

**T.C.
Maltepe Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**ERKEK FAKTÖRÜNÜN EMBRİYO BÖLÜNME
ANORMALLİKLERİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ZAMAN
ARALIKLI EMBRİYO GÖRÜNTÜLEME YÖNTEMİ İLE
İNCELENMESİ**

Mol. Bio. Burcu UĞURLU

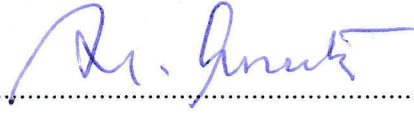
**KLİNİK EMBRİYOLOJİ
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Mehmet CINCIK**

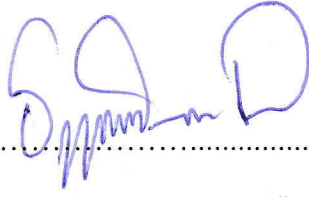
**İstanbul
2017**

T.C. Maltepe Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne,

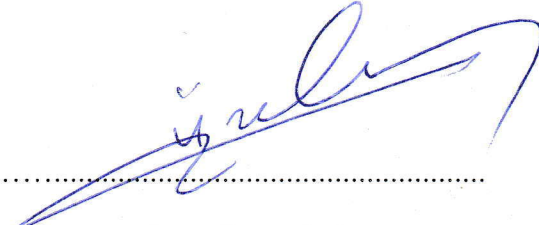
07.11.2017 tarihinde tezinin savunmasını yapan Burcu UĞURLU' ya ait "Erkek Faktörünün Embriyo Bölünme Anormallikleri Üzerindeki Etkisinin Zaman Aralıklı Embriyo Görüntüleme Yöntemi İle İncelenmesi" başlıklı çalışma, Jürimiz tarafından Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı, Klinik 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)

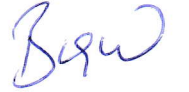
YEMİN METNİ

07/11/2017

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “*Erkek Faktörünün Embriyo Bölünme Anormallikleri Üzerindeki Etkisinin Zaman Aralıklı Embriyo Görüntüleme Yöntemi İle İncelenmesi*” 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.

151503103

Burcu UĞURLU



TEŞEKKÜR

Sadece tez aşamasında değil, yüksek lisans hayatım boyunca bana yol gösteren, yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Mehmet CINCIK'a teşekkürlerimi sunarım. Tez jürimde yer alan, eğlenceli derslerle bilgi birikimlerini bizimle paylaşan saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Özgür DÜNDAR ve Prof. Dr. Ümit ÖZEKİCİ'ye çok teşekkür ederim.

Tez konusu bulmamda emeği geçen, değerli fikirleriyle tezime katkıda bulunan Prof. Dr. Markus MONTAG'a çok teşekkür ederim.

Verilerini paylaşan VKV Amerikan Hastanesi Kadın Sağlığı Bölümü'ne, her türlü yardım ve desteklerinden dolayı VKV Amerikan Hastanesi Embriyoloji Laboratuvarı sorumlusu Emb. Başak BALABAN'a, kullandığım verilerin hazırlanmasında emeği geçen ve hem embriyoloji laboratuvarında hem de hayatta deneyim kazanmamı sağlayan tüm VKV Amerikan Hastanesi Embriyoloji Laboratuvarı çalışanlarına teşekkür ederim.

Desteklerini esirgemeyen, bilgi birikimlerini benimle paylaşan, kullandığım verilerin hazırlanmasında büyük katkıda bulunan Koç Üniversitesi Hastanesi Embriyoloji Laboratuvarı sorumlusu Emb. İpek KELEŞ'e çok teşekkür ederim.

Verilerin istatistiksel işlenmesindeki büyük katkılarından dolayı Sayın Emire BOR'a ve ekibine, desteğini ve sevgisini esirgemeyen sevgili arkadaşım Mol. Bio. Öykü AŞÇI'ya teşekkür ederim.

Hayatımın her aşamasında yanımda olan ve arkamda duran bugünlere gelmemi sağlayan çok değerli annem, babam ve canım kardeşime çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans hayatımın başlamasını sağlayan, her konuda en büyük destekçim olan, dünyanın en mutlu insanı olmamı sağlayan canım eşime çok teşekkür ederim.

ÖZET

ERKEK FAKTÖRÜNÜN EMBRİYO BÖLÜNME ANORMALLİKLERİ ÜZERİNDEKİ ETKİSİNİN ZAMAN ARALIKLI EMBRİYO GÖRÜNTÜLEME YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

Günümüzde infertilite nedenlerinin önemli bir kısmı erkek kaynaklı faktörlerdir ancak bu faktörlerin embriyo üzerindeki etkisi tam olarak bilinmemektedir. Bu çalışmada, VKV Amerikan Hastanesi'nden alınan verilerden erkek faktörü olduğu ve kadın faktörü olmadığı bilinen çiftlerin (n=215), zaman aralıklı görüntüleme sistemindeki embriyo bilgileri (n=1954) retrospektif incelenerek embriyo bölünmesinde gerçekleşen anomalilerde erkek faktör etkisi araştırılmıştır. Karşılaştırma yapabilmek için ise kadın ve erkek faktör olmadığı bilinen çiftlerden (n=221) rastgele ve deney grubu ile eşit büyüklükte (1954 embriyo) bir grup oluşturulmuştur.

Çalışmamızda embriyoları incelenen erkek faktörlü hastalar, hafif erkek faktörlü (HEF) hasta, oligoastenoteratozoospermili (OAT) hasta, ciddi oligoastenoteratozoospermili (C. OAT) hasta, virtual azospermili (VA) hasta ve testiküler sperm ekstrasyonu (TESE) yapılmış hasta olarak 5 gruba ayrılmıştır. Böylelikle sperm sayısına göre de bölünme anomalileri karşılaştırılmıştır.

İncelenen bölünme anomalileri direkt bölünme, tek pronükleus olması, fragmantasyon, geri birleşme, anormal beşe bölünme zamanı (t5), anormal blastulasyon başlama zamanıdır (tSB). Aynı zamanda gebelik üzerindeki etkilerin gözlemlenebilmesi için gebelik sonuçları da karşılaştırılmıştır.

Elde edilen sonuçlara göre, erkek faktörünün embriyoda erkek faktörü olmayan embriyolara göre fertilizasyon oranını ve geri birleşme oranını düşürdüğü, 3'e direkt bölünme oranını arttırdığı ve daha az embriyonun bölünmenin ileri aşamaların ulaştığı görülmüştür. Bunların yanı sıra, gebelik oranları incelenmiş ancak istatistiksel anlamlı bir sonuca ulaşılamamıştır. Fakat, abort görülme oranının, erkek faktörlü hastaların embriyolarında göreceli olarak daha yüksek olduğu saptanmıştır.

Anahtar kelimeler: Erkek faktör, bölünme anormallikleri, zaman aralıklı görüntüleme sistemi.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE EFFECT OF MALE FACTOR ON CLEAVAGE ABNORMALITIES WITH THE TIME-LAPSE SYSTEM

At the present time, a significant part of infertility reasons is due to male factors. However, the impact of these factors on embryo is not known. In this study, male factor effect on abnormalities of embryo (n=1954) cleavage is retrospectively investigated among male factor patients with healthy wife (n=215) which is from time-lapse system data of VKV American Hospital. In order to compare results, both male and female healthy same-size group (n=1954) is randomly selected as control group.

In our study, investigated male factor patients are classified in 5 groups as mild male (HEF), oligoasthenoteratozoospermia (OAT) patients, severe oligoasthenoteratozoospermia (C. OAT) patients, virtual azoospermia (VA) patients and testicular sperm extraction (TESE) patients. Consequently, cleavage abnormalities can be compared according to sperm number.

Investigated cleavage abnormalities are direct cleavage, mono pronucleus, fragmentation, reverse cleavage, abnormal time of cleavage to 5 cells (t5) and abnormal time of start of blastulation (tSB). Meanwhile, in order to observe effects on pregnancy, pregnancy result be also compared.

According to results, male factor embryos, rather than non-male factor embryos, decrease fertilization rate and reverse cleavage rate, increases direct cleavage to 3 and fewer embryos reach advance embryo cleavage stages. Besides of these, pregnancy rates are examined, but any statistically significant result is not found. However, abort rates of male factor embryos are found at relatively higher rates.

Keywords: Male factor, cleavage abnormalities, time-lapse system.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ONAY SAYFASI	iii
YEMİN	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar VE GRAFİKLER DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
1.1. Araştırmanın Önemi	1
1.2. Araştırmanın Amacı	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Sperm ve Spermatogenez	3
2.2. Fertilizasyon ve Embriyo	8
2.3. Zaman Aralıklı Embriyo Görüntüleme Sistemi	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM	17
3.1. Deney ve Kontrol Grupları	17
3.2. Solüsyonların Hazırlanması	18
3.2.1. Sperm İçin Hazırlanan Solüsyonlar	18
3.2.2. Oosit İçin Hazırlanan Solüsyonlar	18
3.3. Sperm İşlemleri	19
3.3.1. Sperm Örneğinin Toplanması	19
3.3.2. Sperm Değerlendirilmesi (Spermiyogram)	19
3.3.3. Sperm Yıkama İşlemi	20
3.3.4. Testiküler Sperm Ekstrasyonu (TESE)	21
3.4. Oosit İşlemleri	21
3.4.1. Oosit Toplanması	21
3.4.2. Oosit Yıkama İşlemi	21

3.4.3. Sitoplazma İçine Sperm Enjeksiyonu (SİSE / ICSI)	22
3.5. EmbryoScope İşlemleri	22
3.5.1. EmbryoScope Tabağı Hazırlanması	22
3.5.2. Embriyo Notlandırma	24
3.5.3. Embriyo Seçilmesi	24
3.5.4. Embriyo Transfer İşlemi	26
3.5.5. EmbryoScope Verilerinin Bilgisayar Ortamına Aktarılması ve İşlenmesi	26
3.6. İstatistik İşlemleri	27
4. BULGULAR	28
4.1. Mono Pronükleus	28
4.2. Direkt Bölünme	30
4.3. Fragmantasyon	36
4.4. Geri Birleşme	39
4.5. Beşe Bölünme Zamanı (t5)	41
4.6. Blastulasyon Başlama Zamanı (tSB)	42
4.7. Gebelik	46
5. TARTIŞMA	48
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	53
KAYNAKLAR	54
ÖZGEÇMİŞ	55

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Kısaltma	Açıklaması
B	Blastosist
C	Kompaksiyon (<i>Compaction</i>)
Ca ⁺⁺	Kalsiyum iyonu
DC	Dekompaksiyon (<i>Decompaction</i>)
DCC	Net dekomaksiyon (<i>Decompaction clear</i>)
DCU	Net olmayan dekomaksiyon (<i>Decompaction unclear</i>)
Dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
DSÖ / WHO	Dünya Sağlık Örgütü / World Health Organization
EB	Genişlemiş blastosist (<i>Expanded Blastocyst</i>)
ESHRE	Avrupa İnsan Üreme ve Embriyolojisi Derneği (<i>European Society of Human Reproduction and Embryology</i>)
g	Yerçekimi sabiti
GER	Granüllü endoplazmik retikulum
HB	Çatlamış blastosist (<i>Hatching Blastocyst</i>)
HEF	Hafif erkek faktör (<i>Mild male</i>)
ICM	İç hücre kitlesi (<i>Inner cell mass</i>)
IM	İmmobil sperm
LH	Luteinleştirilen hormon
M	Morula
MAR	Karma Antiglobülin Reaksiyonu (<i>Mixed Antiglobulin Reaction</i>)
MI	Metafaz I
MII	Metafaz II
ml	Mililitre
mRNA	Mikro ribonükleik asit
Na/K-ATPaz	Sodyum/Potasyum-Adenozintrifosfataz pompası
NP	İleri olmayan hareket (<i>Non-progressive</i>)
OAT	Oligoastenoteratozoospermi
Ort	Ortalama
PB	Kutup cisimciği (<i>Polar body</i>)
PC	Kısmi kompaksiyon (<i>Partial compaction</i>)
PCC	Net kısmi kompaksiyon (<i>Partial compaction clear</i>)
PCU	Net olmayan kısmi kompaksiyon (<i>Partial compaction unclear</i>)
PN	Pronükleus (<i>Pronuclei</i>)
PNa	Pronükleusun görülmesi (<i>Pronuclei appear</i>)

PNd	Pronükleusun kaybolması (<i>Pronuclei disappear</i>)
PR	İleri hareket (<i>Progressive</i>)
PVP	Polivinilpirolidon
rpm	1 dakikadaki dönüş sayısı (<i>Revolutions per minute</i>)
sa.	Saat
SB	Blastosist başlangıcı (<i>Start of blastulation</i>)
Ss	Standart sapma
TE	Trafoektoderm
TESA	Testiküler sperm aspirasyonu (<i>Testicular sperm aspiration</i>)
TESE	Testiküler sperm ekstrasyonu (<i>Testicular sperm extraction</i>)
ZAEG	Zaman aralıklı embriyo görüntüleme sistemi (<i>Time-lapse system</i>)
ZP	Zona pelusida
°C	Sandigrad derece
µl	Mikrolitre
~	Yaklaşık
±	Artı eksi
≤	Küçük eşit
≥	Büyük eşit
<	Küçüktür
>	Büyüktür

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: Seminifer Tübüllerde Spermiyogram Aşamaları.

Şekil 2.2: Sperm Fizyolojisi.

Şekil 2.3: Anormal Sperm Morfolojileri.

Şekil 2.4: Kadın Üreme Sisteminde Döllenme ve Erken Embriyo Gelişimi.

Şekil 2.5: Embriyonun Günlere Göre Gelişimi. (a) Döllenmiş, erkek ve dişi PN'leri ile kutup cisimcikleri görülen yumurta, (b) 2 blastomerli embriyo, (c) 4 blastomerli embriyo, (d) çok blastomerli embriyo, (e) morula, (f) blastosist.

Şekil 2.6: Çeşitli PN Sayılarına Sahip Döllenmiş Yumurta Örnekleri. (a) 2 PN, (b) 1 PN (mono PN), (c) 3 PN.

Şekil 2.7: Fragmantasyonlu Embriyo Örnekleri. (a) %0 fragmantasyon, (b) < %10 fragmantasyon, (c) %10-%25 fragmantasyon, (d) > %5 fragmantasyon.

Şekil 2.8: Multinükleuslu Embriyo Örneği. (a) Normal kabul edilen tek nükleuslu blastomerleri olan embriyo, (b) iki blastomerinde de multinükleasyon olan embriyo.

Şekil 2.9: Standart Sistem ve Zaman Aralıklı Embriyo Görüntüleme Sistemi Karşılaştırılması.

TABLolar VE GRAFİKLER DİZİNİ

Tablolar

- Tablo 2.1:** Dünya Sağlık Örgütü Semen Referans Değerleri.
- Tablo 3.1:** Erkek Faktörünün Sperm Sayısına Göre Sınıflandırılması.
- Tablo 3.2:** Çalışmada Kullanılan Embriyo ve Hasta Sayılarının Dağılımı.
- Tablo 3.3:** Sperm Morfolojisine Göre Sperm Yıkamada Kullanılan Sentrifüj Hızları.
- Tablo 3.4:** Evrelere Göre EmbriyoScope Parametreleri ve Açıklamaları.
- Tablo 3.5:** Embriyolar İçin Belirli Saatlerde Yapılabilecek Kontroller ve Beklenen Embriyo Evreleri. (Zamanlama inseminasyon sonrası saat olarak verilmiştir.)
- Tablo 3.6:** Bölünme Aşamasındaki Embriyonun Değerlendirilmesinde Blastomer Sayısı Dışında Kullanılan Kriterler.
- Tablo 3.7:** Dördüncü gün Embriyosunu Değerlendirmek İçin Kullanılan Kriterler.
- Tablo 3.8:** Blastosist Derecelendirme Kriterleri.
- Tablo 4.1:** Gruplara Göre Mono PN Değerlendirmesi.
- Tablo 4.2:** Gruplara Göre 1 Pronükleus Saptanan Olgularda Bölünme Şekillerinin Değerlendirilmesi.
- Tablo 4.3:** Hasta Grubunda 1 Pronükleus Saptanan Olgularda Gözlenen Erkek Faktörlerinin Değerlendirilmesi.
- Tablo 4.4:** Gruplara Göre Direkt Bölünme Değerlendirmesi.
- Tablo 4.5:** Hasta Grubunda Erkek Faktörlerine Göre Bölünme Şekillerinin Değerlendirilmesi.
- Tablo 4.6:** Hasta Grubunda Bölünme Şekline Göre Erkek Faktörlerinin Değerlendirilmesi.
- Tablo 4.7:** Gruplara Göre Fragmentasyon Değerlendirmesi.
- Tablo 4.8:** Hasta Grubunda Erkek Faktörlerine Göre Fragmentasyon Değerlendirmesi.
- Tablo 4.9:** Gruplara Göre Geri Birleşme Durumunun Değerlendirmesi.
- Tablo 4.10:** Hasta Grubunda Geri Birleşme Saptanan Olgularda Gözlenen Erkek Faktörlerinin Değerlendirmesi.

Tablo 4.11: Hasta ve Kontrol Gruplarına Göre t5 Değerlendirmesi.

Tablo 4.12: Hasta Grubunda Erkek Faktörlere Göre t5 Değerlendirilmesi.

Tablo 4.13: Gruplara Göre tSB Değerlendirmesi.

Tablo 4.14: Hasta Grubunda Erkek Faktörlerine Göre tSB Değerlendirilmesi.

Tablo 4.15: Hasta Grubunda Erkek Faktörlerine Göre SB Zamanlarının Değerlendirilmesi.

Tablo 4.16: Gruplara Göre Embriyo Transferi ve Gebelik Durumunun Değerlendirmesi.

Grafikler

Grafik 4.1: Gruplara Göre Mono PN Dağılımları.

Grafik 4.2: Hasta Grubunda Olup Mono PN Gözlenen Embriyolarda Erkek Faktörlerinin Dağılımları.

Grafik 4.3: Gruplara Göre Tüm SİSE Yapılan Oositlerde 2'ye Bölünmenin Karşılaştırılması.

Grafik 4.4: Gruplara Göre Embriyolarda 2'ye Bölünmenin Karşılaştırılması.

Grafik 4.5: Gruplara Göre Embriyolarda 3'e Direkt Bölünme Oranlarının Dağılımları.

Grafik 4.6: Gruplara Göre Embriyolarda 4'e Direkt Bölünme Oranlarının Dağılımları.

Grafik 4.7: Erkek Faktörlerine Göre 2'ye Bölünme Oranlarının Dağılımları.

Grafik 4.8: Erkek Faktörlerine Göre 4'e Direkt Bölünme Oranlarının Dağılımları.

Grafik 4.9: Gruplara Göre Fragmentasyon Dağılımları.

Grafik 4.10: Gruplara Göre Geri Birleşme Oranlarının Dağılımları.

Grafik 4.11: Hasta Grubunda Olup Geri Birleşme Saptanan Olgularda Erkek Faktörlerinin Dağılımları.

Grafik 4.12: Gruplara Göre t5 Varlığı Dağılımları.

Grafik 4.13: Gruplara Göre tSB Dağılımları.

Grafik 4.14: Gruplara Göre Blastulasyon Başlama Zamanları.

Grafik 4.15: Erkek Faktörlerinin Normal Aralıkta tSB Dağılımları.

Grafik 4.16: Erkek Faktörlerinin Normal Aralık Dışında Kalan tSB Dağılımları.

Grafik 4.17: Gruplara Göre Gebelik Durumlarının Dağılımları.

1. GİRİŞ

1.1. Araştırmanın Önemi

Dünya üzerinde yaklaşık 48,5 milyon çiftin, yani her 100 çiftten 15inin infertil olduğu hesaplanmaktadır. 48,5 milyon çiftin yaklaşık %50'sinde erkek yardımcı veya tek faktör olarak etkilidir. Sadece erkek kaynaklı olduğu düşünülen vakaların yüzdesi ise %20 ile %30 olarak belirlenmiştir. ⁽¹⁾ Bu sayılar, infertilitede erkek faktörünün önemli bir yeri olduğunu göstermektedir. Ancak akademik çalışmalarda infertilitede kadın faktörü daha çok incelenmiştir.

Zaman aralıklı embriyo görüntüleme sistemi (ZAEG) ile embriyodaki değişimler detaylı olarak izlenmiş ve morfolojik olarak daha kaliteli embriyo seçimi için algoritmalar oluşturulmuştur. Ancak embriyo gelişiminde hala çözümlenememiş sorular bulunmaktadır. ZAEG ile embriyoların detaylı incelenmesi, iyi embriyo seçiminde yeni kriterler oluşturulmasını sağlamaktadır.

Embriyo bölünmesinde erkek faktörünün etkisi şimdiye kadar çoğunlukla bölünme zamanları ele alınarak incelenmiştir. ⁽²⁻⁴⁾ Zaman aralıklı embriyo görüntüleme sistemi kullanılarak embriyoda bölünme zamanlamasının dışında, bölünme anormalliği olarak adlandırılacak kriterler de incelenebilir. Böylece hakkında az bilgi bulunan erkek faktörünün etkisi daha detaylı incelenebilir ve iyi embriyo için gerekli olan kriterlerle sperm ilişkisi kurulabilir.

1.2. Araştırmanın Amacı

Embriyonun genetiğinden anne ve baba eşit oranlarda etkilidir. Oositten kaynaklanabilen sorunlar gibi sperm DNA fragmantasyonu gibi bir sorundan dolayı embriyoda genetik bir sorun oluşabilir ve bu da gelişimsel bir anormallik doğurabilir. ⁽⁵⁾

Bölünme aşamasındaki embriyodan mitoz bölünmeler geçirerek blastomer sayısını arttırması beklenmektedir. Bölünme sırasında gerçekleşebilecek multinükleasyon ⁽⁶⁾, 1den 3e direkt bölünme ⁽⁷⁾, bir pronükleus (PN) gözlemlenmesi ⁽⁸⁾, fragmantasyon, bölünme zamanlamalarının normal kabul edilen değerlerin dışında olması ⁽⁹⁾ embriyoda genetik bir anomali olabileceği olasılığını arttırdığı düşünülmektedir. Ancak bu anormalliklerin her zaman neden kaynaklandığını bilememekteyiz.

Embriyo gelişiminde şimdiye kadar sadece sperm deoksiribonükleik asit (DNA) fragmantasyonundan kaynaklı sorunlar olabileceği bulunmuştur. ⁽¹⁰⁾ Sperm kaynaklanabilecek sorunlar detaylı olarak aydınlatılmamıştır.

Bu çalışmada ZAEG ile EmbryoScope kullanılarak düzenli olarak görüntülenen embriyolarda bölünürken oluşan multinükleasyon, birden üçe direkt bölünme, tek PN gözlemlenmesi, fragmantasyon oluşumu gibi bölünme anormallikleri gözlemlenerek sperm sayısına göre sınıflandırılmış erkek gruplarına dağılımı incelendi. Böylece, embriyo bölünmesinde görülen anormal durumlarda erkek faktörünün etkisi incelendi.



