OOSİT AKTİVASYONU İÇİN KALSİYUM İYONOFOR KULLANILAN 30-40 YAŞ ARALIĞINDAKİ HASTALARIN FERTİLİZASYON VE EMBRİYO KALİTELERİNİN KONTROL GRUBUYLA KARŞILAŞTIRILMASI

ZEHRA ETKİN ÖZKARLIKLI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet CINCIK

İstanbul

T.C. Maltepe Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Ağustos 2018

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Zehra ETKİN ÖZKARLIKLI "Oosit aktivasyonu için kalsiyum iyonofor kullanılan 30-40 yaş aralığındaki hastaların fertilizasyon ve embriyo kalitelerinin kontrol grubuyla karşılaştırılması" başlıklı tezi 15/08/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Maltepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Klinik Embriyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi **oy birliğiyle** / **oy çokluğuyla** olarak kabul edilmiştir.

	Unvanı. Adı ve Soyadı	İmza
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Mehmet CINCIK	.....
Üye	: Prof. Dr. Ümit ÖZEKİCİ	.....
Üye	: Prof. Dr. Özgür DUNDAR	.....

Prof. Dr. Zeliha ÖZER
Enstitü Müdürü

maltepe üniversitesi	ETİK İLKE VE KURALLARA UYUM BEYANI	Doküman No	FR-178
		İlk Yayın Tarihi	01.03.2018
		Revizyon Tarihi	
		Revizyon No	00
		Sayfa	1/1

Revizyon Takip Tablosu

REVİZYON NO	TARİH	AÇIKLAMA
00	01.03.2018	İlk yayın.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYUM BEYANI

16/08/2018

Ben Zehra Etkin Özkarlıklı "Oosit Aktivasyonu İçin Kalsiyum İyonofor Kullanılan 30-40 Yaş Aralığındaki Hastaların Fertilizasyon Ve Embriyo Kalitelerinin Kontrol Grubuyla Karşılaştırılması" başlıklı tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu ; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarından bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilmeyen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; çalışmanın Maltepe Üniversitesinde kullanılan "bilimsel intihal tespit programı" ile tarandığını ve öngörülen standartları karşıladığını beyan ederim.

Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

Zehra Etkin ÖZKARLIKLI

Hazırlayan	Kalite Koordinatörü	Kurumsal Yetkili
İlgili Birim	Dr. Öğr. Üyesi Şafak GÜNDÜZ	Prof. Dr. Belma AKŞİT

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimime başladığım günden itibaren bilgilerini paylaşan, eğitimim boyunca desteğini esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet Cıncık'a,

Eğitim hayatım boyunca ve hayatımın her evresinde bana destek olan değerli annem Sevim Özkarlıklı ve babam Ayhan Özkarlıklı'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Zehra Etkin ÖZKARLIKLI

Ağustos 2018

ÖZ

Oosit Aktivasyonu İçin Kalsiyum İyonofor Kullanılan 30-40 Yaş Aralığındaki Hastaların Fertilizasyon Ve Embriyo Kalitelerinin Kontrol Grubuyla Karşılaştırılması

Zehra Etkin ÖZKARLIKLI

Yüksek Lisans Tezi

Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Mehmet Cıncık

Maltepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2018

Bu tez çalışmasının amacı, oosit aktivasyonu sağlanamayan vakalarda kalsiyum iyonofor ile oositin aktivasyon sorununu çözmektir. Çalışmaya 2012-2017 yılları arasında Acıbadem Kadıköy Hastanesi tüp bebek merkezine başvuran ve inseminasyon sırasında kalsiyum iyonofor kullanılan 50 hasta ile kullanılmayan 50 hastanın dosyasından taranan bulgular dahil edildi. Yapılan çalışmanın amacı doğrultusunda daha önce fertilizasyon problemi yaşayan (TFF, fertilizasyon düşüklüğü veya klivaj azlığı gibi) oosit aktivasyonu için kalsiyum iyonofor kullanılan 30-40 yaş aralığındaki 50 hasta deney grubu olarak, inseminasyon sırasında kalsiyum iyonofor kullanılmayan 50 hasta ise kontrol grubu olarak kabul edildi. Her iki grup arasında toplam 695 oositin fertilizasyon ve embriyo kalitesi incelendi.

Deney grubunda (362 oosit) fertilize olan oosit sayı ortalaması (3,64±2,76), kontrol grubunda (333 oosit) ise (2,16±2,05) olup gruplar arasında fertilize olan oosit sayısı karşılaştırıldığında deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. Deney grubunda Grade 1 embriyo sayı ortalaması (1,76±1,39), kontrol grubunda ise (1,00±1,32) olup gruplar arasında Grade I embriyo sayısı karşılaştırıldığında deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptandı. Yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlar kalsiyum iyonoforun, oosit aktivasyonunu indükleyerek fertilizasyonu sağladığı, embriyo kalitesini iyileştirdiğini göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: 1.Oosit aktivasyonu; 2. kalsiyum iyonofor

ABSTRACT

Comparison of Fertilization and Embryo Qualities of Patients Between 30 and 40 Years of Age Using Calcium Ionophore for Oocyte Activation

Zehra Etkin Özkarlıklı

Master Thesis

Clinical Embryology Department

Thesis Advisor :Prof Dr. Mehmet CINCIK

Maltepe University Health Sciences Graduate School,2018

The purpose of this thesis is to solve the problem of oocyte activation with calcium ionophore in cases where oocyte activation is not possible. The study included findings from 50 patients who used Calcium ionophore during insemination and 50 patients who were not used during the period of 2012-2017 who applied to the Acıbadem Kadıköy Hospital in vitro fertilization center. Fifty patients in the age range of 30-40 years who used calcium ionophore for oocyte activation previously experiencing fertilization problems (TFF, low fertilization, or lack of cleavage) in the direction of the study were accepted as the control group and 50 patients who did not use calcium ionophore during insemination were accepted as the control group. A total of 695 oocytes fertilization and embryo quality were studied between the two groups.

The mean number of oocytes fertilized in the experimental group (362 oocytes) (3,64 ± 2,76) and the number of oocytes fertilized among the groups (333 oocytes) in the control group (2,16 ± 2,05) were statistically significant the difference was detected. Grade 1 embryo number average (1.76 ± 1.39) in the experimental group and (1.00 ± 1.32) in the control group were statistically significant when the number of Grade I embryos was compared between the groups. The results obtained without the study show that calcium ionophore improves embryo quality by inducing oocyte activation and fertilization.

Key words: Oocyte activation, calcium ionophore

İÇİNDEKİLER

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI……..…….ii
İLKE VE KURALLARA UYUM BEYANI……...iii
TEŞEKKÜR…….iv
ÖZ…..v
ABSTRACT vi
İÇİNDEKİLER.....vii
TABLOLAR ……..…….....ix
ŞEKİLLER LİSTESİ…….…...x
KISALTMALAR…..……...…….xi
BÖLÜM 1.GİRİŞ.....1

Problem..... 1
Amaç 1

1.1 İNFERTİLİTE …….……..……...……....2

1.2 YARDIMCI ÜREME TEKNİKLERİ ……..……..…...3

1.2.1 Aşılama……...……3

1.2.2 Konvensiyonel İn Vitro Fertilizasyon ……...……4

1.2.3 İntrastoplazmik Sperm Enjeksiyonu(ICSI)……...…….……5

1.2.4 İn Vitro Fertilizasyon Tekniklerinde Döllenme Başarısızlığı..…….….10

1.3 OOSİT AKTİVASYONU…….…….…11

BÖLÜM 2.YÖNTEM…….……14

Veriler ve Toplanması.....14
Verilerin Çözümlenmesi ve Yorumlanması……...…..……14

BÖLÜM 3.BULGULAR……15

Bulgular……..…..…15

3.1 Olguların Demografik Özellikleri……...……..…….….15

3.2 Deney Ve Kontrol Gruplarının Karşılaştırılması……...…..……..…….…15

Yorumlar…..……...…18

BÖLÜM 4.SONUÇ……20

KAYNAKÇA…..……...21

TABLOLAR LİSTESİ

SAYFA

Tablo 3.2.1. Toplam oosit sayılarının gruplara göre karşılaştırılması 15

Tablo 3.2.2. Fertilize olan oosit sayılarının gruplara göre karşılaştırılması 15

Tablo 3.2.3. Oluşan embriyo sayılarının gruplara göre karşılaştırılması 16

Tablo 3.2.4. Klivaj oranlarının gruplara göre karşılaştırılması 16

Tablo 3.2.5. Grade 1 embriyo sayılarının gruplara göre karşılaştırılması 16

Tablo 3.2.6. Grade 2 embriyo sayılarının gruplara göre karşılaştırılması 17

Tablo 3.2.7. Grade 3 embriyo sayılarının gruplara göre karşılaştırılması 17

Tablo 3.2.8. Grade 1 embriyo oranlarının gruplara göre karşılaştırılması 17

ŞEKİLLER LİSTESİ

SAYFA

Şekil 1.2.2.1 Edwards tarafından geliştirilen IVF prensibi 4

Şekil 1.2.3.1 İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) 6

Şekil 1.2.3.2 Germinal Veziküllü (GV) Oosit, Metafaz 1 aşamasında (M1) Oosit , Metafaz 2 aşamasında (M2) Oosit **7**

