



T.C.  
BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
KLİNİK EMBRİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

ERKEK FAKTÖRLÜ HASTALARDA EMBRİYO GELİŞİMİ VE  
IVF SONUÇLARININ PREİMLANTASYON GENETİK TANI  
İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Emrah Güngör

DANIŞMAN

Prof. Dr. Tülay İrez

İSTANBUL

2019



T.C.  
BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
KLİNİK EMBRİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

ERKEK FAKTÖRLÜ HASTALARDA EMBRİYO GELİŞİMİ VE  
IVF SONUÇLARININ PREİMLANTASYON GENETİK TANI  
İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

Emrah Güngör

DANIŞMAN

Prof. Dr. Tülay İrez

İSTANBUL

2019

**Anabilim Dalı:** Histoloji ve Embriyoloji  
**Program Adı:** Klinik Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı  
**Öğrencinin Adı Soyadı:** Emrah GÜNGÖR  
**Danışman:** Prof. Dr. Tülay İREZ

Biruni Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında Emrah GÜNGÖR tarafından hazırlanan "Erkek Faktörlü Hastalarda Embriyo Gelişimi ve IVF Sonuçlarının Preimplantasyon Genetik Tanı İle Değerlendirilmesi " adlı tez çalışması jüri tarafından YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:19/07/2019

(Jüri Üyesinin Ünvanı, Adı, Soyadı ve Kurumu)

İmza

Prof. Dr. Tülay İREZ

Biruni Üniversitesi

Prof. Dr. Zeliha YAZICI

Biruni Üniversitesi

Doç. Dr. Meriç KARACAN

Yeni Yüzyıl Üniversitesi

Biruni Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca bu tez jüri tarafından onaylanmış ve Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürü

## I. BEYAN

Bu tezin bana ait olduğunu, tüm aşamalarında etik dışı davranışımın olmadığını, içinde yer alan bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, kullanmış olduğum bütün bilgilere kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin yürütülmesi ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Emrah Güngör



## II. TEŞEKKÜR

“Erkek Faktörlü Hastalarda Embriyo Gelişimi Ve Ivf Sonuçlarının Preimplantasyon Genetik Tanı ile Değerlendirilmesi” konulu tezime katkı ve desteklerinden dolayı danışmanım **Prof.Dr.Tülay İREZ**'e; klinik verilerin temin edilmesinde **Op.Dr.Aret Kamar**'a ve desteğini esirgemeyen sorumlum **Emb. Sevil Ünal**'a teşekkür ederim.



### III. İÇİNDEKİLER

I.BEYAN.....	III
II. TEŞEKKÜR .....	IV
III. İÇİNDEKİLER .....	V
IV. SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	VII
V. TABLOLAR VE GRAFİKLER.....	VIII
VI. ŞEKİL VE RESİMLER LİSTESİ.....	IX
1. ÖZET VE ANAHTAR KELİMLER .....	1
2. ABSTRACT.....	2
3. GİRİŞ VE AMAÇ .....	3
4. GENEL BİLGİLER .....	5
4.1. İnfertilite.....	5
4.1.1. Kadın İnfertilitesi .....	5
4.1.2. Açıklanamayan infertilite.....	6
4.1.3. Erkek infertilitesi.....	7
4.1.3.1. Erkek üreme sistemi ve spermatogenez .....	8
4.1.3.2. Erkek infertilitesi genetik.....	12
4.1.3.3 Semen analizi ve değerlendirmesi.....	15
4.1.3.4. Azoospermi .....	20
4.2.Cerrahi Sperm Elde Etme Teknikleri.....	21
4.3.Yardımcı Üreme Teknikleri .....	22
4.1.1.İntrauterin inseminasyon(IUI).....	22
4.1.2.Klasik in vitro fertilizasyon(IVF).....	23
4.1.3. İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) .....	24
4.4.Fertilizasyon ve Embriyo Gelişimi .....	26
4.5. Preimplantasyon Genetik Testler .....	32
4.4.1.Preimplantasyon genetik tanı (PGT).....	33

4.4.2 Preimplantasyon genetik tarama (PGT-A).....	34
4.6. Embriyo Biyopsi Yöntemleri .....	35
4.5.1. Kutup cismi biyopsisi(PBB) .....	35
4.5.2.Blastomer biyopsisi.....	36
4.5.3.Trofoektoderm biyopsi.....	37
4.6.Preimplantasyon Genetik Tanı Endikasyonları.....	37
4.6.1. Kromozomal anomaliler.....	38
4.6.1.1. Sayısal kromozom anomalileri.....	38
4.6.1.2. Kromozomlardaki yapısal anomaliler .....	39
4.6.2.Tek gen hastalıkları .....	40
4.7. Preimplantasyon Genetik Tanı İçin Kullanılan Yöntemler.....	41
4.7.1. Floresan in situ hibridizasyon (FISH).....	41
4.7.2. Array-karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (a-CGH) .....	42
4.7.3. Yeni nesil dizeleme (Next generation sequencing; NGS).....	42
5. GEREÇ VE YÖNTEM .....	44
6. BULGULAR.....	50
6.1. İstatistik Değerlendirmesi .....	50
7.TARTIŞMA .....	57
8. SONUÇ VE ÖNERİLER .....	61
9. KAYNAKÇA.....	62
10. EKLER.....	76
EK1 .....	76
Etik Kurul Onayı.....	76
11. ÖZGEÇMİŞ .....	78
İNTİHAL RAPORU .....	79

#### IV. SİMGE VE KISALTMALAR LİSTESİ

ICSI	Intra-Cytoplasmic Sperm Injection
CASA	Computer aided sperm analysis
aCGH	Array karşılaştırmalı genomik hibridizasyon
FISH	Floresan in situ hibridizasyon
HLA	Doku uyumluluğu loküs antijeni
GnRH	Gonadotropin salınımını sağlayan hormon
GnRH-a	Gonadotropin salınımını sağlayan hormon agonistleri
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
LH	Lüteinleştirici Hormon
hCG	İnsan koriyonik gonadotropin hormonu
HMG	Human menopozal gonadotropin
IVF	In-vitro fertilizasyon
KOH	Kontrollü ovaryen hiperstimülasyon
NGS	Next Generation Sequencing
PGT-A	Preimplantasyon genetik tarama-anöploidi
TİB	Tekrarlayan implantasyon başarısızlığı
OPU	Yumurta toplama işlemi
SNP	Single-nukleotide polymorphisms
STR	Short Tandem Repeat polymorphisms
USG	Ultrasonografi
ÜYTE	Üremeye yardımcı tedavi
WGA	Tüm Genom Amplifikasyonu
ICM	Inner Cell Mass
PVP	Polivinilpirolidin



## V. TABLOLAR VE GRAFİKLER

<b>Tablo No</b>	<b>Tablo Adı</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1</b>	Erkek infertilitesi nedenleri ve Etiyolojisi .....	8
<b>Tablo 2</b>	Normal Semen Değerleri.....	17
<b>Tablo 3</b>	Kadında anöploidi translokasyon, delesyon bulunduğu gebelik ve doğum sonuçlarının ileri kadın yaşı veya tekrarlayan düşük endikasyonu bulunan kontrol olguları ile kıyaslanması .....	50
<b>Tablo 4</b>	Kadın anöploidi,translokasyon ve delesyon olgularının embriyo gelişiminin kontrol olgularla kıyaslanması.....	51
<b>Tablo 5</b>	Erkekte kromozom anomalisi bulunan olguların kontrollere kıyasla gebelik sonuçları .....	52
<b>Tablo 6</b>	Erkekte sayısal ve yapısal kromozom anomalisi olgularının gebelik ve canlı doğum sonuçları normal semen analizli kontrollerle kıyaslanması.....	52
<b>Tablo 7</b>	Teratospermik olgularda embriyo gelişimi ve PGT normal embriyo gelişimi parametreleri .....	53
<b>Tablo 8</b>	Azoospermik olgularda kontrol ile kıyasla embriyo parametrelerinin ve PGD normal embriyo sayısının kıyaslanması.....	54
<b>Tablo 9</b>	Erkekte translokasyon bulunması durumunda IVF/ICSI sonuçlarının değerlendirilmesi .....	55
<b>Grafik 1</b>	ROC analizi ile gebelik sonucunu etkileyen parametreler .....	56

## VI. ŞEKİL VE RESİMLER LİSTESİ

Şekil No	Őekilin İsmi	Sayfa No
Şekil 1	Spermatogenez .....	11
Şekil 2	Normal sperm kısımları.....	18
Şekil 3	Anormal Sperm Morfolojileri .....	19
Şekil 4	Gv,M1,M2 oosit .....	25
Şekil 5	Fertilizasyon .....	28
Şekil 6	Anormal Fertilizasyon.....	28
Şekil 7	Vokuol ve granüle yapıya sahip embriyo .....	29
Resim 1	Klivaj embriyolarında % 10 oranında fragmantasyon .....	30
Resim 2	Blastosist aşaması embriyoları .....	32
Resim 3	Biyopsi kültür petrisi .....	48
Resim 4	3.gün embriyo biyopsi işlemi .....	48

## 1. ÖZET VE ANAHTAR KELİMLER

Bu çalışmanın amacı, infertilite tedavisi için başvurmuş erkek faktörlü hastalarda hem kromozom anomalilerinin hem de infertiliteye neden olan diğer genetik unsurların sıklığını ve tiplerini belirlemek, saptanan genetik anomaliler ile infertil erkeklerdeki klinik veriler arasındaki ilişkiyi incelemektir.

Çalışmamızda 1 Ocak 2016 ile 31 aralık 2018 tarihleri arasında İstanbul Tüp Bebek Merkezine gelen (n=168) hastanın dosyaları retrospektif olarak incelendi. Bu amaçla Biruni üniversitesi girişimsel olmayan etik kurulundan 28.12.2018 tarih ve 2018/24-02 sayılı etik kurul izni alındı.

Çalışmamızda FISH tekniği ile PGT uygulanan hastalar kromozomal endikasyonlara göre gruplandırılarak anöploidi oranları analiz edildi. Grupların prognostik değerleri ile istatistiksel analiz (SPSS) sonuçlarına göre kromozom anomalisi bulunan erkek faktörlü hastalar (n=22) ile erkek endikasyonu olmayıp semen değerleri normal hasta gruplarının (n=26) ve yaş veya tekrarlayan gebelik kaybı olan (120) toplam 168 hastanın embriyo gelişimi ve ICSI sonuçları incelendi. Kadın genetik özelliği anöploidi, translokasyon ve delesyon bulunan hastaların tekrarlayan düşük veya yaş faktörlü olgulara göre daha iyi embriyo geliştirdiği gözlemlendi. Erkek genetik özelliği açısından translokasyon, delesyon, inversiyon ve anöploidi endikasyonlu olanların normal kontrollere kıyasla daha iyi embriyo gelişimi gösterdiği, daha yüksek sayıda normal embriyo taşıdığı görüldü.

Erkek yapısal veya sayısal anomalili olan grupta seçilmiş embriyolar ile yapılan transferlerin ise normal kontrollere kıyasla istatistiksel olarak daha yüksek canlı doğum oranı tespit edildi. Teratospermik hasta grubunda ve azospermik olgularda embriyo gelişimi blastokist gelişimi dışında anlamlı farklılık göstermediği görüldü. Gruplarda PGT normal embriyo sayısı açısından, erkekte translokasyon olgularının dışında farklılık gözlenmedi.

Çalışmamızda gebeliği etkileyen faktörler incelendiğinde blastokist sayısı, kadın yaşı ve PGT endikasyonu'nun etkilediği anlaşılmıştır.

**Anahtar kelimeler:** Embriyo gelişimi, Erkek faktör, ICSI, Preimplantasyon genetik tanı

## **2. ABSTRACT**

### **Evaluation Of Embryo Development And Ivf Results With Preimplantation Genetic Diagnosis In Patients With Male Factors**

The aim of this study was to determine the frequency and types of chromosomal abnormalities and other genetic factors causing infertility in male patients who applied for infertility treatment. Consequently, the study examine the relationships between genetic abnormalities and clinical data in infertile male.

In this study the file of patients (n-168) who visited Istanbul IVF Center between 1 January 2016 and 31 December 2018 were examined retrospectively. For this purpose, permission was obtained from the non-invasive ethics committee of Biruni University dated 28.12.2018 and registered by 2018/24-02.

In our study the patients who underwent PGD with FISH technique grouped by chromosomal indications and aneuploidy rates were analyzed. According to the results of statistical analysis (SPSS) of the groups, in total 168 patient consist followings groups male patients with chromosomal anomaly (n=22), male patients with no indication semen normal patient groups (n=26) and age or recurrent pregnancy loss (120) participated in our study to examine ICSI results.

Female genetic features such as aneuploidy, translocation and deletion showed better embryo development rates than aspects such as age and recurrent abortus. In terms of male genetic features, translocation deletion inversion and aneuploidy indications showed better embryo development and higher number of normal embryos than normal controls. In the male group with structural or numerical anomalies, transfer rates with selected embryos were statistically higher than in normal controls. Teratospermic patients and azoospermic cases, embryo development did not differ significantly except blastocyst development. There was no difference in the number of PGT normal embryos in the groups other than translocation in men.

When the factors affecting pregnancy were examined in our study, it was found that the number of blastocysts affected female age and pgt indication.

**Keywords:** Embryo development, ICSI, Male factor, Preimplantation genetic diagnosis,

### 3. GİRİŞ VE AMAÇ

İnfertil hasta gruplarında çiftlerin yaklaşık %50'sinde döllenmeyi sağlayacak spermatazoa üretemeyen erkeğe bağlı nedenler yer almaktadır (Bienvenu ve ark., 2003). Erkek kaynaklı infertil hastaların %60-70'inde azalan testis fonksiyon bozuklukları olduğu belirtilmiştir (Mittal ve ark., 2004). Sperm üretiminden sorumlu hormonların işleyişinde bozukluklar, testis yapı bozuklukları, veya ejakülasyon problemleri kişilerde ciddi infertilite nedenlerindedir. Erkek infertilitesinin nedenleri arasında vas deferens yokluğu, fiziksel travma, enfeksiyon ve yaşam tarzı (obezite sigara kullanımı, çevresel ajanlar vs. ) yer almaktadır (Griffin ve ark., 2005). Sperm üretimindeki aksaklıklar sperm parametreleri olan başlıca spermin, sayı, hareketlilik ve morfolojik yapısında oluşabilecek problemler ile ilişkilidir (Nagvenkar ve ark.,2005). Spermatogenezde ileri derecedeki bozukluklar sperm kalitesinde düşüğe neden olmakta ve bu spermelerden gelişen embriyolar genetik anomali bakımından risk altında bulunmaktadır (Egozcue, 2000).

Oluşan embriyonun genetik yapısı anne ve babadan eşit oranda genetik materyal taşır .Embriyoda oluşabilecek genetik anomalilik oositten kaynaklanabileceği gibi aynı zamanda sperm DNA fragmantasyonu gibi bir nedenden de embriyoda genetik bir sorun oluşabilir ve gelişimini olumsuz etkileyebilir (Tasarik ve ark., 2004). Embriyo oluşumunda ve gelişiminde erkek faktörlü spermatozoa'dan kaynaklanan sperm DNA fragmantasyonu ilerde embriyonun gelişiminde sorunlar oluşturabileceği belirtilmiştir (Magli ve ark, 2007; Cissen ve ark., 2016). Sperm kalitesindeki bozulma nedenlerinin başında DNA hasarları olduğu düşünülmektedir. Burada özellikle çevresel faktörler başta olmak üzere varikozel, hormon bozukluğu, sigara, testiküler faktörler, spermatogenez bozuklukları, sperm sitoplazma artıkları gibi çok sayıda etken spermin genetik malzemesinde yapısal bozukluğa neden olmaktadır. Yapılan geniş araştırma gruplarında, sperm DNA hasarlarının sperm parametrelerinde bozulmaya ve anlamlı derecede gebelik kayıplarına yol açtığı gösterilmiştir (Borini, 2006). Sperm hücrelerinde mayoz bölünmede yada testis problemlerinden kaynaklanan sayısal veya yapısal kromozom anomalilerinin spontan düşüklerde etken olabileceği belirtilmiştir (Egozcue, 2000).

Bu gibi risklerin göz önünde bulundurulup saptanması olgularda izlenecek tedavi şeklinin belirlenmesi ve bu genetik kusurların bir sonraki kuşaklara aktarılmasını engellemek için preimplantasyon genetik testler kullanılmaktadır. 1990'lı yılların başından günümüze in vitro fertilizasyon (IVF) olgularında embriyonun genetik olarak incelenmesi için PGT (Preimplantasyon genetik tanı) yöntemleri kullanılmaya başlanmıştır.

PGT'de, in vitro fertilizasyon veya intrasitoplazmatik sperm enjeksiyonu ile elde edilen embriyolar, genetik hatalar için taranır böylelikle gebelik oluşmadan önce embriyo yapısal ya da sayısal kromozom anomalileri ve translokasyon gibi genetik kusurlar bakımından incelenip transfer için sadece 'sağlıklı' embriyoların seçilmesine izin verir. PGT protokolünün bir bileşeni, genetik olarak taranması için bir veya birkaç hücrenin elde edilmesi için embriyo biyopsisidir. Embriyo biyopsisi, embriyoların (8 hücreli embriyolardan bir veya iki blastomerin çıkarılmasından oluşan blastomer biyopsisi-BB) veya blastokist evre embriyolarında (trofektodermden birkaç hücrenin çıkarılmasını içeren, trofektoderm biyopsisi - TB) biyopsi yöntemleri ile gerçekleştirilebilir PGT için kullanılan birçok yöntem vardır. Bunlara bazen tek kullanıldığı gibi aynı hastalığın tanısında beraberinde kullanılabilirler. Güncel olarak günümüzde kullanılanlar, Floresan in situ hibridizasyon (FISH), Tek nükleotid polimorfizmi (SNP), Kısa ardışık tekrarlar (STR), Mikroarray ve yeni nesil sekans dizilemedir (next generation sequencing; NGS). PGT yöntemlerinden yararlanmakta temel amaç, ebeveyn geçişli genetik hastalıkları belirlemede, sayısal ve yapısal kromozom anomalilerini tespit etmekte ve anne rahmine tutunma potansiyeli yüksek olan sağlıklı embriyoyu seçerek başarılı gebelikler elde etmektir.

Bu çalışmada amacımız, çeşitli erkek faktörlü infertil hastalarda, spermin, sayı, hareketlilik ve kalitesine bağlı endikasyonları ve erkek karyotipi kromozom anomalili hastaların sonuçları göz önünde bulundurularak embriyoda, sperme bağlı oluşabilecek kromozomal anomalileri tespit etmek ve sağlıklı embriyo ile yapılan transfer sonrası canlı doğum oranları ile karşılaştırarak incelemektir.

## 4. GENEL BİLGİLER

### 4.1. İnfertilite

İnfertilite çiftlerin bir yıl düzenli olarak cinsel ilişkiye girmesine rağmen gebelik elde edememesi olarak tanımlanır. Daha önce gebelik hiç oluşmamışsa primer infertilite, en az bir kez gebelik yaşanmış ise sekonder infertilite olarak tanımlanır (Wallach, 1972).

İnfertilite çiftlerin %15'inde görülüp, vakaların yaklaşık olarak %50'inde erkek faktörü sorumlu tutulmaktadır. Bu vakaların %30'u yine erkek, %20 ise hem erkek hem kadın nedeni olarak düşünülüyor. Erkek infertilitesi etiyojisi yarısı bilinmemekte (idiyopadik), diğer yarısını ise konjenital ve ya kazanılmış defektler oluşturmaktadır (Poongothai ve ark., 2009; Agarwal, 2016).

#### 4.1.1. Kadın İnfertilitesi

İnfertilite tedavisi için başvurmuş çiftlerde kadın faktörün değerlendirilmesi tanı ve tedavide önemli bir kriterdir. Kadın fertilitesinde görev alan hipotalamik, hipofiz ve ovaryum ekseninin koordinasyonu'na bağlı olarak düzenlenmektedir. Bu koordinasyon göz önünde bulundurulduğunda kadın infertilitesine üreme kanalının nöroendokrin ve immün sistem fonksiyon bozukluklarına neden olduğu görülmektedir. Kadın infertilitesine neden olan başlıca etkenler ovulasyon bozuklukları, servikal faktör, tubal faktör ve açıklanamayan infertilitedir (Smith ve ark., 2003). İnfertiliteye neden olan başka önemli bir husus ise yaş faktörüdür.

Yapılan çalışmalarda doğurganlık oranı ilerleyen yaşlarda oldukça azalış göstermektedir. Bu oranları bağlı olarak 25 ile 30 yaş aralığında doğurganlık %10 azalış gösterirken 40 ile 45 yaş aralığında %90'lara kadar azalış göstermektedir (Maroulis, 1991).

Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT) Cemiyeti ve Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi'nin 1989'da elde ettikleri verilere göre hasta yaşının YÜT başarısını etkileyen en önemli neden olduğunu belirtmişlerdir. Hasta yaşının ilerlemesi, oosit rezervinde ve kalitesinde, embriyo sayısında ve aneuploidi sıklığında, implantasyon

oranlarında düşüşe embriyoda fragmantasyon oranında ise artışa neden olduğu gözlenmiştir (Hull ve ark., 1996; Zieve ve ark., 2001).

Kadında infertilite nedenleri arasında ovulasyon bozuklukları kadın infertilitesinin %30-40'lık kısmından sorumlu tutulmaktadır. Bunlar amenore, anovulasyon ve adet düzensizlikleri gibi bozukluklar ile kendini göstermektedir (Miller ve ark., 1999). Öte yandan başka bir infertilite nedeni de tubal faktör diye tanımlanan tuba ve periton anormallikleridir. Tubal yada peritoneal faktörler infertil çiftlerin %20'inden sorumlu tutulmaktadır. Hastanın tıbbi geçmişindeki pelvik inflamatuvar hastalık, apandisit, endometritseptik abortus, intrauterin araç kullanımı gibi herhangi bir neden yada pelvik enfeksiyonlar tubal faktörlere yol açabilir (Fıçıcıoğlu ve Yeşiladalı, 2014; Barbieri, 2004).

Kadına ait infertil olguların yaklaşık %5-10 kadarında servikal faktör sorumlu tutulmaktadır. Servikal enfeksiyonlar mukusta kalite bozukluklarına neden olmaktadır (Ozan, 2013). Servikal mukusun incilmesi ile hareketli spermatozoa görülmesi testin pozitif olduğunu göstermektedir (Eimers ve ark., 1994). Mukus anormallikleri fertilizasyon başarısını etkilemektedir.

#### **4.1.2. Açıklanamayan infertilite**

İnfertil çiftler değerlendirilirken, erkeğe ait sperm testleri, fiziki muayene ve kadına bağlı ovulasyon testleri, tubal patolojiyi değerlendiren tetkiklerde herhangi bir anormallik saptanamadığında bu durum “açıklanamayan infertilite” olarak tanımlanmaktadır. Açıklanamayan infertilite tanısı konulmuş olgularda sperm oosit fonksiyonlarında, fertilizasyon başarısı, embriyo gelişimi ve implantasyon oranlarında bozukluklar olduğu yapılan detaylı analizler ile gösterilmiştir (Maheshwari ve ark., 2008).