2. GENEL BİLGİLER

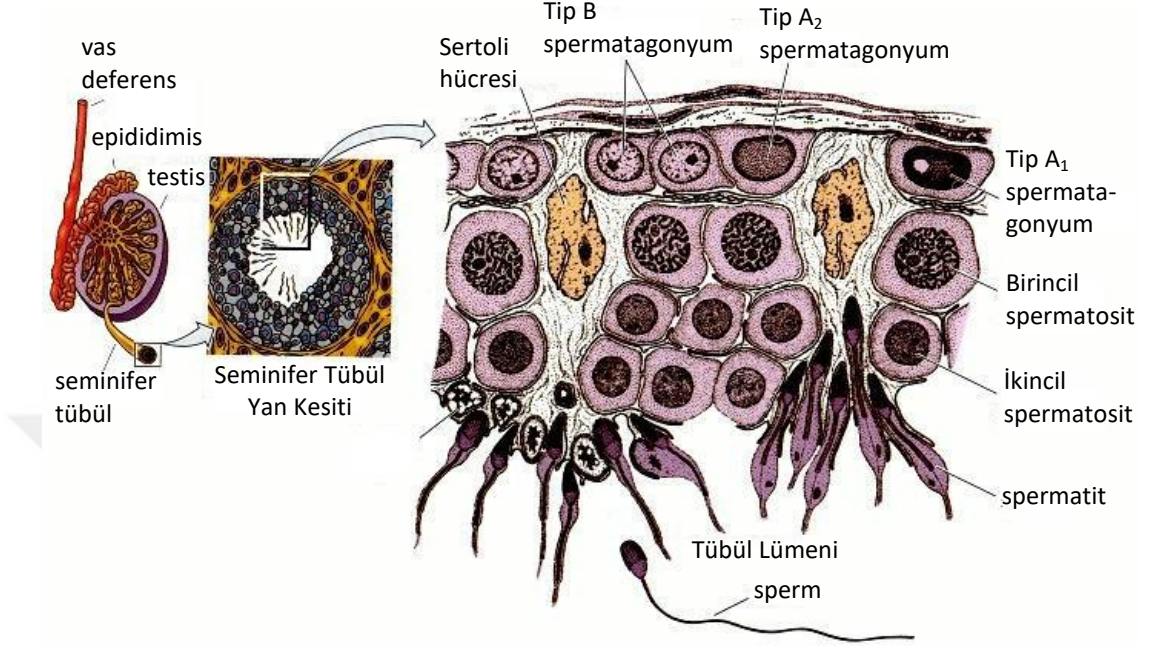
2.1. Sperm ve Spermatogenez

Erkek gamet hücresi spermdir ve ergenlikle birlikte spermatogenez adı verilen, mayoz, mitoz bölünmeler ve başkalaşım içeren bir süreçle seminifer tübüllerde üretilir. Sperm oluşumu kişiden kişiye değişmekle birlikte ortalama 74 günde oluşmaktadır.⁽¹¹⁾

Bir erkek doğduğunda testislerinde bulunan seks kordonlarında foliküler hücrelerle çevrili büyük ve solgun renkli hücreler bulunmaktadır. Daha sonra seks kordon hücreleri seminifer tübülleri, foliküler hücreler Sertoli hücrelerini ve büyük solgun hücreler primordial germ hücrelerini oluşturacaktır. Primordial germ hücreleri önce spermatogonial sperm hücrelerine daha sonra da düzenli aralıklarla tip A spermatogonyumu ($2n$) oluşturmaktadır. Ergenlikle birlikte spermatogenez başlamaktadır.^(11, 12)

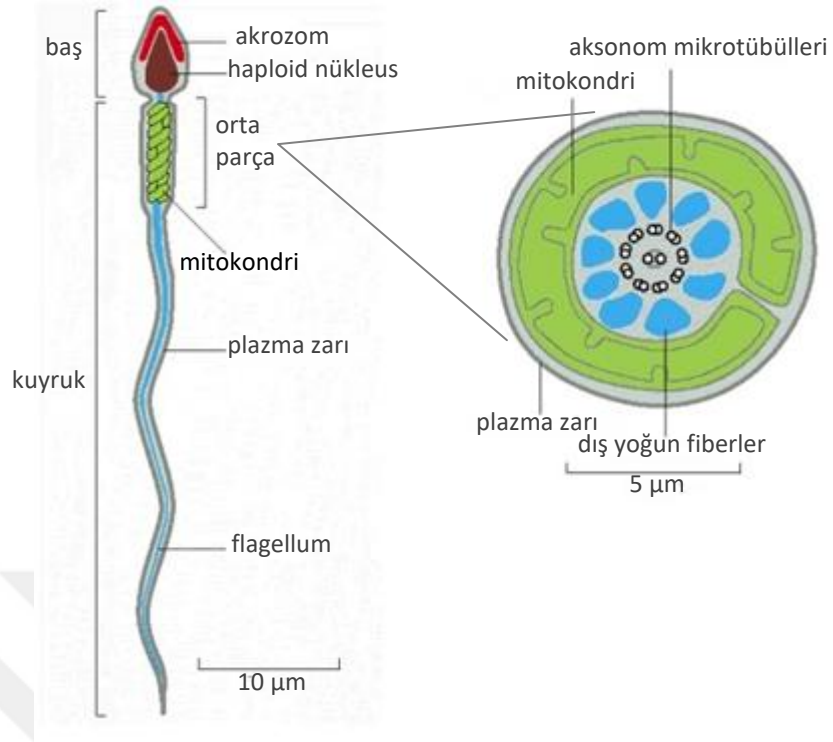
Bu süreçte hipofiz bezinden salgılanan Lüteinleştirilen hormon (LH) Leydig hücrelerinin reseptörlerine bağlanarak testosteron oluşumunu sağlar. Salgılanan testosteron Sertoli hücrelerine bağlanarak spermatogenez başlatır.⁽¹³⁾ Sertoli hücrelerine gömülü olarak bulunan tip A spermatogonyumlar tip A_1 ve tip A_2 olarak ikiye ayrılmaktadır. Tip A_1 spermatogonyumlar ($2n$) koyu renklidir ve çekirdeğinin inaktif olduğu düşünülmektedir. Tip A_2 spermatogonyumlar ($2n$) ise daha açık renklidir ve aktif bir çekirdeğe sahiptir. Bir dizi mitoz bölünme geçirerek çekirdek sayısını ve sitoplazmasını arttırmakta ve tip B spermatogonyumu ($2n$) oluşturmaktadır. Bu aşamada mitoz bölünmelerde sitokinez tamamlanmamaktadır ve bu yüzden hücreler arası sitoplazmik köprüler kurulmaktadır. Sitoplazmik köprüler, oluşan tüm hücrelerin birbirleriyle bağlantılı olarak aynı anda farklılaşmasını sağlamaktadır. Tip B spermatogonyum hücreleri diploidtir ve bölünerek primer spermatositleri ($2n$) oluşturmaktadır. Primer spermatositler uzun bir profaz evresi içeren birinci mayoz bölünme geçirerek sekonder spermatositleri (n) oluşturmaktadırlar ve bu hücrelerin mayozun ikinci evresini geçirmesi ile de spermatitler oluşmaktadır (n).^(11, 12) Spermatogonyum ve spermatitler, onlara besin ve destek sağlayan Sertoli hücrelerine gömülü olarak bulunmaktadır.⁽¹³⁾ Spermatitler spermiyogenez adı verilen bir dizi değişim geçirdikten sonra olgunlaşarak

spermatozoayı oluşturmaktadırlar ve bu olgun hücreler Sertoli hücrelerinden salınılmaktadırlar. (11, 12)



Şekil 2.1 Seminifer Tübüllerde Spermiyogram Aşamaları. (12)

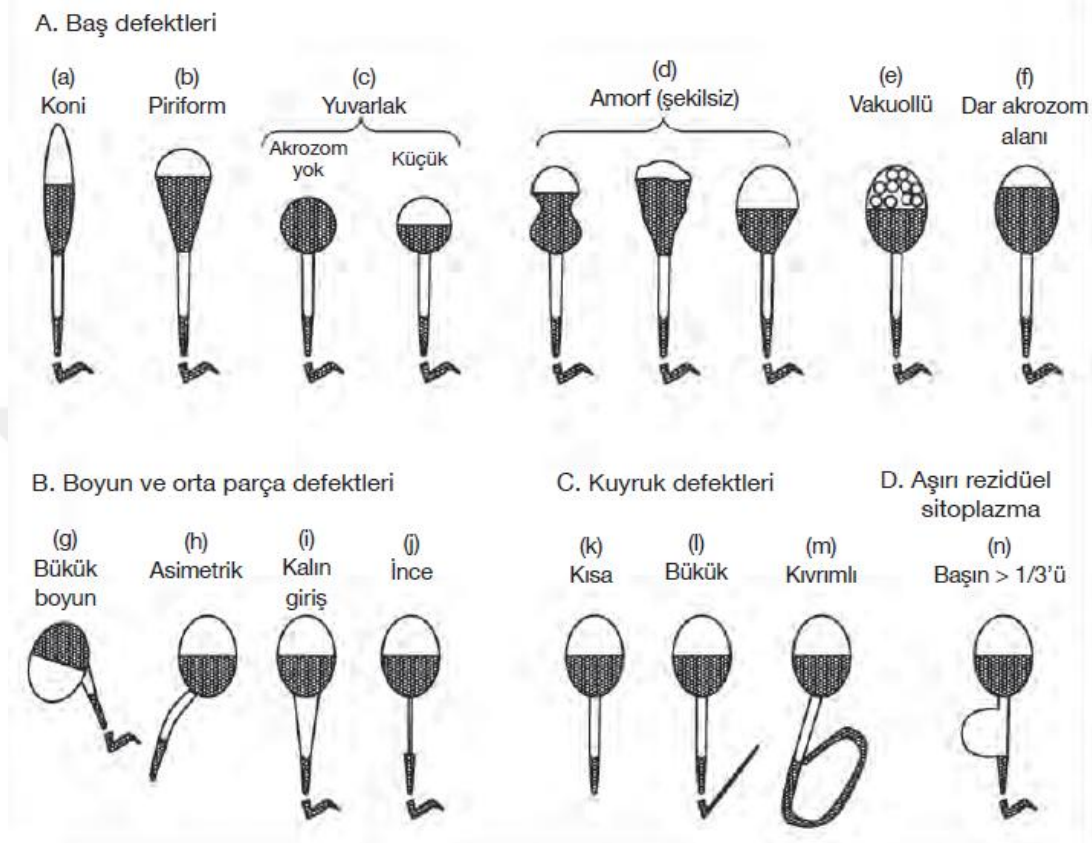
Spermatitlerin spermatozoaya dönüşmesinde bir adım akrozom oluşumudur. Öncelikle golgi cisimciği ileride oositin hücre çeperini geçmeyi sağlayacak hidrolitik enzimler salgılar ve bu enzimler bir çeperle sarılarak akrozomal vezikül oluşturulur. Akrozomal vezikül büyüyerek basal laminaya bakacak şekilde hareket eder ve sperme özgü olan akrozom organelini oluşturur. (14) Spermin başında, akrozomun dışında bir de nükleus bulunmaktadır. Spermiyogenez aşamasında spermatid uzarken nükleus yoğunlaşarak küçülür ve yassı bir şekil alırken mitokondriler yer değiştirerek orta parçacığa doğru hareket eder ve spermatidin bir sentriolünü (distal sentriol) kullanılarak kuyruk oluşturulur. Bu süreçte kuyruk oluşturulsa da spermatid henüz immotildir. Bunların yanı sıra, spermatidin fazla sitoplazmasının atılması ve spermatidler arasındaki sitoplazmik köprülerin ortadan kalkması ile spermatid olgunlaşma sürecini tamamlayarak spermatozoa olur. Sertoli hücresinden salgılanan spermatozoa seminifer tübüllerin lümenine gider, buradan epididimise geçerek olgunlaşmaya devam eder ve hareket özelliği kazanır. (12)



Şekil 2.2 Sperm Fizyolojisi. ⁽¹⁵⁾

Normal bir spermatozoa akrozom ve nükleus içeren bir baştan, başı kuyruğa bağlayan, 9 fibril ile devamı gelen ve 2 sentriol içeren bir boyundan, spermin enerji üretimi için önemli olan mitokondrileri içeren bir orta parçadan, hareketi sağlayan 2 fiberi çevreleyen 9 fiberden oluşan esas parçadan ve mikrotübüllerden oluşan son parçadan oluşan bir kuyruk kısmından oluşmaktadır. ⁽¹⁵⁾ Her bir sperm bölümü düzgün sınırlara sahip olmalıdır. Normal bir spermde başın şekli düzgün oval olmalı ve düzgün şekilli bir akrozom içermelidir. Akrozomun boyutları sperm başının %40 ila %70'ini kapsayabilirken en fazla 2 küçük vakuol içerebilir. Ancak spermde akrozom dışında herhangi bir vakuol bulunmamalıdır. Başın şeklinin düzgün olması yapıyı etkileyen bir anomali olmadığının bir göstergesi olarak kabul edilerek dikkat edilmektedir. Başın diğer ucunda, yaklaşık ortada ise yaklaşık baş uzunluğunda, başın üçte birinden büyük sitoplazma damlacığı içermeyen orta parça yer almalıdır. Orta parçayı takiben orta parçadan ince, başın yaklaşık on katı uzunluğunda ve sabit kalınlıkta ana parça yer almalıdır. ⁽¹⁶⁾ Dünya Sağlık Örgütü'ne göre Papanicolaou boyasıyla boyanıp ölçülen spermelerde baş ortalama 4,1 µm uzunlukta, 2,8 µm

genişlikte ölçülürken, orta parça ortalama 4,0 µm uzunlukta ve 0,6 µm genişlikte ölçülmüştür. Esas parça ise başın yaklaşık 10 katı civarında olmalıdır. ⁽¹⁶⁾



Şekil 2.3 Anormal Sperm Morfolojileri. ⁽¹⁶⁾

Morfolojik olarak anormal olarak adlandırılan bir spermin;

- Başı normal boyutlardan büyük ya da küçük ve farklı şekilli,
- Akrozomu baş hacminin %40'ından küçük ya da %70'inden daha büyük,
- Vakuollü,
- Boynu, orta parçası veya kuyruğu kırılmış,
- Boyun, orta parça veya kuyruk uzunlukları değişken kalınlıkta,
- Asimetrik baş-boyun bağlantısı,
- Kıvrımlı kuyruğu,
- Boyunda sitoplazma defekti olabilir. ⁽¹⁶⁾

Sperm hareketleri ileri hareket (PR; a), yerinde hareket (NP; b) ve hareketsiz (IM; c) olarak üç grup altında değerlendirilir. Düzlemde doğrusal bir yol izleyerek hareket eden spermatozoanın ileri hareketli, aktif bir ilerleme göstermeyen spermatozoanın yerine hareketli ve yerinde sabit duran spermatozoa ise hareketsiz spermatozoa olarak sınıflandırılır. ⁽¹⁶⁾

Spermi değerlendirmek için semen değerlendirmesi yapılmaktadır. Semen, içinde spermin yanı sıra semenin çoğunu oluşturan, seminal sıvı adı verilen sekretuar bezlerin (prostat bezi, bulboüretal bez ve seminal kese) salgılarını da içermektedir. Bu salgılarda fruktoz, proteinler, C vitamini, prostoglandinler, enzimler, vb. içermektedir. ⁽¹³⁾ WHO Laboratuvar El Kitabı'na ⁽¹⁶⁾ göre semen değerleri Tablo 2.1'deki gibi olmalıdır.

Tablo 2.1 Dünya Sağlık Örgütü Semen Referans Değerleri. Dünya Sağlık Örgütü'nden ⁽¹⁶⁾ alınmıştır.

Parametre	Alt Referans Değeri
Semen hacmi (ml)	1,5 (1,4 – 1,7)
Toplam sperm sayısı (10 ⁶ /ejekülat)	39 (33 – 46)
Sperm konsantrasyonu (10 ⁶ /ml)	15 (12 – 16)
Toplam motilite (PR+NP, %)	40 (38 – 42)
İleriye doğru hareketlilik (PR, %)	32 (31 – 34)
Vitalite (canlı spermler, %)	58 (55 – 63)
Sperm morfolojisi (normal formlar, %)	4 (3,0 – 4,0)
Uzlaşılın Eşik Değerler	
pH	≥ 7,2
Peroksidaz pozitif lökositler (10 ⁶ /ml)	< 1,0
MAR testi (partiküllere bağlı hareketli spermler, %)	< 50
<i>Immunobead</i> test (boncukların bağlandığı hareketli spermler, %)	< 50
Seminal çinko (µmol/ejekülat)	≥ 2,4
Seminal fruktoz (µmol/ejekülat)	≥ 13
Seminal nötral glikozidaz (mU/ejekülat)	≥ 20

Her bir bireyde spermatogenez, spermiyogenez, genetik gibi bazı nedenlerden dolayı sperm sayıları, hareketi veya morfolojisinde değişkenlikler görülebilir. Spermin hareketindeki sorun “asteno-” ile, morfolojisindeki sorun “terato-” ile, ve

sayısındaki sorun “oligo-” ile ifade edilir. Eğer spermın ileri hareketli sperm sayısı referans değerin altında ise Astenozoospermi, hem ileri hareketli sperm sayısı düşük hem de morfolojisi ve toplam sperm sayısı referans değerlerin altında ise Oligoastenoteratozoospermi olarak adlandırılır. ^(16, 17)

Ejekülatta sperm bulunmadığı durumlar Azospermi olarak adlandırılır. Azospermi, çok az sayıda sperm üretilmesinden ya da sperm üretilmemesinden yani testise bağlı olabildiği gibi sperm üretildiği halde üreme kanallarındaki bir tıkanıklıktan dolayı da olabilir. Birkaç kez alınan ejakülatın sentrifürlenmesinden sperm elde edilemezse cerrahi yollarla testislerden sperm alınır. ⁽¹⁸⁾

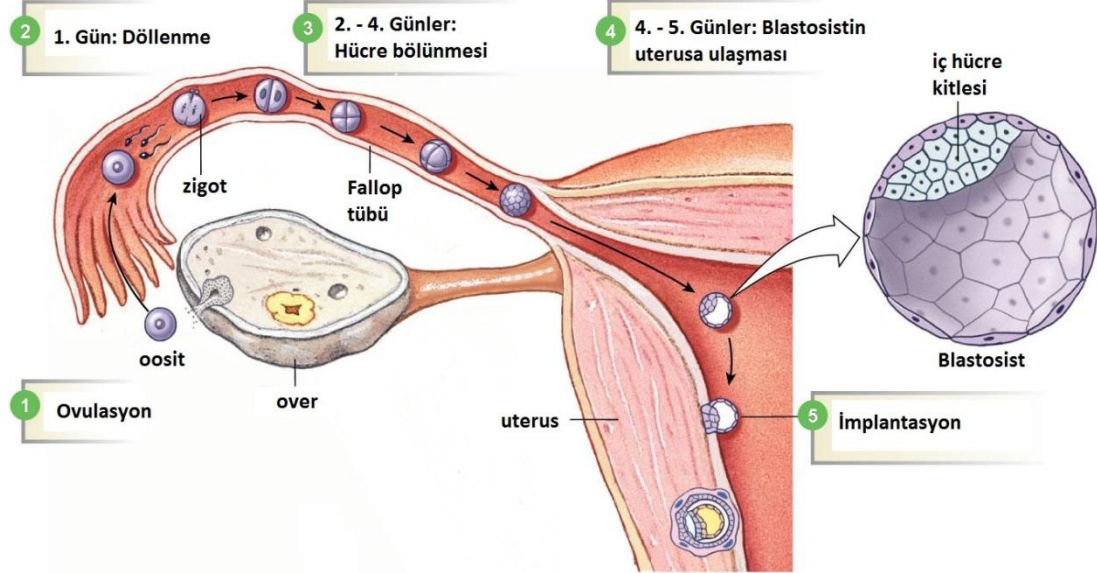
Azospermi, her yüz erkekten birinde, her yüz infertil erkeğin 10 ila 15’inde görülen bir hastalıktır. Spermatogenezi etkileyen hormonal nedenler (pre-testiküler), testis bozuklukları (testiküler), ejakülasyon bozuklukları, tıkanıklık (post-testiküler) gibi nedenler azospermiye neden olabilir. Post-testiküler ve pre-testiküler nedenler tedavi edilebilir nedenlerdir ancak testis sorunları cerrahi yöntemlerle tedavi edilemez. ⁽¹⁹⁾ Tıkanıklığa bağlı olan azospermi vakalarında, tıkanıklığa bağlı olmayanlara göre dölleme oranlarının daha yüksek olduğu gösterilmiş, ancak implantasyon ve düşük oranlarında herhangi bir farklılık gösterilememiştir. Tıkanıklığa bağlı azospermide spermatogenezden kaynaklı bir sorun olmadığı için sperm üretimi normal olarak gerçekleşmektedir ancak testiküler bir neden varsa spermatogenez normal olarak gerçekleştirilemediğinden sperme bağlı olarak dölleme oranlarında azalma olabilir. ⁽¹⁷⁾

Bir erkekten alınan en az iki örnekte 3000 rpm’de 15 dakika sentrifüj yapılmasına rağmen sperme rastlanamaz ise ameliyat yolu ile seminifer tübüllerden sperm alınabilir. Bu işlem iğne yoluyla sperm aspirasyonu şeklide (TESA) ya da açık biyopsi (TESE) şeklinde yapılabilir. ^(17, 19) TESA ile TESE arasında da tıkanıklığa bağlı olan ve tıkanıklığa bağlı olmayan azospermi gibi bir bağlantı bulunmaktadır. TESE vakalarında spermatogenez bozuklukları TESA vakalarına göre daha ileri derecede olduğundan TESE vakalarında dölleme ve gebelik oranlarında düşüş olduğu gözlemlenmiştir. ⁽¹⁷⁾

2.2. Fertilizasyon ve Embriyo

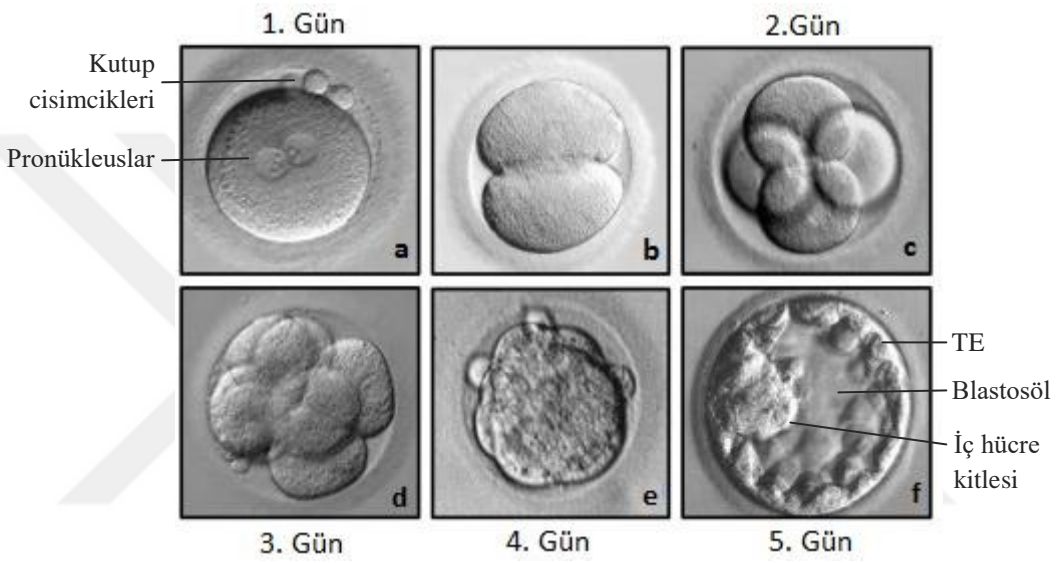
Sperm, 2 ila 7 saat sürecek bir yolculukla tubalara hareket eder ve eğer sekonder oositle burada karşılaşırsa dölleme gerçekleşebilir. Döllemede ilk aşama,

yumurtaya ulaşmak için etrafını çevreleyen korona radiata hücrelerini geçmektir. Bu aşamada kapasitasyon sayesinde sperm korona hücreleri geçebilir. Kapasitasyon sürecinde tubal epitel hücreleriyle sperm etkileşerek seminal plazmanın ve spermi çevreleyen glikoproteinlerin degrades olmasını sağlar ve böylelikle sperm akrozomu açığa çıkararak reaksiyona hazır hale gelir. Korona hücrelerini geçen sperm sıradaki engeli zona pelusidadır (ZP). ZP’de bulunan ZP3 proteini sperm ile etkileşime geçerek akrozomdan akrosin gibi enzimlerin salgılanmasını sağlar ve bu da sperm ZP’yi geçmesini sağlar. ZP’yi geçen sperm oolemma adı verilen oosit zarıyla temas eder. Bu etkileşim yumurtada bazı kimyasal değişimlere sebep olarak başka bir sperm yumurtayı döllemesini engeller. Bu değişimlerden bir tanesi sperm-oolemma etkileşimiyle oluşan yumurta zarındaki kalsiyum (Ca^{++}) artışıdır. Bunun dışında bazı enzimler salgılanarak ZP üzerindeki sperm reseptörlerini inhibe eder ve yumurtanın sperm geçirgenliğini yok eder. Aynı zamanda kortikal granüllerden lizozomal enzimler de salgılanır. Bu kimyasal değişimlerden önce içeriye girmeyi başaran sperm zarındaki fertilin ile oosit zarındaki integrin etkileşerek zarların kaynaşmasına ve böylece sperm zarını dışarıda bırakarak, baş-boyun-kuyruk olarak oosit sitoplazmasına girmesi sağlanır. (11)



