

T.C.
BİRÜNİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DONDURULMUŞ EMBRİYO TRANSFERİ SONUÇLARININ FARKLI
ENDİKASYONLARA GÖRE DEĞERLENDİRİLMESİ

BÜŞRA KAĞITLI

HİSTOLOJİ - EMBRİYOLOJİ ABD
KLİNİK EMBRİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı

Doç.Dr.Meriç Karacan

İSTANBUL

2017

**DONDURULMUŞ EMBRİYO TRANSFERİ SONUÇLARININ FARKLI
ENDİKASYONLARA GÖRE DEĞERLENDİRİLMESİ**

**EVALUATION OF FROZEN EMBRYO TRANSFER RESULTS WITH REGARD TO
DIFFERENT INDICATIONS**

Büşra KAĞITLI

HİSTOLOJİ - EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç.Dr.Meriç KARACAN

Biruni Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Histoloji ve Embriyoloji


Anabilim Dalında Klinik Embriyoloji programında

Biyolog Büşra Kağıtlı tarafından hazırlanan Dondurulmuş Embriyo Transferi Sonuçlarının
Farklı Endikasyonlara Göre Değerlendirilmesi

adlı tez çalışması

aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 15.08.2017


Prof. Dr. Tülay İrez

Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji

Anabilim Dalı

Jüri Başkanı


Doç. Dr. Meriç Karacan

Yeni Yüzyıl Üniversitesi

Kadın Hastalıkları ve Doğum

Anabilim Dalı

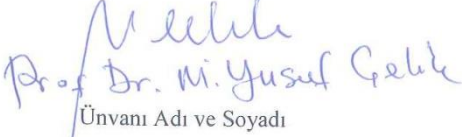
Danışman


Prof. Dr. Nezih Hekim

Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi

Üye

Tez hakkında alınan jüri kararı, Biruni Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından onaylanmıştır.


Prof. Dr. M. Yusuf Çelik

Ünvanı Adı ve Soyadı

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince, Histoloji ve Embriyoloji Bilimi sevgisini aşıl原因, yetişmemde büyük emekleri olan sevgili hocalarım başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Tülay İrez'e ve tez danışmanım Doç Dr. Meriç Karacan'a,

Lisans üstü eğitimim aşamasında her türlü desteğini gördüğüm, kısıtlı zamanda gerek hayat gerekse akademik bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan sevgili arkadaşım Öğr. Gör. İrfan Aydın' a,

Yoğun iş tempoları içinde bana zaman ayıran ve desteklerini hiç bir zaman esirgemeyen çok sevgili Brüksel Tüp Bebek Merkezi ekibine,

Tüm hayatım boyunca yanımda olan, beni bugünlere getiren, verdiğim kararları her zaman koşulsuz olarak destekleyen, benden hiçbir zaman umutlarımı kesmeyen bu dünyadaki en değerlilerim annem, babam, melek kardeşim ve biricik teyzeme,

Sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunuyorum.

ETİK

Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulu

13.06.2017

Sayın: Büşra Kağıtlı

Biruni Üniversitesi Girişimsel Olmayan Araştırmalar Etik Kurulunda yapılan inceleme sonucunda "ICSI sikluslarında embriyo kriyoprezervasyon sonuçlarının değerlendirilmesi" isimli araştırmanızın kurulumuzun 13/06/2017 tarihli toplantısında etik yönden uygun olduğuna karar verilmiştir.

Etik Kurul Başkanı
Prof. Dr. Tülay İrez



DONDURULMUŞ EMBRİYO TRANSFERİ SONUÇLARININ FARKLI ENDİKASYONLARA GÖRE DEĞERLENDİRİLMESİ

BÜŞRA KAĞITLI

ÖZET

Dondurulmuş embriyo transferi (DET) tüm dünyada yaygın olarak kullanılmakta ve kümülatif gebelik oranlarını arttırmaktadır. Transfer edilen taze embriyo transferi sayısının giderek azaltılmasıyla daha çok sayıda embriyo dondurulup sonraki sikluslarda kullanılmaktadır.

Günümüzde iki farklı embriyo dondurma yöntemi mevcut olmasına karşın daha iyi sonuçlar elde edilmesi nedeniyle en sık vitrifikasyon yöntemi kullanılmaktadır. Çalışmamızda farklı endikasyonlarla intrasitoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI) ve embriyo transferi (ET) siklusuna katılan, fazla embriyolarını dondurduğumuz ve daha sonra çözüp transfer ettiğimiz 258 çift değerlendirmeye alınmıştır. Bu amaçla endometriozis, polikistik over, zayıf over yanıt, tubal faktör, açıklanamayan infertilite ve erkek faktör olan çiftler değerlendirilmiştir.

Amaç farklı endikasyonlarla infertilitesi olan ve DET uygulananlarda klinik gebelik oranlarının karşılaştırılmasıdır. Çalışmaya 40 yaşın altında başka sistemik bir hastalığı olmayan uterin kavitesi normal kadınlar alınmıştır. Testiküler sperm kullanılanlar çalışmaya dahil edilmemiştir. Çalışmaya alınan çiftlerde erkek ve kadında ortalama yaş ve transfer edilen dondurulmuş embriyo sayıları karşılaştırılm grupla arasında benzer bulunmuştur.

DET sonrası klinik gebelik oranları incelendiğinde endometriozis hastaları için %29.6 (8/27), polikistik over sendromlu hastalar için %30.2 (13/43), zayıf over yanıtı hastalar için %28.9 (11/38), tubal faktör hastaları için %34.2 (12/35), açıklanamayan infertilite hastaları için %28.2 (11/39) ve erkek faktörü için %28.9 (22/76) olarak bulunmuştur. Gruplar arasında klinik gebelik oranları açısından istatistiksel bir fark saptanmamıştır ($p>0.05$).

Sonuç olarak, DET sikluslarında klinik gebelik oranları, değişik endikasyonlar ile infertilite tanısı konulan çiftlerde farklılık göstermemiştir. Ovulasyon indüksiyonu sonrası fazla embriyoların sonraki sikluslarda kullanılmak amacıyla dondurulması ve daha sonra kullanılması kümülatif gebelik oranlarını arttıracaktır. Yardımcı üreme teknikleri (YÜT) ile uğraşan laboratuvarlarda mutlaka embriyo dondurabilecek; özellikle vitrifikasyon yapabilecek donanım ve deneyimli ekip bulundurulmalıdır.

Anahtar kelimeler: ICSI, dondurulmuş embriyo transferi, endometriozis, erkek faktör.

Danışman: Doçent Dr, Meriç Karacan, Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD.

EVALUATION OF FROZEN EMBRYO TRANSFER RESULTS WITH REGARD TO DIFFERENT INDICATIONS

BÜŞRA KAĞITLI

ABSTRACT

Frozen embryo transfer (FET) is a common practice throughout the world in order to increase cumulative pregnancy rates. Although there are two different types of embryo freezing technics, vitrification process stands more common due to better outcome compared to slow freezing. We analyzed couples undergoing intracytoplasmic sperm injection (ICSI) and fresh embryo transfer, and subsequently frozen embryo transfers. For this purpose, A total of 258 couples with the diagnosis of endometriosis, polycystic ovary, poor ovarian response, tubal factor, unexplained infertility and male factor were examined. The main purpose was comparing people who have infertility indications with FET clinic results. Women who are under the age of 40 with normal normal uterine cavity were included. The average age of men and women and the number of frozen embryos transferred were similar among groups.

FET results for patients who has endometriosis after clinic pregnancy was %29.6 (8/27), for patients who has polycystic ovary syndrome is %30.2 (13/43), for patients who has poor responder was %28.9 (11/38), for patients who has tubal factor %34.2 (12/35), for patients who has unexplained infertility %28.2 (11/39) and for patients who has male factor %28.9 (22/76). There was no statistically significant differences in clinical pregnancy among groups.

As a result, clinical pregnancy rates were similar in different groups with different infertility etiologies. After the ovulation induction, use of excessive embryos in coming cycles of frozen embryos will increase cumulative pregnancy results. Laboratories that work on assisted reproductive techniques must have an experienced crew who can freeze embryos and necessary equipment available.

Keywords: ICSI, frozen embryo transfer, endometriosis, male factor.

Advisor: Assoc.Prof. Meriç Karacan, Yeni Yüzyıl University, Faculty of Medicine, Gynecology and Obstetrics Department.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
ÖZET.....	II
ABSTRACT	III
İÇİNDEKİLER	IV
ŞEKİLLER DİZİNİ	V
TABLO DİZİNİ	VI
KISALTMALAR	VII
1.GİRİŞ	1
1.1 İnfertilite	1
1.2 Erkek Faktörü	2
1.3 Kadın Faktörü	3
1.3.1 Açıklanamayan İnfertilite	4
1.3.2 Endometriozis	5
1.3.3 Polikistik Over Sendromu	7
1.3.4 Zayıf Over Yanıtı	8
2.1 Kriyoprezervasyon	9
2.1.1 Kriyoprotektanlar	10
2.2 Kriyoprezervasyon Yöntemleri	13
2.2.1 Klasik Yavaş Dondurma Yöntemi	13
2.2.2 Hızlı Dondurma Yöntemi	14
2.2.3 Vitrifikasyon	14
2.2.3.1 Sperm Kriyoprezervasyonu	15
2.2.3.2 Oosit Kriyoprezervasyonu	16
2.2.3.3 Zigot Dondurma	17
2.2.3.4 Blastosist Dondurma	18

2. GEREÇ VE YÖNTEM	19
3. BULGULAR VE TARTIŞMA	21
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	26
5. KAYNAKLAR	27
ÖZGEÇMİŞ	37



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BSA	Sığır serum albumin
CCC	Korona kumulüs kompleksinin
DET	Dondurulmuş embryo transferi
dk	Dakika
DMA	Dimetilasetamid
DMSO	Dimetilsülfoksit
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
EG	Etilen glikol
ET	Embriyo transferi
FSH	Folikül uyarıcı hormon
HCG	İnsan koryonik gonadotropin
HLA	İnsan lökosit antijen
HSG	Histerosalpingografi
ICSI	İntrasitoplazmik sperm injeksiyonu
IUI	İn utero inseminasyon
IVF	İn vitro fertilizasyon
K	Kelvin
LH	Lüteinizan hormon
M	Molarite
mg	Miligram
MII	Metafaz II
ml	Mililitre
mm	Milimetre
Pap	Papanicolau

pg	Pikogram
PKOS	Polikistik over sendromu
PROH	Propilen glikol
TESE	Testiküler sperm ekstraksiyon
YÜT	Yardımcı üreme teknikleri
µm	Mikrometre
° C	Santigrad Derece



TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1	2010 WHO kriterlerine göre normal semen parametreleri	2
Tablo 2	Kruger kesin kriterlerine göre sperm morfolojisi	2
Tablo 3	Hücre membranından geçebilme özelliklerine göre kriyoprotektan çeşitleri.....	11
Tablo 4	Farklı endikasyonlar ile demografik özellikler ve ICSI-ET sonuçları	22



1.GİRİŞ

1.1 İnfertilite

İnfertilite, reproduktif çağda olan bir çiftin herhangi bir doğum kontrol yöntemi kullanmaksızın, en az bir yıl düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebeliğin oluşmaması durumunu tanımlar. İnfertilite primer ve sekonder olmak üzere ikiye ayrılır. Primer infertilite daha önce hiç gebe kalmamış çiftleri tanımlarken, sekonder infertilite ise daha önce gebe kalmış çiftlerin sonrasında gebe kalamama durumunu tanımlar (Wallach, 1972).

Tüm infertil çiftlerin %30-40'ında erkek, %40-50'sinde kadın faktörü tespit edilir ve ovulatuvar disfonksiyon ve tubal-peritoneal faktörler, kadınlarda infertilitenin başta gelen sebepleri arasındadır. %20-25 çiftte hem erkek hem de kadına ait patolojiler birlikte gözlenir. %15 çiftte ise tüm tanısal tetkikler sonucunda bir infertilite nedeni bulunamaz ve açıklanamayan infertilite olarak tanımlanır (Yumru ve Öndeş, 2011).