Şekil 1.2.3.3 2.GÜN EMBRİYOSU (GRADE 1) 9

Şekil 1.2.3.4 3.GÜN EMBRİYOSU (GRADE 1) 9

Şekil 1.2.3.5 5.GÜN EMBRİYOSU 10

Şekil 1.3.1 Oosit Aktivasyonu 12

KISALTMALAR

AOA: Yapay oosit aktivasyonu

ATPaz: Membran bağımlı adenozin 3 fosfat

YÜT: Yardımcı üreme teknikleri

(Ca2+): Kalsiyum

CaI: Kalsiyum İyonofor

FSH: Folikül uyaran hormon

GV: Germinal Vezikül

hCG: İnsan Koryonik Gonadotropini

ICM: İç Hücre Kitlesi

ICSI : İntrastoplazmik Sperm İnjeksiyonu , Mikroenjeksiyon

InsP3:İnozitol 1,4,5 trifosfat

IUI: Aşılama

IVF: İn Vitro Fertilizasyon

MI: Metafaz I

MII: Metafaz II

OAD: Oosit aktivasyon bozukluğu

OAT: Oligoastenoteratozoospermi

OPU: Yumurta toplama

PIP2: Fosfotidil inozitol 4,5 bifosfat

PLCζ : Fosfolipaz C Zeta

PVP:Polyvinylpropylene

SAOAFs :Oosit aktive edici faktörler

SNDFs: Sperm nükleusu dekondanse edici faktör

SPSS :Statistical Package for the Social Science

TE: Trofoektoderm

TFF: Total Fertilizasyon Başarısızlığı

BÖLÜM 1.GİRİŞ

Problem

YÜT tekniklerinin sürekli iyileşmesine rağmen, fertilizasyon başarısızlığı, insanlarda tekrarlayan bir olgudur **(1).** Fertilizasyon başarısızlığı farklı nedenlerden kaynaklanabilir **(2).** ICSI sonrası başarısızlığın başlıca nedeni, oosit aktivasyonunun sağlanamamasıdır **(1).**

Oosit aktivasyonunun gerçekleşmesi kalsiyum salınımına bağlıdır (**3).** Oosit, kalsiyum salınımı gerçekleşmediğinde aktivasyon için gerekli biyokimyasal süreçleri başlatamamaktadır **(4).** Oosit aktivasyon anormalliklerinin, birçok embriyonik anormalliğin nedeni olduğu düşünülmektedir **(5).**

Aktivasyon gerçekleşmediğinde kalsiyum (Ca^{+2}) salınımını sağlamak amacıyla yapay oosit aktivasyon yöntemleri kullanılır. Yapay oosit aktivasyon (AOA) yöntemlerinden biri, kalsiyum (Ca+2) takviyesi ile oosit aktivasyonunu indüklemek için kalsiyum iyonoforu kullanmaktadır **(6,7) .**

Bu araştırma ile kalsiyum iyonoforun oosit aktivasyonunun sağlanmasında etkili olabileceği düşünüldü.

Amaç

Oosit aktivasyon anormalliklerinin görüldüğü vakalarda kalsiyum iyonofor kullanılarak oosit aktivasyonunun sağlanması ile başarılı sonuç almak ve böylece infertilite sorununun çözümüne katkıda bulunmak amaçlandı.

Bu amaç doğrultusunda oosit aktivasyonunun kalsiyum (Ca^{+2}) ile sağlandığı bilgisinden yola çıkılarak daha önce fertilizasyon problemi yaşayan (TFF, fertilizasyon düşüklüğü veya klivaj azlığı gibi) 30-40 yaş aralığında ki 100 hastanın dosyasından inseminasyon sırasında kalsiyum iyonofor kullanılan 50 hasta seçildi. Seçilen hastaların fertilize olan oosit sayısı, embriyo sayısı, klivaj oranı, embriyo kalitesi, kalsiyum iyonofor kullanılmayan 50 hasta ile karşılaştırıldı ve bunun sonucunda kalsiyum iyonofor kullanılan hastalarda daha iyi sonuç alınıp alınmadığı araştırıldı.

1.1 İNFERTİLİTE

Herhangi bir korunma yöntemi kullanmaksızın 35 yaş altı bayanlarda en az bir yıllık süre içerisinde, 35 yaş ve yukarısı bayanlarda ise 6 aylık sürede düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebe kalınamaması infertilite olarak tanımlanır **(8).** Tüm dünyada pek çok çifti ilgilendiren tıbbi, psikiyatrik, sosyal, kültürel ve etik boyutları olan bir sağlık sorunudur (**9,10,11,12).** İnfertilite yaygın olup çiftlerin yaklaşık %10 u çocuk sahibi olmakta zorluk çekmektedir **(13).**

Tipine göre primer ve sekonder infertilite olarak ikiye ayrılır. Cinsel hayatın hiçbir döneminde hamile kalamama primer infertilite; daha önce hamile kalmış, canlı bir çocuk doğurmuş veya doğurmamış ancak daha sonraki dönemde korunmasız hamile kalamama durumuna sekonder infertilite denir **(14).**

Tüm infertil çiftlerin %30-40'ında erkek, %40-50'sinde kadın faktörü infertiliteye yol açmaktadır. %20-25 çiftte hem erkek hem de kadına bağlı faktörler , %15 çiftte ise açıklanamayan infertilite görülür **(15).**

<u>Kadın infertilitesinin etyolojisi</u> **(16)**

• Ovulatuar disfonksiyon (yumurtlama problemi)

• Tubal ve pelvik hastalıklar

• Sık görülmeyen nedenler (uterin, servikal hastalıklar)

• Açıklanamayan infertilite

Bütün bunlarla birlikte kadının yaşının ilerlemesi sebebiyle de doğurganlık azalmaktadır **(13).**

Erkek infertilitesinin etyolojisi **(17)**

• Cinsel faktörler

• Ürogenital enfeksiyonlar

• Konjenital (doğumsal) anomaliler

• Varikosel

• Endokrin bozukluklar

• İmmünolojik faktörler

• Diğer hastalıklar

• Nedeni bilinmeyen semen bozuklukları ((OAT) sendromu) veya açıklanamayan infertilite.

Açıklanamayan infertilite nedeni bilinmeyen infertilite anlamına gelmektedir. Açıklanamayan infertilite tanısı standart infertilite değerlendirmesinde sonuçları normal çıkan çiftlere konulmaktadır **(18).**

1.2.YARDIMCI ÜREME TEKNİKLERİ

1.2.1.Aşılama

Sperm değerlendirmesinde sayı, hareket ve morfoloji ile ilgili problemleri olan çiftlerde, servikal mukusu normalden fazla ve sperm için zararlı olabilecek nitelikler taşıyan olgularda ve açıklanamayan infertil çiftlerde ilk uygulanan tedavidir **(19).**

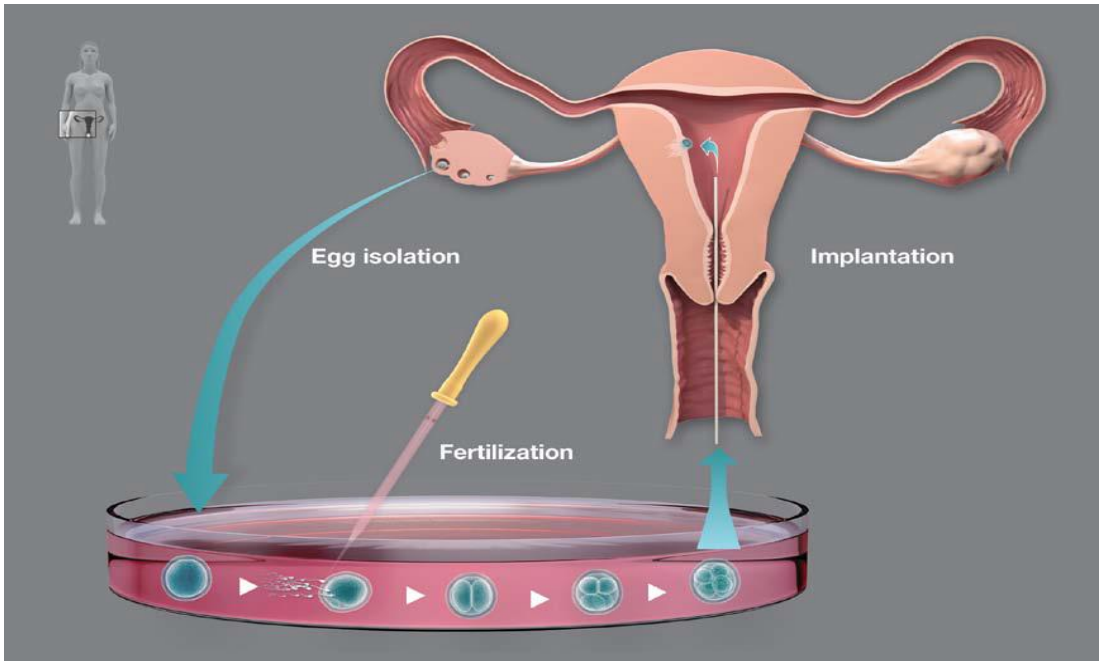
İleri üremeye yardımcı tekniklere (IVF ve ICSI gibi) başvurulmadan önce spontan olarak gebelik elde edilmesine en yakın yöntemdir **(20).**

Bu yöntem aşılama (IUI) uygulanacak bireyin eşinin iyi ve hareketli olan spermlerinin seçilip kateter vasıtasıyla uterus içine verilmesi ile gerçekleştirilir (**21**).

