

**T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**İNSAN EMBRİYOLARINDA HIZLI VE YAVAŞ  
DONDURMA YÖNTEMLERİNİN ÇÖZME SONRASI  
ELDE EDİLEN GEBELİK PARAMETRELERİNE  
ETKİSİ VE ZAMAN İÇİNDE DEĞİŞİMİ**

**Dr. Könül MÜRSEL  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. R. Onur KARABACAK**

**ANKARA  
EKİM 2014**

**T.C.  
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI**

**İNSAN EMBRİYOLARINDA HIZLI VE YAVAŞ  
DONDURMA YÖNTEMLERİNİN ÇÖZME SONRASI  
ELDE EDİLEN GEBELİK PARAMETRELERİNE  
ETKİSİ VE ZAMAN İÇİNDE DEĞİŞİMİ**

**Dr. Könül MÜRSEL  
TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. R. Onur KARABACAK**

**ANKARA  
EKİM 2014**

## ÖNSÖZ

Kadın Hastalıkları ve Doğum uzmanlık tezimi sunarken, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı' ndaki uzmanlık eğitimim süresince bana yol gösteren ve eğitimimde katkısı bulunan tüm saygıdeğer hocalarıma, tezimin hazırlanma süreci içinde benden yardımlarını esirgemeyen tez danışmanın, değerli hocam Prof. Dr. Onur KARABACAK' a, Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Anıl ONAN' a, tezimin ortaya çıkmasında emeği geçen değerli hocalarım Prof. Dr. Nuray BOZKURT ve Prof. Dr. Mesut ÖKTEM' e, yardımlarından dolayı Gazi Hastanesi Tüp Bebek hemşire ve personeline, özellikle embriyologlarımız PhD Seyhan GÜMÜŞLÜ, Uzm. Esra KARABAY ve Uzm. Derya Deniz ERCAN'a , hayatım boyunca bana yol gösteren, bugünlere gelmem için bana sonsuz destek olan ve sevgilerini esirgemeyen aileme; acı tatlı günleri beraber paylaştığımız değerli asistan arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

**Könül MÜRSEL**

## KISALTMALAR

AMH	: Antimüllerian Hormon
DMSO	: Dimetilsulfoksid
DSO	: Dünya Sağlık Örgütü
E2	: Estradiol
ET	: Embriyo Transferi
FSH	: Follikül Stimulan Hormon
GnRH	: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
GÜTF	: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
HSG	: Histerosalpingografi
IVF	: İn Vitro Fertilizasyon
ICSI	: İnrasitoplazmatik Sprem Enjeksiyonu
IUI	: İntrauterin İnseminasyon
LH	: Lüteinizan Hormon
OHSS	: Over Hiperstimulasyon Sendromu
PCOS	: Polikistik Over Sendromu
PGT	: Preimplantasyon Genetik Tanı
PIH	: Pelvik İnflamatuvar .hastalık
SF	: Slow Freezing, yavaş dondurma
sT3	: serbest T3
sT4	: serbest T4
TSH	: Tiroid Stimulan Hormon
TV	: Transvajinal
USG	: Ultrasonografi
Vi	: Vitrifikasyon
YT	: Yumurta Toplama
YÜT	: Yardımcı Üreme Teknikleri
ZP	: Zona Pellusida

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
KISALTMALAR.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
TABLolar DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. İnfertilite .....	4
2.1.1. Tanı ve İnsidans .....	4
2.2. İnfertilite Nedenleri .....	5
2.2.1. Kadın İnfertilitesi .....	6
2.2.2. Erkek İnfertilitesi.....	11
2.2.3 Açıklanamayan İnfertilite.....	14
2.3. Yardımcı üreme teknikleri .....	15
2.3.1. İnvitro Fertilizasyon.....	16
2.4. Kriyoprezervasyon.....	18
2.4.1. Tarihçe .....	18
2.4.2. Kriyoprezervasyon Endikasyonları .....	19
2.4.3. Kriyoprotektanlar .....	21
2.4.4. Kriyoprezervasyon Yöntemleri .....	21
3. MATERYAL VE METOD.....	30
3.1. Araştırmanın yeri ve ortamı .....	30
3.2. Araştırma Grupları .....	31
3.4. Araştırma Parametreleri ve yöntemleri .....	33
3.4. Araştırma Gruplarının özellikleri.....	41
3.5. İstatistiksel Analiz.....	45
4. BULGULAR .....	47
5. TARTIŞMA .....	84
6. SONUÇ .....	96
7. ÖNERİLER ve ÖĞRETİ.....	101

ÖZET .....	104
SUMMARY .....	109
KAYNAKLAR .....	113

## TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.	Semen analizi için en düşük referans değerler WHO	14
Tablo 2.	Gruplar arasında bayan yaşı ve VKİ değerlerinin dağılımı (N=300).	42
Tablo 3.	Gruplar arasında D3-FSH, D3-LH, D3-E2, TSH, sT4 değerlerinin dağılımı (N=300).	43
Tablo 4.	Gruplar arasında İVF siklus sayılarının dağılımı (N=300).	43
Tablo 5.	Grupların yaşayan çocuk sayılarına göre karşılaştırılması (N=300).	44
Tablo 6.	Gruplar arasında ayrıntılı infertilite nedenlerinin dağılımı (N=300).	45
Tablo 7.	Çözme sonrasında gruptaki embriyo transferi yapılan ve embriyo dejenerasyonu nedeniyle iptal olan siklusların dağılımı.	47
Tablo 8.	Vakaların yıllara göre dağılımı (N=300).	48
Tablo 9.	Gruplar arasında çözme embriyo transfer adedinin dağılımı (N=242) (p=0,001).	49
Tablo 10.	Grade'lerine göre dondurulan embriyo sayılarının yıllara göre dağılımı (N=1469).	51
Tablo 11.	Grade'lerine göre dondurulan blastokist sayılarının yıllara göre dağılımı (N=239).	52
Tablo 12.	Slow Freezing grubunda Grade'lerine göre dondurulan embriyoların yıllara göre dağılımı (780).	53
Tablo 13.	Vitrifikasyon grubunda Grade'lerine göre dondurulan embriyoların yıllara göre dağılımı (N=689).	54
Tablo 14.	Vitrifikasyon grubunda Grade'lerine göre dondurulan blastokistlerin yıllara göre dağılımı (N=239).	55
Tablo 15.	Dondurma Grade'lerine göre grupların karşılaştırılması.	56
Tablo 16.	Çözme Embriyo Grade'lerinin yıllara göre dağılımı (N=1207).	57
Tablo 17.	Çözme blastokist Grade'lerinin yıllara göre dağılımı (N=211).	58
Tablo 18.	Slow Freezing grubunda çözme sonrası embriyo Grade'lerinin yıllara göre dağılımı (N=665).	60

Tablo 19.	Vitrifikasyon grubunda çözme sonrası Embriyo Grade' lerinin yıllara göre dağılımı (N=542).	61
Tablo 20.	Vitrifikasyon grubunda çözme blastokist Grade' lerinin yıllara göre dağılımı (N=211).	62
Tablo 21.	Çözme Grade' lerine göre grupların karşılaştırılması.	64
Tablo 22.	Toplam klinik gebelik oranlarını yıllara göre dağılımı (N=54) (Kaba gebelik hızı %22,3).	65
Tablo 23.	Slow Freezing grubundaki klinik gebelik oranlarının yıllar üzere dağılımı (N=84) (Gebelik hızı %25).	67
Tablo 24.	Vitrifikasyon grubundaki klinik gebeliklerin oranlarının yıllara göre dağılımı (N=158) (Klinik gebelik hızı %20,9).	69
Tablo 25.	Slow Freezing ve Vitrifikasyon gruplarındaki klinik gebelik hızlarının yıllar bazında karşılaştırılması.	70
Tablo 26.	Slow Freezing grubunda çözme sonrası embriyoların kalitesi ve transfer başına ortalama gebelik sayıları (N=665).	71
Tablo 27.	Vitrifikasyon grubunda çözme sonrası embriyoların kalitesi ve transfer başına ortalama gebelik sayıları (N=542).	72
Tablo 28.	Vitrifikasyon grubunda çözme sonrası blastokistlerin kalitesi ve transfer başına ortalama gebelik değerleri (N=211).	73
Tablo 29.	Toplam vakaların endometrial hazırlık yöntemlerine göre klinik gebelik hızı (p=0,027).	74
Tablo 30.	Slow Freezing grubunda endometrial hazırlık yöntemlerine göre klinik gebelik hızı (p>0,05).	75
Tablo 31.	Vitrifikasyon grubunda endometrial hazırlık yöntemlerine göre klinik gebelik hızı (p=0,001).	76
Tablo 32.	Toplam canlı doğum oranlarının yıllara göre dağılımı (N=31).	77
Tablo 33.	Slow freezing grubundaki canlı doğum oranlarının yıllara göre dağılımı (N=12). (Doğum hızı %14,3).	79
Tablo 34.	Vitrifikasyon grubunda canlı doğum oranlarının yıllara göre dağılımı (N=19).	81



Tablo 35. Slow Freezing ve Vitrifikasyon gruplarındaki toplam canlı doğum oranlarının yıllar bazında karşılaştırılması ( $p>0,05$ ).

83

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	YÜT uygulanan çiftlerde tanıların dağılımı	17
Şekil 2.	Araştırma dizaynı	32
Şekil 3.	Blastokistin gelişim evresi.	40
Şekil 4.	İç hücre kütlesi (İCM) skorlaması, kalitesi.	40
Şekil 5.	Trofoektoderm (TE) skorlaması ve kalitesi.	40
Şekil 6.	Vakaların yıllara göre dağılımı (N=300). Lineer artış vardır (R=0,5; p=0,001).	49
Şekil 7.	Gruplar arasında çözme embriyo transfer adedinin dağılımı (N=242) (p=0,001).	50
Şekil 8.	Grade'lerine göre dondurulan embriyo sayılarının yıllara göre dağılımı (N=1469).	51
Şekil 9.	Grade'lerine göre dondurulan blastokist sayılarının yıllara göre dağılımı (N=239).	52
Şekil 10.	Slow Freezing grubunda Grade'lerine göre dondurulan embriyoların yıllara göre dağılımı (N=780).	53
Şekil 11.	Vitrifikasyon grubunda Grade'lerine göre dondurulan embriyoların yıllara göre dağılımı (N=689).	54
Şekil 12.	Vitrifikasyon grubunda Grade'lerine göre dondurulan blastokistlerin yıllara göre dağılımı (N=239).	55
Şekil 13.	Çözme embriyo Grade'lerinin yıllara göre dağılımı.	57
Şekil 14.	Çözme blastokist Grade'lerinin yıllara göre dağılımı (N=211).	59
Şekil 15.	Slow Freezing grubunda çözme sonrası embriyo Grade'lerinin yıllara göre dağılımı (N=665).	60
Şekil 16.	Vitrifikasyon grubunda çözme sonrası Embriyo Grade'lerinin yıllara göre dağılımı (N=542).	62
Şekil 17.	Vitrifikasyon grubunda çözme blastokist Grade'lerinin yıllara göre dağılımı (N=211).	63
Şekil 18.	Toplam klinik gebelik oranlarını yıllara göre dağılımı (N=54). Lineer artış yoktur (R=0,047; p=0,258).	66

Şekil 19.	Slow Freezing grubundaki klinik gebelik oranlarının yıllara göre dağılımı (N=21).Lineer artış yoktur (R=0,13; p=0,209).	68
Şekil 20.	Vitrifikasyon grubunda gebelik oranlarının yıllar üzere dağılımı (N=33). Lineer artış trendi vardır (R=0,061; p=0,138)	70
Şekil 21.	Toplam canlı doğum oranlarının yıllara göre dağılımı (N=31). Lineer artış yoktur (R=0,15; p=0,76).	78
Şekil 22.	Slow Freezing grubunda doğum oranlarının yıllara göre dağılımı (N=12). Lineer artış yoktur (R=0,04; p=0,84).	80
Şekil 23.	Vitrifikasyon grubunda canlı doğum oranlarının yıllara göre dağılımı (N=19). Lineer artış yoktur (R=0,2; p=0,67).	82

## 1. GİRİŞ

Fertilite problemleri görünürde yaşamı tehdit eden bir hastalık olarak sınıflandırılmasa da, hem bireyi, hem de toplumu etkileyen, biyolojik, sosyal, kültürel ve psikolojik boyutları olan bir sağlık sorunudur. İnfertilite bir yıl süre ile korunmaksızın ilişkide bulunulmasına rağmen gebe kalınmaması olarak tanımlanmaktadır<sup>[1, 2]</sup>. Çiftlerin yaklaşık %85-90'ında 12 aylık korunmasız ilişki sonrasında gebelik oluşmaktadır<sup>[3]</sup>. On iki ay süreyle kontrasepsiyon yöntemleri kullanmadıkları halde gebelik oluşmayan sağlıklı genç çiftlerin yaklaşık %50'si de devam eden 36 ay içerisinde gebe kalabilmektedir<sup>[4]</sup>. İnfertilite çiftlerin yaklaşık %10-15'ini etkilemektedir<sup>[5, 6]</sup>. Genel algının aksine, infertilitenin toplam sıklığı son 30 yılda nispeten değişmeden kalmıştır<sup>[5]</sup>. Bununla birlikte, infertilitenin değerlendirilmesi ve tedavisi bu süre içerisinde önemli bir biçimde değişmiştir. İn vitro fertilizasyon (İVF) ve diğer yardımla üreme teknolojilerinin (YÜT) kullanılmaya başlaması, üremeye ilgili süreçlerin yeni yollarla ve daha açıklayıcı bir şekilde araştırılmasına olanak sağlamıştır ve özellikle infertilite nedeni tubal hasar veya erkek faktörü olanlar olmak üzere, infertilite problemi olan pek çok çiftin prognozunu iyileştirmiştir<sup>[5]</sup>.

İnfertilite tedavisinde son aşamayı YÜT, İVF ve İntrasitoplazmatik sperm enjeksiyonu (İCSİ) oluşturmaktadır. Burada genel prensip, değişik ovulasyon indüksiyon protokolleri ile kontrollü over stimülasyonu yapılarak, over folliküllerinden aspire edilen matür oositler ile ejakulattan veya cerrahi yolla elde edilen spermlerin laboratuvar ortamda fertilizasyonu ve in vitro kültür şartlarında geliştirilen embriyoların uterus kavitesine verilmesidir<sup>[7]</sup>. Bu hastalarda artan veya

çeşitli nedenlerden aynı sıklusta kullanılmayan embriyoların daha sonra kullanmak üzere dondurulması (kriyoprezervasyon) ikinci bir gebelik şansı kazandırabilmektedir. Daha sonraki sıklusta hastaya ovulasyon indüksiyonu uygulanmadığı için siklus daha kolay ve daha düşük maliyetlidir. Aynı zamanda dondurulan embriyolar birkaç siklusta çözülerek kullanılabilir.

Dondurulup çözülen embriyoların yaşama olasılığı, embriyo kalitesi ve sonuçta ortaya çıkan gebelik hızı birçok nedene bağlı değişmektedir. Dondurulan embriyoların evresi, embriyoların dondurulmadan önceki kalitesine göre seçme kriterleri, genetik faktörler, dondurma yöntemleri, çözme yöntemleri, dondurulup çözülmüş embriyoların transferi için endometrial hazırlık sonuçları etkileyen önemli faktörlerdendir<sup>[8]</sup>.

Son on yılda dondurup çözülmüş embriyo transferi siklusları sayısının in vitro fertilizasyon (İVF) sikluslarına göre önemli oranda arttığı ve aynı zamanda dondurulup çözülmüş embriyo transferleri sonrası canlı doğum oranlarının da arttığı izlenmektedir<sup>[8]</sup>. Dondurulup çözülmüş sikluslardaki gebelik oranları İVF sonrası kümülatif gebelik oranlarını da etkilemektedir<sup>[9]</sup>. İlginç bir şekilde, son dönem dondurulup çözülmüş embriyo transfer sikluslarında başarı oranlarının taze siklus embriyo transfer başarı oranlarına yaklaştığı bildirilmektedir<sup>[8]</sup>. Bu da İVF-de hiç taze embriyo transferi yapılmadan tüm embriyoların dondurulması, gebelik hızını yükseltebileceği ihtimalini desteklemektedir<sup>[8]</sup>.

Embriyolar Slow Freezing (yavaş dondurma) ve Vitrifikasyon (hızlı dondurma) yöntemleri ile dondurulmaktadır. Dondurma protokollerinden hangisinin üstün olduğu konusunda ortak fikir bulunamamaktadır. Bazı

makalelerde Vitrifikasyon yönteminin Slow Freezing yöntemine açık bir şekilde üstün olduğu, gelecekte tek embriyo dondurma yöntemi olarak kullanılabileceği, fakat tüm embriyo çeşitlerinin dondurulması için daha geliştirilmeğe ihtiyaç olduğu gösterilse de<sup>[10-12]</sup>, diğer grup çalışmalarda Vitrifikasyonun Slow Freezing yöntemine üstünlüğü gösterilememektedir<sup>[13]</sup>. Çünkü yukarıda da bahsedildiği gibi, dondurma protokolü dondurulup çözülen embriyo kalitesini ve bu siklusların başarı hızını belirleyen tek neden olmadığı için merkezden merkeze en iyi protokolün hangisi olduğu fikri değişmektedir. Dondurma protokollerinden hangisinin üstün olduğu konusunda ve taze siklus embriyo transfer döneminin terk edilip, sadece dondurup çözülen embriyo sikluslarının yapılması döneminin gelip gelmediği konusunda yüksek kaliteli çalışmalar devam etmektedir <sup>[8, 14]</sup>.

Çalışmamamızın amacı GÜTF Tüp Bebek Merkezinde yapılan dondurulup çözülmüş embriyo transferi sikluslarını retrospektif olarak taramakla, Slow Freezing ve Vitrifikasyon yöntemleri arasında gebelik hızını etkileyen faktörleri belirlemek ve bu gebelik hızının zaman içerisinde değişimini değerlendirmektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İnfertilite

#### 2.1.1. Tanı ve İnsidans

İnfertilite bir yıl boyunca korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebe kalamama durumu olarak tanımlanmaktadır<sup>[1, 15]</sup>. Görünürde yaşamı tehdit eden bir hastalık olarak sınıflandırılmasa da, hem bireyi, hem de toplumu etkileyen, biyolojik, sosyal, kültürel ve psikolojik boyutları olan bir sağlık sorunudur. Çiftlerin yaklaşık %85-90' ında 12 aylık korunmasız ilişki sonrasında gebelik oluşmaktadır<sup>[3]</sup>. On iki ay süreyle kontrasepsiyon yöntemleri kullanmadıkları halde gebelik oluşmayan sağlıklı genç çiftlerin yaklaşık %50'si de devam eden 36 ay içerisinde gebe kalabilmektedir<sup>[4]</sup>. On iki ay sonrasında gebe kalan çiftler subfertil olarak değerlendirilmektedir<sup>[3]</sup>.

Fekundabilite, siklus başına gebelik elde etme oranı olarak tanımlanmakta olup, sağlıklı genç çiftlerde yaklaşık %20'dir<sup>[1]</sup>, ovulasyon günlerindeki cinsel ilişki zamanlaması ile dahi olsa, %35' i geçmemektedir<sup>[5]</sup>. Fekundite ise tek bir siklusda canlı doğum yapabilme olasılığını ifade etmektedir ve tanısı gereği fekundabiliteye göre oranı daha düşüktür.

Genel infertilite insidansı % 10-15 olarak bildirilmiştir<sup>[5, 16, 17]</sup>. Genel algının aksine, infertilitenin toplam sıklığı son 30 yılda nispeten değişmeden kalmıştır<sup>[5]</sup>. Bununla birlikte, hastaların kliniklere başvuruları incelendiğinde, son on yılda infertilite nedeniyle yapılan başvuruların arttığı gözlenmektedir<sup>[18]</sup>. Bu artışın nedenleri arasında artan fırsatlara bağlı kadınların eğitime ve kariyere

odaklanmasının artması, evlilik yaşının artması, korunma yöntemlerindeki gelişmelerin ve aile planlaması hizmetlerine ulaşımın iyileşmesi, çocuk sahibi olmanın gecikmesi çarpıcı nedenler arasındadır<sup>[5]</sup>. İnfertilite nedeniyle başvuruların artmasında yeni tedavi yöntemlerinin gelişmesi ve gebelik hızının zaman içinde daha yüksek olması da önemli rol oynamaktadır. İnfertilite ile ilgili hizmetlerin boyutu ve elde edilebilirliği son 25 yılda önemli ölçüde artmıştır<sup>[5]</sup>. İnfertilite daha görünür ve sosyal olarak kabul edilebilir hale geldiği için, çiftlerin değerlendirilme ve tedavi arama konusundaki eğilimlerinin artmasına neden olmuştur<sup>[5]</sup>.

## **2.2. İnfertilite Nedenleri**

İnfertilite nedenleri incelendiğinde, infertil çiftlerin %30-da primer erkek faktörü vardır, %20-30'da erkek faktörü ile birlikte kadına bağlı faktörler bulunmaktadır. İnfertil vakaların %40-50'sinden ise kadınlar sorumludur<sup>[18]</sup>. İnfertil çiftlerin %25'inde birden fazla infertilite nedeni mevcuttur<sup>[19]</sup>. %10-15 çiftte ise günümüzdeki mevcut standart tanısal testler ile açıklanamayan infertilite mevcut olduğu görülmektedir<sup>[4]</sup>. Kadın infertilitesi nedenleri arasında önde gelen nedenlerden tuba-peritoneal faktör (%30-40) ve anovulasyon (%15) yer almaktadır<sup>[16]</sup>. İnfertil çiftler dikkatli değerlendirildiğinde %10-15' inde muhtemel sebep tespit edilememektedir. Çiftlerin %50-60'ı IVF gibi ileri reproduktif teknolojilere gerek duymadan diğer tedavi yöntemleriyle gebe kalabilmektedir. İnfertilite tanısı alan çiftlerin %15-20'sinde hiçbir tedavi yapılmadan spontan gebelik olmaktadır<sup>[18]</sup>.



### 2.2.1. Kadın İnfertilitesi

Kadın İnfertilitesinin nedenleri incelendiğinde, çeşitli nedenlerin prevalansı toplumdan - topluma değişmekte olup,

- ovulatuvar disfonksiyon (%20-40),
- tubal veya peritoneal faktör (%20-40) ve
- diğer nedenler (%10-15) şeklinde gruplaştırılabilir<sup>[20]</sup>.

Hasta değerlendirirken dikkatli alınan öykü ve fizik muayene infertilite nedenini belirlemeye yardımcı olur. Yaş, infertilite süreci, varsa önceki obstetrik öykü, menstrual siklus düzeni, özellikleri, dismenore, seksüel hikaye, cinsel ilişki sıklığı, daha önce kullanılan kontrasepsiyon yöntemleri, mevcut hastalıklar, pelvik inflamatuvar hastalık öyküsü, seksüel bulaşıcı hastalıklar, daha önce geçirmiş olduğu operasyonlar kadın infertilitesi değerlendirilmesinde sorgulanmalıdır. Daha önce infertilite nedeniyle araştırılmışsa, eldeki sonuçlar, bu nedenle aldığı tedaviler, sigara, alkol ve diğer madde kullanımı, kullandığı ilaçlar, galaktore, hirsutizm, tiroid hastalıkları semptomları, kilo değişiklikleri, pelvik ve abdominal ağrı sorgulanmalı ve aile öyküsü (infertilite, erken menopoz) alınmalıdır.

Fizik muayenede genel değerlendirmenin yanı sıra kilo ve vücut kitle indeksi kaydedilmesi gerekmektedir. Tiroid fonksiyonlarının değerlendirilmesi yapılmalı, memede sekresyon, androjenik deri değişiklikleri araştırılmalıdır. Pelvis veya abdomen muayenesinde hassasiyet, kitle, organ büyümesi, adneksiyal veya cul de sac ta kitle, hassasiyet, nodularite, vajinal ve servikal anormallikler, vajinal akıntı değerlendirilmelidir.

### ***Ovulatuvar disfonksiyon***

Ovulatuvar disfonksiyon, ovulasyonun seyrek olması (oligoovulasyon) veya olmaması (anovulasyon) fertilize olabilecek oositin her ay oluşmaması sonucu ortaya çıkar. Aylık mens ve molimina (göğüslerde hassasiyet, dismenore ve şişkinlik) tarif eden kadınlar genelde ovulatuvarlardır<sup>[5]</sup>. Ovulasyonu öngörmeye kullanılan bazal vücut ısısı ölçümleri, servikal mukus incelemeleri, midlüteal serum progesteron düzeyi ölçümü (> 3 ng/mL), üriner LH artışı, endometriyal biyopsi, USG-de corpus luteum görülmesi ve. s gibi testler kullanılsa da, ovulasyonun en güvenilir kanıtı gebeliktir<sup>[5]</sup>.

DSÖ sınıflamasına göre, anovulasyon tipleri:

#### *Grup 1. Hipogonadotropik Hipogonadizm:*

- İdiopatik
- Kallman Sendromu
- Fonksiyonel hipotalamik disfonksiyon (anoreksiya nevroza, ağır egzersiz, stres, ilaçlar ve s.)

#### *Grup 2. Normogonadotropik Anovulasyon:*

- PKOS (Polikistik Over Sendromu)

#### *Grup 3. Hipergonadotropik Hipogonadizm:*

- İdiopatik
- İatrojenik ( cerrahi menapoz, radyasyon, kemoterapi)
- Genetik
- Otoimmün nedenler
- Enfeksiyonlar

*Diğer Endokrinopatiler:*

- Hiperprolaktinemi
- Tiroid bozuklukları
- Konjenital adrenal hiperplazi
- Hormon salgılayan over tümörleri

Hipogonadotropik Hipogonadizm çoğu zaman idiopattiktir ve bu hastalarda çocuk istemi varsa, gonadotropinlerle ovulasyon induksiyonu tedavisi yapılmalıdır.

Normogonadotropik Anovulasyonlu hastalar çoğu zaman PKOS'u olan hastalardır ki, bu grup hastalar tüm dünyadaki kadınların %5-8' ini teşkil etmektedirler<sup>[21]</sup>. Genellikle oligomenorre ile birlikte eşlik eden hiperandrojenizm bulguları (hirsutizm, akne, kilo alımı) vardır<sup>[22]</sup>. Hiperandrojenizm detaylı araştırıldıktan sonra, çocuk istemi varsa, insülin rezistansını azaltan ajanlar ve klomifen sitratla ovulasyon indüksiyonu ilk basamak tedavidir<sup>[4, 23]</sup>.

Hipergonadotropik Hipogonadizm primordiyal folliküllerin tükenmesi sonucu ortaya çıkar, primer ve sekonder olabilir. Primer hastalık kromozomal defektlere bağlı olarak, sekonder ise geçirilmiş hastalıklar, otoimmünite, radyasyon, kimyasal ajanlar ve s. nedenlerden ortaya çıkabilir. ovulasyon indüksiyonu gereksiz ve kontraendikedir. Gebelik oosit donasyonu ile mümkündür<sup>[7]</sup>.

*Over rezervi testleri*, over follikül havuzunun büyüklüğünün ve kalitesinin biyokimyasal ve ultrasonografik ölçümlerini içermektedir. Bu amaçla kullanılan biyokimyasal testler hem siklusun 2.-4. günlerinde bakılan FSH, LH, östradiol,

inhibin B, antimüllerian hormon (AMH) gibi bazal ölçümler, hem de klomifen sitrat testi gibi provakatif testler kullanılabilir. Over rezervinin ultrasonografik ölçümleri antral follikül sayısı ve over hacmini içermektedir. Bu testlerin amacı azalmış over rezervi olan hastaları saptamak olduğundan yanlış pozitiflikten kaçınmak için testlerin sadece azalmış over rezervi riski olanlara uygulanması önerilmektedir<sup>[5]</sup>. Ailede erken menopoza öyküsü, geçirilmiş over cerrahisi, kemoterapi veya pelvik radyasyon öyküsü olanlar, açıklanamayan infertilite problemi olan hastalar, daha önce gonadotropinlere zayıf cevap veren hastalar over rezervi değerlendirilmesi gereken hastalardır<sup>[7]</sup>.

### ***Tubal veya peritoneal faktör***

Tuba-peritoneal nedenler arasında pelvik adezyonlar, endometriozis ve önceden geçirilmiş bilateral tüp ligasyonu bulunmaktadır. İnfertilitenin en sık görülen nedenlerinden olup, hem genç, hem de ileri yaş kadınların %30-35'de primer tanıdır<sup>[24, 25]</sup>. Pelvik inflamatuvar hastalık (PİH), endometriozis, septik düşükler, rüptüre apandisit, tubal cerrahi veya ektopik gebelik öyküsü tubal hasar olasılığını şiddetle düşündürmektedir<sup>[26]</sup>. Laparoskopi ile PİH tanısı konulan kadınlardaki klasik çalışmalar bu hastalarda tubal nedenli infertilite riskinin atak sayısı ve şiddeti ile arttığını (ilk atak sonrası %10-12, ikinci sonrası %23-25, üçüncü akut PİH atağı sonrası %54-75) göstermiştir<sup>[24, 27-30]</sup>. PİH sonrası ektopik gebelik riski 6-7 kat artmaktadır<sup>[5]</sup>. Tubo-peritoneal infertilite tanısı olan ve PİH öyküsü olmayan birçok kadında nedenin sessiz asendan enfeksiyonlar olduğu

düşünülmektedir<sup>[30-34]</sup>. PİH nedenlerinin %50-80' den *N.Gonore* ve klamidyalar sorumludur<sup>[7]</sup>.

Endometrial stroma ve bezlerin uterus dışında, myometrium veya vücudun diğer tüm dokularında yerleşmesi olarak bilinen ve kronik pelvik ağrı, dismenore, disparoni gibi semptomları olan endometriozis de pelvik adezyonlara neden olarak tubal transportu engelleyebilir. Fertil kadınlarda %5 oranında iken; infertil popülasyonda %25-50 gibi yüksek prevalansta görülür<sup>[34]</sup>. İnfertilite nedenleri arasında tek başına %25 orana sahiptir<sup>[35]</sup>.

Histerosalpingografi (HSG) ve laparoskopi infertil çiftlerde tubal geçidin durumunu belirleyen klasik yöntemlerdir. Laparoskopi özellikle histeroskopi eşliğinde yapılırsa, aynı seansta hem uterus kavitesini, hem tuba-peritoneal adezyonları ve aynı zamanda diğer pelvik ve abdominal organları gözlemlemeğe olanak sağlayabilmektedir. Son zamanlar sonohisterosalpingografi de HSG ile eşdeğer tanı yöntemi olarak kullanılmaktadır. Klamidya antikör testleri dolaylı olsa da, tubal faktörü değerlendirmede kullanılan ucuz ve minimal invaziv diğer bir yöntemdir<sup>[36, 37]</sup>.

Tuba-peritoneal nedenli infertilitede tedavi seçenekleri cerrahi ve İVF'dır. Son yirmi yılda İVF başarı oranları artmıştır (%10' dan %40' ın üzerine), sıklıkla cerrahi ile bu oran daha da artmaktadır<sup>[38]</sup>. Cerrahi tedavi, geçirilmiş tubal sterilizasyon sonrasında gebelik isteyen kadınlarda, peritubal adezyonları olup tüpün açık olduğu durumlarda ve/veya proksimal tubal tıkanıklığı olan bazı kadınlarda hala uygun bir seçenektir. Bütün diğer durumlarda İVF en iyi seçenektir. Laparoskopik salpenjektomi veya proksimal tubal oklüzyon İVF başarı

oranlarını 2 kat artırmaktadır ve hidrosalpinksisi olan ve İVF planlanan bütün kadınlara önerilmelidir<sup>[39, 40]</sup>.

### ***Diğer nedenler***

Uterusun anormallikleri infertilitenin daha nadir nedenlerindedir, fakat her an göz önünde bulundurulması gerekir. Doğurganlığı olumsuz yönde etkileyebilecek uterin nedenler: uterusun konjenital anomalileri, leiomyomlar, intrauterin yapışıklıklar (Asherman Sendromu), endometriyal polipler ve kronik endometrittir. Uterus kavitesi ile ilgili patolojileri (kronik endometrit hariç) saptamak için transvajinal ultrasonografi (TV USG), HSG, saline sonohisterografi değerli tanı yöntemleri olsa da histeroskopi eşzamanlı tanı ve tedavi imkanı sağlayan altın standarttır<sup>[41]</sup>.

### ***2.2.2. Erkek İnfertilitesi***

Erkek infertilitesi tek başına infertilitenin yaklaşık %20-30'undan sorumlu olabilecek iken, infertil çiftlerin yaklaşık % 20-40'ında da katkıda bulunmaktadır<sup>[42]</sup>. Erkeklerde infertilite insidansı %7' dir ve bu olguların çoğunda neden bozulmuş spermatogenezdir<sup>[43]</sup>. Yaklaşık %40 olguda bir neden bulunamamaktadır<sup>[44]</sup> ve nedeni saptanan patolojilerin sadece %30' u tedavi edilebilir<sup>[45]</sup>. Erkek infertilitesi nedenleri dört başlık altında incelenebilir<sup>[42]</sup>.

