

T.C. YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI
KLİNİK EMBRİYOLOJİ PROGRAMI

**POLİKİSTİK OVER SENDROMU (PCO) VE POOR
RESPONDER (DÜŞÜK OVER REZERVİ) OLAN
HASTALARIN EMBRİYOLARININ MORFOKİNETİK
OLARAK NORMAL YANITLI HASTA EMBRİYOLARI
İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HAYRİYE ÇELENK

TEZ DANIŞMANI : PROF. DR. MELİKE ERKAN

İSTANBUL - 2017

T. C. YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANA BİLİM DALI

POLİKİSTİK OVER SENDROMU (PCO) VE POOR RESPONDER (DÜŞÜK OVER REZERVİ) OLAN HASTALARIN EMBRİYOLARININ MORFOKİNETİK OLARAK NORMAL YANITLI HASTA EMBRİYOLARI İLE KARŞILAŞTIRILMASI

YÜKSEKLİSANS TEZİ

Hayriye ÇELENK

Tez savunma tarihi : 02.05.2017

Tez Oy Birliği ile Kabul Edilmiştir.

Prof. Dr. Melike ERKAN

İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Tülay İREZ

Biruni Üniversitesi Tıp Fakültesi

Üye

Prof. Dr. Gül BAKTIR

Yeni Yüzyıl Üniversitesi

Üye

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

HAYRİYE ÇELENK

İmza

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	4
TEŞEKKÜR.....	6
TABLolar LİSTESİ.....	7
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	8
KISALTMALAR.....	9-10
ÖZET.....	11-13
ABSTRACT.....	14-16
GİRİŞ VE AMAÇ.....	17-19
GENEL BİLGİLER.....	20-54
MATERYAL METOD.....	55-57
BULGULAR.....	58-65
SONUÇ.....	66
TARTIŞMA.....	67-69
KAYNAKLAR.....	70-76
EKLER.....	77-80
ÖZGEÇMİŞ.....	81-82

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimime başladığım günden itibaren benimle ilgilenen, tez çalışmamın yapılmasında bilgisini ve değerli görüşlerini paylaşan, değerli danışmanım sayın Prof. Dr. **MELİKE ERKAN**'a Yüksek lisans eğitimimde, işe başladığım günden beri bana yardımcı olan, derin bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, değerli klinik başkanımız Prof. Dr. **AHMET ZEKİ IŞIK**'a Tezimin yazımı için yardımcı olan, emek harcayan, desteğini hiç bir zaman esirgemeyen, yol gösteren çok kıymetli hocam Doç Dr. **SÜLEYMAN AKARSU**'ya ve Doç. Dr. **FUNDA GÖDE**'ye, yüksek lisans tezimi yazarken bana destek olan, yön gösteren, laboratuvar sorumlumuz Emb. **FERDA BURCU TAMER**'e teşekkürlerimi borç bilirim. Yüksek lisans eğitimim süresince, bilimsel yol gösterici tutumu ile bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım hocam Klinik Embriyoloji Bölüm Başkanı Sayın Prof. Dr. **TÜLAY İREZ**'e, tez yazımdaki istatistik değerlendirmelerinde bana yardımcı olan ekip arkadaşım Emb. **İBRAHİM PALA**'ya eğitimime başladığım ilk günden beri bana her konuda yardımcı olan ve manevi gücünü bana hissettiren en kıymetli aile ferdim babam **MEHMET ÇELENK**'e, ve yazım konusunda benden yardımını esirgemeyen kardeşim **CAHİDE ÇELENK**'e çok teşekkür ederim.

TABLO LİSTESİ

Tablo 1 : Polikistik over sendromu tanı kriterleri

Tablo 2 : 1990 NIH Polikistik over sendromu tanı kriterleri

Tablo 3 : 2003 Rotterdam yeniden gözden geçirilmiş polikistik over sendromu tanı kriterleri

Tablo 4 : Polikistik over sendromu belirti ve bulguları

Tablo 5 : Polikistik over sendromu uzun dönem sağlık riskleri

Tablo 6 : Bölünme evresinde embriyo sınıflandırılması

Tablo 7 : İç hücre kitlesi (Blastokist) sınıflandırılması

Tablo 8 : Trofoektoderm skorlaması

Tablo 9 : Optimal embriyoların morfokinetik olarak olması gereken zaman parametreleri -1

Tablo 10 : Optimal embriyoların morfokinetik olarak olması gereken zaman parametreleri -2

Tablo 11 : Optimal embriyoların morfokinetik olarak olması gereken zaman parametreleri -3

Tablo 12 : Semen analizi kruger kesin kriterleri (WHO)

Tablo 13 : Çalışma gruplarının embriyo morfokinetik parametrelerinin karşılaştırılması

Tablo 14: 35 yaş altı hasta grubunda embriyo morfokinetik parametrelerinin karşılaştırılması

Tablo 15: 35 yaş üstü hasta grubunda embriyo morfokinetik parametrelerinin karşılaştırılması

Tablo 16 : Gruplara göre optimal embriyo morfokinetik parametre oranlarının karşılaştırılması

Tablo 17 : Çalışmaya dahil edilen hastaların genel özellikleri

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1 : Oosit hücresi

Şekil 1a) : Kümüls oosit kompleksi

Şekil 1b) : Metafaz I evresinde Oosit

Şekil 1c) : Metafaz II aşamasındaki oosit

Şekil 1d) : Germinal veziküllü

Şekil 2 : ICSI işlemi

Şekil 3 : Maniplatör cihazı

Şekil 4 : Normal Zigot

Şekil 5 : Bölünme evresindeki 1. kalitedeki embriyolar

Şekil 6 : 4 - 6.gün embriyoları

Şekil 6 a) : Morula

Şekil 6 b) : Blastokist

Şekil 6 c) : Hatching Blastokist

Şekil 7 : Embriyo görüntüleme sistemi

Şekil 8 : Makler kamarası

Şekil 9 : Sperm boyutları

KISALTMALAR

AMH: Anti- Müllerian Hormon

DOR : Düşük over rezervi

E2 : Östradiol

FSH : Folikül stimüle edici hormon

GnRH: Gonadoropin- releasing hormon

GV : Germinal vezikül

HSG : Histerosalpinografi

IUI : Intra- uterin inseminasyon

ICSI : İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu

IVF : İm- vitro fertilizasyon

KOH : Kontrollü ovaryen hiperstimülasyon

LH : Luteinize hormon

MI : Metafaz I oosit

MII : Metafaz II oosit

OPU : Oosit toplama işlemi (Oosit pick-up)

PCO - PKOS : Polikistik over sendromu

PNa : pronukleus oluşum zamanı

Pnf : pronukleuslarının kaybolma zamanı

t2 : İki hücreye bölünme zamanı

t3 : Üç hücreye bölünme zamanı

t4 : Dört hücreye bölünme zamanı

t5 : Beş hücreye bölünme zamanı

t6 : Altı hücreye bölünme zamanı

t7 : Yedi hücreye bölünme zamanı

t8 : Sekiz hücreye bölünme zamanı

t9+ : Dokuz hücreye ulaşma zamanı

tM : Morula evresi

tsb : Kavitasyon başlangıcı

tB : Blastosist evresine ulaşma zamanı

t2-t5 : İki hücreden beş hücreye geçişdeki zaman farkı

t3-t5 (cc3) : Üç hücreden beş hücreye geçişdeki zaman farkı

t2-t3 (cc2): iki hücreden üç hücreye geçişdeki zaman farkı

t3-t4 (s2) : üç hücreden dört hücreye geçişdeki zaman farkı

ÖZET

HAYRİYE ÇELENK

**POLİKİSTİK OVER SENDROMU (PCO) VE POOR
RESPONDER (DÜŞÜK OVER REZERVİ) OLAN
HASTALARIN EMBRİYOLARININ MORFOKİNETİK
OLARAK NORMAL YANITLI HASTA EMBRİYOLARI İLE
KARŞILAŞTIRILMASI**

**Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Klinik Embriyoloji
Programı**

Mayıs 2017

Kapalı görüntüleme sistemi, ile over rezervinin erken embriyo morfokinetik parametrelerine olan etkisinin değerlendirilmesi ve over rezervlerine göre ayrılmış üç grup hastadan alınan embriyoların time lapse monitör sistemi ile restrospektif karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Yardımlı üreme teknikleriyle alınan sonucun başarısını etkileyen en önemli faktörlerden birisi de embriyo seçim metodudur. Zamanla gelişen laboratuvar koşullarına rağmen, geleneksel embriyo morfoloji değerlendirme metodlarının kısıtlı başarısı, embriyo hücre bölünmelerinin dinamik olarak değerlendirildiği time lapse moniterizasyon sistemi gibi alternatif teknolojilere yöneltmiştir.

Dolayısıyla yapılan son araştırmalar optimal embriyo morfokinetik parametrelerini kullanarak implantasyon potansiyeli en yüksek olan en iyi embriyoyu seçmeye odaklanmıştır.

Time lapse sisteminin avantajları, embriyoların sürekli görüntülenmesi ki bu da objektif ve kesin bilgi sağlamaktadır. Gelişmiş kültür koşulları ve embriyonun dış ortamla temas etmeden değerlendirmesini yapmak ki bu da gözlemci varyasyonunu azaltır.

Bilgimiz dahilinde, literatürde düşük over rezervi (POR), polikistik over sendromu (PCO) ve normal over rezervi olan hastalar arasında embriyo morfokinetik parametrelerinin karşılaştırıldığı bir araştırma bulunmamaktadır. Aynı zamanda maternal yaşın embriyonun kinetik değişimiyle ilişkisini gösteren sınırlı sayıda bilgi bulunmaktadır. Sonuç olarak over rezervi ve embriyo morfokinetik parametreler arasındaki ilişkiyi değerlendirmek hedeflendi. Ayrıca 35 yaş altı ve 35 yaş üstü hastaları içeren iki grubu değerlendirerek yaşın etkisini araştırıldı.

Bu çalışma Aralık 2015 ve Aralık 2016 arasında İzmir Üniversitesine başvuran hastaların erken morfokinetik parametrelerinin retrospektif veri analizidir. Bu çalışma Kurumsal İnceleme Kurulu tarafından onaylanmıştır. Çalışmaya 200 hasta dahil edilmiş, bu hastalardan 41'i Düşük over rezervli (POR), 62'si normal over rezervine sahip, 97'si Polikistik over sendromlu (PCO) hastalardır.

72 saatlik kültür boyunca her embriyonun resmi 20 dakika da bir, 7 farklı planda çekilir. Embriyo görüntüleme yazılımı (Embryo Viewer software (Unisense Fertilitatech Aarhus)) kullanılarak embriyonik resimler incelenir. Bu yazılım embriyonik gelişim süreçlerini mikroenjeksiyon sonrasındaki saatlik aralıklarla incelemektedir. Bu zaman dilimleri fertilizasyonu takip eden süreçleri analiz eder. Döllenmeden itibaren tPNf, t2, t3, t4, t5, t2-t5, t3-t5, cc2(t2-t3), s2(t3-t4) parametreleri analiz edilip kayıt altına alınmıştır. Parametreler arasında iki ardışık bölünmenin arasında geçen süre de hesaplanmıştır. Bu parametreler ile optimal embriyo parametreleri belirlenerek ideal embriyo seçilip gelişiminin 3. gününde transfer edildi.

Embriyolar *Meseguer et. all* tarafından belirlenen time lapse analiz parametrelerine göre seçilmiştir. Luteal destek için bütün hastalara günlük 90 mg progesterone gel (Crinone gel 8%, Merck ,Türkiye) ve 200 mg vajinal mikronize progesterone (Progestan caps 200 mg, Koçak Farma, Türkiye) verilmiştir. BhCG kan testi embriyo transferinden 12 gün sonra yapılmıştır. Klinik olarak hamilelik pozitif BhCG kan testinden 2 hafta sonra bir veya birden fazla intrauterin gestasyonel kese saptanmasıyla tanımlanır.

0,05'den az olan bir p-değeri istatiksels olarak önemli sayılır. Toplamda 1144 embriyo değerlendirildi. Morfokinetik parametreler tPNf, t2, t3, t4, t5, cc2, s2, cc3, t2-t5 gruplar arasında istatiksels olarak farklılık saptanmadı ($p>0.05$).

35 yaş altı ve üstündeki hastalar yaş gruplarına göre değerlendirildi. Farklı yaş grubundaki hastalar arasında morfokinetik parametreler istatiksels olarak farklılık içermemektedir($p>0.05$). Optimal embriyo morfokinetik parametre oranları t5, s2 ve cc2, gruplar arasında farklılık göstermemektedir ($p>0.05$).

Over rezervi bu bulgulara göre embriyo morfokinetik parametrelerini etkilemiyor gözükmektedir.

Anahtar kelimeler: Kapalı görünteleme sistemi, over rezervi, Polikistik over sendromu,, embriyo morfokinetiği,

ABSTRACT

COMPARISON OF EMBRYO MORPHOKINETIC PARAMETERS POLYCYSTIC OVARY SYNDROME PATIENTS AND POOR OVARIAN RESERVE PATIENTS WITH NORMAL OVARIAN RESERVE PATIENTS

HAYRIYE CELENK

**DEPARTMENT OF HISTOLOGY AND EMBRYOLOGY
CLINICAL EMBRYOLOGY PROGRAM**

May 2017

To evaluate the impact of ovarian reserve on early embryo morphokinetic parameters in a time lapse monitoring system and retrospective study comparing time lapse monitoring analysis of embryos from three groups of patients according to the ovarian reserve.

One of the most important factor for the success of treatment outcomes in assisted reproduction cycles is the embryo selection method. Although the laboratory conditions have been evolving by the time, limited success rates with conventional embryo morphological evaluation methods led to alternative technologies including time lapse monitoring system which provides the dynamic evaluation of embryonic cell division parameters. Thus recent researches have focused on optimal embryo morphokinetic parameters to select the best embryo which has the most implantation potential. The advantages of time lapse system are

the continuous monitoring of the embryos which provides objective and accurate information, improved culture conditions and embryo evaluation without removal and also decreasing the interobserver variability.

Although this evolving technologies have been shown to improve the reproductive outcomes, there is still limited success in contrast to expected. Thus the most important factor for the IVF success rate is the maternal age. Pregnancy rates for women over the age of 35 are significantly lower with assisted reproduction, compared to those in women under the age of 35. The other important factor is the retrieved oocyte number after ovarian stimulation in IVF cycles.

To our knowledge there is not any study in the literature that compared the embryo morphokinetic parameters of patients with poor ovarian reserve (POR), normal ovarian reserve and polycystic ovaries. There is also limited data on the effect of maternal age on embryo developmental kinetics. Therefore we aimed to evaluate the relationship between ovarian reserve and embryo morphokinetic parameters. We also investigated the role of age by evaluating the results in two groups including under 35 and over 35 years of patients.

The study is a retrospective data analysis of early morphokinetic parameters of patients who were admitted to Izmir University between December 2015 and December 2016. The study was approved by the Institutional review board. 200 patients were included in the study. 41 of them was patients with poor ovarian reserve, 62 of them were patients with normal ovarian reserve, 97 of them were patients with polycystic ovaries.

Images of each embryo were taken every 20 min in seven different focal planes, during 72 h of culture. The embryonic images were analyzed using Embryo Viewer software (Unisense Fertilitech Aarhus), which annotates embryonic developmental events with the corresponding time in hours after microinjection. The times from fertilization to the following events were analyzed: tPNf, t₂, t₃, t₄, t₅, t₂-t₅, t₃-t₅, cc₂(t₂-t₃), s₂(t₃-t₄). The intervals between two consecutive cleavages were also calculated. Embryo transfer was performed on Day 3 of development.

The embryos were selected according to time lapse analysis parameters described by *Meseguer et. all*. For luteal support all patients received 90 mg progesterone gel (Crinone gel 8%, Merck , Turkey) and 200 mg of vaginal micronized progesterone (Progestan caps 200 mg, Kocak Farma, Turkey) daily. BhCG blood test was performed 12 days after embryo

transfer. The clinical pregnancy was defined by the presence of one or more intrauterine gestational sacs 2 weeks after a positive beta hCG blood test.

A total of 1144 embryos were evaluated. The morphokinetic parameters including time to tPNf, t2, t3, t4, t5, cc2, s2, cc3, t2-t5 were not statistically different between groups ($p>0.05$).

Data was analyzed according to different age groups including patients under and over 35 years. The morphokinetic parameters were not statistically different in patients with different age groups ($p>0.05$). The percentage of optimal embryos according to t5, s2 and cc2 were not statistically different between groups ($p>0.05$).

The ovarian reserve does not seem to affect the embryo morphokinetic parameters.

Key words: time lapse; ovarian reserve, PCOS, embryo morphokinetics, in vitro fertilization

1. GİRİŞ ve AMAÇ

İnfertilite, bir çiftin 1 yıl süresince korunmasız ilişkiye girmesine rağmen gebe kalamaması olarak tanımlanır. Subfertilite, gebe kalma yeteneğinin azalmasını ifade ederken, sterilite ise bu yeteneğin tamamen olmamasıdır. Primer infertilite daha önce hiç gebe kalamamış hastaları tanımlarken, sekonder infertilite ise daha önce gebe kalmayı başarmış çiftleri tanımlar.

İnfertilite tanısı alan kadınların prevalansı yüzde 13 civarındadır ve yaşa göre yüzde 7 ile yüzde 28 arasında değişkenlik gösterir. Sık ilişki de bulunan normal fertil çiftlerde fekundabilite yüzde 20-25 arasındadır. Korunmayan çiftlerin yaklaşık yüzde 85- 90'ı ilk yıl içinde gebe kalacaktır. Sterilite çiftlerin yüzde 1-2'sini etkiler. İnfertilitenin sebebi, çiftlerden birine ya da ikisine ait nedenler olabilir. Kadın veya erkek infertilitesi ayrımı yapılmadan, birden fazla infertilite faktörü bulunan çiftlerde dahil edildiğinde, olguların % 80'inde bir etioloji bulunabilir. Olguların yüzde 25'inde neden erkekten kaynaklanan faktörlerdir. Ovulatuvar disfonksiyon ve tubal/peritoeal faktörler kadınlardaki infertilitenin başta gelen nedenleri arasındadır. İnfertil çiftlerin ancak yüzde 15-20'sinde etioloji bulunamaz ve açıklanamayan infertilite tanısı olarak tanımlanır. İnfertilite için hastanın geçmişi ve kadının 35 yaşından büyük olması göz önünde bulundurularak erken değerlendirme yapılabilir. Fertilite kadınlarda ve 50 yaşından sonra erkeklerde genellikle yaşla beraber azaldığından, çocuk sahibi olmayı erteleyenler bu riskleri göz önünde bulundurmalıdır. Kilo artışı da anovülasyona sebep olmaları nedeniyle kadınlarda infertiliteyle ilişkilendirilmiştir. Dolayısıyla sağlıklı bir hayat tarzı ovülasyon bozukluğu olan kadınlarda fertiliteyi arttırabilir. İnfertil bir çiftin değerlendirilmesinde kullanılan tanı araçları çok çeşitlidir. Tıbbi geçmiş ve fizik muayene, hastaya özel endokrinolojik ve radyolojik test algoritmasını biçimlendirir. Görüşmenin ilk önemli konusu ovülasyon, sperm konsantrasyonu ve over rezervi gibi fertiliteyi etkileyen faktörlerin sorgulanmasıdır.