1.2.2 Konvansiyonel İn Vitro Fertilizasyon

İn vitro fertilizasyon kadının yumurtalıklarından alınan olgun yumurta hücresinin, erkekten elde edilen sperm ile vücut dışında özel bir ortamda döllenmesidir **(22).**

Klasik İn Vitro Fertilizasyon tekniği jinekolog Patrick Steptoe ve fizyolog Robert Edwards tarafından geliştirilmiştir. Laparoskopi ile oosit toplanması ve,IVF uygulanması sonucu 1978 yılında ilk bebek dünyaya gelmiştir. Doğumu üreme tıbbında bir dönüm noktası olmuştur **(23,24).**



Şekil 1.2.2.1 Edwards tarafından geliştirilen IVF prensibi

Klasik İn Vitro Fertilizasyon 4 Aşamadan Oluşmaktadır;

- **Yumurta gelişiminin sağlanması (Ovulasyon İndüksiyonu),**
- **Yumurta toplama işlemi (OPU),**
- **Yumurtaların döllenmesi ve embriyo gelişimi,**
- **Embriyo transferi**

Ovulasyon indüksiyonu yumurta gelişiminin sağlanması amacıyla anne adayından maksimum miktarda yumurta elde edebilmek için uygulanır. Foliküller istenilen olgunluğa ulaştığında hCG enjeksiyonu uygulanır **(25).** 34-36 saat sonra vajinadan ultrason yardımıyla yumurtalar toplanır **(26).**

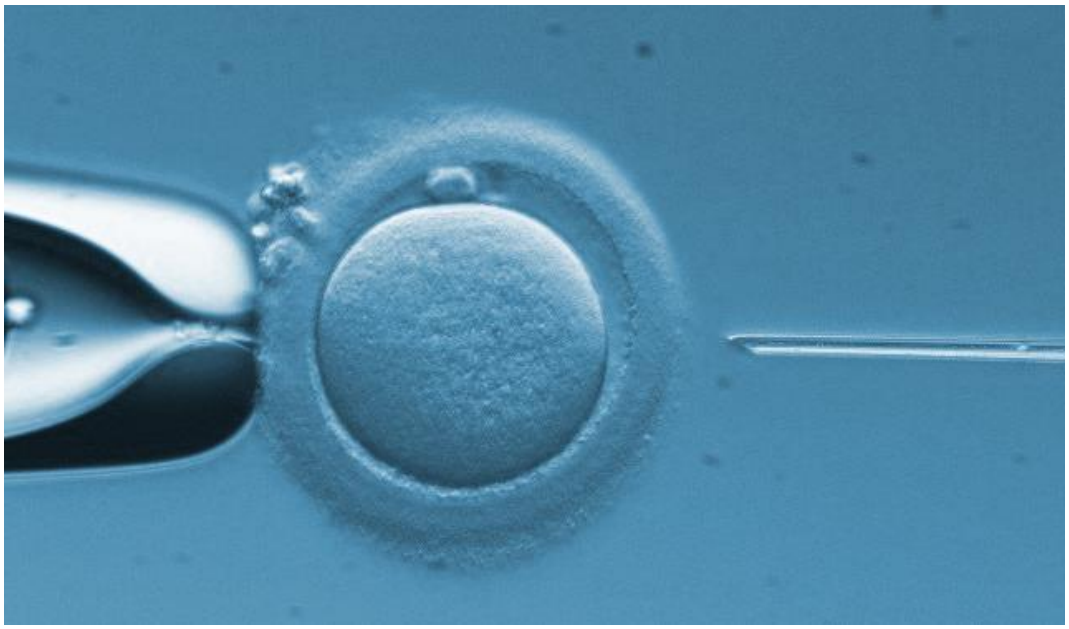
Aynı gün erkekten de sperm örneği alınır. Spermler gradient veya yüzdürme işlemleri ile temizlenir. Sperm yıkama işlemindeki amaç, spermde hareketliliği arttırmaktır**.**

Elde edilen oosit ve spermler, bir kültür ortamı içine yerleştirilir. Ortam, dölleme işlemi için gerekli olan in vivo sperm aktivasyonunu teşvik eder. Yumurta-sperm etkileşimleri yumurtanın mayoz II duraksamasını kurtarır. Bu durum, iki haploid kromozom kümesinin oluşmasıyla sonuçlanır, daha sonra ikinci polar cisim atılır. Döllenme işlemi, bir embriyonun oluşmasıyla sonuçlanır **(27).**

Embriyolar gelişme durumlarına göre 3. veya 5. günde transfer edilirler. Transfer edilecek embriyo sayısına hastanın yaşı ve tıbbi geçmişine bakılarak karar verilir. Seçilen embriyolar kateter yardımıyla rahim içerisine bırakılır. Embriyoların gelişmeye devam ederek uterusa tutunmaları beklenir.

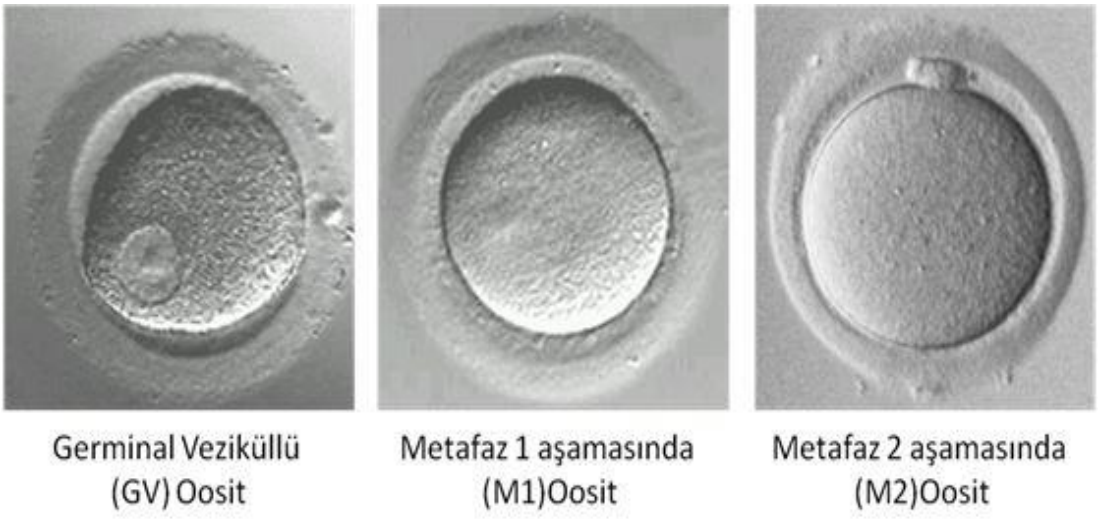
1.2.3. İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI)

İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (Mikroenjeksiyon, ICSI) bir spermin mikro pipet yardımıyla, oosit sitoplazması içerisine enjekte edilmesidir (**28**). ICSI'nin gelişmesi, birçok döllenme sorununu tedavi etmeyi mümkün kılan bir teknolojik atılımı temsil etmektedir **(27).** Sperm sayısı çok düşük olan olguların dışında zona pellucida ve vitellin membran seviyesindeki gamet etkileşimi bozukluklarında, nedeni bilinmeyen infertilite olgularında, kalitatif ve fonksiyonel sperm bozukluklarında başarılı olarak kullanılmaktadır **(29, 30).**



Şekil 1.2.3.1 İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI)

Bu yöntemde, oositler toplandıktan sonra kümülüs-korona hücreleri temizlenir**(27).** Geride kalan yumurtayı saran folikül hücrelerinin çıkarılması pastör pipetleri ile yumurtaların defalarca aspire edilip tekrar bırakılmasıyla olur. Ardından her bir yumurta olgunluk safhası ve bütünlüğünün saptanması için mikroskopta incelenir (**26**).Olgun ve döllenebilecek kutup cisimciği olan oositler Metafaz II (MII), olgunlaşmamış kutup cisimciğini atamamış oositler Metafaz I (MI) olarak değerlendirilir. Hem birinci polar cisimciği olmayan hem de germinal vezikülü olan olgunlaşmamış oositler germinal vezikül (GV) olarak tanımlanır. Germinal vesikül (GV) olan oositler ICSI işleminde kullanılmaz. Metafaz II oositler ICSI işleminde kullanılır. Metafaz I oositler ise gelişimlerinin incelenmesi için inkübasyona bırakılır.



