



T.C.
İSTANBUL YENİ YÜZYILÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
KLİNİK EMBRİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**TEKRARLAYAN FERTİLİZASYON BAŞARISIZLIKLARINDA
KALSİYUM İYONOFORUN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Melda ATAY

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Nezih HEKİM

İSTANBUL
Eylül2016

T.C. İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Klinik Embriyoloji Yüksek Lisans
Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri
tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Tez Savunma Tarihi:

**Prof. Dr.Nezih HEKİM
Biruni Üniversitesi**

**Prof. Dr.Hüsniye Doğruman
Yeni Yüzyıl Üniversitesi**

**Prof. Dr.Tülay İREZ
Biruni Üniversitesi**

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu,tezin planlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarda etik dışı hiçbir davranışımın olmadığını,tezimdeki 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 çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Melda ATAY

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tezim süresince beni her an destekleyen ve deneyimlerini benimle paylaşan sevgili tez danışmanım Prof.Dr.Nezih HEKİM'e

Yüksek Lisans eğitimimde, işe başladığım günden beri bana yardımcı olan, derin bilgi ve tecrübelerini paylaşan, yol gösteren, desteğini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. M. Bülent TIRAŐ'a,

İş hayatımda ve Yüksek Lisans tezimde bana inanan ve güvenen, bu tezin ortaya çıkmasında akıl veren, laboratuvar sorumlum Dr.Cihan HALICIGİL'e,

Bana zaman ayıran, tezimde yol gösteren, yardımlarını hiç eksik etmeyen değerli hocam Dr.Ayşen YÜCETÜRK'e,

Bu günlere ulaşmamı sağlayan, maddi manevi her türlü desteğiyle yanımda olan, bana hep güvenen ve beni hep seven sevgili aileme,

EN İÇTEN TEŐEKKÜRLERİMİ SUNARIM.

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
Şekiller, Resimler, Grafikler	vii
Resimler	vii
Grafikler.....	vii
Tablolar	ix
Simgeler Kısaltmalar	xi
Özet.....	xii
Summary	xiv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Üreme Sistemi	2
2.1.1. Erkek Üreme Sistemi	2
2.1.2. Dişi Üreme Sistemi	4
2.2. Gametogenez	12
2.2.1. Spermatogenez	15
2.2.2. Oogenez.....	18
2.3. Fertilizasyon	19
2.3.1. Sperimde Meydana Gelen Değişiklikler	20
2.3.1.1. Kapasitasyon.....	20
2.3.1.2. Hiperaktivasyon	22
2.3.1.3. Akrozom Reaksiyonu	22
2.3.2. Oositte Meydana Gelen Değişiklikler	24
2.3.2.1. Kortikal Reaksiyon	24
2.3.2.2. Zona Reaksiyon	25
2.3.2.3. Oosit Aktivasyonu	25
2.4. Pronükleusların Oluşumu	27

2.4.1. Erkek Pronukleuslarının Oluşumu	27
2.4.2. Dişi Pronukleuslarının Oluşumu	27
2.5. Fertilizasyon Anomalileri.....	28
2.5.1. Total Fertilizasyon Kusurları (Tff).....	29
2.5.2. Polispermik Fertilizasyon.....	29
2.5.3. Monopronükleus Oluşumu.....	30
3. MATERYAL VE YÖNTEM	31
3.1. Kullanılan Kimyasal Madde Ve Çözeltiler	31
3.2. Çalışma Grubu.....	32
3.2.1. Hasta Seçimi.....	32
3.3. Hastalara Uygulanan İşlemler	32
3.3.1. Sperm Hazırlama.....	32
3.3.2. Oosit Toplama İşlemi (OPU)	33
3.3.3. Oosit Soyma İşlemi (Denudasyon)	33
3.3.4. Mikroenjeksiyon İşlemi (ICSI)	34
3.3.5. İyonomisin İşlemi (Oosit Aktivasyon).....	34
3.3.6. Fertilizasyon Değerlendirmesi	35
3.3.7. Klivaj Değerlendirmesi	35
3.3.8. Gebelik Değerlendirmesi.....	35
4. BULGULAR.....	36
5. TARTIŞMA.....	52
6. SONUÇ	55
7. KAYNAKLAR	56
8. ETİK KURUL KARARI.....	62
9. ONAM FORMU.....	63
10. ÖZGEÇMİŞ	64

