YARDIMCI ÜREME TEKNİKLERİ İLE EMBRİYO ELDE EDİLEN 40 YAŞ VE ALTI VE 40 YAŞ ÜSTÜ İNFERTİL KADINLARDA MULTİNÜKLEASYON ORANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Yağmur Çevik
181503106
Orcid: 0000-0002-4831-8937

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı
Klinik Embriyoloji Yüksek Lisans Programı
Danışman: Prof. Dr. Mehmet Cıncık

İstanbul
T.C. Maltepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü
Eylül, 2021



JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Bu belge, Yükseköğretim Kurulu tarafından 19.01.2021 tarihli "*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*" ile bildirilen 6689 Sayılı Kişisel Verilerin Korunması Kanunu kapsamında gizlenmiştir.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYUM BEYANI

Bu belge, Yükseköğretim Kurulu tarafından 19.01.2021 tarihli "*Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge*" ile bildirilen 6689 Sayılı Kişisel Verilerin Korunması Kanunu kapsamında gizlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitim ve öğretim döneminde bana kattığı bilgi ve becerilerin yanı sıra, tez çalışmamda elindeki tüm imkânları bana sunan, yol gösteren ve yardımcı olan tez hocam saygıdeğer bilim insanı Prof.Dr. Mehmet Cıncık hocama içtenlikle teşekkürlerimi sunarım.

Eğitim hayatım boyunca bana her daim destek olan, inanan, güvenen eşim Gürler Çevik, babam Hamdullah Fidan, kardeşim Gülyaprak İnce ve yeğenim Muhammed Ali İnce' ye teşekkür ederim.

Yağmur Çevik

Eylül, 2021

ÖZ

YARDIMCI ÜREME TEKNİKLERİ İLE EMBRİYO ELDE EDİLEN 40 YAŞ ALTI VE ÜSTÜ İNFERTİL KADINLARDA MULTİNÜKLEASYON ORANLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Yağmur Çevik
Yüksek Lisans Tezi
Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı
Klinik Embriyoloji Yüksek Lisans Programı
Danışman: Prof. Dr. Mehmet Cıncık
Maltepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, 2020

Yardımcı Üreme Tekniklerinde Embriyo kültürü sürecinde mitotik aktivitenin sürdüğü 2-6 hücreli klivaj döneminde az da olsa blastomerlerde anormal bir mitotik aktivite olarak multinukleasyon (>1 çekirdek) görülebilmektedir. Hastanın transfer edilecek başka embriyosunun olmadığı durumlarda bunların transferi tartışma konusudur. Bunun kadın yaşı ile ilişkisi henüz aydınlatılmaya muhtaçtır.

Bu retrospektif çalışmada 40 yaş ve altındaki ve 40 yaşın üstündeki infertil kadınların yardımcı üreme teknikleri ile elde edilen embriyolarında multinükleasyon oranlarının farklılık gösterip göstermediğini ve bunun gebelik ve canlı doğum oranına etkisini karşılaştırdık.

Çalışmamıza 2013-2018 yılları arasında Acıbadem Altunizade Hastanesi tüp bebek merkezine başvuran, yardımcı üreme teknikleri uygulanmış, time lapse cihazında takip edilen 615 infertil hasta retrospektif olarak incelenmiş ve embriyolarında klivaj döneminde multinükleasyon araştırılmıştır. Araştırmaya katılan kadın hastaların yaşları 19-48 arasındadır. Kadın hastaların 484'ü 40 yaş ve altı, 131'i ise 40 yaşın üzerindedir. Hastaların boyları 130-188 cm uzunluktadır. Kadın hastaların kiloları ise 43-137 arasındadır. Hastaların vücut kütle indeksi (VKİ) değeri 23,4040±4,49153'tür. İnfertilite süresi ortalamaları 4,36'dır. Hastaların 255'i sigara kullanmamakta, 300'ü bir günde 1 paketten az sigara içmekte, 60'ı ise günde bir paketten fazla sigara içmektedir. Hastaların gebelik sonuçları:

Beta HcG POZİTİFLİĞİ 458/615 olup %74,4; klinik gebelik oranı ise 387/615 olup % 62,9 dur, canlı doğum oranı 290/615 olup %47,1'dir. (387 Klinik gebelik+ 185 kimyasal gebelik, 44 abortus, 7 ektopik gebelik)

Araştırma dâhilindeki kadın hastaların, klivaj dönemindeki embriyolarında multinükleasyon oranları ve yaşları arasındaki ilişkinin tespit edilmesine çalışıldı. 40 yaş ve altı hastaların multinükleasyon oranları %5,50 40 yaş üstü hastalarda %2,60 olarak tespit edilmiş olup anlamlı istatistiksel fark bulunmuştur. (p: 0.000)

Anahtar Sözcükler: İnterfilite, Yardımcı Üreme Teknikleri, Multinükleasyon, Embriyo, Gebelik, Canlı Doğum.

ABSTRACT

COMPARISON OF MULTINUCLEATED EMBRYO RATES IN INFERTILE WOMEN UNDER AND OVER 40 YEARS WHICH APPLIED ASSISTED REPRODUCTIVE TECHNIQUES

Yağmur Çevik
Master Thesis
Department of Clinical Embryology
Clinical Embryology Programme
Thesis Advisor: Prof. Dr. Mehmet Cıncık
Maltepe University İnstutue of Graduated Education 2021

Multinucleation (>1 nucleus) as an abnormal mitotic activity in blastomeres can be seen in the cleavage period of 2-6 cells in which mitotic activity continues during the enbryo culture process in Assisted Reproductin Techniques. in cases where the patient does not have other emryos to be transfered, their transfer is a matter of debate. The relationship of this with the age of women still needs to be clarified.

In our study, 615 infertile patients who were admitted to Acıbadem Altunizade Hospital IVF center between the years of 2013-2018, were applied assisted reproductive techniques, followed up with a time lapse device, and had multinucleation in their embryos during the cleavage period were retrospectively analyzed. The ages of the female patients participating in the study are between 19-48. 484 of the female patients were 40 years old and younger, and 131 were 40 years old above. The height of the patients is 130-188 cm. The weight of female patients is between 43-137. The body mass index (BMI) value of the patients is 23.4040 ± 4.49153. The mean duration of infertility of the patients is 4.36. 255 of the patients do not smoke, 300 of them smoke less than 1 pack in a day, and 60 of them smoke more than one pack per day. Pregnancy outcomes of patients:

Beta HcG POSITIVITY:458 (%74,4);clinical pregnancy 387(%62,9); live birth 290(%47,1)

(387 Clinical pregnancies + 185 chemical pregnancies,44 abortions, 7 ectopic pregnancies).

The relationship between the multinucleation rates and ages of the female patients included in the study was tried to be determined. The multinucleation rate of patients under and the age of 40 was found to be 5,50 %, 2,60 % in patients aged >40 years, and a significant statistical difference was found.(p:0.000)

Keywords: Infertility, Assisted Reproduction Techniques, Multinucleation, Embryo, Pregnancy, Live Birth.

İÇİNDEKİLER

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI ii
ETİK İLKE VE KURALLARA UYUM BEYANI iii
TEŞEKKÜR iv
İÇİNDEKİLER ix
TABLOLAR LİSTESİ xi
ŞEKİLLER LİSTESİ xii
KISALTMALAR xiii
ÖZGEÇMİŞ xiv
BÖLÜM 1. GİRİŞ 1
1.1. Problem 1
1.2. Amaç 2
1.3. Önem 2
1.4. Sınırlıklar 3
1.5. Tanımlar 3
BÖLÜM 2. GENEL BİLGİLER 5
2.1. İnfertilite 5
2.1.1. İnfertilitenin Tanımı 5
2.1.2. İnfertilite Nedenleri 6
2.1.2.1. Erkek İnfertilitesi 7
2.1.2.2. Kadın İnfertilitesi 9
2.1.2.3. Açıklanamayan İnfertilite 13
2.1.3. İnfertilite Tanısı 14
2.1.3.1. Ovulasyonun Değerlendirilmesi 15
2.1.3.2. Sperm Analizleri 15
2.1.3.3. Ürolojik Değerlendirme 16
2.1.3.4. Genetik İnceleme 16
2.2. Yardımcı Üreme Teknikleri 17
2.2.1. Ovülasyon İndüksiyon ve Aşılama (IUI) 17
2.2.2. Konvansiyonel İn Vitro Fertilizasyon (IVF) 17
2.2.3. İnrasitoplazmik Sperm Enjekiyonu (ICSI) 19
2.2.4. Sperm Hazırlama 20
2.2.5. Embriyo Kültürü 21
2.2.6. Fertilizasyon 22
2.3. Embriyoner Gelişim 25
2.3.1. Pronükleus Evresinde Embriyo 25
2.3.2. Bölünme Evresi 26
2.3.3. Embriyo Multinukleasyonu 27
2.3.4. Blastokist Evresine Gelişim 30
2.4. Erken Dönem Gebelikte Kullanılan Biyolojik Belirteçler 32

2.4.1. Gebelik Markerı olarak Hcg Hormonu 33
BÖLÜM 3. YÖNTEM 36
3.1. Araştırma Modeli 36
3.2. Evren ve Örneklem 36
3.3. Veriler ve Toplanması 37
3.4. Verilerin Çözümlenmesi ve Yorumlanması 37
BÖLÜM 4. BULGULAR VE YORUMLAR 38
4.1. Araştırmanın Hipotezine İlişkin Bulgular 40
BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ 46
KAYNAKÇA 48

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1. Erkek Fertilite Kriterleri 7
Tablo 2. 1297 Hastanın Toplanan Oosit Sayısı, Metefaz 2 Oosit Sayısı, Transfer Edilen Embriyo Sayısı, Transfer Edilen G1 Embriyo Sayısı ve PN Değerleri Açısından Dağılımları 38
Tablo 3. Hastaların Yaş Ortalaması 38
Tablo 4. Hastaların Yaş Grupları Açısından Dağılımları 39
Tablo 5. Hastaların Boyları, Kiloları ve VKİ Değerleri Açısından Dağılımları 39
Tablo 6. Hastaların Gebelik Oranları Açısından Dağılımları 39
Tablo 7. Hastaların Klinik Gebelik, Düşük ve Canlı Doğum Oranları Açısından 40
Tablo 8. Hastaların Toplanan Oosit Sayısı, Metefaz Oosit Sayısı, Transfer Edilen Embriyo Sayısı, Transfer Edilen G1 Embriyo Sayısı ve PN Değerlerinin Yaşları Arasındaki İlişki 40
Tablo 9. Hastaların Vücut Kitle İndeksi, İnfertilite Süresi, Sigara Kullanma Durumları, E2 Değerleri ve Progesteron Seviyesinin Yaşları Arasındaki İlişki 42
Tablo 10. Hastaların Canlı Doğum Sonuçları, Gebelik Oranları ve Düşük Oranlarının Yaşları Arasındaki İlişki 43
Tablo 11. Hastaların Mültinükleasyon Oranlarının Yaşları Arasındaki İlişki 45

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Konvansiyonel IVF 18
Şekil 2. IVF Embriyoları (Prof.Dr Mehmet Cıncık;2018) 19
Şekil 3. İntrositoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) 21
Şekil 4. A-Multinukleasyonlu ICSI Embriyoları B-Tek nukleuslu normal ICSI Embriyoları 29
Şekil 5 . Blastokist örnekleri..... 31
Şekil 6. Morfokinetik embriyo skorlamasında kullanılan zamanlama parametreleri t2, t3, t4, t5, cc2 = t3-t2 ve s2=t4-t3 (M Meseguer Human Reprod 2011). 32
Şekil 7. Sinsityotrofoblast hücreleri (Can, 2015) 34

KISALTMALAR

AHA	: Assisted Hatching (Yardımla Yuvalama)
AIDS	: Acquired Immunodeficiency Syndrome (Kazanılmış Bağışıklık Yetmezliği Sendromu)
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
FSH	: Follikül Stimülan Hormon
HCG	: Human Chorionic Gonadotrophin
HSG	: Histerosalpingografi
ICSI	: İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (Mikroenjeksiyon)
IUI	: İntrauterin İnseminasyon
IVF	: İn Vitro Fertilizasyon
LH	: Lüteinleştirici Hormon
ml	: Mililitre
NPB	: Nucleolar Precursor Body (Çekirdekçik Öncül Cisimciği)
PN	: Pronükleus
PZD	: Parsiyel Zona Disseksiyonu
RNA	: Ribonükleik Asit
rRNA	: Ribozomal Ribonükleik Asit
SUZI	: Subzonal İnseminasyon
vd	: Ve diğerleri
YÜT	: Yardımcı Üreme Teknikleri
β-hCG	: β - Human Chorionic Gonadotrophin

ÖZGEÇMİŞ

Yağmur Çevik

Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı

Eğitim	**Yıl Üniversite, Enstitü, Anabilim Dalı Derece**
Y.Ls	2019 Maltepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı
Ls..	2006 İnönü Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi Ebelik Bölümü
Lise	2001 Malatya Lisesi

BÖLÜM 1. GİRİŞ

1.1. Problem

Günümüzde infertilite nedeniyle her altı kişiden biri çocuk sahibi olamadıkları için yardımcı üreme tedavi merkezlerine başvurmaktadır. İnfertilitede kadına ait nedenler yaklaşık %35'ini, erkeklere ait nedenler %35'ini oluşturmaktadır ve vakaların yaklaşık %30'unda hem erkek hem de kadına ait faktörler yer almaktadır. Kadın infertilitesinde, vakaların yaklaşık %30 ila %40'ı ovulatuar disfonksiyonu içerir ve %30 ila %40'ı tubal ve pelvik patolojiyi içerir ve olguların %30'u diğer açıklanamayan nedenlere bağlıdır.

Hastanın anamnezini sorguladığımızda düzenli adet gören, adet miktarı ve süresi sabit olan, premenstruel semptomların eşlik ettiği kadınların genelde normal ovule oldukları izlenir. Hastaların ayrıntılı olarak ovaryan rezerv testleri ile değerlendirilmesi gerekmektedir.

Doğal yollardan başarılı bir gebelik elde edemeyen çiftlerin çocuk sahibi olabilmeleri için yapılan her türlü ileri teknikler Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT) olarak anılmaktadır. Hem kadın hem de erkek kaynaklı infertilite olgularında yardımcı üreme tekniklerine başvurulabilmektedir. YÜT'nin temelleri 1978'e kadar dayanmaktadır. Dünyada ilk defa 1978 yılında İngiltere'de tüp bebek tedavisi sonucu bir bebek doğmuştur. Bu tarihten günümüze kadar ise aşağıda sözü edilen daha birçok yeni teknik uygulamaya girmiştir:

İntrauterin İnseminasyon (IUI) işleminde daha önceden hazırlanan spermler uterusa bir kateter yardımıyla enjekte edilmektedir. IUI diğer yardımcı üreme tekniklerine göre daha ucuzdur ve daha kolay bir şekilde uygulanabilmektedir. İn vitro fertilizasyon (IVF) uygulamasında öncelikle kontrollü ovaryan stimülasyon işlemiyle kadının overlerindeki foliküller uyarılmalıdır. Stimülasyon sonrası foliküller belli boyutlara ulaştırılıp aspire edilmekte ve aspire edilen foliküllerden oositler toplanmaktadır. Teknolojideki gelişmelerle birlikte embriyolar laboratuvarda daha uzun süre kültüre edilebilmektedir Bu yöntemde gebelik şansını arttırmak ve implantasyon oranlarını yükseltmek için embriyo blastosist evresinde transfer edilmektedir. İnfertil çiftte eğer erkeğin ejekulatında sperm yok yada tamamı hareketsizse cerrahi olarak sperm elde etme yöntemlerine başvurulmaktadır. Kriyoprezervasyon işleminde hücre veya dokular -196

derecelere kadar soğutulmaktadır. Dondurma işleminde hücreler veya dokuların bütün biyolojik aktiviteleri durmaktadır. Böylece fonksiyon kaybı olmadan gelecekte kullanılmak üzere saklanmakta ve çözülerek yapılan embriyo transferlerinde başarılı gebelik ve canlı doğum oranlarına ulaşılabilmektedir.

Erken dönem gebelikte gebeliğin prognozunu tayin etmede görevli bazı biyolojik belirteçler kullanılmaktadır. Progesteron, estradiol, relaksin, gebeliğe özgü beta-1 glikoprotein, inhibin gibi hormon tetkikleriyle gebeliğin olumlu ya da olumsuz sonuçlanacağına dair tahminler yapılabilir Aksini iddia eden çalışmalar mevcut olsa da gebeliğin sonucunu tahmin etmeye olanak tanıyan en önemli ve en yaygın biyolojik belirteç insan koryonik gonadotropin hormonudur. Embriyo transferinden sonra 12 gün gibi kısa bir süre içinde ß-hCG'nin farklı gebelik günlerinde aldığı değerler gebeliğin gününün tahmin edilebilmesini sağlayarak onu diğer tüm belirteçlerden daha kullanışlı ve daha önemli bir belirteç yapmaktadır.