Şekil 2.4 Kadın Üreme Sisteminde Döllenme ve Erken Embriyo Gelişimi. (20)

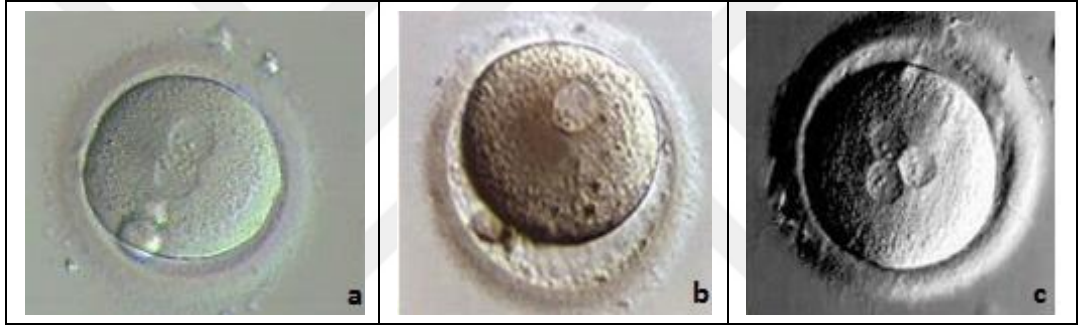
Spermin oosit sitoplazmasına girdikten sonra singamiye kadar sperm ve oosit farklı yollar izleyerek kendini hazırlar. Oolemma-sperm etkileşimi oositi aktive ederek duraksamış olan ikinci mayoz bölünmenin tamamlanmasını sağlar. Aktive olan oositin ikinci polar cisim atılır ve dişi pronükleus (PN) oluşur. Oositi aktive eden sperm ise sıkılaştırarak taşıdığı kromatinlerini açmaya ve zarını kaybetmeye başlar. Oosit gibi sperm de bazı değişimler geçirerek erkek pronükleusunu oluşturur ve dişi pronükleusuna doğru hareket eder. ⁽¹¹⁾



Şekil 2.5 Embriyonun Günlere Göre Gelişimi. (a) Döllenmiş, erkek ve dişi PN'leri ile kutup cisimcikleri görülen yumurta, (b) 2 blastomerli embriyo, (c) 4 blastomerli embriyo, (d) çok blastomerli embriyo, (e) morula, (f) blastosist. ⁽²²⁾

Karşılaşan dişi ve erken pronükleuslar hücrenin ortasına doğru ilerlerken birbirleriyle kaynaşırlar. Her iki hücre de genetik materyalini iki katına çıkarır. Pronükleus zarları yok olurken kromozomlar, karşılıklı konumlanan sentromerlerin oluşturduğu iğ ipliklerine bağlanarak metafaz plağına dizilirler ve mayoz bölünme tamamlanınca eşit büyüklükte iki blastomer oluşur. Her bir blastomer bölünmeye devam edererek yaklaşık 24-30 saat içinde iki yeni blastomer oluşturur. Normal koşullarda her bölüme senkronize olmalıdır ve her bir blastomer bir nükleus içermelidir. İkinci bölünme tamamlandığında yani yaklaşık 40-50 saatte dört, üçüncü bölünme tamamlandığında yani yaklaşık 60 saatte ise sekiz blastomer bulunur. ⁽¹¹⁾ ESHRE 2011'de verilen ortak karara göre 26 ± 1 saatte 2 blastomer, 44 ± 1 saatte 4

blastomer ve 68 ± 1 saatte 8 blastomer oluşması beklenmektedir. ⁽²¹⁾ Fertilizasyondan yaklaşık üç gün sonra embriyo 16 hücreli olur ve her bir blastomer kaynaşarak morulayı oluşturur. Morulanın içinde kalan hücreler daha sonra embryo gelişiminde görev alacak iç hücre kitlesini, dışını çevreleyen hücreler ise daha sonra plasentayı oluşturacak trafoblast hücrelerini oluşturur. İç hücre kitlesinde bulunan hücrelere embriyoblast denir ve embriyonun kutup cisimciğini attığı animal kutbunda toplanırlar. Yaklaşık 8 embriyoblast ve 99 trafoblast bulunmaktadır. Embriyoblast ve trafoblast arasında oluşan sıvı dolu boşluk blastosöl olarak adlandırılırken bu aşamadaki embryooya blastosist adı verilir. Blastosist genişlemeye devam ettiğinde zona pelusidayı itirmeye başlar ve ittirdikçe zonayı incelterek patlatır. Bu süreç yaklaşık beşinci günde gerçekleşmektedir. ⁽¹¹⁾

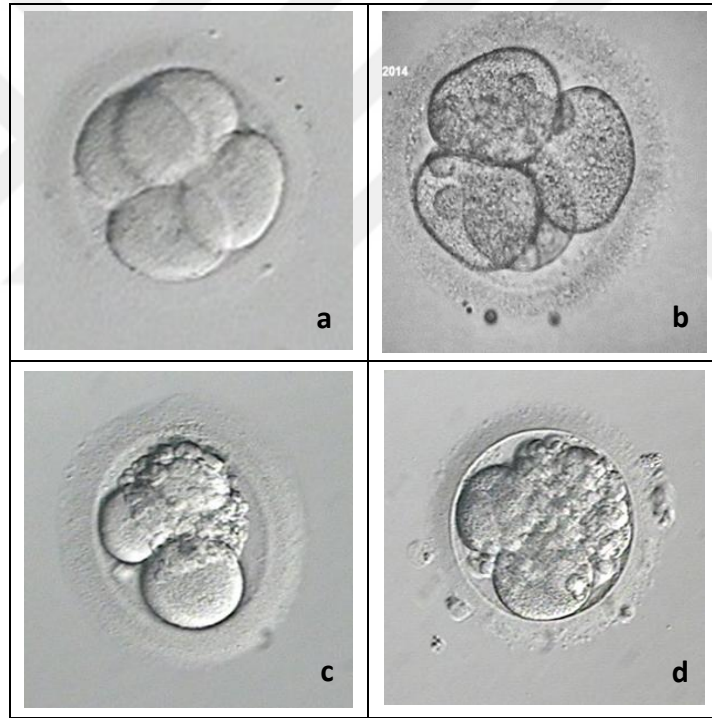


Şekil 2.6 Çeşitli PN Sayılarına Sahip Döllenişmiş Yumurta Örnekleri. (a) 2 PN, (b) 1 PN (mono PN), (c) 3 PN. ⁽²⁵⁾

Embryoda PN merkezde konumlanmış, eşit büyüklükte ve yanyana, her biri görünür zarlarla çevrilmiş olmalıdır. Yapılan çalışmalarla PN'ler oluşacak gametin yapısı ve embryo yeterliliği hakkında bilgi verdiği kabul edilmiş bunun için inseminasyondan 17 ± 1 saat sonra kontrol edilmeleri gerektiği vurgulanmıştır. ⁽²³⁾ Zaman aralıklı embryo görüntüleme sistemiyle PN'lerde oluşacak her türlü değişimin gözlemlenebileceği düşünülmektedir. ⁽²⁴⁾ Embriyolarda 1 PN, 3 ve daha fazla PN de gözlemlenebilmektedir. 1 PN gözlemlenen durumlarda asenkronize PN oluşumu ve birleşmesi olabilir. Bu durumda zigot yine diploid olarak ikiye bölünebilir. Ancak bazı durumlarda tek kutup cisimciği gözlemlenebilir ve bu durum da genetik bir anormallik olabileceğini gösterebilmektedir. ⁽⁸⁾ Çift sperm döllemesi, tamamlanamayan sitokinez gibi bazı nedenlerden dolayı oositte 3 PN gözlemlenen

durumlar da olabilir. Bu gibi durumlarda da 2 kutup cisimciği atlabilir ve normal ikiye bölünme görülebilir ancak yine genetik bir bozukluk olabileceğinin göstergesi olarak kabul edilmektedir. ⁽²³⁾

Oosit sitoplazmasına giren spermin yoğun kromatinleri oositin ilgili proteinlerini kullanarak açılırlar. Bu da spermden gelen PN büyüklüğünü belirlemektedir. Dişi PN'i erkek PN'inden biraz daha küçük olabilmektedir. ⁽²³⁾ Eğer oosit immatür ise 17 ± 1 saat sonra PN'ler olması gerektiğinden daha küçük olabilir. PN'lerin normalden küçük olması döllenmede gecikmeyi gösterebildiği için gamette genetik bir sorun olduğunu da gösterebilmektedir. ⁽²⁶⁾ Eğer PN'ler beklenenden önemli derecede büyük ($> 4 \mu\text{m}$) ise ya da fragmantasyonlu ise yine kromozomal anormallik olabileceği düşünülmelidir. ⁽²¹⁾



Şekil 2.7 Fragmantasyonlu Embriyo Örnekleri. (a) %0 fragmantasyon, (b) $< \%10$ fragmantasyon, (c) $\%10\text{-}\%25$ fragmantasyon, (d) $> \%25$ fragmantasyon. ⁽³³⁾

Oosit sitoplazmasının homojen olması beklenir ancak granüler, vakuollü ya da granüler endoplazmik retikulümlü olabilir. Granüler sitoplazmanın embriyo gelişimi üzerindeki etkisi ile ilgili net bir bilgi bulunmamaktadır. ⁽²³⁾ Ancak $14 \mu\text{m}$ 'den büyük vakuoller bölünmeyi etkileyerek daha az sayıda blastomer oluşmasına

neden olabilir. ⁽²⁷⁾ Oolemmada granüler endoplazmik retikulum görülmesi de beklenmeyen sorunlara neden olabilir. ⁽²⁸⁾

Blastomerler bölünürken oluşan nükleussuz parçalar fragman olarak adlandırılır. ⁽²⁹⁾ Bazı fragmanlar embriyonun her aşamasında gözlemlenebilirken bazıları oluştuktan sonra yok olabilir. ⁽³⁰⁾ Yüksek oranlarda fragman varlığı hücrelerin yerleşimi ve dağılımı etkileyebilir. Fragmantasyonun implantasyon potansiyeli ve anöploidi ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir ⁽³¹⁾ ancak %10'a kadar olan fragmentasyonların zararsız olduğu ifade edilmiştir. ⁽³²⁾

Oosit mitoz bölünme ile bölüneceğinden ilk olarak 2 blastomer gözlenmesi beklenir ancak bazı durumlarda direkt 3 blastomer oluştuğu da gözlemlenmiştir. Bu duruma "Direkt Bölünme" adı verilir. Direkt bölünme olması, kromozomal bir sorun olabileceğini gösterdiği düşünülmektedir. ⁽⁷⁾

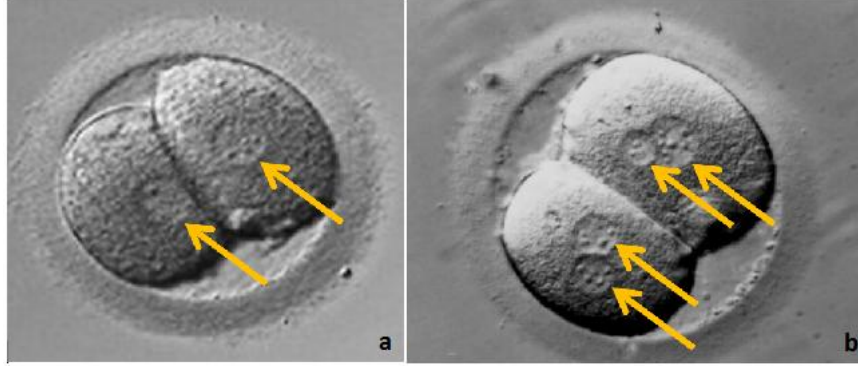
Embriyonun bir blastomerini geri alması ve sonra tekrar bölünmesine "Geri Birleşme" adı verilir. Geri birleşme 2 çeşit görülmektedir. Tip I'de blastomerler tamamen ayrıldıktan sonra birleşmekte, tip II'de ise sitokinez tamamlanmadan geri birleşme gerçekleşmektedir ve bu tip geri birleşme daha sık görülmektedir. Geri birleşmenin implantasyon oranını düşürdüğü düşünülmektedir. Geri birleşme gerçekleşen embriyoların çoğunda multinükleasyon gözlemlendiği, bunun da genetik bozukluklara ve implantasyon oranlarında düşüşe neden olacağı düşünülmektedir. ⁽³⁴⁾

Bölünme sırasında blastomerler sitoplazmayı eşit olarak bölüşemediklerinde sitoplazmadaki molekülleri de eşit olarak bölüşemezler. Bu yüzden blastomerin bölünmeyi devam ettirebilmesi için gerekli mRNA, protein, vb. molekülleri yeteri kadar bulunduramayabilirler. Bu da multinükleasyon ve anöploidi ihtimalini arttırırken implantasyon potansiyelini düşürebilir. ⁽³⁵⁾

Yukarıda da belirtildiği gibi fragmentasyon, eşit olmayan blastomerler gibi nedenlerden dolayı multinükleasyon gözlemlenebilir. ⁽³⁶⁾ Birden fazla nükleus olması durumu genetik bir sorun olabileceğini gösterir. ^(37, 38) Multinükleusun gözlemlendiği durumlarda abort ihtimali de yüksektir. ⁽³⁹⁾

Bölünerek sekiz blastomerli olan embriyoda hücreler arası bağlanma noktaları ve E-cadherin artarak hücreler arası bağlantılar oluşmaya başlar. Bu duruma kompaksiyon yani birleşme adı verilir. Bazı durumlarda tüm blastomerler birleşmeye katılmaz bu da iyi kalitede embriyo oluşmasını etkileyebilir. Birleşmeyi

değerlendirmek için birleşmeye katılan hücre sayısına ve oluşan morulanın morfolojisine dikkat edilmelidir. ⁽²³⁾



Şekil 2.8 Multinükleuslu Embriyo Örneği. (a) Normal kabul edilen tek nükleuslu blastomerleri olan embriyo, (b) iki blastomerinde de multinükleasyon olan embriyo. ⁽⁴⁰⁾

Hücreler arasında sınırlar görünmez olduğunda embriyoya morula adı verilir. Bu aşamada 16 ila 32 blastomerin morulaya katılması beklenir. ⁽²³⁾ Embriyo içine bir kaviteden sıvı dolmaya başlar ve bunun devamlılığı Na/K-ATPase kanallarının tuz konsantrasyonunu değiştirmesi ile devam eder. Sıvı alan embriyo açılmaya ve gittikçe ZP'yi ittirmeye başlar. ⁽⁴¹⁾ Blastosist sınıflandırması 6 derecede yapılır.

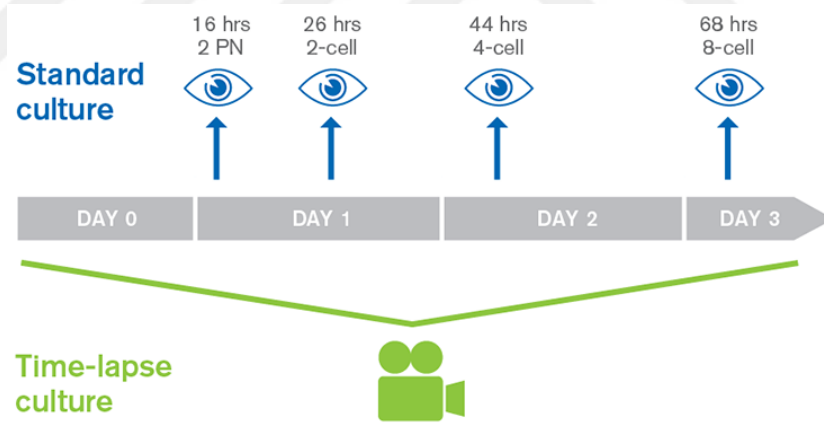
- 1. Derece: Blastosöl embriyo embriyo hacminin yarısından azdır..
- 2. Derece: Blastösöl embriyo hacminin yarısı veya daha fazlasını kaplar.
- 3. Derece: Embriyonun içi tamamen sıvı ile dolu olur.
- 4. Derece: Embriyo büyüyerek ZP'yi inceltmeye başlar.
- 5. Derece: Embriyo hacmi olduğundan daha büyüktür ve ZP'yi çatlatarak bir kısmı dışarı çıkmıştır.
- 6. Derece: ZP'yi çatlatan embriyo tamamen dışarı çıkmıştır. ⁽²³⁾

Blastosist değerlendirmesi Gardner ve Schoolcraft sistemine göre yapılır. 3. derecede blastosist ve sonrakiler için kalite belirlemek için blastomer sayısına yani iç hücre kitlesine (ICM) ve trofoektoderme (TE) bakılır. ICM kalitesi kaç hücre içerdiğine ve ne kadar sıkı bağlarla birleştiklerine göre 3 sınıfa ayrılır. ⁽²³⁾ Ayrıca ICM büyüklüğünün implantasyon oranını arttırdığı düşünülmektedir. ⁽⁴²⁾ TE'nin implantasyonda ve sonrasında görev aldığı, embriyonun dışındaki zarları oluşturduğu

bilinmektedir. ⁽⁴³⁾ TE de aynı ICM gibi hücre sayısına ve bağlantılarına göre 3 gruba ayrılır. Sıkı bağlanan ve çok hücreli TE en iyi sınıflandırılanıdır. ⁽⁴⁴⁾

2.3. Zaman Aralıklı Embriyo Görüntüleme Sistemi

Embriyo hızlı değişimler yaşayan hücreler topluluğudur ve günlük kontrollerle bu değişimler meydana geldiğinde neler olduğunu kaçırılabilir. Bu yüzden zaman aralıklı embriyo görüntüleme sistemi kullanılarak devamlı bir görüntüleme sağlanmaktadır. Zaman aralıklı embriyo görüntüleme sistemi belirlenen aralıklarla sisteme yerleştirilen embriyoların fotoğraflarının çekildiği ve bu fotoğrafların videoya dönüştürüldüğü, karanlık ortamlı ve kontrollü gaz basınçlarının olduğu bir mikroskop ve bir inkübatörden oluşan birleşik bir sistemdir. Morfokinetik değerlendirme yapılmasını sağlayan bu sistem ile enjekte edilmiş yumurtanın embriyoya dönüşmesi, bu dönüşümdeki tüm hücre bölünmeleri, nükleus hareketleri, fragmantasyonlar, blastomer hareketleri gibi bir çok parametre aralıksız gözlemlenmektedir. ^(45, 46)



Şekil 2.9 Standart Sistem ve Zaman Aralıklı Embriyo Görüntüleme Sistemi Karşılaştırılması. ⁽⁴⁷⁾

Yardımla üreme tekniklerinde en önemli basamaklardan biri olan embriyo seçme işlemi, zaman aralıklı embriyo görüntüleme sisteminin sağladığı morfokinetik değerlendirme ile daha detaylı değerlendirilebilir. Embriyolar inkübatörde inkübe edildiğinde, devamlı gözlem yapılmadığından gözden kaçırılan zaman aralıklarında zamanından önce olan bölünmeleri, PN eksikliğini ya da fazlalığını, granüllü

endoplazmik retikulum ve vakuol varlığını; çok hücreli dönemde hücre geri birleşmesini, fragmantasyon geri alınımını, pronükleus sayılarını vb. gözden kaçırılabilir. Ayrıca PN ve embriyo kontrol etmek ya da medium değiştirilmek istendiğinde, her kapak açıldığında içerideki gaz basıncı ve ısı değişmekte, embriyolar ışık alabilmekte ve bu embriyoları etkileyebilmektedir. ZAEG sisteminde, tek aşamalı medium kullanımı tercih edildiğinde kontrol etmek için embriyo çıkarmaya gerek kalmadığından ortam optimizasyonu bozulmamakta ve embriyoların bazı dış etkenlerden korunması sağlanmaktadır. ⁽⁴⁶⁾

İyi kalite embriyo seçimi implantasyon oranında artış, düşük sayısında azalma gibi pozitif sonuçlar getirmektedir. ⁽⁴⁸⁾

ZAEG sisteminde 2 hücreli olduğu zaman (t2), 3 hücreli olduğu zaman (t3), 4 hücreli olduğu zaman (t4), 5 hücreli olduğu zaman (t5), ikinci hücre bölünmesi ($t2=t3-t2$), ikinci hücre bölünmesinin her iki hücre için de zamanlama uyumu ($t2=t4-t3$), blastomer eşitliği, çekirdek sayıları, fragmantasyon varlığı, multinükleasyon, granüllü endoplazmik retikulum varlığı gibi parametreler tüm embriyolar için kaydedilir ve incelenir. ⁽⁴⁹⁾ Bu değerler, embriyo videoları izlenerek notlandırılır ve bilgisayar ortamına veri olarak aktarılır. Bu verilere tablo olarak ulaşılabilir ve incelemeler yapılabilir. ⁽⁵⁰⁾

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney ve Kontrol Grupları

17.08.2013 – 19.11.2016 tarihleri arasında Amerikan Hastanesi Embriyoloji Laboratuvarı'nda zaman aralıklı embriyo görüntüleme sistemi ile görüntülenmiş 1005 çifte ait 8375 embriyo arasından örneklem grubu oluşturuldu. Örneklem grubu için erkek faktörü olduğu bilenen çiftler seçildi. Bu çiftler arasında ise;

- Endometriozis, düşük over rezervi, Polikistik Over Sendromu gibi erkek faktörden başka etkili olabilecek kadına bağlı faktörler çıkarıldı.
- Kadın yaşı 40 ve altı olacak şekilde seçildi. Ortalama kadın yaşı 32,05 olarak hesaplandı (minimum: 19, maksimum: 40). Bu grupta erkek yaş ortalaması ise 35,85 olarak hesaplandı (minimum: 23, maksimum: 52)
- Tedaviye zayıf yanıt verip 3 oositten az oosit toplanabilen hastalar çıkarıldı.

Elemelerden sonra oluşan örneklem grubu için 215 çifte ait 1954 embriyo sayısına ulaşıldı. Bu embriyolar sperm sayısına göre sınıflandırılarak hafif erkek faktör (HEF), oligoastenoteratozoospermi (OAT), ciddi oligoastenoteratozoospermi (C. OAT), kriptozoospermi (virtual azospermi, VA) ve TESE sperm olarak 5 gruba ayrıldı.

Tablo 3.1 Erkek Faktörünün Sperm Sayısına Göre Sınıflandırılması.

Hasta Grubu	Ejekülatta Gözlenen Sperm Sayısı
Hafif Erkek Faktörlü (HEF)	$20 \times 10^6 \geq \text{HEF} > 5 \times 10^6$
Oligoastenoteratozoospermi (OAT)	$5 \times 10^6 \geq \text{OAT} > 1 \times 10^6$
Ciddi Oligoastenoteratozoospermi	$1 \times 10^6 \geq \text{Ciddi OAT}$
Virtual Azospermi (Kriptozoospermi, VA)	Lam-lamel arasında gözlenebilen çok az sperm
Testiküler sperm ekstrasyonu (TESE)	0

Kontrol grubu, erkek faktör olmadığı bilinen hasta grubundan deney grubu seçilirken kullanılan kriterler (kadın yaşı 40 ve altı olanlar, en az 3 oositi olanlar ve kadına bağlı faktörü olmayanlar) gözetilerek rastlantısal olarak seçildi. Kadın ortalama yaşı 33,60 (minimum: 21, maksimum: 40) olarak hesaplanırken, erkek

ortalama yaşı 36,88 (minimum: 24, maksimum: 53) olarak hesaplandı. Kontrol grubunun büyüklüğü, deney grubu ile eşit olması için 221 çifte ait 1954 embriyo olarak ayarlandı.

Tablo 3.2 Çalışmada kullanılan Embriyo ve Hasta Sayılarının Dağılımı.