Şekiller, Resimler, Grafikler

Şekiller

Şekil 1:	Erkek Üreme Sistemi	3
Şekil 2:	Dişi Üreme Sistemi	9
Şekil 3:	Dişi Üreme Sistemi – Ovulasyon Döngüsü.....	10
Şekil 4:	Dişi Üreme Sistemi – Ovulasyonda Hormonal Değişimler	11
Şekil 5:	Klinik yönleriyle insan embriyolojisi.....	14

Resimler

Resim 1:	Sperm tarafından indüklenen hücreiçi kalsiyum konsantrasyon artışları ve protein kinaz C (PKC) aktivasyon ve engellenme etkilerinin konfokal mikroskop görüntüleri	26
Resim 2:	Merkezimizde çekilen iki pronükleusa sahip fertilize oosit (İnvert mikroskop ile X40 büyütmede).....	28
Resim 3:	Merkezimizde çekilen üç pronükleusa sahip polispermik fertilizasyona örnek oositler.(İnvert mikroskop ile X40 büyütmede).....	29
Resim 4:	Merkezimizde çekilen bir pronükleusa (mono pn) sahip oosit (İnvert mikroskop ile X40 büyütmede).....	30

Grafikler

Grafik 1:	Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun gebelik değişkenine göre incelenmesi.....	37
Grafik 2:	Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun klinik gebelik değişkenine göre incelenmesi.....	38

Grafik 3: Çalışmaya katılan bireylerin Ca⁺⁺ alım durumunun erkek faktör
değişkenine göre incelenmesi..... 41



Tablolar

Tablo 1:	Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun gebelik değişkenine göre incelenmesi.....	36
Tablo 2:	Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} iyonofor alım durumunun klinik gebelik değişkenine göre incelenmesi.....	37
Tablo 3:	Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun infertilite nedeni değişkenine göre incelenmesi.....	39
Tablo 4:	Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun erkek faktör değişkenine göre incelenmesi.....	40
Tablo 5:	Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun infertilite değişkenlerine göre incelenmesi.....	42
Tablo 6:	Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun erkek sigara kullanma durumu değişkenine göre incelenmesi.....	43
Tablo 7:	Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun kadın sigara kullanma durumu değişkenine göre incelenmesi.....	44
Tablo 8:	Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun kadınlardaki karyotip değişkenine göre incelenmesi.....	44
Tablo 9:	Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun erkeklerdeki karyotip değişkenine göre incelenmesi.....	45
Tablo 10:	Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun infertilite tipi değişkenine göre incelenmesi.....	46
Tablo 11:	Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun erkeğe ait operasyon ve nedeni değişkenine göre incelenmesi.....	46
Tablo 12:	Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun sperm sorunu değişkenine göre incelenmesi.....	47
Tablo 13:	Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun değişkenine göre incelenmesi.....	48
Tablo 14:	Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunundeğişkenine göre incelenmesi.....	50

Tablo 15: Çalışmaya katılan bireylerin Ca⁺⁺ alım durumunun sperm kaynağı ve cerrahi sperm elde etme değişkenine göre incelenmesi 51



Simgeler Kısaltmalar

Ca⁺⁺	: Kalsiyum
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
GnRH	:Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
ICSI	:İntra Sitoplazmik Sperm Enjeksiyonu
IVF	:İn Vitro Fertilizasyon (Tüp Bebek)
hCG	: İnsan Koryonik Gonadotropini
OPU	:Oosit Toplama İşlemi
PN	: Pronükleus
ZN	:Zona Pellusida
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

Özet

Tekrarlayan Fertilizasyon Başarısızlıklarında Ca⁺⁺ İyonoforun Etkisi

Amaç: İntra sitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) sonrası total fertilizasyon başarısızlığı, sperm veya oosit kaynaklı pek çok faktörden kaynaklanabilir. Genel olarak total döllenme başarısızlığını engellemek amacıyla farklı yöntemler geliştirmiştir. Bu yöntemlerden biri olarak kullanılan kalsiyum iyonofor (Ca⁺⁺ İyonofor), ICSI sonrası hücre içi kalsiyum miktar artışını sağlayarak yumurta aktivasyonunu arttırmaktadır. Ca⁺⁺ iyonofor embriyo kültür ortamlarında rutin olarak bulunmamaktadır. Özel bir teknikle kültür ortamlarına eklenerek yumurtaların aktivasyonunu sağlamaktadır.