İn vitro fertilizasyon laboratuvarında embriyo gelişiminin değerlendirilmesi belirli aralıklarla embriyo bölünmelerinin izlenmesi ile mümkündür. pH değişiklikleri, sıcaklık gibi dış etkenlerin embriyo gelişimine negatif etkileri, embriyoların izlenmesinde ortaya çıkmaktadır

(20,21). Kapalı görüntüleme sistemi (*EmbryoScope™*)'nde sıcaklık, pH değişimlerine ve dış etkenlere son derece hassas olan embriyonun inkübatör dışında kaldığı süreyi en aza indirmek için geliştirilmiştir (22,23). Bu sistemde 6 günlük gelişim süreci içinde embriyo dışarı çıkarılmadan izlenerek blastomer simetrisi, blastomer sayısı, hesaplanarak bölünme süreleri gösterilmektedir. Bu süre zarfında her 20 dakikada bir görüntü alınarak embriyonun gelişim süreci tam olarak izlenebilmektedir.

Bu sistemde bir hastaya ait 12 embriyonun izlenmesi mümkün olmaktadır. Toplamda 6 farklı hastanın bilgileri sisteme kaydedilip aynı anda farklı embriyoskop kültür dışhlerinde inkübe edilebilmektedir. Sistemde ikinci kutup cisminin atılışından itibaren, pronukleusların ortaya çıkışı, ilk bölünme, ikinci ve üçüncü bölünme aşamaları, morula, kavitasyon başlangıcı, blastokist süreleri hesaplanmaktadır (24,25,26).

Embriyo gelişiminin zamanlaması ile ilgili çalışmalar son yıllarda üzerinde çalışılan konuların başında gelmektedir.

Araştırmacılar bu zamanlama ile kaliteli embriyoları bulmayı hedeflemektedir. Yapılan araştırmalar embriyo senkronizasyonunun implantasyon ile yakın ilişkisi olduğunu göstermiştir. (27,28) Kapalı görünteleme sistemi (Embriyoskop)'nde kullanılan time-lapse görüntüleme programı görüntüleri kayıt edip birleştirdikten sonra video halinde bize sunabilmektedir. Embriyoların tüp bebek laboratuvarında geçirdikleri 6 gün sonunda amaç, normal ve anormal döllen embriyoları ayırt etmek, embriyonun bölünme aşamalarını kontrol etmek, hızlı veya yavaş gelişen embriyoları takip ederek optimum hücre bölünmesi gösteren embriyoları belirlemek ve böylece transfer edilecek en iyi embriyoları seçme şansını arttırmaktır. Bu sistem Dünya'da pek çok ülkede kullanılmaya başlamıştır.(29,30)

Embriyoskop ile tüm gelişim süreçleri, embriyo gelişim hızı bölünme zamanları normal ve anormal gelişen embriyolarda incelenmiştir (31,32). Aynı zamanda bu sistem ile güvenilir embriyo seçim kriterleri de ortaya çıkarılmıştır (33,34). *Meseguer ve arkadaşları* yaptıkları çalışmada retrospektif olarak incelenen 247 embriyoda 5 hücreye ulaşma zamanı, 3 hücreden 4 hücreye geçiş zamanı ve 2 hücreden 3 hücreye geçiş zamanı en önemli üç parametre olarak belirlenmiştir (35). Bu model blastosist oluşumu ve kalitesi ile de ilişkilendirilmiştir (36). Ovulasyon indüksiyon protokolleri, embriyo kültür solüsyonları ve düşük veya yüksek oksijen oranlarının embriyonun bölünme zamanlarını etkilediği gösterilmiştir (37,38,39).

Kapalı görüntüleme sistemi, embriyo morfolojisi ve bölünme kinetiği parametreleri dikkate alınarak embriyo seçiminde yeni bir çalışma alanı oluşturmuştur. Bu çalışmada Polikistik over sendromu(PCO) ve Düşük over rezervli (DOR) olgularda ICSI sonrası gelişen embriyoların kapalı görüntüleme sisteminde, prospektif olarak değerlendirilmesi, gelişen embriyoların morfokinetik parametrelerinin normal yanıtı hasta grubunda oluşan embriyolar ile karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Polikistik Over Sendromu (PCO)

Polikistik over sendromu (PCO) doğurganlık çağındaki kadınlarda en sık görülen endokrin bozukluktur. Sendromun prevalansı yaklaşık yüzde 6-8 olarak bildirilmektedir. İlk kez 1935 yılında *Stein ve Leventhal* tarafından, yedi hastadan oluşan bir seride polikistik overler ve amenore birlikteliği şeklinde rapor edilmiştir. Aradan geçen 70 yılda Polikistik over sendromu alanında önemli gelişmeler kaydedilmiş olmakla birlikte, günümüzde halen sendromun etyopatogenezi ve tanı kriterleri, 1990 yılında Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Sağlık Enstitüleri (NIH) tarafından düzenlenmiş bir konferansta oluşturulmuştur.(Tablo:2). Buna göre, PCO tanısı için klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları ile kronik anovülasyon bulunması ve Cushing sendromu, hiperprolaktinemi, klasik olmayan konjenital adrenal hiperplazi gibi PCO benzeri kliniğe yol açabilecek diğer nedenlerin ortadan kaldırılması gerekmektedir. Buna karşılık, 2003 yılında düzenlenen bir uzman toplantısında, 1990 NIH kriterleri yeniden gözden geçirilmiş ve öncekine benzer şekilde diğer etyolojik nedenler ortadan kaldırıldıktan sonra sendrom tanısının aşağıdaki üç kriterden ikisinin birlikteliği ile koyulması önerilmiştir.

Tablo 1: Polikistik over sendromu tanı kriterleri
1. Oligo-anovülasyon
2. Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları,
3. Ultrasonografide polikistik overler.

Kronik anovülatuar infertilitenin en sık nedeni olan PCO, multisistemik reproduktif-metobalik bir sendrom olarak TipII diyabet, dislipidemi, kardiyovasküler hastalık ve endometriyal karsinoma gibi uzun dönem sağlık riskleri taşıması nedeniyle günümüzde bir halk sağlığı problemi olarak da ön plana çıkmaktadır.

Tablo 2: 1990 NIH Polikistik over sendromu tanı kriterleri

- | |
|--|
| 1. Kronik anovülasyon |
| 2. Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları ve diğer etyolojik nedenlerin ortadan kaldırılması |

Tablo 3: 2003 Rotterdam yeniden gözden geçirilmiş Polikistik over sendromu tanı kriterleri

- | |
|--|
| 1. Oligo-anovülasyon |
| 2. Klinik ve/veya biyokimyasal hiperandrojenizm bulguları |
| 3. Polikistik overler ve diğer etyolojik nedenlerin ortadan kaldırılması |
| (Polikistik over sendromu tanısı için üç kriterden ikisinin bulunması yeterlidir.) |

Polikistik over sendromu, genellikle peripubertal dönemden itibaren başlayan menstrüel düzensizlikler (oligo-amenore, disfonksiyonel uterus kanaması), hiperandrojenizm bulguları (hirsütizm, akne, ciltte yağlanma, androjenik alopesi) ve infertilite ile karşımıza çıkmaktadır. Polikistik over sendromlu olgularda yüzde 20'lere ulaşan sıklıkta adetlerin düzenli olabileceği bildirilmiştir. PCO'da en sık görülen hiperandrojenizm bulgusu hirsütizmdir.

Hirsütizm modifiye *Ferriman-Gallwey* metodu ile değerlendirilir. Bu metot ile üst dudak, çene göğüs bölgesi, sırtın alt ve üst kısımları olmak üzere abdomen, kol ve bacakların üst kısımları olmak üzere toplam dokuz alanda kıl dağılımı 0-4 arasında skorlandırılarak toplam *Ferriman-Gallwey* skoru ≥ 6 hirsütizm olarak tanımlanır.

Akne, ciltte yağlanma ve androjenik alopesi de hiperandrojenizme bağlı olarak karşımıza çıkabilmektedir. Ancak tanı için bu klinik bulguların olması şart değildir. Ayrıca, etnik özellikler ve bireysel farklılıklara bağlı olarak her hastada hirsütizm bulunmayabileceği de akılda tutulmalıdır.

Hirşutizm	% 60-90
Oligomenore	% 50-90
İnfertilite	% 55-75
Polikistik over görünümü (USG'de)	% 50-75
Obezite	% 40-60
Amenore	% 25-50
Akne	% 25
Disfonksiyonel uterus kanaması	% 30
Normal menstruel siklus	% 22

Klinik bulguların Polikistik over sendromunu düşündürdüğü olgularda tanı biyokimyasal ve ultrasonografik bulgularla desteklenebilir. Hastaların laboratuvar incelemesinde over ve adrenal kökenli androjenik hormonlarda artışla karakterize hiperandrojenemi gözlenir.

Ayrıca, LH düzeylerinde ve LH/FSH oranında artış olabilir. Yaklaşık yüzde 25-60 olguda hiperinsülinemi ve insülin direnci saptanabilir.

PCO'lu hastaların ultrasonografik görüntülenmesinde 2-9 mm çaplı, 12 veya daha fazla follikül olması ve /veya artmış over volümü ($>10\text{ml}$) polikistik over olarak tanımlanır. Bu bulgunun tek overde olması yeterlidir. Polikistik over değerlendirmesinde folliküllerin dağılımı dikkate alınmaz. Oral kontraseptif ilaç kullanımı over morfolojisini etkileyebilir. Ayrıca, multifolliküler over hipogonadotropik hipogonadizmden normal döneme geçmekte olan hastalarda overde spontan folliküler aktiviteye ya da ovülasyon indüksiyonu ile over stimülasyonuna bağlı olarak gelişebilmektedir. Ultrasonografik polikistik over görüntüsü, sağlıklı kadınlarda da yüzde 20'lere varan oranlarda bulunabilir. PCO tanısı koyabilmek için benzer kliniğe neden olabilecek hastalıkların çıkartılması gerekir. Ayırıcı tanı da menstrüel düzensizlikler ve hirşutizme neden olabilecek pitüiter ve adrenal bez hastalıkları, hiperandrojenizme neden olan hastalıklar bulunmaktadır. Bazı ilaçların kullanımı hiperandrojenizme ya da hiperandrojenemik değişikliklere yol açabilir (androjenler, progestajen ajanlar, steroidler, fenitoin gibi).

Cushing sendromunu düşündüren klinik bulguların varlığında, 24 saatlik idrarda serbest kortizol düzeyinin ölçülmesi tarama için kullanılabilir. Prolaktin ile ilgili bozukluklar ve tiroid hastalıkları da ayırıcı tanıda düşünülmesi gereken durumlardır. PCO'larda yüzde 30'a varan oranlarda hafif orta düzeylerde prolaktin yüksekliği görülebilir. Tiroid hastalıklarında menstrüel düzensizlikler görülebilir. Tiroid hastalıklarında menstrüel düzensizlikler görülebilir, ancak çoğu zaman hastalıkla ilişkili diğer semptom ve bulgular tanıya olanak sağlar.

PCO, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimiyle ortaya çıkmış sık görülen ve kompleks bir hastalık olarak değerlendirilebilir. Sendromun fizyopatolojisinde gonadotropin dinamiğinde değişiklikler, steroidogenez defektleri, insülin salınım ve etki bozuklukları beraberinde genetik faktörler ön plana çıkmaktadır.

Tablo 5: Polikistik over sendromu uzun dönem sağlık riskleri
Glukoz intoleransı ve tip 2 diyabet
Kardiyovasküler hastalık
Kanser

PCO'nun etyopatogenezi net olarak bilinmediği için günümüzde mevcut tedavi seçenekleri de genellikle semptomatiktir. Bu anlamda, tedavi hedefleri hiperandrojenizmin kontrol edilmesi, menstrüel disfonksiyonun düzeltilmesi ve fertilitenin sağlanması şeklinde sıralanabilir.

Yaşam tarzı değişikliklerinin over fonksiyonunun düzeltilmesinde etkili olduğu gösterilmiştir. Kombine oral kontraseptifler menstrüel siklusu düzenlerler, endometriyum üstünde koruyucu etkiye sahiptirler ve androjen düzeyini azaltırlar. Gebelik isteği olan infertil hastalarda kanıta dayalı tıp perspektifinde bir tedavi şemasında düşük maliyetli invaziv olmayan tedavi seçenekleriyle başlamak ve cevap alınamazsa invaziv tıbbi ve cerrahi seçeneklerin kullanılması uygun olacaktır.

Ovülasyon indüksiyonunda ilk seçenek klomifen sitrattır. Bu ajanla hastaların yüzde 80'inde ovülasyon, yüzde 40'ında gebelik sağlanır. Klomifen sitrata yanıtızsız hastalarda ikinci basamak ekzojen gonadotropinler kullanılabilir. Over diyatermisi gibi cerrahi

ovülasyon indüksiyon metotları, PCO'da küçük hasta gruplarında belli düzeyde başarıyla denenmiştir. Bu metotların postoperatif adezyon gelişimi gibi riskleri mevcuttur. Bu nedenle yalnızca klomifene dirençli ve gonadotropin tedavisi almak istemeyen seçilmiş olgularda kullanılmalıdır.(57)

2.2 Zayıf Over Yanıtı (Poor Responder)

Zayıf overyan yanıt ilk kez Garcia ve ark. tarafından 1983 yılında tanımlanmıştır. Prevalansı İn-Vitro Fertilizasyon (IVF) yapılan hastalar arasında yüzde 5-24 olarak bildirilmiştir. Yardımla Üreme Tekniklerinde (YÜT) meydana gelen ilerlemelere rağmen zayıf overyan yanıtlı hastaların yönetimi hakkında henüz bir fikir birliğine varılamamıştır. Farklı yazarlar farklı kriterler kullanmakla birlikte kontrollü ovaryan hiperstimulasyona (KOH) zayıf yanıt; yeterli ovaryan stimulasyona rağmen 3'ten az oosit elde edilmesi ve maksimum serum estradiol (E2) düzeylerinin 500 pg/ml'ye eşit veya daha düşük olması olarak tanımlanabilir.

European Society for Human Reproduction and Embryology/American Society for Reproductive Medicine zayıf ovaryan yanıtı tanımlayan kriterler için bir konsensusa varmıştır.

IVF tedavisinde over stimülasyonuna zayıf yanıt tanımı için yapılmış ESHRE konsensusu :

Bologna kriterleri olarak bilinen bu üç kriterden ikisinin olması, zayıf overyan yanıt için yeterli kabul edilmiştir. Bunlar;

1. İleri maternal yaş (≥ 40 yaş) ya da zayıf ovaryan yanıt için diğer risk faktörlerinin olması,
2. Önceki zayıf ovaryan yanıt öyküsünün olması (konvansiyonel ovaryan hiperstimulasyon yöntemleri ile < 3 oosit toplanmış olması)
3. Anormal ovaryan rezervi testi olması .

- Yanıt ; $< 3 / 5$ folikül (Hcg günü)

- Pik E2 $< 300-500$ pg /ml

- 5 günde < 100 pg / ml

- Toplanmış oosit sayısı <3-<5
- Kısa protokol 41 ampul >
- Uzun protokol 47 ampul >
- Yaş <37, veya < 70 kg 225 IU/gün...<5 folikül
- Yaş >37, veya > 70kg 300 IU/ gün...<5 folikül

Bu hastalarda IVF tedavi başarısını arttırmak için farklı KOH yöntemleri kullanılmakla birlikte optimal stimülasyon yöntemi hakkında fikir birliği oluşmamıştır.

KOH sırasında uygulanan gonadotropin dozunun artırılması, farklı tipte gonadotropin kullanılması, gonadotropinlerin ya da GnRH analoglarının (agonist ya da antagonist) başlama zamanının değiştirilmesi, oral kontraseptif kullanılması, tedaviye büyüme hormonu, klomifen sitrat, aromataz inhibitörleri, testosteron, E2, nitrik oksit donörleri, aspirin gibi adjuvan ajanların eklenmesi ya da doğal siklusların yardımıyla üreme tekniklerinde kullanılması önerilmektedir. YÜT'de başarı özellikle yeterli bir KOH a bağlıdır. Gonadotropinlere yetersiz yanıt, siklus iptali, transfer edilecek ya da dondurulacak embriyo sayı ve kalitesinde azalma, düşük gebelik oranları, bunların sonucunda çiftlerde ve doktorda stres ve hayal kırıklığı ile sonuçlanabilmektedir. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalar zayıf yanıtlı hastalarda mikrodoz GnRH agonist (GnRHa) *flare-up* yönteminin avantajlı olduğunu bildirmektedir. Bazı çalışmalarda ise GnRH antagonistlerinin faydalı olduğu sonucuna ulaşılmıştır. İki stimülasyon protokolünü karşılaştıran bazı çalışmalarda ise fark saptanmamıştır.

Zayıf over yanıtı, olan hastalara tanı koyarken ;

1. Yaş,
 2. Düşük over rezervi ile ilişkili diğer risk faktörleri ;
- Endometriozis
 - Geçirilmiş over cerrahisi
 - Pelvik infeksiyon

- Kemoterapi / Radyoterapi
- Prematür over yetmezliği (POF)
- Obezite
- Sigara

3. Over rezervi için yapılan testler

- FSH
- Bazal E2
- İnhibin B
- Antral folikül sayısı
- Over volümü
- Antimüllerian hormon seviyesi
- FMR1 geninde $30 < \text{CGG}$ tekrarı prematür over yaşlanması riskine işaret etmektedir
- Otoimmün test
- Dinamik testler

4. Önceki zayıf yanıt öyküsü

Zayıf over yanıt için en iyi protokolün aşağıdaki özelliklere sahip olması gerekmektedir.

- Maksimum sayıda olgun ve iyi kalite oositi uygun sürede sağlamalı
- İmplantasyon için uygun endometrium sağlamalı
- Maksimal gebelik ve doğum oranı. (58)

2.3 Gametogenez

Gametogenez veya gamet formasyonu, kadın üreme hücresi oosit ile (oogenez) erkek üreme hücresi spermatozoon'un (spermatogenez) oluşumu ve matürasyonu süreçlerini içerir. Erkek ve kadın germ hücreleri embriyonik gelişimin 3.haftasında yolk sac duvarından ameboid hareketlerle 4. haftanın sonunda veya 5. haftanın başında gelişmekte olan gonadlara ulaşırlar. Genetik olarak dişi gonadlarda (over) oogonialara ve erkek gonadlarda (testis) ise spermatogonialara dönüşürler.

2.4 Spermatogenez

Spermatogenez, primitif germ hücrelerinin önce spermatogonia'lara ve daha sonra olgun spermatozoa'lara dönüşüm sürecini tanımlar. Dişilerden farklı olarak erkeklerde primordial germ hücrelerinin farklılaşması pubertede başlar. Doğumda erkeklerdeki germ hücreleri testisin seks kord'ları içerisinde destek hücreleri ile çevrelenmiş büyük soluk hücreler olarak tanınırlar. Destek hücreleri olasılıkla folliküler hücrelerde olduğu gibi glandın yüzey epitelinden köken alırlar ve Sertoli hücreleri' ne dönüşürler. Puberteden hemen önce seks kordlarda bir lümen oluşturarak bunlar seminifer tübüller'e dönüşür. Hemen hemen aynı zamanda primordial germ hücreleri iki tip olan spermatogonialara farklılaşır.

