

**T.C
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TÜP BEBEK
ÜNİTESİNDE OCAK 2005-AĞUSTOS 2006 TARİHLERİ
ARASINDA TEDAVİ GÖREN HASTALARIN KLİNİK GEBELİĞİ
ÜZERİNDE BAZI PARAMETRELERİN ETKİLERİ**

**Tezi Hazırlayan
Emine Burça BAŞAK**

**Tezi Yöneten
Prof.Dr.Birkan YAKAN**

**Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Temmuz 2007
KAYSERİ**

**T.C
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ERCİYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TÜP BEBEK
ÜNİTESİNDE OCAK 2005-AĞUSTOS 2006 TARİHLERİ
ARASINDA TEDAVİ GÖREN HASTALARIN KLİNİK GEBELİĞİ
ÜZERİNDE BAZI PARAMETRELERİN ETKİLERİ**

**Tezi Hazırlayan
Emine Burça BAŞAK**

**Tezi Yöneten
Prof.Dr.Birkan YAKAN**

**Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Temmuz 2007
KAYSERİ**

Prof.Dr.Birkan YAKAN danışmanlığında Emine Burça BAŞAK tarafından hazırlanan “Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tüp Bebek Ünitesinde Ocak 2005-Ağustos 2006 Tarihleri Arasında Tedavi Gören Hastaların Klinik Gebeliği Üzerinde Bazı Parametrelerin Etkileri” adlı bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Histoloji-Embriyoloji** Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

24/07/2007

JÜRİ

Başkan : Prof.Dr.Saim ÖZDAMAR

Üye : Prof.Dr.Birkan YAKAN (Danışman)

Üye : Prof.Dr.Ercan AYGEN

İmza



ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.....

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Meral AŞÇIOĞLU

TEŞEKKÜR

Çalışmamın her aşamasında, desteğini esirgemeyen hocam ve tez yöneticim Prof. Dr. Birkan YAKAN'a,

Anabilim dalındaki tüm olanaklardan yararlanmamı sağlayan, zamanını, bilgisini ve desteğini esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı başkanı Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR'a

Her konuda bilgi ve birikimlerine başvurduğum ve her zaman yardımlarını hissettiğim Yrd. Doç Dr. M. Fatih SÖNMEZ'e,

Hasta verilerini elde etmemde bana gösterdikleri kolaylık için Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tüp Bebek Ünitesi'nde başta ünite sorumlusu Prof. Dr. Ercan AYGEN olmak üzere çalışan tüm personele,

Tezimin istatistiksel değerlendirmesinde yardım ve desteklerinden dolayı Uzman Ahmet ÖZTÜRK'e ve Uzman Ferhan ELMALI'ya

Tez çalışmam sırasında destek ve yardımlarını gördüğüm Anatomi Anabilim dalındaki Arş. Gör. Tolga ERTEKİN ve Hüseyin ÇELEBİ'ye, Eğitim hayatım boyunca benden maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen aileme teşekkürlerimi bir borç bilirim.

**ERCIYES ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TÜP BEBEK ÜNİTESİNDE
OCAK 2005-AĞUSTOS 2006 TARİHLERİ ARASINDA TEDAVİ GÖREN
HASTALARIN KLİNİK GEBELİĞİ ÜZERİNDE BAZI PARAMETRELERİN
ETKİLERİ**

ÖZET

İnsanoğlunun soyunun devam etmesi ve üremesi, kadın vücudunda gelişen bir oositin, erkek gamet hücresi spermatozoon ile bir araya gelmesiyle başlayan ve tek bir hücre olan zigotun çok hücreli bir bireye dönüşmesiyle sonlanan eşsiz bir sürecin sonucudur. Maalesef her insan üreme konusunda aynı şansa sahip olmayıp, günümüzde pek çok kişide doğuştan yada sonradan oluşabilen çeşitli anatomik, fonksiyonel, hormonal, genetik, immünolojik problemler sonucunda üreme işlevinde bozulma ve sonuçta pratikte çiftlerin çocuk sahibi olamaması olarak bilinen infertilite ortaya çıkmaktadır. İnfertilite, 1 yıl hiçbir korunmama olmasına karşın gebelik olmaması olarak tanımlanmakla beraber 1978 yılında İngiliz araştırmacılar Robert Edwards ve Patrick Steptoe'nun in vitro fertilizasyon (IVF) ile doğan ilk bebeği bildirmeleri, üreme tıbbı için büyük bir dönüm noktası olmuştur ve bunu takiben son birkaç on yıllık dönemde infertilite servislerinin kullanımında büyük bir artış gözlenmiştir. Bununla beraber başarıyı etkileyen faktörler konusunda da yoğun çalışmalar başlamıştır. Bu konuda her geçen gün yeni parametreler değerlendirmeye alınmakta ve bazılarının gerçekten etkisi kanıtlanırken, bazılarının da etkileri tartışmaya açık kalmaktadır. Bu çalışmada bizim amacımız ise yoğun bir talep gösterilen infertilite servislerinde tedavi gören hastaların klinik gebelik seyirleri üzerinde belirlediğimiz bazı parametrelerin etkilerini gözlemek ve istatistiksel analizler sonucunda elde ettiğimiz verileri bilimsel açıdan yorumlamaktır. Çalışmamızı Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tüp Bebek Ünitesi tarafından hazırlanan 'In-vitro Fertilizasyon ve Embriyo Transferi Ünitesi Hasta Takip ve Tedavi Formu' adı altında tutulan resmi kayıt formlarındaki bilgilerin derlenmesi şeklinde yaptık. Kullandığımız 9 parametreden (BKİ, yaş, follikül sayısı, endometriyum kalınlığı, OPU'da aspire edilen follikül sayısı, OPU'da Toplanan Yumurta Sayısı ET'de verilen embriyo sayısı, ET'de verilen embriyoların gradeleri, triple oluşumu) 2 tanesinin değerini klinik gebelik üzerinde istatistiksel açıdan anlamlı bulduk. Bunlar yaş ve triple

oluşumu'dur. Elde ettiğimiz sonuçların bundan sonra yapılacak olan bilimsel araştırmalara katkıda bulunacağı ve yeni bilimsel platformlar açacağı kanısındayız.

Anahtar kelimeler : IVF, ICSI, ET, klinik gebelik

**EFFECTS OF SOME PARAMETRES ON KLINICAL PREGNANCY OF
TREATED PATIENTS WHO JANUARY 2005- AUGUST 2006 IN IN VITRO
FERTILIZATION CENTER OF ERCIYES UNİVERSITY FACULTY OF
MEDİCİNE**

ABSTRACT

Continuation of human being's generation breeding is the result of unique period of an oosit that comes together with a male gamet cell spermatozoon and matures in a woman's body. During this process a single cell zigot changes into multiple cell individual. Unfortunately not all people have the same chance for breeding. It is known that people who can not have babies because of the varios kinds of anatomic, functional, hormonal, genetic or immunologic problems that congenital or acquired. Disordering of one or some of these functions brings out the infertility that prevents the couples from having child. Infertiliy can be described and not becoming pregnant even not using any kinds of protection for about one year aganist pregnancy.

The year 1978 became the turning point when the British reserchers Robert Edwards and Patric Steptoe gave the news of a baby who was born with İn Vitro Fertilization (IVF). Following this using of IVF services increased a lot in a few decades. Many intensive studies were started for the factors that affect the success. In this concept new parameters have been taken into considiration every other day and some of them have been proved that they are really effective while some others need to be discussed.

In this study our aim was to follow the patients who interst a lot to the IVF services and get treatment for medical pregnancy. This period also gave us chances to watch statistical analizes and comment them scientificly. We did our study with patient following forms that were prepared by Erciyes University Tube Baby Unit. The information and knowledges were taken from offical records. Nine of these parameters (age, BMI, follicul number, endometrium thickness, follicul number that collect at OPU, follicul number that aspired at OPU, amount of embrio at ET, grades of embryos at ET, triple forming).

VII

We found 2 of them meaningful for clinical pregnancy. They are age and triple forming. We believe that the result that we got will help further researches and contribute to the new scientific platforms.

Key words: IVF, ICSI, ET, clinical pregnancy.

VIII

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
İÇ KAPAK	I
KABUL VE ONAY SAYFASI	II
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	VI
İÇİNDEKİLER	VIII
ŞEKİL LİSTESİ	X
TABLO LİSTESİ	
XI	
KISALTMALAR	XII
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2. 1. İNFERTİLİTE	5
2. 1. 1. Tanım ve Sıklığı	5
2. 1. 2. İnfertilite Tarihçesi	5
2. 1. 3. İnfertilite Nedenleri	7
2. 2. OVARYUM	8
2. 2. 1. Ovaryum Anatomisi:	8
2. 2. 2. Ovulasyon	11
2. 2. 3. Ovaryum Histolojisi:	12
2. 2. 4. Follikül Gelişimi:	13
2. 2. 5. Ovulasyon	18
2. 2. 6. Korpus luteum (sarı cisim)	19
2. 2. 7. Follikül Atrezisi	20
2. 2. 8. Ovaryumun Histofizyolojisi	20
2.3. İNVİVO ve İNVİTRO KOŞULLARDA OOSİT MATÜRASYONU	21
2.4. OOSİT MATÜRASYONU	24
2.4.1. Çekirdek (Nükleer) matürasyonu	24
2.4.2. Sitoplazmik matürasyon	27
2.4.3. Folliküler matürasyon	29
2.5. İN VİTRO OOSİT MATÜRASYONU	37
2.5.1. İn Vitro Follikül Olgunlaşması	42
2.5.2. Biçimleri Bozuk (Dismorfik) Oositler	44
3. GEREÇ VE YÖNTEM	46

IX

4. BULGULAR.....	51
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	56
6. KAYNAKLAR.....	63
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Şekil 2. 1	Mikroyardımcı üreme tekniklerinin şematik görünümü 6
Şekil 2. 2	Gelişmekte olan ovaryum follikül evreleri 17
Şekil 2. 3	Kadın genital sisteminde follikül gelişim evreleri, ovulasyon, fertilizasyon ve erken embriyonik gelişme basamakları izleniyor 17
Şekil 2. 4(A)	Son derece immatür bir oosit-kumulus –korona kompleksi 26
Şekil 2. 4(B)	İmmatür oosit – kumulus –korona kompleksi 27
Şekil 2. 5(A)	Olgun (matür) oosit- kumulus-korona kompleksi 28
Şekil 2. 5(B)	Çok iyi gelişmiş tabakalarıyla olgun bir oosit- kumulus- korona kompleksi (OCCC) izleniyor 28
Şekil 2. 6	Oosit matürasyonunun 3 evresinin şematik görünümü 29
Şekil 2. 7	a) Tam olgunlaşmış metafaz II (MII) oosit. b) Bu MII oosit sitoplazmasının sağlıklı görünümü. c) Saat yönü istikametinde sağ üstten itibaren oosit çekirdek olgunlaşması izleniyor. d) Dejenerasyona giden MII oosit. e) Dejenerasyona giden bir başka MII oosit. ICSI işlemi sırasında böyle oositlerin hücre zarı çabuk bozulur. f) Tamamıyla dejenere olmuş bir MII oosit 39
Şekil 2. 8	ICSI işleminden yaklaşık 44 saat sonra 2. gündeki değişik hücre sayısına sahip embriyolar görülüyor 40
Şekil 2. 9	a) ICSI işleminden sonra 2. gündeki, 2 hücreli GI dereceli bir embriyo izleniyor. b) Fragmentasyon içermeyen, ICSI işleminden sonraki 2. günde 3-4 hücreli GI embriyo izleniyor. c) Klasik IVF sonrası 2. günde 2 hücreli, GII dereceli ve fragmentasyon izlenmeyen bir embriyo görülüyor 40
Şekil 2. 10	a) 8 hücreli GII dereceli, %5-10 arasında fragmentasyon içeren, uzunlaşmış bir embriyo izleniyor. b) ICSI işleminden sonraki 3. günde 8 hücreli, fragmentasyon içermeyen, GI dereceli bir embriyo izleniyor. c) Üçüncü günde, 8 hücreli, %5 civarında fragmentasyon içeren, granüllü sitoplazmalı, GI dereceli bir embriyo görülüyor 41
Şekil 2. 11	ICSI işleminden sonra pronükleus (PN) evresindeki bir zigot izleniyor. Saat 8 yönünde polar body (PB) izleniyor ancak, fragmente PB I mi, yoksa PB II mi tam olarak tayin etmek zordur 42
Şekil 2. 12	IVF işlemleri sırasında oluşmuş bir 3 PN görünümü izleniyor 42
Şekil 3.1	Tüp Bebek Ünitemizde kullanılan 3. gün embriyo skoru şeması 49
Şekil 3.2	Triple oluşumu. Normal transabdominal ultrasonografide uterus. a) sagittal ve b) aksiyal düzlemdeki görüntülerinde en içte hiperekoik endometriyuma ait doku görülmektedir. Hipoekoik geçiş zonu (ok) bütünlüğü korunmakta olup daha sonra myometriyum homojen olarak izlenmektedir 50
Şekil 3.3	İn vitro fertilizasyon: prensipler ve prosedür 50

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Tablo 4. 1 Beden kitle indeksine göre hastaların gebelik durum	52
Tablo 4. 2 Yaş ile gebelik arasındaki ilişki.	52
Tablo 4. 3 Hastalarda endometriyum kalınlığı ile gebelik arasındaki ilişki	52
Tablo 4.4 Muayene sırasında sayılan follikül sayısı ile gebelik arasındaki ilişki	53
Tablo 4.5 OPU’da aspiren edilen follikül sayısı ve gebelikle ilişkisi	53
Tablo 4.6 OPU’da toplanan yumurta sayısı ve gebelik ile ilişkisi	54
Tablo 4.7 ET’de verilen embriyo sayısı ile gebelik arasındaki ilişki.	54
Tablo 4.8 ET işleminde verilen embriyoların Grade’leri ile gebelik arasındaki ilişki.	55
Tablo 4.9 Triple oluşumu ile gebelik arasındaki ilişki	55

KISALTMALAR

IVF	: İn vitro fertilizasyon
ICSI	: İntra sitoplazmik sperm enjeksiyonu
FSH	: Follikül stimulan hormon
LH	: Luteinizan hormon
E-2	: Östradiol
OPU	: Yumurta toplama işlemi
ET	: Embriyo transferi
ICM	: İç embriyo kitlesi
OCM	: Embriyo dışı hücre kitlesi
TET	: Tubal embriyo transferi
PROST	: Pronükleer stage transfer
GIFT	: Gamet intra fallopian transfer
ZIFT	: Zigot intra fallopian transfer
APUD	: Amin ölçüllerini alıp, dekarboksile eden endokrin hücreler
ZP	: Zona pellucida
OMI	: Oosit matürasyon inhibitörü
IGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
SCF	: Stem cell faktör
TDF	: Testis belirleyici faktör
AMH	: Anti Mülleriyan hormon
MIS	: Mülleriyan inhibitör madde
IM	: Işık mikroskobu
ABP	: Androjen bağlayıcı peptit
GH	: Büyüme hormonu
YÜT (ÜYTE)	: Yardımcı üreme teknikleri
PGC	: Primordiyal germ hücresi
GV	: Germinal vezikül
OCCC	: Oosit-kümüls-korona kompleksi
PVS	: Perivitellin aralık
r-FSH	: Rekombinant follikül stimulan hormon
PB	: Polar body (kutup cisimciği)
PN	: Pronükleus
BKİ	: Beden kitle indeksi
EM	: Elektron mikroskobu
GnRH	: Gonadotropin salgılatıcı hormon

XIII

M II	: Metafaz II
A II	: Anafaz II
SER	: Düz endoplazmik retikulum
GVBD	: Germinal vezikül kırılması
RNA	: Ribonükleik asit
hCG	: Human koryonik gonadotropin
GER	: Granüller endoplazmik retikulum:

1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnsan üremesi, kadın vücudunda gelişen bir oositin, erkek gamet hücresi spermatozoon ile bir araya gelmesiyle başlayan ve totipotent özellikli tek bir hücre olan zigotun çok hücreli eşsiz bir bireye dönüşmesiyle sonlanan inanılmaz derecede heyecan verici bir sürecin sonucudur. Gerek kadın ve gerekse erkekte doğuştan ya da sonradan oluşabilen çeşitli anatomik, fonksiyonel, hormonal, genetik, immünolojik vb. problemler, üreme işlevinde bozulmaya ve sonuçta çiftlerin çocuk sahibi olamaması olarak tanımlanabilen infertiliteye yol açmaktadır.

1970'li yılların sonlarından itibaren ortaya çıkan yeni teknolojiler ve bunların klinik kullanımları, hem infertiliteye yol açan nedenlerin daha iyi anlaşılabilmesini hem de eskiden tedavi şansı olmayan milyonlarca çiftte günümüzün modern infertilite tedavisinden yararlanma ve çocuk sahibi olabilme şansını sağlamıştır.

Üreme tıbbındaki tüm bu gelişmeler günümüz iletişim ve bilgi çağının kaçınılmaz bir sonucu olarak ülkemizde de aynı gelişmelerin yakından izlenmesi ve bu tedavi yöntemlerinin başarılı bir şekilde klinik alanda kullanımını sağlamıştır.

Üremeye yardımcı tedavi yöntemleri olarak bilinen in vitro fertilizasyon (IVF) ve intra sitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) gibi yöntemlerin başarısı; temelde doğru hasta seçimi ve hasta hazırlığı, hastaya uygun ovulasyon indüksiyonu programının uygulanması, çok detaylı kalite kontrolleri yapılan bir laboratuvar ortamı, uygun

oositlerin toplanması ve bunun sonucunda uygun embriyo transferi yapılması gibi pek çok faktöre bağlıdır. Tüm bu faktörleri, çalışanların ekip ya da takım ruhuna sahip olması çok olumlu yönde etkilemektedir.

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tüp Bebek Ünitesi yukarıda bahsedilen bu amaçları gerçekleştirebilmek için Ocak 2005 tarihinden itibaren hasta kabulüne başlamıştır. Yüksek Lisans tez projesi öneri belgesini hazırladığımız tarihlerde Tüp Bebek Ünitesi yıllık bakım için çalışanlarıyla birlikte izin döneminde bulunmaktaydı. Bu nedenle Ağustos 2006 tarihi çalışma zaman aralığı için kriter olarak alınmıştır.

Bu Yüksek Lisans tez projesinin amacı; bahsedilen tarihlerde Tüp Bebek Ünitesinde tedavi gören hastaların klinik gebelik seyirleri üzerinde bazı parametrelerin (muayenede sayılan follikül sayısı, triple oluşumu, endometrium kalınlığı, yumurta toplama işleminde (OPU) toplanan yumurta sayısı, OPU'da aspire edilen follikül sayısı, embriyo transferinde (ET) verilen embriyo sayısı, E.T'de transfer edilen embriyoların dereceleri ve kadın yaşı vb.) etkilerini gözlemek, gerekli istatistiksel testlere tabi tutarak yorumlarda bulunmaktır. Bu çalışma sonucunda hem Tüp Bebek Ünitesinin kendisini kontrol etmesini hem de bilimsel literatüre katkıda bulunmayı hedeflemekteyiz.

2. GENEL BİLGİLER

Üreme, tüm canlılarda türlerin sürekliliğini simgeleyen evrensel bir olgudur. İnsan yaşamı, erkek gamet hücresi spermatozoon ile kadın gamet hücresi oositin zigot adı verilen tek bir hücreyi oluşturmak üzere bir araya gelmesi yani fertilizasyon ile başlar. Zigot, anne ve babadan köken alan kromozom ve genleri yani genetik bilgiyi içeren, oldukça özelleşmiş totipotent bir hücre olup, eşsiz yapıdaki her bir bireyin yaşamının başlangıcını temsil eder.

Bu tek hücreli organizma daha sonra hücre bölünmesi, göç, gelişim ve farklılaşma aşamalarından geçerek çok hücreli bir canlıya, insana dönüşmektedir. Bu süreçteki temel belirleyici olay, gamet hücrelerinin birleşmesi yani fertilizasyondur. Fertilizasyona hazırlık için gerek kadın ve gerekse erkek üreme hücrelerinde önceden bir çok değişiklik meydana gelmektedir. Bu değişikliklerin amaçları şu şekilde sıralanabilir; 1-Somatik hücrelerde görülen diploid (n:46) sayıdaki kromozomun mayoz ya da olgunlaşma bölünmeleriyle gamet hücrelerinde görülen haploid (n:23) sayıdaki kromozoma indirgenmesi. 2-Fertilizasyon için germ hücrelerinin şekillerindeki gerekli değişikliklerin oluşmasıdır.

Birinci ve ikinci mayotik bölünmelerin sonucunda bir primer oositin sonuçta 22+1 X kromozom içeren bir olgun oosit ve üç tane kutup cisimciği gelişirken, bir primer

spermatozitten iki tane 22+X ve iki tane 22+Y kromozomu içeren toplam dört adet spermatozoon gelişir.

Fertilizasyon kadın ve erkek gamet hücrelerinin birleşmesi yani füzyonu işlemidir ve tuba uterinaların ampullasında gerçekleşir. Tüpün ampuller bölgesine ulaşabilen sperm hücreleri (spermatozoon) burada oosit ile karşılaştıklarında aşılması gereken ilk engel, oositi çevreleyen korona radiata'dır. İkinci engel ise zona pellusida'dır. Korona radiata hücrelerinin aşılmasında en önemli enzim hyaluronidazdır. Zona pellusida sperm hücresinin iç akrozomal membranından salgılanan enzimlerin (akrozim) yardımıyla penetre edilir. Sperm hücresinin oosit içerisine girmesiyle oosit buna üç farklı şekilde yanıt verir;

1-Kortikal ve zona reaksiyonu başlar ve bu yolla polispermik fertilizasyon önlenmiş olur.

2-İkinci mayotik bölünme tamamlanmış olur ve 22+X yapısındaki dişi pronükleusu içeren olgun oosit ile ikinci kutup cisimciği oluşur.

3-Oositte metabolik aktivasyon başlar.

Bu olaylar gelişirken oositin içerisindeki kromozomlar bir zar ile çevrelenerek dişi pronükleusu oluşturur. Sperm başındaki kromatinin dekondeksasyonu ile ve bunun da bir zar ile çevrelenmesiyle erkek pronükleusu oluşur. Sonra bu pronükleuslar zarlarını kaybederek nükleus materyallerinin kaynaşmasıyla birleşirler (singami). Böylece fertilizasyon ile yarısı anneden yarısı babadan gelen diploid sayıda kromozom ile her iki ebeveynden farklı kromozom yapısındaki tek hücreli zigot elde edilir. Yeni bireyin cinsiyeti belirlenir ve hücrede mitoz bölünme yani klivaj başlatılır.

Klivaj ile hücre sayısı artırılır. Her bir klivaj bölünmesiyle daha da küçülen hücreler blastomer adını alır. Üç dört bölünmeden sonra 12-16 blastomer içeren hücre morula olarak adlandırılır. Morulada merkezi (iç) bölgede toplanan hücreler (inner cell mass-ICM) ile onları çevreleyen bir tabaka (outer cell mass-OCM) mevcuttur ve fertilizasyondan yaklaşık üç gün sonra ulaşılan bu aşamada embriyo uterus kavitesine ulaşmak üzeredir. Morula aşamasındaki bu embriyonun uterin kaviteye girişinden hemen sonra (yaklaşık 4.gün) hücreler arasında sıvı toplanmasıyla tek bir kavite oluşur (blastosel) ve sıvı dolu kaviteden oluşan bu yapıya blastokist adı verilir. Blastokist

aşamasında uterus kavitesindeki yer alan bu yapının zona tabakası kaybolur (hatching) ve böylece fertilizasyondan sonraki 6.günde implantasyon başlar.

Normal olarak insanlarda embriyonun implantasyonu blastokist aşamasında gerçekleşir ve yaklaşık 6. günde embriyoblastın (inner cell mass) bulunduğu kutupta üzerini örten trofoblastlardan salgılanan proteolitik enzimler aracılığıyla sekretuvar (salgı) fazda bulunan endometriumun yüzeysel (kompakt) tabakasının hücrelerini penetre etmeye başlar. Yaklaşık 8. günde blastokist, endometrial stroma içerisine kısmen gömülür. Bu aşamada embriyoblast üzerindeki alanda trofoblastlar, içteki tek nükleuslu sitotrofoblastlar ve dıştaki çok nükleuslu sinsityotrofoblastlar olmak üzere iki tabakaya farklılaşırlar ve endometrium içerisine daha derin olarak yerleşirler (1).