Meteryal – Metot: Bu çalışmada tekrarlayan fertilizasyon başarısızlıkları (en az iki kez tüp bebek denemesi olan hastalar) olan 50 çift Ca⁺⁺ iyonofor uygulanan, 50 çift Ca⁺⁺ iyonofor uygulanmayan toplamda 100 çift hasta iki grup olarak incelenmiştir. Her iki grupta da ICSI'den 20 saat sonra yapılan fertilizasyon kontrolünde pronükleus değerlendirmesi yapıp, embriyo transferini takiben elde edilen gebelik oranları değerlendirilmiştir.

Bulgular: Yapılan değerlendirmede total fertilizasyon başarısızlığı yaşayan hastalara, oosit aktivasyonu amacıyla yapılan Ca⁺⁺ iyonofor uygulamasının fertilizasyon oranları üzerinde etkili olduğu söylenebilse bile canlı doğum oranlarıyla ilgili fikir sahibi olabilmek için daha kapsamlı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Anahtar Kelimeler: Ca⁺⁺İyonofor,Oosit Aktivasyonu, Tekrarlayan ve Total Fertilizasyon Başarısızlıkları.



Summary

Purpose: The total fertilization failure after intra-cytoplasmic sperm injection (ICSI) can be caused by various factors of sperm or oocyte. In general, in order to prevent fertilization failure, various methods have been developed. Being one of these methods is calcium ionophore (Ca^{++} Ionophore) can elevate oocyte activation by increasing intracellular calcium levels. As a routine, there is no Ca^{++} Ionophore in culture media. It can be added into culture media with a special technique and elevate oocyte activation.

Materials and Method: In this study, 100 couple, who have had recurrent pregnancy failure (the patients had at least two unsuccessful vitro fertilization (IVF) try, was searched and divided in two groups as Ca^{++} ionophore used (n=50) and no Ca^{++} Ionophore used group (n=50). 20 hours after ICSI the pronucleus assessment has been done for the fertilization control and after the embryo transfer the pregnancy rates have been evaluated for both groups.

Results: In the assessment, although it can be said that, Ca^{++} Ionophore usage in the patients who had total pregnancy failure in order to increase oocyte activation is effective to improve fertilization, further studies are needed to have an opinion about live birth rates.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Total fertilizasyon başarısızlığı, elde edilen oositlerin tamamının fertilize olmadığına işaret eder. Fertilizasyon başarısızlığı, ICSI sonrası yaklaşık %30 oositte gözlenen bir olaydır. Fertilize olmamış oositlerde mayozdan mitozla geçiş olamaz. Bu başarısızlığın pek çok sebebi olabilir¹.

In vitro fertilizasyonda (IVF), işleme hazırlanan oositve spermin in vivo ortamda geçirdiği tüm yapısal ve kimyasal değişimleri geçirmesi sağlanır. Bu aşamalardan herhangi birinde sorun olursa fertilizasyon başarısızlığı gözlenir. Bu sorun oosit veya sperm kaynaklı olabilir.

ICSI'de spermin oosit sitoplazmasına verilmesi dolayısıyla fertilizasyonun gerçekleşmemesi halinde, farklı alternatiflerin düşünülmesinde yarar vardır. Yapılan çalışmalarda, elde edilen oosit sayısının ICSI'de totaldölleme başarısızlığına neden olabileceği belirtilmiştir. Bu da ovaryan yanıtı iyi olmayan hastalarda elde edilen oositlerin sitoplazmik matürasyonlarının yetersizliğine bağlanmıştır. Bazı araştırmacılar ise soruna sperm faktörünü inceleyerek yaklaşmışlardır. Klasik IVF'de oositi dölleyecek spermin seçimi doğal yollarla gerçekleşirken, ICSI'de sperm seçimi uygulayıcı tarafından yapılmaktadır. Bu nedenle özellikle immotil spermle çalışıldığında seçilen sperm ölü olabilir². Oositin fertilize olabilmesi için, spermin kapasitasyonunu tamamlamış olması gerekir³. Buna ardışık olarak sperm motilitesinde hiperaktivasyon ve akrozom reaksiyonunun gerçekleşmesi için Ca^{++} iyonlarının salınımı takip etmektedir⁴.

