

T.C.

Maltepe Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**AÇIKLANAMAYAN İNFERTİLİTE OLGULARINDA IVF
VE ICSI SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

Ayşenur AVCI

Klinik Embriyoloji Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İSTANBUL

2018

T.C.

Maltepe Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**AÇIKLANAMAYAN İNFERTİLİTE OLGULARINDA IVF
VE ICSI SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

Ayşenur AVCI

Klinik Embriyoloji Programı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Mehmet CINCIK

İSTANBUL

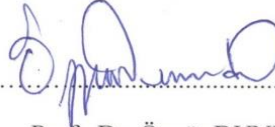
2018

T.C. Maltepe Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

22.02.2018 tarihinde tezinin savunmasını yapan Ayşenur AVCI' ya ait "Açıklanamayan intertilite olgularında IVF ve ICSI sonuçlarının karşılaştırılması." başlıklı çalışma, Jürimiz tarafından Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı, Klinik Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programında Yüksek Lisans Tezi Olarak **Oy Birliği/Oy Çokluğuyla** Kabul Edilmiştir.



Prof. Dr. Mehmet CINCIK
(Başkan)
(Danışman)



Prof. Dr. Özgür DUNDAR
(Üye)



Prof. Dr. Ümit ÖZEKİCİ
(Üye)

YEMİN METNİ

28/02/2018

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum "AÇIKLANAMAYAN İNFERTİLİTE OLGULARINDA İVİ VE İCSI SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI" adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar olan bütün süreçlerinde bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurulmaksızın tarafımda yazıldığını ve yararlandığım bütün eserlerin "Kaynakça"da gösterilenlerden oluştuğunu, "Kaynakça"da yer alan bu eserlerden metin içinde atıf yaparak yararlanmış olduğumu belirtir ve onurumla doğrularım.

Öğrenci Numarası: 161503101
Adı-Soyadı : AYŞENUR AVCI
İmza



ÖZET

AÇIKLANAMAYAN İNFERTİLİTE OLGULARINDA IVF VE ICSI SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

ÜYTE alanında dünyada yaygın olarak uygulanan iki yöntem, konvansiyonel IVF ve ICSI'dir. Ancak günümüzde ICSI, erkek faktörü tanısı dışında da liberal şekilde kullanımı artmış ve eleştiri konusu haline gelmiştir. Hatta kullanım oranının yüksekliği ülkemizde Avrupa verileri ile kıyaslandığında inanılmaz düzeydedir. Bu tezin amacı, ülkemizde şu ana kadar bu iki yöntemi kıyaslayan bir çalışma olmaması nedeniyle somut veriler ortaya koyarak, uygulayıcılara yol gösterecek bir kılavuz oluşturulmasına katkıda bulunmaktır. Gelecek ÜYTE Merkezi'ne başvuran ve ÜYTE programına alınan hastaların dosyaları retrospektif olarak incelenip "açıklanamayan infertilite" olguları çalışmaya dahil edilmiştir. Kadın yaşı >42, OPU günü elde edilen KOK sayısı <6, öyküde daha önceki ÜYTE denemesinde total fertilizasyon yokluğu olan ve herhangi bir endikasyonla embriyo transferinin yapılmayarak tüm embriyoların dondurulduğu hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. OPU'dan 2 saat sonra KOK'lar rassal olarak iki gruba ayrılmıştır. Birinci grup KOK'lar konvansiyonel IVF yöntemine tabi tutulurken, ikinci gruptakilere ICSI tekniği ile işlem yapılmıştır. Birincil sonuç değişkenleri olarak implantasyon hızı, klinik gebelik hızı ve abortus hızı belirlenmiştir. IVF-ET (n=38) ve ICSI-ET (n=49) gruplarında demografik değişkenler, over rezervi, stimülasyon karakteristikleri, laboratuvar parametreleri ve klinik sonuç değişkenleri kıyaslandığında anlamlı fark saptanmamıştır. Fertilizasyon hızı ICSI grubunda anlamlı şekilde daha yüksekti ($p<0,05$). IVF-ET ve ICSI-ET grupları arasındaki implantasyon hızları kıyaslandığında da aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($P>0,05$).

Sonuç olarak konvansiyonel IVF tekniği, ÜYTE endikasyonu olan "açıklanamayan infertilite" tanısı almış infertil çiftlerde; maliyet etkinliği, uygulama kolaylığı, zaman kazandırması nedeniyle tercih edilebilir. Klinik gebelik hızı ve abortus hızının ICSI ile benzer olmasının yanısıra, doğan bebeklerin kısa ve özellikle uzun vadede karşılaşma olasılıkları olan epigenetik değişiklik, genomik imprinting gibi risklerin de göz önüne alınması uygulanacak tekniği seçerken hem klinisyen hem de embriyolog tarafından dikkate alınmalıdır.

Anahtar kelimeler: İn vitro fertilizasyon, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu, açıklanamayan infertilite

ABSTRACT

COMPARISON OF IVF AND ICSI OUTCOME IN UNEXPLAINED INFERTILITY CASES

Two currently available techniques available throughout the World are conventional IVF and ICSI. The extended use of ICSI in non-male factor infertility cases has been scrutinized. Rate of ICSI in all ART cycles is at an incredible level in our country compared to Europe. Since there is not any publication from Turkey so far comparing this two ART techniques, we aimed to reveal concrete data and contribute in establishment of a guide for the practitioners. The medical records of the patients presenting Gelecek IVF Center with the complaint of difficulty in childbearing between were reviewed and couples with a diagnosis of unexplained infertility were included in the study. Exclusion criteria were: woman age>42, number of COCs<6 on day of OPU, history of total fertilization failure and patients for whom freezing all embriyos was done for any indication. Two hours after OPU, the COCs were randomly divided in two groups. The first group of COCs were enrolled in IVF procedure while the COCs in the second group underwent denudation and were performed ICSI. Main outcome parameters were fertilization rates, clinical pregnancy rates, implantation rates and miscarriage rates. Demographic variables, ovarian reserve, stimulation characteristics, laboratory parameters and clinical outcome variables were all similar between IVF-ET (n=38) and ICSI-ET (n=49) groups. Fertilization rate was statistically significantly higher in ICSI group (<0,05). Comparison of implantation rates between the two groups did not show significant difference (>0,05).

In conclusion, being a low cost, easy to perform, time saving technique, conventional IVF should be the choice of technique for patients diagnosed with unexplained infertility. In addition to providing comparable clinical pregnancy rate and abortion rate, the potentially higher risk of epigenetic changes and imprinting disorders should be concerned by the clinicians and the embriyologists while choosing the ART technique.

Key words: In vitro fertilization, intracytoplasmic sperm injection, unexplained infertility

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimime başladığım günden itibaren bilgisini ve değerli görüşlerini paylaşan, eğitimim boyunca ve tez çalışmamda planlanma, projelendirilme ve sonuçlarının değerlendirilmesinde önemli katkıda bulunan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Mehmet Cıncık'a,

Yüksek lisans öğrenimime başlamam için bana cesaret veren, tezimin gerçekleşmesi için her türlü imkan ve desteği sağlayan, Sayın Doç. Dr. Mete Işıkoğlu'na,

Tez projemin tüm aşamalarında deneyimini esirgemeyerek bilgi ve yönlendirmeleriyle bana destek olan sevgili çalışma arkadaşım, fikirlerine önem verdiğim, değerli büyüğüm Sayın Embriyolog Dr. Ayşe Kendirci Çeviren'e,

Çalışmamın dizayn, planlanma aşamasında ve istatistiksel analiz sürecini gerçekleştirebilmemi sağlayan Prof. Dr. Can Deniz Köksal'a içtenlikle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iv
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiv
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1 İnfertilite	4
2.2 Etiyoloji	6
2.3 ÜYTE	8
3. GEREÇ VE YÖNTEM	13
4. BULGULAR	30
5. TARTIŞMA	32
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	38
EKLER	39
KAYNAKLAR	40

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AFS	:	Antral follikül sayımı
Alpha	:	Üreme tıbbında çalışan bilim insanları tarafından 1994 yılında kurulmuş olan kar-amaçsız forum. 1997 yılında İngiltere’de “kamu yararına çalışan örgüt” statüsü almıştır
ASRM	:	American Society for Reproductive Medicine
BKİ	:	Beden kitle indeksi
CGH	:	Comparative genomic hybridization, karşılaştırmalı genomik hibridizasyon
CO₂	:	Karbondioksit
E₂	:	Estradiol
EIM	:	European IVF Monitoring Consortium
ESHRE	:	European Society of Human Reproduction and Embryology
ET	:	Embriyo transferi
FSH	:	Follicle stimulating hormone, Follikül uyarıcı hormon
GIFT	:	Gamet Intrafallopian Transfer
GV	:	Germinal vezikül, immatür oosit
hCG	:	Human Chorionic Gonadotropin
ICMART	:	The International Committee Monitoring Assisted Reproductive Technologies
ICSI	:	Intracytoplasmic Sperm Injection, İntra Stoplazmik Sperm Enjeksiyonu
IVA	:	In vitro activation, in vitro aktivasyon
IVF	:	In Vitro Fertilizasyon
KOK	:	Kumulus oosit kompleksi
LH	:	Luteinizing hormone, Luteinleştirici hormon
MI	:	Metafaz I

MII	:	Metafaz II
NGS	:	Next generation sequencing, yeni nesil dizileme
OAT	:	Oligoastenoteratozoospermi
OPU	:	Oocyte pick-up, Yumurta toplama
PB	:	Polar body, Polar cisimcik
PGD	:	Preimplantasyon Genetik Tanı
PKOS	:	Polikistik Over Sendromu
PN	:	Pronukleus
SUZI	:	Subzonal Sperm Injection, subzonal sperm enjeksiyonu
TESA	:	Testiküler Sperm Aspirasyonu
TESE	:	Testiküler Sperm Ekstraksiyonu
TFF	:	Total Fertilization Failure, Toplam Fertilizasyon Yokluğu
ÜYTE	:	Üremeye Yardımcı Tedavi
ZIFT	:	Zygote Intrafallopian Transfer

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa
Şekil 2.1.1.	Korunma yöntemi uygulamaksızın geçen aylar içerisinde gebeliğin olabileme olasılığı (%).	4
Şekil 2.1.2.	Kadın yaşına göre gebelik olma olasılığındaki değişim	5
Şekil 2.1.3.	İnfertilite prevalansı	6
Şekil 2.2.1	Etiyolojik nedenlere göre infertilitenin sınıflanması	7
Şekil 2.3.1	Doğal gebelikte ovülasyon, fertilizasyon ve implantasyon süreci	9
Şekil 2.3.2	ESHRE EIM verilerine göre Avrupa ülkelerinde yıllara göre IVF ve ICSI tekniklerinin tüm ÜYTE uygulamaları içindeki oranları	11
Şekil 2.3.3	ESHRE EIM verilerine göre IVF ve ICSI uygulamalarında gebelik hızları	12
Şekil 3.1	Semen analizi formu, incelenen değişkenler ve referans aralıkları ve sınırları	14
Şekil 3.2	Anamnez formu	15
Şekil 3.3	Değerlendirme testleri	15
Şekil 3.4	Transvaginal ultrasonografi eşliğinde OPU işlemi	17
Şekil 3.5	OPU işlemi sırasında kullanılan aspiratör ve ısıtıcı blok	17
Şekil 3.6	Embriyoloji laboratuvarı	18
Şekil 3.7	Laminar flow kabin	18
Şekil 3.8	İnkübatörler	19
Şekil 3.9	Androloji laboratuvarı	19
Şekil 3.10	Santrifüj öncesi gradient	20
Şekil 3.11	Santrifüj sonrası gradient	20
Şekil 3.12	Konvansiyonel IVF	21

Şekil 3.13	Oosit denüstasyon kabı	21
Şekil 3.14	Normal ve anormal oositler	22
Şekil 3.15	Mikromanüplatör	23
Şekil 3.16	ICSI kabı	23
Şekil 3.17	ICSI (intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu) işleminin basamakları	25
Şekil 3.18	Normal ve anormal fertilizasyon örnekleri	26
Şekil 3.19	OPU sonrası ikinci gün embriyoların kalitelerine göre sınıflaması	27
Şekil 3.20	OPU sonrası üçüncü gün embriyoların kalitelerine göre sınıflaması	27
Şekil 3.21	OPU sonrası 5. gün embriyo değerlendirmesi	28
Şekil 5.1	Açıklanamayan infertilite olgularında tedavi algoritması	32

TABLolar DİZİNİ

Tablo		Sayfa
Tablo 4.1	Demografik veriler	30
Tablo 4.2	Stimülasyon karakteristikleri	30
Tablo 4.3	Laboratuvar ve klinik sonuç parametreleri	30
Tablo 5.1	ICMART verilerine göre 2010 yılında dünyada yaklaşık IVF/ICSI uygulama oranları	33
Tablo 5.2	ICSI ve IVF tekniklerinin birbirlerine üstünlükleri	35

1. GİRİŞ

Sağlıklı doğuma ulaşan ilk başarılı üremeye yardımcı tedavi (ÜYTE) denemesinin İngiltere'den 26 Temmuz 1978 tarihinde dünyaya duyurulmasının üzerinden yaklaşık 40 yıl geçmiştir **(1)**. Başlangıç döneminde kısıtlı başarı oranları için yoğun emek ve sabır gerektiren ÜYTE denemelerinde, oositlerin toplanması için laparoskopi kurulumununun gerekmesi, kullanılan kültür ortamlarının kullanıcılar tarafından hazırlanma zorunluluğu ve sosyal olarak da halk ve profesyonel camia tarafından temkinli yaklaşım ve hatta tepkilerin görülmesi gibi pek çok zorluklarla mücadele gerekmiştir. Uzun, meşakkatli ve sabır gerektiren çabalar sonrasında zaman içerisinde, dondurulmuş embriyolarla ÜYTE tedavilerinin uygulamaya girmesi, gamet hücrelerinin dondurulması, dondurma tekniklerinde vitrifikasyon gibi dramatik başarı farkı sağlayan teknik ilerlemenin olması, mediumların artık endüstriyel bir şekilde müstahsar olarak üretilmeye başlanması, oosit toplama işleminin vaginal yoldan ve çok pratik bir şekilde aspiratörler ile yapılmaya başlanması ve kamuoyunun da ÜYTE hakkında daha bilgili ve bilinçli hale gelmesi gibi olumlu değişiklikler ve ilerlemeler olmuştur.

Günümüze kadar, gerek tıbbi/teknik, gerek psikososyal ve gerekse hukuki yönden daima gündemde olan üremeye yardımcı tedavilerde, süreç içinde sürekli bir değişim ve gelişim gözlenmiş olsa da tartışmalı olan konuların sayısı da bir hayli fazladır. Bu tartışmalı konularda kimi zaman yeni kullanıma giren ilaç ve gereçlerle tedavinin daha konforlu ve güvenli hale gelmesi sağlanmış, kimi zaman da yasa koyucular veya profesyonel derneklerin kılavuzlarına koşut olarak uygulamalarda değişiklikler olagelmıştır.