Şekil.1.2.3.2 Germinal Veziküllü (GV) Oosit, Metafaz 1 aşamasında (M1) Oosit , Metafaz 2 aşamasında (M2) Oosit

ICSI işleminde, erkekten elde edilen spermin hareketsizleştirilen kuyruğu mikroskopik enjektörler ile alınır **(24).** Daha sonra sperm enjektör aracılığı ile oositlerin sitoplazmasına mikroenjekte edilir **(27).**

Ooplazma ile etkileşimi en iyi şekilde sağlayabilmek için sperm hücresi pipet ucundan çıkıp hücre organelleri arasına kadar itilmelidir. Böylece pipeti dışarı çekerken spermin dışarı çıkması önlenmiş olur (**24).** Bu işlemden sonra oositlerin inkübatörde döllenmesi ve embriyo haline gelmesi beklenir.

Döllenmiş oositte skorlama, döllenme işleminden 16-18 saat sonra pronükleusun ve çekirdek içindeki çekirdekçiğin incelenmesiyle yapılır (**26**). Embriyoların derecelendirilmesinde blastomer sayısı, blastomer çekirdeklerinin yapısı, bölünme hızı, blastomerlerin sitoplazmik şekil, büyüklük ve morfolojisi, fragmantasyon varlığı ve dağılımı dikkate alınır.

Embriyolar değerlendirilirken 2. ve 3. gün kalitesine göre üç gruba ayrılırlar. Grade I embriyolar 2.gün (44-48. saat) blastomer sayısı 4 ve dörtten fazla, 3. gün (64-72. saat) blastomer sayısı 8 ve 8'den fazla olup blastomerler eşit büyüklükte, yuvarlak ve şeffaf sitoplazma içerir, fragmantasyon içermezler. Grade II embriyolarda blastomer sayısı az miktarda farklı olabilir, fragmantasyon oranı ise %10'dan azdır. Grade III embriyolarda ise blastomer farklılıkları artmış ve fragmantasyon oranı %20'nin üzerindedir **(31, 32).**

5.gün embriyo (blastosist) değerlendirmesi yapılırken iç hücre kitlesi (ICM) ve trofoektoderm (TE) ayrı ayrı skorlanır.

İç hücre kitlesi (ICM) için değerlendirme yapılırken:
Grade A, sıkı bir şekilde bir araya gelmiş, pek çok hücreden oluşan,
Grade B, pek çok hücreden oluşan ancak gevşek olarak bir arada bulunan,
Grade C, az sayıda hücreden oluşan iç hücre kitlesini tanımlar.
Trofoektoderm (TE) için değerlendirme yapılırken:
Grade A, pek çok hücrenin oluşturduğu yapışık (kohezif) epitelyum,
Grade B, az sayıda hücreden oluşan gevşek epitelyum,
Grade C, az sayıda hücre varlığını tanımlar (**33**).



Şekil 1.2.3.3 2.GÜN EMBRİYOSU (GRADE 1)



Şekil 1.2.3.4 3.GÜN EMBRİYOSU (GRADE 1)



Şekil 1.2.3.5 5.GÜN EMBRİYOSU

Embriyo veya embriyolar klasik IVF yöntemindeki gibi gelişme durumlarına göre 3. veya 5. günde transfer edilirler. Bu aşamadan sonra embriyoların gelişmeye devam ederek uterusa tutunmaları beklenir.

Klasik in vitro fertilizasyon tekniği ile ICSI tekniği arasındaki fark, ICSI tekniğinde spermin yumurta hücresi içerisine kendi kendine girmemesidir. Klasik IVF yönteminde ise sperm, yumurta hücresini kendi kendine döllemektedir. Bu fark dışında diğer aşamalar aynıdır.

1.2.4 YÜT Tekniklerinde Döllenme Başarısızlığı

YÜT tekniklerinin sürekli iyileşmesine rağmen, fertilizasyon başarısızlığı, insanlarda tekrarlayan bir olgudur **(1).** Fertilizasyon başarısızlığı farklı nedenlerden kaynaklanabilir(**2).**

Rutin uygulamalarda, tercih edilen fertilizasyon yöntemi ve diğer parametrelerin etkisiyle, kısmi ve total fertilizasyon başarısızlıkları gözlemlenmektedir**.** Kısmi fertilizasyon başarısızlığı elde edilen oositlerin %25'den azının fertilize olması olarak tanımlanır. Konvansiyonel IVF döngülerinin %20'sinde **(34)**, ICSI döngülerinin %30'unda **(35)** gözlemlenir.

Total fertilizasyon başarısızlığı (TFF) toplanan tüm oositlerin fertilizasyonunun gerçekleşmemesidir **(34).** IVF ve ICSI sikluslarında infertilite etyolojisine bağlı olarak görülmektedir. Temel sebebi oosit aktivasyonunun sağlanamamasıdır **(37).** Oosit aktivasyon mekanizmasında meydana gelen hatalar ICSI **(36)** ve IVF sikluslarında fertilizasyon başarısızlıklarına neden olmaktadır. Total fertilizasyon başarısızlığı konvansiyonel IVF sikluslarında %5-15 **(34)**, ICSI sikluslarında %2-3 (**35**) oranlarında gözlemlenmektedir. IVF sonrası total fertilizasyon başarısızlığı genellikle sperm probleminden kaynaklanmaktadır. ICSI'den sonra ise nadiren sperm probleminden kaynaklanmaktadır. Bu durumun istisnası globozoospermisi olan hastalardır **(38).** Globozoospermi spermin kendi başına oositi fertilize etme kabiliyetinin olmadığı bir teratozoospermi durumudur **(39).**

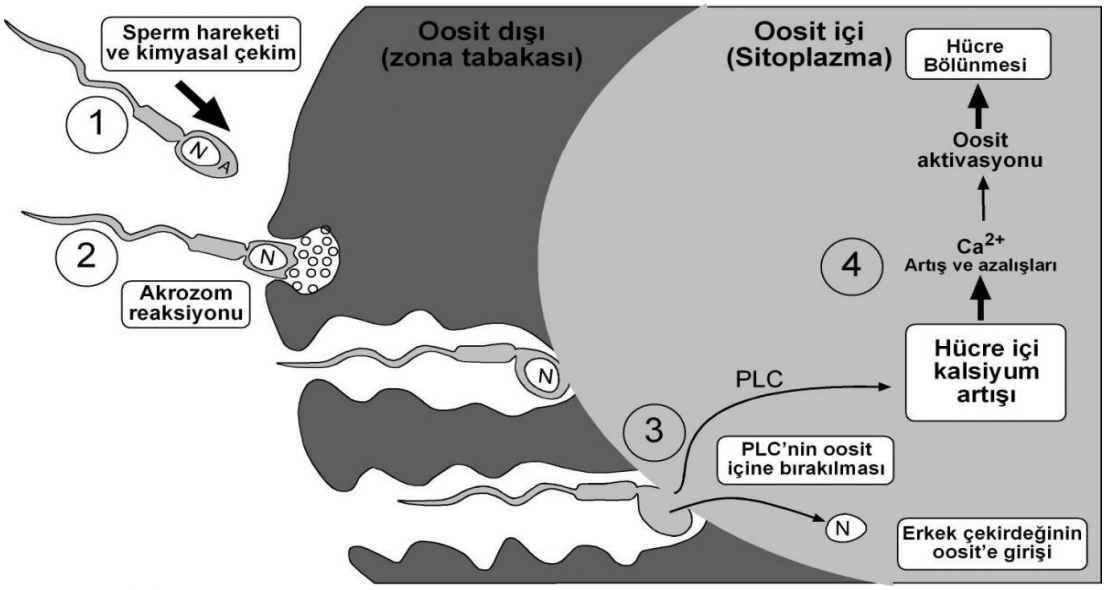
1.3. OOSİT AKTİVASYONU

Yardımcı üreme tekniklerinde, ovulasyon sonrası veya toplama sonrası elde edilen oosit, klasik inseminasyon veya ICSI uygulamasıyla sperm hücrelerinin içeri girmesi ile aktive olur. Oosit aktivasyonu kortikal granüllerin boşalması, membran bağımlı adenozin 3 fosfatların (ATPaz) aktivasyonu, mayozun sonlanması ve sonuç olarak erkek ve dişi pronükleusun oluşumuyla birlikte ikinci kutup cisimciğinin atılması ile sonlanan kompleks olaylar dizisidir (**26).** Aktivasyon ile kapasitasyon ve embriyo gelişimi ile ilişkili olarak polispermi önlenir **(40, 41, 42, 43).** Oosit aktivasyonu sperm-oosit membranlarının füzyonu ile başlayan kalsiyum (Ca^{+2}) salınımı ile gerçekleşir. Kalsiyum (Ca^{+2}) salınımı fertilizasyon süresince devam eder ve pronükleuslar geliştikçe frekansı azalır **(44).** Pronükleus formasyonu aşamasında ise sona erer. Kalsiyum (Ca^{+2}) salınımları sadece oosit aktivasyonunda değil, erken dönem embriyoner gelişim sürecinde de kritik öneme sahiptir.

