İNTRASİTOPLAZMİK SPERM ENJEKSİYONU UYGULANAN İNFERTİL VAKALARIN TAM ZAMANLI İZLEME SİSTEMİNDE (TIME LAPSE) MULTİNÜKLEUSLU BLASTOMER İÇEREN EMBRİYOLARININ BLASTOKİST AŞAMASINA ULAŞMA ORANLARININ RETROSPEKTİF OLARAK İNCELENMESİ

Elif E. ÇAVUŞOĞLU

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

Elif Ergin ÇAVUŞOĞLU "İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu uygulanan interfil vakaların tam zamanlı izleme sisteminde (time lapse) multinükleuslu blastomer içeren embriyoların blastokist aşamasına ulaşma oranlarının retrospektif olarak incelenmesi" 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

Bu 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 Üniversitesi'nde kullanılan "bilimsel intihal tespit programı" ile tarandığını ve öngörülen standartları karşıladığını beyan ederim.

Herhangi bir zamanda, "İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu Uygulanan İnfertil Vakaların Tam Zamanlı İzleme Sisteminde (Time Lapse) Multinükleuslu Blastomer İçeren Embriyolarının Blastokist Aşamasına Ulaşma Oranlarının Retrospektif Olarak İncelenmesi" başlıklı çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

Elif Ergin ÇAVUŞOĞLU



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

(Dokuman No: FR-178; Yayın Tarihi: 01.03.2018; Revizyon Tarihi: ; Revizyon No:00)

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca engin bilgilerinden ve görüşlerinden faydalandığım, aynı zamanda tez konumu belirlemeden sonuçlandırmaya kadar geçen süre boyunca tavsiye ve yönlendirmeleriyle büyük destek aldığım, çalışmaktan mutluluk duyduğum danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet Cıncık'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte yolumuzun kesiştiği ve laboratuvar anlamında ilk deneyim ve tecrübelerimi yaşadığım, öğrenmenin yanında çok keyif alarak çalıştığım ve hiç unutamayacağım deneyimleri, anıları, güzellikleri paylaştığım değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Pınar Buket Atalay'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tüm hayatım boyunca sevgilerini, güvenlerini ve desteklerini her zaman yanımda hissettiğim, her kararımda arkamda durarak beni gönülden destekleyen, çok değerli annem, babam ve kardeşlerime bütün kalbimle sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Elif E. ÇAVUŞOĞLU

Ağustos 2018

ÖZ

İNTRASİTOPLAZMİK SPERM ENJEKSİYONU UYGULANAN İNFERTİL VAKALARIN TAM ZAMANLI İZLEME SİSTEMİNDE (TİME LAPSE) MULTİNÜKLEUSLU BLASTOMER İÇEREN EMBRİYOLARININ BLASTOKİST AŞAMASINA ULAŞMA ORANLARININ RETROSPEKTİF OLARAK İNCELENMESİ

Elif E. Çavuşoğlu
Yüksek Lisans
Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Prof.Dr. Mehmet Cıncık
Maltepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2018

Bu tez çalışmasında; 2015-2017 yılları arasında Acıbadem Hastanesi Tüp Bebek Merkezi'ne başvuran maternal yaş aralığı 25-40 olan, ICSI uygulaması yapılan, time lapse cihazında takip edilen ve multinükleasyonun saptandığı 59 infertil vakaya ait 279 embriyo değerlendirmeye alındı.

59 infertil vakanın toplamda multinükleasyon gösteren embriyoların %43,4'ünün blastokist aşamasına ulaştığı tespit edildi. Hastalar <34 yaş grubu 31; ≥34 yaş grubu 28 olgu olmak üzere iki gruba ayrıldı. <34 yaş grubunda multinükleasyon gösteren embriyoların blastokist aşamasına ulaşma oranı %40,5; ≥34 yaş grubunda %47,4 olarak tespit edilmiş olup multinükleasyon gösteren embriyoların blastokist aşamasına ulaşma oranlarında gruplara göre anlamlı farklılık bulunmadı (p>0,05).

Multinükleasyon, embriyo seçiminde önemli rol oynayan bir anomalidir ve tespitinin yapılması daha yüksek oranda gebelik ve canlı doğum eldesi için kritiktir, bu anomali için bir çok mekanizma öne sürülse de henüz tam olarak mekanizması keşfedilmemiştir. Bulduğumuz sonuçlar ileride yapılacak olan daha kapsamlı klinik çalışmalara fikir niteliğindedir fakat ileri çalışmalara da ihtiyaç vardır.

Anahtar Sözcükler: 1. infertilite; 2. intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu; 3. time lapse; 4. multinükleasyon

ABSTRACT

A RETROSPECTIVE ANALYSIS OF THE RATE OF BLASTOCYST PROGRESSION OF MULTINUCLEATED BLASTOMER-CONTAINING EMBRYOS IN A FULL-TIME MONITORING SYSTEM (TIME LAPSE) OF INFERTILE CASES WITH INTRACYTOPLASMIC SPERM INJECTION

Elif E. Çavuşoğlu
Master Thesis
Clinical Embryology Department
Thesis Advisor: Prof.Dr. Mehmet Cıncık
Maltepe University Health Sciences Graduate School, 2018

In this thesis; between the years 2015-2017, 59 infertile event of 279 ebmryos who were admitted to Acıbadem Hospital In Vitro Fertilization Center were selected. The patients' maternal age range was 25-40 and ICSI application, time lapse device tracking were applied and multinucleation were detected.

59 infertile pairs reached a blastocyst stage of 43.4% showing multinucleation. Patients <34 age group 31; two groups of ≥34 age group 28 event were allocated. <40 years of age reached the blastocyst stage of multinucleated embryos in 34 age group; In the ≥34 age group, it was found to be 47.4%. The rates of reaching the blastocyst stage of the multinucleated embryos were not significantly different according to the groups ($p > 0,05$).

Multinucleation is an anomaly that plays an important role in embryo selection and detection is critical for higher rates of pregnancy and live birth, although many mechanisms have been proposed for this anomaly, yet its mechanism has not yet been fully explored. While the results we have found may be of a more comprehensive clinical trial to be done in the future, further work is needed.

Keywords: 1. infertility; 2. intracytoplasmic sperm injection; 3. time lapse; 4. multinucleation

İÇİNDEKİLER

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI ..... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
ETİK İLKE VE KURALLARA UYUM BEYANI ... **Hata! Yer işareti tanımlanmamış.**
TEŞEKKÜR ii
ÖZ iv
ABSTRACT v
İÇİNDEKİLER vi
TABLOLAR LİSTESİ viii
ŞEKİLLER LİSTESİ ix
KISALTMALAR x
ÖZGEÇMİŞ xii
BÖLÜM 1. GİRİŞ 1
Problem 1
Amaç 2
1.1. İnfertilite 3
1.2. Yardımcı Üreme Teknikleri 4
1.2.1. Ovülasyon İndüksiyon ve Aşılama (IUI) 4
1.2.2. Konvansiyonel İn Vitro Fertilizasyon (IVF) 5
1.2.3. İnrasitoplazmik Sperm Enjekiyonu (ICSI) 6
1.2.4. Fertilizasyon 7
1.3. Embriyoner Gelişim 8
1.3.1. Pronükleus Evresinde Embriyo 8
1.3.2. Bölünme Evresi 9
1.3.3. Blastokist Evresine Gelişim 10
1.4. İn vitro Gelişen Embriyolarda Kalite Değerlendirilmesi ve Multinükleasyon 12
1.5. Tam Zamanlı İzleme Sistemi (Time lapse, Embriyoskop) 14
BÖLÜM 2. YÖNTEM 16
Veriler ve Toplanması 16
Verilerin Çözümlenmesi ve Yorumlanması 17
BÖLÜM 3. BULGULAR VE YORUMLAR 18
Bulgular 18
Yorumlar 22

BÖLÜM 4. SONUÇ 25
Yargı 25
Öneriler 25
KAYNAKÇA 27

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 3.1. Multinükleasyon gösteren embriyoların blastokist aşamasına ulaşma oranlarının dağılımı……..……18
Tablo 3.2. Toplam oosit sayılarının gruplara göre karşılaştırılması……..…19
Tablo 3.3. Fertilize oosit sayılarının gruplara göre karşılaştırılması…….19
Tablo 3.4. Embriyo sayılarının gruplara göre karşılaştırılması……...……..20
Tablo3.5.Multinükleasyon gösteren embriyo sayılarının gruplara göre karşılaştırılması……..20
Tablo 3.6. Blastokist aşamasına ulaşma oranlarının gruplara göre karşılaştırılması....21
Tablo 3.7. Hücre aşamalarına göre tespit edilen multinükleasyon sıklığı…….....21

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.2.3.1. İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) ……6

Şekil 1.3.3.1. Blastokist sınıflandırma örnekleri: (a) 3AA blastokist; (b) 3AB blastokist; (c) 3BA blastokist; (d) 4AA blastokist; (e) 4AB blastokist; (f) 4BA blastokist; (g) 4CC blastokist; (h) 5AA blastokist; (i) 5CA blastokist……..……...11

Şekil 1.4.1. (a) her biri çoklu çekirdekli 2 hücreli anormal embriyo; (b) her biri bir nükleus içeren 2 hücreli normal embriyo……13

Şekil 1.5.1. Göz önüne alınan embriyo gelişimsel olayların grafik temsili t2, t3, t4, t5, cc2 = t3-t2 ve s2 = t4-t3 (M Meseguer Human Reprod 2011) ……...15

KISALTMALAR

ATP	: Adenosine Triphosphate
DNA	: Deoxyribose Nucleic Acid
E2	: Estradiol
EC	: Early Cleavage
ET	: Embryo Transfer
FISH	: Fluorescence In Situ Hybridization
FSH	: Follicle Stimulating Hormone
GnRH	: Gonadotropin Releasing Hormon
GV	: Germinal Vesicle
HCG	: Human Chorionic Gonadotropin
HSG	: Hysterosalpingography
ICM	: Inner Cell Mass
ICSI	: Intracytoplasmic Sperm Injection
IUI	: Intrauterine Insemination
IVF	: In Vitro Fertilizasyon
LH	: Luteinizing Hormone
MI	: Metaphase I
MII	: Metaphase II
MNB	: Multinücleated Blastomere
NEC	: Non-early Cleavage
NPB	: Nucleolar Precursor Bodies
OHSS	: Ovarian Hyperstimulation Syndrome
PCOS	: Polycystic Ovary Syndrome
PGD	: Preimplantation Genetic Diagnosis
PN	: Pronuclei
POR	: Poor Ovarian Response
TE	: Trophectoderm