İlk başarılı ÜYTE uygulamasında fertilizasyon aşaması konvansiyonel in vitro fertilizasyon (IVF) tekniği kullanılarak gerçekleştirilmiş, yıllar içerisinde gamet intrafallopian transfer (GIFT), zygote intrafallopian transfer (ZIFT) ve subzonal sperm injection (SUZI) teknikleri kullanılmış ve 1992 yılında da Belçika Serbest Brüksel Üniversitesinden Dr. Palermo ve arkadaşları tarafından bildirilen intracytoplasmic sperm injection [intrasitoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI)] tekniği ile ÜYTE alanında yeni bir çığır açılmıştır **(2)**. Zira ICSI tekniği tanımlanana kadar şiddetli erkek faktörü olan erkeklerin mevcut tekniklerle çocuk sahibi olması olanaksızdı. Çünkü klasik tekniklerde fertilizasyonun olabilmesi için oositin belli bir konsantrasyonda spermatozoa ile aynı ortamda buluşturulması gerekmekteydi. Bu

bakımdan şiddetli oligoasthenoteratozoospermi, kriptozoospermi, virtual azoospermi ve azoospermi gibi tanısı olan çiftler IVF tekniği ile de şansa sahip değillerdi. Oysa ICSI tekniği sayesinde, morfolojik olarak normal veya normale yakın tek bir spermatozoonun mevcudiyeti tedavi denemesinin yapılabilmesini mümkün hale getirmekteydi. Hatta obstrüktif veya nonobstrüktif azoospermi olgularında dahi testiküler sperm aspirasyonu (TESA) ve testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) yöntemleri ile sperm elde edilebilmesi durumunda da semenden elde edilen spermatozoa ile yapılmış işlem başarısına başa-baş bir şans elde etmek olanaklı hale gelmişti. Zaman içinde GIFT, ZIFT ve SUZI uygulama sayıları, yok denecek kadar azalmış, neredeyse tamamen terkedilmiştir. Halihazırda dünyada yaygın olarak uygulanan iki yöntem, konvansiyonel IVF ve ICSI'dir.

Günümüze kadar, ÜYTE uygulama sayılarında gittikçe yükselen bir ivme ile küresel bir artış süregelmiştir. Öyle ki, günümüzde Amerika Birleşik Devletleri, Birleşik Krallık ve Avrupa'nın pek çok ülkesinde neredeyse her 25 çocuktan biri ÜYTE tedavisi sonucunda dünyaya gelmektedir **(3,4)**. Amerika Birleşik Devletleri'nde son on yıl içinde ÜYTE sonucu doğumlarda iki kat artış olurken, Kanada ÜYTE kayıtlarına göre 2010 ve 2011 yılları arasında %29'luk bir artış yaşanmıştır **(5)**.

Ülkemizde ise 1988 yılında İzmir Ege Üniversitesi'nde gerçekleşen sağlıklı doğuma ulaşmış ilk başarılı ÜYTE tedavisi ile başlayan yolculuk, günümüzde sayıları 150 dolayında olan ÜYTE merkezinin kurulmasına kadar gelmiş **(6)** ve ICMART (The International Committee Monitoring Assisted Reproductive Technologies) verilerine göre Türkiye, İspanya'dan sonra Avrupa'da en çok sayıda ÜYTE uygulaması yapılan ikinci ülke konumuna gelmiştir. Ülkemizi Fransa ve Almanya gibi ülkeler takip etmektedir. Önceleri Almanya sıralamada ilk iki sırada yer alırken, 2000'li yılların başlarında yürürlüğe giren mevzuat değişikliklerinin ardından dördüncü sıraya düşmüştür **(7)**.

ÜYTE alanındaki gelişmeler günümüzde de hızla sürerken, son yıllarda genetik tarama sürecinde kullanılan array CGH (comparative genomic hybridization) ve NGS (next generation sequencing: yeni nesil dizileme), prematür over yetmezliği olgularında umut ışığı olan IVA (in vitro activation), kemoterapi veya radyoterapi planlanan kanser hastalarında uygulanan gamet dondurma/saklama ve over dokusu dondurma/saklama/ototransplantasyonu, histerektomili kadınlarda uterus transplantasyonu ile canlı doğum elde edilmesi gibi gelişmeler bir yandan başarı

oranlarını arttırma bakımından etkili olurken, ayrıca üreme potansiyelinin korunması için olanak sağlamış ve over rezervinin bitme aşamasında olduğu hastalarda kısıtlı da olsa bir şans oluşturmak bakımından heyecan uyandırmıştır **(8-10)**.

ÜYTE alanı bir yandan çok özgül gelişmelere sahne olurken, bir yandan da sadece ayrıntılarda değil, temel konularda bile devam eden görüş farklılıkları ve yapılması gereken iyileştirmeler hala mevcuttur.

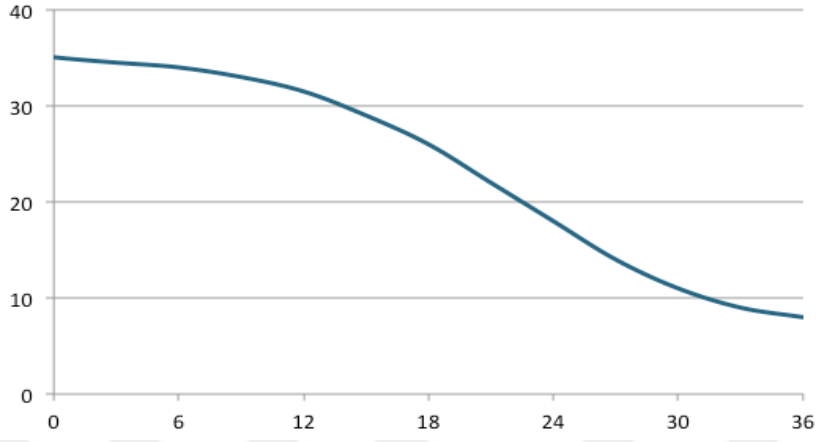
Tüm bu hususlar, ÜYTE tekniklerinin gerek uygulayıcılar arasında, gerekse kamuoyunda gündemdeki yerini ve çekiciliğini korumaya devam edeceğini göstermektedir.



2. GENEL BİLGİLER

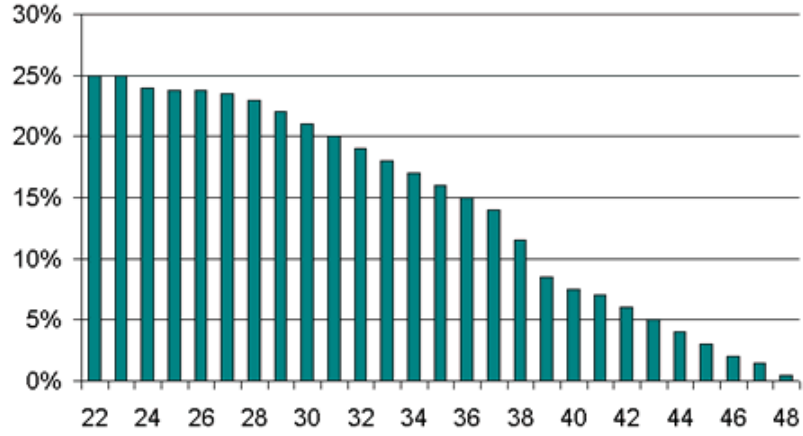
2.1. İnfertilite

Herhangi bir doğum kontrol yöntemi uygulamaksızın ve düzenli birlikteliğin olduğu bir yıllık süreye rağmen bir çiftin gebelik elde edememesidir. Bir yıllık sürenin sınır olarak konmasının nedeni, ilk bir yıldan sonra spontan gebelik beklentisinde ivmeli bir azalmanın olmasıdır (**Şekil 2.1.1**).



Şekil 2.1.1. Korunma yöntemi uygulamaksızın geçen aylar içerisinde gebeliğin olabilme olasılığı (%).

Bayanın yaşının 35 veya üzerinde olduğu durumlarda doğal yolla bekleme süresi altı ayla sınırlanır. Bu yaş döneminde doğal bekleme süresinin daha kısa öngörülmesinin nedeni de konsepsiyon olasılığının bu yaş döneminden sonra belirgin şekilde azalmasıdır (**Şekil 2.1.2**).



Şekil 2.1.2. Kadın yaşına göre gebelik olma olasılığındaki değişim

Daha önceleri halk arasında kısırılık olarak adlandırılan infertilite, “kısırılık” kelimesinin çağrıştırdığı olumsuzluk ve karamsarlık nedeniyle “üreme güçlüğü” kelimesi ile ikame olmuştur. Sadece bir bireyi değil bir çifti ilgilendirmesi bakımından diğer sağlık sorunlarına göre ayrı bir özellik gösteren infertilite, önemli psikolojik, ekonomik, demografik ve tıbbi etkileri olan bir sorundur. İnfertilite sorunu olan çiftlerde sadece eşlerde duygu durum ve mizaç sorunları yaşanmakla kalmayıp, eşlerin anne ve babaları başta olmak üzere, geniş aile bireylerine de yansıyan sosyal sorunların olduğu açıktır. Bu sorunlar arasında duygu-durum ve mizaç değişiklikleri, yetersizlik ve işe yaramazlık hissi ve özgüven sorunları sayılabilir **(11)**

Yaş gruplarına göre değişmekle birlikte infertilitenin toplumdaki genel prevalansı %15-20 dolayındadır **(12) (Şekil 2.1.3)**. Daha önce spontan gebelik veya doğum yaşamış bir çiftin tekrar gebelik istemesine rağmen elde edememesi durumuna sekonder infertilite denirken, daha önce hiç gebelik yaşanmamış ise primer infertilite terimi kullanılmaktadır.

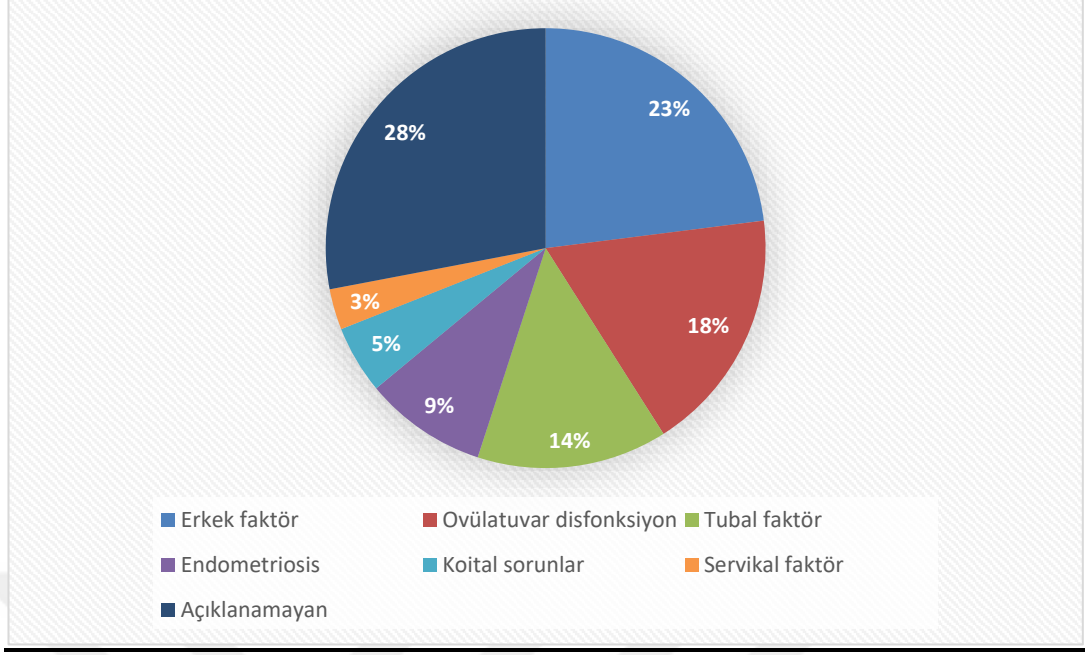


Şekil 2.1.3. İnfertilite prevalansı

2.2. Etiyoloji

Kadına ait nedenler, erkeğe ait nedenler ve kombine sorunlar olarak üç ana grupta toplanmaktadır. Sorunların görülme sıklığı aşağıdaki şekildedir (**Şekil 2.2.1**).

- Erkek faktörü – %23
- Ovülatuvar disfonksiyon – %18
- Tubal faktör – %14
- Endometriosis – %9
- Koital sorunlar – %5
- Servikal faktör– %3
- **Açıklanamayan– %28**



Şekil 2.2.1 Etiyolojik nedenlere göre infertilitenin sınıflanması

Sekonder infertilite olgularında etiyolojik nedenler incelendiğinde; zaman içerisinde semen parametrelerinde fertilizasyon yeteneğini olumsuz yönde etkileyecek şekilde değişiklikler bazen etiyolojik neden olarak karşımıza çıkarken, bazen de kadında tubaların geçişini veya işlevini bozan durumlar (pelvik inflamatuvar hastalık, ektopik gebelik, jinekolojik veya jinekolojik olmayan batin ameliyatları) bir neden olabilmektedir. Bazen de sekonder infertilite olgularında da “açıklanamayan infertilite” kategorisine giren tüm test sonuçlarının istenen sınırlar içinde olduğu çiftler olabilmektedir.

İnfertil çiftlerde tedavi yönetiminde yol haritasını çizerken; bayanın yaşı, çiftin evlilik süresi, etiyolojik neden, tedavi öyküsü, psikososyal faktörler ve söz konusu şehir veya yerleşim yerindeki teknik olanaklarla ekonomik faktörler göz önüne alınmaktadır. Ulusal ve uluslararası derneklerin uygulama kılavuzları da yol gösterici olabilmektedir. Tüm bu değişkenler analiz edildiğinde hasta bazında veya uygulayıcılar arasında bakış açısına göre görüş ve uygulama farklılıkları olabilmektedir. Bazen follikül takibi ve planlı koitus gibi ilk basamak tedavilerden başlayarak adım adım tedavi basamakları denenerek çıkılabilirken, bazen de ÜYTE ilk seçenek, en iyi seçenek ya da tek seçenek olabilmektedir. Bir tedavi basamağında sonuç elde edilemeyecek olursa aynı tedavide mükerrer denemeler de düşünülebilmektedir. Ülkelerin de bu konudaki izlediği ekoller arasında büyük farklar olup, İsrail, Avustralya veya İskandinav ülkelerinde ÜYTE liberal bir şekilde

hatta yer yer ilk basamak tedavi olarak uygulanırken, Afrika ülkeleri teknik ve ekonomik olanaksızlıklar nedeniyle oldukça düşük uygulama yüzdelerine sahiptir **(13,14)**.