2.1. İNFERTİLİTE

2.1.1. İnfertilite; Tanım ve Sıklığı

İstem dışı çocuk sahibi olamama veya infertilite, çiftlerin yaklaşık %10-20'sini etkileyen bir problem olup, korunmasız ve düzenli cinsel ilişkiye rağmen 1 yıllık süre sonunda gebe kalınmaması olarak tanımlanmaktadır. Bu süre gebelik için çaba harcayan genç çiftlerdeki aylık fekundabilite (bir menstrüel siklusta gebe kalma oranı) oranının %20-25 olduğunu gösteren kanıtlara dayanmaktadır. Yapılan çalışmalarda çiftlerin %80-85'inin ilk yılın sonunda gebe kaldığı ve bu oranın 2 yılın sonunda %90'ı aştığı görüldüğünden, genç çiftlerde incelemeler başlamadan önce bekleme süresi 2 yıla çıkarılabilir. Ancak kadınlarda 35 yaş sonrasında ve özellikle 37 yaşından sonra fertilitate çok belirgin bir şekilde azalmaya başladığından ileri yaştaki kadınlarda bekleme süresinin azaltılmasında yarar vardır (1).

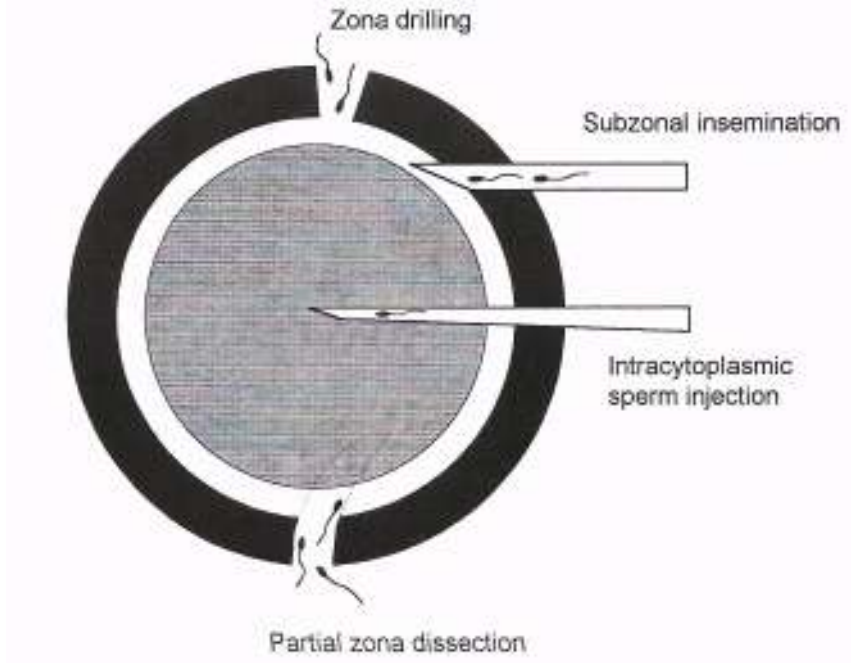
2.1.2 İnfertilite Tarihçesi

Yüz -yüz elli yıl öncesine dayanan hayvan çalışmaları, üreme fizyolojisinin öğrenilmesi ve bunların insan üzerinde uygulanması sonucunda 25 Temmuz 1978'de insanlık tarihinde dünyanın ilk tüp bebeği olan Luis Brown'ın doğması ile bilimde yeni bir sayfa açılıyordu. Ancak infertilite tarihçesi oldukça eskilere dayanmaktadır.

Hipokrat (MÖ.460-377) yazılarında uterusun ve tubal açıklığın gebe kalmadaki önemi ve ayrıca semenin üremedeki yerini vurgulamaktadır. Efes'te doğan Soranus (MS.98-138) fertil dönemi ilk açıklayan kişilerdendir. Anton van Leuwenhook (1632-1723) ve Hollandalı öğrencisi Hamen 1674 ve 1677 yıllarında spermin ilk kez mikroskopik

görünümünü tarif etmişlerdir. Regnier de Graff (1641-1673) gamet üretimini ayrıntılı bir şekilde tarif etmiş ve 1668, 1672 yıllarında yayınladığı eserlerinde kadın-erkek üreme sistemlerini geniş bir biçimde ortaya koymuştur.

Seksüel üremenin gerçek önemi 19. yüzyılda daha iyi anlaşılmıştır. Bu dönemde bilginin klinik pratiğe geçişi, yapay dölleme uygulamalarında embriyo transferi aşamalarına gelmiştir. İn vitro fertilizasyon (IVF) basamakları ilk önce hayvan çalışmaları ile başlamıştır. Walter Heape 1890 yılında tavşanlarda preimplantasyon evresinde bulunan embriyoları bir tavşan türünden o tavşanların kanallarının yıkanması yoluyla alıp diğer bir tavşan türünün kanallarına transfer ederek yeni tavşan türünde önceki türde tavşanların doğmasını sağlamıştır. Bu çalışmalar tubal embriyo transferi (TET), pronüklear stage transfer (PROST), gamet intrafallopian transfer (GIFT), zigot intrafallopian transfer (ZIFT) uygulamalarının tarihsel başlangıcını oluşturmuştur (Şekil 2.1) .



Şekil 2.1: Mikroyardımcı üreme tekniklerinin şematik görünümü (2).

Bilimsel çalışmalar, çevre ve toplum baskıları altında 1890'lı yıllardaki embriyo transferi (ET) konusundaki sessizliğini koruyarak 1950'li yıllara kadar ulaşmıştır. 1950'li yıllar anatomi, embriyoloji, mikroskopi alanındaki artan araştırmalarla geçirilmiştir. 1960'lı yıllarda hayvanlarda ve laboratuvar ortamlarında spermatozoonun toplanması, kapasitasyonu, tubalardan olgun follüküllerin flushing yoluyla toplanması, in vivo fertilizasyon ile oluşan embriyonun taşıyıcı anneye transferi gibi başarılı uygulamalar yapılmıştır. Hayvan çiftliklerindeki üstün genetik türde besi hayvanları yetiştirilmesi sırasında morula ya da blastokist evresindeki embriyoların uterusun foley kateter ile yıkanarak dış ortama alınması ve yeni anne adayına bu evrelerdeki embriyo transferi sonucu %100'e varan genetik üstün yavruların elde edilmesi sağlanmıştır. Hayvanlardaki gözle görülür başarılar 1960-1970'li yıllarda insanlarda tubal infertil olguların tedavisi için bu yöntemlerin uygulanması konusundaki baskıları artırmıştır. 1970'li yılların sonlarına doğru jinekolog Patrick Steptoe ve hayvan fizyoloğu Robert Edwards'ın sabır dolu çalışmaları meyvesini vermiştir. 25 Temmuz 1978 yılında İngiltere'nin Oldham kasabasında, Steptoe-Edwards IVF ekibi tarafından, iki kez ektopik gebelik sonucu salpenjektomi operasyonu geçirmiş tubal faktörlü anneden IVF yoluyla insandaki ilk tüp bebek doğumu olan, Luis Brown'ın doğumu gerçekleştirildi. Böylece, bilimin bir zamanlar hayal bile edilemeyecek bir konuyu gerçekleştirmesinin inanç ve sabır ile mümkün olabileceği ortaya konuldu. Bugün dünyada yüz binlerce IVF çocuğu mutlu aileleriyle birlikte hayatlarını sürdürmektedirler (3).

2.1.3. İnfertilite Nedenleri

Kadın ve erkeklerde üreme sistemlerinin temel işlevi kadın ve erkek gamet hücrelerinin üretilmesi (gametogenez) ve üreme hormonlarının salgılanmasıdır (hormonogenez). Bu işlevlerin kusursuz olarak yerine getirilebilmesi için her iki cinste de normal genetik yapı, anatomik olarak sağlam ve fonksiyonel bir hipotalamus (gonadotropin salgılatıcı hormon, GnRH salgılanması için) ve hipofiz (gonadotropik hormonların, FSH ve LH salgılanması için), kadınlarda anatomik olarak mevcut ve fonksiyonel overler, embriyolojik olarak Müllerian kanaldan gelişen normal fallopian tüpler, uterus (korpus ve serviks) ve yine Müllerian kanal ve ürogenital sinüsten köken alan vajen ile diğer normal dış genital organlar gerekliken; erkeklerde skrotum içerisine yerleşmiş testisler, Wolff kanalından gelişmiş normal kanallar (epididimis, vas deferens), yardımcı salgı

bezleri (seminal veziküller, prostat ve bulboüretal bezler) ve fonksiyonel bir penis gerekmektedir (1,3).

Üreme işlevinin eksiksiz ve sorunsuz olarak gerçekleşmesi ise hem kadın hem de erkekte belirtilen tüm bu anatomik, fizyolojik, hormonal ve immünolojik sistemlerin tam bir bütünlük ve uyum içerisinde çalışmasına bağlıdır. Aksine bir durum üreme işlevinde bozulma ve kısaca infertilite olarak tanımladığımız sorunun yaşanmasına sebep olmaktadır (1,3).

Yukarıda kısaca belirtilen faktörlerden de anlaşılacağı üzere kadına (%40-45) ve erkeğe (%40-45) bağlı faktörler infertiliteye sebep olabileceği gibi her iki cinse bağlı sorunlar bir arada bulunabilir veya klasik infertilite tetkikleriyle sorun açıklanamayabilir (%15-20). Bu durum ‘açıklanamayan infertilite’ olarak tanımlanmaktadır (1,3).

Bireyin üreme potansiyelini belirleyen en önemli parametre, hipotalamo-hipofizer-ovarian eksenin normal işleyişidir. Bunun yanında, endokrinolojik yönden tüm otokrin bezlerin otonom ve koordineli bir biçimde çalışması gerekmektedir. Normal ovulatuvar bir siklus için bu harmoni gereklidir. Bu eksenin işleyişindeki problemler, normal ovulasyondan sapma ve fertilitiyi azaltan sorunları doğurmaktadır. Bu sorunların başında kronik anovulasyon, hiperandrojenizm, obezite, polikistik over sendromu, hiperprolaktinemi, adrenal hiperplazi ve tiroid disfonksiyonları gelmektedir (3).

İnfertilite sebeplerini belirlemeye yönelik incelemeler ile tıbbi ve cerrahi tedavi yöntemleri bu tezin kapsamı dışında kaldığı için bu konulara değinilmemiştir. Ancak sağlıklı işleyişin daha iyi anlaşılabilmesi için normal over anatomisi ve histolojisi, spermatogenez ile in vivo ve in vitro koşullarda oosit matürasyonu gibi konulardan bahsedilecektir (3).

2.2. OVARYUM

2.2.1. Ovaryum Anatomisi:

Ovaryumlar erkekteki testislerin karşılığı olan, iri badem büyüklüğünde bir çift organdır. Küçük pelvisin yan duvarında bulunan fossa ovarica’ya yerleşmişlerdir. Fossa ovarica, a.iliaca externa ile a.iliaca interna arasında bulunur. Bu çukuru aşağı ve ön taraftan lig. latum uteri’nin tabanı, yukarıdan a. iliaca externa ve arkadan da üreter sınırlar. Çukurun dibinde ve peritoneumun altından a-v. obturatoria ile n. obturatorius geçer. İlk hamilelikte ovaryumlar uterus ile birlikte karın boşluğuna doğru çekilir ve bir

daha aynı yerine dönemezler. Genellikle doğurmuşlarda ovaryumlar biraz daha aşağıda bulunurlar. Ancak biz burada normal yerinde olan ovaryumların anatomisinden bahsedeceğiz. Tuba uterina'nın arka ve aşağı kısmında bulunan ovaryumlar lig.latum uteri içinde bulunur ve uzun eksenleri de hemen hemen vertikal yöndedir. Pembemsi-gri renkte olan ovaryumların yüzeyi bülüğ çağına kadar peritoneumla örtülü olup düz ve parlaktır. Bülüğ çağından sonra peritoneum vasfını kaybeder ve matlaşır. Ovulasyon ve doğurmaya bağlı olarak da üzeri pürtüklü bir görünüm alır. Her bir ovaryum yaklaşık 4cm. uzunluğunda, 2cm. eninde ve 0.8 cm. kalınlığındadır. Ağırlığı da 3-5 gr. kadardır. Facies lateralis ve facies medialis olmak üzere iki yüzü, extremitas tubaria ve extremitas uterina olmak üzere iki ucu ile margo liber ve margo mesovaricus olmak üzere de iki kenarı vardır (3).

V.iliaca externa'ya komşu olan extremitas tubaria'ya fimbria ovarica ile lig. ovarii suspensorium tutunur. Lig. suspensorium ovarii, iliak damarların ön tarafında yukarı doğru uzanan bir periton plikası olup, içinde a. ve v. ovarica bulunur. Extremitas uterina, aşağı pelvis döşemesine doğru yönelmiştir. Bu uç lig. ovarii proprium aracılığıyla uterusun cornu uteri'sine tutunur. Bu bağ gubernaculum'un artığının bir bölümü olup, lig. latum uteri içinde bulunur ve biraz da düz kas lifleri içerir (3).

Facies lateralis, fossa ovarica'yı örten parietal peritona oturur. Facies medialis, dış yüze oranla daha konvektir. Bu yüzü infundibulum tuba uterinae örter. Arka kenarına, serbest olması nedeniyle margo liber denilir. Ön kenara oranla daha konveks ve künt olan bu kenar, ureter ile komşuluk yapar. Ön kenarına mesovarium tutunması nedeniyle, margo mesovaricus denilir. Arka kenara oranla daha ince olan ön kenarda, hilum ovarii bulunur ve a.umbilicalis'in artığı ile komşudur. Bu kenara, lig. latum uteri'nin bir bölümü olan mesovarium tutunur. Mesovariumun iki yaprağı arasında bulunan damar ve sinirler, hilum ovarii'den ovaryuma girer ve çıkarlar. Tuba uterina, önce margo mesovaricus üzerinden bir kavis yaparak geçer. Sonra extremitas tubaria'nın üzerinden kıvrılarak margo liber'e ve buradan da facies medialis'e gelir(3).

Epooforon (Rosenmüller organı): Ovaryum ile tuba uterina arasında bulunan mesosalpinks'in iki yaprağı arasında bulunan embriyolojik artıklardır. Ductuli transversi denilen 10-12 adet kısa kanalcıktan oluşur. Bu kanalcıklar ovaryuma doğru kör kanallar şeklinde uzanırlar. Diğer uçları ise embriyolojik bir artık olan ductus epoophorontis longitudinalis'e (Gartner kanalı) açılır (3).

Paraooforon: Çocuklarda daha iyi görülebilen az sayıdaki rudimenter kanalcıklardır. Bunlar uterus ile epoooforon arasında kalan lig.latum uteri'nin iki yaprağı arasında bulunur. Epoooforon ve paraooforon arasındaki kanalcıklar, mesonefronun veya Wolff kanalının embriyolojik artıklarıdır (3) .

Ovaryumun yapısı: Ovaryumu en dıştan periton örter. Bu periton da, diğer organları örten peritonlar gibi yassı epitel yapısında olup düz ve parlaktır. Ancak bülüğ çağından sonra ovaryumun peritonu yapısını değiştirir ve germinal epitelyum (Waldeyer tabakası) denilen prizmatik hücre tabakası ile kaplanır. Bu nedenle de mat-gri renge döner. Eğer erişkinlerde de normal periton yapısını korusaydı, ovum (yumurta) sağlam olan normal peritonu delerek dışarı çıkamazdı. Bu nedenle erişkinlerde ovaryumları örten normal bir periton bulunmaz. Bu epitel tabakasının altında tunica albuginea denilen kalın bir tabaka bulunur. Bu tabaka yaş ilerledikçe kalınlaşır. Tunica albuginea'nın içinde ovaryumun esas yapısını oluşturan stroma ovarii bulunur. Stroma ovarii de, cortex ovarii ve medulla ovarii denilen farklı iki bölümden oluşur. Cortex ovarii dış tarafta bulunur ve hilum ovarii hariç, ovaryumun her tarafını bir kabuk şeklinde sarar. Bu bölüm içindeki bağ dokuları arasında, çeşitli gelişim evrelerinde bulunan folliküller içerir. Medulla ovarii, iç tarafta bulunur ve cortex ovarii'ye oranla daha gevşek bir yapıya sahiptir. Medulla ovarii'den gelen bağ dokusu uzantıları, hilum ovarii'de damarların etrafındaki bağ dokusu ile devam eder. Hilum ovarii'den içeri giren damarların çoğu, cortex ovarii'de dağılır. Burada gelişen folliküller etrafında kapiller ağlar oluştururlar.

Puberteden önce cortex ovarii'de folliculi ovarici primarii denilen tek tip follikül bulunur. Çocuk dünyaya geldiği zaman her iki ovaryumda yaklaşık 400.000 primer follikül bulunur. Fakat bunlardan yaklaşık kadın cinsel hayatı boyunca 400 adedi gelişerek olgun hale gelebilir. Geri kalanı çeşitli gelişim evrelerinde harab olurlar. Puberte ile birlikte bu folliküller bir çok gelişme evreleri geçirerek folliculi ovarici vasculosi (Graaf follikülü) denilen olgun follikülleri oluşturur. Ovulasyondan sonra yırtılan Graaf follikülü, corpus luteum adını alır ve bir süre iç salgı bezi olarak görev yapar (3).

2.2.2. Ovulasyon

Graaf follikülü, ovaryum korteksinin herhangi bir yerinde gelişebilir. Olgunlaşan follikül yaklaşık 1-1.5 cm çapına erişir ve ovaryumun yüzeyine yakın bulunur. Gelişen follikül tunica albugina'ya basınç yaparak inceltir. Ovaryumun dış yüzünde bu bölge koyu mavi renkte bir kabartı şeklinde görülür. Bu dönemde yumurta (ovum), ovaryumun yüzeyine yakın bölgesinde bulunur ve follikül sıvısı da fazla miktarda artar. Hipofiz hormonlarının etkisiyle, olgunlaşan follikül duvarı patlar ve follikül sıvısı karın boşluğuna akar. Yumurta da o bölgeyi daha önceden sarmış olan infundibulum aracılığıyla tuba uterinaya geçer. Boşalan follikül küçülür ve içeriği kanla dolar. Buna corpus hemorrhagicum denilir. Follikülün geri kalan hücreleri büyüyerek sarı renk alır. Buna corpus luteum denilir (3).

Tuba uterina'ya geçen yumurta döllenerek hamilelik oluşursa, corpus luteum büyümeye devam eder ve hamileliğin 9. ayında 3cm çapa erişir. Buna da corpus luteum graviditatis denilir. Yumurta döllenmez ve hamilelik oluşmazsa patlayan follikül süratle küçülür. Buna da corpus luteum menstruationis denilir. Daha sonra corpus luteum menstruationis dejenere olur ve küçük beyaz bir nedbe şekline dönüşür. Bunlara da corpus albicans denilir.

Ovulasyon 13-14 yaşlarında başlar ve 40-50 yaşlarına kadar devam eder. Ovulasyonun kesilmesine klimakterium denilir. Normal kadınlarda ovulasyon 30-35 sene içinde, gebelik ve emzirme dönemi hariç, her 4 haftada bir defa olmak üzere, senede 13 defa tekrarlanır (4).

Olgun yumurta (ovum) vücudun en büyük hücresi olup 150-200 mikrometre çapındadır. Spermiumdan yaklaşık 25 defa daha büyüktür.

Arterleri: Karın aortundan çıkan a.ovarica'lardır. A. ovarica, lig.suspensorium ovarii içinde pelvise iner. Hilum ovarii'den ovaryuma girer ve folliküller etrafında kılcal ağlar oluşturur (4).

Venleri: Arterleri takip ederek hilum ovarii'den çıkar. Bu venler plexus pampiniformis denilen venöz ağı oluştururlar. Bu ağı oluşturan venler, yukarı çıktıkça birbirleriyle birleşirler ve sonunda v.ovarica'yı oluştururlar. V.ovarica, a.ovarica ile birlikte seyreder. Sol tarafinki v.renalis'e, sağ tarafinki ise v.cava inferior'a açılır (4).

Lenf drenajı: Kan damarları ile birlikte uzanır ve nodi lymphatici preaortici ve nodi lymphatici aortici lateralis'lere açılırlar.

Sinirleri: Plexus hypogastricus inferior (veya plexus pelvicius) ve a.ovarica'nın çevresindeki plexus ovaricus'dan gelir. Parasimpatikleri n.vagus'tan, simpatikleri ise n.splanchnicus minor ve bir kısım torakal medulla spinalis segmentlerinden gelir. Bunların ovaryum içindeki dağılışı ve görevleri tam olarak bilinmemektedir (4).

2.2.3. Ovaryum Histolojisi:

Ovaryum pelvis boşluğunun yan duvarında erişkinde 3-5 cm uzunluğunda, 2-3cm genişliğinde ve 1cm kalınlığında kadın üreme sisteminin merkezini oluşturan oval bir organdır. Dıştan epitelyum germinativum (doğurucu epitel) adı verilen, çocukluk döneminde kübik hatta prizmatik, ileri yaşlarda ise yassılaştıran epitel hücreleriyle döşelidir. Eskiden cinsiyet hücrelerinin bu epitelden köken aldıkları düşünülerek bu isim verilmiştir. Elektron mikroskopunda epitelin periton boşluğuna bakan yüzünde mikrovilluslar, az sayıda kinosilyum; epitel sitoplazmalarında yaygın mitokondriyonlar ve apikal pinositoz vezikülleri gösterilmiştir. Bazal yüzü, bazal lamina ve altındaki sıkı bağ dokusundan yapılmış tunika albuginea üzerine oturur. Histolojik kesitlerde ovaryum iki kısımda incelenir:

Korteks: Organın dış ve işlevsel bölümüdür. Değişik gelişme aşamalarındaki follikülleri ve korpus luteum yapılarını içerir (5,6).

Medulla: Kan ve lenf damarlarıyla sinirlerin bulunduğu soluk izlenen iç kısmıdır. Korteks ve medullayı histolojik olarak kesin sınırlarla ayırmak mümkün değildir (5,6).

Ovaryum stroması kortekste kollagen fibriller, retikulum fibrilleri ağı, damar duvarlarında bulunan elastin lameller ve ince-uzun mekik şeklinde stroma hücrelerinden meydana gelir. Stroma hücreleri fibroblastlardan farklı olarak hormon salgılayan teka interna hücrelerine dönüşebilen ayrıcalıklı hücrelerdir. Stroma medullada benzer şekilde devam eder. Elastin lamellerden zengin, düz kas hücrelerini içeren fibro-elastik gevşek bağ dokusundan oluşmuştur. Medullada ayrıca oksidasyon enzimlerini ve diğer enzimleri içeren hücreler bulunur. Bunların sayıları yaşla artar, menopozda %80 oranında bulunurlar. İnterstisyel hücreler poligonal şekilli, ortada yuvarlak çekirdeği ve belirgin çekirdekçikleri olan epitelooid hücrelerdir. Sitoplazmalarında küçük yağ damlacıkları bulunur. Lüteinize hücrelere benzedikleri için atreziye giden folliküllerin

teka internalarından oluştukları düşünölmektedir. Bunlar ovaryum stromasında tek tek veya gruplar halinde bulunur ve östrojen salgırlarlar. Bu hücreler çok yavrulayan memelilerde fazladır, interstisiyel bez olarak anılır; insanda ilk adet kanamasından sonra azalır, erişkinde çok azdır. Hilus hücreleri başka bir iri epiteloid hücre grubudur, küçük adacıklar şeklinde hilusta gözlenir. Testisin Leyding hücrelerine benzer ve sitoplazmalarında yağ damlacıkları, lipofuskin pigmenti, Reinke kristallerini içerir; androjenleri salgırlarlar. Kortikomeduller stroma geçişinde arjirofilii gösteren nöroendokrin (APUD) hücreler, kadınlarda %6 oranında gösterilmiştir (5,6).

2.2.4. Follikül gelişimi:

Folliküllerin gelişimi menarştan menapoza kadar süreklilik gösterir ve gebelik, ovulasyon, anovulasyon dönemlerinde de sürer. Embriyoda 5.aya kadar mitozlarla sayılarını artıran folliküller yaklaşık 7 milyona ulaşır.Bu sayı doğumda 700.000, ergenlikte 40.000-50.000 seviyelerine düşer, ovulasyonla atılan ise 400-500 oositir. Bunların sayısı oogenez ve atreziyle azalır. Follikül ve oositin gelişiminde 4 farklı aşama izlenir:

- Primordiyal follikül (ilkel follikül),
- Tek katlı ve çok katlı primer follikül (birincil follikül),
- Sekonder follikül (ikincil follikül),
- Graaf follikül (olgun follikül) (5,6,7).