Bu tez çalışmasında farklı infertilite faktörlerinin DET ile gebelik üzerine etkisi olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla daha önce taze embriyo transfer ile ICSI-ET denenmiş ve gebe kalamamışlarda daha sonra yapılan DET ile gebelik oranları karşılaştırılmıştır. Karşılaştırılan endikasyonlar; erkek faktörü, polikistik over sendromu (PKOS), zayıf over yanıtı, endometriozis, tubal faktör ve açıklanamayan infertilitedir.

1.2 Erkek Faktörü

Erkek infertilitesini 3 grup altında incelemek mümkündür. Bunlar; sperm üretim bozuklukları, sperm fonksiyon bozuklukları ve reproduktif kanal sistemdeki anormalliklerdir. Tedavi yaklaşımını belirlerken ise genetik nedenler, gonadotropin yetmezliği, anatomik nedenler, enfeksiyon, immünolojik ve idiopatik olarak 6 grupta incelenmek mümkündür (Engin Üstün, 2011).

Erkek infertilitesini belirlemede en önemli faktör semen analizidir. Erkek infertilitesini değerlendirirken en az 4 hafta ara ile uygun şartlarda yapılmış 2 semen analizinin olması gereklidir. Konsantrasyon, motilite ve morfoloji başta gelen kriterlerdir. Bu kriterlerin parametre değerlerinden bir tanesi uyuşmazsa infertilite olasılığı 2-3 kat, iki tanesi uyuşmazsa 5-7 kat, üçü de uyuşmazsa 16 kat artar (Navot vd., 1987).

2010 WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen kitabında referans değerleri aşağıdaki gibi verilmiştir (Cooper, 2010).

Tablo 1 : 2010 WHO kriterlerine göre normal semen parametreleri (Cooper, 2010).

PARAMETRE	WHO 2010
Semen hacmi	1,5 ml
Toplam sperm sayısı	39 milyon
Sperm sayısı	15 milyon
Hareketli sperm sayısı	>%40
İleri hareketli sperm	>%32
Vitalite (canlı sperm)	>%58
Sperm Morfolojisi	>%4
pH	>7.2
Peroksidaz (+) Lökosit (ml)	< 1 milyon

Tablo 2: Kruger kesin kriterlerine göre sperm morfolojisi (Kruger vd., 1986).

Baş	Uzunluk 5-6 mikron Genişlik 2.5-3.5 mikron
Akrozom	Başın %40-%70'ini oluşturmali
Boyun	Genişlik 1 mikron Uzunluk 1.5 x baş uzunluğu
Kuyruk	Boyu yaklaşık 45 mikron Uniform Orta parçadan daha ince Kıvrık olmayan Kırık içermeyen

1.3 Kadın Faktörü

İnfertil bir çifte yaklaşımda, kadın faktörün değerlendirilmesi tanı ve tedavide oldukça önemli bir unsurdur. Kadın fertilitesi hipotalamik, pitüiter ve overyan aksın koordinasyonu ve aralarındaki etkileşim ile düzenlenir. Bu sebepten dolayı kadın infertilitesi farklı hastalıklardan, reproduktif traktın, nöroendokrin ve immün sistemin disfonksiyonundan kaynaklanabilmektedir. Kadın infertilitesinin bilinen en majör sebepleri; ovulasyon bozuklukları, tubal faktör, servikal faktör ve açıklanamayan infertilitedir (Smith vd., 2003).

İnfertilite de yaş faktörü oldukça önemli bir etkidir. Yapılan çalışmalara göre doğurkenlik oranı yaşın ilerlemesiyle belirli bir azalış gösterir.

- 25-29 yaş aralığında fertilitite %4-8
- 30-34 yaş aralığında fertilitite %15-19
- 35-39 yaş aralığında fertilitite %26-46
- 40-45 yaş aralığında fertilitite % 95 oranında bir azalma gösterir (Maroulis, 1991).

Asiste Reproduktif Teknoloji Cemiyeti (ART) ve Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi'nin 1989'dan beri topladığı verilere dayanarak hasta yaşının ART başarısını etkileyen en önemli etken olduğu bildirilmiştir. Hasta yaşı ilerledikçe, oosit ve embriyo sayısındaki azalış, embriyo fragmentasyon oranındaki artış ve implantasyon oranındaki azalış ile karşı karşıya kalmıştır (Hull vd., 1996; Zieve vd., 2001).

Kadınlarda infertilitenin majör sebepleri;

- Ovülatuar Faktör

Ovülasyon bozuklukları kadına bağlı infertilitenin %30-40'lık oranından sorumludur. Bu bozukluklar amenore, anovulasyon ve adet düzensizlikleriyle kendisini belli eder. Ovulasyon; hipotalamus, hipofiz ve over aksın düzenli çalışmasıyla kontrolü sağlar ve bu aksın akışında meydana gelebilecek bir bozukluğun sonucunda anovulasyonu oluşturabilir.

Anovulasyon tanısı ile birlikte hipotalamo-hipofizer bozukluklar, polikistik over sendromu (PKOS), anoreksiya nevroza, prematüre over yetmezliği ve hipotiroidizm gibi hastalıklar düşünülür (Miller vd., 1999).

- Tubal Faktör

Tubal faktör uterus, fallop tüpü, overler ve etraflarındaki pelvik yapıların anormal durumlarını kapsar. İnfertil çiftlerin %20'sinde tubal ya da peritoneal faktör sorumludur. Tıbbi geçmişteki pelvik inflamatuvar hastalık, apandisit, intrauterin araç kullanımı, endometrit, septik abortus gibi herhangi bir pelvik inflamasyon pelvik faktörleri düşündürür. (Fıçıcıoğlu ve Yeşiladalı, 2014). Değerlendirilmede kullanılan yöntemler histerosalpingografi (HSG) ve laparoskopidir. HSG'nin avantajı uterin kavite ile ilgili bilgi sağlaması ve peritoneal ortamı değiştirmek suretiyle fekundabiliteyi arttırabilmesidir (Barbieri, 2004).

- Servikal Faktör

İnfertil olguların % 5-10 kadarında servikal faktör sorumludur. Servikal hücrelerin salgıladığı ve mukusta meydana gelen kalite, enfeksiyon ve immünolojik problemlerdir (Ozan, 2013). Servikal bir faktör şüphesini tıbbi geçmişteki anormal bir Papanicolau (Pap) smear, postkoital kanama, kriyoterapi, koinazasyon ya da in utero DES maruziyeti uyandırabilir. Servikal mukus yeterliliğini ve sperm-mukus etkileşimini değerlendirmek için postkoital test kullanılır. Mukusun incelenmesinde hareketli spermatozoa görüldüğünde postkoital test pozitif kabul edilmeli ve servikal faktör düşünülmemelidir (Eimers vd., 1994).

1.3.1 Açıklanamayan İnfertilite

Açıklanamayan infertilite, çiftlerin bir yıl korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebelik elde edemediği ve yapılan temel değerlendirmede (sperm analizi, ovulasyon testleri, kavite ve tubalarda patoloji olmadığını gösteren histerosalpingografi (HSG) herhangi bir patolojiye rastlanmaması olarak tanımlanmaktadır (Speroff, 2011). Merkezlere başvuran çiftlerin ortalama % 15'ine açıklanamayan infertilite tanısı konulmaktadır (Hatasaka, 2011).

Açıklanamayan infertilitenin olası nedenleri şöyle sıralanabilir; (Preutthipan ve Linasmita, 2003)

- 1) Antagonist servikal sekresyonlar
- 2) Erken embriyonel implantasyonda defektif endometrial reseptivite
- 3) Anormal tubal siliyal aktivite
- 4) Defektif ovum pick - up mekanizması
- 5) Lüteinize unrüptüre follikül sendromu

- 6) Ek hormonal anomaliler (örnek: luteal faz defekti)
- 7) Bozulmuş oosit ve/veya sperm fertilizasyon kapasitesi
- 8) Minimal veya orta düzeyde endometriozis
- 9) İmmünolojik faktörler
- 10) Bozulmuş peritoneal makrofaj aktivitesi
- 11) Bozulmuş peritoneal sıvı antioksidan fonksiyonu
- 12) İmplantasyon başarısızlıkları

Açıklanamayan infertilitenin nedeni olgularında yapılan tedaviler ampiriktir. Genel olarak temel strateji aynıdır doğru zamanda doğru yerde olağandan fazla sayıda spermi bir araya getirmektir. Bu sebepten dolayı uygulanan tedaviler in utero inseminasyon (IUI), klomifen, gonadotropinlerle overyan uyarım ve in vitro fertilizasyon (IVF)'tir.

1.3.2 Endometriozis

Endometriozis lokal ve sistemik enflamasyon ile karakterize özellikle üreme çağındaki kadınların %20-40'ında görülen jinekolojik hastalıktır (Engin Üstün, 2011). Endometriozis lezyonlarının tipik bileşenini, endometrial gland ve stroma oluşturur. Endometriozis, histolojik olarak endometriuma benzerlik gösteren dokunun uterin kavite dışındaki lokalizasyonlarda anormal olarak büyümesi ile seyreden bir bozukluk olarak bilinir (Özcan ve Yıldız, 2014). Amerika Bileşik Devletleri'nde jinekolojik problemler nedeniyle hospitalizasyonlar arasında en sık karşılaşılan 3. nedendir (Eskanazi ve Warner, 1997).

Fertilite bariyeri oluşturmasında immunolojik ve lokal mekanik faktörlerin etkili olduğu, hastalığın evrelerine göre farklı mekanizmalarla infertiliteye neden olduğu ileri sürülmektedir. Bu sebepten dolayı endometriozisi olan infertil kadınlara optimal yaklaşım henüz net olarak ortaya konulmamıştır. Önemli faktörlerin başında kadın yaşı gelmektedir ve 35 yaş üzeri kadınlarda gebelik için zaman kaybetmemek adına doğrudan YÜT'e yönelmek doğru bir yaklaşım olacaktır (Engin Üstün, 2011).

Endometriozis hücrel immünitedeki yetersizliğin endometrial hücrelerin peritoneal yüzeylere implante olmasıyla ve büyümesine izin vermesiyle de oluşabilmektedir (Özcan ve Yıldız, 2014).

Endometriozisin gelişiminde genetiğin etkisi de açıklanmıştır. Çalışmalar endometriozis hastalarının birinci derece akrabalarının %7-9'unda hastalığın teşhis edildiğini göstermiştir. Kontrol grubundaki %1-2 oranına göre ise oldukça büyük bir değerdir. Daha ileri araştırmalar HLA-B7 alelinin rolünü ortaya koymaktadır. HLA-B7 ekspresyonunun natural killer benzeri T lenfositlerin sitotoksik aktivitesini inhibe ettiği gösterilmiş olup ektopik endometrial hücrelerin gelişiminin genetik kontrol altında olabileceği kanısını da ortaya atmıştır. Endometriozisin gelişiminde anahtar rolü oynayan faktörler arasında artmış aromataz aktivitesi ile oluşan aşırı östrojen üretimi ile birlikte, siklooksijenaz-2 aktivitesindeki artış nedeniyle oluşan aşırı prostoglandin üretimi sorumludur (Özcan ve Yıldız, 2014).

Endometrioziste implant ve adezyonlar en sık overlerde görülür. Overlerdeki implantlar ilerleyip gelişerek endometrioma kistlerine dönüşür.

Endometriozis hastalarında pelvik ağrının premenstrüel dönemde ortaya çıktığı genel olarak kabul edilmiştir. Bundan dolayı endometriozisten kaynaklanan ağrının menstrüel siklus süresince oluşan östrojen progesteron stimülasyonuna bağlı olduğu düşünülmekte ve implant dokusunun da endometrium ile aynı şekilde büyüyerek kistik yapılar oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir (Özcan ve Yıldız, 2014).

Endometrioziste çeşitli otoantikörlerin varlığı söz konusudur (Gleicher vd., 1987). Endometriozis doku hasarı, poliklonal B lenfosit aktivasyonu, T lenfosit ve B lenfosit immünolojik anomallikler gibi otoimmün hastalık kriterlerini yerine getirmektedir (Nothnick, 2001).

Amerika Bileşik Devletleri'nin endometriozis derneğinin geniş çapta yaptığı kesitsel anket çalışmasına göre, endometriozisli hastalarda hipotiroidi gibi otoimmün hastalıkların oranının popülasyona kıyasla yüksek olduğu tespit edilmiştir (Sinaii vd., 2002).