Bu bilgiler ışığında planlanan çalışmamızda, tekrarlayan fertilizasyon başarısızlığı yaşayan hastalar da oosit aktivasyonunu sağlamak amacıyla Ca^{++} iyonofor kullanımının fertilizasyon ve gebelik oranlarına etkisinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

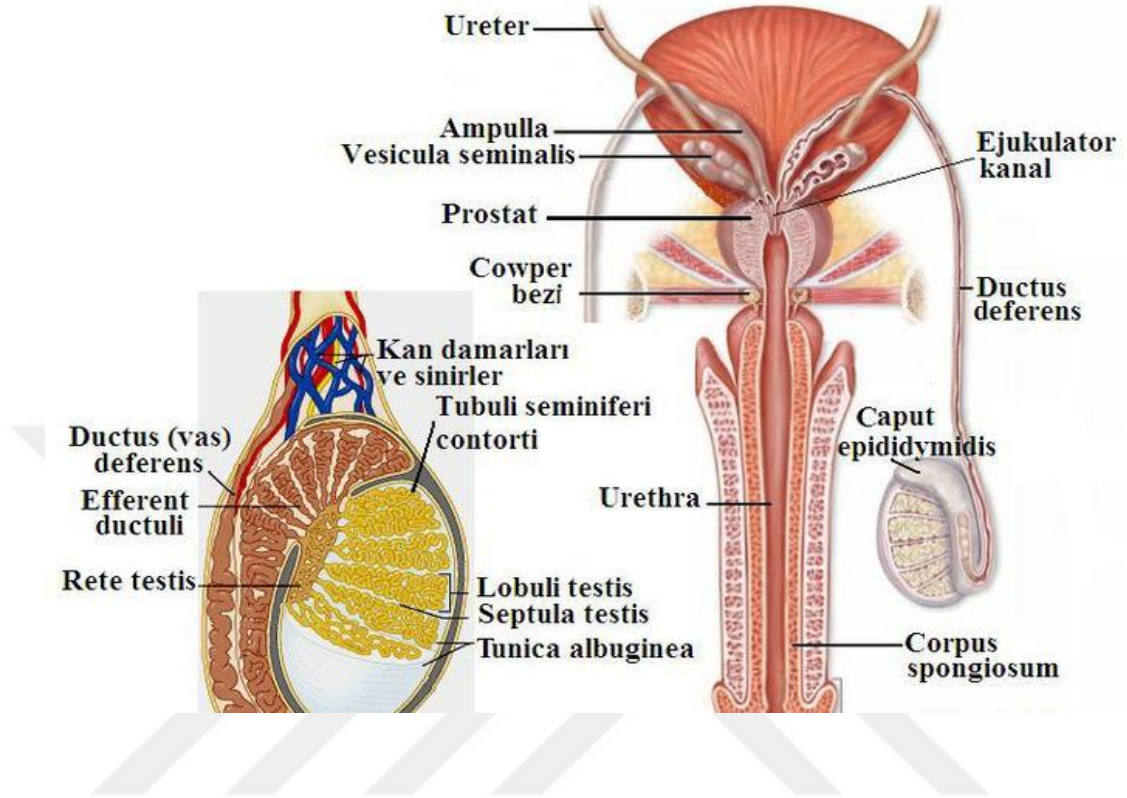
2.1. Üreme Sistemi

İnsanın belki hayatta kalması için değil ama varlığını sürdürebilmesi için en büyük gereksinimi üreme sistemidir.Yeni nesillerin gelişebilmesi için erkek gamet olarak sperm ve dişi gamet olarak oosite ihtiyaç vardır.Bu iki gametin dışının üreme sisteminde buluşuyor olması kadın üreme sağlığını ön plana çıkarıyor olsa da, oluşan yeni bireyin genlerinin hem anneden hem babadan geldiğini unutmamak ve erkek üreme sağlığının önemini de göz ardı etmemek gerekir⁵.

2.1.1. Erkek Üreme Sistemi

Tüm üreme sistemi pelvis denilen leğen kemiğinin içinde olan kadınların aksine, erkek üreme sisteminin büyük bölümü pelvis dışında yer almaktadır.Erkek üreme sistemi;testisler,epididim,vas deferens,ejekülasyon kanalları ve uretrayı kapsamaktadır.

Testisler bir çift ve embriyogenezde abdominal kavitede olup inguinal kanal yolu ile skrotuma iner ve abdomen dışında gelişmesini sürdürür.Bu spermatogenezin vücut sıcaklığının altındaki ısı değerinde (skrotum sıcaklığı 32 °C) gerçekleşmesi için gereklidir.Testislerin yapısına baktığımızda seminifer tübüller ve interstisyel aralıktan oluşmaktadır.Seminifer tübüller, sertoli hücreleri ile germ hücrelerini kapsarken; interstisyel aralık, kan damarları ve leydig hücrelerini içerir⁶.