ÖZGEÇMİŞ

Elif E. Çavuşoğlu

Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı

Eğitim

Y.Ls.	2018	Maltepe Üniversitesi, Sağlık Bilimler Enstitüsü Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı
Ls.	2016	Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
Lise	2012	E.C.A Elginkan Anadolu Lisesi

İş/İstihdam

Mesleki Birlik/Dernek Üyelikleri

Alınan Burs ve Ödüller

Yayınlar ve Diğer Bilimsel/Sanatsal Faaliyetler

Kişisel Bilgiler

Doğum yeri ve yılı : İstanbul 19/06/1994
GSM / e-posta : eelifcavusoglu3@gmail.com

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Problem

Herhangi bir koruma 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 kalamaması infertilite olarak tanımlanır (1). Yardımcı üreme tekniklerinin gelişimi ve ilerlemesiyle infertil çiftlerin çocuk sahibi olma oranı artış göstermiştir. Kadınlarda uyarı yoluyla daha fazla sayıda oosit eldesi yardımcı üreme teknikleri alanında kaydedilen önemli başarılardan biridir. Böylece infertil çiftlerin gebe kalma şanslarını arttırmak amacıyla fazla sayıda embriyo transferleri yapılmıştır fakat bu yaklaşım da çoklu gebelikte fark edilebilir bir artış ile sonuçlanmıştır. Çoğul gebelik ise anne ve çocuklar için tehlikeli sonuçlara yol açabilmektedir. Bazı ülkeler bu tehlikeleri önlemek amacıyla tranfer edilen embriyo sayılarına bir takım kısıtlamalar getirmiştir.

Yardımcı üreme tekniklerinden biri olan intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) temelinde tek bir sperm hücresinin intrasitoplazmik olarak yumurta içine enjeksiyonudur. Sperm sayısının çok düşük olduğu vakalarda fertilizasyonda yaşanan başarısızlıklar bu teknik ile tedavi edilebilmektedir (2).

Spermin oosite girmesi ve ikinci kutup cisimciğinin atılmasıyla fertilizasyon gerçekleşmiş olur. Başarılı bir fertilizasyon için de ilk basamak oositte mayozun tamamlanmasıdır. ICSI'den 25-26 saat sonra 2 blastomerli, 42-44 saat sonra 4 veya daha fazla blastomerli, 66-68 saat sonra 8 veya daha fazla blastomerli embriyo (morula aşaması) oluşurken 106-108 saat sonra da blastokist oluşur. Bu dinamik sürecin takibinde time-lapse görüntüleme sistemi, embriyoların ilk pronükleus (PN) oluşum aşamasından blastokist oluşumuna kadar tüm aşamaları kaydetme ve geriye dönük izleyebilme olanağı sağlar. Bu sınıflandırmaya göre embriyolar 10 farklı gruba ayrılmaktadırlar. Öncelikle embriyolar morfolojilerine göre elenmektedirler. Daha sonra çok düşük implantasyon oranları olduğu bilinen üç grup çıkartılmaktadır. Bunlar;

zigotun direkt 3 blastomere bölünmesi, ilk bölünmede eşit olmayan bölünme ve 4 blastomer seviyesinde multinukleasyondur (3).

Multinükleasyon, bir blastomerde birden fazla çekirdeğin bulunduğu kromozal bir anomalidir. İlk bölünme ile blastokist aşamasına kadar herhangi bir zamanda gerçekleşebilir. Multinükleasyonlu blastomer (MNB) varlığı, kötü embriyo gelişimi ve istenmeyen in vitro fertilizasyon (IVF) sonuçları ile ilişkili bulunmuştur ve MNB insidansının % 15 ila 40 arasında değiştiği bildirilmiştir. Multinükleasyon gözlemlenen embriyolarla sıklıkla düzensiz boyutlu blastomerler ve orta veya şiddetli fragmantasyon eşlik eder. Embriyo multinükleasyonun insidansı oosit immatüritesi ile de artar. Şöyle ki ICSI prosedürlerinde metafaz I (MI) oositler kullanıldığında metafaz II (MII) oositlerden daha fazla multinükleasyona rastlanmıştır. Multinükleasyon gözlemlenen embriyolarda bölünme hızı, implantasyon hızı, klinik gebelik oranı ve canlı doğum oranı belirgin olarak daha azdı. Multinükleasyon gözlemlenen embriyoların artmış kromozom anormalliği düzeyi ve anöploidi ile ilişkili olduğu ve bunun sonucunda spontan abortus riskinin arttığı rapor edilmiştir (4).

Amaç

Araştırmanın amacı intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu uygulanan infertil vakaların tam zamanlı izleme sisteminde (time lapse) multinükleuslu blastomer içeren embriyolarının blastokist aşamasına ulaşma oranlarının retrospektif olarak incelenmesidir.

Çalışmaya konu alan multinükleasyon, tam zamanlı izleme sistemiyle kolaylıkla farkedebilmekte ve böylece embriyo seçimine dahil edilebilmektedir. Klasik inkübatör takibinde ise dinamik bir süreç olan multinükleasyonun her zaman tespiti yapılamaz. Time lapsede ise multinükleasyonun hangi hücre aşamasında oluştuğuna ve daha sık hangi hücre aşamalarında görüldüğüne ya da kaybolduğuna erişilebilir.

İnfertil çiftler yaş gruplarına göre <34 yaş ve ≥34 yaş olmak üzere ikiye ayrılarak gruplar birbiriyle karşılaştırılarak değerlendirilmiştir. Bu iki grup ile multinükleasyon arasındaki ilişkinin tespiti de alt parametre olarak incelenmiştir. Multinükleasyon için birçok mekanizma öne sürülse de henüz tam olarak mekanizması

keşfedilmedi, bulduğumuz sonuçlar ileride yapılacak olan daha kapsamlı klinik çalışmalara fikir niteliğinde olabilir.

1.1. İnfertilite

Herhangi bir koruma 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 kalamaması infertilite olarak tanımlanır. Erkek faktör infertilitesi olguların yaklaşık %50'sini oluşturmaktadır hatta bu oran hızla yükselmektedir. Bu infertil erkeklerin yaklaşık %50'sinde etyoloji bilinmemektedir ve idiyopatik infertilite olarak adlandırılmakta olup, sadece oligospermi, astenospermi, teratozoospermi veya diğer sperm anormallikleri gösterilmektedir (1).Normal populasyona göre infertil erkekler arasında kromozom anomalileri insidansı yüksek bulunmuştur (5).

Kadın infertilitesi, yaş dahil olmak üzere fizyolojik işlev bozukluğu, yaşam tarzı ve diğer tanımlanamayan nedenler gibi birçok farklı faktörden kaynaklanabilir (6). Örneğin yaşlı kadınlarda, oositlerde anormal kromozom bölünmesi, mitokondriyal kalitede azalma, mitokondriyal DNA'da mutasyon birikimi ve düşük ATP üretimi, artmış oksidatif stres ve azalmış antioksidan seviyeleri bulunabilir, bu durum yaşlanmanın doğurganlıkta kritik bir rolü olduğunu göstermektedir (7). Yumurtalık yaşlanmasının, hem primordiyal folikül azalmasında hem de oosit kalitesi bozulmasında önemli bir rol oynadığı görülmektedir. Yetersiz yumurtalık yanıtı, modern doğurganlık tedavisinde önemli bir sorun teşkil etmekle birlikte, doğurganlık tedavisinin başarı oranında da belirgin bir düşüş ile ilişkilidir(8). Olguların % 10-20'sinde hem erkek hem de kadın faktörler etkili olurken, %10'una kadar açıklanamayan infertilite görülmektedir (9).

1.2. Yardımcı Üreme Teknikleri

1.2.1. Ovülasyon indüksiyonu ve Aşılama (IUI)

Ovülasyon indüksiyonu, daha fazla sayıda oosit elde etmek ve gebelik oranını artırmak için uygulanan tedavilerden biridir (8). Doğru kontrollü over stimülasyon uyarımı, yardımcı üreme tekniklerinde büyük bir öneme sahiptir (6). Özellikle açıklanamayan infertilitede, polikistikover hastalığında (PCOS) veya subfertil bir erkeğin varlığında, ovülasyonu indüksiyonu ve intrauterin inseminasyon (IUI), daha yüksek gebelik oranları ile ilişkilidir. Uyarılmış sikluslarda oosit olgunlaşması ve ovülasyon tetiklemesi için standart protokol, folliküller uygun boyuta (17-18 mm) ulaştığında insan koryonik gonadotropininin (HCG) kullanılmasıdır.

HCG, 34-36 saatte ovülasyona neden olur, ancak endojen LH dalgalanması için 24 saatten fazla yarılanma ömrü folliküllerin ve korpus luteumun uzun süre uyarılması ve aynı zamanda östradiol salınımı artışlarıyla ilişkilidir, böylece OHSS'i teşvik edebilir. HCG dışında, gonadotropin salıcı hormon (GnRH) agonistleri, yumurtlamayı başlatmak için son yirmi yılda yaygın şekilde kullanılmaktadır. GnRH agonistleri, yumurtlama tetiklemesinde LH endojen yükselişe neden olur. Daha kısa yarılanma ömrüne sahip olan GnRH agonistleri HCG'ye kıyasla doğal döngüleri daha iyi taklit ederek, oositlerin ve yumurtlamanın olgunlaşması için yeterli LH'yi indükleyebilirler. Bazı çalışmalar, oosit tetiklemesi için GnRH agonistinin kullanılması, yüksek OHSS riski taşıyan kadınlarda bile, OHSS gelişimini önlediğini ortaya koymuştur (10). Aynı zamanda, GnRH agonistleriyle yapılan uzun süreli baskılamanın, endometriyozis lezyonlarını daha da baskıladığı ve endometriyozisi olan hastalarda IVF sonuçlarını iyileştirdiği düşünülmektedir (2).