"Oosit aktivasyonu ile hücre içi kalsiyum artışı iki aşamada gerçekleşmektedir. İlk olarak hücre içi kalsiyum artışı sperm-oosit membranlarının bütünleşmesiyle, oosit korteksinden başlar. ICSI sırasında bu doğal tetikleme yerine yapay bir tetikleme ile aktivasyon sağlanır ve kalsiyum akışı gerçekleşir İlk kalsiyum artışı 20-30 dakika sonra başlar fakat bu yükselme tek başına oositi aktive etmeye yeterli değildir.

30 dakika sonra başlayan ve daha kısa süren, yüksek amplitüdlü bir seri kalsiyum yükselmesi 3-4 saat boyunca devam eder (osilatör). Osilatör fonksiyonu, sperm kaynaklı oosit aktive edici faktörlere (SAOAFs) bağlıdır. Oosit aktive edici faktörler (SAOAFs) , sperm nükleusu dekondanse edici faktörlerin (SNDF) girişiyle salınır. SNDF'lerin oosit aktivasyonunu başlattığı düşünülmektedir. Bu faktör ısıya duyarlıdır ve oositin hücre içi depolarındaki kalsiyumun tekrarlayan salınımının frekansını kontrol eder. Bu sinyalin tekrarlama özelliği oositin tam aktivasyonu için gereklidir. Osilasyon fonksiyonunun devamı için ise sperm demembranizasyonu gereklidir. Bu durum, osilatör fonksiyona sahip sitozolik sperm faktörünün serbestleşmesinin hızlanması açısından önemlidir"**(45).**

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, oosit aktivasyonunu sağlayan kalsiyum (Ca^{+2}) iyon salınışının testiste sperm-spesifik faktör fosfolipaz C zeta (PLCζ) izoenzimi ile sağlandığı rapor edilmiştir. Bu enzimin aktivasyonu ile hücre içi kalsiyum (Ca^{+2}) sinyal yolağı aktive olur ve inozitol 1, 4, 5-trifosfat (InsP3) ile membran fosfolipid uyarımı; fosfotidil inozitol 4, 5 bifosfat (PIP2) ile de sitoplazmik kalsiyum (Ca^{+2}) salınımı gerçekleşir **(40, 46).**



Şekil 1.3.1 Oosit Aktivasyonu

Yoon ve arkadaşları tekrarlayan TFF görülen olgularda kalsiyum (Ca^{+2}) salınımının olmadığını göstermiş ve bunun sperm hücresinde bulunan PLCζ'nın anormal ekspresyonuna bağlı olduğunu bildirmesiyle OAD (oosit aktivasyon defekti) ile PLCζ arasındaki bağlantı ilk defa rapor edilmiştir **(47).**

Kalsiyum sinyalizasyonu, insan hücrelerinde önemli görevlerde bulunmaktadır. Hücre içi endoplazmik retikulum depoları ve oolemma içerisine kalsiyum taşıyan kanallar hücresel düzeyde iki önemli kaynağıdır **(48).** Hücre içi depolarda kalsiyum (Ca^{+2}) kaynağının azalması, yani oosit aktivasyon mekanizmasında hata meydana gelmesi, ICSI sikluslarında fertilizasyon başarısızlıklarına neden olmaktadır **(48, 49).** Bu durumda dışarıdan içeriye kalsiyum (Ca^{+2}) taşınmasına ihtiyaç duyulmaktadır**.**

Kalsiyum (Ca^{+2}) takviyesi ile oosit aktivasyonunun gerçekleşmesi için kalsiyum iyonofor kullanılmaktadır **(48).** Kalsiyum iyonofor uygulaması oosit aktivasyonunu sağlamak amacıyla 1990 yıllarında kullanılmaya başlanmıştır ve geçmiş 20 yılda, hem tam globozoospermilerde hem de şiddetli izole teratozoospermilerde başarı ile kullanılmıştır **(48, 50).** Kimyasal aktivasyonda en çok tercih edilen yöntemdir (**35**). Yapılan çalışmalarda ICSI işlemi sonucunda %50 den az fertilizasyon öyküsü varlığında, kalsiyum iyonofor kullanımı ile başarılı sonuçlar bildirilmiştir **(49).** Fertilizasyon sorunlarının yanında, daha önce embriyo gelişim problemleri ve blastulasyon sorunlarının yaşandığı vakalar da, kalsiyum iyonofor kullanımı için bir endikasyon teşkil etmektedir (**48).**

BÖLÜM 2.YÖNTEM

Veriler ve Toplanması

Bu çalışmaya 2012-2017 yılları arasında Acıbadem Kadıköy Hastanesi tüp bebek merkezine başvuran ve inseminasyon sırasında kalsiyum iyonofor kullanılan 50 hasta ile kullanılmayan 50 hastanın dosyalarından taranan bulgular dahil edildi. Bu hastaların fertilize olan oosit sayıları, embriyo sayıları, klivaj oranları ve embriyo kalitelerine ait bilgiler retrospektif olarak değerlendirildi.

Kalsiyum iyonofor yönteminde; ICSI'den hemen sonra, yumurtalar, inkübatörde 10 dakika süreyle kültür ortamı içerisinde kalsiyum iyonofora maruz bırakılır. Daha sonra oositler yıkama veya kültür ortamında iyice yıkanır **(51).**

Yapılan çalışma ile ilgili etik onay alındı. Kontrol ve deney grubu 30-40 yaş aralığında önceki denemelerinde fertilizasyon problemi yaşayan, (TFF veya fertilizasyon düşüklüğü olan ya da anormal fertilizasyon gibi) hastalar ile oluşturuldu. Kalsiyum iyonofor kullanılan hastalar deney grubuna, kullanılmayan hastalar ise kontrol grubuna dahil edildi. Hastaların dosyalarından toplanan bilgilerin istatiksel analizi yapıldı.

Verilerin Çözümlenmesi ve Yorumlanması

İstatistiksel analiz için SPSS 15.0 for Windows programı kullanılmıştır. Deney ve kontrol grubundan elde edilen verilerin normal dağılımdan anlamlı düzeyde farklılık gösterip göstermediği Kolmogrov Smirnov ve Shapiro Wilks testi ile incelenmiştir. İnceleme sonucunda elde edilen parametrelerin normal dağılım göstermediği görülmüştür. Gruplardan herhangi birinin normal dağılım göstermediği durumlarda non-parametrik testler kullanılabilmektedir **(52).**Veriler normal dağılım göstermediği için deney ve kontrol grubu karşılaştırmalarında parametrik olmayan test yöntemlerinden Mann Whitney U testi kullanılmıştır. İstatistiksel anlamlılık seviyesi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

BÖLÜM 3.BULGULAR VE YORUMLAR

Bulgular

3.1. Olguların Demografik Özellikleri

Çalışmaya 30-40 yaş aralığında, inseminasyon sırasında kalsiyum iyonofor uygulanan 50 hastadan toplanan 362 oosit ve kalsiyum iyonofor uygulanmayan 50 hastadan 333 oosit olmak üzere toplam 695 oosit dahil edildi.

3.2. Deney ve Kontrol Gruplarından Elde Edilen Parametrelerin Karşılaştırılması

Tablo 3.2.1. Toplam oosit sayılarının gruplara göre karşılaştırılması

	Grup	N	Oosit Sayısı	**Ortalama**	Std. Sapma	Sıra Ortalama	Z	**p**
Toplam oosit sayısı (695)	Deney	50	362	**7,24**	4,61	52,52	-0,699	**0,485**
	Kontrol	50	333	**6,66**	4,40	48,48		

Toplam oosit sayısının gruplara göre anlamlı farklılık göstermediği tespit edildi. (z=-0,699, p>0,05). Deney grubu olguların toplam oosit sayı ortalaması (7,24±4,61), kontrol grubu olguların toplam oosit sayı ortalamasının (6,66±4,40) olduğu görülmekteydi. Deney ve kontrol grupları arasında ortalama toplam oosit sayıları açısından anlamlı düzeyde farklılık bulunmamaktaydı (p>0,05). (Tablo 1).

Tablo 3.2.2. Fertilize olan oosit sayılarının gruplara göre karşılaştırılması

	Grup	N	Fertilize Oosit Sayısı	**Ortalama**	Std. Sapma	Sıra Ortalama	Z	**P**
Toplam Fertilize Oosit Sayısı (290)	Deney	50	182	**3,64**	2,76	59,06	-2,996	**0,003***
	Kontrol	50	108	**2,16**	2,05	41,94		

Fertilize olan oosit sayısının gruplara göre anlamlı farklılık gösterdiği tespit edildi.(z=-2,996, p<0,05). Deney grubu olguların fertilize olan oosit sayı ortalaması (3,64±2,76), kontrol grubunun ise (2,16±2,05) olduğu görülmekteydi. Deney grubu fertilize olan oosit sayısı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazlaydı. (Tablo 2).