### 4.1.3. Erkek infertilitesi

İnfertil popülasyonlarında çiftlerin yaklaşık %50'sinde döllemeyi sağlayacak spermatazoa üretemeyen erkeğe ait nedenler yer almaktadır (Bienvenu ve ark., 2003). Sperm üretiminden sorumlu hormonlara ait bozukluklar, testis yapı bozuklukları veya ejakülasyon problemleri kişilerde infertilite nedenleri olarak görülmektedir. Erkek infertilitesinin nedenleri arasında vas deferens yokluğu, fiziksel travma, enfeksiyon ve yaşam tarzı (obezite sigara kullanımı, çevresel ajanlar vs.) nedenlerde yer almaktadır (Griffin ve ark., 2005). Semen analizi erkek infertilitesinin saptanmasında en önemli test olarak görülmektedir. Bu da sperm, sayı, hareketlilik ve morfolojik yapısı ile ilişkilidir (Nagvenkar ve ark., 2005). Sperm kalitesindeki başta gelen bozulma nedeni, DNA hasarlarıdır. Burada özellikle çevresel faktörler başta olmak üzere varikosel, hormon bozukluğu, sigara, testiküler faktörler, spermatogenez bozuklukları, sperm sitoplazma artıkları gibi çok sayıda etken sperm genetik malzemesinde yapısal bozukluğa neden olmaktadır. Geniş çaplı serilerde, sperm DNA hasarlarının sperm parametrelerinde bozulmaya ve anlamlı derecede gebelik kayıplarına yol açtığı ortaya konmuştur (Borini, 2006).

Bunlardan yola çıkarak infertilitenin sağlıklı bir şekilde tedavisinin yapılabilmesi için infertil olgularda erkek faktörünün değerlendirilmesi oldukça önemlidir. Semen değerlerinin bilinmesi intrauterin inseminasyon (IUI), in vitro fertilizasyon (IVF) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) olgularının seçiminde önem kazanmaktadır. Fertilizasyonun başarı oranının yüksek olmasında sperm sayısının önemli yeri vardır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO,2010) standartlarına göre sperm sayısının 15 milyon/ml ve daha fazla olması normal olduğunu öngörmektedir. Semen örneğinde hiç sperm olmaması durumuna ise azoospermi denir. Erkeklerin %1'inde infertil olguların ise %10-15'inde azoospermi gözlenmektedir (Turunç, 2015).

**Tablo 1** Erkek infertilitesi nedenleri ve etiyolojisi(WHO, 1994; ESHRE, 2010) .

ERKEK İNFERTİLİTESİ GENEL NEDENLER		ETİYOLOJİ KADIN+ERKEK	
Hipotalamik/Hipofizer nedenler(Sek.hipogonodizm)	% 1-2	Erkek faktörü	%23
Testis ile ilişkili nedenler (Spermatogenezl de yetersizlik ve hipogonadizm)	%30-40	Ovulasyon fonksiyon bozuklukları	%18
		Tubal nedenler	%14
		Endometriozis	%9
Testis sonrası nedenler (Sperm transport bozuklukları)	%10-20	Koital nedenler	%5
		Servikal faktör	%3
Sınıflandırılmayan Grup	%40-50	Açıklanamayan	%28

#### 4.1.3.1. Erkek üreme sistemi ve spermatogenez

Erkek genital sistemini bir çift gonad (testisler), genital boşaltım sistemi(rete testis, tubula rekti, ductuli effentes, epididimis ductus, deferens, ductus ejakulatorius) aksesuar bezler (prostat, glandula bulboüretalis, vezikula seminalis) ve penis oluşturmaktadır.

Testisler esas olarak gametlerin (sperm hücresi, spermatoza, spermium) oluşumunu ve steroid hormonların üretimi ve salgılanmasını sağlar. Testislerin endokrin görevi Leydig hücreleri tarafından sağlanır. Leydig hücreleri testislerdeki loblarda, bağ dokularının arasında bulunur ve steroid yapıda bulunan hormonu (testesteron) üretip doğrudan kana verirler. Testesteron ise hipofiz bezinin ön lobunda salgılanan LH'nin(luteinleştirirci hormon) stimülasyonunu sağlar.

Testislerin en dış tabakası tunika vaginalis ile sarılıdır. Testislerin arka tarafında ise bu tabaka bulunmaz. Kan damarları, sinirler ve lenfematik damarlar testise bu bölgeden girer ve yine bu bölgeden organı terk ederler. Bu bölgenin hemen alt kısmında bulunan tunika albuginea ise içerisinde sperm hücrelerinin üretimini sağladığı seminifer tübüllerin olduğu bölgeyi fibröz bağ dokusu ile çevreler. Testisin arka yüzünde ise içerisinde kan ve lenf damarlarını bulduğu tunika albuginea mediastinum yer alır. Tunika albugineadan ince bir fibröz bağ dokusu ile ayrılarak mediastinuma uzanan 200-300 kadar bölme testisi piramidal lobüllere ayırırlar. Her

bir lobül içerisinde sayıları 2 ile 4 arasında değişen seminifer tübül bulundurulur. Bu tübüllerin çapı 150-250 uzunlukları ise 30-80 santim arası değişmektedir. Erkek genital boşaltım yolları tubula rekti ile başlayıp önce testisin içinde daha sonra dışında devam eder ve farklı sistem ve isimler ile tanımlanırlar. Seminifer tübüller belirli bazal membran ile çevrilidirler ve bunun dışında ise gevşek bağ yapıdan oluşan lamina propria vardır. Bazal membranın dış kısmında ise insanda 3-5 sıra myoid hücre dizisi yer alır. Bu hücrelerin ritmik olarak kasılmaları ile seminifer tübüllerdeki spermier boşaltma kanalına geçerler. Lamina propriada kümeler halinde leydig hücreleri yer alması, kalınlaşarak fibröz bir karakter oluşması, erkek infertilitesi nedenlerindedir. Seminifer tübüller çok katlı kompleks bir örtü ile çevrili olup, sertoli ve spermatogenetik olmak üzere yapısında iki grup hücre bulundurulur (İrez, 2014).

## **Spermatogenezis**

Sperm üretimi oldukça uzun zaman alan karmaşık bir süreçtir. Olgun sperm üretimi pubertede başlayıp 72 günlük sikluslar halinde ömür boyu devam eder. Germ hücresi denilen öncü hücrelerin farklılaşarak olgun sperm hücresi haline gelmesi olayına spermatogenez denir (Mazumdar ve Levine, 1988).

Bu süreçte germ hücreleri 46 kromozoma sahip diploit yapıdan mayoz geçirerek 23 kromozomlu haploid yapıya dönüşürler. Olgun sperm hücresi 23 kromozomlu haploid formda iken yine 23 haploid kromozomlu yumurta hücresi ile birleşerek 46 kromozomlu diploit bireyi oluşturur.

Spermatogenez poliferasyon, redüksiyon-bölünme ve farklılaşma fazı olmak üzere 3 aşamadan meydana gelir. Bu aşamaların her birinden sperm hücreleri, spermatogonia, spermatosit, spermatid gibi yapılara farklılaşarak olgunlaşırlar. Testis dokusu içerisinde kan damarları, kas ve sinir hücrelerinin bulunduğu kapsül şeklinde çevrelenmiş (skrotum) yapının içinde yer alır. Spermatogenez testiste seminifer tübüllerde gerçekleşir. Testislerin her birinin içinde yaklaşık 500 seminifer tübül bulunur ve bu tübüllerin her birinin yaklaşık uzunluğu 30-70 santimetredir. Seminifer tübüller testisin yaklaşık olarak hacminin %80-90 'anını kaplar. Böylelikle testisin hacmi bizlere, sperm üretim potansiyeli hakkında kabaca fikir verir (Turek, 2000; Sigman ve Howards, 1998). Seminiferöz epiteli oluşturan iki farklı hücre tipi vardır.

Bunlar sperm yapımında görev alan spermatogenetik hücreler yada germ hücreleri ve sperm hücrelerinin hem besin kaynağı hemde destek sağlayan sertoli hücreleridir. Testislerde bulunan diğer bir hücre grubu ise erkek seks hormonu olan testesteronun üretiminden sorumlu Leydig hücreleridir. Seminifer tübüllerde, spermatogenezin olduğu aşmalarda görev alan öncü hücreler yer alır. Farklılaşma evrelerini tamamlayan hücreler seminifer tübüllerde salınırlar. Böylece testisin farklı alanlarında başka evrelerde sperm üretimi devam eder (Kaya vd., 2000; Casey vd., 1993).

### **Proliferasyon fazı**

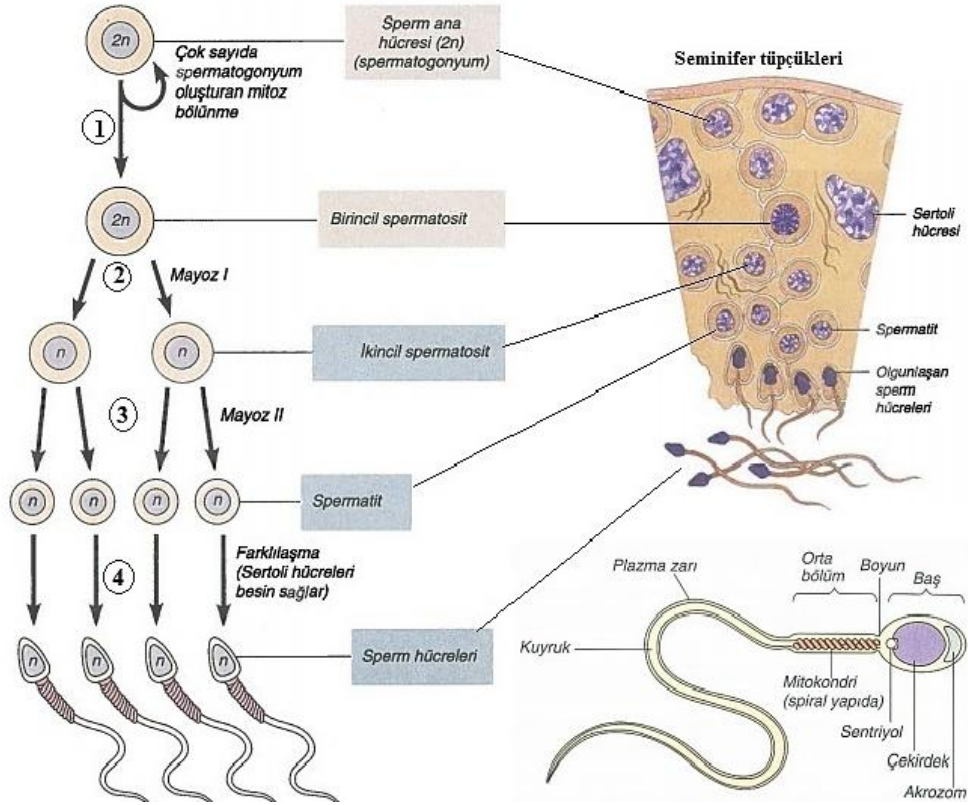
Germinal epitel içerisinde olgunlaşma evresinin ilk basamağında olan bu hücreler spermatogonyumlardır. Mitoz bölünme sonucunda oluşan bu hücrelerin bir kısmı spermatogenezise girerken dejenere olurlar (Turek, 2000; Sigman ve Howards, 1998).

### **Redüksiyon-bölünme fazı**

İnsan sperm hücrelerinde Tip A açık spermatogonyumlar, Tip A koyu spermatogonyumlar ve Tip B spermatogonyumlar olmak üzere 3 grup spermatogonyum tanımlanmıştır. Tip A koyu spermatogonyumlar rezerv(stem) hücreler olarak görev alırlar ve bölünerek Tip A açık spermatogonyumlara farklılaşırlar. Tip A açık spermatogonyumlar ise mitoz ile bölünerek Tip B spermatogonyumları oluştururlar. Tip B spermatogonyumlar ise bir sonraki primer spermatositleri oluşturan (progenitor) hücrelerdir (Sigman, 1998; Mazumdar, 1998). Primer spermatositler birinci mayoz ile bölünme geçirerek sekonder spermatositleri oluştururlar. Hemen ardından ikinci mayozu geçirerek haploid sayıda kromozomları içeren spermatidleri oluştururlar. Spermatogenetik hücrelerin puberteden önce seminifer tübül lümenine geçişleri sertoli hücrelerinin arasındaki bölümler ile engellenir. Bu aşamalardan sonra spermatosit diye isimlendirilen hücreler DNA miktarlarını iki katına çıkardıktan sonra 4 hücreye bölünürler ve bu 4 hücrenin her biri 23 kromozom içerirler (Turek, 2000; Kaya, 2000).

## Farklılaşma fazı

Genetik materyallerini bölünme sonucu yarıya indiren bu yeni hücreler morfogenez ile farklılaşarak spermatozoanları oluştururlar. Bu olaya spermiyogenez denir. Spermiyogenez akrozomun oluşması, nukleus uzaması ve yoğunlaşması, flagellumun gelişmesi ve sitoplazmanın kaybolması gibi karmaşık olayları içerir. Farklılaşma tamamlandıktan sonra, spermatozoonlar Sertoli hücrelerinden ayrılarak seminifer tübüllerin lümenine geçerler (spermiasyon). Bu dönemde spermler morfolojik olarak olgunlaşmalarında rağmen fonksiyonel olarak daha olgunlaşmamışlardır. Hareket yetenekleri henüz oluşmamış bu hücrelerin oositi dölleme kabiliyetleri ise henüz sınırlıdır, hareket yeteneği epididimde kazanılır (Kaya, 2000; Önder vd., 2011).



Şekil 1 Spermatogenez (Gilbert, 2000).

#### **4.1.3.2. Erkek infertilitesi genetik**

Erkek infertilitesine %15-30 oranında genetik etmenler sebep olarak gösterilmektedir. İnfertilite tedavisinde etiyolojik faktörlerin saptanması ,vakalarda izlenecek yolun belirlenmesi için önem taşımaktadır.Bu amaç ile genetik etmenlerin saptanması bunların gelecek kuşağa aktarılmasını önlemek için Preimplantasyon genetik tanı (PGT) uygulamaları tedavide önemli bir yer tutmaktadır. Bazı olgularda tedavinin yönünü belirlemede sağlıklı kararların alınabilmesi için önemlidir.

#### **Sayısal ve yapısal komozomal anomaliler**

Kromozomal anomaliler sayısal yapısal yada her iki durumunda bulunduğu belirteç durumları kapsamaktadır. İnfertil erkeklerdeki kromozomal anomali oranının yaklaşık %5 olduğu bildirilmiştir. Azoospermik olgularda ise %15 oranında kromozomal anomali gözlenmektedir. Kromozomal anomaliler arasında en sık gözlenen sayısal anomalilerdir. Non-obstrüktif azospermi hasta gruplarında cinsiyet kromozomları ile ilişkili olan sayısal anomaliler daha sık bulunurlar. Bu kişiler ürettikleri spermelerde anomalili olduğu için bir başka kuşağa da aktarırlar. XXY kromozom setine sahip olan Klinefelter sendromlu olgular bu grup arasında en sık gözlenenidir. Bu kromozomal anomali tipi oligospermilerde %5 ağır oligospermi ve azospermi olan olgularda ise %10 oranında görülmektedir. Anomali tipleri mozaik ve mozaik olmayan formlarda da görülmektedirler. 46 XY/47, XXY kromozom kuruluşuna sahip bu mozaik olgularda %74 oranında ejakülat sperm veya testiküler sperm bulma olasılığı vardır. Mozaik olmayan olgularda ise sperm bulma olasılığı %25 olarak bildirilmiştir. Bu olgularda IVF tedavisi ile ICSI için kullanılacak spermelerde anöploidi bulunması mümkündür ve bu nedenle PGT endikasyonu bulundukları bilinmekle birlikte farklı grupların çalışmalarında bu olgularda elde edilen spermelerin öploid germ hücrelerinden geliştiği ve bu kişilerin ürettikleri spermelerin normal kromozomal yapılarında oldukları bildirilmiş ve normal sağlıklı doğumlar gözlenmiştir.

Erkek infertilitesine genetik olarak neden olan bir başka kromozomal anomali grubu ise translokasyonlardır. Bunların infertil erkek gruplarında 4-10 kat daha fazla bulunan otozomal translokasyonlardır. Bunlardan Robertson tipi translokasyonlar, 13, 14, 15, 21 ve 22. kromozomların çok küçük olan kısa kollarından birleşmesi ile oluşur ve infertil erkeklerin % 0.8'ini oluşturur ancak bu oran normal popülasyona göre 9 daha kat fazla olduğu açıklanmıştır. Robertson tipi translokasyonlar azospermik vakalarda %1.6 oranında, oligospermilerde ise %0.09 oranında gözlenmektedir (Bahçe, 2018). Bu bireyler hem normal hem de infertil olabilirler. Fakat bu fertil kişilerde yada bunlardan ICSI ile oluşan gebeliklerde fetal olarak kromozomal anomali riski taşımaktadırlar. Bu olgular prenatal yada preimplantasyon genetik tanı için adaydırlar (Bahçe ,2018).

### **Y kromozom mikrolelesyonları**

Y kromozomu mikrolelesyonları oligospermilerde %5-10 oranında azospermi olgularında ise %10-15 oranında gözlenmektedir. AZF bölgesi delesyonları genellikle AZFb ve AZFc bölgelerinde oluşur ve delesyona uğrayan bölgeye göre çok farklı durumlar ile meydana gelebilirler. Bu delesyonlar ve ortaya çıkan klinik sonuçların korelasyonu, yeni karşılaşılan vakalarda durumun anlaşılması açısından hareket tarzının bilinmesi son derece önemlidir. AXFA bölgesindeki USPY9Y ve DBY genlerinin kaybı “Sertoli Cell Only” sendromuna sebep olur ve ejakülatta sperm bulunmaz. AZFb bölgesinde bulunan temel olarak RBMY1 geni bulunur ve bu genin altı adet kopyası vardır. RBMY1 geninin RNA bağlayıcı bir proteini kodladığı bildirilmiştir. PRY geni ise AZFb bölgesinde bulunup, anormal spermilerin apoptozis regülasyonu ile eliminasyonunda görev almaktadır. AZFb bölgesindeki bulunan RBMY ve PRY genlerinin delesyonu spermatogenetik arreste sebep olmaktadır(Voght, 1998). AZFc bölgesindeki gen delesyonları ise spermatogenezisi etkileyip ve oligospermiden azospermiye kadar neden olup farklı tablolar ortaya çıkarır. Non-obstrüktif azospermilerde %12, ağır oligospermilerde %6 oranında AZFc bölge delesyonları mevcuttur. AZFc bölge delesyonları sonrasında gelişen total Y kromozom delesyonlarına dönüşüp bunların sonucunda bu mekanizmanın 45, X(18,19) ve 45, X/46, XY mozaik vakaların oluşmasında rol aldığı bildirilmiştir. Azospermik ve oligospermik vakaların tedavisinde doğru yolun

izlenmesinde ve tanı konulmasında IVF öncesi kritik öneme sahiptir. AZF bölgelerindeki genler dışında yine Y kromozomun uzun koluna lokalize ve spermatogeneziste rol alan CDY ve TSYF genleri bulunur ve bu genlerin fonksiyon bozuklukları spermatogenezisi önemli derecede olumsuz etkiler (Kathrine vd., 2010).

CFTR geni erkek infertilitesinde önemli bir yere sahiptir. Konjenital bilateral vas deferens agenezis (KBVDA) olgularında CFTR geni %60-90 oranında etkilenmiştir. Bu mutasyonlarında %60-70'ini delta F508 mutasyonu oluşturmaktadır. Ayrıca genin 8. ekzonun sonlarında polyT sayısında KBVDA vakalarında önem kazanır (Vilma vd., 2007). Bu alelde klasik mutasyon taşıyan ve diğer aleli 5T olan vakalarda KBVDA olma olasılığı yüksek olduğu bildirilmiştir. Bu tanının konulması ve eşinde CFTR mutasyon olduğunu taramak ve varlığı durumunda PGT yöntemi ile fetüse bu hastalığın geçişi engellenebilmektedir. Bu nedenle bilateral vas deferens agenezisi saptanan olgularda CFTR mutasyon taraması oldukça önemlidir (Kathrine vd., 2010).

Bunların dışında seks hormon bağlayıcı globulin (SHBG), östrojen reseptör geni 1, metil tetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) ve 2 (ESR1,2), FSH reseptör geni (FSHR), DAZL ve INSL3 genleride spermatogenezis ve erkek infertilitesinde problem yarattığı bildirilen genlerdir. Fakat bu genlerin mutasyon ve etki mekanizmaları ile ilgili çalışmalar devam etmektedir (Kathrine vd., 2010).

X kromozomu üzerinde yer alan androjen reseptör geni gametogeneziste önemli derecede rol almaktadır. Hem mayoz bölünmede hemde spermatositlerin yuvarlak spermatidlere dönüşümünde rol aldığı bildirilmektedir (De Gendt vd., 2004). Ayrıca androjen reseptör gen mutasyonları androjen duyarsızlık sendromu ve Kennedy sendromuna sebep olup fertilitiyi olumsuz etkilemektedir. X kromozomu üzerinde bulunan USP2 geninin de spermatogenezis erken oluşmasında görev aldığı bildirilmiş olup, rutin klinik kullanım içinde çok veriye ihtiyaç olduğu söylenmektedir (Stouffs vd., 2005). KAL1 gen mutasyonları ise Kallmann sendromlu vakaların %30-70'inde gözlenmiştir. FGR1 genine ait mutasyonlarında Kallmann sendromunun hiposmik veya anosmik tipere neden olduğu bildirilmiştir.

Erkek infertilitesinde epigenetik programlamalarda önemli yer almaktadırlar. Epigenetik programlama ile temel DNA dizilimi değişmeden DNA ya eklenen metil grupları ve histon proteinleri gibi moleküler ile DNA'daki bilginin RNA molekülüne



aktarılmada yer alan transkripsiyon basamağında modifikasyonlar yapılarak gen ifadelerinin düzenlenmesi olarak bilinmektedir. Spermatogenezde insanda kromatin paketlenmesi basamağında yer alan P1 ve P2 isimli iki proteinin önemli derecede bu işlemde etkili olduğu gösterilmiştir. P1 proteinin özellikle erken sentezlenmesi spermatogenezin arrest olmasına ve nukleusun prematür kondensasyonuna sebep olduğu bilinmektedir. P2 proteini ise anormal DNA paketlenmesi ve DNA da hasar oluşmasından sorumlu tutulmaktadır. Metilasyon epigenetik modifikasyonlarda önem arz etmektedir. İnfertil hastaların metilasyon hataları buldukları bildirilmiştir. Oligospermik hastaların da ayrıca imprinting defektlerine bağlı hastalıklı çocuk sahibi olma ihtimallerinin oldukça yüksek olduğu bildirilmektedir. Diğer yandan IVF işleminde maturasyonunu ve dolayısı ile epigenetik modifikasyonlarını tamamlamış spermilerin kullanılması doğacak bebeklerde imprinting hastalıklarına neden olabilecektir. Bundan dolayı bu konu iyice araştırılıp tartışılmalıdır. Hartmann ve ark.ları tarafından yapılan bir araştırmada infertil ve normal fertil erkeklerden elde edilen spermatogonialar arasında imprinting hatalar bakımından iki grup karşılaştırıldığında bir fark bulunmamıştır (Hartmann vd., 2006). Ancak iki ayrı yapılan bağımsız çalışmalarda bir imprinting hastalığı olan Angelman sendromunun ICSI sonrası doğan çocuklarda daha sık olduğu gözlemlenmiştir (Cox vd., 2002; De Rycke vd., 2002). Yine bir imprinting hastalığı olan Beckwith-Wiedemann sendromu da normal popülasyonda %1 sıklıkta gözlenirken IVF ile doğan çocuklarda %5 oranında olduğu gözlemlenmiştir (De Baun vd., 2003).