IUI'da yumurtlama gerçekleştiğinde "yıkanmış" spermler ince bir kateter yardımıyla doğrudan rahim boşluğuna transfer edilir. Ovülasyon indüksiyonu ve IUI'ın ucuz olmaları ve komplikasyon oranlarının düşük olması tedavi olarak daha cazip kılmaktadır. Ancak, ciddi endometriyozis veya tubal hastalığı olan kadınlarda veya

erkek faktörlü infertilitenin veya birden fazla etiyolojinin bir arada bulunduğu durumlarda IVF gibi tedavi yöntemleri daha uygun olmaktadır (2).

1.2.2. Konvansiyonel In Vitro Fertilizasyon (IVF)

Hormonal stimulusla uyarılan ovaryumlarda oluşturulan çok sayıdaki oositin toplanması, bu toplanan oositlerden uygun olanının seçilip laboratuvar ortamında petri kutusunda spermiyum eklenerek döllenmesi ve daha sonra uterusa yerleştirilmesi işlemidir(11). Bu tekniğin temeli Edwards tarafından 1973 yılında atılmıştır ve in vitro fertilizasyondan sonraki ilk bebeğin doğumu 1978'de gerçekleşmiştir (12).

Başlangıçta tubal infertilite sorununun üstesinden gelmek için geliştirilen IVF, günümüzde açıklanamayan infertilite, erkek faktörü, endometriyozis ve ovulasyon uyarımına dirençli over işlev bozukluğunda tedavi için seçenek sunmaktadır. Ayrıca IVF; gamet kalitesinin takibi, döllenmenin izlenmesi ve erken dönem embriyo gelişiminin değerlendirilmesi gibi gebelik sürecinde rol oynayan olayları da izleyebilme fırsatı sağlamaktadır(2).

Ne yazık ki, IVF işlemi sırasında kullanılan rutin embriyo seçimi yöntemi yetersiz kalmaktadır. Bu durumun önüne geçilebilmesi için IVF de birden fazla embriyo transferi(ET) yapılmaktadır fakat çoğul gebelik şansının artması ile ilişkili olduğu da göz önünde bulundurulmadır. Birden fazla gebeliğin doğum öncesi malformasyonlar, doğum öncesi kilo ve rahim gelişme geriliği ve sezeryan gibi sonuçları olmaktadır. Tek bir embriyonun seçilip aktarılması çoklu gebeliklerin önüne geçilebilmesi için önerilmektedir. Bu nedenle, embriyo seçimi ET'den önce uygulanması gereken çok kritik bir prosedürdür. Birkaç noktadaki morfolojik değerlendirmeye dayalı embriyo seçimi, tek ET için bazı sınırlamalar getirmektedir. Embriyo görüntüleri ise embriyo seçimi için daha doğru veriler sağlar.(13)

Kontrollü over hiper stimülasyonuna karşı yumurtalık yanıtı (POR), yardımcı üreme tekniğinde karşılaşılan en büyük zorluklardan biridir ve IVF uygulanan kadınların % 9-24'ünde görüldüğü bildirilmiştir (14). IVF'de en iyi sonucu elde etmek için optimal foliküler gelişim sağlanmalıdır. Embriyoların iyi morfolojik kalitesinin IVF sonrası ile pozitif ilişkili olduğu bildirilmiştir (15).

İyi kalitede embriyonun ET'sine rağmen iki kez IVF başarısızlığı olduğunda, yeniden değerlendirilecek ilk faktör uterus / endometriumdur. Uterin faktörün değerlendirilmesi ultrasonografi, histerosalpingografi (HSG) ve histeroskopi ile gerçekleştrilir. Histeroskopinin görsel teşhis koyabilme avantajı vardır ve makroskopik bir anormallik olduğunda tanıyı kaçırmak pek mümkün değildir fakat, belirgin bir bulgu olmadığında uterus normal kabul edilirken endometriyal hücreler de anormallik olabilir (16).

1.2.3. İnrasitoplazmik Sperm Enjekiyonu (ICSI)

Hastanın yaşına, eğer varsa önceki tedavilerine, oosit rezervine, folikül stimülan hormon (FSH) düzeyine göre ovaryumlar çeşitli ilaçlar kullanılarak özel bir indüksiyon ile uyarılır. Ovaryumlarda bulunan foliküller yeterli büyüklüğe ulaştığında ve östrojen seviyesi uygun düzeye ulaştığında hastaya HCG enjekte edilir. Bu uygulamadan 36 saat sonra vajinal yolla ultrasonografi eşliğinde oositler toplanır. Daha sonra soyma işlemi adı verilen bir işlemle etraflarındaki kümülüs ve granüloza hücrelerinden arındırılan oositlerin olgun (Metafaz II) olanları, aynı gün erkekten alınan semenin hazırlanmasıyla elde edilen spermatozoon ile birleştirilerek ICSI işlemi yapılır (8). Fertilizasyonda oositlerin aktivasyonu ve embriyoların gelişimi için oositlerin nükleer ve sitoplazmik olgunlaşması önemli bir esastır (17). Olgunlaşmamış oositlerin alınması, başarısız fertilizasyon ve oositin sperm girişi ile aktivasyonunun olmaması ile sonuçlanmıştır (18).



Şekil 2.2.3.1. İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI)

ICSI yöntemi, sperm sayısının azalması, motilitesi ve morfolojik olarak normal hücrelerin yüzdesi gibi seminal anomalileri olan hastalarda gebelik oranı geliştirdi. Klasik IVF ile neredeyse mümkün olmayan vakalar da spermatozoa hücresinin testis/epididimden cerrahi olarak geri kazanılmasıyla ICSI'de yüksek gebelik oranları elde etmek mümkün hale geldi.

Oolemma sperm füzyonunu önleyen zona pelusidanın anormallikleri, zona pellusida sertleşmesi ve bunun sonucu olarak dondurulmuş oositlerde doğal sperm penetrasyonunun engellenmesi ve ek spermden zona pellusida'ya yapışan DNA kontaminasyonu gibi bazı IVF zorlukları ICSI ile sona ermiştir. Preimplantasyon genetik teşhisi (PGD) sikluslarında ICSI, normal fertilizasyon oranını arttırır, çünkü kümülüs hücrelerinin çıkarılması, oositlerin yapısı ve olgunluğunun daha iyi görselleştirilmesine olanak sağlar ve böylece daha iyi bir oosit seçimi sağlamış olur. Ayrıca, infertilite nedenini dikkate almaksızın sperm seçimi olanağı sağlaması ICSI'yi tercih edilen bir metod haline dönüştürmüştür (19). Daha önce klasik IVF yöntemi kullanılmış ve sonuç alınamamış vakalar, oosit sayısının düşük olması, ileri kadın yaşı gibi durumlarda da ICSI uygulanır (8).

Bu ilerlemelere rağmen, embriyonun implantasyonu hala en önemli hız sınırlayıcı adımdır. Şöyle ki yüksek kaliteli embriyolar bile sıklıkla implantasyonda başarısız olur ve transfer embriyo başına yaklaşık % 25-30'luk bir implantasyon hızı elde edilir (20).

1.2.4. Fertilizasyon

Başarılı bir fertilizasyon için ilk basamak oositte mayozun tamamlanmasıdır. Memeli oositinde mayoz bölünme fetal yaşamda başlar ve birinci profazın diploten evresine kadar ilerler ve doğumda durur (9). Mayoz bölünme sırasında kromozomlar gevşer ve germinal vezikül (GV) olarak bilinen bir nükleer yapı oluşur. Mayoz bölünme, bir veya daha fazla oositler indirgeyici bölünmeyi yeniden başlattığında, bu oositlerdeki GV'nin kaybolduğu, kromatin yeniden kondanse edildiği, homolog kromozom çiftlerinin ayrıldığı ve bunların yarısı ilk kutupsal vücuda dönüşerek atıldığı puberte boyunca devam eder fakat bu noktada mayoz bölünme tekrar kesilir (metafaz II'de). GV kırılmasıyla başlayan ve ilk kutup cisimciğinin oluşmasıyla

tamamlanan bu olaylar, olgun ve verimli bir oositin oluşmasını sağlar (21). Mayozun ikinci evresinin metafazında (MII) arrest olan yumurta mayotik bölünmesi spermatozoonun içine girmesiyle tamamlanacaktır (9).

Spermatozonun morfolojisi olgunlaşma sırasında belirgin bir şekilde değişikliğe uğramaz ancak bu süre zarfında moleküler düzeyde yapısal değişiklikler meydana gelir. Kromatin ve orta parça ve kuyruk bileşenleri gibi çoğu sperm yapısı giderek stabilize olur. Önceki çalışmalar, stabilizasyonun esas olarak tiyol gruplarının oksidasyonu ile sağlandığını ileri sürmüştür (22).

Spermatozoon zona pellusidayı delmek için enzimatik ve mekanik mekanizmaları birlikte kullanır. Akrozom reaksiyonunu tamamlayan spermatozoondan salgılanan özgül enzimler, zona pellusida bileşenlerinin lokal olarak eriterek işlev görürler. Zona pellusidaya giren sperm perivitellin aralığa geçer ve sperm başı yumurtanın plazma membranına (oolemma) tutunur bunu sperm başının oolemmaya bağlanması ve spermin yumurta sitoplazmasına (ooplazma) girişi izler (9). Sperm içine girdikten sonra ikinci mayoz bölünmenin metafazında bekleyen oosit, bölünmesini tamamlar ve böylece matür bir oosit ve 2.kutup cisimciği oluşur. Memelilerde anafazII'yi izleyen dönemde zigotta oosite ait kromozomların sitoplazmaya dağıldığı bilinmektedir. Bir süre sonra, dağılan kromozomların çevresinde veziküller toplanarak kromozomları içlerine almaya başlarlar (23).

1.3. Embriyoner Gelişim

1.3.1. Pronükleus Evresinde Embriyo

Yeni oluşan embriyonun değerlendirilebildiği en erken evre, pronükleer oosit safhasıdır(18). Bu evre embriyo değerlendirmesinde dinamik bir özelliğe sahiptir ki yapılan birçok çalışmada da pronükleer evrede gerçekleşen durumlara bakılarak embriyo kalitesinin tahmin edilebileceği kanıtlanmıştır.

