inferred from molecular components alone, systems biology and epigenetics revitalised holistic perspectives (Kitano, 2002). Although epistemic

reductionism posits that life processes can be fully explained at the molecular level, developments in systems biology, epigenetics, and proteomics have revealed complexities that resist simplification to linear molecular chains. Histology exemplifies these intellectual tensions: molecular techniques offer unprecedented detail yet risk neglecting higher-order tissue and organismal contexts (Morange, 2008). Hence, philosophers like Rosenberg (1994) advocate integrative approaches that recognise emergent features of complex biological systems. Histology thus becomes a battleground for philosophical disputes between reductionism and emergence, sitting squarely at the crossroads of these competing worldviews.

4. PARADIGM SHIFT THROUGH THE CELL THEORY

The formulation of the **cell theory** by Schleiden and Schwann (1838–1839) prompted a radical rethinking of the structure of life and constituted a paradigmatic revolution in biology. The idea that cells form the basis of all living matter reduced biological complexity to organized cellular units. The assertion that all living organisms are composed of fundamental units called cells challenged vitalist doctrines and introduced a mechanistic view of life (Bechtel, 1986; Porter, 1997). Rudolf Virchow’s famous statement “*Omnis cellula e cellula*”² (1855) further reinforced the idea that life processes were governed not by mysterious vital forces but by cellular replication. By emphasizing the self-replicating nature of these units, vitalist theories were displaced by mechanical models.

This shift was aligned with materialist philosophies and Kuhnian paradigmatic revolutions, and the transition from

² It’s meaning “every cell arises from another cell” — this principle emphasizes cellular replication as the basis of life processes.

vitalism to mechanical materialism has often been interpreted as an example of Kuhn's (1962) model of scientific paradigm shifts. It also mirrored broader transformations in the philosophy of science, including the rise of reductionism (Bechtel, 1986). Histology, in this context, served as a crucial bridge connecting empirical observation with theoretical abstraction. It became the experimental foundation of this revolution. Through microscopic techniques, scientists could observe cell division, differentiation, and pathology—paving the way for cellular pathology to emerge as a new medical paradigm (Lenoir, 1982).

Following Kuhn's (1962) concept of “paradigm shifts,” histology has repeatedly functioned as a domain of conceptual revolution, reshaping not only biological understanding but also broader epistemological frameworks. These paradigm shifts reflect radical transformations in scientific frameworks that redefine both practices and underlying worldviews. In this regard, histology exemplifies Kuhn's model of scientific revolutions: periods of “normal science” punctuated by paradigm changes—from the revolution of cell theory to the molecular turn—histology's history reflects the nonlinear, contested nature of scientific progress. Like all major technological and conceptual innovations, the discoveries and insights generated by histological science reconstructed fundamental assumptions about life and matter.

Philosophically, this shift represented a movement toward reductionism—the belief that complex phenomena can be explained in terms of their simplest components (Bechtel, 1986). However, it also raised enduring questions: can life truly be understood by studying its parts in isolation? This tension foreshadowed the ongoing debate between reductionism and holism.

Histology became central in relating anatomical form to physiological function. Claude Bernard's concept of the "*milieu intérieur*"³ and the study of tissue metabolism demonstrated the integration of microstructure with systemic biology. This convergence further fueled debates about reductionism and holism, highlighting the semantic tension between dissecting structures and comprehending the whole (Bechtel & Richardson, 1993).

5. MICROSCOPY AND THE EPISTEMOLOGY⁴ OF SEEING

The microscope, the most critical tool in the development of histology, not only expanded the boundaries of biological knowledge but also introduced a range of new philosophical challenges. The evolution of histology is inherently inseparable from technological change. Histological observation is, by its nature, mediated by instruments, filters, stains, and a variety of techniques that shape what is seen (Hanson, 1981). Modern digital microscopy, AI-assisted imaging, and high-resolution tomography not only enhance research capabilities but also redefine the philosophy of observation. These technologies raise questions about the role of automation in scientific discovery, observer-independence, and data interpretation—issues that lie at the heart of contemporary philosophy of science (Latour, 1987). Thus, the microscope has become not merely a technical

³ The concept of the "internal environment" (*milieu intérieur*) was introduced in the 19th century by French physiologist Claude Bernard to describe the interstitial fluid and its regulatory capacity in maintaining homeostatic stability for the tissues and organs of multicellular organisms (Gross, 1998; Noble, 2008).

⁴ Derived from the Greek *ἐπιστήμη* (*epistēmē*, meaning "knowledge") and the suffix *-logy*, **epistemology** is the branch of philosophy concerned with the nature, sources, and limits of knowledge. Epistemologists examine topics such as the definition and structure of knowledge, the sources of epistemic justification, the rationality of belief, and related issues. Epistemology is considered one of the four main branches of philosophy, alongside ethics, logic, and metaphysics (Külcü, 2000).

instrument but also a philosophical problem that exemplifies the inseparability of observation and interpretation.

This period marked a transition from speculative natural philosophy to experimental observation, inaugurating a new era in which previously invisible structures could be visualized and studied in biology. Philosophically, this development reignited longstanding questions about the reliability of sensory experience—questions central to epistemology since Descartes and Locke. Theories by Berkeley and Kant regarding the limitations of sensory knowledge gained renewed relevance, paralleling later debates about theory-ladenness and observer-dependence in science. The understanding of perception as a cognitive and instrumental process was first proposed by Berkeley and Kant. This concept was revisited in the 20th century philosophy of science debates about the theory-laden nature of observation (Feyerabend, 1975). The preparation and staining of tissue samples and their interpretation through theoretical frameworks make objectivity a matter of debate.

The use of electron microscopy and confocal imaging has increased the interpretive gap between images and biological reality while providing high resolution images (Latour & Woolgar, 1986). The postmodern science studies movement, particularly through the works of Latour (1987) and Knorr-Cetina (1999), emphasized the constructed nature of scientific facts. The production of histological knowledge involves laboratory practices and instrument calibration and image interpretation which indicates that tissues are not purely natural objects but are partially products of methodological choices. The constructivist view challenges the idea that histology provides a transparent view of biological reality.