	SİSE Yapılan Oosit Sayısı	Hasta Sayısı
Toplam	8375	1005
Erkek Faktörlü	1954	215
Hafif Erkek Faktörlü (HEF)	706	81
Oligoastenoteratozoospermi (OAT)	445	50
Ciddi Oligoastenoteratozoospermi	510	55
Virtual Azospermi (Kriptoospermi)	55	5
Testiküler sperm ekstrasyonu (TESE)	238	24

3.2. Solüsyonların Hazırlanması

3.2.1. Sperm için hazırlanan solüsyonlar

- **G-IVF:** 60 ml'lik G-IVF solüsyonuna %10 oranında (6 ml) HSA solüsyonu eklendi ve 37°C'de inkübe edildi.
- **%90'lık gradient solüsyonu:** 10 ml'lik tüpte, 9 ml Puresperm 100 solüsyonuna 1 ml Puresperm Buffer solüsyonu eklenerek yapıldı. 37°C'de inkübe edildi.
- **%50'lik gradient solüsyonu:** 10 ml'lik tüpte, 5 ml Puresperm 100 solüsyonuna 5 ml Puresperm Buffer solüsyonu eklenerek yapıldı. 37°C'de inkübe edildi.
- **Ovoil:** 37°C'de inkübe edildi.

3.2.2. Oosit için hazırlanan solüsyonlar

- **G-IVF:** 60 ml'lik G-IVF solüsyonuna %10 oranında (6 ml) HSA solüsyonu eklendi ve 37°C'de inkübe edildi.
- **HSA'lı G-MOPS:** Hasta başına 5 ml olacak şekilde günlük hasta sayısına göre miktar belirlendi ve %5 HSA eklenerek 37°C'de etüvde bekletildi.

- **Heparinli G-MOPS:** 1 şişe G-MOPS (125 ml) için 0,25 cc Nevparin şırınga yardımı ile ilave edildi ve 37°C'lik etüvde bekletildi.
- **Hyase:** HSA eklenmiş G-MOPS ile 1:10 dilüsyonu yapıldı ve 37°C'lik etüvde bekletildi.
- **Ovoil:** 37°C'lik etüvde bekletildi.

3.3. Sperm İşlemleri

3.3.1. Sperm Örneğinin Toplanması

Steril, tek kullanımlık sperm toplama kapları herhangi bir karışıklığı engellemek ve işlemleri takip edebilmek için RI Witness sistemi yardımıyla önceden çiplendi ve etiketlendi. Kısa cinsel perhiz sperm sayısında, uzun cinsel perhiz ise sperm hareketinde yanımlara neden olabildiği için cinsel perhizi 2 ila 7 gün arasında olan hastalardan ⁽¹⁶⁾ sperm örnekleri alındı. Örnek verilmeden önce çiplenmiş steril kap ile birlikte kuralların yazılı olduğu bir metin verildi . Toplanan örnek 37C'de 30 dakika inkübe edildi. Azospermi gibi az sayıda sperm rastlanan durumlarda ikinci bir örnek istendi.

3.3.2. Sperm Değerlendirilmesi (Spermiyogram)

Laboratuvara gelen ejakülat , kıvam, renk, sperm yoğunluğu , sperm hareketi , yuvarlak hücre sayısı bakımından incelendi . 37C'de 30 dakika inkübe edilen örneğin ilk önce bir pipet yardımı ile hacmi ölçüldü. Pastör pipete alındığında damlamayacak kadar yoğun kıvamlı olan örneklerin hacim ölçümünden önce bir şırıngadan geçirilerek akışkan olması sağlandı. ⁽¹⁶⁾

Hacmi ölçülen sperm örnekleri sayı ve hareket bakımından incelendi. Bu işlem için Makler sayım kamerası kullanıldı. Makler sayım kamerasına karıştırılmış küçük bir miktar (~10 µl) örnek konularak faz-kontrast mikroskop altında 400X büyütme ile soldan sağa 10 kerede, yukarıdan aşağıya 10 kerede ve çarpaz 10 kerede bulunan sperm sayısı sayılarak ortalaması alındı. Karelerde görülen serbest kuyruk ya da serbest başlar sayılmadı. ⁽¹⁵⁾

Sperm hareketleri için yine yukarıdan aşağıya, soldan sağa ve çarpaz olarak toplam 30 kare sayılarak sperm hareketleri gözlemlendi. Hareketli spermiler önce sayılacak şekilde hızlıca hareketine göre spermiler sayıldı ve yüzdesi hesaplandı.

Bunun yanı sıra, epitel hücreleri, olgunlaşmamış spermleri ve lökositleri içeren yuvarlak hücre sayısı da hesaplanarak not alındı.

3.3.3. Sperm Yıkama İşlemi

Sperm örnekleri yoğunluğa göre sıralayıcılar ile yıkandı. %50 ve %90'lık hazırlanan Puresperm® (Nidacon) solüsyonları kullanıldı. Etiketlenen ve RI Witness sistemi ile çiplenen 10 mililitrelik tüpe, 1 ml %90'lık Puresperm solüsyonuna karışmaması için yavaşça ve duvardan 1 ml %50'lik solüsyon eklendi ve en son yine yavaşça ve duvardan sperm örneği eklendi. Eğer sperm örneği 6 mililitreden fazla ise örnek iki ayrı tüpe bölünerek daha fazla sperm elde edilmeye çalışıldı. Daha sonra tüpler, sperm sayısı ve hareketine göre Tablo 3.3'de belirtildiği gibi belirli hız ve sürede sentrifüjde çevrildi.

Tablo 3.3 Sperm Morfolojisine Göre Sperm Yıkamada Kullanılan Sentrifüj Hızları.

		Ejekülat Sperm			
		Normospermi	Orta derecede OAT	Ciddi OAT	Çok ileri derecede OAT
Sperm morfolojisi		20x10 ⁶ > %50 hareketli %30 PR	< 20x10 ⁶ < %50 hareketli < % 30 PR	< 5x10 ⁶ < %50 hareketli < % 30 PR	< 100000 < %50 hareketli < % 30 PR
Sentrifüj hızı	1. step	250 g	500 g	750 g	1000 g
	2. step	400 g	750g	1000 g	1000 g
Sentrifüj süresi	1. step	15-20 dk	20 dk	20-25 dk	20-25 dk
	2. step	5-10 dk	10 dk	10-15 dk	15 dk
		Epididimal/Testiküler Sperm			
		Orta derecede OAT	Ciddi OAT	İleri derecede OAT	Çok ileri derecede OAT
Sperm morfolojisi		< 20x10 ⁶ < %50 hareketli < % 30 PR	< 5x10 ⁶ < %50 hareketli < % 30 PR	< 1x10 ⁶ < %50 hareketli < % 30 PR	< 100000 < %50 hareketli < % 30 PR
Sentrifüj hızı	1. step	500 g	750 g	1000 g	1000 g
	2. step	750 g	1000 g	1000 g	1500 g
Sentrifüj süresi	1. step	20 dk	20-25 dk	25 dk	25-30 dk
	2. step	10 dk	10-15 dk	15 dk	15-30 dk

İlk sentrifüj sonrası %90'lık solüsyon diğer katmanlara karıştırılmadan cam pipet yardımıyla alındı ve yine önceden etiketlenmiş ve çiplenmiş bir tüpte, önceden HSA-Solution™ (Vitrolife) eklenmiş ve 37°C'de inkübe edilmiş 5 ml G-IVF™

(Vitrolife) solüsyonuna eklendi. Bu karışım da Tablo 3.3'e göre sentrifüj yapıldı. Sentrifüj sonrası elde edilen çökeltiyi bozmadan üstte kalan çözelti tüpte 1 ml kalacak şekilde toplanarak atıldı. Geride kalan çökelti, geride kalan 1 ml'lik solüsyonda çözüldü ve çiplenmiş 6 cm'lik Petri kabının ortasına yayılmayacak şekilde yavaşça konuldu ve üzeri 5 ml Ovoil™ (Vitrolife) ile kaplanarak gazlanması için 37°C'deki inkübatöre konuldu.

3.3.4. Testiküler Sperm Ekstrasyonu (TESE)

Ürolog tarafından alınan testis dokusu 6 cm'lik Petri kabında yaklaşık 2 ml'lik HSA içeren G-IVF solüsyonuna alındı. Dokuyla birlikte gelen kandan kurtulmak için doku, aynı özellikteki yeni bir kaba alındı ve steril lamellerle küçük parçalara ayrıldı. Kaptaki tüm sıvı ve doku parçaları bir tüpe alınarak vortex kullanarak karıştırıldı. Sıvıdan örnek alınarak lam-lamel arasında 400X büyütme ile alan taraması yapıldı. Sperm görülemez ise yeni doku örneği alınarak işlem tekrar edildi. Sperm görüldüyse sperm yıkama işlemi yapıldı.

3.4. Oosit İşlemleri

3.4.1. Oosit Toplanması

Yumurtalar hekim tarafından kültür solüsyonu olarak Nevparin (Mustafa Nevzat) eklenmiş G-MOPS™ (Vitrolife) kullanarak aspire edildi. Tüpe toplanan kanlı vasat 10 cm'lik tabağa alındı, önceden ısıtılmış 37°C tablanın üzerinde mikroskop yardımı ile gözlemlendi ve yumurtalar toplandı. Toplanan yumurtalar HSA™ (Vitrolife) eklenmiş ve 37°C'de ısıtılmış G-MOPS™ (Vitrolife) içeren dört gözlü tabağa alındı. Her bir hasta için 2 tabak yani 8 göz kullanıldı. Her bir gözde al-ver işlemi uygulanarak kandan ve yumurtanın etrafındaki kümülüs hücrelerinin bir kısmından arındırıldı. 37°C'de inkübe edildi.

3.4.2. Oosit Yıkaması

Oositleri yıkamak için 4 gözlü çiplenmiş petri kabı hazırlandı. Her kabın ilk gözünde HSA solüsyonu yani hyaluronidase enzimi içeren G-MOPS, diğer üç gözünde ise yıkama amaçlı HSA içeren G-MOPS kullanıldı. İnkübe edilen oositler ağız pipeti yardımıyla 45 saniye boyunca al-ver işlemi yapmak için ilk göze alındı. 45 saniye geçmeden oositlerin enzimden dolayı zarar görmesini engellemek amacıyla

ve etrafında kalan hücrelerden kurtulmak amacıyla G-MOPS solüsyonuna alınarak al-ver işlemi yapılarak yıkandı. Bu aşamada oositler G-MOPS solüsyonunda yıkadıktan sonra önceden hazırlanıp inkübe edilmiş G-IVF solüsyonuna alındı. Yalın hale gelen oositlerin ışık mikroskopunda yüksek büyütmede bakılarak hangi evrede oldukları gözlemlendi. Birinci kutup cisimciği görülen oositler metafaz II (MII), germinal vezikülü ve polar cisimciği görünmeyen oositler metafaz I (MI) olarak adlandırıldı.⁽¹⁶⁾ Evrelerine göre ayrılan oositler temiz gözlerde bırakılarak 37°C'de inkübe edildi.

3.4.3. Sitoplazma İçine Sperm Enjeksiyonu (SİSE / ICSI)

Oosit yıkama işleminden sonra SİSE tabağı hazırlandı. Sperm için ICSI™ (Vitrolife) solüsyonu (polivinilpirolidon (PVP)) ve oositler için G-MOPS solüsyonu kullanılarak damlacıklar hazırlandı.

Toplanan oositler MII ise ya da MI'den MII'ye dönüştüyse toplanmalarından 4-5 saat sonra enjeksiyon için çiplenmiş ve 37°C'ye ısıtılmış SİSE tabağına alındı. Sperm damlacığı için hareketli olan spermier buldukları damlacığın dış çeperine yakın kısmından toplandı ve PVP solüsyonunun bir ucuna konuldu. Yüzen spermier için yüksek magnifikasyonda morfolojisi normal olan spermier seçilerek enjekte edildi.

3.5. Embriyo İşlemleri

3.5.1. EmbryoScope Tabağı Hazırlanması

EmbryoScope tabaklarının öncelikle mikro gözleri mikropipet yardımı ile önceden ısıtılmış solüsyon ile dolduruldu. Bu işlem tamamlanınca baloncuk yapmamaya özen göstererek tabağın gözleri ~25 µl solüsyon ile tamamen dolduruldu. Yaklaşık 1.4 ml Ovoil ile solüsyonların üzeri kapatıldı. Hazırlanan tabaklar, 37°C'de inkübe edildi.

Enjekte edilen yumurtalar, etiketlenmiş ve çiplenmiş, Ovoil ile örtülmüş, inkübe edilmiş EmbryoScope tabağına her göze bir yumurta gelecek ve hava kabarcığı olmayacak şekilde yerleştirildi ve EmbryoScope'a konuldu. Hasta bilgileri girilerek kaydedildi. Bundan sonraki süreçte, embriyolar günlük olarak takip edildi ve notlandırmaları yapıldı.

Tablo 3.4 Evrelere Göre EmbriyoScope Parametreleri ve Açıklamaları.

Parametre	Zamanlama
PB Atılması	İkinci kutup cisimciğinin atılma anı işaretlenir.
GER Varlığı	PN'ler görülmeden önce granüllü endoplazmik retikulum görüldüğü zaman işaretlenir.
Vakuol Varlığı	PN'er görülmeden önce vakuol görüldüğü zaman işaretlenir. Büyüklüğü de not edilebilir.
PN Görülmesi (PNa)	Pronükleusların zigotun merkezine ulaştığı an işaretlenir.
Pronükleus	Ronükleus sayısı belirtilir, PN görülmesi ile birlikte işaretlenir.
PN Kaybolması (PNd)	Pronükleusların kaybolduğu an işaretlenir.
2 hücreli evre	Embriyonun 2 blastomere bölündüğü an işaretlenir (t2). Ayrıca; <ul style="list-style-type: none"> • Simetri (eşit / eşit değil), • Fragmantasyon yüzdesi (0-10 / 10-20 / 20-50 / >50), • Multinükleasyon görülen blastomer sayısı (0 / 1 / 2 / 3 / >4) da işaretlenir.
3 hücreli evre	Embriyonun 3 blastomere bölündüğü an işaretlenir (t3).
4 hücreli evre	Embriyonun 4 blastomere bölündüğü an işaretlenir (t4). Ayrıca; <ul style="list-style-type: none"> • Simetri (eşit / eşit değil), • Fragmantasyon yüzdesi (0-10 / 10-20 / 20-50 / >50), • Multinükleasyon görülen blastomer sayısı (0 / 1 / 2 / 3 / >4) da işaretlenir.
5 hücreli evre	Embriyonun 5 blastomere bölündüğü an işaretlenir (t5).
6 hücreli evre	Embriyonun 6 blastomere bölündüğü an işaretlenir (t6).
7 hücreli evre	Embriyonun 7 blastomere bölündüğü an işaretlenir (t7).
8 hücreli evre	Embriyonun 8 blastomere bölündüğü an işaretlenir (t8). Ayrıca; <ul style="list-style-type: none"> • Simetri (eşit / eşit değil), • Fragmantasyon yüzdesi (0-10 / 10-20 / 20-50 / >50) de işaretlenir.
9+ hücreli evre	Embriyonun 9 veya daha fazla blastomere bölündüğü an işaretlenir (t9, ...).
Geri Birleşme	Embriyonun herhangi bir sayıdaki blastomer evresinde, blastomer sayısını azaltıp tekrar arttırması söz konusu olduğunda işaretlenir. Blastomer sayıları da not edilebilir (ör: 1-2-1 gibi.)
Morula	Tüm blastomerlerin birleşerek hücre sınırlarının kaybolduğu an işaretlenir. Belirtilmesi gereken diğer noktalar şunlardır: <ul style="list-style-type: none"> • Tamamen birleşme (<i>full compaction</i>, C): Bütün blastomerler birleşmeye katılması. • Net dekompaksiyon (<i>decompaction clear</i>, DCC): Birleşmeden sonra moruladan canlı bir blastomer atılması. • Net Olmayan Dekompaksiyon (<i>decompaction unclear</i>, DCU): Birleşmeden sonra moruladan dejenere olmuş blastomer atılması. • Net Kısmi Birleşme (<i>partial compaction clear</i>, PCC): Morulaya katılmayan canlı blastomer olması. • Net Olmayan Kısmi Birleşme (<i>partial compaction unclear</i>, PCU): Morulaya katılmayan dejenere olmuş blastomer olması.
Blastulasyon Başlangıcı	Blastosöl oluşumunun başladığı an işaretlenir (tSB).
Blastosist	Embriyo genişlerken zonaya değdiği an işaretlenir (tB).
Genişlemiş Blastosist	Zona kalınlığının yarıya indiği an işaretlenir (tEB).
Çatlamış Blastosist	Blastosistin zonadan çıkmaya başladığı an işaretlenir (tHB).
Ölü Embriyo	Embriyonun tamamen dejenere olduğu zaman işaretlenir.

3.5.2. Embriyo Notlandırması

EmbriyoScope'da işaretlenmesi gereken noktalar Tablo 3.4'te verilmiştir.

3.5.3. Embriyo Seçilmesi

Embriyolar EmbriyoScope'ta notlandırılan özelliklerden yola çıkılarak ESHRE 2011'de varılan ortak kararlara göre embriyolar sınıflandırılarak öncelikle iyi, yoksa orta dereceli embriyolar seçilmiştir.

Tablo 3.5 Embriyolar İçin Belirli Saatlerde Yapılabilecek Kontroller ve Beklenen Embriyo Evreleri. (Zamanlama inseminasyon sonrası saat olarak verilmiştir.) ESHRE'den ⁽²¹⁾ alınmıştır.

Gözlemeleme tipi	Zamanlama	Beklenen Gelişim Evresi
Döllenme kontrolü	17 ± 1 sa.	Pronükleer evre
Singami kontrolü	23 ± 1 sa.	%50 oranda singamide, %20 oranda 2 hücreli evrede
Erken bölünme kontrolü	26 ± 1 sa.	2 hücreli evre
2. gün embriyo değerlendirme	44 ± 1 sa.	4 hücreli evre
3. gün embriyo değerlendirme	68 ± 1 sa.	8 hücreli evre
4. gün embriyo değerlendirme	92 ± 2 sa.	Morula
5. gün embriyo değerlendirme	116 ± 2 sa.	Blastosist

Embriyo seçerken öncelikle inseminasyon sonrası saatine uygun evrede olması beklenir. (Tablo 3.5) Pronükleer evrede, PN boyutları, PN sayısı gibi; erken bölünme evrelerinde ise blastomer sayısı dışında blastomer büyüklüğü, blastomer eşitliği, fragmentasyon varlığı (> %10), multinükleasyon varlığı, granüllü endoplazmik retikulum varlığı, vakuol varlığı (> 14 µm) gibi kriterlere dikkat edildi. (Tablo 3.6)

Birleşmeye başlayan embriyolar için birleşmeye katılan hücre sayısına dikkat edildi. Blastosist aşamasındaki embriyo için ise evresi, iç hücre kitlesi ve trofoektodermi değerlendirildi. (Tablo 3.8)

Tablo 3.6 Bölünme Aşamasındaki Embriyonun Değerlendirilmesinde Blastomer Sayısı Dışında Kullanılan Kriterler. ESHRE'den ⁽²¹⁾ alınmıştır.

Skor	Derece	Tanımlama
1	İyi	<ul style="list-style-type: none"> • < % 10 fragmantasyon • Evreye uygun hücre boyutu • Multinükleasyon yok
2	Orta	<ul style="list-style-type: none"> • % 10-25 fragmantasyon • Çoğunlukta evreye uygun hücre boyutu • Multinükleasyon kanıtı yok
3	Kötü	<ul style="list-style-type: none"> • Ciddi fragmantasyon (> % 25) • Evreye uygun olmayan hücre boyutu • Multinükleasyon kanıtı var

Tablo 3.7 Dördüncü Gün Embriyosunu Değerlendirmek İçin Kullanılan Kriterler. ESHRE'den ⁽²¹⁾ alınmıştır.

Skor	Derece	Tanımlama
1	İyi	<ul style="list-style-type: none"> • 4. Hücre bölünmesine girilmesi • Tüm embriyo hacminin birleşmeye katılması
2	Orta	<ul style="list-style-type: none"> • 4. Hücre bölünmesine girilmesi • Embriyo hacminin çoğunun birleşmeye katılması
3	Kötü	<ul style="list-style-type: none"> • Embriyonun yarısından daha azının birleşmeye katılması ve 2-3 blastomerin ayrı olarak dışarıda kalması

Tablo 3.8 Blastosist Derecelendirme Kriterleri. ESHRE'den ⁽²¹⁾ alınmıştır.

	Skor	Derece	Tanımlama
Gelişim evresi	1		Erken blastosist
	2		Blastosist
	3		Genişlemiş blastosist
	4		Çatlamış blastosist
İç hücre kitlesi	1	İyi	
	2	Orta	
	3	Kötü	
Trofoektoderm	1	İyi	Çok hücreden oluşan yapışkan epitel
	2	Orta	Az hücreden oluşan gevşek epitel
	3	Kötü	Çok az hücre

3.5.4. Embriyo Transfer İşlemi

Embriyo transferleri üçüncü gün ya da beşinci gün yapılmıştır. Embriyo transferi için bir gece önceden transfer tabağı hazırlanarak 37°C’de inkübe edildi. Tabağın iki gözüne embriyo kültüründe kullanılan solüsyon konulurken bir gözüne ise EmbryoGlue® (Vitrolife) konuldu. Aynı şekilde kateter için kullanılacak solüsyon da küçük bir tübe alınarak bir gece önceden inkübe edildi.

Transfer günü seçilen embriyo/embriyolar transfer tabağına, transferden 10 dakika önce ise EmbryoGlue’ya alındı. Bu işlem tamamlanınca embriyo uygun katetere dikkatlice çekilerek transfer işlemi için doktora iletildi.

3.5.5. EmbryoScope Datalarının Bilgisayar Ortamına Aktarılması ve İşlenmesi

EmbryoScope ekranından bütün hastalar seçilerek bilgileri csv dosyası olarak alındı. Bu dosya, Microsoft Office Excel programı kullanılarak bir tablo haline getirildi. Bundan sonraki aşamalarda, gerekli parametreler program özellikleri kullanılarak filtrelendi ve gerekli sayılara ulaşıldı.

İncelenen parametreler;

- Direkt bölünme: t2, t3 ve t4 zamanlarına bakılarak 1’den 3’e ve 1’den 4’e bölünen embriyolar tespit edildi. Erkek faktör gruplarına göre sınıflandırıldı ve istatistiksel olarak incelendi.
- Monopronükleus: PN sayılarına bakılarak, 0 PN, 1 PN, 2PN ve 3 PN olan embriyolar tespit edildi. 1 PN olanların oranlarına bakıldı. Erkek faktör gruplarına göre sınıflandırıldı ve istatistiksel olarak incelendi.
- Fragmantasyon: Fragmantasyonu olan embriyolar fragmantasyon yüzdenlerine göre ve erkek faktör gruplarına göre sınıflandırıldı ve istatistiksel olarak incelendi.
- Geri birleşme: Bölündükten sonra blastomeri geri alan embriyolar tespit edilerek, görülme sıklıkları hesaplandı ve istatistiksel olarak incelendi.
- t5: Ortalama t5 hesaplandı. 5 blastomerli olma zamanı normal kabul edilen 45.-55. saatler ⁽⁴⁸⁾ arasında olanlar ve olmayanlar ayrıldı, erkek faktör gruplarına göre sınıflandırılarak ortalamaları hesaplandı ve istatistiksel olarak incelendi.

- tSB: Ortalama tSB hesaplandı. Blastulasyonun başlangıç zamanı normal kabul edilen 92.-96. saatler ⁽⁴⁸⁾ arasında olanlar ve olmayanlar ayrıldı, erkek faktör gruplarına göre sınıflandırılarak ortalamaları hesaplandı ve istatistiksel olarak incelendi.
- Gebelik oranları: Bölünme anormalliklerinin gebeliğe etkisini görebilmek için gebe sayısı, abort sayısı hesaplanarak oranlarına bakıldı ve istatistiksel olarak incelendi.