**1. Hipotalamo-hipofizer bozukluklar (Pre-testikuler nedenler) (%1-2):**

- İdyopatik izole gonadotropin eksikliği, Kallman sendromu, tek gen mutasyonları, hipotalamik ve hipofizer tümörler (kraniofarengioma, ilaçlar (GNRH (Gonadotropin salgılatıcı hormon) analogları, glukokortikoidler), kronik sistemik hastalıklar, kritik hastalıklar, enfeksiyonlar (menenjit), obezite.

**2. Primer gonadal bozukluklar (Testikuler hastalıklar) (%30-40):**

- Klinefelter sendromu, Y kromozom delesyonları, tek gen mutasyonları ve polimorfizmleri, kriptorşidizm, varikosel, enfeksiyonlar (viral orşit, tüberküloz), ilaçlar (antiandrojen, alkali ajanlar), radyasyon, çevresel faktörler (ısı, sigara, organik materyaller).

**3. Sperm transport bozuklukları (Post-testikuler patolojiler) (%10-20):**

- Epididimal obstrüksiyon veya disfonksiyon, konjenital vaz deferens yokluğu (CFTR gen mutasyonları), enfeksiyonlara bağlı vaz deferens obstrüksiyonu (klamidya, tüberküloz), vazektomi, Kartagener sendromu (primer siliyer diskenezi), Young sendromu (azoospermi + sinobronşial hastalık), ejakulatuar disfonksiyon (spinal kord hastalıkları, otonomik disfonksiyon).

**4. İdyopatik (%40-50).**

Düzenli korunmasız 1 yıllık cinsel ilişkiye rağmen gebelik oluşmamışsa, kadın ile birlikte erkek eşin değerlendirilmesi de yapılmalıdır<sup>[42]</sup>. Kadında olduğu gibi erkek eş de dikkatli öykü ve fizik muayene ile değerlendirilmelidir. Öyküde infertilite hikayesi ve önceki gebelik hikayesi, koitus sıklığı ve seksuel

disfonksiyon, daha önceki değerlendirmeler ve infertilite tedavileri, çocukluk dönemindeki gelişimi ve geçirdiği hastalıklar, operasyonlar, kronik hastalıklar (diyabet), geçirdiği üst solunum yolu enfeksiyonları, cinsel yolla bulaşan hastalıklar, çevresel toksin ve ısı maruziyeti, kullanılan ilaçlar ve allerjiler, meslek, sigara, alkol ve ilaç bağımlılığı sorgulanmalı; fizik muayenede uretral açıklığın yerini belirleyerek penis muayenesi, testis palpasyonu ve büyüklüğünün ölçümü, vasa ve epididimisin varlığı ve sertliği, varikosel varlığı, vücutta tüylerin dağılımı, meme gelişimi gibi sekonder seks karakterlerinin gelişimi, rektum muayenesi yapılmalıdır<sup>[46]</sup>.

Erkek infertilitesi çoğunlukla semen analizine yansıdığından, hastaya 2-3 günlük cinsel perhizden sonra semen analizi yapılmalıdır. Daha kısa perhiz süresi semen volümünde ve yoğunluğunda azalmaya sebep olmakla beraber, sperm motilite ve morfolojisine etkisi olmaz<sup>[47]</sup>. Daha uzun perhiz süresi ise semen volüm ve yoğunluğunun artmasına rağmen, ölmüş, hareketsiz, anormal morfolojili sperm sayısında artışa neden olur<sup>[48]</sup>.

DSÖ' nün 2010 yılında yayınladığı en düşük referans değerleri aşağıda gösterilmiştir<sup>[49]</sup>. (Tablo 1.)



**Tablo 1. Semen analizi için en düşük referans değerler WHO (World Human Organization) 2010<sup>[49]</sup>.**

<b>Parametreler</b>	<b>En düşük referans değer</b>
Semen volümü (ml)	1,5 (1,4-1,7)
Total sperm sayısı (10 <sup>6</sup> )	39 (33-46)
Sperm konsantrasyonu (10 <sup>6</sup> /ml)	15 (12-16)
Total motilite (%)	40 (38-42)
Progresif motilite (%)	32 (31-34)
Vitalite (%)	58 (55-63)
Normal morfoloji (%)	4 (3-4)

İnfertilitede erkek faktörünün değerlendirilmesinde en az 4 hafta ara ile uygun perhiz şartlarında yapılmış 2 semen analizinin olması gerekmektedir<sup>[46, 50]</sup>.

### *2.2.3 Açıklanamayan İnfertilite*

Açıklanamayan infertilite, sistematik değerlendirme sonucunda ortaya çıkacak bir neden saptanmaması durumudur. Toplumlar içerisinde insidansı değişmekle beraber, %10-30 gibi yüksek oranlara ulaşabilmektedir<sup>[50]</sup>. Açıklanamayan infertilite tanısı koymak normal sınırlarda semen analizi, bilateral tubaların açık ve işlevsel olması, aylık ovulasyonun olması ve normal bir uterus kavitesinin olması gerekmektedir.

Açıklanamayan infertilite yüksek olasılıkla, üremeyle ilgili verimin normal dağılımının alt sınırını oluşturmaktadır. Açıklanamayan infertilite tedavilerini değerlendiren çalışmalarda tedavi edilmeyen çiftlerin fekundabilitesi %2-4 arasında değişmektedir<sup>[51]</sup> ki, bu da normal fertil çiftlerden yaklaşık %80-90 daha düşüktür. Evers çalışmasında açıklanamayan subfertilitesi olan çiftlerin üç yıllık infertilite sonrası tedavisiz gebelik olasılığının yaklaşık %35'e, 5 yıl sonra ise

yaklaşık %20' ye düştüğünü göstermiştir<sup>[52]</sup>. Tedavi desteği almadan gebe kalma ihtimali artan kadın yaşı ve infertilite süresi ile orantılı olarak azalmaktadır<sup>[53, 54]</sup>. Bu nedenle, açıklanamayan infertilitesi olan çiftlerde yardımcı üreme tedavilerinin, bekle gör yönetimine tercih edilmesi önerilmektedir.

### **2.3. Yardımcı üreme teknikleri**

İnfertil çiftlerin tedavisi, infertilite nedeninin veya nedenlerinin saptanması ve nedene yönelik tedavi ile daha başarılı şekilde yapılmaktadır. Çocuk sahibi olamayan çiftlerin birçoğu bu sorunu hormon tedavisi, ameliyat ya da yardımcı üreme teknikleri gibi yöntemlerle giderirken, bazılarında yumurta ve/veya sperm sayısının artırılması ya da yumurtalarla sperm bir araya getirilmesi için düzenlenen daha ileri, özel tıbbi tekniklere başvurulması gerekir.

İn vitro fertilizasyon (IVF) ve diğer yardımla üreme teknolojilerinin kullanılmaya başlaması, üremeyle ilgili süreçlerin yeni yollarla ve daha açıklayıcı bir şekilde araştırılmasına olanak sağlamıştır ve özellikle infertilite nedeni tubal hasar veya erkek faktörü olanlar olmak üzere, infertilite problemi olan pek çok çiftin prognozunu iyileştirmiştir<sup>[5]</sup>.

Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT) tanım olarak, gebelik elde etmek için oositlere (gametlere), zigotlara ve embriyolara yapılan işlemleri ifade etmektedir<sup>[4, 9]</sup>. Yardımcı üreme teknikleri sırasında İn Vitro Fertilizasyon (IVF), İntrastoplazmik Sperm İnjesiyonu (ICSI), Gamet İntrafallopian Transfer (GIFT), Zigot İntrafallopian Transfer (ZIFT), Preimplantasyon Genetik Tanı (PGT) sayılabilir.

Günümüzde yardımcı üreme tekniklerinin (YÜT) ilerlemesiyle infertilite tedavisindeki başarı oranları artmış ve daha çok infertil çiftin sağlıklı ve canlı bebeğe sahip olma şansı yükselmiştir. YÜT overden yumurtaların elde edilmesini veya spermın hazırlanarak kullanılmasını sağlayan tüm teknikleri içermektedir. İlk yöntem intrauterin inseminasyon (IUI) olmakla beraber, en yaygın yöntem in vitro fertilizasyon (IVF) olup, ancak gün geçtikçe teknolojik yöntemler de sayıca artmaktadır.

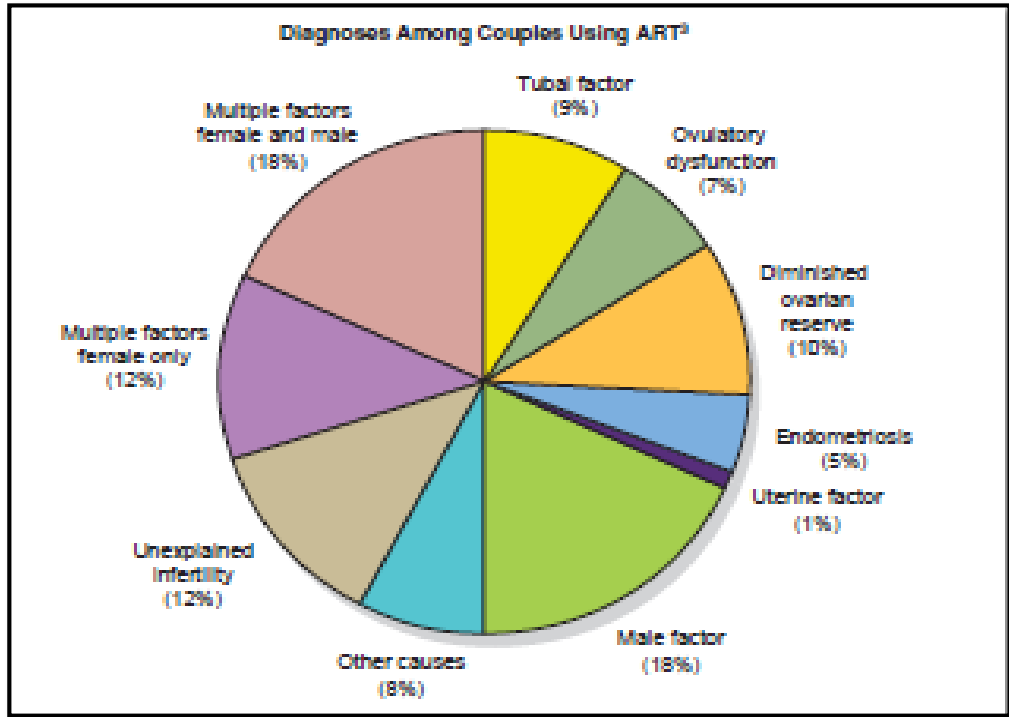
### **2.3.1. İnvitro Fertilizasyon**

İlk tüp bebek Patrick Steptoe ve Robert Edwards tarafından geliştirilen in vitro fertilizasyon (IVF) yöntemi sayesinde, 1978 yılında doğmuştur<sup>[9]</sup>. Bugün Amerika Birleşik Devletlerinde İVF tüm YÜT 'inin %99' nu oluşturmaktadır<sup>[4]</sup> ve günümüzde gebeliklerin %2-4'ü IVF gebeliğidir. Her 6 çiftten birinin infertilite problemi olduğu Avrupa ülkelerinde doğumların %3' ünün YÜT uygulamaları sonucu ortaya çıkan gebeliklere bağlı olduğu bildirilmektedir<sup>[55]</sup>.

İn Vitro fertilizasyon (İVF) - kontrollü ovaryan hiperstimulasyon sonucu ortaya çıkan çok sayıda over folliküllerinden oositlerin aspirasyonu, oositlerin laboratuarda in vitro ortamda fertilizasyonu, embriyoların laboratuarda inkübasyonu, ve embriyoların kadın uterusuna transservikal transferi prosedürüdür. Klasik İVF' de sperm, laboratuvar koşullarında uygun şekilde hazırlanarak, yumurtalar en yüksek kalitede hareketli spermle karşılaştırılmaktadır. İVF yalnızca kalitesi nispeten iyi ve yeterince hareketli sperm olduğunda uygulanabilmektedir. Klasik İVF uygulamasında her bir oosit

yaklaşık 10.000-100.000 spermle insemine edilir<sup>[56]</sup>. Diğer fertilizasyon yöntemi, oosite intrastoplazmik sperm injeksiyonu (İCSİ) yöntemidir.

İVF ilk aşamada onarılması mümkün olmayan tubal hasarlı hastalar için planlansa da, günümüzde tüm infertilite nedenlerine uygulanabilmektedir (Şekil1).



Şekil 1. YÜT uygulanan çiftlerde tanıların dağılımı<sup>[57]</sup>.

Hastanın yaşı, infertilite süresi ve nedeni, stimülasyon protokolü, transfer edilen embriyo sayısı ve kalitesinin yanında uterus anormallikleri veya endometriozis olması gibi birçok faktör İVF sonuçlarını etkileyebilmektedir<sup>[58]</sup>.

Yardımcı üreme tekniklerinin son 10 yıl içinde çok hızlı bir şekilde gelişmesine rağmen en gelişmiş yardımcı üreme merkezlerinde bile bir döngü başına düşen gebelik oranı yaklaşık olarak %30-35 tir, böylece bir çok infertil çift

yüksek maliyetine rağmen çocuk sahibi olabilmek için medikal tedavileri arama çabasında olmaya devam etmektedir.

## **2.4. Kriyoprezervasyon**

Kriyoprezervasyon hasarlaşmaya hassas hücre ve dokuların özel koruyucu maddeler kullanarak -196°C sıcaklıkta korunması süreci olup, İVF sikluslarında embriyo transferi sonrasında artan veya çeşitli nedenlerden aynı siklusta kullanılmayan embriyoların daha sonra kullanılmak üzere dondurulması için kullanılır<sup>[59]</sup>. Kriyoprezervasyon yapılan embriyoların tekrar çözülmesi ile tekrar gebelik şansı sağlanabilmektedir. Ayrıca, daha sonraki siklusta hastaya ovulasyon indüksiyonu uygulanmadığı için siklus daha kolay ve daha düşük maliyetlidir. Aynı zamanda dondurulan embriyolar birkaç siklusda çözülerek kullanılabilir.

### *2.4.1. Tarihçe*

Tarihte kriyobioloji ile ilişkili en önemli gözlem kutup kurbağalarının kışın başlangıcında donmaya dayanıklılık oluşturan bir madde salgıladıklarını ve donarak kışı bu şekilde geçirip, bahar aylarında yeniden çözünerek hayata devam ettiklerini ilerleyen yıllarda tespit edilmekle olmuştur<sup>[60-62]</sup>.

Tarihsel olarak, kriyoprezervasyonun icadı 1949 yılında İngiliz biyologu EJ Christopher Polge tarafından kriyoprotektan olarak gliserolün tesadüfen bulunması ile bağlantılıdır. O, canlı hücre ve dokuların çok düşük ısıda nasıl korunabileceğinin sırrını fark etmiş, kriyoprotektan gibi gliserolu kullanarak,

kümes hayvanları spermelerini yaklaşık bir yıl süreyle dondurmuş ve çözme sonrası yüksek gebelik oranları elde ettiğini bildirmiştir<sup>[63]</sup>.

1953 yılında Jerome K. Sherman (ABD) insan spermelerini başarılı bir şekilde dondurup çözdü ve 1953 yılında ilk sperm bankacılığının temeli koyuldu. İnsan sperm kriyoprezervasyonu sonrasında dünyaya gelen ilk bebek 1954 yılında Bunge tarafından bildirilmiştir<sup>[64]</sup>.

1983 yılında Avusturalya' lı biyolog Alan Trounson erken insan embriyolarını fertilizasyondan 1-3 gün sonra dondurmakla başarılı gebelik elde etmiştir<sup>[9, 65]</sup>.

1986 yılında yine Avusturalya' lı Christopher Chen insan oositlerini başarılı bir şekilde dondurup çözerek, inseminasyonla ikiz gebelik elde etmiştir<sup>[66]</sup>.

1983 yılında kriyoprotektan dimetilsulfoksit (DMSO) ile dondurulmuş embriyolardan ilk doğumun gerçekleşmesi bu alanda yeni dönemin açılmasına neden oldu<sup>[65]</sup>.

O zamandan beri kriyobiyojideki gelişmeler sayesinde kriyoprezervasyon YÜT' inin ayrılmaz parçası haline gelmiştir. Çünkü maliyetinin düşük olmasına rağmen, dondurulup çözülmüş sıklulardaki gebelik oranları İVF sonrası kümülatif gebelik oranlarını da etkilemektedir<sup>[9]</sup>.

#### *2.4.2. Kriyoprezervasyon Endikasyonları*

Son on yılda dondurup çözülmüş embriyo transferi sıkluları sayısının in vitro fertilizasyon (İVF) sıklularına göre arttığı ve aynı zamanda dondurulup

çözölmüş embriyo transferlerinin canlı doğum oranlarında artış izlenmektedir<sup>[8]</sup>. İlginç bir şekilde, son dönem dondurulup çözülmüş embriyo transfer sikluslarında başarı oranları taze siklus embriyo transfer başarı oranlarına yaklaşmıştır<sup>[8]</sup>. Tüm bu gelişmeler kriyoprezervasyonun yardımcı üreme tedavilerinin ayrılmaz parçası olmasının nedenidir.

Kriyoprezervasyon endikasyonlarını incelerken, tıbbi ve yasal nedenlerden doğan endikasyonlarını görebiliriz. Overlerin hiperstimulasyon sendromu (OHSS), endometrium kaynaklı uterus kanamaları, ovulasyon indüksiyonunun ortalarında erken progesteron yükselmesi, transfer döneminde fetotoksik ilaç kullanma zorunluluğu gibi taze (ovulasyon indüksiyonunun yapıldığı) siklusun ertelenmesi ve özellikle de over rezervinin kötü olduğu hastalarda ve ileri derece oligospermi olgularında toplanmış oositlerin in vitro ortamda fertilizasyonu yapılarak kriyoprezervasyon uygulanmaktadır<sup>[9, 67]</sup>. Yardımcı üreme tekniklerinin gelişimi ile ilgili artan çoğul gebelikleri ve buna bağlı komplikasyonları önlemek için çoğu ölkelerde transfer edilen embriyo sayısının kısıtlı olması taze siklusta transfer edilebilen embriyolardan arta kalan embriyoları saklanması ve sonraki sikluslarda kullanılması fikri de kriyoprezervasyonun giderek daha fazla kullanılmasına neden olmuştur. Ayrıca, ileri derecede oligospermi durumu olan hastalarda, sperm kriyoprezervasyonu yapılmaktadır, özellikle malignite durumlarında kemoterapi veya radyoterapi öncesi testis veya over dokusunun dondurularak saklanması mümkündür.

Günümüzde gamet (sperm, oosit), zigot, embriyo, blastokist, testis ve over doku kriyoprezervasyonları yapılmaktadır<sup>[68]</sup>.

### 2.4.3. Kriyoprotektanlar

Kriyoprotektanlar dondurma sırasında hücre içi organelleri ve hücre zarını oluşturan buz kristallerinden koruyan maddelerdir. Kriyoprotektan olarak ilk kez sperm dondurmada gliserol kullanılmış, sonraki yıllarda bu amaçla farklı kimyasallar denenmiştir<sup>[67]</sup>. Kriyoprotektanlar intrasellüler (permeabl) ve ekstrasellüler (impermeabl) olmakla iki türdürler.

*Intrasellüler (permeabl) kriyoprotektanlar.* Oosit ve embriyo kriyoprezervasyonlarında en yaygın kullanılan ajanlardır. Gliserol, etilen glikol, dimetilsulfoksit (DMSO), 1,2-propanediol bu grup maddelerdendir, suda çözünen, su molekülleriyle hidrojen bağı oluşturup hücre içine geçebilmektedirler. Genellikle -15°C' in derecenin altında buz oluştururlar. Bu ajanlar intrasellüler buz kristallerinin oluşumunu -40°C' ye kadar düşürebilmektedir.

*Ekstrasellüler (İmpermeabl) kriyoprotektanlar.* Bu gruba monosakkaritler (glukoz ve heksoz), disakkaritler (sukroz) ve trisakkaritler (rafinoz) aittir. Tek başına kriyoprotektan olarak kullanılmaları da, diğer kriyoprotektanlarla birlikte osmotik basınç farklılıklarının oluşturacağı zarara karşı koruyucudurlar. En sık kullanılanı sukrozdur.

### 2.4.4. Kriyoprezervasyon Yöntemleri

Kriyoprezervasyon üç aşamadan ibarettir:

Dondurma (Freezing), depolama ve çözme (Thaw)

Dondurma sırasında dikkat edilmesi gereken husus hücre sıvısının donma sırasında kristalleşerek hücre içi organellere mekanik zarar vermesini



önlemektir<sup>[68]</sup>. Bu nedenle dondurma yöntemlerinde kriyoprotektif ajan kullanılarak kritik sıcaklıkta buz oluşumu kontrolü ile yapılır. İnsan hücreleri içerisinde kriyoprotektan olan bir vasata konulduğunda hücre içi suyun kriyoprotektanın yüksek hücre dışı konsantrasyonu nedeniyle dışarı çıktığı gösterilmiştir. Bu durum suyun kriyoprotektanın hücre içine difüzyonu sonucu osmotik dengenin sağlanmasına kadar hücrenin büzülmesine sebep olur. Dengeye ulaşıldığında hücre eski formuna kavuşur. Sıcaklık arttıkça yer değiştirme hızı da artar. Fakat bazı kriyoprotektanlar (DMSA) yüksek konsantrasyonlarda toksiktir ve bu toksik etkiyi azaltmak için düşük sıcaklık kullanılmalıdır.

### ***Yavaş Dondurma (Slow Freezing)***

Dondurma sırasında hücrelerin zarar görmemesi için değişik kriyoprotektanlar kullanarak kademeli dondurma yöntemidir. Daha çok erken bölünme aşamasında embriyolarda ve blastokistlerde kullanılır.

*Dondurma.* Embriyolar oda sıcaklığında artan konsantrasyonlarda kriyoprotektana maruz bırakıldıktan sonra, sukrozlu tüplere yerleştirilerek kademeli olarak önce -2,0°C' den -7°C' ye, sonra ise -30°C' ye kadar soğutulur ve son olarak kriyotüpler sıvı nitrojene daldırılır.

*Depolama.* Dondurulmuş embriyolar içerisinde sıvı nitrojen olan tanklarda -196°C' de muhafaza edilir. Muhafaza edilen embriyolar transfer edilmezse, çiftlerin imzası ile veya Sağlık Bakanlığı tarafından belirlenen yasal sürenin (5 yıl<sup>[69]</sup>) sonunda imha edilir.

Muhafaza edilme sırasında embriyoların zarar görmesini en aza indirmek için bir takım önlemler alınması gerekmektedir:

- yılda iki kez biyolojik dondurucuların kontrolü ve kalibrasyonu;
- dondurma ve çözme solüsyonlarının kontrolü (endotoksinler ve s.);
- günlük dondurucuların ısı değişimi kontrolü;
- depolama tanklarındaki sıvı nitrojen seviyelerinin kontrolü (haftada 2-3 kez düzenli aralıklarla yapılmalıdır, her haftanın aynı günlerinde yapılması tanklarda zamanla gelişebilecek sızıntıların tespitini sağlayacaktır);
- sıvı nitrojen seviye monitörizasyonu için alarm sistemleri kurulması;
- yedek sıvı nitrojen kaynağı bulundurulması.

*Çözme.* Kriyotüpler 30°C' lik su banyosunda 30-90sn ısındıktan sonra azalan konsantrasyonlardaki kriyoprotektan sıvılardan geçirilir, yıkanır ve transfere kadar inkübe edilir. Çözme süresi yaklaşık 20-30 dk' dır. (Vitrifikasyonda bu süre yaklaşık 15 dk' dır.)

### ***Hızlı dondurma (Vitrifikasyon)***

Vitrifikasyon rapid dondurma yöntemi olup, sıvıların kısa sürede yüksek doz kriyoprotektana maruz bırakılarak cam şekilli solid görünüm elde edilmesidir<sup>[59]</sup>. Bu yönteminde yüksek konsantrasyonlarda kriyoprotektanların (genellikle, %20-%50 etilen glikol) kullanılması ile embriyoların direkt olarak -196°C' lik sıvı nitrojene maruz bırakılması sonucu, sıcaklık düşüşü çok ani gerçekleşmesine rağmen, hücrelerin su kaybı minimal olmakta ve kriyoprotektan hücre dışında bir zar görevi yaparak buz kristalleri oluşmasını engellemektedir.

Vitrifikasyon ilk defa 1985 yılında fare embriyolarının prezervasyonunda kullanılmıştır<sup>[70]</sup>. O zamandan beri devam eden gelişmeler daha az toksik ve daha fazla permeabl kimyasalların kriyoprotektan kısmında kullanılmasına neden olmuştur ki, bu da toksisitenin azaltılmasına ve soğuma ve ısınma oranlarının artmasına ve işlem süresinin kısılmasına neden olmuştur<sup>[71, 72]</sup>. Bu amaçla hem yavaş dondurma yönteminde hem de vitrifikasyon yönteminde daha az toksik ve permeabilitesi yüksek olan etilen glikol tercih edilmektedir<sup>[73, 74]</sup>.

Vitrifikasyon yönteminde, hücre içi suyun bir kısmının buz kristalleri şeklinde kalma ihtimali olduğu için çözme işlemi de hızlı yapılmalıdır<sup>[68]</sup>.

Çözme sonrası embriyolardaki yaşam süresi, implantasyon ve gebelik oranlarını karşılaştırıldığı çalışmalarda, çözme sonrası canlı kalma oranı genel olarak %50-90 arasında olup, zigotlarda (%85-90) erken evre (2. veya 3. gün) embriyolara (%45-60) ve blastokistlere (%50-60) göre daha yüksek bulunmuş, fakat implantasyon (sırasıyla %10-15, %5-20 ve %5-15 aralığında) ve gebelik oranları (sırasıyla %10-20, %10-30 ve %15-30 aralığında) arasında önemli fark saptanmamıştır<sup>[75-79]</sup>.

Çalışmalarda vitrifikasyon yönteminin erken sonuçlarında yüksek embriyo yaşam oranları (%90-100) gösterilmiştir<sup>[11, 12, 80, 81]</sup>. Buna karşın Grifo ve Noyes jinekolojik kanseri olan hastalarda dondurdukları oositleri ve taze İVF sikluslarındaki oositleri karşılaştırarak yaptıkları çalışmada fertilizasyon ve blastokist oluşumunun yavaş dondurmada daha başarılı sonuçlar verdiğini, ancak

çözme sonrası yaşama oranlarının her iki yöntemde farklılık oluşturmadığını göstermişlerdir<sup>[82]</sup>.

Kolibianakis' in yayınladığı derlemede randomize kontrollü çalışmalarda vitrifikasyon yönteminin yavaş dondurma yöntemine göre daha yüksek gebelik oranlarının olmadığı, ancak ısınma sonrası daha yüksek erken evre embriyo ve blastokist oluşturma oranlarına sahip olduğu bildirilmiştir<sup>[83]</sup>. Bu da vitrifikasyon yönteminde canlı embriyoyu elde etmek için daha az sayıda embriyo çözülmesi gerektiğini göstermektedir. Ancak laboratuvarın becerisinin de başarıda önemli rol oynadığı bilinmektedir.

Dondurulup çözülen embriyoların yaşama olasılığı, embriyo kalitesi ve sonuçta ortaya çıkan gebelik hızı birçok nedene bağlı değişmektedir. Bu konuda taze siklusta kullanılan indüksiyon ajanlarının dahi etkili olabileceği konusunda çalışmalar mevcuttur<sup>[84]</sup>. Erken luteinizasyon nedeniyle dondurulan zigotların çözüldükten sonra blastokist evresine kadar kültüre edilmesi ve transferi ile taze sikluslarda yapılan transferleri ile karşılaştıran bir çalışmada ise çözünen grupta daha düşük blastokist oluşumu, ancak daha yüksek implantasyon ve klinik gebelik oranları gösterilmiştir<sup>[85]</sup>.

Dondurulan embriyoların evresi, dondurma anındaki kalitesi, embriyoların dondurulmasında seçme kriterleri, genetik faktörler, dondurma yöntemleri, çözme yöntemleri, dondurulup-çözülmüş embriyoların transferi için endometrial hazırlık sonuçları etkileyen önemli faktörlerdendir<sup>[8]</sup>.

Son on yılda dondurup çözülmüş embriyo transferi siklusları sayısının taze in vitro fertilizasyon (İVF) sikluslarına göre arttığı ve aynı zamanda dondurulup

çözölmüş embriyo transferlerinin de canlı doğum oranlarında artış gösterdiği izlenmektedir<sup>[8]</sup>. ICMART (İnternational Comittee Monitoring ART) verilerine göre YÜT uygulamaları sonrası dünyaya gelen çocukların %25' inin, Finlandiya ve Avustralya gibi ölkelerde ise %40' ının THAW siklusları embriyo transferi sonucu doğduğu bildirilmektedir<sup>[86]</sup>. İlginç bir şekilde, son dönem dondurulup çözülmüş embriyo transfer sikluslarında başarı oranları taze siklus embriyo transfer başarı oranlarına yaklaşmıştır<sup>[8]</sup>.

IVF sonrası doğan çocukların spontan gebelik ile doğan çocuklara oranlara perinatal dönemde daha fazla problemle karşılaştığı<sup>[87, 88]</sup>, özellikle ikiz gebeliklerde preterm doğum ve/veya düşük doğum ağırlığı riskinin arttığı çalışmalarla gösterilmiştir<sup>[89]</sup>. Buna karşı, günümüzde kesin sonuçlar olmamasına rağmen, yaklaşık 25 yıldır kullanılan yavaş dondurma yöntemi ile elde edilen bebeklerden taze siklulara göre daha yüksek doğum ağırlıklı bebekler izlendiği ve daha az sayıda preterm bebekler doğduğu çalışmalarda gösterilmiştir. Bunun sebepleri arasında ise taze siklulardaki hormonal stimülasyonun advers etkilerinin olabileceği ve dondurma, çözme işlemi sırasında oluşan travmaları atlatan embriyoların daha sağlam olduğu düşünölmektedir<sup>[90]</sup>. Bu da İVF-de hiç taze embriyo transferi yapılmadan tüm embriyoların dondurulmasının, gebelik hızını yükseltebileceği ihtimalini desteklemektedir<sup>[8]</sup>.

Dondurma protokollerinden hangisinin üstün olduğu konusunda ortak fikir bulunamamaktadır. Bazı makalelerde Vitrifikasyon yönteminin Slow Freezing yöntemine açık bir şekilde üstün olduğu, gelecekte tek embriyo dondurma yöntemi olarak kullanılabilirliği, fakat tüm embriyo çeşitlerinin dondurulması için

daha geliştirilmeğe ihtiyaç olduğu gösterilse de<sup>[10-12]</sup>, diğer bir grup çalışmalarda Vitrifikasyonun Slow Freezing yöntemine üstünlüğü gösterilememektedir<sup>[13]</sup>.

Özellikle vitrifikasyon tekniği daha kısa zaman alması açısından yavaş dondurma tekniğine göre daha avantajlı gibi görünse de, çoğu zaman açık sistemlerle uygulanmakta ve bu sistemlerde oosit veya embriyolar direk sıvı azot ile temas halinde bulunmaktadır. Kontaminasyonu engellemek için kapalı sistemler önerilse de bu sistemler üzerinde de çalışılmaktadır. Sıvı azotun ultraviyole ışınları ile sterilize edilmesi üzerinde çalışılan yeni teknikler vardır<sup>[91-94]</sup>.

### ***Bulaşıcı ajanların aktarılması***

Semen ve embriyo koleksiyonu ve kriyoprezervasyonu protokolleri steril prosedürler değildir<sup>[95]</sup> ve tüm pipet ve flakonlar enfeksiyon kaynağı olabilir. Sıvı nitrojen de pipetler, flakonlar ve diğer malzemelerden bulaş olabilir. Dolayısıyla, ortamda enfekte ajanların bulunması için sızdıran veya açık taşıyıcıların olması şart değildir<sup>[68]</sup>.

Görünürde steril olan taşıyıcılar düşünüldüğü gibi güvenli olmayabilir. Enfeksiyon yavaş dondurma yönteminde de pipetlerin plastik duvarlarındaki porlardan yayılabilir ve çoğu flakonların koruyucu kapağı yoktur. Bu şekilde depolama tanklarındaki sıvı nitrojen içerisinde büyük olasılıkla bir dizi fırsatçı ve patojen bulaşıcı mikroorganizmalar vardır<sup>[95]</sup>.

Potansiyel kontaminasyon kaynakları aşağıdakileri içermektedir:

1. *Dondurma cihazı içerisinde.* Buhar fazlı, hız kontrollü dondurucular steril olmayan sıvı nitrojeni doğrudan numune üzerine püskürtürler. İdeal olan bir

dondurucu cihazın her dondurma işlemi sonrasında sterilize edilebilme kapasitesine sahip olmasıdır, ancak bu pratik bir seçenek değildir.