Açıklanamayan infertilitenin prevalansı %20-30 dolayında olup, bu oran kimi çalışmalarda %30-40 oranlarına dahi çıkmaktadır **(15)**. Çeşitli çalışmalarda bildirilen prevalans değerlerinin farklı olması, infertilitenin araştırılması aşamasında kullanılan yöntemlerin farklılığı, uygulayıcıların değerlendirme aşamasındaki hassasiyet düzeyi ve deneyimlerindeki farklılıklar gibi nedenlerdir. Örneğin tanısal amaçla yapılan bir laparoskopi işleminde evre I veya minimal/orta seviyede endometriozis saptanabilmektedir. Oysa laparoskopinin değerlendirmede rutin olmaması nedeniyle bu operasyon yapılmadan uygulanan bir ÜYTE denemesinde sonuca ulaşırsa, hasta “açıklanamayan infertilite” grubu içinde kalmış olacaktır.

Açıklanamayan infertilite grubunda da uygulanan tedavi seçeneğine göre elde edilen gebelik oranları değişmektedir. Bütün tedavi seçeneklerinin kıyaslandığı verilere göre başlatılan siklus başına kombine gebelik hızları şu şekilde bulunmuştur **(16)**:

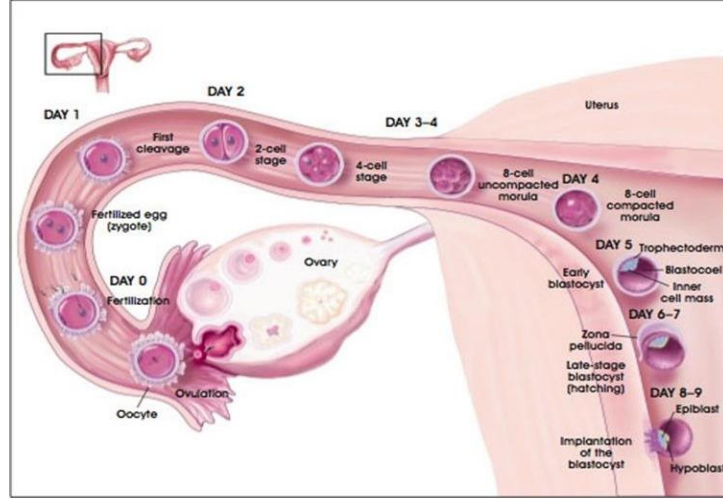
- Tedavisiz bekleme % 2-4
- IUI % 2-4
- hMG % 5-7
- hMG + IUI % 7-10
- IVF % 25-45

2.3. ÜYTE

Üreme tedavileri sırasında bayanın yumurta hücresinin laboratuvar ortamına alındığı tüm tedavi şekillerine ÜYTE adı verilir. Başlangıçta tuba uterinada geçiş yokluğu veya işlev bozukluğu yani tubal faktör durumlarında kullanılan yöntem, günümüzde endometriozis, polikistik over sendromu (PKOS), servikal faktör, açıklanamayan infertilite ve erkek faktörü tanılarında da yaygın şekilde uygulanmaktadır. Hatta ÜYTE için henüz yeterli bir endikasyon yokken sadece infertil çiftin isteği, uygulayıcıların önerisi veya o ülkenin nüfus politikası ve sosyal güvenlik şemsiyelerinin verdiği desteğe bağlı olarak da elektif bir şekilde ilk basamak tedavi olarak uygulanması da söz konusu olmaktadır.

Spontan gebeliklerde fertilizasyon tuba uterinanın ampüller bölgesinde gerçekleşmektedir **(Şekil 2.3.1)**. Doğal konsepsiyon sürecinde; dominant follikülün

rüptüre olması ile gerçekleşen ovülasyon sonucunda oosit batin içine serbestleşmekte, tuba uterinanın fimbriyal ucu tarafından alınarak tubal lümen içindeki siliyaların motilitesi ve sekresyonların oluşturduğu ortamda, aynı döneme denk gelen koitus ile vaginanın arka forniksine dökülen semen içindeki progresif hareketli spermatozoanın da tubaların uterin kaviteye açılan ostiumlarından geçerek tuba lümenine ulaşmaları neticesinde fertilizasyon olmaktadır.



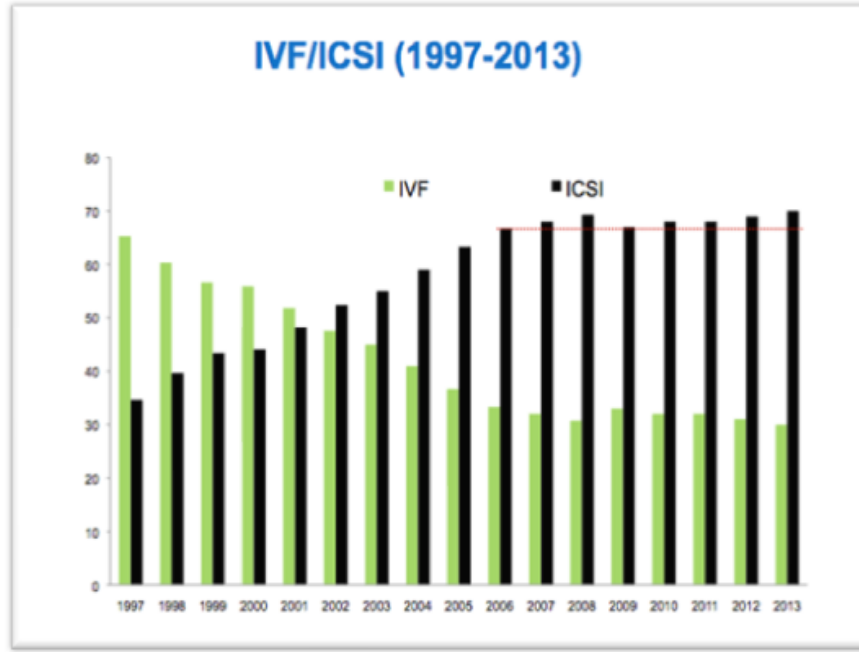
Şekil 2.3.1 Doğal gebelikte ovülasyon, fertilizasyon ve implantasyon süreci

ÜYTE uygulamalarında ise, kontrollü over stimülasyonu ile takip edilen folliküller, ultrasonografi eşliğinde aspire edilerek laboratuvar ortamında IVF veya ICSI teknikleri kullanılarak fertilizasyon gerçekleştirilir. IVF tekniğinde her bir kumulus oosit kompleksi (KOK) başına belli konsantrasyonda sperm ekilerek fertilizasyon sağlanmaktadır. ICSI tekniğinde ise mikromanipülatör yardımıyla özel ısıtıcı donanıma sahip inverted mikroskop tablası üzerinde steril cam mikropipetler yardımıyla spermin oositin sitoplazmasına enjekte edilmesi ile fertilizasyon gerçekleştirilmektedir.

Tubal faktör tanısı almış hastalarda ilk başarılı IVF uygulamasından on dört yıl sonra, üreme tedavilerinin tarihinde yeni bir çağ başlamıştır. ICSI, ÜYTE alanında ikinci en önemli gelişme olarak, erkek faktörü tanısı olan çiftlerin çocuk sahibi olabilmesi için umut yaratmıştır **(2)**. ICSI yöntemi, şiddetli oligoastenoteratozoospermi (OAT), kriptozoospermi, virtual azoospermi ve azoospermi olgularında kelimenin tam anlamıyla umut ışığı olmuştur. Erkek faktörü olmayan hastalarda ise belli bir süre klasik IVF tekniği uygulanmaya devam etmiştir.

Ancak klasik IVF uygulanan hastaların bir kısmında total fertilizasyon yokluğu ile karşı karşıya kalınmakta, hastalarda ve uygulayıcılarda hayal kırıklığına neden olmaktadır. Öngörülmesi olanaksız olan bu durum uygulayıcıları ampirik bir çözüm olarak bu olgularda da ICSI uygulamaya yöneltmiştir. Gerçekten de bu sayede, spermdeki olası işlev bozukluğu veya oositin zonasına bağlı potansiyel sorunlar nedeniyle olması muhtemel engeller aşılmış olmakta ve total fertilizasyon yokluğu ile daha az karşılanmaktaydı. Avrupa İnsan Üremesi ve Embriyoloji Derneği [European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE)] bünyesinde oluşturulmuş olan Avrupa IVF İzleme Birliği [European IVF Monitorization Consortium (EIM)], Avrupa'ya ait genel bir IVF veritabanı oluşturmuş olup, 2002 yılından beri düzenli olarak bu verileri yayınlamaktadır. Verilerin sunulması tamamen ÜYTE merkezlerinin isteğine bağlı olup toplama ve analiz etme sürecinin de etkisiyle her yıl beş yıl öncesine ait veriler bildirilmektedir. En son bildirilen veriler, Avrupa'da otuz civarında ülkenin yaklaşık 1000'e varan ÜYTE merkezinin verilerini içermektedir. Ülkemize ait veriler ise uzun yıllar bu veri tabanında yer almamış ve ilk olarak 2008 yılında EIM'e ülkemizde sadece birkaç merkezin verilerinin sunulması ile bir başlangıç yapılmıştır (17). Takip eden yıllarda tam olmasa da dönem dönem ülkemize ait veriler sunulmuş olmakla birlikte en son bildirilen EIM verileri içinde Türkiye'nin verileri yine yer almamıştır. Oldukça ayrıntılı bir şekilde sunulan EIM verilerinde, ait olduğu yıl içinde yapılmış olan tüm ÜYTE uygulamalarının sayısı, uygulanan ÜYTE yöntemi, verilen embriyo sayıları, klinik gebelik oranları, komplikasyonların ne olduğu ve karşılaşımla oranları, çoğul gebelikler, intrauterin inseminasyon verileri, serbest olan ülkeler için üçüncü şahıs (donör) tedavileri ile ilgili veriler gibi pekçok bilgi yer almaktadır.

EIM raporlarına göre geçen 15 yıl içinde ICSI uygulamalarının tüm ÜYTE siklusları içindeki oranı sürekli artmış ve %35 dolayından %65 seviyesine kadar yükselmiştir (18) (Şekil 2.3.2).

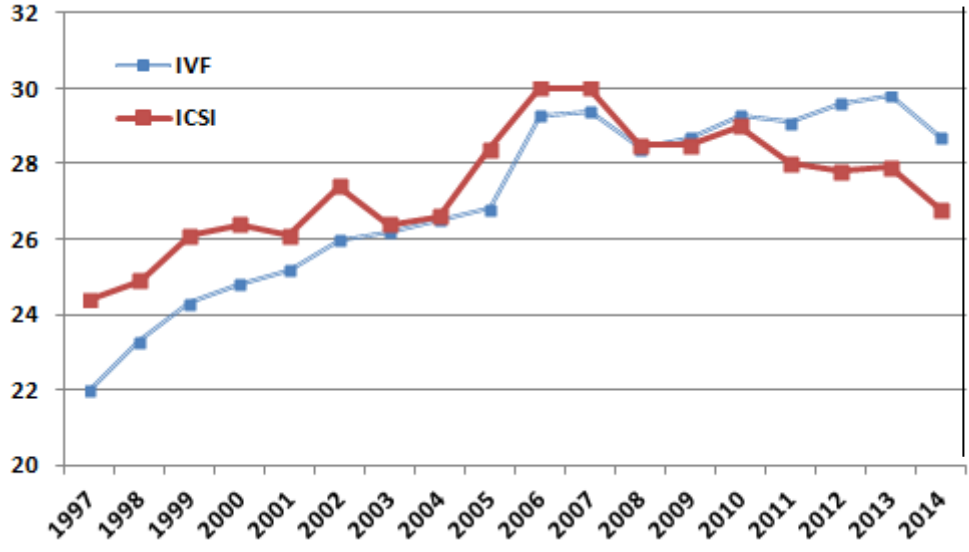


Şekil 2.3.2 ESHRE EIM verilerine göre Avrupa ülkelerinde yıllara göre IVF ve ICSI tekniklerinin tüm ÜYTE uygulamaları içindeki oranları

Raporun ayrıntılarında ICSI'nin bu aşırı kullanımının Orta Doğu ve Türkiye'de daha çarpıcı olduğu ve 2008 verilerine göre Türkiye'de %98 (!!!) olduğu vurgulanmaktadır **(18)**. Avrupa ülkelerinin genelinde artış olsa da son sekiz yıl boyunca bu artış durmuş ve artık bir plato çizer duruma gelmiştir. Yani bundan sonraki yıllarda bu artışın Avrupa genelinde devam etmeyeceği öngörülebilmektedir. Mevcut durum ve bu öngörüye göre, diğer Avrupa ülkelerinde konvansiyonel IVF tekniği halen 1/3'ten daha yüksek bir oranda uygulanmakta iken ülkemizde ICSI tekniğinin bu denli aşırı uygulanıyor olmasını açıklayabilecek geçerli bir neden görülmemektedir.

Önemli olan bir husus, total fertilizasyon yokluğu endişesi ile ICSI uygulama oranlarının abartılı olarak yüksek olmasına rağmen, aslında ICSI tekniğinde konvansiyonel IVF tekniğine göre klinik sonuçlarının daha üstün olmamasıdır **(19)**. Son yıllarda yapılmış olan bir randomize kontrollü çalışmada erkek faktörü olmayan olgularda ICSI'nin IVF'e kıyasla bir avantaj sağlamadığı gösterilmiştir **(20)**.

Üstelik EIM verileri de dikkate alındığında, başlatılan siklus başına gebelik hızı, konvansiyonel IVF tekniğinde ICSI'ye göre daha yüksektir **(Şekil 2.3.3)**.



Şekil 2.3.3 ESHRE EIM verilerine göre IVF ve ICSI uygulamalarında gebelik hızları

Daha doğal, daha ekonomik, daha pratik olan IVF yönteminin ülkemizde bu kadar ihmal edilerek geri plana itilmiş olması hayret vericidir. Dahası bu konu ve bu soruna yönelik ülkemizden şu ana kadar yayınlanmış bir bilimsel makale de bulunmamaktadır.

Bu tezin planlanmasındaki amaç, dünya genelinde ICSI tekniğinin gerekenden daha yüksek bir oranda uygulanıyor olması eleştirilirken, dünya ortalamasına göre çok daha yüksek oranda ICSI uygulanan ülkemizde şu ana kadar bu iki yöntemin (IVF ve ICSI) laboratuvar ve klinik sonuçlarını kıyaslayan bilimsel bir çalışma olmaması nedeniyle bu konuda somut veriler ortaya koymak ve uygulayıcılara yol gösterecek ulusal bir kılavuz oluşturulmasına katkıda bulunmaktır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Retrospektif deskriptif yöntem uygulanan bu çalışmada, Gelecek ÜYTE Merkezine 22.03.2015-27.09.2017 Tarihleri arasında çocuk sahibi olamama yakınması ile başvuran ve yapılan değerlendirme sonucunda ÜYTE programına alınan 1133 hastanın dosyaları olarak incelendi. Homojen bir grup olması ve standardizasyon sorunları yaşanmaması için sadece “açıklanamayan infertilite” olguları çalışmaya dahil edildi.