Tesarik ve Greco pronükleus (PN) morfolojisinin normal ve anormal olmasının insan embriyosunun ileride göstereceği gelişim ile ilişkili olduğu tezini ileri sürmüştür. Bu araştırmacılar, implante olmuş her bir embriyonun geliştiği fertilize

zigotun nüvelerindeki öncül cisimciklerin sayı ve dağılımlarını geriye dönük değerlendirmişlerdir ve %100 implantasyon başarısı gösteren zigotlarda bazı ortak özellikler keşfetmişler. Bunlar; her iki pronükleustaki çekirdekçik öncüllerini sayıları arasındaki farkın üçten fazla çıkmaması ve her iki pronükleustada çekirdekçik öncüllerinin polarize oldukları ya da olmadıkları saptanmıştır ama bir pronükleus polarize iken diğerinin polarize olmadığına rastlanmamıştır(2).

Pronükleer oosit skorlaması üç ana özellik vardır;

- Çekirdeğin büyüklüğü ve konumu,
- Sitoplazmanın görünümü ve çekirdeklerde nükleolar öncü cisimlerin (NPB) sayıları, boyutları ve dağılım modelleri.
- Çekirdeklerin eşit büyüklükte ve merkeze yerleştirilmiş olmalıdır.

Eşit boyutta olmadığı durumlarda embriyoların gelişimsel potansiyeli azdır ve yüksek derecede anöploidi görülmektedir, merkezi bir lokasyonun olmaması ise fertilizasyon sürecinde, aster veya mikrotübül oluşumu gibi bazı mekanizmaların başarısızlığına işaret edebilmektedir (18).

1.3.2. Bölünme Evresi

Bölünme evresinin değerlendirilmesi implantasyon potansiyeli daha yüksek olan embriyoları seçebilmek için kullanılan parametrelerden biridir. Erken bölünmenin varlığı, bölünme hızı, blastomer boyutu, fragmantasyon oranı, blastomerlerin nükleer durumu, sitoplazmik görüntü, perivitellin alan ve zona pellusida özellikleri bölünme evresinde değerlendirilen esaslardandır (2, 24, 25).

Optimal embriyo ikinci günde (inseminasyon sonrası 44±1 saat); 4 hücreli, blastomerleri eşit büyüklükte, her biri tek nukleus içeren ve <%10 fragmantasyonu olan, üçüncü günde (inseminasyon sonrası 68±1 saat) ise; 8 hücreli, blastomerleri eşit büyüklükte ve her bir blastomerinde bir nukleus bulunan ve <%10 fragmantasyonu bulunan embriyo olarak tanımlanmıştır (26).

Erken bölünme, en umut verici yeni seçim parametrelerinden biridir elde edilen bulgularda, erken bölünme embriyolarının döllenme oranları, bölünme oranları ve uygun kalite embriyoların oranının önemli ölçüde yüksek olduğunu keşfedildi. Birçok

araştırmacı erken bölünme ve embriyo morfolojisi arasındaki bağlantıyı düşünse de erken bölünme mekanizması halen bilinmemektedir (27).

Yapılan bir çalışmada erken bölünen (EC) embriyoların transferi, erken bölünmeyen (NEC) embriyo transferlerine kıyasla (% 50'ye karşı% 26.4) klinik gebelik oranının belirgin olarak (P = 0.001) artmasına neden olduğu bulundu. EC ve NEC transfer embriyolarında ortalama fragmantasyon derecesi benzer bulunurken EC embriyoları NEC embriyolarından eşit boyutta blastomerleri daha sıklıkla sergilediği de gösterildi (% 55.6'ya karşı% 36.2; P = 0.011). Aynı zamanda 4 hücreli evredeki embriyo transferlerinden sonra EC (% 50.7), NEC embriyolar (% 32.5) ile karşılaştırıldığında daha iyi klinik gebelik oranı belirgin şekilde (p = 0.025) elde edildi (28).

1.3.3. Blastokist Evresine Gelişim

Kompaksiyon başlangıcı 4 hücreden 16 hücre aşamasına doğru gerçekleşmiş olsa da en yaygın görüldüğü aşama 8 hücredir (29). Kompaktlaşma sürecini tamamlayarak morula aşamasını geçiren embriyonun uterusa girmesinden bir süre sonra (fertilizasyondan 4 gün sonra) uterus boşluğundaki sıvı, zona pellusidayı ve dış hücreleri geçerek hücreler arası boşlukta toplanmaya başlar ve bu evreye gelmiş olan embriyoya “blastosist”, içindeki sıvı dolu boşluğa ise “blastosel” denmektedir.

Sonra da blastosist evresine geçen embriyoda iki tip hücre fark edilir. Bunlar dışta trofoblastlar ve içte embriyoblast hücreleridir. Trofoblastik hücreler embriyonun dış tarafında bulunan blastomerlerin tek katlı yassı epitelyal hücrelere dönüşmesiyle oluşurlar ve trofoblastik hücreler aralarındaki sıkı bağlantı noktalarıyla embriyoyu dış ortamdan tamamen ayırırlar. Ayrıca seçici geçirgen taşınım özelliğini kullanarak blastosistle dış ortam arasındaki dengeyi sağlarlar.

Blastokistin ikinci tip hücreleri embriyonun ortasında yer alan blastomerlerdir. Bu hücreler blastokistin gelişimiyle “iç hücre kitlesi”ni(ICM) oluştururlar ve bir yandan trofoektodermal hücrelerle(TE), bir yandan da blastosel ile ilişkidedir. İç hücre kitlesinin zamanla blastokistin bir kutbuna yerleşmesi ve blastokistin büyümesiyle bu ilişki daha da belirginleşir(23).

Blastokist implantasyonunun başarısını öngörmek için çeşitli değerlendirme sistemleri tanımlanmıştır. Bu sistemlerden biri olan Gardner'in derecelendirme sistemi gebelik oranlarının daha iyi eldesi için sıklıkla kullanılmaktadır (30). Bu metotla blastokistler genişlikleri 1'den 6'ya kadar, ICM ve TE sınıflaması da morfolojilerine bağlı olarak A'dan D'ye kadar skorlanırlar (31).

Gardner derecelendirme sisteminde blastokistler şu şekillerde tanımlanmaktadır;

1. Erken blastokist; blastosel embriyonun hacminin yarısından daha az,

2. Blastokist; blastosel embriyonun hacminin yarısından büyük veya eşit,

3. Tam blastokist; blastosel embriyoyu tamamen doldurur,

4. Genişletilmiş blastokist; blastosel hacmi erken embriyodan daha büyük ve zona pellusida incelmiş,

5. Kuluçka blastokist; trofoektodermler zona pellusida dışına çıkmaya başlamış,

6. Çıkarılan blastokist; blastokist zona pellusida'dan tamamen kurtulmuştur.

ICM sınıflandırmasında skorlama şu şekildedir;

A. çok sayıda sıkıca paketlenmiş hücreler

B. gevşek bir şekilde gruplandırılmış birkaç hücre,

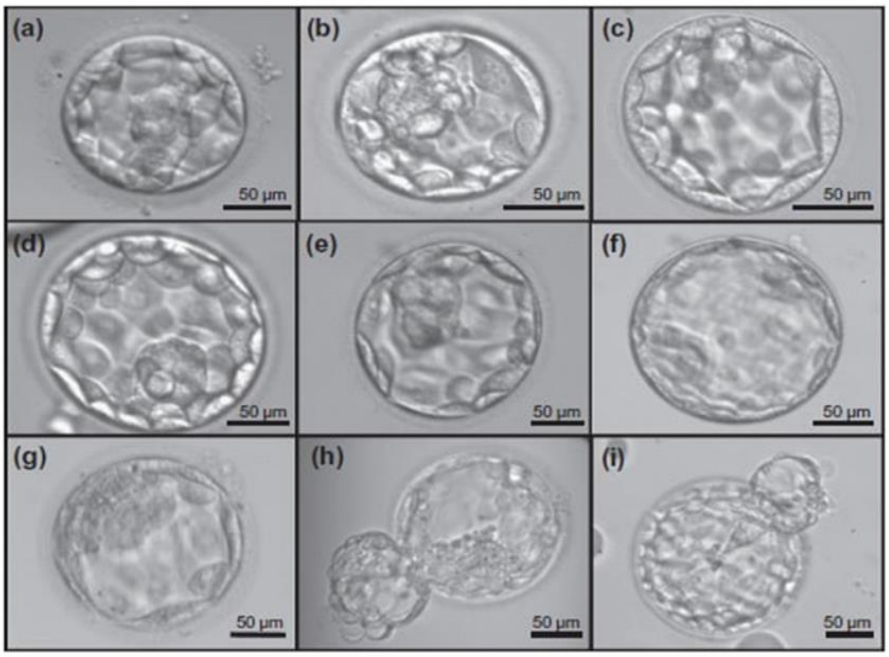
C. çok az hücre.

Trofoektoderm sınıflandırması aşağıdaki gibidir;

A. sıkı bir örgü epitel oluşturan birçok hücre,

B. birkaç hücre,

C. gevşek bir epitelyum oluşturan çok az hücre(31).



Şekil 1.3.3.1. Blastokist sınıflandırma örnekleri: (a) 3AA blastokist; (b) 3AB blastokist; (c) 3BA blastokist; (d) 4AA blastokist; (e) 4AB blastokist; (f) 4BA blastokist; (g) 4CC blastokist; (h) 5AA blastokist; (i) 5CA blastokist.