2. *Saklanma sırasında.* Dondurma çubukları dışarıda kontamine olabilirler veya fitil ve tıplar sızıntı yapabilirler.

3. *Sıvı nitrojenden.* Sıvı nitrojende depolama ve dağıtım sırasında kontaminasyon meydana gelebilir. Dağıtım zincirinin periyodik olarak ısınan herhangi bir kısmında, özellikle transfer tankları ve kuru taşıyıcılar aşırı derecede kontamine olabilirler.

İngiltere'de yer alan HFEA (Human Fertilisation and Embryology Authority) sıvı nitrojen içerisinde gametlerin güvenli bir biçimde saklanmasına ilişkin, içerisinde yönergeler bulunan bir öneri belgesine göre, Hepatit B, Hepatit C, ve HIV için hastaların izlenmesi, süreç boyunca dikkatli hijyen, saklama çubuklarının iki uçtan kapatılması ve kapalı şişelerin kullanılmasıdır<sup>[96]</sup>. Karantina periyodu sırasında çapraz bulaş riski değerlendirilmeli ve bu riskleri minimize edecek işlemler devreye sokulmalıdır.

Ancak günümüzde hayvan modelleri ve insan İVF hakkında mevcut literatür Pomeroy ve ark. tarafından gözden geçirilmiş ve bu inceleme pratikte, İVF çalışma koşullarındaki çapraz bulaş riskinin göz ardı edilebileceğini göstermiştir<sup>[97]</sup>.

Aynı şekilde sıvı nitrojenin patojen mikroorganizmalarla bulaş vakaları gösterilse de<sup>[98]</sup>, dondurulmuş oosit veya embriyolarla bağlantılı böyle bir rapor henüz bildirilmemiştir.

Bielanski ve ark. açık yöntemle dondurularak saklandığında da eğer embriyolar içerisinde enfekte embriyo varsa, çapraz kontaminasyonun mümkün olabileceğini göstermişler<sup>[99]</sup>. Ancak mikropların hacmi ne kadar büyük olsa da, genelde kliniğe yansıyacak konsantrasyon olmamaktadır.

Yukarıda da bahsedildiği gibi, dondurma protokolü dondurulup çözülen embriyo kalitesini ve bu siklusların başarı hızını belirleyen tek neden olmadığı için merkezden merkeze en iyi protokolün hangisi olduğu fikri de değişmektedir. Dondurma protokollerinden hangisinin üstün olduğu konusunda ve taze siklus embriyo transfer döneminin terk edilip, sadece dondurup çözülen embriyo sikluslarının yapılması döneminin gelip gelmediği konusunda yüksek kaliteli çalışmalar devam etmektedir (Fertil Steril® 2014;102:19-26. 2014 by American Society for Reproductive Medicine)<sup>[8]</sup>.



### **3. MATERYAL VE METOD**

Çalışma retrospektif vaka kontrollü olarak tasarlanmıştır. Çalışmada daha önce dondurulmuş embriyolarının çözünen ve embriyo transferi yapılan hastaların arşiv dosyaları incelenmiştir. Çalışma için Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 13.10.1014 tarih ve 471 sayı ile onam alınmış ve Etik Kurul Onay belgesi ekte sunulmuştur.

Tarihi geçmiş 1983 yılına dayanan kriyoprezervasyon işlemi günümüzde yardımcı üreme tekniklerinin ayrılmaz parçası haline gelmiştir. Maliyetinin düşük olması, hasta konforunun yüksek olması ve en önemlisi genel İVF kümülatif gebelik oranını etkilediği için giderek artan bir şekilde uygulanmaktadır. İlk başta klasik yavaş dondurma yapılan kriyoprezervasyon uygulamalarına 2008 yılından itibaren vitrifikasyon yönteminin de eklenmesi ile şu anda her iki yöntemle de yapılabilmektedir. Günümüzde giderek artan gebelik oranları olan dondurulup çözme (THAW) sikluslarının başarı oranlarını optimize etmek ve taze siklus başarı oranlarına yakın sonuçlar elde etmenin yolları araştırılmaktadır. Ayrıca iki yöntem arasında başarı oranları yönünden hangisinin üstün olduğu konusunda, ortak fikir bulunamamaktadır ve daha yeni randomize çalışmalara ihtiyaç vardır.

#### **3.1. Araştırmanın yeri ve ortamı**

Araştırmada Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Tüp Bebek Merkezinde İVF amaçlı ovulasyon indüksiyonu yapılarak, toplanan oositleri in vitro ortamda fertilize edilmiş ve elde edilen embriyoları dondurulan hastalar arasından 31.03.2005-05.09.2014 tarihleri arasında embriyoları çözülerek transfer edilen hastalar

seçilmiş, bu hastaların bir veya daha fazla siklusta çözülen embriyo transfer siklusları incelenerek, yavaş dondurma (Slow Freezing) ve vitrifikasyon yapılan sikluslar iki gruba ayrılmış ve çözme sikluslarının özellikleri, her iki grupta hastaların genel özellikleri ve sonuçta başarı oranları incelenmiştir.

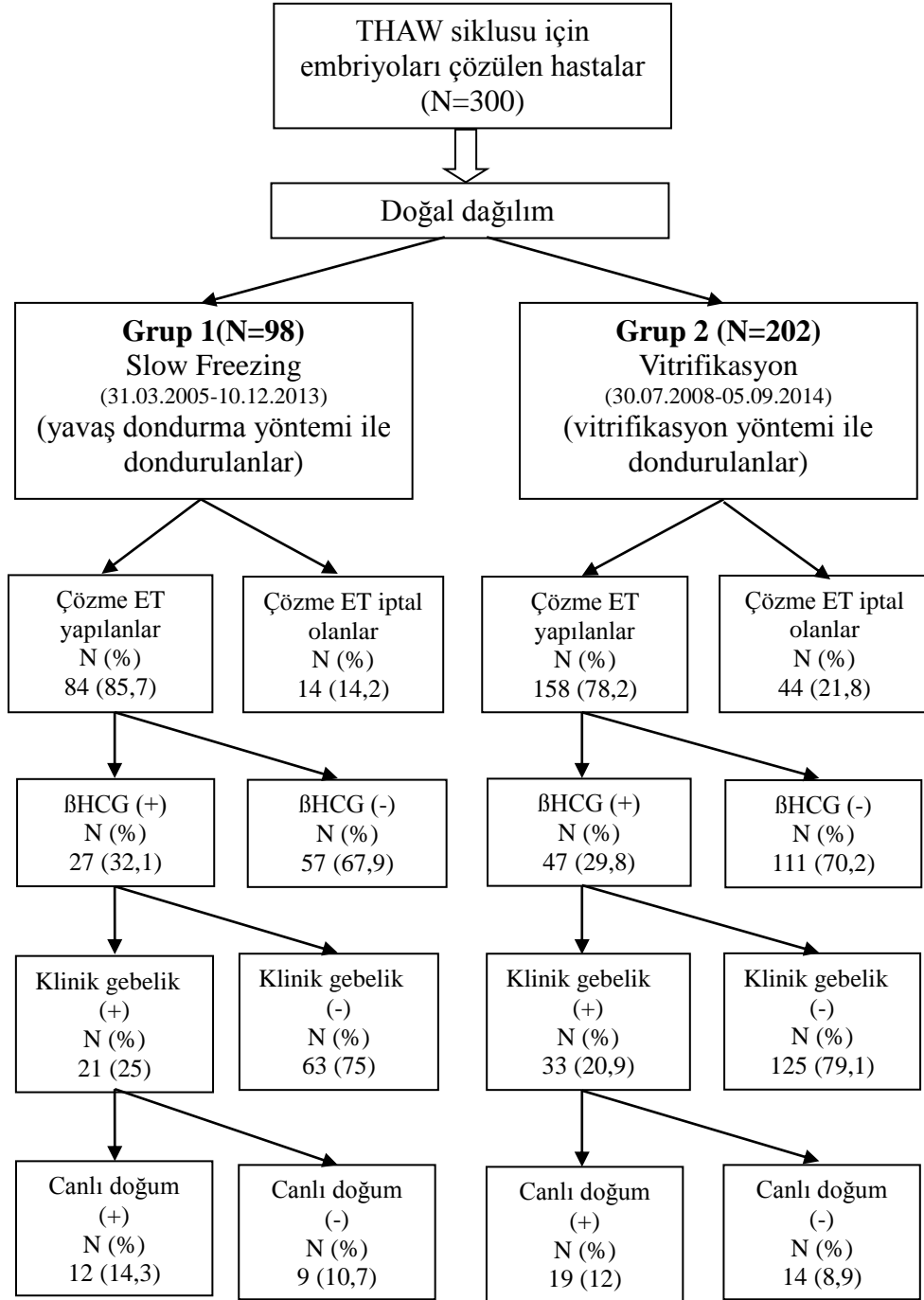
Çalışma kriterlerine uygun toplam 300 çözme siklusu mevcuttur. Embriyo transferine kadar yaşamını devam ettiren ve transfer edilen embriyoların olduğu siklus sayıları kullanılarak her grubun çözme sonrası embriyo yaşam oranları saptanmıştır.  $\beta$ HCG değeri pozitif ( $>5$ ) olan sikluslar arasından ultrasonografi ile kanıtlanan gebelikler klinik gebelik olarak değerlendirilmiştir.

Zigot (2pn) dondurma ve çözme siklusları burada çalışma için değerlendirilmeye alınmamıştır. Ayrıca, bu tarihler arasında dondurulup henüz çözülmeyen veya dondurulmuş embriyoları imha edilen hastalar da çalışmaya dahil edilmemiştir.

### **3.2. Araştırma Grupları**

Araştırmaya dahil edilen hastalar 2 grupta toplanmıştır:

1. Grup - Slow Freezing grubu (n=98),
2. Grup - Vitrifikasyon grubu (n=202) (Şekil 2).



Şekil 2. Araştırma dizaynı

1. Gruptaki hastaların çözüme yapılan embriyoları Slow Freezing yöntemi ile dondurulmuş ve çözülmüştür.

2. Gruptaki hastaların çözüme yapılan embriyoları Vitrifikasyon yöntemi ile dondurulmuş ve çözülmüştür.

### **3.4. Araştırma Parametreleri ve yöntemleri**

Araştırmada tüm dondurma çözüme prosedürlerinde "Vitrolife" solüsyonları (Vitrolife AB, İsveç) kullanılmıştır. Grup1'deki hastalar Slow Freezing yöntemi için ve Grup 2'deki hastalar Vitrifikasyon yöntemi için uygun olan Vitrolife solüsyonları ile dondurulup çözülmüştür.

Slow Freezing grubunda:

Erken evre embriyolarının (2. ve 3. gün embriyoları) dondurulma prosedürü:

(Dondurma solüsyonu olarak Freeze Kit™ Cleave (Vitrolife, İsveç) kullanılmıştır)

1) İçerisinde her birinden 0,5-1ml Dengeleme Solüsyonu (ES) ve Dondurma Solüsyonu (FS) olan kaplar oda ısısında hazırlanarak embriyolar ES içerisine yerleştirilmiş ve 10 dk' ya kadar düzgünce durulanmıştır

2) Embriyolar FS içerisine transfer edilerek hemen taşıyıcılara yüklenmiştir

3) Taşıyıcılar mühürlenerek oda ısısındaki (+18,0' den +25,0°C' ye kadar) dondurma cihazına yerleştirilmiş ve -2,0°C/dk hızında -6,0°C' ye kadar dondurularak, 10 dk -6°C' de bekletilmiştir.

4) -0,3°C/dk hızında -30°C' ye kadar, ardından -50°C/dk hızında -150°C' ye kadar soğutulduktan sonra taşıyıcılar tutaç yardımıyla tutularak sıvı nitrojene yerleştirilmiş ve -196°C' de korunmaya alınmıştır.

Erken evre embriyolarının (2. ve 3. gün embriyoları) çözme prosedürü:

(Bu prosedürde ThawKit™ Cleave (Vitrolife, İsveç) kullanılmıştır.)

1) Her birinde 0,5-1ml TS1 (Çözme Solüsyonu 1), TS2 (Çözme Solüsyonu 2) ve ES olan kaplar hazırlanmış, taşıyıcılar sıvı nitrojenden oda ısısına alınarak 30sn sonra su banyosuna yerleştirilmiş ve 30-45sn sonra çıkarılarak kurulanmıştır

2) Aseptik şartlarda taşıyıcılar açılarak, TS1 içerisine dikkatlice boşaltılmış ve solüsyonda 5 dk bekletilmiş ve daha 5 dk bekletilmek üzere embriyolar TS2 içerisine alınmıştır

3) Embriyolar ES içerisine alınarak 5 dk bekletildikten sonra embriyolar G-1 PLUS™ ve G-2 PLUS™ solüsyonlarında (Vitrolife, İsveç) dikkatlice durularak 37°C ve %6 CO2 şartlarında transfere kadar bekletilmiştir.

Blastokistlerin (5. ve 6. gün embriyoları) dondurulma prosedürü:

(Prosedür için G-FreezeKit Blast™ (Vitrolife, İsveç) kullanıldı.)

1) İçerisinde 37°C' ye kadar ısıtılmış her birinden 0,5-1,0 ml BIM (Blastokist inkübasyon midyumu), BFS 1 (Blast Dondurma Solüsyonu 1), BFS 2 (Blast Dondurma Solüsyonu 2) olan kaplar hazırlanarak dondurulacak blastokistler BİM içerisinde durulanmış ve BFS 1' de 10 dk, BFS 2 solüsyonunda 7 dk bekletilmiştir (bu sırada taşıyıcıların içi BFS 2 ile durulanmıştır)

2) Blastokistler yeni BFS 2 içerisinde yerleştirilerek, mühürlenmiş ve taşıyıcılara yüklenerek dondurma cihazına yerleştirilmiştir

3) Cihazda -6°C' de 2dk bekletildikten sonra, tutaç yardımıyla tutularak elle sıvı nitrojene yerleştirilmiş, başlangıç -6°C' de 2 dk tutularak , sonrasında mühürlenmiş ve 10 dk daha tutulmuş, en son 0,5°C/dk hızında -32°C' ye kadar soğutularak, sonrasında saklanma için -196°C sıvı nitrojene bırakılmıştır.

Blastokistlerin (5. ve 6. gün embriyoları) çözme prosedürü:

(Prosedür için g-ThawKit Blast™ ve G-2 PLUS (Vitrolife, İsveç) kullanıldı)

1) Her birisinin içerisinde 0,5-1,0 ml oda ısısında BTS 1 (Blastokist Çözme Solüsyonu 1), BTS 2 (Blastokist Çözme Solüsyonu 2), BTS 3 (Blastokist Çözme Solüsyonu 3) ve BIM (Blastokist İnkübasyon Medyumu) olan kaplar hazırlanmış, taşıyıcılar sıvı nitrojenden havaya çıkarılarak 30 sn sonra 30°C sıcaklıktaki su banyosunda koyularak 30 sn. bekletilmiştir

2) Dikkatlice kurulan taşıyıcılar steril makasla kesilerek BTS 1 içerisinde bırakılmış ve hemen ardından BTS 2 içerisine aktarılarak 5 dk bekletilmiş, sonrasında BTS 3 içerisine geçirilerek 5dk ve BIM içerisine aktarılarak daha 5 dk bekletilmiş, en son diğer bir BIM içerisine aktarılarak 37°C' de 5 dk daha ısıtılmıştır

3) Blastokistler öncelikle G-2 PLUS içerisinde durulanmış ve transfere kadar 37°C %6 CO2 şartlarında kültüre edilmiştir.

Vitrifikasyon grubunda:

Eken evre embriyoları (2. ve 3. gün embriyoları) dondurmak için:

1) Her birisinden 0,5-1,0 ml olmakla, 4 kaba Vitri 1<sup>TM</sup> ·Cleave, Vitri 2<sup>TM</sup> ·Cleave ve Vitri 3<sup>TM</sup> ·Cleave (her üçü medyum Vitrolife, İsveç) koyulmuş ve 37°C' ye kadar ısıtılmıştır

2) Embriyolar Vitri 1<sup>TM</sup> ·Cleave medyumunda 5-10 dk, Vitri 2<sup>TM</sup> ·Cleave medyumunda 2 dk bekletilmiş ve bu sürede taşıyıcılar Vitri 3<sup>TM</sup> ·Cleave medyumuna batırılmış ve bir kültür kabı içine 20 µl Vitri 3<sup>TM</sup> ·Cleave damlatılmıştır

3) Embriyolar toplanarak Vitri 3<sup>TM</sup> ·Cleave dropleti içine alınıp 30 sn bekletildikten sonra taşıyıcılara yüklenerek derhal sıvı nitrojen dolu olan tanka daldırılmıştır.

Eken evre embriyoları (2. ve 3. gün embriyoları) çözmek için:

1) Her birisinden 0,5-1,0 ml olmakla 4 kaba 37°C' ye kadar ısıtılmış Warm 1<sup>TM</sup> Cleave, Warm 2<sup>TM</sup> Cleave, Warm 3<sup>TM</sup> Cleave ve Warm 4<sup>TM</sup> Cleave (Vitrolife, İsveç) solüsyonu koyulmuş, embriyolar sıvı nitrojenden alınarak hızlı bir şekilde Warm 1<sup>TM</sup> Cleave solüsyonu içerisine taşıyıcının metal kısmı dışarıda kalacak şekilde koyulmuş ve 10-30 sn beklenerek embriyoların kabın dibine düşmesine izin verilmiştir.

2) Embriyolar Warm 2<sup>TM</sup> Cleave solüsyonuna aktarılarak 60 sn, Warm 3<sup>TM</sup> Cleave solüsyonuna aktarılarak 120 sn ve Warm 4<sup>TM</sup> Cleave solüsyonuna aktarılarak 5 dk bekletilmiştir.

3) Embriyolar kültür medyumlarında defalarca durulandıktan sonra trasfere kadar uygun kültür medyumlarında bekletilmiştir.

Blastokist evresindeki (5. ve 6. gün) embriyoları dondurmak için:

(Prosedür için Vitri 1<sup>TM</sup> Blast, Vitri 2<sup>TM</sup> Blast ve Vitri 3<sup>TM</sup> Blast (Vitrolife İsveç) medyumlar kullanılmıştır)

1) Her birisinden 0,5-1,0 ml 37°C' ye kadar ısıtılmış Vitri 1<sup>TM</sup> Blast, Vitri 2<sup>TM</sup> Blast ve Vitri 3<sup>TM</sup> Blast medyumları kaplara koyularak, ICSI iğnesi ile blastokistler patlatılmış, hücrelerin orta kısımda toplandığı gözlemlendiğinde patlatılmış blastokistler Vitri 1<sup>TM</sup> Blast solüsyonuna aktarılarak 5-20 dk bekletilmiş, daha sonra Vitri 2<sup>TM</sup> Blast solüsyonuna aktarılarak 2 dk bekletilmiş, bu sırada Vitri 3<sup>TM</sup> Blast solüsyonundan 20 µl droplet yapılmış ve taşıyıcılar Vitri 3<sup>TM</sup> Blast solüsyonuna batırılmıştır.

2) Blastokistler toplanarak 20 µl Vitri 3<sup>TM</sup> Blast dropleti içerisine alınmış ve pipetle 2-3 kez karıştırılarak 45 sn bekletilmiş, ardından taşıyıcılara yüklenerek derhal sıvı nitrojene daldırılmıştır.

Blastokist evresindeki (5. ve 6. gün) embriyoları çözmek için:

(Prosedür için Warm 1<sup>TM</sup> Blast, Warm 2<sup>TM</sup> Blast ve Warm 3<sup>TM</sup> Blast (Vitrolife İsveç) medyumlar kullanılmıştır.)

1) Her birisinden 0,5-1,0 ml 37°C' ye kadar ısıtılmış Warm 1<sup>TM</sup> Blast, Warm 2<sup>TM</sup> Blast ve Warm 3<sup>TM</sup> Blast solüsyonları kaplara koyulmuş, vitrifiye edilmiş blastokistler taşıyıcı içerisinde sıvı nitrojenden çıkarılarak, metal kısmı dışarıda kalacak şekilde taşıyıcılar Warm 1<sup>TM</sup> Blast solüsyonuna yerleştirilmiş ve blastokistler kabın dibine düşene dek beklenmiştir.

3) Blastokistler Warm 2<sup>TM</sup> Blast solüsyonuna aktarılarak 3 dk, Warm 3<sup>TM</sup> Blast solüsyonuna aktarılarak 5-10 dk bekletilmiştir.



5) Blastokistler kültür medyumlarında defalarca durularak G-2™ kültür medyumunda transfere kadar bekletilmiştir.

### **Endometriumun hazırlanması**

Adetleri düzenli olan ve ovulatuvar siklusları olan hastaların doğal sikluslarında, endometrial hazırlık için herhangi bir tedavi uygulanmadan USG ile endometrium kalınlığının monitorizasyonu ve serum LH değerinin ölçümü ile embriyo transferi yapılmıştır. Anovulatuvar veya oligoovulatuvar siklusları olan hastalara endometrial gelişimi sağlamak için ardışık estrogen (Estrofem tablet 2 mg, Abbott Lab., Türkiye) ve progesteron (Crinone %8 Vajinal jel, Merck Serono, Yunanistan) verilmiş, bazı hastalarda ise, bunun öncesinde GNRH analogları ile baskılama tedavisi de uygulanmıştır. Tüm hastalara çözme embriyo transferi sonrasında progesteron takviyesi (90 mg/gün vajinal Crinone %8' lik jel) verilmiştir.

Çalışma gruplarında siklus öncesi bakılan FSH, LH, E2, TSH, sT4 değerleri ve transferden 12 gün sonra bakılan  $\beta$ HCG değerleri otoanalizatörlerde enzim immunoassay (EİA) yöntemi ile değerlendirilmiştir.

### **Embriyo ve blastokistlerin dondurma ve çözme Grade'leri:**

#### ***Dondurma öncesi embriyo seçme kriterleri.***

Dondurma öncesi embriyolar blastomerlerin simetrikliğine ve fragmentasyon oranına göre Grade'lere ayrıldı.

Grade I: Blastomerler eşit büyüklükte ve fragmantasyon yok veya <%20;

Grade II: Eşit büyüklükte olmayan blastomerler ve fragmantasyon yok veya <%20;

Grade III: Fragmantasyon %20-50 veya non homojen sitoplazma ve/veya multinükleer blastomerler;

Grade IV: Fragmantasyon >%50

***Çözme sonrası embriyo Grade' leri.***

Grade A: %100 intakt (çözme sonrası dondurulmadan önceki şeklini alan embriyo);

Grade B: <%100 - >%50 intakt (çözme sonrası blastomerlerin %50' den fazlası dondurulmadan önceki şeklini almış, bir kısmı ise bozulmuştur);

Grade C: <%50 intakt (çözme sonrası blastomerlerin %50' den fazlası bozulmuştur);

Grade D: Dejenere

***Dondurma öncesi blastokist seçme kriterleri.***

Blastokistler gelişim evresi (büyüyerek genişlemesi ve dışarı taşması (hatching)) (Şekil 3), iç hücre kütlesi skorlaması veya kalitesi (Şekil 4), trofektoderm skorlaması veya kalitesine (Şekil 5) göre Grade' lendi.

Genişleme derecesi	Blastokist gelişimi ve evresi
1	Blastosel kavitesi embriyo hacminin yarısından azdır
2	Blastosel kavitesi embriyo hacminin yarısından çoktur
3	Dolu blastokist, kavite tamamen embriyoyu örtmüştür
4	Genişlemiş (expanded) blastokist, kavite ince kabukla (zona pellusida (ZP) ile) kaplı ve embriyodan daha büyüktür
5	Kabuğun (ZP) fıtıklaşması
6	Kabuktan (ZP) dışarı taşma (hatching)

**Şekil 3. Blastokistin gelişim evresi.**

İCM (iç hücre kütlesi) grade	İç hücre kütlesinin kalitesi
A	Sıkı paketlenmiş çok sayıda hücreler
B	Gevşek gruplaşmış seyrek hücreler
C	Çok az sayıda hücre

**Şekil 4. İç hücre kütlesi (İCM) skorlaması, kalitesi.**

TE (trofoektoderm) grade	Trofoektoderm kalitesi
A	Yapışkan tabaka oluşturan çoklu hücreler
B	Gevşek epitel oluşturan az sayıda hücreler
C	Çok az sayıda iri hücreler

**Şekil 5. Trofoektoderm (TE) skorlaması ve kalitesi.**

Erken blastokist: 1CC,

Blastokist A: 4AA; 3AA,

Blastokist B: 2BB,

Blastokist C: 1BB; 2BB

*Çözme sonrası blastokist Grade' leri.*

Grade A: %100 intakt tekrar açılmış (reexpanded veya çözme sonrası blastokist kavitesi tekrar genişleyerek dondurma öncesindeki şeklini almış);

Grade B: <%100 - >%50 intakt, tekrar açılmış (çözme sonrası blastokist kavitesinin %50' den fazlası tekrar genişleyerek dondurma öncesindeki şeklini almış);

Grade C: <%100 - >%50 intakt, büzüşmüş (non expanded veya blastokist kavitesinin %50' den azı eski şeklini alabilmiş ve çoğunlukla büzölmüş şekilde);

Grade D: Dejenere (çözme sonrası blastokist kavitesinde tekrar genişleme yok).

### **3.4. Araştırma Gruplarının özellikleri**

Araştırmaya dahil edilen hastaların Grup 1 ve Grup 2 arasındaki bayan yaşı ve vücut kitle indeksi (VKİ) değerleri standart sapma (SS) değerlerinin dağılımı Tablo 2' de gösterilmiştir.

**Tablo 2. Gruplar arasında bayan yaşı ve VKİ değerlerinin dağılımı (N=300).**

Parametreler	Grup 1	Grup 2	P
	(N=98)	(N=202)	
	X ± SS	X ± SS	
Bayan yaşı (yıl)	30,5 ± 4,8	30,1 ± 4,5	0,44
VKİ (kg/m <sup>2</sup> )	24,5 ± 4,3	27,2 ± 29,4	0,37

Gruplar arasında bayan yaşının dağılımına bakıldığında Grup 1' de 30,5 yıl ± 4,8 SS ve Grup 2' de 30,1 yıl ± 4,5 SS ile gruplar arasında fark gözlenmemiştir (p=0,44). VKİ ortalama değeri rakamsal olarak 2. grupta kısmen yüksek gibi görünse de (24,5kg/m<sup>2</sup> ±4,3 SS ve 27,2 kg/m<sup>2</sup> ± 29,4 SS), gruplar arasında istatistiksel anlamda fark saptanmamıştır (p=0,37).

Gruplardaki hastaların D3-FSH, D3-LH, D3-E2, TSH, sT4 değerlerinin ± SS ile dağılımı Tablo 3' te özetlenmiştir.

**Tablo 3. Gruplar arasında D3-FSH, D3-LH, D3-E2, TSH, sT4 değerlerinin dağılımı (N=300).**

Parametreler	Grup 1	Grup 2	P
	(N=98) X ± SS	(N=202) X ± SS	
D3-FSH (IU/L)	5,7 ± 1,9	5,7 ± 1,8	0,91
D3-LH (IU/L)	4,9 ± 3,7	5,1 ± 2,9	0,64
D3-E2 (pg/ml)	51,9 ± 60,6	54,2 ± 51,6	0,73
TSH (uIU/ml)	2,0 ± 1,1	2,1 ± 1,7	0,41
sT4 (ng/dl)	1,1 ± 0,2	1,1 ± 0,2	0,30
PRL (ng/ml)	16,4 ± 13,0	16,7 ± 13,5	0,85

Gruplar arasında menstruel siklusun 3. gününde bakılan FSH, LH ve E2 değerlerinin dağılımına bakıldığında, gruplar arasında anlamlı bir fark izlenmemiştir. Siklus öncesi bakılan TSH, sT4 ve prolaktin değerlerinin gruplar arasında dağılımına bakıldığında da yine istatistiki anlamlı fark saptanmamıştır.

Gruplar arasında dondurma için yapılan ovulasyon indüksiyonundan önce yapılan İVF siklus sayılarının dağılım sayıları ve oranları Tablo 4' te gösterilmiştir.

**Tablo 4. Gruplar arasında İVF siklus sayılarının dağılımı (N=300).**

Önceki İVF siklus sayısı	Dondurma yöntemi	
	SF (N=98) N (%)	V (N=202) N (%)
0	60 (61,2)	118 (58,4)
1	22 (22,4)	49 (24,3)
2	12 (12,2)	26 (12,9)
3	3 (3,1)	7 (3,5)
4	1 (1)	0
7	0	1 (0,5)
9	0	1 (0,5)

Tablodan görüldüğü gibi, dondurma için yapılan ovulasyon indüksiyonu öncesinde mevcut İVF siklus sayıları karşılaştırıldığında, grup 1'de vakaların %61,2' sinin ve grup 2' de % 58,4' ünün daha önce yapılmış siklusu yoktur. Grup 1' de önceden 1 İVF siklusu olan %22,4; 2 siklusu olan %12,2; 3 siklusu olan %3,1 hasta varken, grup 2' de 1 siklusu olan %24,3; 2 siklusu olan %12,9 ve 3 siklusu olan %3,5 hasta olduğu gözlenmiştir. Vitrifikasyon grubunda önceden 7 İVF siklusu olan 1 ve 9 İVF siklusu olan 1 hasta vardır.

Gruplar arasında dondurma için yapılan ovulasyon indüksiyonu öncesinde mevcut İVF siklus sayıları karşılaştırılmasında, istatistiki anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,78).

**Tablo 5. Grupların yaşayan çocuk sayılarına göre karşılaştırılması (N=300).**

Mevcut yaşayan çocuk sayısı	Dondurma yöntemi	
	SF (N=98) N (%)	V (N=202) N (%)
0	62 (63,3)	161 (79,7)
1	30 (30,6)	41 (20,3)
2	6 (6,1)	0

Gruplar arasında mevcut yaşayan çocuk sayısının karşılaştırılmasına bakıldığında, grup 1' de vakaların %63,3' ünün grup 2' de ise %79,7' sinin yaşayan çocuğunun olmadığı saptandı. Grup 1' de vakaların %30,6' sının 1 ve %6,1' inin 2 yaşayan çocuğu varken, grup 2' de vakaların sadece % 20,3' ünün 1 yaşayan çocuğu olduğu saptandı ve bu fark istatistiki olarak anlamlı bulundu (p=0,01).

**Tablo 6. Gruplar arasında ayrıntılı infertilite nedenlerinin dağılımı (N=300).**

İnfertilite nedenleri	Dondurma yöntemi	
	SF (N=98) N (%)	V (N=202) N (%)
<b>Erkek</b>	22 (22,4)	42 (20,8)
<b>Tubal</b>	16 (16,3)	24 (11,9)
<b>Anovulasyon</b>	8 (8,2)	43 (21,3)
<b>Tubal + erkek</b>	10 (10,2)	14 (6,9)
<b>Anovulasyon + erkek</b>	25 (25,5)	36 (17,8)
<b>Yaş</b>	5 (5,1)	9 (4,5)
<b>Açıklanamayan</b>	12 (12,2)	4 (16,8)

Gruplar arasında infertilite nedenlerinin dağılımına bakıldığında gruplar arasında istatistiki anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,07$ ).

Gruplar arasındaki farkın anlamlılığı açısından önceden mevcut olan çocuk sayısı dışında gruplar arasında istatistiki anlamlı fark bulunamadı.

### **3.5. İstatistiksel Analiz**

Araştırma bulgularının istatistiksel analizi Statistical Package for Social Sciences (SPSS) for windows 20 programı ile yapıldı. Verilerin ortalama değerleri  $\pm$  standart sapma ( $\pm$  SS) olarak hesaplandı. İki grup arasındaki nominal ilişki için ki kare testi, normal dağılım gösteren sayısal değişkenler için t testi kullanıldı. Gruplar arasındaki anlamlılığın araştırılmasında ANOVA Post Hoc Test Tukey uygulandı. Verilerin dağılımı başlangıçta homojen dağıldığı için non-parametrik test kullanılmadı. Değişkenlerin birbirleriyle ilişkisi Pearson korelasyonu ile



saptandı.  $p < 0.05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Lineer değişimin varlığına Simple Linear Regression Analysis (Basit Doğrusal Regresyon Analizi) ile bakıldı. R değeri hesaplandı.

#### 4. BULGULAR

Çalışma için değerlendirmeğe alınan 300 çözme embriyo transferi siklusu incelendiğinde, çözme sonrasında embriyo dejenerasyonu, gelişim arresti gibi nedenlere bağlı bazı sikluslarda transfer yapılamadığı ve bu siklusların iptal olduğu saptandı. Toplamda 242 (%80,7) siklusta embriyo transferi yapıldığı ve 58 (%19,3) siklusun iptal olduğu gözlemlendi.