The use of model organisms such as mice or zebrafish raises questions about the generalizability of histological findings

(Keller, 1995). Do tissues observed in these species genuinely represent human biology, or are they context-dependent structures? These epistemological concerns reveal the representational and interpretive aspects of histological science.

The philosophical and sociological work of Latour and Woolgar (1986) along with other postmodern scholars challenges the objective nature of histological observation and knowledge. The construction of scientific facts through laboratory practices and staining methods and imaging technologies transforms tissues from natural objects into artefacts which result from human intervention. The processes of tissue construction produce data while simultaneously creating partially constructed phenomena according to Latour (1987). Keller (1995) demonstrated how molecular biology metaphors create interpretive distortions which reveal the semiotic characteristics of scientific data.

6. ETHICS IN MODERN HISTOLOGY

The current practice of histology faces significant ethical and ontological challenges. The development of 3-D bioprinting and stem-cell-derived organoids and human-animal chimeras creates ontological challenges regarding the definitions of living tissue and organism (Coeckelbergh, 2013). The recent technological progress requires us to redefine what constitutes living organisms and how engineered tissues should be categorized.

The moral status of engineered tissues in regenerative medicine and xenotransplantation creates ethical dilemmas which demonstrate the strong connection between histology and bioethics (Kwisda et al., 2020). These scientific breakthroughs align with post-humanist and transhumanist philosophical discussions that examine human biological limits (Bostrom,

2005). The field of histology now actively participates in these debates by questioning the differences between synthetic and organic structures and designed and evolved forms.

Stem-cell research together with human–animal chimeras expands the philosophical scope of histology beyond epistemology to include discussions in moral philosophy and bioethics (Kwisda et al., 2020).

7. CONCLUSION

The historical development of histology demonstrates its dual nature as both an experimental scientific field and a philosophical research method. The historical development of histology from microscopic observations to molecular and synthetic research has accelerated biological paradigm changes while generating persistent philosophical questions. The scientific revolutions led by cell theory and molecular analysis have transformed fundamental life and matter questions and knowledge frameworks.

The future of histology will maintain its legacy of epistemological and ontological innovation through 3-D bioprinting and AI-assisted imaging and synthetic tissues. The discipline will maintain its central position in discussions about life and knowledge and reality because of advances in AI-driven imaging and organoid technologies and engineered tissues. The discipline maintains its ongoing significance in science and philosophy because it unites observational data with conceptual frameworks. Through its combination of microscopic observation with fundamental questions about knowledge and reality histology transforms our comprehension of life's structural design. The advancement of tissue engineering and synthetic biology and post-genomic sciences will keep histology at the

forefront of life science discussions about knowledge and reality and ethics.

REFERENCES

- Bechtel, W. (1986). The nature of scientific integration. In W. Bechtel (Ed.), *Integrating scientific disciplines*, pp. 3-52, Dordrecht, The Netherlands: Martinus Nijhoff.
- Bechtel, W., & Richardson, R. C. (1993). *Discovering complexity: Decomposition and localization as strategies in scientific research*. Princeton University Press.
- Bostrom, N. (2005). In defense of posthuman dignity. *Bioethics*, 19(3), 202–214.
- Cobb M. (2017). 60 years ago, Francis Crick changed the logic of biology. *PLoS Biol.* 18;15(9):e2003243. doi: 10.1371/journal.pbio.2003243.
- Coeckelbergh, M. (2013). *Human being @ risk: Enhancement, technology, and the evaluation of vulnerability transformations*. Springer.
- Kwisda, K., White, L. & Hübner, D. Ethical arguments concerning human-animal chimera research: a systematic review. *BMC Med Ethics* 21, 24 (2020). <https://doi.org/10.1186/s12910-020-00465-7>
- Feyerabend, P. (1975). *Against method: Outline of an anarchistic theory of knowledge*. Verso.
- Gest, H. (2004). The discovery of microorganisms by Robert Hooke and Antoni van Leeuwenhoek, Fellows of the Royal Society. *Notes and Records of the Royal Society*, 58(2), 187–201. <https://doi.org/10.1098/rsnr.2004.0055>
- Gross C. G. (1998). Claude Bernard and the Constancy of the Internal Environment. *The Neuroscientist*. 4(5):380-385. doi:10.1177/107385849800400520

- Hanson, N. R. (1981). Patterns of discovery: An inquiry into the conceptual foundations of science. Cambridge University Press.
- Helmenstine, A. M., (2025). What Histology Is and How It's Used. Retrieved from <https://www.thoughtco.com/histology-definition-and-introduction-4150176>
- Hooke, R. (1665). Micrographia. Royal Society.
- Keller, E. F. (1995). Refiguring life: Metaphors of twentieth-century biology. Columbia University Press.
- Kitano, H. (2002). Systems biology: A brief overview. Science, 295(5560), 1662–1664.
- Knorr-Cetina, K. (1999). Epistemic cultures: How the sciences make knowledge. Harvard University Press.
- Kuhn, T. S. (1962). The structure of scientific revolutions. University of Chicago Press.
- Külcü, Ö. (2000). Kuramsal Bilginin Oluşumu ve Toplumsal Bilgiye Dönüşümünde Epistemoloji Bilgi Hizmetleri İlişkisi I. Türk Kütüphaneciliği, 14 (4), 386-411.
- Latour, B. (1987). Science in action: How to follow scientists and engineers through society. Harvard University Press.
- Latour, B., & Woolgar, S. (1986). Laboratory life: The construction of scientific facts. Princeton University Press.
- Lenoir, T. (1982). The strategy of life: Teleology and mechanics in nineteenth-century German biology. University of Chicago Press.
- Leroi, A. M. (2014). The lagoon: How Aristotle invented science. Bloomsbury.