Primordiyal follikül: Embriyoda primordiyal germ hücrelerinden oogoniumların farklanması 9.haftadan itibaren başlar, bunlar sayılarını mitozlarla artırırken 12-13. haftalarda primer oositlere farklanırlar. Primer oositler mayoz bölünmenin profazının diploten evresinde kalır ve beklerler. Bu aşamada uzun yıllar bekleyebilirler, bu nedenle bu döneme dinlenme (diktiyoten) evresi denir. Ovaryumda tunika albuginea altında bu şekilde bekleyen primer oositler hem embriyoda hem de doğumdan sonra atreziye uğrarlar. Erkekten farklı olarak oogoniumlar sadece embriyonal hayatta kalır. Oogoniumlar ve primer oositler tek katlı yassı stroma hücreleriyle çevrilidir. Follikül hücreleri adını alan stroma hücreleriyle çevrili, içerisinde primer oositi bulunduran bu yapı 'primordiyal follikül' adını alır. Follikül hücreleri arasında desmozomlar bulunur. Oositin çapı yaklaşık olarak 25 mikrometre, follikülün çapıysa 40-70 mikrometredir. Ergenlikten sonra her menstrüyel döngüde bu folliküllerden 5-15 kadarı ileri gelişmeye

gider ve oosit mayoz bölünmenin ileri aşamalarına geçer. Büyümeyi başlatan uyarı kesin olarak bilinmese de büyüme ve gelişmenin devamı için FSH (follikül uyarıcı hormon) uyarısı gereklidir. Büyümek üzere seçilen folliküllerle ilgili bir çok global ve lokal etki gösterilmiştir. Konuyla ilgili çalışmalar yoğun olarak devam etmektedir (5,7).

Primer (birincil) follikül: Oosit büyüme devam ederken çevresindeki yassı epitel hücreleri önce kübik, sonra prizmatik olur ve tek katlı primer follikül olarak adlandırılır. Follikül hücreleri çoğalmaya devam edip de çok katlı hale geldiğinde folliküle, çok katlı primer veya antrum (boşluk) oluşmasından bir önceki devre olduğu için preantral follikül denir. Çoğalan follikül hücreleri granüloza hücreleri olarak adlandırılır. Oositi saran en içteki hücre tabakasıyla, en dışta bazal lamina üzerine oturan hücre sırası prizmatik şeklini korur, diğerleri poligonaldır. Follikül beslenmesini difüzyonla sağlar, damardan yoksundur. Granüloza hücreleri soluk sitoplazmalı, poligonal ve hiperkromatik çekirdeklidir. FSH etkisiyle birbirleri ve oosit arasında oluklu bağlantılar oluşur. Follikül hücrelerindeki çoğalmayı oositten salgılanan ‘aktivin’ uyarır. Primer follikül içerisindeki primer oosit büyür, iri geniş bir çekirdeğe sahiptir. Bu çekirdeğe ‘germinal vezikül’ denir. Oosit 60-80 mikrometre çapa ulaştığında, oosit ve onu çevreleyen granüloza hücreleri arasında eosinofilik, homojen, asellüler (hücresel olmayan) ve PAS pozitif reaksiyon veren bir tabaka seçilir. Buna zona pellusida (ZP) ismi verilir. Oosit ve granüloza hücreleri tarafından sentezlenir. Zona pellusidayı çevreleyen ilk sıra granüloza hücre katına ‘korona radiata’ adı verilir. Zona pellusidada oositten gelen mikrovillus benzeri hücre çıkıntıları ve granüloza hücrelerinden oosite doğru uzanan sitoplazmik uzantılar bulunur. Bunlar metabolik ve iyonik bağlantıları sağlar. Oosit, follikül gelişmesinde temel rolü oynar; granüloza hücrelerinin farklanmasını kontrol eder. Bunu sağlamak için oosit-granüloza hücresi haberleşmesine ihtiyaç vardır. Zona pellusida glikoprotein ve glikozaminoglikandan zengindir. Gelişmesini tamamlayınca kalınlığı 10-15 mikrometreye ulaşır. Zona pellusidanın üç tane glikoprotein içerdiği gösterilmiştir. Bunlardan ZP-1 200 kD, ZP-2 120 kD ve ZP-3 83 kD dur. ZP-1, ZP-2 ve ZP-3 mikrofilamanlarını çapraz bağlayarak ağısı bir yapı oluşturur. ZP-3’teki disakkarid dizilimi spermatozoon başı üzerindeki özel membran proteinleri için reseptör oluşturur. Spermatozoonun bu reseptöre bağlanması akrozom reaksiyonunu tetikler. Döllenmeden sonra zona pellusida üzerindeki ZP-3 reseptörlerinin oositten salınan kortikal granüllerin içeriğiyle kapanması sonucu birden fazla spermatozoonun oosit sitoplazmasına girişi engellenir (5,7).

Üç-beş sıra granüloza hücrelerine sahip çok katlı primer follikül çevresinde stroma hücrelerinden farklı ve follikülü saran bağ dokusu kılıf meydana gelir ve 'teka follikülü' adını alır. Follikül geliştikçe bu yapı da gelişir. İki bölüme ayrılır; teka interna ve teka eksterna İkisi arasında kesin bir sınır yoktur. Teka interna, granüloza hücrelerinden bazal laminayla ayrılır ve fibroblast benzeri iğ şeklindeki hücrelerden yapılmıştır, bol kılcak damar içerir. Bu hücrelerin tipik steroid sentezi yapan hücrelerde olduğu gibi elektron mikroskobu (E.M) incelemelerde granülsüz endoplazma retikulumu, tubuler kristal mitokondriyonlar ve bol yağ damlacığı içerdikleri tespit edilmiştir. Bu hücreler arasında iyi gelişmiş retikulum fibrilleri ağı gümüşleme yapılarak gösterildiğinde bu ağın kılcak damarlardan yoksun granüloza hücreleri arasında olmadığı gözlenir. Plazmalemmalarında Luteinizan hormon (LH) reseptörleri bulunduran teka interna hücreleri 'androstenodion' hormonu yapar ve granüloza hücrelerine difüzyonla geçen hormon, buradaki aromataz enzimiyle östradiol'e (E2) çevrilir. Teka eksternayı teka interna ve ovaryum stromasından ayıran kesin bir sınır yoktur. Teka eksterna daha çok fibröz bağ dokusu yapısındadır. Düz kas hücreleri, kollagen fibril demetleri, steroid salgı özelliği göstermeyen iğ şeklinde stromal hücreler ve oldukça büyük kan damarlarından yapılmıştır. Kollagen fibril demetleri follikül yüzeyine paralel seyrederek ve yavaş yavaş ovaryum stromasına karışır (5,7).

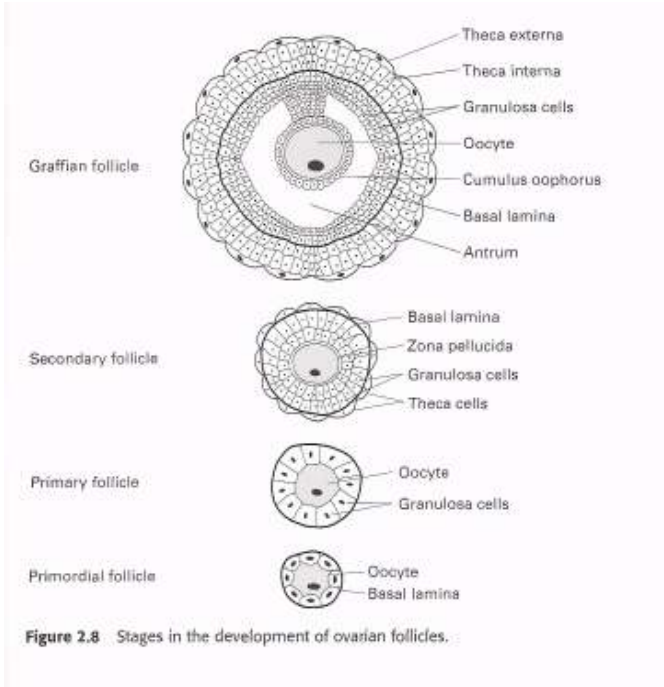
Sekonder (ikincil) follikül: Follikül 200 mikrometreye, granüloza hücreleri ise 6-12 kata ulaştıkça follikül içinde 'antrum' denilen boşluklar oluşmaya başlar. Boşluklarda granüloza hücrelerinden salgılanan follikül sıvısı yani likör follikülü vardır. Boşluklar birleşerek tek bir büyük antrum meydana getirir. Sekonder folliküle antral follikül de denir. Sekonder follikül içindeki oosit 120-130 mikrometre çapa ulaştıkça büyümesi durur. Ancak granüloza hücreleri FSH'nun etkisiyle sayıca artmaya devam ederler ve follikül çapı artar. Oositin büyümesini durduran, küçük 1-2 kD'luk peptid yapıdaki oosit matürasyon inhibitörü (OMI)'dür. Bu peptid granüloza hücrelerinden salgılanır. Follikül büyüklüğüyle OMI konsantrasyonu arasında yakın bir ilişki vardır. OMI küçük folliküllerde yüksek, matür folliküllerde düşük konsantrasyonda bulunur. Sekonder folliküllerde granüloza hücreleri arasında PAS pozitif, hyaluronik asit ve proteoglikan yapısındaki Call-Exner cisimciği gözlenebilir (5,7).

Follikül sıvısı düşük lipit ve glukoz yoğunluğuna sahip, farklı amino asit yoğunluğunda tekadan gelen kanın filtrasyonu ile oluşur. 850 kD'dan büyük moleküllere geçirgen

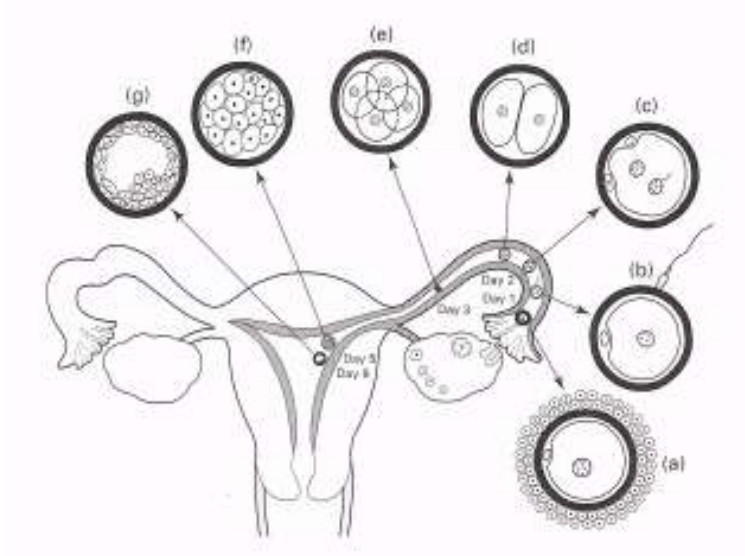
değildir. Steroid-bağlayıcı proteinler, proteoglikanlar ve glikozaminoglikanlar (heparan sülfat, hyaluronik asit) içerir. Follikül sıvısının pH'ı 7,3'tür. En çok östrojenler olmak üzere progesteron ve androjenler gibi steroid hormonlarla FSH, LH, inhibin, aktivin, follikülostatin, OMI gibi steroid yapıda olmayan hormonlar follikül sıvısında bulunur. Follikül sıvısının oluşumunu oosit kontrol eder. Korona radyata hücreleriyle oosit arasında sıkı bir iletişim vardır. Bir hücreden 70'den fazla sayıda çıkan mikrovilluslar dikey ve tanjansiyel olarak oolemmaya uzanır; oolemma üzerinde dallanma ve genişlemelerle sonlanır. İki hücre arasında zonula adherens, desmozom ve oluklu bağlantı (gap junction) şeklinde yapışmalar olabilir.

Birçok follikül bu aşamada atreziye gider, ancak bazılarının granüloza hücreleri dejenere olmaz ve androjen salgılayan küçük gruplar şeklinde kalırlar. Birkaç sekonder follikül ise ileri gelişmeye giderek olgun follikülü yapar (5,7).

Olgun (Graaf) follikül: Antrumun ileri derecede büyümesiyle oosit, çevresindeki granüloza hücreleriyle birlikte bir kutba doğru itilir. Granüloza hücreleri çoğaldıkça birbirinden uzaklaşır, kısa sitoplazmik uzantılarla birbirine bağlanıp köşeli veya yıldız şeklinde görünürler. Oositin granüloza hücre tabakalarıyla bağlantısı gevşer. Oositin korona radyatayla sarılı olarak follikül boşluğuna doğru yapmış olduğu çıkıntıya 'yumurta tepeciği' (kumulus ooforus) denilir. Bu dönemde granüloza hücreleri oosite komşu olan kumulus hücreleri ve komşu olmayan mural granüloza hücreleri olarak isimlendirilir. Oosit mural hücrelerin farklanmasını baskılatıp kumulus hücrelerinin farklanmasını ilerleterek kendi mikro çevresini kontrol eder. Bu etkiyi parakrin sinyal faktörlerini salgılayarak yapar. Çoğu mural granüloza hücresi bazal laminayla ilişki halindedir. Granüloza ve teka follikülü hücreleri oldukça diferansiyedir. Teka, androjenlerin esas kaynağıdır, bunun yanı sıra renin, prostaglandin ve angiojenik faktörler salgılar. Granüloza hücrelerinde FSH'nun etkisiyle oluşmuş LH-FSH, IGF-1 (insülin benzeri büyüme faktörü-1) reseptörleri ve gonodotropin salılatıcı hormon (GnRH) bağlanma yerleri vardır. Ovulasyondan hemen önce izlenen bu folliküle 'preovulatuvar follikül' adı verilir (5,7) (Şekil2.2, 2.3).



Şekil 2.2: Gelişmekte olan ovaryum follikül evreleri (2).



2.2.5. Ovulasyon

Granüloza hücrelerinde LH reseptörleri belirledikten sonra gonadotropinlere cevap gelişir. LH salınımından 24-36 saat sonra hızla follikül sıvısı artar. Ovulasyon öncesinde oositin çapı 120 mikrometre, follikülün çapıysa 15-25 mm'ye ulaşır. LH'un etkisiyle lokal bir faktör olan mayoz uyarıcı madde'nin salınımıyla Graaf follikülü dönemine kadar profazda olan oosit, ovulasyondan 24-36 saat önce prometafaz ve metafaz aşamalarına ulaşır. Ovulasyon anında oosit hızla telofaz ve anafaz aşamalarını geçirerek, birinci mayoz bölünmeyi tamamlar ve birinci kutup cisimciği previtellin aralıkta izlenir. Erkekten farklı olarak bu bölünmede sitoplazma dağılımı dengesizdir. Kutup cisimciği dar sitoplazmalı, oosite göre çok küçük bir hücredir. Ovulasyonla tuba uterinaya atılan hücre sekonder oosit'tir. İkinci mayoz bölünmenin metafazında döllenmeyi bekler (5,8,9).

Graaf follikülde sürekli olarak granüloza hücreleri tarafından yapımı süren proteoglikanlar ve hyaluronik asit, su tutar ve bu da hem follikülün büyümesine hem de mural granüloza hücrelerinin birbirleriyle olan bağlantılarını kaybetmelerine yol açar. Ovulasyondan hemen önce ovaryum yüzeyinde Graaf follikülün bulunduğu yerde soluk, kansız, ince duvarlı bir kabarıklık izlenir. Buraya stigma denir. Duvarın incelmesinde hücresel yer değiştirme ve teka ile tunika albugineadaki kollagen fibril demetlerinin yıkılması söz konusudur. Folliküllerde ovulasyondan hemen önce kollagenaz enzim aktivitesi yüksek bulunmuştur. Follikül sıvısı plazminojen içermektedir, ovulasyon öncesi LH'un etkisiyle granüloza hücreleri plazminojen aktivatörü sentezler. Bu da plazminojenin aktif plazmine dönüşmesine ve prokollagenazın aktive olarak bazal membran, teka ve tunika albugineadaki kollagenazın yıkılmasına yardımcı olur. Dejenerasyonla stigma bölgesinde açılan delikten sekonder oosit ve çevresindeki bir miktar granüloza hücresi, follikül sıvısıyla periton boşluğuna atılır. Bu olaya ovulasyon denir. Yirmi sekiz günlük menstrüel siklusun yaklaşık 14. gününe uyar. Atılan oositi tuba uterinanın fimbriyaları yakalar. Oositin tuba uterinadaki yolculuğu yaklaşık dört gün sürer, bu sürede döllenirse mayozun ikinci olgunluk bölünmesi tamamlanır ve ovum ile ikinci kutup cisimciği oluşur. Fertilizasyon gerçekleşmezse sekonder oosit 24 saat içinde dejenere olur (5,6,8,9).

2.2.6. Korpus luteum (sarı cisim)

Ovulasyondan sonra follikül duvarı teka eksternadaki düz kasların da etkisiyle büzülür ve kıvrıntılı hale gelir. Granüloza ve teka interna arasındaki bazal lamina depolimerize olur ve teka internanın kılcal damarlarından sızan kanla ortadaki boşlukta bir pıhtı oluşur. Bu yapıya korpus luteum hemorajikum denir. Teka interna hücreleri çevrede olmak üzere; kan ve lenf damarları, fibroblastlar ve bunlara eşlik eden bağ dokusu, granüloza hücreleri arasına girip makrofajlarca temizlenmiş orta boşluğu doldurarak endokrin bir bez fonksiyonu yapan korpus luteum'u oluşturur. Korpus luteumda granüloza hücreleri büyür, soluk boyanır ve korpus luteumun %80'ini oluşturur poligonal ve çevreleri mikrovilluslar içeren hücrelerdir. İyi gelişmiş granüllü endoplazma retikulumu, çok sayıda küçük golgi kompleksi, bol tübüler kristal mitokondriyonlar, bol yağ damlacıkları izlenen; hafif heterokromatik çekirdek, belirgin çekirdekçik içeren granüloza lütein hücreleri haline gelirler. İçlerindeki yoğun granüllerin bir kısmı lizozom yapısında bir kısmı ise relaksin deposudur. Progesteron sentezi yaparlar ve teka lütein hücrelerinden gelen androjenleri östrojenlere çevirirler. Progesteron endometriyumda salgı (sekresyon) dönemini sağlar. Diğer taraftan teka interna hücrelerinde de değişiklikler gözlenir. Bunlar daha küçük, koyu boyanan hücrelerdir ve korpus luteumun %20'sini oluştururlar. Çevrelerinde mikrovillus yoktur. Granülsüz endoplazmik retikulumu boldur, sitoplazmada yağ damlacıkları birikir, az gelişmiş golgi kompleksi, heterokromatin çekirdek izlenir. Bunlara teka lütein hücreleri denir. Bunlar az miktarda östrojenler, progesteron ve androjenleri salgılar (5,7).

Korpus luteumdan salgılanan östrojen ve progesteron, ön hipofizden salgılanan LH ve FSH salınımını engeller. FSH yokluğu yeni follikül gelişmesine ve ikinci bir ovulasyona engel olur. Korpus luteumun durumu döllenmenin olup olmamasına göre değişir. Döllenme olmazsa LH'nun yokluğu menstrüasyon korpus luteumu'nun oluşmasına sebep olur. 10-12 gün sonunda granüloza ve teka hücreleri küçülür ve geriler, sitoplazmalarında vakuoller oluşur, östrojen ve progesteron salgıları azalır. Teka eksternadaki fibroblastlar kollagen sentezleyerek gerileyen hücrelerin yerlerini doldururlar. Korpus luteumdan geriye kalan hücresiz, kollagen ve hyalinden oluşan beyazımsı küçük yapıya korpus albicans (beyaz cisim) denir. Bu giderek küçülür ve ovaryum yüzünde ufak bir iz olarak kalır. Gebelik gerçekleşirse trofoblastlardan salgılanan human koryonik gonadotropin (hCG) nedeniyle korpus luteum gerilemez,

yaklaşık dört ay süreyle progesteron ve östrojen sentezlemeye devam eder. Gebelik korpus luteumu adını alır (korpus luteum gravidarum). Bulunduğu yerde ovaryum yüzeyini deforme eder.

2.2.7. Follikül Atrezisi

Değişik gelişme aşamalarında ovaryumdaki folliküllerin %98'i dejenere olur. Primordiyal ve primer folliküllerdeki atrezi oositin dejenerasyonu ile başlar. Daha sonra follikül hücreleri dejenere olur ve iz bırakmadan ovaryum stroması içinde kaybolur. Daha büyük folliküllerde ise önce granüloza hücreleri apoptozise gider, oosit uzun süre yaşar ve sonra zona pellusidasi bozulurak oosit dejenere olur. İlk önce follikül boşluğunu çevreleyen sonra da bazal laminaya komşu olan granüloza hücreleri dejenere olur. Korona radyatasını kaybeden oosit, follikül sıvısı içinde serbestçe yüzer. Kan damarları ve bağ dokusu bazal laminayı delerek granüloza hücreleri arasına girer. Fibrositler, makrofajlar ve kan hücreleriyle dolan follikül boşluğu büzülür ve duvarları kıvrıntılı hale gelir. Bazal lamina parlak, dalgalı bir görünüm alır (camsı membran veya membrana vitrea). Gerileyen korpus luteumdan camsı membran ve zona pellusidanın varlığıyla ayrılır. Teka interna hücreleri hipertrofikleşir, sitoplazmalarında yağ damlacıkları izlenir. Teka lutein hücrelerine benzerler ve bağ dokusuyla çevrilmiş gruplar yaparlar (interstisyel hücreler). Her ay ileri gelişmeye giden birçok follikülden ancak biri ovulasyona uğrar, diğerleri dejenere olana kadar östrojen sentezine katkıda bulunurlar. Atretik follikülün yerinde fibröz skar dokusu gelişir ve zamanla kaybolur (5,7,8,10).

2.2.8. Ovaryumun Histofizyolojisi

Hipotalamustan pulsatil olarak 90 dk lık aralıklarla salgılanan GnRH hipofiz ön lobundan gonadotrop hormonların (FSH, LH) salgılanmasını kontrol eder. GnRH yarılanma ömrü 2-4 dk olan bir decapeptittir. Gonadotrop hormonların ovaryumlara etkisiyle menstrüel döngü içerisinde östrojen ve progesteron salgılanması peş peşe gerçekleşir. Menstrüel döngü ortalama 28 gündür. Bunun 14 günü folliküler, 14 günü ise luteal dönemdir. Ovulasyon yaklaşık olarak 14. günde gerçekleşir (5).

Granüloza ve teka interna hücrelerinden salgılanan steroid hormonlar hipotalamo-hipofizer sistemi etkileyerek gonadotrop hormon salgılanmasını düzenler. Siklusun ilk yarısında primer folliküllerin oluşumu gonadotrop hormonlardan bağımsızdır ancak daha sonraki gelişme için FSH gereklidir. Folliküler dönemin başında artan FSH, primer

folliküllerin büyümesini uyarır ve granüloza hücrelerindeki FSH reseptörlerinin sayısını artırır. Bu etkiyle granüloza hücreleri çoğalır ve bu hücrelerde aromataz enzimi yapılır. Yüksek östrojen seviyesi FSH'ü azaltırken, LH'ü artırır. LH reseptörleri teka interna hücrelerinde bulunur. Bu hücrelerde kolesterol'den androjenler sentezlenerek salgılanır ve difüzyonla granüloza hücrelerine geçer. Aromataz enzimi, androjenleri östrojenlere dönüştürür. Oluşan östrojen difüzyonla teka internaya geçip kılcal damarlarla genel dolaşıma katılır. Artan östrojenler direkt olarak hipofizi etkileyerek, indirekt olarak ise GnRH sentezini olumsuz olarak etkileyerek FSH salgılanmasını kısıtlar. Artan östrojenler hemen ovulasyon öncesi LH salgısının artmasını sağlar ve böylece ovulasyon gerçekleşir. FSH ve östrojenlerin etkisiyle granüloza ve teka hücrelerinde LH reseptörleri artınca LH'un etkisi gözlenir. Bu da luteal dönemde progesteron yapımını artırıp östrojen yapımını azaltır. Progesteron endometriyumu olası bir gebeliğe hazırlar, LH'ü baskılar ve follikül gelişmesine engel olur. FSH azalması follikülleri olumsuz olarak etkiler. En büyük follikül büyümeye devam etse de diğerleri gerileyip atreziye gider (5).