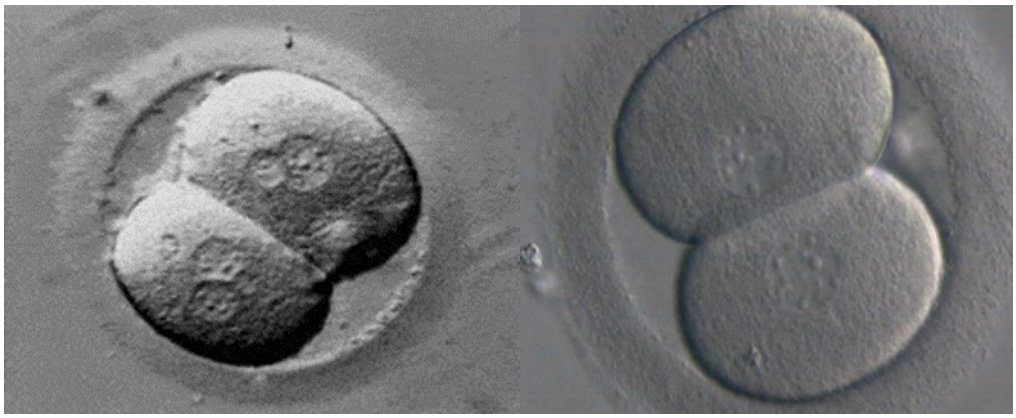
1.4. İn vitro Gelişen Embriyolarda Kalite Değerlendirilmesi ve Multinükleasyon

En yüksek implantasyon potansiyeline sahip embriyonun tanımlanması, üreme tıbbı alanında en zorlu görevlerden biridir ve tek ET için temel bir adımdır. Yıllar boyunca, embriyo yaşayabilirliğinin değerlendirilmesi için birkaç puanlama sistemi önerilmiştir ve bu sistemler, bölünme oranını, parçalanma yüzdesini, çok çekirdekli ve sitoplazmik düzensizliklerin varlığını ve blastokist gelişimini dikkate alır (32).

Bir IVF döngüsünün sonucunu pek çok faktör etkilemekle birlikte, embriyo kalitesi en önemli faktörlerden biri olarak kabul edilmektedir(26). IVF ve ICSI'de intrauterin transfer için embriyoların uygunluğunu değerlendiren morfolojik kriterlerden biri, çok çekirdekli blastomerlerin (MNB) varlığıdır (33).

Birden fazla çekirdek içeren bir blastomer, çok çekirdekli olarak tanımlanmaktadır ve embriyoda MNB varlığı, kötü embriyo gelişimi ve istenmeyen IVF sonuçları ile ilişkili bulunmuştur. MNB insidansının % 15 ila 40 arasında değiştiği bildirilmiştir(4).

MNB genellikle hücreler tarafından tutulur, bu nedenle bir veya daha fazla MNB içeren embriyoların gelişimsel olarak yetersiz olması beklenir. Yavaş veya duraksamış gelişime sahip embriyolarda, MNB insidansı normal olarak gelişmekte olan embriyolara göre daha yüksektir. Floresan in-situ hibridizasyon yöntemi kullanılarak yapılan birçok araştırma da embriyoda MNB varlığı özellikle fertilizasyondan 2 veya 3 gün sonra ortaya çıktığında hücrelerin çoğunda veya tamamında kromozomal anormalliklerin göstergesidir. MNB'li embriyoların implante olduğu gösterilse de gebelik oranlarıın düşük olması beklenmektedir (33).



Şekil 1.4.1. (a) her biri çoklu çekirdekli 2 hücreli anormal embriyo; (b) her biri bir nükleus içeren 2 hücreli normal embriyo.

Son yıllarda, time-lapse izleme sistemlerinin uygulanması ile daha fazla MNB embriyoları tespit edilmiştir. Araştırma sonuçları MNB embriyolarının çoğunun genetik olarak anormal olduğunu göstermiştir hatta Kligman ve ark. gerçekleştirmiş olduğu çalışmada çok çekirdekli embriyoların % 74.5'inin, çok çekirdekli olmayan embriyoların % 32.3'üne kıyasla kromozomal anormalliğe sahip olduğunu bildirmiştir(34). Ambroggio ve ark. da çok çekirdekli embriyoların IVF sikluslarında transfer için önerilmemesi gerektiğini düşünmüşlerdir(35).

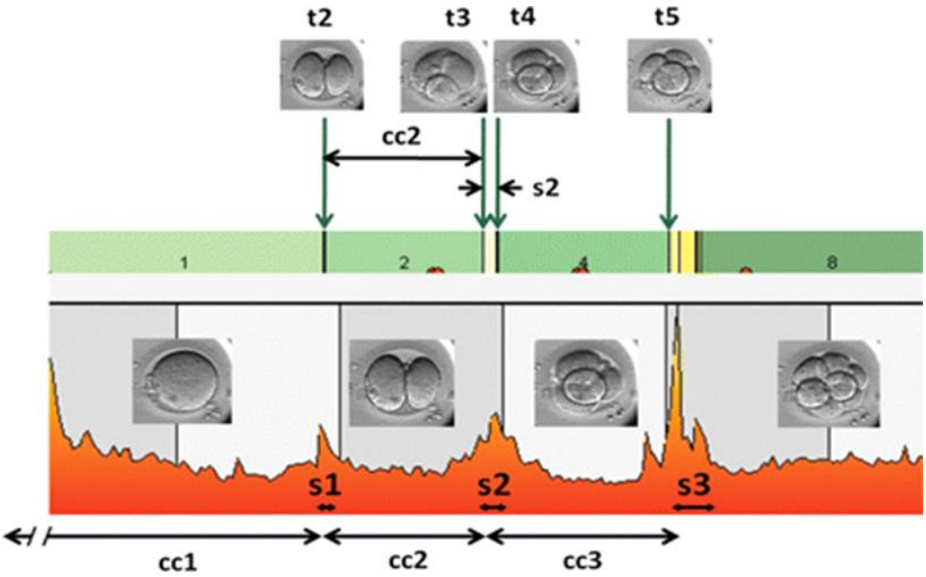
Jackson ve ark. daha yüksek E2 seviyeleri ve kurtarılmış oosit sayısının artmış bulunduğu durumlarda çoklu çekirdeğin yüksek oranlarda olduğunu ve aynı zamanda normal olarak döllenmiş embriyolardaki multinükleasyonun hızlandırılmış bir ovülasyon indüksiyon yanıtı ile ilişkili olduğu sonucuna varmışlardır. Multinükleasyon, embriyoların bölünmesinde tanımlanan bir anormalliktir ve anöploidi ve kromozomal anormalliklerin artmış oranları ile korele edilmiştir (4).

Pek çok araştırmacı, multinükleasyonun nasıl ve niçin gerçekleştiğini açıklamaya yönelik çabalarını yoğunlaştırmış ve sitokinezi olmayan, kültür reaktifi veya koşulları veya suboptimal over stimülasyon rejimleri gibi çeşitli hipotezleri en sık görülen embriyo anormalliği için makul açıklamalar olarak önerilmiştir(36). Buna rağmen multinükleasyonun mekanizması henüz tam olarak belirlenmemiştir (4).

1.5. Tam Zamanlı İzleme Sistemi (Time lapse, Embriyoskop)

Time-lapse görüntüleme sistemleri ile embriyoların ilk PN oluşum aşamasından blastokist oluşumuna kadar tüm aşamalarını tam olarak belirlenebilmektedir. Bu sistemde embriyo değerlendirmesi için ek kriterler gereklidir ve Meseguer ve arkadaşları da bu kriterleri belirlemek için time-lapse görüntüleme sisteminde inkübe edilen embriyolardan implante olanlar ile implante olmayanları değerlendirip, embriyo bölünme zamanları için uygun aralıkları bulmaya çalışmışlardır. İki blastomer(t2), üç blastomer(t3) ve beş blastomer(t5) şekline gösterilmektedir ayrıca ikinci hücre bölünmesi (cc2) yani iki blastomerden üç blastomere bölününceye kadar geçen süre(cc2=t3-t2) ve ayrıca iki blastomerden dört blastomere varıncaya kadar olan zamanda(s2) olarak(s2=t4-t3) tanımlanmıştır.

Yapılan değerlendirmelerin sonucunda uygun yarıklanma zamanları içerisinde bulunan embriyoların implantasyon oranları yüksek bulunmuştur. Uygun yarıklanma zamanları içerisinde olan ve olmayan embriyolar arasındaki en yüksek implantasyon oranı t5'de tespit edildiğinden dolayı yarıklanma zamanı esas alınarak yapılan embriyo seçiminde t5 en iyi seçim kriteri olarak kabul edildi. Daha sonra en iyi implantasyon oranları sınırlar içerisindeki cc2 ve s2 olarak tespit edildi. Tüm bu değerlendirmeler kullanılarak embriyoların yarıklanma zamanlarına göre seçim yapıln sınıflandırmayı oluşturdular(37).



Şekil 1.5.1. Göz önüne alınan embriyo gelişimsel olayların grafik temsili t2, t3, t4, t5, cc2 = t3-t2 ve s2 = t4-t3 (M Meseguer Human Reprod 2011).

Bu sınıflandırmaya göre embriyolar 10 farklı gruba ayrılmaktadırlar. Öncelikle embriyolar morfolojilerine göre elenmektedirler. Daha sonra çok düşük implantasyon oranları olduğu bilinen üç grup çıkartılmaktadır. Bunlar; zigotun direkt 3 blastomere bölünmesi (ilk bölünme sonrası <5 saat içerisinde 3 hücreli olması), ilk bölünmede eşit olmayan bölünme ve 4 blastomer seviyesinde multinukleasyondur. Bu embriyolar E olarak sınıflandırılırlar. Direkt 3 blastomere bölünen embriyolar blastokist aşamasına ulaşabilirler fakat yüksek oranda normal olmayan embriyolardır(38). Daha sonra yukarıdaki algoritma takip edilerek embriyolar sınıflandırılırlar. Bu sınıflandırmada ilk olarak t5 sonra s2 ve son olarak cc2 değişken olarak alınır. Eğer t5 optimal sınırlar içerisinde ise(48,8-56,6 saat) embriyo A veya B olarak, eğer sınırlar dışında ise C veya D olarak değerlendirilir. Eğer s2 sınırlar içerisinde ise(≤0,76 saat); t5 sınırlar içinde A, t5 sınırlar dışında C. Aynı şekilde s2 sınırlar dışında(>0,76 saat); t5 sınırlar içinde B, t5 sınırlar dışında D. Daha sonra cc2'nin sınırlar içerisinde(≤11,9 saat) olup olmamasına göre (+) veya (-) olarak değerlendirilirler. Meseguer A+ embriyoların transferi sonrasında %66 implantasyon oranı elde etmiştir. Ayrıca A grubu en yüksek blastokist gelişim oranına sahiptir ve A'dan D'ye doğru blastokist gelişimi azalmaktadır(3).