- Morange, M. (2008). Life explained. Yale University Press.
- Noble, D. (2008). Claude Bernard, the First Systems Biologist, and the Future of Physiology. *Exp. Physiol.*, 93, 16–26.
- Porter, R. (1997). The greatest benefit to mankind: A medical history of humanity from antiquity to the present. Harper Collins.
- Rosenberg, A. (1994). Instrumental biology or the disunity of science. University of Chicago Press.
- Schleiden, M. J., & Schwann, T. (1838–1839). Microscopical researches on the similarity in structure and growth of animals and plants. *Archiv für Anatomie, Physiologie und wissenschaftliche Medicin*.
- Virchow, R. (1855). Cellular pathology. *Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin*, 8(3), 23–32.

SPERM KROMATİN ORGANİZASYONU VE EPİGENETİK DÜZENLEMELER

Mehmet ÖZBEK¹

1. GİRİŞ

Sperm kromatini, somatik hücrelerden belirgin şekilde farklı, özgün bir organizasyona ve epigenetik bilgi içeriğine sahiptir. Spermatogenezin son evresi olan spermiogenez sırasında, gelişmekte olan spermatidlerde kapsamlı bir kromatin yeniden yapılanması meydana gelir. Bu süreçte DNA'ya bağlı histonların büyük bölümü protaminlerle yer değiştirir. Histonlardan protaminlere geçiş, transkripsiyonel olarak inaktif, son derece kompakt bir kromatin yapısının oluşmasını sağlar ve bu yapı, paternal genomun taşınma süreci boyunca korunmasına yardımcı olur (Ward, 2018; Balder vd., 2024). Memeli spermalarında DNA, protamin bağlanması sayesinde mitotik kromozomlardan bile daha kompakt hale gelir. Protaminler, DNA'nın negatif yükünü nötralize ederek onu sıkı toroidal halkalar şeklinde paketler (Ward, 2018). Bu olağanüstü kompaksiyon yalnızca DNA'nın fiziksel ve kimyasal zararlardan korunmasına hizmet etmez; aynı zamanda spermin yaşam döngüsünün son evresinde transkripsiyon ve translasyon kapasitesinin tamamen ortadan kalkmasına da neden olur. Sperm yalnızca genetik materyalin iletiminden sorumlu değildir; aynı zamanda, döllenme sırasında oosite aktardığı epigenetik bilgi sayesinde, üreme başarısı ve embriyonik gelişim üzerinde önemli etkiler yaratabilir. Son yıllarda yapılan araştırmalar, spermdeki

¹ Doç. Dr., Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, mehmetozbek2@gmail.com, ORCID: 0000-0002-2274-5359.

kromatin yapısı ve epigenetik özelliklerin yalnızca döllemeyi değil, embriyo gelişimini de doğrudan etkileyebileceğini net biçimde göstermektedir (Balder et al., 2024).

2. SPERM KROMATİNİ VE YAPISAL ÖZELLİKLERİ

Sperm kromatinine özgü en çarpıcı yapısal özellik, nükleer histonların yaklaşık %85–95’inin, DNA’nın olağanüstü derecede kompakt hâle gelmesini sağlayan arjinin açısından zengin küçük proteinler olan protaminlerle yer değiştirmesidir (Gatewood vd., 1987; Wykes ve Krawetz, 2003). İnsan sperminde genetik materyalin yaklaşık %85’i protaminle paketlenmiş (nükleoprotamin), %15’i ise histonla ilişkili (nükleohiston) formdadır (Gatewood vd., 1987). PRM1 ve PRM2 olmak üzere iki ana protamin türü, insan sperminde yaklaşık eşit oranlarda bulunur ve bu oranın korunması, kromatinin doğru biçimde yoğunlaştırılması açısından kritik öneme sahiptir (de Mateo vd., 2009). Protamin oranlarındaki dengesizlik, kromatinin gevşek paketlenmesine, DNA kırıklarında artışa ve fertilité kapasitesinin azalmasına neden olabilir. Protaminlerin histonların yerini alması, spermatidlerin uzama evresinde gerçekleşir ve bu süreç, sperm nükleusunun somatik çekirdeklere kıyasla yaklaşık altı kat daha yoğun bir yapıya gelmesini sağlar (Ward, 2018). Bu kompakt yapı, sperm DNA’sını çevresel stres faktörlerine ve enzimatik yıkıma karşı korurken aynı zamanda transkripsiyonel aktiviteyi de sonlandırır. Protaminler yalnızca DNA paketleyici moleküller değildir; post-translasyonel modifikasyonlara (örneğin fosforilasyon, asetilasyon) uğrayarak epididimal maturasyon süresince inter-protamin disülfid bağları oluşturur ve bu sayede kromatin yapısının mekanik stabilitesini artırır (Oliva, 2006; Ward, 2018).

Bu yoğun yeniden paketlenmeye rağmen, sperm kromatini somatik hücre çekirdeğine benzer biçimde yüksek düzeyde organize bir yapıya sahiptir. Paternal DNA, ortalama 50–100 kilobaz uzunluğunda loop domain'ler (ilmek yapılar) hâlinde organize olur ve bu yapılar, belirli matriks bağlanma bölgeleri (MARs) aracılığıyla çekirdekteki nükleer matrikse tutunur (Ward, 2018). Her bir loop'un bir protamin toroidine karşılık geldiği düşünülmektedir. Bu yapısal mimari, protaminlerin uzaklaştırıldığı yüksek tuz koşullarında DNA'nın hâlâ loop yapıları hâlinde nükleer matrikse bağlı kalmasıyla deneysel olarak gösterilebilir. Spermdeki MAR yapıları, somatik hücrelerdeki homologlarıyla biyokimyasal olarak benzerdir ve sperm genomunun tesadüfi değil, belirgin bir düzenlilik içinde organize edildiğini gösterir (Shaman vd., 2007; Ward, 2018). Bu MAR-temelli topoloji, döllenme sonrası gelişimsel süreçler açısından işlevseldir. Çünkü sperm nükleer matriksi ve ona bağlı DNA loop'ları, zigotta DNA replikasyonu ve paternal pronükleus oluşumu için gereklidir (Shaman vd., 2007). MAR bölgelerindeki bozulmalar, paternal genomun döllenme sonrası düzgün şekilde organize edilememesine ve embriyonik gelişimin aksamasına yol açabilir. Bu nedenle sperm kromatini, erken embriyonik gelişimi yönlendirme potansiyeline sahip biyolojik bir hafıza birimi olarak değerlendirilmektedir (Ward, 2018).