2.3. İNVİVO ve İNVİTRO KOŞULLARDA OOSİT MATÜRASYONU

Embriyogenez laboratuvarları İn Vitro Fertilizasyon (IVF), Gamet Intrafallopian Transfer (GIFT), Tubal Embryo transfer (TET), Zigot Intrafallopian Transfer(ZIFT), Kryoprezervasyon ve Mikromanipülasyon programlarının ayrılmaz bir parçasıdır. Bu uygulamalarda, Embriyoloji laboratuvarında aşağıdakilerden tamamı ya da bir kısmı uygulanır.

- 1-Kültür mediyumu hazırlanması ve kalite kontrol testleri.
- 2-Follikül aspiratlarının incelenmesi ve oosit sınıflanması.
- 3-Gerekliyorsa in vitro oosit matürasyonu.
- 4-Sperm preparasyonu ve analizi sonuçlarına göre yöntem seçimi.
- 5-Oositlerin inseminasyonu.
- 6-Fertilizasyonun gerçekleştirilmesi ve zigot kalitesinin değerlendirilmesi.
- 7-Embriyo kültürü ve embriyo derecelendirilmesi
- 8-Uterin ya da tubal embriyo transferi için kateter yüklenmesi.
- 9-Oosit/Embriyo/TESE/Sperm materyallerinin dondurularak saklanması

10-İnsan oosit ve /veya embriolarının mikromanipülasyonu.

Bir embriyoloğun sayılan görevlerini gereğince yürütebilmesi ve klinisyenlere mesleğiyle ilgili katkıda bulunabilmesi için; in vivo koşullarda oosit, sperm ve embrioyu iyi tanınması, fertilizasyon ve embriyo gelişmesine dayalı IVF/ICSI uygulamalarında fertilizasyon ve erken gebelikle ilgili bilgileri iyi bilmesi yanı sıra; bunların in vitro örtüşmesini sağlamak için, tüm birikimlerini kullanması gerekir. Kryoprezervasyonda ise, sayılan birikimlere histolojik doku takibi de katkıda bulunmalıdır.

Bu gereksinimler doğrultusunda ilk bilgilenme ve bilgilendirme ise, sperm ve oositin in vivo matürasyonu olmalıdır. Bilindiği gibi Yardımla Üreme Teknikleri (YÜT) uygulamaları için ovulasyondan önce aspirasyon ile ovaryumdan toplanan (OPU) insan oositlerinin morfolojik değerlendirilmesi, IVF ve ICSI sonuçlarının kestirilebilmesi açısından çok önemli bir etkidir.

Dünyada her yıl milyonlarca oosit, infertil çiftlere YÜT'leri ile yardım amacıyla embriyoloji laboratuvarlarında kültüre edilmektedir. Söz konusu oositlerin birincil oositi (Primer oosit), profaz I'in farklı evreleri ile ilk mayozun (meiosis-I) başladığı fötal yumurtalık (ovaryum) içerisinde gelişir ve birbirleriyle eşleşen homolog kromozomlarla (diakinezis kromozomları; dictyate stage) profaz-I'in diploten evresinden ergenliğe kadar bekler. Dördüncü embriyonel gelişim haftasında ilk olarak vitellus kesesi duvarında gözlenen ve oositin primitif öncüsü olan primordial germ hücreleri (PGCs), söz konusu embriyo dışı konumlarından embriyo içi konuma yani gelişmekte olan gonadlara göç ederler. Yirmialtı günlük insan ovaryumuna, laminin ve fibronektin gibi ekstraselüler matriks moleküllerinin söz konusu psödopodal bir hareket olan bu göçte rehberlikleri ile çok sayıda PGCs göç eder. Göç sırasında bazı kayıplar beklenir ancak hedef organ fötal ovaryuma hiç ulaşmama durumlarında, konjenital sterilite söz konusu olur. Göç ettikleri fötal ovaryumda mitozla çoğalan bu hücreler artık gonosit ya da oogonyum adını alıp doğurucu yüzey epitelinden gelen tek katlı yassı hücreler ile çevrilidirler. Geleceğin granüloza hücrelerini oluşturacak bu yassı hücrelerle birlikte önce oogonyum, daha sonra primer oositin oluşturduğu bu yapı, primordiyal folikül adını alır. Çünkü doğumdan önce ilk mayozun interfazını (2n sayıda DNA: Her kromozom iki kromatidden yapılmıştır) geçiren proliferen oogonyumlar (S-fazında DNA replikasyonu ile 4n DNA), ilk profazın diploten alt evresine kadar ilerleyip duraklar. İlk

mayotik (redüksiyon) bölünmeye başlayan bu oogonyumlar, artık primer oosit olarak adlandırılırlar. Yirminci fõtal haftada sayıları yedi milyona varan 20 µm çapındaki oogonyum ve primer oositlerin atrezisi sonucu geriye sadece fõtal ovaryum yüzeyine yakın konumlu ve büyüyen primer oositler (40-50µm.) kalır. Otuz haftalık fõtal ovaryumdaki çoğalmalarını tamamlamış, büyüme evresine girmiş ve ilk olgunluk bölünmesinin profazına ulaşmış bu primer oositlerde; 20-28 µm'ye ulaşan, gevşek ve her yere eşit dağılmış kromatini nedeniyle açık renkli ve kesecik gibi gözlenen (vezikula germinativa, germ keseciği) (GV) belirgin çekirdekçikli (makula germinativa, germ lekesi) bir çekirdek bulunur.

Özetle, insan ovaryumunda primordiyal folliküller, fõtal hayatın 20.haftasında bulunmaktadır. Primer folliküller ise 24.haftada oluşur. Yirmialtınıcı haftada bazı folliküller sekonder aşamaya ilerler. Üçüncü trimesterde FSH miktarı arttığında, antral foliküller gelişir. Puberteden sonra, serum gonadotropinlerdeki siklik artışlar her menstrual siklusta preovulatuvar follikülleri stimüle eder.

Ergenlik ve sonrası menstrüal siklularda bu primer oositlerin ilk mayozu tamamlamasını sağlayan bir gelişim gerekir. Bu gelişim LH pikinden 12 gün sonra FSH artışı ile bir grubunun (folikül rekrütmanı) follikül havuzundan ayrılarak oogenezis evrelerinin tamamlandığı bu gelişmeye, follükülogenezis adı verilir. Söz konusu gelişmede, folikül antral boşluğunun farklılaşması ile oositi çevreleyen granüloza hücreleri; mural/pariyetal granüloza hücreleri ve bunun antruma doğru uzantısı olan, korona radyata denen bir iç granüloza katmanı içeren kümülüs ooforus olmak üzere ikiye ayrılırlar. Oosit kümülüs korona kompleksi (OCCC) adı verilen YÜT'leri için toplanan olgun (matür) oositleri oluşturan bu kümülüs ooforyus'un korona radyata hücreleri, zona pellusidayı delen uzantılar aracılığıyla oolemma ile ilişkidir. Follikül duvarının yeterli kan desteği olmadığından kümülüs hücrelerinin dejenerasyona giderek sayılarının azalması ya da metabolizmalarının yavaşlaması ile östrojen seviyesinde düşme gözlenir. Gelişen folikülde gap junctionların sayısını arttırmada da iş gören östrojendeki bu düşüklük, zona pellusidayı aşıp gap junctionlar yoluyla ooplazma ve çekirdek matürasyonuna katkılar sağlanmasını olumsuz etkiler. GV çekirdek zarının dağılımı, fertilizasyon ve sağlıklı embriyonal gelişimi de engellenir.

Kümülüs ooforyus, in vivo LH etkisiyle granüloza hücreleriyle olan bağlantısını kaybeder ve ortasında yer alan oosit ile birlikte, Oosit Korona Kümülüs Kompleksi

(OCCC) olarak follikül sıvısının içine karışır. IVF ve diğer YÜT uygulamaları için toplanan bu OCCC'leri, söz konusu in vivo LH etkisindeki hCG tetiklenmesinden sonra gerçekleşecek ovulasyondan önce aspirasyon ile ovaryumdan toplanan, 120-160 µm'lik bir boyuta sahip yumurtlama öncesi (preovulatuvar) oositlerdir ve tam olarak olgun olmaları beklenmektedir. Ancak tümü metafaz II (MII) olmayıp çeşitli olgunlaşma özellikleri sergilerler. Genelde, kullanılan yumurtalık uyarma teknikleri ile bu oositlerin %10'u ilk mayoz bölünmeyi tamamlayamaz (GV ya da MI), yaklaşık %10'u ise atrezi sürecindedirler. Bu durumda sadece %80'i, sağlıklı metafaz II oositleridir. Saptanması gereken iki önemli parametre olan oositin çekirdek olgunlaşmasının ve sitoplazmik özelliklerinin değerlendirilmesi, toplanan oositlerin çevresi kümülüs ve korona hücreleriyle çevrelenmiş olduğundan genelde zor ve kişiye göre değişebilen bir uygulamadır. Ancak kesin saptayacak herhangi bir biyokimyasal yöntem bulunmadığından, oosit kalitesini değerlendirmenin en iyi ölçütü, oosit morfolojisinin mikroskopla incelenmesidir.

Bu durumda, öncelikle oosit olgunluğunu; çekirdek (birinci mayozun tamamlanması, ikinci mayozun metafazına ulaşması), sitoplazma (ooplazmanın gelecekteki embriyonun bölünmesi ve implantasyona kadar beslenebilmesi için desteği olacak depoları içeren organel düzenlenmesi), follikül (oositi çevreleyen zona pellucida ve korona-kümülüs hücrelerinin, oositin ilgili matürasyonlarına ve korunmasına katkısını hedefleyen olgunluğa ulaşmaları) olgunlaşmaları açısından incelemek gerekir.

2.4. OOSİT MATÜRASYONU

2.4.1. Çekirdek (Nükleer) matürasyonu

FSH etkisiyle gelişen Graaf folliküllerinde, primer oositin; LH etkisiyle ortadan kalkan ilk mayoz duraklamasından (Profaz I'de arrest), fertilizasyon ile ortadan kalkacak ikinci mayoz duraklamasına (Metafaz II' de arrest) kadar ki olgunlaşması söz konusudur. Germinal vezikül adı verilen ve profaz-I evresi son basamağı olan diakineziz kromozomlarını içeren profaz çekirdek (GV) zarının dağılması (LH pikinden 15 saat sonra), ardından metafaz I, anafaz I ve telofaz I'in gerçekleşmesi ile ilk mayoz bölünmenin tamamlanması sonucu ilk kutup cisimciğinin atılması (LH pikinden 20 saat sonra) ve MII'ye kadar ilerleyip bu evrede fertilizasyona kadar bekleyen ikinci mayoz bölünme olayları; oositin çekirdek olgunlaşması olarak tanımlanır. İn vivo olarak ovulasyondan üç saat önce MII evresi arrest şeklindedir. Her bir evrenin süresi

ölçüldüğünde bütün olgunlaşma sürecinin toplam 37 saat kadar olduğu saptanmıştır. Doğru zamanlama olan 37 saat ancak 25 yılda tespit edilebilmiştir. hCG enjeksiyonundan 35-36 saat sonra yani beklenen ilk ovulasyondan bir saat kadar önce olgunlaşmış MII oositlerin toplanması (OPU), bu nedenle gerekmektedir.

Mayoz bölünme ile normalde 46 çift ($2n$ DNA) olan kromozom sayısı yarıya yani 23 çift (n DNA)'e indirilir. Birbirini izleyen iki mayoz bölünme şeklindeki bu bölünmelerden ilki 1.mayoz adını alır ve intrauterin yaşamda uzun alt evreleriyle profazın diploten evresine gelmiş (Profaz-I/GV oosit) ve FSH uyarısını bekleyen; 46 çift kromozom yanı sıra, mitozun genel kuralı olan DNA replikasyonu nedeniyle $4n$ DNA'ya sahip oositlerde gerçekleşir. Söz konusu oositler, oogenezis için primer oosit ($46-4n$), follikülogenezis için primordiyal follikül (50 mikron çapında pre-antral follikül), primer follikül (200 mikron çapında yine preantral follikül) ya da sekonder follikül (500 mikron çaplı antrumun gelişmeye başladığı follikül) evresindedirler. Profazda çekirdek zarı (nükleolemma) sağlam olduğundan, bu evredeki oositin inverted mikroskopla kolayca ve vezikül şeklinde seçilen bir nükleusu bulunur. Bu nedenle IVF pratiğinde bu oositlere germinal veziküllü anlamında GV oosit adı verilir. Bu oositler in vivo olarak ergenlik sonrası LH yükselmesinin öncesinde, ilk mayotik profazın diploten evresinde beklemektedirler ve LH ile profaz nükleolemmaları kaybolur. Metafaz I (MI), Anafaz I (AI) ve Telofaz I (TI)'i tamamlayarak 1. kutup cisimciklerini (Polar Body=1.PB) atarlar (sekonder oosit) ve ardından ikinci mayozun metafazına girerek (MII) bu evrede duraklarlar.

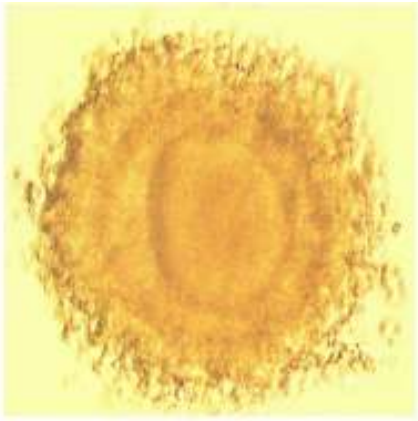
Özetle, oogenezis sırasında nükleolemmanın erimesi ile başlayan bu ilk metafazdaki primer oositler MI oosit olarak tanımlanırlar. Profazdan itibaren 2-2,5 saat kadar bir sürede anafaz ve telofaz ile birinci mayozun sonlanması ile primer oosit ($46-4n$) 1.PB ve sekonder oosit, yani 23 çift kromozomlu ancak hala $2n$ DNA'lı oosit şekillenir. Ovulasyon sırasında 2.metafaz aşamasında olan sekonder oosit (MII) henüz ikinci mayoz bölünme tamamlanmadığından hala tek PB içermektedir. Bu evre oositleri preovulatuvar follikül adı verilen bazen 20 milimetreye kadar ulaşan çapta antral folliküllerde bulunur. MI oosit adı verilen ve IVF pratiğinde inseminasyon ya da mikroenjeksiyon için kullanılan bu tip sekonder oositler, yaklaşık 24 saat süren fertilizasyon sürecinin sonunda ikinci mayozu tamamlar ve 2.PB şekillenir.

IVF pratiğinde 1.kutup cisimciğini içermeyen oositlere MI oosit adı verilir ve işleme alınmamaları gerekir. Çünkü henüz 1.mayozu tamamlamamış primer oosit durumundadırlar. Daha önce de belirtildiği gibi primer oositler GV oositlerde olduğu gibi, pre-antralin yanı sıra antral folliküllerden de elde edilebildiğinden, OPU ile aspire edilmeleri mümkündür.

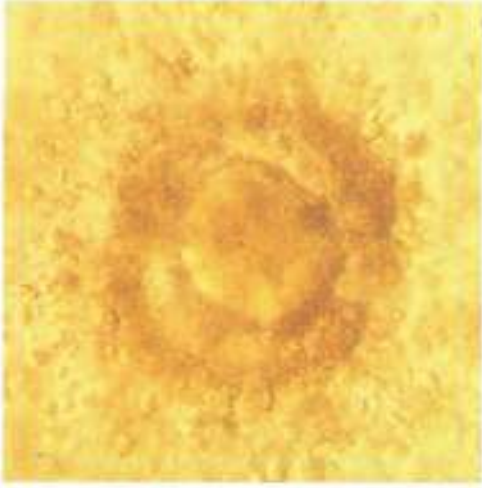
DNA replikasyonu 1.profazdan önce tamamlandığı için yeniden DNA sentezine gerek olmadığından, oldukça kısa bir interfazdan sonra yine ilkine göre daha kısa olan ikinci mayoz bölünme sonunda, (dışı pronukleusu:n DNA'lı; 23 çift kromozomlu) gerçek matür ovum ile 2.PB şekillenir.

Profaz I olgunlaşmamış oosit (germinal veziküllü oosit) şeklen küresel ve dış merkezli olarak yerleşmiş, tek ve büyük bir çekirdekçiği olan bir çekirdek yapısı sergiler. Bunun nedeni, germinal vezikül ya da profaz-1 çekirdekçiğinin LH dalgalanması anında, germinal vezikül kırılması (GVBD) adı verilen çekirdek zarı erimesinden hemen önce, merkezi bir konumdan daha çevresel bir konuma göç etmesidir. Bu çekirdek konumu, birinci mayozun başlangıcının ilk adımıdır. Profaz I oositlerinin olgunlaşma süreçlerini tamamlayabilmek için 34-36 saate ihtiyaçları vardır ve YÜT'lerinde bunun öncesinde toplanmazlar.

Dolayısıyla metafaz I oosit; birinci kutup cisimciği veya germinal vezikül sergilemeyen bir oosite denir. Metafaz II ya da olgun oosit ise, birinci mayoz bölünmenin telofazından sonra perivitellin aralığa (PVS) atılan; 23 kromozomlu küçük, oval bir ooplazmik yapı (~15 µm çaplı) olan birinci kutup cisimciğinin (1.PB) oluşması ile karakterizedir. Bir süreliğine ooplazma ve 1.PB, sitoplazmik bir köprü aracılığıyla bağlı kalmakta ve sonradan ayrılmaktadırlar (Şekil 2.4 (A), 2.4 (B)).



Şekil 2.4 (A): Son derece immatür bir oosit–kumulus –korona kompleksi (11).

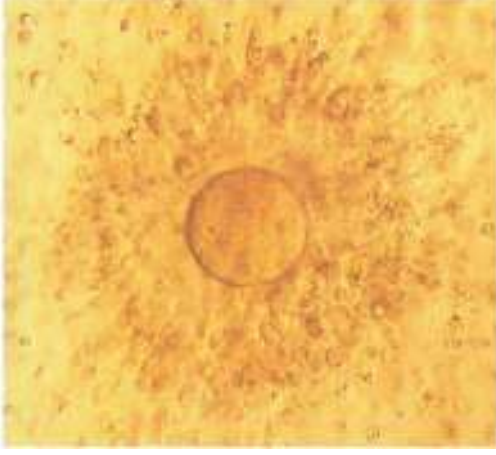


Şekil 2.4 (B): İmmatür oosit – kumulus –korona kompleksi (11).

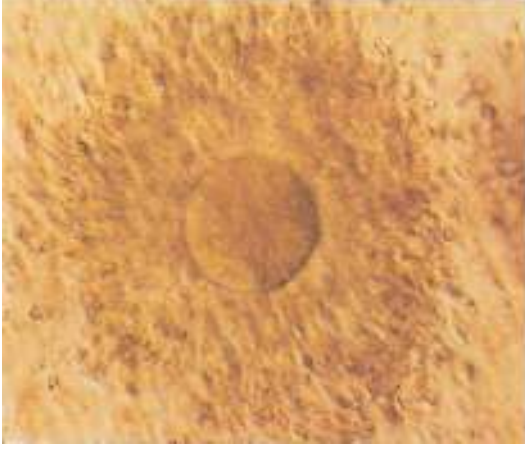
2.4.2. Sitoplazmik matürasyon

Oositin yukarıda yer verilen bu çekirdek olgunlaşması, sitoplazmik organellerin dağılımını değiştiren sitoplazmik olgunlaşma ile birlikte yürümektedir. Bir başka deyişle, oosit olgunlaşması; ilk mayoz bölünmenin başlangıcında olan oositin çekirdek olgunlaşması ile birlikte; embriyo gelişimini desteklemek ve ideal döllenabilirliği sağlamak için gerekli olan sitoplazmik değişiklikleri de kapsar.

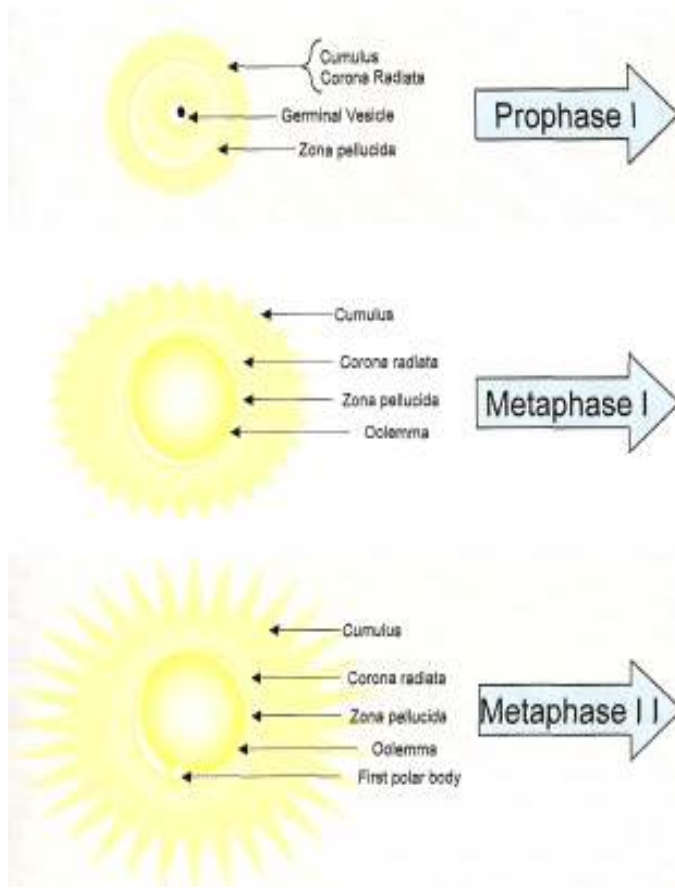
Örneğin; kortikal granüllerin sentezi ve oolemmaya doğru göç etmeleri (kortekste yerleşmeleri), çoklu döllenmeye (poli spermi) karşı bir savunma geliştirebilmek için hayati önem taşır. Ayrıca, RNA ve protein sentezi için GER ve serbest ribozom sayıları artarken Golgi kompleksi de artıp, sitoplazma viskozitesini yükseltirler. Telofaz evresinde tekrar düşen viskozite yanı sıra, işlevlerini bitiren sentrioller ise belirsiz hale gelirler. Oosit toplama işlemi (OPU) sonrası in vitro matürasyon süresinin uzamasında, ya da zaten in vivo postmatür oositlerde; sitoplazma viskozitesi azalmakta, özellikle mikromanipülasyon sırasında bu oositlerin zonasının ve sitoplazmasının gerginliğinde farklılıklar olmaktadır. Fertilizasyon ve embriyo gelişmesini olumsuz etkileyen bu farklılıklar, in vivo ya da in vitro oosit yaşlanmasının bir göstergesidir (Şekil 2.5 (A), 2.5 (B), 2.6).



Şekil 2.5 (A):Olgun (matür) oosit- kumulus-korona kompleksi (11).



Şekil 2.5 (B): Çok iyi gelişmiş tabakalarıyla olgun bir oosit- kumulus- korona kompleksi (OCCC) izleniyor (11).



- İmmatür oosit izleniyor.
- Kumulus ve korona radiata bitişik durumda.
- Oosit henüz küçük bir çapta.
- Belirgin bir kortikal tabakayla birlikte, granüllü sitoplazma mevcut
- Germinal vezikül (GV) varlığı
- Tetraploidi (2 çift 46 kromozom) durumu var.
- İntermediyet oosit izleniyor.
- Kümülüs ve korona radiata ayırt edilebiliyor.
- Sitoplazma merkezi granüllü ya da homojen bir yapıda.
- GV ve polar body (PB) izlenmiyor.
- Anne ve babadan gelen kromozomlar ekvatoryal bölgede ve henüz kutuplara çekilmemiş.
- Matür (olgun) oosit izleniyor.
- Kümülüs ve korona radiata genişlemiş.
- Sitoplazma homojen izleniyor.
- Birinci PB'nin varlığı
- 2N,23 kromozom/46 kromatid yapıya hakim.
- Fertilizasyona kadar bu safhada arrestte kalır, daha sonra 2. mayoz bölünme tamamlanacak ve 2. PB atılacaktır.

Şekil 2.6: Oosit matürasyonunun 3 evresinin şematik görünümü (11).