#### **4.1.3.3 Semen analizi ve değerlendirilmesi**

Semen sıvısı, spermatozoanın ejakülasyon sırasında testis ve epididimisten salgılanan sıvıların prostat, seminal veziküller ve bulboüretal bezlerin salgıları ile birleşmesi ile olur. Bunların birleşmesi ile oluşan vizkozitesi yüksek sıvıya semen denir. Bu sıvının %5'ini spermatozoa oluşturur (WHO,1999). İnsandaki ejakülat miktarı kişiden kişiye değişmekle beraber yaklaşık 2-6 ml. kadardır. pH değeri ise 7.2-8 arasındadır. İnsan semeni ejakülasyonun hemen sonrasında yoğunlaşıp, yaklaşık 20 dk. içinde ise çözülerek likefiye olur (Delilbaşı, 2008; Turunç, 2015). Olgun bir sperm hücresi başlıca baş, boyun ve kuyruk olmak üzere 3 kısımdan oluşur. Sperm baş kısmının büyük bir bölümü çekirdekten oluşmuştur. Çekirdeğin

2/3'ü ise ön kısımda akrozom oluşturur. Akrozom etrafı zar ile çevrili başlık şeklinde bir organeldir. Akrozomun alt tabakasında ise hücre zarı ile çekirdek zarı ile birleşmesini sağlayan özel paketlenmiş post-akrozomal kısım bulunur (Irez, 2014). Döllenme zamanı spermi saran zar ile sekonder oosit zarı bu post-akrozomal bölgeden birleşerek erir ve spermin oosit sitoplazmasına girişini sağlar.

## **1-Konsantrasyon**

Semen analizi hastadan 3-4 günlük cinsel perhiz ile verilen ejakülat örneği incelenerek yapılır. Faz kontrast mikroskop aracılığı ile lam-lamel yada birim mililitre başına düşen sperm konsantrasyon incelenmek istendiğinde bir hücre sayma kamarası ya da makler kamarası denilen özel lam lamel düzeneği ile hesaplanabilir. Semen analizinde optimal bir değerlendirme yapabilmek için birkaç hafta aralık ile toplanmış iki yada üç semen örneği incelenerek yapılır.

Sperm sayı değerlendirmesi iki şekilde yapılır. Ya bütün spermler immobilize edilip toplam sayı alınır, yada hareketli ve hareketsiz spermler birlikte değerlendirilir. Sperm sayımı hemositometre, microcell, CellVU, Standartcount, Makler gibi birçok cihaz ile sayılması mümkündür. Ancak günümüzde yaygın olarak Makler sayım kamarası kullanılmaktadır. Maklerde iyi bir değerlendirmenin yapılabilmesi için ejakülat miktarının 10µl 'yi geçmemesi, kamaranın üstünün iyi kapatılması, 100 karelik alanda en az 10 farklı alanın sayılması ve kamaranın 37°C' de ya da oda ısısında olması sağlıklı sonuçlar almak için önem kazanmaktadır (WHO, 1999).

Bir sperm analizinin WHO'ya göre (2010) normal değerleri řu şekildedir.

**Tablo 2** Normal Semen Değerleri (WHO, 2010).

<b>Parametre</b>	<b>Alt Referans Değeri</b>
pH	$\geq 7,2$
Semen hacmi (ml)	1,5 (1,4 – 1,7)
Toplam sperm sayısı ( $10^6$ /ejakülat)	39 (33 – 46)
Sperm konsantrasyonu ( $10^6$ /ml)	15 (12 – 16)
Toplam motilite (PR+NP, %)	40 (38 – 42)
İleriye doğru hareketlilik (PR, %)	32 (31 – 34)
Vitalite (canlı spermler, %)	58 (55 – 63)
Sperm morfolojisi (normal,%)	4 (3,0 – 4,0)
Peroksidaz pozitif lökositler( $10^6$ /ml)	< 1

## **2-Motilite**

Dünya Sağlık Örgütü(WHO, 1999) referans bilgilerine göre sperm motilitesini belirlemede farklı karmaşık cihazlara gerek duymadan 4 dereceli değerlendirmeyi önermektedir:

- Hızlı doğrusal progresif hareket,
- Yavaş doğrusal yada doğrusal olmayan hareket,
- Progresif olmayan hareketlilik,
- Hareketsiz.

Sperm motilitesi, semen örneğindeki progresif hareketli sperm yada %25 hızlı ileri hareketli sperm yüzdesi olarak tanımlanır. Sperm hareketliliği Dünya Sağlık Örgütü (WHO): +4 hızlı ileri progresif hareket, +3 yavaş doğrusal olmayan hareket, +2 yerinde hareketli ve +1 hareketsiz arasında dört sınıfta değerlendirmektedir. Sperm motilitesi WHO 2010 kriterlerine göre 3 kategoride incelenmektedir. Bu analizde hızlı ve yavaş hareket birleştirilerek ileri hareketli spermlerin yüzdesi alınmakta,

progresif olmayan ve hareketsiz spermelerin yüzde değerleri ise benzer şekilde hesaplanmaktadır (WHO, 2010).

### 3-Morfoloji

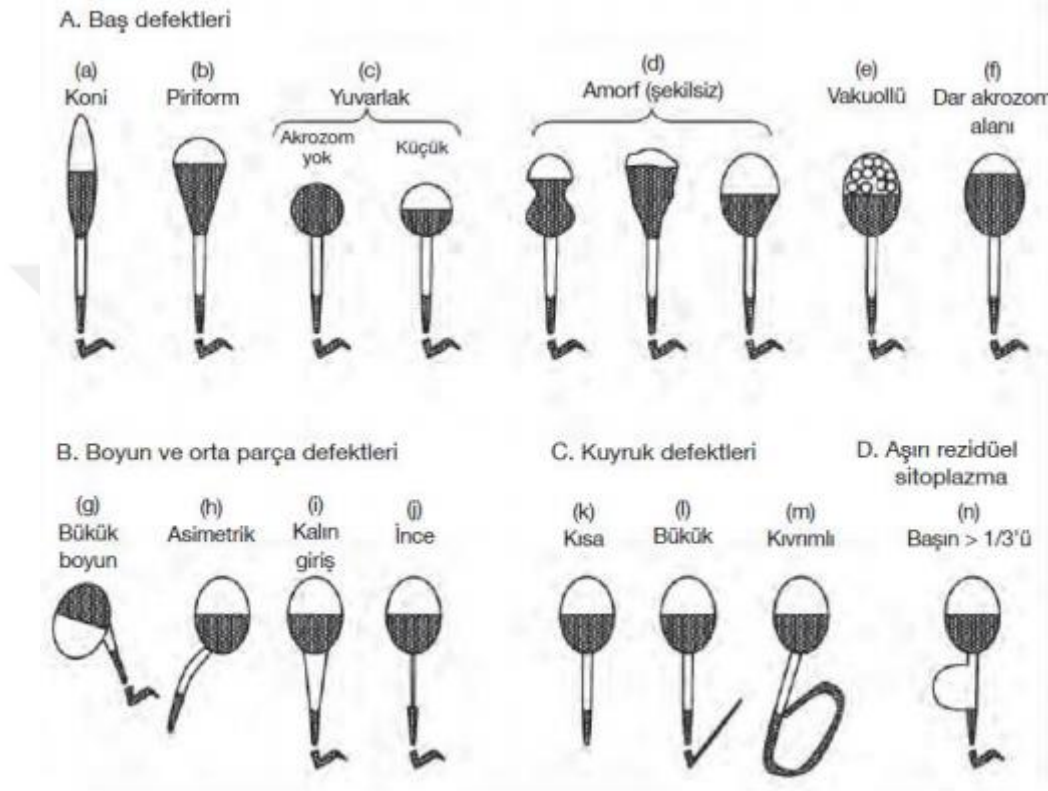
Rutin olarak semen analizinde morfoloji, spermın fiziksel olarak özelliklerinin görsel olarak değerlendirilmesidir. Normal bir sperm baş ve kuyruk olmak üzere iki parçadan meydana gelir. Baş kısmında, akrozom, post akrozomal kısım ve çekirdek(nukleus) bulunur. Kuyrukta ise boyun, orta parça, ana parça ve son parçadan oluşmuştur. Orta parçada spermın temel enerji gereksinimini karşılayan mitokondriler yer almaktadır. Spermın kuyruk kısmında meydana gelen anomaliler spermın motilitesi üzerine olumsuz etkiye neden olur (Kruger, 1987; Gardner, 2004).



**Şekil 2** Normal spermın kısımları (Orhon, 1995).

Normal spermın morfolojik değerleri Kruger strict kriterleri ve WHO kriterleri ile tanımlanmıştır. Dünya Sağlık Örgütü kriterlerine göre toplam sperm sayısı üzerinden %30'unun normal morfolojide olması gerekir. Kruger strict kriterlerine göre spermın normal olması için tüm morfolojik özelliklerinin tam olması gerekir, en ufak anomali olması bile spermın anormal olduğunu belirtilir. İlk defa 1986 yılında Kruger ve ark.'nın tarafından belirlenen bu kriterleri, 1990 yılında Menkveld ve ark.'ları tekrardan revize etmişlerdir (Menkveld ve ark., 1990).

Sperm morfolojisi fertilité açısından önemli bir potansiyele sahiptir. Kruger kesin kurallarına göre normal morfolojiye sahip spermilerin IVF başarısı ile pozitif korelasyonu vardır. Kruger'e göre sperm morfoloji değeri %4'ten az olduğu zaman oosit başına fertilizasyon oranı %7,6 iken, morfoloji %4 ten fazla normal morfolojiye sahip spermilerin olduğu vakalarda fertilizasyon oranı %63,9'a ulaşmaktadır.



Şekil 3 Anormal Sperm Morfolojileri (WHO, 2010).

Spermiogram sonucundan elde edilen değerler WHO'a (2010) göre Őu Şekilde sınıflandırılır.

**Normospermi** : Semende 15 milyon/ml üzerinde sperm bulunması

**Oligospermi** : Semen içinde sperm sayısının 15 milyondan az olması

**Astenospermi** : ileri hareketliliğin %40'ın altında olması

**Teratospermi** : Morfolojinin %4 altında olması

**Oligoastenoteratospermi**: Her  değiskende olan bozukluğa iŐaret eder

**Azospermi**: Ejakülatta hiç spermatozoa olmaması

**Aspermi**: Hiç ejakülat elde edilememesi(WHO, 2010).

#### **4.1.3.4. Azoospermi**

Erkek infertilitesine konjenital ya da sonradan ortaya çıkmış urogenital kusurlar, enfeksiyonlar, skrotumda sıcaklığa neden olan durumlar (varikosel) endokrin bozukluklar, genetik kusurlar yada mmnolojik faktörler neden olabilmektedir. Etiyolojisi bilinmeyen idiopatrik erkek infertilitesi popülasyonu %30 oranındadır. İdiopatrik erkek infertilitesine neden olan faktörler kronik stres, çevresel kirliliğe bağlı endokrin bozukluklar oksidatif stres ve genetik bozukluklar yer almaktadır. İdiopatrik infertiliteye sahip erkeklerde herhangi bir hastalığa ait öyküleri ve hormonal bozuklukları olmamasına rağmen semen analizinde bozukluklar bulunmaktadır. Bunlar sperm sayısının azlığı (oligospermi), sperm hareketliliğinin düŐüklüęü (astenospermi) ve anormal sperm morfolojisine sahip (teratospermi) gibi anormalliklere sahiptirler. Bu sperm anormalliklerin hepsinin bir arada aynı hastada olması durumu da oligo-asteno-teratospermi (OAT) olarak adlandırılır (Tttelmann, 2010).

Azoospermi, ejakülattan spermin yokluğu olarak tanımlanır, bu da infertil erkeklerin tahmini olarak % 10-20'sini etkiler. Olguların % 40'ında tıkanıklığa bağlı obstrüktif, diğer olgularda ise spermatogenez başarısızlığı nedeniyle non-obstrüktif azoospermi (NOA) görülür ( Jarow vd., 1989). Non- obstrüktif azoospermi (NOA) olgun sperm hücrelerinin testiste çok az bulunması yada hiç üretilmemesinden dolayı ejakllatta sperm yokluğu olarak bilinmektedir. Non- obstrüktif azoospermi (NOA)

azospermi neden olan faktörler testis travması, anorşi, inmemiş testis, Klinefelter sendromu, germ hücre aplazisi, matürasyon arresti, orşit, radyasyon sıcaklık artışı, siroz, böbrek yetmezliği çeşitli testis tümörleri, varikosel ve idiopatrik nedenler yer alır (Hopps vd., 2002). Non- obstrüktif azospermi vakalarında testislerde spermatogenezin olduğu odaklar bulunup, bu odaklardan olgun sperm hücreleri elde edilir. Bu şekilde sperm eldesine testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) denir (Turunc, 2006). Güncel olarak TESE sperm bulma ihtimali yüksek olan mikroskop ile (mikro-TESE) yapılmaktadır (Dabaja ve Schlegel, 2013).

Bu erkeklerde sperm ejakülattan yok olsa da, testislerden alınabilir ve ICSI ile gebeliğe ulaşmak için kullanılabilir. Son raporlar infertil erkeklerin spermlerinde epigenetik anormalliklerin varlığını göstermiştir ( Kobayashi vd., 2007).

#### **4.2.Cerrahi Sperm Elde Etme Teknikleri**

Azospermi, infertil erkeklerin yaklaşık %10- 15'inde görülmektedir. Azospermi saptanan hastaların %40'ında OA, %60'ında NOA saptanmaktadır. Sperm elde etme yöntemleri azospermik (obstrüktif ve non-obstrüktif ) olan infertil erkeklerde yardımcı üreme yöntemleri için testisten ya da epididimden sperm elde etmek için kullanılır. Genel olarak sperm elde etme yöntemleri şunlardır;

- 1) Perkütan Epididimal Sperm Aspirasyonu (PESA)
- 2) Mikrocerrahi Epididimal Sperm Aspirasyonu (MESA)
- 3) Testiküler Sperm Aspirasyonu (TESA)
- 4) Konvansiyonel Testiküler Sperm Ekstraksiyonu (TESE)
- 5) Mikrocerrahi Testiküler Sperm Ekstraksiyonu (m-TESE)

**1) Perkütan epididimal sperm aspirasyonu (PESA):** Bu yöntemde teknik olarak önce testis hazırlanır ve lokal anestezi uygulanır. Epididim lokalize edilerek 23 G ve 10 ml iğne epididim içine gelecek şekilde batırılır ve 5 ml negatif basınçla aspirasyon yapılır. Gelen materyal hızlı bir şekilde laboratuvara gönderilir. Bu yöntem ile vasküler yaralanma ve hematoma gelişme oranlarının diğer yöntemlere göre daha yüksek bulunmaktadır.

**2) Mikrocerrahi epididimal sperm aspirasyonu (MESA):** MESA konjenital vaz deferens agenezisi saptanan hasta grubunda yapılmaktadır. Teknik olarak, 2-3 cm'lik

skrotal transvers insizyonla testis doğurtulur. Tunika vajinalis açılarak epididime ulaşılır. Epididim, mikroskop altında 16x-25x büyütme ile incelenir ve epididimal tunika sedef renkli dilate tubüllerin üzerinden açılır. Daha sonra epididimal sıvı mikropipet yardımı ile alınır. Testis ve epididim nazikçe komprese edilip gelen sıvı miktarı arttırılabilir. Bu yöntemle, 10-20 µl epididimal sıvı elde edilebilir. MESA ile genellikle hem sperm dondurma hemde IVF/ICSI için yeterli sperm alınabilmektedir.

**3) Testiküler sperm aspirasyonu(TESA):** Lokal anestezi altında, spermatogenezin normal olduğu hastalarda uygulanır. Skrotal ciltten iğnenin testis içine batırılıp aspirasyonu yöntemine dayanır.

**4) Konvansiyonel testiküler sperm ekstraksiyonu(TESE):** NOA'de, testiste sperm üretiminin heterojen dağılımı nedeniyle farklı bölgelerinden örnek almak, bir testiste sperm bulunamadığında diğer testise geçilir.

**5) Mikrocerrahi testiküler sperm ekstraksiyonu(m-TESE):** m-TESE konvansiyonel TESE'ye göre daha spesifik teknik gerektirir. m-TESE'de testis parankimi 15x veya 25x büyütme altında incelenir. Spermatogenez olan tübüller diğerlerine göre daha geniş, opak ve beyaz olarak görülür. Avantajları, yüksek sperm bulma oranları, gereksiz testis dokusu alınmaması ve komplikasyonun düşük oranda bulunmasıdır. TESE ile sperm bulma oranı %35 iken, m-TESE ile bu oran %52 olarak bulunmuştur (Kadıoğlu ve Ermeç, 2017).

### 4.3.Yardımcı Üreme Teknikleri

Yardımcı üreme teknikleri hipersitümlasyon ile overden ovulasyon sağlanarak elde edilen oositlerin,ejakülattan yada cerrahi yollar ile alınan spermler ile laboratuvar ortamında bir araya getirilerek, oluşturulan embriyonun uterin kaviteye transferini sağlayan bir tedavi sürecidir (Guzick vd., 1998).

#### 4.1.1.İntrauterin inseminasyon(IUI)

İntrauterin inseminasyon infertil hastalarda uzun süredir yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir.İntrauterin inseminasyon (IUI), elde edilen spermlerin doğrudan uterus boşluğuna aktarılması metodudur (Tarlatzis vd., 1991). Düşük sperm sayı ve motilitesi, zayıf penetrasyon yeteneği ve servikal faktörlerde bu



yöntem, daha fazla motil spermin fertilizasyon alanına ulaşmasını sağlar. İntrauterin inseminasyon birçok endikasyon ile uygulanmakta ve farklı gebelik oranları elde edilmektedir. Normal cinsel ilişki sonrası kadın genital yollarında sperm sayısının  $10^5$ - $10^6$  oranında azaldığı bilinmektedir (Mortimer ve Templeton, 1982). İnfertil çiftlerde IUI yöntemi uygulandığında, yalnızca ovulasyon zamanlaması yapılması, cinsel ilişkilere göre daha başarılı sonuçlar elde edilmektedir (McGovern vd., 1989). Bu başarıda iyi ovulasyon zamanlamasının yanında yüksek sayıda sperminde oosit yakınına aktarılmasının da payı olduğu düşünülmektedir (Hoing vd., 1986). İntrauterin inseminasyon başarısının, over hiperstimülasyon ile birlikte uygulanması başarıyı arttırdığı birçok araştırmacı tarafından kabul edilmektedir (Dodson ve Haney, 1991; Di Marzo, 1992; Chaffkin, 1991).

#### **4.1.2.Klasik in vitro fertilizasyon (IVF)**

İn vitro fertilizasyon, uygun laboratuvar koşullarında oosit kültür kabında oosit ve spermatozoanın bir araya konularak, spermatozoaların kendi yetenekleri ile oositi döllemesi temeline dayanan bir yöntemdir (Carr ve Blackwell, 1998). Günümüz tekniği olan mikroenjeksiyon yöntemine göre uygulaması basit ve düşük maliyetli olması ve oosite uygulanan manipülasyonun daha az olması, spermatozoanın dışardan müdahalaya maruz kalmadan oosit ile birleşmesi avantaj sağlamaktadır. Sperm sayısı yeterli olduğu durumlarda Ivf yöntemi tubal faktör, anovulasyon ve açıklanamayan infertilite dışındaki olgularda kullanılmaya başlanmıştır (Trounson, 1982). Düşük sperm (oligospermi) değerleri ve morfoloji kriterinin %4 (teratozosperti)' ün altında olması, klasik Ivf'te fertilizasyon oranını düşürmektedir (Kruger vd., 1988). Bu nedenle sperm ve oosit birleşmesini kolaylaştıracak yeni yöntemlere gidilmiştir. Bunlardan biri hiyaluronidaz ile oositin etrafında bulunan kümülüs-korona yapısındaki hücreleri ayrıştırarak uzaklaştırmaktır (Mahadevan ve Trounson, 1985). Klasik Ivf'teki düşük erkek subfertilitesinin düşük fertilizasyon oranının az ve kaliteli embriyo oluşturma oranını azaltması, yeni mikromanipülasyon tekniklerinin geliştirilmesini sağlamıştır.

Başlıca bu teknikler;

**Parsiyel zona diseksiyonu (PZD):** Bu yöntemde zona pellusidası üzerinde delik ile açılan oositler içinde spermatozoaların bulunduğu kültür kabına bırakılır(Cohen ve ark., 1991)

**Subzonal inseminasyon (SUZI):** Hareketli birkaç spermin oositin previtelin aralığına bırakılması yöntemidir(Gardner ve ark., 2004)

**İntra stoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI):** Tek bir spermatozomun mikromanipülator yardımı alınarak oositin stoplazması içerisine bırakılarak döllemenin sağlanması yöntemidir ( Palermo vd., 1992).

#### **4.1.3. İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI)**

ICSI, bir sperm hücreğini özel bir pipet yardımı ile zona pellusida ve oolemmayı aşarak oositin sitoplazmasına bırakılması esasına dayanır. ICSI genel olarak erkek kaynaklı infertilite olgularında kullanılan mikromanipülasyon işlemidir. İnfertilite sonucu başvuran erkek hastanın ejakülatındaki sperm konsantrasyonu 2 milyon/ml'den az olması (Van Steirteghem vd., 1993) sperm motilitesinin %5'ten düşük olması ve Kruger'e göre sperm normal morfolojisinin (Kruger'in Kesin Kriterleri) %4'ten daha düşük olması durumunda ICSI yöntemine başvurulur (Kruger, 1986). Ejakülatta sperm hücresi bulunmuyorsa cerrahi yöntemler ile epididimal veya testiküler spermatozoon elde edilir ve yine ICSI yöntemi uygulanır (Plachot vd., 2002; Pinheiro vd., 1999; Zollner vd., 2001). Önceden klasik İvf yöntemi denenmiş ve sonuç alınmamışsa hastalarda da ICSI yöntemi kullanılır. Bunlarla beraber ileri kadın yaşı yada düşük over rezervli kadın faktörlerinde yine ICSI yöntemi tercih edilmektedir (Gardner vd., 2004).