Protaminlerin baskınlığına rağmen, sperm çekirdeğinde histonlarla ilişkili nükleozomal yapılar tamamen ortadan kalkmaz. İnsan sperminde DNA'nın yaklaşık %5–15'i histonlarla ilişkili şekilde kalır (Gatewood vd., 1987; Hammoud vd., 2009). Üstelik bu histonlar genom boyunca rastgele dağılmamıştır; aksine, gelişimle ilişkili gen promotörlerinde, imprinting bölgelerinde ve mikroRNA gen kümelerinde yoğunlaşmışlardır (Hammoud vd., 2009; Brykczynska vd., 2010).

3. SPERMDEKİ EPİGENETİK DÜZENLEMELER

Sperm kromatini, yalnızca özgün protein paketleme yapısıyla değil, aynı zamanda taşıdığı epigenetik işaretlerle de dikkat çeker. Bu epigenetik düzenlemeler; DNA metilasyon desenleri, korunmuş histonların ve protaminlerin post-translasyonel modifikasyonları ve sperm kaynaklı çeşitli RNA türlerini içerir. Bu moleküler işaretler, DNA dizisinde değişiklik olmaksızın embriyoda gen ekspresyonunu etkileyebilir (Balder vd., 2024).

3.1. DNA Metilasyonu

Olgun spermatozoalar, kendilerine özgü bir DNA metilasyon desenine sahiptir. Genom genelinde, sperm DNA'sındaki CpG dinükleotidlerinin yaklaşık %70–80'i metillidir; bu oran, oositler ya da somatik hücrelerle karşılaştırıldığında oldukça yüksektir (Hammoud vd., 2009; Lismer ve Kimmins, 2023). Bu yaygın metilasyon paterni, olgun sperm hücresinde genomun büyük bölümünü özellikle de transpozon gibi tekrar eden elementleri susturarak genetik istikrarı sağlar. Bununla birlikte, gelişim açısından kritik olan bazı gen bölgelerinde istisnalar söz konusudur. Embriyonik gelişimde rol oynayan birçok genin promotör bölgeleri spermde görece olarak hipometile olup bu, söz konusu genlerin döllenme sonrası hızla aktive edilebilmesine olanak tanır (Hammoud vd., 2009). Buna karşın, dokuya özgü genler ya da somatik farklılaşmayla ilişkili genler spermde hipermetilasyon gösterir; bu durum, sperm hücresinin transkripsiyonel olarak inaktif doğasıyla tutarlıdır. Sperm DNA'sındaki bu metilasyon desenleri, spermatogenez sırasında erkek germ hattında DNMT3A/3B metiltransferaz enzimleri ve yardımcı protein DNMT3L aracılığıyla de novo olarak oluşturulur (Kobayashi vd., 2007). Ayrıca sperm, ebeveyn kaynaklı gen ifadesini düzenleyen baskılayıcı kontrol bölgelerinde (imprinting control regions)

metillenmiş hâlde paternal genetik izleri (genomik imprintleri) taşır. H19/IGF2 veya KCNQ1OT1 gibi bölgelerdeki farklı metilasyon bölgeleri (DMR'ler) doğru şekilde metillenmiş olmalıdır; aksi takdirde, zigottaki gen ekspresyonu dengesi bozulabilir. Bu imprint bölgelerindeki anormal metilasyon, infertiliteyle ilişkilendirilmiştir ve çocuklarda genomik imprint bozukluklarına yol açabilir. Örneğin, oligospermik ya da infertil erkeklerin sperm DNA'sında çok sayıda imprint bölgesinde düzensiz metilasyon tespit edilmiştir (Kobayashi vd., 2007; Hammoud vd., 2009). Bu tür epigenetik hataların embriyoya geçebileceği ve özellikle yardımcı üreme teknikleriyle elde edilen gebeliklerde Beckwith–Wiedemann sendromu gibi imprint bozukluklarının görülme sıklığını artıracabileceği öne sürülmektedir (Hiura vd., 2012).

Sonuç olarak, sperm DNA'sının metilasyon imzası – genom çapında yüksek metilasyon seviyesi, belirli gelişimsel promotörlerin hipometilasyonu ve doğru imprintlenmiş bölgeler–sperm epigenomunun temel bir bileşenidir. Bu düzenin hassas bir şekilde kurulması hem normal fertilité hem de sağlıklı embriyonik gelişim için yaşamsal öneme sahiptir.

3.2. Histon Retansiyonu ve Modifikasyonları

Protaminlerle yer değiştirmeden spermde korunan az sayıdaki histon, gelişigüzel kalmış kalıntılar değil; genellikle özgün histon varyantlarını ve belirli post-translasyonel modifikasyonları içeren, yapısal olarak seçici biçimde muhafaza edilmiş nükleozomal yapılardır. İnsan ve fare spermine yönelik immünokimyasal ve dizileme temelli araştırmalar, bu korunmuş nükleozomların sıklıkla gen regülasyonu ile ilişkili epigenetik işaretler taşıdığını ortaya koymuştur. Bu durum, sperm kromatini aracılığıyla embriyoya aktarılan ve gelişimsel süreçlerde etkili olabilecek potansiyel bir “epigenetik plan”ın varlığına işaret etmektedir (Brykczynska vd., 2010; Erkek vd., 2013).