2.4.3. Folliküler matürasyon

Büyümekte olan follikülde gelişen oositin, zona pellüsida ve granüloza hücreleriyle çevrelenmesiyle ilgili olgunlaşmada ise; oositin bulunduğu evreye paralel olarak kümülüs ve korona kompleksi gelişmekte, bu hücrelerin sıklığı ve dağılımı oosit matürasyonu arttıkça azalmaktadır. Bu arada primordial follikül 50 mikron çapından preantral follikül aşamasında 200 mikrona, antral follikülde ise 500 mikrona kadar ulaşmaktadır. Preovulatuvar follikül 20 mm'ye ulaştığından follikülometrik takip ile oosit matürasyonu takip edilebilmektedir. Matür bir oositin çapı 110-120 μm olup, zona pellüsidası ile birlikte 140-150 μm 'ye ulaşmaktadır. Antrum ve çevre yapılanmasıyla bu follikül en az 14-15mm olmalıdır. hCG enjeksiyonu için en az üç adet ≥ 17 mm'lik

follikül çapının belirlenmesi, bu değerleri özetler. Kullanılan ultrasonografi cihazının niteliğine ve jinekoloğa göre bu durum değişebilir.

Ovaryumdaki oosit havuzu, yaşamın erken evresinden itibaren sabittir. Bu nedenle ovaryan yaşlılık, ovaryumdaki materyalin azalması ve primordiyal follikül havuzunun beklenen tükenişi ile bağlantılıdır. Her follikül, ovulasyona ya da daha çoğunlukla dejenerasyona girmek üzere gelişimine başlar. Burada, folliküllerin kaderinin belirlenmesini sağlayan faktörler ve ovaryan folliküllerin gelişimi sırasında gerçekleşen anahtar noktalar önemlidir. İn vivo gelişimde ovaryan folliküllerin başlangıç ve siklik gelişimi (rekrütman), bir önceki siklusun luteal fazı sonunda başlar. Başlangıç gelişimi sırasında, intraovaryan ve/veya diğer bilinmeyen faktörler, bazı primordiyal follikülleri, başlangıç gelişimi için stimüle ederken folliküllerin geri kalanı aylar ve yıllar boyunca dinlenme halinde kalır. Alternatif olarak başlangıç gelişimi, dinlenme halindeki folliküllerin bu aşamada kalmasını sağlayan bir inhibitör uyarı salınımı ile oluşabilir. Başlangıç gelişiminin, ilk folikül oluşumundan hemen sonra yani puberteye girişten çok uzun bir zaman önce başlayan uzun süreli bir işlem olduğuna inanılmaktadır. Başlangıç gelişimine girdikten sonra oositin büyümesi, gelişen folliküllerin belirgin bir özelliğidir. Oosit 1.mayozun profaz aşamasında kalmaya devam eder. Başlangıç gelişimine girmeyen folliküllerin yoldan çıkış şekli ise dinlenme durumunda kalmaya devam etmektir. Karşılığında siklik gelişim pubertede başlar ve bir grup antral follikülü ise atreziye girmekten, sirkülasyondaki FSH artışı kurtarır. Siklik gelişime girebilecek erken antral folliküllerin çapı, insanda 2-5mm kadardır ve bazen antrum oluşumu tamamlanmıştır. Siklik gelişim sırasında, sınırlı sayıda follikül yaşamaya devam eder. Bu folliküllerdeki oositler, gelişimlerini kısa bir zaman önce tamamlamış olup zona pellucida şekillenmiştir ve 1.mayoz bölünmeye devam etmeye hazırdırlar. Siklik gelişime girmeyen folliküller ise atreziye giderler.

Böylelikle, ovarian folliküllerin yaşam süreci; doğal yetenekler ve yaşamı devam ettirmeleri, başlangıç gelişmesi, matürasyonu, atrezisi, siklik gelişimi, ovulasyonu ve tükenmesi şeklinde özetlenebilir. Dolayısıyla sabit sayısı ve gelişimin erken döneminde kazanılmış primordiyal folliküllerin çoğu follikül dinlenme aşamasında kalır. Uykuda bulunan bu folliküllerden bir kısmının gelişimi (başlangıç gelişimi) puberteden önce başlatılır. Folliküller, antral kavite kazanmadan önce primordiyal, primer ve sekonder safhalar geliştirir. Antral safhada çoğu follikül atreziye girer. Bununla birlikte,

puberteden sonra gelişen optimal gonadotropin stimülasyonu ile, birkaç follikül preovulatovar safhaya ulaşmak üzere kurtarılır (siklik gelişim). Dinlenme halindeki follikül havuzunun azalması ovaryal follikül tükenmesine ve yaşlılığa yol açar.

Bilindiği gibi, mestruasyon fazından önceki son 5-7. günleri arasında ise rekrütman evresinde birbiriyle ilişkili follikül grubu (bir kohort) oluşturan folliküllerden hangisinin ovulasyona uğrayacağı ve korpus luteumu oluşturacağı belirlenir. Dominant follikülün seleksiyonu ile rekrütman evresi sonlanır, diğerleri atreziye uğrar. Bir ileri evre olan dominant evrede ise, granüloza hücreleri ve teka interna hücreleri çoğalarak follikülü büyütürken antrum şekillenir ve bu dönem büyüme dönemi adını alır. Bu evreleri tamamlayan dominant follikülün ürünleri ile tüm üreme sisteminde ovulasyon, fertilizasyon ve implantasyon için gerekli sistemin çalışması ve kontrolü sağlanır.

Böylelikle follikül havuzunu oluşturan her follikülün kaderi, parakrin ve endokrin yolla kontrol edilirken, ovaryan folliküllerin yaşam süreci olarak özetleyebileceğimiz; folliküllerin gelişimi, ölümü ve ovulasyon gerçekleşir.

Sonuçta follikül, antral kavite kazanmadan önce, primordiyal, primer ve sekonder safhalar geliştirir. Antral safhada çoğu follikül atretik dejenerasyona girer. Bir kaç antral follikül ise, preovulatuvar safhaya ulaşır. Oluşan bu Graaf folliküller üreme yaşındaki kadında, siklik ovaryan östrojen salgılanmasında başlıca kaynağı oluşturur. Her üreme siklusu arasında, preovulatuvar gonadotropin miktarının artmasına cevap olarak, dominant Graaf follikül, fertilizasyon için matür oositi salgılamak üzere ovulasyona girer. Geriye kalan teka ve granüloza hücreleri ise, korpus luteumu oluşturmak için değişime uğrar.

Sonuçta, dinlenme halindeki primordiyal folliküller, gelişmekte olan folliküllerin havuzuna sokulur (recruited) ve FSH sirkülasyonundaki siklik artış, antral follikül topluluğunun oluşmasını sağlar. Follikülün dominantlığını sağlayan olumlu ve olumsuz seçimler söz konusudur. FSH ile indüklenen siklik gelişim aşaması, follikül seleksiyon aşaması olarak da tanımlanabilmektedir. Siklik gelişim ve follikül seleksiyonu, son aşamada preovulatuvar folliküllerin oluştuğu sürekli bir süreçtir.

Örneğin, siklik gelişim ve final follikülün seleksiyonu için; premenstrual periyotta, sirkülasyondaki FSH'nın artışından sonra antral folliküller, FSH'nın follikül yaşamını devam ettiren etkisi nedeniyle, apoptozise girmez. Yaklaşık 10 antral follikülün (genç erişkinlerde bulunur) bulunduğu bu grubun içinden bir tanesi

diğerlerinden daha hızlı büyür ve çok miktarda östrojen ve inhibin üretir. Neden bir follikülün dominant olduğu açık olmasa da bu follikül FSH'ya karşı daha hassas gibi görülmektedir. Bunun sebebi ise muhtemelen FSH ve/veya LH reseptörü ekspresyonunun (ifadesinin) artması ya da FSH'ya olan cevabın artması anlamına gelen lokal büyüme faktörlerinin salınmasıdır. En büyük follikül tarafından üretilen östrojen ve inhibin midfolliküler faz sırasında hipofizyal FSH salınımını baskılar. Sonuç olarak, geriye kalan gelişmekte olan antral folliküller, yaşamına devam etmesi için gerekli olan FSH stimülasyonundan yoksun kalır. Midfolliküler faz sırasında, sirkülasyondaki östrojen aktivitesinin immün nötralizasyonunun, sirkülasyondaki FSH'nın devamlı olarak artışına neden olduğu ve bunun sonucunda çok sayıda preovulatuvar follikülün geliştiği maymunlarda oldukça net bir şekilde gösterilmiştir. Ayrıca kadınlara ekzojen östrojen verilmesinin, follikül gelişimini baskıladığı ve over stimülasyonu sırasında yüksek seviyede ekzojen gonodotropin verilmesinin de, bir çok preovulatuvar follikülün büyümesini indüklediği gayet iyi bilinmektedir. Yetersiz folliküllere karşı yapılan negatif seleksiyon, dominant follikülün ürettiği östrojen ve inhibinin, gonadotropin salınımına negatif feedback etki yapması sonucu oluşmaktadır. Ayrıca, hızla büyüyen bu dominant follikül, yüksek miktarda otokrin ve parakrin büyüme faktörleri üretir. Bu faktörler ise vaskülarizasyonu ve FSH'ya verilen cevabı arttırır ve dominant follikül için lokal bir pozitif seleksiyon mekanizması oluşturur. Ayrıca, insulin-benzeri büyüme faktörleri (IGFs) ve diğer lokal faktörlerin, FSH'nın etkisinin birkaç kat artmasında oldukça önemli olduğu gösterilmiştir. Kesin olmasa da, ekzojen gonodotropin verilmesinden sonra dominant folliküller tarafından üretilen atretogenik faktörlerin de, yetersiz follikül gelişimine neden olduğu ileri sürülmektedir. Ayrıca, dominant folliküllerin FSH'ya verdiği cevaptaki artış, bu follikülün granüloza hücrelerindeki FSH ve LH reseptörlerinin ekspresyonunu uyarmıştır. Sonuçta diğer folliküllerin yetersizliğini sağlayan mekanizma kurularak, seçilen follikülün ovulasyonu garanti altına alınmış olur. Böylece, dominant follikülün aynı havuzdaki diğer yetersiz folliküller üzerinde baskılayıcı bir etkisi söz konusu olabilir. Folliküler sabitlik yasasına göre, ovaryumun birisi ya da geride kalanın büyük bir kısmı alınsa da; ovulasyon sayısında bir değişim olmaz. Dolayısıyla, kompensatuvar ovulasyon üzerinde elde edilen bulgular, merkezi bir ayarlayıcı mekanizmanın öneminin altını çizmektedir. Bunlardan başka, bireysel olarak FSH yanıtında ya da gelişen antral folliküllerin

sayısında meydana gelen farklılıklar preovulatuvar büyüklükteki follüküllerin sayısının belirlenmesinde rol oynayabilir.

Böylelikle, follükül gelişim ve seçim sürecinde; primordiyal follüküller, primer follüküllerin gelişme havuzuna girmek için, başlangıç gelişimine başlar. İnsan ovaryumunda, sekonder follükül aşamasına ulaşılmasıyla ilgili erken antral aşamanın gelişmesi için 71 gün gerekir. Siklik gelişim sırasında, sirkülasyondaki FSH artışı, apoptozisten kaçan antral follükül topluluğunun (2-5 mm çapında) oluşumunu sağlar. Bu topluluğun arasında bir rehber follükül, FSH salınımını engellemek için çok miktarda östrojen ve inhibin salgılamak yoluyla dominant olur. Geriye kalan follükül topluluğu ise sonunda ölmelerine yol açacak olan negatif seleksiyona uğrar. Vaskülarizasyon ve lokal büyüme faktörlerindeki artış, dominant follükülün pozitif bir seleksiyon uğramasını, final gelişmeyi ve sonunda ovulasyonun gelişmesini sağlamaktadır. Siklik gelişimden sonra, antral follükülün dominant bir Graaf follükül olması için 2 hafta geçmektedir. Primordiyal follükülün başlangıç gelişmesine girmesi ile sekonder aşamaya gelmesi arasındaki süre, 28 gün kadardır. Erken antral follükül aşamasına ulaştıklarında yeterli çaptaki follüküller siklik gelişim aşamasına girer ve gelişip preovulatuvar follükülleri oluştururlar.

Bu bilgiler ışığında, insanda erken follükül gelişimin bir kronolojisi çıkarılırsa; vitellus kesesi endoderminden oluşan primordiyal germ hücreleri, gebeliğin 7. haftasında oogonia olmak üzere gonadal çizgiye ulaşır. Oogonyum ise, primordiyal oosite farklılaşmadan önce mitotik bölünmelerle çoğalır. Oogonyumlardan bazıları, gebeliğin 11-12. haftası civarında primordiyal oositlere dönüşmeye başlar ve mayozun ilk aşamalarına girer. Toplam germ hücresi sayısı, 20. haftada en üst seviyeye ulaşır. Bundan sonra, oogonyal bölünme oranı düşer. Gebeliğin ortalarında, primordiyal follükül oluşumu başlar, yani her bir oositi tek bir tabaka halinde pregranüloza hücreleri çevreler. Primordiyal follükül oluşumu, doğumdan hemen sonraya kadar devam eder. Oositlerin primordiyal follüküllerin içine girmesinden sonra, oositler mayoz I'in leptoten aşamasında kalır. Gebeliğin 20. haftasında oosit sayısı en üst değer olan 6-7 milyona kadar ulaşır. Doğumdan sonra ise büyük bir düşüş göstererek 300 bin-400 bine kadar iner. Primordiyal follükül oluşmak üzere granüloza hücreleri tarafından çevrelenmeyen oositler ise, apoptozis yoluyla kaybolur. Bu arada, bazı primordiyal follüküller, dinlenme havuzundan başlangıç gelişimine başlayarak ayrılırlar. Gelişme havuzuna

girdiğinde, follüküllerin çoğu antral aşamaya ilerler, antral aşamada ise atreziye girilmesi kaçınılmazdır. Puberteden sonra ise, antral follüküller büyümeye devam edebilmek için, gonadotropinlerin yardımıyla kurtarılır. Siklik gelişim ile her ay, ovulasyona hazır bir adet Graaff follükülü oluşturulur. Matür sekonder follüküllerin, preovulatuvar follüküllere gelişmesi için 85 günden fazla bir zamana gereksinim vardır. Antral follüküller (çapı 2-5 mm), Graaf follüküllerine 14 günde gelişir. Ayrıca, primer follüküllerin sekonder follükül aşamasına ulaşması için 120 günden daha fazla zamana ihtiyacı olduğu ve hatta primordiyal follüküllerin primer follüküllere gelişmesi için daha fazla bir zamana gereksinim olduğu düşünülmektedir. Yani, bir follükülün tüm gelişme fazı 220 günden ya da 8 menstrual siklustan çok fazladır. Pubertede, ovaryumda ortalama 200 bin follükül bulunmaktadır. Reprodüktif yaşam süresince, primordiyal ve primer follüküllerin sekonder ve daha büyük follükülleri geliştirmesi, orijinal follükül havuzunda aşamalı bir azalmaya neden olur. Ayrıca, primordiyal follükül havuzu, dinlenmede olan follüküllerin apoptozisi nedeniyle de azalabilir. Menopozdan 10 yılı aşkın bir süre önce, serum FSH seviyesindeki artış ve sirkülasyondaki inhibinin azalması sonucunda, dinlenme havuzundan artan sayılarda follükül kaybı olmaktadır. Ovarian follüküllerin tükenmesi sonucunda, yaklaşık 51 yaş civarında menapoza girilir (Şekil 2.2).

OPU'da toplanan oositlerin sayısı çok değişkendir (0-38); ancak genel GnRH analogu kullanılan stimülasyonlarda, ortalama 11 kadardır. İn vivo LH pikinin karşılığı hCG enjeksiyonu öncesinde ilk mayotik profazın diploten evresinde arrestte bulunan indüklenmiş oositlerde, hCG enjeksiyonundan 25 saat sonra profaz nukleoleması kaybolur (GVBD). MI, AI, TI'i tamamlayarak (2-2,5 saatte) 1. PB.'lerini atarlar ve ardından 2. mayozun metafazına gelerek (MII) bu evrede duraklarlar. Gerek bu nukleer matürasyonun gerekse kümülüs ooforyusun follüküler duvardan ayrılabilmesi için hCG enjeksiyonundan sonra 35 saate ve tüm matürasyon için ise en az 37 saate gereksinim vardır. Genelde hCG enjeksiyonundan sonra 38-40 saat sonrası tam matürasyon olarak kabul edilir. Bu nedenle hCG enjeksiyonu sonrası 34-36. saatteki oositler preovulatuvar oositler olup, 36. saatte OPU yapıldığında 2-6 saat kadar (inseminasyon penceresi) in vitro matürasyonları gerekir. Zaten follükül duvarının matürasyonu için de hCG sonrası 28-32 saate gereksinim vardır. İn vivo olarak LH pikinden 20 saat sonra ya da LH pikinin idrarda saptanabilmesinden 24-27 saat sonra matür oosit oluşabileceğine karşılık gelen bu sürelerle göre, hCG enjeksiyonunu takiben 40-42. saat, inseminasyon için en

uygun zamandır. MII oosit sayısına göre ~%70 2PN oranı, ET sayısına göre ~%30, eve bebek götürme oranı ve %20'lere varan implantasyon oranları için optimum inseminasyon zamanı OPU sonrası 4-6. saatler olarak bulunmuştur. Zaten 1.polar cisimciğin şekillenmesinden yani ilk mayoz bölünmeden 4-6 saat sonra en iyi fertilizasyon şansı olabileceği, bunun da hCG enjeksiyonunu takiben 40-42 saat olduğu kabul edilmektedir.

Oositin kümülüs–korona–oosit kompleksi (OCCC) bulunuyorsa, toplanan oositler OPU sonrası embriyolog kontrolünde kolay bulunur. Yumurta akı makroskopik görünümüyle de seçilebilen bu kompleks; kan pıhtısı, hava kabarcığı gibi yapıların arasında da gereğinde, PPD enjektör ucu yardımı ile aranmalıdır. Ancak özellikle postmatür durumlarda, korona radyatanın birkaç hücreden oluşabileceği de dikkate alınarak oosit toplama yapılmalıdır. Çıplak oosit olarak da tanımlanan bu oositlerin özellikle az oositli olgularda ayrıca dikkate alınması önerilir.

IVF merkezlerinin eve bebek götürme oranlarının; elde edilen embriyonun fertilizasyonundan, klivaj oranı ve Grade I (Gd -I) embriyo eldesine kadar ki süreçte bir çok faktörün yanı sıra, oosit ve sperm kalitesi ile yakın ilişki içinde olduğu görülmektedir. Genelde ~%81.8'lik bir matür oosit oranı elde etmek için, hCG günü serum estradiol seviyesi (pmol/lt) 5000 civarında; ≥ 15 mm follikül sayısı 8 ve ≥ 17 mm follikül sayısı 4 adet olup yeterli multiple folliküller gelişme kriteri olarak 'en az 3 adet ≥ 17 mm follikül varlığında hCG enjeksiyonunu dikkate almak gerekmekte ve bu değerlere ulaşmak için 10.7-11.3 güne gereksinim olmaktadır. Embriyolog olası oosit sayı ve olgunluğuyla ilgili programını yaparken bu değerleri göz önünde bulundurmalıdır. Dokuz-12. günde, 18-20 mm follikül gelişimine ulaşılması ile ya da iki follikül 19-20 mm boyutlarına ulaştığında hCG uygulamasına ilişkin öneriler söz konusudur. Mikrodoz flare protokollerinde ise 2 follikülün 17-18 mm boyutuna ulaşması önerilmektedir.

Geneksel IVF uygulamalarında, herhangi bir kimyasal veya mekanik hasarın önüne geçebilmek için oositler kümülüs hücreleriyle birlikte insemine edilirler. ICSI için ise, oositin çekirdek olgunluğunun net olarak değerlendirilebilmesi ve mikroenjeksiyon işlemi esnasında oositi kontrol edebilmek için kümülüs ve korona hücreleri rutin olarak temizlenmektedir. Bu nedenle ICSI'de kullanılan oositlerin ooplazmaları ve çekirdek olgunlukları doğru bir şekilde değerlendirilebilmektedir. Bunun sonucunda, geleneksel

IVF için önemi olan kümülüs ve korona hücrelerinin boyutu ile görüntüsüne göre oositin olgunluğu hakkında bilgilere gereksinim doğar. Kümülüs korona hücreleri doğal follikülogenezis sırasında, endojen FSH etkisiyle çekirdek olgunlaşmasına paralel olarak yavaş yavaş genişler ve olgunlaşırlar. Ancak uyarılmış sikluslarda, oosit olgunluğu göstergesi kümülüs-korona genişlemesi; eksojen gonadotropinlerden kötü bir şekilde etkilenebilir ve çekirdek olgunluğu ile doğrudan bağlantısı yönünden güveninirliğini kaybedebilir. Uyarılmış sikluslarda, genişlemiş kümülüs ve korona hücreleri olan ancak yinede olgunlaşmamış profaz I oositleri içeren OCCC'lerinin eldesi mümkündür. Eğer bunlar tanımlanamaz ve in vitro olgunlaşmalarından önce insemine edilirse, döllenme ya hiç olmaz ya da gecikmeli olarak gerçekleşir. Bu nedenle ancak ICSI uygulamalarında, perivitellin aralıkta birinci kutup cisimciğinin gözlenebildiği oositlerin olgunluğundan emin olunabilmektedir.

Genellikle Profaz I evresi immatür oositin (GV oosit) olgunlaşmamış bir OCCC'i bulunur. Zona pellicidaya sıkıca yapışık yoğun korona radyata hücrelerinde bir hücre katmanı ve genişlememiş kümülüsten oluşmaktadır. Yoğun kitleler halinde görülen küçük pariyetal granüloza hücreleri içeren kümülüs kitlesinden ve sıkı korona radiatadan dolayı ooplazma görülememektedir. Küçük folliküllerden alınabilen bu tür OCCC'nin oosit metafaz II evresine kadar in vitro ortamda olgunlaşması gerekmektedir. Ancak şu ana kadar, böyle bir in vitro olgunlaşma ile çok az sayıda gebelik gerçekleştirilebilmiştir.

Preovulatuvar olgun bir OCCC, stereomikroskopta makroskobik olarak gevşek bir kümülüs hücre kitlesi ile çevrelenen gevşek bir korona yapısı gösterir. Bu hücrelerin gevşek yapısı küresel homojen ooplazmanın ve bazen de birinci kutup cisimciğinin tanımlanmasına olanak vermektedir. Bununla beraber, uyarılmış döngülerde; kümülüs ve/veya korona katmanları yoğun ve koyu olan MII oositleri de elde edilebildiğinden, göz ardı edilmemelidir. Olgunlaşma evresi geçmiş (postmatür veya sürmatür) OCCC'leri de söz konusu olabilir. Bunların, erken ve zayıf bir LH etkisiyle veya gecikmiş bir hCG uygulamasıyla oluştukları düşünülmektedir. Korona radyatının genelde koyu ve gergin olmasına karşılık, kümülüslerinde koyulaşmış hücre kümecikleri gözlenebilir ya da hiç kümülüs bulunmayabilir. Dejeneratif veya atretik OCCC'lerine ise her oosit toplama uygulanmasında rastlanabilmekte ve toplanan oositlerin %3'ünde net anomali işaretleri gözlenmektedir. Koyu ve/veya küçük,

düzensiz ooplazma, bozuk zona pellusida ve büzülmüş bir kümülüs kitlesiyle çevrelenmiş boş bir zona içerirler. Bu OCCC'lerine herhangi bir uygulama yapılmaz.