Şekil 1: Erkek Üreme Sistemi⁷

Seminifer tübüllerde sperm üretimi yapılırken,sertoli hürelere üretilen spermelere desteklik sağlar ve bunların beslenmesinde görev alır.Leydig hücreleri ise testosteron hormonu salgılanmasında sorumludur.Her bir testisinarka-üst bölümü üzerinde yerleşmiş olan epididim de, testislerde üretilen sperm hücrelerinin taşınması, olgunlaşma ve depolama yeri olarak görev yapar.

Testisin kendisi de bir salgı bezidir, onun dışında veziküloseminalis, prostat ve bulbouretral bezler salgı yapmaktadır. Semen tümü bu bezlerden gelen salgıların bileşiminden oluşmaktadır⁶.

Sperm vücuttan dışarı çıkıncaya kadar çeşitli kanallar içerisinde geçerek dış ortama ulaşmaktadır. Rete testis yoluyla testisi terk eden sperm epididime ulaşır, oradan vas deferens yolu ile prostat içerisinde bulunan ejakülator

kanallara ulaşmaktadır. Ejakülatuar kanallar da idrar yolu olan üretraya açılmaktadır, üretra yoluyla meni içerisindeki sperm dışarı atılmaktadır. Erkeklerde meninin dışarı boşalması her zaman içerisinde sperm olduğu anlamına gelmemektedir. Testiste üretim bozukluğu olan erkeklerde menide çok az miktarda veya hiç sperm hücresi olmayabilmektedir. Tıpta hiç sperm olmaması hali azospermia ve çok az miktarda sperm bulunması ise kriptozoospermia olarak adlandırılmaktadır.

2.1.2. Dışı Üreme Sistemi

İnsan neslinin sürekliliği üreme fonksiyonu ile sağlanmaktadır. Bu fonksiyonu gerçekleştirmek amacıyla şekillenmiş olan üreme organları, erkek ve dişinin işlevlerine paralel olarak şekil, konum ve yapı bakımından her iki cinsten farklı gelişim göstermiştir. Kadının üremedeki rolü, erkekten daha çok kompleksdir. Kadın, zigotun oluşumu için zorunlu olan oositi üretmekle kalmaz, zigotun iletimi, uterus'a tutunması, embriyonal ve fetal yaşamın sürdürülmesi ve yavrunun doğurulması fonksiyonlarını da üstlenmiştir.

Kadın Genital (Üreme) Organları iki grup olarak incelenmektedir. Bunlar;

1.Kadın İç Genital (Üreme) Organları: Overler, Fimbria Ovarica, Tüpler sağ ve sol ductus Fallopi, Uterus, Serviks ve Vagina'dan ibarettir.

2.Kadın Dış Genital (Üreme) Organları: Vulva, Mons pubis, Labia majora, Labia minora, Klitoris, Vagina girişi, Hymen, Bulbus Vestibuli ve Glandula Vestibularis majorisden oluşmaktadır. Vagina girişinin hemen üzerinde bir üreme organı olmayan üretra yer almaktadır⁸.

Overler (Yumurtalıklar) Uterus'un (rahmin) her iki yanında yaklaşık 3.5×2x1 cm büyüklüğünde, üzeri girintili çıkıntılı iki organdır. Overler, kadında

temel genital (üreme) organları olup, küçük pelvisin dış yan duvarlarındaki fossa ovaricalara otururlar. Sağ ve sol'da olmak üzere bir çift organ olan overler erkekteki testislerin homologudur. Overler, seksüel yönden olgun bir dişide, dişi üreme hücreleri olan oositleri (yumurta) ve dişi seks hormonları olan östrojen ve progesteronu üretirler⁹.

Over, bir periton plikası olan mezovarium aracılığı ile ligamentum lata uterinin arka yüzüne, ligamentum ovari proprium aracılığı ile ductus fallopia'nın (tuba uterinanın) tutunma yerine yakın olarak Uterusun (Rahim:Metra) yan duvarına bağlanır. Mesovariumun iki yaprağı arasında, hilum ovarie ulaşan arter, vena ve lenf damarları ile sinirler bulunur. Ovarium, pelvik duvara ligamentum suspensorium ovari (infundibulopelvik bağ) ile bağlanır.