BÖLÜM 2. YÖNTEM

Veriler ve Toplanması

Bu çalışmaya 2015-2017 yılları arasında Acıbadem Hastanesi tüp bebek merkezine başvuran maternal yaş aralığı 25-40 olan, ICSI uygulaması yapılan, time lapse cihazında takip edilen ve multinükleasyonun saptandığı 59 infertil çift dahil edildi ve retrospektif olarak incelendi. Tüp bebek merkezine başvuran erkek hastalara spermiyogram testi yapılırken kadın hastalara ise birden fazla oosit elde edebilmek için ovaryan stimülasyon uygulandı.

ICSI prosedürünün temelinde tek bir sperm hücresinin intrasitoplazmik olarak yumurta içine enjeksiyonu vardır. İlk olarak oositler mikroenjeksiyondan önce kumulus hücrelerinden uzaklaştırıldı. Oositlerin matürasyon ve morfolojik değerlendirmeleri inverted mikroskopta yapıldı. Normal morfolojiye sahip ve hareketli sperm seçilerek hareketsiz hale getirildi. Yumurta tutucu pipete uygulanan emme ile tutuldu. Oosit polar cisimcik saat 6 veya 12 yönünde olacak şekilde sabitlendi ve sperm hücresi enjeksiyon pipetinin uç kısmına doğru getirildi. Böylelikle mümkün olduğunca az miktarda polyvinylpropylene (PVP)'nin oosit içine girmesi sağlandı. Sperm oosit içerisine bırakıldı ve enjeksiyon pipeti oosit içerisinden çıkarıldı. Enjeksiyondan 12-17 saat sonra fertilizasyon kontrolü yapıldı. Her bir embriyo için blastomer sayı ve büyükleri takip edildi. Bu takip videolu ve geriye dönük izleme olanağı ve tek kültür ortamı sağlayan time lapse cihazı ile yapıldı. Bu cihazla multinükleasyon gösteren blastomerleri içeren embriyolar saptandı.

Verilerin Çözümlenmesi ve Yorumlanması

İstatistiksel analiz için SPSS 15.0 for Windows programı kullanıldı. Değişken puanlarının normallik sınamasında Skewness (çarpıklık) katsayısı kullanılmıştır. Sürekli bir değişkenden elde edilen puanların normal dağılım özelliğinde kullanılan çarpıklık katsayısının (Skewness) ±1 sınırları içinde kalması puanların normal dağılımdan önemli bir sapma göstermediği şeklinde yorumlanabilir.

Grupların tüm puanları normal dağılım gösterdiğinden puanların karşılaştırılmasında bağımsız iki örneklem testinden; multinükleasyon sayılarının hücre aşamalarında görülme sıklığı frekans ve yüzde ile; multinükleasyonun hücre aşamalarına göre görülme sıklığının ve multinükleasyon gösteren embriyoların blastokist aşamasına ulaşma oranlarının gruplara göre karşılaştırılmasında Ki-kare analizinden yararlanıldı. İstatistiksel anlamlılık seviyesi $p<0,05$ olarak kabul edildi.

BÖLÜM 3. BULGULAR VE YORUMLAR

Bulgular

Çalışmaya maternal yaş aralığı 25-40 olan, ICSI uygulaması yapılan, time lapse cihazında takip edilen ve multinükleasyonun saptandığı 59 infertil vaka dahil edildi. 59 olguya ait multinükleasyon gösteren 279 embriyonun blastokiste ulaşma oranları incelendi.

Tablo 3.1. Multinükleasyon gösteren embriyoların blastokist aşamasına ulaşma oranlarının dağılımı

Blastokist aşamasına ulaşma	n	%
Blastokist	121	43,4
Non-blastokist	158	56,6
Toplam	279	100

Olguların toplamında multinükleasyon gösteren 279 embriyonun %43,4'ünün blastokist aşamasına ulaştığı tespit edildi (Tablo 3.1.).

<34 yaş ve ≥34 yaş Gruplarından Elde Edilen Parametrelerin Karşılaştırılması

59 olgu; <34 yaş grubu 31, ≥34 yaş grubu 28 olgu olmak üzere iki gruba ayrılarak karşılaştırıldı. <34 yaş grubu olguların yaş ortalaması 29,58±2,31 (25-33 yaş aralığı), ≥34 yaş grubu olguların yaş ortalaması 36,93±1,98 (34-40 yaş aralığı) olarak tespit edildi.

Tablo 3.2. Toplam oosit sayılarının gruplara göre karşılaştırılması

Gruplar	***n***	$\bar{X}$	***SS***	***t***	***p***
<34 yaş	31	12,52±5,02	5,02	2,46	0,017
≥34 yaş	28	9,61±3,93	3,93		

Toplam oosit sayılarında gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edildi (t=2,46; p<0,05) (Tablo 3. 2.).

Tablo 3.3. Fertilize oosit sayılarının gruplara göre karşılaştırılması

Gruplar	***n***	$\bar{X}$	***SS***	***t***	***p***
<34 yaş	31	7,81±3,13	3,13	2,33	0,023
≥34 yaş	28	5,89±3,17	3,17		

Fertilize oosit sayısının gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği tespit edildi (t=2,33; p<0,05). <34 yaş grubu olguların fertilize oosit sayı ortalaması (7,81±3,13); ≥34 yaş grubu olguların fertilize oosit sayı ortalamasından (5,89±3,17) anlamlı düzeyde daha fazladır (Tablo 3.3.).

Tablo 3.4. Embriyo sayılarının gruplara göre karşılaştırılması

Gruplar	***n***	$\bar{X}$	***SS***	***t***	***p***
<34 yaş	31	7,65±3,03	3,03	2,27	0,027
≥34 yaş	28	5,82±3,12	3,12		

Embriyo sayısının gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği tespit edildi (t=2,27; p<0,05). <34 yaş grubu olguların embriyo sayı ortalaması (7,65±3,03); ≥34 yaş grubu olguların embriyo sayı ortalamasından (5,82±3,12) anlamlı düzeyde daha fazladır (Tablo 3.4.).

Tablo 3.5. Multinükleasyon gösteren embriyo sayılarının gruplara göre karşılaştırılması

Gruplar	***n***	$\bar{X}$	***SS***	***t***	***p***
<34 yaş	31	5,26	2,54	1,64	0,105
≥34 yaş	28	4,14	2,66		

Multinükleasyon gösteren embriyo sayılarının gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermediği tespit edildi (p>0,05) (Tablo 3.5.).

Tablo 3.6 Blastokist aşamasına ulaşma oranlarının gruplara göre karşılaştırılması

Gruplar	***Non-Blastokist***		***Blastokist***		X^2	**p**
	n	***%***	***n***	***%***		
<34 yaş	*97*	*59,5*	*66*	*40,5*	*1,32*	0,250
≥34 yaş	*61*	*52,6*	*55*	*47,4*		
Toplam	*158*	*100,0*	*121*	*100,0*		

<34 yaş grubunda multinükleasyon gösteren embriyoların blastokist aşamasına ulaşma oranı %40,5; ≥34 yaş grubunda %47,4 olarak tespit edilmiş olup multinükleasyon gösteren embriyoların blastokist aşamasına ulaşma oranları gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05) (Tablo 3.6).

Tablo 3.7 Hücre aşamalarına göre tespit edilen multinükleasyon sıklığı

Hücre Aşaması	**Multinükleasyon Sayısı**	**Multinükleasyon oranı(%)**
2 hücreli	45	40,9
3 hücreli	3	2,7
4 hücreli	58	52,7
5 hücreli	3	2,7
Toplam	110	100,0

Multinükleasyonlar 2, 3, 4 ve 5 hücreli aşamalarda görülmüştür. Multinükleasyonun en sık görüldüğü aşamalar 4 hücreli (%52,7) ve 2 hücreli (%40,9) aşamalar olarak tespit edildi (Tablo 3.7.).

Yorumlar

Yardımcı üreme teknikleri infertil hastaların çocuk sahibi olabilmesi için büyük olanaklar sağlamaktadır fakat bu hususta dikkat edilmesi gereken en kritik noktalardan biri embriyo seçimidir. Embriyo seçim yöntemleri yaşayabilirliği yüksek embriyoların seçimini sağlar, bu yöntemlerin esası morfolojik göstergelerin farklı evrelerde değerlendirilmesi ve kritik zaman noktalarının belirlenmesidir (2). Çok sayıda embriyo transferi ile gebelik oranı arttırılabilir fakat aynı zamanda gebe populasyonunda çoklu implantasyon riskini arttırabilir (39).

Embriyo seçim ve takibinde kullanılan time lapse, kültürdeki embriyoların sürekli olarak görüntülenmesini sağlayan ve bol miktarda yeni bilgi üretmesiyle blastosist seçiminde yeni kriterler kazandıran, daha hassas hücresel kinetik ve hücre döngüsü değerlendirmesi sağlayan görüntüleme sistemidir. Bu sistem insan embriyolarında multinükleasyon, doğrudan düzensiz bölünme gibi spesifik dismorfizmlerin prevelansını da ortaya koymuştur (40). Bunun yanı sıra nükleer oluşum dinamik bir süreç olduğundan embriyonun sürekli olarak takibinin sağlanıyor olması çok önemlidir(41). Geleneksel inkübasyona kıyasla gebelik sonuçları üzerine yapılan en büyük retrospektif çalışmada, time lapse ile gebelik oranlarında göreceli olarak % 20 iyileşme görülmüştür (42).

Çalışmamızda ICSI uygulaması yapılan, time lapse cihazında takip edilen ve multinükleasyonun saptandığı 59 infertil vaka değerlendirmeye alındı. 59 infertil vakanın toplamda multinükleasyon gösteren 279 embriyosunun %43,4'ünün blastokist aşamasına ulaştığı tespit edildi (Tablo 3.1). Yapılan bir çalışmada 40 yaşın altında, IVF uygulaması yapılmış ve blastokist transferi için seçilen 50 hastanın tüm zigotlarının %51'i blaskokiste gelişmiştir (35). Çalışmamızdan elde ettiğimiz verilerden yola çıkarak multinükleasyon gözlenen embriyoların blastokiste gidiş oranının, multinükleasyon göstermeyen embriyolardan hafif düşük olduğunu değerlendirdik.