1.3.3 Polikistik Over Sendromu (PKOS)

Polikistik over sendromu (PKOS) üreme çağındaki kadınlarda sık görülen menstrüel düzensizlik, infertilite, hiperandrojenizm, obezite ve insülin rezistansı ile karakterize olmuş endokrin bir bozukluktur (Du ve Li, 2013).

PKOS'lu kadınların %40-70'inde infertilite görülmektedir (Speroff ve Fritz, 2005). İnsülin rezistansı ve sonrasında gelişen hiperinsülineminin PKOS patofizyolojisindeki rolü oldukça önemlidir. Overde direk olarak bir etki yapan pitüiter bezde ise indirek etkiye sebep olan insülinin overlerden androjen üretimini stimüle ettiği gösterilmiştir (Dunaif, 1997).

PKOS'un etiyolojisi tam olarak bilinmediği için genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimleriyle ortaya çıkan bir bozukluk olduğu söylenilir. Ailesel kümelenmenin olması sebebiyle bu hastaların genetik özellikleri araştırılmış ve bu genetik faktörler reproduktif ve metabolik fenotiplerin gelişmesinde önemli bir katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Barnes ve Rosenfield, 1989). PKOS olgularındaki bir çalışma da insan lökosit antijen (HLA) Drw 6 frekansının arttığı ve 6. kromozom üzerindeki HLA-DR bölgesinin PKOS gelişimi ile ilgili olduğu gösterilmiştir (Hague vd., 1990). PKOS'da Lüteinizan hormon (LH) yüksekliği %50 oranında iken folikül uyarıcı hormon (FSH) seviyesi düşük ya da normaldir (Du ve Li, 2013).

LH aktivitesinin artışı PKOS olgularındaki overlerde granulosa ve teka hücrelerindeki LH reseptör over ekspresyonuna bağlıdır (Taylor vd., 1997). Yüksek LH seviyelerinin etkisi ile PKOS'da teka hücrelerinin aşırı sentezlenmesiyle ovaryan androjenlerde bir yükseliş görülmektedir (Selçuk, 2011).

PKOS hastalarında %50-70'lik insülin rezistansı bulunmaktır (DeUgarte vd., 2005). Hiperinsülinemi ve insülin direnci PKOS'lu kadınların kilosu normal seviyede olanlarda %30, obez olanlarda ise %75 lik bir kısmında görülür (Acien vd., 1999). İnsülin direncinin altında yatan sebep tam olarak saptanamamıştır. İnsülin reseptör sayısındaki düşüşler, insülin reseptörüne bağlı sinyal iletimindeki değişiklikler, reseptör fosforilasyonundaki bozukluklar ve post reseptör defekt insülin direncinin gelişmesinde rol oynar (Dunaif, 1997).

PKOS hastalarında hirsutizm %70 oranında görülür. Hiperandrojenemi ile birlikte genetik olarak kıl foliküllerinin artması androjen duyarlılığının varlığını gösterir. Bu bulgulara obez hastalarda daha sık karşılaşıyoruz. PKOS'lu kadınların %30'unda akne, %10'unda ise alopesi görülür (Speroff ve Marc, 2013).

Pelvik ultrasonografi (USG), PKOS hastalarında önemli olmasına karşın tanı için herhangi bir şart olarak kabul edilmemiştir (Chang ve Katz, 1999). Reprodüktif yaşta olan 257 sağlıklı kadında yapılan bir çalışmada; %23 oranında PKOS, USG tanı yöntemiyle görülmüştür (Kousta vd., 1999). Günümüzde PKOS tanısı için Rotterdam kriterleri kullanılmaktadır. Buna göre siklus bozuklukları, hiperandrojenemi ve USG' de polikistik over görünümü 3 ayrı kriter olarak değerlendirilmekte ve tanı için en az 3 kriterin 2'sinin varolması koşulu aranmaktadır.

Makroskobik olarak polikistik over, normal over büyüklüğünün 2-5 katı kadardır. Beyaz bir kapsülle çevrilidir. Aynı sayıda primordial folikül vardır, fakat gelişmiş ve atreziye uğramış foliküllerin sayısında iki kat artış görülmektedir. Küçük atrofik foliküller ile birlikte artış gösteren luteinize teka interna içeren foliküller de bulunmaktadır (Berek vd., 1996). En dışta bulunan tunikanın kalınlığı %50 oranında, kortikal stroma 1/3 oranda, subkortikal stroma ise 5 kat artış göstermiştir.

1.3.4 Zayıf Over Yanıtı (Poor responder)

YÜT gelişimine rağmen zayıf over yanıtı hastaların tanımı için hala kesin bir tanı konamamıştır. Bir hastayı poor responder olarak kabul edilmesi için Loutradis ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadaki kriterlere uygun olup olmadığına bakılır (Loutradis vd., 2006).

Bu kriterler ;

- YÜT tedavi sonrasında elde edilen oosit sayısının 3 veya daha az olması,
- YÜT tedavisinin son aşamasında insan koryonik gonadotropin (hCG) verilirken serum estradiol seviyesinin 500 ile 600 pg/ml arasında olması (Loutradis vd., 2006).

Surrey ve arkadaşlarının yaptıkları literatür tarama çalışmasında hasta tanımlanma kriterlerinin çok değişken olduğu ve aynı kriterde 4'ten fazla çalışmaya rastlanmadığı bilinmektedir (Surrey ve William, 2000).

Poor responder kriteri olarak Castro ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada oosit sayısının 3 veya daha az olması gerektiğini bulmuşlardır (Castro vd., 2003).

Bologna kriterleri olarak bilinen aşağıdaki kriterlerden iki kriterin var olması zayıf over yanıt için yeterli kabul görmüştür.

Bunlar;

- İleri maternal yaş (>40 yaş) ya da zayıf over yanıt için diğer risk faktörlerinin olması,
- Geçmiş zayıf over yanıt öyküsünün olması,
- Anormal overyan rezerv testinin olması, (Ferraretti vd., 2011).

Zayıf over yanıt prevelansı, IVF yapılan hastalarda %5-24 olarak belirlenmiştir (Loutradis vd., 2003).

2.1 Kriyoprezervasyon

Kriyoprezervasyon hücre ve dokuların çözülme işlemi sonrası kullanılmak amacıyla dondurulmasıdır. Hücreler veya dokular sıfır derecenin altında, 77 K ya da -196 °C de soğutulur. Bu derecede dondurulmasının amacı tüm biyolojik aktiviteleri ve hücre apoptozisinin durdurulmasıdır (Gosden, 1994).

Kriyoprezervasyon ilk kez 1776 da İtalya'da hayvan spermlerinin kontrollü yavaş dondurması ile gerçekleştirilmiştir. 1938 yılında bu yöntemle dondurulmuş spermlerde çözme sonrası hareketlilik tespit edilmiştir. 1947 yılında tavşan oositlerinin kriyoprezervasyonu gerçekleştirilmiştir.

Bunge ve Sherman'ın 1950 yılının başında yaptıkları çalışma ile Polge'nin insan sperm kriyoprezervasyonunda gliserol kullanımını daha çok geliştirmişlerdir. Kriyoprezervasyon yöntemi ile saklama sayesinde insan spermi çözüldükten sonra yumurtayı dölleyip bu şekilde muhafaza edilmiş ve IUI ile çok sayıda gebelik elde edilmiş ve doğum gerçekleşmiştir.

Dondurulup çözülen fare oositleriyle fertilizasyon ve oositlerle gerçekleştirilen canlı doğumlar 1977 yılında bildirilmiştir. İnsanlarda IVF sonrası dondurulup çözülmüş embriyolarla elde edilen ilk gebelik 1983 yılında gerçekleştirilmiş, 1984 yılında ise doğumla sonuçlanmıştır (Breadkjaer ve Grudzinskas, 2001). IVF sonrası elde edilen olgun oositlerin dondurulup çözülmesi ile 1986 yılında ilk kez dondurulmuş oosit ile gebelik elde edilmiştir.

Aile geçmişinde erken menapoz öyküsü, geçirilmiş yumurtalık cerrahisi, kemoterapi veya radyoterapi öyküsü olan kadınlarda fertilitenin devamı için yapılan oosit veya overyal doku kriyoprezervasyonu ile yeni ufuklar açmıştır (Farsani vd., 2007).

Günümüzde yumurta ve sperm hücreleri ile dokuların başarılı bir şekilde dondurulup saklanabilmesi YÜT gelişimi açısından büyük önem taşımaktadır (Breadkjaer ve Grudzinskas, 2001).

Kriyoprezervasyon bir dizi basamaktan oluşan bir işlemdir. Bu basamaklar kriyoprotektan maddenin tipi, konsatrasyonu, kriyoprotektanın uygulanışı, soğutma, depolama, ısıtma ve kriyoprotektanın ortamdan uzaklaştırılmasıdır (Gao vd., 1997).

Kriyoprotektan solüsyonlarının seçimi uzunca bir çalışma sonucu ortaya çıkmıştır. 1949 yılında Polge ve arkadaşları gliserolün sıgır sperm hücrelerini soğuktan koruduğunu bulmuşlardır.

Spermilerin kriyoprezervasyonu konusunda yapılan araştırmalarda, dondurma ve çözülme sırasında gliserolün spermere kriyoprotektif özellikler kazandırdığı Leibo tarafından bildirilmiştir (Leibo, 2004).

2.1.1 Kriyoprotektanlar

Kriyoprotektanlar; hücrenin dondurulmasında oluşan soğuk şokunu, intrasellüler kristal oluşumunu engelleyen ve membranı destabilizasyona karşı koruyan kimyasallardır.

Kriyoprotektanların en önemli özelliği düşük moleküler ağırlığa sahip olmaları ve toksik etkilerinin düşük oranda olmasıdır (Palasz ve Mapletopt, 1996).

Kriyoprotektan maddeler hücre membranından geçebilen (permeabl) ya da büyük molekül ağırlıklı hücre zarından geçemeyen (non-permeable) özelliktedirler. İntrasellüler kriyoprotektanlar, hücre içi su ile yer değiştirerek dehidrasyonu sağlarlar. Donma ve çözme işleminde hücre içi buz kristallerinin oluşumunu engellerler (Palasz ve Mapletoft, 1996). En az bir adet intrasellüler kriyoprotektan dondurma solüsyonlarının içerisinde bulunmalıdır (Sağırkaya ve Bağış, 2003).

Ekstrasellüler kriyoprotektanlar hücre membranındaki fosfolipidlerin stabilizasyonunu ve kontrollü dehidrasyon oluşumunu sağlarlar. Diğer kriyoprotektanlarla birlikte kullandıklarında ozmotik değişikliğe bağlı sıvı geçişinde etkili olurlar, çözme sırasında hücresel şişmeyi engelleyerek hücrede oluşabilecek zararı en aza indirmeyi hedeflerler.

Tablo 3 : Hücre membranından geçebilme özelliklerine göre kriyoprotektan çeşitleri

(Luz Holanda 2009)

İntrasellüler Kriyoprotektanlar	Ekstrasellüler Kriyoprotektanlar	
Dimetilsülfoksit (DMSO)	Makromoleküller	Sakkaritler
Gliserol	Dekstran	Glukoz
Etilen Glikol (EG)	Ficoll 70	Sükroz
Propilen Glikol (PROH)	Polivinilprolidon	Trehaloz
2,3 Bütanediol	Bovin serum albumin (BSA)	Galaktoz
Dimetilasetamid (DMA)	Mannitol	Raffinoz

Bunlara ek olarak kompleks karışımlar sınıfına giren yumurta sarısı da kriyoprezervasyonda kullanılmaktadır. Yumurta sarısında bulunan düşük yoğunluğa sahip fosfolipitler sperm yüzeyine bağlanıp hücre sel adenilat siklazı aktive ederek kriyoprotektif etki gösterirler (Holt, 2000).

İnsanlarda her evredeki embriyolar için uygulanan kriyoprotektan DMSO'dur (Trounson vd, 1983; Van der Elst, 1995). Gliserol, DMSO'ya kıyasla daha düşük bir toksisiteye sahip olsa da hücre içersine girme hızı DMSO'dan daha düşüktür. Hücre üzerindeki ozmotik stresin kontrolü zordur. Bu sebepten dolayı kriyoprezervasyon protokolü oluşturma aşamasında DMSO daha çok tercih edilmektedir.