Açıklanamayan infertilite tanısı, eşlerde yapılan standart muayene ve testler sonucunda herhangi bir sebep saptanamaması durumunda kondu. Bu amaçla erkekte ayrıntılı bir anamnezi takiben semen analizi yapıldı (**Şekil 3.1**). Semen analizinde referans olarak dünya sağlık örgütünün önerdiği sınırlar ve aralıklar dikkate alındı. Dünya sağlık örgütü de bu sınır ve aralıkları belirlerken, eşleri 12 ay veya daha kısa süre içinde doğal yolla gebe kalmış erkeklerin semen değerlerini zemin olarak almaktadır (**21**). Eğer semen analizi sonucunda referans aralıklarının altında yer alan sonuçlar bulunduysa, en az iki hafta geçmek kaydıyla tekrar bir semen örneği alınarak incelendi. Sperm hücrelerinin morfolojik olarak değerlendirilmesinde Kruger ve arkadaşları tarafından tanımlanmış olan ve Tygerberg ya da Kruger kesin kriterleri olarak adlandırılan kriterler kullanıldı (**22**).

SEMEN ANALİZİ

Ad Soyad : Tarih :
D.Tar/Yaş : Protokol No :
Eşinin Adı : Meslek :

Referans Değer

Perhiz Süresi	2-7 Gün
Sperm Toplama Yöntemi	Masturbasyon
Hacim	2-6 mL
Viskozite	<2 cm
Likefaksiyon Süresi	20 Dakika
Aglütinasyon	Yok,
Konsantrasyon	>15x10 ⁶ / mL
Total Motilite (Hareketlilik)	>%50
+4 Motilite	>%25
+3 Motilite	
+2 Motilite	
Hareketsiz	
Normal Morfoloji	>%4
PHSS(Progresif Hareketli Sperm Sayısı)	10 ⁶ / mL
Yuvarlak Hücre	<=1x10 ⁶ / mL

Şekil 3.1 Semen analizi formu, incelenen değişkenler ve referans aralıkları ve sınırları

Bayanda ise ayrıntılı anamnez (obstetrik, cerrahi ve jinekolojik öyküyü içerecek şekilde) alındıktan sonra (**Şekil 3.2**) pelvik muayene ve ultrasonografik olarak uterus ve overlerin incelenmesini takiben standart değerlendirme testleri istendi (**Şekil 3.3**).

INFERTİLİTE ANAMNEZ FORMU TARİH :

Adı Soyadı :		Eş Adı :	
Doğum Tar. :		Doğum Tar. :	
Mesleği :		Mesleği :	
Kan Grubu :		Kan Grubu :	
Tel No :		Referans :	
Adres :		E-Posta :	

Evlilik Süresi	K. Kaçınıcı Evlilik
Evlilikte Ayrı Olunan Süre	E. Kaçınıcı Evlilik
Akrabalık	K. Önceki Evli. Gebelik
Korunma Süresi / Yöntemi	E. Önceki Evli. Gebelik

Bayan Tedavi Öyküsü	Erkek Tedavi Öyküsü
Operasyon	Operasyon
Hastalık	Hastalık
Kullandığı ilaç	Kullandığı ilaç
Sigara (adet/gün/süre)	Sigara (adet/gün/süre)
Kilo / Boy - TA	Talazemi Testi
Alerji	Geçirilmiş enf. (gonore vs.)

Soygeçmiş	Ailede Doğuştan Anamoli
Ailede başka infertil çift	Semen Analizi
Jinekoloji	Tarih / Yer
Jinekolojik Yakınma	Konsantrasyon (ml / ml)
Galaktore	Total Motilite (%)
Hirsutizm	Morfoloji (%)
Menarş	Yuvarlak Hücre
Adet Düzeni	Enfeksiyon
SAT	

Gebelik Öyküsü			
Tarih	Tedavi	Doğum Hastası: Ve Şekli	Akubet

Infertilite Tedavi Öykü	
Klomifen	
Klomifen İUİ	
GN	
GN + İUİ	
Üyte Öykü	
IVF-ICSI Tarih / Yer	
Protokol	
Oosit sayısı	
Oluşan Embriyo Sayısı	
ET	
DET	
Akubeti	

NOT :
TANI:

Şekil 3.2 Anamnez formu

Hasta Ad/Soyad : Yaş : SAT : Tarih :

HEMATOLOJİ <input type="checkbox"/> Tam kan sayımı <input type="checkbox"/> Kan grubu <input type="checkbox"/> Indirect Coombs <input type="checkbox"/> Sedimentasyon <input type="checkbox"/> INR <input type="checkbox"/> PT <input type="checkbox"/> aPTT ELISA <input type="checkbox"/> ASO <input type="checkbox"/> CRP <input type="checkbox"/> RF <input type="checkbox"/> HBsAg <input type="checkbox"/> Anti HCV <input type="checkbox"/> HIV 1/2 <input type="checkbox"/> VDRL ANDROLOJİ <input type="checkbox"/> Semen analizi <input type="checkbox"/> Sperm Fish <input type="checkbox"/> Sperm DNA	HORMON <input type="checkbox"/> β.hCG <input type="checkbox"/> LH <input type="checkbox"/> FSH <input type="checkbox"/> Estradiol <input type="checkbox"/> Prolaktin <input type="checkbox"/> Progesteron <input type="checkbox"/> TSH <input type="checkbox"/> sT3 <input type="checkbox"/> sT4 <input type="checkbox"/> Anti TPO <input type="checkbox"/> Serbest testosteron <input type="checkbox"/> 17-OH Progesteron <input type="checkbox"/> AMH <input type="checkbox"/> 25-OH D Vitamini	TGK <input type="checkbox"/> Protein S Aktivitesi <input type="checkbox"/> Protein C Aktivitesi <input type="checkbox"/> Faktör V Leiden <input type="checkbox"/> 100 gr OGTT <input type="checkbox"/> Toxoplazma Ig M/G <input type="checkbox"/> Rubella Ig M/G <input type="checkbox"/> Karyotip analizi <input type="checkbox"/> Homosistein + <input type="checkbox"/> MTHFR 677 C>T <input type="checkbox"/> MTHFR 1298 A>C <input type="checkbox"/> Lupus antikoagülanı <input type="checkbox"/> Antikardiolipin Ab Ig M/G <input type="checkbox"/> β2 glikoprotein Ab	BIYOKİMYA <input type="checkbox"/> Glukoz <input type="checkbox"/> AST <input type="checkbox"/> ALT <input type="checkbox"/> ALP <input type="checkbox"/> YGT <input type="checkbox"/> LDH <input type="checkbox"/> Üre <input type="checkbox"/> Kreatinin <input type="checkbox"/> Ürik Asit <input type="checkbox"/> BUN <input type="checkbox"/> Total kolesterol <input type="checkbox"/> HDL kolesterol <input type="checkbox"/> LDL kolesterol <input type="checkbox"/> Trigliserit <input type="checkbox"/> Total bilirubin <input type="checkbox"/> Direct bilirubin <input type="checkbox"/> 50 gr PPG	MİKROBİYOLOJİ / PATOLOJİ <input type="checkbox"/> TIT <input type="checkbox"/> İdrar kültürü <input type="checkbox"/> Semen kültürü <input type="checkbox"/> Vajinal akıntı kültürü <input type="checkbox"/> Yayma <input type="checkbox"/> PAP smear DİĞER <input type="checkbox"/> 2'LI TARAMA <input type="checkbox"/> 3'LU TARAMA <input type="checkbox"/> 4'LU TARAMA <input type="checkbox"/> HPV GENOTİPLEME <input type="checkbox"/> Y mikrodelesyon <input type="checkbox"/> CA 125 <input type="checkbox"/> CA 19-9 <input type="checkbox"/> AFP
--	--	--	---	---

NOT: Doktor:

Şekil 3.3 Değerlendirme testleri

Transvaginal yoldan yapılan ultrasonografik incelemede uterusun yönü ve anatomik yapısı değerlendirildi. Endometriumda karşılaşılan düzensizlik, kalınlaşma veya polipler, myometriumda myomların varlığı veya adenomyozisten şüpheli bulgular, servikal kanalın yapısı, uzunluğu değerlendirildi. Olası geçirilmiş cerrahi işlemlerin varlığı durumunda prova embriyo transferi tecrübe edildi. Ardından spekulum muayenesi ile ektoservikste ve eksternal servikal osta herhangi bir patolojik bulgu olup olmadığı görsel olarak incelendi.

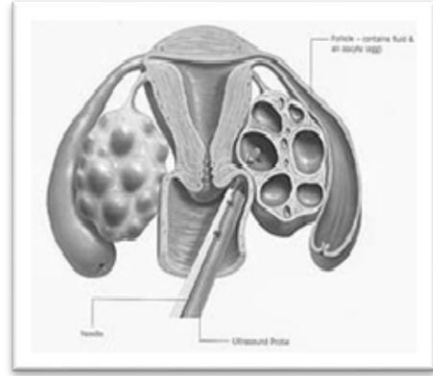
Çalışmaya kadın yaşının ≤ 42 olduğu ve açıklanamayan infertilite tanısı almış tüm çiftler dahil edildi. Çalışma dışında kalma kriterleri ise,

- Öyküde daha önceki ÜYTE denemesinde total fertilizasyon yokluğu olması
- Oosit toplama (oocyte pick up-OPU) günü elde edilen cumulus oosit kompleksi KOK sayısının < 6 olması
- Herhangi bir endikasyonla embriyo transferinin yapılmayarak tüm embriyoların dondurularak saklanması durumu

ÜYTE programına giren toplam 1133 hastanın dosyaları incelendi. Erkek faktörü ($n=302$), preimplantasyon genetik tanısı ($n=55$), kadın yaşı > 42 ($n=10$), TFF ($n=7$), KOK sayısı < 6 ($n=581$), bütün embriyoları dondurulan hastalar ($n=3$) olmak üzere toplam 958 hasta çalışma dışı bırakıldı. Kalanlar içinden açıklanamayan infertilite tanısı almış olan 87 hasta çalışmaya dahil edildi.

Semen kalitesi bakımından da bir index değeri belirlendi. Bu amaçla: hacim (cc) x konsantrasyon (milyon/mL) x progresif motilite (%) x morfoloji (%) ≥ 10.000 olan hastalar çalışmada yer aldı.

OPU işlemi, human chorionic gonadotropin (hCG) uygulama saatinden 36 saat sonra transvaginal ultrasonografi rehberliğinde yapıldı. OPU iğnesi ile her bir follikül belli bir basınç ile (genellikle 100 mmHg) aspire edildi (**Şekil 3.4**).



Şekil 3.4 Transvaginal ultrasonografi eşliğinde OPU işlemi

Aspire edilen follikül sıvıları, önceden 37°C' ye ayarlanmış olan ısıtıcı blok içinde bulunan laboratuvar tüplerine alındı (**Şekil 3.5**).



Şekil 3.5 OPU işlemi sırasında kullanılan aspiratör ve ısıtıcı blok

Herbir tüp, operasyon odasına bir pencere ile bağlantısı olan embriyoloji laboratuvarına seri bir şekilde iletildi (**Şekil 3.6**).



Şekil 3.6 Embriyoloji laboratuvarı

Sonrasında follikül sıvıları laminar flow kabin içinde steril petri kabına döküldü (**Şekil 3.7**).



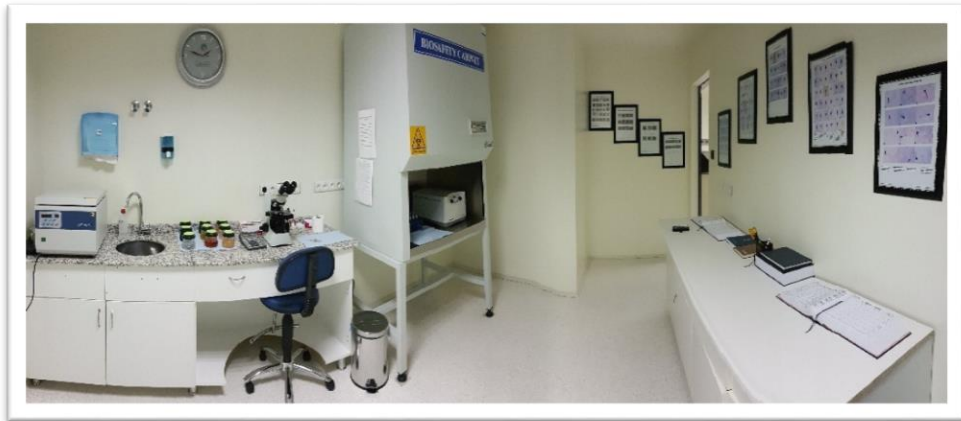
Şekil 3.7 Laminar flow kabin

Stereomikroskop altında x45 büyütmede KOK arandı. Bulunan KOK'lar steril cam pastör pipet ile bir gün önceden hazırlanmış ve preinkübasyon yapılmış olan gamet mediumu içerisine yıkanarak alındı. Tüm KOK'ların gamet mediumu içine alınma işlemi tamamlandıktan sonra 37°C'de %6 karbondioksit (CO₂) ortamı olan inkübatörde beklemeye alındı (**Şekil 3.8**).



Şekil 3.8 İnkübatörler

Sperm hazırlama için gradient tekniği kullanıldı. Gradient işleminde hastadan mastürbasyon ile steril kaba alınan semen örneği 20 dk 37^ode likefiye olması için bekletildi. Daha sonra androloji laboratuvarında morfolojik değerlendirme hariç olmak üzere standart semen analizi yapıldı (**Şekil 3.9**).



Şekil 3.9 Androloji laboratuvarı

Analiz sonucuna göre santrifüjdeki devir hızı belirlendi. Sperm gradient stok solüsyonu dilüsyon mediumu ile uygun şekilde dilüe edilerek herbiri 10 ml'lik %45 ve %90'lık gradient mediumları hazırlandı. Konik tüpe önce 0,5 ml %45'lik medium

konu, daha sonra 0,5 ml %90'lık medium alttan konarak 2 tabaka oluşturuldu. Üzerine homojenize olmuş 2 ml semen örneği dikkatlice gradient tabakalarını bozmayacak şekilde eklendi (**şekil 3.10**).



şekil 3.10 Santrifüj öncesi gradient

Semen örneği 20 dk belirlenen devirde santrifüj edildi. Bu şekilde matür sperm hücreleri %90'lık solüsyondan daha yüksek dansiteye sahip olduklarından spermler bu tabakayı geçerek tüpün dip tarafında toplandılar. Diğer hücreler ve immatür sperm hücreleri ise tabakalar arasında kaldı (**şekil 3.11**).