Embriyo kültürü sürecinde mitotik aktivitenin sürdüğü klivaj döneminde az da olsa blastomerlerde anormal bir mitotik aktivite olarak multinukleasyon (> 1 çekirdek) görülebilmektedir.Bu retrospektif çalışmada 40 yaş ve altındaki ve 40 yaşın üstündeki infertil kadınların yardımcı üreme teknikleri ile elde edilen embriyolarında multinükleasyon oranlarının farklılık gösterip göstermediğini ve bunun gebelik ile canlı doğuma etkisini karşılaştırmak temel hipotezimiz olmuştur.

1.2. Amaç

Çalışmanın amacı 40 yaş ve altındaki ve 40 yaşın üstündeki infertil kadınların yardımcı üreme teknikleri kapsamında multinükleasyon oranlarının belirlenmesi ve karşılaştırılması, bunun gebelik ile canlı doğum oranlarına etkisinin ortaya çıkarılmasıdır. Dolayısıyla yaş ile multinukleasyon ilişkisinin irdelenmesi çalışmamızın özgünlüğünü sağlamaktadır.

1.3. Önem

İnfertil çiftlerin çocuk sahibi olabilmek amacıyla başvurdukları modern ve geleneksel yöntemleri uygulamak ve gebelik ile canlı doğum oranlarını etkileyen faktörleri değerlendirmede, yaş büyük önem teşkil etmektedir. 40 yaş ve altındaki ve 40

yaşın üstündeki infertil kadınların yardımcı üreme teknikleri kapsamında multinükleasyon oranlarının belirlenmesi çocuk sahibi olmak isteyen kadınlara yol gösterici olacaktır.

İnfertilitede yaş büyük önem arz etmektedir ve 35 yaş üzerindeki kadınlarda hastanın transfer edilebilecek başka embriyosu olmadığı hallerde multinükleasyonlu embriyolar ile gerçekleşen transferlerde doğum olmadığına dair raporlar bildirilmiştir. (Zeynep Kamil Tıp Bülteni,2014) Bu nedenle çalışmamızda multinükleasyon oranlarının yaş ile olan korelasyonunun araştırılması ve belirlenen iki yaş aralığının karşılaştırılması amaçlanmaktadır.

Çalışmamız ile infertil kadınlarda multinükleasyon oranlarının araştırılması, dolayısıyla embriyo kalitesiyle ilgili verilerin eldesi ve in-vitro fertilizasyon sonuçları 3 and Prevention (CDC) 2013 yılı raporunda (NCHS Data Brief No:136, December 2013)verdiği bilgiye göre; kırk yaşına gelen kadınlarda, gebelik ve canlı doğum oranları sırasıyla % 25 ve % 17'ye düştüğü gösterilmiştir. Bu nedenle 40 yaşından küçük kadınlarda multinükleasyon oranlarının 40 yaşından büyük kadınlara göre daha az olduğu varsayılmıştır.

1.4. Sınırlıklar

Yardımcı üreme teknikleri uygulanan infertil kadınlarda multinükleasyon oranlarının yaş grupları dikkate alınarak karşılaştırmalı ve çok ölçütlü analizi temeline dayanan bu çalışma için hasta potansiyeli açısından her geçen gün gelişmekte olan İstanbul ili seçilmiştir. Dolayısıyla, problem hiyerarşisinde yer alan alternatif sayısı 1 il ve 1 hastane ile sınırlandırılmıştır. Ayrıca çalışmanın retrospektif olması, hasta grubunun sistemde kayıtlı, daha önce tedavi görmüş hastalardan seçilmesini gerektirmektedir. >40 yaş kadınlarda oosit sayılarının rezerve bağlı olarak daha az olması bu grupta embriyo sayılarını sınırlandırmıştır.

1.5. Tanımlar

Oosit: Üremede görev alan dişi gametosit ya da germ hücresidir.

İnfertilite; koruyucu bir yöntem uygulamadan, düzenli bir cinsel yaşama rağmen, bir yıl süreyle gebelik oluşmaması infertilite olarak kabul edilir.

2 pn fertilizasyon: Sağlıklı bir biçimde döllenmenin gerçekleştiğini gösteren iki çekirdekli “2 pronucleus veya 2 PN” prezigottur.

Zigot: Bir anneden bir de babadan gelen iki tane eşey hücresinin birleşmesi ile oluşan diploit hücredir.

İn vitro fertilizasyon: Vücut dışında dölleme

Blastomer: Fertilizasyon sonucunda meydana gelen zigot art arda mitoz bölünmeler geçirmektedir. Her mitoz bölünmeyle oluşan hücrelere blastomer adı verilmektedir.

Multinukleasyon: Bir blastomer birden fazla interfaz nukleus içeriyor ise bu multinuklear blastomer olarak adlandırılır.

Gebelik oranı: Embriyo transferi yapılan hasta başına elde edilen gebeliktir.

Canlı Doğum Oranı: Embriyo transferi yapılan hasta başına elde edilen canlı doğumdur

Klivaj: Hücre bölünmesi, yumurtanın döllenmesi ve blastula safhası arasında gerçekleşmekte olan mitotik aktivitedir.

Retrospektif analiz: Geçmişe yönelik arşiv verilerinin analizi.

İmplantasyon:5-12. Günler arasında Embriyonun uterusa gömülmesidir.

Kriyoprezervasyon: Hücrelerin dondurularak sıvı azot ya da buharında saklanması.

BÖLÜM 2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnfertilite

2.1.1. İnfertilitenin Tanımı

Bireylerin koruyucu bir yönteme başvurmaması ve cinsel hayatlarının düzenli olmasına karşın bir yıl içerisinde gebeliğin oluşmamış olması infertilite olarak tanımlanmaktadır (Who, 1991; Mosher ve Pratt, 1993).

Daha önce gebe kalınmış ise doğum gerçekleşsin ya da gerçekleşmesin yalnızca bir kez gebeliğin oluştuğu durumlarda sekonder infertilite, asla gebelik oluşmamış ise primer infertilite olarak adlandırılmaktadır.

Üreme çağına gelmiş olan kadınların %8-10'unu ilgilendirmekte olan infertilite, kişisel sorunlara, aile içi sorunlara sebep olan sıklığı ve sebepleri bölgeden bölgeye değişen bir sorun olarak görülmektedir (Who, 1991; Yıldırım, 1992; Domar vd. 2000). İnfertilitenin bir üreme sağlığı problemi olarak son yirmi yıl içinde çok fazla ilgi gördüğü bilinmektedir. DSÖ'nün tahminlerine göre dünyada tahminen 60-80 milyon arasında değişen bir oranda infertil çift bulunmaktadır (Who, 1991).

Tedavi merkezlerine çocuk sahibi olabilmek adına başvuruda bulunan çiftlerde, infertilite tanısının koyulması ve bu duruma neden olan faktörlerin saptanması, yapılan saptamanın ardından bu doğrultuda bir tedavi planının belirlenmesi birbirleri ile bir bütünlük oluşturmaktadır. Daha önce tedavisi gerçekleştirilemeyen birçok interfil çift, günümüzde in vitro fertilizasyon ve embriyo gelişimi tekniklerinin gelişmesi ile birlikte çocuk sahibi olabilmektedir (Sundby ve Schei, 1996; Healy vd., 1994).

2.1.2. İnfertilite Nedenleri

Üreme fonksiyonunu vajen, tuba uterinalar, serviks, overler ve uterusta meydana gelen fonksiyonel bozukluklar ile anatomik bozukluklar etkilemektedir. Erkeklerde ise bu duruma testis, vaz deferans, üretra, seminifer tübülüsler ve epipidimde meydana gelen sperm yapımını bozan problemler sebep olmaktadır (Mosher, 1995; Sundby, 1989).

İnfertilite yalnızca kadına veya yalnızca erkeğe ait olan sebeplerden dolayı ortaya

çıkabildiği gibi hem kadına hem de erkeğe ait olan sebeplerden dolayı da ortaya çıkabilmektedir. İnfertilite vakalarının %30-35'i erkeğe, %40-45'i kadına ait, geri kalanı ise her iki eşten kaynaklı bir nedenden oluşabildiği belirtilmektedir (Sundby, 1989; Simon, 1993).

Toplumlarda büyük oranlarda primer infertilite oranının hâkim olduğu görülmektedir. Bu durumun başlıca sebepleri şunlardır (Simon, 1993; Glazener vd. 1990):

Bir çift infertilite problemi yaşamıyorsa her bir ovulatuar siklus başına gebelik şansı %15 civarı bir orana sahiptir. Kontrasepsiyondan faydalanmayan çiftlerin ilk üç ay içinde %50-55, 6 ayda %70-75, bir yıl içinde %90 ve iki yıl sonunda ise %95'i gebe kalabilmektedir. %7-15 civarındaki vakalarda ise gebe kalma süresi açıklanamayan sebeplerle daha geç gerçekleşmekte ya da gebelik durumu hiç oluşmamaktadır (Dieter, 1993; Deaton vd., 1993).

Fertilite için gereken koşullardan bazıları şunlardır:

Erkeklerde;

Testislerin seminifer tübüllerinde normal kalitede ve normal kantitede sperm üretilmesi gerekmektedir. Üreme sistemlerinde herhangi bir tıkanıklık bulunmamalıdır. Atılmış olan spermlerin kadın vücudunda bulunan servikse ulaşabilecek şekilde epididimiste depolanması gerekmektedir.

Kadınlarda;

Spermlerin yaşayabilmesi için servikal mukusun uygun olması.üreme sistemlerinde bir enfeksiyon oluşmaması ya da tıkanıklık olmaması, anatomik olarak uterusun normal olması, ovulasyonun mevcut olması gerekmektedir. Diyabet, kronik anemi, troid veya aşırı şişmanlık gibi over fonksiyonlarına etki edecek herhangi bir sistematik hastalığın bulunması da fertiliteyi etkileyebilmektedir.

2.1.2.1. Erkek İnfertilitesi

Dünya Sağlık Örgütü'nün yayınladığı kriterlere göre bir erkeğin fertil sayılabilmesi için kriterler şöyle belirlenmiştir ;(WHO,2010)

Tablo 1. Erkek Fertilite Kriterleri

	2010
Volume (ml)	1,5 ve üstü
Count (10000/ml)	15 ve üstü
Total Count (10000)	39 ve üstü
Motility (%)	40 ve üstü
Progressive (%)	% 32 ve üstü
Vitality (%)	58 ve üstü
Morphology (%)	4 ve üstü
Leukocytes (100000)	1.0

- Oligoasthenozoospermi: Sperm hareketlerindeki yavaşlık ve sayısındaki azlıktır.

- Azoospermi: Sperm hücresinin seminal mayide görülmemesi durumudur.

- Sperm hücrelerinde mevcut şekil bozukluğu, (morfoloji bozukluğu)

İnfertilitede %20 ve 40 oranı arasında etki eden önemli faktörün ise erkek infertilitesi olduğu bilinmektedir (Speroff ve Fritz, 2005). Kadın üzerinde birtakım tanısal testler öncesinde erkekler üzerinde araştırmaların tamamlanması gerekmektedir. Fizik muayene, genetik testler, endokrin testler, sperm analizi ve hikâye erkek faktörünün değerlendirilmesinde kullanılan yöntemlerdir.

İnfertilitenin en sık rastlanan nedenlerinden biri de yeterli cinsel ilişkide bulunulmamasıdır. Çünkü ovulasyon döneminde cinsel ilişkide bulunmak hamilelik olasılığını artırmaktadır. Kadın vücudunda bir spermin 72 saat, ovumunda da 24 saat yaşamakta olduğu göz önünde bulundurulduğunda 28 günlük siklusta bir kadının hamile kalma olasılığı siklusun ortasına denk gelen 3 gün olarak düşünülmektedir.

Bazen seminal sıvıda spermin zarar görmesine sebep olacak antikorlar da bulunabilmektedir. Ameliyatlar, enfeksiyonlar ya da geçirilmiş olan bir travma sonrası bu duruma sebep olabilmektedir.

Öncelikle 15 gün ara olacak şekilde uygun bir biçimde alınacak olan iki sperm analizi doğrultusunda erkek faktörün değerlendirilmesine başlanmaktadır. 4 ile 6 günlük bir cinsel perhiz ardından standart sperm analizi yapılmaktadır.

Kromozomal anomaliler, kistik fibrozis gen mutasyonu, Y kromozomu mikrodelesyonları azospermi ile ciddi oligosperminin de ötesinde etkilenmekte olan çiftlerin çocukları da bu durumdan etkilenebilmektedir. Dolayısıyla böyle bir durumda mutlaka genetik danışmanlık verilmesi gerekmektedir. Konjenital bilateral vas deferans yok ise *"kistik fibrozis transmembran iletim regülator gen (CFTR geni) mutasyon taraması"*nın da yapılması gerekmektedir.

Ciddi anlamda oligospermisi olanlarda genetik değerlendirme ve endokrin değerlendirmenin yapılması gerekmektedir. Sperm üretimi ve spermlerin taşınmasında etkili olan genetik anomaliler infertiliteye neden olmaktadır (Mahmood, Brierley, Faed, Mills & Delhanty, 2000).

İdiopatik subfertilitesi bulunan erkek hastalarda sperm parametrelerinin veya fertilitenin düzeltilebileceği kanıtlanmış olan güvenilir herhangi bir medikal tedavi bulunmamaktadır (Speroff ve Fritz, 2005). IUI ile birlikte hafif semen anormallikleri bulunan hastalarda başarıya ulaşılırken, ciddi semen anormallikleri bulunan hastalarda ise ICSI yöntemi ile başarıya ulaşılabilmektedir.

2.1.2.2. Kadın İnfertilitesi

· %40-45 Kadına bağlı sebepler arasında %25-35 anovulasyon, %20 tüpler ile ilgili problemler, %5 endometriozis, %20 nedeni açıklanamayan infertilite,%20 polikistik over ve ileri yaş sebebiyle olan ovaryen rezerv azlığı sayılabilir.

· Myomlar, fallop tüplerindeki tıkanıklıklar, uterin anomaliler, tubal zedelenme, blokaj, paratubal adezyonlar, ovulasyon bozuklukları en sık rastlanan sebeplerdir. (Glazener vd., 1990; Thonneu, 1993).

Oosit Azalması

Yaşın ilerlemesi ile beraber infertilitede görülen azalma genellikle oosit sayısındaki azalmaya bağlı gibi kendini göstermektedir. Donasyonun serbest olduğu ülkelerde, Genç kadınlardan oosit alınarak oluşturulmuş olan embriyolar yaşlı kadınlara verildiğinde, bu kadınların gebelik oranlarının genç kadınların oranlarına yaklaştığı görülmektedir (Toner vd., 1991; Navot vd., 1994). Aynı zamanda 50 yaşına kadar gebelik oranları sabit kalmaktadır (Dieter, 1993). Bu sonuçlar, yaşın artması sonucu infertilitede görülen azalmanın, rezervin düşmesi ve endometriumdaki yaşlanmadan ziyade oositlerde gerçekleşen yaşlılığa dolayısıyla oosit kalitesindeki bozulmaya bağlı olduğunu ileri sürmektedir (Saver vd., 1992).

Spontan Abortus

Spontan düşük riskinin artması doğurganlığın ilerlediği dönemlerde fekunditedeki azalma sebeplerinden biridir. Klinik açıdan spontan düşüğe tanı konulabilmekte ve bu düşüğün oranı 20 ve 40 yaşları arasında iki kat artmaktadır. Gebelik kaybında görülen söz konusu bu artış, gebelik oranının düşmesi ile 40 yaşından büyük kadınlarda yapılacak olan canlı doğumun da oranını önemli derece azaltmaktadır (Walburton, 1987). Daha nadir görülen tekrarlayan (reccurent) veya habituel düşüklerde de kromozom anomalileri ve servikal yetmezlikler suçlanmaktadır.

Tubal Faktör

Açık ve sağlıklı fallop kanallarının bulunması gebelik için gereken bir hususdur. Çok hassas bir yapıya sahip olan fallop tüplerinde meydana gelebilecek bir bozulma, yumurtanın taşınmasını ve bu sebeple döllenmeyi engelleyebilmektedir. Overlere yakın olan uç etkilendiğinde yumurtanın yakalanarak tüp içerisine alınmasında bir bozukluk olabilmektedir. Ancak bu hususta rastlanan en önemli durum tüpün komple tıkanık olmasıdır.

Tüpte görülen tıkanıklık hem genital yollarla tüpe ulaşabilecek bir enfeksiyondan hem de kanın gelebilecek diğer enfeksiyonlardan kaynaklanabilmektedir. Bununla birlikte hasta dış gebelik yaşamışsa, bu gebelik sonucu tüplerden birini ya da ikisini kaybedebilmektedir. Tubal infertilitenin, bütün infertilite sebepleri arasında önemli payı vardır.

Laparoskopi esnasında kanallarda hasar, tıkanıklık veya yapışıklık gibi sorunlar tespit edilebilmektedir. Sorunların hafif olduğu durumlarda mikrocerrahiden faydalanılabilmektedir. Ancak kanallar aşırıcı derecede hasarlı ise in vitro fertilizasyon sayesinde gebelik şansı yakalanabilmektedir.