3.6. İstatistik İşlemleri

İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 (Kaysville, Utah, USA) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotlar (frekans, oran) kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında Pearson Ki-Kare testi, Fisher-Freeman-Halton testi ve Fisher's Exact test kullanıldı. Anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

4. BULGULAR

4.1. Mono Pronükleus

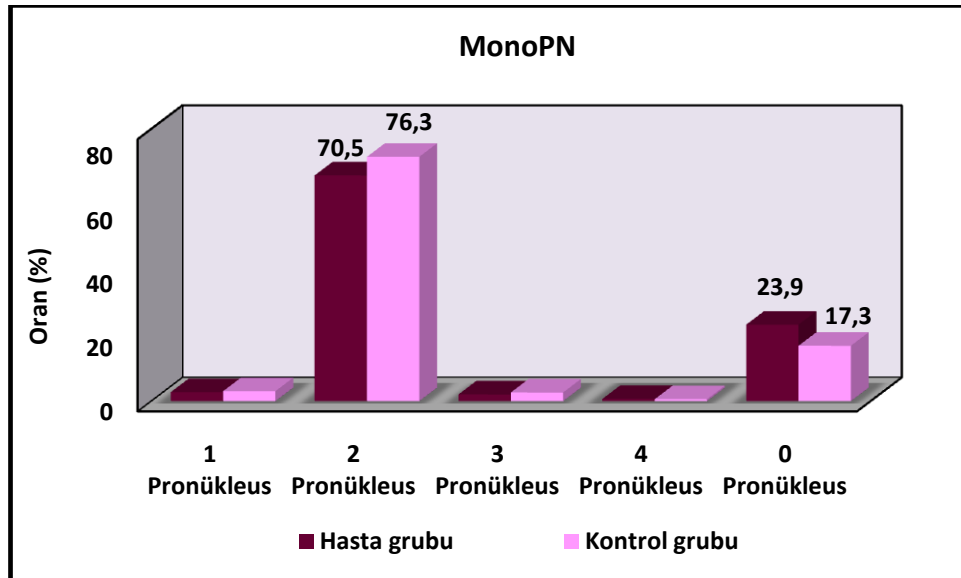
SİSE işlemi yapılmış oositlerde pronükleus sayıları incelendiğinde hasta grubunda 48 (%2,8), deney gurubunda ise 58 (%3,1) mono PN görülmüştür. Gruplar, bilinen PN sayılarına göre değerlendirildiğinde 1 pronükleus varlığı istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Hasta grubunda gözlemlenen 2 PN oranı %70,5 ($n=1201$) iken kontrol grubunda %76,3'tür ($n=1421$). Bu oranlar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup; hasta grubunda 2 pronükleus oranı kontrol grubundan anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p=0,001$; $p<0,01$).

Tablo 4.1 Gruplara Göre Mono PN Değerlendirmesi.

	Hasta grubu ($n=1703$) (%)	Kontrol grubu ($n=1864$) (%)	^a <i>p</i>
1 Pronükleus	48 (2,8)	58 (3,1)	0,607
2 Pronükleus	1201 (70,5)	1421 (76,3)	0,001**
3 Pronükleus	35 (2,1)	51 (2,7)	0,185
4 Pronükleus	12 (0,7)	11 (0,6)	0,670
0 Pronükleus	407 (23,9)	323 (17,3)	0,001**

^aPearson Chi-Square Test, ** $p<0,01$



Grafik 4.1 Gruplara Göre Mono PN Dağılımları.

3 PN gözlemlenen embriyo oranı hasta grubu için %2,1 (n=35) ve kontrol grubu için %2,7'dir (n=51). 4 PN oranları ise sırasıyla %0,7 (n=12) ve %0,6'dır (n=11). Gruplar arasında bu oranlar karşılaştırıldığında 3 pronükleus ve 4 pronükleus varlığı istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Hasta grubunda 0 PN görülme oranı %23,9 (n=407) iken kontrol grubunda %17,3'tür (n=323). Gruplara göre 0 pronükleus gözlenme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup; hasta grubunda 0 pronükleus oranı kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p=0,001$; $p<0,01$) (Tablo 4.1). Yani, hasta grubunda fertilizasyon oranı kontrol grubundan daha düşüktür.

Mono PN olduğunu bildiğimiz embriyoların bölünmelerini incelemek için 2'ye bölünme oranlarına ve direkt bölünme oranlarına bakıldı. Hasta grubunun %66,7'si (n=32) 2'ye bölünürken kontrol grubunun %67,2'si (n=39) 2'ye bölünmektedir. 3'e direkt bölünme oranı hasta grubu için %10,4 (n=5), kontrol grubu için %8,6'dır (n=5). Bölünmeyen embriyolara bakıldığında ise hasta grubu için %16,7'lik (n=8) bir oran ve kontrol grubu için %19,0'lık (n=11) bir oran bulunmuştur. 1 PN gözlenen olguların bölünme şekilleri gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$); ancak hasta grubu direkt 3'e bölünme oranları kontrol grubuna göre göreceli olarak yüksektir. (Tablo 4.2)

Tablo 4.2 Gruplara Göre 1 Pronükleus Saptanan Olgularda Bölünme Şekillerinin Değerlendirilmesi.

	Hasta grubu (n=48) (%)	Kontrol grubu (n=58) (%)	^ap
2'ye bölünen	32 (66,7)	39 (67,2)	0,950
3'e direkt bölünen	5 (10,4)	5 (8,6)	^c0,753
4'e direkt bölünen	3 (6,3)	3 (5,2)	^c1,000
Bölünmeyen	8 (16,7)	11 (19,0)	0,759

^aPearson Chi-Square Test, ^cFisher's Exact Test

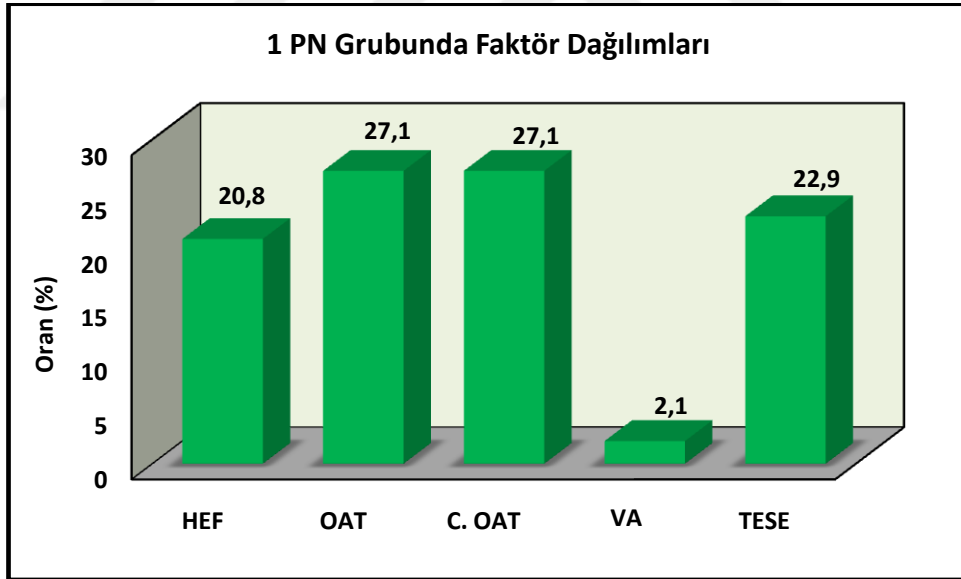
Hasta grupları incelendiğinde, HEF grubunda %20,8 (n=10), OAT grubunda %27,1 (n=13), C. OAT grubunda %27,1 (n=13), VA grubunda %2,1 (n=1) ve TESE gurubunda %22,9 (n=11) oranında mono PN olduğu görülmüştür. Hasta grubunda

olup 1 pronükleus gözlenen olgularda, faktörler istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir; bu olgularda virtual azospermi oranı diğer faktörlerden anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p=0,012$; $p<0,05$). Ancak bu durum, virtual azospermi vakalarının diğer gruplara göre az olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Tablo 4.3 Hasta Grubunda 1 Pronükleus Saptanan Olgularda Gözlenen Erkek Faktörlerinin Değerlendirilmesi.

Erkek Faktör Grupları (1 PN)	n (%)
HEF	10 (20,8)
OAT	13 (27,1)
C. OAT	13 (27,1)
VA	1 (2,1)
TESE	11 (22,9)
^a p	0,012*

^aPearson Chi-Square Test, * $p<0,05$



Grafik 4.2 Hasta Grubunda Olup Mono PN Gözlenen Embriyolarda Erkek Faktörlerinin Dağılımları.

4.2. Direkt Bölünme

Hasta grubu SİSE işlemi yapılmış oositlerinin %55,7'sinde ($n=1088$), kontrol grubu SİSE işlemi yapılmış oositlerinin %73,8'inde ($n=1442$) 2'ye bölünme

gözlenmiştir. Hasta grupta 2'ye bölünme oranı kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ($p=0,001$; $p<0,01$).

Hasta grubunun %5,4'ünde ($n=106$), kontrol grubunun %4,2'sinde ($n=82$) 3'e direkt bölünme gözlenmiştir. Gruplara göre 3'e direkt bölünme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmazken ($p>0,05$); bölünme oranlarının hasta grubunda göreceli yüksek olması dikkat çekicidir. (Grafik 4.3)

Hasta grubunun %2,5'inde ($n=49$), kontrol grubunun ise %1,8'inde ($n=35$) 4'e direkt bölünme gözlenmiştir. Gruplara göre 4'e direkt bölünme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). (Tablo 4.4)

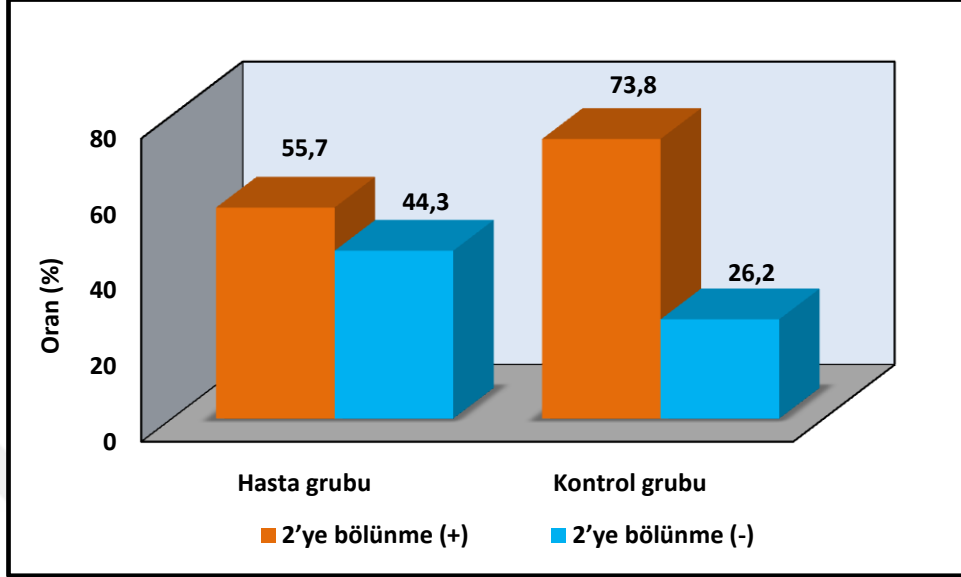
Tablo 4.4 Gruplara Göre Direkt Bölünme Değerlendirmesi.

Tüm SİSE Yapılan Oositler Arasında			
	Hasta grubu (n=1954)	Kontrol grubu (n=1954)	^ap
	n (%)	n (%)	
2'ye bölünme (+)	1088 (55,7)	1442 (73,8)	0,001**
2'ye bölünme (-)	866 (44,3)	512 (26,2)	
3'e direkt bölünme (+)	106 (5,4)	82 (4,2)	0,073
3'e direkt bölünme (-)	1848 (94,6)	1872 (95,8)	
4'e direkt bölünme (+)	49 (2,5)	35 (1,8)	0,123
4'e direkt bölünme (-)	1905 (97,5)	1919 (98,2)	
Bölündüğü Bilinen Embriyolar Arasında			
	Hasta grubu (n=1243)	Kontrol grubu (n=1559)	^ap
	n (%)	n (%)	
2'ye bölünme (+)	1088 (87,5)	1442 (92,5)	0,001**
2'ye bölünme (-)	155 (12,5)	117 (7,5)	
3'e direkt bölünme (+)	106 (8,5)	82 (5,3)	0,001**
3'e direkt bölünme (-)	1137 (91,5)	1477 (94,7)	
4'e direkt bölünme (+)	49 (3,9)	35 (2,2)	0,009**
4'e direkt bölünme (-)	1194 (96,1)	1524 (97,8)	

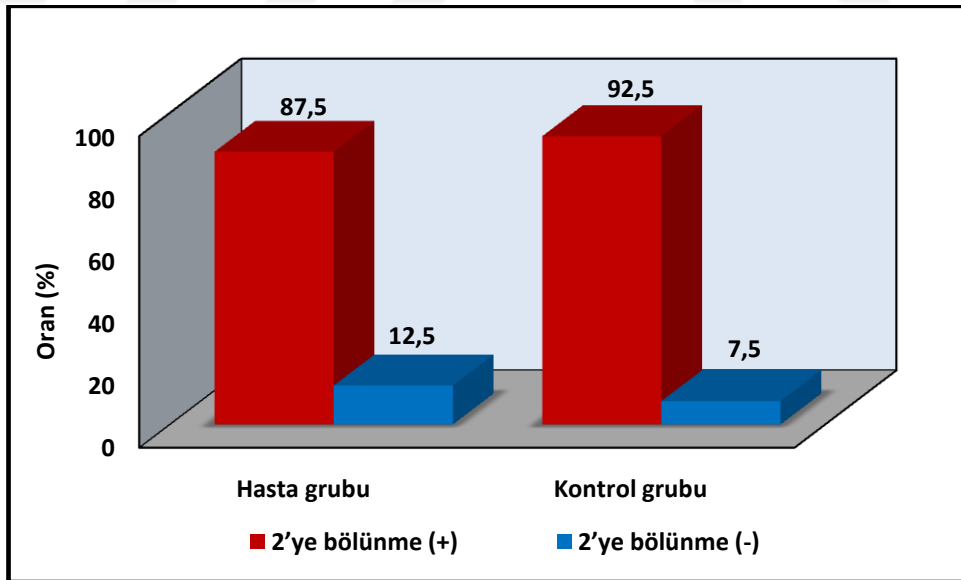
^aPearson Chi-Square Test, ** $p<0,01$

Oluşan embriyolar arasında değerlendirme yapıldığında hasta grubu embriyolarının %87,5'inde ($n=1088$), kontrol grubu embriyolarının %92,5'inde ($n=1442$) 2'ye bölünme gözlenmiştir. Hasta grubunda 2'ye bölünme oranı kontrol

grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ($p=0,001$; $p<0,01$) (Tablo 4.4, Grafik 4.4).



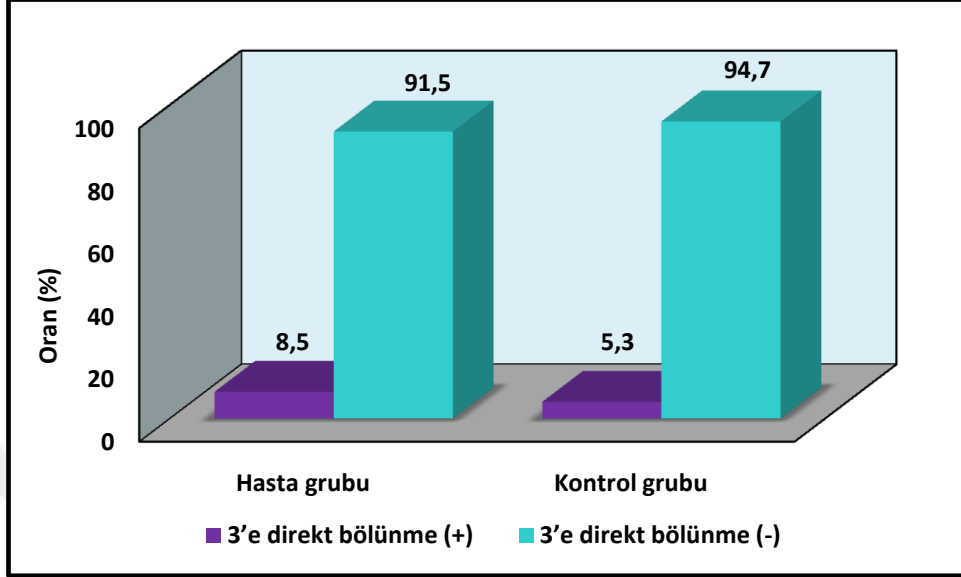
Grafik 4.3 Gruplara Göre Tüm SİSE Yapılan Oositlerde 2'ye Bölünmenin Karşılaştırılması.



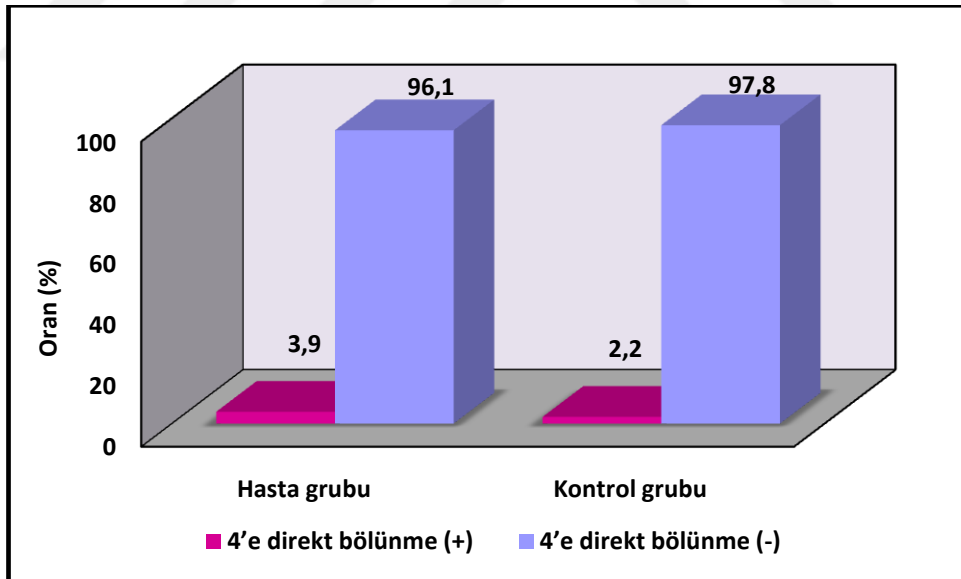
Grafik 4.4 Gruplara Göre Embriyolarda 2'ye Bölünmenin Karşılaştırılması.

Hasta grubu embriyolarının %8,5'inde ($n=106$), kontrol grubu embriyolarının %5,3'ünde ($n=82$) 3'e direkt bölünme gözlenmiştir. Hasta grubunda 3'e direkt

bölünme oranının kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır ($p=0,001$; $p<0,01$) (Bkz. Tablo 4.4, Grafik 4.5).



Grafik 4.5 Gruplara Göre Embriyolarda 3'e Direkt Bölünme Oranlarının Dağılımları.



Grafik 4.6 Gruplara Göre Embriyolarda 4'e Direkt Bölünme Oranlarının Dağılımları.

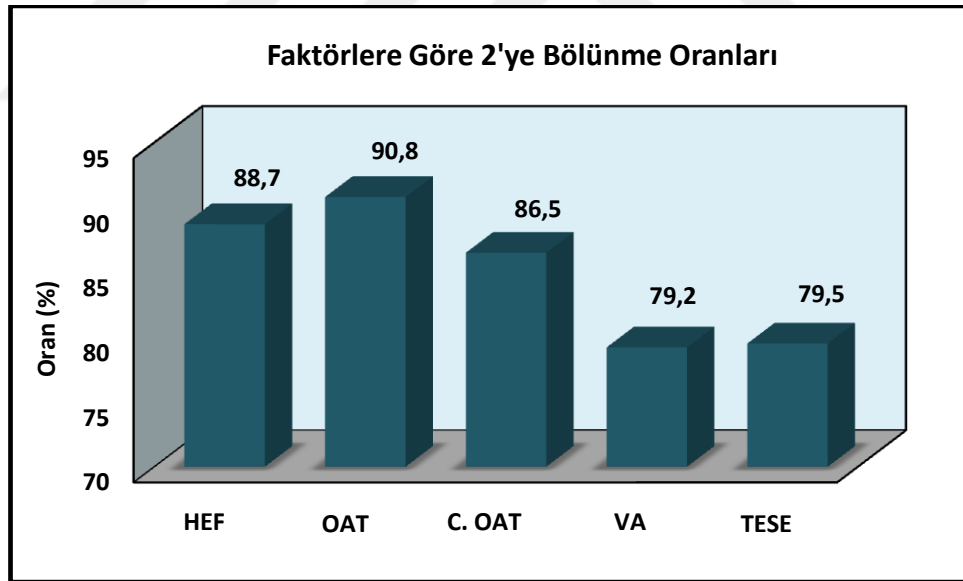
Hasta grubu embriyolarının %3,9'unda ($n=49$), kontrol grubu embriyolarının %2,2'sinde ($n=35$) 4'e direkt bölünme gözlenmiştir. Hasta grubunda 4'e direkt

bölünme oranının kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır ($p=0,009$; $p<0,01$) (Bkz. Tablo 4.4, Grafik 4.6).

Tablo 4.5 Hasta Grubunda Erkek Faktörlerine Göre Bölünme Şekillerinin Değerlendirilmesi.

Erkek Faktörleri	Bölünme Şekli		
	2'ye bölünme (+) (n=1088)	3'e direkt bölünme (+) (n=106)	4'e direkt bölünme (+) (n=49)
	n (%)	n (%)	n (%)
HEF	401 (88,7)	39 (8,6)	12 (2,7)
OAT	287 (90,8)	22 (7,0)	7 (2,2)
C. OAT	276 (86,5)	26 (8,2)	17 (5,3)
VA	19 (79,2)	4 (16,4)	1 (4,2)
TESE	105 (79,5)	15 (11,4)	12 (9,1)
^b p	0,010*	0,305	0,005**

^bFisher Freeman Halton Test, * $p<0,05$, ** $p<0,01$



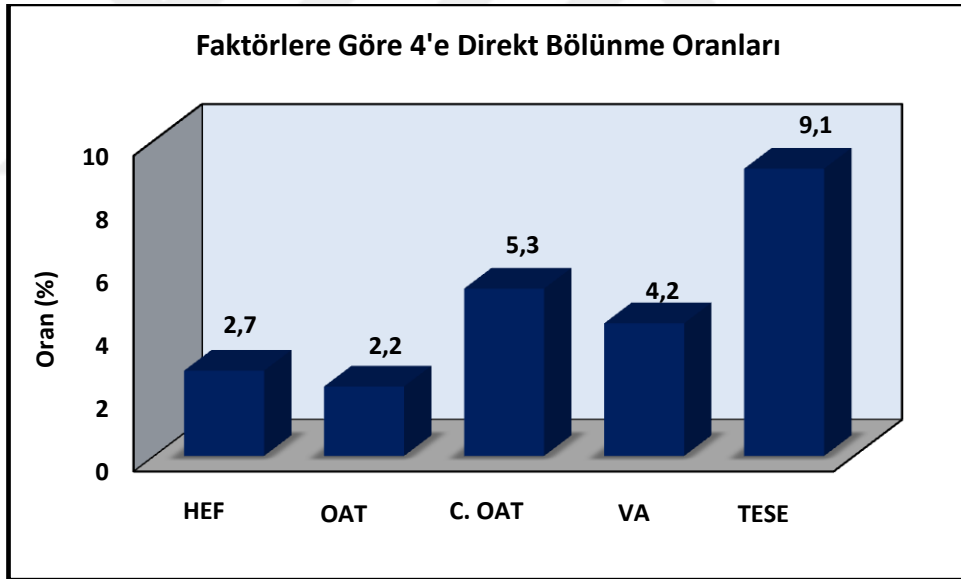
Grafik 4.7 Erkek Faktörlerine Göre 2'ye Bölünme Oranlarının Dağılımları.