şekil 3.11 Santrifüj sonrası gradient

20 dk santrifüj bittikten sonra steril pastör pipeti yardımıyla pellet bozulmayacak şekilde süpernatant atıldı. Pellet üzerine 2 ml yıkama mediumu eklenip karıştırıldı ve 1200 devirde 5 dk santrifüj edildi. Tekrar pellet bozulmayacak

şekilde süpernatant atılıp 2ml yıkama mediumu eklenerek tekrar 5 dk 1200 devirde santrifüj edildi. Santrifüj işlemi bittikten sonra pellet başka bir tüpe alınarak üzerine – pelletin hacmine göre- 300-500 µl yıkama mediumu eklendi ve işleme hazır hale getirildi.

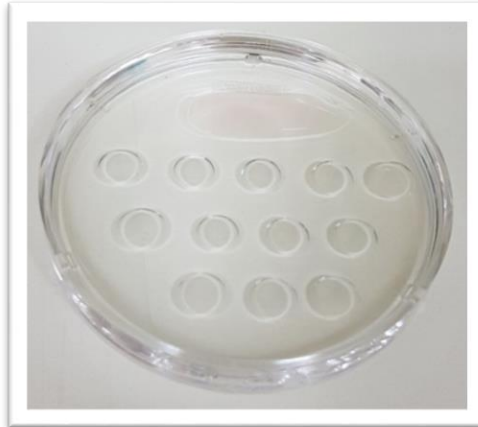
OPU'dan 2 saat sonra KOK'lar embriyolog tarafından rassal olarak iki gruba ayrıldı. Birinci grup KOK'lar konvansiyonel IVF yöntemine tabi tutulurken, ikinci gruptakilere soyma işlemi uygulandı ve MII oositlere ICSI tekniği ile işlem yapıldı.

IVF uygulanacak KOK grubu laminar flow kabin ortamında gamet mediumunda değerlendirildi ve fertilizasyon şansını arttırmak amacıyla oositlere zarar vermeden cumulusların bir kısmı insülin enjektörü iğne ucu ile ayrıştırıldı. Sonrasında dört kuyucuklu (four well) kabin içinde Gamet mediumunda KOK başına 100.000 sperm olacak şekilde ekim yapıldı ve inkübatöre alındı (**Şekil 3.12**).



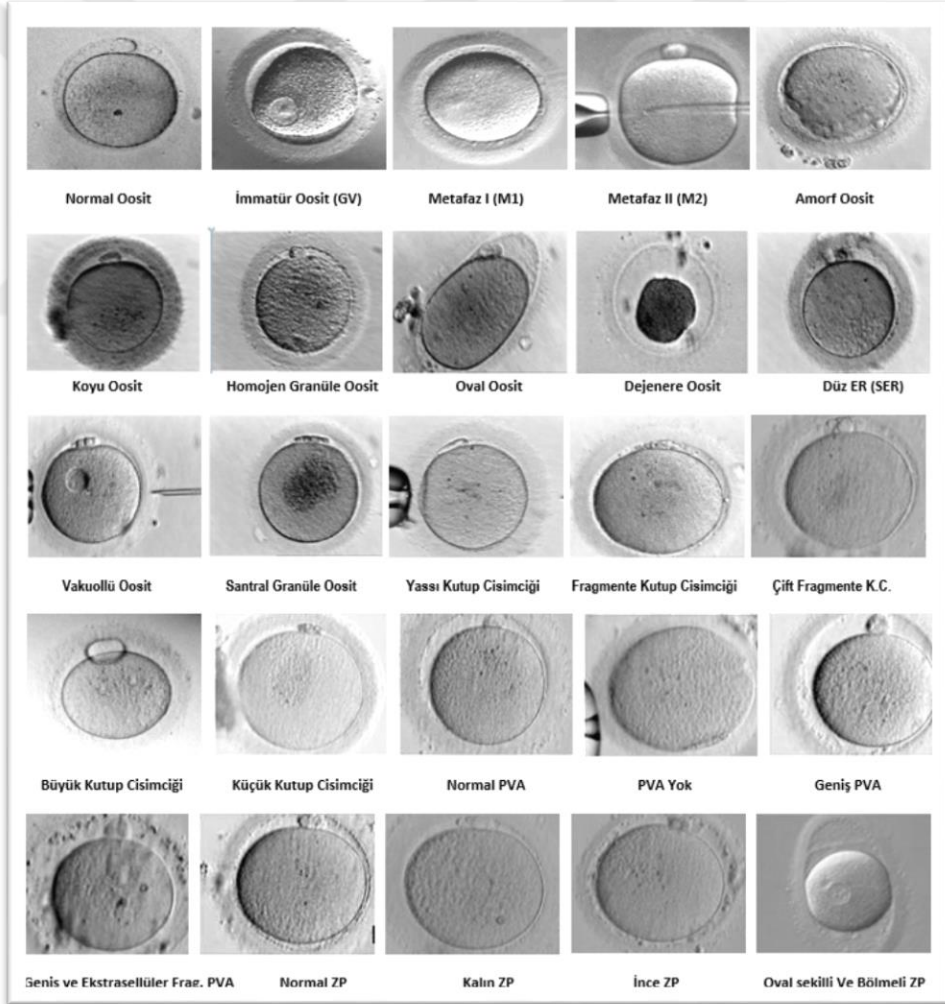
Şekil 3.12 Konvansiyonel IVF

ICSI işleminden önce oositlerin çevresindeki corona ve cumulus hücreleri temizlenmesi için hyaluronidazlı medium içeren kaplar hazırlandı (**Şekil 3.13**).



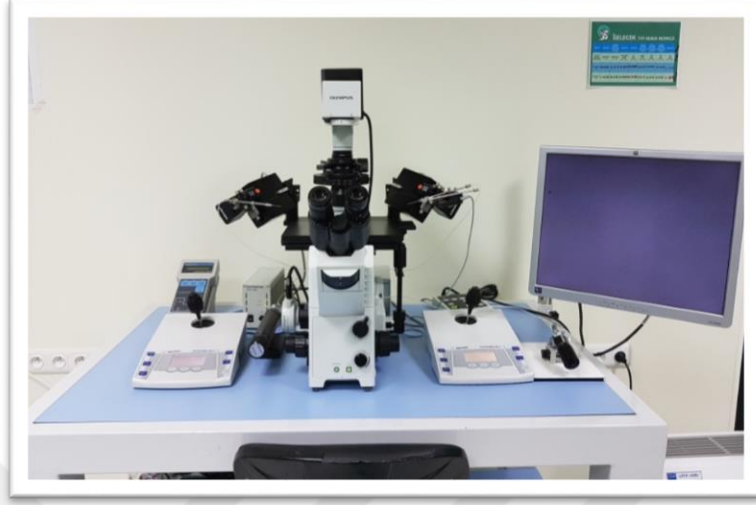
Şekil 3.13 Oosit denüstasyon kabı

Hyazda en fazla 10-20 sn kadar steril cam pastör pipet ile pipetlenen oositler, çeşitli kalibredeki steril denüstasyon pipetleri ile kalından inceye doğru soyma işlemine tabi tutuldu. Böylelikle oositin zona ve sitoplazması görünür hale getirildi ve oositin matürasyon ve kalite değerlendirmesi yapıldı. Oositin matürasyon açısından değerlendirmesinde birinci polar cisimciğin varlığı metafaz II (MII) oosit, birinci polar cisimciğin olmaması metafaz I (MI) ve hem birinci polar cisimciğin olmayışı hem de germinal vezikülün varlığı immatür oosit (GV) olarak tanımlandı (**Şekil 3.14**). Ardından oositler gamet mediumuna alınarak inkübatöre kondu. MII oositler ICSI işlemi için belirlenirken, MI oositler matürasyonunu tamamlayıp tamamlamayacağını izlemek için inkübasyona bırakıldı ve dört saate kadar takip edildi. Germinal vezikül aşamasındaki oositler ekarte edildi.



Şekil 3.14 Normal ve anormal oositler

ICSI işlemi ön hazırlığında mikromanipülatörün holding ve ICSI pipetlerinin ayarı yapılarak enjeksiyon için hazır hale getirildi (**Şekil 3.15**).



Şekil 3.15 Mikromanüplatör

Steril ve embriyotoksik olmayan özel petri kapları kullanıldı. Oosit ve sperm için 25-30 µl lik gamet medium ve polyvinylpropylene (PVP) kullanılarak damlacıklar oluşturuldu ve üzeri mineral yağı ile kaplandı (**Şekil 3.16**).



Şekil 3.16 ICSI kabı

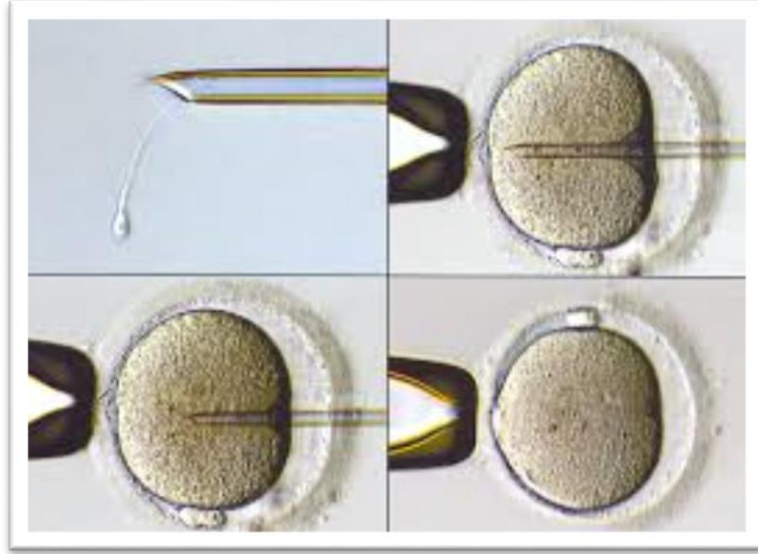
Sonrasında PVP'ye 5-10 µl hazırlanmış semen örneği kondu. Birkaç dakika laminar flowda beklenerek spermilerin PVP damlacığında periferik gelmesi sağlandı. ICSI uygulanacak MII oositler x400 büyütmede inverted mikroskop altında (Olympus IX70®) gamet medium içerisine alındı. Oosit ve PVP içerisinde spermeleri içeren ICSI dropletlerini kapsayan kap inverted mikroskopun önceden ısıtılmış tablası üzerine

yerleştirildi. Hareketli ve morfolojisi normal olan bir sperm seçildi. Mikroenjeksiyon pipetinin uç kısmı sperm kuyruğunun üzerine kondu. Spermin kuyruğu pipet ile kabın tabanı arasında bastırılarak hareketsiz hale getirildi. Hareketsiz hale getirilen sperm hücresi, kuyruk kısmı tarafından enjeksiyon pipeti içine aspire edildi. Bu esnada spermin kuyruğu kıvrılır ya da başı koparsa başka bir sperm seçildi. Sonrasında oosit bulunan damlacığa geçildi.

ICSI sırasında oosit değerlendirmesi yapılırken aşağıdaki kriterlere bakıldı:

- Zona pellucida : kalınlığı, koyuluğu, şekli
- Perivitellin aralık : varlığı, genişliği, debris içermesi
- Polar cisimcik : sayısı, büyüklüğü, şekli, fragmanlı olması
- Oolemma : şekli, kırılabilirliği
- Sitoplazma : tonu, kıvamı, granülasyonu, vakuol ve refraktil cisimcik varlığı

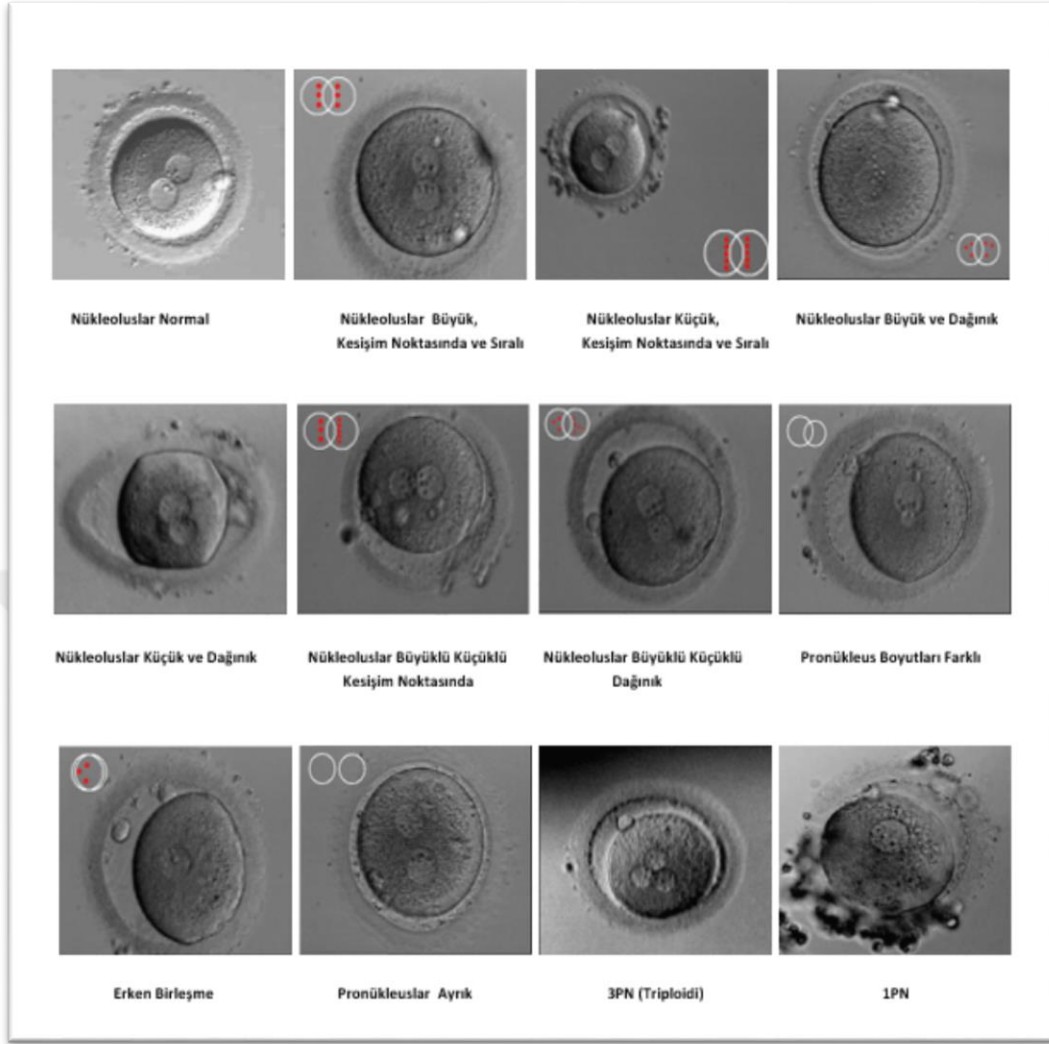
ICSI işlemi sırasında oosit, polar cisimcik saat 6 veya 12 yönünde olacak şekilde holding pipet ile saat 9 yönünden sabitlendi. Bu sayede polar cisimciğin hemen altındaki mayoz içcikleri ve kromozomların ICSI işleminden en az zarar göreceği düşünülmektedir. Spermi içeren enjeksiyon pipeti görüntüye getirilerek holding pipetinin tam karşısından (saat 3 hizasından) yaklaştırıldı. Bu arada sperm hücresi enjeksiyon pipetinin uç kısmına doğru getirildi. Böylelikle mümkün olduğunca az miktarda PVP'nin oosit içine girmesi sağlandı. Sonra mikromaniplatör yardımıyla enjeksiyon pipeti oolemmayı geçerek sitoplazma içerisine ilerletildi. Bu aşamada mikropipete uygulanan az miktardaki negatif basınç ile oosit membranı kırılıncaya kadar sitoplazma pipet içerisine aspire edildi. Bu sayede aynı zamanda oosit aktivasyonu da sağlanmış oldu. Oositin membranı kırılır kırılmaz mikromaniplütörün mikrovidası aksi yönde hareket ettirilerek aspire edilen sitoplazma ile birlikte pipet içerisindeki sperm oosit içerisine bırakıldı ve enjeksiyon pipeti oosit içerisinden çıkarıldı. Bu sırada holding pipet de gevşetilerek oosit damlacık içerisinde serbest hale getirildi. Sonra tekrar PVP damlacığına gidilerek aynı işlemler herbir oosit için tekrarlandı (**Şekil 3.17**).