Birden çok oosit elde etmek için ovulasyon indüksiyonu veya kontrollü ovaryen hiperstimülasyonu denilen işlemler ile ilaçlar yardımıyla ovaryumlar uyarılır. Bu işlemler hastanın yaşı, önceki denemeleri, oosit rezervi, Folikül stimulan hormon düzeyine (FSH) göre hastaya indüksiyon uygulanır. Ovaryumda bulunan foliküller istenilen büyüklüğe ulaştığında ve uygun östrojen değerleri sağlandığında hastaya insan karyonik gonotropini (HCG) enjekte edilir. Bu protokolden 36 saat sonra vajinal yol ile ultrasonografi eşliğinde yumurta toplama işlemi yapılır (OPU).

Yumurtalar toplandıktan sonra ayıklama (denüstasyon) işlemi adı verilen oositin etrafında bulunan kümülüs ve granüloza hücrelerinden arındırılma işlemi uygulanır. Daha sonra elde edilen olgun (Metafaz II) evresindeki oositler erkekten alınan semeni yıkayarak hazırlanan spermatozoonlar ile kültür ortamında mikromanipülasyon mikroskobu ile ICSI işlemi yapılır (Gardner ve ark., 2004).



**Şekil 4** Gv, M1 ve M2 oosit (Magli ve ark., 2012).

Semen hazırlama işleminde amaç en iyi hareket ve morfolojiye sahip kaliteli spermatozoonu seçmektir. "Swim up" yada "Density Gradient" işlemleri sperm yıkama da kullanılan iki yöntemdir. Swim up tekniği, semen örneği gazlı bir inkübatörde dengelenmiş olan kültür medyumunu ile karıştırıp belli bir süre santrifüj edilip, daha sonra elde edilen pellet üzerine konulan kültür medyumunu ile 45°'lik açı ile 37° C' lik gazlı inkübatörde yaklaşık bir saat bekletilir. Bu süre de iyi hareket ve morfolojiye sahip spermatozoonlar üst faza yüzmüş olur.

Density Gradient yönteminde ise iki farklı yoğunlukta solüsyonun üzerine bırakılan likefiye semen örneğinin belli hız ve süre ile santrifüj edilerek en iyi morfoloji ve hareketliliğe sahip spermatozoonların dibe çökertilerek elde edilmesi yöntemidir. Dibe çöken spermatozoonlar temiz medyum ile karıştırılıp iki kere daha belli bir süre santrifüj edilip yıkanır. Böylelikle elde edilen kaliteli spermatozoonlar ile ICSI işlemi uygulanır (Scott ve Smith, 1998).

Yıkama işlemi sonrası elde edilen iyi hareket ve morfolojiye sahip spermatozoonlar seçilerek tutucu pipet ile sabitlenen oositin sitoplazmasına enjeksiyon pipeti ile bırakılır.

Mikroenjeksiyon işleminden 16-18 saat sonra erkek ve dişiye ait birer pronükleusun oluştuğu döllenme emaresi gözlemlenerek fertilizasyon kontrol edilir. İki pronükleuslu bu yapı “zigot” olarak adlandırılır. Mikroenjeksiyon işleminden 24 saat sonra ise zigot ilk bölünmeyi göstererek, iki blastomerli embriyo yapısını oluşturur. Oluşan embriyolar in vitro ortamda belirli sıcaklık, nem ve gaz oranlarına sahip inkübatörlerde bölünmeleri takip edilir. Embriyolar 2. Gün tekrar bölünüp 8 blastomer, 4. gün ise blastomerlerin sayılmadığı kompakt bir şekil alır ve 5. günde ise blastosist yapısını oluşturur (Trounson, 1993).

#### **4.4.Fertilizasyon ve Embriyo Gelişimi**

Fertilizasyon erkek sperm hücresinin dişi oosit hücresi ile çekirdek ve sitoplazmik komplementleri ile birleşip yeni bir birey oluşturması sürecidir (Delilbaşı, 2007).

Tuba uterinanın ampulla bölgesinde oosit ve spermin birleşmesi ile başlayan fertilizasyon, oosit aktivasyonu ile 2 hücreli embriyo oluşana kadar devam eder (Gardner ve ark., 2004). Fertilizasyonda ilk aşama spermin, oositin etrafını saran korono radiata hücrelerini aşip sitoplazmaya ulaşmaktır. Bu aşamada kapasite olmuş sperm korona hücrelerini aşmayı sağlar. Kapasitasyon aşamasında sperm, tubal epitel hücreleri ile etkileşerek seminal plazmanın etkisi ile sperm etrafındaki glikoprotein yapısından kurtularak akrozomun açığa çıkıp birleşmeye hazır hale gelir. Koronayı aşan sperm oositin diğer yapısı zona pellusida (ZP) ile karşılaşır. Sperm bu engeli ise ZP’de bulunan ZP3 proteini ile etkileşime girerek, akrozomda bulunan akrosin enzimlerinin salınmasını sağlar ve buda spermin ZP’yi geçmesini sağlar. ZP’yi geçtikten sonra sperm oositin bir diğer yapısı olan oolemma ile temas eder. Oositin etrafındaki bu zar tek bir sperm ile aktive olur ve yapasındaki bazı kimyasallar salgılaması sonucunda başka bir sperm hücresinin oosite girmesini engeller. Böylece başka bir sperm ile döllenmeyi engeller buna polispermi engeli denir. Oolemma ve sperm arasındaki bu kimyasal değişimlerden biri kalsiyum ( $Ca^{++}$ ) artışıdır. Bunun dışında bazı değişimler ise ZP üzerindeki sperm reseptörlerinin başka kimyasallar tarafından inhibe edilmesi ile oositin geçirgenliğinin yok edilmesidir. Bir başka salgılanan madde ise kortikal granüllerdeki lizozom enzimleridir. Kimyasal değişimlerden önce oositin oolemması ile birleşen sperm, zarındaki fertilin enzimini

salgılayıp oosit zarındaki integrinler ile etkileşime girer ve zarların kaynaşmasıyla sperm zarını dışarda bırakır. Böylece sperm baş, boyun ve kuyrukla beraber oositin sitoplazmasına girmiş olur (Sadler,1995). Sperm ve oosit birleşene kadar bazı hazırlık aşamalarından geçerler. Oolemma ve oosit birleştiğinde metafaz II safhasında duraksamış olan oosit sperm ile aktive olur ve bu safhayı tamamlar. Sperm ile aktive olan oosit ikinci polar cisimciğini atar ve dişi pronukleus (PN) oluşur. Sperm ise paket halinde bulunan kromotinlerini açarak zarını yok eder. Oosite benzer spermde, bazı değişimler göstererek erkek pronukleusunu oluşturup dişi pronukleusa doğru yönelir (Sadler, 1995). Dişi ve erkek pronukleuslar hücrenin merkezine doğru ilerleyip kaynaşırlar. Bu arada her iki hücrenin genetik materyali iki katına yükselir. Bu arada pronukleus zarları ortadan kalkar ve kromozomlar karşılıklı olarak sentromerleri aynı hizaya gelip, iğ ipliklerine bağlanıp metafaz plağına dizilirler. Böylece mayoz tamamlanınca aynı büyüklükte eş iki adet blastomer oluşur. Bu blastomerlerde 48 saat sonra iki blastomere daha oluşturup 2. günde 4 blastomerli embriyo yapısını oluşturur. Bölünmeler senkronize devam edip her blastomer bir nukleus içermelidir. İkinci bölünme tamamlandıktan sonra 40-50 saat sonra 4, üçüncü bölünme tamamlandığında yani 60 saat sonra ise 8 blastomerli embriyo yapısı oluşur (Sadler, 1995).

Fertilizasyondan itibaren üç gün sonra embriyo 16 blastomerli olup,her biri kaynaşıp artık “Morula” yapısını oluşturacaktır. Morula yapısı ise kompaktlaşan iç hücreleri embriyonun, iç hücre kitlesini, dıştaki hücreler ise ilerde plasentayı oluşturacak olan trofoblast yapısını oluştururlar. Embriyonun iç hücre kitlesini oluşturan hücrelere embriyoblast denir. Embriyoblastlar hücrenin kutup cisimciğini attığı ana bölgede toplanırlar. Bu yapılar yaklaşık yüz ve üzeri hücre sayısına sahiptir. Embriyoblast ile trofoblast arasında sıvının biriktiği bir alan oluşur,buna blastosöl denir. Yaklaşık 8 embriyoblast ve 99 trofoblast hücrelerinin oluşturduğu bu embriyo yapısı blastosist olarak adlandırılır. Blastosist devamlı gelişerek genişlemeye, böylece zona pellusidayı baskılayıp incelmeye neden olur. Zona pellusida belirli bir incelmeden sonra yaklaşık beşinci günde artık patlar (Sadler, 1995). Embriyoda PN’ler merkezde ilk  $17\pm 1$ ’saatte dizilmiş ve eşit büyüklük ve yapıda yanyana belirgin olarak gözlenmeleri lazım. PN’lerin görülme zamanı ve yapıları ilerde oluşacak olan embriyonun kalitesi hakkında ilk değerlendirmeyi sağlar (Magli ve ark., 2012).



**Şekil 5** Fertilizasyon (Magli vd., 2012).

Embriyo ilk gün oluşumunda bazen 1 PN, bazende 3 veya daha fazla sayıda PN yapısını gösterebilir. Bu durumlarda asenkronize gelişim gösteren PN ler, 1 PN oluşumuna ve birleşmesine neden olur. Böylece zigot diploid şekilde ikiye bölünebilir. Bazı durumlarda ise tek kutup cisimciği gözlemlenebilir. Bu durumda bir genetik anormallik düşünülebilir. Sitokinezin tamamlanmaması, iki sperm in oositi döllemesi gibi durumlarda 3PN oluşumuna neden olur. Böyle durumlarda embriyo normal olarak ikiye bölünebilir ancak yinede genetik bir sorunun olduğu belirtilmektedir (Magli vd., 2012).

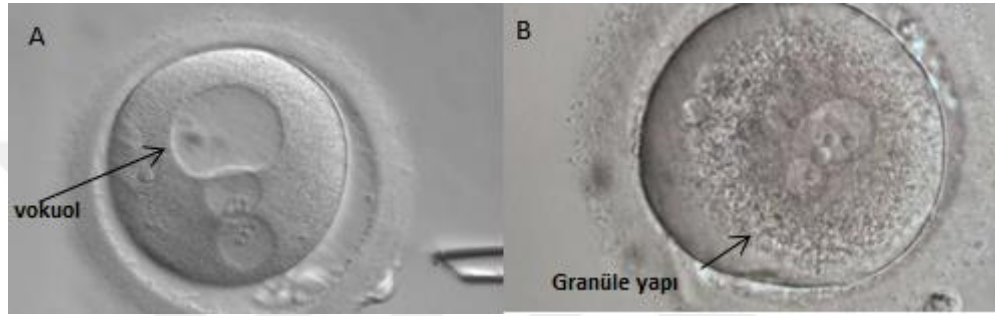


**Şekil 6** Anormal Fertilizasyon: Döllememiş oosit (FF), Tek çekirdekli döllenme (1 PN), Üç çekirdekli döllenme (3 PN) (Magli vd., 2012).

Sperm oosit sitoplazmasına girdikten sonra kromotinlerini yine oosite ait proteinler tarafından açar. Bu durum sperm den gelen PN'nin büyüklüğünü belirler. Erkek PN, dişi PN'den daha büyük olabilir (Magli vd., 2012). Oosit olgun değilse eğer ilk  $17\pm 1$  saatte PN'ler daha küçük olabilirler. PN'lerin küçük olması geç döllenme ve embriyoda genetik anamollige neden olabilir (Payne vd., 1997). PN'ler

eğer normalden çok daha büyükse buda hem fragmentasyon hemde kromozomal anomalinin olabileceği belirtilmektedir (Magli vd., 2012).

Görünüm olarak oosit stoplazmasının homojen bir yapıda olması gerekir. Ancak granüler ve vokuollü olabilir. Granüllü yapının stoplazmada oluşmasının embriyo gelişimine etkisi ile ilgili belirgin bir bilgi bulunmamaktadır (Magli vd., 2012). Fakat 14 µm'den büyük olan vokuolün embriyonun daha az sayıda blastomere bölünmesine neden olduğu bilinmektedir (Ebner, 2005).



**Şekil 7** Vokuol ve granüle yapıya sahip embriyo A. Saat 12 yönünde vokuol yapısı. B. Granüle yapıya sahip embriyo (Magli vd., 2012).

Embriyo blastomerlere bölündüğünde oluşan çekirdeksiz hücre yapıları fragman olarak adlandırılır (Antczak ve Van Blerkom, 1999). Bu fragmanlar bazen embriyonun her döneminde gözlemlenirken bazen bazı evrelerinde görülüp yok olabilirler (Van Blerkom vd., 2001). Fragman oranının çokluğu hücre dağılım ve yerleşimini etkileyebilir. Aynı zamanda fragmentasyon embriyo implantasyon ve anöploidi ile ilişkisi olduğu söylenmektedir (Munné, 2006). Fakat embriyoda fragmentasyon oranının %10 ve altında olması herhangi bir olumsuzluğa neden olmadığı belirtilmiştir (Holte vd., 2007).



**Resim 1** Klivaj embriolarında %10 oranında fragmantasyon (Magli vd., 2012).

Oosit mitoz ile ilk bölündüğünde iki blastomerli yapıda olması gerekirken bazen üç blastomere bölünür. Bu duruma “Direkt Bölünme” adı verilir. Direkt bölünmenin kromozomal bir kusurun göstergesi olduğu ifade edilmektedir. (Rubio vd., 2012).

Embriyo bazen bölünürken, bir blastomerini geri alıp tekrar bölünmesi “Geri Birleşme” olarak adlandırılır. İki tip geri birleşme olur. Bunlardan tip-I’de embriyolarak tam olarak ayrıldıktan sonra birleşirler, tip-II’de ise sitokinez tamamlanır sonra geri birleşme olur. Tip-II birleşme daha sık gözlenmektedir. Geri birleşme embriyonun implantasyon oranını düşürdüğü, çoklu nükleus oluşumuna ve genetik anomalili durumların oluşmasına neden olduğu ifade edilmiştir (Liu vd., 2014).

Embriyo bölünmesi esnasında her blastomer sitoplazmayı eşit şekilde bölüşmemektedir bu durumda stoplazmadaki moleküllerde eşit değerde dağılmazlar. Böyle durumlarda her blastomere eşit oranda mRNA, protein vb yapılarıdaki moleküllerde eşit oranda içermezler. Bu durum, implantasyon oranını düşürürken, multinükleasyon ve anöploid oranını da artışa neden olmaktadır (Magli vd., 2001).

Blastomerlerin eşit olmadığı ve fragmantasyonun fazla olması embriyoda multinükleasyona neden olur (Van Royen, 2003). Multinükleasyon embriyoda genetik kusurun olduğunu gösterir (Moriwaki ve ark., 2004; Agerholm ve ark., 2008). Birden fazla nükleusun olması embriyonun abort olması oranını yükseltir (Scott ve ark., 2007).

Blastomer sayıları 8 ve daha fazla artığında hücreler arası bağlantı noktaları, hücreler arası bağlantılar olan E-cadherin sayıları artar. Bu durumda hücreler arası birleşme yani kompaksiyon durumu oluşur. Bazen bütün blastomerlerde birleşme olmaz buda



embriyonun iyi kalitede olmasını engeller. Kompaksiyon yani birleşmeyi değerlendirmek için morulanın morfolojik yapısı gözlenmelidir (Magli ve ark., 2012).

Embriyoda blastomerler arası birleşmeden sonra hücre sınırları belirginliğini kaybettiğinde artık embriyo morula evresine geçmiştir. Bu evrede morula 16-32 blastomerli yapıya sahiptir (Magli ve ark., 2012). Embriyo yapısında sıvı bir alan oluşur buda kaviteden dolayı oluşur. Bunun devamında Na/K-ATPase kanallarının tuz konsantrasyonlarını değiştirmesi gerçekleşir. Embriyo sıvı almaya devam ederek Zona Pellucida (ZP)'yı baskılar (Watson ve ark., 2004).

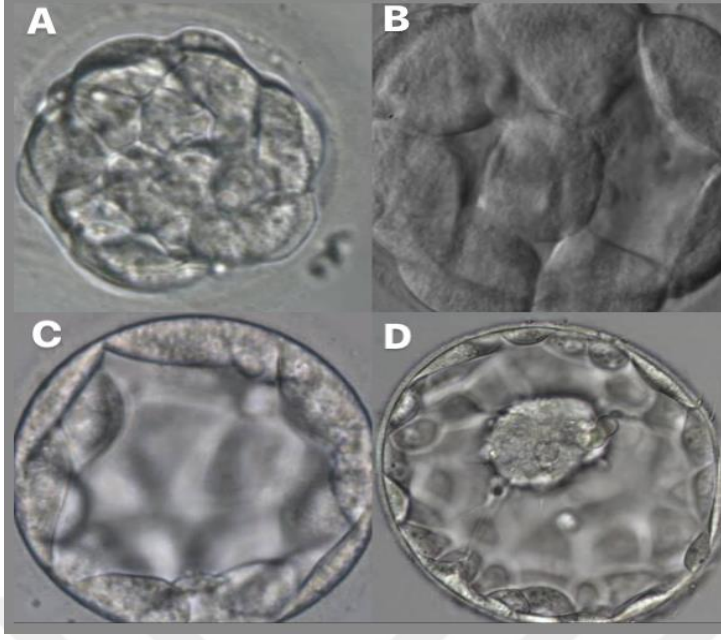
Blastokist evresinde embriyolar 6 parametrede değerlendirilir.

- 1-Bastosöl embriyo boyutunun yarısından azdır.
- 2-Blastosöl embriyonun boyutunun yarısı kadar yada daha fazladır.
- 3-Embriyonun içi tamamen sıvı ile dolmuştur.
- 4-Embriyo büyüyerek ZP incelmeye başlamıştır.
- 5-Embriyo boyutu artmış, ZP delmiş bir miktar dışarı çıkmıştır.
- 6-ZP çatlatan embriyonun tamamı dışarı çıkmıştır(Magli vd., 2012).

En sık kullanılan blastokist sınıflandırması Gardner ve Schoolcraft yöntemine göre değerlendirilir. 3. derece ve sonrası için blastokist kalitesi embriyonun iç hücre kitlesi (ICM), blastomer sayısı ve trofoektoderm (TE) yapısına bakılarak yapılır (Magli vd., 2012).

İç hücre kitlesinin büyüklüğü aynı zamanda implantasyon oranını yükselttiği ifade edilmektedir (Balaban ve ark., 2000). Trofoektoderm ise implantasyonda ve sonrasında embriyonun dış zarlarını oluşturduğu söylenmektedir (Aplin, 2000). İç hücre kitlesi ve trofoektoderm sınıflandırması hücre bağlantı ve yoğunluğuna göre 3 sınıfa ayrılır. Hücre yoğunluğu ve sıklığı en iyi kaliteyi belirtir (Ahlström, 2011).

- A- Sıkı paketlenmiş ve çok sayıda hücreden oluşması
- B -Gevşek kümelenmiş ve az sayıda hücreden oluşması
- C- Çok az sayıda hücreden oluşması



**Resim 2** Blastosist aşaması embriyoları ( Magli vd., 2012).

- A. Hücreler arası birleşmenin başladığı (morula) erken evre blastosist
- B. Hücreler arası kavitenin oluştuğu (kavitasyon) erken evre blastosist
- C. Dış trofektoderm tabakanın ve ICM (iç hücre kitlesinin yeni oluşmaya başladığı) erken evre blastosist (early blast)
- D. İç hücre kitlesi (ICM) ve Trofektoderm tabakasının belirgin halde gözlendiği blastosist.

#### 4.5. Preimplantasyon Genetik Testler

Preimplantasyon genetik tanı, in vitro fertilizasyon yöntemleri kullanılarak elde edilen embriyoda ortaya çıkabilecek kromozom anomalileri tespiti yanısıra tek gen hastalıkları, mitokondriyal DNA içeriği ve mosaizm gibi genetik analizleri sağlayan yöntemdir. PGT yakın tarihinde 1968 yılında Gardner ve Edward tarafından bir tavşan embriyosunun blastosist hücrelerinde biyopsi alınarak yapılmış ve X kromozomunun kromotinleri incelenmiştir (Gardner ve Edward, 1968). İnsan embriyoları için PGT dünyada ilk defa Polar Hücre Biyopsisi (PHB) ile 1987 yılında yapılmış ve Verlinsky ve arkadaşları tarafından uluslararası bir kongrede sunulmuştur. 1990 yılında ise Verlinsky ve arkadaşları  $\alpha$ -1 antitripsin için

heterozigot olan bir anneden polar hücre biyopsisi alınmış PGT yöntemini uygulamışlardır (Verlinsky ve ark., 1990). Storm ve arkadaşları aynı yaptıkları Polar Hücre Biyopsisi ile kistikfibrozis olan çiftin embriolarına PGT uygulamışlardır (Strom ve ark., 1990). PGT, yardımcı üreme teknikleri yaygınlaşması ve moleküler genetik alanındaki gelişmeler ile beraber dünyanın bir çok ülkesinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır.

Klinikte kullanılan iki farklı preimplantasyon genetik testi vardır. Pre implantasyon Genetik Tanı (PGT) ve Preimplantasyon Genetik Tarama (PGT-A).

#### **4.4.1.Preimplantasyon genetik tanı (PGT)**

Preimplantasyon genetik tanı (PGT)'da belirli bir mutasyona sahip ebeveynlerden biri yada ikisinin taşıyıcı olması durumunda, bu mutasyondan etkilenmeyen bir gebelik oluşturmaktır. Aynı zamanda translokasyon yada cinsiyete bağlı geçişli kromozomal anomaliler, insan lökosit antijen (HLA) türü gibi spersifik genlere sahip embrioları seçmek amaçlı kullanılır. Bu uygulamalarda karşımıza en çok çıkan endikasyon grubu denegeli trasnlokasyon taşıyıcılığı karşımıza çıkmaktadır. Bu endikasyona sahip ebeveynlere ait herahangi bir sağlık tehlikesi bulunmamasına rağmen, doğacak olan çocuğun dengesiz translokasyona bağlı genetik defektlere maruz kalabilir. Yapılan klinik çalışmalarda dengeli translokasyona sahip ebeveynlerin, implantasyon öncesi incelenen embrioların PGT sonuçlarında; canlı doğum oranlarının %11,5' ten, %79,4'e arttığı ve gebeliğin abortus ile sonlananların oranı ise, % 95'ten %12,5'e düştüğü gözlenmiştir.

Tek gen hastalıkları açısından risk taşıyan ebeveylere PGT işlemi uygulama günümüzde başarılı sonuçlar ile güvenilir hale gelmiş ve kullanımı artış göstermektedir. Son zamanlarda genetik alanındaki teknolojilerin hızlanması ile hasta çocuğa sahip aileler, Human Leukocyte Antigen (HLA) uyumlu kardeş için yardımcı üreme tekniklerinden yararlanarak elde edilen embriolarda PGT yöntemi ile hasta çocukları için HLA uyumlu kardeş aramaktadırlar (Yang ve ark., 2012).