2.5. İN VİTRO OOSİT MATÜRASYONU

İn vitro fertilizasyon için oosit matürasyonu kesin tanınmalıdır. Bu, gerek in vitro inkübasyon süresini belirler, gerekse spermatozoidler matürasyonu engelleyeceğinden, erken inseminasyon nedeniyle oluşabilecek bir matürasyon defektini önler. Tanıda OPU ile gelen oositler oosit-kümülüs-korona kompleksi kriterlerine göre aşağıda belirtilen evrelerde olacak ve bu evre in vitro matürasyon süresini belirleyecektir.

a) İmmatür Profaz I: Gv Oosit

Kümülüs olmayabilir ya da çok küçük ve yoğun olabilir. Korona radyata çok kalın ve yoğundur. Aspirasyon sıvısında parlaklık vermediğinden zor seçilir. Germinal vezikül (Profaz-I nukleusu) görülür ve belirgin bir nukleolus seçilir (ilk gelişme, vesicle-dictyate evresinde (germinal stage) (in vitro 40-48 saat inkübasyon ya da OPU sonrası 24 ve hCG sonrası 64 saate kadar inkübasyon)

b) İntermediate Metafaz I İmmatür

Kümülüs orta derecede yoğun ve küçük (2mm) ve korona radyata sıkı ve yoğundur. Germinal vezikül görülmez. 1.Kutup cisimciği görülmez. (15-20 saat inkübasyon ya da en azından 10-12 saat in vitro inkübasyon gerektirir. OPU gününün olabilecek en geç saati ya da ertesi sabah erkenden inseminasyonda seçilebilir.)

c) İntermediate Metafaz I Matür

Kümülüs 2-3 mm. olup yer yer koyuluklar içerir ve korona radiata ışınal ancak sıkidır. Erken hCG uygulaması ya da hatalı follikül çapı ölçümlerinde sık gözlenir. 1. Kutup cisimciği görülmez, previtellin aralık gözlenebilir (5-7 saat inkübasyon).

d) Matür Metafaz II

İyi bir embriyo gelişimi ve gebelik oranı için %70-75 OCCC'nin bu evre oositi olması gerekir. Kümülüs 3-4m çapta ve yüksek oranda gevşek dağılımlıdır. Bu oosit folliküler aspirat içinde parlaklığı ile kolaylıkla ayırt edilmesiyle tanınır. Korona radiata ışınal olup büyük büyütmede bazen 1.Kutup cisimciği seçilebilir (OPU sonrası 2-8 arası ya da

hCG sonrası en erken 38 en geç 44 saatte insemine edilmelidir. OPU sonrası 3-5 saat in vitro inkübasyon önerilir) (Şekil 2.7 A, B, C, 2.8, 2.9, 2.10).

e) Hafif Post Matür Metafaz II

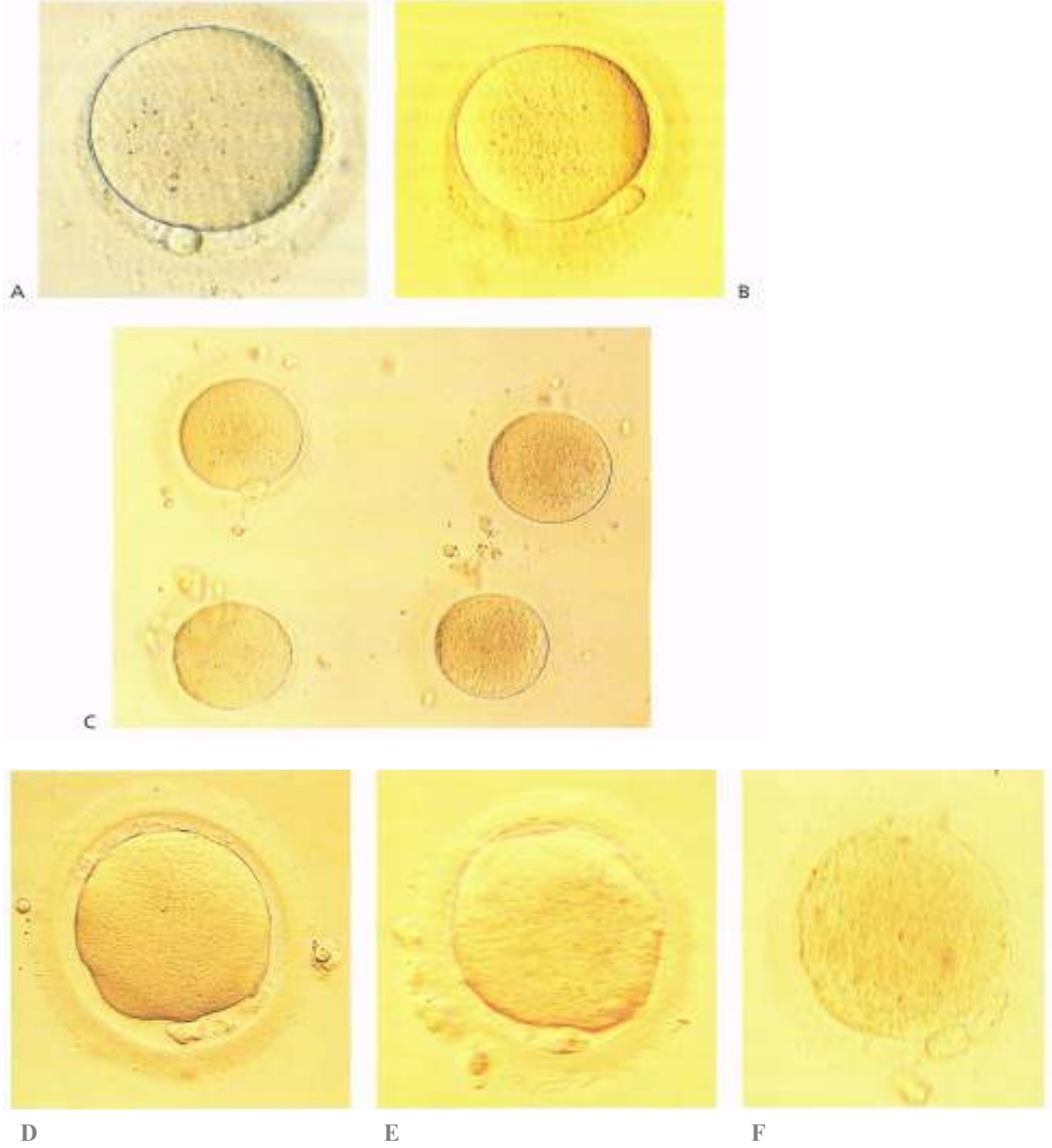
Polispermik blok özelliği olabileceğinden daha erken ve az sayıda sperm ile insemine edilmesi gereken oldukça gevşek ve koyulaşan renkte kümüslü oositlerdir. Korona radyata hücreleri normalden azdır ve OCCC'ne alışılmalardan daha koyu bir görünüm verir. Bu durum kollabe bir OCCC izlenimi doğurur.

f) Post (Sür) Matür II

Gerek aspiratta gerekse oosit çevresinde çok az hücre bulunur. Fertilizasyon ve embriyo gelişiminin düşük olduğu bu oositlere hCG günü çok büyük folliküllerin bulunduğu ya da E2 seviyesi ve follikül büyümesinin plato oluşturduğu olgularda rastlanır. Korona radyata ayrıldığından 1.Kutup cisimciği gözlemlenebilir, ancak çok koyu renkli durumdadır (inkübasyona alınmaz ya da en çok 1 saat içinde işlem yapılır).

g) Dejenere Oositler

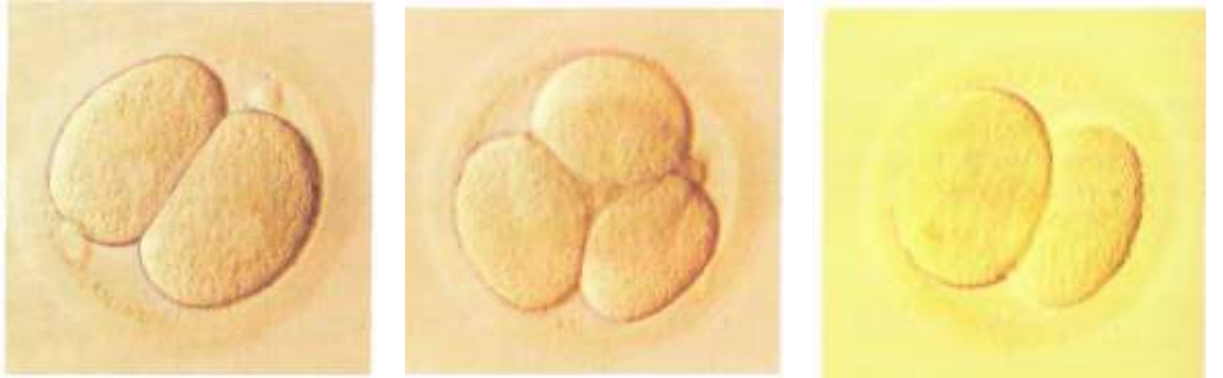
Atretik folliküllerden elde edilirler ve kullanılmazlar (Şekil 2.7 C, D, E, F, 2.11, 2.12,).



Şekil 2.7. a) Tam olgunlaşmış metafaz II (MII) oosit. b) Bu MII oosit sitoplazmasının sağlıklı görünümü. c) Saat yönü istikametinde sağ üstten itibaren oosit çekirdek olgunlaşması izleniyor. d) Dejenerasyona giden MII oosit. e) Dejenerasyona giden bir başka MII oosit. ICSI işlemi sırasında böyle oositlerin hücre zarı çabuk bozulur. f) Tamamıyla dejenere olmuş bir MII oosit (11).



Şekil 2.8: ICSI işleminden yaklaşık 44 saat sonra 2. gündeki değişik hücre sayısına sahip embriyolar görülüyor (11).

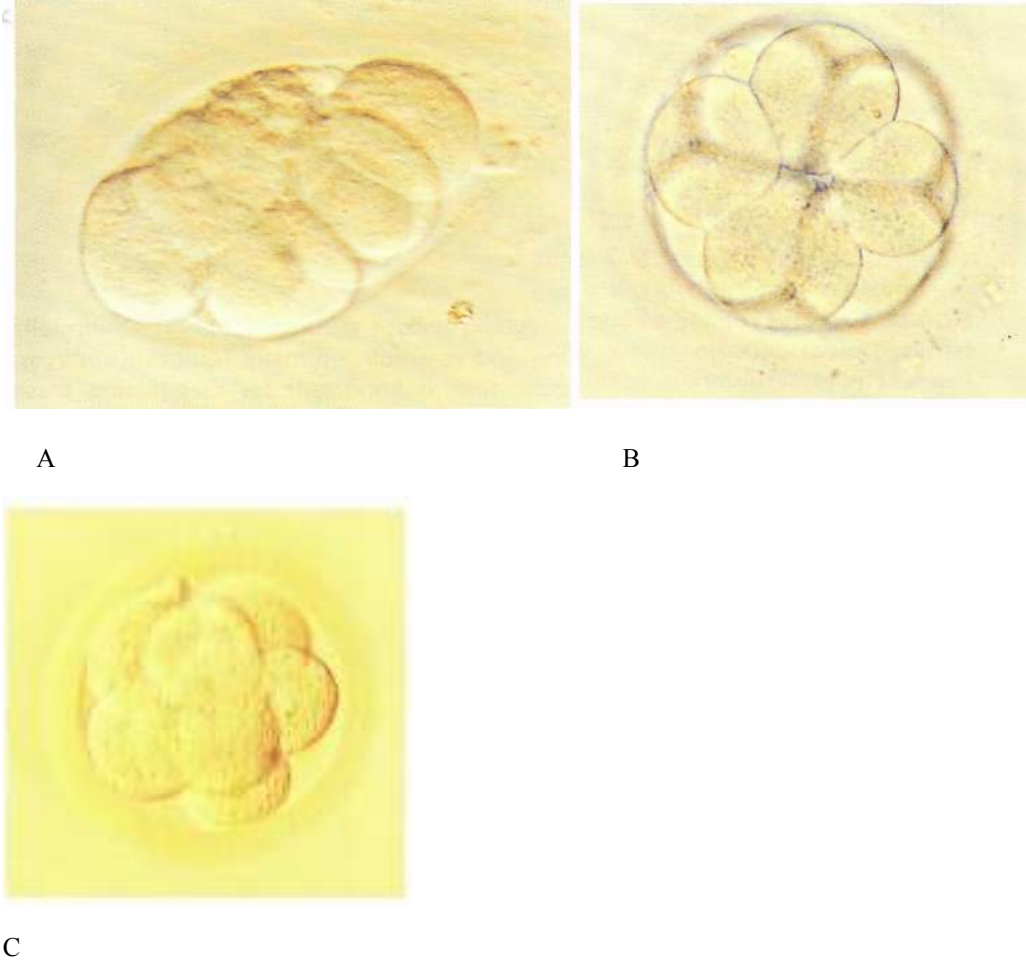


A

B

C

Şekil 2.9: a) ICSI işleminden sonra 2. gündeki, 2 hücreli GI dereceli bir embriyo izleniyor. b) Fragmantasyon içermeyen, ICSI işleminden sonraki 2. günde 3-4 hücreli GI embriyo izleniyor.c) Klasik IVF sonrası 2. günde 2 hücreli, GII dereceli ve fragmantasyon izlenmeyen bir embriyo görülüyor (11).



Şekil 2.10: a) 8 hücreli GII dereceli,%5-10 arasında fragmantasyon içeren, uzunlaşmış bir embriyo izleniyor. b) ICSI işleminden sonraki 3. günde 8 hücreli, fragmantasyon içermeyen, GI dereceli bir embriyo izleniyor.c)Üçüncü günde , 8 hücreli, %5 civarında fragmantasyon içeren, granüllü sitoplazmalı, GI dereceli bir embriyo görülüyor (11).



Şekil 2.11: ICSI işleminden sonra pronükleus (PN) evresindeki bir zigot izleniyor. Saat 8 yönünde polar body (PB) izleniyor ancak, fragmente PB I mi, yoksa PB II mi tam olarak tayin etmek zordur (11).



Şekil 2.12: IVF işlemleri sırasında oluşmuş bir 3 PN görünümü izleniyor (11).

2.5.1. İn Vitro Follikül Olgunlaşması

Ovarian folliküllerin gelişiminin endokrin kontrolü hakkında pek çok bilgi vardır, fakat anahtar nokta, folliküler büyüme ve gelişimin kontrolündeki moleküler ve hücrel işleyişlerdir. Ovarian folliküllerin büyüme ve gelişmesi, postnatal ve erişkin hayat süresince olur. Folliküller epitel (membrana granuloza)'in granuloza hücrelerinin farklılaşma başlangıcında tek bir kök hücre popülasyonundan önce farklı soylara girmesi söz konusudur. Follikül gelişimi sırasında folliküler bazal laminanın kompozisyonunda değişiklikler olması granuloza hücrelerinin davranışında veya bazal lamina permeabilitesinde değişiklik olması söz konusudur. Vücuttaki diğer epiteller ile

benzerlik gösteren fakat daha dinamik olan folliküler epitelde, folliküler gelişim sırasında büyük değişiklikler olur. Çünkü, ovaryumda depolanmış çok sayıda inaktif primordiyal folliküller, küçük, büyüme aşamasında olmayan (non groving) bir oosit ve folliküller bazal lamina tarafından çevrenelen, bölünme aşamasında olmayan (non-dividing) pregranüloza hücrelerin oluşturduğu bir tabaka olmak üzere başlıca iki elemandan oluşur. Her gün belli sayıda primordiyal follikül aktifleşir; oosit büyümeye başlarken granüloza hücreleri ise bölünmeye girer. Granüloza hücreleri büyüdükçe, oositin çevresindeki granüloza hücre tabakasının (membrana granüloza ya da folliküller epitel olarak adlandırılır) sayısı artar ve bazal lamina büyür. Gelişimin sonraki aşamasında, folliküllerde sıvı dolu boşluk yani antrum oluşur. LH'nin yüksek miktarda ve hızlı salınımına cevap olarak sadece geniş bir antruma sahip olma aşamasına erişen folliküller, ovulasyona girer. Ovulasyonla, epitel karakterindeki (epiteloid) granüloza hücreleri ikinci bir differensiyasyonla, korpus luteumun parankimal hücrelerini oluşturur. Ovulasyona girmeyen folliküller ise atrezi ve regresyona gider. Gelişen folliküllerin hücre biyolojisi hakkında pek az şey bilinmektedir ve çok ilginç özellikleri vardır. Membrana granüloza veya folliküler epitel, diğer epitellerden pek çok nedenle daha karmaşıktır. İlk olarak; follikül gelişirken tek katlıdan çok katlı bir epitele doğru genişler. Preantralden post antral folliküle dönüşümünde, epiteli geçen sıvı miktarı artar. Follikül genişlerken, epitel lateral olarak da genişler. Follikül atretik ise epitelin tamamını bozabilir ve folliküler atrezinin en önemli belirleyicilerinden birisi granüloza hücre ölümüdür. Bu gelişimde primer aşamadan sonra folliküllerin gelişimi büyük önem taşır. Folliküller in vitro ortamda primordiyalden primer folliküle geçişte saptanan daha fazla büyüebilme potansiyelleri nedeniyle günümüzde araştırılmaktadır. Nitekim büyük preantral folliküllerin in vitro gelişimi ile ilgili çok miktarda çalışma yapılmaktadır. Fakat preantral folliküllerin stimüle edilmesi ve devam etmesi için gerekli koşullar hakkında oldukça az bilgi vardır. Kadında infertilitenin ortadan kaldırılması için kaynak olarak dinlenme halindeki primordiyal folliküllerin havuzu gerektiğinden, bu konu hakkında ileri çalışmalar yapılması gerekmektedir. Bu güne kadar, FSH ya da aktivinin primer follikülden sekonder folliküle in vitro gelişimi stimüle etmesi hakkında kanıtlar yoktur. Primordiyalden primer folliküle geçiş, folliküler gelişimin en az anlaşılabilmiş safhalarından biri olarak durmaktadır. Primordiyal folliküllerin aktivasyonunu çalışmak ve in vitro olarak aktive edilmiş folliküllerin daha ileri gelişimi için gerekli olanları belirlemek amacıyla kullanılacak deneysel sistemlerin geliştirilmesine acilen

gereksinim duyulmaktadır. Gelecekte memelilerde erken folliküler gelişimin çalışılmasını sağlayan çeşitli modellerin karşılaştırılması; dinlenme havuzuna bağlı olan folliküllerin stimüle edilmesini ve primordiyal aşamada tutulu kalmasını sağlayan mekanizmalar hakkında ip uçları sağlayabilir. Primordiyalden primer folliküle geçişi düzenleme yeteneğinin anlaşılması; fertilitiyi kontrol etmek için gelişme aşamasında olmayan folliküllerin oluşturduğu zengin deponun kullanılabilmesi için ön koşuldur.

Geçmişte insan oositlerinin in vitro ortamda ilk gelişme vesicle–dictyate evresinden (germinal stage) sonrasına olgunlaşabilmelerini sağlamak için doğru koşulları hazırlamak ve doğru bir zamanlama yapmak gerekmektedir. Diğer bir anlatım ile, olgunlaşma evresinde diakinesiz ve metafaz II (M II) arasındaki tüm mayoz bölünme evrelerinin tanımlanması ve doğru olarak zamanlanması gerekiyordu. İnsan dışındaki diğer memelilerde de, in vitro ortamda oosit olgunlaşması için geçen bu süre; LH veya insan koryonik gonadotropin (hCG) enjeksiyonu ile yumurtlama (ovulasyon) arasındaki geçen süreyi kapsamaktadır.

2.5.2. Biçimleri Bozuk (Dismorfik) Oositler

Işık mikroskobu düzeyinde tanımlanmış farklı oosit biçim bozukluğu formları, transmisyon elektron mikroskobu ile tesbit edilen yapısal özelliklerle paralellik göstermektedir. İn vivo'dan farklı olarak, over stimülasyonu anomalileri şöyle ortaya çıkabilir; 1-Zona pellucida bozulabilmektedir. Bu bozukluklar tabaka sayısını artırabilme ya da tüylü bir hal almasına neden olabilme yanı sıra normalden kalın ya da kimi yerde ince, kimi yerde kalın olarak ortaya çıkabilir, 2-Birinci kutup cisimciği gövde fragmanlarına ayrılarak (fragmente polar cisimcik) şekil ve ebat olarak anormalleşebilir, 3-Organel dağılımlarıyla ilgili sitoplazmik bozukluklar (koyu renkli ve/veya büyük ya da küçük vakuollü oositler, matürasyon ile organellerin gerekli sitoplazmik dağılımları yerine merkezde yığılımı, düz endoplazmik retikulum (SER) sarnıçlarının bir araya toplanması, kortikal ooplazmanın kimi kısımlarının organelsiz kalmasına neden olan kutupsal ooplazma gibi şeklinde karşımıza çıkabilir (3).

ICSI, oosit morfolojisini net olarak değerlendirmeyi mümkün kıldığından; ICSI işlemleri sonunda ortaya çıkacak anomalilerin döllenme ya da implantasyon başarısızlıklarıyla sonuçlanabilecek düşük kaliteli oositlere bağlı olduğu, daha da ötesi

anöploidi olasılığının bu tür oositlerde arttığı yönünde bir sonuca varabilmek için daha fazla araştırma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (3).

Bizim gözlemimiz, özellikle zona pellusidanın oval, katlara ayrılmış ya da tüylü görünümüleriyle ilgili anomolilerin; stimülasyon problemleri yanı sıra, OPU sırasındaki oosit aspirasyon basıncı ile de ilgili olabileceğinin göz önünde bulundurulması yönündedir. Gözlemlerimize göre, oval zonalı ancak yuvarlak sitoplazmalı oositler oosit aspirasyon basıncıyla ilişkili görülürken, zona ve sitoplazmanın birlikte oval şekilli olduğu oositlerde bu durum stimülasyona bağlı gibi görünmektedir (3).

Ayrıca, özellikle r-FSH kullanılan stimülasyonlar ile elde edilen OCCC'lerinin dekoronizasyon olmaksızın klasik IVF uygulamalarında morfolojik değerlendirilmesinde; korona ve kümülüs granüloza hücre dağılım ve sıklığının yanıltıcı olabildiği, gereğinde matür bir oosite, immatür tanısı konulabildiği kanısındayız. Gözlemlerimiz, oositin elde edildiği follikül çapının ve follikül sıvısı miktarının gözlenip elde edilen OCCC'sinin matüre yakın morfolojili olması durumunda, matür oositler ile aynı süre içinde insemine edilmelerinde yarar olduğu doğrudur (3).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tüp Bebek Ünitesi tarafından hazırlanan ‘İn-vitro Fertilizasyon ve Embriyo Transferi Ünitesi Hasta Takip ve Tedavi Formu’ adı altında tutulan resmi kayıt formlarındaki bilgilerden elde edilen veriler üzerinden (retrospektif analiz) yapılmıştır. IVF-ET (yardımcı üreme teknikleri) işleminin tıbbi sonuçları, muhtemel komplikasyonları, ağırlığı ve önemi rıza ve izin (aydınlatılmış onam) belgeleriyle hastalara açıklanan bu dosyalar (resmi kayıt formu) her bir hasta için tek tek tutulmaktadır. Hastaların aleyhine kullanılmayacağı önceden imza altına alınan bu formlardaki teknik bilgiler bu yüksek lisans tez projesinde çalışma bilgileri olarak kullanılmıştır. Ocak 2005-Ağustos 2006 tarihleri arasında Tüp Bebek Ünitesinde tedavi altına alınan yaklaşık 233 hastanın parametreleri tez çalışmasında kullanılmıştır. Yüksek Lisans tezinin amacı ve önemi bölümünde belirtilen parametreler ya bir sayısal (nümerik) değer taşımaktadır ya da triple oluşumu ve klinik gebelikte olduğu gibi var/yok şeklinde değerlendirmeye alınmışlardır. Elde edilen verilerden Chi-Square analizine tabi tutularak değerlendirilmiştir. Yorumlarımız ancak bu aşamalardan sonra yapılmıştır. Buna göre;

BKİ: Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) verdiği formüle (ağırlık/boy²) göre hesaplanmıştır. WHO'nun değerlerine göre; BKİ (kg/m²) <18,5 olanlar zayıf, 18,5-24,99 arasında olanlar normal, ≥25 olanlar şişman, ≥30 ise olanlar obez kabul edilmektedir. Biz WHO'nun sınıflandırmasına göre Türk toplumundaki bayanları sırasıyla 18,49 ve altı, 18,5-24,99 arası, 25-29,9 arası ve 30 ve yukarısı aralıklarında değerlendirdik.

Yaş: Değerlendirmede yer alan hastalar yaşlarına göre 20'nin altı, 21-30 arası, 31-40 arası olmak üzere 3 grup altında sınıflandırıldı.