Blastosist aşamasındaki embriyoların dondurulmasında gliserol (Camus vd., 1989), zigot ve erken bölünme dönemindeki embriyolarda PROH kullanımını daha çok tercih edilmektedir (Lassalle vd., 1985). Testart ve arkadaşları pronükleer aşamadaki zigotlar için bir kriyoprotektif etken olarak 1,2-propanediol kullanımını gerçekleştirmiştir (Testart vd., 1986).

Kriyoprezervasyona bağlı ortaya çıkan patolojiler arasında ozmotik stres, donma hasarı, buz kristallerinin etkileri ve kriyoprotektan toksisitesi yer alır (Saragusty vd., 2009).

Hücre ve dokuların dondurulması kendilerine özgü bir şekilde bazı kriterler göz önüne alınarak gerçekleştirilir. Bu kriterler hücre hacmi, hücre yüzey alanı, hücre içi su volümü, hücrenin ozmotik toleransı, hipertonic ve hipotonik solüsyonlara yanıtı, hücre membran permeabilitesi, kullanılacak hücre kriyoprotektan solüsyonunun seçimi, hücre içi buz kristallerinin oluştuğu sıcaklık olarak özetlenebilir.

Kriyoprezervasyon 4 ana basamağa ayrılmıştır.

- Doku ve hücrelerin 0°C'nin altındaki sıcaklıklarda kriyoprotektan (KPA) içerisinde tutularak soğutulması.
- -130°C'nin altında örneklerin korunup saklanması
- Çözme işlemi
- KPA'ların uzaklaştırılması (Mazur, 2004)

2.2 Kriyoprezervasyon Yöntemleri

Dondurmada kullanılan yöntemler; klasik yavaş dondurma (slow-freezing), hızlı dondurma (rapid-freezing) ve vitrifikasyon olmak üzere 3 ana gruba ayrılır.

2.2.1 Klasik Yavaş Dondurma Yöntemi (Slow Freezing)

Yavaş dondurma yönteminde daha az konsantrasyonda kriyoprotektanlar kullanılarak bilgisayar destekli bir program yardımıyla sıcaklığı kademeli olarak düşürülmesi prensibine dayalı bir yöntemdir. Bilgisayar programı ile hücre içi buz kristali oluşumu, dokunun dışında buz kristali oluşturularak önlenir.

Klasik yavaş dondurma yöntemi sırasıyla şu aşamalardan oluşmaktadır:

- Dondurulacak olan embriyoların oda ısısında, artan konsantrasyonlarda intrasellüler kriyoprotektanlar ile osmotik dengesinin sağlanması
- Soğuk şok hasarını azaltmak için kristalizasyon şekillenmeden buz kristallerinin oluşumunun -5°C ile -7°C arasında indüklenerek kontrollü olarak başlatılması.
- Yavaş dondurma cihazı soğutma hızını ve oranını $0,2 - 2,0^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ olacak şekilde ayarlayıp kontrollü bir şekilde -30 ile -70°C 'ler arasındaki sıcaklıklara kadar yavaş ve kademeli soğutmanın gerçekleştirilmesi aşaması.
- Hücrelerin yüklü oldukları payetlerin direkt olarak sıvı azota -196°C daldırılması ve saklanması aşaması.

Su kaybetmelerinin nedeni, ekstrasellüler ortamın hiperozmotikliği ve hücre zarının kriyoprotektana göre suya daha geçirgen olmasından kaynaklanmaktadır. Hücre dışına su çıkışı ve hücre içine kriyoprotektan girişi dengeye ulaştığı an, hücrenin büzülmesi son bulur. Yavaş dondurma tekniğinin kullanılmasıyla hücrenin biyolojik yapısında iki tip hasar oluşma riski vardır. Bunlar;

- Soğutmanın hızlı yapılmasına bağlı olarak oluşan hücre içersindeki buz oluşumu,
- Soğutma çok yavaş yapıldığında medyumdaki buz kristallerinin oluşuma bağlı ortaya çıkan eriyik konsantrasyonun artmasıdır (Gao ve Critser, 2000).

Çözündürme işlemi için embriyoları içeren strawlar sıvı nitrojen tankından çıkartılır ve rehidrasyonun sağlanması için 15-20 dk azalan konsantrasyondaki kriyoprotektanlardan geçirilerek yıkanır.

2.2.2 Hızlı Dondurma (Rapid Freezing)

Hızlı dondurma, yüksek donma hızlarının (dk da yaklaşık $1200-1250^{\circ}\text{C}$) uygulanmasından önce hücrelerin dehidre edildiği dondurma işlemi tanımlamak için kullanılır.

İlk olarak Trounson ve Sjoblom tarafından uygulanan bu yöntemde embriyolar 2-3 dk $2.0-3.0$ molar DMSO ve $0.25-0.5$ M sükröz içeren dondurma solüsyonu içinde dengelendikten sonra sıvı nitrojen içerisine daldırılır (Trounson ve Sjoblom, 1988).

Bu yöntemle yüksek oranda canlılık ve gebelikler elde edilmiştir (Gardner vd., 1999; Gardner, 2003). Ancak gebelik elde edilmesine rağmen, canlı doğum oranının düşük olmasına karşın bu yöntemin rutin kullanımını engellemektedir.

2.2.3 Vitrifikasyon

Vitrifikasyon; düşük sıcaklıklarda hücrelerin, dokuların ve organların tamamen vitroz ya da camsı bir durumun yaratılarak dondurulmasını ifade eder. Vitrifikasyon yavaş dehidratasyon ortamı yerine çok yüksek ozmolarite ortamının kullanıldığı bir yöntemdir. Bu yöntemin en önemli özelliği, buz kristali oluşumunun tamamen yok edilmesidir (Sutton, 1991).

Vitrifikasyon solüsyonları, yüksek konsantrasyondaki kriyoprotektanların hücreler üzerindeki zararlı etkilerini en aza indirmek için permeable ve non-permeable özellikte iki veya daha fazla kriyoprotektanın birlikte kullanılmasıyla geliştirilmiştir (Vajta vd., 1997). Vitrifikasyon solüsyonlarında ilk kullanılan kriyoprotektanlar DMSO ve gliserol'dür. İlerleyen zamanlarda düşük toksisiteli olmalarından dolayı bu kriyoprotektanlar yerine 1.2-propanediol, propilen glikol ve EG kullanımı tercih edilmektedir (Shaw vd., 1991).

Vitrifikasyon yöntemi ile uygulanan soğutma hızı kriyoprotektan solüsyonunun miktarıyla ters orantılıdır. Kriyoprotektan solüsyonunun miktarı ne kadar az ise soğutma oranı da o kadar hızlı olur (Chian vd., 2004). Bu nedenle embriyoda oluşabilecek osmotik hasarın önlenmesi için kriyoprotektanların yüksek konsantrasyonda kullanılmasına, vitrifikasyon işleminin çok hızlı davranılmasına ve soğutma ısılarının artırılmasına dikkat edilmektedir (Yavin vd., 2009).

Başarılı bir vitrifikasyon için,

- İyi permeabilite özelliklerine sahip düşük toksisiteli kriyoprotektanların kullanımını,
- Kriyoprotektanların uygun miktarda ortama ilavesini,
- Hücre dondurma işleminin düşük sıcaklıklarda yapılmasını,
- Hücrede oluşacak yapı yıkımlarını engellemek için ortam düzenleyicilerinin kullanılmasını gerektirmektedir (Kasai, 1996).

Embriyolarda vitrifikasyon tekniği ilk olarak 0.25'lik strawlar ile yapılmıştır. İlerleyen yıllarda yapılan işlemlerde embriyoların vitrikasyonu ısıtılarak çekilmiş pipetlerde, naylon

halkalarda, open pulled payetlerde, kriyoloop ya da kriyotop adı verilen farklı embriyo taşıyıcılarında gerçekleşmiştir (Saragusty, 2011).

2.2.3.1 Sperm Kriyoprezervasyonu

Sperm hücreleri dondurulduktan sonra uzun yıllar saklanabilir ve istenildiği anda kolayca çözülerek YÜT'de kullanılabilir.

Kriyoprezervasyon YÜT'de önemli bir yer tutmaktadır. Sperm kriyoprezervasyonun amaçlarını aşağıdaki maddeler halinde sıralayabiliriz.

- Sperm parametreleri normal olup; kemoterapi, radyoterapi görecekt hastaların örneklerinin alınıp saklanması,
- Spermatogenezi inhibe edebilecek ilaçların kullanım öncesinde ejakülattan sperm alınıp saklanması,
- Testis veya prostat cerrahisi öncesinde ejakülattan sperm alınıp saklanması,
- Obstrüktif azospermik hastalarda şüphelenilen ve yardımcı üreme tekniklerinde kullanılması planlanan hastalarda öncesinde testisinhistopatolojisi hakkında bilgi sahibi olunması, eşi hazırlanmamış olan nonobstrüktif azospermik hastalarda testiküler sperm ekstraksiyon (TESE) ile bulunan spermelerin saklanması.
- Azoospermik hastalarda başarılı veya başarısız bir işlem sonrasında arzu edilen gebeliklerde cerrahi işlemleri tekrarlamamak için alınan örneğin saklanması,
- Prepubertal dönemde malignensi nedeniyle kemoterapi ya da radyoterapi,
- YÜT planlanan hastanın psikolojik faktörler gibi sebepler ile işlem günü örnek alındığında problem yaşandığı düşünülüyorsa önceden örnek alınıp saklanması, (Tuncel, 2013).

Kriyoprezervasyon işlemi sırasında spermde hasarlanmalar ortaya çıkabilir. Sperm motilitesi ve sperm-oosit füzyon kapasitesi azalabilir ve plazma membranı lipid peroksidasyonuna bağlanarak fertilizasyonu azaltabilir. Tüm bunların nedeni serbest oksijen radikallerinin üretiminin artmasıdır (De Lamirande vd., 1997).

Kriyoprezervasyon sırasında bakteriyel, viral veya mantar enfeksiyonları görülebilir (De Lamirande vd., 1997). Sperm dondurma işleminin sperm motilitesi ve canlılığı üzerine olumsuz etkisi olabilir.

Bunun önüne geçilmek için bazı araştırmacılar kültür ortamına koruyucu olarak katalaz, askorbik asit, E vitamini gibi oksidanların eklenmesini önerirler (Askari vd., 1994).

Değişik oluşturma evrelerindeki spermere spesifik kriyoprezervasyonlar yapılabilir. Sperm testisten çıktıktan sonra plazma membran, lipid ve proteinlerinde fiziksel ve kimyasal değişiklikler gerçekleşir. Farklı maturasyon evresindeki spermere farklı kriyobiyojik özellikler gösterirler ve farklı dondurma çözme yöntemleri gerekli görülmektedir. Ejakülat spermının dondurma ve çözme sensitivitesi epididimal sperm ve testiküler sperm dondurma ve çözme sensitivitesinden daha yüksektir (De Lamirande vd., 1997).

Dondurma ve çözme işleminde sperm fertilizasyon kapasitesini azaltan boyun kırıkları, akrozomal ve plazma membranlarında şişme ve parçalanma görülebilir (Askari vd., 1994; Verheyen vd., 1997).

2.2.3.2 Oosit Kriyoprezervasyonu

Olgun bir oosit, memelilerdeki en büyük hücrelerdendir. Farede yaklaşık 70 µm, insan ve inek 120 µm çapındadır. Omurgalıların çoğunda oositler ovulasyona yakın bir süreçte 2.mayoz bölünmelerini geçirirler ve fertilizasyona kadar mayotik süreç durur. Bu evrede kromozomlar konsandadır ve iğ iplikleri metafaz plağı üzerine yerleşmiş haldedirler. İnsan oositlerinin kriyoprezervasyonu embriyo donduruma işlemine alternatif olarak; doğabilecek etik sorunların çözümü için geliştirilmiştir. Buna ilaveten pelvik hastalıklar, prematür over yetmezliği, ameliyat ve kemoterapi / radyoterapi uygulamaları nedeniyle üreme kapasitesini kaybetme riski olan kadınlarda tek çözüm olarak önerilmektedir (Porcu, 2001).