#### 4.4.2 Preimplantasyon genetik tarama (PGT-A)

PGT-A'da ise de-novo kromozomal anomalileri incelemek için başvurulur. Yani PGT-A öploid olduğu bilinen çiftin embriyolarındaki subkromozomal delesyonları ve eklemeleri içeren de-novo anöploidilerin belirlenmesini sağlar. İnsan infertilitesinde büyük bir neden olarak anöploidiler gösterilebilir. Çünkü implantasyon başarısızlıklarının büyük çoğunluğuna anöploidiler neden olmaktadır. Yeni doğanlarda anöploidi insidansının oldukça düşük olması, abortusun temel nedeni olduğu düşünülmektedir (Nagaoka ve ark., 2012).

PGT-A ile elde edilen öploid embriyoları transfer edildiğinde abortus oranlarında azalma ve başarılı implantasyon sonuçları alınacaktır. Ancak yapılan bir klinik çalışmada ileri maternal yaşta PGT-A'nın faydası olmadığı ve aksine genel olarak gebelik şansını azalttığı bildirilmiştir (Mastenbroek ve ark., 2011). Bu da zaman içinde PGT-A yönteminde kuşkuya yola açmıştır. Ancak bu çalışmalar yapıldığı dönemde standart yaklaşım blastomer biyopsisi ve ile Floresan in situ hibridizasyon (FISH) yöntemi ile analizi idi. Fakat teknoloji ilerledikçe daha etkili karşılaştırmalı analiz yöntemleri, kantitatif polimeraz zincir reaksiyonu (qPCR), mikroassay kompetitif genomik genomik hibridizasyon (aCGH), tek nükleotit polimorfizm (aSNP), yeni nesil dizeleme (next generation sequencing; NGS) geliştirilmiştir. aCGH metodu kullanılabilirliğini değerlendirilmesi açısından Yang ve ark. tarafından 2012 yılında yaptıkları çalışmada blastokist biyopsisi ve aCGH yapılan öploid embriyoları, sadece morfoloji ile değerlendirilen embriyolarla klinik gebelik ve devam eden gebelik açısından karşılaştırıldıkları görülmekte, aCGH grubunda sonuçların anlamlı olarak yüksek bulunduğu gözlenmiştir (%70.9 vs %45.8  $p=0.017$ ; %69.1 vs %41.7,  $p=0.009$ ; sırasıyla) (Yang ve ark., 2012).

2012 yılında yapılan başka bir çalışmada Scott ve ark. 21-42 yaş arası kadınlarda blastokist biyopsisi ile kromozomal tarama yapılmasının implantasyon ve doğum oranları üzerine etkisini araştırmak için qPCR kullanmışlardır. Tarama yapılmayan grupta implantasyon oranları %47.9 olarak saptanmıştır, kromozom taraması yapılan grupta ise bu oran %66.4 olarak raporlanmıştır ( $p=0.001$ ). Doğum oranları da sırasıyla %67.5 ve %84.7 olarak verilmiştir ( $p=0.03$ ) (Scott ve ark., 2012).

2014 yılında yayınlanan bir çalışmada blastokist biyopsisi yapılmış qPCR uygulanmış öploid tek embriyo transferi ile rastgele iki embriyo transferini

karşılaştırdıklarında, sonuç olarak doğum oranları açısından fark saptanmadığı, ancak iki embriyo transferi yapılan grupta çoğul gebelik, preterm doğum, düşük doğum ağırlıklı infant riskinin arttığı görülmektedir. Genel olarak iki embriyo transfer yapılan gruptan doğan bebeklerin yoğun bakımda kalma süresi daha uzun olarak hesaplanmıştır (Forman vd., 2014). Anöploidi taraması yapılarak tek öploidi embriyo transfer edilmesiyle gebelik sonuçlarında iyileşme sağlanabilir.

#### **4.6. Embriyo Biyopsi Yöntemleri**

Laboratuvarda günümüz PGT yöntemi uygulamak için çeşitli biyopsi teknikleri geliştirilmiştir. Genel olarak 3 farklı yöntem yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlar tek kullanılacağı gibi tanıyı doğrulamak içinde beraber de kullanılabilirler. Bu biyopsi teknikler zigotta polar hücre biyopsisi, hücre bölünme evresindeki blastomer biyopsisi ve blastosist evresindeki trofoektoderm biyopsisi olarak gruplandırılırlar. Kullanılan teknik ve uygulayan kişinin tecrübesi tekniğin hem güvenilirliği açısından hemde embriyonun gelişimi açısından önem arz eder.

##### **4.5.1. Kutup cismi biyopsisi (PBB)**

Kutup cisimcikleri hücre yumurta hücresinin olgunlaştıktan ve fertilizasyondan sonra mayoz bölünme ile ortaya çıkan yapılarıdır. İki tipi vardır. Birinci ve ikinci kutup cismi. Yumurta hücresi yumurtalıktan atıldığında birinci kutup cismine sahiptir ve genetik olarak yarısını temsil eder. Eğer mayozda crossing over olayı olamadıysa birinci kutup cismi yumurtanın genetik yapısının tamamını içerir. Devam eden olaylarda sperm ve yumurta hücresi fertilizasyon için birleştiğinde ise ikinci kutup cismi de hücrenin kopyası olarak dışına atılır. Embriyodaki kromozomal anomalilerin büyük çoğunluğunu birinci kutup cismi içermektedir (Salvaggio, 2014). Kutup cismi biyopsisi PGT yöntemi ile çalışılması yaklaşık 25 yıllık bir süredir uygulanmaktadır (Verlinsky ve ark., 1990). Kutup cisim biyopsisi avantajların yanında dezavantajları daha çoktur. Çünkü paternal ve mitotik kaynaklı anöploidileri saptayamamaktadır. Bundan dolayı günümüzde pek tercih edilen bir yöntem değildir. Örneğin Scott ve ark. 2103 yılında yaptıkları bir çalışmada kutup cisim biyopsisi yapılmış vakalarda %45 oranında anöploidi tespiti

yapamamışlardır (Scott ve ark., 2013). Tüm yumurta hücreleri fertilize olamayacakları için ve fertilizasyon olsa bile zigotların 3. Güne gitmesi belirsiz olduğu için PGT yapılan çoğu yumurta hücresi boşa çalışılmış olacak. Bundan dolayı bu yöntemde anöploidi tespit için maliyet oldukça fazla olacaktır (Capalbo ve ark., 2013).

#### **4.5.2.Blastomer biyopsisi**

Bu yöntemde, gelişiminin 3. günündeki embriyodan bir hücre alınır ve genetik olarak incelenir. Tecrübeli bir embriyolog tarafından bu embriyo biyopsisi sonrasında embriyo gelişimini devam ettirip eksik hücreyi hemen telafi ederek hiçbir zarar görmeden büyümeye devam eder. Genetik olarak incelenen hücre embriyonun genetik bir anomaliye sahip mi yoksa değilmi, saptanır ve hastaya sadece genetik olarak normal olan embriyolar transfer edilir. Embriyo gelişiminin 3. gününde olması gereken hücre sayısı 6 - 8 arasındadır. Bu hücreler blastomer olarak adlandırılır ve ileride bu hücrelerden herbirisi birer kök hücre görevi yaparak embriyonun ileri gelişiminde tamamen farklı organ ve dokulara dönüşerek yeni yapılar oluşturacaklardır. Bu hücrelerden bir veya iki tanesinin biyopsi için çıkartılması, embriyonun ileri gelişimini çok fazla etkilememektedir. Kalan diğer hücreler kendi aralarında bu durumu ekarte ederek eksiği hemen telafi edip gelişimi sürdürürler. Embriyoyu oluşturan bu hücreler farklı dokulara dönüşebilme kapasitesine sahip olduklarından ileride oluşacak bebekte herhangi bir doku veya organ eksikliği gözlenmez.

Embriyo 3. Gününde biyopsi işlemi için gelişim hızı kontrol edilir. 3. günde yavaş gelişen embriyolar blastomer biyopsisinden olumsuz etkilenmektedirler. Bundan dolayı embriyonun canlılığı için risk oluşturacağından, sadece iyi gelişen embriyolara genetik inceleme için biyopsi işlemi uygulanır. Biyopsi işlemi için embriyonun etrafında yer alan zona pellusida zarı mikromanüpülütör mikroskop yardımı ile lazer enerjisi kullanılarak açılır ve blastomer burdan alınıp genetik inceleme için kültür ortamına alınır. Alınan blastomer genetik olarak embriyonun tamamını temsil eder. Genetik sonucu sonrası anormal tespit edilen yada hatalı çalışılan embriyo transfer edilmez. Bu embriyo bundan dolayı rahim içine tutunamayacak tutunsa bile sağlıklı bir gebelik oluşturmayacaktır.

Embriyonun genetik inceleme için en uygun zamanın 3. gün olduğu kabul edilmektedir. Embriyodan alınıp genetik olarak incelenek hücre tam olarak embriyoyu yansıtaçağından, polar cisim biyopsisinin aksine hem yumurta hem de spermnden kaynaklanan hataları gözlemlenmekte avantaj sağlar. (Aksoy., 2018).

Blasotomer biyopsisi birçok genetik anöploidi taraması için olanak sağlar. Sayısal ve yapısal kromozom anomalileri, otozomal resesif yada dominant geçişli tek gen hastalıkları tarama, tekrarlayan düşükler, HLA geni doku tiplmesi ve ileri anne yaşı gibi oldukça geniş bir alanda kullanılır (Bielanska ve ark., 2005).

#### **4.5.3.Trofoektoderm biyopsi**

Embriyo döllelenmesinden 5 gün sonra oluşan blastokstiste uygulanan biyopsi çeşitlidir. Son zamanlarda yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Diğer biyopsi çeşitlerine nazaran uygulanması daha avantajlı bu yöntem embriyoda birkaç hücre alınmasına olanak sağlar. Biyopsi materyali embriyonun trofektoderm tabakasından alındığı için embriyo canlılığı için daha az öneme sahip hücre grupları alınır. Böylece embriyo daha az etkilenmiş olur aynı zamanda embriyonun implantasyon oranında etkilenmemiş olur. Trofektoderm biyopsi ile bir seferde 6-7 hücre alındığı için hem kontaminasyon hemde mozaisizm gibi teknik hatalar ortadan kalkmış olur. Embriyolar 5. Güne kadar kültür edildikleri için birçoğu blastosist oluşturmaktadırlar. 5. güne kadar gelişimlerini devam ettiremeyen embriyolar hem anöploidi oranları bakımından yüksek hemde implantasyon oranları düşük olduğu ifade edilmektedir (Scott ve ark., 2013). Bundan dolayı blastosist evresinde olan embriyoların normal olma ihtimali yüksek olduğu için PGT yönteminde daha az embriyo çalışılır maliyet düşürülür ve normal embriyo seçme oranı ve implantasyon yeteneği daha yüksek olur. Son çalışmalarda embriyo transferi için uygun gün 5. gün ve genetik analiz içinde trofektoderm biyopsi yapılması uygun görülmüştür (Scott vd., 2013).

#### **4.6.Preimplantasyon Genetik Tanı Endikasyonları**

Son zamanlarda uygulanan PGT yönteminin genetik hastalıkları belirlemede birçok endikasyon alanı yer almaktadır. Tek gen hastalıkları bakımından taşıyıcı

kişiler, genetik hastalığı bulunan çocuklara sahip aileler, ileri yaşta çocuk sahibi olmak isteyen çiftler, birçok İvf başarısızlığı olan bireyler, HLA uyumlu kardeş isteyen aileler gibi birçok endikasyona sahip vakalar PGT yönteminden yararlanırlar.

#### **4.6.1. Kromozomal anomaliler**

Kromozomal anomaliler, sayısal ve yapısal anomaliler veya belirteç kromozom gibi her ikisinin de birlikte olduğu durumları kapsamaktadır. Kromozom anomalileri, yenidoğanda yaklaşık olarak 1/200 olarak gözlenir. Erken doğum ve düşüklerde bu oran daha yüksek olduğu bilinmektedir (Karkucak, 2016).

Kromozomal anomaliler sayısal ve yapısal kromozom anomalileri olarak iki ana grup altında incelenir.

##### **4.6.1.1. Sayısal kromozom anomalileri**

#### **Öploidi**

Hücrelerdeki kromozom sayısı o organizma türü için temel gametik sayının tam katı kadar artış gösterir. Burada haploit kromozom seti, 3, 4 ve daha fazla kat artışı (3n, 4n, 5n gibi) söz konusudur. Bu durum poliploidi olarak isimlendirilir. Öploide temel kusur, hücrede çekirdek bölünmesi olduğu halde sitoplazma bölünmesinin olmamasıdır. Bununla birlikte polar cisim atılmamasından, bir yumurtanın iki sperm ile döllenmesinden ve eşey hücrelerinde önceden var olan bir öploiden dolayı oluşabilir.

#### **Anöploidi**

Kromozom bozuklukları arasında en sık görüleni ve en önemli olanıdır. Klinik olarak tanı konan tüm gebeliklerin en az, %3-4'ünde bulunmaktadır. Temel kromozom sayısının katları kadar olmayan artma yada eksilmelere anöploidi denir. Yani diploid kromozom setindeki bir kromozom setindeki bir veya birden fazla eksik veya fazla olmasıdır. Homolog kromozomlardan birinin eksiliğinde o kromozomun, monozomisi bir kromozom fazlalığında ise o kromozomun trizomisi söz konusu



olur. Bir kromozomun 2 tane fazla olması durumunda ise ilgili kromozomun tetrazomisi söz konusu olur.

### **Miksoplloidi (Mozaisizm, Kimerizm)**

Mozaisizm: Aynı zigottan kaynaklanan bir organizmada kromozom sayıları birbirinden farklı birden çok doku yada hücrenin bulunması durumuna mozaisim denir, böyle kişilerde mozaik denir. Mozaisime neden mitoz bölünmedeki kromozomların ayrılmaması yada kromozomların anafazda geri kalmasıdır.

Kimerizm: Kişide birden fazla zigottan kaynaklanmış iki ya da daha çok genotipin yada hücrenin bulunmasına kimerizm denir (Kasap., 2010).

#### **4.6.1.2. Kromozomlardaki yapısal anomaliler**

Yapısal kromozomal anomaliler, hücre döngüsünün herhangi bir evresinde bir veya daha fazla kromozomda oluşan kırılma ve yeniden düzenlemeler şeklinde ortaya çıkar. Bu yeniden düzenlemeler nadiren kendiliğinde oluşabildikleri gibi, iyonize radyasyon viral enfeksiyonlar ve bazı kimyasal ajanlardaki uyarılabilirler. Yapısal kromozom düzensizlikleri sitoloji düzeyde beklenen genotipin sapma göstermesiyle genetik düzede saptanırlar.

##### **a. Translokasyonlar**

Bir kromozomdan kopan bir parçanın eş olmayan başka bir kromozoma yapışması şeklinde görülen kromozom düzensizliğidir. Gen sayısının ve niteliğinin aynı kaldığı translokasyonlara dengeli, gen sayısının ve niteliğinin değiştiği ve çoğunlukla fenotipik düzensizliklere yol açanlara dengesiz translokasyonlar denir. Bunlar, resiprokal, robertsonian ve inversiyonal tipi translokasyonlardır.

**1. Resiprokal translokasyon:** Bir kırılma sonucu ,homolog olmayan iki kromozomdan kopan parçaların karşılıklı yer değiştirmeleri ile oluşur. Genellikle sadece iki kromozomu ilgilendirir. Oldukça sık rastlanır ve yaklaşık 600 yeni doğandan birinde görülürler. Genellikle kendiliğinden düşük öyküsü olan ailelerin ve

kısır erkeklerin incelenmesi, prenatal tanı sırasında ve anormal bir çocuğun, anne-babasına karyotip analizi incelenmesi sonucunda görülürler.

**2. Robertsonian translokasyon:** Akrosentrik kromozomlarda görülen bir translokasyon tipidir. Burada iki kromozomun sentromer bölgesinde kırık oluşur, daha sonra uzun kollar birleşir ve kısa kollar kaybolur. Buna sentrik kaynaşma denir (Kasap, 2010).

### **b. İnversonlar (parasentrik, perisentrik)**

Bir kromozomda oluşan iki kırık sonucu kopan parçanın kaybolmadan, kendi eksenini etrafında  $180^0$  dönerek yine eski yerine fakat ters biçimde yapışmasına ters dönme yada inverson denir. İki türlü ters dönme şekli vardır. Bunlar Parasentrik ve Perisentrik inversonlardır.

Parasentrik, kırılma sentromerin dışında, uzun yada kısa kollardan birinde olur ve aradaki kromozom parçası ters döner. Kromozomun görünüşü değişmemesine karşın gen sırası değişmiş olur.

Perisentrik, kromozomun uzun ve kısa kollarında iki kırılma sonucu, kırılan sentromerli aradaki parça kendi eksenini etrafında  $180^0$  dönerek eski yerine yapışması ile ortaya çıkar. Bu tür dönmelerde hem gen sırası hem de kromozom şekli değişir.

### **c. Delesyonlar-duplikasyon**

Kromozom herhangi bir bölümünün kaybına delesyon, ek bir kopyasının bulunmasında ise duplikasyon adı verilmektedir (Karkucak, 2016).

#### **4.6.2. Tek gen hastalıkları**

Moleküler genetik ve biyopsi yöntemlerinin gelişmesi ile PGT tekniği önemli ölçüde kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle tek gen hastalıklarının tespitinde PGT yöntemi oldukça faydalı bir araç haline gelmiştir. Bu gelişmeler doğrultusunda 4000'inin üzerinde tek gen hastalığı belirlenmiştir. Çiftlerden her ikisinin otozomal

resesif taşıyıcı olması yada ikisinden birinin otozomal dominant hasta olması PGT tekniğinin uygulanması için endikasyon olarak belirlenmiştir. Tek gen hastalılarında geni bilinen tüm çeşitleri günümüzde PGT yönteminden yararlanabilir. Aynı zamanda tek gen mutasyonunun yanında aynı embriyoya ait 23 kromozomda anöploidi taraması yapılarak gebelik başarısı elde edilmektedir. (Berger ve Baker, 2014).

Dünya genelinde tek gen hastalıklarından, talesemi, kistik fibrozis, kas hastalığı ve huntington hastalığı gibi birçok endikasyonda PGT yöntemi sayesinde çiftler sağlıklı bebek sahibi olmaktadır.

#### **4.7. Preimplantasyon Genetik Tami İçin Kullanılan Yöntemler**

PGT işlemi için kullanılan birçok yöntem vardır. Bunlar yalnız kullanılacağı gibi bazı durumlarda aynı hastalık için beraber de kullanılabilir. PGT için en sık günümüzde kullanılan yöntemler, FISH (Fluorescence In Situ Hybridisation), SNP (Single Nucleotid Polymorphism), a-CGH (Array-karşılaştırmalı genomik hibridizasyon), NGS (Next Generation Sequencing)'dir.

##### **4.7.1. Floresan in situ hibridizasyon (FISH)**

Bu yöntem sayısal ve yapısal kromozom anomalileri için kullanılır. Bu yöntem ile biyopsi materyali cam bir lama fiksasyonu ile floresan işaretli bir markır prob ile uygulanıp sırası ile denatürasyon hibridizasyon ve yıkama aşamalarından oluşmaktadır. Bu hazırlanan preparatlar incelenmek üzere farklı dalga boyu ışınları süzen filtreler ile ışık mikroskopunda analizi gerçekleştirilir. Sayısal kromozom anomalileri için farklı markırlar mevcuttur. Bunlar ile 13,18,21 X ve Y kromozomları için anöploidi taraması yapılır (Sanchez ve ark., 2009).

FISH yöntemi dengeli translokasyonlar gibi özellikle yapısal kromozomal bozukluklarda tercih edilen bir yöntemdir (Qian ve ark., 2008).

FISH yöntemi ile PGT yapılacaksa çok ciddi bir hazırlık gerektirmektedir. Özellikle ebevyenler üzerinde kullanılacak problemlerin çalıştığı görüldükten sonra embriyolar

çalışılmalıdır. Aksi takdirde sinyallerin oluşmaması gibi durumlar oluşabilir buda teknik olarak yanlış sonuçlar doğurabilir.

#### **4.7.2. Array-karşılaştırmalı genomik hibridizasyon (a-CGH)**

Genetik çalışmaların öncüsü olan bu yöntemde incelenecek olan DNA ile kontrol DNA'nın dozaj farklarından yararlanarak metafaz kromozomlarında anomalileri tespit etmekte kullanılan yeni bir yöntemdir. Bu yöntem ile embriyolarda yapısal ve sayısal anomaliler saptanabilmektedir. 24 kromozomdaki delesyonlar, duplikasyonlar ve translokasyon gibi kromozom anomalileri incelenebilirler. Genel olarak kromozomlardaki yapısal ve sayısal anomalileri tespit etmekte sıkça bu yöntem kullanılır. Yapılan çalışmalarda bu yöntemin FISH yöntemine göre yapısal ve sayısal anomalileri tespit etmekte daha yararlı olduğu ve kullanılabilirliği daha kolay olduğu öne sürülmüştür(Huang ve ark., 2013). a-CGH ile kısa bir sürede embriyo kromozom analizi yapılmakta ve embriyonun dondurulmasına gerek kalmadan transfer edilebilmektedir.

#### **4.7.3. Yeni nesil dizeleme (Next generation sequencing; NGS)**

Bu yöntemde embriyoda biyopsi ile alınan materyal hücre eritme (liziz) solüsyonunun içine atılır. Böylece hastalığın bulunduğu genomik DNA serbest kalır ve bu bölgeye özgü markırlar kullanılarak milyonlarca kopya elde edilir. Daha sonra dizeleme yöntemi ile hastalığa neden olan mutasyon ve delesyonlar tespit edilir ve patolojisine bakılır. Bu yöntem ile diğer dizeleme metodu olan Sangere göre hem tek gen hastalıklarını tespit etmekte hemde kromozomlardaki anöploidileri bulmakta avantaj sağlamaktadır (Martin ve ark., 2013; Lu ve ark., 2013). NGS ile birçok embriyoya ait biyopsi materyali çalışılabilir. Buda maliyet ve iş yükünü azaltır. Ngs ile aynı genetik analiz düzeneği kullanılarak aynı biyopsi örneğinden anöploidi, translokasyonlar ve genetik bozukluklar küçük kopya sayısı varyasyonlar, düşük oranda mozaizim (<% 25) ile incelemeyi sağlar. Farklı teşhis tekniklerinin klinik etkisini değerlendirmek için, Maxwell ve ark. aCGH tarafından analiz edilen ve düşükle sonuçlanan öplid embriyoları araştırdılar.

Daha önce aCGH ile öploid tanısı konan embriyoların %31,6'sı mozaik ve % 5,2'si yüksek çözünürlüklü NGS ile analiz sonrası poliploid oldukları belirlendi. Araştırmada, NGS'nin mozaizm ve triploidi aCGH'den daha iyi tespit ettiğini ve bu saptamadaki düzelmenin, düşük insidansı azaltarak klinik sonuçlar üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabileceğini öne sürdü ( Maxwell ve ark., 2016).