Endometriyum kalınlığı: Endometriyum kalınlığı tüp bebek ünitesindeki klinisyenler tarafından folliküllerin büyümesinin gözlenmesi sırasında ölçüdü. Ölçüm en uzun duvar çapında yapılmıştır (12). Endometriyum kalınlığı folliküller fazda 4-8 mm kadardır (13). Endometriyum kalınlığı ile ilgili veriler OPU toplama işleminden önceki yani folliküllerin olgun döneme ulaştığı zamandaki değerler alınarak oluşturuldu. Endometrial kalınlık endometriyumun anterior bölgesindeki endometriyum ve myometriyum bağlantısının ekojenik ara fazından posterior bölgesindeki aynı plana kadar merkezi uzun eksende ölçülmüştür. Hastalarda gözlenen endometriyum kalınlıkları ≤8, 8-12 arası, ≥12, olarak 3 grup altında değerlendirildi.

Muayenede sayılan follikül sayısı: Tüp Bebek Ünitesinde uygulamaya alınan hastalarda, adet 3. gününde ovaryumda ultrasonografi ile gözlenen ve çapları 2-5 mm. arasındaki antral follikül sayısıdır. Bu çalışmada elde edilen follikül sayıları 0-10, 11-20 arasında olmak üzere 2 grup altında değerlendirilmeye alındı.

OPU'da Aspire Edilen Follikül Sayısı: HCG uygulamasından 36 saat sonra ultrasonografik gözlem altında ovaryumlardan aspire edilen follikül sayısını belirler. Bu çalışmada OPU'da aspire edilen follikül sayısı 0-10 arası, 11-20 arası, 21-30 arası, 31-50 arası olmak üzere 4 grupta incelendi.

OPU'da Toplanan Yumurta Sayısı: OPU'da aspire edilen folliküller aspirasyon işleminden sonra embriyoloji laboratuvarında değişik işlemlerden geçirilir ve folliküllerin içerisindeki yumurtalar sayılır. Böylelikle OPU'da toplanan yumurta sayısına ulaşılır. Biz çalışmada OPU'da toplanan yumurta sayısı 0-10 arası, 11-20 arası, 21-30 arası, 31-50 arası olmak üzere 4 gruba ayrılarak incelendi.

ET’de Verilen Embriyoların Sayısı: ET işlemi, seçilen ya da eldeki mevcut embriyoların, aspirasyondan sonraki 3. günde hastanın uterusuna nakledilmesi işlemidir. Bu işlem sırasında embriyo kalitesi ve hastanın durumuna göre transfer edilen embriyo sayısı değişebilmektedir. Buna göre bir hastaya 1, 2, 3, 4, veya 5 embriyo transferinin yapıldığı gözlenmiştir.

ET’de Verilen Embriyoların Grade’leri: Tüp Bebek Ünitesi’nde Şekil 3-1’de görüldüğü gibi, 3.gün embriyo skoru olarak S. Kahraman ve arkadaşlarının (14) kullandığı skora yöntemi tercih edilmektedir. Buna göre **grade 1**; blastomer sayısının 8 ve daha fazla, blastomer çaplarının eşit ve fragmantasyon oranının %10’un altında olduğu embriyolar için geçerlidir. Blastomer sayısı 8 ve üstünde, fragmantasyon oranının %10-20 arasında olduğu ve blastomer çaplarının eşit olduğu embriyoları **grade 2** olarak değerlendirildi. **Grade 3** ise; 5-7 blastomerli, blastomer çaplarının eşit olmadığı ve %20’ye kadar varan fragmantasyon oranına sahip embriyoları skorlamakta kullanılır. **Grade 4** embriyo ise; 4-6 hücreli (blastomerli) ,%20’den fazla fragmantasyon oranına sahip ve blastomer çaplarının eşit olmadığı embriyoları ifade eder. **Grade 5** embriyo; en kötü skora sahiptir. Zorunlu olmadıkça ET işleminde kullanılamaz. Hücre (blastomer) sayısı 4 ve altındadır, fragmantasyon oranı %50 ve üzerindedir ve doğal olarak blastomer çapları eşit değildir. Bu transfer edilen embriyolar belirtilen skora sistemi esas alınarak 1, 2, 3, 4 ve 5 olarak beş grupta değerlendirildi.

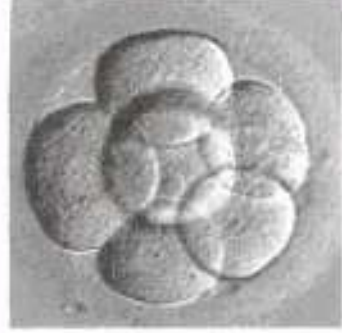
Triple oluşumu: Sekresyon fazında endometriyum ekonijenite yönünden en büyük kalınlığa ulaşır. Ultrasonik incelemeler ile stromal ödeme bağlı olarak luteal faz esnasında endometriyumun daha ekojen hale gelmesi triple oluşumunun esas sebebidir. Ekojenik endometriyuma ek olarak, muhtemelen myometriyum iç tabakasının kabarmasına bağlı olarak endometriyumun altında hipoekoik bir bant belirir. Bu bant triple oluşumu olarak bilinir (15). Triple oluşumu ile ilgili veriler folliküler evrenin sonunda transvajinal ultrasonografi ile elde edilmiştir. Bu çalışmada triple oluşumu hipoekoik bant var/yok şeklinde değerlendirilmiştir (Şekil 3-2).

3. GÜN EMBRİYO SKORU

GRADE 1:

8= \leq Hücre sayısı

<% 10 fragmantasyon blastomer çapları eşit



GRADE 2:

8= \leq Hücre sayısı

% 10-20 fragmantasyon blastomer çapları eşit



GRADE 3:

5-7 Hücre % 20 fragmantasyon veya blastomer çapları eşit değil



GRADE 4:

4-6 Hücre veya daha fazla

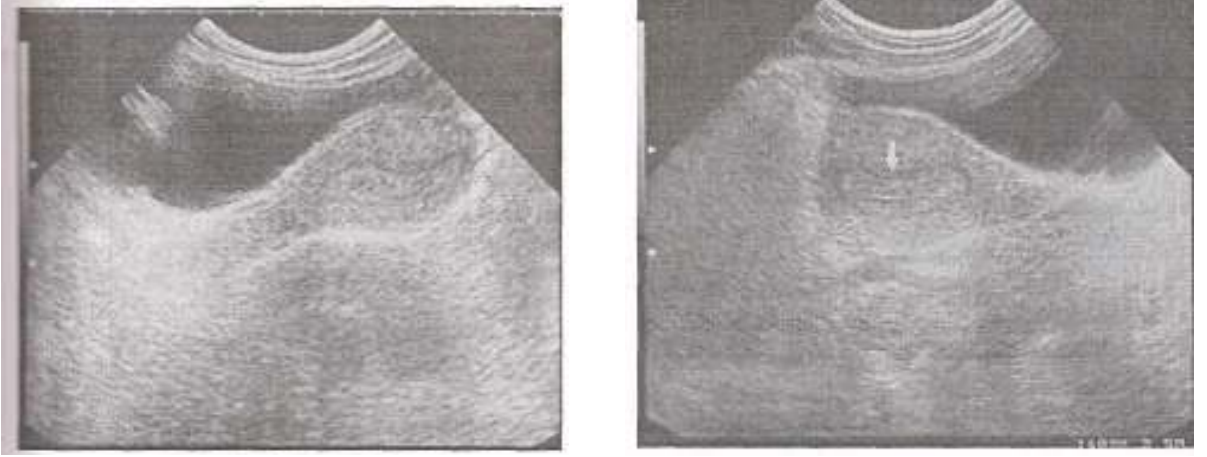
>% 20 fragmantasyon veya blastomer çapları eşit değil



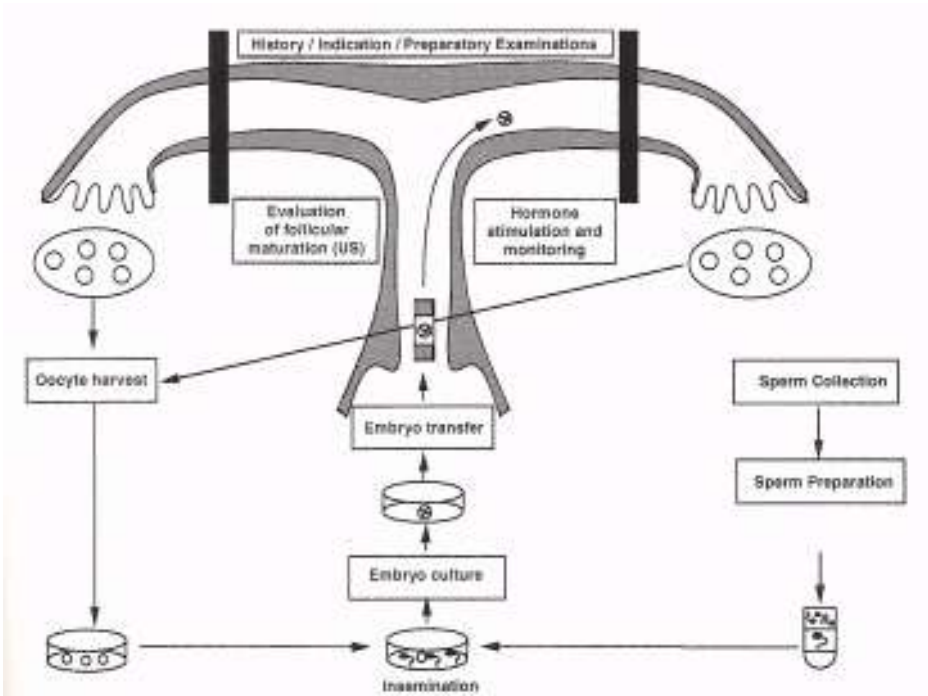
GRADE 5: \leq 4 Hücre sayısı veya $>$ % 50 fragmantasyon



Şekil 3.1:Tüp Bebek Ünitemizde kullanılan 3.gün embriyo skoru şeması (14) .



Şekil 3-2: Triple oluşumu. Transabdominal ultrasonografide uterus. Solda sagittal ve sağda aksiyal düzlemdeki görüntülerinde en içte hiperekoik endometriyuma ait doku görülmektedir. Hipoekoik geçiş zonu (ok) bütünlüğü korunmakta olup daha sonra myometriyum homojen olarak izlenmektedir (16).



Şekil 3.3: İn vitro fertilizasyon: prensipler ve prosedür (17).

4.BULGULAR

Bu araştırmada, Ocak 2005–Ağustos 2006 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tüp Bebek Ünitesi'nde tedavi gören hastaların klinik gebelik seyirleri sırasında elde edilen bazı parametrelerin (muayenede sayılan follikül sayısı, kadın yaşı, BKİ, OPU'da aspire edilen follikül sayısı, OPU'da toplanan yumurta sayısı, ET'de verilen embriyo sayısı, ET'de verilen embriyoların dereceleri, endometriyum kalınlığı ve triple oluşumu) değerlendirilmesi ve bu parametrelerin gebelik üzerine etkileri incelenmiştir.

BKİ: BKİ 18,49 ve altı hastaların tamamında (n=4) gebelik görülmedi (%100). 18,5-24,9 arasındaki hastaların (n=83) 28'inde gebelik görülürken (%33,7), 55'inde (%66,3) gebelik görülmedi. BKİ 25-29,9 arasındaki hastaların (n=102) 23'ünde (%22,5) gebelik görülürken 79'unda (%77,5) gebelik görülmedi. BKİ değeri 30 ve yukarisındaki hastaların (n=44) 8'inde (%18,2) gebelik görülürken 36'sinde (%81,8) gebelik görülmedi (Tablo 4-1).

Tablo 4-1: Beden kitle indeksine göre hastaların gebelik durumu.

BKİ	GEBE OLAN n=59, n(%)=25,3	GEBE OLMAYAN n=174, n(%)=74,7	TOPLAM	P
18,49 ve altı	0, %0	4, %100	4, %100	0.109
18,50-24,99	28, %33,7	55, %66,3	83, %100	
25.00-29,99	23, %22,5	79, %77,5	102, %100	
30 ve yukarısı	8, %18,2	36, %81,8	44, %100	
TOPLAM	59,%25,3	174,%74,7	233, %100	

Chi-square=6,064

P=0,109; P<0,05

Yaş: 20'nin altı yaş grubundaki hastaların (n=10) 1'inde (%10) gebelik görülürken 9'unda (%90) gebelik görülmedi. 21-30 yaş arası hastaların (n=110) 37'sinde (%33,6) gebelik görülürken 73'ünde (%66,4) gebelik görülmedi. 31-40 yaş arası hastaların (n=113) 21'inde (%18,6) gebelik görülürken 92'sinde (%81,4) gebelik görülmedi (Tablo 4-2).

Tablo 4-2: Yaş ile gebelik arasındaki ilişki.

YAŞ	GEBE OLAN n=59, n(%)=25,3	GEBE OLMAYAN n=174, n(%)=74,7	TOPLAM	P
20'nin altı	1, %10	9, %90	10, %100	0,019
21—30	37, %33,6	73, %66,4	110, %100	
31—40	21, %18,6	92, %81,4	113, %100	
TOPLAM	59, %25,3	174,%74,7	233, %100	

Chi-square=7,976

P=0,019; P<0,05

Endometriyum kalınlığı: Embriyo transferi yapılan hastalarda endometriyum kalınlığı 8 mm. ve altında olan toplam 46 hastanın 7sinde (%15,2) gebelik görülürken 39'unda (%84,4) gebelik görülmedi. Endometriyum kalınlığı 8-12 mm. arasında olan toplam 123 hastanın 30'unda (%24,4) gebelik görülürken 93'ünde (%75,6) gebelik görülmedi. Endometriyum kalınlığı 12 mm. ve yukarısı olan toplam 64 hastanın 22'sinde (%34,4) gebelik görülürken 42'sinde (%65,6) gebelik görülmedi (Tablo 4-3).

Tablo 4-3: Hastalarda endometriyum kalınlığı ile gebelik arasındaki ilişki.

ENDO.KAL	GEBE OLAN n=59, n(%)=25,3	GEBE OLMAYAN n=174, n(%)=74,7	TOPLAM	P
8 ve küçük	7, %15,2	39, %84,4	46, %100	0,070
8—12	30, %24,4	93, %75,6	123, %100	
12 ve yukarısı	22, %34,4	42, %65,6	64, %100	
TOPLAM	59, %25,3	174,%74,7	233, %100	

Chi-square=5,314

P=0,070; P<0,05

Muayenede sayılan follikül sayısı: Muayene sırasında her iki ovaryumda sayılan 0-10 arası follikül sayılan toplam 195 hastanın 47'sinde (%24,1) gebelik görülürken, 148'inde (%75,9) gebelik gözlenmedi. 11-20 folliküle sahip 38 hastanın 12'sinde (%31,6) gebelik görülürken, 26'sında (%68,4) gebelik gözlenmedi (Tablo 4-4).

OPU'da Aspire Edilen Follikül Sayısı: OPU işlemi sırasında aspire edilen 0-10 arasında folliküle sahip olan 67 hastanın 19'unda (%28,4) gebelik görülürken, 48'inde (%71,6) gebelik gözlenmedi. Follikül sayısı 11-20 arası olan toplam 101 hastanın 21'inde (%20,8) gebelik görülürken, 80'inde (%79,2) gebelik gözlenmedi. 21-30 arası folliküle sahip toplam 44 hastanın 16'sında (%36,4) gebelik görülürken 28'inde (%63,6) gebelik görülmedi. Follikül sayısı 31-50 arası olan toplam 21 hastanın 3'ünde (%14,3) gebelik görülürken 18'inde (%85,7) gebelik görülmedi (Tablo 4-5)

Tablo 4-4: Muayene sırasında sayılan follikül sayısı ile gebelik arasındaki ilişki.

MUA.SAY.FOL.SAY	GEBE OLAN n=59, n(%)=25,3	GEBE OLMAYAN n=174, n(%)=74,7	TOPLAM	P
0—10	47, %24,1	148, %75,9	195, %100	0,332
11—20	12, %31,6	26, %68,4	38, %100	
TOPLAM	59, %25,3	174,%74,7	233, %100	

Chi-square=0,940

P=0,332; P<0,05

Tablo 4-5: OPU'da aspire edilen follikül sayısı ve gebelikle ilişkisi.

OPU'DA ASP. ED. FOL.SAY.	GEBE OLAN n=59, n(%)=25,3	GEBE OLMAYAN n=174, n(%)=74,7	TOPLAM	P
0—10	19, %28,4	48, %71,6	67, %100	0,132
11—20	21, %20,8	80, %79,2	101, %100	
21—30	16, %36,4	28, %63,6	44, %100	
31—50	3, %14,3	18, %85,7	21, %100	
TOPLAM	59, %25,3	174,%74,7	233, %100	

Chi-square=5,612

P=0,132; P<0,05

OPU'da Toplanan Yumurta Sayısı: OPU'da toplanan yumurta sayısı 0-10 arası olan toplam 119 hastadan 31'inde (%26,1) gebelik görülürken, 88'inde (%73,9) gebelik görülmedi. Toplanan yumurta sayısı 11-20 arası olan toplam 88 hastanın 21'inde (%23,9) gebelik görülürken, 67'sinde (%76,1) gebelik görülmedi. 21-30 arasında yumurta toplanan 20 hastanın 6'sında (%30) gebelik görüldü, 14'ünde (%70) gebelik görülmedi. OPU'da toplanan yumurta sayısı 31-40 arasında olan 6 hastanın 1'inde (%16,7) gebelik görülürken, 5'inde (%83,3) gebelik görülmedi (Tablo 4-6).

Tablo 4-6: OPU'da toplanan yumurta sayısı ve gebelik ile ilişkisi

OPU'DA TOP.YUM.SAY.	GEBE OLAN n=59, n(%)=25,3	GEBE OLMAYAN N=174, n(%)=74,7	TOPLAM	P
0—10	31, %26,1	88, %73,9	119, %100	0,889
11—20	21, %23,9	67, %76,1	88, %100	
21—30	6, %30	14, %70	20, %100	
31—40	1, %16,7	5, %83,3	6, %100	
TOPLAM	59, %25,3	174,%74,7	233, %100	

Chi-square=0,602

P=0,889; P<0,05

ET'de Verilen Embriyoların Sayısı: ET'de 1 embriyonun verildiği toplam 30 hastanın 3'ünde (%10) gebelik görülürken, 27'sinde (%90) gebelik gözlenmedi. 2 embriyo verilen toplam 39 hastanın 8'inde (%20,5) gebelik gözlemlenirken 31'inde (%79,5) gebelik görülmedi. 3 embriyo verilen toplam 126 hastanın 37'sinde (%29,4) 89'unda (%70,6) gebelik gözlenmedi. 4 embriyo verilen toplam 113 hastadan 11'inde (%32,4) gebelik görülürken 23'ünde (%67,6) gebelik görülmedi. 5 embriyo verilen toplam 4 hastanın tamamında gebelik görülmedi (Tablo 4-7).

Tablo 4-7: ET'de verilen embriyo sayısı ile gebelik arasındaki ilişki.

ET'DE VER.EMB.SAY	GEBE OLAN N=59, n(%)=25,3	GEBE OLMAYAN n=174, n(%)=74,7	TOPLAM	P
1	3, %10	27, %90	30, %100	0,110
2	8, %20,5	31, %79,5	39, %100	
3	37, %29,4	89, %70,6	126, %100	
4	11, %32,4	23, %81,4	34, %100	
5	0, %0	4, %100	4, %100	
TOPLAM	59, %25,3	174,%74,7	233, %100	

Chi-square=7,536

P=0,110; P<0,05

ET'de Verilen Embriyoların Grade'leri: ET'de verilen embriyolarda 1 grade'li toplam 18 hastanın 6'sında (%33,3) gebelik görülürken, 12'sinde (%66,7) gebelik görülmedi. İki grade'li toplam 34 hastadan 11'inde (%32,4) gebelik görülürken, 23'ünde (%67,6) gebelik görülmedi. Üç grade'li toplam 112 hastadan 30'unda (%26,8) gebelik görülürken 82'sinde (%73,2) gebelik görülmedi. Dört grade'li toplam 57 hastadan 10'unda (%17,5) gebelik görülürken, 47'sinde (%82,5) gebelik görülmedi. Beş grade'li toplam 12 hastadan 2'sinde (%16,7) gebelik görülürken, 10'unda (%83,3) gebelik görülmedi (Tablo 4-8).

Tablo 4-8: ET işleminde verilen embriyoların Grade'leri ile gebelik arasındaki ilişki.

ET'DE VER. EMB.GRA	GEBE OLAN N=59, n(%)=25,3	GEBE OLMAYAN N=174, n(%)=74,7	TOPLAM	P
1	6, %33,3	12, %66,7	18, %100	0,416
2	11, %32,4	23, %67,6	34, %100	
3	30, %26,8	82, %73,2	112, %100	
4	10, %17,5	47, %82,5	57, %100	
5	2, %16,7	10, %83,3	12, %100	
TOPLAM	59, %25,3	174, %74,7	233, %100	

Chi-square=3,926

P=0,416; P<0,05

Triple oluşumu: Triple oluşumu görülen toplam 191 hastanın 55'inde (%28,8) gebelik görülürken, 136'sında (%71,2) gebelik görülmedi. Triple oluşumu görülmeyen toplam 42 hasatadan 4'ünde (%9,5) gebelik görülürken, 38'inde (%90,5) gebelik görülmedi (Tablo 4-9).

Tablo 4-9: Triple oluşumu ile gebelik arasındaki ilişki

TRİPLE OLUŞUMU	GEBE OLAN SAYI (%)	GEBE OLMAYAN SAYI (%)	TOPLAM
OLMAYAN	4 (%9.5)	38 (%90.5)	42
OLAN	55 (%28.8)	136 (%71.2)	191
TOPLAM	59 (%25,3)	174 (%74,7)	233

Chi-square=5,78

P=0,016; P < 0,05

5.TARTIŞMA

İlk olarak 1944 yılında Boston’lu iki araştırmacı; John Rock ve Miriam Menkin yıllar süren çalışmalarının sonucunda ilk kez vücut dışında insan oositinin fertilizasyonunu duyurmuşlardır. Bu olaydan 34 yıl sonra 1978 yılında İngiliz araştırmacılar Robert Edwards ve Patrick Steptoe’nun in vitro fertilizasyon (IVF) ile doğan ilk bebeği bildirmeleri üzerine üreme tıbbı için büyük bir dönüm noktası olmuştur (16). Günümüzde de bir çok IVF kliniğinde deneysel ve istatistiksel bir çok çalışma yapılmaktadır.

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Tüp Bebek Ünitesi tarafından hazırlanan ‘İn-vitro Fertilizasyon ve Embriyo Transferi Ünitesi Hasta Takip ve Tedavi Formu’ adı altında tutulan resmi kayıt formlarındaki bilgilerin derlenmesi şeklinde yaptığımız bu çalışmada yaş, BKİ, follikül sayısı, endometriyum kalınlığı, OPU’da aspire edilen follikül sayısı, muayenede sayılan follikül sayısı, ET’de verilen embriyo sayısı, ET’de verilen embriyoların gradeleri, triple oluşumu olmak üzere 9 parametre üzerinde inceleme yapıldı.

Gillet ve arkadaşları (18) 2006 yılında yaptıkları bir çalışmada ÜYTE tedavisi gören 504 kadını BKİ’lerine göre beş gruba ayırmışlardır. Bu gruplar BKİ<18, BKİ:18-32, BKİ 32-35, BKİ 35<40 ve BKİ ≥40 gruplarıdır. Bu grupları IVF’deki başarılarına göre değerlendirdiklerinde, BKİ <18 olan 8 kadından 2’si (%25), BKİ 18-32 arasında olan 447 kadının 190’ında (%42,5) başarılı bulunmuş, BKİ 32-35 olan 30 kadından 11’inde

(%36,6) başarılı sonuç alınmıştır. BKİ 35 <40 olan 17 kadının 5'inde (%29,41) başarı elde edilmiş, BKİ \geq 40 olan 4 kadında ise hiç klinik gebelik elde edilememiştir. Yani yapılan bu çalışmanın sonunda yüksek veya düşük BKİ'li kadınlarda IVF tedavisinin daha az başarılı sonuç verdiği görülmüştür. Bizim bulgularımızda BKİ 18,49 ve altı 4 kişiden hiç birinde klinik gebelik görülmedi, 18,5-24,99 arası 83 kadından 28'inde (33,7) gebelik görülürken, 55'inde (%66,3) gebelik görülmedi, 25-29,9 arası 102 kadında 23'ünde (%22,5) gebelik görülürken, 79'unda (%77,5) gebelik görülmedi, 30 ve yukarı toplam 44 kadından 8'inde (%18,2) gebelik görülürken 36'sında (%81,8) gebelik görülmedi. Yani yaptığımız çalışmanın sonucunda Gillet ve ark. yaptığı bu çalışmayı destekler nitelikte olup, BKİ'inin yüksek ve düşük olmasının kadınlarda IVF tedavisinin daha az başarılı sonuç verdiğini görmekteyiz.