Tablo 3.2.3 Oluşan embriyo sayılarının gruplara göre karşılaştırılması

	Grup	N	Oluşan Embriyo Sayısı	**Ortalama**	Std. Sapma	Sıra Ortalama	Z	**P**
Toplam Embriyo sayısı (244)	Deney	50	147	**2,94**	1,88	58,94	-2,964	**0,003***
	Kontrol	50	97	**1,94**	1,93	42,06		

Oluşan embriyo sayısının gruplara göre anlamlı farklılık gösterdiği tespit edildi.(z=-2,964, p<0,05). Deney grubu olguların embriyo sayı ortalaması (2,94±1,88), kontrol grubunun ise (1,94±1,93) olduğu görülmekteydi. Deney grubu ortalama embriyo sayısı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazlaydı. (Tablo 3).

Tablo 3.2.4. Klivaj oranlarının gruplara göre karşılaştırılması

Toplam Klivaj oranı	Grup	N	**Ortalama**	Std. Sapma	Sıra Ortalama	Z	**P**
	Deney	50	**57,55**	28,59	60,47	-3,454	**0,001***
	Kontrol	50	**38,01**	29,23	40,53		

Klivaj oranlarının gruplara göre anlamlı farklılık gösterdiği tespit edildi. (z=-3,454 p<0,05). Deney grubu olguların klivaj oranı ortalaması (57,55±28,59), kontrol grubunun ise (38,01±29,23) olduğu görülmekteydi. Deney grubu klivaj oranı kontrol grubundan anlamlı düzeyde daha fazlaydı. (Tablo 4).

Tablo 3.2.5. Grade 1 embriyo sayılarının gruplara göre karşılaştırılması

	Grup	N	Grade 1 Embriyo Sayıları	**Ortalama**	Std. Sapma	Sıra Ortalama	Z	**P**
Toplam Grade 1 Emb. Sayısı (138)	Deney	50	88	**1,76**	1,39	59,23	-3,119	**0,002***
	Kontrol	50	50	**1,00**	1,32	41,77		

Grade 1 embriyo sayısının gruplara göre anlamlı farklılık gösterdiği tespit edildi. (z=-3,119, p<0,05). Deney grubu olguların grade 1 embriyo sayı ortalamasının (1,76±1,39), kontrol grubunun ise (1,00±1,32) olduğu görülmekteydi. Deney grubu ortalama grade 1 embriyo sayısı kontrol grubundan anlamlı düzeyde daha fazlaydı. (Tablo 5).

Tablo 3.2.6. Grade 2 embriyo sayılarının gruplara göre karşılaştırılması

	Grup	N	Grade 2 Emriyo Sayıları	**Ortalama**	Std. Sapma	Sıra Ortalama	z	**p**
Toplam Grade 2 Embriyo Sayısı (80)	Deney	50	37	**0,74**	0,99	49,76	-0,282	**0,778**
	Kontrol	50	43	**0,86**	1,20	51,24		

Grade 2 embriyo sayılarının gruplara göre anlamlı farklılık göstermediği tespit edildi (p>0,05) (Tablo 6).

Tablo 3.2.7. Grade 3 embriyo sayılarının gruplara göre karşılaştırılması

	Grup	N	Grade 3 Embriyo Sayıları	**Ortalama**	Std. Sapma	Sıra Ortalama	z	**p**
Toplam Grade 3 Embriyo Sayısı (6)	Deney	50	2	**0,04**	0,28	49,52	-0,995	**0,320**
	Kontrol	50	4	**0,08**	0,34	51,48		

Grade 3 embriyo sayılarının gruplara göre anlamlı farklılık göstermediği tespit edildi (p>0,05) (Tablo 7).

Tablo 3.2.8. Grade 1 embriyo oranlarının gruplara göre karşılaştırılması

	Grup	N	**Ortalama**	Std. Sapma	Sıra Ortalama	Z	**p**
Grade 1 embriyo oranı	Deney	50	**58,71**	38,05	56,56	-2,166	**0,030***
	Kontrol	50	**40,25**	43,67	44,44		

Grade 1 embriyo oranlarının gruplara göre anlamlı farklılık gösterdiği tespit edildi. (z=-2,166, p<0,05). Deney grubu olguların grade 1 embriyo oranlarının ortalaması (58,71±38,05), kontrol grubunun ise (40,25±43,67) olduğu görülmekteydi. Deney grubu ortalama grade 1 embriyo oranı kontrol grubundan anlamlı düzeyde daha fazlaydı. (Tablo 8).

Yorumlar

Spermatozoonun oositi aktive etmemesi fertilizasyon problemlerine neden olabilir **(53).** Oosit aktivasyonu sperm-oosit füzyonundan sonra çok önemli bir işlemdir. Oosit içindeki hücre içi kalsiyum seviyelerinde in vivo bir yükselmeye neden olan kalsiyum salınımları, başarılı oosit aktivasyonu ve embriyojenezin (embriyonun oluşumu) başlangıcına yol açan döllenmiş oositlerdeki tüm nükleer ve sitolojik değişikliklerden sorumludur (**54,55**).

Oosit aktivasyonunun sağlanamadığı durumlarda yapay oosit aktivasyon yöntemleri kullanılmaktadır.

Vanden Meerschaut ve arkadaşları, prospektif bir çalışmada, yapay oosit aktivasyonunun (AOA), ICSI işleminden sonra döllenmeyen oositi olan ve aktivasyon eksikliğinden şüphelenilen bazı hastalarda yüksek derecede etkili olduğunu göstermiştir **(56**).

Yapay oosit aktivasyon (AOA) yöntemlerinden biri, kalsiyum iyonoforu oosit aktivasyonunu indüklemek için kullanır **(6).** Hagen ve arkadaşları kalsiyum iyonofor ile in vitro olgunlaştırılmış domuz oositlerinin aktivasyonunu bildirmişlerdir **(57).** Montag ve arkadaşları kalsiyum iyonofor ile sağlanan yapay oosit aktivasyonu'nun, ICSI işlemi sonucunda % 30 dan düşük döllenme oranı olan hastalarda fertilizasyon oranlarını artırdığını bulmuştur **(6).**

1995 yılında Hoshi ve arkadaşları fertilizasyon oranını arttırmak amacıyla ICSI sonrası oosit aktive edici olarak kalsiyum iyonofor kullanmış ve başarılı sonuçlar almıştır **(58).**

1997 yılında Rybouchkin ve arkadaşları ICSI uyguladıkları hastalarda oosit aktivasyonunda bozukluk saptamaları üzerine oosit aktivasyonunu sağlamak için kalsiyum iyonofor tedavisi uyguladıkları hastaların oositlerinde aktivasyon saptamışlardır **(59).**

Heindryckx ve arkadaşları 2005 yılında kalsiyum iyonoforun, ICSI sonrası başarısız olgularda fertilizasyon sürecini başlatmakta etkili olduğunu beyan etmişlerdir **(60).**

İyileşmiş fertilizasyon yüzdelerinin yanında, bu yöntem ile daha iyi embriyo gelişimi, daha az arrest olmuş embriyo saptanmıştır **(49).** Cheung ve arkadaşları**,** Alberio ve arkadaşları ve Bos-Mikich ve arkadaşları **(61, 62, 63)** mitoz sırasında ve mayozdan çıkış sırasında kalsiyum osilasyonlarının blastokistin iç hücre kütle hücrelerinin sayısını artırdığını göstermiştir**.**

Yüksek doz kalsiyum iyonofor ile uzun süreli maruziyet, kromozomlara geri dönüşü olmayan bir şekilde zarar verebilir. Ancak kalsiyum iyonoforun,konsantrasyonu düşükse ve kısa bir tedaviyse oositlere sitotoksik etkisi görünmemektedir. Kalsiyum iyonofor ile aktive edilen oositlerin, % 70-80'inin normal haploid kromozom ve normal morfoloji gösterdiği yapılan insan ve fare sitogenetik analizinde rapor edilmiştir. Bütün bu gelişmelere rağmen kalsiyum iyonoforunun güvenliğini onaylamak için daha ileri çalışmalar gereklidir **(64).**

Bu bilgilerden yola çıkılarak kalsiyum iyonoforun, oosit aktivasyonunu indükleyerek fertilizasyonu sağladığı, klivaj oranını ve embriyo sayısını arttırdığı, embriyo kalitesini iyileştirdiği söylenebilir. Elde edilen sonuçlara göre deney grubu fertilize olan oosit sayısı , ortalama embriyo sayısı, klivaj oranı, grade 1 embriyo sayısı, grade 1 embriyo oranlarının ortalaması kontrol grubundan anlamlı düzeyde daha fazlaydı. Dolayısıyla yapılan çalışmadan elde edilen sonuçlar daha önce yapılan çalışmaları desteklemektedir.