Overin serbest dış yüzü, peritonun mezoteliumu olan epithelium superfisiale (germinal tabaka-Waldeyer tabakası) ile sarılmıştır. Bu örtünün altında kompakt bir bağ dokusundan yapılmış olan tunica albuginea bulunur. Tunica albugineanın altındaki over dokusu, dışta korteks ovari (zona parankimatososa) içte medulla ovariden (zona vasculosa) yapılıdır. Korteks ovarinin parankimatöz dokusu içersinde gelişim ve dejenerasyonun çeşitli aşamalarındaki foliküller bulunmaktadır. Bu foliküller primordial, primer, sekonder ve tersiyer (graaf folikülü) olmak üzere dört aşamada bulunurlar. Tersiyer folikülün ileri aşaması olgun folikül (Graaf folikülü) olup ovulasyon (yumurtlama) ile atılır. Ovulasyondan sonra atılan graaf folikülünün yerinde Korpus luteum (sarı cisim) oluşur. Korpus luteum, geçici bir endokrin bez niteliğindedir. Atılan yumurta döllenip gebelik gerçekleşirse menstrasyon meydana gelmez ve Korpus luteum kaybolmaz, tersine büyür. Buna Korpus luteum graviditatis denir. Gebeliğin devamını sağlayan Progesteron (gestagen) hormonunu salgılar. Eğer gebelik gerçekleşmemiş ise Korpus luteum 2 hafta progesteron salgılayarak görevini bitirir. Bu yapıya Korpus luteum cylicum (menstruationis: Adet döngüsü: adet çevirimi) denir. Gerilemeye başlayan Korpus luteum, Korpus luteum regressum olarak adlandırılır. Böylece, sarı cisim zamanla

bağdokusunca işgal edilir ve nonfonksiyonel bir yapı olan Korpus albicans adını verdiğimiz beyaz oluşum meydana gelir.

Doğumda bir overde 100.000-400.000 adet primordial folikül bulunur. Erginliğe kadar bunların büyük bir bölümü dejenere olduğundan bu dönemde ancak 10.000-20.000 adet primer folikül mevcuttur. Kadının ovulasyon periyodunda bunlardan ancak 400 tanesi ovum (yumurta) oluşturacak düzeye erişir. Ergenlik (Adolesan) çağının başlaması ile birlikte, her ay bunlardan bin kadarı döllenmek için yola çıkar, ancak çoğu kez bir tanesi olgunlaşır ve yumurtalık dışına çıkarılır. Atılan bu yumurta fimbria tarafından yakalanıp ductus fallopia içerisine alınır. Daha ender olarak birden çok yumurtanın üretilmesi ve döllenmesiyle birbirinden farklı bebekler oluşturmak üzere çoğul gebelikler de oluşabilir. Buna en iyi örnek çift yumurta ikizleridir.

Tuba uterinalar, uterus fundusundan overlere doğru uzanan 10-12 cm uzunluğunda bir çift muskuler borudur. Sağ-sol her bir fallop borusu (ductus Fallopia), ligamentum latum uterinin üst kenarı boyunca, onun iki yaprağı arasında yer alır. Ligamentum latum uterinin tuba uterinaya komşu olan bölümüne mesosalpinks denir. Tuba uterinanın overle direkt bağlantılı olmayan dış yan ucundaki, karın boşluğuna açılan deliğine ostium abdominale tubae uterinae, uterus boşluğuna açılan deliğine de ostium uterinum tubae denir.

Ovariumdan ovulasyon(yumurtlama) ile atılan oosit(yumurta) ostium abdominaleden tuba uterina boşluğuna girer. Ovum, tuba uterinanın peristaltik dalgaları ve mukozasındaki silliaların yardımı ile uterus lümenine doğru iletilir.

Tarifsels amaçlar için tuba uterina 4 bölüme ayrılır.

a. Infundibulum: Over tarafındaki, huni şeklinde olan 2 cm. lik bölümdür. Burada ostium abdominale tubae etrafında fimbriae tubae denen saçaklar vardır.

b. Ampulla: Tuba uterinin en uzun, ince duvarlı orta bölümüdür. Oosit, spermtarafından genellikle burada döllenir.

c. İsthmus: Uterusa yakın olan dar bölümdür.

d. Pars uterina: Tuba uterinin, uterus duvarı içinde kalan 1 cm. uzunluğundaki bölümüdür. Ducus Falopia (Tuba uterina) nın görevi yumurtalıktan atılan yumurta hücrelerini Fimbria ovarica adını verdiğimiz huni biçimindeki vantuz yardımıyla yakalayarak, kendi içinde yumurtanın sperm tarafından döllenmesini sağlamak ve döllenmiş yumurtayı Uterus (rahim) içine taşımaktır.