Kriyoprezervasyonun kromozomal yapıya zarar verebileceği konusundaki şüpheli yaklaşımlar ve buna bağlı olarak ortaya çıkabilecek genetik anomalilerin bir sonraki kuşağa aktarılabilmesi riskinden dolayı bu yöntem bazı ülkelerde henüz yasallaştırılmamıştır. Yapılan bazı çalışmalar oosite ait sitoplazmik özelliklerin içerisinde bulunmuş olduğu nükleer fazın ve korona kumulus kompleksinin (CCC) yapısal özelliklerinin başarıyı etkileyebileceğini göstermiştir (Chen, 1986).

Oositlerin kumulus ooforus ile birlikte dondurulup dondurulmayacağı konusundaki karara henüz varılamamıştır, yapılan araştırmaların sonuçları da çelişkili bulunmuştur.

Yapılan ilk çalışmalarda kumulus hücrelerinin varlığının olmaması halinde kriyoprotektanların oosit sitoplazmasına daha kolay penetre olduğu savunulmuş ve ilk

gebelikler kumulus içermeyen oositlerin kriyoprezervasyonu ile elde edilmiştir (Chen 1986; Van Uem vd., 1987).

İmmatür oosit kriyoprezervasyonu ile ilgili birçok yayın bulunmaktadır fakat başarı oranları düşüktür (Cha vd., 1991; Tucker vd, 1998; Kan vd; 2004). Bu yüzden de son zamanlardaki çalışmalar metafaz II (MII) oosit kriyoprezervasyonuna daha çok odaklanmıştır.

2.2.3.3 Zigot Dondurma

Pronükleus aşamasındaki oositler PROH ve sükröz kullanarak dondurulur. Pronükleus aşamasında başarıyı belirleyen en önemli faktör; kriyoprezervasyonun yapıldığı dönemdeki pronükleus gelişim evresidir. Zigotların inseminasyonundan 20-22 saat sonra dondurulduğunda en yüksek canlılık oranlarının elde edildiği belirtilmiştir (Avery vd., 1995).

Kattera ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada IVF ve ICSI sonrası embriyolar bölünme aşamasında dondurulmuş daha yüksek canlılık ve gebelik oranları bildirilmiştir (Kattera vd., 1999). Bazı çalışmalar ise pronükleus aşamasında dondurulmuş olan embriyolarla, bölünen embriyolara göre daha yüksek implantasyon oranları bulmuşlardır (Fugger vd., 1991).

2.2.3.4 Blastosist Dondurma

Blastosist aşamasındaki embriyonun erken bölünme aşamasındaki bir embriyoya göre daha fazla sayıda hücre içermesi sebebiyle, çözme sonrasında bazı blastomerlerin canlılığını kaybetmesi durumunda bile canlılığını yüksek düzeyde koruyabildiği belirtilmiştir. İnsanlarda blastosist dondurma işlemi ilk kez Cohen tarafından gerçekleştirilmiştir (Cohen vd., 1985). Bu çalışmada kriyoprotektan olarak %10'luk gliserol ve 10 aşamadan oluşan bir kriyoprezervasyon protokolü kullanılmış olup %52 canlılık oranı ile transfer edilen blastosist başına %35 implantasyon oranı elde edilmiştir. Daha geniş bir olgu serisini içerisine alan bu çalışmada dondurulup çözülmüş olan blastosistlerle %9 canlı doğum oranı elde edilebilmiştir (Hartshorne, 1991).

İlerleyen yıllarda kültür ortamını yetersizliğinden dolayı embriyoların blastosiste gitme değerleri %25'in üzerine çıkamadığı için bu yönteme bir süre ara verilmiştir.

Daha sonra blastosist gelişiminde Vero-cell ko-kültürlerinin kullanılması ile bu oran %50-60 lara çıkmış (Menezo, 1992) ve daha pratik dondurma yöntemleriyle iki aşamalı kriyoprezervasyon protokolü ile %9'luk gliserol ve 0.2M'lık sükroz solüsyonu kullanılarak %80'in üzerinde canlılık ve %10 canlı doğum gerçekleştirilmiştir (Menezo ve Ben Khalifa, 1995; Menezo ve Veiga, 1997). Günümüzde blastosist dondurulması için daha sıklıkla vitrifikasyon yöntemi kullanılmaktadır.

Embriyo kriyoprezervasyonunun en temel amacı taze embriyoların transfer edildiği sıklusta, hastaya ikinci bir gebelik şansı verilmesidir. IVF siklusuna giren tüm hasta popülasyonun %5'ini oluşturan; uyarıya iyi cevap verip çok sayıda iyi kalitede embriyo üretebilen hasta grubunda doğum oranları %8 artış göstermektedir (Mandelbaum, 1995).

Benzer bir çalışmada, embriyo dondurma prosedürünün ekstra %25-50 gebelik şansı sağladığı belirtilmiştir (Wang vd., 2001).

Ayrıca embriyo kriyoprezervasyonu taze siklusun iptal edilerek şiddetli ovaryan hiperstimulasyonun önlenmesini sağlayabilir (Balaban, 2008). Ayrıca son çalışmalarda daha fizyolojik bir ortam sağladığı için DET sikluslarının taze embriyo transfer sikluslarına göre daha iyi gebelikler elde edildiği dahi bildirilmiştir (Roque vd., 2013).

Günümüzde embriyo kriyoprezervasyonun hangi gelişim evresinde yapılması gerektiği tartışmalı konular arasındadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar incelendiğinde klasik yavaş dondurma yöntemi ile yapılan 1657 çözme siklusunda 4006 embriyo incelenmiş ve 1586 (%95.7) hastaya embriyo transferi gerçekleştirilmiştir. Embriyoları çözdükten sonra en yüksek canlılık oranları sıra ile zigot, 2. gün ve 3. gün embriyolarda bulunmuştur (Salumets, 2003).

2. GEREÇ VE YÖNTEM

Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulunca 13.06.2017 tarih ve 2017/6-4 sayılı etik kurul raporu ile onaylanan çalışmada, 2007-2017 yılları arasında endometriozis, polikistik over, zayıf over yanıt, tubal faktör, açıklanamayan infertilite ve erkek faktör sebebiyle Ota-Jinemed Hastanesi IVF Merkezine başvuran infertil hastaların DET sonuçları ele alınmıştır. Çalışmaya 40 yaş altında, normal uterin kavitesi olan ve başka sistemik hastalığı olmayan kadınlar dahil edilmiştir.

Gruplara hCG verilerek 35-36 saat sonra oositler toplanmış, MII aşamasında olan oositler ile en iyi kalitedeki spermier seçilerek ICSI işlemi uygulanıp, oluşmuş olan fazla embriyolar dondurulmuştur. Taze embriyoların transfer edildiği siklusta gebe kalamayan çiftlerde, dondurulan embriyolar çözüldükten sonra transfer edilmiştir. Gebelik oranları kayıt altına alınmıştır.

Yapılan bu çalışmada retrospektif olarak değerlendirme yapılırken kadın-erkek yaşı, FSH seviyesi, toplam yumurta sayısı, MII sayısı, fertilizasyon oranı, dondurulan embriyo sayısı, çözme sonrası canlılık oranları, transfer edilen embriyo sayısı ve klinik gebelik oranları incelenmiştir. Bu parametreler farklı endikasyon gruplarında karşılaştırılmıştır.

Hastaların eşlerinden 3 günlük ideal cinsel perhiz sonrası mastürbasyon yöntemiyle alınmış olan numuneler steril ve ağız geniş bir kaptan toplanıp 37°C'de 20 dk likefaksiyon süresinin dolmasını bekledikten sonra semen analizleri yapılmıştır. İlk önce makroskopik daha sonra mikroskopik değerlendirme gerçekleştirilmiştir. Semen mikroskopik değerlendirilmesinde; görünüm, hacim, likefaksiyon, viskozite ve pH yönünden değerlendirilmeler yapılmıştır. Mikroskopik değerlendirilmesinde; sperm sayısı, hareketliliği ve morfolojisine Makler Sayma Kamarasında bakılmıştır ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) laboratuvar kılavuzuna göre değerlendirilme yapılmıştır. Sperm morfolojisi Kruger kriterlerince değerlendirilmiştir. Daha sonra ICSI işlemi için en iyi kalitedeki spermier seçilip çalışılmıştır.

Kısa süreli anestezi altında tutulan hastalardan folikül aspirasyonu ile toplanılan oositleri mikroenjeksiyon işlemi için uygun duruma getirebilmek için çevrelerindeki CCC'den arındırılması gerçekleştirilmiştir.

Çevrelerindeki kumulus hücrelerinin temizlenmesi enzimatik ve mekanik yöntemlerin kombinasyonu ile stereo mikroskop altında gerçekleştirilmiştir.

Bu işlem hyalüronidaz enzimi (Hyase 10x, Vitrolife) kullanılarak yapılmıştır ve daha sonra içerisine önceden ısıtılmış G-Mops eklenmiştir. 2-3 saatlik inkübasyondan sonra inverted mikroskopta bakılıp kutup cisimciği ve ooplazması düzgün olan oositler, MII oosit olarak değerlendirilip ICSI işlemi için uygun konuma getirilmişlerdir.

Enjeksiyon kabı özel derinliği olan falcon kültür kabı (1006 tipi) çıplak oositler için kullanılır. Her biri 5µl olacak şekilde HEPES tamponlu kültür sıvısı ile hazırlanan dokuz ufak damlacık, 3x3 şeklinde ve kare bir alan oluşturacak şekilde hazırlanır. İlave olarak koyulan 10. damlacık uyum sağlama için kullanılır. Ortadaki damlacık %10 polivinilpirolidon (PVP) içerir ve sperm buraya konur. Her bir oosite bir sperm enjekte edilerek mikroinjeksiyon işlemi gerçekleştirilir.

ICSI den önce oositlerin morfolojik özellikleri de değerlendirilmiş, morfolojik defekti olanlar (örn. oositin amorf şekilde olması, inklüzyonlar, vakuolizasyon, sitoplazmanın koyu ve granüler olması, zona pellusidanın rengi ve yapısındaki değişiklik) ICSI işlemine alınmamıştır.

ICSI işleminden bir gün sonra (16-20 saat) inverted mikroskobu altında fertilizasyon kontrolü gerçekleştirilmiştir. Oositlerin pronukleus sayılarına, boyutlarına ve polar-kutup cisimcik sayılarına bakılmıştır. Oositlerin sitoplazmalarında 2 pronukleus ve 2 polar cisimcik görülmesi fertilizasyonun göstergesidir. Fertilizasyon gösteren oositler yeni medium içerisine konulup uygun şartlarda inkübatörde bekletilmiştir. Transfer işlemi için 3.gün embriyolar tercih edilmiştir.

Embriyo vitrifikasyon işlemi Kitazato ve arkadaşlarının tarif ettiği şekilde uygulanmıştır. Buna göre dondurma işleminde embriyoyu en az 20 dk önce laminar akım kabinde oda sıcaklığına gelmesi beklenir (25-27°C). 6'lı kuyucuğun ilk kuyucuğuna 300 µl denge solüsyonundan konur ikinci ve üçüncü kuyucuklara da 300 µl dondurma solüsyonu konur. Embriyolar 10-15 dakika denge solüsyonuna bırakılıp beklenir. Daha sonra embriyolar ikinci kuyucuğa alınıp 30 saniye beklenip aspire edilir ve üçüncü kuyucuğa alınıp 20 saniye de burada aspire edilir. Kriyotopun içerisine embriyolar yerleştirilip, nitrojen ile dolu kaptaki kriyotopu bir kaç saniyelikliğine sağa sola sallayıp sabitlenir ve -196 dereceli azot tankına embriyolar yerleştirilip muhafaza edilir.

Embriyoyu çözerken ise çözme solüsyonlarını ve 4 gözlü kültür kabını 37°C'de en az 90 dk önce hazır bulundurmak gereklidir. İlk aşamada 4'lü kültür kabında 300 µl çözme solüsyonunu 37°C'ye getirilir ve 30 dk beklenir.

Daha sonra ilk kuyucuğun 300 µl dilüsyon solüsyonumuzu koyup 3 dk beklenir. İkinci ve üçüncü kuyucuğa ise 300 µl yıkama solüsyonu konur. İkinci yıkama solüsyonunda 5 dk, üçüncü yıkama solüsyonunda ise 1 dk beklenir.

DET için hazırlanan hastalar adetın 3. günü çağrıldı ve günde 6 mg estradiol hemihidrat başlandı ve endometrium kalınlığı en az 7 mm olana kadar kullanıldı. Daha sonra progesteron vaginal gel (Crinone 90 mg) başlandı ve kullanıma başlanmasının 4. Günü embriyo transferi gerçekleştirildi.

3. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu retrospektif çalışmaya infertiliteye neden olan endometriozis, polikistik over sendromu, zayıf over yanıt, tubal faktör, açıklanamayan infertilite ve erkek faktörü verileri katılmıştır.

Çalışmaya dahil edilen toplam 258 hastanın; 27'si endometriozis (%10.4), 43'ü polikistik over sendromu (%16.6), 38'i zayıf over yanıt (%14.7), 35'i tubal faktörlüdür (%13.5), 39'u açıklanamayan infertilite hastaları (%15.1) ve 76'sı erkek faktörlü çiftlerdir (%29.4). Çalışmamızdaki 6 farklı grubun 5 tanesini kadın faktörü oluştururken 1 tanesini erkek faktörü oluşturmaktadır.

Tablo 4'te hastaların endikasyonlara göre dağılımı görülmektedir. Ayrıca grupların ortalama erkek yaşı, kadın yaşı ve kadın FSH düzeyleri de belirtilmiştir. Bu parametrelere göre gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Sadece zayıf over yanıtı olan kadınlarda toplanan oosit ve MII sayısı diğer gruplara göre daha düşüktür. Çalışmada gruplar arasında fertilizasyon oranları, dondurulan embriyo sayısı, çözme sonrası canlılık ve transfer edilen embriyo sayısı açısından da bir farklılık görülmemiştir.

Tablo 4: Farklı endikasyonlar ile demografik özellikler ve DET sonuçları

	Endometriozis (n=27)	Polikistik Over (n=43)	Zayıf Over Yanıt (n=38)	Tubal Faktör (n=35)	Açıklanama yan İnfertilite (n=39)	Erkek Faktör (n=76)	P değeri
Erkek Yaşı	35 ± 4.2	34.7 ± 2.8	36.3 ± 5.9	34.1±1.3	32.9±3.7	31.4±0.9	0,212
Kadın Yaşı	32±2.7	31.7±1.3	38.9±5.2	35.7±2.2	34.5±1.3	32.3±1.2	0,365
FSH	8.4±5.0	3.7±1.2	11.6±4.1	8.3±2.7	7.4±2.3	4.9±1.3	0.271
Toplam oosit sayısı	7.4±1.2	9.3±1.9	*3.1±0.7	7.8±1.1	6.3±2.7	7.4±2.3	0.025
Metafaz II	5.3±1.1	7.3±1.3	*2.8±0.5	5.3±0.9	4.9±2.1	6.7±1.3	0,03
Fertilizasyon Oranı	%76	%83	%81	%79	%77	%78	0,421
Dondurulan embriyo sayısı	1.9±0.8	2.3±0.7	1.1±0.3	2.1±0.7	2.2±0.8	4.9±1.1	0.531

Çözme sonrası canlılık oranı	%82.5	%80.9	%77.4	%73.7	%81.2	%79.4	0.746
Transfer edilen embriyo sayısı	1.2±0.1	1.1±0.2	1.3±0.7	1.9±0.3	1.7±0.2	1.8±0.3	0.624
Klinik gebelik oranı	8(29.6)	13(30.2)	11(28.9)	12(34.2)	11(28.2)	22(28.9)	0.714

* Toplanan yumurta ve MII sayıları diğer gruplara göre anlamlı olarak daha düşüktür.

Çiftlerde taze sikluskdaki ovülasyon indüksiyonu ile toplanan yumurta sayıları, MII sayıları, fertilizasyon oranı ve dondurulan embriyo sayıları aşağıdaki gibidir: Endometriozis için toplam yumurta sayısı 7.4±1.2, MII sayısı 5.3±1.1 , fertilizasyon oranı %76, dondurulan embriyo sayısı 1.9±0.8; polikistik over sendromlu hastalar için toplam yumurta sayısı 2.3±0.7, metafaz II sayısı 7.3±1.3, fertilizasyon oranı %83 ve dondurulan embriyo sayısı 2.3±0.7; zayıf over yanıtı hastalar için toplam yumurta sayısı 3.1±0.7 , MII sayısı 2.8±0.5, fertilizasyon oranı %81, dondurulan embriyo sayısı 1.1±0.3; tubal faktörlü hastalarda toplam yumurta sayısı 7.8±1.1 , MII sayısı 5.3±0.9, fertilizasyon oranı %79 ve dondurulan embriyo sayısı 2.1±0.7; açıklanamayan infertilite hastaları için toplam yumurta sayısı 6.3±2.7, MII sayısı 4.9±2.1, fertilizasyon oranı %77 ve dondurulan embriyo sayısı 2.2±0.8 ve erkek faktör için toplam yumurta sayısı 7.4±2.3, metafaz II sayısı 6.7±1.3, fertilizasyon oranı %78 ve dondurulan embriyo sayısı 4.9±1.1 'dir.

Dondurulmuş embriyoların çözüldükten sonraki canlılık oranları endometriozisli hasta grubumuz için %82,5; polikistik over sendromlu hasta grubumuz için %80,9; zayıf over yanıtı hasta grubumuz için %77,4; tubal faktörlü hasta grubumuz için %73,7; açıklanamayan infertilite hasta grubumuz için %81,2; erkek faktör grubumuz için ise %79,4'dür.

Bu çiftlerin 3 ay ile 2 yıl içinde uygulamaya katıldıkları dondurulmuş embriyo transferi sikluslarında ortalama transfer edilen embriyo sayıları da endometriozis için 1.2 ± 0.1 ; polikistik over için 1.1 ± 0.2 ; zayıf over yanıt için 1.3 ± 0.7 ; tubal faktör için 1.9 ± 0.3 ; açıklanamayan infertilite için 1.7 ± 0.2 ve erkek faktörü için de 1.8 ± 0.3 'dür.

DET ile klinik gebelik oranları incelendiğinde endometriozis hastaları için %29.6 (8/27), polikistik over sendromlu hastalar için %30.2 (13/43), zayıf over yanıtı hastalar için %28.9 (11/38), tubal faktör hastaları için %34.2 (12/35), açıklanamayan infertilite hastaları için %28.2 (11/39) ve erkek faktörü için %28.9 (22/76) gibidir. Gruplar arasında klinik gebelik oranları açısından istatistiksel bir fark saptanmamıştır.

DET sikluslarının daha optimal mikroçevre ve reseptivite sağlamalarından dolayı, taze siklusa göre daha yüksek gebelik oranları elde edilebileceği iddia edilmiştir. Taze sikluslarda gerçekleşen birtakım değişikliklerin, endometriyum olumsuz etkileyerek implantasyonu bozduğu, plasentasyonda defekt meydana getirerek embriyo-endometriyum diyalogunu bozduğu ileri sürülmektedir (Ubaldi vd., 1997; Junovich vd., 2015; Weinerma ve Mainigi, 2014). Konu hakkında yapılan güncel bir meta-analizin sonucuna göre, dondurulmuş embriyo transferi siklusları ile klinik ve devam eden gebelikler, taze siklusa oranla daha yüksek bildirilmiştir (RR: 1,3 %95 CI: 1,1-1,5) (Roque vd., 2013).

Bizim çalışmamızda ortalama gebelik oranları; endometriozis hastaları için %29.6, polikistik over sendromlu hastalar için %30.2, zayıf over yanıtı hastalar için %28.9, tubal faktör hastaları için %34.2, açıklanamayan infertilite hastaları için %28.2 ve erkek faktörü için %28.9 gibidir. Literatürde farklı endikasyonlarla DET karşılaştıran sınırlı sayıda yayın mevcuttur (Vaz vd., 2017). Bu yayında DET sonuçları endometriozisi olan ve olmayan hasta gruplarında karşılaştırılmış ve fark bulunmamıştır.

DET sikluslarının bir diğer kullanım alanı zayıf over rezervli olguların ardışık sikluslarda stimule edilmeleriyle elde edilmiş olan embriyoların havuzlanmasıdır. Bu yöntem ile elde edilen embriyoların daha sonra çözülerek transfer edilmeleri ile neredeyse normal yanıtı olgular kadar gebelik oranlarının olduğu bildirilmektedir (Cobo vd., 2012).

Embriyo dondurmanın negatif etkileriyle ilgili de yayınlar mevcuttur. Örneğin; epigenetik değişiklikler, DNA hasarı, kromozom anomalileri, iç iplikçik deformasyonları (Wong vd., 2014). Ancak çalışmamızda elde ettiğimiz embriyoların çözülme sonrası yüksek canlılık oranları ve taze siklusa benzer gebelik oranları nedeniyle vitrifikasyonun zararlı etkileri gözlenmemiştir.

Genelde olgun oositlerin embriyolara göre dondurma ve çözme işlemlerine daha duyarlı olduğu ve daha çok hasar gördüğü bildirilmiştir.

Bunun sebebinin kullanılan kriyoprotektan ve düşük ısının oositin iç iplikçığıne zarar vermesi olduğu ileri sürülmüştür (Friedler vd., 1988). Çalışmamızda dondurulmuş oositler kullanılmadığı için, embriyo ile oositin dondurma işleminde duyarlılığı arasındaki fark hakkında yorum yapamamaktayız.

Embriyo üzerine yavaş dondurma ve vitrifikasyon yöntemlerinin etkileri de karşılaştırılmıştır. Zhang ve ark. vitrifikasyon yönteminin yavaş dondurma yöntemine kıyasla embriyo üzerinde daha az hasara sebebiyet verdiğini ve bu yöntemin daha çok tercih edilmesi gerektiğini ileri sürmüşlerdir (Zhang vd., 2015). Loutradi ve ark. araştırmasına göre vitrifikasyon yönteminin yavaş dondurma yöntemine göre canlılık oranını, klivaj aşamasındaki embriyolarda 15.5 kat, blastosist aşamasındaki embriyolarda 2.2 kat arttırmıştır (Loutradi vd., 2008; Rama Raju vd., 2005; Kuwayama vd., 2005, Huang vd., 2005). AbdelHafez ve ark. yaptığı çalışmada vitrifikasyonun yavaş dondurma yöntemine kıyasla; canlılık oranını, klinik gebelik oranını, devam eden gebelik ve implantasyon oranlarını istatistiksel olarak yükselttiğini göstermişlerdir (AbdelHafez vd., 2010; Van den Abbeel vd., 1997; Li vd., 2014).

Sonuçlar, vitrifikasyon yönteminin yavaş dondurma yöntemine göre daha etkili olduğunu, hayatta kalma oranının daha yüksek olduğunu, hücresel hacmi ve iç iplikçığıne daha hızlı kurtarıp iyileştirdiğini göstermektedir (Ciotti vd., 2009; Martinez vd., 2011; Chen vd., 2009).

Yaklaşık 30.000 olgunun ele alındığı kohort çalışmanın sonuçlarına göre, vitrifikasyon yöntemi ile blastosist transferi işleminin yavaş dondurma yöntemine göre daha fazla canlı doğum oranları rapor edilmiştir (RR: 1,4 %95 CI:1,34-1,49) (Li vd., 2014).

Çalışmamızda literatüre uyumlu olarak 3. gün embriyolarda vitrifikasyon yöntemi uygulanmış yavaş dondurma tekniği kullanılmamıştır.

Yapılan araştırmalar doğrultusunda vitrifikasyon yöntemi ile dondurulan embriyolarda anomali artışı saptanmamıştır. Yalnızca dondurma işlemi yapılırken kullanılan kriyoprotektanlarda uzun süre bekletilen embriyoların, solüsyonlardaki zararlı etkiye maruz kalabilecekleri belirtilmiştir (Loutradi vd., 2008; Smith vd., 2004).

Endometriozisin implantasyon ve gebelik oranları üzerine etkisini araştıran bir çalışmada, derin endometriozisli hastalara uygulanan DET ile diğer infertilite nedenleriyle DET uygulanan hastaların sonuçlarıyla karşılaştırıldığında istatistiksel bir farklılık bulunmamıştır (Vaz vd., 2017).

Bizim çalışmamızdaki sonuçlarda bu çalışmayı destekler niteliktedir, endometriyozisli gruptaki DET ile gebelik oranları diğer endikasyon gruplarından farklı çıkmamıştır.