## 5. GEREÇ VE YÖNTEM

2017 ile 2018 tarihleri arasında İstanbul Tüp Bebek Merkezi'ne başvurmuş, erkek faktörlü endikasyona sahip tüp bebek hastalarında, in vitro fertilizasyon yöntemleri ile geliştirilmiş embriyoların anne adayına transferi yapılmadan önce genetik analiz çalışılmış 168 hastanın preimplantasyon genetik tanı raporları hastaların dosyalarından retrospektif olarak incelendi.

İnfertilite tedavisi için kliniğe başvurmuş her çiftin değerlendirmesi dosyalarından elde edildi. Çalışma parametreleri olan çiftlerin yaşları hormon değerleri, spermogram değerlendirmeleri, gelişen embriyo kaliteleri, normal veya anormal çıkmış embriyo sayıları istatistik verileri olarak işlendi ve analiz gerçekleştirildi.

### **Kontrollü over hiperstimülasyonu**

Dosyalardan elde edilen verilere göre, hasta adetinin 2. Veya 3. Gününde tedaviye başlatıldı. Tedavi süresi her kadın için farklılık göstererek yaklaşık 12 ile 18 gün arası kadar sürdü. Kadına ait günlük olarak östrojen (E2), değeri kan alınarak ölçüldü. Belirli günler ultrason ile hastanın folikül boyutları ölçüldü. Over stimülasyonu için ilaç tedavisi yapıldı. Hastaya gonodotropin salgıtıcı hormon ve rekombinant gonodotropinler uygulanarak folikül gelişimleri sağlandı. Ultrason ile gelişimleri izlenen foliküller belirli bir süre sonra 18-20 mm boyutlarına gelince hCG iğnesi hastaya verildi. hCG iğnesinden sonra 32. Veya 35. Saatte yumurta toplama işlemi yapıldı.

### **Yumurta toplama işlemi(OPU)**

Yumurta toplama işlemi genel anestezi işlemi altında yapıldı. Kadının vajen bölgesi temizlenerek,steril olarak işleme hazırladı. Doktor tarafından opu iğnesi yardımı ile ultrason kullanılarak foliküller aspire edildi. Aspire edilen foliküller sıvı ile medyumlar kullanılarak tüplere aktarıldı. Tüplerden ise embriyologlar tarafından petri kaplara dökülüp stereo mikroskoplar yardımı ile bu ortamdan alınıp başka bir kültür ortamı olan özel tampon çözeltili HEPES medyumuna kandan

temizlenerek alındı. Oosit-kümüls kompleksini belli bir oranda diseksiyeye edilerek oosit kültür medyumuna alınıp inkübatöre yerleştirildi.

### **Kültür medyumlarının hazırlanması**

Ivf laboratuvarlarında iç ve dış ortam olmak üzere iki çeşit medyum kullanılır. Dış ortam için oosit hücrelerinin toplanıp denüstasyon ve ICSI gibi işlemlerin yapıldığı dış ortam ile muamele edildiklerinde HEPES'li tampon medyumları kullanılır. ICSI işleminden sonraki embriyonun ilk oluşacağı günden transfer yada dondurulacağı 3. Veya 5. Güne kadarki geçecek iç ortamda ise kültür medyumları kullanılır. Kültür medyumları farklı olarak en az 4-6 saatlik iç ortam inkübatörlerde 37 C derecede CO2 gazı ile muamele olması gerekmektedir. İç yada dış ortam medyumları konuldukları petri kaplarda stabiliteyi korumaları için üzerleri özel yağlar ile kapatılır.

### **Denüstasyon**

Yumurtalar toplandıktan sonra 37. saatte etraflarında bulunan kümülüs hücrelerinden temizlemek amacıyla ile içerlerinde belirli oranda hiyaluronidaz enzimi bulunan medyum ile 10-20 saniye muamele edilip pipet ile al ver yapıldı. Farklı boyutlardaki pipetler ile yumurtalar kümülüslerden temizlenip önceden hazırlanan iç ortam medyumlarında aktarıldı. Daha sonra temizlenen oositler değerlendirildi. Olgun MII seviyesinde olan oositler ICSI işlemi için ayrı gruplandırılarak inkübatöre yerleştirildi.

### **Semen Analizi**

Laboratuvarında uygulanan prosedürlere göre erkek hastalar 3 ile 5 gün arası cinsel perhiz ile örnek vermesi sağlandı. Yumurta toplama günü hastadan mastürbasyon ile semen örneği istendi. Semen örneğinin likefiye olması için 20-30 dk. arası beklendi. Likefiye olan örnek pipet ile homojenize edilerek makler kamerasında sayı ve motilite değerlendirmesi yapıldı. Değerlendirme makler ile ışık

mikroskopunda X20'lık objektifte yapıldı. Değerlendirme Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kriterlerine göre yapıldı.

ICSI işleminden önce semen örneği iki tabakalı gradient yöntemi kullanılarak sperm yıkama işlemi gerçekleştirildi. Bu tabakalar %90'lık ve %50 lik gradient medyumları (All Grad%100 Life Global) ile hazırlandı. İşlemlerde kullanılan konik tüpler önce alt kısma 0.5 ml %90'lık üzerine 0.5 ml % 50'lik spermgrad medyumunu konulup ejakülat örneği ise yine aynı miktarda 0.5 ml bu tabakaların üzerine konuldu. Tüpler 1500 rpm. 12 dakika santrifüj edildi. Daha sonra alt tarafa çöken pellet pipet ile üst tabakalar geçilerek alındı. Temiz bir tüpe alınan pellet üzerine 1 ml yıkama medyumunu (All Grad Wash Life Global) konularak homojenize edildi ve 1000 rpm de 10 dakika tekrar santrifüj edildi. Tekrar pellet kısmı alınarak üzerine kullanılacak miktarına göre 0.5-1 ml yıkama medyumunu konularak ICSI işleminde kullanılmak üzere inkübasyona kaldırıldı.

### **ICSI (İntrastoplazmik sperm enjeksiyonu)**

Icsi işlemi için özel petrilere HEPES içeren medyum ile hazırlık yapıldı. Petrilere sperm havuzu, yumurta damlaları ve bunların arasına sperm immobilizasyonu yapılan oldukça yoğun bir medyum olan PVP (polivinilpirolidin) konuldu. Opu işleminden sonra hCG saatine göre 40. Saati geciktirmeden ICSI işlemi yapıldı. Mikromanipülatör ayarları sıfırlandı. ICSI ve holding pipetlerinin açılırları ayarlandı. Daha önce hazırlanan ICSI petrisinin sperm havuzuna erkek hastanın spermleri ve karşıda bulunan oosit damlalarına ise eşinin oositleri koyuldu. ICSI pipeti ile sperm seçildi PVP de kuyruğu kırılarak immobilize edildi. Daha sonra holding ile yumurta damlasında bulunan MII yumurta alınıp hareket etmesi engellemek amaçlı ve polar body yönü 12 veya 6 yönüne getirilip sabitlenip seçilen sperm yumurtanın içerisine enjekte edildi. ICSI sonrası yumurtlar diğer damlalarda yıkanarak kültür medyumuna aktarılıp inkübatöre kaldırıldı.

### **Fertilizasyon ve Embriyo kontrolü**

ICSI işleminden sonra 16.-18. saatlerinde fertilizasyon kontrolü yapıldı. Yumurtaların PN kontrolleri yapılarak hasta dosyalarına ve elektronik sistemde kayıt



altına alındı. İlerleyen günlerde embriyo gelişimleri sabah saatlerinde kontrol edilip kayıt altına alındı.

### **Embriyo transferi**

transfer için uygun olduğu zaman çift kliniğe çağrıldı. Kadın transferden önce mesanesi dolu olarak hazırlandı. Doktor tarafından ultrason ile trial kateter kullanılarak rahim içine embriyonun koyulacağı bölgede iken embriyoloğa bilgi verildi. Embriyolog tarafından diğer katetere yüklenen embriyo rahimdeki içine doktor tarafından koyulup embriyo rahime nakledildi.

### **Gebelik testi**

Embriyonun implantasyonunun olup olmadığını hastanın kanından bakılan  $\beta$  Hcg testi ile belirlendi. Bu test embriyo transferinden 10 gün sonra bakıldı. Çıkan sonuç pozitif ise iki gün sonra test tekrar yapıldı. Eğer sonuç yükselmiş ise kadına gebe olduğu bilgisi iletildi. Eğer değer ilk bakılana göre düşmüş ise sonuç biyokimyasal gebelik olarak değerlendirildi.

### **Embriyo biyopsi yöntemi**

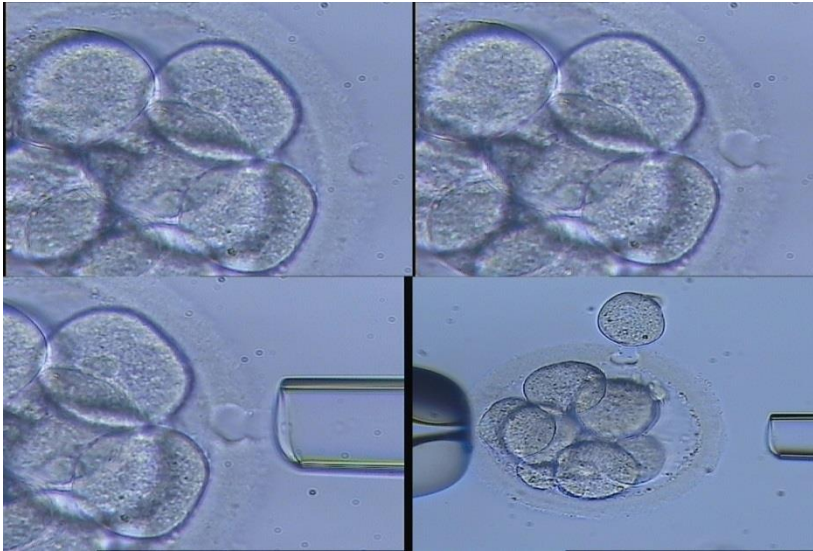
Çalışmaya dahil edilen FISH yöntemi ile PGT uygulanmış hastaların embriyoları 3. gün biyopsisi ile genetik analizleri yapıldı.

FISH yöntemi uygulanacak hastaların embriyoları ICSI işleminden sonra %6.8 CO<sub>2</sub>, %5.5 O<sub>2</sub> ve 37°C inkübe edilerek takip edildi. Embriyolar gelişmelerinin 64-65. saat aralığında yani 3. gününde kontrol edildi. Embriyolar blastomer sayısı, çap farklılıkları ve fragmentasyon oranlarına göre sınıflandırıldı. Embriyo seçim kriterlerine göre en az 6 ve üzeri blastomer sayısına sahip gelişimleri devam eden embriyolar çalışmaya dahil edildi. Embriyolar kalsiyum ve magnezyumdan yoksun medyum (Quinn's Advantage, Ca<sup>++2</sup>, Mg<sup>++2</sup> Free/Sage) ile ICSI petrisine embriyoların konacağı damlacıklar yapıldı, 37°C'de 30 dakika inkübe edildi. Manipülatörlere embriyoyu tutmak için tutucu ve biyopsi işlemini gerçekleştirebilmek için ise biyopsi pipeti (Origio MBB-FP-L-30) takıldı. Embriyolar biyopsi işlemi için petriye aktarıldı. Zona pellusidayı lazer yardımıyla

birkaç atış yapılarak (OCTAX Lazer Show, OCTAX Microscience GmbH, Germany), biyopsi pipetinin geçebileceği kadar delik açılması sağlandı. Biyopsi işlemi iki şekilde gerçekleştirilebilir, embriyoya baskı uygulamak suretiyle blastomerin çentikten dışarı çıkması veya pipet yardımı ile blastomer hücresinin çekilmesi (Resim 5.2). İşlem bitiminde embriyolar yeniden kültür ortamına alınırken, blastomerler ise FISH yöntemi ile anöploidi taraması yapılması için kültür ortamına alınarak genetik merkeze ulaştırıldı. Embriyolar ise kültür ortamlarına alınarak 5. güne kadar gelişimleri takip edildi.



**Resim 3** Biyopsi Kültür Petrisi (İstanbul Tüp Bebek Merkezi laboratuvarında çekilmiştir).



**Resim 4** 3. gün embriyo biyopsi işlemi (İstanbul Tüp Bebek Merkezinde çekilmiştir).

Genetik taraması yapılan embriyolar, transfer işlemi için uygun birden çok öploid embriyo olması halinde, dondurma işlemi öncesi en iyi morfolojik seviyeye sahip embriyo çözülüp, transfer işleminden önce 2-3 saat inkübasyonu sağlanıp anne adayına transfer edilir. Genetik analiz sonrasında tespit edilen normal embriyolar, embriyo transfer işlemi için aynı gün içinde çözülüp, transfer edilmeden birkaç saat önce önce canlılık ve belirtilen morfolojik kriterlere göre tekrar değerlendirilip, embriyolog tarafından katetere (COOK®, Bloomington, ABD ) yüklenip hekim ile ultrason eşliğinde anne adayına transfer edildi.

Transfer edilen embriyo sayısı, kadın yaşı ve deneme sayısı göz önünde bulundurularak 6 Mart 2010 tarihli Sağlık Bakanlığı ÜYTE yönetmeliğine uygun olarak belirlendi. Genetik Laboratuvar Testlerinden; 3. gün embriyolarına floresan in situ hibridizasyon tekniği ( FISH) uygulandı.

## 6. BULGULAR

### 6.1. İstatistik Değerlendirmesi

Bu çalışmada kadın (n=22) ve erkekte (n=26) translokasyon delesyon ve inversiyon kromozom anomalisi bulunması durumunda embriyo gelişimi kontrol (n=120) preimplantasyon genetik tanı (PGT) yapılmış olan tekrarlayan düşük ve yaş faktörlü olgular ile karşılaştırılmıştır. Toplam 168 olguda çalışma gerçekleştirilmiştir.

Çalışma için Biruni Üniversitesi girişimsel olmayan etik kuruldan 2018/24-02 sayı ve 28.12.2018 tarihli onay karar alınmıştır.

**Tablo 3** Kadında anöploidi, translokasyon, delesyona sahip kromozomal anomali bulunduğu gebelik ve doğum sonuçlarının ileri kadın yaşı endikasyonu bulunan normal kontrol olguları ile kıyaslanması

	<b>Kontrol Grubu n=120 Ort.±SD</b>	<b>Kromozomal Anomali n=22 Ort.±SD</b>	<b>p*</b>
PGT normal embriyo	1,18±1,78	2,00±1,61	0,323
Gebelik %	37	45	0,433
Sak+ %	41	45	0,083
Doğum %	40	45	0,231

\*unpaired student's t-test

Tablo 3 değerler bakıldığında kadında kromozom anomalisi bulunduğu durumda anomali taşımayan PGT hasta grubu ile kıyaslandığında IVF sonuçları anlamlı bir farklılık göstermemektedir.(p>0,05)

**Tablo 4** Kadın anöploidi, translokasyon ve delesyona sahip kromozomal anomalili olgularının embriyo gelişiminin kontrol olgular ile kıyaslanması

	<b>Kontrol Grubu n=120 ort±SD</b>	<b>Kromozomal Anomali n=22 ort±SD</b>	<b>P*</b>
M2 oosit sayısı	8,14±7,98	16,36±10,49	<b>0,002</b>
Fertilize oosit	6,83±6,75	13,72±7,91	<b>0,002</b>
2. gün G1 embriyo	1,47±2,00	3,27±3,46	<b>0,009</b>
2. gün G2 embriyo	5,13±5,65	9,55±7,35	<b>0,017</b>
3. gün G1 embriyo	5,20±5,34	1,07±1,84	0,233
3. gün G2 embriyo	5,20±5,34	10,73±6.85	<b>0,002</b>
Blastokist	3,40±3,75	7,36±5,93	<b>0,002</b>

\*unpaired student's t-test

Çalışmamızda kadında anöploidi, translokasyon ve delesyon bulunduğu embriyo gelişiminin tekrarlayan gebelik kaybı veya ileri kadın yaşının bulunduğu ancak genetik olarak problemi bulunmayan kontrollere kıyasla daha iyi olduğu görülmüştür ( $p<0,05$ ) (Tablo 4). PGT normal embriyo sayısının kadında kromozom anomalisi bulunan grupta daha yüksek olduğu görülmüştür. Ancak gebelik ve doğum oranlarının benzer olduğu gözlenmiştir ( $p>0,05$ ) (Tablo 3).

**Tablo 5** Erkeklerde kromozom anomalisi bulunan olgularının kontrollere kıyasla gebelik sonuçları

	<b>Konrol Grubu n=26 ort.±SD</b>	<b>Kromozomal Anomali n=22 ort±SD</b>	<b>p*</b>
Oosit sayısı	10,07±9,69	19,00±16,22	<b>0,023</b>
M2 oosit sayısı	6,73±7,22	13,13±11,92	<b>0,027</b>
Fertilize oosit	5,38±4,92	11,45±10,39	<b>0,011</b>
2.gün G1 embriyo	1,35±1,52	2,09±2,99	0,311
2.gün G2 embriyo	3,15±3,60	9,14±8,84	<b>0,003</b>
3.gün G1 embriyo	0,69±1,08	2,05±2,43	<b>0,014</b>
3.gün G2 embriyo	3,31±3,28	8,91±8,41	<b>0,003</b>
Blastokist	3,23±3,80	4,09±4,40	0,433

\*p unpaired student's t-test

**Tablo 6** Erkeklerde sayısal ve yapısal kromozom anomalisi olgularının gebelik ve canlı doğum sonuçları normal semen analizli kontrollerle kıyaslaması

	<b>Kontrol Grubu n=26 ort±SD</b>	<b>Kromozomal Anomali n=22 ort±SD</b>	<b>p*</b>
PGT Normal embriyo sayısı	0,42±0,64	2,59±2,23	<b>0,000</b>
Gebelik %	45	42	0,932
Sak+ %	40	47	<b>0,000</b>
Doğum	40	71	<b>0,000</b>

\*unpaired student's t-test

Bu çalışmada erkek genetik özelliği açısından translokasyon, delesyon, inversiyon ve anöploidi olgularının kromozomal normal ileri kadın yaşı olan kontrollere kıyasla daha iyi embriyo gelişimi gösterdiği, daha yüksek sayıda PGT

normal embriyo taşıdığı görülmüştür ( $p<0,05$ ) (Tablo 5). Kromozom anomalisi grubunda seçilmiş embriyolar ile yapılan transferlerin ise normal kontrollere kıyasla daha yüksek canlı doğum oranı ile sonuçlandığı görülmüştür ( $p<0,05$ ) (Tablo 6).

Çalışmamızda canlı doğumla sonuçlanan gebeliklere etki yapan faktörler incelendiğinde blastokist sayısı, PGT endikasyonu, kadın yaşı ve sperm konsantrasyonunun etkili olduğu anlaşılmıştır (Grafik 1).

**Tablo 7** Teratospermik olgularda embriyo gelişimi ve PGT normal embriyo gelişimi parametreleri

	Normospermi n=35 ort±SD	Teratospermi n=56 ort±SD	p*
Kadın Yaşı	37±7,48	37±6,84	0,532
Erkek Yaşı	39,28±6,72	40,21±7,35	0,233
Endometrium Kalınlığı	10,1±3,28	8,98±2,20	0,332
Sperm Sayısı	59,08±34,52	54,26±29,38	0,854
Hareket	54,25±10,40	49,76±14,65	0,212
Morfoloji	4,22±1,83	0,75±0,85	0,323
Oosit	12,45±11,49	13,57±12,60	0,434
M2	8,74±9,00	9,16±8,96	0,321
Fertilize	7,31±7,12	7,60±7,40	0,234
2. gün G1 embriyo	1,40±1,49	1,93±2,2,80	0,456
2. gün G2 embriyo	5,05±6,13	5,63±5,88	0,322
3. gün G1 embriyo	1,06±1,90	1,32±2,19	0,534
3. gün G2 embriyo	5,17±5,79	5,86±5,87	0,123
Blastokist	3,37±3,81	4,02±4,01	0,211
PGTNR	1,11±1,62	1,27±1,91	0,123

\*unpaired student's t-test

Tablo 7' de ileri düzeyde sperm morfolojik bozukluğunda PGT normal embriyo sayısının değişmediği anlaşılmıştır.

**Tablo 8** Azoospermik olgularda kontrol ile kıyasla embriyo parametrelerinin ve PGD normal embriyo sayısının kıyaslanması

	Normospermi n=35 ort±SD	Azospermi n=5 ort±SD	<b>P*</b>
Kadın Yaşı	37±7,48	37±5,68	0,532
Erkek Yaşı	39,28±6,72	41,60±8,38	0,233
Endometrium Kalınlığı	10,1±3,28	10,96±0,67	0,323
Sperm Sayısı	59,08±34,52	0,00±0,00	<b>0,000</b>
Hareket	54,25±10,40	0,00±0,00	<b>0,000</b>
Morfoloji	4,22±1,83	0,00±0,00	<b>0,000</b>
Oosit	12,45±11,49	21,80±14,75	0,787
M2	8,74±9,00	13±10,65	0,09
Fertilize	7,31±7,12	12,6±10,31	0,454
2. gün G1 embriyo	1,40±1,49	2,60±3,28	0,432
2. gün G2 embriyo	5,05±6,13	9,20±9,12	0,455
3. gün G1 embriyo	1,06±1,90	0,40±0,54	0,08
3. gün G2 embriyo	5,17±5,79	10±6,67	0,788
Blastokist	3,37±3,81	7,40±5,94	<b>0,03</b>
PGDNR	1,11±1,62	2,40±3,36	0,322

\*unpaired student's t-test

Tablo 8'de azoospermik grupta embriyo gelişim parametreleri blastokist sayısının dışında farklı bulunmamıştır. PGD normal embriyo sayısının da kontrole kıyasla anlamlı farklılık göstermediği anlaşılmıştır ( $p>0,05$ ).