İnfertilite de maternal yaş büyük öneme sahiptir ve dahası 35 yaş üzerindeki kadınlarda multinükleasyonlu embriyoların transferinde doğum olmadığı gözlemlenmiştir (41). Bundan yol çıkarak çalışmada multinükleasyon saptanan hastalarda blastosist aşamasına gidişin yaşla korele olup olmadığını araştırdık. <34 yaş grubunda multinükleasyon gösteren embriyoların blastosist aşamasına ulaşma oranı %40,5; ≥34 yaş grubunda %47,4 olarak tespit edilmiş olup multinükleasyon gösteren embriyoların blastokist aşamasına ulaşma oranları gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$) (Tablo 3.6). Elde ettiğimiz verilerle uyumlu olarak yaşlı kadınlarda MNB riskinin göreceli yüksek olmasıyla beraber bu ilişkinin istatiksel olarak anlamlı olmadığı gösterilmiştir (4). Multinükleasyonlu embriyoların gelişim kapasitesi değişkenlik gösterebilir fakat multinükleasyonlu embriyoların mononükleer embriyolara oranla daha düşük oranlarda blastosistleri geliştirdiği bildirilmiştir (43).

Toplam oosit sayısının gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği tespit edildi ($t=2,46$; $p<0,05$). <34 yaş grubu olguların toplam oosit sayı ortalaması (12,52±5,02); ≥34 yaş grubu olguların toplam oosit sayı ortalamasından (9,61±3,93) anlamlı düzeyde daha fazladır (Tablo 3. 2) ve fertilize oosit sayısının gruplara göre anlamlı farklılık gösterdiği tespit edildi ($t=2,33$; $p<0,05$).

<34 yaş grubu olguların fertilize oosit sayı ortalaması (7,81±3,13); ≥34 yaş grubu olguların fertilize oosit sayı ortalamasından (5,89±3,17) istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazladır (Tablo 3.3). Multinükleasyonun maternal yaşla korele olmadığı tespit edilse de infertil hastaların tedavi için geç kalmamaları önerilmektedir, tespit edildiği üzere elde edilen ve fertilize olan oosit miktarı <34 yaş grubu hastalarda anlamlı olarak daha fazlaydı.

MNB varlığının kötü embriyo gelişimi ile ilişkili olduğu bilinmektedir (43). Multinükleasyon gözlemlenen embriyolarla sıklıkla düzensiz boyutlu blastomerler ve orta veya şiddetli fragmantasyon eşlik eder(39). MNB hacmi, non-MNB hacminden daha büyüktür (44). Multinükleasyon gözlemlenen embriyolarda bölünme hızı, implantasyon hızı, klinik gebelik oranı ve canlı doğum oranı belirgin olarak daha az olduğu bildirilmiştir(45).

Multinükleasyonun altında yatan mekanizma henüz tam olarak belirlenememiştir fakat sitokinez sürecindeki bir hatayı temsil ettiği görülmektedir. Sitokinez yokluğunda karyokinez blastomerde multinükleasyona yol açabilir, diğer düşünülen alternatif mekanizmalar mitotik anafazda kromozom dağılımı, çekirdeğin kısmı parçalanması veya mitozda paketlemedeki hatalar olabilir. Bunun yanında yüksek E2 seviyeleri ve artmış oosit sayısı bulunan döngülerde MNB insidansı anlamlı olarak daha fazla olduğu rapor edilmiştir(4). Yapılan bir diğer çalışmada da ICSI prosedürlerinde MI oositleri kullanıldığında MII oositlerden daha fazla multinükleasyona rastlandı ve böylece oositlerin olgunlaşmamışlığı arttıkça embriyolarda multinükleasyon insidansının da arttığı bulundu (46). Ayrıca 8 hücre evresinden önce kompaksiyonu başlatan %93,8 embriyoda en az bir blastomerde multinükleasyon gözlenmiş ve erken kompaksiyonun MNB'lerin sıklığı ile ilişkili olduğu düşünülmüştür (29).

Multinükleasyonun en sık görüldüğü aşamalar 4 hücreli (%52,7) ve 2 hücreli (%40,9) aşamalardır (Tablo 3.7). 2. Gün embriyosunda multinükleasyon gözlemlenen embriyoların iyi kalitede blastosist olma şansı %5 olduğu ve bu embriyoların %60'dan fazlası bölünme evresinde duraksadığı tespit edilmiştir. Tekli veya çoklu MNB'li 3. Gün embriyolarında ise sırasıyla bu oran %3,2 ve %0,9 olarak bildirilmiştir(43). İnsan embriyonik genomu 4-8 hücre evresinde aktifleşir ve multinükleasyonun görüldüğü hücre evresi bu nedenle büyük önem taşır (39). Multinükleasyon gözlemlenen embriyoların artmış kromozom anormalliği düzeyi ve anöploidi ile ilişkili olduğu ve bunun sonucunda spontan abortus riskinin arttığı belirlenmiştir(47).

Floresan in situ hibridizasyon (FISH), bölünme aşamasında gelişimi durmuş veya canlı embriyoların kromozomal durumunu değerlendirmek için yüksek verimlerde kullanılmaktadır. MNB'ler ile yapılan pek çok FISH çalışmalarda, 2 hücreli aşamada %55-100'ünde yüksek oranda kromozal anomali bulunmuş, bu embriyolar kullanılarak sağlıklı bebeklerin elde edildiği fakat altı kat daha fazla abortus riski olduğu bildirilmiştir (2).

BÖLÜM 4. SONUÇ

Yargı

Çalışmamızda intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu uygulanan infertil vakaların tam zamanlı izleme sisteminde (time lapse) multinükleuslu blastomer içeren embriyolarının blastokist aşamasına ulaşma oranlarını retrospektif olarak inceledik ve bu oranın MNB göstermeyen embriyoların blastoskiste gidiş oranlarından hafif düşük olduğunu değerlendirdik. Aynı zamanda infertil hastalarımızı yaş parametresine göre alt gruplara ayırıp multinükleasyon gözlemlenmesi açısından değerlendirdiğimizde iki grup arasında anlamlı bir fark olmadığını gözlemleyerek, multinükleasyonun maternal yaşla ilişkili olmadığı kanısına vardık.

Öneriler

Verilerimiz infertil hastalardan elde edilen multinükleasyonlu embriyolarda blastokiste varışın maternal yaşla korele olmadığını desteklemektedir. Fakat hasta sayısı ve retrospektif bir araştırma olması çalışmayı kısıtlayan bir yöndür. Bunun yanında embriyo takibi için time lapse cihazı kullanılan hastaların verilerinin kullanılması klasik inkübatör takip edilen hasta verilerine oranla daha güvenilir sonuçlar elde etmemizi sağladı.

Multinükleasyon, embriyo seçiminde önemli rol oynayan bir anomalidir ve tespitinin yapılması daha yüksek oranda gebelik ve canlı doğum eldesi için kritiktir, bu anomali için bir çok mekanizma öne sürülse de henüz tam olarak mekanizması keşfedilmedi. Multinükleasyonlu embriyodan başka ET yapılacak embriyosu bulunmayan hastalarda, bu embriyolar transfer edildiğinde gebelik oranının ve kromozomal anomali oranlarının ne olacağı ile ilgili ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Bulduğumuz sonuçlar ileride yapılacak olan daha kapsamlı klinik çalışmalara öncü olacaktır.

KAYNAKÇA

1. Yao B., Hang D., Shen H., Ma H., Zhang K., Wei L., et al. Human papillomavirus in semen and the risk for male infertility: a systematic review and meta-analysis. BMC Infectious Diseases. 2017; 17(1): 714.
2. Gardner D.K., Weissman A., Howles, C.M., Shoham, Z. Yardımcı Üreme Teknikleri Temel Kitabı. Nobel Tıp Kitabevleri. 2. baskı. 2010; 51-91.
3. Cruz M. G. N., Herrero J., Perez-Cano I., Munoz M., Meseguer M. Timing of cell division in human cleavage-stage embryos is linked with blastocyst formation and quality. Elsevier. 2012; 25: 371-81.
4. Sun L., Chen Z. H., Yang L., Yi C. X., Liu J., Ou C.Q. Chromosomal polymorphisms are independently associated with multinucleated embryo formation. J Assist Reprod Genet. 2018; 35(1): 149-56.
5. Balasar O., Zamani A.G., Balasar M., Acar H. Male infertility associated with de novo pericentric inversion of chromosome 1. Turk J Urol. 2017; 43(4): 560-2.
6. Kitchen H., Aldhouse N., Trigg A., Palencia R., Mitchell S. A review of patient-reported outcome measures to assess female infertility-related quality of life. Health Qual Life Outcomes. 2017; 15(1): 86.
7. Shirasuna K., & Iwata H. Effect of aging on the female reproductive function. Contracept Reprod Med. 2017; 2: 23.
8. Zhen X. M., Qiao J., Li R., Wang L. N., Liu P. The clinical analysis of poor ovarian response in in-vitro-fertilization embryo-transfer among Chinese couples. J Assist Reprod Genet. 2008; 25(1): 17-22.
9. Maleki-Saghooni N. Effectiveness of infertility counseling on pregnancy rate in infertile patients undergoing assisted reproductive technologies: A systematic review and meta-analysis. Inter J Reprod Biomed. 2017 ;15: 391-402.
10. Taheripanah R., Zamaniyan M., Moridi A., Taheripanah A., Malih N. Comparing the effect of gonadotropin-releasing hormone agonist and human chorionic gonadotropin on final oocytes for ovulation triggering among infertile women undergoing intrauterine insemination: An RCT. Int J Reprod Biomed. 2017; 15(6): 351-6.