BÖLÜM 4.SONUÇ

Çalışmamızın amacı, fertilizasyon problemi yaşayan hastalarda oosit aktivasyonunu sağlamak amacıyla kalsiyum iyonofor kullanımının fertilize olan oosit sayısı, oluşan embriyo sayısı, embriyo kalitesi ve klivaj oranına etkisini değerlendirmektir.Bu amaçla 30-40 yaş aralığında 50 hasta kontrol grubu, inseminasyon sırasında kalsiyum iyonofor uygulanan 50 hasta da deney grubu olarak seçilmiştir.

Kalsiyum iyonofor tedavisi uygulanmayan kontrol grubu ile tedavi uygulanan deney grubu kıyaslandığında kalsiyum iyonofor uygulamasının fertilize olan oosit sayısını anlamlı düzeyde arttırdığı gözlendi .($z=-2,996, p<0,05$) Oluşan embriyo sayıları değerlendirildiğinde, kalsiyum iyonofor tedavisi uygulanan grupta tedavi uygulanmayan gruba göre embriyo sayısı anlamlı düzeyde daha fazlaydı. ($z=-2,964, p<0,05$)

Deney grubu olgularının klivaj oranı, kontrol grubu olgularındaki klivaj oranından anlamlı düzeyde daha fazlaydı ($z=-3,454$ $p<0,05$). Deney grubu olgularının grade 1 embriyo sayısı, kontrol grubu olgularındaki grade 1 embriyo sayısından anlamlı düzeyde daha fazlaydı ($z=-3,119$, $p<0,05$). Grade 2 embriyo sayılarının gruplara göre anlamlı farklılık göstermediği tespit edildi ($p>0,05$).

Grade 3 embriyo sayılarının gruplara göre anlamlı farklılık göstermediği tespit edildi ($p>0,05$).

Deney grubu olgularının grade 1 embriyo oranı, kontrol grubu olguların grade 1 embriyo oranından anlamlı düzeyde daha fazlaydı ($z=-2,166$, $p<0,05$).

Sonuç olarak fertilizasyon problemi yaşayan hastalarda kalsiyum iyonofor kullanımının fertilize olan oosit sayısını, oluşan embriyo sayısını, klivaj oranını, Grade 1 embriyo sayısı ve oranlarını arttırdığı gözlenirken, Grade 2 ve Grade 3 embriyo sayılarında anlamlı bir artış olmadığı tespit edildi.

KAYNAKÇA

1) Rawe VY. ,Brugo Olmedo S. , Nodar F.N. , Doncel G.D. , Acosta A.A. , Vitullo A.D., Cytoskeletal organization defects and abortive activation in human oocytes after IVF and ICSI failure, Mol. Hum. Reprod , 2000; Volume 6, Issue 6 : 510–516

2)Asch R. , Simerly C., Ord, T. et al.,The stages at which human fertilization arrests: microtubule and chromosome configurations in inseminated oocytes which failed to complete fertilization and development in humans, Mol. Hum. Reprod,1995 Jul;10 (7):1897-906.

3) Bakı Acar D, Bastan Ayhan, (2011), Activation of Bovine Oocytes Following ICSI and Effect of Activation on Embryo According to Developmental Stages, Kafkas Universitesi Veterinerlik Fakültesi Dergisi, 17 (4): 631-634, 2011

4)Tesarik J. and Testart J.,Treatment of sperm injected human oocytes with Ca^{2+}ionophore supports the development of Ca^{2+}oscillations,Biol. Reprod, (1994) Sep;51(3):385-91.

5) Tesarik J. , Sex chromosome abnormalities after intracytoplasmic sperm injection, Letter to editor , Lancet, ,(1995)346, 1095.

6**)** Montag M, K4ster M, Van Der Ven K, Bohlen U, Van Der Ven H. ,The benefit of artificial oocyte activation is dependent on the fertilization rate in a previous treatment cycle, Reprod Biomed Online, (2012) 24(5):521-6.

7) Nomikos M, Yu Y, Elgmati K, Theodoridou M, Campbell K, Vasilakopoulou V, et al. (2012) Erkek infertilitesinin başarısız oosit aktivasyonunun fosfolipaz cζ ile önlenmesi ,Fertil Steril , 2012; 201-202

8) Upkong D. , Orji E. , Mental health of infertile women in Nigeria ,Turk Psikiyatri Dergisi,(2006)

9) Özçelik B. , Karamustafalıoğlu O., Özçelik A. , The psychological and psychiatric aspects of infertility, Anatolian Journal of Psychiatry, 2007, 8(2):104-148

10) Albayrak E, Günay O.,State and trait anxiety levels of childless women in Kayseri, Turkey, Eur J Contracept Reprod Health Care, 2007 Dec;12(4):385-90.

11) Özkan S. , Psikiyatrik tıp konsültasyon liyezon psikiyatrisi , Roche Mustahzarları AŞ,(1993)

12) Kılıç M, Ejder Apay S, Kızılkaya Beji N. , İnfertilite ve kültür. İ.U.F.N. Hemşirelik Dergisi,2011,Cilt 19 Sayı 2, Sayfalar 109 - 115

13) Bradley J., Van Voorhis M.D ,2007,İn vitro fertilization, The New England Journal Of Medicine.

14) Tanha FD, Mohseni M and Ghajarzadeh M., Compared with the control group of sexual functioning in primary and secondary infertile women , Int J Impot Res, 2014;26: 132–134

15) Gomel V, Urman B, Yarali H. ,Investigation of the infertile couple. In: Aksel S , Beksac S, editors.Reproductive Endocrinology and Infertility Medical Network,1993

16) Yumru Ayşe E., Öndeş B., İnfertil Çifte Yaklaşım ve İn Vitro Fertilizasyon'a Doğru Hasta Seçimi, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği, 2012-57-60

17) World Health Organization, WHO Manual for the Standardised Investigation and Diagnosis of the Infertile Male , Cambridge University Press, 2000

18) David S. Guzick, M.D., Ph.D., Michael W. Sullivan, M.D., G. David Adamson, M.D., Marcelle I. Cedars, M.D., Richard J. Falk, M.D.,Edwin P. Peterson, M.D., and Michael P. Steinkampf, M.D ,(1998) Efficacy of treatment for unexplained infertility, Fertility and Sterility, 1998,VOL. 70, NO. 2, 207-211

19) Siristatidis C, Bhattacharya S. , Unexplained infertility: does it really exist? Does it matter? , Human Reproduction , Volume 22, Issue 8, 1 August 2007, Pages 2084–2087

20) Karuppaswamy J. , Smedley M. , and Carter L. , Intra-uterine insemination: preg nancy rate in relation to number, size of pre-ovulatory follicles and day of insemination, J Indian Med Assoc, Mar;107(3):141-3, 147.

21) Can M., Doç. Dr. DURUKAN KÖSE S., Uzm. KARAGÖZ CAN N. , Akademik Sosyal Araştırmalar Dergisi, Akademik Sosyal Araştırmalar Dergisi, Yıl: 5, Sayı: 56, Ekim 2017, s. 241-266

22)http://usaum.ankara.edu.tr/?page_id=128

23) R Edwards and P Steptoe, A Matter of Life: The Story of a Medical Breakthrough (London: Hutchinson), 1980.

24) R.Edwards and P Steptoe, 'Birth after the reimplantation of a human embryo, The Lancet, 1978 Aug 12;2(8085):366

25) Ankara Üniversitesi Açık Ders, İn-vitro fertilizasyon (IVF) Ve Embriyo Transferi(ET) , Ankara Üniversitesi

26) Gardner D. K., Weissman A., Howles C. M.,Shoham Z.,. Yardımla Üreme Teknikleri Temel Kitabı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2010

27) Nobelförsamlingen The Nobel Assembly at Karolinska Institutet, Human In Vitro Fertilization, 2010

28)Yıldırım M. , Klinik İnfertilite. Eryılmaz Ofset. Yıl 2013, Cilt 5, Sayı 2, Sayfalar 162 – 178, 2000

29) Kavlak O., Saruhan A. ,İnfertil Kadınlarda Yalnızlık Düzeyi Ve Bunu Etkileyen Faktörlerin İncelenmesi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ege Tıp Dergisi 41 (4): 229 - 232, 2002

30) Turan C, Gökmen O, Doğan M, Keleş G, Uygun M, Çelikkanat H. , ICSI Ve IVF gebeliklerinde gebelik kaybı oranları. Jinekoloji Obstetride Yeni Görüş ve Gelişmeler,1998

31) Meseguer M, Herrero J, Tejera A, Hilligsøe K.M., Ramsing N B and Remohı J,The use of morphokinetics as apredictor of embryo implantation ,Human Reproduction, 2011 Oct;26(10):2658-71

32) Bączkowski T, Kurzawa1 R, Głąbowski W , Methods of embryo scoring in in vitro fertilization , Reprod Bio , Vol. 4, No. 1. Page : 5-18 2003

33)Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embryology ,Human Reproduction, 2011;22(6):632-46

34) Li L., Zhang F.,Liu S., Tian Y., Le F., Wang L., Lou H., Xu X., Huang H. ,Human sperm devoid of germinal angiotensin-converting enzyme ıs responsible for total fertilization failure and lower fertilization rates by conventional ın vitro fertilization, Bıology Of Reproductıon , Volume 90, Issue 6, 1 June 2014, 125, 1-7,

35) Kahyaoglu İ., Demir B., Turkkanı A.,Cınar O., Dilbaz S., Dilbaz B., Mollamahmutoglu L,2014,Total fertilization failure: is it the end of the story? , J Assist Reprod Genet,2014,Sep; 31(9): 1155–1160.