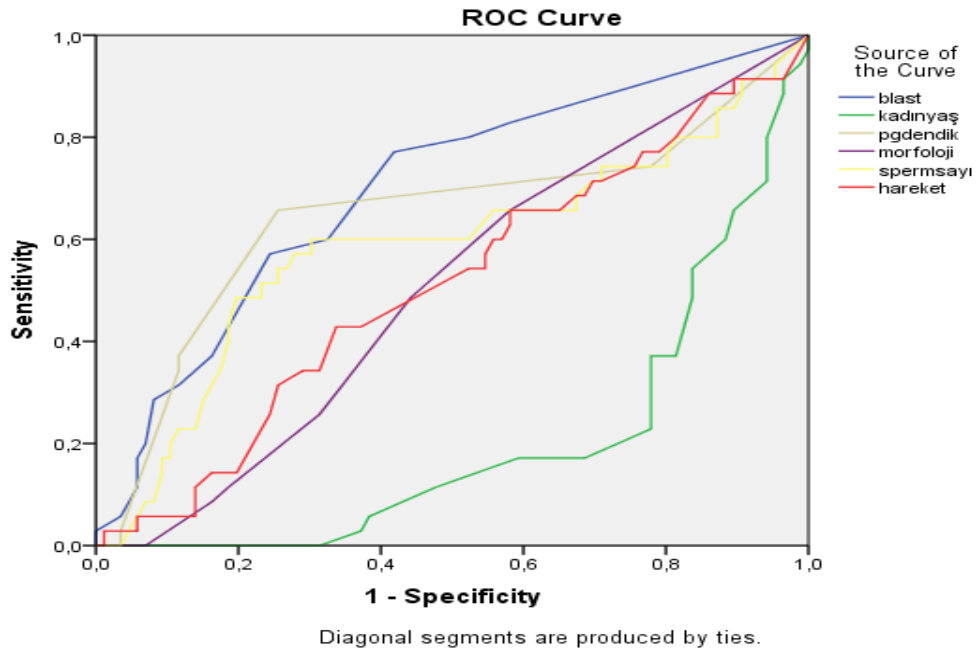
**Tablo 9** Erkeklerde translokasyon bulunması durumunda IVF sonuçlarının Değerlendirilmesi

	<b>Tekrarlayan Gebelik Kaybı n=28 ort±SD</b>	<b>Translokasyon n=22 ort±SD</b>	<b>p*</b>
Kadın Yaşı	33,85±5,90	32,59±5,39	0,878
Erkek Yaşı	37±4,69	36,27±5,84	0,233
Endometrium Kalınlığı	9,79±2,39	11,02±2,66	0,439
Sperm Sayısı	39,61±37,58	25,30±26,37	<b>0,000</b>
Hareket	39,96±19,97	40,72±20,42	<b>0,000</b>
Morfoloji	1,57±2,01	1,81±2,10	<b>0,000</b>
Oosit	15,75±10,05	17,63±14,56	0,544
Fertilize	8,75±4,91	9,45±9,41	0,781
2. gün G1 embriyo	1,68±1,98	2,18±3,09	0,656
3. gün G1 embriyo	1,04±1,73	1,77±2,15	0,435
Blastokist	5,57±3,65	3,14±4,44	0,876
Gebelik	0,36±0,48	0,59±0,50	0,984
Sak +	0,32±0,47	0,45±0,51	0,456
Doğum	0,42±0,69	5,59±0,73	0,451
PGTNR	0,82±0,86	2,00±2,00	0,122

\*unpaired student's t-test

Tablo 9' da görüldüğü gibi erkeklerde translokasyon olgularında embriyo gelişimi gebelik ve doğum tekrarlayan gebelik kaybı ve yaş endikasyonlu hastalarla kıyasla farklı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

**Grafik 1:** Roc Analizi ile gebelik sonucunu etkileyen parametreler



**Area Under the Curve**

Test Result Variable(s)	Area
Blast	,697
Kadınyaş	,201
Pgdendik	,646
Morfoloji	,504
Spermsayı	,587
Hareket	,509

**Grafik 1:** Canlı doğum oranlarını etkileyen faktörlerin ROC eğrisi ile gösterilmesi. Test sonucu değişkeni canlı doğum oranı , blastokist, kadınyaş, pgd endikasyonu, morfoloji, spermsayı, hareket, pozitif gerçek durum grubu ile negatif gerçek durum grubu arasında en az bir bağa sahiptir.

Grafik 1' de çalışmamızda canlı doğum sonucunu etkileyen faktörler gösterilmiştir. Blastokist sayısı ve PGD endikasyonunun canlı doğumu pozitif yönde, kadın yaşının da negatif yönde etkilediği gözlenmiştir.

## 7.TARTIŞMA

Erkek infertilitesinin nedenleri olarak %15-30 oranında genetik etmenler sorumlu tutulmaktadır. Yapılan çalışmalar ile bu konuda etiyolojik faktörlerin belirlenmesi ve olgularda izlenecek çözüm yolu bulunması ve genetik anomalinin bir sonraki kuşağa geçişinin önlenmesi tedavinin yönlendirilmesinde Preimplantasyon genetik tanı (PGT) günümüzde önemli bir yer almıştır. Erkek infertilitesinde % 5 civarında kromozomal anomali bulunduğu ileri sürülmektedir. Bu oranın azospermik hastalarda %15 'e çıktığı belirtilmiştir (Ferlin vd., 2007). Kromozom sayı anomalileri bunların içinde en fazla görülen kromozomal düzensizliktir. Sperm hücrelerinde mayoz bölünmede veya testise ait problemlerden kaynaklanan sayısal veya yapısal kromozom anomalilerinin spontan düşüklere neden olabileceği ve bunun da in vitro fertilizasyon (IVF) başarısızlığının önemli bir nedeni olabileceği ileri sürülmüştür (Egozcue, 2000).

Embriyoların pre-implantasyon genetik taraması (PGT) gittikçe artan şekilde kullanılan bir embriyo seçim yöntemi haline geldiğinden, öploid blastokist elde etme olasılığını ortaya çıkaran teknikler her zaman güncel olarak kalmaktadır. Blastokist anöploidi oranları anne yaşı ile güçlü bir şekilde korelasyon göstermektedir (Hodes ve Wertz, 2012). Non-obsrükatif azospermi vakalarında sayısal anomali oranı daha yüksek olduğu araştırmacılar tarafından dile getirilmektedir (Harton, 2013).Bu kişilerin ürettikleri anormal kromozoma sahip spermleri sonraki kuşağa aktarmaktadırlar. Bir başka yüksek gruba sahip XXY karyotipli Klinefelter sendromlu olguların ise oligospermi olanları %5, ağır oligospermi yada azospermilerin %10 u kromozomal anomali taşıyıcısı olduğu dile getirilmiştir (Franasiak, 2014). Kromozomal anomalili taşıyıcı olan bu olgular infertilite tedavisi için başvurduklarında, ICSI için kullanılan spermlerinde anöploidi riski olabileceği ve bunun için PGT endikasyonlu hasta grubuna dahil olduğu görüşü vardır (Bahçe, 2018).

Çalışmamızda kadın genetik özelliği ve semen analizi normal ancak yaş ve tekrarlayan düşük endikasyonu olan olgular ile kadında genetik olarak anöploidi, translokasyon, inversiyon veya delesyon tanısı konmuş embriyoların PGT sonuçları ile erkek ve kadında genetik özellik bulunmayan olgular ile erkekte translokasyon,

anöploidi, delesyon veya inversiyon bulunan olguların PGT sonuçları incelenmiştir. Toplam 168 olguda çalışma gerçekleştirilmiştir.

Çalışmamızda de FISH yöntemi uygulandığı olgularda hastaların klinik özellikleri ve embriyo gelişimi, gebelik sonuçları gösterilmiştir. PGT normal embriyo sayısının erkek kromozom anomalili grupta daha yüksek olduğu görülmüştür. Ancak gebelik ve doğum oranlarının benzer olduğu gözlenmiştir.

Çalışmamızda kadında anöploidi ,translokasyon ve delesyon bulunduğunda embriyo gelişiminin ileri kadın yaşının bulunduğu ancak genetik olarak problemi bulunmayan normal kontrollere kıyasla daha iyi olduğu görülmüştür.

Embriyo seçiminde morfolojik kriterler halen çok geçerli seçim yöntemi olma özelliğini taşımaktadır. Ancak bu çalışmada elde ettiğimiz veriler ebebeynde kromozomal anomalinin bulunduğu durumda daha iyi gelişim potansiyeline sahip embriyoların bulunduğunu göstermektedir. Baltacı ve arkadaşlarının 2006 da yaptıkları çalışmada anöploid embriyolar arasında oldukça yüksek oranda (% 66.1) iyi kalitede (Sınıf I ve Sınıf II) embriyo bulunduğu gösterilmiştir (Baltacı, 2006).

Özgür ve ark. Tarafından yapılan çalışmada 97 infertil azospermik ve oligozospermik hasta ve 10 fertil hastanın dahil edildiği çalışmada genetik anomali taşıyıcısı olan hastalar ile genetik olarak normal karyotipe sahip hastaların alt gruplarının, ICSI, fertilizasyon ve gebelik sonuçları karşılaştırıldı. Çalışmanın sonucunda genetik anomalili hastaların ile anomalisi bulunmayan hastaların ICSI sonrası gebelik sonuçları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Özgür vd., 2013).

Bizim çalışmamızda embriyo gelişimi bakımından incelendiğinde kromozom anomalisi taşıyan erkek olgularda, normal kromozom yapısına sahip olan grup karşılaştırıldığında kromozom anomalisi taşıyan 3. Gün embriyolarında grade 1 embriyo sayısı daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. İstatistiksel olarak anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Blastokist geliştirme oranı açısından ise kromozom anomalisi taşıyan ile normal grup arasında bir farklılık gözlenmemiştir.

Çalışmamızda erkekte kromozom anomalisi olgularının gebelik ve canlı doğum sonuçları ile normal semen analizli kontrollerle karşılaştırıldığında ise seçilmiş

embriyolar ile yapılan transferlerin ise normal kontrollere kıyasla daha yüksek canlı doğum oranı ile sonuçlandığı görüldü.

Maiburg ve ark. Tarafından 1565 ICSI yapılmış infertil çiftin aile öyküsünde genetik anomali bulunan yada infertiliteye neden olan genetik faktör bulunanların ICSI sonrası fertilizasyon oranları karşılaştırılmıştır. Aile öyküsü genetik anomali olarak pozitif olan ile normal gruplar, Y mikrolelesyonu ve obustrüktif azospermik ve kromozomal anomalisi olan hasta alt grupları karşılaştırdığında gruplar arasında ICSI tedavisi başarı oranları ile genetik faktörler arasında bir farklılık gözlenmemiştir(Maiburg ark., 2009). Çalışmamız Maiburg ve arkadaşlarının bulguları ile paralellik taşımaktadır.

Kihaile ark. Tarafından 118 erkek faktörlü infertil azospermik, oligozoospermik ve Y mikrolelesyon bulunduran kromozomal anomalili hasta grubu ile normal gruplar karşılaştırıldığında ICSI başarısı ve gebelik sonuçları bakımından bir farklılık gözlemlenmemiştir (Kihaile ve ark., 2004).

Bizim çalışmamızda da erkek endikasyonu olarak kromozomal anomalili taşıyıcı olan olguların, normal semen değerleri ve kromozom yapısına sahip olanlara göre oosit fertilizasyonu açısından da gruplar arasında istatistiksel bir farklılık gözlenmedi.

Erkek faktörü göz önüne alındığında ICSI sonuçlarının kontrole kıyasla farklı olmadığını göstermektedir. Teratospermik ve azospermik hastaların embriyo gelişimini incelediğimizde PGD normal embriyo sayısının kontrole kıyasla benzer olduğu görülmüştür.

Çalışmamızda öplid embriyo sayısının yapısal ve sayısal kromozom anomalisine sahip bireylerin embriyolarında daha yüksek olduğu görüldü. Bu grupta kadın yaşının kontrol grubuna kıyasla daha genç oluşunun etkisi olabileceği düşünülmelidir. Çalışmamız elde edilen gebelik oranlarının ebebeyn taşıyıcı grupta daha yüksek olmasının PGT uygulamasının iyi bir embriyo seçim yöntemi olabileceğini düşündürmektedir. A. Stecher ve arkadaşlarının 2014 te yaptıkları çalışmada embriyo gelişiminin morfokinetik verileri ile öplid embriyo gelişimi ilişkisi incelenmiş, erken hücre bölünmesinin anöplid embriyolarda daha geciktiği, ancak t5, cc3 ve t5-t2 (1-3) için eşik sınırlamaları veya 2/3. Günde statik morfolojik değerlendirme öplidi için öngörücü olmadığı gösterildi. 96.2 saat sonra zonanın yırtılması ile embriyoların, % 21.5 anöplid olma olasılığı daha yüksek bulundu.

Bununla birlikte, blastosistlerin statik morfolojik değerlendirmeleri karşılaştırılabilir ve ayrıca istatistiksel olarak anlamlı prediktif değere sahipti, suboptimal kalite blastosistlerinin genetik olarak anormal olma olasılığının araştırcılarca % 19.9 olarak bulundu. Dengesiz translokasyonlar için, yüksek kaliteli blastosistler olarak sınıflandırıldıklarında, dengesiz translokasyonlara sahip daha düşük bir embriyo oranı eğilimi tespit edildi. 5. günde blastosist oluşumunun kinetiği ve blastosist kalitesinin statik morfolojik değerlendirmesi, anöploidi için karşılaştırılabilir ve istatistiksel olarak anlamlı bir öngörü değerine sahip bulundu. Her iki parametrenin birleştirilmesi, öngörü değerini artırdı, ancak her iki kriteri de yerine getiren tüm blastosistlerin sadece % 45'i olarak bulundu. Araştırcılar blastosist kültürü ve statik morfolojik gözlemin řu anda transfer için embriyoların seçiminde en iyi ve en uygun maliyetli yöntem olarak görünmekte olduğunu ileri sürdüler. Bu çalışma sonuçlarına göre, ne statik ne de kinetik morfoloji, řu anda bir klinik uygulama için euploidiyi yeterince tahmin edememektedir (Stechera ve ark. 2014). Bu bulgular da bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçları doğrulamaktadır.

## 8. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda erkek ve kadında kromozom anomalisinin bulunduğu durumda embriyo gelişiminin kadın yaş endikasyonu bulunan olgulara göre daha iyi olduğu gözlenmiştir. Bu açıdan olguların embriyo kalitesine bakarak genetik anomali riskini öngörmek olası görülmemektedir. PGT aneuploidi taramasında gebelik ve doğum oranlarının kontrole kıyasla farklı olmadığı tespit edilmiştir.

Genetik olarak kromozomal anomalili olan hastalarda ICSI sonrası gebelik oranları yüksek bulunmuştur, ancak genetik anomali taşıyıcı olan ve olmayan hastaların ICSI sonrası blastokist ve gebelik oranları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Bu alanda daha geniş hasta gruplarında ve kapsamlı çalışmalar yapılmalıdır. Gelecekte bu konuda olan çok merkezli ve geniş vaka serilerinde yapılacak çalışmalar, kromozomal anomali taşıyıcılarında başarılı sonuçlar elde edilmesi sağlanması ve sonucunda genetik hastalık bakımından sağlıklı çocukların doğması IVF alanında daha ileri düzey gelişmelerin temellerini oluşturacağını düşünmekteyiz.

## 9. KAYNAKÇA

Aksoy,S.”,Embriyoda genetik tanı Preimplantasyon genetik tanı”, [Elektronik sürüm]. Erişim; 02.05.2019.

Agerholm I. E., Hnida, C., Crüger, D. G., Berg, C., Bruun-Petersen, G., Kolvraa, S. ve diğerleri. (2008). Nuclei Size in Relation to Nuclear Status and Aneuploidy Rate for 13 Chromosomes in Donated Four Cells Embryos. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 25:95–102.

Ahlström, A., Westin, C., Reismer, E., Wikland, M. ve Hardarson, T. (2011). Trophoctoderm Morphology: An Important Parameter for Predicting Pregnancy and Birth After Single Blastocyst Transfer. *Human Reproduction*, 26:3289–3296.

Antczak, M. ve Van Blerkom, J. (1999). Temporal and Spatial Aspects of Fragmentation in Early Human Embryos: Possible Effects on Developmental Competence and Association with the Differential Elimination of Regulatory Proteins from Polarized Domains. *Human Reproduction*, 14:429–447.

Aplin, J. D. (2000). The Cell Biological Basis of Implantation. *Bailliere's Best Practice & Research: Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 14:757–764.

Bahçe, M. (2018), Erkek İnfertilitesinde Genetik Faktörler. İçinde: Üreme Endokrinolojisi Teknikleri Ve Cerrahisi.Pabuçcu R, Fıçıcıoğlu C., (eds.), İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, s: 109-112.

Balaban, B., Urman, B., Sertaç, A., Alataç, C., Aksoy, S. ve Mercan, R. (2000).Blastocyst Quality Affects the Success of Blastocyst-Stage Embryo Transfer.*Fertility and Sterility*, 74:282–287.

Barbieri, RL., (2004), “Female infertility”, “Reproductive endocrinology”, Editör: Strauss, FJ., Barbieri, RL., Pennsylvania:Elsevier.



Basille C, Frydman R, El Aly A, Hesters L, Fanchin R, Tachdjian G, et al. Preimplantation genetic diagnosis: state of the art. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2009; 145(1): 9-13

Berger VK, Baker VL. Preimplantation diagnosis for single gene disorders. *Semin Reprod Med* 2014; 32(2): 107-13.

Bielanska M, Jin S, Bernier M, Tan SL, Ao A. Diploid-aneuploid mosaicism in human embryos cultured to the blastocyst stage. *Fertil Steril* 2005; 84(2): 336-42.

Bienvenu T, Patrat C, Jouannet P.,( 2003),Molecular detection of Y chromosome microdeletions: a new approach based on the denaturing gradient gel electrophoresis *Gynecol Obstet Fertil.*;31:639-46.

Borini A, Tarozzi N, Bizzaro D, Bonu MA, Fava L, Flamigni C, Coticchio G. Sperm DNA fragmentation: paternal effect on early post-implantation embryo development in ART. *Hum Reprod.* 2006 Nov;21(11):2876-81.

Carr BR, Blackwell RE. *Textbook of Reproductive Medicine*. 2nd. Ed. Connecticut USA, Appleton & Lange Stamford, 1998.

Capalbo A, Bono S, Spizzichino L, Biricik A, Baldi M, Colamaria S, et al. Reply: Questions about the accuracy of polar body analysis for preimplantation genetic screening. *Hum Reprod* 2013; 28(6): 1733-6.

Casey PJ, Hilman RB, Robertson KR, Yudin AI, Liu IKM, Drobnis EZ. Validation of an acrosomal stain for equine sperm that differentiates between living and dead sperm. *J Androl* 1993; 14:28997.

Chaffkin LM, Nulsen JC, Luciano AA, Metzger DA. A comparative analysis of the cycle fecundity rates associated with combined human menopausal gonadotropin (hMG) and intrauterine insemination (IUI) versus either hMG or IUI alone. *Fertil Steril* 1991; 55: 252.

Cissen, M., Wely, M. V., Scholten, I., Mansell, S., Bruin, J. P., Mol, B. W. Vd.,(2016). Measuring Sperm DNA Fragmentation and Clinical Outcomes of Medically Assisted Reproduction: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*,11(11):e0165125, doi 10.1371/journal.pone.0165125.

Cohen J, Talansky BE, Malter H, Alikani M et al. Microsurgical fertilization and teratozoospermia. *Hum Reprod.* 1991, 6:118-123.

Cox Gf, Burger J,Lip V, Mau Ua,Sperling K,Wu BL, et al.Intrastoplasmic sperm injection may increase the risk of imprinting defects.*Am J Hum Genet* 2002;71:162-164.

De Baun MR, Niemitz EL, Feinberg AP.Association of in vitro fertilization with Beckwith-Wiedemann syndrome and epigenetic alterations of LIT1 and H19.*Am J Hum Genet* 2003;72:156-60.

De Gendt K,Swinnen Jv, Saunders PT, Schoonjans L,Dewerchin M,Devos A. Et al.A sertoli cell-selective knockout of the androgen receptor causes spermatogenic arrest in meiosis.*Proc Natl Acad Sci USA* 2004;101:1327-32.

De Rycke M,Liebaers I,Van Steirteghem A.Epigenetic risks related to assisted Reproductive technologies; risk analysis and epigenetic inheritance. *Hum Reprod* 2002;17:2487-94.

De Rycke M, Belva F, Goossens V, Moutou C, SenGupta SB, TraegerSynodinos J & Coonen E( 2015)., ESHRE PGD Consortium data collection XIII: cycles from January to December 2010 with pregnancy follow-up to October 2011. *Human Reproduction* 30 1763–1789.

Delilbaşı L. İn Vitro Fertilizasyon (IVF) Laboratuvar Yöntemleri. İn: Delilbaşı L. (eds). Ankara: Öncü Basımevi; 2008;1-32

DiMarzo SJ, Kennedy JF, Young PE, et al. Effect of controlled ovarian hyperstimulation on pregnancy rates intrauterine insemination. *Am J Obstet Gynecol* 1992; 166: 1607.

Dodson WC, Haney AF. Controlled ovarian hyperstimulation and intrauterine insemination for treatment of infertility. *Fertil Steril* 1991; 55:457.

Ebner T., Moster, M., Sommergruber, M., Gaiswinkler, U., Shebl, O., Jesacher, K. ve diğerleri. (2005). Occurrence and Developmental Consequences of Vacuoles Throughout Preimplantation . *Fertility and Sterility*, 83:1635–1640.

Egozcue S, Blanco J, Vendrell JM, García F, Veiga A, Aran B, Barri PN, Vidal F, Egozcue J.(2000), Human male infertility: chromosome anomalies, meiotic disorders, abnormal spermatozoa and recurrent abortion. *Hum Reprod Update* Jan-Feb;6(1):93-105. Review.

Eimers, JM., Te Velde, ER., Gerritse, R., Van Kooy, RJ., Kremer, J., Habbema, JD., (1994), “The validity of the postcoital test for estimating the probability of conceiving”, *Am J Obstet Gynecol*, 171, 65-70.

Ferlin A, Raicu F, Gatta V, Zuccarello D, Palka G, Foresta C. Male infertility: Role of genetic background. *Reprod Biomed Online* 2007;14:734-45.

Forman EJ, Hong KH, Franasiak JM, Scott RT. Obstetrical and neonatal outcomes from the BEST Trial: Single embryo transfer with aneuploidy screening improves outcomes after in vitro fertilization without compromising delivery rates. *Am J Obstet Gynecol*. 2014;210(2). 16

Franasiak JMFE, Hong KH, Werner MD, Upham KM, Treff NR, Scott RT Jr. The nature of aneuploidy with increasing age of the female partner: a review of 15,169 consecutive trophoctoderm biopsies evaluated with comprehensive chromosomal screening. *Fertil Steril*. 2014:656–63

Gardner RL, Edwards RG. Control of the sex ratio at full term in the rabbit by transferring sexed blastocysts. *Nature* 1968; 27-218(5139): 346-9.

Gartner LP, Hiatt JL, Color Textbook Histology, 2nd edition. New York, W.B. Saunders, 2001.

Gardner DK, Weissman A, Howles CM, Shoham Z. Textbook of Assisted Reproductive Techniques Laboratory and Clinical Perspectives. London and New York, A Martin Dunitz Book, 2004.

Gilbert, S. F. (2000). *Developmental Biology* (6. bs.) [Elektronik sürüm]. Sunderland: Sinauer Associates. Erişim: 02 Mayıs 2019.

Guzick DS, Sullivan MW, Adamson GD, et al. Efficacy of treatment for unexplained infertility. *Fertil Steril* 1998; 70: 207-13.

Griffin DK, Finch KA.,( 2005). The genetic and cytogenetic basis of male infertility. *Hum Fertil (Camb)*. 8:19-26.

Harper JC, Wilton L, Traeger-Synodinos J, Goossens V, Moutou C, SenGupta SB, et al. The ESHRE PGD Consortium: 10 years of data collection. *Hum Reprod Update* 2012; 18(3): 234-47.

Hartmann S, Bergmann M, Bohle RM, Weidner W, Steger K. Genetic imprinting during impaired spermatogenesis. *Mol Hum Reprod* 2006;12:407-11.