Tip A spermatogonialar mitozla bölünerek kök hücreler için devamlı bir kaynak sağlarken bunlardan gelişen Tip B spermatogonialar primer spermatositleri oluşturur. Normal gelişim aşamasındaki olayların oluşumu ile tip A spermatogonialar bir yandan kök hücreler için yeterli popülasyonu geride bırakırken bir yandan da tip B spermatogonialara dönüşür. Oluşan bu tip B spermatogonialar daha sonra mitoz ile çoğalarak primer spermatosit'leri meydana getirirler. Primer spermatositler yaklaşık 22 gün süren bir profaz aşamasından sonra hızla 1.mayoz bölünmelerini tamamlayarak sekonder spermatositleri oluştururlar.

Bu hücreler hemen ikinci mayotik bölünmelerini tamamlayarak spermatidlere dönüşürler ve spermatidlerin her biri haploid sayıda 23 kromozom içerir. Böylece tip A spermatogoniumdan spermatid aşamasına kadar olan farklılaşmada birbirleriyle hücre düzeyinde temaslarını sürdüren bir seri germ hücresi oluşur. Oluşan bu germ hücrelerinin desteklenmesi, korunması, beslenmesi ve olgunlaşmalarında lümene salınmaları başlıca Sertoli hücreleri tarafından sağlanır.

Oluşan spermatidlerin fertilizasyon yeteneğine sahip olgun sperm hücrelerine dönüşmesi spermiyogenez denilen bir süreçte meydana gelir. Bu süreçte spermin baş kısmının yaklaşık 2/3 'ünü oluşturan ve nükleer yüzeyi kaplayan, fertilizasyon sırasında zona ve oosit membranının penetrasyonunu sağlayan akrozomun oluşumu, nükleusun kondensasyonu spermin boyun, orta kısım ve kuyruğunun oluşumu ve sitoplazmanın çoğunun atılması gerçekleşir. Böylece bir spermatogoniumdan olgun bir spermatozoonun oluşmasına kadar geçen süre yaklaşık 70 gündür. Tam olarak olgunlaşan spermatozoolar serbestleşerek seminiferöz tübüllere geçer ve tübüllerin duvarındaki kontraktıl yapıların etkisi ile epididimise doğru ilerler ve olgunlaşırlar. Ejekülasyon sırasında epididimin kuyruk kısmı, vaz deferens ve vaza ampullada depolanan sperm ejakülatuar kanal aracılığı ile prostatik üretraya geçerek seminal vezikül sekresyonu ile karışır ve mesane boynunun kapanmasını izleyerek ritmik kasılmalarla penil üretra aracılığı ile dışarı atılır. (1)

2.5 Oogenezis

Gametler, primordiyal germ hücrelerinden gelişir. Primordiyal germ hücreleri ilk olarak intrauterin 3. haftanın sonunda yolk kesesi duvarının Allantoise yakın olan kısmında görülür. 3. haftanın sonu, 4. haftanın başında primordiyal germ hücreleri ameboid hareketlerle gelişmekte olan barsak dorsal mezenterinden geçerek gelişmekte olan ilkel gonadlara göç eder. Primordiyal germ hücreleri gonadlara ulaşamaz ise dejenere olarak yok olurlar. Aynı şekilde gonadların da ileri gelişimi için primordiyal germ hücrelerinin gonadlara ulaşmış olması gerekmektedir.(2) Primordiyal germ hücreleri gelişmekte olan gonadlara ulaşır ulaşmaz oogoniumlara farklanır. Bu arada mitoz ile hızla çoğalarak oogoniumların sayıları artar.(2) Oogoniumlar bölünerek hücre kümeleri oluştururlar ve hücreler arası köprüler aracılığı ile birbirleriyle ilişki kurarlar. Bu olaya kolonizasyon adı verilir. Oogenezi prenatal maturasyon ve postnatal maturasyon olmak üzere iki evrede inceleyebiliriz. İntrauterin 4. aydan sonra oogoniumlardan primer oositler oluşmaya başlar. Bu arada yüzeyel germinal (çölomik) epitelinin proliferasyonu ve invaginasyonları sonucu oluşan folliküler hücreler de oogonia ve primer oosit kümelerini sarmaya başlar. İntrauterin 7. aydan sonra artık hiç oogonia kalmamıştır ve her primer oosit ayrı olarak follikül hücrelerince sarılmıştır. Bu yapı artık primordiyal follikül olarak adlandırılır. Bu dönemde overde sadece primordiyal folliküller görülür. Artık mitoz ile çoğalma da biter. Primer oositlerin ileri gelişimi follikül hücrelerince

salgılanan oosit maturasyonunu engelleyici faktör (OMI) aracılığı ile puberteye kadar engellenir ve I. mayozun profazında (diploten evresinde) duraklar. Oluşan primordial folliküllerin bir kısmı atrezi ile kaybolur ve primordiyal follikül sayısı doğuma kadar bir miktar azalır. (2)

Yenidoğanın over korteksinde 700.000-2.000.000 civarında primordiyal follikül bulunur. Devam eden atreziler sebebiyle sayı puberteye kadar 400.000'e kadar düşer. Puberte ile birlikte hipofizden salgılanan gonadotropinlerin etkisiyle her menstruel siklus başında 5-15 follikül gelişmeye başlar ancak bir, nadiren de daha fazlası ovulasyon aşamasına kadar ilerleyebilir. Dominant follikül dışındaki gelişmeye başlayan diğer folliküller atreziye uğrar. Bu şekilde follikül sayısı menapoza kadar gittikçe azalır. Over korteksinde hiç follikül kalmadığı zaman menopoz gerçekleşir. Puberteden menopoza kadar ancak 400-500 follikül ovule olabilecek şansa sahip olur. (2)

Puberte ile oositler primordial folikülden sekonder ve tersiyer foliküllere doğru gelişir. Her yeni siklusta salgılanan FSH etkisi ile 5-15 primordial follikül olgunlaşmaya başlar, büyüklüklerinde artış olur. Bir çok primordial follikül gelişmeye başlamakla birlikte genellikle sadece bir tanesi seçilerek tam olgunlaşma aşamasına ulaşır. Follikülün olgunlaşması ile follikül hücrelerinden salgılanan östrojenin etkisi ile LH salgılanması uyarılır ve primer oosit ilk mayoz bölünmesini tamamlar. Birbirine eşit olmayan 2 kardeş hücre oluşur. Sekonder oosit hemen hemen sitoplazmanın tamamını alır, birinci kutup cisimciğine ise çok azı kalır. İlk kutup cisimciği küçük, işlevsel olmayan, kısa süre içinde dejenere olacak bir hücredir ve oositi çevreleyen kabuk (zona pellusida) ile oosit zarı arasında yer alır. Ovülasyondan hemen sonra sekonder oositin çekirdeği ikinci mayoz bölünmeye girer, bölünme durduğunda sadece metafaz aşamasına kadar ilerlemiştir. Eğer bir sperm sekonder oositin içine girerse, ikinci mayoz bölünme tamamlanır ve sitoplazmanın çoğu bu döllenmiş olan yumurta hücresine geçer. İkinci kutup cisimciği (polar body) atılır sonra oositin mayoz bölünmesi tamamlanır.

Tüp bebek tedavisinde bu olgunlaşma süreçleri belirli ilaçlar kullanılarak başlatılmakta, hormon değerleri ve follikül boyutları ölçülerek kontrol edilmekte ve uygun boyutlara ulaştıklarında follikül çatlatma iğneleri verilerek son olgunlaşma süreçlerinin tamamlanması sağlanmaktadır.

Olgunlaşma sürecini tamamlayan oositler belirlenen saatte toplanır ve laboratuarda embriyologlar tarafından değerlendirilir. Ancak Metafaz II aşamasındaki oositlere işlem uygulanır.(3)

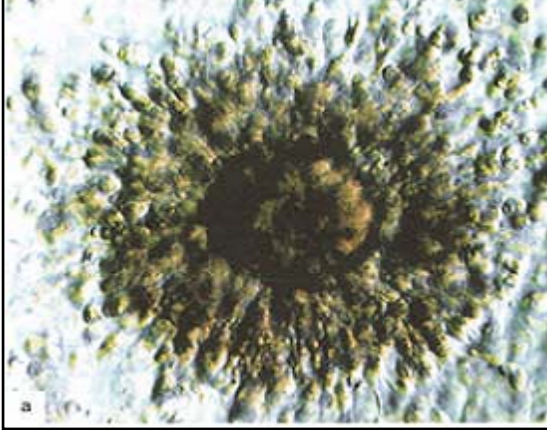
2.6 Oosit toplama işlemi (OPU)

Oosit toplama işleminin amacı, mümkün olduğunca kısa süre içerisinde olabildiğince çok oositin toplanması ve bu arada oositlerin fizyolojik olmayan koşullarla karşılaşmasının en aza indirgenmesidir. İşlem esnasında oositler üzerine etkili en önemli parametreler ısı, osmolarite ışık ve pH değişimleridir. Standart koşullardaki değişimler oositlerin normal olarak dölleme olmasını ve embriyo gelişimini etkilemektedir.

Oosit toplama işlemi, transvajinal ultrasonografi eşliğinde, lokal ya da genel anestezi altında yapılmaktadır. İşlem sırasında çift ya da tek lümenli özel steril opu iğneleri kullanılmaktadır. Aspirasyon sistemi ile iğneye uygulanan negatif basınç aracılığıyla folikül sıvısı aspire edilerek yumurta aranmak üzere embriyoloji laboratuvarına tüpler ile gönderilir. Opu işlemine başlamadan önce aspirasyon pompasının basıncı ve işlerliği kontrol edilmeli ve sistemden flush mediumu geçirilerek test yapılmalı, aspirasyon sıvısının içine alınacağı tüpler ve medium 37°C' de heating block' da ısıtılmalıdır. Transvajinal ultrasonografi ile overler görüntüye getirildikten sonra ekrandaki kılavuz eşliğinde iğne ile foliküllere girilerek içlerindeki folikül sıvısı aspire edilir.

Aspirasyon işlemiyle tüp içerisine alınan folikül sıvısı laminar flow kabini içerisindeki petri dish' e dökülür ve stereo-mikroskop altında oositler aranır. Bulunan oositler 145 mm boyunda ve yaklaşık 0.5mm kalınlıktaki pastör pipet ile önceden hazırlanmış olan Hepesli medium içerisine alınır. Oosit arama işlemi esnasında tüm oositlerin laminar flow kabini altındaki fanus içerisinde, 37°C 'de % 5 CO₂ ortamında bekletilmesi gerekir. Oosit toplama işlemi sona erdikten sonra toplanan tüm oositler önceden hazırlanmış olan kültür mediumu içinde 37°C'de % 5 CO₂ ortamında inkübatör de beklemeye alınır ve daha sonra oositlerin matürasyon değerlendirilmesi yapılır. Bu değerlendirmede elde edilen oositi çevreleyen korona- kümülüs kompleksinin genişliği ve parlaklığı esas alınır. Buna göre; MetafazII konumundaki oosit birinci polar cisimciğini atmıştır ve oosit toplanmasından sonraki 4 saat içerisinde insemine edilebilir. Metafaz I aşamasındaki oositin görünümü ise; kümülüs daha sıkışık yapıda ve daha

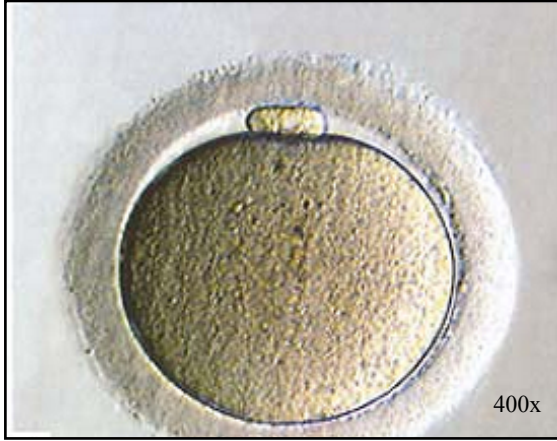
az homojen olup parlaklığı daha azdır. Kültür ortamında bir süre bekletilmeleri durumunda birinci polar cisimciğin atılmasıyla gelişimlerini tamamlayabilirler. Bir de immatür oosit (GV) denilen olgunlaşmamış ve germinal veziküle sahiptirler.



Şekil: 1a)Kümülüs oosit kompleksi



Şekil: 1b) Metafaz I evresinde Oosit



Şekil: 1c) Metafaz II aşamasındaki oosit



Şekil: 1d) Germinal veziküllü

Şekil: 1 Oosit Hücresi

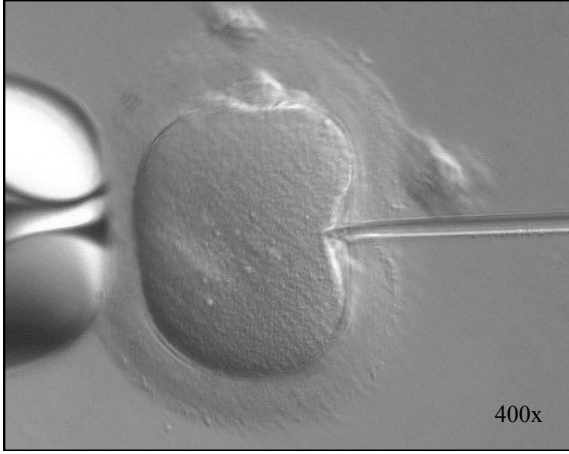
2.7 İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu İşlemine Hazırlık

ICSI öncesi oositlerin hazırlanmasında amaçlanan, oositlerin çevresindeki kumulus-korona hücrelerinin uzaklaştırılmasıdır. Bu da enzimatik ve mekanik yolla gerçekleştirilir. Bu nedenle opu işleminden sonra oositlerin temizleneceği petri kabının hazırlanması gerekmektedir. İşlem sırasında oositler bir süre inkübatör dışında tutulacağı için Hepes veya Mops içeren medium da temizlenmelidir.

Opu dan yaklaşık 2 saat sonra inkübatör de 1.gün mediumunda bekletilen oositler cam pastör pipetleriyle hyalüronidaz içeren mediuma aktarılır ve hızlı bir şekilde temizlenme işlemi kalından inceye doğru olan cam pastör pipetler ile yapılır. Hyalüronidaz içine alınan oositler pastör pipetiyle birkaç kez aspire edilip bırakılırken granüloza ve kumulus hücrelerinin bir miktar ayrılması sağlanır. Daha sonra denüstasyon pipetiyle kumulus hücreleri en aza indirgenir. Oositler her temizlenme aşamasında farklı droplara taşınarak hyalüronidaz enziminden uzaklaştırılır. Oositler, stereo mikroskop altında temizlenmeli ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu yapılanaya kadar yüzde 5 O₂ ve yüzde 7 oranında CO₂ inkübatör de bekletilir.(40)

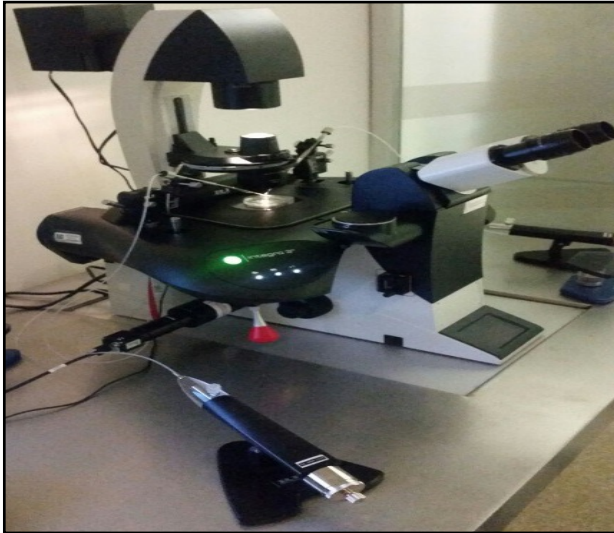
2.8 İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI)

ICSI prosedürü için mikromanipülatör ve mikroenjektörlere sahip bir inverted mikroskop gerekmektedir. ICSI işleminde gerekli olan büyütme kapasitesi 200x ve 400x'dir. Mikroskop da ısıyı 37°C tutan bir ısıtıcı tablanın bulunması önemlidir. Isının sabit tutulması, oositler için çok önemlidir. Çünkü oositler ısıdaki herhangi bir düşüşe karşı son derece hassastır. Bu düşüş, oositlerde mayotik iplikçikler de geri dönüşümsüz hasarlara yol açabilir. Mikromanipülatörler, tutucu pipet ve enjeksiyon pipetinin üç yönlü hareketini sağlamalıdır. Oositler tutucu pipetle sabitlenirken, enjeksiyon pipeti ile aspirasyon ve spermin oositin içine enjeksiyonu sağlanır. ICSI işleminde bir tek sperm oositin içine enjekte edilir.



Şekil 2 : ICSI işlemi

İşlem mikro dropletler içeren, üzeri yağ ile kaplanmış mikroenjeksiyon dishleri içinde yapılmaktadır. Sperm ve yumurta kendilerine ait yerlere konulduktan sonra mikroskop altında morfolojisi normal görünümlü ve varsa hareketli sperm seçilerek mikroenjeksiyon pipeti ile kuyruğun orta bölümüne hafifçe bastırılarak hareketsizleştirilir. Kuyruk kısmından yakalanan sperm pipet içine alınarak yumurtanın bulunduğu droba gidilir ve oosit, tutucu pipetle tutulur. Mayotik iplikçiğe zarar vermeyi önlemek adına polar cisimcik saat 6 ya da 12 pozisyonuna getirilir. Özel tutma pipeti ile sabitlenen yumurtanın içine hareketsizleştirilen sperm enjekte edilir. Bu işlem tüm yumurtalara aynı sıra ile uygulanır. İşlem bittikten sonra yumurtalar özel besi ortamlarına alınarak işlemden 18-20 saat sonra döllenme kontrolü yapılır. (41)



Şekil 3: Maniplatör Cihazı (Bu fotoğraf İzmir Hastanesi Medikalpark Tüp Bebek Merkezi'nde çekilmiştir).