Hasta grubu içinde erkek faktörlerin bölünmeleri incelendiğinde HEF grubunun %88,7'sinin ($n=401$), OAT grubunun %90,8'inin ($n=287$), C. OAT grubunun %86,5'inin ($n=276$), VA grubunun %79,2'sinin ($n=19$) ve TESE grubunun %79,5'inin ($n=105$) 2'ye bölündüğü gözlemlenmiştir. Erkek faktörlere göre ikiye

bölünme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup; VA ve TESE gruplarında ikiye bölünme oranı, HEF, OAT ve C. OAT gruplarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur ($p=0,010$; $p<0,05$) (Tablo 4.5, Grafik 4.7).

HEF grubunun %8,6'sı ($n=39$), OAT grubunun %7,0'ı ($n=22$), C. OAT grubunun %8,2'si ($n=26$), VA grubunun %16,4'ü ($n=4$) ve TESE grubunun %11,4'ü ($n=15$) direkt 3'e bölünmüştür. Faktörlere göre üçe direkt bölünme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Dörde direkt bölünme, HEF grubunun %2,7'sinde ($n=12$), OAT grubunun %2,2'sinde ($n=7$), C. OAT grubunun %5,3'ünde ($n=17$), VA grubunun %4,2'sinde ($n=1$) ve TESE grubunun %9,1'inde ($n=12$) görülmektedir. Faktörlere göre dörde direkt bölünme oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup; TESE grubunda dörde direkt bölünme oranı diğer faktör gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p=0,005$; $p<0,01$). (Tablo 4.5, Grafik 4.8).



Grafik 4.8 Erkek Faktörlerine Göre 4'e Direkt Bölünme Oranlarının Dağılımları.

Bölünme şekillerine göre erkek faktör grupları değerlendirildiğinde, ikiye bölünen embriyoların %36,8'ini hafif erkek faktörlü embriyolar, %26,4'ünü OAT'li embriyolar, %25,4'ünü ciddi OAT'li embriyolar, %1,7'sini virtual azospermili embriyolar, %9,7'sini ise TESE embriyoları oluşturmaktadır.

Tablo 4.6 Hasta Grubunda Bölünme Şekline Göre Erkek Faktörlerinin Değerlendirilmesi.

Faktörler	Bölünme Şekli			^a p
	2'ye bölünme (+) (n=1088)	3'e direkt bölünme (+) (n=106)	4'e direkt bölünme (+) (n=49)	
	n (%)	n (%)	n (%)	
HEF	401 (36,8)	39 (36,8)	12 (24,5)	0,211
OAT	287 (26,4)	22 (20,8)	7 (14,3)	0,084
C. OAT	276 (25,4)	26 (24,4)	17 (34,7)	0,330
VA	19 (1,7)	4 (3,8)	1 (2,0)	^b0,217
TESE	105 (9,7)	15 (14,2)	12 (24,5)	0,002**

^aPearson Chi-Square Test, ^bFisher Freeman Halton Test, **p<0,01

Direkt üçe bölünen embriyoların %36,8'ini hafif erkek faktörlü embriyolar, %20,8'ini OAT'li embriyolar, %24,4'ünü ciddi OAT'li embriyolar, %3,8'ini virtual azospermili embriyolar, %14,2'sini ise TESE embriyoları oluşturmaktadır.

Direkt dörde bölünen embriyoların %24,5'ini hafif erkek faktörlü embriyolar, %14,03'ünü OAT'li embriyolar, %34,7'sini ciddi OAT'li embriyolar, %2,0'ını virtual azospermili embriyolar, %24,5'ini ise TESE embriyoları oluşturmaktadır.

İstatistiksel olarak incelendiğinde, bölünme şekline göre HEF, OAT, C. OAT ve VA oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05). Dörde direkt bölünme gözlenen gruptaki OAT oranının, ikiye bölünen ve üçe direkt bölünen gruplardan göreceli düşük olması dikkat çekicidir.

Bölünme şekline göre TESE oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup; 4'e direkt bölünme gözlenen gruptaki TESE oranı, ikiye bölünme ve üçe direkt bölünme gözlenen gruplardan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p=0,002; p<0,01). (Tablo 4.6).

4.3. Fragmantasyon

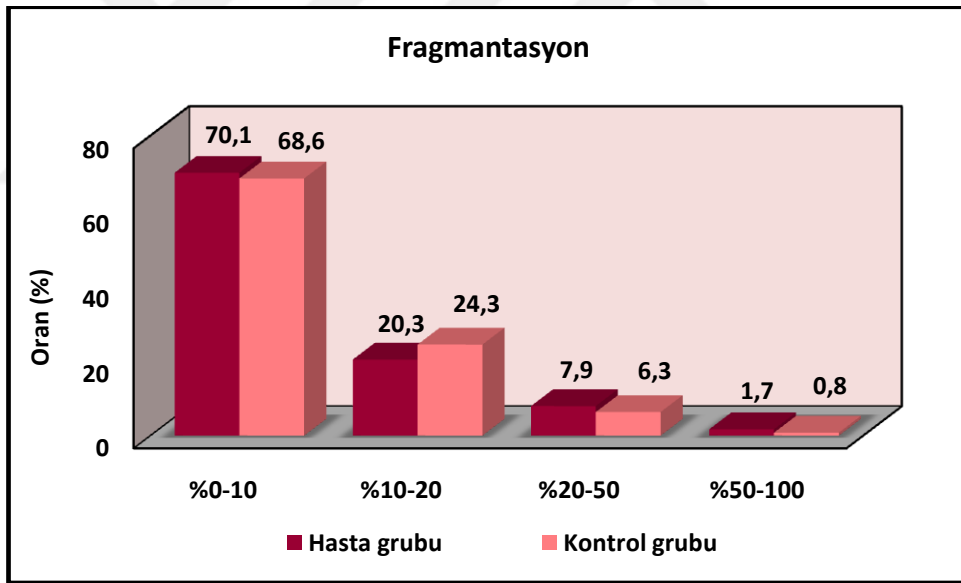
Fragmantasyonda kabul edilebilir aralık olan %0-10 fragmantasyon ⁽²¹⁾ görülme oranı hasta grubunda %70,1 (n=804) iken kontrol grubunda %68,6'dır (n=908) ve istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05). (Tablo 4.7, Grafik 4.9)

%0-10'dan daha ileri derecedeki fragmantasyon oranları hasta grubu için %29,9 (n=343) ve kontrol grubu için %31,4'tür (n=15) ve bu oranlar istatistiksel olarak incelendiklerinde anlamlı farklılık göstermemektedirler ($p>0,05$). (Tablo 4.7)

Tablo 4.7 Gruplara Göre Fragmantasyon Değerlendirmesi.

Fragmantasyon	Hasta grubu (n=1147)	Kontrol grubu (n=1123)	^a p
Kabul Edilebilir Aralıkta (%0-10)	804 (70,1)	908 (68,6)	0,431
Daha İleri derecede fragmantasyon	343 (29,9)	415 (31,4)	
%10-20	233 (20,3)	321 (24,3)	0,019*
%20-50	91 (7,9)	84 (6,3)	0,126
%50-100	19 (1,7)	10 (0,8)	0,038*

^aPearson Chi-Square Test, * $p<0,05$



Grafik 4.9 Gruplara Göre Fragmantasyon Dağılımları.

Hasta grubunda %10-20 fragmantasyon görülme oranı %20,3 (n=233) iken kontrol grubunda %24,3'tür (n=321). Hasta grubunun oranı, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktür ($p=0,019$; $p<0,05$).

%20-50 oranındaki fragmantasyon gösteren embriyo yüzdelerine bakıldığında, hasta grubunda %7,9 (n=91), kontrol grubunda ise %6,3 (n=84) olduğu

gözlenmiştir. Gruplara göre %20-50 fragmantasyon oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

%50-100 oranlarındaki fragmantasyonlara bakıldığında, hasta grubunda %1,7 ($n=19$), kontrol grubunda ise %0,8 ($n=10$) oranında olduğu görülmüştür. Hasta grubunda yüksek derecede fragmantasyon görülme oranı istatistiksel anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur. (Tablo 4.7)

Tablo 4.8 Hasta Grubunda Erkek Faktörlerine Göre Fragmantasyon Değerlendirmesi.

<i>Erkek Faktör Grupları</i>	Fragmantasyon			
	%0-10	%10-20	%20-50	%50-100
HEF	303 (73,2)	78 (18,8)	27 (6,5)	6 (1,4)
OAT	215 (70,7)	68 (22,4)	17 (5,6)	4 (1,3)
C. OAT	201 (68,4)	56 (19,0)	29 (9,9)	8 (2,7)
V. AZO	8 (61,5)	5 (38,5)	0 (0)	0 (0)
TESE	77 (63,1)	26 (21,3)	18 (14,8)	1 (0,8)
^b <i>p</i>	0,216	0,350	0,015*	0,602

^bFisher Freeman Halton Test, * $p<0,05$

%0-10 fragmantasyon en çok gözlenen fragmantasyon grubu olup; HEF grubunda %73,2 ($n=303$), OAT grubunda %70,7 ($n=215$), C. OAT grubunda %68,4 ($n=201$), VA grubunda %61,5 ($n=8$) ve TESE grubunda %63,1 ($n=77$) oranlarında görülmüştür.

%10-20 fragmantasyon HEF grubunda %18,8 ($n=78$), OAT grubunda %22,4 ($n=68$), C. OAT grubunda %19,0 ($n=56$), VA grubunda %38,5 ($n=5$) ve TESE grubunda %21,3 ($n=26$) oranlarında görülmüştür.

%20-50 fragmantasyon görülme oranları HEF grubu için %6,5 ($n=27$), OAT grubu için %5,6 ($n=17$), C. OAT grubu için %9,9 ($n=29$) ve TESE grubu için %14,8'dir ($n=18$). Ancak VA grubunda hiç %20-50 fragmantasyon görülmemiştir. Faktörlere göre değerlendirildiğinde %20-50 fragmantasyon oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup; TESE gözlenen olgularda %20-50 fragmantasyon oranı, diğer faktör gruplarından anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p=0,015$; $p<0,05$).

En ileri derece fragmantasyon yüzdesi olan %50-100, HEF grubunda %1,4 (n=6), OAT grubunda %1,3 (n=4), C. OAT grubunda %2,7 (n=8) ve TESE grubunda %0,8 (n=1) oranlarında görülmüştür. VA grubunda bu fragmantasyon yüzdesi de görülmemiştir. Bu oranlar, istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$). (Tablo 4.8)

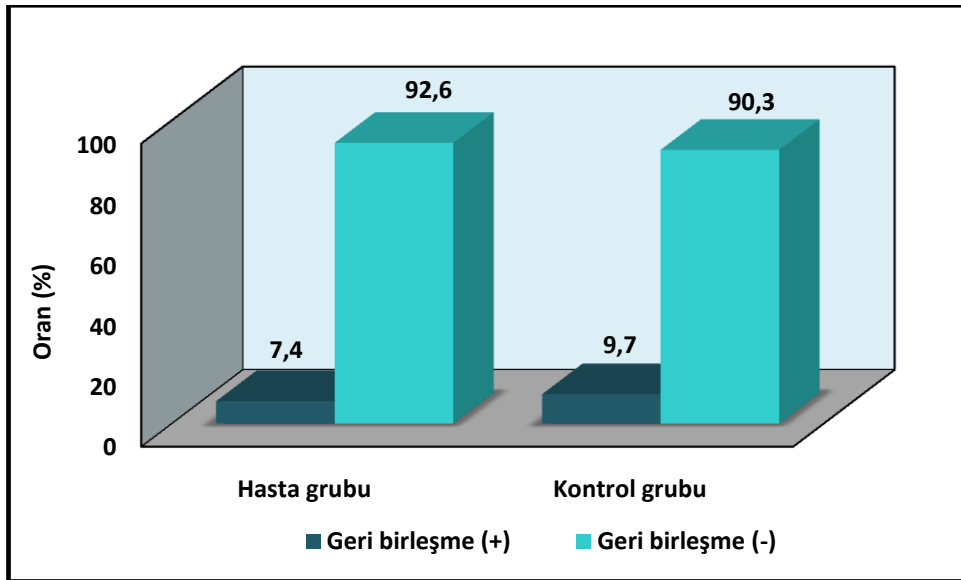
4.4. Geri Birleşme

Hasta grubu embriyolarının %7,4'ünde (n=144) geri birleşme saptanırken; kontrol grubu embriyolarının %9,7'sinde (n=190) geri birleşme saptanmıştır. Hasta grubunda geri birleşme oranının kontrol grubundan düşük olması istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,008$; $p<0,01$). (Tablo 4.9)

Tablo 4.9 Gruplara Göre Geri Birleşme Durumunun Değerlendirmesi.

Geri birleşme durumu	Hasta grubu (n=1954)	Kontrol grubu (n=1954)	^a p
Var	144 (7,4)	190 (9,7)	0,008**
Yok	1810 (92,6)	1764 (90,3)	

^aPearson Chi-Square Test, ** $p<0,01$



Grafik 4.10 Gruplara Göre Geri Birleşme Oranlarının Dağılımları.

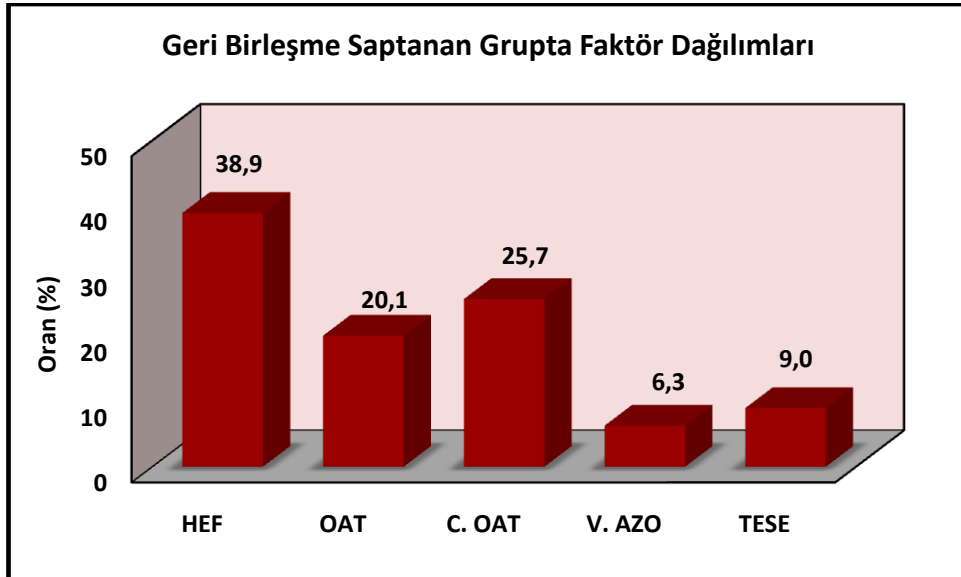
Erkek faktörlerine göre sınıflandırılarak geri birleşme oranlarına bakıldığında, HEF'li embriyoların %38,9'unda (n=56), OAT'li embriyoların %20,1'inde (n=29),

ciddi OAT'li embriyoların %25,7'sinde (n=37), virtual azospermi embriyolarının %6,3'ünde (n=9) ve TESE grubu embriyoların %9,0'ında (n=13) geri birleşme gerçekleştiği görülmüştür. Hasta grubunda olup geri birleşme gözlenen olgularda erkek faktörler istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir (p=0,001; p<0,01). Geri birleşme görülen embriyolarda VA ve TESE oranı; HEF, OAT ve C. OAT oranlarından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p=0,001; p<0,01). OAT oranı, HEF oranından anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p=0,001; p<0,01). (Tablo 4.10)

Tablo 4.10 Hasta Grubunda Geri Birleşme Saptanan Olgularda Gözlenen Erkek Faktörlerinin Değerlendirmesi.

Erkek Faktör Grupları	Geride Birleşme (+) (n=144)
	n (%)
HEF	56 (38,9)
OAT	29 (20,1)
C. OAT	37 (25,7)
V. AZO	9 (6,3)
TESE	13 (9,0)
^a p	0,001**

^aPearson Chi-Square Test, **p<0,01



Grafik 4.11 Hasta Grubunda Olup Geride Birleşme Saptanan Olgularda Erkek Faktörlerinin Dağılımları.

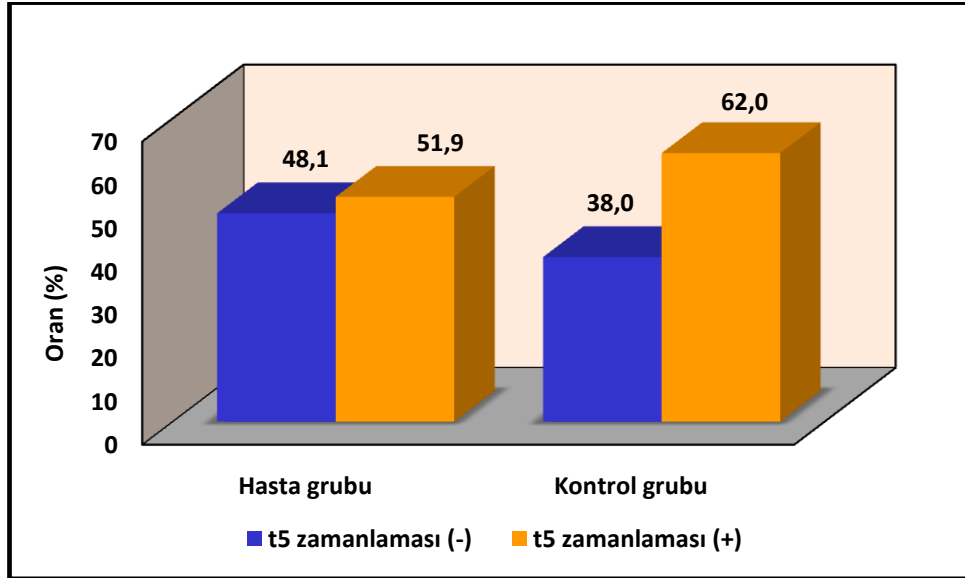
4.5. Beşe Bölünme Zamanı (t5)

Hasta grubunda 1954 SİSE işlemi yapılmış oositin %51,9'unun (n=940) embriyonun 5 blastomerli evresine erişebildiği, kontrol grubunda ise bu oranın %62,0 (n=742) olduğu görülmüştür. Gruplara göre t5 zamanlaması oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir. Hasta grubunda t5 görülme oranı kontrol grubundan anlamlı düzeyde düşük bulunmuştur (p=0,001; p<0,01). (Tablo 4.11). Yani, hasta grubunda 5 blastomerli evreye ulaşan daha az sayıda embriyo bulunmaktadır.

Tablo 4.11 Hasta ve Kontrol Gruplarına Göre t5 Değerlendirmesi.

	Hasta grubu (n=1954)	Kontrol grubu (n=1954) (%)	^a p
	n (%)	n (%)	
t5 (-)	940 (48,1)	742 (38,0)	0,001**
t5 (+)	1014 (51,9)	1212 (62,0)	
Normal aralıkta t5	491 (48,4)	608 (50,2)	0,413
Anormal aralıkta t5	523 (51,6)	604 (49,8)	

^aPearson Chi-Square Test, **p<0,017



Grafik 4.12 Gruplara Göre t5 Varlığı Dağılımları.

Hasta grubunda embriyoların %48,4'inde (n=491) normal aralıkta (45. ve 55. saatler arası) t5 görülürken, kontrol grubun bu oran %50,2 (n=608) olarak hesaplanmıştır. Normal kabul edilen aralığın dışında t5'e sahip embriyoların oranı ise hasta grubunda % 51,6 (n=523) ve kontrol grubunda %49,8'dir (n=604). Normal ve anormal aralıktaki t5 oranları gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05). (Tablo 4.12)

Tablo 4.12 Hasta Grubunda Erkek Faktörlere Göre t5 Değerlendirilmesi.

Erkek Faktör Grupları	Normal aralıkta t5 (n=491)	Anormal aralıkta t5 (n=523)
	n (%)	n (%)
HEF	188 (49,1)	195 (50,9)
OAT	144 (53,1)	127 (46,9)
C. OAT	117 (46,1)	137 (53,9)
VA	4 (26,7)	11 (73,3)
TESE	38 (41,8)	53 (58,2)
^a p	0,111	

^aPearson Chi-Square Test

t5'i normal aralıkta olan embriyo oranlarının HEF'li grupta %49,1,OAT'li grupta %53,1, ciddi OAT'li grupta %46,1, virtual azospermi grubunda %26,7 ve TESE grubunda %41,8 olduğu saptanmıştır. Anormal oranları ise HEF grubu için %50,9, OAT'li grup için %46,9, ciddi OAT'li grup için %53,9, VA grubunda %73,3 ve TESE grubunda %58,2 olduğu görülmüştür. Hasta grubunda, erkek faktörlerine göre normal ve anormal aralıktaki t5 oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05). Anormal aralıkta t5 oranının, VA grubunda, diğer faktör gruplarından yüksek olması dikkat çekicidir.

4.6. Blastulasyon Başlama Zamanı (tSB)

Hasta grubunda 349 embriyo, kontrol grubunda ise 359 embriyo blastulasyon başlangıcı aşamasına ulaşmıştır. Virtual azospermi grubundan hiç bir embriyo bu aşamaya ulaşamamıştır.

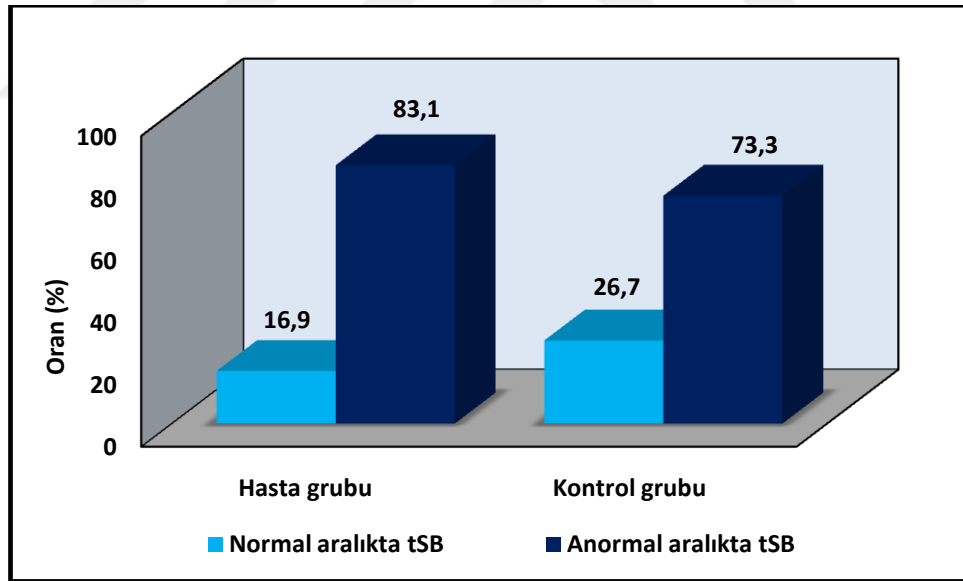
Hasta ve kontrol gruplarında blastulasyon başlama zamanları (tSB) karşılaştırıldığında, hasta grubundaki embriyoların %16,9'unun (n=59), kontrol

grubunun ise %26,7'sinin (n=96) normal aralıkta tSB'si olduğu saptanmıştır. Hasta grubunun %83,1'inin (n=290) ve kontrol grubunun %73,3'ünün (n=263) normal kabul edilen aralık dışında olduğu gözlenmiştir. Gruplara göre anormal aralıktaki tSB oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmış olup; hasta grubu anormal aralıktaki tSB oranı kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p=0,002; p<0,01). (Tablo 4.13)

Tablo 4.13 Gruplara Göre tSB Değerlendirmesi.