En iyi karakterize edilen modifikasyonlardan ikisi; genellikle aktif promotör bölgelerle ilişkilendirilen H3 histonunun lizin 4 pozisyonunda trimetilasyon (H3K4me3) ve gelişimsel olarak susturulmuş genlerle ilişkili olan, Polycomb protein kompleksleri aracılığıyla gerçekleştirilen H3'ün lizin 27 pozisyonundaki trimetilasyondur (H3K27me3). İnsan sperminde H3K4me2/3 işaretleri, özellikle spermatogeneze özgü ve temel hücresel süreçlerde görev alan genlerin promotörlerinde yer alırken, H3K27me3 işaretleri ise çoğunlukla germ hattında inaktif tutulan gelişimsel düzenleyici genlerin promotörlerinde yoğunlaşmaktadır (Brykczynska vd., 2010).

Dikkat çekici biçimde, HOX gen kümeleri ve paternally imprinted genler gibi birçok gelişimsel açıdan kritik genin promotörleri, spermde ya yaygın H3K4me3 bölgeleriyle işaretlenmiştir ya da hem H3K4me3 hem de H3K27me3 taşıyan bivalan yapılarla süslenmiştir. Bu durum, embriyonik kök hücrelerde gözlenen "hazır" kromatin durumunu andırmaktadır (Hammoud vd., 2009).

Brykczynska ve arkadaşlarının (2010) çalışması, bu histon işaretlerinin sperm genomu boyunca rastlantısal olarak dağılmadığını; örneğin, H3K27me3'ün gelişim genlerinin promotörlerine özgü olarak yerleştiğini ve testiste aktif biçimde ifade edilen genlerde neredeyse hiç bulunmadığını göstermektedir. Bu bulgular, somatik gelişim yollarının germ hattında susturulmasıyla tutarlıdır. Ayrıca, spermdeki nükleozom tutulum bölgeleri ve bu bölgelerdeki histon modifikasyonlarının insan ve fare gibi türler arasında evrimsel olarak korunmuş olması (Brykczynska vd., 2010; Lesch vd., 2016), bu yapıların işlevsel önem taşıdığını düşündürmektedir. Modifiye histonların, döllenmeyi takiben zigot içine aktarıldıktan sonra embriyonik gen ekspresyon programlarını etkileyebileceği hipotezi bu doğrultuda şekillenmiştir (Lesch vd., 2016). Genom çapında yapılan analizler, spermde H3K4me3 ve benzeri aktif histon işaretleriyle

zenginleşen bölgelerin, erken embriyo gelişiminde ekspresyon kazanan gen bölgeleriyle veya açık kromatin alanlarıyla büyük ölçüde örtüştüğünü göstermektedir (Jung vd., 2017). Benzer şekilde, spermde tespit edilen H3K27me3 işaretlerinin, erken embriyogenez süresince baskı altında kalan genlerle anlamlı düzeyde örtüştüğü belirlenmiştir (Brykczynska vd., 2010).

Spermde bulunan histonların çoğunluğunun, testise özgü varyantlar (örneğin H2B varyantları, H3.3, TH2B, H3T) olduğu ve bu varyantların, spermatogenez sürecinde kalıcı modifikasyonlara uğrayarak nükleozom yapısının destabilizasyonuna ve protaminlere geçişin kolaylaştırılmasına katkı sağladığı bilinmektedir (Erkek vd., 2013; Lismer ve Kimmins, 2023).

Sonuç olarak, spermde korunmuş nükleozomlar, genellikle düzenleyici gen bölgelerinde yoğunlaşmakta ve hem aktive edici hem de baskılayıcı epigenetik işaretler taşımaktadır. Bu epigenetik belirteçlerin, fertilizasyon sonrası erken embriyonal gen düzenlemesini yönlendiren potansiyel sinyaller olarak işlev görmesi muhtemeldir.

3.3. Protamin Modifikasyonları

Sperm hücrelerinde histonlar üzerinde meydana gelen post-translasyonel modifikasyonlar oldukça ayrıntılı biçimde incelenmiş olsa da protaminler üzerinde de çeşitli post-translasyonel değişikliklerin gerçekleştiği bilinmektedir (Chira vd., 1993; Brunner vd., 2014). Bu modifikasyonlar arasında asetilasyon, fosforilasyon ve metilasyon yer almaktadır. Brunner ve arkadaşlarının (2014) belirttiği gibi, histonlarda gözlemlendiğinde gen ekspresyonunun artışıyla ilişkili olan asetilasyon ve fosforilasyon işaretlerinin, protaminlerde de benzer bir işlev gösterebileceği düşünülmektedir. Ancak bu olasılık, protaminlerin sperm kromatinini sıkı bir şekilde paketleyerek inaktif hale getirme görevleriyle çelişmektedir. Bu

nedenle, protamin modifikasyonlarının etkileri ve işleyiş mekanizmaları henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Histon modifikasyonlarında gözlemlenen “histon kodu”na benzer şekilde, protaminlerde de bir “protamin kodu” bulunabileceği fikri dikkat çekicidir. Bu potansiyel epigenetik kod, sperm kromatinini ile embriyonik gelişim ve fertilite üzerindeki etkiler değerlendirilirken göz ardı edilmemelidir. Protamin modifikasyonlarının önerilen olası rollerinden biri, döllenme sonrasında maternal histonların sperm kromatinine yeniden kazandırılmasını kolaylaştırmak olabilir (Brunner vd., 2014). Histon modifikasyonlarının genellikle belirli gen bölgelerinde yoğunlaştığı (lokus-spesifik zenginleşme) bilinirken, protamin modifikasyonlarının böyle bir örüntü gösterip göstermediği henüz netlik kazanmamıştır. Sperm kromatinine ait epigenetik yapının diğer bileşenlerinde olduğu gibi, “protamin kodu”nun da muhtemelen tek başına çalışmadığı; histon ve DNA modifikasyonları ile RNA’larla etkileşim içerisinde olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle, sperm epigenomunun bu görece az çalışılmış yönünün daha iyi anlaşılabilmesi için bu etkileşimlerin ayrıntılı olarak araştırılması gerekmektedir (Balder vd., 2024).