2.9 Fertilizasyon ve Embriyo Gelişim Süreci

Fertilizasyon, gamet denilen anne ve babaya ait özelleşmiş hücrelerin birleşerek yeni bir yapı olan embriyoyu oluşturmasıdır. Sperm hücresi ile oosit hücresinin birleşmesiyle oluşan zigotun ilk embriyonik mitotik bölünmeye girmesiyle döllenme süreci tamamlanır. Fertilizasyon sonucu oluşan embriyonun geleceği, sperm hücresinin seçimi, oosit ile entegrasyonu, sperm ve oosite bağlı moleküllerin birbiri ile etkileşimi embriyonik gelişimi başlatmasına bağlıdır. Sperm hücresinin sitoplazmaya girişi doğrudan yerleştirilmek sureti ile (ICSI) ile gerçekleştirilir.(4)

ICSI işleminden 18-20 saat sonra merkezi olarak hizalanmış iki pronukleus gözlenir. Bu pronukleusların içerisindeki nukleoluslar, pronüklear birleşme bölgesinde sıralanma eğilimi gösterirler.(5) İntrasitoplazmik enjeksiyon işlemi sperm doğrudan ooplazmaya yerleştirilmesi ile fertilizasyonun akrozom reaksiyonu ve zonaya bağlanma dahil bir çok basamağı atlanmış olur. Fertilize olmamış bir oositin bölünmesi partenogenetik olarak bilinir. ICSI işleminden 23-29 saat sonra gerçekleşen birinci mitoz bölünme ile oluşan hücrelere blastomer denir. Üç ve dört bölünmeden sonra 12-16 blastomer içeren hücre morula olarak adlandırılır. Morula da merkezi olarak toplanan hücreler (inner cell mass) ile onları çevreleyen bir tabaka (outer cell mass) mevcuttur ve 4.gün hücreler arasındaki sıvı toplanarak tek bir kavite oluşturur (blastosel) ve sıvı dolu kaviteden oluşan yapı blastokist olarak adlandırılır. İçteki merkezi hücrelerden oluşan yapı embriyoblast ve dış hücre tabakası ise trophoblast olarak bilinir ve iç hücre tabakasından embriyoya ait dokular gelişirken trophoblastlar plasentanın gelişiminden sorumludur. Blastokist aşamasında uterus kavitesinde bulunan hücrenin zona tabakası kaybolur (hatching) ve böylece fertilizasyon sonrası 6. günde implantasyon başlar.



Şekil 4 : Normal Zigot (2PN)

Embriyo, bölünme sürecinin ikinci gününde 4 hücreli, ikinci bölünmeden sonra en sık gözlenen oluşum, 6 adet hücrelerarası temas bölgesi içeren düzgün dört yüzlü blastomer yapılarıdır. Blastomerlerin sayısından ayrı olarak, ikinci gündeki embriyo kalitesinin rutin olarak değerlendirilmesi fragmantasyon derecesini de kapsamaktadır. Embriyonik fragmantasyonun değerlendirilmesi için objektif ve standardize olan etkili bir yöntem bulunmamaktadır. Genelde küçük orandaki fragmantasyonun embriyo canlılığını etkilemediği görüşü kabul görmektedir (6). Daha erken dönemdeki bölünme evresindeki embriyolar, temel seviyelerde biyosentez olan tek tek blastomerlerin bir araya toplanmasından oluşmaktadır. Komplaktlaşma blastomerlerin daha yakın bir şekilde yapışmasına neden olan bir seri hücreler arası sıkı bağlantıların (dezmozom, gap ve sıkı bağlantılar) oluşması sonucu meydana gelir.(7) İnsanlarda komplaktlaşma, muhtemelen bir iç saati takip ederek yaklaşık sekiz hücreli evrede başlar. Kompaktlaşma evresi (3.günden başlayarak) ise biyosentetik aktivitede artış olması ve glukozun daha etkin bir şekilde metabolize edilmesi ile tanımlanır. Komplaktlaşan embriyo iyonik gradientleri aktif olarak düzenleme ve böylece kendi iç çevresini kontrol etme kapasitesine sahiptir.(8) Bölünen embriyo, komplaktlaşmadan sonra kavite oluşturmaya başlar. Blastokist oluşumu sırasında trofektoderm ve iç hücre kütleleri olarak adlandırılan iki ayrı hücre tipi oluşur. İnsanlarda, ikinci hücre tipinin trofektodermelere göre 1,5 kat daha yavaş çoğaldığı tespit edilmiştir.(9) Blastokistin 5.ve 6.gündeki gelişimsel evrelerde hücre sayısında oldukça değişkenlik gösterdiği gözlenmiştir. Gelişimin 5.günüdeki insan tam blastokistlerin 60 hücreyi geçmesi ve en azından 6.günde hücre sayısını ikiye katlaması gerekmektedir. (9)

Döllenme gerçekleştiikten sonra, tek faz veya iki fazlı kültür ortamlarında embriyo gelişimi takip edilerek uygun olan günde transfer işlemi gerçekleştirilir. Kapalı görüntüleme sisteminde tek faz dediğimiz single step mediumlar ICSI işleminden sonra transfer gününe kadar aynı medium da kültüre edilir. Döllenme kontrolü, IVF veya mikroenjeksiyon işleminden 18-20 saat sonra yapılır. Döllenme, dişi ve erkek hücrelerinin nükleuslarının birleşmesi sonucu ortaya çıkar. Döllenmenin normal kabul edilebilmesi için iki pronükleus birinci ve ikinci kutup cisimcikleri gözlenmesi gereklidir. Pronükleus evresinde değerlendirmesinde, PN boyutu, PN büyüklük farklılıkları, nükleolusların sayı ve simetrisi, sitoplazmik halo varlığı dikkate alınır.

Döllenmeden sonra yumurta, yaklaşık 25-30 saat sonra ilk mitotik bölünmeye başlayarak iki hücreli embriyonun oluşmasını sağlar.

Embriyolar blastomer boyutları, simetrisi, fragmantasyon yüzdesi ve her blastomerdeki fazla nükleus varlığı gibi parametreler açısından değerlendirilir. Bölünme zamanlamasına göre embriyonun sahip olduğu blastomer sayısı günün beklenen limitleri arasında ise normal gelişen bir embriyo, eğer bu sayı düşükse yavaş gelişen bir embriyo olarak değerlendirilir. Normal kabul edilen embriyo 25-30. saatte iki hücre, 38-40. saatte üç-dört hücre, 54-60. Saatte altı-sekiz hücre ve 4. günde birleşme işaretlerine bağlı olarak on ve üzerinde hücreye sahip olan kompakt embriyodur. Kalite değerlendirmesine göre ise eşit büyüklükte blastomer yapısına sahip olan, yüzde 0-5 arasında fragmantasyon içeren ve sitoplazmasında belirgin granüler yapı gözlenmeyen embriyolar "1.kalite" olarak değerlendirilirler (Şekil:5).

Bu değerlendirmeye göre kalite sıralaması aşağıda gösterildiği gibi olmaktadır (Tablo:6).



1.gün 2hüceli embriyo

2. Gün 4 hücreli embriyo

3. Gün 8 hücreli embriyo

Şekil 5: Bölünme evresinde 1.kalitedeki embriyolar

Tablo 6:	Bölünme evresinde embriyo değerlendirilmesi (Eshre ASRM 2010)
1. kalite	Eşit blastomer çaplarına sahip, granülasyon göstermeyen, % 0-5 oranında fragmantasyon içeren embriyolar
2. kalite	Eşit blastomer çaplarına sahip, %5-10 oranında fragmantasyon içeren veya granülasyon içeren embriyolar
3. kalite	Blastomerler birbirinden hafifçe farklı, %10 üzerinde fragmantasyona sahip veya granülasyon içeren embriyolar
4. kalite	Blastomer sayısı belli olmayan %30'dan fazla fragmantasyona sahip, blastomerler birbirinden belirgin derecede farklı veya ileri derecede granülasyon içeren embriyolar.

Embriyonun gelişim evreleri (4-6. Gün) : Yaklaşık olarak döllenmeden 96 saat sonra gelişen embriyodaki hücre sayısı 16–20 hücre arasındadır. Bu aşamada kompakt yapı ortaya çıkar, hücreler arası bağlantılar artar, embriyonun farklılaşma aşaması olarak değerlendirilir. Bu aşama morula diye isimlendirilir. Morulayı takiben erken veya geç kavitasyon dönemi başlar ve Blastokist gelişimi 5-6. günlerde tamamlanır.



Şekil 6a) : Morula



Şekil 6b) : Blastokist



Şekil 6c) : Hatching blastokist

Şekil 6 : 4 - 6. Gün embriyoları

Tablo 7: İ hücre kitlesinin değerlendirilmesi

Kalite belirteci	Kaliteyi belirleyen kriterler
A	Sıkı paket halinde çok hücre içermesi
B	Gevşek, çok sayıda hücre içermesi
C	çok az sayıda hücre içermesi

Tablo 8: Trofoektodermin değerlendirilmesi

Kalite belirteci	Kaliteyi belirleyen kriterler
A	Birbirine sıkıca bağlı birçok hücreden oluşan epitel yapısının bulunması
B	Daha gevşek bağlı ve birkaç hücreden oluşan epitel yapının bulunması
C	çok az ve büyük hücrelerden oluşan epitel yapının bulunması

2.10 Kapalı Görünteleme Sistemi (Embriyoskop)

2.10.1 Embriyo gelişiminin sürekli olarak izlenerek takip edilmesi

İşlem sonrasında elde edilen embriyolar %5 O₂ - %7 CO₂ olan inkübatörler de takip edilirler. Embriyolar laboratuvar ortamında gerek embriyo gelişimini izlemek gerekse gebelik şansı en yüksek olan embriyoyu seçmek için dış ortama çıkarılır ve mikroskop altında morfolojik olarak değerlendirilir. Bu işlemler her ne kadar laboratuvar şartlarında gerçekleştiriliyor olsa da embriyoların dış ortamdaki kontrolleri sırasında zarar görme ve gelişimlerinin etkilenmesi ihtimal dahilindedir. Son dönemde geliştirilen embriyoskop adı verilen cihaz ile embriyolar dış ortama çıkarılmadan takip edilebilmektedir.

Böylece embriyoların gelişim süreçlerinin her 20 dakikası kayıt edilerek, tüm gelişim süreci incelenebilmektedir.



Şekil 7: Embriyo Görüntüleme Sistemi

(Bu Fotoğraf İzmir Medikalpark Hastanesi Tüp Bebek Merkezi'nde çekilmiştir)

Embriyoskop cihazının, embriyoların sürekli görüntülenmesinin yanı sıra iki temel avantajı daha vardır. Bunlar;

- Görüntülenme süresi boyunca embriyolar cihaz dışına çıkarılmadıklarından dolayı dış ortamdan etkilenmeyecekleri güvenli bir inkübatör ortamı sağlanmaktadır ve böylece gelişmekte olan embriyo olumsuz büyüme koşullarına veya düşük sıcaklığa maruz kalmadan tüm gözlemler inkübatör içinde gerçekleştirilir.
- Hastaların ve sahip oldukları tüm embriyoların gelişimlerine ait verilerin saklandığı ve analiz edildiği bir bilgi işlem görevi görerek hastalarımıza ait veri tabanı oluşturabilmekteyiz. Bu sayede de embriyo görüntüleri ve inkübasyon koşulları hakkında ayrıntılı bilgiler işlenir, tedavi sonuçları bu verilere göre yorumlanır ve gelecekte referans için hasta veri dosyalarında saklanırlar.
- Bu özellikleri sayesinde, hasta profiline göre değişmekle birlikte geleneksel inkübatörlere kıyasla kapalı görüntüleme sistemi ile daha yüksek gebelik oranları sağlanabilmektedir.

2.10.2 Embriyoskop cihazının özellikleri

Embriyoskop cihazı, gelişimleri sırasında tek tek embriyolar üzerinde bir dizi gözetimsiz ölçüm gerçekleştiren üç gazlı inkübatördür. Ölçümler, çoklu odak düzlemlerinde hızlandırılmış mikroskopi ve inkübasyon koşullarının kayıt edilmesini içerir. İnkübasyon ortamlarını kontrol etmeye yönelik ayrı işlemci birimleri ise güvenli veri toplama ve güvenilir bir çalışma sağlar. Embriyoskop cihazı, embriyo güvenlik alanı ve elektronik bileşenler için olan alanlar şeklinde ayrılmıştır. Embriyoskop cihazında *embriyoslide* denilen aynı hastaya ait 12 ayrı embriyonun inkübasyonu için 12 kuyucuğa sahip bir kültür kabı kullanılmaktadır. Her bir kuyunun 25 µl 'lık bir hacmi vardır. Her bir kuyunun iç kısmında, embriyoların bulunduğu merkezi bir kuyucuk mevcuttur, yaklaşık olarak 250 µl bir çapa sahiptir. Cihazın içerisinde bulunan kamera, embriyoların devamlı olarak izlenmesine imkan vermektedir. Embriyo gelişimini olumsuz yönde etkilemeyecek düşük enerjili kırmızı ışık yardımıyla her 20 dakikada bir embriyoların farklı düzlemlerde fotoğrafları çekilmekte ve bunlar daha sonra hızlandırılmış video görüntüsü olarak izlenebilmektedir. Hasta başına 12 embriyonun aynı zamanda gelişimlerinin takip edilebilmesini sağlayan bu sistem, gebelik oluşturabilecek embriyonun seçilmesinde günüyle uyumlu bölünmeleri ve kalitelerinin yanı sıra tüm gelişim süreçlerinin de bir seçim kriteri olarak eklenmesini sağlamıştır.

Embriyo değerlendirmesinde kullanılan tüm konvansiyonel kriterlerin yanında Embriyoskop cihazı, yeni değerlendirme kriterlerinin oluşmasını da mümkün kılmıştır. Bunlar aşağıda belirtilmiştir;

- Pronukleusların ortaya çıkış zamanları
- Döllenmeden sonra pronukleusların kaybolması
- İlk ve sonraki bölünmelerin saat dilimlerinin net olarak gözlenmesi
- Hücre bölünmelerinin senkron ve asenkron olarak takibi
- Embriyo fragmantasyonunun gözlenmesi
- Blastosöl boşluğunun oluşum zamanının izlenmesi
- Trophoktoderin hücrelerinin zonaya yaptıkları ilk bası zamanı kaydedilmektedir.

Embriyoların laboratuvar ortamında, kültür şartlarını bozmadan, sürekli takibini sağlayan Embriyoskop sisteminin IVF laboratuvarlarında insan embriyo kültürü için kullanımını Dünya çapında ağırlığı olan Amerikan FDA (Food and Drug Assosiation) kuruluşu tarafından onaylanmıştır. Entegre mikroskop, embriyo güvenlik alanının dışına yerleştirilmiş ayrı bir ünedir.

Mikroskop, bir LED aydınlatma ünitesi ve bir mikroskop /kamera ünitesinden oluşur. Sistem, yukarıdan aydınlatmalı ve incelenen embriyoların alt kısmına yerleştirilen bir objektif aracılığıyla yapılan gözlem gibi özelliklere sahip bir normal inverted mikroskoba karşılık gelmektedir.

Her biri 12 embriyo içeren 6 adet *embriyoslide* kültür dışı, yani toplamda 72 embriyo içeren sıcaklık aralığı 35°C ile 45°C arası ayarlanabilen, 30 saniyeliğine yükleme kapısının açılmasının ardından sıcaklık için düzelme süresi <10 dk olan, 30 saniyeliğine yükleme kapısının açılmasının ardından sıcaklık doğrulaması <0.5°C olan, CO₂ aralığı: % 2 -% 10 arasında, CO₂ doğruluğu : % +/- 0.2 , % 5 CO₂ de CO₂ tüketimi :<1 L/sa dir.

30 saniye yükleme kapısının açık kalmasından sonra CO₂ konsantrasyonu için düzelme süresi <5 dk 'dır. O₂ aralığı : 5-20% dir. O₂ doğruluğu : +/-0.3% tür. % 5 O₂ de N₂ tüketimi : <20 L/sa tir. 30 saniyeliğine yükleme kapısının açık kalmasının ardından O₂ konsantrasyonu için düzeltme süresi <15 dk dır. Embriyo görüntü alımı 1280 x1024 piksel monokrom CCD kameraya sahiptir. Mikrometre başına 3 piksellik bir çözünürlük sağlayan yüksek kaliteli 20x,0.40 LWD Hoffman Modulation kontrast objektifi vardır. Aydınlatma için tek kırmızı LED ışık kullanılmıştır. Embriyo başına günlük toplam ışık pozlama süresi <50 saniyedir. Görüntüler 500 x 500 piksellik bir çözünürlükle depolanır.

2.10.3 Embriyo Kültürü

*EmbryoSlide*TM, kültür dishlerinin her bir kuyusu 25 µl hacminde ve toplam 12 kuyucuğu vardır. Her kuyucuğa bir embriyo koyulmaktadır(*EmbryoScope*TM, *Unisense Fertilitech*, *Aarhus*, Danimarka).

Embriyoskop inkübatörünün ortamı %7 CO₂, %5 O₂ ve 37°C'de embriyolar transfer günlerine kadar ardışık olmayan mediumlarla takip edilir. Embriyoskop cihazında her 20 dakika'da alınan görüntüler ile; Pronukleus oluşum zamanları, pronukleuslarının kaybolma

zamanı, iki hücre ve sonraki bölünme zamanları, ilk bölünmeden sonra çekirdeklerin görülmesi, hücre bölünmelerinin senkron ve asenkron olarak takibi, embriyo fragmantasyon geçmişi ,blastosöl boşluğunun oluşum zamanları kaydedilmiştir.

Embriyoskop da embriyoları değerlendirirken kullanılan semboller ;

Pna : Pronukleusların ortaya çıkış zamanı

Pnf : Pronukleuslarının kaybolma zamanı

t2 : İki hücreye bölünme zamanı

t3 : Üç hücreye bölünme zamanı

t4 : Dört hücreye bölünme zamanı

t5 : Beş hücreye bölünme zamanı

t6 : Altı hücreye bölünme zamanı

t7 : Yedi hücreye bölünme zamanı

t8 : Sekiz hücreye bölünme zamanı

t9+: Dokuz hücreye ulaşma zamanı

tM : Morula evresi

tSB : Kavitasyon başlangıcı

tB : Blastosist evresine ulaşma zamanı

Tablo 9 : Optimal embriyoların morfokinetik olarak olması gereken zaman parametreleri -1

Zaman Aralıkları(saat)	İmplantasyon Oranları(%)	Zaman Aralıkları(saat)	implantasyon risk dereceleri
t2: $24.3 \geq$ veya ≤ 27.9 sa	%30	tb: <122.9 sa tsb: <96.2 sa	düşük risk
t3: $35.4 \geq$ veya ≤ 40.3 sa	%35	tb: <122.9 sa tsb : ≥ 96.2 sa	orta risk
t5: $48.8 \geq$ veya ≤ 56.6 sa	%40	tb: ≥ 122.9 sa	yüksek risk
t2-t5: $20.5 \geq$ veya ≤ 29.0 sa	%40		
t3-t5(cc3): $11 \geq$ veya ≤ 18.0 sa	%35		
t2-t3(cc2): ≤ 11.9 sa	%30		
t3-t4(s2): ≤ 0.76 sa	%35		
tM: $79.6 \geq$ veya ≤ 87.8 sa	%35		

İzmir Üniversitesi Tüp Bebek kliniğinde kullanılan bu algoritma *Meseguer et all.* 2011 de yapmış olduğu parametrelerden yararlanarak elde edilmiştir.

Tablo 10 : Optimal embriyoların morfokinetik olarak olması gereken zaman parametreleri -2

t2 (İki hücreye bölünme zamanı)	t3 (Üç hücreye bölünme zamanı)	t5 (Beş hücreye bölünme zamanı)	implantasyon oranları %
+	+	+	%40
+	+	-	%35
-	-	+	%35
-	+	-	%30
+	-	-	%20
-	-	-	%15

İzmir Üniversitesi Tüp Bebek kliniğinde kullanılan bu algoritma *Meseguer et all. 2011* de yapmış olduğu parametrelerden yararlanarak elde edilmiştir.