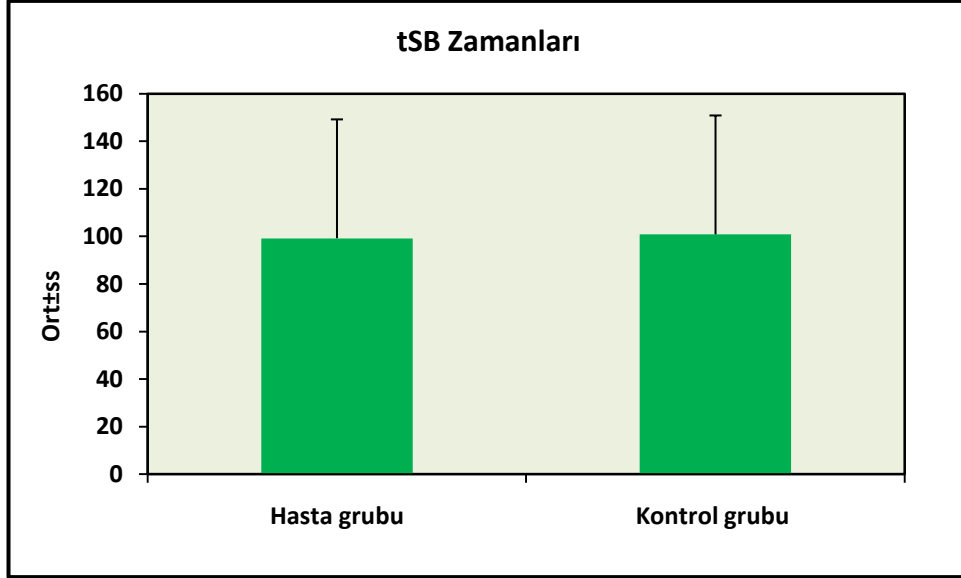
		Hasta grubu (n=349)	Kontrol grubu (n=359)	p
tSB durumu n (%)	Normal aralıkta tSB	59 (16,9)	96 (26,7)	^a 0,002**
	Anormal aralıkta tSB	290 (83,1)	263 (73,3)	
tSB zamanları	Ort±Ss	99,16±9,36	100,81±8,50	^d 0,014*

^aPearson Chi-Square Test, ^dStudent t Test, *p<0,05, **p<0,01



Grafik 4.13 Gruplara Göre tSB Dağılımları.

Her iki grup için de zamanlamalar hesaplandığında, hasta grubunda ortalama tSB 99,16±9,36, kontrol grubu için ise 100,81±8,50'dir. Gruplara göre tSB zamanları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir. Hasta grubu tSB zamanları kontrol grubundan anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır (p=0,014; p<0,05).



Grafik 4.14 Gruplara Göre Blastulasyon Başlama Zamanları.

Tablo 4.14 Hasta Grubunda Erkek Faktörlerine Göre tSB Değerlendirilmesi.

Erkek Faktör Grupları	Normal aralıkta tSB (n=59)	Anormal aralıkta tSB (n=290)
	n (%)	n (%)
HEF	21 (15,6)	114 (84,4)
OAT	20 (15,4)	110 (84,6)
C. OAT	12 (21,1)	45 (78,9)
TESE	6 (22,2)	21 (77,8)
^b p	0,616	

VA olgularında tSB saptanmadığı için değerlendirmeye alınmamıştır.

^bFisher Freeman Halton Test

Erkek faktörlerine göre tSB değerlendirildiğinde, HEF grubunun %15,6'sının (n=21), OAT grubunun %15,4'ünün (n=20), C. OAT grubunun %21,1'inin (n=12) ve TESE grubunun %22,2'sinin (n=6) normal kabul edilen aralıkta blastulasyona başladığı, normal kabul edilen aralık dışında olanların yüzdelerinin ise sırasıyla %84,4 (n=114), %84,6 (n=110), %78,9 (n=45) ve %77,8 (n=21) olduğu gözlenmiştir. Hasta grubunda faktörlere göre anormal aralıktaki tSB oranları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05). VA olgularında tSB saptanmadığı için değerlendirmeye alınmamıştır. (Tablo 4.14)

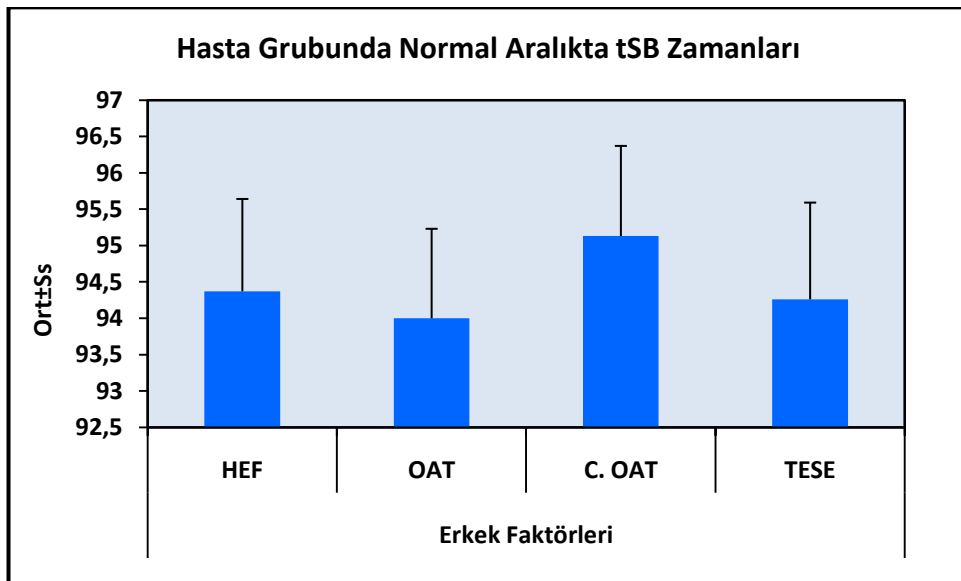
Tablo 4.15 Hasta Grubunda Erkek Faktörlerine Göre SB Zamanlarının Değerlendirilmesi.

Erkek Faktör Grupları	Normal aralıkta tSB Zamanları (n=59)	Anormal aralıkta tSB Zamanları (n=290)
	Ort±Ss	Ort±Ss
HEF	94,37±1,27	99,17±9,56
OAT	94,00±1,23	101,06±9,27
C. OAT	95,13±1,24	98,07±11,23
TESE	94,26±1,33	101,71±9,17
^e p	0,001**	0,009**

VA olgularında tSB saptanmadığı için değerlendirmeye alınmamıştır.

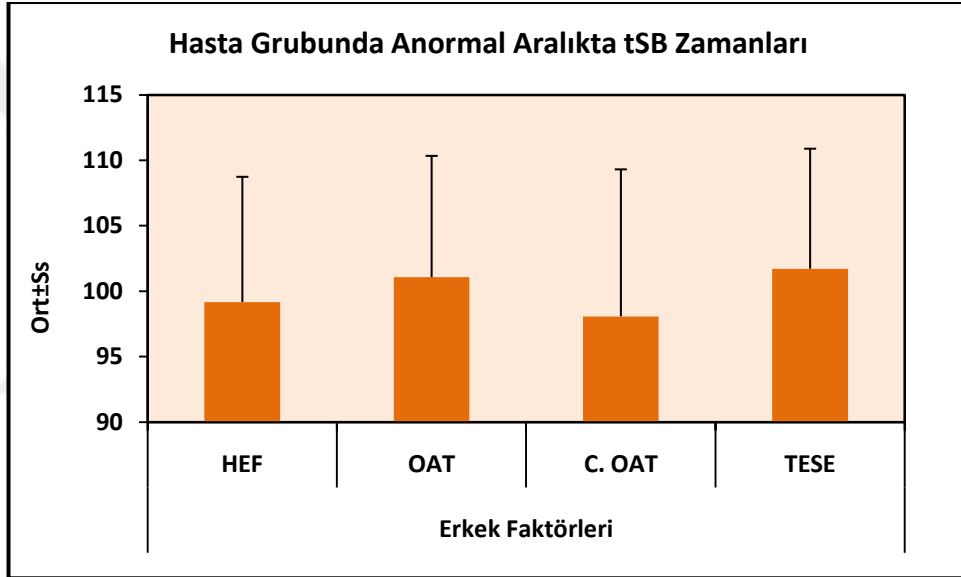
^eOneway ANOVA Test, **p<0,01

Hasta grubunda erkek faktörlere göre tSB hesaplandığında, normal aralıkta olan tSB'ler istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir (p=0,001; p<0,01). Anlamlı farklılığa neden olan faktörü saptamak için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucu; C. OAT gözlenen olguların normal aralıkta tSB zamanları, HEF (p=0,001), OAT (p=0,001) ve TESE (p=0,001) gözlenenlerden anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (p<0,01). Diğer ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05).



Grafik 4.15 Erkek Faktörlerinin Normal Aralıkta tSB Dağılımları.

Hasta grubunda erkek faktörlere göre tSB hesaplandığında, normal aralık dışında olan tSB'ler istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p=0,009$; $p<0,01$). Anlamlı farklılığa neden olan faktörü saptamak için yapılan ikili karşılaştırmalar sonucu; TESE gözlenen olguların anormal aralıkta tSB zamanları, HEF ($p=0,001$) ve C. OAT ($p=0,001$) gözlenenlerden anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,01$). OAT gözlenen olguların anormal aralıkta tSB zamanları da, HEF ($p=0,016$) ve C. OAT ($p=0,001$) gözlenenlerden anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p<0,01$). Diğer ikili karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). (Tablo 4.15)



Grafik 4.16 Erkek Faktörlerinin Normal Aralık Dışında Kalan tSB Dağılımları.

4.7. Gebelik

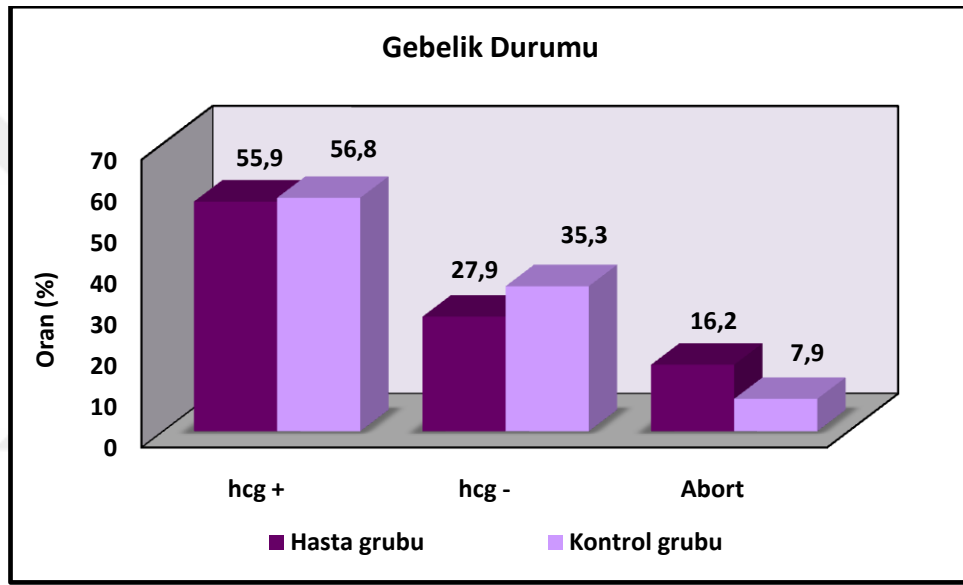
Hasta grubunda embriyoların %86,5'i ($n=186$), kontrol grubunda ise embriyoların %86,9'u ($n=192$) transfer edilmiştir. (Tablo 4.16)

Hasta grubunda sonucu bilinenlerin %55,9'u ($n=38$) gebe kalırken %27,9'u ($n=19$) gebe kalamamıştır. Sonucu bilinenlerin %16,2'si ($n=11$) ise düşük yapmıştır. Kontrol grubunda ise sonucu bilinen hastaların %56,8'i ($n=108$) gebe kalırken %35,3'ü ($n=67$) gebe kalamamıştır. %7,9 ($n=15$) oranında ise abort görülmüştür. Gebelik durumuna göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmazken ($p>0,05$); abort oranının hasta grupta yüksek olması dikkat çekicidir.

Tablo 4.16 Gruplara Göre Embriyo Transferi ve Gebelik Durumunun Değerlendirmesi.

	Hasta grubu (n=215)	Kontrol grubu (n=221)	^a p	
Transfer edilen embriyo sayısı	186 (86,5)	192 (86,9)		
Gebelik durumu	β-HCG (+)	38 (55,9)	108 (56,8)	
	β-HCG (-)	19 (27,9)	67 (35,3)	0,121
	Abort	11 (16,2)	15 (7,9)	

^aPearson Chi-Square Test



Grafik 4.17 Gruplara Göre Gebelik Durumlarının Dağılımları.

5. TARTIŞMA

İnfertilite nedenlerinde erkek kaynaklı faktörler önemli bir orana sahiptir ancak bu faktörlerin embriyo gelişimindeki etki mekanizmaları bilinmemektedir. Erkek faktörünün embriyo bölünmesindeki etkilerini anlamak için yapılan çalışmalarda daha çok bölünme zamanları üzerinde durulmuş, bölünme anomalileri incelenmemiştir. Neyer ve arkadaşlarının ⁽²⁾ yaptığı çalışmada sperm kalitesi vakuol varlığına göre sınıflandırılıp SİSE yapılarak elde edilen embriyolarda bölünme zamanlarına göre embriyolar sınıflandırılarak sperm morfolojisi ile bağlantısı incelenmiş ancak istatistiksel anlamlı sonuç bulunamamıştır. Aynı çalışmada, sperm morfolojisi ile blasta ulaşma arasında bir bağ kurulamadığı da belirtilmiştir. Lammers ve arkadaşlarının ⁽³⁾ yaptığı çalışmada testiküler sperm, ejakülat spermi ile karşılaştırılmış, ejakülat sperminden elde edilen embriyolarda daha erken t3, t8 görüldüğü ve morula ile blastosist evrelerinin daha erken görüldüğü dikkat çekmiştir. Buna benzeyen başka bir çalışmada ise ⁽⁵¹⁾ yüksek kalitede embriyo ejakülat spermi olgularında daha yüksek olduğu görülmüş ancak daha düşük kalitedeki embriyolar için istatistiksel bir anlamlılık bulunamamıştır. Gryshchenko ve arkadaşlarının ⁽⁴⁾ yaptığı çalışmada embriyo bölünme zamanları incelenmiş, erkek faktör embriyolarının, sağlıklı kabul edilen hastaların embriyoları ile istatistiksel anlamlı farkı olmadığı saptanmıştır. Örnekleri verilen çalışmalardan da anlaşılacağı gibi, embriyo bölünme anormallikleri ile erkek faktörleri arasında herhangi bir bağ henüz kurulmamıştır.

Bu çalışmada, ejakülatta görülen sperm sayılarına göre erkek faktörleri sınıflandırılmış ve embriyo bölünme anomalileri ile ilişkisi araştırılmıştır. Karşılaştırma yapabilmek için ise kadın ve erkeğin sağlıklı olduğu bilenen çiftlerle bir kontrol grubu oluşturulmuştur. İncelenen parametreler, mono PN, direkt bölünme, geri birleşme, beklenen zamanın dışında kalan t5 ve tSB ile bunların implantasyona etkisini görebilmek için değerlendirilen gebelik oranlarıdır.

PN sayıları incelendiğinde, hasta ve kontrol gruplarında mono PN görülme oranları arasında bir farklılık olmadığı gözlenmiştir. Aynı şekilde, 3 PN ve 4 PN görülme oranları da farklılık göstermemektedir. Sonuç olarak, PN sayılarında görülen ve genetik bir anomaliye sebep olabileceği bilinen ⁽⁸⁾ anomalilerin erkek

faktör ile bağlantılı olmadığı görülmüştür. Mono PN olgularında, en az oran virtual azospermi grubuna aittir ancak bu durum virtual azospermi vakalarının sayısının diğer gruplara göre düşük olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Mono PN görülen embriyoların bölünmeleri incelendiğinde istatistiksel anlamlı bir sonuç bulunamasa da hasta grubunda direkt bölünme oranı göreceli olarak yüksektir. Daha büyük bir hasta grubuyla değerlendirmeler tekrarlandığında, mono PN ve direkt bölünme arasında bir bağ olduğu gösterilebilir.

2 PN görülme oranı erkek faktörlü embriyolarda düşükken, bunula tutarlı olarak 0 PN görülme oranı yüksektir. Bu durum, istatistiksel anlamlı olup; erkek faktör grubunda dölleme oranının sağlıklı gruptan düşük olduğunu göstermektedir. De Vos ve arkadaşlarının daha önce yaptığı bir çalışmada da anormal morfolojili sperm enjeksiyonunda fertilizasyon oranının daha düşük olduğu söylenmiştir ve elde edilen sonuç bununla tutarlıdır. ⁽⁵²⁾

Bir başka parametre olan direkt bölünme oranları incelendiğinde, hasta grubunda döllemenin sağlıklı gruptan az olduğu yargısı ile tutarlı olarak ikiye bölünme oranı hasta grubunda, kontrol grubundan daha düşüktür.

Tüm SİSE yapılan oositler arasında değerlendirme yapıldığında, üçe direkt bölünme ve dörde direkt bölünme grupları arasında farklılık göstermese de üçe direkt bölünmenin hasta grubunda göreceli olarak yüksek olduğu görülmüştür. Embriyolar arasında yapılan değerlendirmede ise hem üçe hem de dörde direkt bölünme hasta grubunda daha yüksek görülmektedir. Yani, erkek faktör ve genetik bozukluklara neden olduğu düşünülen ⁽⁷⁾ direkt bölünme arasında istatistiksel anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir.

Erkek faktör gruplarında bölünme durumları incelendiğinde, TESE grubu hariç, azalan sperm sayısının direkt bölünme ile bağlantılı olmadığı görülmüştür. TESE grubunda istatistiksel önemli olacak şekilde hem ikiye ve üçe bölünmeden yüksek oranda hem de diğer hasta gruplarından yüksek oranda dörde direkt bölünme gerçekleşmektedir. Bu durumda, daha büyük bir hasta grubunda incelemeler tekrarlandığında, azalan sperm sayısı ile direkt bölünme ile bağlantılı olabileceğini düşünülmektedir.

İkiye bölünen embriyo oranlarının TESE ve virtual azospermi gruplarında istatistiksel önemli oranda düşük olduğu gözlenmiştir. Daha önce elde ettiğimiz

erkek faktörde dölleme oranının düşük olduğu sonucuna ek olarak, ileri derece erkek faktörünün de dölleme oranını azalttığı sonucuna ulaşılmıştır.

Fragmantasyon için %0-10 aralığı kabul edilebilir aralık olarak kabul edilmektedir ve bu fragmantasyon oranı hasta ve kontrol grupları arasında bir farklılık göstermemektedir. Kabul edilebilir (%0-10) ve anormal kabul edilen aralık (%10-100) karşılaştırıldığında hem hasta hem de kontrol grubu için istatistiksel bir anlamlı bir farklılık bulunamamıştır. Normal kabul edilen aralığın dışında, %10-20 fragmantasyon oranının, hasta grubunda düşük olduğu ve %50-100 fragmantasyon oranının hasta grubunda yüksek olduğu saptanmıştır. %20-50 oranının ise istatistiksel anlamlı bir farklılık göstermediği saptanmıştır ve bu oran en çok TESE'de görülmektedir. Fragmantasyon varlığı erkek faktöre bağlı gözükmemeyle birlikte, yüksek oranda fragmantasyonun erkek faktörlü grupta yüksek olması ve yüksek kabul edilebilecek bir oran olan %20-50 oranının TESE grubunda yüksek olması ileri derece fragmantasyon nedenlerinden birinin erkek faktör olabileceğini göstermektedir. Yani, fragmantasyon görülmesi değil ancak ileri derecede fragmantasyon görülmesi erkek faktör ile bağlantılı olabilir.

Geri birleşme oranları, hasta grubunda kontrol grubundan anlamlı düşük; erkek faktörler arasında ise VA ve TESE gruplarında diğerlerine göre anlamlı düşüktür. Geri birleşme oranının diğer parametrelerin tersine kontrol grubunda yüksek olması ve bununla tutarlı olarak sperm sayısı azaldıkça görülme oranının azalması embriyonun yararına olan bir değişiklik olabileceğini düşünmektedir. Aynı zamanda hasta grupları da kendi aralarında incelendiğinde OAT'de geri birleşme görülme oranının HEF'de görülme oranından düşük olduğu görülmüştür. Bu durum, yukarıda belirtilen yargıya uymamakla birlikte daha büyük bir hasta grubunda incelenmelidir.

Liu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada azospermi ve ciddi oligospermi hastalarında geri birleşme oranının hareketi iyi spermle aynı oranda olduğu ve implantasyon oranını düşürdüğü gösterilmiştir. Aynı zamanda erkek faktör ile ilgili olarak çalışmanın tekrarlanması gerektiğini de söylenmiştir. ⁽³⁴⁾ Yaptığımız çalışmada bu bulgularla çakışacak sonuçlar elde edilmiştir. Kendi içinde istikrarlı olarak sağlıklı grupta daha yüksek oranda görülmüştür. Bu da embriyonun sorunlu

olabileceğini düşündüğü blastomeri düzeltmek amacıyla geri aldığı düşünülmektedir.

Hasta grubu ve kontrol grubu embriyoları bölünme zamanlamaları açısından da karşılaştırılmıştır. Embriyo kaliteleri hakkında bilgi verecekleri için embriyo seçme kriteri olarak kullanılan beşe bölünme zamanı (t5) ve blastulasyona başlama zamanı (tSB)⁽⁴⁸⁾ parametre olarak seçilmiştir.

t5 varlığı incelendiğinde, bir diğer deyişle 5 blastomerli evreye ulaşan embriyo sayısına bakıldığında, hasta grubunda istatistiksel anlamlı oranda düşük olduğu görülmüştür. t5, normal kabul edilen aralık (45.-55. saatler)⁽⁴⁸⁾ ve bunun dışında kalan zamanlamalar olarak ikiye bölünmüş ve gruplar bu iki grupta içerdikleri embriyo sayılarına göre karşılaştırılmıştır ancak hasta ve kontrol grubu arasında normal veya anormal kabul edilen aralıklarda herhangi bir farka rastlanmamıştır. Aynı şekilde erkek faktör grupları karşılaştırıldığında da istatistiksel anlamlı bir farka ulaşılamamıştır. Yalnızca, anormal aralıkta görülen VA'lı embriyo sayısı dikkat çekici düzeyde yüksektir. Bu durum VA'lı embriyo sayısının az olmasından kaynaklanabilir, bu yüzden daha yüksek sayıda hasta içeren incelemeler yapılmalıdır.

tSB'ler karşılaştırılırken tSB varlığı bir kriter olarak kullanılmamıştır. Üçüncü günde transfer edilen embriyolar blast aşamasına ulaşamayacağı için ve hasta grubundan üçüncü gün transfer edilen embriyoları çıkaracak veri bulunamadığı için, gerçek değerlere ulaşmak mümkün olmamaktadır. Yalnızca blastulasyon başlama zamanlamaları ve normal-anormal kabul edilen aralıktaki embriyo sayılarının değerlendirilmesi yapılmıştır.

Anormal aralıktaki hasta grubunda embriyolarının tSB oranlarının daha yüksek olduğu saptanmıştır. Yani, hasta grubunda kontrol grubuna göre daha çok sayıda anormal aralıkta olan embriyo gözlenmiştir.

Hasta grubu ile kontrol grubu zamanlamaları karşılaştırıldığında, kontrol grubunun tSB değerinin daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Yani, hasta grubundaki embriyolar blast aşamasına daha erken ulaşmaktadırlar. Bu sonuç, Lammers ve arkadaşlarının⁽³⁾ bulduğu sonuçla uyumsuzdur. Lammers ve arkadaşlarının deney grubunun küçük olması bu farklılığa neden olmuş olabilir.

Normal kabul edilen aralık ve dışında kalan embriyolar karşılaştırıldığında, anormal aralıkta erkek faktörler arası bir farklılık olmadığı gözlenmiştir. VA grubunda hiç tSB değerine rastlanmamıştır. Bu, embriyolar arası tSB'yi etkileyen faktörün erkek faktör olmadığını gösteren bir durumdur.