Ovulatuvar Faktör

Ovulasyon hakkında önemli ipuçları veren kadının menstural düzenidir. Anormal ovulasyon veya düzensiz ovulasyon infertil kadınların %25'inde saptanmaktadır. Ovulasyonun olup olmadığının saptanabilmesi için kullanılan en basit ve en ucuz yöntem bazal vücut ısısının takip edilmesidir. Ovulasyondan sonra salgılanmakta olan progesteron hormonu, mensturasyondan 12 ile 16 gün önce uterusun içini döllenen yumurtanın tutunması için hazır bir hale getirmektedir (Thompson vd., 1993).

Beklenen mensturasyonun 1 ile 3 gün öncesinde uterusun içinden alınacak olan biyopsilerle ovulasyonun gerçekleşip gerçekleşmediği tespit edilebilmektedir. Bu biyopsiler ile prosgesteron hormonunun yeterince salgılanıp salgılanmadığı da incelenebilmektedir. Fakat bu durum yerini günümüzde ovulasyonun olup olmadığını gösteren kandan progesteron hormonu düzeyinin ölçülmesine bırakmıştır (Meldrum, 1993).

Gerçekleştirilen ultrasonografik takipler ile 28 günde bir mensturasyonu gerçekleşen kadınlara 19 ve 24. günler arasında yapılmakta olan progesteron düzeylerinin ölçülmesi ovulasyonun olup olmadığının tespit edilmesine yardımcı olmaktadır (Thompson vd., 1993; Meldrum, 1993).

Servikal Faktör

İnfertiliteye sebep olan durumlardan biri serviksin içinde bulunduğu durumdur.

Ovulasyon döneminde serviks salgısı yalnızca spermlerin serbestçe geçişine izin vermektedir. Diğer zamanların tümünde serviks salgısının sahip olduğu yapı ve bu salgının kıvamı hormonal uyarılara bağlı sebepler dolayısıyla spermin serbest geçişine izin vermemektedir. Bu salgı içinde zaman içerisinde bazı kadınlarda sperme karşı antikorlar oluşmaktadır. Bu sebeple kadınların ovulasyon zamanında olmasına rağmen spermlerin kanaldan geçerek uterusa ulaşması mümkün olmayabilmektedir. Antikorlar, sperm hücresine karşı bağışıklık sisteminin

geliştirmiş olduğu maddelerdir. Geliştirilen bu maddeler, sperm hücre fonksiyonlarının bozulmasına sebep olmaktadır (Griffith ve Grimes, 1990).

Bu durumun belirlenmesinde post-koital test istenebilmektedir. Bu test ile serviksteki mukus, sperm ve bunların birbirleriyle olan ilişkileri incelenmektedir. Mukustaki hareketli sperm sayısının az olması sorun, spermlerin üretiminde, mukus yapısı, vajinal ortam veya immünolojik faktörlerde olabilmektedir. Bunların tespit edilebilmesi için incelemeler planlanarak ağrısız ve birkaç dakikalık yöntemlerle tespiti sağlanabilmektedir.

Uterin Faktör

Uterusta bebeğin yerleşecek olduğu alanın yapısının değişmesi de görülen sorunlardan birini oluşturmaktadır. Uterusun içini, fallop kanallarını inceleyebilmek için histerosalpingografi yöntemi kullanılmaktadır. Bu yöntem mensturasyon bitiminin sonrasında ovulasyon gerçekleşmeden uygulanması gereken bir yöntemdir. Serviksten verilmekte olan özel bir sıvı ile uterusun içi doldurularak kanallara doğru ilerlerken çekilecek filmlerle normal olmayan sapmalar saptanır. Bu durum infertil kadınlarda genellikle %5 oranında görülmektedir (Thonneu, 1993; Griffith ve Grimes, 1990).

Bu yöntem histereskopi yöntemi ile de uygulanabilmektedir.

Peritoneal Faktör

Periton, karın duvarları ile karın içinde bulunan organların örtüldüğü zar tarzında bir dokudur. Bu dokuda oluşacak hasarlar, iç organ enfeksiyonlarına, adezyonlara ve endometriyozise neden olabilmektedir (Mosher ve Pratt, 1991).

Adezyonlar yumurtaların kanallara ulaşmasını veya kanal içinden uterusa olan ilerlemeyi engellemektedir. Bu konuda değerlendirme yapılabilmesi ve tedavi uygulanabilmesi için laparoskopik girişimler kullanılmaktadır. Üreme çağına gelen kadınlarda endometriyozis ile sıkça karşılaşılmaktadır. Endemetrium dokusunun uterus kavitesinin dışında bulunması endometriyozis olarak adlandırılmaktadır. Mensturasyon esnasında endometrium dokusunda da gerçekleşecek olan kanamalar

sebebi ile şiddetli ağrılar görülmektedir. Aynı zamanda bu kanama hasara sebep olmakta cinsel temas esnasında ya da farklı zamanlarda kasık ağrıları şeklinde kendini gösterebilmektedir. Overlerde bu durum koyu kahverengi renkte, çikolata kisti olarak adlandırılan kist oluşumlarına da sebep olmaktadır. Bu kistlere koter veya lazer yöntemiyle tedavi uygulamak ya da kistleri laparoskopik cerrahi ile çıkarabilmek mümkündür.

Hafif durumlarda bu kistler ilaç tedavisi ile de ortadan kaldırılabilmektedir. Bu tedavi yöntemleri ile hastalık gelişiminin durması sağlanabilmekte ya da hastalık geriletilebilmektedir. Ancak gebelik oluşmayabilmektedir. Böyle durumlarda gebelik şansı in vitro fertilizasyonla sağlanabilmektedir (Thonneu, 1993; Mosher ve Pratt, 1991).

Yaş

Kadınlarda yaş ilerledikçe fekundite düşmektedir. Fekundabilitede gerçekleşen bu düşüş genellikle 30 yaşlarında başlamakta, özellikle 35 yaşlarında ise hızlanmaktadır. İnfertilite oranı yaşları 35-44 arasında olan çiftlerde %30 oranında seyretmektedir (Mosher ve Pratt, 1993; Wood vd., 1992; Menken vd., 1996).

İnseminasyon yapılan kadınlarda infertilite oranı üzerine Fransa'da yapılan bir çalışmada kadınlarda infertilite oranının azalma gösterdiği yaş, 30 yaş sonrası olarak tespit edilmiştir. Bir yıl boyunca devam eden inseminasyon sonrası 30 yaş ve altı kadınlarda gebelik oranı %74, 30-35 yaş aralığındaki kadınlarda %62, 35 yaş ve üzeri kadınlarda ise %54 olarak ifade edilmiştir (Scwartz ve Mayaux, 1982). ABD'de yapılmış olan *"Ulusal Aile Büyümesi Çalışması"* sonrasında ortaya konan verilerde de yaş ile infertilitenin azalma gösterdiği görülmüş, yaşa bağlı olarak fekundabilitedeki azalma oranının sabit olduğu gözlenmiştir (Chandra ve Mosher, 1994).

2.1.2.3. Açıklanamayan İnfertilite

Kimi çiftlerde problemin ortaya konulması adına yapılan araştırmalarda mevut yöntemlerin kullanılması sonucu problemin sebebi aydınlatılamamış, nedeni

atlanmış olabilmektedir. Dolayısıyla yapılan tetkiklere göre bu tanımlama göreceli bir terim olarak karşımıza çıkmış ve pratikte kullanılmakta olan testlerin normal olduğu çiftler için kullanılmıştır (Glazener vd., 1990; Deaton vd., 1993; Mackenna vd., 1992).

%5-10 civarındaki interfil çiftlerin genellikle yapılan tüm testleri normaldir. Yalnızca çiftlerin %5'inde minör problemlere rastlanmaktadır. Dolayısıyla üremeye destek olan ilaçlar ile intrauterin inseminasyon (IUI) uygulaması yapılabilmektedir. Eğer 3-6 siklusta gebelik elde edilmezse bu tedavi çiftlere uygulanabilmekte, in vitro fertilizasyon tedavilerine ise geçiş yapabilecekleri önerilmektedir (Deaton vd., 1993).

Irka ve etnik kökene dayalı olarak infertilite prevelansında değişiklikler görülebilmektedir. Bu tedavi için başvuruda bulunan kadınların genellikle çoğu sosyoekonomik yönden yüksek düzeyde olan kadınlardır. Ancak infertilite oranı ise en çok sosyo- ekonomik yönden düşük gruplarda gözlemlenmiştir. Bunun sebebi olarak ise sosyo-ekonomik düzeyi yüksek olan gruplarda insanların tedaviye dair daha donanımlı bilgilere sahip olması ve tedaviden yararlanma olanaklarının daha yüksek olmasıdır (Mackenna vd., 1992).

2.1.3. İnfertilite Tanısı

Bir yıl boyunca düzenli bir cinsel ilişkinin yaşanmasına karşın gebeliğin meydana gelmediği çiftlerde bu durumun herhangi bir problemden kaynaklanıp kaynaklanmadığının tespit edilmesi için incelenmesi gerekmektedir.

İnfertil çiftlere yardımda bulunulabilmesi için öncelikle infertilitenin neden kaynaklandığının saptanması gerekmektedir. Bunun için ilk olarak infertiliteye neden olan kaynağın belirlenebilmesi için hikâyenin öğrenilmesi gerekmektedir.

Radyasyon ve ağır metal zehirlenmesinin infertiliteyi etkilediği bilinmektedir. Bu sebeple eşlerin çalışmış olduğu ortam ve çevre koşullarının öğrenilmesi oldukça önemli bir konudur. Diyabet, tiroid ve buna benzer endokrin hastalıklar da ovulasyonu durdurabilmektedir. Kronik alkolizm ile nikotin

intoksikasyonu da sperm yapımını bozmakla birlikte seksüel yetersizliğe de sebep olabilmektedir.

İnfetilite tanısının konabilmesi için erkeklerde sprem analizi ve fiziksel muayene yapılırken kadınlarda ise jinekolojik muayene, ultrasonografik inceleme, smear testi, hormon tahlili ve histerosalpingografi gibi tetkikler yapılmaktadır.

Görüşmenin ardından genel fizik muayenesi ile genito üriner ve pelvik muayene yapılmakta, bu muayene sonrası konjenital anomali, pelvik patoloji, anormal uterus pozisyonu ile vajinal akıntı değerlendirilmektedir (Taşkın, 2000).

Transvajinal ultrasonografi ile uterus ve overlerin ne durumda olduğu gözlenmektedir. Uterusta polip veya myom gibi patolojilerin varlığı, overlerde kistik gelişim olup olmadığı ya da overlerin yerleşimi bu yöntemle tespit edilebilmektedir (Taşkın, 2000).

Histerosalpingografi ile fallop tüplerinin ne durumda olduğu, doğuştan veya sonradan uterus dokusunda oluşmuş olan ve gebeliğin önüne geçen bir bozukluğun olup olmadığı tespit edilmektedir.

2.1.3.1. Ovulasyonun Değerlendirilmesi

Bazal vücut ısısı tekniği ya da ultrasonografik takip ovulasyon dönemlerinin saptanabilmesi için kullanılan yöntemlerdir. Gerektiğinde ovulasyon, endometrial biyopsiyle de tespit edilebilmektedir. 28 günlük bir siklusun 26. gününde endometrial biyopsi alınarak endometriumda sekretuvar faz saptanabilmektedir. Biyopsiye göre doku sekretuar fazla uyum sağlayamamış görünüyorsa ovulasyonun gerçekleşmediği düşünülmektedir (Toner vd., 1991; Navot vd., 1994).

2.1.3.2. Sperm Analizleri

İnfertilite sorununun yaşandığı çiftlerde genellikle ilk önce basit ancak çok önemli olan bir seminal sıvı analiz yöntemi gerçekleştirilmektedir.

Sperm sayımı için bu değerlendirilmenin yapılması infertilitenin

Değerlendirilmesi için gerekli olan ilk işlem basamağıdır. Erkeklerin 3-5 gün cinsel perhiz sonrası örnek vermesi gerekmektedir. Örneğin alınmasının ardından seminal sıvı çalışmasının iki saat içinde gerçekleştirilmesi uygundur.

Dünya Sağlık Örgütü'nün 2010 kriterlerine göre; Ejekülatın her bir mililitresinde 15 milyondan fazla sperm bulunması, progressif hareketliliğin>%32 ve bu yoksa motilitenin>%40 olması ve Kruger Strict Kriterlerine göre morfolojinin en az >%4 normalinin olması gerekmektedir. Bu kriterleri karşılamayan erkekler interfil olarak kabul edilmektedir.(WHO Manuel 2010)

2.1.3.3. Ürolojik Değerlendirme

İnfertil olguların genellikle 1/3'ünde erkeklerle ilgili bir sorun mevcut olmakta ve bunun sebepleri olarak şunlar öne sürülmektedir: Cinsel fonksiyon bozuklukları, hormonal nedenler, varikosel, radyasyon tedavisi, kemoterapi, virütik hastalıklar, genetik nedenler (Taşkın, 2000).

Bireylerin büyük bir bölümünde ise herhangi bir nedene tespit edilememektedir. Dolayısıyla infertiliteden şikayetçi olan çiftlerde erkeklerin bir ürolog ile görüşmesi önerilmektedir (Taşkın, 2000).

Testislerden örnekler alınarak sperm hücresi ve patolojik açıdan değerlendirilme yapılması da tanıda kullanılmakta olan diğer yöntemlerden biridir.

2.1.3.4. Genetik İnceleme

Erkeklerde azorospermi (sperm sayısının büyük oranda düşük olması veya hiç olmaması) genetik bozukluklar ile beraber olabilmektedir. Kromozomlarda var olan farklı yapısal veya sayısal değişikliklerle birlikte özellikle Y kromozomunda var olan bazı değişiklikler (Y koromozom mikrodelesyonları) infertilite şikâyeti olan erkeklerde %15 arasında bir sıklıkla gözlenmektedir. Bu durumun değerlendirilmesi infertilitenin sebebinin meydana çıkarılması ve tedavi sonrasında gebeliğin ortaya çıkması durumunda doğacak olan bebeğe aktarılması ihtimalinin ortaya konması açısından oldukça önemli kabul edilmektedir (Taşkın, 2000).

2.2. Yardımcı Üreme Teknikleri

2.2.1. Ovülasyon İndüksiyon ve Aşılama (IUI)

Erkeklerde rastlanan spermatozoon motilite, konsantrasyon ya da morfoloji bozukluklarında, seksüel veya ejekülatuar disfonksiyonlarda, penil anatomik defektlerde, sperm aglütinasyonu, anti-spermantikorları veya retrograd ejekülasyon gibi nedenlere dayalı olarak infertilite tanısının konduğu çiftlere bu işlem (IUI) uygulanmaktadır. Kadınlarda gözlenen ovulasyon bozukluklarının, servikal veya tubal problemlerinin olduğu durumlarda IUI işlemlerinin uygulanması gerekmektedir. Aynı zamanda kadınlarda koitusun önüne geçebilecek anatomik veya psikolojik nedene dayalı bir problem durumunda IUI işleminin uygulanması gerekmektedir (Vicdan ve Isık, 1999; Bras vd., 1996; Gardner vd., 2004).

2.2.2. Konvansiyonel İn Vitro Fertilizasyon (IVF)

İn Vitro Fertilizasyon, spermatozoon ile oositin kültür kabında birleştirilerek uygun bir laboratuvar ortamında spermatozoonların oositi döllemesini temel alan bir yöntemdir (Carr ve Blackwell, 1998). Bugün bu yöntem yerini mikroenjeksiyon işlemine bırakmıştır. Ancak bu yöntemin mikroenjeksiyon yöntemine nazaran uygulamasının daha basit ve ucuz olması, oosite uygulanmakta olan mikromanüplasyonun da daha az olması, spermatozoonun hiçbir müdahaleye uğramadan oosite penetre olması sebebiyle daha avantajlı olduğu kabul edilmektedir. Yeteri kadar spermatozoonun olduğu durumlarda IVF yönteminin anovulasyon, açıklanamayan subfertilite ve tubal faktörler dışında da kullanıldığı görülmektedir (Trounson, 1982). Klasik IVF'de fertilizasyon oranının düşmesine sperm parametrelerinin düşük olması ve normal morfolojinin %4 altına düşmesi neden olmaktadır (Kruger, vd., 1988). Bu sebebe dayanarak oosit ve spermatozoon ilişkisinin daha kolay olmasını sağlayacak yöntemlere başvurulmaktadır. Bu yöntemler arasında hyalüronidaz ve oositin etrafındaki kümülüs/korona hücrelerinin uzaklaştırılması yer almaktadır (Mahadevan ve Trounson, 1985). Klasik IVF'de erkek subfertilitesinin yeteri kadar kaliteli embriyo elde edilmesinin önüne geçmesi, fertilizasyon oranının düşmesine sebep olması daha etkin mikromanüplasyon tekniklerinin geliştirilmesine neden olmuştur. Bunlar:

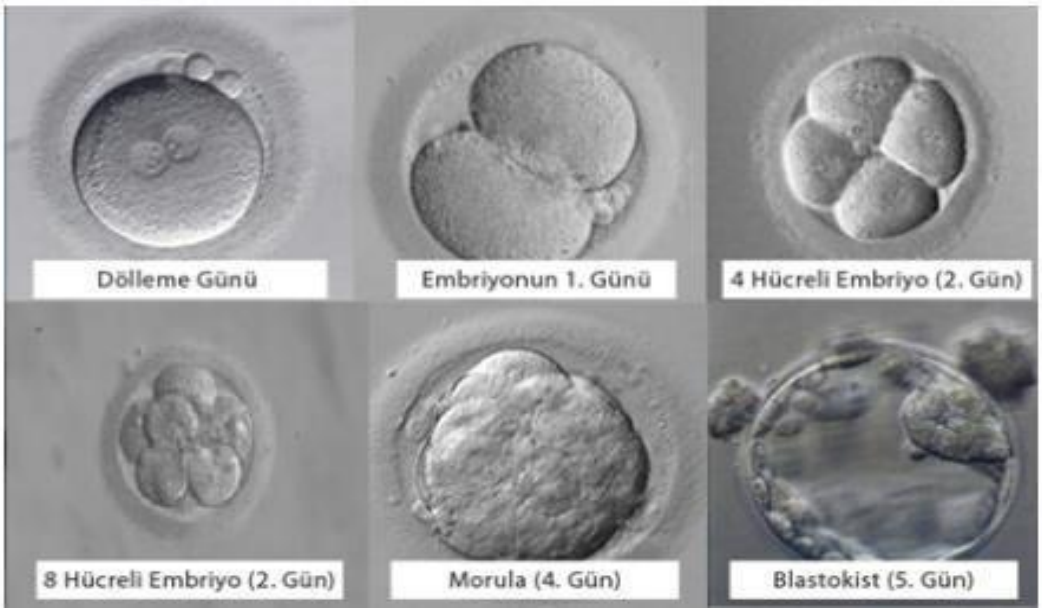
İntra Sitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI): ICSI, Subzonal sprm injeksiyon (SUZI) uygulamalarının yapıldığı esnada yalnızca bir spermatoozonun, oosit sitoplazmasına bırakılması ile bulunan IVF teknikleri arasındadır (Palermo vd., 1992; Ng SC vd., 1990).