Grup 1' de (Slow Freezing) siklusların %14,2' sinde (14 siklus) siklus iptali ve % 85,7' sinde (84 siklus) yaşayan embriyoların transferi gerçekleşmişken, grup 2' de (Vitrifikasyon) %21,8 (44) olguda siklus iptali ve %78,2 (158) olguda embriyo transferi yapıldığı izlenmiştir (Tablo 7).

**Tablo 7. Çözme sonrasında gruplardaki embriyo transferi yapılan ve embriyo dejenerasyonu nedeniyle iptal olan siklusların dağılımı.**

	Dondurma yöntemi	
	SF (N=98) N (%)	V (N=202) N (%)
Siklus iptali var	14 (14,2)	44 (21,8)
Siklus iptali yok	84 (85,7)	158 (78,2)

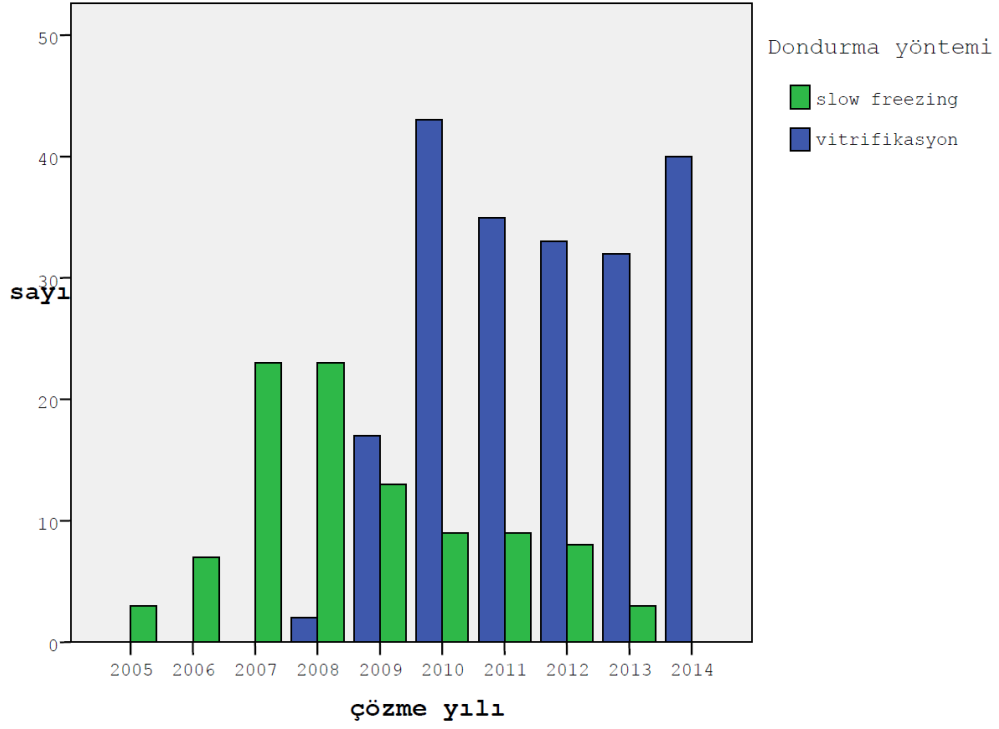
Gruplar arasında çözme sonrası tüm embriyo dejenerasyonu nedeniyle siklus iptali oranlarına bakıldığında Vitrifikasyon grubunda siklus iptal oranı daha yüksek olsa da, gruplar arasında istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,12).

Çalışmaya dahil edilen olgulardan ilk çözülerek embriyo transferi yapılan vaka 31 Mart 2005 tarihinde ve son çözülerek embriyo transferi yapılan hasta 05 Eylül 2014 tarihindedir. Olguların yıllara göre dağılımı Tablo 8' de gösterilmiştir.

**Tablo 8. Vakaların yıllara göre dağılımı (N=300).**

Çözme yılları	Dondurma yöntemi	
	SF (N=98)	V (N=202)
	N (%)	N (%)
2005	3 (3,1)	0
2006	7 (7,1)	0
2007	23 (23,5)	0
2008	23 (23,5)	2 (1,0)
2009	13 (13,3)	17 (8,4)
2010	9 (9,2)	43 (21,3)
2011	9 (9,2)	35 (17,3)
2012	8 (8,2)	33 (16,3)
2013	3 (3,1)	32 (15,8)
2014	0	40 (19,8)

Gruplardaki vakaların yıllara göre dağılımına bakıldığında yavaş dondurma grubunda vakaların 2005 yılından başlayıp 2013 yılına kadar devam ettiği, vitrifikasyon grubunda ise 2008 yılından başlayıp giderek artan tarzda halen devam ettiği izlenmektedir (Tablo 8). Vakaların yıllara göre dağılımında lineer artış saptanmıştır ( $R=0,5$ ;  $p=0,001$ ) (Şekil 6).



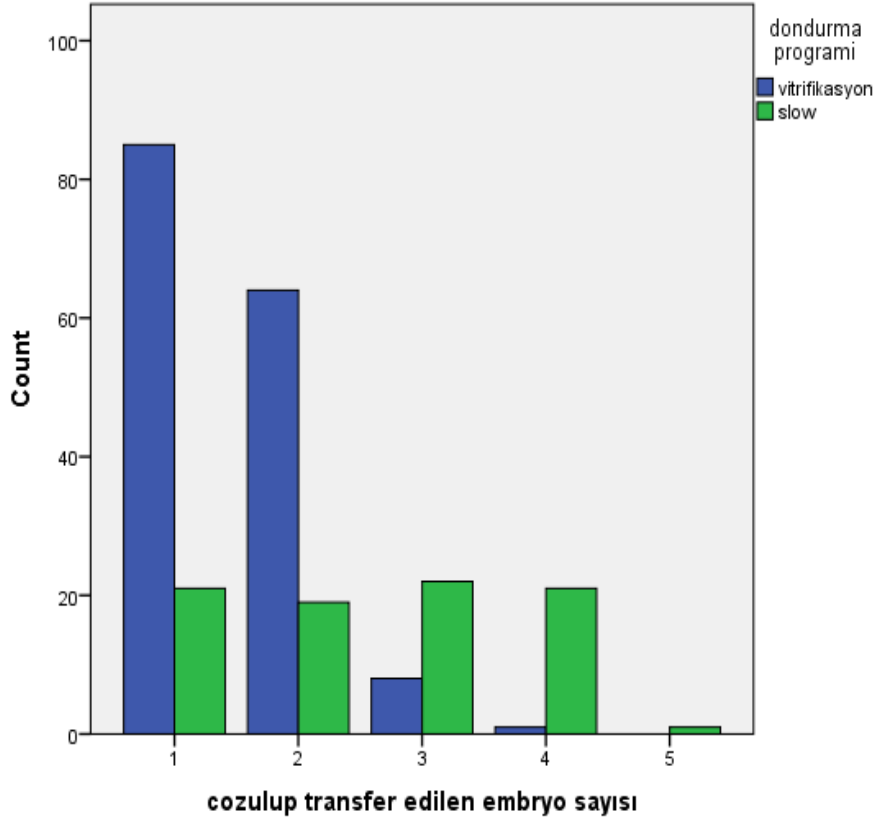
**Şekil 6. Vakaların yıllara göre dağılımı (N=300). Lineer artış vardır (R=0,5; p=0,001).**

Gruplar arasında çözme embriyo transfer adedinin dağılımı Tablo 9' da gösterilmiştir.

**Tablo 9. Gruplar arasında çözme embriyo transfer adedinin dağılımı (N=242) (p=0,001).**

Çözülüp transfer edilen embriyo adedi	Dondurma yöntemi	
	SF (N=84) N (%)	V (N=158) N(%)
1	21 (%25,0)	85 (%53,8)
2	19 (%22,6)	64(%40,5)
3	22(%26,2)	8 (%5,1)
4	21(%25,0)	1 (0,6)
5	1(%1,2)	0

Tablodan görüldüğü gibi, vakaların vitrifikasyon grubunda %94' lük yoğunluğundaki kısmına bir veya iki embriyo transferi yapılırken, slow freezing grubunda ancak %47' sinde bir veya iki embriyo transferi yapılmıştır, geri kalan sikluslarda (%53) ikiden fazla embriyo transferi yapılmıştır ve bu fark istatistiki anlamlıdır (p=0,001) (Şekil 7).



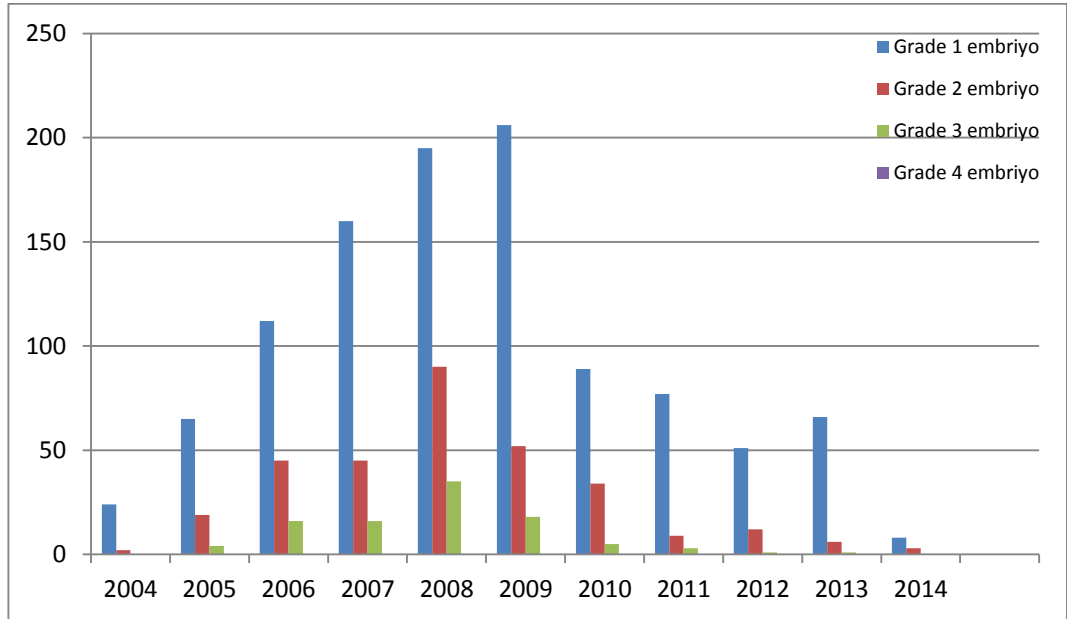
**Şekil 7. Gruplar arasında çözme embriyo transfer adedinin dağılımı (N=242) (p=0,001).**

Çalışmada 2004-2014 yılları arasında 1469' u erken evre (2. ve 3. gün embriyosu) ve 239 adedi ise blastokist (5. ve 6. gün embriyoları) olmakla, toplamda 1708 embriyo dondurulmuştur. Erken evre embriyolardan %71,6' sı Grade 1, %21,6' sı Grade 2, %6,7' si ise Grade 3 embriyo olarak dondurulmuştur (Tablo 10).

**Tablo 10. Grade' lerine göre dondurulan embriyo sayılarının yıllara göre dağılımı (N=1469).**

Dondurma yılı	Embriyolar			
	Grade 1 N (%)	Grade 2 N (%)	Grade 3 N (%)	Grade 4 N (%)
2004	24 (92,3)	2 (7,7)	-	-
2005	65 (73,8)	19 (21,6)	4 (4,6)	-
2006	112 (64,7)	45 (26,0)	16 (9,3)	-
2007	160 (72,4)	45 (20,4)	16 (7,2)	-
2008	195 (60,9)	90 (28,1)	35 (10,9)	-
2009	206 (74,6)	52 (18,8)	18 (6,5)	-
2010	89 (69,5)	34 (26,6)	5 (3,9)	-
2011	77 (86,5)	9 (10,1)	3 (3,4)	-
2012	51 (79,7)	12 (18,8)	1 (1,5)	-
2013	66 (90,4)	6 (8,2)	1 (1,4)	-
2014	8 (72,7)	3 (27,3)	-	-
<b>Toplam</b>	<b>1053 (71,7)</b>	<b>317 (21,6)</b>	<b>99 (6,7)</b>	<b>0</b>

Tablodan izlendiği üzere, dondurulan erken evre embriyoların büyük çoğunluğunu (%71,6) Grade 1 embriyolar oluşturmaktadır (Şekil 8) ve dondurulan yaklaşık %70' lik kısmı 2006-2009 yılları arasında dondurulmuştur.



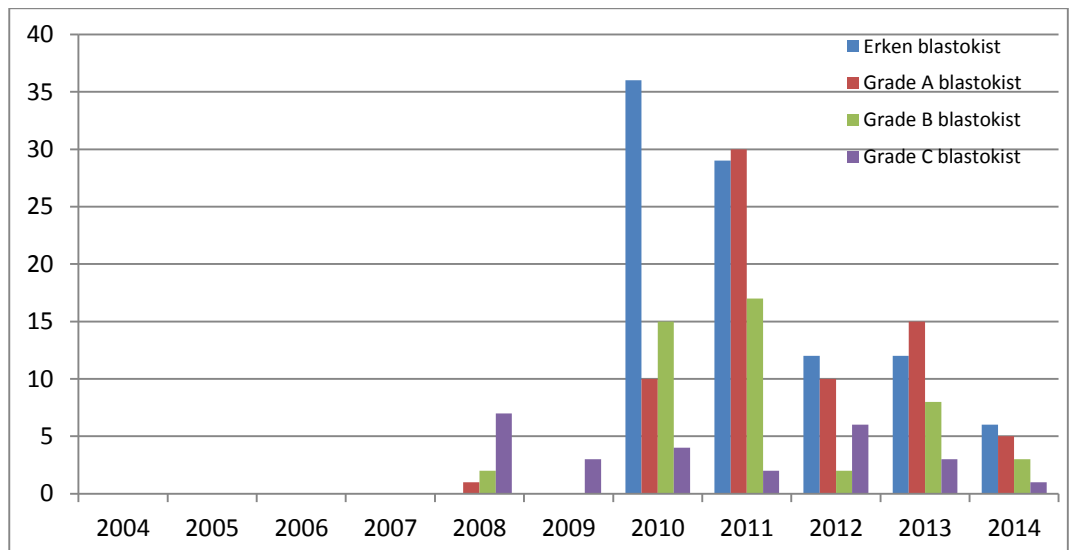
**Şekil 8. Grade' lerine göre dondurulan embriyo sayılarının yıllara göre dağılımı (N=1469).**

Dondurulan blastokistlerin (239 adet) %39,7' si erken blastokist, %29,7' si Grade A, %19,7' si Grade B ve %10,9' u Grade C blastokist tir (Şekil 9.)

**Tablo 11. Grade'lerine göre dondurulan blastokist sayılarının yıllara göre dağılımı (N=239).**

Dondurma yılı	Blastokistler			
	Erken N (%)	Grade A N (%)	Grade B N (%)	Grade C N (%)
2004	-	-	-	-
2005	-	-	-	-
2006	-	-	-	-
2007	-	-	-	-
2008	-	1 (10,0)	2 (20,0)	7 (70,0)
2009	-	-	-	3 (100)
2010	36 (55,4)	10 (15,4)	15 (23,1)	4 (6,2)
2011	29 (37,2)	30 (38,5)	17 (21,8)	2 (2,6)
2012	12 (40,0)	10 (33,3)	2 (6,7)	6 (20,0)
2013	12 (31,6)	15 (39,5)	8 (21,1)	3 (7,9)
2014	6 (40,0)	5 (33,3)	3 (20,0)	1 (6,7)
<b>Toplam</b>	95 (39,8)	71 (29,7)	47 (19,7)	26 (10,9)

Tablodan görüldüğü gibi, 2008 yılına kadar blastokist dondurulması yapılmamış, blastokistlerin aktif şekilde dondurulmasına 2010 yılından başlanmıştır (Tablo 11).



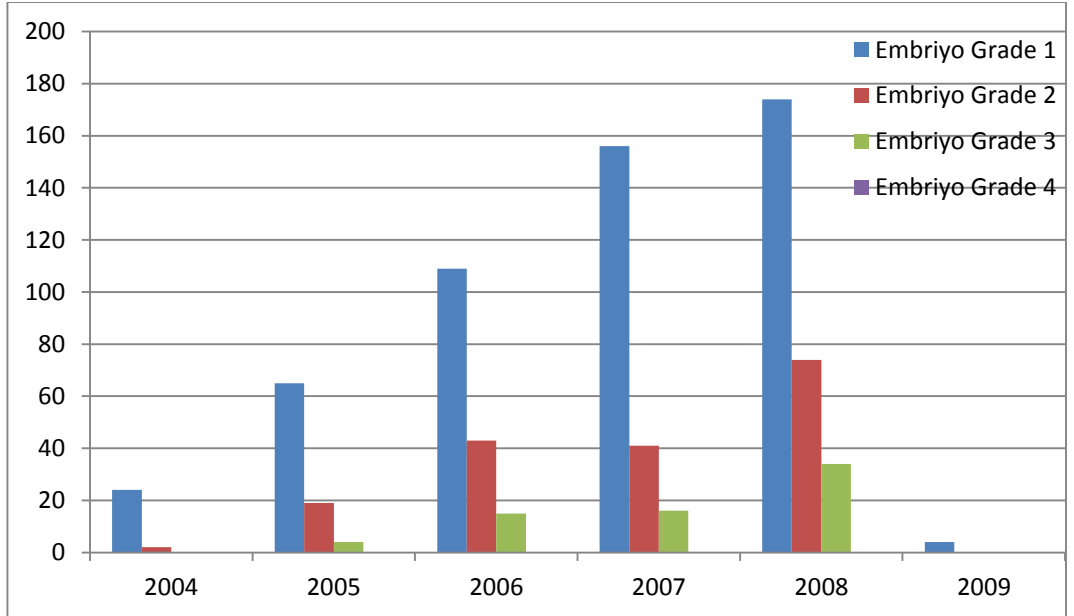
**Şekil 9. Grade'lerine göre dondurulan blastokist sayılarının yıllara göre dağılımı (N=239).**

Slow Freezing grubunda toplamda 780 erken evre embriyo dondurulmuş olup, bu grupta blastokist dondurulmamıştır (Tablo 12).

**Tablo 12. Slow Freezing grubunda Grade'lerine göre dondurulan embriyoların yıllara göre dağılımı (780).**

Dondurma yılı	Embriyolar			
	Grade 1 N (%)	Grade 2 N (%)	Grade 3 N (%)	Grade 4 N (%)
2004	24 (92,3)	2 (7,7)	-	-
2005	65 (73,9)	19 (21,6)	4 (4,6)	-
2006	109 (65,3)	43 (25,8)	15 (9,0)	-
2007	156 (73,2)	41 (19,3)	16 (7,5)	-
2008	174 (61,7)	74 (26,2)	34 (12,1)	-
2009	4 (100)	-	-	-
<b>Toplam</b>	<b>532 (68,2)</b>	<b>179 (23,0)</b>	<b>69 (8,9)</b>	<b>0</b>

Tabloda gösterildiği gibi, dondurulan embriyoların büyük çoğunluğu (%69) Garde 1 embriyolar olup, yine embriyoların en fazla (%85,9) dondurulduğu yıllar 2006-2008 yıllarıdır (Şekil 10).



**Şekil 10. Slow Freezing grubunda Grade'lerine göre dondurulan embriyoların yıllara göre dağılımı (N=780).**

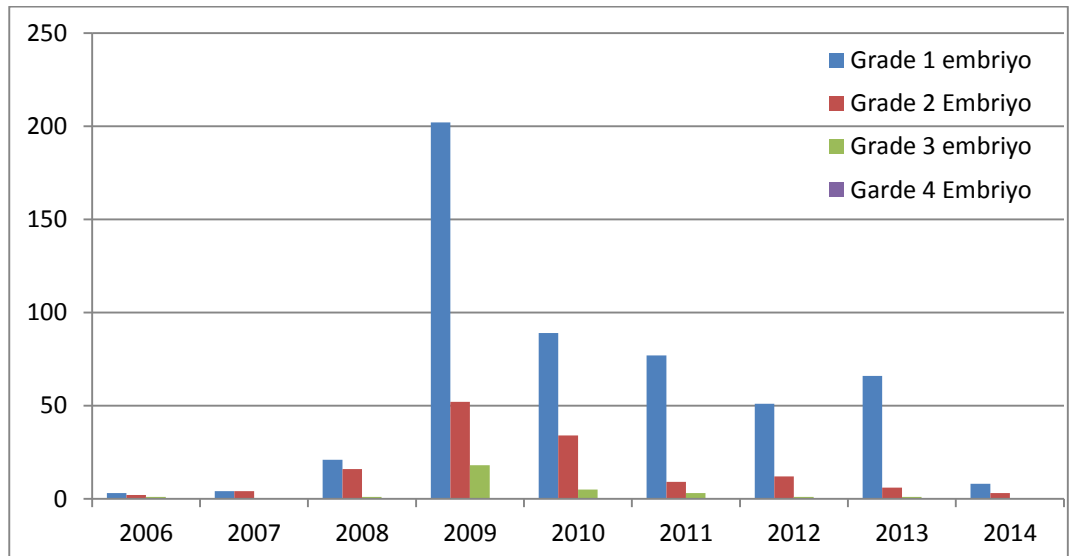


Vitrifikasyon grubunda toplamda 689 erken evre embriyosu dondurulmuş olup, yine büyük bir kısmı (%75,6) Grade 1 embriyolar, geri kalanı ise, Garde 2 ve 3 (sırasıyla, %20 ve %4,4) embriyolardır (Şekil 11).

**Tablo 13. Vitrifikasyon grubunda Grade'lerine göre dondurulan embriyoların yıllara göre dağılımı (N=689).**

Dondurma yılı	Embriyolar			
	Grade 1 N (%)	Grade 2 N (%)	Grade 3 N (%)	Grade 4 N (%)
2006	3 (50,0)	2 (33,3)	1 (16,7)	-
2007	4 (50,0)	4 (50,0)	-	-
2008	21 (55,3)	16 (42,1)	1 (2,6)	-
2009	202 (74,3)	52 (19,1)	18 (6,6)	-
2010	89 (69,5)	34 (26,6)	5 (3,9)	-
2011	77 (86,5)	9 (10,1)	3 (3,4)	-
2012	51 (79,7)	12 (18,8)	1 (1,5)	-
2013	66 (90,4)	6 (8,2)	1 (1,4)	-
2014	8 (72,7)	3 (27,3)	-	-
<b>Toplam</b>	<b>521 (75,6)</b>	<b>138 (20,0)</b>	<b>30 (4,4)</b>	<b>0</b>

Tablo 13' te vitrifikasyon grubunda embriyolarının dondurulma Grade' lerinin zaman bazında dağılımı gösterilmiş olup, dağılımın bu grupta da homojen olmadığı izlenmektedir.



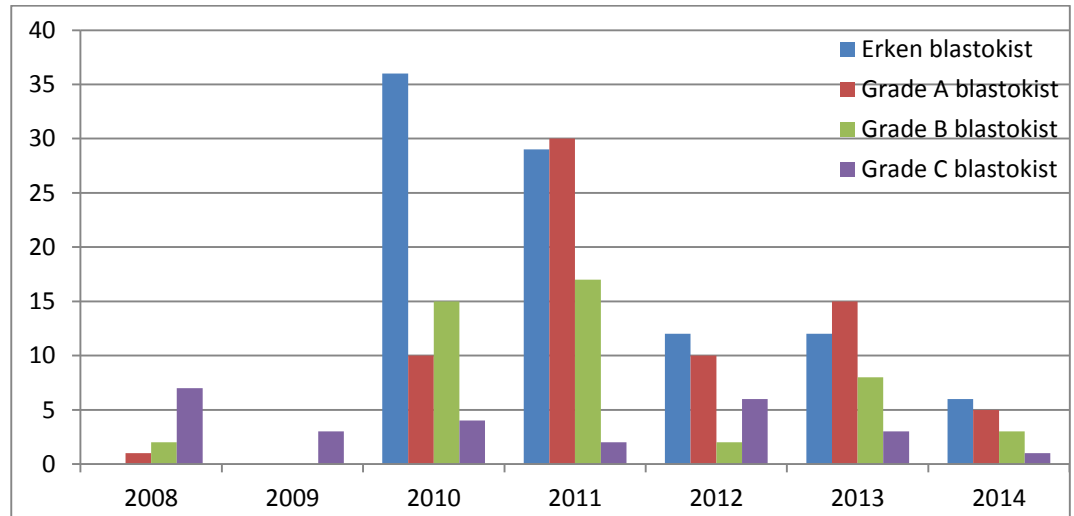
**Şekil 11. Vitrifikasyon grubunda Grade'lerine göre dondurulan embriyoların yıllara göre dağılımı (N=689).**

Vitrifikasyon grubunda toplamda 239 blastokist dondurulmuştur ki, bu da 2004-2014 yılları arasındaki toplam dondurulan blastokistlerin sayısı ile aynıdır, başka bir deyişle, dondurulan blastokistlerin tamamı vitrifikasyon yöntemi ile dondurulmuştur (Tablo 14).

**Tablo 14. Vitrifikasyon grubunda Grade'lerine göre dondurulan blastokistlerin yıllara göre dağılımı (N=239).**

Dondurma yılı	Blastokistler			
	Erken N (%)	Grade A N (%)	Grade B N (%)	Grade C N (%)
2008	-	1 (10,0)	2 (20,0)	7 (70,0)
2009	-	-	-	3 (100)
2010	36 (55,4)	10 (15,4)	15 (23,1)	4 (6,2)
2011	29 (37,2)	30 (38,5)	17 (21,8)	2 (2,6)
2012	12 (40,0)	10 (33,3)	2 (6,7)	6 (20,0)
2013	12 (31,6)	15 (39,5)	8 (21,1)	3 (7,9)
2014	6 (40,0)	5 (33,3)	3 (20,0)	1 (6,7)
<b>Toplam</b>	95 (39,8)	71 (29,7)	47 (19,7)	26 (10,9)

Erken evre embriyolardan farklı olarak, blastokistlerde dondurulma Grade'leri arasında dağılım nispeten homojen olsa da, zaman bazında bu dağılım yine de homojen değildir (Şekil 12). Blastokistlerin %39,8' i Erken blastokist, %29,7' si Grade A, %19,7' si Grade B ve %10,9' u Grade C blastokist olarak dondurulmuştur.



**Şekil 12. Vitrifikasyon grubunda Grade'lerine göre dondurulan blastokistlerin yıllara göre dağılımı (N=239).**

İki grup arasındaki dondurma Grade'lerine göre embriyo sayılarının Yates düzeltilmeli ki-kare testi ile karşılaştırılmasına bakıldığında, Vitrifikasyon grubunda (%75,6) Slow Freezing' e nazaran (%68,2) istatistiki anlamlı olarak daha fazla Grade 1 embriyo ( $p=0,002$ ) ve daha az (uygun olarak, %4,4 ve %8,9) Grade 3 embriyo ( $p=0,001$ ) dondurulmuştur. Dondurulan Grade 2 embriyo oranları (uygun olarak, %20 ve %23) arasında istatistiki anlamlı fark saptanmamıştır ( $p=0,2$ ) (Tablo 15).

**Tablo 15. Dondurma Grade'lerine göre grupların karşılaştırılması.**

<b>Dondurulan embriyo Grade'leri</b>	<b>SF (N=780) N (%)</b>	<b>V (N=689) N (%)</b>	<b>P</b>
<b>Grade 1</b>	532 (68,2)	521 (75,6)	0,002
<b>Grade 2</b>	179 (23,0)	138 (20,0)	0,20
<b>Grade 3</b>	69 (8,9)	30 (4,4)	0,001

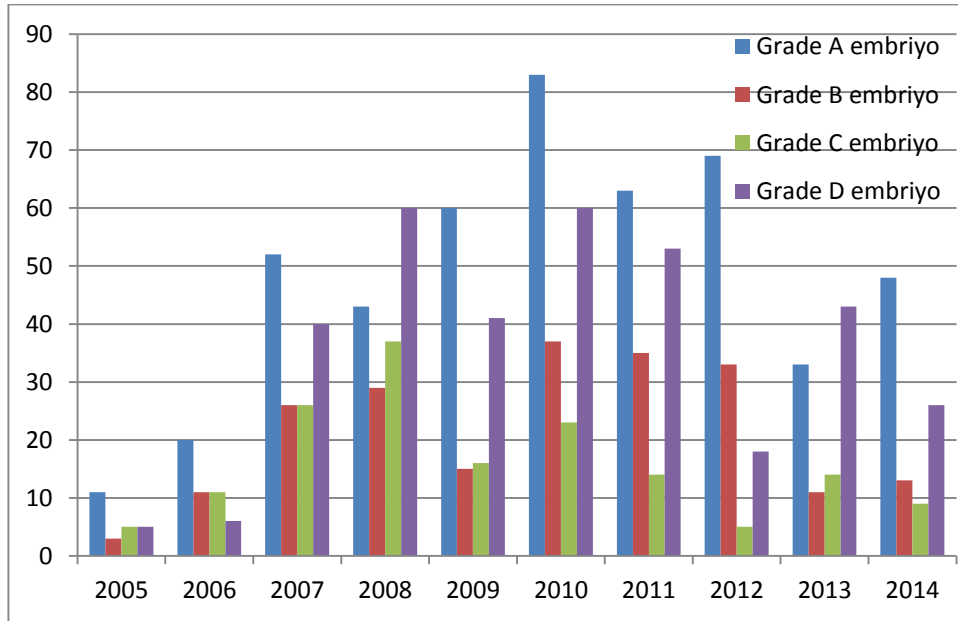
Slow Freezing grubunda blastokist dondurulmadığından blastokist Grade'leri için gruplar arasında böyle bir karşılaştırma yapılamamıştır.

Çalışmada 2005-2014 yılları arasında transfer amaçlı toplamda 1207 adet erken evre embriyo ve 211 adet blastokist çözülmüştür. Çözme erken evre embriyoların %39,9' u A Grade, %17,7' si B Grade, %13,3' ü C Grade ve %29,2' si D Grade embriyo olduğu saptanmıştır (Tablo 16).

**Tablo 16. Çözme Embriyo Grade' lerinin yıllara göre dağılımı (N=1207).**

Çözme yılları	Embriyolar			
	Grade A N (%)	Grade B N (%)	Grade C N (%)	Grade D N (%)
2005	11 (45,8)	3 (12,5)	5 (20,8)	5 (20,8)
2006	20 (41,7)	11 (22,9)	11 (22,9)	6 (12,5)
2007	52 (36,1)	26 (18,1)	26 (18,1)	40 (27,8)
2008	43 (25,4)	29 (17,2)	37 (21,9)	60 (35,5)
2009	60 (45,5)	15 (11,4)	16 (12,1)	41 (31,1)
2010	83 (40,9)	37 (18,2)	23 (11,3)	60 (29,6)
2011	63 (38,2)	35 (21,2)	14 (8,5)	53 (32,1)
2012	69 (55,2)	33 (26,4)	5 (4,0)	18 (14,4)
2013	33 (32,7)	11 (10,8)	14 (13,7)	43 (42,2)
2014	48 (50)	13 (13,5)	9 (9,4)	26 (27,1)
<b>Toplam</b>	<b>482 (39,9)</b>	<b>213 (17,7)</b>	<b>160 (13,3)</b>	<b>352 (29,2)</b>

Tablodan izlendiği gibi, çözme sonrası embriyo Grade' lerinin yıllara göre dağılımı homojen olmayıp (Şekil 13), Grade A embriyo oranı en yüksek 2012 ve 2014 yıllarındadır.



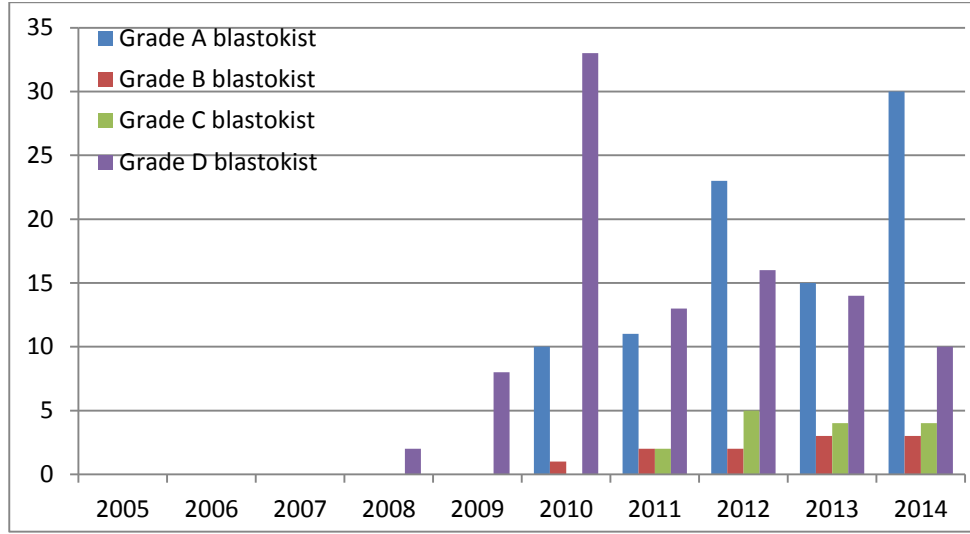
**Şekil 13. Çözme embriyo Grade' lerinin yıllara göre dağılımı.**

Blastokistlerin çözüme sonrası Grade'lerine bakıldığında, toplamda çözülen 211 blastokistin %42,2' si Grade A, %5,2' si Grade B, %7.1' i Grade C ve % 45,5' i Grade D olduğu saptanmıştır (Tablo 17).