36) Zhang Z., Liu Y., Xing Q., Zhou P., Cao Y.,Cryopreservation of human failedmatured oocytes followed by in vitro maturation: vitrification is superior to the slow freezing method. Reprod Biol Endocrinol,2011,Dec 12;9:156.

37) Doç.Dr. Avcı B., Arşt.Gör. Kuşpınar G., Total & Kısmi Fertilizasyon Başarısızlığı, Üreme sağlığı ve infertilite derneği bülteni, 2017,sayfa 12

38) Malpani Aniruddha, Total fertilization failure after ICSI, Malpani's Blog, 2014

39) Satar Aka Deniz , Narin Raziye ,Globozoospermi, Cukurova Medical Journal, 2014;39(1): 1-6

40)Nomikos M, Yu Y, Elgmati K, Theodoridou M, Campbell K, Vasilakopoulou V, et al. (2012) Erkek infertilitesinin başarısız oosit aktivasyonunun fosfolipaz cζ ile önlenmesi , Fertil Steril , 2012; 201-202

41)Ramadan WM., Kashir J., Jones C., Coward K.,Oocyte activation and phospholipase C zeta (PLCz): diagnostic and therapeutic implications for assisted reproductive technology , Cell Commun Signal. 2012; 10: 12.

42) Amdani S.N., Jones C., Coward K.,Phospholipase C zeta (PLCz): oocyte activation and clinical links to male factor infertility, Adv Biol Regul, 2013 Sep; 53(3):292-308

43) Marangos P., FitzHarris G., Carroll J.,Ca2þ oscillations at fertilization in mammals are regulated by the formation of pronuclei, Development, 2003,130: 1461-1472

44) Netanella M., Tal Biron S., Rivka Sukenik H., Anat Hershko K., Reuven S. and Arie B., Oocyte activation by calcium ionophore and congenital birth defects: a retrospective cohort study, 2016, Volume 106, Issue 3, Pages 590–596.

45) Bos- Mikich A., Swann K., Whittingham D.G. ,Calcium oscillations and protein synthesis inhibition synergistically activate mouse oocytes, Mol Reprod Dev.,1995 May;41(1):84-90.

46) Cox L.J., Larman M.G., Saunders C.M., Hashimoto K., Swann K., Lai F. ,Sperm phospholipase C zeta from humans and cynomolgus monkeys triggers Ca2+ oscillations, activation and development of mouse oocytes , Reproduction, 2002 Nov;124(5):611-23

47) Yoon S.Y. , Jellerette T., Salicioni A.M., Lee H.C., Yoo M.S., Coward K., Parrington J., Grow D., Cibelli J.B., Visconti P.E., Human sperm devoid of PLC, zeta 1 fail to induce Ca2+ release and are unable to initiate the first step of embryo development , J Clin Invest, 2008

48) Ebner T., Oppelt P., Wo¨ber M. , Staples P., Mayer R.B., Sonnleitner U., Bulfon-Vogl S., Gruber I., Haid A.E., and Shebl O. ,Treatment with Ca 2+ Ionophore improves embryo development and outcome in cases with previous developmental problems: a prospective multicenter study, Human Reproduction, 2015 ,Volume 30, Issue 1

49) Zhang Z., Liu Y., Xing Q., Zhou P., Cao Y., Cryopreservation of human failedmatured oocytes followed by in vitro maturation: vitrification is superior to the slow freezing method , Reprod Biol Endocrinol, 2011 Dec 12;9:156

50) Yanagida K. (2004) Complete fertilization failure in ICSI, Hum Cell, 2004 Dec;17(4):187-93.

51) Netanella M., Tal Biron S., Rivka Sukenik H., Anat Hershko K., Reuven S. and Arie B., Oocyte activation by calcium ionophore and congenital birth defects: a retrospective cohort study, 2016, Volume 106, Issue 3, Pages 590–596.

52) Büyüköztürk Ş. ,Sosyal Bilimler İçin Veri Analizi El Kitabı (14. Baskı), Ankara, PEGEM Akademi, 2011: 40

53) Maggiulli R., Neri Q.V., Monahan D., Hu J., Takeuchi T., Rosenwaks Z., Palermo G.D.,What to do when ICSI fails, Syst Biol Reprod Med.,2010 Oct;56 (5):376-87

54) Swain J.E., Pool T.B.,ART failure: oocyte contributions to unsuccessful fertilization, Hum Reprod Update, 2008, Sep-Oct;14(5):431-46.

55) Ramadan W.M., Kashir J., Jones C., Coward K., Oocyte activation and phospholipase C zeta (PLCz): diagnostic and therapeutic implications for assisted reproductive technology, Cell Commun Signal , 2012; 10: 12.

56) Vanden Meerschaut F., Nikiforaki D., De Gheselle S., Dullaerts V., Van Den Abbeel E., Gerris J., et al. , Assisted oocyte activation is not beneficial for all patients with a suspected oocyte-related activation deficiency , Hum Reprod, Jul;27(7):1977-84

57) Funahashı H., Cantley Thomas C. , Stumpf Todd T., Terlouw Steven L.,Bılly N.,In Vitro Development of In Vitro-Matured Porcine Oocytes Following Chemical Activation or In Vitro Fertilization, Biology of Reproduction, 1994

58) Hoshi K., Yanagida K., Yazawa H.,Intracytoplasmic sperm injection using immobilized or motile spermatozoon, Fertil Steril, 1995 Jun;63(6):1241-5

59) Rybouchkin A.V., Van der Straeten F., Quatacker J., De Sutter P., Dhont M. , Fertilization and pregnancy after assisted oocyte activation and intracytoplasmic sperm injection in a case of round-headed sperm associated with deficient oocyte activation capacity, Fertil Steril, 1997 Dec;68(6):1144-7.

60) Heindryckx B., Van der Elst J., De Sutter P., Dhont M., Treatment option for sperm- or oocyte-related fertilization failure: assisted oocyte activation following diagnostic heterologous ICSI, Hum Reprod , Aug;20 (8):2237-41

61) Cheung A., Swann K., Carroll J.,The ability to generate normal Ca2þ transients in response to spermatozoa develops during the final stages of oocyte growth and maturation , Hum Reprod , Volume 15, Issue 6, 1 June 2000, Pages 1389–1395.

62) Alberio R., Zakhartchenko V. , Mammalian oocyte activation: lessons from sperm and implications for nuclear transfer , Int J Dev Biol, 2001 Oct;45(7):797-809.

63) Bos-Mikich A., Swann K., Whittingham D.G., Calcium oscillations and protein synthesis inhibition synergistically activate mouse oocytes ,Mol Reprod Dev. , 1995 May;41(1):84-90.

64) Yamano S. , Nakagawa K. , Nakasaka H., and Aono T. , Fertilization failure and oocyte activation, 2000, J. Med. , Invest .47 : 1-8.

Sayı: EKK/2017/86 **22/09/2017**
Konu: Zehra Etkin ÖZKARLIKLI: YL tez çalışması

T.C. MALTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

İlgi: 11647525-302.08.01-52 sayılı 28.08.2017 tarihli yazınız.

İlgi yazınız ekinde sunulan Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı, Klinik Embriyoloji Programı Tezli Yüksek Lisans öğrencilerinden Zehra Etkin ÖZKARLIKLI tarafından gönderilen "Ooksit Aktivasyonu İçin Caiyonofor Kullanılan 30-40 Yaş Aralığındaki Hastaların Fertilizasyon ve Embriyo Kalitelerinin Kontrol Grubuyla Karşılaştırılması" konulu tez önerisi ve ölçekleri 22/09/2017 tarihinde T.C. Maltepe Üniversitesi Etik Kurulu tarafından incelenerek; çalışmanın Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından değerlendirilmesinin uygun olduğuna; toplantıya katılan üyelerin oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini saygılarımla arz/rica ederim.

Prof. Dr. Belma AKŞİT
Etik Kurulu Başkanı

Prof. Dr. Necla ÖZTÜRK
Üye

Prof. Dr. Nurgün OKTİK
Üye

Prof. Dr. Hacer KARANİSOĞLU
Üye

Prof. Dr. Nermin ÇELEN
Üye

Prof. Dr. Durmuş GÜNAY
Üye (Katılmadı)

Prof. Dr. Ahmet Zafer ÖZTEK
Üye