Kadınlar üreyebilme süreleri içerisinde artan yaş ile birlikte genellikle döllenebilirliklerinde gittikçe artan bir düşüş gösterme eğilimindedirler. Döllenebilirliklerindeki bu düşüş, yumurta kalitesindeki değişikliklere, ovulasyon ve etkinliğine, cinsel işleve, rahim sağlığını ve hamilelik komplikasyon riskini de içeren pek çok potansiyel nedene bağlanabilir (19). Yaşlanma ile endometriyum hem implantasyon hem de embriyonun gelişimini destekleme kabiliyetini yitirdiği için, uterusun işlevini olumsuz yönde etkiler. Kadında yumurta sayısı yaşla birlikte menapoza doğru azalma eğilimindedir. Yumurta kalitesi ve kısmen artan aneuploididen dolayı artan yaşla birlikte gebelik şansı da azalır (20). Kırk yaş üzerindeki kadınlarda gözlenen doğurganlıktaki azalmanın yaşa bağlı aneuploididen daha çok, dejenere olmuş yumurtalarla bağlantılı olduğu hipotezi, 1993-1995 yılları boyunca Singapur General Hospital'daki 158 in-vitro döllenme siklusundan tamamına maruz kalan 24-44 yaşları arasındaki 151 kadında incelendi (21). Döllenme oranları 34 ve daha genç olan kadınlarda %50,9; 35-39 yaşları arasındaki kadınlarda %49,3 ve 40 ile üstü yaştaki kadınlarda ise % 37,9'du (21). Başka bir faktör olarak, son yıllarda çiftlerin yaşı ilerledikçe koitus sıklığının azaldığı, bunun da dolaylı yoldan infertiliteye katkıda bulunduğunu iddia eden görüşler de mevcuttur (16). Bizim çalışmamızda 20 yaş altı 10 kadından %10'nunda gebelik görülürken, 21-30 yaş arası tedavi gören 110 kadından %33,6'sinde, yaş grubu 31-40 olan toplam 113 kadında %18,6'sinde gebelik görüldü. Tedavi gören hastalarda, yaş grubuna göre en yüksek gebelik oranı 21-30 yaş arasında olanlardaydı ve burada elde edilen sonuçlar Lim ve Tsakok'un (21) yukarıda belirtilen

bulguları ile uyuşmakta, ayrıca, artan yaş ile birlikte klinik gebeliğin azaldığı da görülmektedir.

Endometriyum, doğurganlığı etkileyen bir faktör olarak düşünülebilir ve belirleyici seçenekler yakın gelecekte geliştirilebilir. İnsan embriyosunun süreci, anne ve embriyo arasında ince bir diyalogu gerektirmektedir. Anne endometriyumunun embriyoyu kabul edebilmesi için önceden hazırlıklı olması gerekir (22). Endometriyum, kabul edici (reseptif) bir hale gelinceye kadar belirgin morfolojik değişiklikler geçirir. Hoozemans ve ark. (23) bu morfolojik değişikliklerin ilk defa Noyes, Herting ve Rock tarafından 1950'lerin başında tanımlandığını ve bu değişiklikler seks steroid hormonları östrojen ve progesteron kontrolü altında gerçekleştiği belirtilmiştir. Şimdiki bilgilerimize göre endometriyum, diğer pek çok faktör gibi doğurganlığı etkileyen bir faktördür ve yetersiz bir endometriyum, doğurganlığı etkileyen ana faktörlerdendir (24).

Ayrıca, Jinekoloji ve Obstetrik dergisinde yayınlanan bir araştırmada endometriyum kalınlığı için ortalama ve medyan değerler sırasıyla 9,95 ve 10 mm idi (dağılım 7-15 mm) ve bu çalışmada gebelikle sonuçlanan ET siklusları ile başarısız sonuçlanan ET siklusları karşılaştırıldığında, gruplar arasında endometriyumun kalınlık farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (25).

Bizim yaptığımız araştırmada endometriyum kalınlığına göre değerlendirme yapıldığında endometriyum kalınlığı 8 mm altında olanlarda gebelik görülme oranı %15,2 iken endometriyum kalınlığı 8-12 mm arasında olanlarda %24,4, 12 mm ve yukarısında olanlarda ise bu oran %34,4'tür. Bu çalışmanın sonucunda elde edilen verilere göre endometriyum kalınlığı 12 mm ve yukarısında olanlarda gebelik oranı daha yüksektir. Rashidi ve ark (12) yaptıkları çalışmada 9-12 mm arasındaki hastalarda gebelik oranının %23,8 olduğunu, 9mm'nin altı ve 12 mm'nin üstünde olan hastalarda ise gebelik olmadığını belirtmişlerdir. Yapılan bu çalışmada 8 mm altında ve 12 mm üstünde hasta sayısının düşük olması gebelik %'lerinin 0 olmasına yol açmıştır. Bergh ve arkadaşları da (26) endometrial kalınlığı 9 mm altında olan hastalarda gebeliğin olmadığını belirtmişlerdir.

Bizim çalışmamızda endometriyum kalınlığına göre, gebeliğin en yüksek olduğu grup 12 mm üzerinde olanlardır (%34,4). Bu sonuç Rashidi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmanın sonuçları ile çelişmektedir. Rashidi ve arkadaşları en yüksek gebelik oranını, endometriyum kalınlığının 9-12 mm olduğu grupta bulmuşlardır (%23,8). Bizim

çalışmamızda bu grubun oranı %24.4'tür ve iki çalışmada bu gruba dahil hastalarda gebelik oranı birbirine benzerdir. Rashidi ve arkadaşlarının hasta perspektifinde, 8 mm altı ve 12 mm üstü hasta sayısı çok düşüktür (sırasıyla 15 ve 9 hasta) ve çelişkili görülen sonuçların, belirtilen çalışmada incelenen hasta sayısının çok düşük olmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Sekresyon fazında endometriyum ekojenite yönünden en büyük kalınlığa ulaşır. Ultrasonik incelemeler ile stromal ödeme bağlı olarak luteal faz esnasında endometriyumun daha ekojen hale gelmesi triple oluşumunun esas sebebidir. Ekojenik endometriyuma ek olarak, muhtemelen myometriyum tabakasının kabarmasına ek olarak endometriyumun altında hipoeoik bir bant belirir. Bu bant triple oluşumu olarak adlandırılır (15).

Endometriyal şekilleri homojen olarak ortaya konan ve folliküler evrenin sonunda transvajinal ultrasonografi ile gözlenen hastalar üzerinde Hock ve arkadaşlarının (27) yaptığı bir çalışmada, 223 hasta değerlendirilmiştir. 173 hasta trilaminar dönemdeyken, 50'si homojen endometriyuma sahipti. Bu çalışmada, klinik gebelik oranı, homojen grupta %8, trilaminar grupta %21 olarak bulunmuştur. Homojen şekle karşı bir trilaminar oluşumlu (triple) hastada gebeliğe ulaşma şansı regresyon analizi ile incelendiğinde, trilaminar bant oluşumu pozitif bulunan bir kadının 3,1 kez daha fazla gebe olmaya yatkın olduğu gözlenmiştir (27). Check ve ark (28) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise, IVF-ET için ovaryan uyarı sırasında hastaları incelemişler ve endometriyal kalınlık ile trilaminar bant oluşumunun gebelik oluşturmada önemli bir parametre olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca, aynı araştırmacıların başka bir çalışmasında endometriyal kalınlığın tek başına IVF-ET olan hastalarda yüksek gebelik oranı ile ilişkili olduğunu rapor etmişlerdir (29). Bu çalışmalardaki çelişkili bulguların sebebi, değerlendirilen hasta sayısının az olmasına bağlanabilir. Endometriyumun sonografik şekli menstrual döngü sırasında değişen trilaminar şekil, geç folliküler dönemde görülür ve endometriyumun ekojen bazali dışında, endometriyumun yüzeyine zıt merkezden yükselir (30). Bu ekojen sınırlar arasındaki hipoeoik doku, düz ve sekresyon miktarındaki seyrek bezlerle ilgilidir. Endometriyumun bu sekresyonu ekzojen müküs ve glikojenin geniş miktarını içerir. Menstrual ve erken proliferatif dönemlerde görülen hipoeoik homojen şekil artışına sebep olur (31,32).

Bizim çalışmamızda triple oluşumunun değerlendirilmesi yapıldığında, triple oluşumuna sahip tedavi gören toplam 191 kadının 55'inde (%28,8) klinik gebelik görülürken, triple oluşumu olmayan toplam 42 kadından 4'ünde (%9,5) gebelik görüldü. Yani yaptığımız çalışmanın sonucuna göre, triple oluşumunun varlığı hastaların gebe kalma ihtimallerinin yüksek olduğunu göstermektedir.

Biz bu çalışmada, muayene sırasında tespit edilen follikül sayısı ile gebelik arasındaki ilişkiyi de inceledik ve adetin 3. gününde çapları 2-5 mm arasındaki antral folliküllerin miktarını belirledik. Bu antral folliküllerden dominant folliküller gelişerek OPU işlemi sırasında aspire edilen folliküllere dönüşmektedirler (16). Yaptığımız kaynak taramasında, muayene sırasındaki follikül sayısını değerlendiren bir çalışmaya rastlayamadık. Çalışmamızda, follikül sayısı 0-10 arasında bulunan toplam 195 hastanın %24,1'inde, 11-20 arasında olan 38 kadının %31,6'sında gebelik görülmüştür. Bu iki grup arasında istatistiksel olarak bir farklılık bulunmamıştır.

Over rezervi, overde follikülogenez ve steroidogenez fonksiyonunu yerine getirecek folliküllerin sayı ve kalitesindeki yeterliliği tanımlamaktadır. Over rezervi kadının fertilizasyon yeteneği ile ilişkilidir. Kadın fertilitesi genellikle menapoza yaklaşık 20 yıl kala azalmaya başlar. Aslında over rezervindeki azalma intrauterin dönemde, gebeliğin 20. haftasından itibaren başlayan bir süreçtir. Bu döneme kadar hızlı mitoz bölünme ile sayıları 6-7 milyona kadar ulaşan oogoniumların çoğalması durur, sonra azalmaya başlayarak sayısı doğumda 1-2 milyona, puberte başlangıcında 300-400 bin civarına düşer. Bunlar arasından her ay ortalama 1000 tanesi follikülün ovulasyona gidişinin farklı aşamalarında atreziye uğrar. Atrezi süreci 37 yaşından itibaren menapoza kadar giderek hızlanmaktadır (16, 33). OPU'da aspire edilen follikül sayısı genellikle over rezervi ve dolayısıyla da kadın yaşıyla ilişkilidir. Çok çeşitli kaynaklar taranmasına rağmen aspire edilen follikül sayısı hakkında direkt bir bilgiye ulaşamadık. Bizim yaptığımız çalışmada OPU'da aspire edilen follikül sayısının değerlendirilmesi yapıldığında; follikül sayısı 0-10 arası olan 67 kadından % 28,4'ünde ve 11-20 arası olan 101 kadından %20,8'inde gebelik görüldü. IVF tedavisi gören ve OPU'da aspire edilen follikül sayısı 21-30 arası olan 44 hastanın %36,4'ünde gebelik görülürken, follikül sayısı 31-50 arası olan 21 hastadan %3'ünde gebelik görüldü. Gruplar arasındaki sonuçlar istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur.

OPU'da toplanan yumurta sayısı da genellikle over rezervi ile yakından ilişkilidir. Aspire edilen yumurta sayısı embriyoloji laboratuvarında yapılan işlemler sırasında herhangi bir hasara yol açılmamışsa sayı genellikle aynı çıkmaktadır. OPU'da toplanan oositlerin sayısı çok değişkendir, 0-38 arasında değişebilmektedir. Bizim çalışmamızda OPU'da toplanan yumurta sayısının değerlendirilmesi yapıldığında, 0-10 arası yumurtaya sahip toplam 119 kadından %26,1'inde gebelik gözlenirken, 11-20 arası yumurtaya sahip toplam 88 kadının % 23,9'inde gebelik görüldü. OPU'da toplanan yumurta sayısı 21-30 arası olan toplam 20 hastanın %30'unda gebelik görülürken, 31-40 arası yumurta toplanan toplam 6 kadından %16,7'sinde gebelik görüldü. Gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.

ET işlemi, seçilen ya da eldeki mevcut embriyoların hastanın uterusuna nakledilmesi işlemidir. İkinci veya üçüncü günde yapılabildiği gibi blastokist aşamasında da (5-6. gün) yapılabilmektedir. Transfer günü ET işleminde kullanılacak embriyoların seçimi hastanın yaşı, önceki denemelerin sayısı ve sonucu, uterus anomalisi olup olmadığı, bazal FSH değeri, hücrelerin (blastomer) eşit büyüklükte olup olmaması gibi faktörlere bakılarak yapılır ve genellikle 3 embriyo vermeye çalışılır. Kadın yaşı genç ise daha az embriyo verilebilir. Gardner ve ark (34) 2004 yılında yaptıkları bir çalışmada çoğul gebeliği önlemek için bir tane blastokist verilmesinin etkili bir yöntem olabileceğini iddia etmektedirler. Ünitimizde genellikle 3 embriyo transferi yapılmaktadır. Başarısız denemeleri olan hastalarda 5 embriyo transferinin yapıldığı vakalar da bulunmaktadır. Ünitimizde genellikle 3. gün transferi tercih edilmektedir. Yardımcı üreme tekniklerinde birden fazla embriyonun transfer edilmesi ile gebelik oluşması arasında doğru bir orantının olduğu bilinmektedir. Ancak fazla sayıda embriyo transferi yapılmasıyla çoğul gebelik riskinin artacağı da ayrı bir gerçektir (14,16,27,34).

Elde edilen verilere göre, IVF tedavisi sırasında ET'de verilen embriyoların sayısına göre, bir embriyo verilen toplam 30 hastanın %10'unda, iki embriyo verilen toplam 39 kadından %20,5'inde, üç embriyo verilen toplam 126 kadının %29,4'sinde, dört embriyo verilen toplam 34 hastanın %32,4'ünde gebelik görülürken, beş embriyo verilen toplam 4 kadının hiç birinde gebelik görülmemiştir.

ET yapılmadan önce deneme transferinin yapılması, işlem sırasında ortaya çıkabilecek olumsuzlukları saptamak ve bunları ortadan kaldırmak açısından yararlıdır. Transfer günü seçilen ve transferi planlanan en uygun sayıdaki, en kaliteli embriyoları vücut

ısısında (37°C'de) nakletmek ideal ET biçimidir. Bu yüzden işlemde kullanılacak embriyoların derecelendirilmesi (skorlanması) çok önemlidir. Bu amaçla bir çok merkezde pek çok skorlama biçimi uygulanmaktadır. Halen tüm dünya ülkelerinin ortak kullandığı ve benimsenmiş bir skorlama sistemi yoktur.

Günümüzde uygulanmakta olan yardımla üreme tekniklerinin en büyük sorunlarından birisi, bu teknolojinin üreme yaşı ilerlemiş kadınlar üzerinde uygulandığı zaman düşük doğum oranının, bazı merkezlerde hala üstesinden gelinememiş olmasıdır. Yaşa bağlı fertilitite azalmasının tek bir majör ya da çokluk nedeniyle mi ileri geldiği hala belirgin değildir. Bu konuda öne çıkan etken, anöploididen dolayı oosit kalitesindeki azalma olarak belirtilmektedir (35).

Yaptığımız çalışmada ET'de transfer edilen embriyoları değerlendirirken grade 1'deki yumurtaların en kaliteli olduğu bilinmektedir. Buna bağlı olarak da elde ettiğimiz oranlar grade 1'de %33,3, grade 2'de %32,4, grade 3'te 26,8, grade 4'de %17,5 ve grade 5'de %16,7 oranında gebelik görülmüştür. Bulgularımızdan da anlaşıldığı gibi embriyo kalitesi düştükçe gebe kalma oranları da düşmektedir ancak gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamsızdır.

YÜT'nin geleceği önümüzdeki yıllarda muhtemelen kök hücrelerle yakından bağlantılı hale gelecektir. Erişkin kök hücresi, kadavradan alınan kök hücresi ve embriyonik olmayan kök hücresi gibi alanlarda yapılacak olan değerli çalışmalar bu konuda yol gösterici olacaktır (36). Yaptığımız çalışma sadece kadın parametreleri üzerinden yürütülmüştür. Yardımcı üreme teknolojilerinde sperm morfolojisi, fertilizasyon ve gebelik oranlarını belirlemede en önemli parametrelerden biridir (37).

Yaptığımız bu kısıtlı çalışma, infertilite üzerinde yaş ve triple oluşumunun istatistiksel olarak önemli olabileceğini düşündürmektedir. Ancak infertilite gibi çok kompleks bir alanda sadece bu parametrelerin yeterli olamayacağı doğaldır. İnfertilite üzerinde çok kapsamlı ve multisentrik çalışmaların önümüzdeki yıllarda daha başarılı sonuçlara imza atacağı kanısındayız.

6.KAYNAKLAR

- 1-Vicdan K, Işık A Z. İn Vitro Fertilizasyon ve Mikromanipülasyon Uygulamalarında Laboratuar (1.Baskı), Ankara 1999
- 2-Meniru IG. Cambridge agauide to anfertility Management and Assisted Reproduction. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 2001:21,33,155
- 3-Hassa H. İnfertil Olgularda Klinik Yaklaşım ve IVF Laboratuar Uygulamaları, (1. Baskı), Osmangazi Üniversitesi Yayınları, Eskişehir 2003:229-2409
- 4-Arıncı K, Elhan A. Kemikler Eklemler Kaslar İç organlar. (3.Baskı), Güneş Kitabevi, Ankara, 2001:337-339
- 5-Tekelioğlu M. Özel Histoloji İnce Yapı ve Gelişme, (1. Baskı), Hacettepe Üniversitesi Yayınları, Ankara, 2002:216-223
- 6-Gartner PL, Hiatt JI. Color Textbook of Histology, (2 nd ed), W.B.Saunders Company Philadelphia/London/N.Y/Sidney/Toronto 2001:461-492
- 7-Junqueira L.C, Carneiro J.Temel Histoloji. Doç. Dr. Seyhun Solakoğlu. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul 2006:431-441
- 8-Kierszenbaum L A. Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş. Palme yayıncılık, Ankara, 2006:531-585

- 9-Demir R. İnsanın Gelişimi ve İmplantasyon Biyolojisi. Palme Yayıncılık, Ankara, 1995:49-53
- 10-Sadler T W. Langman's medikal Embriyoloji, (9. Baskı), Palme Yayıncılık, Ankara, 2005:313-355
- 11-Patrizio P, Tucker JM, Guelman V. A Color Atlas for Human Assisted Reproduction Laboratory and Clinical Insights, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, Baltimore, New York, London, Buenos, Hong Kong, Sydney, Tokyo, 2003: 27,29,32,33,53,54,63,64,65
- 12-Rashidi BH, Sadeghi M, Jafarabadi M, Nejad EST. Relation between pregnancy rates following in vitro fertilization or intrastoplazmic. European Journal of obstetrics & Reproductive Biology 2005; 120:179-184
- 13-DeCherney AH, Nathan L. Current Obstetric & Gynecologic Diagnosis & Treatment. (ninth edition), The McGraw-Hill Companies, New York, 2003:59
- 14-Kahraman S, Kumtepe Y, Sertyel S, Dönmez E, Benkhalifa M, Findikli N, Vanderzwalmen P. Pronuklear morphology scoring and chromozomal status of embryos in severe male infertility. Human Reprod. 2002; 17:3193-3200
- 15-Fleischer AC, Manning FA,Jeanty P,Romero R.Obstetrik ve Jinekolojide Sonografi, Prensipler ve Klinik Uygulamalar .(5. baskı), A Simon & Schuster Company, 1996:926
- 16-Çiçek MN, Akyürek C, Çelik Ç, Haberal A (editörler) Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Güneş Kitabevi Ltd Şti, Ankara, 2004:99-101,1031,075,1081,1086
- 17-Rabe T, Diedrich K,Strowitzki T. Manual on Assited Reproduction, (2n Updated Edition), Springer, Heildelberg, Germany 2000:391
- 18-Gillet WR, Putt T, Farquhar C M. Prioritising for fertility treatments- the effect of excluding women with a high body mass index. BJOG 2006; 113:1218-1221
- 19-Eshre Capri Workshop Group .Fertility and agening Human Reproduction Update 2005;.11:261-276
- 20-Klein J, Sauer M V. Assessing fertility in women of advanced reproductive age.Am J Obstet Gynecol, 185;758

- 21-Lim AS, Tsakok FM. Age related decline in fertility:a link to degenerative oocytes? *Fertility and Sterility* 1997; 68:265-71
- 22-Giudice LC. Potential biochemical markers of uterine receptivity. *Hum. Reprod* 1999; 14 (suppl): 3-16
- 23-Hoozemans DA, Schats R, Lambalk CB, Hompes PGA. Human embryo implantation:current knowledge and clinical implications in assisted reproductive technology.*Reprod Biomed Online* 2004; 9,692-715,
- 24-Strowitzki T, Grmeyer A, Popouici R and von Wolf M. The human endometrium as a fertility-determining factor.*Human Repruduc update* 2006; 12:617-630
- 25-Elter K, Gökaslan H, Güllüoğlu G, Kavak Z N. Does increased endometrial thickness have any effect on pregnancy rates after ICSI-ET? *Jinekolojik ve Obstetrik Dergisi* 2006; 19(3):142-146
- 26-Berg C, Torbjorn H, Nilsson L. Sonographic evaluation of the endometrium in in vitro fertilization IVF cycles.A way to predict pregnancy? *Acta Obstet Gynecol Scand* 1992; 71:624-8
- 27-Hock DL, Bahrer KM, Ananth CV, Kemmenn E. Sonographic assessment of endometrial pattern and thickness in patients treated with clomiphene citrat,human menopausal gonodotropins, and intrauterine insemination. *Fertil Steril* 1997;68:242-5
- 28-Check JH, Nowroozi K,Choe J, Dietterich C. Influence of endometrial thicness and echo patterns on pregnancy rates during in vitro fertilizasyon. *Fertil steril* 1991;56:1173-5
- 29-Check JH, Nowroozi K, Choe J, Dietterich C.The effect of endometriyal thickness and echo pattern on in vitro fertilization outcome in donor oocyte-embryo transfer cycle.*Fertil Steril* 1993;59:72-5
- 30-Saleh WA, Milki A. Songraphic evaluation of the endometrium in fertility.*Seminars in reproductive Endocrinology* 1995;13:152-61
- 31-Fleischer AC, Kalemeris GC, Enman SS. Sonographic depiction of the endometrium during normal cycles.*Ultrasonud. Med Biol* 1986;12:271-7

32-Forrest TS, Elyoderani MK, Muilenbug MC, Bewtra C, Kalbe WT, Sullivan P. Cyclic endometrial changes:US assessment with histologic correlation. Radiology 1988;167:233-7

33-Can A, Erdemli E, Evirgen O, Semiz O. Ovosit Manüplasyonları, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi,.Ankara, 2001:1-88

34-Gardner DK, Surrey E, Minjarez D,Leitz A, Stevens J, Schoolcraft WB. Singe blastocyst transfer: a prospective randomized trial. Fertil Steril 2004;81:551-5

35-Munne S, Alikani M, Tomkin G et al. Embryo morphology, developmental rates, and maternal age are correlated with crhromosome abnormalities. Fertil Steril 1995;54:382-391

36-Karaöz E, Ovalı E. Kök Hücreler. (1. Baskı).Derya kitapevi, İstanbul, 2004:64-156

37-Orhon E, Günalp S(moderatörler) .İkinci Ulusal İn Vitro Fertilizasyon Simpozyumu. Yardımcı Üreme Teknikleri İçin Sperm Hazırlama Yöntemleri. Teorik ve Pratik Kurs Kitapçığı GATA Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Ankara, 24 Nisan 2002;1-34

ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Ankara'da doğdu. İlk ve ortaokulu İzmir'de, lise öğretimini Ankara'da tamamladı. 2000 yılında kazandığı Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2005 yılında mezun oldu. Aynı yıl, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne bağlı olarak Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim dalında yüksek lisans öğretimine başladı. Halen aynı bölümde yüksek lisans öğrencisi olarak eğitime devam etmektedir.