Embriyolar oosit aspirasyonundan sonra 3. gün ya da 5. gün dondurulabilir. Yapılan araştırmalara göre döllenen sonraki 5-6 gün içinde embriyolar laboratuvar ortamında gelişimine devam ederken, düşük kalite embriyoların çoğu elenmekte ve gelişimini sürdürmemektedir. Bu nedenle teorik olarak döllenen sonrası 5-6. güne kadar yaşayabilen embriyoların kaliteli olma yüzdesi 2-3. güne kadar yaşayanlara kıyasla daha yüksektir. Blastosist evresine erişebilen embriyoların dondurulup sonrasında transfer edilmesi daha iyi gebelik oranları sağlayabilir (Aksoy ve ark.2017). Ancak çalışmamızda homojenliği sağlamak amacıyla biz sadece 3. gün dondurulmuş embriyoları çalışmamıza dahil ettik.

4. SONUÇ ve ÖNERİLER

DET sikluslarında klinik gebelik oranları değişik endikasyonlarda farklılık göstermemektedir. Ovulasyon indüksiyonu sonrası fazla embriyosu olan çiftlerin embriyoları dondurulmalı ve sonraki sikluslarda kullanılmalıdır. Üreme tıbbı ile uğraşan klinikler özellikle vitrifikasyon yapabilmelidir.

KAYNAKLAR

- AbdelHafez, FF., Desai, N., Abou-Setta, AM., Falcone, T., Goldfarb, J., (2010), "Slow freezing, vitrification and ultra-rapid freezing of human embryos: a systematic review and meta-analysis", *Reprod Biomed Online*, 20, 209-22.
- Acien, P., Ouereda, F., Matallin, P., et al., (1999), "İnsulin, androgens, and obesity in women with and without polycystic ovary syndrome: a heterogeneous group of disorders", *Fertil Steril*, 72, 32-40.
- Aksoy, S., (2017), <http://www.tupbebek.com/makaleler/tup-bebek/embriyo-transferi-kacinci-gunde-yapilmalidir>.
- Askari, HA., Check, JH., Peymer, N., Bollendorf, A., (1994), "Effect of natural antioxydants tocopherol and ascorbic acids in maintenance of sperm activity during freez thaw process", *Arch Androl*, 33, 11-15.
- Avery, S., Marcus, S., Macnamee, M., Brinsden, P., (1995), "Does the length of the storage time affect the outcome of frozen embryo replacement?", *J Assist Reprod Genet*, 12: 67S.
- Balaban, B., (2008), "Kriyoprezervasyon", "İn vitro fertilizasyon (IVF) laboratuvar yöntemleri", Delilbaşı, L., Ankara:Güneş Tıp Kitapevleri.
- Barbieri, RL., (2004), "Female infertility", "Reproductive endocrinology", Editör: Strauss, FJ., Barbieri, RL., Pennsylvania:Elsevier.
- Barnes, R., Rosenfield, RL., (1989), "The Polycystic Ovary Syndrome: Pathogenesis and Treatment", *Ann Intern Med*, 110, 386-399.
- Berek, J., Adashi, EY., Hillard P., (1996), "Treatment Approaches in Ectopic Pregnancy Cases", "Chapter 25", *Novak's Gynecology*, 837.
- Camus, M., Van den Abbeel, E., Waesberghe, LV., Wisanto, A., Devroey, P., Van Steirteghem, AC., (1989), " Human embryo viability after freezing with dimethylsulfoxide as acryoprorectant", *Fertil Steril*, 51, 460-465.
- Castro, F., Ruiz, R., Montoro, L., Perez, D., Sanchez, E., Real, L., Ruiz, A.. (2003), " Role of follicle-stimulating hormone receptor Ser680Asn polymorphisms in the efficacy of follicle-stimulating hormone", *Fertil Steril*, 80, 571-6.

- Cha, KW., Koo, JJ., Ko, JJ., Choi, DH., Han, SE., Yoon, TK., (1991), "Pregnancy after in vitro fertilization of human follicular oocytes collected from nonstimulated cycles, their culture in vitro and their transfer in a donor oocyte program", *Fertil and Steril*, 109-113.
- Chang, RJ., Katz SE., (1999), "Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome", *Endocrinol Metab Clin North Am*, 28, 397-407.
- Chen, C., (1986), "Pregnancy after human oocyte cryopreservation", *Lancet*, 1, 884-886.
- Chen, SU., Yang YS., (2009), "Slow freezing or vitrification of oocytes: their effects on survival and meiotic spindles and the time schedule for clinical practise", *Taiwan J Obstet Gynecol*, 48, 15-22.
- Chian, RC., Kuwayama, M., Tan, L., et al. (2004), "High survival rate of Bovin oocytes matured in vitro following vitrification. *Journal of Reproduction and Development*", 50, 685-696.
- Ciotti, PM., Porcu, E., Notarangelo, L., Magrini, O., Bazzocchi, A., Venturoli, S., (2009), "Meiotic spindle recovery is faster in vitrification of human oocytes compared to slow freezing", *Fertil Steril*, 91, 2399-407.
- Cobo, A., Garrido, N., Crespo, J., Jose, R., Pellicer, A., (2012), "Accumulation of oocytes: a new strategy for managing low-responder patients", *Reprod Biomed Online*, 24, 424-32.
- Cohen, J., Simons, RF, edwards Rg, Fehilly, CB, Fishel, CB., (1985), " Pregnancies following the frozen storage of expanding human blastocysts ", *J In Vitro Fertil*, 2, 59-64.
- Cooper, TG., (2010), "The WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm–cervical mucus interaction", "WHO Laboratory manual for the examination and processing of human semen", 5th.Edition.
- De Lamirande, E., Jiang, H., Zini, A., Kodama, H., et al., (1997), "Reactive oxygen species and sperm physiology ", *Rev Reprod.*, 2(1), 48-54.
- DeUgarte, C. M., Bartolucci, A. A. & Azziz, (2005), "R. Prevalence of insulin resistance in the polycystic ovary syndrome using the homeostasis model assessment", *Fertil Steril*, 83, 1454– 1460.

- DeUgarte, C. M., Bartolucci, A. A. & Azziz, (2005), “R. Prevalence of insulin resistance in the polycystic ovary syndrome using the homeostasis model assessment”, *Fertil Steril*, 83, 1454– 1460.
- Du, D., Li, X., (2013), “The relationship between thyroiditis and polycystic ovary syndrome: a meta-analysis”, *Int J Clin Exp Med*, 6(10), 880-889.
- Dunaif, A., (1997), “Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanisms and implication for pathogenesis”, *Endocrine Review*, 18, 774-800.
- Dunaif, A., (1997), “Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanisms and implication for pathogenesis”, *Endocrine Review*, 18, 774-800.
- 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.
- Engin Üstün, Y., (2011), “İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi”, “Yardımcı Üreme Teknikleri Temel Klinik ve Embriyolojik Uygulamalar ”, Editör: Çelik, Ö., Adana: Nobel Kitabevi.
- Eskenazi, B., Warner, ML., (1997), “Epidemiology of endometriosis”, *Obstet Gynecol Clin North Am*, 24, 235-58.
- Farsani, SK., Mahmoudi, R., Abdolvahhabi, MA., Abbasi, M., Malek, F., Sobhani, A., (2007), “Comparing the viability and in vitro maturation of cumulus germinal vesicle break down (GVBD) oocyte complexes using two vitrification techniques in mice”, *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 5, 165-170.
- Ferraretti, AP., La Marca, A., Fauser, BC., Tarlatzis, B., Nargund, G., Gianaroli, L., et al., (2011), “ESHRE consensus on the definition of ‘poor response’ to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria”, *Hum Reprod*, 26(7), 1616-24.
- Fıçıcıoğlu, C., Yeşiladalı, M., (2014), “İnfertilite”, “Güncel Obstetrik ve Jinekoloji Tanı ve Tedavi”, Editör: Tıraş, M., Demir, S., Ankara: Güneş Tıp Evleri.
- Friedler, S., Giudice, LC., Lamb, EJ., (1988), “Cryopreservation of embryos and ova”, *Fertil Steril*, 49: 473-64.
- Fugger, EF., Bustillo M., Dorfmann, AD., Schulman, JD., (1991), “ Human preimplantation embryo cryopreservation: selected aspect ”, *Hum Reprod*, 6:131-5.

- Gao, D., Critser, JK., (2000), "Mechanisms of cryoinjury in living cells", *Ilar J.*, 41(4) 87-196.
- Gao, DY., Mazur, P., Cristser, JK., (1997), "Fundamental cryobiology of mammalian spermatozoa", *Scientific principles*, San Diego, Calif. Acad, 263-328.
- Gardner, D., Lane, (2003), "Culture of mammalian preimplantation embryo in", "A laboratory Guide to the Mammalian Embryo", Gardner, D., Editor: Lane, M., and Watson, A., New York: Oxford University.
- Gardner, D., Lane, M., ND, Johnson, J., (1999), "Reduced oxygen tension increases blastocyst development, differentiation and viability", *Fertil Steril*, 72: 30-31.
- George, QV., Alessandra, VE., Maria Cecilia, AC., Paulo G., Maria CE., Marco Aurelio, PO., (2017), "Frozen embryo transfer cycles in women with deep endometriosis", *Gynecological Endocrinology*, 1-4.
- George, QV., Alessandra, Viviane, E., Maria Cecilia, AC., Paulo, G., Maria, CE., Marco Aurelio, PO., (2017), "Frozen embryo transfer cycles in women with deep endometriosis", *Gynecological Endocrinology*, 1-4
- Gleicher, N., El-Roeiy, A., Confino, E., Friberg, J., (1987), "Is endometriosis an autoimmune disease?", *Obstet Gynecol*, 70, 115-122.
- Gosden, R.G., et al., (1994), "Restoration of fertility to oophorectomized sheep by ovarian autografts stored at -196 degrees", *C. Hum Reprod*, 9(4), 597-603.
- Hague, WM., Adams, J., Algar, V., et al., (1990), "HLA associations in patients with polycystic ovaries and in patients with congenital adrenal hyperplasia caused by 21-hydroxylase deficiency", *J Clin Endocrinol*, 32, 407-415.
- Hartshorne, GM., Elder, K., Crow, J., Dyson, H., Edwards, RG., (1991), "The influence of in vitro development upon post-thaw survival and implantation of cryopreserved human blastocysts", *Hum Reprod*, 6, 136-41.
- Hatasaka, H., (2011), "New Perspectives for Unexplained Infertility", *Clinical Obstetrics and Gynecology*, 54, 727-33.
- HE., Breadkjaer, JGT Grudzinkas, (2001), "Cryobiology in Assisted Reproductive Technology. Would Hippocrates approve? Early Pregnancy", *Biology and Medicine*, vol:5, No:3, 211-213.

- Holt, WT., (2000), “ Fundamental aspects of sperm cryobiology: the importance of species and individual differences”, *Theriogenology*, 53(1), 47-58.
- Huang, CC., Lee, TH., Chen, SU., Cheng, TC., Liu, CH, et al., (2005), “Successful pregnancy following blastocyst cryopreservation using super-cooling ultra-rapid vitrification”, *Hum Reprod*, 20, 122-8.
- 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.
- Kan, A., Kilani, S., Tilia, L., Mitchell, F., Burns, K., Chapman, M., (2004), “ Pregnancy from intracytoplasmic injection of a frozen-thawed oocyte ”, *The Australian & New Zealand Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 44, 262–263.
- Kasai, M., (1996), “Simple and efficient methods for vitrification of mammalian embryos”, *Anim Reprod Sci.*, 42, 67-75.
- Kousta, E., White, DM., Cela, E., et al., (1999), “The prevalence of polycystic ovaries in women with infertility ”, *Human Reproduction*, 14, 2720-2723.
- Kruger, TF., Menkveld, R., Stander, FS., Lombard, CJ., Van der Merwe, JP., van Zyl, JA., et al., (1986), “Sperm morphological features as a prognostic factor in in vitro fertilization”, *Fertil Steril*, 46, 1118-23.
- Kuwayama, M., Vajta, G., Ieda, S., Kato, O., (2005), “Comparison of open and closed methods for vitrification of human embryos and elimination of potential contamination”, *Reprod Biomed Online*, 11, 608-14.
- Lassalle, B., Testart, J., Renard, JP., (1985), “ Human embryo features that influence the success of cryopreservation with the use of 1,2-propanediol”, *Fertil Steril*, 44, 645-651.
- Leibo, SP., (2004), “The early history of gamete cryobiology. In: Fuller, BJ., Lane, N., Benson, EE., eds, “ Life in the Frozen State. Boca Raton: CRC Press, 347-370.
- Li, Z., Wang, YA., Ledger, W., Edgar, DH., Sullivan, EA., (2014), “Clinical outcomes following cryopreservation of blastocysts by vitrification or slow freezing: a population-based cohort study”, *Hum Reprod*, 29, 2794-801.