Tablo 11: Optimal embriyoların morfokinetik olarak olması gereken zaman parametreleri -3

t2-t5 (İkiye bölünmeden beşe bölünme farkı)	t3-t5 (Üçe bölünmeden beşe bölünme farkı)	Kalite Belirteci (GR)
+	+	GR A
+	-	GR B
-	+	GR C
-	-	GR D

İzmir Üniversitesi Tüp Bebek kliniğinde kullanılan bu algoritma *Meseguer et all. 2011* de yapmış olduğu parametrelerden yararlanarak elde edilmiştir.

2.11 SEMEN ANALİZİ

2.11.1. Sperm toplanması:

Sperm toplanmadan önce en az 48 saat, en fazla 7 günlük cinsel perhiz süresinin olması gerekir. Sperm toplanması için kullanılan kaplar cam ya da plastik olabilir. Toplama kapları temiz olmalı ve sperme toksik bir madde içermemelidir. İdeali bunun için özel amaçla yapılmış sperm toplama kaplarının kullanılmasıdır. Kabın üzerine hasta adı ve toplama saati mutlaka kaydedilmelidir.

İdeali spermin, laboratuvara yakın bir yerde toplanarak bekletilmeden ulaştırılmasıdır. Eğer dışarıdan getiriliyorsa 1 saat içinde laboratuvara teslim edilmesi gerekir.

Taşıma sırasında vücut ısısında tutulmalı, 20°C' dan düşük yada 40°C' dan yüksek ısılarda bırakılmamalıdır. Ejakulat mastürbasyonla toplanmalıdır. Bunun başarısız olduğu olgularda toksik madde içermeyen, özel olarak yapılmış kondomlar da kullanılabilir.

2.11.2. Spermin fiziksel incelemesi:

Likefaksiyon: Normal bir sperm örneği oda ısısında 30 dakika içerisinde likefiye olmalıdır. Likefaksiyon sonunda örneğin iyice karıştırılması yapılmalıdır. Bunu likefaksiyon süresince aralıklı veya sürekli olarak yapılması da tercih edilir.

Görünüm: Spermin muayenesi hemen likefaksiyon dan sonra ya da 1 saat içerisinde yapılmalıdır. Normalde homojen, gri-opelasan görünümündedir. Opasifikasyonun azalması sperm konsantrasyonunun düşük olduğunu düşündürmelidir.

Volüm: Ejakulatın volümü dereceli, konik tabanlı silindir tüplerde yapılabilir veya geniş bir dereceli pipete çekilerek de tayin edilebilir.

Viskozite: Likefiye olduktan sonra ejakulat 5 ml'lik bir pipete çekilir ve kendi ağırlığı ile pipetin ucundan damlaması sağlanır. Bu sırada akarak uzayan damlanın boyu ölçülür.

2 cm'den fazla uzaması viskozitenin artmış olduğunu gösterir. Normalde ejakulat pipetin ucundan sarkmadan, küçük damlalar halinde dökülmelidir. Bir diğer yöntemde ise, cam bir çubuk ejakulatin içine daldırılır, arkasından geri çekilir. Bu sırada oluşan cam çubuğa yapışık ejakulat uzunluğu yüzeyden itibaren 2 cm'den fazla olmamalıdır. Artmış viskozite sperm motilite ve konsantrasyon sonuçları ile antisperm antikor testlerini olumsuz etkileyebilir.

pH: Bunun için 6.1 - 10.0 arasında pH ölçeklenen indikatör kağıtlar kullanılır. Bir damla sperm bu kağıt üzerine damlatılır. Oluşan renk değişimi, skala ile karşılaştırılarak pH tayin edilir. pH tayini ejakulat alındıktan sonra 1 saat içerisinde yapılmalıdır. Normali 7.2 - 8.0 arasında olmasıdır.

Mikroskopik muayene: İlk muayenede sperm konsantrasyonu, motilitesi, aglütinasyon ve spermatozoa dışı hücrelerin varlığı araştırılır. Taze preparatların incelenmesinde faz-kontrast mikroskop kullanılması, ışığın lam üzerinde saçılmasını önlemesinden dolayı, tercih edilmelidir. 10 mikrolitre'den fazla olmayacak şekilde bir damla semen mikropipet yardımıyla bir lam üzerine konur. Üzerine 22mm x 22mm lamel ile kapatılır. Bu şekilde yaklaşık 20 mikrometrelik bir derinlikte semen araştırılmış olunur. Bu hacim içerisinde spermatozoaların bütün rotasyon hareketleri de incelenebilmektedir. Daima aynı değerlerin kullanılarak sperm analizinin yapılması, sonuçların standardize edilebilmesi açısından son derece önemlidir.

Mikroskopik inceleme 400x-600x büyütmede yapılmalıdır. Hazırlanan preparatın 37°C'da muayene edilmesi uygun olur. Eğer 20-24°C'lık oda ısısında yapılıyorsa, sonuçların bu değere göre standardize edilmesi gerekir.

Preparat hazırlandıktan sonra 1 dakika bekletilerek, bu süre içerisinde stabilizasyon sağlanır. Sperm yoğunluğunun her mikroskop alanında belirgin farklılık göstermesi, ejakulatin homojen olmadığını gösterir. Bu durumda semen tekrar karıştırılmalıdır. Ayrıca bu durumdan, likefaksiyon bozukluğu, viskozite bozukluğu, spermatozoa agregasyonu (mukus lifleri arasında) yada aglütinasyon da sorumlu olabilir. Böyle bir gözlemin sperm analiz raporunda belirtilmesi gerekir.

Motilite tayini: Her bir spermatozoanın motilitesi 4 derece üzerinden değerlendirilerek kaydedilir:

(+4)ileri çok hızlı hareketli, (+3)ileri hareketli, (+2) yerinde hareketli,(+1) hareketsiz .

4-6 mikroskop alanı taranarak 100 spermatozoa sayılır. Her bir spermatozoa hangi kategoriye göre hareket ediyorsa kaydedilir. Her kategori için ortalama yüzde değerleri hesaplanır. Aynı işlem ayrı bir semen damlası alınarak 2 kez tekrarlanmalıdır. İki ölçüm arasında yüzde 10'dan fazla fark bulunmamalıdır. Aksi takdirde tetkik bir kez daha tekrarlanır. Sonuçta iki inceleme neticesinin ortalaması alınır.

Spermatozoa dışı hücreler: Ejakulatta spermatozoa dışında üretradan gelen poligonal epitel hücreleri, spermatogenetik germ hücreleri, ve lökositler de bulunur. Bunların hepsine genel olarak "yuvarlak hücre" denir. Taze preparatların incelenmesi sırasında yuvarlak hücre konsantrasyonlarının da tayin edilmesi gerekir.

Lökositler çoğu ejakulatta görülürler. En sık nötrofillere rastlanılır. Lökosit sayısının çok dikkatli saptanması gerekmektedir. Çünkü lökospermi durumunda genital sisteme ait bir enfeksiyon söz konusu olabilir ve antibiyotik tedavisi gerekir. Lökositospermi aynı zamanda oksidatif stres ve/veya sitotoksik sitokinleri ortama vererek ejakulat volümünde azalma, oligoastenozoospermi, ve sperm fonksiyonlarında bozulmalara yol açabilir.

İnfertiliteye neden olabilecek lökosit sayısını belirlemek çok güçtür. Bu hücrelerin önemi ejakülata nereden geldikleri, tipi ve aktivasyon durumlarına bağlıdır. Özellikle rete testis ya da epididimden ejakulata giren nötrofil lökositlerin neden oldukları oksidatif strese spermatozoalar daha hassastırlar. Oysa ejakülasyon sırasında prostat veya seminal veziküllerden ejakulata giren lökositler, seminal plazmanın güçlü antioksidan etkisi nedeniyle daha az zarar verircidirler. Genel olarak normal bir ejakulatın 5 milyon/ml'den fazla yuvarlak hücre ve 1 milyon/ml'den fazlada lökosit içermemeleri gerekir.

Aglütinasyon: Spermatozoanın aglütinasyonu demek motil spermatozoaların baş-baş, orta parça-orta parça, kuyruk-kuyruk yada benzer şekillerde birbirlerine yapışmaları anlamına gelir. İmmotil spermlerin birbirlerine yapışmaları ya da motil olup mukus iplikçiklerine veya spermatozoa dışı hücrelere ve debrislere yapışmaları nonspesifik agregasyonlar olarak kabul edilir ve mutlaka ayrıca belirtilmeleri gerekir. Aglütinasyonun bulunması immünolojik nedenli bir infertilite olabileceğine kesin olarak işaret etmez. Aglütinasyon tayini random olarak seçilmiş 10 ayrı alanda sayılarak yapılmalıdır. Birbirine yapışmış motil spermatozoaların yüzde olarak hesaplanması şeklinde ifade edilir. Aglütinasyonun yaygınlığı

önemli olduğu için, az da olsalar mutlaka not edilmelidir. Ayrıca aglütinasyonun türü de kaydedilmelidir (baş-baş, vb).

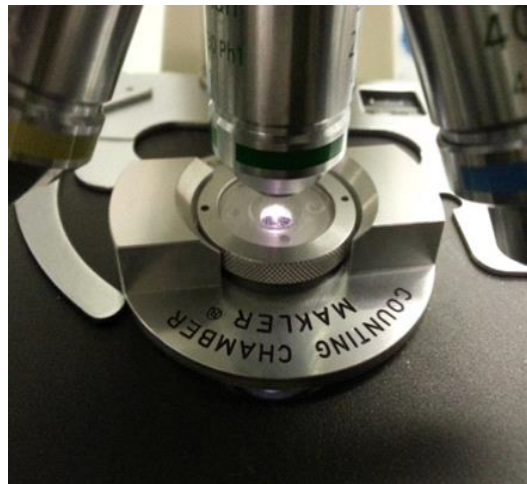
2.11.3 Mikroskopik İnceleme Sırasında Yapılacak Diğer Araştırmalar

Sperm Konsantrasyonu Tayini

Spermatozoa sayımını 2 metodla yapmak mümkündür;

Neubauer hemositometresi ve Makler kamarası.

Neubauer kan sayma lamı, üzerine sperm sulandırıldıktan sonra konularak sayım yapılır. Makler'de ise sulandırmaya gerek yoktur. 4 mikrolitre semen Makler kamarasına (Resim: 8) alınır. Hava kabarcığı oluşturmadan üzeri kapatılır. Işık mikroskopunda x20 objektif ile 10 kare sayılır ve sonuç milyon olarak ifade edilir. Sperm sayısı çok düşükse tüm saha sayılmalıdır. Sırasıyla ileri doğru hızlı ve yavaş hareketli sperm sayılır, kaydedilir, daha sonra yerinde hareketli ve hareketsiz spermler sayılır ve kayıt edilir. Sayım ne kadar gecikirse kamaranın periferinden o kadar çok sperm sayım sahasına yüzer ve yanlış sonuç verilir.



Şekil 8: Makler kamarası

Normal ve normale yakın morfolojiye sahip sperm hücrelerinin seçilmesi, infertilite tedavisinde son derece önemlidir. Semen morfolojik değerlendirmesinde Kruger kriterleri göz önünde bulundurulmaktadır. Bu kriterler ile baş, akrozom, çekirdek, boyun, kuyruk ve orta

parça anormallikleri değerlendirilmektedir(36,37). Diffquick, hematoxylin veya giemsa boyaları ile boyanan spermier immersion objektifinde incelenir.

Akrozom ve nukleus anomalileri ile orta kısım ve kuyruk anomalileri sayılır. Yaklaşık 200 sperm sayılarak normal morfoloji oranı elde edilir. 2010 Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre % 4 ve üzeri normal sperm taşıyan semen örnekleri morfolojik olarak normal kabul edilir.

Tablo 11 : Semen Analizi Kruger Kesin Kriterleri Dünya sağlık örgütü (WHO 2010)

Parametre	En düşük Referans
Semen volumü (ml)	1.5ml
Sperm konsantrasyonu (10 ⁶ /ml)	15x10 ⁶ /ml
Total sperm sayısı (10 ⁶ /ml/ejakülat)	39x 10 ⁶ /ml/ejakülat
Progressive motilite (PR, %)	% 32
Total motilite (PR +NP, %)	% 40
Vitalite (canlı spermier, %)	%58
Sperm morfolojisi (NF, %)	%4
pH*	>/=7.2
Lökosit* (10 ⁶ /ml)	<1x10 ⁶ /ml

2.11.4 Morfolojik Değerlendirme

Morfolojik değerlendirmede amaç sperm fonksiyonları hakkında invivo ve invitro anlamda öngörülerde bulunmak olduğundan, yapılacak değerlendirmede esas alınacak kriterlerin dikkatle seçilmesi gerekecektir. Morfolojik olarak anormal bir çok sperm birden fazla defekte sahip olabilir. Multiple defekt varlığında baskın olan anomaliden sözedilmesi gerekliliği artık

bırakılmış ve her anormal spermatozoada ki ortalama defekt sayısı "teratospermi indeksi" olarak değerlendirmeye alınmıştır. Morfolojik değerlendirme her spermatozoa için ayrı yapılmalı ve her defekt için ayrı olarak sayılmalıdır.

Boyanmış preparatlarda sperm baş kısmının orijinaline göre daha küçük boyutlu fakat şekli aynı kalacağını yeniden hatırlatmakta yarar vardır.

WHO kriterlerine göre borderline spermatozoaları normal kabul etmek ve yüzde 30'luk cut-off değeri ile çalışmak eğilimi, 1992 ve 1998 el kitaplarında yerini daha kesin kriterlerle çalışmaya bırakmış ve *Tygerberg Strict* kriterlerine adapte olunarak morfolojik değerlendirmede uniformiteye daha çok yaklaşmıştır.

Normal bir spermatozoa boyutları dışında kalan formların anormal kabul edilmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır. Günümüzde tüm androloji merkezlerinde kullanılmakta olan "*strict morfoloji kriterleri*" nde dikkat edilen ayrıntılardan bazıları şöyle sıralanabilir:

Baş Anomalileri:

Piriform, armut şeklindedir, sitoplazmik droplet, globozoospermi, küçük baş, büyük baş, amorf baş, uzun ve sivri baş, çift baş, yarık baş, uzun baş, vakuollü baş ,pin head.

Akrozom Anomalileri:

Primer: Akrozomal kist , nipple kist , aberran kromozom

Sekonder: Büyük, Küçük ,Vakuol, Akrozomsuz

Mid-piece anomalileri: Sitoplazmik droplet , segmental mitokondrial aplazi , kıvrılmış mid-piece - Mid-piece yokluğu.

Kuyruk Anomalileri:

Kuyuksuz, çift kuyruklu, kısa kuyruklu, uzun kuyruklu, kalın kuyruklu, dag defekti, kıvrık kuyruklu sperm hücrelerini kapsar.

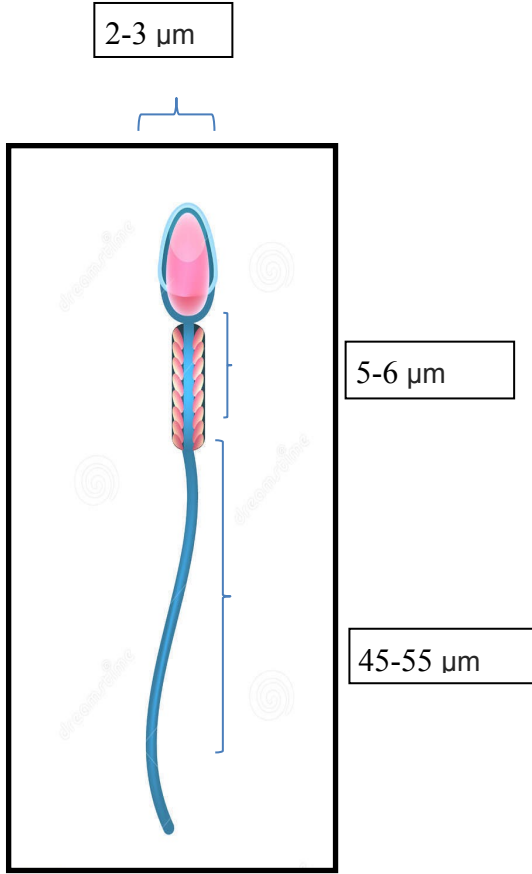
Karışik Anomaliler: İmmatür formlar Sınıflandırılmayan Nukleus anomalileri

Laboratuar ve teknisyenler arasında "tygerberg kriterleri" nin değişebilirliğini inceleyen birçok çalışmada alınan sonuçların güvenilir aralıklarda olduğunu ispatlanması WHO nun da bu yönde tavır almaya başlamasının sebebi olmuştur. Bu sonuca ulaşılmasında en büyük

faktör özellikle IVF hastalarında WHO kriterlerine göre önerilen ve bulunan değerler arasında ciddi farklılıklar görülmesidir.

2.12 KRUGER KESİN KRİTERLERİ

- Ovoid ve düzgün bir sperm başı, iyi sınırlı akrozom
- Baş boyutları 5 ile 6 mikron; 2 ile 3 mikron; 1.5 mikron
- Akrozom başın %40 ile %70'i kadar olmalı
- Boyun, ara parça ve kuyruk düzgün olmalı
- Ara parça silindirik ve baş ile aynı eksende olmalı
- Ara parçanın eni 1 mikron, uzunluğu başın 1.5 misli
- Sitoplazmik artık bulunmamalı
- Kuyruk düzgün, ara parçadan ince ve 45 ile 55 mikron arasında.



Şekil 9: Sperm boyutları

2.13 SPERM HAZIRLAMA YÖNTEMLERİ

Amaç:

- Prostaglandin ve diğer inhibitör maddelerin spermden uzaklaştırılması
- İleri-motil spermatozoaların konsantre edilerek toplanması
- Spermatozoaların motilite ve ileri hareketlerini artırmak
- Seminal plazma volümünü, uterusu verilebilecek miktara kadar azaltmak

Sıklıkla kullanılan yöntemler

- Yüzdürme (swim-up) tekniği
- Standart yıkama yöntemi (santrifüj ve yüzdürme)
- Gradient tekniği
- Mini-gradient yöntemi

Yüzdürme (swim-up) Yöntemi :

Tüm ejakulat 0.5-1 ml'lik fraksiyonlar halinde ayrı ayrı konik tüplere konulur (Falcon tüpler, 15 ml'lik). Üzerlerine 2 ml sperm yıkama mediumu eklenir. Tüpler 37°C'da 1-2 saat süreyle %5 CO2 ortamda 45 eğimli pozisyonda inkübe edilir. İnkübasyon sonunda üstteki 1ml'lik kısım pipetle alınarak kullanılır. Bu yöntemin sakıncası, ileri derecede oligozoospermi ya da astenozoospermi olgularında yeteri kadar sperm elde edilememesidir.