**Tablo 17. Çözme blastokist Grade' lerinin yıllara göre dağılımı (N=211).**

Çözme yılları	Blastokistler			
	Grade A N (%)	Grade B N (%)	Grade C N (%)	Grade D N (%)
2005	-	-	-	-
2006	-	-	-	-
2007	-	-	-	-
2008	-	-	-	2 (100)
2009	-	-	-	8 (100)
2010	10 (22,7)	1 (2,3)	-	33 (75)
2011	11 (39,3)	2 (7,1)	2 (7,2)	13 (46,4)
2012	23 (50)	2 (4,4)	5 (10,9)	16 (34,8)
2013	15 (41,7)	3 (8,3)	4 (11,1)	14 (38,9)
2014	30 (63,8)	3 (6,4)	4 (8,5)	10 (21,3)
<b>Toplam</b>	89 (42,2)	11 (5,2)	15 (7,1)	96 (45,5)

Tablodan görüldüğü gibi, 2008 yılında ilk olarak başlayan blastokist çözüme esasında 2010 yılından itibaren aktif hale gelmiş, fakat bu ilk yıllarda çözüme sonrası dejenere blastokist oranı çok yüksek (%75-%100) olup, devam eden yıllarda çözüme Grade A blastokist oranları artarken, dejenere blastokist oranları düşmüştür (Şekil 14).



**Şekil 14. Çözme blastokist Grade' lerinin yıllara göre dağılımı (N=211).**

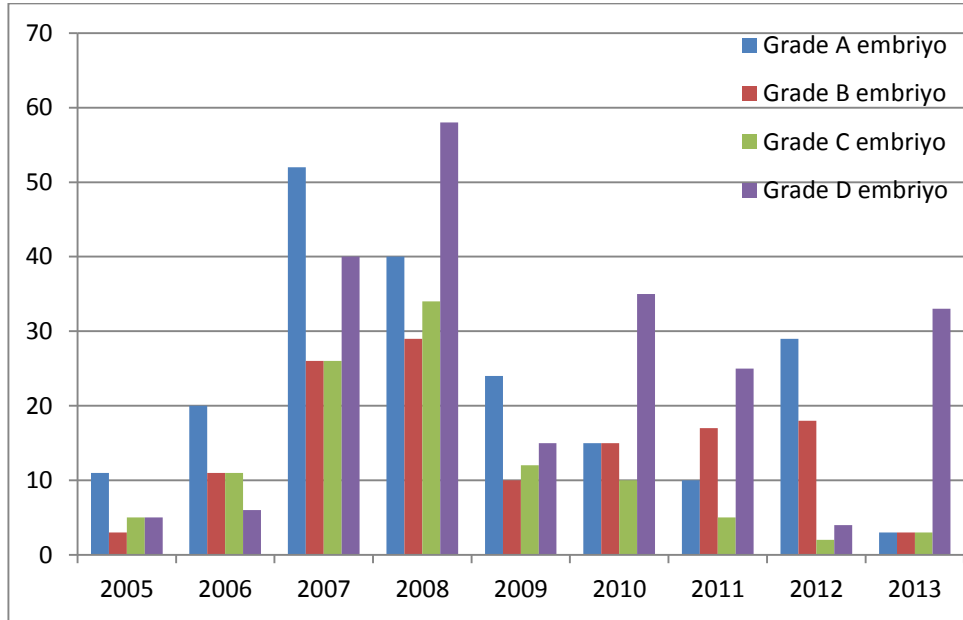
Şekilde gösterildiği gibi, yıllar bazında çözme sonrası dejenere (Grade D) blastokist oranları düşerken, kaliteli (Grade A) dondurulup çözülen blastokist oranları yükselmiştir.

Slow Freezing grubunda 2005-2013 yılları arasında transfer amaçlı toplamda 665 embriyo çözülmüş, bunlardan %30,7' si Grade A, %19,9' u Grade B, %16,2' si Grade C ve %33,2 kadarı Grade D şeklinde çözülmüştür (Tablo 18). Bu grupta blastokist çözülmemiştir.

**Tablo 18. Slow Freezing grubunda çözme sonrası embriyo Grade' lerinin yıllara göre dağılımı (N=665).**

Çözme yılları	Embriyolar			
	Grade A N (%)	Grade B N (%)	Grade C N (%)	Grade D N (%)
2005	11 (45,8)	3 (12,5)	5 (20,8)	5 (20,8)
2006	20 (41,7)	11 (22,9)	11 (22,9)	6 (12,5)
2007	52 (36,1)	26 (18,1)	26 (18,1)	40 (27,8)
2008	40 (24,8)	29 (18,0)	34 (21,1)	58 (36,0)
2009	24 (39,3)	10 (16,4)	12 (19,7)	15 (24,6)
2010	15 (20,0)	15 (20,0)	10 (13,3)	35 (46,7)
2011	10 (17,5)	17 (29,8)	5 (8,8)	25 (43,9)
2012	29 (55,2)	18 (26,4)	2 (4,0)	4 (14,4)
2013	3 (5,0)	3 (13,5)	3 (9,4)	33 (27,1)
<b>Toplam</b>	204 (30,7)	132 (19,9)	108 (16,2)	221 (33,2)

Tablodan görüldüğü gibi, bu grupta çözme sonrası ortaya çıkan embriyo Grade' lerinin yıllara göre dağılımında homojenite izlenmemiş, özellikle 2009-2010 yıllarından itibaren çözme embriyo sayılarında düşüş izlenmiştir (Şekil 15).



**Şekil 15. Slow Freezing grubunda çözme sonrası embriyo Grade' lerinin yıllara göre dağılımı (N=665).**

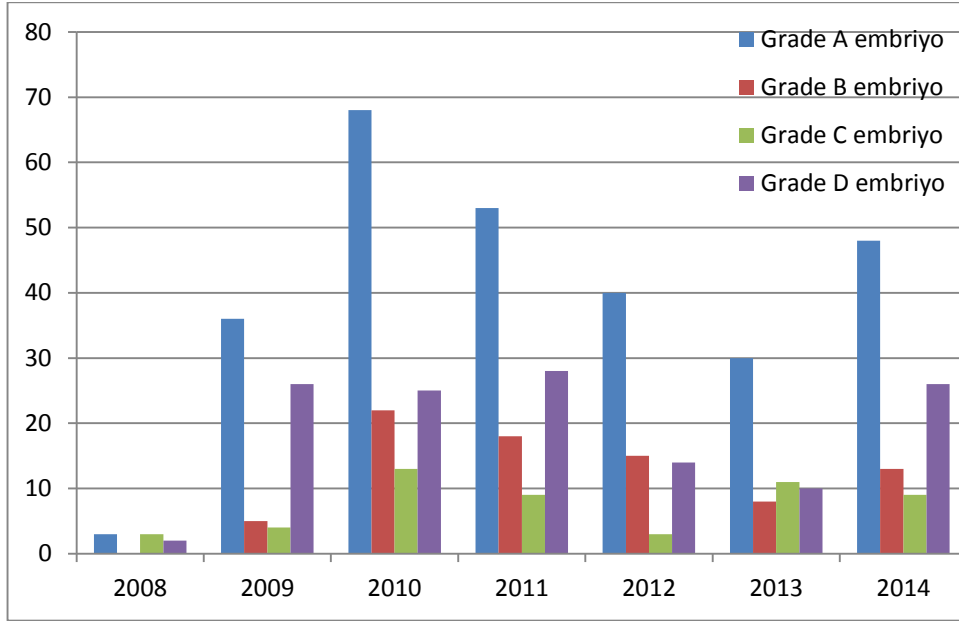
Vitrifikasyon grubunda 2008-2014 yılları arasında toplamda 542 adet embriyo ve 211 adet blastokist çözülmüştür. Bu grupta çözme sonrası toplam embriyoların %51,3 kadarı Grade A, %15' i Grade B, %9,6' sı Grade C ve %24,2 kadarı Grade D embriyo şeklinde olduğu saptanmıştır (Tablo 19).

**Tablo 19. Vitrifikasyon grubunda çözme sonrası Embriyo Grade' lerinin yıllara göre dağılımı (N=542).**

Çözme yılları	Embriyolar			
	Grade A N (%)	Grade B N (%)	Grade C N (%)	Grade D N (%)
2008	3 (37,5)	-	3 (37,5)	2 (25,0)
2009	36 (50,7)	5 (7,0)	4 (5,6)	26 (36,6)
2010	68 (53,1)	22 (17,2)	13 (10,2)	25 (19,5)
2011	53 (49,1)	18 (16,7)	9 (8,3)	28 (25,9)
2012	40 (55,6)	15 (20,8)	3 (4,2)	14 (19,4)
2013	30 (50,9)	8 (13,5)	11 (18,6)	10 (17,0)
2014	48 (50,0)	13 (14,0)	9 (9,4)	26 (27,1)
<b>Toplam</b>	278 (51,3)	81 (15,0)	52 (9,6)	131 (24,2)

Tabloda gösterildiği gibi, Vitrifikasyon grubunda çözme sonrası Grade A olan embriyo oranı dondurma yönteminin kullanıma geçildiği ilk 2008 yılı haricinde yaklaşık %50' dir, Grade B ve C embriyo oranları değişken olup, dejenere- Grade D embriyo oranları yaklaşık %15-25 aralığındadır (Şekil 16).





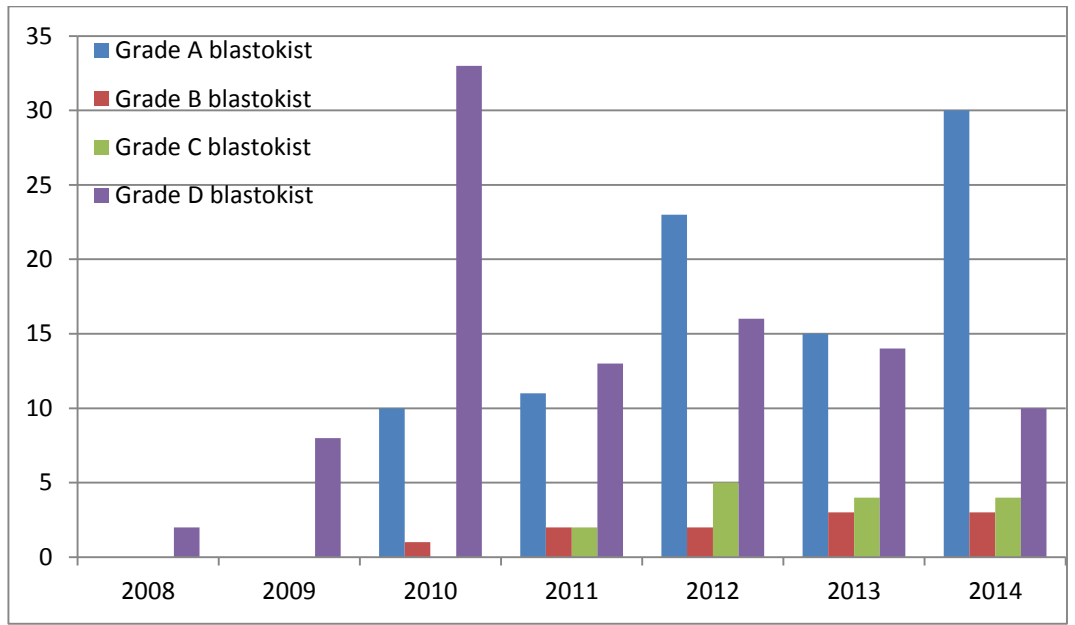
**Şekil 16. Vitrifikasyon grubunda çözme sonrası Embriyo Grade' lerinin yıllara göre dağılımı (N=542).**

Vitrifikasyon grubunda toplamda 211 blastokist çözülmüş ve çözme sonrası blastokistlerin Grade' lerine göre oranları- Grade A %42,2; Grade B %5,2; Grade C %7,1 ve Grade D % 45,5 şeklinde olduğu saptanmıştır (Tablo 20).

**Tablo 20. Vitrifikasyon grubunda çözme blastokist Grade' lerinin yıllara göre dağılımı (N=211).**

Çözme yılları	Blastokistler			
	Grade A N (%)	Grade B N (%)	Grade C N (%)	Grade D N (%)
2008	-	-	-	2 (100)
2009	-	-	-	8 (100)
2010	10 (22,7)	1 (2,3)	-	33 (75)
2011	11 (39,3)	2 (7,1)	2 (7,2)	13 (46,4)
2012	23 (50)	2 (4,4)	5 (10,9)	16 (34,8)
2013	15 (41,7)	3 (8,3)	4 (11,1)	14 (38,9)
2014	30 (63,8)	3 (6,4)	4 (8,5)	10 (21,3)
<b>Toplam</b>	<b>89 (42,2)</b>	<b>11 (5,2)</b>	<b>15 (7,1)</b>	<b>96 (45,5)</b>

Tablodan görüldüğü gibi, 2008-2010 yıllarında çözme sonrası yüksek oranda (%75-%100) dejenere blastokist saptanması ile karakterize olan bu grupta, zaman içerisinde çözme Grade A blastokist oranları artarken (%23-%64), dejenere blastokist oranları düşmüştür (%100-%21) (Şekil 17).



**Şekil 17. Vitrifikasyon grubunda çözme blastokist Grade' lerinin yıllara göre dağılımı (N=211).**

İki grup arasındaki çözme embriyo Grade' lerinin Yates düzeltilmeli ki-kare testi ile karşılaştırılmasında, çözme sonrası Grade A oranı Vitrifikasyonda Slow Freezing' e göre istatistiki anlamlı olarak daha yüksektir ( $p=0,0001$ ), Grade C ve D oranları istatistiki anlamlı olarak daha düşüktür ( $P=0,001$ ). Grade B oranlarına göre Slow Freezing grubunda yükseklik trendi mevcuttur (Tablo 21).

**Tablo 21. Çözme Grade' lerine göre grupların karşılaştırılması.**

<b>Çözme embriyo Grade' leri</b>	<b>SF (N=665) N (%)</b>	<b>V (N=542) N (%)</b>	<b>P</b>
<b>Grade A</b>	204 (30,7)	278 (51,3)	0,0001
<b>Grade B</b>	132 (19,9)	81 (15,0)	0,032
<b>Grade C</b>	108 (16,2)	52 (9,6)	0,001
<b>Grade D</b>	221 (33,2)	131 (24,2)	0,001

Blastokist çözme sadece Vitrifikasyon grubunda uygulandığı için gruplar arasında karşılaştırma yapılamamıştır.

Genel çözme sonrası embriyo yaşam oranlarına bakıldığında, (Grade A+B+C) Slow Freezing grubunda 444 canlı embriyo ile %66,8 ve Vitrifikasyon grubunda 441 canlı embriyo ile %75,8 olup, Vitrifikasyon grubunda Slow Freezing' e göre istatistiki anlamlı olarak yüksektir (p=0,0006).

Çözme sonrası blastokist yaşam oranları (Grade A+B+C) sadece vitrifikasyon grubunda blastokist dondurulduğundan gruplar arasında karşılaştırma yapılamamakta olup, 115 blastokist ile %54,5' tir.

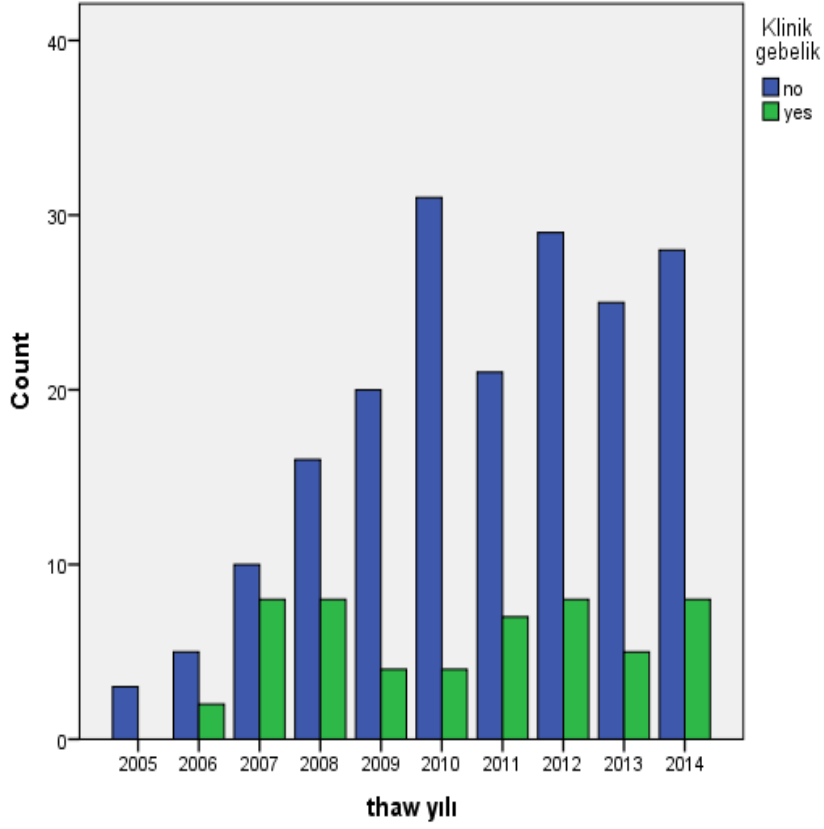
2005-2014 yılları arasında toplam çözme embriyo transfer sikluslarının klinik gebelik hızı 54 gebelik ile %22,3 olup, yıllara göre gebelik hızında lineer artış izlenmemiştir (p=0,258) (Tablo 22).

Vakaların toplamda implantasyon hızı %12,8 olup, Slow Feezing grubunda %11,4 ve Vitrifikasyon grubunda %14,1 olarak saptanmıştır.

**Tablo 22. Toplam klinik gebelik oranlarını yıllara göre dağılımı (N=54) (Kaba gebelik hızı %22,3).**

Çözme yılı	Klinik gebelik	
	Var (N=54) N (%)	Yok (N=188) N (%)
2005	0 (0)	3 (100)
2006	2 (28,6)	5 (71,4)
2007	8 (44,4)	10 (55,6)
2008	8 (33,3)	16 (66,7)
2009	4 (16,7)	20 (83,3)
2010	4 (11,4)	31 (88,6)
2011	7 (25)	21 (75)
2012	8 (21,6)	29 (78,4)
2013	5 (16,7)	25 (83,3)
2014	8 (22,2)	28 (77,8)

Tabloda gösterildiği gibi, en yüksek gebelik hızı sekizer gebelikle 2007-2008 (sırasıyla %44,4 ve %33,3) yıllarında izlenmiştir. Başarının en düşük olduğu yıl ise (çözme sikluslarının başladığı ilk 2005 yılı dikkate alınmazsa) %11,4 ile (4 gebelik) 2011 yılı olmuştur. Genel izlemde yıllar bazında klinik gebelik hızı dalgalanma göstermiştir (Şekil 18).



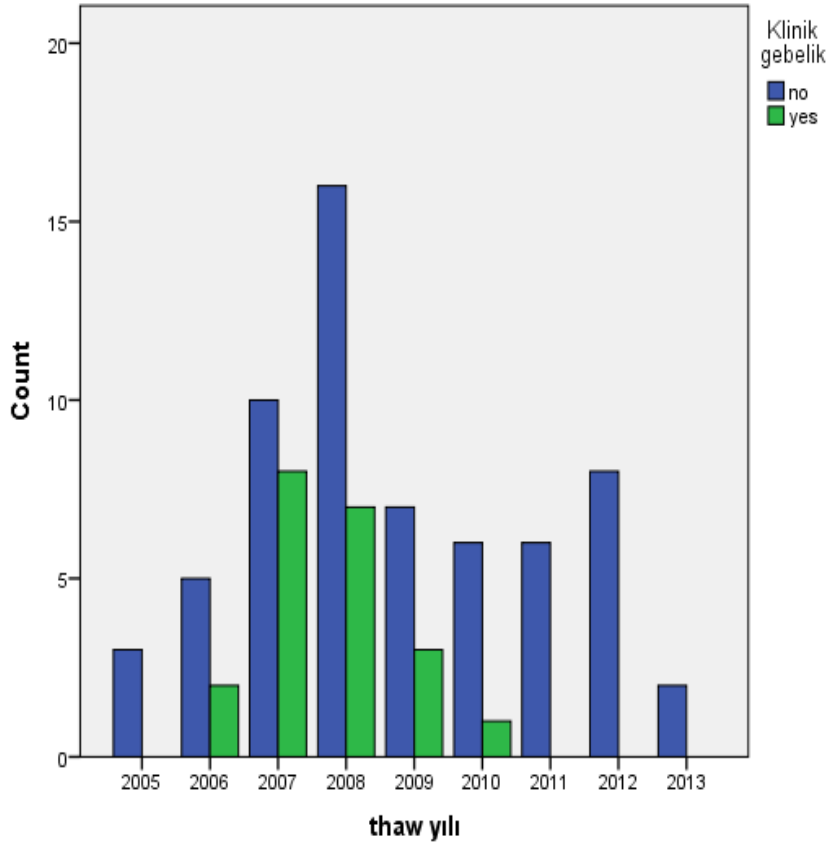
**Şekil 18. Toplam klinik gebelik oranlarını yıllara göre dağılımı (N=54). Lineer artış yoktur (R=0,047; p=0,258).**

Gruplar arasında klinik gebelik hızının yıllara göre dağılımına bakıldığında, (Tablo 23 ve 24) SF grubunda embriyo transferi yapılan 84 siklusun toplamda %25' inde (21 siklus) klinik gebelik izlenmiş olup, klinik gebeliklerin %71,4' ü 2007 ve 2008 yıllarında izlendiği saptanmıştır.

**Tablo 23. Slow Freezing grubundaki klinik gebelik oranlarının yıllar üzere dağılımı (N=84) (Gebelik hızı %25).**

Çözme yılı	Klinik gebelik	
	Var (N=21) N (%)	Yok (N=63) N (%)
2005	0/3 (0)	3/3 (100)
2006	2/7 (28,6)	5/7 (71,4)
2007	8/18 (44,4)	10/18 (56,6)
2008	7/23 (30,4)	16/23 (69,6)
2009	3/10 (30)	7/10 (70)
2010	1/7 (14,3)	6/7 (85,7)
2011	0/6 (0)	6/6 (100)
2012	0/8 (0)	8/8 (100)
2013	0/2 (0)	2/2 (100)

Tablo 23' te izlendiği gibi, SF grubunda 2005 yılında çözme embriyo transferi yapılan hastalarda gebelik izlenmemiştir, 2006 yılında gebelik oranı %29 ile başlamış, 2007 yılında %44 ve 2008-2009 yıllarında %30' larda seyir etmiş ve 2010 yılından %14 ile düşmüştür. Slow Freezing grubunda gebelik hızının değişimi zaman bazında lineer değildir (P=0,209) (Şekil 19).



**Şekil 19. Slow Freezing grubundaki klinik gebelik oranlarının yıllara göre dağılımı (N=21).Lineer artış yoktur (R=0,13; p=0,209).**

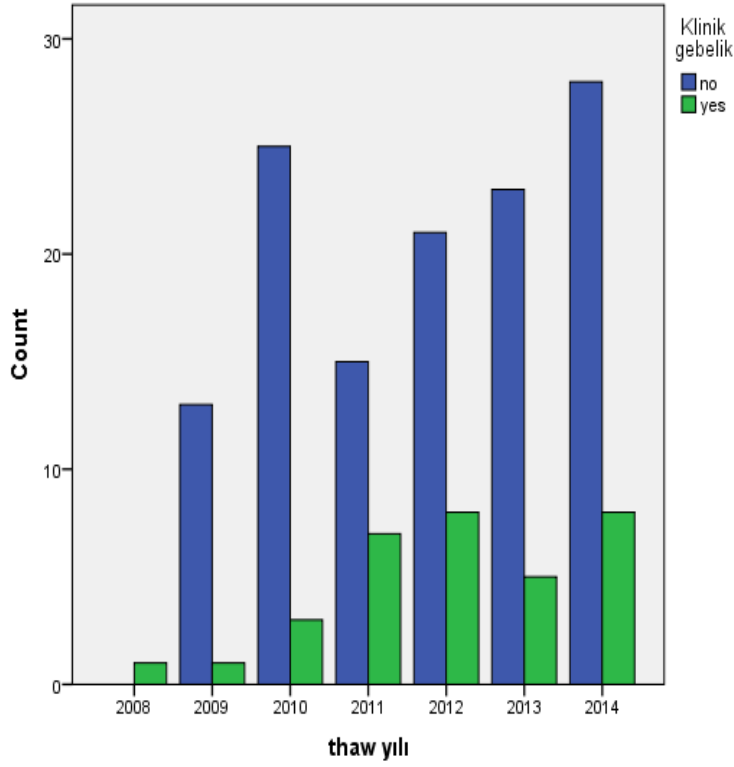
Vitrifikasyon grubunda embriyo transferi yapılan 158 siklusun toplamda %20,9' da (33 siklus) klinik gebelik izlenmiş olup, klinik gebeliklerin 2010-2011 yıllarından itibaren progressif olarak arttığı (2013 yılında bir duraksama izlenmiştir.) saptanmıştır (Tablo 24).

**Tablo 24. Vitrifikasyon grubundaki klinik gebeliklerin oranlarının yıllara göre dağılımı (N=158) (Klinik gebelik hızı %20,9).**

Çözme yılı	Klinik gebelik	
	Var (N=33) N (%)	Yok (N=125) N (%)
2008	1/1 (100)	0/1 (0)
2009	1/14 (7,1)	13/14 (92,9)
2010	3/28 (10,7)	25/28 (89,3)
2011	7/22 (31,8)	15/22 (68,2)
2012	8/29 (27,6)	21/29 (72,4)
2013	5/28 (17,9)	23/28 (82,1)
2014	8/36 (22,2)	28/36 (77,8)

Tablo 24' te görüldüğü gibi, Vitrifikasyon grubunda ilk olarak 2008 yılında tek siklus, ve klinik gebelikle sonuçlandığı için 2008 yılında klinik gebelik hızı %100 olarak saptanmamış, vaka sayılarının arttığı 2009 yılından itibaren gebelik hızı %7 (2009), %11 (2010), %32 (2011) şeklinde artış gösterse de, devam eden yıllarda dalgalanma göstermiş (Şekil 20) ve bu grupta da gebelik hızında yıllara göre lineer artış trendi saptanmıştır (p=0,138).





**Şekil 20. Vitrifikasyon grubunda gebelik oranlarının yıllar üzere dağılımı (N=33). Lineer artış trendi vardır (R=0,061; p=0,138)**

**Tablo 25. Slow Freezing ve Vitrifikasyon gruplarındaki klinik gebelik hızlarının yıllar bazında karşılaştırılması.**

Çözme yılı	Klinik gebelik		P
	SF (N=21) N (%)	V (N=33) N (%)	
2005	0/3 (0)	-	-
2006	2/7 (28,6)	-	-
2007	8/18 (44,4)	-	-
2008	7/23 (30,4)	1/1 (100)	0,72
2009	3/10 (30)	1/14 (7,1)	0,36
2010	1/7 (14,3)	3/28 (10,7)	0,79
2011	0/6 (0)	7/22 (31,8)	0,29
2012	0/8 (0)	8/29 (27,6)	0,23
2013	0/2 (0)	5/28 (17,9)	0,51
2014	-	8/36 (22,2)	-

Tablo 25' te gösterildiği gibi, yıllar bazında iki grup arasındaki klinik gebelik hızının Yates düzeltilmeli Ki-kare testi ile farkına bakıldığında, karşılaştırma her iki yöntemin de kullanıldığı 2008-2013 yılları arasında yapılmış olup, gruplar arasında istatistiki anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

Gruplarda çözme sonrası embriyo yaşam oranları ve çözme embriyo transfer başına ortalama klinik gebelik sayıları değerlendirilmiş, Slow Freezing grubunda çözme sonrası embriyo kalitesi ve transfer başına ortalama klinik gebelik sayıları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 26).

**Tablo 26. Slow Freezing grubunda çözme sonrası embriyoların kalitesi ve transfer başına ortalama gebelik sayıları (N=665).**

Çözülen embriyo kalitesi	Çözülen embriyolar N (%)	Transfer başına klinik gebelik		P
		Var ( $\pm$ SS)	Yok ( $\pm$ SS)	
Grade A	204 (30,7)	2,24 $\pm$ 1,3	1,43 $\pm$ 1,3	0,96
Grade B	132 (19,9)	0,43 $\pm$ 0,8	0,60 $\pm$ 1,0	0,28
Grade C	108 (16,2)	0,1 $\pm$ 0,4	0,25 $\pm$ 0,6	0,03
Grade D	221 (33,2)	*	*	*

\* Dejenere embriyolar transfer edilmemiştir.

Tablodan görüldüğü gibi, Slow Freezing ile dondurulup çözülen embriyo Grade' i düştükçe, gebelik olup- olmamasından bağımsız transfer edilen embriyo ortalama değeri düşmüştür. Bu çoğu hastada her çözme sonrası en az bir adet Grade A embriyo verebildiğimizi göstermektedir. Gebelik olan ve olmayan Grade A çözümlenme kalitesi gösteren embriyolar arasında yaklaşık iki misli bir fark

olmasına rağmen, aralarında istatistiki anlam izlenmemiştir. Sadece görüşün tam zıttı olarak, ne kadar fazla düşük kaliteli (Grade C) embriyo transfer edilir ise, gebelik olmayacağını predikte ettiği yönünde istatistiki anlamlı bir fikir oluşmuştur. Bu tablodan çıkan sonuç, Slow Freezing ile dondurup çözme sonrası yasaların uygun olarak bir veya iki Grade A ve B embriyo transfer edilirse, gebe kalabilirlik yönünde müspet katkısı olacaktır. Grade C transfer edilmesinin gebelik yönünden hastaya bir yararı yoktur.

Vitrifikasyon grubunda çözülen 542 erken evre embriyolarının Grade'leri ve transfer başına ortalama klinik gebelik sayıları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 27).

**Tablo 27. Vitrifikasyon grubunda çözme sonrası embriyoların kalitesi ve transfer başına ortalama gebelik sayıları (N=542).**

Çözülen embriyo kalitesi	Çözülen embriyolar N (%)	Transfer başına klinik gebelik		P
		Var ( $\pm$ SS)	Yok ( $\pm$ SS)	
Grade A	278 (51,3)	0,67 $\pm$ 0,9	0,74 $\pm$ 0,9	0,94
Grade B	81 (14,9)	0,09 $\pm$ 0,3	0,18 $\pm$ 0,5	0,05
Grade C	52 (9,6)	0,03 $\pm$ 0,2	0,05 $\pm$ 0,3	0,43
Grade D	131 (24,2)	*	*	*

\* Dejenere embriyolar transfer edilmemiştir.

Bu tabloda vitrifikasyon ile transfer edilen embriyo ortalama değerinin yasal düzenleme nedeniyle düştüğünü izlemekteyiz. Grade B çözme kalitesindeki

embriyo ortalama değeri gebe kalamayan grupta istatistiki anlamlı olarak daha fazladır. Bir başka değiş ile Grade B embriyolar transfer edildiğinde gebe kalınmayacağını daha önceden predikte etmektedir. Bu bulgu ile C kalitesinde çok az embriyo olduğunu da düşünürsek, Vitrifikasyon grubunda gebelik prediktif değeri anlamsız olsa da sadece sadece Grade A embriyolarda gözükmemektedir. B ve C kalitesindeki çözme embriyo transferinin gebe kalabilirlikten çok gebe kalamamayı öngördüğü söylenebilir. Slosw Freezing ile C kalitesinde çözülen embriyolarda görülen istatistiki anlam Vitrifikasyon grubunda daha üst kalite olan B kalitesine kaymıştır.

Bu grupta çözülen toplam 211 blastokistten, çözme sonrası dondurulduğu grade ile karşılaştırmada, blastokist Grade' leri ve ortalama klinik gebelik değerleri aşağıdaki tabloda gösterilmiştir (Tablo 28).

**Tablo 28. Vitrifikasyon grubunda çözme sonrası blastokistlerin kalitesi ve transfer başına ortalama gebelik değerleri (N=211).**

Çözülen blastokist kalitesi	Çözülen blastokistler N (%)	Transfer başına klinik gebelik		P
		Var (± SS)	Yok (± SS)	
Grade A	89 (42,2)	0,61 ± 0,7	0,43 ± 0,7	0,35
Grade B	11 (5,2)	0,06 ± 0,2	0,09 ± 0,3	0,33
Grade C	15 (7,1)	0	0,02 ± ,1	0,14
Grade D	96 (45,5)	*	*	*

\* Dejenere embriyolar transfer edilmemiştir.