Harton GL, Munné S, Surrey M, et al. Diminished effect of maternal age on implantation after preimplantation genetic diagnosis with array comparative genomic hybridization. *Fertil Steril*. 2013;100:1695–1703. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.07.2002

Hodes-Wertz B, Grifo J, Ghadir S, et al. Idiopathic recurrent miscarriage is caused mostly by aneuploid embryos. *Fertil Steril*. 2012;98:675–680. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.05.025.

Hoing LM, Devroey P, Van Steirteghem AC. Treatment of infertility because of oligoasthenoteratospermia by transcervical intrauterine insemination of motile spermatozoa. *Fertil Steril* 1986; 45: 388.

Holte, J., Berglund, L., Milton, K., Garello, C., Gennarelli, G., Revelli, A. Ve Bergh, T. (2007). Construction of An Evidence-Based Integrated Morphology Cleavage Embryo Score for Implantation Potential of Embryos Scored and Transferred on Day 2 After Oocyte Retrieval *Human Reproduction*, 22:548–557.

Huttelova R, Kleibl Z, Rezatova J, Krutilkova V, Foretova L, Novotny J, et al. [Prerequisites for preimplantation genetic diagnosis (PGD in carriers of mutations responsible for hereditary cancers]. *Klinicka onkologie: casopis Ceske a Slovenske onkologicke spolocnosti* 2009; 22: 69-74.

Hull, MG., Fleming, CF., Hughes, AO., McDermott, A., (1996), “The age related decline in female fecundity: a quantitative controlled study of implanting capacity and survival of individual embryos after in vitro fertilization”, *Fertil Steril*, 65, 78.

İrez T. (2014) İn vitro fertilizasyon çeviri (Kay Elder,Brian Dale) Nobel Tıp Kitapevi Sayfa 28-49.

Kadıoğlu, A., Ermeç, B. (2017), Üremeye yardımcı Tedavi Yöntemleri İçin Sperm Elde Etme. *Turkiye Klinikleri Journal Urology-Special Topics*,10(1), 39-47.

Karkucak M,(2016)” Kromozom anomalileri ve fertilité problemleri”, *Androloji Bülteni*, 18(64): 33–39.

Kasap H.,(2010),”Tıbbi Biyoloji ve Genetik”,Adana :Adana Nobel Kitabevi,362-373.

Kathrine L,O’Flaynn,O’Brien,Vanghese Alex C.,Agarval Ashok.The genetic causes of male foctor infertility:A riview.*Fertil Steril* vol 93(1)1-12 2010.

Kaya M, Polat S, Mete UÖ, Tap Ö. Özel Histoloji Ders Notları. Adana, Çukurova Üniversitesi Kitapevi, 2000.

Kim HH, Schlegel P, Goldstein M. Infertility: The Male. Chapter 34. Section 6. Reproductive Biology 2010: 366- 80.

Kruger TF, Menkveld R, Stander FS, Lombard CJ, Van der Merwe JP, Van Zyl JA, Smith K. Sperm morphologic features as a prognostic factor in in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1986, 46(6):1118-1123.

Kihaile P.E, Kisanga R.E, Aoki K, ve ark. Embryo outcome in Y chromosome microdeletion infertile males after ICSI. Mol. Reproduction and Development. 2004; 68:176181.

Kruger TF, Acosta AA, Simmons KF, Swanson RJ, Matta JF, Oehninger S. Predictive value of abnormal sperm morphology in in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1988, 49(1):112-117.

Liu, Y., Chapple, V., Roberts, P. ve Matson, P. (2014) Prevalence, Consequence, and Significance of Reverse Cleavage by Human Embryos Viewed with the Use of the Embryoscope Time-Lapse Video System. *Fertility and Sterility*, 102:5(1295-1300).

Mahadevan MM, Trounson AO. Removal of the cumulus oophorus from the human oocyte for in vitro fertilization. *Fertil Steril*. 1985, 43(2):263-267.

Magli, M. C., Gianaroli, L. ve Ferraretti, A. P. (2001). Chromosomal Abnormalities in Embryos [Embriyolardaki Kromozomal Anormallikler]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 183:29–34.

Magli, M. C., Gianaroli, L., Ferraretti, A. P., Lappi, M., Ruberti, A. ve Farfalli, V. (2007). Embryo Morphology and Development Are Dependent on the Chromosomal Complement. *Fertil Steril*;87(3):534-41.

Magli, M. C., Jones, G. M., Lundin, K., Van den Abbeel, E. ve diğerleri. (2012) Atlas of Human Embryology: From Oocytes to Preimplantation Embryos. *Human Reproduction*, Volüm 26, Ek 1.

Maheshwari A., Hamilton M., Bhattacharya S. Effect of female age on the diagnostic categories of infertility. *Hum Reprod*, 2008. 23(3): p. 538-42

Maiburg M, Alizadeh B, Kastrop P, ve ark. Does the genetic and familial background of males undertaking ICSI affect the outcome? *Journal Assisted Reprod. Genet.* 2009; 26:293-303.

Maroulis, GB., (1991), "Effect of aging on fertility and pregnancy", *Seminars Reprod Endocrinol*, 9, 165-75.

Mastenbroek S, Twisk M, van der Veen F, Repping S. Preimplantation genetic 42 screening: A systematic review and meta-analysis of RCTs. *Hum Reprod Update.* 2011;17(4):454–66.

Mazumdar S, Levine AS (1998). Antisperm antibodies: etiology, pathogenesis, diagnosis and treatment. *Fertil Steril*; 70:799-810.

Mc Govern P, Quagliarello J, Arny M. Relationship of within-patient semen variability to outcome of intrauterine insemination. *Fertil Steril* 1989; 51: 1019.

Menkveld R, Stander FS, Kotze TJ, Kruger TF, van Zyl JA. İnsan Spermatozoalarının morfolojik özelliklerinin stric kriterlerine göre değerlendirilmesi. *Hum Reprod.* 1990 Jul; 5(5):586-92.

Miller, JH., Weinberg, RK., Canino, NL., Klein, NA., Solues, MR., (1999), " The pattern of infertility diagnoses in women of advanced reproductive age", *Am J Obstet Gynecol*, 181(4), 952-7.

Mittal RD, Singh G, Srivastava A, Pradhan M, Kesari A, Makker A, Mittal B.,(2004),Y chromosome micro-deletions in idiopathic infertility from Northern India. *Ann Genet.* 47:331-7.

Mortimer D, Templeton AA. Sperm transport in the human female reproductive tract in relation to semen analysis characteristics and time of ovulation. *J Reprod Fertil* 1982; 64: 401.

Moriwaki, T., Suganuma, N., Hayakawa, M., Hibi, H., Katsumata, Y., Oguchi, H. ve diğerleri. (2004). Embryo Evaluation by Analysing Blastomere Nuclei 60. *Human Reproduction*, 19:152–156.

Moutou C, Goossens V, Coonen E, De Rycke M, Kokkali G, Renwick P, SenGupta SB, Vesela K & Traeger-Synodinos J (2014). ESHRE PGD Consortium data collection XII: cycles from January to December 2009 with pregnancy follow-up to October 2010. *Human Reproduction* 29 880–903.

Munne S, Weier HU, Stein J, Grifo J, Cohen J. A fast and efficient method for simultaneous X and Y in situ hybridization of human blastomeres. *J Assist Reprod Genet* 1993; 10(1): 82-90.

Munne S, Bahce M, Schimmel T, Sadowy S, Cohen J. Case report: chromatid exchange and predivision of chromatids as other sources of abnormal oocytes detected by preimplantation genetic diagnosis of translocations. *Prenat Diagn* 1998; 18(13): 1450-8 .

Munné, S. (2006). Chromosome Abnormalities and Their Relationship to Morphology and Development of Human Embryos *Reproductive Biomedicine Online*, 12:234–253.

Nagaoka SI, Hassold TJ, Hunt PA. Human aneuploidy: mechanisms and new insights into an age-old problem. *Nat Rev Genet* [Internet]. 2012;13(7):493–504.

Nagvenkar P, Desai K, Hinduja I, Zaveri K.(2005), Chromosomal studies in infertile men with oligozoospermia & non-obstructive azoospermia. *Indian J Med Res*. Jul;122:34-42.



Ng SC, Bongso A, Sathanantan H, Ratnam SS. Micromanipulation: its relevance to human in vitro fertilization. *Fertil Steril.* 1990, 53(2):203-219.

Orhon E. Sperm Morfoloji Atlası. Türkiye infertilite vakfı yayınları 1995;17-29.

Ozan, YD., (2013), “Watson’ın İnsan Bakım Kuramına Temellendirilmiş Hemşirelik Bakımının İnfertilite Tedavisi Gören Kadınların, Anksiyete, Baş Etme Ve İnfertilite Etkilenme Durumlarına Etkisi”, Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Önder Ç. Yardımcı Üreme Teknikleri Temel Klinik ve Embriyolojik Uygulamalar. İstanbul, Nobel Kitabevi, 2011.

Özgür Aldemir, M. Hamza Müslümanoğlu, Cavit Can, Cengiz Bal , Murat Cantürk, Ramazan Emre, Muhsin Özdemir, Hüseyin Aslan, Oğuz Çilingir, Sevilhan Artan.(2013) ‘‘ICSI Sonrası Fertilizasyon Sonuçlarına Azoospermik ve Oligospermik Hastalardaki Genetik Anomalilerinin Etkisi’’ Tıp Araştırmaları Dergisi; 2013: 11(3):111-115

Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet.* 1992, 4(340):17-18.

Payne, D., Flaherty, S. P., Barry, M. F. ve Matthews, C.D. (1997). Preliminary Observations on Polar Body Extrusion and Pronuclear Formation in Human Oocytes Using Time-Lapse Video . *Human Reproduction*, 12:532–541.

Pinheiro RC, Lambert J, Bénard F, Mauffette F, Miron P. Effectiveness of in vitro fertilization with intracytoplasmic sperm injection for severe male infertility. *CMAJ.* 1999, 30, 161(11):1397-1401.

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

Poongothai J, Gopenath TS, Manonayaki S. Genetics of human male infertility. *Singapore Med J* 2009; 50(4): 336-7.

Rubio, I., Kuhlmann, R., Agerholm, I., Kirk, J., Herrero, J., Escribá M. J. Ve diğerleri. (2012). Limited Implantation Success of Direct-Cleaved Human Zygotes: A Time-Lapse Study. *Fertility and Sterility*, 98(6):1458-63, doi 10.1016/j.fertnstert.2012.07.1135.

Sadler, T. W. (1996). *Langman's Medikal Embriyoloji* (7. bs., s. 1-20) (C. Başaklar, Çev.) Ankara: Palme Yayıncılık. (1995).

Salvaggio CN, Forman EJ, Garnsey HM, Treff NR, Scott RT, Jr. Polar body based aneuploidy screening is poorly predictive of embryo ploidy and reproductive potential. *J Assist Reprod Genet* 2014; 31(9): 1221-6.

Scott LA, Smith S. The successful use of pronuclear embryo transfers the day following oocyte retrieval. *Hum Reprod*. 1998, 13:1003-1013.

Scott RT, Jr., Upham KM, Forman EJ, Zhao T, Treff NR. Cleavage-stage biopsy significantly impairs human embryonic implantation potential while blastocyst biopsy does not: a randomized and paired clinical trial. *Fertil Steril* 2013; 100(3): 624-30.

Scott RT, Upham KM, Forman EJ, Hong KH, Scott KL, Taylor D, et al. Blastocyst biopsy with comprehensive chromosome screening and fresh embryo transfer significantly increases in vitro fertilization implantation and delivery rates: A randomized controlled trial. *Fertil Steril*. 2013;100(3):697–703.

Scott KL, Hong KH, Scott RT, Jr.(2013). Selecting the optimal time to perform biopsy for preimplantation genetic testing. *Fertil Steril*; 100(3): 608-14.

Scott, L., Finn, A., O'Leary, T., McLellan, S. ve Hill, J. (2007). Morphologic Parameters of Early Cleavage-Stage Embryos That Correlate with Fetal Development and Delivery: Prospective and Applied Data for Increased Pregnancy *Human Reproduction*, 22:230–240.

Simpson JL. Preimplantation genetic diagnosis at 20 years. *Prenat Diagn* 2010; 30(7): 682-95.

Sigman M, Howards SS.(1998). Male infertility. In Campbell's Urology, 7th edition (Eds PC Walsh, AB Retik, ED Vaughan):1287-9. Philadelphia, W.B. Saunders,

Smith, S., Pfeifer, SM., Collins, JA., (2003), "Diagnosis and management of female infertility", JAMA, 290(13), 1767-70.

A. Stechera, M. Hrubab, L. Hradecky, R. Vlckovab, M. Zintza, T. Kohoutekb, P. Vanderzwalmena, B. Wirleitnera, N.H.(2014) Zecha .Relation between aneuploidy, embryo morphology and morphokinetic parameters in PGD/PGS patients Fertil Steril, Volume 102, Issue 3, Supplement, Page e316.

Stouffs K,Lissens W,Tournaye H, Van Steirteghem A,Liebaers I.Possible role of USP26 in patients with severely impaired spermatogenesis.Eur J Hum Genet 2005;13;336-40.

Strom CM, Verlinsky Y, Milayeva S, Evsikov S, Cieslak J, Lifchez A, et al. Preconception genetic diagnosis of cystic fibrosis. Lancet 1990; 4-336(8710): 306-7.

Tarlatzis BC, Bontis J, Kolibianakis EM, et al. Evaluation of intrauterine insemination with washed spermatozoa from the husband in the treatment of infertility. Hum Reprod 1991; 6: 1241.

Tesarik, J., Greco, E. ve Mendoza, C. (2004). Late, But Not Early, Paternal Effect on Human Embryo Development Is Related to Sperm DNA Fragmentation . *Human Reproduction*, 19(3): 611-615.

Trounson A. Current perspectives of in vitro fertilization and embryo transfer. *Clin Reprod Fertil*. 1982, 1(1):55-65.

Trounson A, Gardner D. K. Handbook of In Vitro Fertilization. Florida, USA,CRC Pres, 1993.

Turek PJ. Male infertility. In: Smith's General Urology, 15th edition (Eds EA Tanagho, JW McAninch):773-4. New York, McGraw-Hill, 2000.

Turunc, T., Tüm yönleriyle TESE. Başkent Üniversitesi Adana Uygulama ve Araştırma Merkezi, Üroloji Kliniği, Adana. 42-44.2015.

Tur-Kaspa I, Jeelani R, Doraiswamy PM. Preimplantation genetic diagnosis for inherited neurological disorders. *Nat Rev Neurol* 2014; 10(7): 417-24.

Van Blerkom, J., Davis, P. ve Alexander, S. (2001). A Microscopic and Biochemical Study of Fragmentation Phenotypes in Stage-Appropriate Human. *Human Reproduction*, 16:719–729.

Van Royen, E., Mangelschots, K., Vercruyssen, M., De Neubourg, D., Valkenburg, M., Ryckaert, G. ve diğeri. (2003). Multinucleation in Cleavage Stage. *Human Reproduction*, 18:1062–1069.

Van Steirteghem AC, Nagy Z, Joris H, Liu J, Staessen C, Smits J, Wisanto A, Devroey P. High fertilization and implantation rates after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 1993, 8(7):1061-1066.

Verlinsky Y, Ginsberg N, Lifchez A, Valle J, Moise J, Strom CM. Analysis of the first polar body: preconception genetic diagnosis. *Hum Reprod* 1990; 5(7): 826-9.

Vilma Mantovani, Paola Garagnani, Paola Selva, Cesare Rossi, Simona Ferrari, Marillena Cenci, Nilla Calza, Vincenzo Cerreta, Donata Luiselli and Giovanni Romeo: Simple Method for Haplotyping the Poly (TG) Repeat in Individuals Carrying the IVS8 5T Allele in the CFTR Gene. *Clinical Chemistry* 53, No.3, 2007.

Voght PH. Human Chromosome deletions in Yq 11 Azf candidate genes and male infertility history an update. *Mol. Hum. Reprod Biomed Online* 2005; 10:81-93

Wallach EE. The uterine factor in infertility. *Fertil Steril* 1972; 23: 138-158

Watson, A. J., Natale, D. R. ve Barcroft, L. C. (2004). Molecular Regulation of Blastocyst Formation. *Animal Reproduction Science*, 82–83:583–592.

World Health Organization., WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction. 4th ed. 1999, Cambridge, UK ; New York, NY: Published on behalf of the World Health Organization by Cambridge University Press. 122 p., 128 p.

World Health Organization. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, 5th edition. Geneva, World Health Organization, 2010.

Yang Z., Liu J., Collins G.S., Salem S.A., Liu X., Lyle S.S. et al. Selection of single blastocysts for fresh transfer via standard morphology assessment alone and with array CGH for good prognosis IVF patients: results from a randomized pilot study. *Mol Cytogenet* [Internet]. 2012;5(1):24



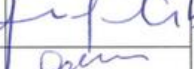

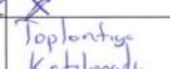
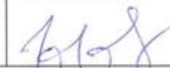
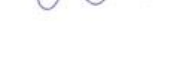
Ziebe, S., Loft, A., Petersen, JH., Andersen, AG., Lindenberg, S., Petersen, K., Andersen, AG., (2001), “ Embryo quality and developmental potential is compromised by age, *Acta Obstet Gynecol Scand*”, 80, 169.

Zollner U, Zollner KP, Dietl J, Steck T. Semen sample collection in medium enhances the implantation rate following ICSI in patients with severe oligoasthenoteratozoospermia. *Hum Reprod*. 2001, 16(6):1110-1114.

## 10. EKLER

### EK1

#### Etik Kurul Onayı

T.C. BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL KARARI				
Tarih: 28.12.2018 Toplantı Sayısı:24	Karar No: 2018/24-02 Prof.Dr.Tülay İREZ'in planladığı "Erkek Faktörlü Hastalarda Embriyo Gelişimi ve IVF Sonuçlarının Preimplantasyon Genetik Tanı ile Değerlendirilmesi" konulu araştırma incelendi, yapılan inceleme sonucunda araştırmanın etik yönden uygun olduğuna karar verildi.			
ÜYELER				
Adı soyadı	Alanı	Bölümü	Katılım	İmza
Prof.Dr.Can Polat EYİGÜN	Tıp Fakültesi	Enfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji A.D	Etik Kurul Başkanı	
Prof.Dr.Leman ŞENTURAN	Sağlık Bilimleri Fakültesi	Hemşirelik Bölümü	Etik Kurul Başkan Yardımcısı	
Prof.Dr.Fatma ÇELİK	Sağlık Bilimleri Fakültesi	Beslenme ve Diyetetik Bölümü	Üye	
Doç.Dr.Şölen HİMMETOĞLU	Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya A.D.	Raportör	
Doç.Dr.Burcu KARADUMAN	Diş Hekimliği Fakültesi	Periodontoloji A.D.	Üye	
Dr.Öğr.Üyesi.Ayşe Tuba CEYHUN	Eğitim Fakültesi	Zihin Engelliler Bölümü	Üye	
Dr.Öğr.Üyesi Zeynep HOŞBAY	Sağlık Bilimleri Fakültesi	Fizyoterapi ve Rehabilitasyon Bölümü	Üye	

**Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu**

28.12.2018

*Sayın* Prof.Dr.Tülay İREZ

Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu yapılan inceleme sonucunda planladığı "**Erkek Faktörlü Hastalarda Embriyo Gelişimi ve IVF Sonuçlarının Preimplantasyon Genetik Tanı İle Değerlendirilmesi**" isimli araştırmanızın kurulumuzun **28.12.2018** tarihli toplantısında etik yönden uygun olduğuna karar verilmiştir.



Etik Kurul Başkanı  
**Prof.Dr.Can Polat EYİĞÜN**

## 11. ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı:** Emrah Güngör

**Doğum Tarihi ve Yeri :** 25.12.1988/Van

**Mail Adresi:** emgnr@gmail.com

**Unvanı:** Biyolog

**Öğrenim Durumu:** Lisans

Derece	Okul Adı ve Bölümü	Mezuniyet Yılı
Y.Lisans	Biruni Üniversitesi Klinik Embriyoloji	Devam
Lisans	Adnan Menderes Ün. Biyoloji Bölümü	2013
Lise	Milli Eğitim Vakfı Lisesi	2007

### İş Deneyimleri

**2013-2015-** Acıbadem Sağlık Grubu : Biyolog (Biyokimya Lab.)

**2017-** İstanbul Tüp Bebek Merkez: Biyolog (Embriyoloji Lab.)



## İNTİHAL RAPORU

### ERKEK FAKTÖRLÜ HASTALARDA EMBRİYO GELİŞİMİ VE IVF SONUÇLARININ PREİMLANTASYON GENETİK TANI İLE DEĞERLENDİRİLMESİ

ORJİNALLIK RAPORU

<b>%12</b> BENZERLİK ENDEKSİ	<b>%10</b> İNTERNET KAYNAKLARI	<b>%0</b> YAYINLAR	<b>%3</b> ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ
---------------------------------	-----------------------------------	-----------------------	-------------------------------

BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<a href="http://utcd.org.tr">utcd.org.tr</a> İnternet Kaynağı	<b>%3</b>
<b>2</b>	<a href="http://dergipark.ulakbim.gov.tr">dergipark.ulakbim.gov.tr</a> İnternet Kaynağı	<b>%2</b>
<b>3</b>	<a href="http://www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080">www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı	<b>%2</b>
<b>4</b>	<a href="http://www.kaanaydos.com.tr">www.kaanaydos.com.tr</a> İnternet Kaynağı	<b>%1</b>
<b>5</b>	Submitted to Selçuk Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<b>%1</b>
<b>6</b>	<a href="http://www.tupbebek.com">www.tupbebek.com</a> İnternet Kaynağı	<b>%1</b>
<b>7</b>	<a href="http://www.journalagent.com">www.journalagent.com</a> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>
<b>8</b>	<a href="http://istanbulsaglik.gov.tr">istanbulsaglik.gov.tr</a> İnternet Kaynağı	<b>&lt;%1</b>

9	bulenturman.com İnternet Kaynağı	<%1
10	es.scribd.com İnternet Kaynağı	<%1
11	Submitted to Harran Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
12	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	<%1
13	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	<%1
14	Submitted to Konya Necmettin Erbakan University Öğrenci Ödevi	<%1
15	acikerisim.aku.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
16	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<%1
17	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBITAK) Öğrenci Ödevi	<%1
18	de.slideshare.net İnternet Kaynağı	<%1
19	Submitted to Canakkale Onsekiz Mart University	<%1

20	AYDIN, Turgut and YÜCEL, Burak. "TEK GEN HASTALIKLARI NEDENİYLE PREİMLANTASYON GENETİK TANI UYGULANAN HASTALARIMIZIN RETROSPEKTİF ANALİZİ", Bozok Tıp Dergisi, 2017. Yayın	<%1
21	apps.who.int İnternet Kaynağı	<%1
22	Submitted to Mersin Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
23	Submitted to Gaziantep Aniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
24	Submitted to Ataturk Universitesi Öğrenci Ödevi	<%1
25	www.tupbebekmerkezi.org İnternet Kaynağı	<%1
26	Submitted to Istanbul Kultur University Öğrenci Ödevi	<%1