Standart yıkama yöntemi (santrifüj ve yüzdürme):

Likefiye olmuş semen konik bir tüp içerisinde 1 : 1-2 volüm oranında sperm yıkama mediumu ile karıştırılır. 160 rpm de, 10 dakika santrifüj edilir. Üstteki süpernatant kısmı atılarak, dipte kalan pellet 0.5 ml medium ile tekrar karıştırılarak kullanılabilir. Bu işlem 2 kez tekrarlanabilir ya da ileri derecede oligozoospermi olgularında sadece 1 kez yapılarak bırakılır. İstenilen olgularda, alttaki pellet kısmının üzerine 0.7ml medium konularak, 37C'da 1-2 saat süreyle %5 CO2 ortamında inkübe edilir ve daha sonra üstteki 0.3ml kısım pipet yardımıyla alınarak kullanılır. Bu şekilde daha fazla sayıda motilitesi iyi sperm elde edilmiş olunur.

Gradient tekniği: Burada silica partiküller içeren gradient mediumlar kullanılır. 15 ml'lik konik Falcon tüpü içerisine, aşağıdan yukarıya doğru her birinden 1 ml olacak şekilde %90 ve %45'lik gradient solüsyonları üst üste konularak 3 tabakalı yıkama yapılabilir .

En üstteki tabakanın üzerine, her bir gradient tabakası için 1 ml olacak şekilde, 2-3 ml likefiye olmuş ejakulat sarsmadan bırakılır. 1200 rpm'de 10-20 dakika santrifüj edilir. Yapılan işlemden sonra, en alttaki katmanı almak için cam pastör pipetiyle pellet alınır. Alınan pellet 5ml tüplerde 3ml medium içerisine homojen olarak bırakılır. Sperm sayısı ve motilitesine göre 1400-1600rpm de 10 dakika santrifüj edilir. Supernatant kısmı çekilerek atılır ve en altta bırakılan 0.2-0.3 ml kısmı mediumla 0.5' e tamamlanarak hazır hale getirilir.

Mini-gradient yöntemi: İleri derecede oligozoospermi olgularında bu yöntem modifiye edilerek uygulanmalıdır. Her bir gradient tabakasından 0.3 ml konulur. Burada kullanılacak

sperm, önce 1200 rpm de 10 dakika yıkanmalı ve bu şekilde volümü azaltılmalı, daha sonra gradient solüsyonlarının üzerine konulmalıdır. İşlemin diğer basamakları aynen uygulanır.

Gradient yöntemlerinde, spermier partiküllerin arasından aşağıya doğru yüzerek dipte toplanırlar. Ayrıca bu yöntemde, akrozom membranı üzerine olan mekanik etkinin de fertilizasyonu arttırıcı etkisi bulunduğu ileri sürülmektedir. İmmatür hücrelerin ve lökositlerin de ortamdan uzaklaştırılmaları, bunlardan açığa çıkabilecek serbest oksijen radikallerini azaltarak, fertilizasyonu etkileyebilir. Bir diğer önemli husus ise santrifüj hızıdır. 1400 den fazla hızlar kullanılırsa, immotil spermier ve debrisler de dibe çökebileceklerinden, kaliteli sperm elde edilmesini önleyebileceği bildirilmişse de, 2 tabakalı gradient yönteminde 1200rpm de kullanımı da önerilmektedir. Gradient yönteminde gradient solüsyonları üzerine sperm konulduktan sonra uygulanacak santrifüjün süresi çok önemlidir. Öncelikle motil olan spermier dipte toplanacağından, sürenin uzaması halinde nonmotil hücreler ve debrisler de dipte birikeceklerdir. Genel olarak, normal sperm parametrelerinde 10-20 dakika, orta derecede bozulmuş olanlarda 10-30 dakika, ileri derecede bozuk sperm örneklerinde ise 15-45 dakika santrifüj edilmeleri önerilir. Viskozitesi artmış spermier, motilitesi yüzde 20'den az olan spermier ve hücre sayısı 20 milyon/ml'den fazla olan spermierin de uzun süreli santrifüj edilmeleri gerekir. Normal morfoloji oranları düşük spermierin ise daha kısa süreli santrifüj edilmeleri uygun olur.

3.MATERYAL METOD

Bu çalışma Polikistik Over Sendromu (PCO) ve Düşük Over Rezervi (Poor Responder) Olan Hastaların Embriyolarının Morfokinetik Olarak Normal Yanıtlı Hasta Embriyoları İle karşılaştırılması amacıyla yapılmıştır. Çalışmaya toplam 200 hasta dahil edilmiştir. Bu hastaların 41'ini düşük over rezervli hastalar, 62'sini normal yanıtli hastalar ve 97'sini de Polikistik Over Sendromlu olgular oluşturmaktadır.

Bütün oositler intrasitoplazmik enjeksiyon yöntemiyle fertilize edilmiştir. Embriyolar her 20 dakika'da bir fotoğraflarının çekildiği *embriyoskop* altında inkübe edilmiştir.

Döllenmeden itibaren tPNf, t2, t3, t4, t5, t2-t5, t3-t5, cc2(t2-t3), s2(t3-t4) parametreleri analiz edilip kayıt altına alınmıştır. Bu parametreler ile optimal embriyo parametreleri belirlenerek ideal embriyo seçilip transfer edildi. 0,05'den az olan bir p-değeri istatistiksel olarak önemli sayılır.

3.1 İstatiksel analiz

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, İstatiksel analizler için Sosyal Bilimler için İstatiksel Paketi *Statistics 22* (IBM SPSS, Chicago, USA) kullanılmıştır.

SPSS bilgisayar programı (*Statistical Package for the Social Sciences*), ilk sürümü 1968 yılında piyasaya verilmiş istatistiksel analize yönelik bir bilgisayar programıdır. Uzun bir dönem (1968-2009) bu program SPSS adını taşıyan bir ABD asıllı şirket tarafından hazırlanıp sürüme sokulup satılmıştır. 2009'da bu şirket ve bu programın sahipliliği IBM şirketine satılmıştır. Bu tarihten sonra bir geçiş döneminde (Eylül 2009 ile Eylül 2010 döneminde) *PASW Statistics* adıyla anılıp Ağustos 2010 (versiyon 19.0)'dan itibaren

resmen *IBM SPSS Statistics* olarak isimlendirilmeye başlanmıştır. Şu anda (Şubat 2014) en son versiyon *IBM SPSS Statistics 22.0* olup bu versiyon Ağustos 2013'dan itibaren pazarlanmaya başlanmıştır. SPSS paket programında p değeri Sig. kısaltması ile verilmektedir. Sig. (significance) anlamlılık kelimesinin kısaltmasıdır. SPSS dışındaki bütün programlar ise P değerini “P value” ya da P olarak belirtmektedir.

Tıpta klinik ve istatistiksel anlamlılık birbirinden farklılık gösterir. Bir bulgunun araştırmacı açısından önemli olması için hipotez testi sonucunda istatistiksel anlamlılığın bulunmasının yani bulgunun klinik anlamlılığı da tartışılır. (59) Klinik anlamlılık genellikle etki büyüklüğü veya güven aralığı tahminlere dayalı tartışılır. Sonuçlar zamanlamalarına göre tek yönlü ANOVA (Analysis of Varyans) kullanılarak bir varyan analizle karşılaştırılmış ve oranlarını karşılaştırmak için *chi-square* testi kullanılmıştır.

0,05'den az olan bir p-değeri istatistiksel olarak önemli sayılır.

3.2 Hastaların dahil edilme kriterleri:

DOR'lu hastalar (Grup 1) : Bu gruba Bologna kriterine sahip hastalar dahil edilmiştir.(53)

- 1- İlerlemiş anne yaşı (≥ 40 yaş) veya DOR için diğer risk faktörlerine sahip olmak,
- 2- Daha önceki POR (Geleneksel stimülasyon protokolüyle alınmış ≤ 3 oosit),
- 3- Anormal over rezervi testi (Örn; AFC, 5–7 folikül veya AMH, 0.5–1.1ng/mL).

Normal over rezervi olan hastalar (Grup 2) : Her overde antral folikül sayısı 7-15 olan hastalar, tubal faktör ve infertilitesi açıklanamayan hastalar dahil edilmiştir.

PCO'lu hastalar (Grup 3) : Her overde antral follikül sayısı 15'in üzerinde olanlar, daha önceki sikluslarında aşırı yanıt geçmişi, polikistik overe sahip hastalar bu gruptadır.

3.2 Hastaların Dışlanma kriterleri:

Erkek faktörü hastalar (Azospermi, oligospermi, astenospermi veya teratospermi), tiroid fonksiyon bozukluğu olan hastalar, herhangi bir endokrin bozukluğu olan hastalardır.

3.3 Hastaların araştırmadan çıkarılma ve araştırmaya son verilme kriterleri :

Yumurta toplanamaması, fertilizasyon olmamasıdır.

İncelenecek dosya sayısı 75, incelemeyi kapsayan yıllar 2015 ve 2016 dır.

Kapalı görüntüleme sisteminde (embriyoskop), 6. güne kadar izlenecek olan embriyoların Pronükleus oluşum zamanı (tPNa), Pronükleus kaybolma zamanı (tPnf), iki hücreye bölünme zamanı (t2), üç hücreye bölünme zamanı (t3), dört hücreye bölünme zamanı (t4), beş hücreye bölünme zamanı (t5), ikiye bölünme zamanı ile beşe bölünme zamanının farkı (t2-t5), üçe bölünme ile beşe bölünme zamanının farkı (t5-t3), morula oluşum zamanı (tM), blast olma aşaması (tB) değerleri İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Tüp Bebek Merkezi laboratuvarında bulunan *embriyoskop* cihazında kaydedilecektir.

Araştırmada kullanılacak parametreler çalışmaya dahil olan tüm hastalar için rutindir. Parametreler arasındaki saat farkı değerlendirilecektir.

4. BULGULAR

Çalışmaya toplam 200 hasta dahil edilmiştir. Bu hastaların 41' ini düşük over rezervli hastalar, 62' sini normal yanıtli hastalar ve 97' sini de polikistik over rezervli olgular oluşturmaktaydı. Klinik özelliklerine göre gruplar incelendiğinde düşük over rezervli hastaların yaş ortalaması, polikistik over grubundaki ve normal yanıtli olgu grubundaki hastalara göre istatistiksel olarak yüksek olarak saptandı. Düşük over rezervli olguların yaş ortalaması 38, normal yanıtli olguların 33, polikistik over rezervli olguların 30' dur ($p < 0.05$). Elde edilen oosit ve embriyo sayısı, düşük over rezervli olgularda diğer iki gruba göre anlamlı olarak düşük saptandı. ($p < 0.05$)

Hastaların embriyo morfokinetik parametreleri retrospektif olarak analiz edildi. (Tablo:12) toplamda 200 hastanın 1144 sayıda embriyosu mevcuttu. Embriyo morfokinetik parametreleri olarak tpnf, t2, t3, t4, t5, cc2, s2, cc3, t5-t2 ortalamaları hesaplandı.

Gruplar arasında morfokinetik parametreler açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$) (Tablo:12).

T5, s2 ve cc2 parametreleri optimal aralık olarak tekrar hesaplandı ve optimal zamanlama kriterlerine uyan embriyo yüzdeleri hesaplandı. Optimal zamanlama kriterleri *Meseguer ve ark.* çalışma sonuçlarına göre hesaplanmıştır. Optimal embriyo yüzdeleri arasında gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı. ($p > 0.05$) Gruplar arasında yaş farkı istatistiksel anlamlı olduğu için, hastalar 35 yaş altı ve 35 yaş üstü grup olarak ayrıca değerlendirildi. 35 yaş altı olgularda embriyo morfokinetik parametreleri açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$) (Tablo: 13) .

35 yaş üstü grupta da, embriyo morfokinetik parametreleri açısından anlamlı farklılık saptanmadı ($p > 0.05$) (Tablo:14).

4.1 Sonuç

Toplamda 1144 embriyo değerlendirildi. Morfokinetik parametreler tpnf, t2, t3, t4, t5, cc2, s2, cc3, t5-t2 gruplar arasında istatistiksel olarak farklılık saptanmadı ($p>0,05$).

35 yaş altı ve üstündeki hastalar yaş gruplarına göre değerlendirilmiştir. Farklı yaş grubundaki hastalar arasında morfokinetik parametreler istatistiksel olarak farklılık içermemektedir ($p>0,05$).

Optimal embriyo morfokinetik parametre oranları t5, s2 ve cc2, gruplar arasında farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

4.2 Yargı

Over rezervi, bu bulgulara göre embriyo morfokinetik parametrelerini etkilemediği gözükmemektedir.

Tablo 13: Çalışma gruplarının embriyo morfokinetik parametrelerinin karşılaştırılması

	Grup1 (150 embriyo)	Grup2 (320 embriyo)	Grup3 (674 embriyo)	P value
TPnf	25.59 (3.83)	25.13(3.60)	24.77(4.31)	0.477
t2	27.86(3.96)	27.63(3.86)	27.29(4.53)	0.454
t3	35.98 (5.33)	36.09(5.03)	35.10(5.28)	0.765
t4	38.35 (5.35)	37.94 (5.03)	37.73 (4.84)	0.732
t5	47.93 (7.42)	46.23(7.21)	47.08 (7.61)	0.410
cc2	8.36 (4.91)	8.18 (4.82)	8.08 (4.64)	0.717
s2	2.73 (3.39)	2.70 (3.30)	2.98 (3.76)	0.265
cc3	11.91(4.76)	11.47(5.26)	11.59 (5.43)	0.750
t5-t2	20.27 (7.85)	19.66 (8.05)	19.68 (7.48)	0.718

Grup 1: düşük over rezervli, Grup 2: normal yanıtli, Grup 3: polikistik over rezervli hasta grubu

Tablo 14: 35 yaş altı hasta grubunda embriyo morfokinetik parametrelerinin karşılaştırılması

	Grup1 (150 embriyo)	Grup2 (320 embriyo)	Grup3 (674 embriyo)	P value
TPnf	24.43(2.84)	25.86(3.61)	24.90(4.38)	0.356
t2	26.83(2.70)	27.49(4.03)	27.38(4.64)	0.645
t3	36.68(4.03)	35.94(5.15)	35.03(5.10)	0.658
t4	38.74(2.94)	37.80(5.22)	37.87(4.73)	0.885
t5	49.32(8.54)	47.21(7.42)	46.07(7.08)	0.661
cc2	9.85(2.68)	8.45(4.38)	7.65(4.40)	0.590
s2	2.05(2.72)	1.85(2.17)	2.83(3.61)	0.386
cc3	12.63(6.89)	11.26(4.08)	11.04(4.84)	0.822
t5-t2	22.49(7.60)	19.72(6.89)	18.69(6.79)	0.572

Grup 1: düşük over rezervli, Grup 2: normal yanıtli, Grup 3: polikistik over rezervli hasta grubu

Tablo 15: 35 yaş üstü hasta grubunda embriyo morfokinetik parametrelerinin karşılaştırılması

	Grup1 (150 embriyo)	Grup2 (320 embriyo)	Grup3 (674 embriyo)	P value
tPnf	25.88(4.00)	25.55(3.59)	24.19(3.98)	0.323
t2	28.11(4.19)	27.87(3.60)	26.88(4.04)	0.791
t3	35.81(5.61)	36.34(4.88)	35.39(6.06)	0.838
t4	38.26(5.80)	38.16(4.76)	37.10(5.30)	0.803
t5	47.60(7.18)	46.88(7.96)	46.91(7.84)	0.520
cc2	7.70(4.95)	8.46(4.53)	8.51(4.24)	0.600
s2	2.44(3.66)	1.82(2.98)	1.70(1.87)	0.746
cc3	11.78(4.32)	10.54(5.04)	11.51(5.08)	0.332
t5-t2	19.48(7.78)	19.00(8.04)	20.02(6.86)	0.274

Grup 1: düşük over rezervli, Grup 2: normal yanıtli, Grup 3: polikistik over rezervli hasta grubu

Tablo16: Gruplara göre optimal embriyo morfokinetik parametre oranlarının karşılaştırılması

Embriyo	Grup1 (150 embriyo)	Grup2 (320 embriyo)	Grup3 (674 embriyo)	P value
t5 (%)	34.95	35.86	30.09	0.187
s2 (%)	44.20	38.18	38.19	0.399
cc2 (%)	75.88	74.28	78.29	0.364

Grup 1: düşük over rezervli, Grup 2: normal yanıtli, Grup 3: polikistik over rezervli hasta grubu

Tablo 17 : Çalışmaya dahil edilen hastaların genel özellikleri

	Grup1 (41)	Grup2 (62)	Grup3 (97)	P
Yaş	38.47±4.85	33.69±4.35	30.25±4.52	0.000
BMI (kg/m2)	23.48±3.49	24.85±4.33	25.77±4.67	0.059
FSH (mIU/ml)	10.92±15.22	6.3,5±1.79	5.46±1.57	0.006
LH (mIU/ml)	9.20±15.05	4.97±1.81	12.38±41.96	0.536
E2(pg/ml)	95.29±101.09	54.16±39.54	44.27±29.55	0.001
AMH (ng/ml)	0.89±0.77	1.89±0.88	2.57±1.24	0.000
Deneme sayısı (n)	2.83±1.50	1.88±1.39	1.92±1.47	0.002
Toplamgonadotropindozu (IU)	3308±1447	2379±976	1688±544	0.000
Trigger günü E2 (pg/ml)	915±871	1542±812	2536±2119	0.000
Oosit sayısı (n)	5.49±1.93	10.69±3.94	18.37±8.46	0.000
MII oosit sayısı(n)	4.44±1.85	8.00±3.33	13.20±6.94	0.000
2PN embriyo (n)	3.22±1.49	5.60±2.54	9.71±5.33	0.000
Transfer edilen embriyo (n)	1.97±0.42	1.76±0.47	1.70±0.48	0.010
Gebelik (mIU/ml)	17/41 (41%)	3 0 / 6 2 (48.3%)	53/97 (54.6%)	0.250
Klinik gebelikler	12/41 (29.26%)	24/62 (38,70)	43/97 (44,32%)	0.444
İmplantasyon oranı	16/79 (20,25%)	27/97 (27.83%)	54/141 (38.29%)	0.079

Grup 1: düşük over rezervli, Grup 2: normal yanıtı, Grup 3: polikistik over rezervli hasta grubu

Yardımlı üreme teknikleriyle alınan sonucun başarısını etkileyen en önemli faktörlerden birisi de embriyo seçim metodudur. Zamanla gelişen laboratuvar koşullarına rağmen, geleneksel embriyo morfoloji değerlendirme metodlarının kısıtlı başarısı, embriyo hücre bölünmelerinin

dinamik olarak değerlendirildiği *time lapse moniterizasyon* sistemi gibi alternatif teknolojilere yönelmiştir(42). Dolayısıyla yapılan son araştırmalar optimal embriyo morfokinetik parametresini kullanarak implantasyon potansiyeli en yüksek olan en iyi embriyoyu seçmeye odaklanmıştır (42,43). Time lapse sisteminin avantajları, embriyoların sürekli görüntülenmesi ki bu da objektif ve kesin bilgi sağlar, gelişmiş kültür koşulları ve embriyonun dış ortamla temas etmeden değerlendirmesini yapmak ki bu da hata düzeyini azaltır ve gebeliği artırır (44,45).