Tablodan izlendiği gibi, blastokistlerde de gebe kalanlara daha çok çözme Grade A embriyo verildiği izlenmekle birlikte, gebe kalan ve kalmayan gruplar arasında blastokist çözme kalitesinin gebeliği predikte ettiği bir çözme kalitesi bulunamamıştır ( $p>0,05$ ). Non prediktif olduğu için daha çok prediktif olan embriyo gelişim evreleri tercih edilebilmektedir. Vitrifikasyon ile dondurulan erken evre embriyo ve blastokist .çözme sonrası transfer edilen ortalama transfer adedi benzerdir.

Endometriumun hazırlanma yöntemi çözme embriyo transferi yapılan toplam 242 siklusun %37,2' de (90 siklus) doğal, %62,8' de (152 siklus) estrojen ve progesteron takviyesinin uygulandığı (bazı vakalarda önceden GNRH analogları ile baskılama tedavisi uygulanan veya oral konreseptif verilen ) doğal olmayan sikluslardır (Tablo 29).

**Tablo 29. Toplam vakaların endometrial hazırlık yöntemlerine göre klinik gebelik hızı ( $p=0,027$ ).**

Endometrial hazırlık	Klinik gebelik	
	Var N (%)	Yok N (%)
Doğal siklus	27 (30)	63 (70)
Doğal olmayan siklus	27 (17,8)	125 (82,2)

Tablodan görüldüğü gibi, çözme embriyo transferi yapılan doğal sikluslarda klinik gebelik oranı (%30), ek takviyeli doğal olmayan sikluslara (%17,8) göre yüksek bulunmuştur ve bu fark istatistiki olarak anlamlıdır ( $p=0,027$ ). Tüp bebek ünitemizde çözme embriyo transferinin doğal sikluslarda yapılması gebe kalabilirliği predikte etmektedir.

Slow Freezing grubunda çözme embriyo transferi yapılan siklusların %17,9' u (15 siklus) doğal siklus, %82,1' i (69 siklus) doğal olmayan siklustur (Tablo 30).

**Tablo 30. Slow Freezing grubunda endometrial hazırlık yöntemlerine göre klinik gebelik hızı (p>0,05).**

Endometrial hazırlık	Klinik gebelik	
	Var N (%)	Yok N (%)
Doğal siklus	3 (20)	12 (80)
Doğal olmayan siklus	18 (26,1)	51 (73,9)

Tabloda gösterildiği gibi, Slow Freezing grubunda çözme embriyo transferi yapılan doğal siklusların %20' sinde (3 siklus), doğal olmayan siklusların % 26,1' inde (18 siklus) klinik gebelik saptanmış olup, gebelik oranları arasındaki fark anlamsızdır (p=0,62). Yani Slow Freezing grubunda doğal sikluslarda çözme embriyo transferi yapılması gebe kalabilirliği predikte etmemektedir.

Vitrifikasyon grubunda çözme embriyo transfer sikluslarının %47,5' i (75 siklus) doğal siklus, %52,5' i doğal olmayan siklustur (Tablo 31).

**Tablo 31. Vitrifikasyon grubunda endometrial hazırlık yöntemlerine göre klinik gebelik hızı (p=0,001).**

Endometrial hazırlık	Klinik gebelik	
	Var N (%)	Yok N (%)
Doğal siklus	24 (32)	51 (68)
Doğal olmayan siklus	9 (10,8)	74 (89,15)

Tablodan görüldüğü gibi, çözme embriyo transferi yapılan doğal siklusların klinik gebelik hızı (%32), doğal olmayan siklusların klinik gebelik hızına (%10,8) göre yüksek saptanmış olup, bu fark istatistik olarak anlamlıdır (p=0,001). Başka bir deyiş ile Tüp Bebek Ünitimizde dondurulmuş embriyoların doğal sikluslarda çözülerek transfer edilmesi özellikle Vitrifikasyon ile çözülen vakalarda gebe kalabilirliği ek takviyeli doğal olmayan sikluslara göre daha başarılı bir şekilde predikte etmektedir. Bu, bizim çözme embriyo transfer sikluslarında kullandığımız endometrium hazırlanma protokollerimizin doğal sikluslarla karşılaştırmada daha rafine edilmesi gerektiğini göstermektedir.

Çözme embriyo transferi yapılan toplam vakaların doğum hızı %12,8 olarak saptanmıştır. Toplam canlı doğum oranlarının yıllara göre dağılımı Tablo 32' de gösterilmiştir (N=31).

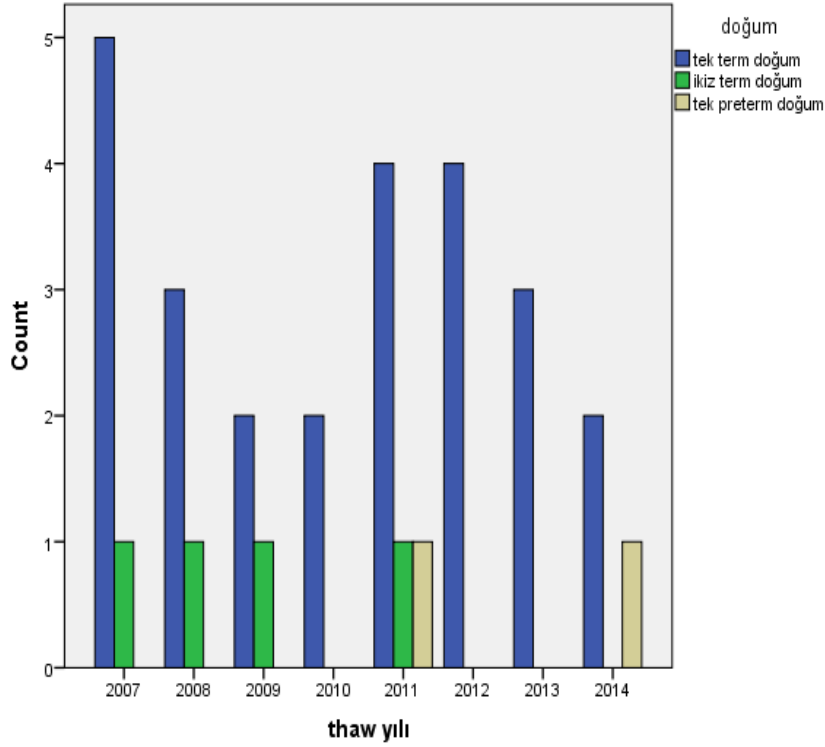
**Tablo 32. Toplam canlı doğum oranlarının yıllara göre dağılımı (N=31).**

Çözme embriyo transfer yılı*	Canlı doğumlar		
	Tek term (N=25) N (%)	Tek preterm (N=2) N (%)	İkiz doğum (N=4) N (%)
2005	0	0	0
2006	0	0	0
2007	5 (83,3)	0	1 (16,7)
2008	3 (75)	0	1 (25)
2009	2 (66,7)	0	1 (33,3)
2010	2 (100)	0	0
2011	4 (66,7)	1 (16,7)	1 (16,7)
2012	4 (100)	0	0
2013	3 (100)	0	0
2014	2 (66,7)	1 (33,3)	0

*\*Doğum yılı olarak, çözme embriyo transfer yılı gösterilmiştir.*

Tabloda gösterildiği gibi, toplam canlı doğumların %80,6' sını tek term doğum olup, canlı doğum hızında yıllara göre lineer artış saptanmamıştır (R=0,15; p=0,76) (Şekil 21).





**Şekil 21. Toplam canlı doğum oranlarının yıllara göre dağılımı (N=31). Lineer artış yoktur (R=0,15; p=0,76).**

Gruplar arasındaki doğum hızının yıllara göre dağılımını Tablo 32 ve 33'te gösterilmiştir.

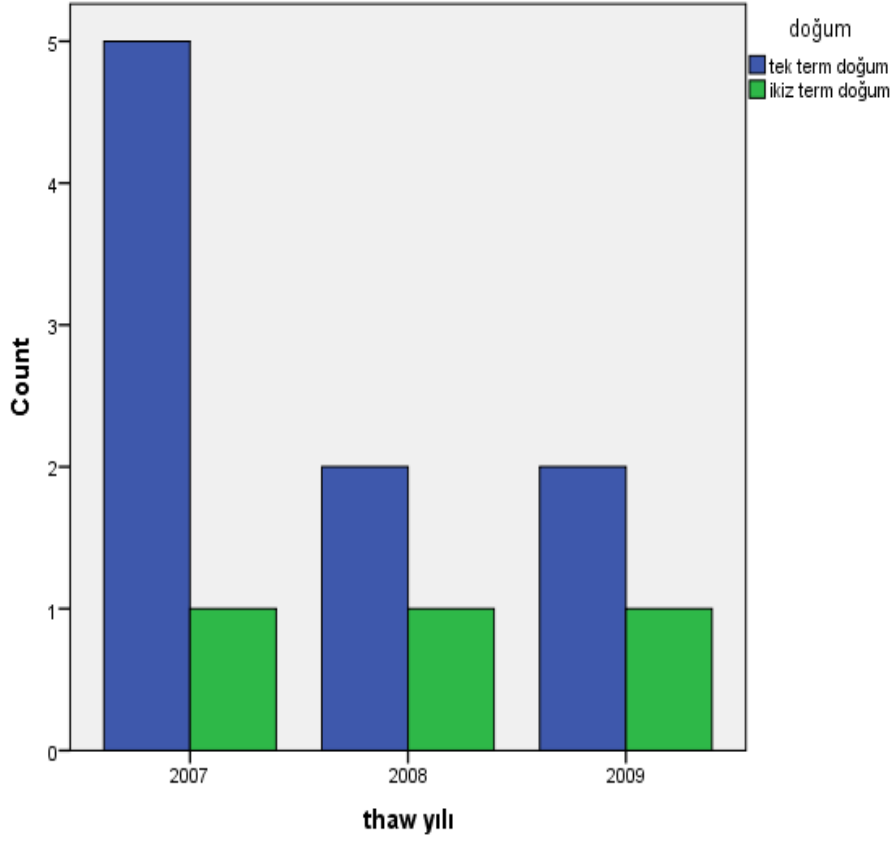
Slow Freezing grubunda çözme embriyo transferi yapılan vakaların gebelik hızı % 25 iken toplamda canlı doğum sayısı 12 doğum ile doğum oranı %14,3 olarak saptanmıştır. Bir başka deyişle bu grupta klinik gebelik izlenen %42,9 vakada gebelik kaybı izlenmiştir. Bir başka deyişle gebelerin neredeyse yarısı düşük yapmıştır (Tablo 33).

**Tablo 33. Slow freezing grubundaki canlı doğum oranlarının yıllara göre dağılımı (N=12). (Doğum hızı %14,3).**

Çözme embriyo transfer yılı*	Doğum	
	Tek (N=9) N (%)	İkiz (N=3) N (%)
2005	0	0
2006	0	0
2007	5 (83,3)	1 (16,7)
2008	2 (66,7)	1 (33,3)
2009	2 (66,7)	1 (33,3)
2010	0	0
2011	0	0
2012	0	0
2013	0	0

\*Doğum yılı olarak, çözme embriyo transfer yılı gösterilmiştir.

Tabloda gösterildiği gibi, Slow Freezing grubunda canlı doğumlar 2007 - 2009 yılları arasında izlenmiştir. Grubun canlı doğum hızında zaman bazında lineer artış saptanmamıştır ( $R=0,04$ ;  $p=0,84$ ) (Şekil 22). En fazla doğum (tüm doğumların %50' si) ve en fazla tekiz doğum (5 doğum ile %83,3) 2007 yılında izlenmişken, ikiz doğumlar yıllara göre eşit dağılmıştır. Doğumların %75' inin tekiz ve % 25' inin ikiz doğum olduğu saptanmıştır. Bu grupta preterm doğumlar izlenmemiştir.



**Şekil 22. Slow Freezing grubunda doğum oranlarının yıllara göre dağılımı (N=12). Lineer artış yoktur ( $R=0,04$ ;  $p=0,84$ ).**

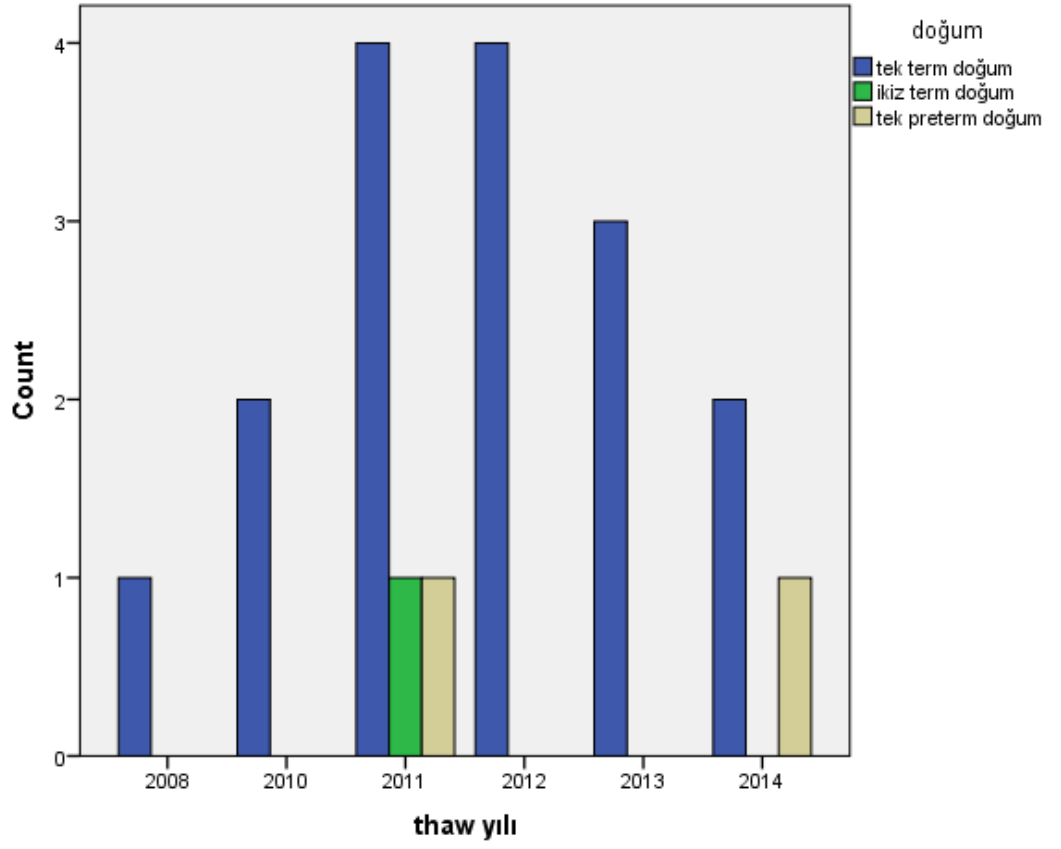
Vitrifikasyon grubunda toplam canlı doğum sayısı 19 ve canlı doğum oranı %12 olarak saptanmıştır. Gebelik hızı %21 olan bu grupta vakaların %42,4' ü gebelik kaybı ile sonuçlanmıştır. Doğumların yıllara göre dağılımı Tablo 34' de gösterilmiştir.

**Tablo 34. Vitrifikasyon grubunda canlı doğum oranlarının yıllara göre dağılımı (N=19).**

Çözme embriyo transfer yılı*	Doğumlar		
	Tek term (N=16) N (%)	Tek preterm (N=2) N (%)	İkiz (N=1) N (%)
2008	1 (100)	0	0
2009	0	0	0
2010	2 (100)	0	0
2011	4 (66,7)	1 (66,7)	1 (16,7)
2012	4 (100)	0	0
2013	3 (100)	0	0
2014	2 (66,7)	1 (33,3)	0

\*Doğum yılı olarak çözme embriyo transfer tarihi gösterilmiştir.

Tabloda gösterildiği gibi, Vitrifikasyon grubunda en fazla canlı doğumlar 2011 yılında izlenmiş (6 doğum), toplam doğumların %84' ünün (16 doğum) tek term doğum , %10,5'inin (2 doğum) tek preterm ve %5' inin ikiz doğum olduğu saptanmıştır. Grubun canlı doğum hızında yıllara göre lineer artış saptanmamıştır (R=0,2; p=0,67) (Şekil 23).



**Şekil 23. Vitrifikasyon grubunda canlı doğum oranlarının yıllara göre dağılımı (N=19). Lineer artış yoktur (R=0,2; p=0,67).**

**Tablo 35. Slow Freezing ve Vitrifikasyon gruplarındaki toplam canlı doğum oranlarının yıllar bazında karşılaştırılması (p>0,05).**

Çözme embriyo transfer yılı*	Canlı doğumlar		P
	SF (N=12) N (%)	V (N=19) N (%)	
2005	0/3 (0)	-	-
2006	0/7 (0)	-	-
2007	6/18 (33,3)	-	-
2008	3/23 (13)	1/1 (100)	0,36
2009	3/10 (30)	0/14 (0)	0,12
2010	0/7 (0)	2/28 (7,1)	0,47
2011	0/6 (0)	6/22 (27,3)	0,38
2012	0/8 (0)	4/29 (13,8)	0,64
2013	0/2 (0)	3/28 (10,7)	0,63
2014	-	3/36 (8,3)	-

\*Doğum yılı olarak çözme embriyo transfer yılı gösterilmiştir.

Slow Freezing ve Vitrifikasyon gruplarındaki canlı doğum oranlarının gösterildiği Tablo 35 incelendiğinde, canlı doğum oranlarının karşılaştırılabileceği 2008-2013 yıllarında Yates düzeltilmiş Ki-kare testi ile Slow Freezing ve Vitrifikasyon grupları arasında yıllara göre canlı doğum oranları açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır (p>0,05).

## 5. TARTIŞMA

Bu çalışmada retrospektif olarak değerlendirilen 300 çözme siklusu dondurma yöntemine tipine göre: 1. Slow Freezing ve 2. Vitrifikasyon gruplarına ayrılarak incelenmiştir.

Çalışma gruplarındaki kadın yaşı, VKİ, siklus öncesi D3-FSH, D3-LH, D3-E2, TSH, sT4 değerleri, önceki İVF siklus sayısı, ayrıntılı infertilite nedenlerinin dağılımının karşılaştırılmasına bakıldığında, gruplar arasında istatistiki anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

Mevcut yaşayan çocuk sayılarının gruplar arasındaki dağılımına bakıldığında Slow Freezing grubunda vakaların %30,6' sının 1 ve %6,1' inin 2 yaşayan çocuğu varken, Vitrifikasyon grubunda vakaların sadece % 20,3' ünün 1 yaşayan çocuğu olduğu ve bu farkın istatistiki olarak anlamlı olduğu saptandı ( $p=0,001$ ), bu da Slow Freezing grubundaki hastaların doğurganlık durumunun anlamlı olarak yüksek olduğunu göstermektedir. Zaman içinde toplumun demografik özelliklerinin değişmesi ve günümüzde giderek artan sosyoekonomik stres ve çevre kirliliği nedeniyle çiftlerin fertilitésinin azalması nedenlerinden olabilir.

Çalışma gruplarındaki vakaların yıllar üzere dağılımı incelendiğinde, yavaş dondurma yönteminin zamanla yerini vitrifikasyon yöntemine bıraktığı gözlenmekte ve özellikle, 2009 yılında vitrifikasyon yönteminin aktif kullanıma geçmesi ile bu yer değişimi bariz bir şekilde dikkat çekmektedir.

Çalışmamızdaki vakaların vitifikasyon grubunda %94' lük yoğunluğundaki kısmına bir veya iki embriyo transferi yapılırken, slow freezing grubunda ancak

%47' sinde bir veya iki embriyo transferi yapılmış ve bu fark istatistiki anlamlıdır (p=0,001). Dağılımın bu şekilde olması GÜTF Tüp Bebek Merkezinde yavaş dondurma yönteminin çoğul gebelikler ve buna bağlı gelişen komplikasyonları önlemek için T.C. Sağlık Bakanlığının 06 Mart 2010 tarihli yönetmeliğindeki<sup>[100]</sup> embriyo transferlerinde sayı kısıtlaması uygulamalarından önce yapılması, vitrifikasyon yöntemi uygulamalarının ise büyük çoğunluğunun bu yönetmelik sonrasına tesadüf etmesi nedeniyledir.

Çalışmada 2004-2014 yılları arasında 1469' u erken evre (2. ve 3. gün) embriyosu ve 239 adedi ise blastokist (5. ve 6. gün embriyoları) olmakla, toplamda 1708 embriyo dondurulmuştur. Erken evre embriyolardan %71,6' sı Grade 1, %21,6' sı Grade 2, %6,7' si ise Grade 3 embriyo olarak dondurulmuştur. İki grup arasındaki dondurma Grade' lerine göre embriyo sayılarının karşılaştırılmasına bakıldığında, Vitrifikasyon grubunda (%75,6) Slow Freezing' e nazaran (%68,2) istatistiki anlamlı olarak daha fazla Grade 1 embriyo (p=0,002) ve daha az (uygun olarak, %4,4 ve %8,9) Grade 3 embriyo (p=0,001) dondurulmuştur, başka deyişle, Vitrifikasyonda daha az sayıda fakat daha yüksek kalitede embriyolar dondurulmaya başlamıştır. Dondurulan Grade 2 embriyo oranları (uygun olarak, %20 ve %23) arasında istatistiki anlamlı fark saptanmamıştır (p=0,2). Dondurulan blastokistlerin (239 adet) %39,7' si erken blastokist, %29,7' si Grade A, %19,7' si Grade B ve %10,9' u Grade C blastokist olup, blastokistler sadece vitrifikasyon yöntemi ile dondurulduğu için karşılaştırma yapılamamıştır.



Dünya literatürüne baktığımızda, Wong ve arkadaşlarının derlemesinde sadece en kaliteli embriyoların dondurulup çözülerek embriyo transferi yapıldığı kliniklerin başarı oranlarının dondurma için daha düşük kaliteli embriyoları sınır değeri olarak alan kliniklerin başarı oranlarından daha üstün olduğu gösterilmiştir<sup>[8]</sup>. Valojerdi ve ark. çalışmasında fragmantasyon oranı <%10 olan en kaliteli embriyoların<sup>[101]</sup>, Balaban ve ark. çalışmasında blastomerleri eşit büyüklükte ve fragmantasyon oranı <%20 olan iyi kaliteli embriyoların<sup>[102]</sup> seçildiğini göstermişlerdir.

Çalışmada 2005-2014 yılları arasında transfer amaçlı toplamda 1207 adet erken evre embriyo ve 211 adet blastokist çözülmüştür. Çözme erken evre embriyoların %39,9' u A Grade, %17,7' si B Grade, %13,3' ü C Grade ve %29,2' si D Grade embriyo olduğu, blastokistlerin %42,2' si Grade A, %5,2' si Grade B, %7.1' i Grade C ve % 45,5' i Grade D olduğu saptanmıştır. İki grup arasındaki çözme sonrası ortaya çıkan embriyo kalitesine göre Grade' lerin karşılaştırılmasında, çözme sonrası Grade A oranı Vitrifikasyonda Slow Freezing' e göre istatistiki anlamlı olarak daha yüksek (p=0,0001), Grade C ve D oranları istatistiki anlamlı olarak daha düşüktür (P=0,001). Grade B oranlarına göre Slow Freezing grubunda yükseklik trendi mevcuttur. Bu ise o demektir ki, vitrifikasyon yöntemi ile dondurulup çözme kaliteli embriyo çözme açısından yavaş dondurma yöntemine göre anlamlı olarak üstündür.

Blastokistler sadece Vitrifikasyon grubunda dondurulduğu için gruplar arasında karşılaştırma yapılamamıştır. 2008 yılında ilk olarak başlayan blastokist çözme esasında 2010 yılından itibaren aktif hale gelmiş, fakat bu ilk yıllarda

çözme sonrası dejenerer blastokist oranı çok yüksek (%75-%100) olup, devam eden yıllarda dondurma tekniğinde deneşim ve iyileşme ile çözme sonrası dejenerer blastokist oranları lineer olarak %21' lere kadar azalmış ve buna benzer şekilde çözme sonrası Grade A blastokist oranları 2010 yılında %22 iken 2014 yılında %64' e kadar yükselmiştir.

Literatüre baktığımızda embriyo gelişim aşamalarından hangisinin dondurulma açısından başarılı olduğunu araştıran çalışmalardan Pantos ve arkadaşlarının çalışmasında erken evre embriyoların çözme sonrası yaşam oranlarını daha yüksek saptamakla birlikte, blastokist gelişim aşamasında embriyoların yüksek oranda gelişim arresti nedeniyle, erken evre embriyoları ve blastokist dondurulması arasında fark olmadığı gösterilmiştir<sup>[103]</sup>.

Çalışmamızda çözme sonrası embriyo yaşam oranları Slow Freezing grubunda %66,8 ve Vitrifikasyon grubunda %75 olarak saptanmış olup, Vitrifikasyon grubunda Slow Freezing' e göre istatistiki anlamlı olarak yüksektir ( $p= 0,0006$ ). Çözme sonrası blastokist yaşam oranı %54,5 olarak saptanmıştır.

Literatürde dondurulup çözülen embriyo yaşam oranları ile ilgili çok sayıda makale vardır, bunlardan Balaban ve arkadaşlarının çalışmasında 120 kadından toplanan 466 aded istenmeyen 3.gün embriyoları vitrifikasyon (234) ve slow freezing (232) yöntemleri dondurulmuş ve çözülmüştür. Bizim çalışmamızdan farklı olarak embriyo yaşam oranları açısından vitrifikasyon yönteminin (%94,8) slow freezing yöntemine (%88,7) anlamlı olarak üstün olduğu saptanmıştır<sup>[102]</sup>. Bu ise bizim çalışmamızda bu çalışmadan farklı olarak daha düşük Grade' li embriyoların dondurulması ile bağlantılıdır.

Kollibianakis ve arkadaşlarının insan embriyolarının vitrifikasyon ve slow freezing yöntemi ile dondurulmasının karşılaştırıldığı randomize kontrollü çalışmalardan oluşan derlemede de, bir meta-analiz<sup>[104]</sup>, yedi prospektif çalışmanın<sup>[105-108]</sup> sonuçları incelenmiş, vitrifikasyonun erken evre embriyo ve blastların çözme sonrası yaşam oranı slow freezing yöntemine göre daha yüksek saptanmış, çözme sonra blast gelişim hızı açısından vitrifikasyon önemli ölçüde daha iyi olarak değerlendirilmiştir<sup>[13]</sup>. Loutradi ve arkadaşlarının yaptığı üçü randomize kontrollü olmakla dört çalışmadan ibaret bir meta-analizde de vitrifikasyon sonrası klivaj evresindeki embriyolarda ve blastlarda yaşam oranı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur<sup>[104]</sup>.

Yine bu grup çalışmalardan Valojerdi ve arkadaşlarının 305 hastanın embriyoları vitrifikasyon (153) ve slow freezing (152) yöntemleri ile dondurulduğu retrospektif çalışmasında, çözme sonrası vitrifikasyon grubunda yüksek embriyo yaşam oranları (%96,9 ve %82,8), çözme sonrası tüm blastomerlerin intakt olduğu morfoloji (%91,8 ve %56,2) oranları saptamıştır<sup>[101]</sup>.

Son ve arkadaşlarının yayınladığı bir derlemede vitrifikasyon yöntemi ile yaklaşık %80 oranında yüksek embriyo yaşam oranları saptandığını göstermişlerdir<sup>[10, 12, 105]</sup> ki bu sonuçlar bizim çalışma sonuçları ile benzerdir. Bizim çalışmamız ve literatürdeki diğer çalışmaların sonuçları, çözme sonrası daha düşük kaliteli embriyo sonuçları olan yavaş dondurma yönteminin bırakılarak, embriyo ve blastokistlerinin sadece vitrifikasyon yöntemi ile dondurulması fikrini doğrular.

Çalışmamızda 2005-2014 yılları arasında toplam çözme embriyo transfer sikluslarının klinik gebelik hızı 54 gebelik ile %22,3 olup, yıllara göre gebelik hızında lineer artış izlenmemiştir (p=0,28).

Literatürde çözme sonrası transfer başına gebelik hızı %20-%60 gibi geniş aralıkta gösterilmektedir. Veeck ve arkadaşlarının 753 hastadan ibaret çalışmasında, çözme blastokist transferi yapılan 211 kadından 125' inde klinik gebelik ile, bizim çalışmamız ile karşılaştırıldığında yüksek (%59) klinik gebelik hızı gösterilmiştir<sup>[12]</sup>. Balaban ve arkadaşlarının çalışmasında kohort olarak, 73 kadından toplanan 241 embriyo da vitrifikasyon yöntemi ile dondurulmuş ve çözülmüş klinik gebelik hızı (%49,3) bulunmuştur. Kontrol grubu olmayan bu çalışmada gösterilen gebelik hızı bizim çalışmanın gebelik hızı sonuçlarından yüksektir. Yukarıda da gösterildiği gibi, bizim çalışmamızda başarı oranlarının daha düşük saptaması, dondurulma öncesinde embriyo seçim kriterilerindeki cut-off değerlerinin daha düşük tutulması, bir başka deyişle, daha düşük grade' li embriyoların da dondurulmasıdır.

Son ve arkadaşlarının yayınladığı bir derlemede vitrifikasyon yöntemi ile yaklaşık %22-35 aralığında gebelik hızı saptandığını göstermişlerdir<sup>[10, 12, 105]</sup> ki bu sonuçlar bizim çalışmamızın sonuçları ile benzerdir (%25 ve %20,9).

Bizim çalışmamızda toplam çözme sonrası gebelik hızının yıllara göre değerlendirilmesine bakıldığında, Slow Freezing grubunda embriyo transferi yapılan 84 siklusun toplamda %25' inde (21 siklus) klinik gebelik izlenmiş olup, gebelik hızında zaman bazında lineer artış saptanmamıştır (p=0,209). Vitrifikasyon grubunda embriyo transferi yapılan 158 siklusun toplamda %20,9'

da (33 siklus) klinik gebelik izlenmiş olup, yıllara göre gebelik hızında lineer artış trendi saptanmıştır (p=0,138).

Dünya literatürüne baktığımızda, Silfer' in 652 Vitrifikasyon ve 1125 Slow Freezing yöntemi ile dondurulup çözülmüş embriyo transferlerinden ibaret prospektif çalışmasında gebelik hızı Vitrifikasyonda (%26,5 ve 72/652) Slow Freezing' e göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır<sup>[109]</sup>. Liebermann ve arkadaşlarının 254 adet 5. ve 6 gün blastların vitrifikasyon ile ve 254 adet 5. ve 6. gün blastların da slow freezing yöntemi ile dondurulduğu retrospektif çalışmasında da klinik gebelik hızları vitrifikasyon grubunda 5. gün blastokistlerinde %48,7 ve 6 gün blastokistlerinde %42,8 olmakla slow freezing grubundakine göre (5 gün blastlarında %42,8 ve 6, gün blastokistlerinde %43,1) verimli bulunmuştur<sup>[110]</sup>.

Bizim çalışmamızda da yıllar bazında iki grup arasındaki klinik gebelik hızının Yates düzeltmeli Ki-kare testi ile farkına bakıldığında, karşılaştırma her iki yöntemin de kullanıldığı 2008-2013 yılları arasında yapılmış olup, gruplar arasında istatistiki anlamlı fark saptanmamıştır (p>0,05).

Kollibianakis ve arkadaşlarının insan embriyolarının vitrifikasyon ve slow freezing yöntemi ile dondurulmasının karşılaştırıldığı bir meta-analiz<sup>[104]</sup>, yedi prospektif çalışmanın<sup>[105-108]</sup> yer aldığı randomize kontrollü çalışmalardan oluşan derlemesinde bizim çalışmamızda olduğu gibi transfer başına klinik gebelik hızı açısından iki dondurma yöntemi arasında anlamlı fark saptanmamıştır<sup>[13]</sup>.

Çalışmamızda her iki grupta da çözme sonrası embriyo kalitelerine göre transfer başına ortalama klinik gebelik sayılarına bakıldığında, çözme embriyo

grade kalitesi düştükçe, transfer başına ortalama gebelik sayıları da düşmüştür, Slow Freezing grubunda Grade C embriyolarda, vitrifikasyon grubunda ise Grade B embriyolarda transfer başına klinik gebelik elde etme oranı anlamlı olarak düşüktür. Bu sonuçlar göz önüne alınarak, Grade' lemenin transfer sonrası gebelik hızını predikte edebildiği görülmektedir.