Şekil 3.17 ICSI (intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu) işleminin basamakları

ICSI işlemi tamamlandıktan sonra her bir oosit önceden hazırlanmış kültür mediumuna (her bir oosit bir damlacığa gelecek şekilde) 2-3 kez yıkanarak yerleştirildi ve inkübatör içerisinde takibe alındı. Mikroenjeksiyonun başlangıç ve bitiş saatleri hasta dosyasına not edildi.

IVF veya ICSI işleminin yapıldığı gün sıfırınca gün kabul edilerek ertesi gün inverted mikroskopta x200-400 büyütmede fertilizasyon kontrolü yapıldı. Konvansiyonel IVF yöntemi uygulanan oositlerde inseminasyon sonrası 16-18. saatlerde, ICSI uygulanan oositlerde ise 14-16. saatlerde fertilizasyon kontrolü yapıldı. Zira pronukleus oluşumu ICSI yapılan oositlerde IVF'e göre 1,5-2 st daha önce olmaktadır **(23)**. IVF grubunda fertilizasyon kontrolü yapmadan önce oosit çevresindeki korona hücreleri temizlendi. Ayrı iki pronukleusun varlığı normal fertilizasyon olarak değerlendirildi **(Resim Şekil 3.18)**.



Şekil 3.18 Normal ve anormal fertilizasyon örnekleri

OPU sonrası iki ve/veya üçüncü gün embriyoların morfolojik özelliklerine göre kalite değerlendirmesi yapıldı. Bu değerlendirmede ESHRE/Alpha görüş birliği ile kabul edilmiş olan kriterler kullanıldı (24).

Embriyoların morfolojileri inverted mikroskopta aşağıdaki kriterlere göre değerlendirildi (Şekil 3.19 ve 3.20).

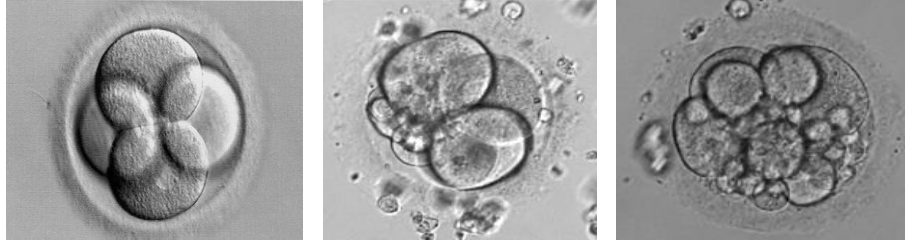
- Blastomer sayısı
- Blastomer çaplarının eşit olup olmaması
- Blastomer nükleuslarının yapısı
- Fragmantasyon varlığı ve yüzdesi
- Sitoplazma morfolojisi (granülasyon, renk farklılığı, vakuol varlığı)

Bu kriterlere göre klivaj evresi embriyoları kalitesine göre üç gruba ayrıldı:

Grade 1: <%10 Fragmantasyon, özgül hücre büyüklükleri eşit

Grade 2: %10-25 Fragmantasyon, hücrelerin çoğunluğu özgül hücre boyutunda

Grade 3: >%25 Fragmantasyon, özgül hücre büyüklükleri eşit değil

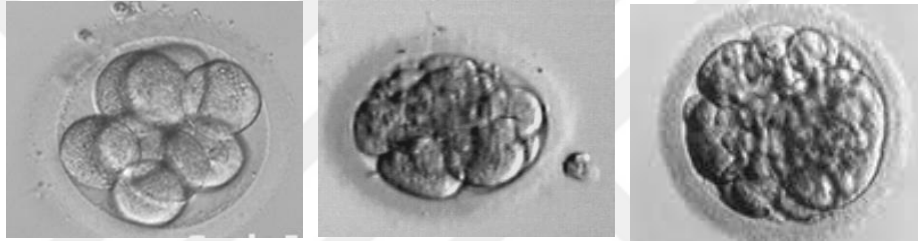


Grade 1

Grade 2

Grade 3

Şekil 3.19 OPU sonrası ikinci gün embriyoların kalitelerine göre sınıflaması



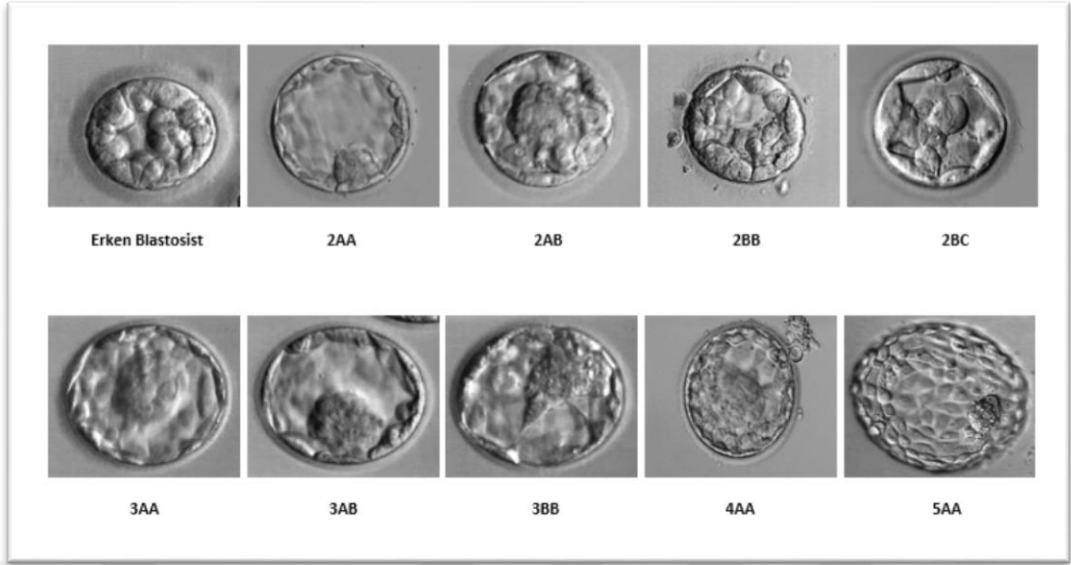
Grade 1

Grade 2

Grade 3

Şekil 3.20 OPU sonrası üçüncü gün embriyoların kalitelerine göre sınıflaması

Blastokist aşamasına bırakılmasına karar verilen embriyolar yeni kültür mediumu içinde inkübatörde bekletilerek günlük olarak takibi devam etti. ET öncesinde blastokist kalite değerlendirmesi beşinci günde yine ESHRE/Alpha görüş birliği ile kabul edilmiş olan kriterler kullanılarak yapıldı. Burada kriter olarak ekspansiyon durumu, iç hücre kitlesinin hücre sayısı ve dağılımı ile trofoblastların durumu ayrıntılı olarak incelendi (**Şekil 3.21**).



Şekil 3.21 OPU sonrası 5. gün embriyo değerlendirilmesi

- 1) Erken Blastokist
- 2) Blastokist
- 3) Genişlemiş Blastokist
- 4) Zonadan Çıkmakta Olan Blastokist
- 5) Zonadan Çıkmış Blastokist

İç hücre kitlesi skoruması

- A. Sıkı paket halinde çok hücre içermesi
- B. Gevşek, çok sayıda hücre içermesi
- C. Çok az sayıda hücre içermesi

Trofoektoderm skoruması

- A. Birbirine sıkıca bağlı birçok hücreden oluşan epitel yapının bulunması
- B. Daha gevşek bağlı ve birkaç hücreden oluşan epitel yapının bulunması
- C. Çok az ve büyük hücrelerden oluşan epitel yapının bulunması

Embriyo transfer günü oluşan embriyo kohortunun performansına göre belirlenerek ya klivaj evresinde (2. veya 3. gün) ya da blastokist evresinde yapıldı. Embriyo transferi gününde hangi grup embriyoların tercih edileceği, IVF ve ICSI grubundaki embriyoların in vitro performanslarına göre belirlendi. Eğer iki embriyo transferi yapılacaksa ikisi de aynı gruptan tercih edildi. Mevcut ÜYTE yönetmeliğine göre kadın yaşının 35 ve üzerinde olması ve öyküde en az iki başarısız ÜYTE

denemesinin olması durumlarında iki embriyo transfer edilmesi uygun görülmektedir (25).

Transfer sabahı embriyolar değerlendirildikten sonra hastanın tıbbi kayıtları incelenerek transfer edilecek embriyo sayısına karar verildi. Embriyo transferi için daha önceden morfolojisine göre belirlenip seçilmiş, en iyi kaliteye sahip embriyolar transfer mediumu bulunan kaba aktarıldı ve laminar flow kabin ortamında stereomikroskop altında Hamilton enjektörü ile önce hava, ardından 10-25 µl medium ile birlikte embriyo(lar), tekrar hava, minimal medium ve tekrar hava transfer kateterine çekildi. Embriyo transferi anestezi kullanılmaksızın, hasta idrara sıkışık şekilde iken transabdominal ultrasonografi eşliğinde transservikal yoldan yapıldı. Transfer işlemi tamamlandıktan sonra iç kateter ve kılıfı tekrar laboratuvara iletildi. Stereomikroskop altında önce iç, sonra dış kateter embriyo retansiyonu açısından kontrol edildi.

Bütün olgularda luteal faz desteği için progesteron 200 mg kapsül günde üç kez birer tane vaginal yoldan uygulandı. OPU'dan bir gün sonra başlanan progesteron desteği gebelik testi gününe kadar devam etti. β-hCG testi, ET'den 12 gün sonra yapıldı. Gebelik testi pozitif çıkan hastalarda progesteron desteği gebeliğin sekizinci haftası tamamlanana kadar sürdürüldü. ET sonrası 4. haftada yapılan transvaginal ultrasonografi muayenesinde gebelik kesesinin görülmesi klinik gebelik olarak tanımlandı.

İstatistiksel analiz

Birincil sonuç değişkenleri olarak implantasyon hızı, klinik gebelik hızı ve abortus hızı belirlenmiştir.

SPSS (Statistical Package for Social Sciences) Ver.21 programı ile öncelikle kesikli veriler için frekans ve yüzde türünden, sürekli veriler için de ortalama ve standart sapma türünden tanımlayıcı (descriptive) istatistikler elde edilmiştir. Her ikisi de kategorik (kesikli) türden verilerin birbirleri ile karşılaştırılması için Ki-Kare testleri kullanılmıştır. Bağımsız değişkenlerin iki kategorik alt gruba sahip olduğu ve bağımlı değişkenlerin de sürekli türden olduğu analiz durumlarında ise iki bağımsız örnek ortalamasının fark testi (Student t testi) kullanılmıştır. Bir bütün içerisinde ortaya çıkma durumunu gösteren oranların karşılaştırılması için de Z testi analizleri yapılmıştır. Elde edilen P olasılık sonuçlarının, Alfa düzeyinde yanılma değeri olarak esas alınan 0.05 değerinden küçük olması durumunda istatistiksel farklılıkların olduğu sonucuna göre değerlendirmeler yapılmıştır.

4.BULGULAR

Demografik değişkenler, over rezervi ve infertilite etiyolojileri kıyaslandığında IVF-ET (n=38) ve ICSI-ET (n=49) gruplarında benzer oldukları görüldü (Tablo I).

Tablo 4.1 Demografik veriler

	IVF-ET	ICSI-ET	p
Hasta sayısı*	38(%43,7)	49(%56,3)	NA
Kadın yaşı*	30,16±4,96	30,24±4,76	0,934
BKİ*	23,20±4,55	23,84±4,87	0,533
AFS*	11,76±5,04	12,08±5,92	0,791

* Student-t testi

Her iki grubun stimülasyon karakteristikleri (Tablo 2), laboratuvar parametreleri ve klinik sonuç değişkenleri (Tablo 3) sırasıyla aşığıdaki tablolarda gösterilmiştir. Stimülasyon, laboratuvar ve klinik sonuç değişkenleri bakımından iki grup arasında anlamlı fark olmadığı saptanmıştır.