Geliştirilmiş olan manipülasyon yöntemlerinden biri de yardımla yuvalama (Assisted Hatching-AHA) olarak bilinmektedir (Liu vd., 1993). Bu yöntem kimyasal yöntemler, mekanik yöntemler veya lazer yönteminden yararlanılarak zona pellüsidanın eritilmesi ya da delinmesi işlemidir. İşlemin genellikle tekrarlamakta olan implantasyon başarısızlıklarında, zonası kalın olan hastalar ile ileri yaştaki kadınlar bazı seçilmiş hasta subgruplarında gebelik oranını göreceli arttırdığına dair raporlar vardır.(Steven ve., 2003).

Çoğul gebeliklerin engellenebilmesi için, embriyo gelişiminin değerlendirilmesi ve gebeliğin gerçekleşmesini sağlayacak en güzel embriyonunun seçilmesi gerekmektedir (Gardner vd., 2004).



Şekil 1. Konvansiyonel IVF



Şekil 2. IVF Embriyoları (Prof.Dr Mehmet Cıncık;2018)

2.2.3. İnrasitoplazmik Sperm Enjekiyonu (ICSI)

ICSI; yalnızca bir spermatozoonun, özel bir pipet aracılığı ile zona pellusida ile oolemmayı geçmesiyle direkt oosit sitoplazmasına bırakılmasıdır. ICSI, erkekten kaynaklanmakta olan infertilite tedavisi için en çok kullanılan bir mikromanipülasyon tekniği olarak görülmektedir. İnfertilite tanısı olan bir çiftin 5 milyon /mililitreden az spermatozoon konsantrasyonunun olması (Van Steirteghem vd., 1993), %5'ten düşük spermatozoon motilitesine sahip olması, Kruger'in kesin kriterlerine göre de normal morfolojisinin %4'ün altında olması kesin ICSI endikasyonu olarak kabul görmektedir. (Kruger vd., 1986). Ejekülatta spermatozoon bulunmadığı durumlarda, cerrahi yöntem aracılığı ile epididimal veya testiküler olarak spermatozoon oluşturulması gerekmekte ise ICSI yöntemi kullanılmalıdır (Plachot vd., 2002; Pinhero vd., 1999; Zollner vd., 2001). IVF yönteminin kullanıldığı fakat bir sonuca ulaşılamadığı durumlarda da ICSI yönteminden yararlanılmaktadır. Bununla beraber oosit sayısındaki düşüklük ve ileri yaştaki kadınlarda yada çok sayıda başarısız IVF denemesi olanlarda, birçok embriyoloji laboratuvarında da tercihen ICSI yöntemi daha sık uygulanmaktadır (Gardner vd., 2004).

Birden çok oositin elde edilebilmesi için *"ovaryen hiperstimülasyonu/ ovulasyon indüksiyonu"* adı verilen işlemler ile ovaryumlar birtakım ilaçlar vasıtasıyla uyarılmaktadır. Hastanın yaşı, oosit rezervi, daha önce uygulanan tedavileri, FSH düzeyi göz önünde bulundurularak özel bir indüksiyon uygulanmaktadır. Ovaryumlardaki foliküllerin yeterince büyümesi ve östrojen miktarının istenen düzeye gelmesi ile hastaya hCG enjekte edilmektedir. Bu işlemden 36 saat sonra ise vajinal yolla ultrasonografi ile oositler toplanmaktadır. Bu süreçten sonra soyma işlemi olarak adlandırılan bir işlem ile etrafında kümülüs ve granüloza bulunan hücrelerinden ayrıştırılan oositlerin olgun halde olanları, gün içinde erkekten alınmış olan semenin hazırlanması ile elde edilmiş olan spermatozoon hücreleri ile birleştirilmekte ve ICSI işlemi gerçekleştirilmektedir (Gardner vd., 2004).

2.2.4. Sperm Hazırlama

En yüksek kaliteye sahip spermatozoonu elde etmek semen yıkama işleminin en önemli amacını oluşturmaktadır. Semen yıkama işlemleri *"Density Gradient"* ya da *"Swim Up"* yöntemleridir. Swim up yöntemi ile semen örneği gazlı inkübatörde dengelenen kültür medyumu ile beraber santrifüj işleminden geçirilmektedir.

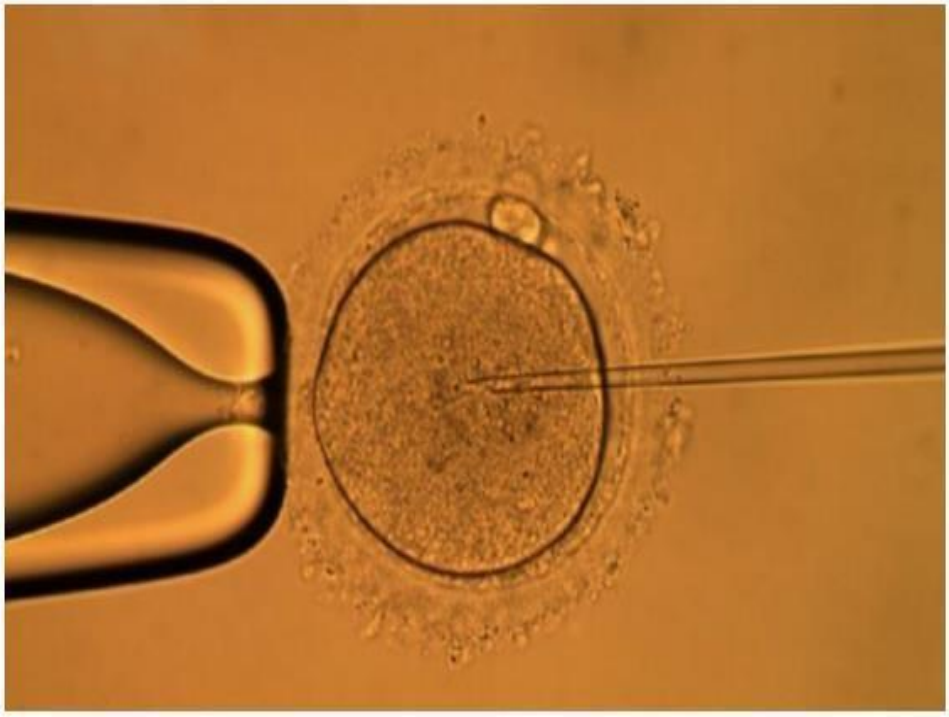
Pellet üstüne konan kültür medyumuyla 1saat 45°'lik bir açı ve 37° C'lik gazlı inkübatörde bekletilmektedir. Bu sürecin ardından en yüksek kalitedeki spermatozoonların yüzmesi sağlanmış olmaktadır. Density gradient yönteminde ise yoğunlukları farklı iki solüsyon tabakasına likefiye olmuş semen bırakılmakta belirli bir hız ve zaman sonra santrifüj edilerek hareketli olan yüksek kalitedeki spermatozoonlar süzülüp dibe çökertilmektedir. Dibe çökmüş olan bu spermatozoonlar toplanıp iki kere daha uygun bir yıkama solüsyonuyla santrifüj edilerek yıkanmaktadır. Böylelikle ICSI işlemi için kullanılmak üzere yüksek kalitede ve iyi spermatozoonlar elde edilmektedir (WHO Laboratory, 1999). Morfolojik olarak en iyi ve hareketli spermatozoonlar seçilmekte enjeksiyon pipeti aracılığıyla alınmakta ve sabitlenmiş olan oositin sitoplazmasına bırakılmaktadır.

2.2.5. Embriyo Kültürü

Bu işlemin ardından yaklaşık olarak 16-18 saat sonra, biri erkeğe biri dişiye ait olan pronükleusun görülmesi ile birlikte belirlenmiş olan fertilizasyon kontrol edilmektedir. İki pronükleusu görülmekte olan oosit *"zigot"* olarak adlandırılmaktadır.

Enjeksiyon uygulamasının ardından 24 saat sonra ilk bölünmesini gerçekleştiren zigot, iki blastomerli embriyo haline gelmektedir.

İn vitro ortamda uygun gaz, sıcaklık ve nem oranına sahip olan inkübatörlerde kültüre edilerek, fertilizasyon ve bölünmeleri takip altına alınmaktadır. 48. saat sonunda embriyolar ikinci kere bölünerek dört blastomerli bir hale gelmektedir. Üçüncü gün sekiz blastomere ulaşan embriyolar, dördüncü günde blastomerlerin sayılamayacağı komptakt bir görünüme sahip olmaktadır. Beşinci günde ise embriyolar blastosist evresine ulaşmaktadır (Trounson ve Gardner, 1993).



Şekil 3. İntrositoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI)

2.2.6. Fertilizasyon

Erkek ve dişi gametlerin birleşmesini ve spermiumun oosit içerisine girerek aktivasyonunu sağlayan ve birbirini düzenli bir sıra ile takip eden karmaşık moleküler olaylar sürecidir. (Acosta 1994)

Fertilizasyon, spermatozoon ile oositin, nükleus ile sitoplazmik komponentlerinin katılımı aracılığı ile yeni birey ortaya çıkarılmasıdır (Delilbaşı, 2007). Fertilizasyon tuba uterinanın ampulla bölgesinde gerçekleşmektedir. Bu durum spermatoozoon ile oositin temasıyla başlayarak, oosit aktivasyonu ile devam etmektedir. Bu süreç sonunda ise iki hücreli embriyo oluşumu sağlanmaktadır (Gardner vd., 2004). Oositin fertilize olabilmesi için birinci mayoz bölünmeyi tamamlaması, birinci kutup cisimciğini atması, akrozom reaksiyonunu ve spermatozoonun kapasitasyonunu tamamlaması gerekmektedir. Üç ana aşamada gerçekleşen fertilizasyonun aşamaları şu şekildedir:

1. “Oosite spermatozoonun bağlanması
2. Gametlerin füzyonu ve oosit aktivasyonu
3. Spermatozoon nükleusunun dekondensasyonu ve pronükleusların oluşması” (Longo, 1997).

Dişi genital yollarında kapasitasyonunu tamamlayan spermatozoonun, zona pellusidaya iç akrozomal membran ve zona pellusidanın ZP2 tabakasındaki proteinlerle bağlandığı gösterilmiştir (Longo, 1997; Wassarman, 1993). Spermatozoonda bulunan akrozomal enzimler olan akrozin, esteraz, nöraminidaz enzimleri ile zona eritilerek oosite giriş sağlanır. Spermatozoon başı fagositoz benzeri bir mekanizmayla yatay olarak ooplazmaya girer (Trounson ve Gardner, 1993). Perivitellin aralığa geçtikten sonra gerçekleşen gamet membranlarının birleşmesi ile ilgili olarak kesinliği kanıtlanmamış bazı modeller vardır. Gametlerin füzyonu genel olarak her iki hücrenin plazma membranlarının önce dış, sonra iç tabakalarının birleşmesiyle gerçekleşir. Bu noktaya fertilizasyon ya da birleşme konisi adı verilir. Bu yapı oosit sitoplazmasının, spermatozoon nükleusu, mitokondri ve aksonemal kompleksini çevreleyen bölgeye doğru hareket etmesiyle

spermatozoon giriş noktasında bir şişlik meydana gelmesiyle oluşur (Delibaşı, 2007; Zimmerberg, 1998; Monck ve Fernandez, 1992).

Spermatozoon girişinden sonra oosit sitoplazmasında oosit aktivasyonu denen birtakım yapısal ve biyokimyasal değişiklikler gözlenir. Bunlar kortikal granüllerin salınması, membranda bulunan ATPaz'ın aktivasyonu, mayozun devam edip, 2. polar cisimciğin atılmasıyla erkek ve dişi pronükleusların oluşması ile sonuçlanan olaylardır (Gardner vd., 2004). Oosit içine giren spermatozoonun oosit aktivasyonunu etkileme biçimi ile ilgili belirtilen görüşlerden biri; spermatozoondan oosite eriyebilen bir aktivasyon faktörünün geçtiği ya da spermatozoonda bulunan 2. bir reseptör yardımıyla aktivasyonun gerçekleştirildiğidir (Longo, 1997). Moser (1939) tarafından oosit aktivasyonunda etkin olan kortikal granüllerin salınımı için kalsiyumun gerekli olduğu gösterilmiştir (Moser, 1939). Aktivasyon sırasında hücre içi kalsiyum depoları harekete geçerek kalsiyum konsantrasyonunda geçici olarak artışa neden olur (Longo, 1997). Kortikal granüllerin ana içeriği proteazlar, mukopolisakkaritler, serin-proteaz aktivitesine sahip plazminojen aktivatörü, asit fosfataz ve peroksidaz enzimidir (Gardner vd., 2004). Kortikal granüllerin içeriklerini perivitellin alana boşaltmaları, plazmalemmanın kalınlaşarak sağlamlaşmasını ve polispermiye engel olunmasını sağlar (Tabakoğlu, 2001). Spermatozoonun oosite girişi ile oosit plazma membranında gerçekleşen elektriksel depolarizasyon da oositi polispermiye karşı koruyan en hızlı faktörlerdendir (Longo, 1973). Olgun fertilize olmamış oositte elektrik potansiyeli negatiftir. Oosit zarı polarizedir ve plazmalemmanın iç yüzü dış yüzüne göre negatiftir. Spermatozoon oosit plazmalemmasına değdikten hemen sonra, oositin elektrik yükü önce nötre, daha sonra ise pozitife değişmekte ve polarize olan zar depolarize hale gelmektedir. Kortikal granül salınımı elektriksel depolarizasyona göre daha yavaş ama daha kalıcı bir yöntemdir.

Mayozun metafaz evresinde bekleyen oosit, spermatozoon girişinden sonra mayoza devam eder ve ikinci polar cisimcik atılır. Zigottaki kromozomlar dağıldıkları sınırlar boyunca vesiküller oluşturacak Şekilde kümelenmeye başlarlar. Böylece kromozom içeren vesiküller oluşmaya başlar ve kromozomlar yapısal

olarak nükleer kılıfa benzeyen iki paralel membran ile çevrilirler. Daha sonra bu vesiküller birleşir ve 2. Polar cisimciğe yakın bir yerde dişi pronükleus oluşur (Longo, 1997, Holland vd., 1992).

Erkek pronükleusunun oluşması ise spermatozoon nükleer kılıfının bozulması, yoğunlaşmış kromatinin dağılması, nükleer kılıfın tekrar oluşması ile gerçekleşir. Erkek pronükleus oosit sitoplazmasının ortasında oluşmaya başlar. Pronükleus membranının şekillenmesinde endoplazmik retikulum görevlidir. Birinci kutup cisimciğine yakın yerde gelişen dişi pronükleus erkek pronükleusa yaklaşana kadar ilerler ve sonuçta pronükleuslar yan yana gelirler. Bu işlemde görev alan sentrioller spermatozoondan köken alarak mikrotübül olarak işlev yapmaktadır (Sathananthan vd., 1991; Schatten, 1984). Bu hareket inseminasyondan sonraki 20. saatte tamamlanır ve zigotun ortasında yan yana yerleşirler.

Fertilizasyon bittiğinde 2. mayoz tamamlanmış, zigotta normal diploid kromozom sayısı oluşmuş, crossing over gerçekleşmiş olur (Sathananthan vd., 1991; Moore ve Tvn

2002). İnsanda 24 saat süren pronükleer evrede hücre G1, S, G2 evrelerinden geçer. Pronükleuslar merkeze yerleştikten sonra, zarları erir ve ebeveynden gelen kromozomlar metafaz plağı üzerinde karşılaşıp asterlere doğru ilerler. Bu evrede zigot çekirdeği gözlenmez. Anne ve baba genomu ilk kez iki hücreli evrede tek bir çekirdek olarak gözlenir (Delilbaşı, 2007).