Çalışmamızda endometriumun hazırlanma yöntemi çözme embriyo transferi yapılan toplam 242 siklusun %37,2' de (90 siklus) doğal, %62,8' de (152 siklus) estrojen ve progesteron takviyesinin uygulandığı (bazı vakalarda önceden GNRH analogları ile baskılama tedavisi uygulanan veya oral konreseptif verilen ) doğal olmayan sikluslardır. Çözme embriyo transferi yapılan doğal sikluslarda klinik gebelik oranı (%30), ek takviyeli doğal olmayan sikluslardakine (%17,8) göre yüksek bulunmuştur ve bu fark istatistiki olarak anlamlı ( $p=0,027$ ) saptanmıştır. Slow Freezing grubunda çözme embriyo transferi yapılan siklusların %17,9' u (15 siklus) doğal siklus, %82,1' i (69 siklus) doğal olmayan siklustur. Slow Freezing grubunda çözme embriyo transferi yapılan doğal siklusların %20' sinde (3 siklus), doğal olmayan siklusların % 26,1' inde (18 siklus) klinik gebelik saptanmış olup, gebelik oranları arasındaki fark anlamsız ( $p=0,62$ ) olarak saptanmıştır. Vitrifikasyon grubunda çözme embriyo transferi yapılan sikluslarının %47,5' i (75 siklus) doğal siklus, %52,5' i doğal olmayan siklustur çözme embriyo transferi yapılan doğal siklusların klinik gebelik hızı (%32), doğal olmayan siklusların klinik gebelik hızına (%10,8) göre yüksek saptanmış olup, bu fark istatistik olarak anlamlıdır ( $p=0,001$ ).

Çalışmamızda toplam çözme embriyo transferi yapılan vakalarda ve vitrifikasyon grubunda doğal sıklusa çözme embriyo transferi yapılan vakaların klinik gebelik hızının anlamlı yüksek olması, doğal siklus uygulanan kadınların ovulatuvar olmayan sıkluslara göre endometriumlarının implantasyon için daha uygun olması nedeniyle olmuş olabilir.

Literatürde çözme embriyo transferi öncesinde endometrium hazırlanma yöntemlerinin başarı oranına etkisi incelendiğinde, ANTARCTICA çalışmasında çözme embriyo transferi yapılan 18-40 yaş arası kadınlarda başarı oranları açısından doğal ve takviyeli doğal olmayan sikluslar arasında fark saptanmamıştır<sup>[111]</sup>. Wong ve arkadaşlarının derlemesinde de çözme embriyo transferi sikluslarında klinik gebelik ve canlı doğum hızı açısından doğal veya dola olmayan sikluslar arasında anlamlı fark olmadığı gösterilmiştir<sup>[8, 112, 113]</sup>.

Çalışmamızda bakılan çözme embriyo transferi yapılan toplam vakaların doğum hızı %12,8 olarak saptanmıştır ki, bu da toplamda klinik gebelik izlenen siklusların % 42,6' sının gebelik kaybı ile sonuçlandığını göstermektedir. Çalışma gruplarına bakıldığında, Slow Freezing grubunda çözme embriyo transferi yapılan vakaların gebelik hızı % 25 iken toplamda canlı doğum sayısı 12 doğum ile doğum oranı %14,3 olarak saptanmıştır. Bir başka deyiş ile bu grupta klinik gebelik izlenen %42,9 vakada gebelik kaybı izlenmiştir. Vitrifikasyon grubunda toplam canlı doğum sayısı 19 ve canlı doğum oranı %12 olarak saptanmıştır. Gebelik hızı %21 olan bu grupta vakaların %42,4' ü gebelik kaybı ile sonuçlanmıştır. Bir başka deyiş ile gebe kalanların yaklaşık yarısı düşük yapmıştır.

Literatürde bu konuda canlı doğum oranlarının gösterildiği kısıtlı sayıda çalışma mevcuttur. Pavone ve arkadaşlarının 1991 zigot, embriyo ve blastokist çözme sonrası transferinin değerlendirildiği çalışmasında zigotlarda %7,3; 3. gün embriyolarında %10 ve blastokistlerde %11,7 canlı doğum oranları gösterilmiştir, klinik gebelik hızının gösterilmediği bu çalışmada transfer siklusu başına implantasyon hızı zigotlarda %50,2; 3. gün embriyolarında 44,6 ve blastokistlerde %38 olarak saptanmıştır<sup>[114]</sup> ki, bu da bizim çalışmamızda olduğu gibi gebelik kayıplarının yüksek olduğunu gösterir.

Mocanu ve arkadaşlarının 652 taze ve 1900 çözme embriyo transfer sikluslarının sonuçlarını karşılaştıran çalışmasında ise transfer başına çözme embriyo klinik gebelik hızının %21 ve taze sikluslarda %29,1 olduğu; gebelik kayıp oranlarının çözme sikluslarında (%29) taze İVF sikluslarına göre (%18,3) yüksek olduğu gösterilmiştir<sup>[115]</sup>.

Çalışma gruplarındaki canlı doğumlar arasındaki tek ve ikiz doğum oranlarına bakıldığında, Slow Freezing grubunda doğumların %75' i tek ve %25' i ikiz doğum, Vitrifikasyon grubunda ise %95'i tek ve %5' i ikiz doğum saptanmıştır. Ancak gruplar arasındaki bu fark istatistiki olarak anlamlı bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Tek ve ikiz doğum sayıları arasındaki bu fark Slow Freezing çözme embriyo transferlerinin çoğunun T.C. Sağlık Bakanlığının 06 Mart 2010 tarihli yönetmeliğindeki<sup>[100]</sup> embriyo transferlerinde sayı kısıtlaması uygulamalarından önce yapılması, vitrifikasyon yöntemi uygulamalarının ise büyük çoğunluğunun bu yönetmelik sonrasına tesadüf etmesi nedeniyledir. Çalışma gruplarında



yönetmelik öncesinde ve sonrasında üçüz, dördüz ve diğer çoğul doğumlar izlenmedi.

Çalışmamızda Slow Freezing ve Vitrifikasyon gruplarındaki canlı doğum oranları karşılaştırıldığında, karşılaştırılmanın yapılabileceği 2008-2013 yıllarında Yates düzeltilmiş Ki-kare testi ile Slow Freezing ve Vitrifikasyon grupları arasında yıllara göre canlı doğum oranları açısından istatistiksel anlamlı fark saptanmamıştır.

Bu sonuçlar Pavone ve arkadaşlarının çalışmasında ve Kolibianakis ve arkadaşlarının bir meta-analiz<sup>[104]</sup>, yedi prospektif çalışmanın<sup>[105-108]</sup> yer aldığı randomize kontrollü çalışmalardan oluşan derlemesindeki sonuçlar ile benzer olup, Li ve arkadaşlarının gösterdiği canlı doğum oranlarından farklıdır.

Li ve arkadaşlarının 12852 yavaş ve 20887 vitrifikasyon ile dondurulmuş blastokistlerin çözme transfer sikluslarını karşılaştırıldığı çalışmada, bizim çalışmamızdan farklı olarak, vitrifikasyon grubunda klinik gebelik (ARR:1,47 %95 CI: 1,39-1,55) oranları slow freezing grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır<sup>[116]</sup>. Aynı şekilde Valojerdi ve arkadaşlarının 305 hastanın embriyolarının vitrifikasyon (153) ve slow freezing (152) yöntemleri ile dondurulduğu retrospektif çalışmada, vitrifikasyon grubunda klinik gebelik hızının yüksek (%40,5 ve %21,4) saptandığını göstermişler<sup>[101]</sup>.

Çalışmamızın sonuçlarına göre, dondurulup çözülen embriyo yaşam oranları, gebelik hızı ve doğum hızı açısından Slow Freezing ve vitrifikasyon yöntemleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır.

Dünya literatüründe insan embriyolarının slow freezing ve vitrifikasyon yöntemleri ile dondurulmasının başarı oranlarının karşılaştırılmasında canlı

doğum hızını gösteren kısıtlı sayıda çalışma vardır ve bizim çalışmamızın avantajı aynı çalışma içerisinde başarı oranlarını gösteren çok sayıda parametrenin: embriyo yaşam oranları, gebelik ve implantasyon hızı ve canlı doğum oranlarının gösterilebilmesidir.

Sonuç olarak, bizim çalışmamızda bir çok diğer literatürde gösterildiği gibi, Vitrifikasyon yöntemi Slow Freezing yöntemi ile karşılaştırmada, klinik gebelik ve implantasyon hızları yaklaşık benzer orandadır. Bazı diğer çalışmalarda gösterilen Vitrifikasyon yönteminin gebelik ve implantasyon hızını arttırdığı konusunda fikir birliği için daha çok sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.

## 6. SONUÇ

Gazi Üniversitesi Tüp Bebek Ünitesinde çözme embriyo transferi yapılan vakaların sayısı yıllar bazında lineer olarak artmaktadır.

Slow Freezing grubundaki embriyo transferleri Sağlık Bakanlığının tek embriyo transfer ile bağlı yönetmeliğinden önceki döneme tesadüf ettiğinden bu grupta transfer edilen embriyo adedi, vitrifikasyon sonrası transfer edilen embriyo adedinden istatistiki anlamlı olarak daha fazladır.

Slow freezing grubunda 2004-2008 yılları arasında dondurulan embriyoların Grade 1 olarak dondurulma hızı %4,5' ten lineer bir şekilde %33' e yükselmiştir. Yani zamanla dondurulmak üzere daha iyi grade' li embriyolar seçilmiştir, fakat, yine de dondurduğumuz embriyoların %66' sı Grade 1 olmayan embriyolardır ve gebelik artış hızımız buna paralel olarak lineer değildir.

Dondurulmadan önceki embriyo grade' lerine göre iki grubun ki-kare testi ile karşılaştırılmasında Slow Freezing grubunda Grade 1 embriyo dondurma oranı Vitrifikasyon grubuna göre anlamlı olarak daha düşük ve Grade 3 embriyo dondurma oranı anlamlı olarak daha yüksektir.

Blastokistler sadece Vitrifikasyon grubunda dondurulduğu için Slow Freezing ile karşılaştırma yapılamamaktadır. Vitrifikasyon yöntemi ile 2008-2010 yıllarında başlayan blastokist dondurulmasında, çözme sonrası blastokistlerin dejenere olma hızı teknik deneyiminde artış ile %100' den lineer bir şekilde azalarak %21' lere kadar azalmıştır. Buna benzer şekilde vitrifikasyon ile dondurulan blastların Grade A olarak çözülme hızı 2010 yılında %22 iken, 2014

yılında lineer bir artış ile %64' e kadar yükselmiştir. Klinik artık vitrifikasyon ile blastokist çözmede daha üst standartlara ulaşmıştır.

Çözme sonrası embriyoların kalite Grade'lerine A dan D' ye bakıldığında, Vitrifikasyon ile çözme Slow Freezing' e nazaran embriyoları istatistiki anlamlı olarak bir Grade daha iyi çözmüş gözükmektedir. Bir başka deyişle, embriyolar çözüldüğünde Grade A olarak çözülme hızı Slow Freezing ve Vitrifikasyon sonrası sırasıyla %30 ve %51 dir.

Çözme sonrası embriyo yaşam oranları Slow Freezing grubunda %66.8 ve Vitrifikasyon grubunda %75 olup, Vitrifikasyon grubunda istatistiki anlamlı olarak daha yüksektir. Blastokistler sadece Vitrifikasyon grubunda dondurulup çözüldüğü için gruplar arası karşılaştırma yapılamamaktadır ve Vitrifikasyon grubunda blastokist yaşam oranı %54,5' tir.

Vitrifikasyon grubunda klinik gebeliklerin yıllar bazında dağılımına bakıldığında, klinik gebeliklerde lineer artış trendi vardır. Klinik gebelik hızı Slow Freezing grubunda %25 ile Vitrifikasyon grubundaki %20,9 olan klinik gebelik hızına göre yüksek görünse de, bu istatistiki olarak anlamlı değildir.

Slow Freezing ile dondurulup çözülen embriyo grade' i düşükçe, gebelik olup- olmamasından bağımsız transfer edilen embriyo ortalama değeri düşmüştür. Bu çoğu hastada her çözme sonrası en az bir adet Grade A embriyo verebildiğimizi göstermektedir. Gebelik olan ve olmayan Grade A çözülme kalitesi gösteren embriyolar arasında yaklaşık iki misli bir fark olmasına rağmen, aralarında istatistiki anlam izlenmemiştir. Sadece görüşün tam zıttı olarak, ne kadar düşük kaliteli (Grade C) embriyo transfer edilir ise, gebelik olmayacağını

predikte ettiği yönünde istatistiki anlamlı bir fikir oluşmuştur. Buradan çıkan sonuç, Slow Freezing ile dondurup çözme sonrası yasalara uygun olarak bir veya iki Grade A ve B embriyo transfer edilirse, gebe kalabilirlik yönünde müspet katkısı olacaktır. Grade C transfer edilmesinin gebelik yönünden hastaya bir yararı yoktur.

Vitrifikasyon grubunda transfer edilen embriyo ortalama değerinin yasal düzenleme nedeniyle düştüğünü izlemekteyiz. Grade B çözme kalitesindeki embriyo ortalama değeri gebe kalamayan grupta istatistiki anlamlı olarak daha fazladır. Bir başka değiş ile Grade B embriyolar transfer edildiğinde gebe kalınmayacağını daha önceden predikte etmektedir. Bu bulgu ile C kalitesinde çok az embriyo olduğunu da düşünürsek, Vitrifikasyon grubunda gebeliği predikte etme değeri anlamsız olsa da sadece sadece Grade A embriyolarda gözükmektedir. B ve C kalitesindeki çözme embriyo transferinin gebe kalabilirlikten çok gebe kalamamayı öngördüğü söylenebilir. Vitrifikasyonda çözülme sonrası elde edilen embriyoların kalitesi, Slow Freezing' e nazaran 1 grade daha kalitelidir, bu Vitrifikasyonun bir grade daha iyi çözebilme kapasitesi ile uyumludur.

Her iki grupta da çözme sonrası embriyo kalitelerine göre transfer başına ortalama klinik gebelik sayılarına bakıldığında, çözme embriyo grade kalitesi düştükçe, transfer başına ortalama gebelik sayıları da düşmüştür, Slow Freezing grubunda Grade C embriyolarda, vitrifikasyon grubunda ise Grade B embriyolarda transfer başına klinik gebelik elde etme oranı anlamlı olarak düşüktür. Vitrifikasyonun embriyoları yavaş dondurmaya nazaran bir Grade yüksek kalitede çözdüğünü düşünürsek, klinik olarak Vitrifikasyon grubunda

çözme sonrası sadece kalitesi A, Slow Freezing grubunda ise kalitesi A ve B olan embriyoların transferi anlamlı gebelik yapabilecektir.

Çözme embriyo transferi öncesinde endometrial hazırlanma yöntemlerinin klinik gebelik hızı yönünden karşılaştırılmasında, doğal sikluslarda klinik gebelik hızı %30 ile, ek takviyeli doğal olmayan sikluslardaki % 17,8' lik klinik gebelik hızına göre anlamlı olarak yüksektir. Vitrifikasyon grubunda da doğal sikluslarda çözme embriyo transferi sonrası klinik gebelik hızı %32 ile doğal olmayan sikluslarda saptanan %10,8' lik klinik gebelik hızından anlamlı olarak daha yüksektir. Bu o demektir ki, Tüp Bebek Ünitemizde çözme embriyo transferlerinin doğal siklusa olması, özellikle Vitrifikasyon grubunda gebeliği predikte edebilmektedir. Bu da bizim çözme embriyo transfer sikluslarında doğal sikluslarla karşılaştırmada endometrium hazırlama protokollerimizin rafine edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Benzer gebelik hızları ile Slow Freezing ile oransal olarak fazla gebelik hızlarına yaklaşan Vitrifikasyon teknikleri ile gebelik olduktan sonra düşük hızımız doğal düşük hızına (%30) nazaran her iki yöntem ile de yüksektir (Slow Freezing ile %43 ve Vitrifikasyon ile %42). Her iki yöntemle de bu düşük hızlarında zaman bazında azalma trendi dahi görülmemektedir.

Bütün olarak değerlendirildiğinde Vitrifikasyon dondurulan embriyoları Slow Freezing' e nazaran daha belirgin şekilde A kalitesinde çözdüğüne göre tercih edilen dondurma yöntemi olmalıdır. Vitrifikasyon ile zaman bazında artan bir gebelik hızı trendi istatistiki anlamlı olabilmesi ve Slow Freezing' e nazaran yüksek oranda gebelik hızı elde edilebilmesi yalnız en kaliteli - Grade 1

embriyoların dondurulması ile sağlanabilir. Çözme sonrası kalitesi A olan embriyolar dışındaki embriyoların transferi gebelik hızını ancak menfi yönde etkileyebileceğinden sadece A Grade embriyolar transfer edilmelidir. Blastokist dondurmaya gelindiğinde, henüz blastokist çözme hızımız yeteri kadar yüksek değildir. Embriyolarda olduğu gibi burada da sadece en kaliteli blastokistler dondurularak, çözülen en kaliteli blastokistlerin transferi gebelik hızındaki artış trendini anlamlı bir hale getirecektir. Klinik gebelik hızı doğal siklularda anlamlı olarak yüksek olduğundan şu an için dışarıdan ilaç takviyeli siklularda tercih edilmelidir. Bu yöntemler zamanla çözme embriyo transferinde kullandığımız her iki yöntemle de klinik gebelik elde edildikten sonraki gebelik kaybı hızımızı % 15-30 olan doğal gebelik kaybı hızına indirebilir.

## 7. ÖNERİLER ve ÖĞRETİ

Tez danışmanım Prof. Dr. Onur KARABACAK ile tezimin sonuçlarından aşağıdaki şekilde bir kalite kontrol datası toplanmasının IVF' da dondurulup çözülmüş embriyo transferlerindeki gebelik hızını iyileştirmede etkin olacağı öğrenilmiştir:

Vitrifikasyon ile en iyi grade' de dondurulmuş embriyoların çözme sonrası çift (paired T test) olarak her bir embriyo Grade 1 olarak donduruldu ve Grade 1 olarak çözüldü şeklinde kalite kontrol datası tutulabilirse, vitrifikasyonda ilerleme anında monitorize edilebilir. Örneğin:

Erken evre (2. ve 3.gün) embriyolarda:

1. Yüzde Grade 1 embriyo dondurma indeksi (%G1FreezeRate) = Dondurma öncesi G1 embriyolar / Dondurma öncesi G1-4 embriyolar. İndex değeri %100 beklenen (expected). Aylık hesaplanır.

2. Yüzde Grade A embriyo çözme indeksi (%GAThawRate) = Çözme sonrası Grade A embriyolar / Çözme sonrası Grade A- D embriyolar. İndex değeri %100 beklenen (expected). Aylık hesaplanır.

3. Yüzde Grade 1 dondurma ve Grade A çözme indeksi (%) = Dondurulurken Grade 1 olup çözerken Grade A olanlar / Tüm çözülmüş Grade A-D embriyolar. İndex değeri %100 beklenen (expected). Aylık hesaplanır.

4. Yüzde Grade 1 dondurulup Grade A çözülen embriyoların transfer sonrası implantasyon hızı (%G1FreezeThaw&ClinImpRate) = Grade1 dondurulup Grade



A çözülen ve transfer edilen embriyo adedi / gebelik kesesi. Burada karıştırıcı olarak induksiyon paterni ve diğer infertilite problemleri devreye girer. İndex değeri %20 beklenen (expected).

5. Yüzde Grade1 dondurulan Grade A çözümlenerek transfer edilen ve implante olan gebeliklerin abortus hızı:  $\%G1FreezeGATHaw\&ClinImp$  olup 10 hafta altı düşük ile sonuçlanan gebelikler /  $\%G1FreezeGATHaw\&ClinImp$  olan tüm gebelikler. İndex değeri %15 beklenen (expected). Bu 3 aylıklar şeklinde 6 ay ve 12 aylık hesaplanır.

6. Yüzde Grade1 dondurulan Grade A çözümlenerek transfer edilen ve implante olan gebeliklerin doğum hızı:  $\%G1FreezeGATHaw\&ClinImp$  olup canlı doğum ile sonuçlanan gebelikler /  $\%G1FreezeGATHaw\&ClinImp$  olan tüm gebelikler. Bu 6 ay ve 12 aylık hesaplanır.

Blastokistlerde:

1. Yüzde Grade A blastokist dondurma indeksi ( $\%GAFreezeRate$ ) = Dondurma öncesi GA blastokistler / Dondurma öncesi GA-D blastokistler. İndex değeri %100 beklenen (expected). Aylık hesaplanır.

2. Yüzde Grade A blastokist çözme indeksi ( $\%GATHawRate$ ) = Çözme sonrası Grade A blastokistler / Çözme sonrası Grade A- D blastokistler. İndex değeri %100 beklenen (expected). Aylık hesaplanır.

3. Yüzde Grade A dondurma ve Grade A çözme indeksi (%) = Dondurulurken Grade A olup çözerken Grade A olanlar / Tüm çözülmüş Grade A-D blastokistler. İndex değeri %100 beklenen (expected). Aylık hesaplanır.

4. Yüzde Grade A dondurulup Grade A çözülen blastokistler transfer sonrası implantasyon hızı (%GAFreezeThaw&ClinImpRate) = GradeA dondurulup Grade A çözülen ve transfer edilen blastokist adedi / gebelik kesesi. Burada karıştırıcı olarak induksiyon paterni ve diğer infertilite problemleri devreye girer. İndex değeri %20 beklenen (expected).

5. Yüzde Grade A dondurulan Grade A çözülen ve transfer edilen ve implante olan gebeliklerin abortus hızı: %GAFreezeGATHaw&ClinImp olup 10 hafta altı düşük ile sonuçlanan gebelikler / %GAFreezeGATHaw&ClinImp olan tüm gebelikler. İndex değeri %15 beklenen (expected). Bu 3 aylıklar şeklinde 6 ay ve 12 aylık hesaplanır.

6. Yüzde Grade A dondurulan Grade A çözülen ve transfer edilen ve implante olan gebeliklerin doğum hızı: %GAFreezeGATHaw&ClinImp olup canlı doğum ile sonuçlanan gebelikler / %GAFreezeGATHaw&ClinImp olan tüm gebelikler. Bu 6 ay ve 12 aylık hesaplanır.

## ÖZET

### İNSAN EMBRİYOLARINDA HIZLI VE YAVAŞ DONDURMA YÖNTEMLERİNİN ÇÖZME SONRASI ELDE EDİLEN GEBELİK PARAMETRELERİNE ETKİSİ VE ZAMAN İÇİNDE DEĞİŞİMİ

Bu retrospektif çalışmanın amacı kriyoprezervasyonda kullanılan iki ana yöntem olan— Slow Freezing ve Vitrifikasyon arasında başarı oranlarını karşılaştırmak ve gebelik hızını arttıracak bir prospektif metod geliştirmektir.

Çalışma Gazi Üniversitesi Tüp Bebek Merkezinde 2005-2014 yıllarında 300 çözme embriyo transferi siklusu yapılan hastaların arşiv dosyalarını incelenerek yapılmıştır. Çalışmadaki sikluslar 2 grupta toplanmıştır: 1.Grup:Slow Freezing (SF); 2. Grup:Vitrifikasyon (V).

Çalışma grupları arasındaki kadın yaşı, VKİ, siklus öncesi D3-FSH, D3-LH, D3-E2, TSH, sT4 değerleri, önceki İVF siklus sayısı, ayrıntılı infertilite nedenleri arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Mevcut yaşayan çocuk sayısı İVF öncesi SF grubunda V grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur (p=0,001).

Çalışmada Gazi Üniversitesi Tüp Bebek Merkezinde çözme embriyo transferi yapılan vakaların sayısının yıllar bazında lineer olarak arttığı ve SF yönteminin zamanla yerini V' na bıraktığı gözlenmiştir. V grubunda vakaların %94' lük kısmına bir veya iki embriyo transferi yapılırken, SF grubunda ancak %47' sinde bir veya iki embriyo transferi yapılmıştır ve bu istatistiki anlamlıdır (p=0,001). Bu fark yasal uygulamaların etkisi ile<sup>[100]</sup> ortaya çıkmıştır.

2004-2014 yılları arasında 1469' u erken evre (2. ve 3. gün) embriyosu ve 239 adedi ise blastokist (5. ve 6. gün embriyoları) olmakla, toplamda 1708 embriyo dondurulmuştur. SF grubunda 2004-2008 yılları arasında Grade 1 embriyoların dondurulma hızı %4,5' ten lineer bir şekilde %33' e yükselmiştir. Yani zamanla dondurulmak üzere daha iyi grade' li embriyolar seçilmiş ve teknikte tecrübe kazanılmıştır. Dondurma Grade' lerine göre iki grup karşılaştırıldığında, V grubunda (%75,6) SF' e nazaran (%68,2) istatistiki anlamlı olarak daha fazla Grade 1 embriyo ( $p=0,002$ ) ve daha az (uygun olarak, %4,4 ve %8,9) Grade 3 embriyo ( $p=0,001$ ) dondurulmuştur. Çalışmada 2005-2014 yılları arasında transfer amaçlı toplamda 1207 adet erken evre embriyo ve 211 adet blastokist çözülmüştür. Çözme embriyo Grade' lerine göre iki grup karşılaştırıldığında, çözme sonrası Grade A oranı V grubunda SF' e göre istatistiki anlamlı olarak daha yüksek ( $p=0,0001$ ), Grade C ve D oranları istatistiki anlamlı olarak daha düşüktür ( $P=0,001$ ).

Blastokistler sadece V grubunda dondurulduğu için gruplar arasında karşılaştırma yapılamamıştır. Blastokist çözmede 2008-2010 yıllarında %75- %100 ile başlayan dejenere blastokist oranları teknik deneyimle lineer olarak %21' lere kadar azalmış ve buna benzer şekilde çözme sonrası Grade A blastokist oranları 2010 yılında %22 iken 2014 yılında %64' e bir eğilim (trend) ile yükselmiştir.

Çözme sonrası embriyoların kalite Grade'lerine A dan D' ye bakıldığında, SF ile karşılaştırmada V yöntemi embriyoları istatistiki anlamlı olarak bir Grade

daha iyi çözmüş gözükmektedir. Bir başka deyişle, embriolar çözüldüğünde Grade A olarak çözülme hızı SF ve V sonrası sırasıyla %30 ve %51 dir.

Çalışmamızda çözme sonrası embriyo yaşam oranları SF grubunda %66,8 ve V grubunda %75 olup, V grubunda SF' e nazaran istatistiki anlamli olarak yüksek saptanmıştır (p=0,0006). Çözme sonrası blastokist yaşam oranı %54,5 olarak saptanmıştır.

Toplam vakaların klinik gebelik hızı %22,3 (54 gebelik) saptanmış ve yıllara göre gebelik hızında lineer artış izlenmemiştir (p=0,28). SF grubunda çözme embriyo transferi yapılan 84 siklusun toplam %25' inde (21 gebelik ile) klinik gebelik izlenmiş olup, gebelik hızında zaman bazında lineer artış saptanmamıştır (p=0,209). V grubunda embriyo transferi yapılan 158 siklusun %20,9' da (33 gebelik) klinik gebelik izlenmiş olup, yıllara göre gebelik hızında lineer artış trendi saptanmıştır (p=0,138). İki grubun klinik gebelik hızı arasında Yates düzeltmeli Ki-kare testi ile istatistiki anlamli fark saptanmamıştır (p>0,05).

Her iki grupta da çözme sonrası transfer başına ortalama klinik gebelik sayıları, çözme embriyo grade kalitesi düştükçe, orantılı olarak düşmüştür. Bu sonuçlar göz önüne alınarak, Grade' lemenin transfer sonrası gebelik hızını predikte edebildiği görülmektedir.

Çalışmamızda endometriumun hazırlanma yöntemi çözme embriyo transferi yapılan toplam 242 siklusun %37,2' de (90 siklus) doğal, %62,8' de (152 siklus) doğal olmayan sikluslardır. Çözme embriyo transferi yapılan doğal sikluslarda klinik gebelik oranı (%30), ek takviyeli sikluslardakine (%17,8) göre yüksek bulunmuştur ve bu fark istatistiki olarak anlamli (p=0,027) saptanmıştır.

SF grubunda çözme embriyo transferi yapılan doğal siklusların %20' sinde (3 siklus), doğal olmayan siklusların % 26,1' inde (18 siklus) klinik gebelik saptanmış olup, gebelik oranları arasındaki fark istatistiki anlamsızdır ( $p=0,62$ ). V grubunda çözme embriyo transferi yapılan doğal siklusların klinik gebelik hızı (%32), doğal olmayan siklusların klinik gebelik hızına (%10,8) göre yüksek saptanmış olup, bu fark istatistik olarak anlamlıdır ( $p=0,001$ ). Tüp Bebek Ünitimizde çözme embriyo transferlerinin doğal siklusta olması, özellikle Vitrifikasyon grubunda gebeliği predikte edebilmektedir. Bu da bizim çözme embriyo transfer sikluslarında doğal sikluslarla karşılaştırmada endometrium hazırlama protokollerimizin rafine edilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır.

Çalışmada toplam vakaların canlı doğum hızı %12,8 olarak saptanmıştır ki, bu da toplamda klinik gebelik izlenen siklusların % 42,6' sının gebelik kaybı ile sonuçlandığını göstermektedir. Dolayısıyla, gebe kalanların (%22,3) yaklaşık yarıya yakını düşük yapmıştır.

SF grubunda gebelik hızı % 25 iken doğum hızı %14,3 (12 canlı doğum) olarak saptanmıştır ve klinik gebelik izlenen %42,9 vakada gebelik kaybı izlenmiştir. V grubunda doğum hızı %12 (19 doğum) olarak saptanmıştır. Gebelik hızı %20,9 olan bu grupta vakaların %42,4' ü gebelik kaybı ile sonuçlanmıştır.

SF grubunda doğumların %75' i tek ve %25' i ikiz doğum, V grubunda ise %95'i tek ve %5' i ikiz doğum saptanmıştır. Ancak gruplar arasındaki bu fark istatistiki olarak anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

Yates düzeltilmeli Ki-kare testi ile SF ve V grupları arasında yıllara göre canlı doğum oranları açısından istatistiki anlamlı fark saptanmamıştır ( $p>0,05$ ).

Bu çalışma sonuçlarına göre, dondurulup çözülen embriyo yaşam oranlarına açısından SF' e nazaran V yöntemi üstün bulunmuş, fakat gebelik hızı ve doğum hızı açısından iki yöntem arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Embriyo yaşam hızı, gebelik ve doğum hızlarının bu çalışmada daha düşük saptanmasının nedeni, dondurma öncesindeki embriyo seçim kriterilerinin cut-off değerlerinin daha düşük olması ve çözme sonrası sadece Grade A değil diğer düşük grade' li embriyoların da transfer edilmesi şeklinde yorumlanmıştır.

## **SUMMARY**

### **EFFECTS OF RAPID AND SLOW FREEZING METHODS OF HUMAN EMBRYOS ON PREGNANCY PARAMETERS AFTER THAWING AND CHANGES IN TIME**

The aim of this retrospective study is to compare the success rates between two main methods used in cryopreservation: Slow Freezing (SF) and Vitrification (V) and to develop a prospective method to increase the pregnancy rate.

The archive files of 300 patients who underwent thawing embryo transfer cycles in IVF Center of Gazi University between years 2005-2014 were analysed. Cycles in the study were collected in two groups: Group 1: Slow Freezing (SF); Group 2: Vitrification (V).

There were no difference between groups in terms of age, BMI, serum levels of D3-FSH, D3-LH, D3-E2, TSH, FT4 before cycle, number of previous IVF cycles, detailed cause of infertility. The number of living children before IVF in the SF group significantly higher than those of V ( $p = 0.001$ ).

In this study we observed, the linear increase of thawed embryo transfer cases in IVF Center of Gazi University and the SF method replaced by V in time. In the V group one or two embryos transferred to 94% of patients, while in the SF group, only to 47%, and this difference was statistically significant ( $p = 0.001$ ). This difference has emerged due to the legal practice<sup>[100]</sup>.

A total of 1708 embryos were cryopreserved between 2004-2014 years, 1469 of them were early stage (day 2 and day 3) embryos and 239 were



blastocysts (day 5 and day 6 embryos). The Freeze rate of Grade 1 embryos in SF group showed linear increase from 4,5% to 33% between 2004-2008 years. So embryos with better grade were selected and through the technical experience in time. Comparing pre thaw grades between two groups, Grade 1 embryos in group V (%75,6) were statistically significantly higher ( $p=0,002$ ) and Grade 3 embryos (4,4%) were statistically significantly lower ( $p=0,001$ ) compared to group SF (respectively, 68,2% and 8,9%). A total of 1207 early stage embryos and 211 blastocysts thawed between 2005-2014 year in study. After thaw Grade A embryos in group V statistically significantly higher ( $p=0,0001$ ), in concordance Grade B and C embryos were statistically significantly lower than group SF ( $p=0,001$ ).

Because of blastocysts cryopreserved only in group V though possible in group SF, comparison could not be made between groups. Blastocyst thawing in between 2008-2010 were with 75%-100% of degenerating rate is linearly decreased to 21% by gaining technical dexterity through 2014, similar Grade A after thaw rate 22% in 2010 increased in trend to 64% respectively.