Tablo 4.2 Stimülasyon karakteristikleri

	IVF-ET	ICSI-ET	p
Stimülasyon süresi *	9,13±2,21	8,86±2,13	0,559
Gonadotropin unitesi*	1881,25±668,80	1945,67±571,55	0,630
D3 FSH*	5,99±3,00	6,02±2,84	0,973
D3 LH*	7,51±4,83	7,29±8,06	0,930
Zirve E₂*	2741,90±1744,12	1990,24±1291,99	0,086

* Student-t testi

Tablo 4.3 Laboratuvar ve klinik sonuç parametreleri

	IVF-ET	ICSI-ET	p
KOK sayısı *	19,74±11,05	17,96±7,61	0,377
Transfer edilen embriyo sayısı*	1,74±0,45	1,63±0,49	0,308
Klinik gebelik**	%63,16	%55,10	0,449
Düşük hızı**	%18,4	%8,2	0,199

* Student-t testi

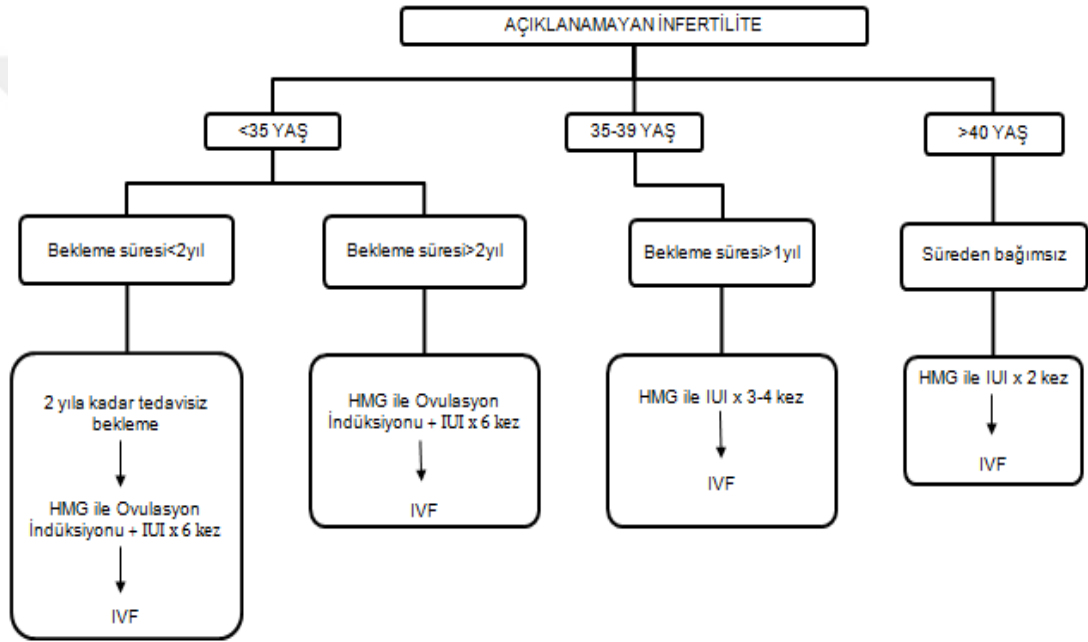
**Ki-kare testi

Toplam 808 adet KOK klasik IVF yöntemi için ayrılırken, 822 adet KOK ise ICSI işlemi için soyuldu. Total fertilizasyon yokluğu ile 7 olguda karşılaştıldı ve bunların hepsi de IVF grubu hastalardı. Fertilizasyon hızları (sırasıyla %53,84 vs %64,36 $p<0,05$) arasındaki farkı ve G1 embriyo/toplam embriyo sayısını (sırasıyla %54,54 ve %63,75) analiz etmek amacıyla significance test of population ratio (Z testi) kullanıldı. Fertilizasyon hızı için Z testi sonucu $Z=4,35>$ Z tablo değeri 1,96. Yani fertilizasyon hızı ICSI grubunda anlamlı şekilde daha yüksekti ($p<0,05$). G1 embriyo sayısı/total embriyo sayısı için Z test sonucu 1,15 idi $<$ Z tablo değeri 1,96 yani istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ($p>0,05$).

Z testi aynı zamanda IVF-ET ve ICSI-ET grupları arasındaki implantasyon hızlarını kıyaslamak için de kullanıldı (sırasıyla %30,3 ve %33,75). Z testi sonucu $Z=0,45<$ Z tablo değeri 1,96. Aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ($P>0,05$).

5. TARTIŞMA

Açıklanamayan infertilitenin yönetimi, infertilitenin diğer etiyolojik nedenleri ile kıyaslandığında üzerinde daha çok görüş ayrılıkları olan bir alandır. Birleşik Krallık'taki Ulusal Klinik Mükemmeliyet Enstitüsü [National Institute of Clinical Excellence (NICE)] uygulama kılavuzuna göre bu olgularda önerilen tedavi IUI iken (26), stimülasyon yapılan veya yapılmayan IUI denemelerinin 6 ay tedavisiz beklemeye göre gerçekten daha üstün olup olmadığını ciddi şekilde sorgulayan çalışmalar da vardır (27,28). Bununla birlikte, genel olarak bir basamak tedavisi düşünülebilir (Şekil 5.1).



Şekil 5.1 Açıklanamayan infertilite olgularında tedavi algoritması

En son yayınlanan ICMART verilerine göre, ICSI:IVF oranı Asya'da 1.4 iken, Orta Doğu'da 60.3 olarak bildirilmiştir (Tablo 5.1) (29).

Tablo 5.1 ICMART verilerine göre 2010 yılında dünyada yaklaşık IVF/ICSI uygulama oranları

	ICSI:IVF Oran
Avusturalya ve Yeni Zelanda	-
Asya	1.4
Sahra Ülkeleri	2.0
Avrupa	2.1
Kuzey Amerika	2.7
Latin Amerika	6.2
Orta Doğu	60.3

Klasik IVF yöntemi, erkek faktörü olmayan infertilite olgularında daha yüksek canlı doğum hızları sağlamaktadır **(19)**. ASRM (American Society of Reproductive Medicine)'nin uygulama kılavuzlarına göre, erkek faktörü olmayan infertilite olgularında ve öyküsünde fertilizasyon başarısızlığı olmayan hastalarda ICSI yönteminin rutin olarak tüm oositlere uygulanması akılcı görünmemektedir **(30)**.

Dahası, aynı kılavuzlara göre açıklanamayan infertilite olgularında, oosit sayısının az olduğu durumlarda ve ileri anne yaşı olgularında klinik sonuç iyleştirmemektedir **(30)**.

ICSI yöntemi için kesin endikasyon teşkil eden şiddetli OAT ve obstrüktif ve non-obstrüktif azospermi gibi durumlarda elbette IVF uygulanması düşünülmemelidir. Ayrıca öyküsünde klasik IVF yöntemi ile total fertilizasyon yokluğu olan bir hastada mükerrer denemede ICSI tercih edilebilir. Zira ICSI tekniği sırasında spermin kuyruğunun manupilasyonu ile hareketsizleştirmenin sitoplazmada bulunan oosit aktive edici faktörün de salınmasını sağladığı belirtilmektedir. Öte yandan kuyruk kısmının bastırılması işleminin yetersiz olması yani immobilizasyon işleminin yeterince yapılmamasının fertilizasyon oranlarını azalttığı bildirilmektedir.

Konvansiyonel IVF uygulamasında dikkat edilecek bir husus yüksek konsantrasyonda sperm ekilmesinin polispermik fertilizasyona neden olma riskidir. Üç veya daha fazla pronukleusla karşılaşılması anormal fertilizasyonu gösterir ve ikinci polar cisimciğin atılamamış olması veya polispermiden dolayı olabilir. Polispermi de oosit immatüritesi (kortikal reaksiyonun olamamasına neden olur), oositin fazla matüritesi ve/veya inseminasyon hacmi içinde aşırı yüksek konsantrasyonda motil spermatozoa olmasından kaynaklanır **(31)**. Bu bakımdan

genellikle 50.000-100.000 motil sperm ekilmesi önerilmektedir. ICSI işlemi için ise 1PN/3PN ile karşılaşma hızı, spesifik olarak bir tartışma konusu değildir.

IVF sonrasında tek pronucleus ile karşılaşma oranı %1-5 civarında olup bu durum; fertilizasyon, syngamy, pronucleusların eşzamanlı ortaya çıkmaması (aşırı derecede nadirdir) veya partenogenetik aktiviteye bağlı olabilir **(32)**.

Alpha derneğine göre zayıf fertilizasyon oranı (<%25 fertilizasyon olması) %8-14, total fertilizasyon yokluğu ise %4-6 arasında olmalıdır **(33)**.

Ülkemizde neredeyse tüm ÜYTE uygulamalarında rutin olarak ICSI tekniğinin uygulanıyor olması (tubal faktör, açıklanamayan infertilite gibi erkek faktörü dışında kalan gruplar da dahil) çok dikkat çekicidir. O halde uluslararası coğrafi derneklerin üreme tedavilerine dair raporları klasik IVF tekniğinin daha iyi sonuçlar verdiğini bildirmesine rağmen uygulayıcıları ICSI'yi daha çok tercih etmeye iten sebepler nelerdir?

Ülkemizde klinisyenlerin IVF uygulama yönünde alışkanlığının olmaması bir neden olabilir. Zira üreme alanında çalışmaya başlayan klinisyenler başlangıçtan itibaren rutin olarak ICSI uygulandığını gördükleri için pratik uygulamalarına bu şekilde devam etmektedirler. Bu nedenle de hastalarla görüşmelerde konvansiyonel IVF tekniğinden hemen hemen hiçbir zaman bahsedilmemekte, hastanın bu yönde merakı veya sorusu olduğunda ise ICSI ön plana çıkarılarak bir yönlendirme yapılmaktadır.

Laboratuvar ekibinde ise hem uygulama alışkanlığı hem de deneyim eksikliği önemli bir neden olabilir. IVF tekniğinin uygulama kolaylığı, zaman kazandırma ve maliyet etkinlik gibi birçok avantajlarının da olmasına rağmen, laboratuvar çalışanlarının büyük kısmı klasik IVF uygulamasını hiç görmeden yetişmektedirler. Yani daha pratik, daha az zaman alan, daha ekonomik ve tabii ki daha doğal olan konvansiyonel IVF tekniğinin uygun olan seçilmiş olgularda tercih edilmiyor olmasının ikna edici bir açıklaması yoktur!

Uygulayıcı bakış açısıyla irdelenecek olunursa konvansiyonel IVF yönteminde karşılaşılma olasılığı daha yüksek olan "total fertilizasyon yokluğu", uygulayıcıların hastalara karşı yanıtı çok açık olmayan bir soru ile karşı karşıya kalma tehdidi olarak durmaktadır. Konvansiyonel IVF yönteminde beklenen ortalama fertilizasyon oranı %67 civarındadır. ICSI yönteminde enjeksiyon yapılan oositlerin %25'inden azında fertilizasyon olması "zayıf fertilizasyon hızı" olarak değerlendirilmektedir. Total fertilizasyon yokluğu da ICSI'de siklusların %1-5

kadarında meydana gelmekle birlikte **(34,35)**, hem olasılığı IVF'e göre daha düşüktür hem de hastaya bu durumda açıklama yapmak daha kolay olmaktadır. Tygerberg kesin kriterleri, ÜYTE başarısını öngörmek için öne sürülmüştür **(22,36)**. Bununla birlikte, infertil bir çiftin IVF için uygun bir aday olup olmadığını belirlemek için, hazırlama-sonrası semende sperm sayısı/konsantrasyonu ve motilitesine bakılarak karar verilmelidir. İdeal olan, tedavi öncesi bir "prova yıkama" yapılmasıdır ki bu bile kesin olarak bir ölçüt olmayabilir. ESHRE'nin bu konudaki özel ilgi grubu ve Alpha derneğinin görüş birliği, her laboratuvarın IVF ve ICSI arasında karar verirken kendi sınır değerlerini belirlemesi yönündedir **(37)**. IVF uygulama kriteri olarak genel görüş birliği olan bir sperm indeksi olmaması nedeniyle, biz de çalışmamızda standardizasyonu da sağlamak amacıyla ampirik olarak bir indeks belirledik.

ICSI daha sonra ortaya konmuş bir yöntem olarak özellikle şiddetli erkek faktörü ve azoospermia olgularında bir can simidi olmakla birlikte, medyanın bu yöntemi çok ön plana çıkarması, konvansiyonel IVF'nin çok önemli avantajlarını gölgeleyecek şekilde hastaların algılarında yanılmaya neden olmuş görünmektedir. Özellikle kitle iletişim araçlarının hastalar üzerindeki yönlendirici etkisi nedeniyle uygulayıcılar da hastalardan gelen talebe göre hareket etmek zorunda kalabilmektedir. Konvansiyonel IVF tekniğinin avantaj ve olası dezavantajları aşağıdaki tabloda verilmiştir **(Tablo 5.2)**.

Tablo 5.2 ICSI ve IVF tekniklerinin birbirlerine üstünlükleri

	IVF	ICSI
Maliyet	Düşük	Yüksek
İş yükü	Daha az	Daha fazla
Süre	Zaman kazandırır	Zaman harcatır
Şiddetli erkek faktörü için	Uygun değildir	Uygundur
PGD olguları	Uygun değildir	Uygundur
İmplantasyon hızı	Benzer	Benzer
Düşük riski	Benzer	Benzer
Doğallık	Daha fazla	Daha az
Total fertilizasyon yokluğu	Daha sık	Daha nadir

Konvansiyonel IVF tekniğinin yukarıda belirtilen avantajlarının ötesinde önemli bir husus da ICSI sırasında sperm seçiminin doğal olarak yapılmayışına bağlı olarak epigenetik değişikliklerin ortaya çıkma riskidir. Bilindiği üzere epigenetik mekanizmalar, gen vurgulanmasının düzenlenmesinde anahtar rol oynarlar. Genomic imprinting, genlerin epigenetik olarak işaretlenerek, parental kökenine bağlı olarak monoallel olarak vurgulanmasıdır. Epigenetik programlanmada iki kritik dönem vardır: gametogenez ve erken preimplantasyon gelişim safhası. Epigenetik değişiklikler, DNA dizisinde değişiklikler olmaksızın aktif veya inaktif genlerin vurgulamasında (expression) meydana gelen ve potansiyel olarak kalıtılabilen değişikliklerdir. Diğer bir deyişle genotipte değişiklik olmaksızın fenotipte olan değişikliklerdir. Buna bağlı olarak hücrelerin o genleri okuma şekilleri değişmektedir. Epigenetik değişiklikler düzenli ve doğal olarak zaten olmakla birlikte; yaş, çevresel faktörler, yaşam şekli ve hastalıklar gibi çeşitli faktörlerce de etkilenebilirler. Bu değişiklikler olağan şekilde hücrelerin çeşitli organ hücrelerine farklılaşması ile sonuçlanabilirken, bazen de kanser gibi hastalıklara neden olabilmektedir.

Bu alanda yapılan çalışmalarda sadece gözlenen etkiler belirtilmiş olduğu için, bu etkilerin uygulanan teknolojiye mi yoksa hastalara ait içsel genetik risk faktörlerine mi bağlı olduğu ayırt edilemez. Bu ancak fare modeli gibi genetik olarak homojen bir sistem oluşturularak anlaşılabilir.

Erken embriyogenez dönemi epigenetik düzenleme açısından kritik bir zaman olduğu için çevresel faktörlere hassastır. ÜYTE yöntemlerinin kullanılmasının epigenetik değişiklikleri teşvik ettiği ve fetal büyüme ve gelişmeyi etkilediği gösterilmiştir. Fakat bu epigenetik imprinting bozukluklarının nedeni (ÜYTE, infertilite nedeni, hormonal hiperstimülasyon, IVF, ICSI, gametlerin mikromanipülasyonu, kültür mediumlarına maruziyet, in vitro oosit matürasyonu, transfere kadar geçen zaman) hala net değildir. İnsanlarda Beckwith-Wiedemann sendromu, Angelman sendromu ve Silver-Russell sendromu gibi çeşitli imprinting bozuklukları ÜYTE bebeklerinde doğal gebelikle oluşan bebeklere göre daha sık ortaya çıkmaktadır. Bu durum CpG bölge metilasyonunun kaybı şeklinde epigenetik değişikliklere bağlıdır **(38,39)**. In vitro embriyo kültürünün de DNA metilasyonunda değişikliklere eşlik ettiği hayvan deneylerinde gösterilmiştir.