Ökaryot bir hücre ışık mikroskobunda incelendiği zaman çekirdek içinde en belirgin olarak gözlenen yapı çekirdekçiktir. Çekirdekçik ribozomal ribonükleik asit (rRna)'lerin işlendiği ve ribozom yapısına katıldığı yerdir. Diğer organellerden farklı olarak çekirdekçiğin etrafında zar yoktur. Bunun yerine rRna genlerini, öncül rRna' ları, olgun rRna'ları, rRna işleyen enzimleri, küçük nükleolar RNA (snornp)'ları, ribozomal protein altbirimlerini ve kısmen yapılanmış ribozomlar gibi makromolekülleri de içeren büyük topaklar halinde bulunur. Çekirdekçiğin oluşumunda rRna genlerinin önemli bir rolü vardır. İnsan diploid hücresinde 13, 14,

15, 21 ve 22. Kromozomların üzerinde büyük ribozom RNA"larını kodlayan genler bulunur. Çekirdekçik ribozom biyogenezinde görevli olmasının yanında, diğer RNA (ribo nükleik asit)'ların yapıldığı ve RNA protein karışımlarının bir araya geldiği yerdir. Telomeraz ve sinyal parçacıklarının da çekirdekçikte toplandığına inanılmaktadır. Protein sentezi için aminoasitleri taşıyan tRna'lar (transfer RNA) da burada işlenir. Bundan dolayı pronükleuslar çeşitli kodlanmayan RNA'ların işlendiği, proteinlerle bir araya gelerek ribonükleoprotein karışımlarının oluşturduğu bir fabrika olarak düşünülebilir (Alberts vd., 2002)

2.3. Embriyoner Gelişim

2.3.1. Pronükleus Evresinde Embriyo

Pronükleer değerlendirme embriyonun zigot dönemi değerlendirmesidir. Bu evrede değerlendirilen parametreler embriyo seçim kriterleri için önemlidir çünkü bu evrede gözlenen bazı morfolojik özelliklerin, ileri embriyo gelişimi ve embriyonun implantasyon potansiyeli ile ilgili önemli bilgiler sağladığı düşünülmektedir (Van Blerkom vd., 1990; Scott ve Smith, 1998; Tesarik ve Greco, 1999).

Pronükleer değerlendirme yapılırken pronükleusların (PN) pozisyon ve boyutu, nükleolar prekürsör cisimlerin (NPB) sayısı, Şekli ve dağılımı, PN'lerin polar cisimcikler ile yaptıkları açı ve sitoplazmik halo varlığı gibi parametreler değerlendirilmektedir.

Mikroenjeksiyon işleminden 16-18 saat sonra, dişi pronükleus ikinci polar cisimciğin yakınlarında oluşurken, erkek pronükleus oosit ortasında oluşmaya başlar. Dişi pronükleus erkek pronükleusa iyice yaklaşır. Ooplazmada gözlenen bu 2 pronükleus ile fertilizasyon işleminin gerçekleştiği anlaşılır.

Yapılan çalışmalar, zigotların normal olarak değerlendirilebilmeleri için her iki PN'in sitoplazmada merkezi pozisyonda, birbirine yakın ve eşit büyüklükte olması gerektiğini göstermiştir (Tesarik ve Greco, 1999). Sadowy ve diğerleri, pronükleer dismorfizm üzerine yaptıkları çalışmada, eşit olmayan pronükleus gözlenen zigotların çoğunda gelişim duraksaması ve artmış mozaisizm insidansı

belirlediklerini göstermişlerdir (Sadowy vd., 1998). Bazı çalışmalar, PN oluşumu sırasında meydana gelen hatalar ya da oluşum sırasındaki asenkronizasyonun, embriyo gelişimini olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir (Van Blerkom vd., 1990; Scott ve Smith, 1998; Tesarik ve Greco, 1999). Bununla birlikte PN morfolojisinde gözlenen bazı bozuklukların, embriyonun kromozomal yapısı ve anöploidi oranları ile ilgili olduğuna dair bulgular elde edilmiştir (Balaban vd., 2004; Sadowy vd., 1998; Kahraman vd., 2002; Coşkun vd., 2003).

2.3.2. Bölünme Evresi

Bölünme evresinin değerlendirilmesi implantasyon potansiyeli daha yüksek olan embriyoları seçebilmek için birçok laboratuvar tarafından farklı metotlar ile yapılmaktadır. Erken bölünmenin varlığı, bölünme hızı, blastomer boyutu, fragmantasyon oranı, blastomerlerin nükleer durumu, sitoplazmik görüntü, perivitellin alan ve zona pellusida özellikleri gibi morfolojik kriterler bölünme evresi değerlendirmesi esnasında incelenen parametrelerdir (Vicdan ve Isık, 1999; Gardner vd., 2004; Delibaşı, 2007).

Oosit, fertilizasyondan yaklaşık 25-27 saat sonra ilk mitotik bölünmesini gerçekleştirerek 2 hücreli bir embriyo haline gelmektedir. Embriyoların 5'te biri 25. Saatte 2 hücreli hale gelir. Erken bölünen embriyo (early cleaved embryo) olarak adlandırılan bu iki hücreli embriyo, 2 eliptik hücre ve blastomerlerin bölünme eksenlerinden geçen 2. Kutup cisimciği ile karakterizedir (Shoukir vd., 1997). Erken bölünen embriyoların daha yüksek gebelik ve implantasyon potansiyeline sahip olduklarını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Shoukir vd., 1997). Jin Fu ve diğerleri da yaptıkları çalışmada erken bölünen embriyoların bölünmeyenlere göre daha yüksek kalitede embriyo oluşturduklarını göstermiştir (Jing Fu vd., 2009).

Bölünme hızı embriyo canlılığını gösteren önemli bir unsurdur. Van Royen'e göre normal bir embriyo 2. Günde (42-44. Saat) 4-5 blastomer ve 3. Günde (66-68. Saat) en az 7 blastomere sahip olmalıdır (Van Royen vd., 1999). Shapiro'ya göre embriyoların normalden daha hızlı bir şekilde bölünmüş olması da hücre sikluslarının doğru çalışmamasından ya da hücrenin nükleusu olmayan fragmanlar

içermesinden kaynaklanabilir. Bu durum embriyolarda blastosist gelişimi ve implantasyon oranlarını düşürmektedir (Shapiro vd., 2000).

2.3.3. Embriyo Multinukleasyonu

Birden çok çekirdeğin bir blastosmerde bulunmuş olduğu kromozal anomali multinükleasyon olarak tanımlanmaktadır. Multinükleasyon ilk bölünmeden itibaren blastokist aşamasına kadar olan herhangi bir anda gerçekleşebilmektedir. Multinükleasyonlu blastomerin varlığı, istenmeyen IVF sonuçları ve kötü embriyo gelişimi ile ilişkilidir. Multinükleasyonlu blastomerin insidansının %15 ile %40 arasında değişmekte olduğu bilinmektedir. Embriyolarda gözlemlenen multinükleasyona orta ya da şiddetli fragmantasyonlar ile boyutları düzensiz olan blastomerler eşlik etmektedir.

MNC embriyoloji laboratuvarlarında sıklıkla rastlanan bir bulgudur. Hardy ve arkadaşları diğer çekirdek anomalilerini hesaba katmadan %17,5 oranında binukleasyon belirlemişlerdir. Daha sonra, Jackson ve arkadaşları üzerinde çalıştıkları bütün embriyolarda %31 MNC oranı ve her siklusta %74 oranında en az bir adet multinukleasyonlu embriyo oranı belirlemişlerdir. Van Royen ve arkadaşları bütün embriyoların %33,6 sında multinukleasyon bulunduğunu ve bütün siklusların %79,6 sında en az bir adet multinukleasyonlu embriyo bulunduğunu göstermişlerdir. (Cıncık M. 2012)(Botros Rızk, 2008)

Oosit immatüritesi embriyo multinüklasyon insidansını artırmaktadır. ICSI'de metafaz I oositlerinin kullanılması sonucu metafaz II oositlerine göre daha çok multinükleayon ile karşılaşılmaktadır. Multinükleasyonun gözlemlendiği embriyolarda implantasyon hızı, canlı doğum oranı, bölünme hızı ve klinik gebelik oranının daha az olduğu bilinmektedir. Multinükleasyonun gözlemlendiği embriyolarda artmış olan kromozom anormallik düzeyi ile anöploidinin bir ilgisi olduğu ve buna bağlı olarak spontan abortus riskinin de artış gösterdiği bilinmektedir. (In vitro fertilization and assisted reproduction, 2005)

Nükleusun fragmantasyonu, kromozomların bölünmesi esnasında on kez hatalı oluşan mekanizma ve karyokinezin sitokinez henüz gerçekleşmeden

gerçekleşmiş olması sonucu embriyo blastomerlerinde multinükleasyon oluşabilmektedir. Embriyo blastomerlerinde multinükleasyon görülmekteyse kromozomal anormallikler gösterebilmektedir. Bu sebeple bir transfer işleminin gerçekleşmesi istenmemektedir. Başka normal bölünen bir embriyo yoksa, yine de bir transfer söz konusu ise bu embriyoların ileri gelişimleri gözlenmekte ve bu aşamadan sonra gelişimlerini normal bir biçimde sürdürenler seçilmektedir. Ancak multinükleasyonun görüldüğü embriyolarda, fragmantasyon artmakta ve gebelik oranları azalmaktadır.

Multinuklueasyonu açıklamak için farklı mekanizmalar ileri sürülmüştür. Bu nukleer anormallik süre gelen karyokinezin bir sonucu olabilir ve bu fragmente çekirdekler apopitosize benzer hücre ölümünün bir şekli olabilir. Sonrasında bu fragmanların parçalanması ile aynı anda embriyonik hücre anormalliğinin bir diğer formu olan çekirdeksiz blastomer oluşumu izlenebilir. Bu tür anormal hücre davranışının neyi tetiklediği tartışmalıdır fakat kültür şartlarından daha ziyade kromozomal anormallikler, defektif hücre yüzey özellikleri, hücre bölünmesini tetikleyen moleküler kompanentlerin eksikliği olası sebeplerdir. Bunların tek ya da farklı kombinasyonlarda olduğu düşünülmektedir. Hücre içi yeniden yapılanma, yeniden modellenme ve kodlama gelişen oositin ve bunun sonucunda oluşacak embriyonun oluşumunda önemlidir ve bu işlemler sırasında izlenebilecek olan hatalar MNC fenotipe sahip anormal embriyoların oluşmasına neden olabilir. (Cıncık M, 2012)

Erken klivaj aşamalarında insan embriyolarında kromozomal defektler sık görülmektedir. Gelişim kapasitesi bunlarda sınırlı bir haldedir. Transfer ardından implantasyon olasılığı sebebiyle düşük kalitede embriyolar gelişebilmektedir. Düşük embriyo morfolojisi ile kromozomal anomaliler genellikle bir kolerasyona sahiptir. Buna bağlı olarak invitro koşullarda gelişimi yavaş olan embriyoların kromozomal anomali, asimetrik blastomer ve fragmantasyona sahip olma eğilimi daha yüksektir. Multinukleer embriyolarda ve binukleer embriyolarda izlenmekte olan kromozomal anomalilerin oranı birbirinden farklıdır. .(In vitro fertilization and assisted reproduction 2005)

İmplantayon potansiyeli iyi olan embriyo araştırmalarında embriyo multinukleasyon paterni morfolojik değerlendirmelerde kullanılmalıdır. Mikronukleasyon ile binukleasyonun birbirlerinden bağımsız olarak değerlendirilmesi gerekmektedir. Çünkü bunların her biri geri kalmış olan embriyo kohortuna çeşitli etkilerde bulunmaktadır.

Bölünme esnasında mitotik irregülasyonlara bağlı olarak bazı blastomerlerde bir yerine daha fazla nukleusun olması olarak tanımlanan multinukleasyon embriyonun gelişimini olumsuz etkilemektedir. Aşağıda şekil 5'de A da bir blastomerde 2, birinde 3 nukleus izlenmektedir. B de ise normal tek nukleuslu blastomerlere sahip embriyo görülmektedir.



A B

Şekil 4. A-Multinukleasyonlu ICSI Embriyoları B-Tek nukleuslu normal ICSI Embriyoları

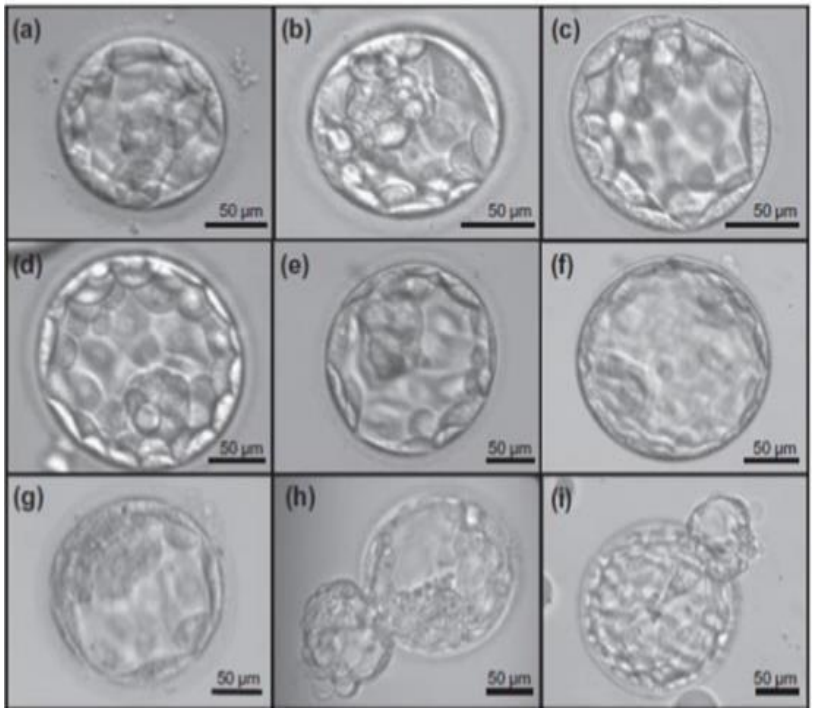
Multinukleasyonun değerlendirmesi embriyo seçimlerinde kullanılabilmektedir.

İnterfaz aşamasında görülmekte olan nükleuslar ile 2. günde az sayıda ve büyük blastomerli olan embriyolar multinukleasyon değerlendirmesini kolaylaştırmaktadır.

2.3.4. Blastokist Evresine Gelişim

Embriyolar gelişimlerinin 3. Gününde 8 blastomerli evreden itibaren, kompaktlaşma gösterirler. Bazen 4 ya da 8 hücreli haldeyken de kompaktlaşma görülebilir. Erken kompaktlaşmanın ileri embriyo gelişimini nasıl etkilediği ile ilgili az sayıda veri vardır. Embriyoların 4.günde blastomer sayıları 16-20 hücre arasındadır. Bu aşamada hücreler arasındaki bağlantılar artar ve kompaktlaşan embriyo morula adını alır. Morulanın uterusa ulaşması ile uterus boşluğundaki sıvı hücreler arasına geçmeye başlar. Hücreler arası sıvıların birikmesiyle blastosöl denilen tek bir boşluk oluşur ve embriyo bu dönemde blastosist adını alır. Kültür sistemlerinin gelişmesi ile in vitro olarak geliştirilen embriyolar 6. Güne kadar takip edilebilmektedir.

Morfolojik kriterlere göre, blastosist değerlendirilmesi yapılırken embriyonun genişleme derecesi, trofoektoderm tabakasının yoğunluğu ve iç hücre kitlesinin yoğunluğu esas alınır. İyi kaliteli bir blastosistin, inseminasyondan yaklaşık 112-114 saat sonra belirli ve geniş bir blastosöle (embriyo hacminin en az yarısı kadar), kavite içerisine doğru uzanan belirli bir iç hücre kitlesine ve birbirine bağlı yassı bir epitel tabakası oluşturacak şekilde düzgün yerleşmiş trofoektoderm hücrelerine sahip olması gerekmektedir (Gardner ve Schoolcraft, 1999). Gardner ve diğerleri blastosist skorlaması yapılarak seçilen blastosistin transfer edilmesiyle gebelik oranının %60‟ın üzerine çıktığını göstermiştir (Gardner vd., 2000). Blastosist aşamasına gelmiş düşük kalitede embriyoların transfer edilmesinin, aynı kalitede olan 3. Gün embriyoları ile kıyaslandığında daha yüksek implantasyon oranı gösterdiği bildirilmiştir (Balaban vd., 2001).