Gelişen teknolojilerle birlikte elde edilen başarılı sonuçlara rağmen, beklenene göre başarı daha kısıtlıdır (46). Dolayısıyla IVF başarı oranı için en önemli faktör maternal yaştır. Yardımlı üreme teknikleriyle 35 yaş üstünde hamile kalan kadınların oranı, aynı tedaviyle hamile kalan 35 yaş altı kadınlara göre daha azdır (47,48). Diğer bir önemli faktör ise IVF siklusuyla yapılan overyan stimülasyon sonucu alınan oosit sayısıdır. Yeni bir raporda gösteriliyor ki; ard arda canlı doğum oranı (LBR) alınan oosit sayısı ile ilişkili olarak artıyor. Raporda düşük over rezervli hastaların ilk yapılan IVF sonucundaki LBR oranları düşüktür ve bütün embriyoların kullanımını takiben tekrarlayan düşük LBR elde edilmiştir (49).

Çok iyi bilinmektedir ki azalan oosit sayısı düşük kalite ve artan anöploidi oranı gösterir ki bu da bahsedilen embriyonun implantasyon potansiyelinin azalmasıyla ilişkilidir (47). Buna rağmen literatürde azalmış overyan rezervi ile embriyonun morfokinetik parametreleri arasında kısıtlı bilgi bulunmaktadır. *Gryshenko et al.* yaptığı retrospektif analizde alınan oosit sayısı ile morfokinetik parametreler arasında bir korelasyon saptamamıştır (50). Onlar sadece alınan oosit sayısı 15 altı ve üstü olan hastaların embriyo morfokinetik parametrelerini karşılaştırmıştır.

Azalan yumurta sayısı klinisyenler için büyük bir zorluk oluşturur ancak ART siklusuyla alınan çok yüksek sayıdaki yumurta sayıları da düşük hamilelik oranlarıyla ilişkilidir (51). *Sunkara et al.* yaptıkları taze IVF sikluslarının geniş analizinde; canlı doğumdaki en iyi şansın 15 ve civarındaki yumurta sayısı ile ilişkili olduğunu ve yumurta sayısı 20'inin üzerine çıktığında bu şansın azaldığını raporlamıştır (51).

Aşırı uyarılmış sikluslarla yapılan IVF çalışmalarının azalmış başarı oranlarının etyolojik faktörleri net değildir. Hem endometrium hem de embriyo bu süreçte rol oynamaktadır. Oosit kalitesi ve sonrasındaki embriyo kalitesi aşırı uyarılmışlıktan etkileniyorsa, bu gruptaki

hastaların embriyo morfokinetik parametreleri, normal over rezervi olan hastaların embriyolarından farklı olabilir. *Missing et al.* Polikistik over sendromu olan hastaların embriyolarını *time lapse* yöntemiyle incelemiştir. Yaptıkları araştırmalar sonucunda hiperandrojenik PCO hastalarının embriyoları kontrol grubuna göre daha yavaş bölünmüştür (52). Ancak bu farkı normal seviyede androjene sahip hastalardan alınan embriyo ve kontrol grubundan alınanlar arasında bulamamıştır. Dolayısıyla hiperandrojenik PCO hastalarının embriyolarının kinetik değişimi arasındaki bu fark, alınan yüksek sayıdaki yumurtalardan ziyade hastalığın kendisiyle ilişkili olabilir.

Bilgimiz dahilinde, literatürde POR, PKOS ve normal over rezervi olan hastalar arasında embriyo morfokinetik parametrelerinin karşılaştırıldığı bir araştırma bulunmamaktadır. Aynı zamanda maternal yaşın embriyonun kinetik değişimiyle ilişkisini gösteren sınırlı sayıda bilgi bulunmaktadır. Sonuç olarak biz over rezervi ve embriyo morfokinetik parametreler arasındaki ilişkiyi değerlendirmeyi hedefledik. Ayrıca 35 yaş altı ve 35 yaş üstü hastaları içeren iki grubu değerlendirerek yaşın etkisini araştırdık.

4.1 Over Stimulasyonu ve ICSI

Bütün hastalara overyan stimulasyon için antagonist protokol uygulanmıştır. Günlük 125-300 IU rekombinant gonadotropin (Gonal-F, Merck, Türkiye) doz hastanın yaşına, overyan rezervine ve beden kitle indeksine göre uygulanmıştır. Overyan follikül 12mm'yi geçtiğinde gonadotropin antagonistine (Cetrotide 0.25 mg, Merck, Türkiye) başlanır ve en az iki folikül 18 mm olduğunda hCG (Ovitrelle 250 microgram/0.5 ml, Merck, Türkiye) uygulanmıştır. hCG uygulamasından 36 sa sonra oositlerin toplanma işlemi gerçekteştirilir. Yumurta toplanıp, denüdasyon işleminde sonra kumulus oosit kompleksleri 2 sa boyunca %7 CO2 ve 37°C'de Quinn's Advantage Medium (SAGE 1-step, Origio, Danimarka)da tutulur. 10 IU/ml'lik hiyaluronidaz (HYASE- 10X, Vitrolife, İsveç) içinde mekanik pipet vasıtasıyla kumulus hücreleri kaldırılır ve mikroenjeksiyon HEPES içeren Quinn's Advantage Medium(SAGE Media, Origio, Danimarka)'da gerçekteştirilir. Hemen arkasından oositler önceden hazırlanmış, 1.2 ml mineral yağ (sıvı parafin, Origio, Danimarka) içeren 12 kuyucuklu Embryoslide (Vitrolife, Denmark)'lara yerleştirilir. Oositler Time lapse monitör

sistemi (EmbryoScope; Unisense FertiliTech, Danimarka) içerisinde %5 O₂, %7 CO₂, 37°C'deki koşullarda transfer edilinceye kadar inkübe edilir.

4.2 Embriyoskop

72 saatlik kültür boyunca her embriyonun resmi 20dakika da bir, 7 farklı planda çekilir. Embriyo görüntüleme yazılımı (Embryo Viewer software (Unisense Fertilittech Aarhus)) kullanılarak embriyonik resimler incelenir. Bu yazılım embriyonik gelişim süreçlerini mikroenjeksiyon sonrasındaki saatlik aralıklarla inceler. Bu zaman dilimleri fertilizasyonu takip eden süreçleri analiz eder. Bunlar; iki pronükleusun kaybolması (PNF), ilk bölünmeden iki hücreli duruma geçene kadar geçen süre t₂ ve hücre sayısı ilk kez 3 ile 9 olduğundadır (t₃, t₄, t₅, t₆, t₇, t₈, t₉). Parametreler arasında iki ardışık bölünmenin arasında geçen süre de hesaplanmıştır. İki hücreli siklusun süresi (cc₂:t₂-t₃); embriyonun iki blastomerli halinden üç blastomerli hali arasında geçen süredir.

İkincil senkronizasyon ise (s₂: t₃-t₄); embriyonun üç blastomerli halinden dört blastomerli hali arasında geçen süredir. Üç hücreli siklusun süresi (cc₃:t₃-t₅) embriyonun üç blastomerli halinden beş blastomerli hali arasında geçen süredir. Daha önce yapılan çalışmada optimal morfokinetik parametre oranları(42)

t₅: ≥ 48.8 veya ≤ 56.6 saat, s₂: ≤ 0.76 saat, cc₂ ≤ 11.9 saattir.

Yapılan bu çalışmada bu oranların optimal embriyoyu elde etmede ve en yüksek implantasyon olasılığı olduğu saptanmıştır.

4.3 Embriyo transferi

Gelişimin 3. Gününde embriyo transferi gerçekleştirilmiştir. Embriyolar *Meseguer et. all* (42) tarafından belirlenen *time lapse* analiz parametrelerine göre seçilmiştir. Luteal destek için bütün hastalara günlük 90 mg progesterone gel (Crinone gel 8%, Merck, Türkiye) ve 200 mg vajinal mikronize progesterone (Progestan caps 200 mg, Kocak Farma, Türkiye) verilmiştir. BhCG kan testi embriyo transferinden 12 gün sonra yapılmıştır. Klinik olarak hamilelik pozitif BhCG kan testinden 2 hafta sonra bir veya birden fazla *intrauterin gestasyonel* kese saptanmasıyla tanımlanır.

5. SONUÇ

Bu çalışma 200 kadın hastayı kapsadı. Hastaların genel özellikleri , tablo:17da verilmiştir. Ortalama yaş 38.47 ± 4.85 , 33.69 ± 4.35 , 30.25 ± 4.52 dir. Grup 1, grup 2 ve grup 3 (sırası ile $p<0,005$) BMI gruplar arasında farklılık göstermemiştir.($p>0.005$).

Ortalama FSH seviyeleri ve E2 seviyeleri grup 1 de, grup 2 ve grup 3 den anlamlı olarak daha yüksekti ($p>0,005$). AMH seviyesi, grup 1 de grup 2 ve grup 3 den daha düşüktü (sırasıyla $p<0,005$).

Önceki siklusların ortalama sayısı 2.83 ± 1.50 , 1.88 ± 1.39 , 1.92 ± 1.47 dir. Grup 1, grup 2 ve grup 3 de (sırasıyla $p<0.005$). Toplam gonadotropin dozu grup1 de grup2 ve 3'e oranla daha yüksekti($p <0.005$). Trigger günü E2 değerleri 915 ± 871 , 1542 ± 812 , 2536 ± 2119 dur(sırasıyla grup 1, grup 2 ve grup 3 te).Toplanan oosit sayısı, MII oosit sayısı ve embriyo sayısı grup 3 ve grup 2 de grup 1 den daha yüksekti (sırasıyla $p <0.005$).

Transfer edilen embriyo sayısı 1.97 ± 0.42 , 1.76 ± 0.47 , 1.70 ± 0.48 di. Grup 1, grup 2 ve grup 3'te (sırası ile $p<0,005$)Gruplarda gebelik oranları, klinik gebelik ve implantasyon oranları arasında fark yoktu(Tablo:17).

1144 embriyo, embriyoskopta değerlendirildi. Çalışılan morfokinetik parametreler Tablo:16 da gösterildi. İnseminasyon zamanından tPNf, t2, t3, t4, t5, s2, cc2, cc3, t5-t2 değerleri gruplar arasında önemli farklılıklar göstermedi (Tablo:13).

Aynı parametreler yaşa göre gruplarda değerlendirildi. Gruplarda , 35 yaş altında tpnf, t2, t3, t4,t5, s2,cc2,cc3,t5-t2 değerleri arasında 35 yaş üstünde gruplar arasında önemli farklılıklar olmadı(Tablo:15). Morfokinetik değişkenlere ilişkili olarak optimal embriyo yüzdesi değerlendirildiğinde , gruplar arasında fark bulunamadı(Tablo:16).

Sonuç olarak düşük over rezervli , polikistik over sendromlu ve normal over rezervli olgular arasında embriyo morfokinetik parametreler açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Over rezervli bu bulgulara göre over rezervi embriyo morfokinetik parametrelerini etkilemiyor gözükmektedir. Bununla ilgili kesin sonuçlara varabilmek açısından randomize çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. TARTIŞMA

Bu çalışmada, ovaryen rezervlerinin embriyo morfokinetik parametrelerin üzerine herhangi bir etkisini bulamadık. Grupların yaşları farklı olmasına rağmen, 35 yaşına kadar olan gruplarda ki aynı yaşlarda morfokinetik değerlendirme yaptık ve benzer bulgular farklı yaş gruplarında da bulundu.

Bilgilerimize göre, bu çalışma PCO, DOR ve Normal Over Rezervine sahip hastalarda embriyo morfokinetiğini değerlendiren ilk çalışmadır. Zayıf yanıtlı hastalar, yardımcı üreme sikluslarında en zor çalışılan gruplardan birini oluşturmaktadır. Ayrıca pek çok çalışmada Bologna'daki ESHRE workshop'una kadar düşük over rezervleri için tam bir kriter belirlenemediği için sürecin klinik yönetimi heterojendir (53). Ayrıca, bu sabit belirli uygulama, kesin bir tanıda bu hastaların klinik yönetiminin araştırılmasını sağladı. Bu yüzden, çalışmamızda Bologna kriterlerine göre düşük over rezervine sahip hastaları seçtik.

Açık bir şekilde düşük oosit sayısı, embriyo sayısı ve düşük klinik gebelik oranları ile sonuçlanır. Yeni büyük bir çalışmada IVF tedavisini takiben canlı doğum oranı ve oosit sayısı arasında doğrusal olmayan bir ilişki rapor edilmiştir (49). Bizim çalışmamızda, bu zayıf yanıtlı grubun implantasyon oranı, beklendiği gibi diğer gruplardan daha düşüktür. Bu gruptaki hastalarda hem düşük oosit sayısı hem de oosit kalitesi klinik sonuçları etkiler. Bununla beraber, embriyo morfokinetiği üzerine toplanan oosit sayısı azalan etkisine ilişkin literatürde sınırlı olarak data mevcuttur. *Gryshchenko ve ark*, oosit sayısı 15 altı ve üzeri olan hastaların time lapse parametrelerini karşılaştırmışlardır(52).

Bizim bulgularımıza benzer bir şekilde onlarda embriyo morfokinetiği ve oosit sayısı arasında korelasyon bulamamışlardır. Ayrıca çalışmalarında zayıf yanıtlı hastaları analiz etmemişlerdir.

Düşük ovaryan yanıtlı hastaların çoğu ilerlemiş yaştaadır. Bu yüzden anöploidi oranı ile ilişkili yaş, bu etki üzerine önemli bir faktördür. Mitokondriyal disfonksiyon, embriyonun implantasyon başarısızlığına yol açan oosit yaşlanmasını uygun olmayan mayotik iğ oluşumu için olası bir mekanizma olarak desteklenmektedir. (48)

Embriyo gelişim morfokinetiğine maternal yaşın etkisi üzerine veriler sınırlıdır. *Gryshchenko ve ark.* 40 yaş üzeri ve 40 yaş altı gruplarda embriyo morfokinetiği arasında fark olmadığını ortaya çıkarmışlardır (52). Bizim çalışmamızda, embriyo morfokinetiği üzerine yaş ile ilişkili etki bulamadık. İlave olarak, anöploidinin ortaya çıkma oranını ve *time lapse* sisteminde diğer genetik anomalileri sorabiliriz. Konu üzerine literatürde yansıtan sonuçlar vardır. *Chawla ve ark.* Anormal ve normal karyotipe sahip embriyolar arasında tPNf, t5, cc2, cc3 ve t5-t2 ortalama sürelerinin farklı olduğu rapor edilmiştir.

İlave olarak, hasta popülasyonunun ortalama yaşı 32,9 dur ve bu çalışmada primer indüksiyon cinsiyet seçimidir (54). *Campbell ve ark.* 8 hücreli aşamaya kadar embriyo morfokinetik parametrelerinin benzer olduğu ama periblastülasyon aşamasının gelişiminde önemli bir gecikme rapor edilmiştir (55). Yakın zamanlarda, *Rienzi ve ark.* İlerlemiş maternal yaşı kapsayan zayıf prognozlu hastalarda morfokinetik değerlendirme ve blastokist anöploidi arasında ki ilişkiyi araştırmışlardır. 36yaş, spontan düşüğü olan ve başarısız IVF tedavi hikayesi olanlar bu gruba dahil edilmiştir (56).

Anöploidi ve in vitro embriyo gelişiminin morfokinetik karakterleri arasında herhangi bir korelasyon ortaya koymamışlardır. Zayıf prognozlu hastalarda öploid embriyo seçiminde morfokinetik parametrelerinin kullanılamayacağını desteklemişlerdir. Bu rapordaki farklar, farklı çalışma popülasyonları ile ilişkili olabilir.

Mevcut çalışmada, ayrıca polikistik over ve normal ovaryan rezervli olan hastalardan elde edilen embriyolarda benzer morfokinetik parametreleri bulduk. Yakın zamanlarda *Missing ve ark.* ,hiperandrojenik PCO' lu kadınlardan elde edilen embriyolarda PN kırılımı, t2,t3,t4 ve t7 de gelişim daha yavaştı(52). Onlar, toplanan oosit sayısından ziyade embriyolar üzerine hormonal düzensizlikleri ve maternal metabolizma embriyo gelişimini geciktirir. Ayrıca çalışmalarında PCO'lu ve normal ovaryan rezerve sahip normoandrojenik kadınlarda morfokinetik parametreler benzerdir. Bizim çalışmamızda popülasyon yukarıda bahsedilenden farklıdır ve yüksek yanıtı olduğu bilinen gruptaki PCO'lu hastaları kapsamaktadır. Çalışmamızın sınırları retrospektif dizayndır ve küçük örnek ebatları ile ilişkilidir.

Gerçekte, bu çalışmanın amacı farklı ovaryan rezervlere sahip hastaların embriyo morfolojik parametrelerini karşılaştırmaktır. İlave olarak, bu çalışma gebelik oranları üzerine bu parametrelerin etkisi yada embriyo seçim parametreleri hakkında klinik bir sonuç çizmektedir. Sonuç olarak, ovaryan rezervi statüsü ve kadınların yaşı embriyo gelişim kinetiklerini etkilemediği görünmektedir. Bu bulguları değerlendirmek için daha büyük randomize kontrollü denemelere ihtiyacımız vardır.