Zamanlamalar erkek faktörler için hesaplandığında, normal aralıkta bulunan C. OAT embriyolarına ait tSB değerinin en yüksek tSB değeri olduğu görülmüştür. Anormal aralıktaki tSB'lerde TESE ve OAT zamanlamaları HEF ve C. OAT gruplarından yüksektir. Bu bulgular bir trende uymadığı için sperm-tSB arasında bir bağlantı kurulamamıştır.

Hasta grubunda, implantasyon oranını azalttığı bilinen direkt bölünme, ileri derecede fragmentasyon gibi nedenler genetik bozukluklara yol açacağı için implantasyon oranının kontrol grubundan daha düşük olması beklenir. Ancak, iki grup arasında anlamlı bir farka ulaşılamamıştır. Anlamlı bir fark görülemedeki neden, az sayıda hastanın sonucunun bilinmesi olabilir. Tüm hastaların sonuçları öğrenildiğinde farklı bir sonuca ulaşılabilir. İki grup arasında istatistiksel anlamlılık olmamasına rağmen görülen abort oranı hasta grupta dikkat çekici düzeyde yüksektir. Bunun nedeni, direkt bölünme, mono PN, multinükleasyon gibi faktörler olabilir. Bu faktörlerin sperm ile bağlantısı henüz detaylı olarak aydınlatılamamıştır.

Erkek faktörünün neden olabileceğini düşündüğümüz bölünme anormallikleri gösteriyor ki, implantasyon oranını düşürdüğü bilinen direkt bölünme, mono PN gibi parametrelere sperm kaynaklı nedenler yol açabilir. Bunun, bu çalışmada yapılan sperm sınıflandırması ile bağlantılı olduğu istatistiksel anlamlı olarak gösterilememiştir; bu yüzden spermin neden bu parametrelere yol açtığını bulabilmek için değerlendirmeler detaylandırılarak ve embriyo sayısı arttırılarak tekrar incelenmelidir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, erkek faktörlerinin embriyo bölünmesi üzerindeki etkilerini anlamak için embriyo bölünmelerinde oluşabilen anormallikler sperm sayısı gözetilerek oluşturulan gruplara ve kontrol grubuna göre incelendi.

Erkek faktörlü hastaların embriyolarında, fertilizasyon oranının daha düşük olduğu, 3'e direkt bölünme oranlarının daha yüksek olduğu, geri birleşmenin daha az gözlendiği, daha az embriyonun 5 blastomerli aşamaya ulaştığı ve blastulasyona daha erken başladıkları gösterilmiştir.

Mono PN görülen olgularda direkt bölünme oranları göreceli olarak yüksek bulunmuştur. Mono PN olmayan olgularda da 3'e direkt bölünme göreceli olarak yüksek çıkmıştır. Göreceli olan bir diğer değer ise VA olgularında görülen anormal aralıktaki t5 oranının yüksek olmasıdır. Gebelik oranlarında istatistiksel farklılık olmasa da abort oranının hasta grupta yüksek olması dikkat çekicidir. Tüm bu göreceli sonuçlar, daha yüksek sayıda embriyo içeren bir grupla tekrar değerlendirilmelidir. Aynı şekilde gebelik sonuçlarının tamamı bilinemediği için tam sonuçlara ulaşılamadığından, daha yüksek katılımla değerlendirme yinelenmelidir.

Virtual azospermi olgularının sayısının az olması nedeniyle blasta ulaşan ve bazı oranlarda fragmantasyon gözlenen hiç embriyo olmadığı için değerlendirmeye alınamamıştır. Daha fazla sayıda VA hastası eklenerek değerlendirme tekrar edilmelidir.

Geri birleşme parametresi, zamanlamalarına göre; tip I ve tip II olarak sınıflandırılarak ve erkek faktör gruplarına göre gruplandırılarak daha detaylı incelenebilir. Böylelikle, elde edilen sonuçların tutarlılığı kontrol edilmiş ve daha detaylı bilgi edinilmiş olacaktır.

Yapılan bu çalışma, direkt bölünme, geri birleşme ve zamanlama değişimleri gibi bölünme anormalliklerinin erkek faktör ile bağlantısı olduğu göstermiştir. Mono PN ile direkt bölünme bağlantısı, bölünme anormalliklerinin gebeliğe yanısıması bölünme anormallikleri ile sperm sayısı arasındaki bağlantı istatistiksel anlamlı olarak kurulmasa da dikkat çekici sonuçlar içermektedir ve daha büyük bir hasta grubuyla değerlendirmeler yinelenildiğinde önemli sonuçlar bulunabilir. Bu çalışmada

yapılan değerlendirmeler ve elde edilen sonuçlar, erkek faktörü ve embriyo bölünme anormallikleri üzerine yeni bir bakış açısı kazandıracaktır.



KAYNAKLAR

- (1) Agarwal, A., Mulgund, A., Hamada, A., ve Chyatte, M. R. (2015). A Unique View on Male Infertility Around the Globe [Dünya Çapındaki Erkek İnfertilitesine Özgün Bir Bakış]. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 13:37, doi 10.1186/s12958-015-0032-1.
- (2) Neyer, A., Zintz, M., Stecher, A., Bach, M., Wirleitner, B., Zech, N. H. ve diğerleri. (2015). The Impact of Paternal Factors on Cleavage Stage and Blastocyst Development Analyzed by Time-Lapse Imaging – A Retrospective Observational Study [Bölünme Aşamasında ve Blastosist Oluşumunda Erkek Faktör Etkisinin Zaman Aralıklı Görüntüleme Yöntemi ile İncelenmesi – Bir Retrospektif Gözlem Çalışması]. *Journal of Assisted Reproductive Genetics*, 32:1607-1614, doi 10.1007/s10815-015-0558-3.
- (3) Lammers, J., Reigner, A., Splingart, C., Catteau, A., David, L., Barriere, P. ve diğerleri. Does Sperm Origin Affect Embryo Morphokinetic Parameters? (2015). [Spermin Kökeni Embriyonun Morfokinetik Parametrelerini Etkiler Mi?]. *Journal of Assisted Reproductive Genetics*, 32:1325-1332, doi 10.1007/s10815-015-0517-z.
- (4) Gryshchenko, M. G., Pravdyuk, A. I. ve Parashchuk, V. Y. (2014). Analysis of Factors Influencing Morphokinetic Characteristics of Embryos in ART Cycles [Yardımla Üreme Döngülerinde Embriyonun Morfokinetik Parametrelerini Etkileyen Faktörlerin Analizi]. *Gynecological Endocrinology*, 30(S1):6-8.
- (5) Tesarik, J., Greco, E. ve Mendoza, C. (2004). Late, But Not Early, Paternal Effect on Human Embryo Development Is Related to Sperm DNA Fragmentation [Geç, Erken Değil, Baba Etkisi, İnsan Embriyo Gelişiminde Sperm DNA Fragmentasyonu ile İlgilidir]. *Human Reproduction*, 19(3): 611-615.
- (6) Hardarson, T., Hanson, C., Sjögren, A. ve Lundin, K. (2001) Human Embryos with Unevenly Sized Blastomeres Have Lower Pregnancy and Implantation Rates: Indications for Aneuploidy and Multinucleation [Blastomer Büyüklükleri Eşit Olmayan İnsan Embriyoları Düşük Gebelik Oranı ve

- İmplantasyon Oranına Sahiptir: Anöploidi ve Multinükleasyon Göstergeleri]. *Human Reproduction*, 16:313–318.
- (7) Rubio, I., Kuhlmann, R., Agerholm, I., Kirk, J., Herrero, J., Escribá M. J. ve diğerleri. (2012). Limited Implantation Success of Direct-Cleaved Human Zygotes: A Time-Lapse Study [Direkt Bölünen İnsan Zigotunda Sınırlı İmplantasyon Başarısı: Bir Zaman Aralıklı Görüntüleme Çalışması]. *Fertility and Sterility*, 98(6):1458-63, doi 10.1016/j.fertnstert.2012.07.1135.
- (8) Yan, J., Li, Y., Shi, Y., Feng, H. L., Gao, S. ve Chenz, Z. (2010). Assessment of Sex Chromosomes of Human Embryos Arising from Monopronucleus Zygotes *in vitro* Fertilization and Intracytoplasmic Sperm Injection Cycles of Chinese Women [Çinli Kadınlarının *in vitro* Döllenme ve Sitoplazma İçine Sperm Enjeksiyonu Döngülerinde Monopronükleusu olan Zigotlarının Cinsiyet Kromozomlarının Değerlendirilmesi]. *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 69:20–23.
- (9) Magli, M. C., Gianaroli, L., Ferraretti, A. P., Lappi, M., Ruberti, A. ve Farfalli, V. (2007). Embryo Morphology and Development Are Dependent on the Chromosomal Complement [Embriyo Morfolojisi ve Gelişimi Kromozomal Tamamlayıcı ile Bağlantılıdır]. *Fertility and Sterility*, 87(3):534–540.
- (10) Cissen, M., Wely, M. V., Scholten, I., Mansell, S., Bruin, J. P., Mol, B. W. ve diğerleri. (2016). Measuring Sperm DNA Fragmentation and Clinical Outcomes of Medically Assisted Reproduction: A Systematic Review and Meta-Analysis [Sperm DNA Fragmantasyonu Ölçme ve Tıbbi Yardımlı Üremede Klinik Sonuçlar: Sistematik İnceleme ve Meta-Analiz]. *PLoS One*, 11(11):e0165125, doi 10.1371/journal.pone.0165125.
- (11) Sadler, T. W. (1996). *Langman's Medikal Embriyoloji* (7. bs., s. 1-20) (C. Başaklar, Çev.) Ankara: Palme Yayıncılık. (1995).
- (12) Gilbert, S. F. (2000). *Developmental Biology* (6. bs.) [Elektronik sürüm]. Sunderland: Sinauer Associates. Erişim: 02 Eylül 2017.
- (13) Neto, F. T. L., Bach, P. V., Najari, B. B., Li, P. S. ve Goldstein, M. (2016). Spermatogenesis in Humans and Its Affecting Factors [İnsanlarda Spermatogenez ve Onu Etkileyen Faktörler]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 59:10-26.

- (14) Yoshinaga, K. ve Toshimori, K. (2003). Organization and Modifications of Sperm Acrosomal Molecules During Spermatogenesis and Epididymal Maturation [Spermatogenez ve Epididimal Olgunlaşmada Sperm Akrozom Moleküllerinin Organizasyonu ve Modifikasyonu]. *Microscopy Research and Technique*, 61:39-45.
- (15) Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. ve Walter, P. (2002) *The Cell* (4. bs.) [Elektronik sürüm]. New York: Garland Science. Erişim: 02 Eylül 2017.
- (16) World Health Organization. (2010). WHO Laboratuvar El Kitabı İnsan Semeninin İncelenmesi ve İşlemlerden Geçirilmesi (5. bs.) (A. Kadioğlu, Çev.) İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri.
- (17) Gardner, D. K., Weissmann, A., Howles, C. M. ve Shoham, Z. (2009). Textbook of Assisted Reproductive Technologies Laboratory and Clinical Perspectives (3. bs.) United Kingdom: Informa. s. 104, 661-664.
- (18) Cocuzza, M., Alvarenga, C. ve Pagani, R. (2013). The Epidemiology and Etiology of Azoospermia [Azospermının Epidemiyoloji ve Etiyolojisi]. *Clinics*, 68:15-26.
- (19) Güdeloğlu, A. ve Parekattil, S. J. (2012). Update in the Evaluation of the Azoospermic Male [Azospermik Erkeklerin Değerlendirilmesinde Güncelleme]. *Clinics*, doi 10.6061/clinics/2013(Sup01)04.
- (20) Austin Community College District. (t.y.). Associate Degree Nursing Physiology Review. Erişim: 03 Eylül 2017, <https://www.austincc.edu/apreview/PhysText/Reproductive.html>
- (21) Alpha Scientists in Reproductive Medicine and ESHRE Special Interest Group of Embriology. (2014). The Istanbul Consensus Workshop on Embryo Assessment: Proceedings of An Expert Meeting [Embriyo Değerlendirilmesi Üzerine İstanbul Ortak Çalışma Atölyesi: Bir Uzman Toplantısı Bildirileri]. *Human Reproduction*, 26(6):1270-1283.
- (22) Washington University Physicians. (2017). In Vitro Fertilization. Erişim: 03 Eylül 2017. <https://fertility.wustl.edu/treatments-services/in-vitro-fertilization/>

- (23) Magli, M. C., Jones, G. M., Lundin, K., Van den Abbeel, E. ve diğeri. (2012) Atlas of Human Embryology: From Oocytes to Preimplantation Embryos. *Human Reproduction*, Volüm 26, Ek 1.
- (24) Montag, M., Liebenthron, J. ve Köster, M. (2011). Which Morphological Scoring System Is Relevant in Human Embryo Development? [İnsan Embriyo Gelişimi İçin Hangi Morfolojik Değerlendirme Sistemi Uygundur?] *Placenta*, 32:S252-S256.
- (25) Dr. Fatih Ögünç. (t.y.). Embriyo Gelişimi. Erişim: 03 Eylül 2017. <http://www.eskisehirtupbebek.com/embriyo-gelisimi.php>
- (26) Payne, D., Flaherty, S. P., Barry, M. F. ve Matthews, C.D. (1997). Preliminary Observations on Polar Body Extrusion and Pronuclear Formation in Human Oocytes Using Time-Lapse Video Cinematography [Zaman Aralıklı Video Sinematografi Yöntemi Kullanarak İnsan Yumurtalarında Kutup Cisimciği Atılması ve Pronükleus Oluşumu Üzerine Ön İncelemeler]. *Human Reproduction*, 12:532–541.
- (27) Ebner T., Moster, M., Sommergruber, M., Gaiswinkler, U., Shebl, O., Jesacher, K. ve diğeri. (2005). Occurrence and Developmental Consequences of Vacuoles Throughout Preimplantation Development [Preimplantasyon Gelişimi Boyunca Vakuol Oluşumu ve Gelişimsel Sonuçları]. *Fertility and Sterility*, 83:1635–1640.
- (28) Otsuki, J., Okada, A., Morimoto, K., Nagai, Y. ve Kubo, H. (2004). The Relationship Between Pregnancy Outcome and Smooth Endoplasmic Reticulum Clusters in MII Human Oocytes [İnsan MII Yumurtalarında Gebelik Sonuçları ve Granülsüz Endoplazmik Retikulum Kümeleri Arasındaki İlişki]. *Human Reproduction*, 19:1591–1597.
- (29) Antczak, M. ve Van Blerkom, J. (1999). Temporal and Spatial Aspects of Fragmentation in Early Human Embryos: Possible Effects on Developmental Competence and Association with the Differential Elimination of Regulatory Proteins from Polarized Domains [İnsan Erken Embryo Fragmantasyonunda Zamansal ve Mekansal Boyutlar: Gelişim Yeterliliği üzerindeki Olası Etkiler ve Polarize Bölgelerden Düzenleyici Proteinlerin Ayrımsal Eliminasyonu ile Bağlantısı]. *Human Reproduction*, 14:429–447.

- (30) Van Blerkom, J., Davis, P. ve Alexander, S. (2001). A Microscopic and Biochemical Study of Fragmentation Phenotypes in Stage-Appropriate Human Embryos [İnsan Embriyolarının Evresine Uygun Fragmantasyon Fenotiplerinin Mikroskopik ve Biyokimyasal Çalışması]. *Human Reproduction*, 16:719–729.
- (31) Munné, S. (2006). Chromosome Abnormalities and Their Relationship to Morphology and Development of Human Embryos [Kromozom Anormallikleri ve Bu Anormalliklerin İnsan Embriyosu Gelişimi ve Morfolojisi ile Bağlantısı]. *Reproductive Biomedicine Online*, 12:234–253.
- (32) Holte, J., Berglund, L., Milton, K., Garello, C., Gennarelli, G., Revelli, A. ve Bergh, T. (2007). Construction of An Evidence-Based Integrated Morphology Cleavage Embryo Score for Implantation Potential of Embryos Scored and Transferred on Day 2 After Oocyte Retrieval [Oosit Toplama Sonrasında 2. Gün Transfer Edilen Embriyoların İmplantasyon Potansiyelleri İçin Kanıta Dayalı Bölünen Embryo Morfoloji Puanlamasının Oluşturulması]. *Human Reproduction*, 22:548–557.
- (33) Fertility Solutions. (t.y.). Choosing Embryos for Transfer and Freezing. Erişim: 03 Eylül 2017. <http://fertilitysolutions.com.au/choosing-embryos-for-transfer-or-freezing/>
- (34) Liu, Y., Chapple, V., Roberts, P. ve Matson, P. (2014) Prevalence, Consequence, and Significance of Reverse Cleavage by Human Embryos Viewed with the Use of the Embryoscope Time-Lapse Video System. *Fertility and Sterility*, 102:5(1295-1300).
- (35) Magli, M. C., Gianaroli, L. ve Ferraretti, A. P. (2001). Chromosomal Abnormalities in Embryos [Embriyolardaki Kromozomal Anormallikler]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 183:29–34.
- (36) Van Royen, E., Mangelschots, K., Vercruyssen, M., De Neubourg, D., Valkenburg, M., Ryckaert, G. ve diğerleri. (2003). Multinucleation in Cleavage Stage Embryos [Bölünme Aşamasındaki Embriyolarda Multinükleasyon]. *Human Reproduction*, 18:1062–1069.
- (37) Moriwaki, T., Suganuma, N., Hayakawa, M., Hibi, H., Katsumata, Y., Oguchi, H. ve diğerleri. (2004). Embryo Evaluation by Analysing Blastomere Nuclei

- [Blastomer Çekirdeklerini Analiz Ederek Embriyo Değerlendirme]. *Human Reproduction*, 19:152–156.
- (38) Agerholm, I. E., Hnida, C., Crüger, D. G., Berg, C., Bruun-Petersen, G., Kolvraa, S. ve diğerleri. (2008). Nuclei Size in Relation to Nuclear Status and Aneuploidy Rate for 13 Chromosomes in Donated Four Cells Embryos [Bağışlanmış Dört Hücreli Embriyolarda Çekirdek Boyutunun Çekirdek Durumu ve 13. Kromozomda Anöploidide İlişkisi]. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 25:95–102.
- (39) Scott, L., Finn, A., O’Leary, T., McLellan, S. ve Hill, J. (2007). Morphologic Parameters of Early Cleavage-Stage Embryos That Correlate with Fetal Development and Delivery: Prospective and Applied Data for Increased Pregnancy Rates [Erken Bölünme Aşaması Embriyolarının Fetal Gelişim ve Doğum ile İlgili Morfolojik Parametreleri: Artan Doğum Oranları İçin Prospektif ve Uygulamalı Veri]. *Human Reproduction*, 22:230–240.
- (40) Fertility Solutions. (t.y.). Multinucleated Embryos. Erişim: 03 Eylül 2017. <http://fertilitysolutions.com.au/multinucleated-embryos/>
- (41) Watson, A. J., Natale, D. R. ve Barcroft, L. C. (2004). Molecular Regulation of Blastocyst Formation [Blastokist Oluşumunun Moleküler Düzenlemesi]. *Animal Reproduction Science*, 82–83:583–592.
- (42) Balaban, B., Urman, B., Sertaç, A., Alataş, C., Aksoy, S. ve Mercan, R. (2000). Blastocyst Quality Affects the Success of Blastocyst-Stage Embryo Transfer [Blastokist Kalitesi, Blastokist Aşamasındaki Embriyo Transfer Başarısını Etkiler]. *Fertility and Sterility*, 74:282–287.
- (43) Aplin, J. D. (2000). The Cell Biological Basis of Implantation [İmplantasyonun Hücre Biyolojisi]. *Bailliere's Best Practice & Research: Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 14:757–764.
- (44) Ahlström, A., Westin, C., Reismer, E., Wikland, M. ve Hardarson, T. (2011). Trophoblast Morphology: An Important Parameter for Predicting Pregnancy and Birth After Single Blastocyst Transfer [Trofoektoderm Morfolojisi: Tek Blastokist Transferinden Sonra Gebelik ve Doğum Tahmin Etmede Önemli Bir Parametre]. *Human Reproduction*, 26:3289–3296.

- (45) Kovacs, P. (2014) Embryo Selection: The Role of Time-Lapse Monitoring [Embriyo Seçme: Zaman Aralıklı Görüntülemenin Rolü]. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12:124, doi 10.1186/1477-7827-12-124.
- (46) Montag, M. Time-Lapse - What Do Your Embryos Do While You Are Sleeping? Vitrolife White Paper. *Vitrolife*.
- (47) Vitrolife. (t.y.) How Can You Benefit from Time-Lapse? Erişim: 03 Eylül 2017. http://info.vitrolife.com/how-can-you-benefit-from-time-lapse?__hstc=244810778.cdd61286e5bd60cbaca75e5efdab0e75.1491303737951.1491303737951.1491303737951.1&__hssc=244810778.1.1491303737953&__hsfp=3821908436&hsCtaTracking=f8748240-c353-4c72-9fc8-2160b0409207%7C8ef7c605-8271-426d-aedd-98a7d62a07ac
- (48) Meseguer, M., Herrero, J., Tejera, A., Hilligsøe, K. M., Ramsing, N. B. ve Remohi, J. (2011). The Use of Morphokinetics As A Predictor of Embryo Implantation [Embriyo İmplantasyon Göstergesi Olarak Morfokinetik Kullanımı]. *Human Reproduction*, 26(10):2658-2671
- (49) Motato, Y., de los Santos, M. J., Escriba, M. J., Ruiz, B. A., Remohi, J. ve Meseguer, M. (2015). Morphokinetic Analysis and Embryonic Prediction for Blastocyst Formation Through An Integrated Time-Lapse System [Zaman Aralıklı Görüntüleme Yöntemi ile Morfokinetik Analiz ve Blastokist Oluşumunun Embriyosal Tahmini]. *Fertility and Sterility*, 105(2):376-384.
- (50) Vitrolife. EmbryoViewer Software. Erişim: 03 Eylül 2017, <http://www.vitrolife.com/en/Products/EmbryoScope-Time-Lapse-System/EmbryoViewer-Software/>
- (51) Amirjannati, N., Heidari-Vala, H., Akhondi, M. A., Hosseini, J. S., Kamali, K. ve Sadeghi, M. R. (2012) Comparison of Intracytoplasmic Sperm Injection Outcomes Between Spermatozoa Retrieved from Testicular Biopsy and from Ejaculation in Cryptozoospermic Men. [Testiküler Biyopsi ile Elde Edilen Sperm ve Kriptozoospermic Ejekülat Sperminin Sitoplazma İçine Sperm Enjeksiyonu Sonuçlarının Karşılaştırılması]. *Andrologia*, 44, Supply 1:704-9.
- (52) De Vos, A., Van De Helde, H., Joris, H., Verheyen, G., Devroey, P. ve Van Steirteghem, A. (2003). Influence of Individual Sperm Morphology on Fertilization, Embryo Morphology, and Pregnancy Outcome of

Intracytoplasmic Sperm Injection. [Bireysel Sperm Morfolojisinin Döllenmedeki, Embriyo Morfolojisindeki ve Gebelik Sonuçlarındaki Etkileri]. *Fertility and Sterility*, 76:1(42-48).



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler:

Adı Soyadı: Burcu UĞURLU

Doğum Tarihi ve Yeri: 1991, Bakırköy

Yabancı Diller: İngilizce (Çok iyi), Almanca (Orta), İtalyanca (Başlangıç)

Eğitim Bilgileri:

2017 – halen BBA, İstanbul Üniversitesi – İşletme

2015 – 2017 MSc, Maltepe Üniversitesi – Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı

2009 – 2014 BSc, Boğaziçi Üniversitesi – Moleküler Biyoloji ve Genetik

2005 – 2009 Fatih Gelenbevi Anadolu Lisesi – Fen Bilimleri

Deneyim:

Biyolog: Amerikan Hastanesi Embriyoloji Laboratuvarı, Haziran 2016 – Aralık 2016

Editör: VGS Bilgisayar ve Organizasyon, Temmuz 2015 – Haziran 2016

Araştırma Asistanı: Boğaziçi Üniversitesi Kanser ve Sinyalizasyon Laboratuvarı,
Mart 2011 – Haziran 2014

Araştırma Asistanı: Boğaziçi Üniversitesi CMT Laboratuvarı, Mayıs 2010 –
Temmuz 2010