3.4. Sperm Kaynaklı RNA’lar

Sperm hücreleri, DNA ve kromatin proteinlerine ek olarak, döllenme sırasında oosite aktarılan çeşitli RNA molekülleri de taşır. Olgun spermatozoalar transkripsiyonel olarak aktif olmamakla birlikte, spermatogenez sürecinden kalan veya epididimal geçiş sırasında kazanılan çok sayıda RNA molekülünü içerir (Ostermeier vd., 2004; Sendler vd., 2013). Bu RNA repertuarı, gelişimsel olarak önemli proteinlerin mRNA’larının yanı sıra mikroRNA’lar (miRNA), piwi ile ilişkili RNA’lar (piRNA) ve tRNA-türevli küçük RNA’lar (tsRNA) gibi çeşitli küçük kodlamayan RNA türlerini kapsar. Yapılan transkriptom analizleri, ejaküle edilen insan sperminde binlerce farklı RNA transkriptinin bulunduğunu göstermiştir (Sendler vd.,

2013). Bu RNA'lar döllenme sırasında yumurtanın sitoplazmasına geçer ve embriyonik genom aktive olmadan önce erken gelişim süreçlerini etkileyebilir. Örneğin, sperm RNA'larının zigotun ilk hücre döngülerinin düzenlenmesinde ve erken embriyoda gen ekspresyonunun kontrolünde görev aldığı gösterilmiştir (Ostermeier vd., 2004).

Model organizmalar üzerinde yapılan fonksiyonel çalışmalar, sperm RNA içeriğinde meydana gelen değişikliklerin yavru fenotipi üzerinde doğrudan etkili olabileceğini ortaya koymuştur. Çarpıcı bir örnek olarak, yüksek yağ içeren diyetle beslenen erkek farelerin sperminde belirli tsRNA'ların seviyeleri değişmiş ve bu RNA'ların normal zigotlara mikroyeksiyonu, yavrularda metabolik bozukluklara yol açmıştır (Chen vd., 2016). Benzer şekilde, strese maruz kalan erkek farelerde sperm miRNA içeriği değişmiş ve bu farklılaşmış miRNA'lar, döllenmiş yumurtalara aktarıldığında yavruların nörogelişimini ve stres tepkilerini şekillendirmiştir (Gapp vd., 2014). Bu bulgular, sperm RNA'larının epigenetik sinyal taşıyıcıları olarak işlev görebileceğini ve erken embriyonik gelişimi etkileyebileceğini desteklemektedir. Normal fertilizasyonda da bu RNA'ların maternal mRNA'ların yıkımını düzenlediği, epigenetik yeniden programlamaya katkıda bulunduğu ve embriyonun büyüme ve metabolizma yollarını etkileyerek gelişimsel süreci şekillendirdiği düşünülmektedir (Chen vd., 2016; Sharma vd., 2016).

4. EMBRİYONİK GELİŞİMDE SPERM EPIGENOMUNUN ROLÜ

Döllenme gerçekleşikten sonra, sperm hücresine özgü epigenetik ve kromatin özellikler zigotun oluşumu ve embriyonun gelişim programında kritik rol oynar. Sperm oosite girdikten sonra, yoğun biçimde paketlenmiş olan paternal

kaynaklı kromatin hızla dekonpanse olmalı ve embriyogeneze katılacak şekilde yeniden programlanmalıdır. Oosit sitoplazması, sperm protaminlerindeki disülfid bağlarını indirger ve protaminlerin yerine maternal histonları yerleştirerek bu dönüşüm sürecini kolaylaştırır. Bu protamin–histon değişimi, paternal genomun aktive edilmesi için zorunludur. Farelerde yapılan deneysel çalışmalar, protaminlerin uzaklaştırılmasının veya histon teminindeki aksaklıkların, baba pronükleusunun oluşumunu engellediğini ve embriyonun bir hücreli aşamayı aşamadan gelişiminin durduğunu göstermiştir (Adenot vd., 2000; Balder vd., 2024).

Aynı zamanda, döllenmeden hemen sonra paternal genom geniş çapta aktif DNA demetilasyonuna uğrar. Bu süreçte, TET3 gibi enzimlerin 5-metilsitozin oksidasyonu yoluyla etkili olduğu ve muhtemelen başka mekanizmaların da devreye girdiği bilinmektedir (Wossidlo vd., 2011). Ancak, bazı önemli metilasyon işaretleri özellikle genetik damgalama bölgeleri (DMR'ler) bu global demetilasyon dalgasından korunur. Örneğin, zigotta PGC7/STELLA proteininin bu bölgeleri bağlayarak imprinting'in korunmasını sağladığı gösterilmiştir. Dolayısıyla, spermdeki epigenetik işaretlerin ilk gelişimsel rolü, zigotta doğru şekilde yeniden düzenlenmesi veya korunmasıdır. Embriyonun totipotent hale gelebilmesi için epigenetik programın büyük ölçüde silinmesi gerekirken, bazı özel işaretlerin (örneğin imprint bölgeleri) korunması gelişim açısından kritik öneme sahiptir. Sperm epigenomu büyük oranda silinse de bazı epigenetik bilgiler embriyoda korunur ve erken gelişimi etkileyebilir. Örneğin, spermde yer alan ve belirli histon modifikasyonları taşıyan rezidüel nükleozomlar, zigotta tamamen uzaklaştırılamayabilir. Sperm kaynaklı bazı histon işaretlerinin – özellikle belirli gen promotörlerinde bulunan H3K4me3 gibi – erken bölünme aşamalarındaki embriyoda kalabildiği ve bu genlerin aktivasyonunu hızlandırdığı gösterilmiştir (Lismer vd.,