11. Eşrefoğlu M. Embriyoloji. İstanbul Tıp Kitabevleri. 1. baskı. 2017; 68-71.
12. Alan Trounson Ac. Research İn Human İn-Vitro Fertilisation And Embryo Transfer. British Medical. 1982; 285: 244-8.
13. Kim H. J. Evaluation of human embryo development in in vitro fertilization- and intracytoplasmic sperm injectionfertilized oocytes: A time-lapse study. Clin Exp Reprod Med. 2017; 44(2): 90-5.
14. Wei L. H., Ma W. H., Tang N., Wei J. H. Luteal-phase ovarian stimulation is a feasible method for poor ovarian responders undergoing in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer treatment compared to a GnRH antagonist protocol: A retrospective study. Taiwan J Obstet Gynecol. 2016; 55(1): 50-4.
15. Wang A. C., Wang Y., Wu F. X., Zhu D. Y. Assessing predictors for the success of GnRH antagonist protocol in reproductive women in IVF/ICSI - in fresh cycles. Biomed Rep. 2017; 7(5): 482-6.
16. Kucuk T., & Safali M. "Chromohysteroscopy" for evaluation of endometrium in recurrent in vitro fertilization failure. J Assist Reprod Genet. 2008; 25(2-3): 79-82.
17. Jason Yen-Ping Ho M-JC., Yu-Chiao Yi., Hwa-Fen Guu., and Esther Shih-Chu Ho. The Effect of Preincubation Period of Oocytes on Nuclear Maturity, Fertilization Rate, Embryo Quality, and Pregnancy Outcome in IVF and ICSI. J Assist Reprod and Genetics. 2003; 20: 358-64.
18. Scott L. Pronuclear scoring as a predictor of embryo development. RBM Online. 2003; 6: 201–14.
19. Edson Borges Jr., Bianca Ferrarini Zanetti, Daniela Paes de Almeida Ferreira Braga, Amanda Souza Setti, Rita de Cássia Sávio Figueira, Aguinaldo César Nardi ve diğerleri. Overcoming male factor infertility with intracytoplasmic sperm injection. Rev Assoc Med Bras. 2017; 63: 697-703.
20. Van Hoogenhuijze N. E., Torrance H. L., Mol F., Laven J. S. E., Scheenjes E., Traas MAF et al. Endometrial scratching in women with implantation failure after a first IVF/ICSI cycle; does it lead to a higher live birth rate? The SCRaTCH study: a randomized controlled trial (NTR 5342). BMC Womens Health. 2017; 17(1): 47.

21. Luiz F M Pfeifer., M, MS; Augusto Schneider, MV; Marcio N Corrêa, MV, PhD. Factors that affect the in vitro production of bovine embryos: A review. Rev Colomb Cienc Pecu. 2008; 21: 109-20.
22. R. Shalgı JS., and N. S. Kosower. Dynamics of the Thiol Status of Rat Spermatozoa during Maturation: Analysis with the Fluorescent Labeling Agent Monobromobimane. Bio Reprod. 1989; 40: 1037-45.
23. Korkmaz C. Yardımcı üreme tekniklerinde (ıvf,ıcsı) farklı hücre kültürleri ile elde edilen insan embriyolarının blastomer fragmantasyonlarının azaltılması açısından incelenmesi: Doktora tezi. Gülhane Askeri Tıp Akademisi; 2002.
24. Vicdan K., ve Işık A.Z. İn Vitro Fertilizasyon Ve Mikromanipülasyon Uygulamalarında Laboratuvar. Ankara: Çağdaş Medikal Yayın Dağıtım; 1999; 52-83.
25. Delilbaşı L. İn vitro Fertilizasyon (Ivf) Laboratuvar Yöntemleri Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri; 3. baskı. 2007;62-9.
26. Medicine ASIR, Embryology ESIG. Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. Reprod Biomed Online. 2011; 22(6): 632-46.
27. Fu J., Wang XJ., Wang YW., Sun J., Gemzell-Danielsson K., Sun XX. The influence of early cleavage on embryo developmental potential and IVF/ICSI outcome. J Assist Reprod Genet. 2009; 26(8): 437-41.
28. Salumets A. Early cleavage predicts the viability of human embryos in elective single embryo transfer procedures. Human Reproduction. 2003; 18(4):821-5.
29. Iwata K., Yumoto K., Sugishima M., Mizoguchi C., Kai Y., Iba Y., et al. Analysis of compaction initiation in human embryos by using time-lapse cinematography. J Assist Reprod Genet. 2014; 31(4): 421-6.
30. Gardner DK SW., Wagley L., Schlenker T., Stevens J., Hesla J. A prospective randomized trial of blastocyst culture and transfer in in-vitro fertilization. Hum Reprod. 1988; 13: 3434-40.
31. Balaban B., Yakin K., Urman B. Randomized comparison of two different blastocyst grading systems. Fertil Steril. 2006; 85(3): 559-63.

32. Gianaroli L., Magli MC., Ferraretti AP., Fortini D., Grieco N. Pronuclear morphology and chromosomal abnormalities as scoring criteria for embryo selection. Fertil Steril. 2003; 80(2): 341-9.

33. M.J.Pelinck MDV., M.Dekens, J.Van der Elst,, M.Dhont PDSa. Embryos cultured in vitro with multinucleated blastomeres have poor implantation potential in human in-vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod. 1998; 13: 960-3.
34. Isaac Kligman CB., Mina Alikani and Santiago Munne. The presence of multinucleated blastomeres in human embryos is correlated with chromosomal abnormalities. Hum Reprod. 1996; 11: 1492-8.
35. Jennifer Ambroggio, M.D., M.S., Paul R. Gindoff, M.D., Molina B. Dayal, M.D., M.P.H., Reem Khaldi, M.S., Doug Peak, B.S., David Frankfurter, M.D., and Anil K. Dubey, Ph.D. Multinucleation of a sibling blastomere on day 2 suggests unsuitability for embryo transfer in IVF–preimplantation genetic screening cycles. Fertil Steril. 2011; 96: 856-9.
36. Jesus Aguilar PD., Irene Rubio., Elkin Munoz., Antonio Pellicer., and Meseguer, M. Study of nucleation status in the second cell cycle of human embryo and its impact on implantation rate. Fertil Steril. 2016; 106: 291-9.
37. Meseguer M., Herrero J., Tejera A., Hilligsoe KM., Ramsing NB., Remohi J. The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. Hum Reprod. 2011; 26(10): 2658-71.
38. Tamás Somfaı Yı, Yoshio Aıkawa, Masaki Ohtake, Shuji Kobayashı, Kazuyuki Konıshı, Kei Imaı. Relationship between the length of cell cycles, cleavage pattern and developmental competence in bovine embryos generated by ın vitro fertilization or parthenogenesis. J Reprod Development. 2010; 56(2): 200-7.
39. Tao J., Tamis R., Fink K., Williams B., Nelson-White T., Craig R. The neglected morula/compact stage embryo transfer. Hum Reprod. June 2002; 17(6): 1513–8.
40. Nina Desai PD, H.C.L.D., Jeffrey M. Goldberg, M.D., Cynthia Austin, M.D., and Tommaso Falcone, M.D. Are cleavage anomalies,multinucleation, or specific cellcycle kinetics observed withtime-lapse imaging predictive ofembryo developmental capacityor ploidy? Fertil Steril. 2018; 109: 665-74.

41. Ergin EG., Çalişkan E., Yalçinkaya E., Öztel Z., Çökelez K., Özay A., et al. Frequency of embryo multinucleation detected by time-lapse system and its impact on pregnancy outcome. Fertil Steril. 2014; 102(4): 1029-33.
42. Meseguer M., Rubio I., Cruz M., Basile N., Marcos J., Requena A. Embryo incubation and selection in a time-lapse monitoring system improves pregnancy outcome compared with a standard incubator: a retrospective cohort study. Fertil Steril. 2012; 98(6): 1481-89.
43. Yakin K., Balaban B., Urman B. Impact of the presence of one or more multinucleated blastomeres on the developmental potential of the embryo to the blastocyst stage. Fertil Steril. 2005; 83(1):243-5.
44. Hnida C. Computer-controlled, multilevel, morphometric analysis of blastomere size as biomarker of fragmentation and multinuclearity in human embryos. Hum Reprod. 2004; 19(2): 288-93.
45. Jackson KV., Ginsburg ES., Hornstein MD., Rein MS., Clarke RN. Multinucleation in normally fertilized embryos is associated with an accelerated ovulation induction response and lower implantation and pregnancy rates in in vitro fertilization-embryo transfer cycles. Fertil Steril. 1998; 70: 60-6.
46. De Vincentiis S., De Martino E., Buffone MG., Brugo-Olmedo S. Use of metaphase I oocytes matured in vitro is associated with embryo multinucleation. Fertil Steril. 2013; 99: 414-21.
47. Alpha Scientists in Reproductive M, Embryology ESIGO. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. Hum Reprod. 2011; 26(6): 1270-83.

Sayı: EKK/2017/84 **22/09/2017**
Konu: Elif Ergin ÇAVUŞOĞLU: YL tez çalışması

T.C. MALTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

İlgi: 11647525-302.08.01-53 sayılı 28.08.2017 tarihli yazınız.

İlgi yazınız ekinde sunulan Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı, Klinik Embriyoloji Programı Tezli Yüksek Lisans öğrencilerinden Elif Ergin ÇAVUŞOĞLU tarafından gönderilen "İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu Uygulanan İnterfil Vakaların Tam Zamanlı İzleme Sisteminde (time lapse) Multinükleuslu Blastomer İçeren Embriyolarının Blostokist Aşamasına Ulaşma Oranlarının Retrospektif Olarak İncelenmesi" konulu tez önerisi ve ölçekleri 22/09/2017 tarihinde incelenerek T.C. Maltepe Üniversitesi Etik Kurulu Yönergesinin 6. maddesinde yazılı; **"bilimsel disipline bağlılık, yaşama saygı, zarar vermeme, olası zarar ve riskler konusunda tüm ilgilileri bilgilendirme, insan ve topluma sorumluluk"** gibi ilkelere uygun olduğuna; yayına temel oluşturan araştırmanın tasarım, planlama ve yürütülme aşamalarında katkıda bulunanlara yer verilmesi, eksiksiz ve doğru kaynak gösterilmesi, gereken biçim ve doğrulukta atıflarda bulunulması kaydıyla yapılmasının etik olarak 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