Group V seems to thaw embryos a grade significantly better than group SF. In other words, thaw rate of Grade A embryos, in SF and V groups were 30% and 51% respectively.

The survival rate of embryos after thaw were significant higher ( $p=0,0006$ ) in group V (75%) than in SF (66,8%). Survival rate of blastocysts after thaw were 54,5%.

Cumulative clinical pregnancy rate (CPR) was 22,3% (54 pregnancies), linear increase of rate was not observed ( $p=0,28$ ). In SF group CPR was 25% (21

pregnancies), linear increase of CPR was not observed in time. In the V group CPR was 20,9% (33 pregnancies), and linear increase was not observed in time ( $p=0,138$ ), but in trend. There were no significant difference between the CPR of two groups ( $p> 0.05$ ).

The average number of clinical pregnancies per thawed embryo transfer in both groups, is decreased proportionally as thawed embryo quality grade decreased. It seems that, Grade of transferred embryos are strong predict of CPR.

Endometrial preparation in 242 thaw cycles of our study were 37,2% (90 cycles) natural and 62,8% (152 cycles) artificial cycles. In natural cycles CPR after thaw embryo transfer is observed higher (30%) than artificial cycles (17,8%) ( $p=0,027$ ). In SF group CPR were 20% (3 cycles) in natural cycles and 26% (18 cycles) in artificial cycles similar ( $p=0,62$ ). In V group same rates were 32% and 10,8%, better respectively ( $p=0,001$ ). This means, in our IVF Unit thaw embryo transfer in natural cycles is able to predict pregnancy, in V group better and in artificial cycles were need refinement.

The live birth rate of total cases were found 12,8%, this shows that 42,6% of clinical pregnancy is resulted with the loss of the pregnancy in this study.

SF group birth rate was found 14,3% (12 live births) and 42,9% is resulted with loss of pregnancy. In V group similar rates were 12% (19 live births) and 42,4% respectively.

In the SF group 75% of total live births were singleton and 25% were twins, in V group same rates were similar, 95% and 5% respectively ( $p> 0.05$ ).

SF and V groups in terms of live birth rates by years were similar ( $p > 0.05$ ).

According to our results frozen-thawed embryo survival rate of group V was found superior compared to SF group, but there was no significant difference in pregnancy rate and live birth rate between two methods. Strict embryo selection cut-off values as Grade A only to predict CPR before and after cryopreservation and strict transfer of thawed embryos policy is needed with improving the artificial endometrial stimulation.

## KAYNAKLAR

1. WHO (World Health Organization), *Manual for the Standardised Investigation and Diagnosis of Infertile Couple*. Cambridge, UK:Cambridge University Press, 2000.
2. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, *Definitions of Infertility and Recurrent Pregnancy Loss*. Fertil Steril. , 2008 **90**( 6): p. 1603.
3. Gnoth C, Godehardt E, and e.a. Frank-Herrmann P, *Definition and Prevalance of Subfertility and Infertility*. Hum Reprod 2005. **20**: p. 1144-1147.
4. American College of Obstetrics and Gynecology (ACOG) with Charles R.B.Beckmann, et al., *Obstetrics and Gynecology*. 2010. **38**.
5. M. A. Fritz and L. Speroff, *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. Eighth edition*. Wolters Kluver/Lippincott Williams & Wilkins 2011. **4**(27): p. 1137-1190.
6. Shoham Z, et al., *Is it Possible to Run a Succesful Ovulation Induction Program Based Solely on Ultrasound Monitoring? The Importance of Endometrial Measurements*. Fertil Steril 1991. **56**: p. 836-841.
7. N. Çiçek, *Jinekolojik Endokrinoloji ve İnfertilite El Kitabı*. Modern Tıp Kitabevi, 2013. **33**: p. 547-586.
8. K.M. Wong, S. Mastenbroek, and S. Repping, *Criopreservation of Human Embryos and Its Contribution to In vitro Fertilization Success Rates* Center for Reproductive Medicine, Academic Medical Center, University of Amsterdam, Amsterdam, the Netherlands, Fertility and Sterility®July 2014. **102**(1).
9. Fritz M.A and Speroff L, *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. Eighth edition*. Wolters Kluver/Lippincott Williams & Wilkins, 2011. **4**(32): p. 1331-1382.

10. Kuwayama M, *Highly Efficient Vitrification for Cryopreservation of Human Oocytes and Embryos: the Cryotop Method*. Theriogenology, 2007. **63**: p. 73.
11. Vajta G, et al., *Vitrification in Assisted Reproduction: Myths, Mistakes, Disbeliefs and Confusion*. Reprod Biomed Online 2009. **19 (Suppl 3)**(1).
12. W.-Y. Son and S. L. Tan, *Comparison Between Slow Freezing and Vitrification for Human Embryos*. McGill Reproductive Center, Department of Obstetrics and Gynecology, Royal Victoria Hospital, McGill university, Monreal, Canada. Expert Rev. Med. Devices 2009. **6**(1): p. 1-7.
13. E. M. Kolibianakis, C.A.V. and, and B.C. Tarlatzis, *Cryopresevation of Human Embyos by Vitrification or Slow Freezing: Which One is Better?* University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece. Current Opinion in Obstetrics and Gynecology, 2009. **21**: p. 270-274.
14. Wong, K.M., S. Mastenbroek, and S. Repping, *Cryopreservation of Human Embryos and Its Contribution to In vitro Fertilization Success Rates*. Fertil Steril, 2014. **102**: p. 19-26.
15. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine, *Definitions of Infertility and Recurrent Pregnancy Loss*. Fertil Steril 2008. **90(Suppl 5)**.
16. Ö. Çelik, *Yardımcı Üreme Teknikleri.Temel Klinik ve Embriolojik Uygulamalar* Nobel Kitabevi, 2011. **2**(1): p. 129-136.
17. B. Harbeck, et al., *Pathogenesis of Infertility and Recurrent Pregnancy Loss in Thyroid Autoimmunity*. Journal of Autoimmunity, 2012.
18. U. Çolgar, *Reproduktif Endokrinoloji ve İnfertilite*. İstanbul Medikal Yayıncılık, 2006. **8**: p. 79-89.
19. American Society for Reproductive Medicine, *Infertility: An Overview*. 2012.

[http://www.asrm.org/uploadedFiles/ASRM\\_Content/Resources/Patient\\_Resources/Fact\\_Sheets\\_and\\_Info\\_Booklets/infertility\\_overview.pdf](http://www.asrm.org/uploadedFiles/ASRM_Content/Resources/Patient_Resources/Fact_Sheets_and_Info_Booklets/infertility_overview.pdf).

20. J. S. Berek, *Berek & Novak's Gynecology. 15th edition.* . Wolters Kluver/Lippincott Williams & Wilkins, 2011. **VII**(32): p. 1133-1189.
21. S. Dronavalli and D A. Ehrmann, *Pharmacologic Therapy of Polycystic Ovary Syndrome.* Clin Obstet Gynecol., 2007. **50**(1): p. 244-254.
22. R. Azziz, E. Karmina, and D. Dewailly, *Position Statement: Criteria for Defining the Polycystic Ovary Syndrome as a Predominantly Androgenic Syndrome: an Androgen Excess Society Guideline.* Clin Endocrinol Metabol, 2006. **91**(11): p. 4237-4245.
23. B. Imani, et al., *Predictors of Patients Remaining Anovulatory During Clomiphene Citrate Induction of Ovulation in Normogonadotropic Oligomenorrheic Infertility.* Clin Endocrinol Metabol, 1998. **83**: p. 2361-2365.
24. Westrom L, *Effect of Acute Pelvic Inflammatory Disease on Fertility.* Am J Obstet Gynecol 1975. **121**.
25. Miller JH, et al., *The Pattern of Infertility Diagnoses in Women of Advanced Reproductive Age* Am J Obstet Gynecol, 1999. **181**.
26. JN Bontis and K. Dinas, *Menagement of Hydrosalpinx: Reconstructive Surgery or IVF?* Ann N Y Acad Sci, 2000. **900**: p. 260-271.
27. Westrom L, et al., *Pelvic Inflammatory Disease and Fertility.* Sex Trans Dis, 1992. **19**.
28. Westrom LV, *Sexually Transmitted Diseases and Infertility.* Sex Transm Dis 1994. **21**.
29. Westrom L, *Effect of Pelvic Inflammatory Disease on Fertility.* Venereology 1995. **8**.

30. Wiesenfeld HC, et al., *Lower Genital Tract Infection and Endometritis: Insight into Subclinical Pelvic Inflammatory Disease*. *Obstet Gynecol*, 2002. **100**.
31. Polisseni F, Bambirra EA, and Camargos AF, *Detection of Chronic Endometritis by Diagnostic Hysteroscopy in Asymptomatic Infertile Patients*. *Gynecol Obstet Invest*, 2003. **55**.
32. Mount S, Mead P, and Cooper K, *Chlamydia Trachomatis in The Endometrium: Can Surgical Pathologists Identify Plasma Cells?* *Adv Anat Pathol*, 2001. **8**.
33. Taylor-Robinson D, *Mycoplasma Genitalium—An Update*. *Int J STD AIDS*, 2002. **13**.
34. SA Missmar, et al., *Incidence of Laparoscopically Confirmed Endometriosis by Demographic Anthropometric, and Lifestyle Factors*. *Am J Epidemiol*, 2004. **160**: p. 784-796.
35. SJ Tanahote, PG Hompes, and CB Lambalk, *Investigation in Infertile couple: Should Diagnostic Laparoscopy be Performed in the Infertility Work up Programme in Patients Undergoing Intrauterine Insemination?* *Hum Reprod*, 2003. **18**.
36. Thomas K, et al., *The Value of Chlamydia Trachomatis Antibody Testing as Part of Routine Infertility Investigations*. *Hum Reprod*, 2000. **15**.
37. Veenemans LM and van der Linden PJ, *The Value of Chlamydia Trachomatis Antibody Testing in Predicting Tubal Factor Infertility*. *Hum Reprod*, 2002. **17**.
38. Centers for Disease Control and Prevention, *2007 Assisted Reproductive Technology Success Rates National summary and fertility clinic reports*. Atlanta, GA., 2009. 35. Stein ZA, *A woman's age: .*

39. Strandell A, et al., *Hydrosalpinx and IVF Outcome: Cumulative Results After Salpingectomy in a Randomized Controlled Trial*. Hum Reprod, 2001. **16**.
40. Johnson N, et al., *Surgical Treatment for Tubal Disease in Women due to Undergo in Vitro Fertilisation*. Cochrane Database Syst Rev:CD002125, 2010.
41. Karayalcin R, et al., *Results of 2500 Office-based Diagnostic Hysteroscopies Before IVF*. Reprod Biomed Online, 2010. **20**.
42. Fritz MA and Speroff L, *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility. Eighth edition*. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, 2011. **4**(30): p. 1249-1292.
43. G. Forti and C. Krausz, *Clinical Review 100: Evaluation and Treatment of the Infertile Couple*. Clin Endocrinol Metabol, 1998. **83**(12): p. 4177-4188.
44. D.M. de Krester, *Male Infertility*. Lancet, 1997. **349**(9054): p. 787-790.
45. D. S. Irvin, *Epidemiology and Aetiology of Male Infertility*. Hum Reprod, 1998. **13**(1): p. 33-44.
46. American Society for Reproductive Medicine, *Report on Optimal Evaluation of the Infertile Male*. Fertil Steril, 2006. **86**.
47. Tyler JP, Crockett NG, and Driscoll GL, *Studies of Human Seminal Parameters with Frequent Ejaculation. I. Clinical characteristics*. Clin Reprod Fertil, 1992. **1**: p. 273.
48. Pellestor F, Girardet A, and Andreo B, *Effect of Long Abstinence Periods on Human Sperm Quality*. Int J Fertil Menopausal Stud, 1994. **39**.
49. World Health Organization, *WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen. 5th edition*. Cambridge, 2010.
50. Crosignani PG, et al., *Unexplained Infertility*. Hum Reprod, 1993. **8**.



51. Guzick DS, et al., *Efficacy of Treatment for Unexplained Infertility*. Fertil Steril, 1998. **70**: p. 207.
52. Evers JL, *Female Subfertility*. Lancet, 2002. **360**: p. 151.
53. Collins JA, Burrows EA, and Wilan AR, *The Prognosis for Live Birth Among Untreated Infertile Couples*. Fertil Steril, 1995(64).
54. Collins J and Rowe T, *Age of the Female Partner is a Prognostic Factor in Prolonged Unexplained Infertility: a Multicenter Study*. Fertil Steril, 1989. **52**: p. 15.
55. A. C. Varghese, P. Z. Nagy, and A. Agarwal, *Current Trends, Biological Foundations and Future Prospects of Oocyte and Embryo Cryopreservation*. Reprod Biomed Online, 2009. **19**(1): p. 126-140.
56. E Tavmergen and G. Sahin, *Yardımcı Üreme Teknikleri*. Temel üremeendokrinolojisi ve infertilite ,Ankara Palme 2007,211-220,440, 2007: p. 211-220, 440.
57. Centers For Disease Control And Prevention, *2007 Assisted Reproductive Technology Success Rates*. National Summary and Fertility Clinic Reports. Atlanta, GA, 2009.
58. Bussen S., Steck T., and D. Johannes, *Increased Prevalence of Thyroid Antibodies in Euthyroid Women eih a History of Recurrent İn-vitro Fertilizasyon Failure*. Hum Reprod, 2000. **15**(3): p. 545-548.
59. Lt Col Pankaj Talwar VSM, *Manual of Asisted Reproductive Tecnologies and Clinical Embryology*. Jaypee Brothers Medical Publishers, 2012. **4**(68): p. 678-685.
60. J. P. Costanzo and R. E.Lee, *Cryoprotektant Production Capacity of the Freez-Tolerant Wood Frog, Rana Sylvatica*. [https://www.units.miamioh.edu/cryolab/publications/documents/Costanzo\\_92\\_CanJZoo.PDF](https://www.units.miamioh.edu/cryolab/publications/documents/Costanzo_92_CanJZoo.PDF), 1992.

61. J. P. Costanzo and R. E. Lee, *Effects of Cooling Rate on the Survival of the wood frogs, Rana Sylvatica*. *Comp Physiol*, 1991. **161**(225-229).
62. J.R. Layne and R.E. Lee, *Adaptations of Frogs to Survive Freezing*. *Climate Research*, 1995 <http://www.int-res.com/articles/cr/5/c005p053.pdf>. **5**: p. 53-59.
63. C. Polge, A.U. Smith, and A.S. Parkes, *Revival of Spermatozoa after Vitrification and Dehydration at Low Temperatures*. *Nature*, 1949: p. 164-166.
64. R. Bunge, W.C. Keettel, and J. Sherman, *Clinical Use of Frozen Semen*. *Fertil Steril*, 1954. **5**: p. 520-529.
65. Trounson A and Mohr L, *Human Pregnancy Following Cryopreservation, Thawing and Transfer of an Eight-cell Embryo*. *Nature*, 1983. **305**: p. 707-709.
66. Chen C, *Pregnancy After Human Oocyte Cryopreservation*. *Lancet*, 1986. **1**: p. 884-886.
67. Çelik, Ö., *Yardımcı Üreme Teknikleri. Temel Klinik ve Embriolojik Uygulamalar*. Nobel Kitabevi, 2011. **3**(9): p. 741-750.
68. DK Gardner, et al., *Textbook of Assisted Reproductive Techniques. Fourth edition*. Informa Healthcare, 2012. **2**(5): p. 275-324.
69. T.C. Sağlık Bakanlığı, *Üremeye Yardımcı Tedavi Uygulamaları ve Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezleri Hakkında Yönetmelik*. 30.09.2014. <http://www.int-res.com/articles/cr/5/c005p053.pdf>.
70. Rall WF and Fahy GM, *Ice-free Cryopreservation of Mouse Embryos at -196°C by Vitrification*. *Nature*, 1985. **313**: p. 573-575.
71. Vajta G and Kuwayama M, *Improving Cryopreservation Systems*. *Theriogenology*, 2006. **65**: p. 236-244.

72. Campos-Chillon LF, Walker DJ, and de la torre-Sanchez JF, *In Vitro Assessment of a Direct Transfer Vitrification Procedure for Bovine Embryos*. Theriogenology, 2006. **1200**(14).
73. Emiliani S, et al., *Comparison of Ethylene Glycol, 1,2-Propanediol and Glycerol for Cryopreservation of Slow Cooled Mouse Zygotes, 4-cell Embryos and Blastocysts*. Hum Reprod, 2000. **15**: p. 905-910.
74. Kasai M and M. T, *Cryopreservation of Animal and Human Embryos by Vitrification*. Reprod Biomed Online, 2004. **9**: p. 164-170.
75. Pantos K, et al., *Cryopreservation of Embryos, Blastocysts, and Pregnancy Rates of Blastocysts Derived From Frozen-thawed Embryos and Frozen-thawed Blastocysts*. J Assist Reprod Genet 2001. **18**: p. 579-766.
76. Behr B, et al., *Factors Relating to a Successful Cryopreserved Blastocyst Transfer Program*. Fertil Steril, 2002. **77**: p. 767-797.
77. Senn A, et al., *Prospective Randomized Study of Two Cryopreservation Policies Avoiding Embryo Selection: The Pronucleate Stage Leads to a Higher Cumulative Delivery Rate Than the Early Cleavage Stage*. Fertil Steril, 2000. **74**(946).
78. Oehninger S, Mayer J, and Muasher S, *Impact of Different Clinical Variables on Pregnancy Outcome Following Embryo Cryopreservation*. Mol Cell Endocrinol, 2000. **169**: p. 73.
79. Salumets A, et al., *Effect of Developmental Stage of Embryo at Freezing on Pregnancy Outcome of Frozen-thawed Embryo Transfer*. Hum Reprod, 2003. **18**: p. 1890.
80. Kuwayama M, *Highly Efficient Vitrification for Cryopreservation of Human Oocytes and Embryos: the Cryotop Method*. Theriogenology, 2007. **67**: p. 73.

81. G. D. Smith, P. C. Serafini, and J. Fioravanti, *Prospective Randomized Comparison of Human Oocyte Cryopreservation With Slow -Rate Freezing and Vitrification*. Fertil Steril, 2010. **94**: p. 2088-2095.
82. J. A. Grifo and N. Noyes, *Delivery Rate Using Cryopreserved Oocytes in Comparable to Conventional In Vitro Fertilization Using Fresh Oocytes: Potential Fertility Preservation for Female Cancer Patients*. . Fertil Steril, 2010. **93**: p. 391-396.
83. Kolibianakis E. M, Venetis C. A, and B.C. Tarlatzis, *Cryopreservation of Human Embryos by Vitrification or Slow Freezing: Which one is Better?* Current Opinion in Obstetrics and Gynecology, 2009. **21**: p. 270-274.
84. Ziebe S and J.R. Lundin K, *Cryosurvival and Frozen Embryo Replacement Outcome After Ovarian Stimulation With Highly Purified Menotrophin ad Recombinant FSH in IVF Cycles*. Hum Reprod, 2006. **21**(1): p. 138.
85. Shapiro B. S, et al., *Embryo Cryopreservation Rescues Cycles with Premature Luteinization*. Fertil Steril, 2010. **93**: p. 636-641.
86. ICMART (International Committee Monitoring ART), *Preservation of Preliminary Data for 2004 In:24th Annual Meeting of the ESHRE, Barselona, Spain*. Hum Reprod, 2008.
87. David Unuane, et al., *Endocrine Disorders & Female Infertility Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2011. **25**(6): p. 861-873.
88. Kris Poppe, et al., *Thyroid Dysfunction and Autoimmunity in Infertile Women*. Thyroid, 2002. **12**(11): p. 997-1002.
89. Gelen, S.A., *İn Vitro Fertilizasyon Sonrasi Doğan Çocuklarda Astim Ve Diğer Allerjik Hastalıkların Görülme Sıklığı*. Uzmanlık Tezi İstanbul, 2007.

90. Wonnerholm U. B, et al., *A Children Born After Cryopreservation of Embryos or Oocytes: A systematic Review of Outcome Data*. Hum Reprod, 2009. **24**(9): p. 2158-2172.
91. L. Herrero, S. Paraje, and C. Losada, *Avoiding the Use of Human Chorionic Gonadotropin Combined with Oocyte Vitrification and GnRH Agonist Triggering Versus Coasting: New Strategy to Avoid Hyperstimulation Syndrome*. Fertil Steril, 2011. **95**: p. 1137-1140.
92. A. Cobo, C.J. Domingo, and S.P.e. al, *Vitrification Effective New Approach to Oocyte Banking and Preserving Fertility in Cancer Patient*. Clin Trans Oncol, 2008. **10**: p. 268-273.
93. A. Cobo, et al., *Use of Cryobanked Oocytes in an Ovum Donation Programme: A Prospective Randomized Controlled Clinical Trial*. Hum Reprod, 2010. **25**: p. 2239-2246.
94. L. Parmegiani, A. Accorsi, and C.E.C.e. al, *Sterilization of Liquid Nitrogen with Ultraviolet Irridation for Safe Vitrification of Human Oocytes or Embryos*. Fertil Steril, 2010. **94**: p. 1525-1528.
95. A. Bielanski, et al., *Microbial Contamination of Embryos and Semen During Long Term Banking in Liquid Nitrojen*. Cryobiology, 2003. **46**: p. 46-52.
96. HFEA (Human Fertilisation and Embryology Authority), *Consultation of the Safe Cryopreservation of Gametes and Embryos*. HEFA, London., 1998.
97. K. O. Pomeroy, S. Harris, and J.C.e. al, *Storage of Cryopreserved Reproductive Tissues: Evidence That Cross Contamination of Infectious Agents is a Negligible Risk*. Fertil Steril, 2009. **10**: p. 1016.
98. E. D. Berry, et al., *Bakterial Cross-Contamination of Meat During Liquid Nitrojen Immersion Freezing*. Food Prod, 1998. **61**: p. 1103- 1108.

99. A. Bielanski, et al., *Viral Contamination of Embryos Cryopreserved in Liquid Nitrogen*. *Cryobiology*, 2000. **40**: p. 110-116.
100. T.C. Sağlık Bakanlığı, *Üremeye Yardımcı Tedavi Uygulamaları ve Üremeye Yardımcı Tedavi Merkezleri Hakkında Yönetmelik*. 6.3.2010. [http://www.ttb.org.tr/mevzuat/index.php?option=com\\_content&view=article&id=741:emeye-yardimci-tedavuygulamalari-ve-emeye-yardimci-tedavmerkezlerhakkinda-yetmel&catid=2:yemelik&Itemid=33](http://www.ttb.org.tr/mevzuat/index.php?option=com_content&view=article&id=741:emeye-yardimci-tedavuygulamalari-ve-emeye-yardimci-tedavmerkezlerhakkinda-yetmel&catid=2:yemelik&Itemid=33).
101. M. R. Valojerdi, et al., *Vitrification Versus Slow Freezing Gives Excellent Survival, Post Warming Embryo Morphology and Pregnancy Outcomes for Human Cleaved Embryos*. *Assisted Reproduction*, 2009. **26**: p. 347-354.
102. B. Balaban, et al., *A Randomized Controlled Study of Human Day 3 Embryo Cryopreservation by Slow Freezing or Vitrification: Vitrification is Associated with Higher Survival, Metabolism and Blastocyst Formation*. *Hum Reprod*, 2008. **23**(9): p. 1976-1982.
103. K. Pantos, et al., *Cryopreservation of Embryos, Blastocysts and Pregnancy Rates of Blastocysts Derived from Frozen-thawed Embryos and Frozen-thawed Blastocysts*. *Assisted Reproduction And Genetics*, 2001. **18**(11): p. 579-582.
104. K. E. Loureadi, E. M. Kolibianakis, and e.a. G. A. Venetis, *Cryopreservation of Human Embryos by Vitrification or Slow Freezing: a Systematic Review and Meta-analysis*. *Fertil Steril*, 2008. **90**: p. 186-193.
105. G.A. Rama Raju, G B. Haranat, and K.M.K.e. al, *Vitrification of Human 8-cell Embryos, a Modified Protocol for Better Pregnancy Rates* *Reprod Biomed Online*, 2005. **11**: p. 434-437.
106. M. Kuwayama, et al., *Comparison of Open and Closed Methods for Vitrification of Human Embryos and the Elimination of Potential Contamination*. *Reprod Biomed Online*, 2005. **11**: p. 608-6014.
107. W. T. Zheng, G. L. Zhuang, and C.Q.Z.e. al, *Comparison of Survival of Human Biopsied Embryos after Cryopresevation with Four Different*

- Methods Using Nontransferable Embryos*. Hum Reprod, 2005. **20**: p. 1615-1618.
108. C. C. Huang, T H. Lee, and S.U.C.e. al, *Successful Pregnancy Following Blastocyst Cryopreservation Using Super-cooling Ultra-rapid Vitrification*. Hum Reprod, 2005. **20**: p. 122-128.
  109. Silber C, *Contribution of Embryo Vitrification Procedure to ART Efficiency*. Gynecologie, Obstetrique & Fertilité, 2014. **42**(10): p. 721-724.
  110. J. Liebermann and J.M. Tucker, *Comparison of Vitrification and Conventional Cryopreservation of Day 5 and Day 6 Blastocysts During Clinical Application*. Fertil Steril, 2006. **86**: p. 20-26.
  111. E. R. Groenewoud, et al., *Cryo-thawed Embryo Transfer: Natural versus Artificial Cycle. A Non-inferiority Trial. (ANTARCTICA trial)*. Women's Health, 2012. **12**(27).
  112. E. R. Groenewoud, et al., *What is the Optimal Means of Preparing the Endometrium in Frozen-thawed Embryo Transfer Cycles? A systematic Review and Meta-analysis*. Hum Reprod, 2013. **19**: p. 458-470.
  113. T. Ghobara and P. Vandekerckhove, *Cycle Regimens for Frozen-thawed embryo transfer*. . Cochrane Database Syst Rev., 2008. **CD003414**.
  114. M. E. Pavone, et al., *Comparing Thaw Survival, Implantation and Live Birth Rates from Cryopreserved Zygotes, Ebryos and Blastocysts*. Hum Reprod Sci., 2011. **4**(1): p. 23-28.
  115. EV. Mocanu, et al., *Frozen-thawed Transfer Cycles: are They Comparable with Fresh?* Ir.Med 2008. **101**(6): p. 181-184.
  116. Z. Li, et al., *Clinical Outcomes Following Cryopreservation of Blastocysts by Vitrification or Slow Freezing: A Population-based Cohort Study*. Hum Reprod, 2014. **246**.

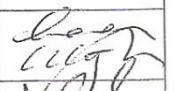
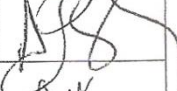
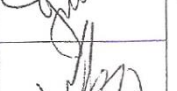
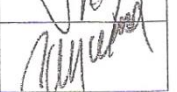

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU  
GİRİŞİMSEL OLMAYAN ARAŞTIRMALAR KARAR FORMU**

<b>ETİK KURUL BİLGİLERİ</b>	<b>ETİK KURULUNUN ADI</b>	Gazi Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
	<b>AÇIK ADRES</b>	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası 06500 Beşevler/Ankara
	<b>TELEFON</b>	0312 202 69 58
	<b>FAKS</b>	0312 202 46 73
	<b>E-POSTA</b>	tipetikkurul@gazi.edu.tr

<b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>	<b>ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI</b>	İnsan embriyolarının hızlı ve yavaş dondurma yöntemlerinin embrio kalitesine etkisi, elde edilen gebelik hızları ve zaman içinde değişimi			
	<b>KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI/SOYADI</b>	Prof.Dr.R.Onur KARABACAK			
	<b>KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI /UZMANLIK ALANI/ BULUNDUĞU MERKEZ</b>	Kadın Hast. ve Doğum AD. / G.Ü.T.F.			
	<b>DESTEKLEYİCİ (Varsa)</b>				
	<b>ARAŞTIRMANIN TÜRÜ</b>	Dosya ve görüntü kayıtları kullanılarak yapılan retrospektif çalışmalar veya arşiv taramaları- Uzmanlık Tezi			
	<b>ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER</b>	<b>TEK MERKEZ</b> <input checked="" type="checkbox"/>	<b>ÇOK MERKEZLİ</b> <input type="checkbox"/>	<b>ULUSAL</b> <input checked="" type="checkbox"/>	<b>ULUSLARARASI</b> <input type="checkbox"/>

<b>DEĞERLENDİRİLEN BELGELER</b>	<b>Belge Adı</b>	<b>Tarihi</b>	<b>Ver.No</b>	<b>Dili</b>
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	30.09.2014	1	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU			Türkçe <input type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
<b>DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER</b>	<b>Belge Adı</b>			<b>Açıklama</b>
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ		<input type="checkbox"/>	
	BİYOLOJİK MATERYAL TRANSFER FORMU		<input type="checkbox"/>	
	DİĞER		<input type="checkbox"/>	

<b>KARAR BİLGİLERİ</b>	<b>Karar No: 471</b>	<b>Toplantı tarihi: 13.10.2014</b>
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup, araştırma dosyasında belirtilen merkez/merkezlerde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına, G.Ü. Klinik Araştırmalar Etik Kurulu üyelerinin oybirliği ile karar verilmiştir.	

<b>ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI</b>	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik (13.04.2013), Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelikte Değişiklik Yapılmasına Dair Yönetmelik (25.06.2014), İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu							
<b>BAŞKANIN ÜNVANI / ADI / SOYADI:</b>	Prof.Dr.Canan ULUOĞLU							
<b>Unvanı/Adı/Soyadı</b>	<b>Uzmanlık Alanı</b>	<b>Kurumu</b>	<b>Cinsiyet</b>		<b>Araştırma ile ilişki</b>		<b>Katılım *</b>	<b>İmza</b>
Prof.Dr.Canan ULUOĞLU BAŞKAN	Tıbbi Farmakoloji A.D	G.Ü.T.F	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Arzu BAKIRTAŞ BAŞKAN YARD.	Çocuk Sağlığı ve Hast.A.D	G.Ü.T.F	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Gonca AKBULUT RAPORTÖR	Fizyoloji A.D	G.Ü.T.F	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Bülent BOYACI ÜYE	Kardiyoloji A.D	G.Ü.T.F	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Sefer AYCAN ÜYE	Halk Sağlığı A.D	G.Ü.T.F	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	



Prof.Dr.Mehmet Akif ÖZTÜRK ÜYE	İç Hastalıkları A.D	G.Ü.T.F	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>M.A.K.</i>
Prof.Dr.Elvan İŞERİ ÜYE	Çocuk Psikiyatrisi A.D	G.Ü.T.F	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Prof.Dr.Nesrin ÇOBANOĞLU ÜYE	Tıp Tarihi ve Etiği A.D	G.Ü.T.F	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı
Prof.Dr.Sercan AKSOY ÜYE	İç Hastalıkları AD.	H.Ü.T.F	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>Alt</i>
Doç.Dr.Hakan KAYIR ÜYE	Tıbbi Farmakoloji A.D	G.A.T.A	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>H.K.</i>
Doç.Dr.Mustafa ARSLAN ÜYE	Anesteziyoloji ve Reanimasyon A.D	G.Ü.T.F	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>M</i>
Doç.Dr.Murat AKIN ÜYE	Genel Cerrahi A.D	G.Ü.T.F	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>M</i>
Av.Arzu BUZKIRAN KAYA ÜYE	Avukat	G.Ü.	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	<i>A.K.</i>
Emine ŞEKER ÜYE	Sivil Temsilci	-	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Katılmadı

\* :Araştırma ile İlişki  
\*\* :Toplantıda Bulunma

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Tez Sınav Tutanağı

Adı ve Soyadı	Könül Mirsel
Baba Adı	Ortay
Doğum Yeri/Tarihi	Azerbaycan / 25.05.1977
Diploma Tarihi / Diploma No	0.77087 / 2000
Mezun Olduğu Fakülte	Azerbaycan Tıp Fakültesi
İhtisas Yaptığı Anabilim Dalı/Bilim Dalı	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD
İhtisas Süresi	Yıl: 4 Ay: 6
Sınav Yapılmasını İsteyen Makam	Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı

UZMANLIK TEZİNİN ADI : İnsan embriyolarında hızlı ve yavaş dondurma yöntemlerinin çözme sonrası elde edilen gebelik parametrelerine etkisi ve zaman içinde değişimi.

JÜRİ KARARI : Yukarıda ismi geçen tez çalışması jüri üyeliği ile uzmanlık testi olarak kabul edilmiştir.

JÜRİ ÜYELERİ

BASKAN  
Prof. Dr. A. Onan

Prof. Dr. Mehmet Anıl ONAN  
T.C. Gazi Üniversitesi  
Gazi Hastanesi  
Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD  
Doç. Dr. Doç. Dr. Doç. Dr. Doç. Dr.

ÜYE  
Prof. Dr. O. Karabacak

ÜYE  
Prof. Dr. H. Feyneloğlu

Prof. Dr. H. Karabacak

Prof. Dr. H. Feyneloğlu  
Kadın Hast. ve Doğum Uzmanı