2021). Lismer ve arkadaşlarının (2021) farelerde yaptığı çalışmada, diyet müdahalesiyle H3K4me3 açısından zenginleştirilmiş baba kromatini, embriyonun ilgili bölgelerinde de aynı işareti taşımış ve metabolik gen ekspresyonunu değiştirerek yavrularda fenotipik değişimlere yol açmıştır. Ayrıca, zigotlarda yapılan immünofloresan çalışmalarda, histon varyantı H3.3'ün öncelikle paternal pronükleusuna yerleştiği ve bazı paternal DNA bölgelerinin, maternal DNA'ya kıyasla daha yavaş ya da farklı şekilde nükleozom kazandığı gözlemlenmiştir (Torres-Padilla vd., 2006; van der Heijden vd., 2008). Bu asimetri, sperm kromatinindeki önceki organizasyonun – örneğin nükleozomların ya da protaminlerin bulunduğu bölgeler – embriyoda baba genomunun nasıl yeniden paketleneceğini ve hangi genlerin önce erişilebilir hale geleceğini etkileyebileceğini düşündürmektedir. Gerçekten de spermde H3K27me3 ile işaretlenmiş genlerin embriyonun erken dönemlerinde baskılı kaldığı gözlemlenmiş, bu da baskılayıcı histon işaretlerinin embriyonik gen susturmasında etkili olduğunu desteklemiştir (Brykczynska vd., 2010).

Sperme özgü küçük RNA'ların da embriyoda işlevsel olduğu gösterilmiştir. Döllenmeden sonra, spermden gelen mikroRNA'lar ve tsRNA'lar, maternal mRNA yıkımını düzenleyebilir ve zigotik genom aktivasyonunun zamanlamasını etkileyebilir. Örneğin, Rodgers vd. (2015), sperm mikroRNA'larının preimplantasyon embriyosundaki hedef genlerin ekspresyonunu değiştirdiğini ve bu değişimin yavrularda stres yanıtı ve metabolizma gibi yolları etkilediğini göstermiştir. Bu veriler, sperm RNA'larının embriyo gelişiminde aktif roller üstlendiğini göstermektedir. Özellikle bazı mikroRNA'ların, zigotta tamamlayıcı maternal mRNA'ları bağlayarak yıktığı ve gelişimsel süreçleri modüle ettiği gösterilmiştir (Chen vd., 2016). Sperm RNA'larının embriyodaki spesifik hedefleri ve işlevleri henüz tam olarak aydınlatılamamış olsa da, bu moleküllerin

paternal çevresel koşulları (örneğin diyet ya da stres) yansıttığı ve embriyonun gelişimsel yönünü şekillendirebildiği düşünülmektedir (Lismer ve Kimmins, 2023).

5. SONUÇ

Sperm kromatini, yalnızca genetik bilginin taşıyıcısı değil; aynı zamanda epigenetik düzenleyicilerin, yapısal proteinlerin ve işlevsel RNA moleküllerinin entegre bir sistemidir. Protaminlerle sağlanan yoğun DNA paketlenmesi, epigenetik işaretlerin korunmasını mümkün kılarken; seçici nükleozom tutulumu, DNA metilasyon desenleri, protamin modifikasyonları ve sperm kaynaklı RNA'lar, döllenmeyi takiben embriyonik gelişimin erken evrelerinde gen ekspresyonunun düzenlenmesine katkı sağlayabilir. Özellikle paternal genomun yeniden programlanmasında ve totipotensinin sağlanmasında bu epigenetik bileşenlerin belirleyici rol oynadığı görülmektedir.

Günümüzde sperm epigenomunun detaylı analizi, sadece erkek gamet biyolojisinin daha iyi anlaşılmasına değil, aynı zamanda erken gelişimsel süreçlerin çözülmesine de olanak sunmaktadır. Elde edilen bulgular, sperm kromatin mimarisinin ve epigenetik profilinin, erken embriyonik düzenin oluşumunda pasif bir unsur değil; aksine dinamik, yönlendirici bir rol üstlendiğini göstermektedir. Sperm hücresinin epigenetik bileşenlerini bütüncül bir şekilde değerlendirmek, üreme biyolojisine dair temel mekanizmaların anlaşılması açısından büyük önem taşımaktadır.

KAYNAKÇA

- Adenot, P. G., Campion, E., Legouy, E., Allis, C. D., Dimitrov, S., Renard, J. P., & Thompson, E. M. (2000). Somatic linker histone H1 is present throughout mouse embryogenesis and is not replaced by variant H1. *Journal of Cell Science*, 113(16), 2897-2907.
- Balder, P., Jones, C., Coward, K., & Yeste, M. (2024). Sperm chromatin: Evaluation, epigenetic signatures and relevance for embryo development and assisted reproductive technology outcomes. *European Journal of Cell Biology*, 151429.
- Brunner, A. M., Nanni, P., & Mansuy, I. M. (2014). Epigenetic marking of sperm by post-translational modification of histones and protamines. *Epigenetics & chromatin*, 7, 1-12.
- Brykczynska, U., Hisano, M., Erkek, S., Ramos, L., Oakeley, E. J., Roloff, T. C., ... Peters, A. H. F. M. (2010). Repressive and active histone methylation mark distinct promoters in human and mouse spermatozoa. *Nature Structural & Molecular Biology*, 17(6), 679–687.
- Chen, Q., Yan, M., Cao, Z., Li, X., Zhang, Y., Shi, J., ... & Zhou, Q. (2016). Sperm tsRNAs contribute to intergenerational inheritance of an acquired metabolic disorder. *Science*, 351(6271), 397-400.
- Chira, F., Arkhis, A., Martinage, A., Jaquinod, M., Chevaillier, P., & Sautière, P. (1993). Phosphorylation of human sperm protamines HP1 and HP2: identification of phosphorylation sites. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1203(1), 109-114.