Peki epigenetik değişiklik olasılığı bakımından konvansiyonel IVF ve ICSI arasında fark olabilir mi?

IVF, ICSI ve spontan gebelik sonucu doğan çocukların bukkal mukozalarından elde edilen DNA incelendiğinde, SNRPN (small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N) imprinted geninde DNA metilasyonunun ICSI yoluyla oluşan bireylerde anlamlı şekilde daha yüksek olduğu bulunmuştur. ICSI ile spontan gebelik kıyaslandığında (1.03%; 95% CI 0.10, 1.97; P = 0.031), ICSI ile konvansiyonel IVF kıyaslandığında ise (1.13%; 95% CI 0.04, 2.23; P = 0.043) **(40)**.

Doğal gebelik ve konvansiyonel IVF ile oluşan embriyolarda gen vurgulama profilleri incelendiğinde arada fark görülmemiş ve IVF yöntemi güvenli bulunmuştur. Bununla birlikte, ICSI tekniği ile oluşan embriyolarda gen vurgulama profilleri belirgin şekilde farklı bulunmuştur.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu tezde sunulan veriler ülkemizde IVF ve ICSI tekniklerini kıyaslayan ilk veriler olması bakımından çok önemlidir. Ülkemizin de içinde bulunduğu coğrafi bölgede ICSI tekniği uygulama oranının şaşırtıcı derecede yüksek olması, bu bölgeden böyle kıyaslayıcı verileri daha önemli hale getirmektedir. Özellikle açıklanamayan infertilite gibi tanı ve tedavisinde görüş birliği olmayan bir olgu grubu üzerinde bu kıyaslamaların yapılmış olması çalışmanın güçlü yönlerinden biridir. Çalışmanın kısıtlayıcı yönü ise olgu sayısının çok yüksek olmayışı ve retrospektif bir dizayna sahip olmasıdır. Bu çalışma, konvansiyonel IVF'e göre daha girişimsel ve daha yapay bir teknik olan ICSI'nin, kesin endikasyonlar dışındaki uygulamalarının daha fazla sorgulanmasına neden olacak ve hayati öneme sahip bu konuda bundan sonra gelecek çalışmalara öncülük edecektir.

Konvansiyonel IVF tekniği, ÜYTE endikasyonu olan "açıklanamayan infertilite" tanısı almış infertil çiftlerde; maliyet etkinlik, uygulama kolaylığı, zaman kazandırması nedeniyle tercih edilmelidir. Klinik gebelik hızı ve abortus hızının ICSI ile benzer olmasının yanısıra, doğan bebeklerin kısa ve özellikle uzun vadede karşılaşma olasılıkları olan epigenetik değişiklik, genomik imprinting gibi risklerin de göz önüne alınması, uygulanacak teknik seçilirken hem klinisyen hem de embriyolog tarafından dikkate alınmalıdır.

Sayı: EKK/2017/81
Konu: Ayşenur AVCI: YL tez çalışması

22/09/2017

T.C. MALTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

İlgi: 11647525-302.08.01-54 sayılı 28.08.2017 tarihli yazınız.

İlgi yazınız ekinde sunulan Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı, Klinik Embriyoloji Programı Tezli Yüksek Lisans öğrencilerinden Ayşenur AVCI tarafından gönderilen "Açıklanamayan İntertilite Olgularında IVF ve ICSI Sonuçlarının Karşılaştırılması" konulu tez önerisi ve ölçekleri 22/09/2017 tarihinde incelenerek T.C. Maltepe Üniversitesi Etik Kurulu Yönergesinin 6. maddesinde yazılı; "**bilimsel disipline bağlılık, yaşama saygı, zarar vermeme, olası zarar ve riskler konusunda tüm ilgilileri bilgilendirme, insan ve topluma sorumluluk**" gibi ilkelere uygun olduğuna; yayına temel oluşturan araştırmanın tasarım, planlama ve yürütülme aşamalarında katkıda bulunanlara yer verilmesi, eksiksiz ve doğru kaynak gösterilmesi, gereken biçim ve doğrulukta atıflarda bulunulması kaydıyla yapılmasının etik olarak uygun olduğuna; toplantıya katılan üyelerin oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi ve gereğini saygılarımla arz/rica ederim.



Prof. Dr. Belma AKŞİT
Etik Kurulu Başkanı



Prof. Dr. Necla ÖZTÜRK
Üye



Prof. Dr. Nurgün OKTİK
Üye

Prof. Dr. Hacer KARANİSOĞLU

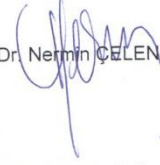
Üye



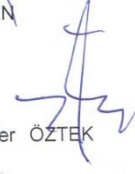
Prof. Dr. Durmuş GÜNAY
Üye (Katılmadı)

Prof. Dr. Nermin CELEN

Üye



Prof. Dr. Ahmet Zafer ÖZTEK
Üye



KAYNAKLAR

1. Steptoe PC, Edwards RG Birth after the reimplantation of a human embryo. Lancet. 1978;12;2(8085):366
2. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. Lancet. 1992;4;340(8810):17-8.
3. Duwe KN, Reefhuis J, Honein MA, Schieve LA, Rasmussen SA. Epidemiology of fertility treatment use among U.S. women with liveborn infants, 1997–2004. J Womens Health (Larchmt) 2010;19:407–16
4. Kupka MS, Ferraretti AP, de Mouzon J, Erb K, D’Hooghe T, Castilla JA, Calhaz-Jorge C, De Geyter C, Goossens V, European IVF-Monitoring Consortium, for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHRE. Hum Reprod 2014;29:2099–113.
5. Canadian ART Register Annual Reports http://www.cfasca/index.php?option=com_content&view=article&id=1076&Itemid=668
6. <https://www.saglik.gov.tr/>
7. Sullivan EA, Zegers-Hochschild F, Mansour R, Ishihara O, de Mouzon J, Nygren KG, Adamson GD. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies (ICMART) world report: assisted reproductive technology 2004. Hum Reprod. 2013;28(5):1375-90
8. Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing and transfer of an eight-cell embryo. Nature. 1983;305(5936):707-9.
9. Weissman A, Shoham G, Shoham Z, Fishel S, Leong M, Yaron Y. Preimplantation genetic screening: results of a worldwide web-based survey. Reprod Biomed Online. 2017;35(6):693-700
10. Kawamura K, Kawamura N, Hsueh AJ. Activation of dormant follicles: a new treatment for premature ovarian failure? Curr Opin Obstet Gynecol. 2016;28(3):217-22
11. Guz H, Ozkan A, Sarisoy G, Yanik F, Yanik A. Psychiatric symptoms in Turkish infertile women. J Psychosom Obstet Gynaecol. 2003;24(4):267-71.

12. Thoma ME, McLain AC, Louis JF, King RB, Trumble AC, Sundaram R, Buck Louis GM. Prevalence of infertility in the United States as estimated by the current duration approach and a traditional constructed approach. *Fertil Steril.* 2013;99(5):1324.
13. Gerrits T, Van Rooij F, Esho T, Ndegwa W, Goossens J, Bilajbegovic A, Jansen A, Kioko B, Koppen L, Kemunto Migiro S, Mwenda S, Bos H. Infertility in the Global South: Raising awareness and generating insights for policy and practice. *Facts Views Vis Obgyn.* 2017;9(1):39-44
14. Ombelet W, Goossens J. Global reproductive health - Why do we persist in neglecting the undeniable problem of childlessness in resource-poor countries? *Facts Views Vis Obgyn.* 2017;9(1):1-3.
15. Smith, S., Pfiefer, S.M., Collins, J., Diagnosis and management of female infertility. *JAMA* 2003; 290, 17
16. *Clinical Gynecologic Endocrinology*, Eds: Marc A. Fritz and Leon Speroff 8th Edition 2017;1190
17. Assisted reproductive technology in Europe, 2004: results generated from European registers by ESHRE A. Nyboe Andersen, V. Goossens, A.P. Ferraretti, S. Bhattacharya, R. Felberbaum, J. de Mouzon, K.G. Nygren, The European IVF-monitoring (EIM) Consortium, for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). *Hum Reprod.* 2008;23: 756–771
18. C. Calhaz-Jorge, C. de Geyter, M.S. Kupka, J. de Mouzon, K. Erb, E. Mocanu, T. Motrenko, G. Scaravelli, C. Wyns, and V. Goossens Assisted reproductive technology in Europe, 2012: results generated from European registers by ESHRE *Hum Rep* 2016; 31: 1638–52
19. SART. 2016. Society for Assisted Reproductive Technology. SART Clinic Summary Report 2013
20. Bhattacharya S, Hamilton MP, Shaaban M, Kalaf Y, Seddler M, Ghobara T, Braude P, Kennedy R, Rutherford A, Hartshorne G et al. Conventional in-vitro fertilization versus intracytoplasmic sperm injection for the treatment of non-male-factor infertility: a randomised controlled trial. *Lancet* 2001;357:2075–79
21. WHO Laboratory manual for the examination and processing of human semen. Fifth edition, World Health Organization 2010

22. 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):112-7.
23. Montag, M., van der Ven, H., German Pronuclear Morphology Study Group. Evaluation of pronuclear morphology as the only selection criterion for further embryo culture and transfer: results of a prospective multicentre study. *Hum. Reprod* 2001;16, 2384–89.
24. Alpha Scientists In Reproductive Medicine, ESHRE Special Interest Group of Embryology. The Istanbul consensus workshop on embryo assessment: proceedings of an expert meeting. *Hum. Reprod.* 26, 1270-1283. *And Reprod Biomed Online* 2011; 22:1632-46
25. [http://mevzuat.basbakanlik.gov.tr/Metin.Aspx?MevzuatKod=7.5.20085&MevzuatIliski=0&sourceXmlSearch=%FCremeye Yönetmeliğın ekleri](http://mevzuat.basbakanlik.gov.tr/Metin.Aspx?MevzuatKod=7.5.20085&MevzuatIliski=0&sourceXmlSearch=%FCremeye%20Yonetmeli%C7I%20ekleri)
26. National Institute of Clinical Excellence, 2004. Clinical Guideline 11 Fertility: assessment and treatment for people with fertility problems
27. Bhattacharya, S., Harrild, K., Mollison, J., Woodworth, S., Tay, C., Harrold, A.ve ark.. Clomiphene citrate or unstimulated intrauterine insemination compared with expectant management for unexplained infertility: pragmatic randomised controlled trial. *Br. Med. J.* 2008; 337, a716.
28. Steures, P., Van der Steeg, J.W., Hompes, P.G., Habbema, J.D., Eijkemans, M.J., Broekmans, F.J., Verhoeve, H.R., Bossuyt, P.M., Vander Veen, F., Mol, B.W. Intrauterine insemination with controlled ovarian hypertimulation versus expectant management for couples with unexplained sub fertility and an intermediate prognosis; a randomised clinical trial. *Lancet* 2006; 368, 216–21.
29. Dyer S, Chambers GM, De Mouzon J, Nygren KG, Zegers-Hochschild F, Mansour R, Ishihara O, Banker M, Adamson GD. International Committee for Monitoring Assisted Reproductive Technologies. World report on Assisted Reproductive Technologies: 2008, 2009 and 2010. *Hum Reprod* 2016;31:1588–1609.
30. ASRM, the practice committees of the American Society for Reproductive Medicine and Society for Assisted Reproductive Technology. Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI) for non-male factor infertility: a committee opinion. *Fertil Steril* 2012;98:1395–99

31. Wang, W.H., Day, B.N., Wu, G.M., 2003. How does polyspermy happen in mammalian oocytes? *Microsc. Res. Tech.* 61, 335–341.). $\geq 3\text{PN}$ ile karşılaşılma olasılığı %4-7 olarak bildirilmiştir (Joergensen, M.W., Labouriau, R., Hindkjaer, J., Stougaard, M., Kolevraa, S., Bolund, L., Agerholm, I.E., Sunde, L. The parental origin correlates with the karyotype of human embryos developing from tripronuclear zygotes. *Clin Exp Reprod Med* 2015; 42, 14–21.
32. Levron, J., Munne, S., Willadsen, S., Rosenwaks, Z., Cohen, J. Male and female genomes associated in a single pronucleus in human zygotes. *Biol. Reprod.* 1995; 52, 653–57
33. Alpha Scientists In Reproductive Medicine. The Alpha consensus meeting on cryopreservation key performance indicators and benchmarks: proceedings of an expert meeting. *Reprod Biomed Online* 2012; 25, 146–67.
34. Mahutte, N.G., Arici, A. Failed fertilization: is it predictable? *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2003; 15, 211–18.
35. Yanagida, K. Complete fertilization failure in ICSI. *Hum. Cell* 2004; 17, 187–93.
36. Coetzee, K., Kruger, T.F., Lombard, C.J. Predictive value of normal sperm morphology: a structured literature review. *Hum. Reprod. Update* 1998; 4, 73–82.
37. ESHRE Special Interest Group of Embryology and Alpha Scientists in Reproductive Medicine The Vienna consensus: report of an expert meeting on the development of ART laboratory performance indicators. *Reprod Biomed Online*. Article in press. open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)
38. Lawrence LT, Moley KH. Epigenetics and assisted reproductive technologies: human imprinting syndromes. *Semin Reprod Med* 2008; 26:143-52
39. Le Bouc Y, Rossignol S, Azzi S, Steunou V, Netchine I, Gicquel C. Epigenetics, genomic imprinting and assisted reproductive technology. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2010;71(3):237-8.
40. Whitelaw N, Bhattacharya S, Hoad G, Horgan GW, Hamilton M, Haggarty P. Epigenetic status in the offspring of spontaneous and assisted conception. *Hum Reprod.* 2014;29(7):1452-8.

ÖZGEÇMİŞ

01.01.1987'de Ankara' da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Antalya Kocademir İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimini ise Antalya 75. Yıl Cumhuriyet Lisesi'nde (Almanca yabancı dil ağırlıklı) tamamladı. 2010 yılında Marmara Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden mezun oldu. Lisans eğitimi sırasında Pedagojik Formasyon Sertifika Programını tamamladı. Mezun olduktan sonra 2010 yılında Antalya Özel Gelecek Tüp Bebek Merkezi'nde Androloji-Embriyoloji laboratuvarlarında biyolog olarak çalışmaya başladı ve halen aynı merkezde çalışmaktadır. "ÜYTE uygulamalarında ardışık ve ardışık olmayan embriyo kültür ortamlarının kıyaslanması" Klinik Embriyoloji Derneği kongresinde, "Endometriozis olan ve olmayan hastalarda yumurta kalitesi karşılaştırılması" ve "Sigaranın yumurta kalitesi üzerine etkisi" adlı çalışmalar ESHRE kongresinde sunulmuştur. European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE), Özel Tüp Bebek Merkezleri Derneği (TBMD) ve Üreme Tıbbi Derneği'ne (ÜTD) üyedir.