7. KAYNAKLAR

7.1 Kitaplar

Çiçek N., 2009. *A'dan Z'ye yardımcı üreme teknikleri*. Palme Yayıncılık. (40)

Delilbaşı L., 2008. *A'dan Z'ye tüp bebek laboratuvar*. Veri Medikal Yayıncılık. (2)

Gardner DK., 2007. *In vitro fertilizasyona pratik yaklaşım*. Serdaroğlu H. Doğan Tıp Kitap evi 2009. (9)

Işık, A. ve Vicdan, K. 1999. *İn Vitro Fertilizasyon ve Mikromanipülasyon Uygulamalarında Laboratuvar*. Ankara: Çağdaş Medikal Kitap evi. (1)

7.2 Süreli Yayınlar

Athayde W., 2014. Atypical embryo phenotypes identified by time-lapse microscopy: high prevalence and association with embryo development. *Fertil Steril.* 101(6):1637-48.e1-5. doi: 10.1016 (25-27)

Azziz R., Woods KS., Reyna R., Key TJ., Knochenhauer ES., Yildiz BO., 2004. The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. *J Clin Endocrinol Metab* 89:2745-9. (11)

Antczak M., 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. *Hum Reprod.* Feb; 14(2):429-47 (20)

Bentov Y., Yavorska T., Esfandiari N., Jurisicova A., Casper RF., 2011. The contribution of mitochondrial function to reproductive aging. *J Assist Reprod Genet* 28(9): 773-783. (48)

Chawla M., Fakhri M., Shunnar A., Bayram A., Hellani A., Perumal V., Divakaran J., Budak E., 2015. Morphokinetic analysis of cleavage stage embryos and its relation to aneuploidy in a retrospective time-lapse imaging study. *J Assist Reprod Genet* 32:69-75. (54)

Cruz M., 2011. Embryo quality, blastocyst and ongoing pregnancy rates in oocyte donation patients whose embryos were monitored by time-lapse imaging. *J Assist Reprod Genet.* 10.1007/s10815-011-9549-1. (22)

Conaghan J., 2014. Improving embryo selection using a computer-automated time-lapse image analysis test plus day 3 morphology: results from a prospective multicenter trial. *Fertil Steril.* Aug;100(2):412-9.e5. doi: 10.1016/j.fertnstert.2013.04.021. Epub 2013 May 28. (26)

Conaghan J. ve ark., 2013. Improving embryo selection using a compute-automated time-lapse image analysis test plus day 3 morphology: results from a prospective multicenter trial. *Fertil Steril* 2013; 100: 412-419. (43)

Cruz M., 2012. Embryo incubation and selection in a time-lapse monitoring system improves pregnancy outcome compared with a standard incubator: a retrospective cohort study. *Fertil Steril*. 98(6):1481-9.e10. doi: 10.1016/2012.08.016. Epub 2012 Sep 10. (36)

Çakıroğlu Y., 2013. Zayıf over yanıtli hastalarda mikrodoz GnRH agonist protokol ile GnRH antagonist/letrazol protokolun karşılaştırılması. *J Turk Soc Obstet Gynecol*. 10(3): 132-137 doi: 105505. (17)

Drakopoulos P., Blockeel C., Stoop D., Camus M., Vos M., Tournaye H., Polyzos N., 2016. Conventional ovarian stimulation and single embryo transfer for IVF/ICSI. How many oocytes do we need to maximize cumulative live birth rates after utilization of all fresh and frozen embryos. *Hum Reprod* 2016; 31(2): 370-376. (49)

Goldzieher JW., Green JA., 1961. The Polycystic ovary I. Clinical and histological features. *J Clin Endocrinol Metab*;22:325-38. (15)

Givens J., Haseltine F., Merriam GR., Ziebe S., Petersen K., Lindenberg S., 1997. Embryo morphology or cleavage stage: how to select the best embryos for transfer after in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. (7)

Hatch R., Rosenfield RL, Kim MH., 1981. Tredway D.Hirsutism:implications,etiology and managment. *Am J Obstet Gynecol*;140:815-30. (16)

Herrero J., 2013. A time to look back: analysis of morphokinetic characteristics of human embryo development. *Fertil Steril*;100(6):1602-9.e1-4. doi:10.1016/2013.08.033. Epub 29. (23)

Hojnik V., 2016. Morphokinetic Characteristics and Developmental Potential of In Vitro Cultured Embryos from Natural Cycles in Patients with Poor Ovarian Response. *Biomed Res. Int.*:4286528. doi: 10.1155/2016/4286528. Epub 2016 Dec 20. (29-33)

Uludağ S. ve ark., 2013. Zayıf over yanıtı olgularda GnRH-agonist mikrodoz flare protokol ile multidoz GnRH-antagonist protokollerinin ICSI sonuçlarına etkileri. *Erciyes Med J* (18)

Wright G., Wiker S., Elsner C., 1990. Observations on the morphology of pronuclei and nucleoli in human zygotes and implications for cryopreservation. *Hum Reprod.* (6)

Pişkinpaşa S., Yıldız B., 2005. Polikistik Over Sendromu *Hacettepe Tıp Dergisi Cilt 36, Sayı 3.* (57)

Rotterdam ESHRE/ASRM Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. 2004. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* Jan;81(1):19-25. (14)

Suzuki H., Togashi M., Adachi J., 1995. Developmental ability of zona-free mouse embryos is influenced by cell association at the 4-cell stage. *Biol Reprod* 1995;53:78-83. (8)

Zawadzki JK., Dunaif A., 1992. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome. In: Polycystic ovary syndrome. *Blackwell Scientific Publications*, 377-84. (13)

7.3 Diğer Yayınlar

Aparicio B., Cruz M., 2013. Is morphokinetic analysis the answer? *Reprod Biomed Online* 27:654-663. (44)

Barrie A., 2016. Embryos cultured in a time-lapse system result in superior treatment outcomes: a strict matched pair analysis. *Hum. Fertil* Nov 24:1-7. (34)

Campbell A., Fishel S., Bowman N., Duffy S., Sedler M., 2013. Modelling a risk classification of aneuploidy in human embryos using non-invasive morphokinetics. *Reprod Biomed Online* 26(5):477-485. (55)

Chen AA., 2014. Computer-automated time-lapse analysis results correlate with embryo implantation and clinical pregnancy: a blinded, multi-centre study. *Reprod Biomed Online* 29(6):729-36. doi: 10.1016/2014.09.005. Epub 2014 (24)

Çıray HN. ve ark., 2012. Time-lapse evaluation of human embryo development in single versus sequential culture media--a sibling oocyte study. *Assist Reprod Genet.* 29(9):891-900. doi: 10.1007/s10815-012-9818-7. Epub 2012 Jun 20. (37)

Ferraretti AP., La Marca A., Fauser BCJM., Tarlatzis B., Nargund G., Gianaroli L., 2011. "ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria," *Human Reproduction* 26 (7): 1616–1624. (53)

Gryshchenko MG., Pravdyuk AI., Parashchyuk VY., 2014. Analysis of factors influencing morphokinetic characteristics of embryos in ART cycles. *Gynecol Endocrinol* 30(S1): 6-8. (50)

Hardy K., Handyside AH., Winston RM., 1989. The human blastocyst; cell number, death and allocation during late preimplantation development in-vitro. *Development* 1989;107:597-604. (10)

Javier H., 2013. A time to look back: analysis of morphokinetic characteristics of human embryo development. *Fertil Steril.* Dec;100(6):1602-9.e1-4. doi: 10.1016/2013.08.033. Epub 2013 Sep 29. (30)

Joris H., Nagy Z., Van de Velde H., 1998. Intracytoplasmic sperm injection : laboratory set-up and injection procedure. *Hum Reprod* 13 76-86. (41)

Kirkegaard et al., 2012. Time-lapse parameters as predictors of blastocyst development and pregnancy outcome in embryos from good prognosis patients: a prospective cohort study. *Hum Reprod.* 2013 Oct;28(10):2643-51. doi: 10.1093/humrep/det300. Epub 2013 Jul 30. (32)

Veeck L., Zaninovic N., 2003. Human morulae in vitro In: An Atlas of Human Blastocysts. *Boca Raton Parthenon Publishing*, (3)

Meseguer ve ark., 2011. Embryo quality, blastocyst and ongoing pregnancy rates in oocyte donation patients whose embryos were monitored by time-lapse imaging. (35)

Meseguer M., Herrero J., Tejera A., Hilligsoe KM., Ramsing NB., Remohi J., 2011. The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. *Hum Reprod.* 26: 2658- 2671.(42)

Menezo Y., el Mouatassim S., Chavrier M., Servy EJ., Nicolet B., 2003. Human oocytes and preimplantation embryos express mRNA for growth hormone receptor. *Zygote* Nov;11(4): 293-7. (21)

Munoz E. et al., 2013. The human first cell cycle: impact on implantation. *Reprod Biomed Online.* 2014 Apr;28(4):475-84. doi: 10.1016/j.rbmo.2013.11.014. Epub 2013 Dec 11 (39)

Missing ML., Bjerge MR., Olesen AIG., Hoest T., Mikkelsen AL., 2014. Impact of PCOS on early cleavage kinetics. *Reprod Biomed Online;* 28: 508-514. (52)

Polson DW., Adams J., Wadsworth J., Franks S., 1988. Polycystic ovaries-a common finding in normal women. *Lancet* 1988;1:870-2. (19)

Rienzi L., Capalbo A., Stoppa M., Romano S., Magiulli R., Albricci L., Scarica C., Farcomeni A., Vajta G., Ubaldi FM., 2015. No evidence of association between blastocyst aneuploidy and morphokinetic assessment in a selected population of poor prognosis patients: a longitudinal cohort study. *Reprod Biomed Online* 30: 57-66. (56).

- Rubio I., Galan A., Larreategui Z., Ayerdi F., Bellver J., Herrero J., Meseguer M., 2014. Clinical validation of embryo culture and selection by morphokinetic analysis: a randomized controlled trial of the Embryoscope. *Fertil Steril* 102:1287-1294. (46)
- Schotten G., 1994. The Centrosome and its mode of inheritance; the reduction of the centrosome during gametogenesis and its resaturation during fertilization. *Dev Biol* (5)
- Stein IF., Leventhal MI., 1935. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol* 1935;26:181-91. (12)
- Sundwall L., Ingerslev HJ., Knudsen UB., Kikegaard K., 2013. Inter- and intra-observer variability of time-lapse annotations. *Hum Reprod.* 2013; 28: 3215-3221. (45)
- Sunkara SK., Rittenberg V., Raine-Fenning N., Bhattacharya S., Zamora J., Coomarasamy A., 2011. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Hum Reprod.* 1768-1774. (51)
- Wong C., 2012. Time-lapse microscopy and image analysis in basic and clinical embryo development research. *Reprod Biomed Online.* 2013 Feb;26(2):120-9.doi: 10.1016/2012.11.003. Nov 20. (28)
- Wong C., et al., 2010. Human Reproduction Marcos Meseguer. The use of morphokinetics as a predictor of embryo implantation. (31)
- Wright VC., Chang J., Jeng G., Macaluso M., 2008. Assisted reproductive technology surveillance—United States, 2005. *MMWR Surveill Summ.* 2008;57:1–23. (47)
- Wu YG., Eang Q., 2016. Different effectiveness of closed embryo culture system with time-lapse imaging (EmbryoScope(TM)) in comparison to standard manual embryology in good and poor prognosis patients: a prospectively randomized pilot study. *Reprod Biol Endocrinol* 14(1):49. doi: 10.1186/s12958-016-0181 (38)

8. EKLER

Çalışmamız, İzmir Üniversitesi Medikalpark Hastanesi etik kurulu tarafından 27.07.2015 tarihinde 020 karar numarası ile izin alınarak yapılmıştır.

T.C.
İZMİR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU

Sayı : 66499490-26
Konu : Çalışmanız hk.

27/07/2015

Sayın, Hayriye ÇELENK

İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurulu'nun 23/07/2015 tarihinde yapılan olağan toplantısında çalışmanızla ilgili alınan 020 nolu karar aşağıda sunulmuştur.

Bilgilerinize sunarım.

Doç. Dr. Bülent SÖZMEN
İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Araştırmalar
Etik Kurul Başkanı

KARAR 020

Protokol No :2015/20
Sorumlu Yürütücü : Yrd. Doç. Dr. Süleyman AKARSU

İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Süleyman AKARSU' nun sorumlu araştırmacısı olduğu 062-TAEK numaralı "Polikistik Over Sendromu (PCO) Ve Poor Responder (Düşük Over Rezervi) Olan Hastaların Embriolarının Morfolojik Olarak Normal Yanıtı Hasta Embrioları İle Karşılaştırılması" konulu yukarıda bilgileri verilen tıbbi araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde, etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına oy birliğiyle karar verilmiştir.

Adres: İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi Gürsel Aksel Bulvarı No:14 Üçkuyular-İzmir 35350
Tel: 0 232 246 49 49-613
Faks : 0 232 246 33 34
Web : http://izmir.edu.tr/etikkurul/index.php
e-posta: asl.akbulut@izmir.edu.tr

T.C.
İZMİR ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Polikistik Over Sendromu (PCO) Ve Poor Responder (Düşük Over Rezervi) Olan Hastaların Embriolarının Morfokinetik Olarak Normal Yanıtlı Hasta Embrioları İle Karşılaştırılması				
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	2015/20				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Yrd. Doç. Dr. Süleyman AKARSU				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi				
	DESTEKLEYİCİ					
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ					
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Tüm gözlemsel çalışmalar				<input type="checkbox"/>
		Anket çalışmaları				<input type="checkbox"/>
		Dosya ve görüntü kayıtları kullanılarak yapılan retrospektif arşiv taramaları ve benzeri gözlemsel çalışmalar				<input type="checkbox"/>
Kan, idrar, doku, görüntü gibi biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji koleksiyon materyalleriyle veya rutin muayene, tetkik, tahlil ve tedavi işlemleri sırasında elde edilmiş materyallerle yapılacak çalışmalar					<input checked="" type="checkbox"/>	
Hücre veya doku kültürü çalışmaları					<input type="checkbox"/>	
Gen tedavisi klinik araştırmaları dışında kalan ve tanımlamaya yönelik olarak genetik materyalle yapılacak araştırmalar					<input type="checkbox"/>	
Hemşirelik faaliyetlerinin sınırı içerisinde yapılacak araştırmalar					<input type="checkbox"/>	
Gıda katkı maddeleriyle yapılacak diyet çalışmaları					<input type="checkbox"/>	
Egzersiz gibi vücut fizyolojisi ile ilgili araştırmalar					<input type="checkbox"/>	
Diğer				<input type="checkbox"/>		
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>		

Adres: İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi Gürsel Aksel Bulvarı No:14 Üçkuyular-İzmir 35350

Tel: 0 232 246 49 49-615

Faks : 0 232 246 33 34

Web : <http://izmir.edu.tr/etikkurul/index.php>

e-posta: asli.akbulut@izmir.edu.tr

T.C.
İZMİR ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU KARAR FORMU

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
		ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	11/06/2015	2	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU	11/06/2015	2	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU	11/06/2015	1	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama				
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	X				
	BİYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>				
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>				
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>				
DİĞER	<input type="checkbox"/>					
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:020	Tarih: 23.07.2015				
	<p>İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Süleyman AKARSU' nun sorumlu araştırmacısı olduğu 062-TAEK numaralı "Polikistik Over Sendromu (PCO) Ve Poor Responder (Düşük Over Rezervi) Olan Hastaların Embriolarının Morfokinetik Olarak Normal Yanıtlı Hasta Embrioları İle Karşılaştırılması" konulu yukarıda bilgileri verilen tıbbi araştırma başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmacının gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerde gerçekleştirilmesinde, etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına oy birliğiyle karar verilmiştir.</p>					

İZMİR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TIBBİ ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
ÇALIŞMA ESASI	İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Araştırmalar Etik Kurul Yönergesi, Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Doç. Dr. Bülent SÖZMEN

Adres: İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi Gürsel Aksel Bulvarı No:14 Üçkuyular-İzmir 35350	
Tel: 0 232 246 49-615	
Faks : 0 232 246 33 34	
Web : http://izmir.edu.tr/etikkurul/index.php	e-posta: asli.akbulut@izmir.edu.tr

T.C.
İZMİR ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ ARAŞTIRMALAR
ETİK KURULU KARAR FORMU

Unvanı Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile İlişkisi		Katılım *		İmza	
1. Doç. Dr. Bülent Sözmen	İç Hastalıkları	İzmir Üni.	E X	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H X	E X	H <input type="checkbox"/>	
2. Yrd. Doç. Dr. Murat Aksu	Tıp Tarihi ve Etik	İzmir Üni.	E X	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H X	E <input type="checkbox"/>	H X	
3. Yrd. Doç. Dr. Onur Bayazıt	Biyofizik	İzmir Üni.	E X	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H X	E X	H <input type="checkbox"/>	
4. Doç. Dr. Mehmet Güzeloğlu	Kalp ve Damar Cerrahisi	İzmir Üni.	E X	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H X	E <input type="checkbox"/>	H X	Katılmadı
4. Doç. Dr. Gülfem Terek Ece	Tıbbi Mikrobiyoloji	İzmir Üni.	E <input type="checkbox"/>	K X	E <input type="checkbox"/>	H X	E X	H <input type="checkbox"/>	
5. Yrd. Doç. Dr. Ayşegül Baysak	Göğüs Hastalıkları	İzmir Üni.	E <input type="checkbox"/>	K X	E X	H <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H X	Katılmadı
7. Yrd. Doç. Dr. Zeynep Elmas	Nöroloji	İzmir Üni.	E <input type="checkbox"/>	K X	E <input type="checkbox"/>	H X	E X	H <input type="checkbox"/>	
8. Yrd. Doç. Dr. Cenk Ahmet Şen	Radyasyon Onkolojisi	İzmir Üni.	E X	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H X	E X	H <input type="checkbox"/>	
9. Yrd. Doç. Dr. M. Emre Özpelit	Kardiyoloji	İzmir Üni.	E X	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H X	E X	H <input type="checkbox"/>	

* :Toplantıda Bulunma

Adres: İzmir Üniversitesi Tıp Fakültesi Gürsel Aksel Bulvarı No:14 Üçkuyular-İzmir 35350

Tel: 0 232 246 49 49-615

Faks : 0 232 246 33 34

Web : <http://izmir.edu.tr/etikkurul/index.php>

e-posta: asli.akbulut@izmir.edu.tr

9. ÖZGEÇMİŞ

Hayriye ÇELENK



KİŞİSEL BİLGİLER

DOĞUM TARİHİ 28.08.1988
DOĞUM YERİ İSTANBUL
MEDENİ DURUM BEKAR

İŞ TECRÜBESİ

2014-2017 MEDICAL PARK İZMİR HASTANESİ TÜP BEBEK MERKEZİ
EMBRYOLOJİ LABORATUVARI

2014 BRÜKSEL TÜP BEBEK MERKEZİ (STAJYER)

2014 ANKARA CENTRUM TÜP BEBEK MERKEZİ (STAJYER)

2014 İSTANBUL BAHÇELİEVLER MEDİCANA TÜP BEBEK MERKEZİ

2014 ALMAN HASTANESİ TÜP BEBEK MERKEZİ (STAJYER)

2012 MUĞLA ÜNİVERSİTESİ SİTOLOJİ LABORATUVARI

EĞİTİM BİLGİLERİ

- 2017 YENİYÜZYIL ÜNİVERSİTESİ YÜKSEKLİSANS,
SAĞLIK ENSTİTÜSÜ KLİNİK EMBRİYOLOJİ BÖLÜMÜ
- 2013 MUĞLA SITKI KOÇMAN ÜNİVERSİTESİ LİSANS,
BİYOLOJİ BÖLÜMÜ
- 2009 MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ ÖNLİSANSI
ÇEVRE TEKNİKLERİ BÖLÜMÜ
- 2007 SULTANBEYLİ İMAM HATİP LİSESİ

IVF LABORATUVARI İŞLEMLERİ YETKİNLİĞİ

- ICSI
- AHA, OPU, DENÜDASYON
- EMBRİYO GELİŞİM DEĞERLENDİRİLMESİ (MİKROSKOPİK, TİME LAPSE DEĞERLENDİRİLMESİ)
- EMBRİYO DONDURMA/ÇÖZME
- KÜLTÜR ORTAMI HAZIRLANMASI
- SEMEN ANALİZİ, SPERM HAZIRLAMA TEKNİKLERİ,
- SPERM DONDURMA/ÇÖZME

REFERANSLAR

PROF.DR. AHMET ZEKİ IŞIK 0532 -411-81-84 (ahmerveirem@hotmail.com)

PROF.DR.TÜLAY İREZ 0532-244-60-39 (ireztulay@yahoo.com)

DOÇ.DR. SÜLEYMAN AKARSU 0532-324-20-25 (suleymanakarsu@hotmail.com)

EMB. FERDA BURCU TAMER 0532-627-22-22 (burcu_tamer@hotmail.com)

OP.DR.HANDAN NAMLI 0542-416-59-99