- de Mateo, S., Castillo, J., Esteban-Pérez, V., Maldonado, R., Nguyen, C. H., Töhönen, V., ... Oliva, R. (2009). Protamine 2 precursors (Pre-P2), protamine 1 to protamine 2 ratio, and assisted reproduction outcome. *Fertility and Sterility*, 91(5), 715–722.
- Erkek, S., Hisano, M., Liang, C. Y., Gill, M., Murr, R., Dieker, J., ... & Peters, A. H. (2013). Molecular determinants of nucleosome retention at CpG-rich sequences in mouse spermatozoa. *Nature structural & molecular biology*, 20(7), 868-875.
- Gapp, K., von Ziegler, L., Tweedie-Cullen, R. Y., & Mansuy, I. M. (2014). Early life epigenetic programming and transmission of stress-induced traits in mammals: how and when can environmental factors influence traits and their transgenerational inheritance?. *Bioessays*, 36(5), 491-502.
- Gatewood, J. M., Cook, G. R., Balhorn, R., Bradbury, E. M., & Schmid, C. W. (1987). Sequence-specific packaging of DNA in human sperm chromatin. *Science*, 236(4804), 962–964.
- Hammoud, S. S., Nix, D. A., Zhang, H., Purwar, J., Carrell, D. T., & Cairns, B. R. (2009). Distinctive chromatin in human sperm packages genes for embryo development. *Nature*, 460(7254), 473–478.
- Hiura, H., Okae, H., Miyauchi, N., Sato, F., Sato, A., Van De Pette, M., ... & Arima, T. (2012). Characterization of DNA methylation errors in patients with imprinting disorders conceived by assisted reproduction technologies. *Human Reproduction*, 27(8), 2541-2548.
- Jung, Y. H., Sauria, M. E., Lyu, X., Cheema, M. S., Ausio, J., Taylor, J., & Corces, V. G. (2017). Chromatin states in

mouse sperm correlate with embryonic and adult regulatory landscapes. *Cell reports*, 18(6), 1366-1382.

Kobayashi, H., Sato, A., Otsu, E., et al. (2007). Aberrant DNA methylation of imprinted loci in sperm from oligospermic patients. *Human Molecular Genetics*, 16(21), 2542–2551.

Lesch, B. J., Silber, S. J., McCarrey, J. R., & Page, D. C. (2016). Parallel evolution of male germline epigenetic poisoning and somatic development in animals. *Nature genetics*, 48(8), 888-894.

Lismer, A., Dumeaux, V., Lafleur, C., Lambrot, R., Brind'Amour, J., Lorincz, M. C., & Kimmins, S. (2021). Histone H3 lysine 4 trimethylation in sperm is transmitted to the embryo and associated with diet-induced phenotypes in the offspring. *Developmental cell*, 56(5), 671-686.

Lismer, A., & Kimmins, S. (2023). Emerging evidence that the mammalian sperm epigenome serves as a template for embryo development. *Nature Communications*, 14, 2142.

Oliva, R. (2006). Protamines and male infertility. *Human reproduction update*, 12(4), 417-435.

Ostermeier, G. C., Miller, D., Huntriss, J. D., Diamond, M. P., & Krawetz, S. A. (2004). Delivering spermatozoan RNA to the oocyte. *Nature*, 429(6988), 154-154.

Rodgers, A. B., Morgan, C. P., Leu, N. A., & Bale, T. L. (2015). Transgenerational epigenetic programming via sperm microRNA recapitulates effects of paternal stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(44), 13699-13704.

- Sendler, E., Johnson, G. D., Mao, S., Goodrich, R. J., Diamond, M. P., Hauser, R., & Krawetz, S. A. (2013). Stability, delivery and functions of human sperm RNAs at fertilization. *Nucleic acids research*, 41(7), 4104-4117.
- Shaman, J. A., Yamauchi, Y., & Ward, W. S. (2007). Function of the sperm nuclear matrix. *Archives of Andrology*, 53(3), 135-140.
- Sharma, U., Conine, C. C., Shea, J. M., Boskovic, A., Derr, A. G., Bing, X. Y., ... & Rando, O. J. (2016). Biogenesis and function of tRNA fragments during sperm maturation and fertilization in mammals. *Science*, 351(6271), 391-396.
- Torres-Padilla, M. E., Bannister, A. J., Hurd, P. J., Kouzarides, T., & Zernicka-Goetz, M. (2006). Dynamic distribution of the replacement histone variant H3. 3 in the mouse oocyte and preimplantation embryos. *The International journal of developmental biology*, 50(5), 455-461.
- van der Heijden, G. W., Ramos, L., Baart, E. B., van den Berg, I. M., Derijck, A. A., van der Vlag, J., ... & de Boer, P. (2008). Sperm-derived histones contribute to zygotic chromatin in humans. *BMC developmental biology*, 8, 1-6.
- Ward, W. S. (2018). Organization of sperm DNA by the nuclear matrix. *American Journal of Clinical and Experimental Urology*, 6(2), 87.
- Wossidlo, M., Nakamura, T., Lepikhov, K., Marques, C. J., Zakhartchenko, V., Boiani, M., ... & Walter, J. (2011). 5-Hydroxymethylcytosine in the mammalian zygote is linked with epigenetic reprogramming. *Nature communications*, 2(1), 241.

Wykes, S. M., & Krawetz, S. A. (2003). The structural organization of sperm chromatin. *Journal of Biological Chemistry*, 278(32), 29471–29477.

AKADEMİK PERSPEKTİFTEN HİSTOLOJİ VE
EMBRİYOLOJİ

yaz
yayınları

YAZ Yayınları
M.İhtisas OSB Mah. 4A Cad. No:3/3
İscehisar / AFYONKARAHİSAR
Tel : (0 531) 880 92 99
yazyayinlari@gmail.com • www.yazyayinlari.com