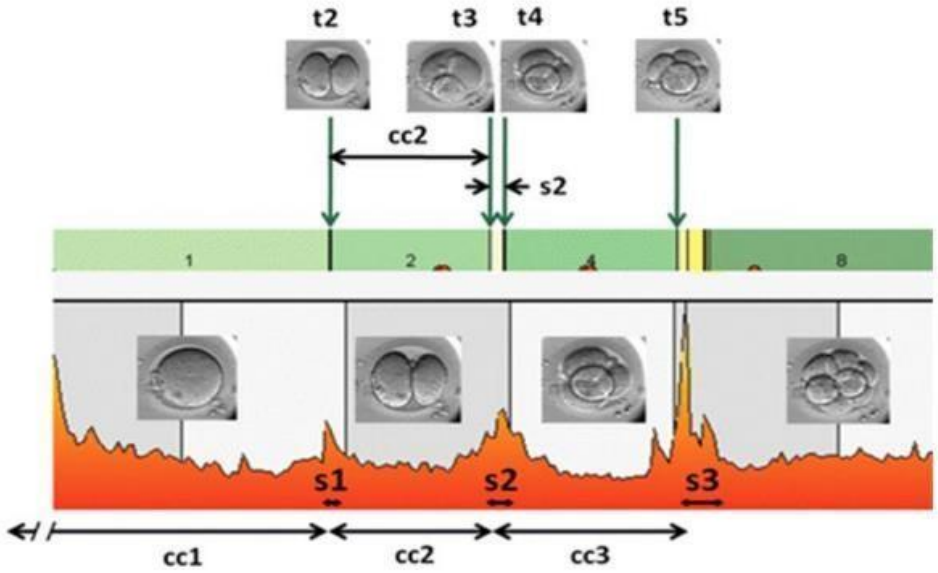


Şekil 5 . Blastokist örnekleri

Tam zamanlı (time lapse) embriyo takibinde yaygın kulanılan Meseguer hiyerarşik embriyo skorlamasında morfokinetik parametreler kullanılmaktadır. Embriyolar ilk olarak morfolojileri doğrultusunda elenmektedir. Eleme sonrasında implantasyon oranları düşük olarak bilinmekte olan üç grup oluşturulmaktadır. Zigotun direkt olarak üç blastomere bölünmesi (gerçekleşen ilk bölünme ardından <5 saatin içinde üç hücreli hale gelmesi), ilk bölünme esnasında eşit gerçekleşmeyen bölünme ve dört blastomer seviyesinde ise multinukleasyondur. Bu embriyoların E olarak sınıflandırıldığı bilinmektedir. Direkt olarak üç blastomere bölünebilen embriyolar blastokist evresine ulaşabilmektedir. Ancak bu emriyolar, yüksek oranda normal olmayan embriyolardır (Aıkawa, Ohtake vd., 2010). Yukarıda yer alan algoritmanın doğrultusunda embriyoların sınıflandırılması gerçekleşmektedir. Sınıflandırma esnasında öncelikle t5, ardından s2 en son da cc2 değişken alınmaktadır. t5 optimal sınırlar içinde olduğunda (48,8 ile 56,6 saat arası) embriyo A ya da B biçiminde, optimal sınırlar dışındaysa da C ya da D biçiminde değerlendirilmektedir. s2 sınırlar içersinde bulunmaktaysa (≤0,76 saat); sınırlar içinde t5 A, sınırlar dışında t5 C veya yine s2 sınırlar dışında ise (>0,76 saat); sınırlar içinde t5 B, sınırlar dışında t5 D, sonra da cc2'nin sınırlar içinde (≤11,9)

bulunup bulunmamasına doğrultusunda (+) ya da (-) olarak değerlendirilmektedir. A grubundakilerin blastokist gelişim oranları en yüksek oranlardır.

Blastokist gelişimi A'dan D'ye azalma göstermektedir (Cruz, Herrero vd., 2012).



Şekil 6. Morfokinetik embriyo skorlamasında kullanılan zamanlama parametreleri t2, t3, t4, t5, cc2 = t3-t2 ve s2=t4-t3 (M Meseguer Human Reprod 2011).

2.4. Erken Dönem Gebelikte Kullanılan Biyolojik Belirteçler

Gebeliğin gidişatının erken gebelik döneminde tespit edilebilmesi için birtakım biyolojik belirteçler kullanılabilmektedir. Gebeliğin olumlu veya olumsuz sonuçlanacağı progesteron, relaksin, beta-1 glikoprotein, inhibin, estradiol gibi hormonlarla tahmin edilebilmektedir. Biyolojik belirteçler arasında gebeliğin sonucunun tahmin edilmesinde kullanılan en yaygın olanı insan koryonik gonadotropin hormonu olarak

bilinmektedir (Urbancsek vd., 2002). Embriyo transferinin ardından 12 gün içerisinde ßhCG'nin almış olduğu değerler, gebelik gününün tahminini sağlamakta

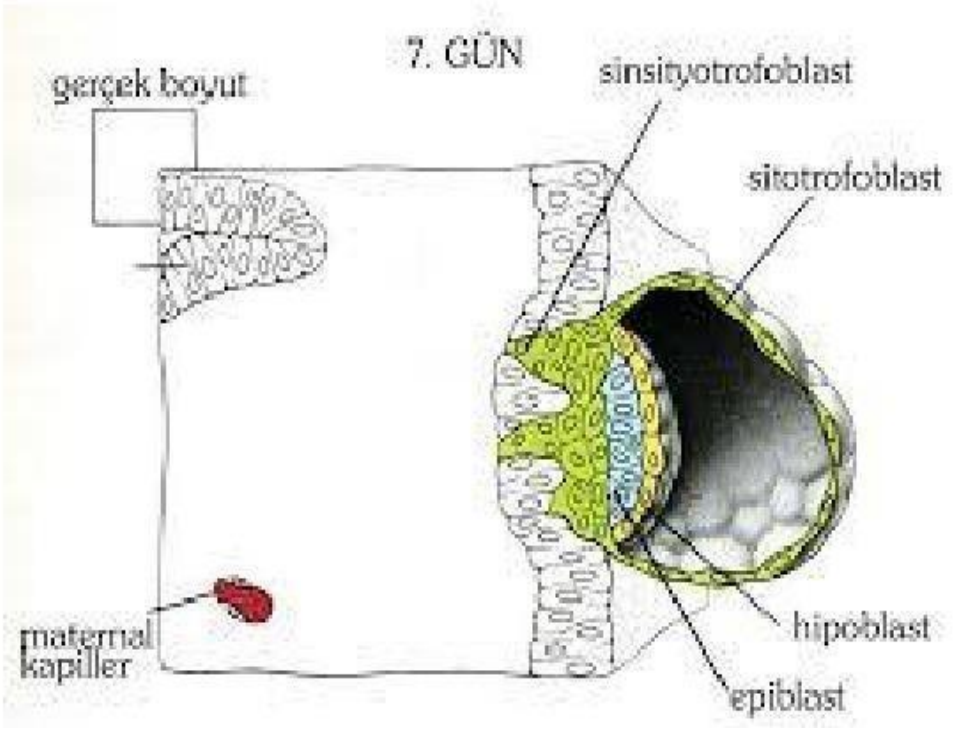
ve biyolojik belirteçler arasında en kullanışlı olanı olarak değerlendirilmektedir (Carmona vd., 2003).

2.4.1. Gebelik Markerı olarak Hcg Hormonu

Gebeliğin oluşması ve sürdürülmesi için önemli bir role sahip olan bu hormon gebelik hormonu olarak da bilinmektedir (Theofanakis vd., 2017). Gonadotropin hormonları, eşey bezleri üzerinde uyarıcı bir etkiye sahiptir (Tek vd., 2015). Gonadotropin hormonlarının bir miktarı plasentadan, diğer bir kısmı ise hipofiz bezinden salgılanmaktadır (Tek vd., 2015).

Moleküler ve hücresel olayların senkronizasyonu ile başarılı implantasyonlar ortaya çıkmaktadır. Klivaj evresi süresince embriyolar implantasyona hazırlanmaktadır. İç hücre kütlesi ile trofoektoderm yapısının düzenli, doğru bir biçimde oluşabilmesi adına blastosist, ardışık bölünme evreleri geçirmektedir (Ram ve Shalev, 2005). İmplantasyon sırasında, blastosistin implante olan embriyonik kutbunda bulunan trofoblast hücreler, proliferasyonun da artması ile çift tabakalı trofoblast dizisi oluşturmaktadır.

Sitotrofoblastlar, iç tabakalarda bulunan tek çekirdekli hücre yapısında bulunmaktadır.



Şekil 7. Sinsityotrofoblast hücreleri (Can, 2015)

Erken gebelik döneminde, ölçülmüş olan ß- hCG değerleri gebeliğin sonucu hakkında bilgi edinilmesini sağlamaktadır. Dolayısıyla bu dönemde ölçülen değerler ile gebeliğin sonuca dair bilgiler edinilmesinin arasındaki kolerasyon pozitif yönlüdür. ß- hCG değerleri ile anne yaşının birarada değerlendirilmesi sonrası gebelik prognozuna dair tahminlerde bulunulabilmektedir

Fertilizasyonun ardından 6 ile 8 gün sonra ß-hCG anne kanında artmaktadır. Kandaki ß-hCG seviyesi 7 ile 10. haftalar arasında maksimum düzeye ulaşmaktadır. In vivo ile in vitro koşullarında fertilizasyonun ardından 6-14 gün sonrasında bu değer idrarda yükselişe geçmektedir (Nepomnascny vd., 2008

En erken zamanda güvenilir bir biçimde tahmin etmenin yüksek olduğu dönemde ß-hCG ölçümü, erken dönemde ortaya çıkabilecek olan problemlere karşı hastalara ve klinisyenlere tedbir alabilmeleri konusunda fayda sağlamaktadır. ICSI yöntemi ile fertilizasyonun ardından laboratuvarlarda 2 veya 3 gün ya da 5 veya 6 günün ardından uterusa embriyoların yerleştirilme işlemi gerçekleşmektedir. Klivaj evresinde (3. gün) ve blastosist evresinde (5. gün) embriyo transferi ardından ß-

hCG değerlerinde farklılıklar görülebilmektedir (Kathiresan vd., 2011). Oosit toplama işleminin gerçekleştirilmesinden

12 gün sonrasında, 3. gün yapılan embriyo transferinin ardından 9 gün sonrasında, 5. gün yapılan blastosist transferinin ise 7 gün sonrasında kandaki ß-hCG miktarı artmaktadır. 48 saatte ß-hCG'nin değerindeki artış ile ultrasonografi görüntüleme ardından gebelik hakkında yorum yapılabilmektedir. ß-hCG değerinde geçici olarak bir artış gözlenir ya da ani düşüşler yaşanırsa bu gebelik kimyasal gebelik olarak değerlendirilmektedir (Annan vd., 2013).

Anne yaşı arttıkça ß-hCG hormunu belirgin şekilde azalmaktadır (Haavaldsen, Fedorcsak, Tanbo ve Eskild, 2014). Aynı şekilde Abdulrida'nın 2010'da yaptığı çalışmada ilerleyen yaşa bağlı olarak ß-hCG hormonunun büyük düzeyde azalma gösterdiği açıklanmıştır (Abdulrida, 2010). Bu çalışmalarının aksine Ueno ve arkadaşları 2014'te ki çalışmalarında; anne yaşı ve ß-hCG seviyeleri arasında anlamlı bir korelasyon olmadığı saptamıştır (Ueno vd., 2014). Fakat, anne yaşı arttıkça canlı doğumla sonuçlanan gebelik oranın azaldığını belirtmişlerdir. Ayrıca 35 yaş ve üzeri ektopik gebelik tanısı koyulmuş hastaların ß-hCG değerlerinin, 34 yaş ve altı ektopik gebelik tanısı koyulmuş hastaların ß-hCG değerlerden daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Bu sonucun nedenini henüz açıklayamadıklarını belirtmişlerdir. ß-hCG trofoblast hücrelerinde sentezlendiğinden, ileri yaştaki kadınlardaki düşük ß-hCG

Konsantrasyonları erken gebelikte bu hücrelerdeki fonksiyonel bozulmayı veya bu hücrelerin gecikmiş proliferasyonunu yansıtabilir (Haavaldsen, Fedorcsak, Tanbo ve Eskild, 2014).

BÖLÜM 3. YÖNTEM

Kullanılan bilgi toplama aracı ve elde edilen verilerin çözümlenmesinde kullanılan istatistiksel yöntem ve teknikler aşağıda açıklanmıştır.

Çalışmamıza 2013-2018 yılları arasında Acıbadem Altunizade Hastanesi tüp bebek merkezine başvuran, yaşları 19-48 arasında değişmekte olan, yardımcı üreme teknikleri uygulanmış, time lapse cihazında takip edilen ve multinükleasyon saptanan 615 infertil kadının embriyoları retrospektif olarak incelendi.

Embriyolar için blastomerlerin sayıları ve büyüklükleri, günü ile uyumları, fragmantasyon oranları, Meseguer ağaç modeline göre bölünme zamanları, hücre sayısı artış hızları gibi morfokinetik parametreleri takip edildi. Bu izlem, videolu ve retrospektif inceleme imkânı tanıyan time lapse cihazı (Embriyoskop Time Lapse System-Vitrolife Sweeden; ile tam ve eş zamanlı takip) ile morfokinetik değerlendirme) yapıldı. Bu cihaz sayesinde multinükleasyonlu blastomer bulunduran embriyolar saptandı. ≤ 40 yaş ve >40 yaş olmak üzere iki gruba ayrılan infertil kadınların embriyolarında klivaj döneminde görülen multinükleasyon oranları kaydedildi ve SPSS paket programı kullanılarak karşılaştırılıp istatistiksel testler yapılmıştır.

3.1. Araştırma Modeli

Araştırmamız embriyoskop cihazının digital arşivini tarama modeli kullanılarak irdelendi. İlişkisel ve nedensel karşılaştırma yöntemi kullanılarak multinükleasyon oranının 40 yaş altı ve üzeri gruplar arasındaki değişimleri araştırıldı.

3.2. Evren ve Örneklem

Araştırmamızın evrenini Acıbadem Altunizade Hastanesi'ne başvuran infertil hastalar oluşturmaktadır. Örneklemini ise, 40 yaş altı ve 40 yaş üstü yardımcı üreme teknikleri uygulanan 615 infertil kadın oluşturmuştur. Bunlar

arasında Multinukleasyon gösterenler (deney) çalışma grubumuzu oluşturmaktadır. Normal olanlar ise kontrol grubunu oluşturmaktadır.

3.3. Veriler ve Toplanması

Veri toplama araçları; hastalara ait test sonuçlarının kayıtlı olduğu hastane otomasyon sistemi, embriyoloji laboratuvarı takip formları ve time lapse cihazı veri tabanıdır.

3.4. Verilerin Çözümlenmesi ve Yorumlanması

Veriler, database'ler aracılığıyla MS Office Excell ortamına aktarılmıştır. Nicel veriler SPSS paket programına aktarılıp seçilecek olan uygun istatistiksel yöntemlerle analiz edilmiştir. Analiz sonuçları metin ve çeşitli grafik ve/veya tablolar aracılığıyla açıklanmıştır. Karşılaştırma sonuçlarının yorumlanması, kullanılacak olan istatistik metodunun anlamlılık düzeyine göre yorumlanmıştır. Çalışma sonuçlarımız ayrıca literatürde yayınlanmış olan benzer çalışmaların sonuçlarıyla karşılaştırılarak tartışılmıştır.

BÖLÜM 4. BULGULAR VE YORUMLAR

Bu bölümde araştırmaya katılan hastaların demografik bilgileri incelenmektedir.

Tablo 2. 1297 Hastanın Toplanan Oosit Sayısı, Metefaz 2 Oosit Sayısı, Transfer Edilen Embriyo Sayısı, Transfer Edilen G1 Embriyo Sayısı ve PN Değerleri Açısından Dağılımları

	N=615	Minimum	Maximum	Ortalama	Std. Sapma
Toplanan Oosit Sayısı		2,00	46,00	11,6896	5,33117
Metefaz 2 ooosit Sayısı		,00	88,00	9,2056	4,71519
Transfer Edilen Embriyo Sayısı		,00	2,00	1,8248	,52769
Transfer Edilen G1 Embriyo Sayısı		,00	19,00	3,0318	2,16815
PN		3,00	40,00	7,5636	3,54676

Tablo 2'de görüldüğü üzere araştırmaya katılan hastaların toplanan oosit sayısı 2,00-46,00 arasında olmakta ve ortalama 11,6896±5,33117'dir. Katılımcıların metafaz 2 oosit sayısı ,00-88,00 arasında olmakta ve ortalama 9,2056±4,71519'dur. Hastaların transfer edilen embriyo sayısı, 00-2,00 arasında olmakta ve ortalama 1,8248±,52769'dur. Hastaların transfer edilen G1 embriyo sayısı ,00-19,00 arasında olmakta ve ortalama 3,0318±2,16815'tir. Araştırmaya katılan hastaların PN değerleri 3,00-40,00 arasında olmakta ve ortalama 7,5636±3,54676'dır.

Tablo 3. Hastaların Yaş Ortalaması

	N =615	Minimum	Maximum	Ortalama	Std. Sapma
Kadın Yaşı		19,00	48,00	34,4009	6,26495

Tablo 3'te görüldüğü üzere araştırmaya katılan kadın hastaların yaşları 19-48 arasında olmakta ve ortalama 34,4009±6,26495'tir.