- Loutradi, KE., Kolibianakis, EM., Venetis CA, Papanikolaou EG, Pados G., Bontis, I., et al., (2008), “Cryopreservation of human embryos by vitrification or slow freezing: a systematic review and meta-analysis”, *Fertil Steril*, 90, 186-93.
- Loutradis, D., Patsoula, E., Minas, V., Koussidis, G., Antsaklis, A., Michalas, S., (2006), “FSH receptor gene polymorphisms have a role for different ovarian response to stimulation in patients entering IVF/ICSI-ET programs”, *Jou Assist Repro Gene*, 23, 177-84.
- Loutradis, D., Drakakis, P., Milingos, S., Stefanidis, K., Michalas, S., (2003), “Alternative approaches in the management of poor response in controlled ovarian hyperstimulation (COH)”, *Ann N Y Acad Science*, 997, 112-9.
- Luz, MR., Holanda, CC., Pereira, JJ., et al., (2009), “Survival rate and in vitro development of in vivo-produced and cryopreserved dog embryos”, *Reproduction, Fertility, and Development*, 22, 208–209.
- Mandelbaum, J.,(1995), “Embryo freezing in humans: an overview”, in: hedon, B., Bringer, J., Mares, P., *Fertility and Sterility- a current overview*, proceedings of the 15th World Congress on Fertil Steril, 419-23.
- Maroulis, GB., (1991), “Effect of aging on fertility and pregnancy”, *Seminars Reprod Endocrinol*, 9, 165-75.
- Martinez Burgos, M., Herrero, L., Megias D., Salvanes, R., Montoya MC., Cobo, AC., et al., (2011), “Vitrification versus slow freezing of oocytes: effects on morphologic appearance, meiotic spindle configuration and DNA damage”, *Fertil Steril*, 95, 374-7.
- Mazur, P., (1984), “Freezing of living cells: mechanisms and implications. *Am. J.*, C125-42.
- Menezo, JY., Ben Khalifa, M., (1995), “Cytogenetic and cryobiology of human cocultured embryos: a 3 year experience”, *J Asisst Repd Genet*, 12, 35-40.
- Menezo, Y., Nicollet, B., Herbaut, N., Andre D., (1992), “Freezing cocultured human blastocysts”, *Fertil Steril*, 58, 977-80.
- Menezo, Y., Veiga, A., (1997), “Cryopreservation of blastocysts”, 10th World Congress on In-Vitro Fertilization and Assisted Reproduction, Bologna: Monduzzi, 49-53.

- 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.
- Navot, D., Rosenwaks, Z., Margalioth, EJ., (1987), “Prognostic assessment of female fecundity”, *Lancet* ii: 645.
- Nothnick, WB., (2001), “Treating endometriosis as an autoimmune disease”, *Fertil Steril*, 76: 223-231.
- 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.
- Özcan, P., Yıldız, Ş., (2014), “Endometriosis”, “Güncel Obstetrik ve Jinekoloji Tanı ve Tedavi”, Editör: Tıraş, M., Demir, S., Ankara: Güneş Tıp Evleri.
- Palasz, AT., Mapletoft, RJ., (1996), “Cryopreservation of mammalian embryos and oocytes: Recent advances”, *Biotechnol. Adv.*, 14, 127-149.
- Porcu, E., (2001), “Oocyte Freezing”, *Semin Reprod. Med*; 19(3), 221-230.
- Preutthipan, S., Linasmita, V., (2003), “A prospective comparative study between hysterosalpingography and hysteroscopy in detection of intrauterine pathology in patients with infertility”, *J Obstet Gynaecol Res*, 29, 33-37.
- Rama Raju, GA., Haranath, GB., Krishna, KM., Prakash, GJ., Madan, K., (2005), “Vitrification of human 8- cell embryos, a modified protocol for better pregnancy rates”, *Reprod Biomed Online*, 11, 434-7.
- Roque, M., Lattes K, Serra S, Sola I, Geber S, Carreras R, et al., (2013), “Fresh embryo transfer versus frozen embryo transfer in in vitro fertilization cycles: a systematic review and meta-analysis”, *Fertil Steril*, 99, 156-62.
- Sağırkaya, H., Bağış, H., (2003), “Memeli Embriyoların Kriyoprezervasyonu”, *Uludag Univ. J. Fac. Vet. Med.*, 22, 121-129.
- Salumets, A., Tuuri, T., Makinen, S., (2003), “Effect of developmental stage of embryo at freezing on pregnancy outcome of frozen-thawed embryo transfer”, *Hum Reprod*, 18(9), 1890-1895.

- Saragusty, J., Arav, A., (2011), “Current progress in oocyte and embryo cryopreservation by slow freezing and vitrification”, *Reproduction*, 141, 1–19.
- Saragusty, J., Gacitua, H., Rozenboim, I., Arav, A., (2009), “ Do physical forces contribute to cryodamage ? ”, *Biotechnology and Bioengineering*, 104 (4), 719–728.
- Selçuk, S., “Polikistik Over Sendromu Olan Olgularla Sadece Sonografik Polikistik Overi Olan Olguların Art Sonuçlarının Karşılaştırılması”, (2011), *Uzmanlık Tezi*, Zeynep Kamil Kadın ve Çocuk Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği.
- Shaw, JM., Kola, I., MacFarlane, DR., Trounson, AO., (1991), “An association between chromosomal abnormalities in rapidly frozen 2-cell mouse embryos and the ice-forming properties of the cryoprotective solution”, *J Reprod Fertil*, 91, 9–18.
- Sinaii, N., Cleary, SD., Ballweg, ML., Nieman, LK., Stratton, P., (2002), “High rates of autoimmune and endocrine disorders, fibromyalgia, chronic fatigue syndrome and atopic diseases among women with endometriosis: a survey analysis”, *Hum Reprod*, 17, 2715-2724.
- Smith, GD., Silva, E., Silva, CA., (2004), “Developmental consequences of cryopreservation of mammalian oocytes and embryos”, *Reprod BioMed Online*, 9, 171-8.
- Smith, S., Pfeifer, SM., Collins, JA., (2003), “Diagnosis and management of female infertility”, *JAMA*, 290(13), 1767-70.
- Speroff, L., (2011), “Female Infertility”, “Clinical gynecologic endocrinology and Infertility”, Editör: Williams&Wilkins, 1185-1189.
- Speroff, L., Fritz, MA., (2005), “Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility”, Williams & Wilkins, Philadelphia: Lippincott.
- Speroff, L., Fritz, MA., (2013), “Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility”, Williams&Wilkins, Baltimore. Eighth Edition, 495-533.
- Surrey, E., William, B., (2000), “Evaluating strategies for improving ovarian response of the poor responder undergoing assisted reproductive techniques”, *Fertil Steril*, 73, 667-76.

- Sutton RL, (1991), "Critical cooling rates to avoid ice crystallization in solutions of Cryoprotective", *Journal of the Chemical Society*,87, 101-105.
- Taylor, AE., McCourt, B., Martin, KA., et al., (1997), "Determinants of abnormal gonadotropin secretion in clinically defined women with polycystic ovary syndrome", *J Clin Endocrinol Metab.*, 82, 2248.
- Testart, J., Lassalle, B., Belaisch-Allart, J., et al, (1986), " High pregnancy rate after early human embriyo freezing ", *Fertil Steril*, 46, 268-272.
- Trounson, A., Mohr, L., (1983), "Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight cell embryo", *Nature*, 305, 707-9.
- Trounson, AO., Sjoblom, P., (1988), "Cleavage and development of human embryos in vitro, after ultrarapid freezing and thawing", *Fertil Steril*, 50, 373-6.
- Tucker, MJ., Morton, PC., Wright, G., Sweitzer, CL., Massey, JB., (1998), "Clinical application of human egg criyopreservation ", *Human Reproduction*, 13, 3156–3159.
- Tuncel, T., "Normospermili kişilerde sperm kriyoprezervasyonu öncesi ve sonrası spermatozoada annexin ve testi ile apoptozisin değerlendirilmesi", (2013), *Yüksek Lisans*, Necmettin Erbakan Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji ABD.
- Vajta, G., Booth, PJ., Holm, P., Greve, T., Callesen, H., (1997), "Successful vitrification of early stage bovine in vitro produced embryos with the open pulled straw (OPS) method", *Cryo-Letters*, 18, 191–195.
- Van den Abbeel, E., Camus, M., Van Waesberghe, L., Devroey, P., Van Steirteghem, AC., (1997), "A randomized comparison of the cryopreservation of one-cell human embryos with a slow controlled- rate cooling procedure or a rapid cooling procedure by direct plunging into liquid nitrogen", *Hum Reprod*, 12, 257-61.
- Van der Elst, J., Camus, M., Van den Abbeel, E., Maes, R., Devroey, P., Van Steirteghem, AC., (1995), "Prospective randomized study on the cryopreservation of human embryos with dimethylsulfoxide or 1,2-propanediol protocols", *Fertil Steril*, 63, 92-100.
- Van Uem, JFHM., Siebzehnruhle, ER., Schun, B., et al.,(1987), "Birth after cryopreservation of unfertilized oocytes", *Lancet*, 752-3.

- Vaz, GQ., Alessandra, Evangelista, AV., Almeida Cardoso, MC., Gallo, P., Erthal, MC., Pinho Oliveira, MA ., (2017), “Frozen embryo transfer cycles in women with deep endometriosis”, *Gynecological Endocrinology*, 1-4.
- Verheyen, G., Nagy, Z., Joris, H., De Croo, I., Tournaye, H., Van Steirteghem, A., (1997), “Quality of frozen-thawed testicular sperm and its preclinical use for intracytoplasmic sperm injection into in vitromatured germinal-vesicle stage oocytes”, *Fertil*, 67(1), 74-80.
- Wallach, EE., (1972), “The uterine factor in infertility”, *Fertil Steril*, 23, 138-158.
- Wang, JX., Yap, YY., Matthews CD., (2001), “Frozen thawed embriyo transfer:influence of clinical factors on implantation rate and risk of multiple conception ”, *Hum Reprod*, 16(11), 2316-9.
- Wong, KM., Van Wely, M., Van der Veen, F., Repping, S., Mastenbroek, S., (2014), “Fresh versus frozen embryo transfers for assisted reproduction”, *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 3-8.
- Yavin, S., Aroyo, A., Roth, Z., Arav, A., (2009), “Embryo cryopreservation in the presence of low concentration of vitrification solution with sealed pulled straws in liquid nitrogen slush”, *Human Reproduction*, 24, 797–804.
- Yumru, AE., Öndeş B., (2011), “İnfertilite ve IVF’e Hasta Seçimi”, *Jarem*, 1, 57-60.
- Zhang, M., He, X., Zhao, G., Huang, H., Yue, T., Choi, JK., (2015), “The crucial role of zona pellucida in cryopreservation of oocytes by vitrification”, *Cryobiology*, 350-355.
- 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.



ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Büşra Kağıtlı

İletişim Bilgileri

Adres : Yalçın korej cad. Bağlar mah. No:14 Sur Yapı Corridor Residence

E blok D 13 Bağcılar/İstanbul

Telefon: 05545734292

Mail: bsr_kagitli@hotmail.com

Doğum Tarihi : 06.09.1992

Derece	Alan	Üniversite	Yıl
Lisans	Biyoloji (ing)	Abant İzzet Baysal Üniversitesi	2015
Yüksek Lisans	Klinik Embriyoloji	Biruni Üniversitesi	2017
Doktora			

Proje: Tubitak Hücre kültürü laboratuvarı, Lipoteikoik Asitin Kalsiyum-Silikat İçerikli Simanlar ile İnaktivasyonunun Dental Pulpa Kök Hücrelerinde Hücre Ölüm Mekanizmalarına Etkisi (Mart 2016)

Staj: Amerikan Hastanesi (Mart-mayıs 2016)

Brüksel Tüp Bebek Merkezi (Mart 2017-agustos 2017)