Tablo 4. Hastaların Yaş Grupları Açısından Dağılımları

		Frekans	Yüzde
Yaş grupları	40 yaş ve altı	484	78,7
	40 yaş üzeri	131	21,3
	Toplam	615	100,0

Tablo 4'te görüldüğü üzere araştırmaya katılan kadın hastaların 484 ü (%78,7) 40 yaş ve altı, 131'i (%21,3) ise 40 yaş ve üzeri katılımcıdan oluşmaktadır. Araştırmanın çoğunluğunda 40 yaş ve altı bireyler bulunmaktadır.

Tablo 5. Hastaların Boyları, Kiloları ve VKİ Değerleri Açısından Dağılımları

N =615	Minimum	Maximum	Ortalama	Std. Sapma
Boy	1,30	1,88	1,6361	0,06024
Kilo	43,00	137,00	63,8612	11,73339
VKİ	16,13	46,31	23,4040	4,49153

Tablo 5'te görüldüğü üzere araştırmaya katılan kadın hastaların boyları 130-188 cm uzunlukta ve ortalama 1,6361±,06024'tür. Kadın hastaların kiloları ise 43-137 arasında olmakta ve ortalama 63,8612±11,73339'dur. Araştırmaya katılan hastaların VKİ değerleri 16,13-46,31 arasında olmakta ve ortalama 23,4040±4,49153'tür. +

Tablo 6. Hastaların Gebelik Oranları Açısından Dağılımları

		Frekans	Yüzde
Gebelik oranları	Gebelik yok	157	12,1
	HCG pozitif	458	78,6
	Toplam	615	100,0

Tablo 6'da görüldüğü üzere araştırmaya katılan kadın hastaların gebelik oranları 157'sinde (%12,1) gebelik yok, 458'inde (%78,6) ise HCG pozitiftir.

Tablo 7. Hastaların Klinik Gebelik, Düşük ve Canlı Doğum Oranları Açısından Dağılımları

		Frekans	Yüzde
Gebelik ve düşük Oranları	Klinik Gebelik	387	62,9
	Düşük veya biyokimyasal	228	37,073
	Toplam	615	100
Klinik gebelerin canlı doğum oranı		290	47,1

Tablo 7 de görüldüğü gibi araştırmaya katılan gebe hastaların klinik gebelik oranı %62,9; düşük veya biyokimyasal gebelik oranı ise %37,073 olarak bulundu.

Klinik gebeliklerin 290 tanesi (%47,1) canlı doğum ile sonuçlanmıştır.

4.1. Araştırmanın Hipotezine İlişkin Bulgular

Bu bölümde araştırmanın amacına yönelik oluşturulan hipotezlere ilişkin bulgular yer almaktadır.

Araştırmaya katılan hastaların yaşlarının toplanan oosit sayısı, metefaz 2 oosit sayısı, transfer edilen embriyo sayısı, transfer edilen G1 embriyo sayısı, E2 değerleri ve progesteron seviyesine göre farklılaşma durumlarını belirlenmesi için One-Way ANOVA testi yapılmış ve sonuçları tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8. Hastaların Toplanan Oosit Sayısı, Metefaz Oosit Sayısı, Transfer Edilen Embriyo Sayısı, Transfer Edilen G1 Embriyo Sayısı ve PN Değerlerinin Yaşları Arasındaki İlişki

	Kadın Yaş Grubu										
	40 yaş ve altı					40 yaş üstü					P
	N=484	Ortalama	Min.	Maxi.	Std. sapma	N=131	Ortalama	Min.	Maxi.	Std. sapma	
Toplanan oosit sayısı		12,96	3,00	46,00	5,12		8,07	2,00	25,00	4,14	,000
Metefaz 2 oosit sayısı		10,28	,00	88,00	4,72		6,15	1,00	20,00	3,10	,000
Transfer edilen embriyo sayısı		1,95	,00	2,00	,24		1,44	,00	2,00	,89	,000
Transfer edilen G1 embriyo sayısı		3,35	,00	19,00	2,22		2,05	,00	9,00	1,64	,000
E2		1852,73	,80	16230,00	1097,27		1521,90	171,00	20251,00	1563,78	,039
Progesteron		1,64	,07	692,00	23,45		9,68	,07	1825,00	127,41	,000

Araştırmaya katılan hastaların toplanan oosit sayısı ile yaşları+ arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığını saptamak için yapılan One-Way ANOVA testi sonucunda iki değişken arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (p= ,000). Bu durum ile farklı yaş gruplarındaki hastalar açısından toplanan oosit sayısı farklı düzeydedir.

Araştırmaya katılan hastaların metefaz 2 oosit sayısı ile yaşları arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığını saptamak için yapılan One-Way ANOVA testi sonucunda iki değişken arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (p= ,000). Bu durum ile farklı yaş gruplarındaki hastalar açısından metafaz 2 oosit sayısı farklı düzeydedir.

Araştırmaya katılan kadın hastaların transfer edilen embriyo sayısı ile yaşları arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığını saptamak için yapılan One-Way

ANOVA testi sonucunda iki değişken arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (p= ,000). Bu durum ile farklı yaş gruplarındaki hastalar açısından transfer edilen embriyo sayısı farklı düzeydedir.

Araştırmaya katılan kadın hastaların transfer edilen G1 embriyo sayısı ile yaşları arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığını saptamak için yapılan One-Way ANOVA testi sonucunda iki değişken arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (p= ,000). Bu durum ile farklı yaş gruplarındaki hastalar açısından transfer edilen G1 embriyo sayısı farklı düzeydedir.

Araştırmaya katılan kadın hastaların PN değerleri ile yaşları arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığını saptamak için yapılan One-Way ANOVA testi sonucunda iki değişken arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (p= ,000). Bu durum ile farklı yaş gruplarındaki hastalar açısından PN değerleri farklı düzeydedir.

Araştırmaya katılan hastaların yaşlarının vücut kitle indeksi, infertilite süresi ve sigara kullanma durumlarına göre farklılaşma durumlarını belirlenmesi için One-Way ANOVA testi yapılmış ve sonuçları tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9. Hastaların Vücut Kitle İndeksi, İnfertilite Süresi, Sigara Kullanma Durumları, E2 Değerleri ve Progesteron Seviyesinin Yaşları Arasındaki İlişki

	Kadın Yaş Grubu									
	40 yaş ve altı					40 yaş üstü				
	N=961	Ortalama	Min.	Maxi.	Std. sapma	N=336	Ortalama	Min.	Maxi.	Std. sapma	**P**
VKİ		23,50	16,18	46,31	4,04		23,13	16,13	38,75	5,58	,000
İnfertilite Süresi		4,08	,00	25,00	3,60		5,29	,00	25,00	6,27	,000
Sigara		,26	,00	2,00	,55		,22	,00	2,00	,46	,021

Araştırmaya katılan hastaların VKİ değerleri ile yaşları arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığını saptamak için yapılan One-Way ANOVA testi sonucunda iki değişken arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (p= ,000). Bu durum ile farklı yaş gruplarındaki hastalar açısından VKİ değerleri farklı düzeydedir.

Araştırmaya katılan hastaların infertilite süresi ile yaşları arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığını saptamak için yapılan One-Way ANOVA testi sonucunda iki değişken arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (p= ,000). Bu durum ile farklı yaş gruplarındaki hastalar açısından infertilite süreleri farklı düzeydedir.

Araştırmaya katılan kadın hastaların sigara kullanıp kullanmama durumları ile yaşları arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığını saptamak için yapılan One-Way ANOVA testi sonucunda iki değişken arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (p= ,021). Bu durum ile farklı yaş gruplarındaki hastalar açısından sigara kullanıp kullanmamaları farklı düzeydedir.

Araştırmaya katılan kadın hastaların E2 değerleri ile yaşları arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığını saptamak için yapılan One-Way ANOVA testi sonucunda iki değişken arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (p= ,039). Bu durum ile farklı yaş gruplarındaki hastalar açısından E2 değerleri farklı düzeydedir.

Araştırmaya katılan kadın hastaların progesteron seviyeleri ile yaşları arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığını saptamak için yapılan One-Way ANOVA testi

Sonucunda iki değişken arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (p= ,000). Bu durum ile farklı yaş gruplarındaki hastalar açısından progesteron seviyeleri farklı düzeydedir.

Araştırmaya katılan hastaların yaşlarının canlı doğum sonuçları, gebelik oranları ve düşük oranlarına göre farklılaşma durumlarını belirlenmesi için One-Way ANOVA testi yapılmış ve sonuçları tablo 10'da gösterilmiştir.

Tablo 10. Hastaların Canlı Doğum Sonuçları, Gebelik Oranları ve Düşük Oranlarının Yaşları Arasındaki İlişki

N= 615	40 Yaş ve Altı		40 Yaş Üstü	
	n	%	n	%
Klinik Gebelik Oranı	240	62	147	38
Beta hCG(+)	298	65	160	35
Canlı Doğum	198	68	92	32

Araştırmaya katılan kadın hastaların canlı doğum sonuçları ile yaşları arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığını saptamak için yapılan One-Way ANOVA testi sonucunda iki değişken arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (p= ,169). Bu durum ile farklı yaş gruplarındaki hastalar açısından canlı doğum sonuçları farklı düzeyde değildir.

Araştırmaya katılan kadın hastaların gebelik oranları ile yaşları arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığını saptamak için yapılan One-Way ANOVA testi sonucunda iki değişken arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (p= ,000). Bu durum ile farklı yaş gruplarındaki hastalar açısından gebelik oranları farklı düzeydedir.

Araştırmaya katılan kadın hastaların düşük oranları ile yaşları arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığını saptamak için yapılan One-Way ANOVA testi sonucunda iki değişken arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (p= ,000). Bu durum ile farklı yaş gruplarındaki hastalar açısından düşük oranları farklı düzeydedir.

Araştırmaya katılan hastaların yaşlarının multinükleasyon oranlarına göre farklılaşma durumlarının belirlenmesi için One-Way ANOVA testi yapılmış ve sonuçları tablo 11'de gösterilmiştir.

Tablo 11. Hastaların Mültinükleasyon Oranlarının Yaşları Arasındaki İlişki

	Kadın Yaş Grubu							
	40 yaş ve altı				40 yaş üstü			.
	N= 484	Ortalama	Min.	Maxi.	N= 131	Ortalama	Min.	Maxi.
Multinükleasyon	484	5,50	1,06	9,94	131	2,60	0,14	5,06

Araştırmaya katılan kadın hastaların multinükleasyon oranları ile yaşları arasında anlamlı bir ilişki olup olmadığını saptamak için yapılan One-Way ANOVA testi sonucunda iki değişken arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir (p= ,000). Bu durum ile farklı yaş gruplarındaki hastalar açısından multinükleasyon oranları farklı düzeydedir. Beklenenin aksine, 40 yaş ve altındaki hastalarda multinükleasyon oranları daha yüksek çıkmıştır.

BÖLÜM 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu bölümde, araştırmada ortaya çıkan bulgular ve yorumlar doğrultusunda ulaşılan sonuçlara, sonuçların alan yazındaki araştırma bulgularıyla ilişkilendirilerek tartışılmasına yer verilmiştir.

Araştırmaya katılan kadın hastaların yaşları 19-48 arasında olmakta ve ortalama 34,4009±6,26495'tir. Kadın hastaların 484'ü 40 yaş ve altı, 131'i ise 40 yaş üzeri katılımcıdan oluşmaktadır. Hastaların boyları 130-188 cm uzunlukta ve ortalama 1,63±,06'tür. Kadın hastaların kiloları ise 43-137 arasında olmakta ve ortalama 63,86±11,73339'dur. Hastaların VKİ değerleri 16,13-46,31 arasında olmakta ve ortalama 23,40±4,49'tür. Hastaların infertilite süreleri ,00-25 arasında olmakta ve ortalama 4,38±4,39'tür. Kadın hastaların klinik gebelik oranı 387/615, beta HcG pozitifliği 458/615, canlı doğum oranı 290/615 'tir.

Araştırmaya katılan hastaların VKİ değerleri, infertilite süresi ve sigara kullanıp kullanmama durumları ile yaşları arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir.

Araştırmaya katılan kadın hastaların E2 değerleri, progesteron seviyeleri, oosit sayısı, metafaz 2 oosit sayısı, transfer edilen embriyo sayısı, transfer edilen G1 embriyo sayısı ile yaşları arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir.

Araştırmaya katılan kadın hastaların canlı doğum sonuçları ile yaşları arasında anlamlı bir ilişki gözlemlenmiştir. Gebelik oranları ve düşük oranları ile yaşları arasında ise anlamlı bir ilişki gözlemlenmiştir.

Araştırmaya katılan kadın hastaların PN değerleri ile yaşları arasında anlamlı bir ilişki tespit edilmiştir.

Araştırmaya katılan kadın hastaların multinükleasyon oranları ile yaşları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir.

Yapılan bir çalışmada 40 yaş ve altında, IVF uygulaması yapılmış ve blastokist transferi için seçilen 50 hastanın tüm zigotlarının %51'i blaskokiste gelişmiştir (Ambroggio, 2011, s. 856-857). 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 (Embryology. 2011, s. 632-633).

İnfertilite de maternal yaş büyük öneme sahiptir ve dahası 35 yaş üzerindeki kadınlarda multinükleasyonlu embriyoların transferinde doğum olmadığı gözlemlenmiştir (Ergin vd., 2014). Multinükleasyonlu embriyoların gelişim kapasitesi değişkenlik gösterebilir fakat multinükleasyonlu embriyoların mononükleer embriyolara oranla daha düşük oranlarda blastosistleri geliştirdiği bildirilmiştir (Yakin vd., 2005).

Multinükleasyon gözlemlenen embriyolarda bölünme hızı, implantasyon hızı, klinik gebelik oranı ve canlı doğum oranı belirgin olarak daha az olduğu bildirilmiştir (Jackson vd., 1998).

Yapılan bir çalışmada da ICSI prosedürlerinde MI oositleri kullanıldığında MII oositlerden daha fazla multinükleasyona rastlandı ve böylece oositlerin olgunlaşmamışlığı arttıkça embriyolarda multinükleasyon insidansının da arttığı bulunmuştur. (De Vincentiis vd., 2013).

İnsan embriyonik genomu 4-8 hücre evresinde aktifleşir ve multinükleasyonun görüldüğü hücre evresi bu nedenle büyük önem taşır (Tao vd., 2002). Multinükleasyon gözlemlenen embriyoların artmış kromozom anormalliği düzeyi ve anöploidi ile ilişkili olduğu ve bunun sonucunda spontan abortus riskinin arttığı belirlenmiştir (Alpha Scientists in Reproductive M, Embryology ESIGO, 2011).

Maternal yaşta gebelik başarı düşüklüğünün multinukleasyon yerine hormonal parametreler ile daha fazla ilişkili olabileceği varsayılabilir.

KAYNAKÇA

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2002). Cancer as a microevolutionary process. In *Molecular Biology of the Cell. 4th edition*. Garland Science.

Ambroggio, J., Gindoff, P. R., Dayal, M. B., Khaldi, R., Peak, D., Frankfurter, D., & Dubey, A. K. (2011). Multinucleation of a sibling blastomere on day 2 suggests unsuitability for embryo transfer in IVF–preimplantation genetic screening cycles. *Fertility and sterility*, *96*(4), 856-859.

Annan, J. J. K., Gudi, A., Bhide, P., Shah, A., & Homburg, R. (2013). Biochemical pregnancy during assisted conception: a little bit pregnant. *Journal of clinical medicine research*, *5*(4), 269.

Balaban, B., Urman, B., Alatas, C., Mercan, R., Aksoy, S., & Isiklar, A. (2001). Blastocyst-s tage transfer of poor-quality cleavage-stage embryos results in higher implantation rates. *Fertility and Sterility*, *75*(3), 514-518.

Balaban, B., Yakin, K., Urman, B., Isiklar, A., & Tesarik, J. (2004). Pronuclear morphology predicts embryo development and chromosome constitution. *Reproductive BioMedicine Online*, *8*(6), 695-700.

Betz, D. ve Fane, K. (2019). Human Chorionic Gonadotropin (HCG). StatPearls.

Can, A. (2015). Açıkders Arşiv, Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi.

Carmona, F., Balasch, J., Creus, M., Fábregues, F., Casamitjana, R., Cívico, S., ... & Vanrell, J. A. (2003). Early hormonal markers of pregnancy outcome after in vitro fertilization and embryo transfer. *Journal of assisted reproduction and genetics*, *20*(12), 521-526.

Carr, B. R., & Blackwell, R. E. (Eds.). (1998). *Textbook of reproductive medicine*. Appleton & Lange.

Chandra, A., & Mosher, W. D. (1994). The demography of infertility and the use of medical care for infertility. *Infertil Reprod Med Clin North Am*, *5*(2), 283-96.

Coskun, S., Hellani, A., Jaroudi, K., Al-Mayman, H., Al-Kabra, M., & Qeba, M. (2003). Nucleolar precursor body distribution in pronuclei is correlated to chromosomal abnormalities in embryos. *Reproductive BioMedicine Online*, *7*(1), 86-90.

Cruz, M., Garrido, N., Herrero, J., Pérez-Cano, I., Muñoz, M., & Meseguer, M. (2012). Timing of cell division in human cleavage-stage embryos is linked with blastocyst formation and quality. *Reproductive biomedicine online*, *25*(4), 371-381.

De Vincentiis, S., De Martino, E., Buffone, M. G., & Brugo-Olmedo, S. (2013). Use of metaphase I oocytes matured in vitro is associated with embryo multinucleation. *Fertility and sterility*, *99*(2), 414-421.

Deaton, J. L., Gibson, M., Blackmer, K. M., Nakajima, S. T., Badger, G. J., & Brumsted, J. R. (1991). A randomized, controlled trial of clomiphene citrate and intrauterine insemination in couples with unexplained infertility or surgically corrected endometriosis. *International Journal of Gynecology & Obstetrics*, *36*(2), 172-172.

Delilbaşı, L. (2008). İn vitro fertilizasyon (IVF) laboratuvar yöntemleri. *Ankara, Güneş Tıp Kitapevleri*.

Dieter, M. P. (1993). Identification and quantification of pollutants that have the potential to affect evolutionary processes.

Domar, A. D., Clapp, D., Slawsby, E. A., Dusek, J., Kessel, B., & Freizinger, M. (2000). Impact of group psychological interventions on pregnancy rates in infertile women. *Fertility and sterility*, *73*(4), 805-811.

Ergin, E. G., Çalişkan, E., Yalçinkaya, E., Öztel, Z., Çökelez, K., Özay, A., & Özörnek, H. M. (2014). Frequency of embryo multinucleation detected by time-lapse system and its impact on pregnancy outcome. *Fertility and Sterility*, *102*(4), 1029-1033.

Fu, J., Wang, X. J., Wang, Y. W., Sun, J., Gemzell-Danielsson, K., & Sun, X. X. (2009). The influence of early cleavage on embryo developmental potential and IVF/ICSI outcome. *Journal of assisted reproduction and genetics*, *26*(8), 437-441.

Gardner, D. K., Lane, M., Stevens, J., Schlenker, T., & Schoolcraft, W. B. (2000). Blastocyst score affects implantation and pregnancy outcome: towards a single blastocyst transfer. *Fertility and sterility*, *73*(6), 1155-1158.

Glazener, C. M. A., Coulson, C., Lambert, P. A., Watt, E. M., Hinton, R. A., Kelly, N. G., & Hull, M. G. R. (1990). Clomiphene treatment for women with unexplained infertility: placebo-controlled study of hormonal responses and conception rates. *Gynecological Endocrinology*, *4*(2), 75-83.

Griffith, C. S., & Grimes, D. A. (1990). The validity of the postcoital test. *American journal of obstetrics and gynecology*, *162*(3), 615-620.

Gürkan, T.(Ed.). (2012). *Embriyo Multinükleasyonun Klinik Önemi.* Güneş Tıp Kitabevleri.

Healy, D. L., Trounson, A. O., & Andersen, A. N. (1994). Female infertility: causes and treatment. *The Lancet*, *343*(8912), 1539-1544.

Holland, L. Z., & Holland, N. D. (1992). Early development in the lancelet (= amphioxus) Branchiostoma floridae from sperm entry through pronuclear fusion: presence of vegetal pole plasm and lack of conspicuous ooplasmic segregation. *The Biological Bulletin*, *182*(1), 77-96.

Infertility, W. H. O. (1991). A tabulation of available data on prevalence of primary and secondary infertility. *Programme on material and child health and family planning division of family health. Geneva: World Health Organization*.

Jackson, K. V., Ginsburg, E. S., Hornstein, M. D., Rein, M. S., & Clarke, R. N. (1998). 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. *Fertility and sterility*, *70*(1), 60-66.

Kahraman, S., Kumtepe, Y., Sertyel, S., Dönmez, E., Benkhalifa, M., Fındıklı, N., & Vanderzwalmen, P. (2002). Pronuclear morphology scoring and chromosomal status of embryos in severe male infertility. *Human Reproduction*, *17*(12), 3193-3200.

Kahraman, S., Vicdan, K., Nuhoğlu, A., Danışman, N., Işık, A. Z., Taşdemir, M., ... & Biberoğlu, K. (1996). Dergi Kimliği. *Perinatoloji Dergisi*, *4*(1), 1.

Kathiresan, A. S., Cruz-Almeida, Y., Barrionuevo, M. J., Maxson, W. S., Hoffman, D. I., Weitzman, V. N., ... & Ory, S. J. (2011). Prognostic value of beta-human chorionic gonadotropin is dependent on day of embryo transfer during in vitro fertilization. *Fertility and sterility*, *96*(6), 1362-1366.

Kruger, T. F., Acosta, A. A., Simmons, K. F., Swanson, R. J., Matta, J. F., & Oehninger, S. (1988). Predictive value of abnormal sperm morphology in in vitro fertilization. *Fertility and sterility*, *49*(1), 112-117.

Kruger, T. F., Menkveld, R., Stander, F. S., Lombard, C. J., Van der Merwe, J. P., van Zyl, J. A., & Smith, K. (1986). Sperm morphologic features as a prognostic factor in in vitro fertilization. *Fertility and sterility*, *46*(6), 1118-1123.

Lens, J. W., & Rijnders, P. M. (1996). The embryo–practice. *IVF Lab–Laboratory Aspects of In vitro Fertilization. NV Organon, Amsterdam*, 177-203.

Liu, H. C., Cohen, J., Alikani, M., Noyes, N., & Rosenwaks, Z. (1993). Assisted hatching facilitates earlier implantation. *Fertility and Sterility*, *60*(5), 871-875.

Longo, F. J. (1973). Fertilization: a comparative ultrastructural review. *Biology of Reproduction*, *9*(2), 149-215.

Mackenna, A. I., Zegers-Hochschild, F., Fernandez, E. O., Fabres, C. V., Huidobro, C. A., Prado, J. A., ... & Lopez, T. H. (1992). Fertilization rate in couples with unexplained infertility. *Human Reproduction*, *7*(2), 223-226.

Mahadevan, M. M., & Trounson, A. O. (1985). Removal of the cumulus oophorus from the human oocyte for in vitro fertilization. *Fertility and sterility*, *43*(2), 263-267.

Mahmood, R., Brierley, C. H., Faed, M. J., Mills, J. A., & Delhanty, J. D. (2000). Mechanisms of maternal aneuploidy: FISH analysis of oocytes and polar bodies in patients undergoing assisted conception. *Human genetics*, *106*(6), 620-626.

Medicine, A. S. I. R. (2011). Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Reproductive biomedicine online*, *22*(6), 632-646.

Menken J, Trussel J & Larsen U (1996). Age and infertility, Science, 43: 233-244.

Meseguer, M., Herrero, J., Tejera, A., Hilligsøe, K. M., Ramsing, N. B., & Remohí, J. (2011). The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. *Human reproduction*, *26*(10), 2658-2671.

Monck, J. R., & Fernandez, J. M. (1992). The exocytotic fusion pore. *The Journal of cell biology*, *119*(6), 1395-1404.

Moore, K. L., & TVN, P. (2002). İnsan embriyolojisi, klinik yönleri ile. *Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H (Editörler). 6ncı Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi*, 398-401.

Moser, F. (1939). Studies on a cortical layer response to stimulating agents in the Arbacia egg. I. Response to insemination. *Journal of Experimental Zoology*, *80*(3), 423-445.

Mosher, W. D., & Pratt, W. F. (1991). Fecundity and infertility in the United States: incidence and trends. *Fertility and sterility*, *56*(2), 192-193.

Mosher, W. D., & Pratt, W. F. (1993). The demography of infertility in the United States. *Annual progress in reproductive medicine*, 37-43.

Navot, D., Drews, M. R., Bergh, P. A., Guzman, I., Karstaedt, A., Scott Jr, R. T., ... & Hofmann, G. E. (1994). Age-related decline in female fertility is not due to diminished capacity of the uterus to sustain embryo implantation. *Fertility and sterility*, *61*(1), 97-101.

Nepomnaschy, P. A., Weinberg, C. R., Wilcox, A. J., & Baird, D. D. (2008). Urinary hCG patterns during the week following implantation. *Human reproduction*, *23*(2), 271-277.

Plachot, M., Belaisch-Allart, J., Mayenga, J. M., Chouraqui, A., Tesquier, L., & Serkine, A. M. (2002). Outcome of conventional IVF and ICSI on sibling oocytes in mild male factor infertility. *Human Reproduction*, *17*(2), 362-369.

Sadowy, S., Tomkin, G., Munné, S., Ferrara-Congedo, T., & Cohen, J. (1998). Impaired development of zygotes with uneven pronuclear size. *Zygote*, *6*(2), 137-141.

Sathananthan, A. H., Kola, I., Osborne, J., Trounson, A., Ng, S. C., Bongso, A., & Ratnam, S. (1991). Centrioles in the beginning of human development. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *88*(11), 4806-4810.

Sauer, M. V., Paulson, R. J., & Lobo, R. A. (1992). Reversing the natural decline in human fertility: an extended clinical trial of oocyte donation to women of advanced reproductive age. *Jama*, *268*(10), 1275-1279.

Schatten, G. (1994). The centrosome and its mode of inheritance: the reduction of the centrosome during gametogenesis and its restoration during fertilization. *Developmental biology*, *165*(2), 299-335.

Schenker, J. G. (2000). Women's reproductive health: monotheistic religious perspectives. *International journal of gynecology & obstetrics*, *70*(1), 77-86.

Schoysman, R., Vanderzwalmen, P., Nijs, M., Segal, L., Segal-Bertin, G., Geerts, L., ... & Schoysman, D. (1993). Pregnancy after fertilisation with human testicular spermatozoa. *The Lancet*, *342*(8881), 1237.

Scott, L. A., & Smith, S. (1998). The successful use of pronuclear embryo transfers the day following oocyte retrieval. *Human Reproduction (Oxford, England)*, *13*(4), 1003-1013.

Shapiro, B. S., Harris, D. C., & Richter, K. S. (2000). Predictive value of 72-hour blastomere cell number on blastocyst development and success of subsequent transfer based on the degree of blastocyst development. *Fertility and sterility*, *73*(3), 582-586.

Shoham, Z. (2004). Textbook of Assisted Reproductive Techniques: Laboratory and Clinical Perspectives.

Shoukir, Y., Campana, A., Farley, T., & Sakkas, D. (1997). Early cleavage of in-vitro fertilized human embryos to the 2-cell stage: a novel indicator of embryo quality and viability. *Human Reproduction (Oxford, England)*, *12*(7), 1531-1536.

Somfai, T., Inaba, Y., Aikawa, Y., Ohtake, M., Kobayashi, S., Konishi, K., & Imai, K. (2010). Relationship between the length of cell cycles, cleavage pattern and developmental competence in bovine embryos generated by in vitro fertilization or parthenogenesis. *Journal of Reproduction and Development*, 0912210236-0912210236.

Speroff, L., & Fritz, M. A. (Eds.). (2005). *Clinical gynecologic endocrinology and infertility*. lippincott Williams & wilkins.

Staun-Ram, E., & Shalev, E. (2005). Human trophoblast function during the implantation process. *Reproductive Biology and Endocrinology*, *3*(1), 1-12.

Stenman, U. H., Tiitinen, A., Alfthan, H., & Valmu, L. (2006). The classification, functions and clinical use of different isoforms of HCG. *Human reproduction update*, *12*(6), 769-784.

Steven, D. (2003). Fleming and Robert S. *King. Micromaniplation in Assisted Conception. UK, Cambridge University Pres*.

Sundby, J., & Schei, B. (1996). Infertility and subfertility in Norwegian women aged 40-42 Prevalence and risk factors. *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica*, *75*(9), 832-837.

Tabakoğlu-Oğuz, A. (2001). Hayvan embriyolojisi. *Baskı, İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi, İstanbul*, *266*.

Tao, J., Tamis, R., Fink, K., Williams, B., Nelson-White, T., & Craig, R. (2002). The neglected morula/compact stage embryo transfer. *Human reproduction*, *17*(6), 1513-1518.

Taşkın, L. (1997). *Doğum ve kadın sağlığı hemşireliği*. [Yyy](Sistem Ofset Matbaacılık).

Tesarik, J., & Greco, E. (1999). The probability of abnormal preimplantation development can be predicted by a single static observation on pronuclear stage morphology. *Human reproduction*, *14*(5), 1318-1323.

Theofanakis, C., Drakakis, P., Besharat, A., & Loutradis, D. (2017). Human chorionic gonadotropin: the pregnancy hormone and more. *International journal of molecular sciences*, *18*(5), 1059.

Thompson, LA, Barratt, CL, Thornton, SJ, Bolton, AE, & Cooke, ID (1993). Klomifen sitrat ve siklofenilin servikal mukus hacmi ve periovulatuar dönem boyunca reseptivite üzerindeki etkileri. *Doğurganlık ve kısırlık* , *59* (1), 125-129.

Thonneau, P., Ducot, B., & Spira, A. (1993). Kısırlık için başvuran kadın ve erkeklerde risk faktörleri. *Uluslararası doğurganlık ve menopoz çalışmaları dergisi* , *38* (1), 37-43.

Tietze, C. (1957). Hutterite kadınları arasında üreme süresi ve üreme oranı. *Obstetrik ve Jinekolojik Araştırma* , *12* (5), 727-728.

Toner, J. P., Philput, C. B., Jones, G. S., & Muasher, S. J. (1991). Basal follicle-stimulating hormone level is a better predictor of in vitro fertilization performance than age. *Fertility and sterility*, *55*(4), 784-791.

Tournaye, H., Devroey, P., Liu, J., Nagy, Z., Lissens, W., & Van Steirteghem, A. (1994). Mikrocerrahi epididimal sperm aspirasyonu ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu: Vas deferensin konjenital bilateral yokluğunun bir sonucu olarak infertiliteye yeni ve etkili bir yaklaşım. *Doğurganlık ve kısırlık* , *61* (6), 1045-1051.

Trounson, A. (1982). Current perspectives of in vitro fertilization and embryo transfer. *Clinical reproduction and fertility*, *1*(1), 55-65.

Trounson, A., & Gardner, D. K. (2000). *Handbook of in vitro fertilization*. CRC press.

Urbancsek, J., Hauzman, E., Fedorcsák, P., Halmos, A., Dévényi, N., & Papp, Z. (2002). Serum insan koryonik gonadotropin ölçümleri, in vitro fertilizasyondan sonra gebelik sonucunu ve çoğul gebeliği öngörebilir. *Doğurganlık ve kısırlık* , *78* (3), 540-542.

Van Blerkom, J., Bell, H., & Weipz, D. (1990). Cellular and developmental biological aspects of bovine meiotic maturation, fertilization, and preimplantation embryogenesis in vitro. *Journal of electron microscopy technique*, *16*(4), 298-323.

Van Royen, E., Mangelschots, K., De Neubourg, D., Valkenburg, M., Van de Meerssche, M., Ryckaert, G., ... & Gerris, J. (1999). Characterization of a top quality embryo, a step towards single-embryo transfer. *Human Reproduction*, *14*(9), 2345-2349.

Van Steirteghem, A. C., Nagy, Z., Joris, H., Liu, J., Staessen, C., Smitz, J., ... & Devroey, P. (1993). High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection. *Human Reproduction*, *8*(7), 1061-1066.

Vicdan, K., & Işık, A. Z. (1999). In vitro fertilizasyon ve mikromanipülasyon uygulamalarında laboratuvar. *Çağdaş Medikal Kitapevi*.

Wallach, E. E., Ng, S. C., Bongso, A., Sathananthan, H., & Ratnam, S. S. (1990). Micromanipulation: its relevance to human in vitro fertilization. *Fertility and sterility*, *53*(2), 203-219.

Warburton, D. (1987). Reproductive loss: how much is preventable?

Wassarman, P. M. (1993, June). Mammalian eggs, sperm and fertilisation: dissimilar cells with a common goal. In *Seminars in Developmental Biology* (Vol. 4, No. 3, pp. 189-197). Academic Press.

Wood, C., Calderon, I., & Crombie, A. (1992). Age and fertility: results of assisted reproductive technology in women over 40 years. *Journal of assisted reproduction and genetics*, *9*(5), 482-484.

World Health Organisation. (1999). *WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction*. Cambridge university press.

Yakin, K., Balaban, B., & Urman, B. (2005). Impact of the presence of one or more multinucleated blastomeres on the developmental potential of the embryo to the blastocyst stage. *Fertility and sterility*, *83*(1), 243-245.

Yıldırım M. (1992) . Klinik Jinekoloji, *Türkiye Klinikleri Yayınevi*, İstanbul: 246-47

Zayed, F., Ghazawi, I., Francis, L., & Alchalabi, H. (2001). Predictive value of human chorionic gonadotropin β-hCG in early pregnancy after assisted conception. *Archives of gynecology and obstetrics*, *265*(1), 7-10.

Zimmerberg, J. (1988). Fusion in biological and model membranes: Similarities and differences. In *Molecular Mechanisms of Membrane Fusion* (pp. 181-195). Springer, Boston, MA.

Zollner, U., Zollner, K. P., Dietl, J., & Steck, T. (2001). Semen sample collection in medium enhances the implantation rate following ICSI in patients with severe oligoasthenoteratozoospermia. *Human Reproduction*, *16*(6), 1110-1114.