Uterus (rahim), fekdasyon (döllenme) sonrası döllenmiş yumurtanın yerleştiği ve gebeliğin oluştuğu yerdir. Fetüs'un anne (materna) karnındaki gelişimi burada olur. Kas ve bağ dokusundan oluşur. Normalde 8 cm. uzunluğunda, 5 cm genişliğinde ve 2.5 cm kalınlığında tersine duran bir armuta benzeyen bu organ, gebelik (graviditas) sırasında fetüsü, fetüsün plasentasını vefetüs çevresindeki sıvıları (Corion, Allantois ve Amnion adını verdiğimiz 3 sıvıyı içinde barındırıp, fetüsün büyümesine izin verecek şekilde genişler ve tüm karın boşluğunu kaplar. Doğumdan sonra 6 hafta içinde yeniden gebelikten önceki şekil ve büyüklüğüne döner (Uterusun Envolutionu). Uterusun (rahimin) iç yüzü ince bir doku (endometrium) ile örtülüdür ve bu doku her ay fetüsün yerleşmesi için hormonların etkisiyle kalınlaşır, oluşacak gebeliğin (graviditas) en baştaki hali olan döllenmiş yumurta veya embriyonun yerleşmesi, sağlık ve güven içinde büyümesi için gerekli yataklığı yapar, besin maddelerini hazırlar. Eğer gebelik olmazsa adet kanaması şeklinde dışarı atılır¹⁰.

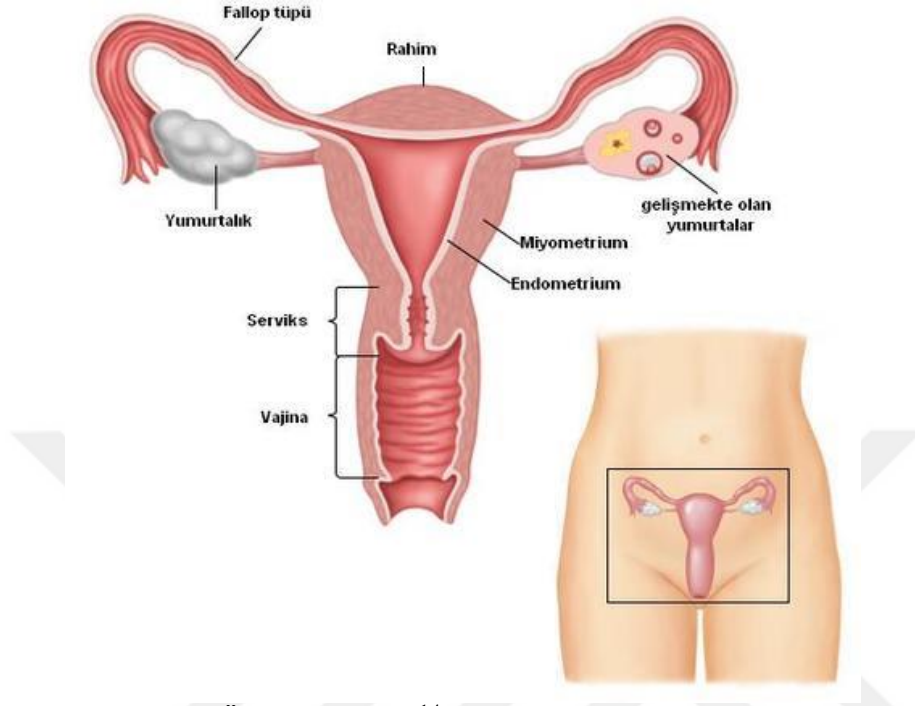
Vajen, uterus (rahim) ile dış ortam arasındaki bağlantıyı sağlayan boru şeklinde, esneme yeteneği çok gelişmiş bir organdır¹¹.

Labia majora büyük dudaklar; kadın genital (üreme) organının en belirgin kısmını oluştururlar. Her iki yanda birer tane olmak üzere yukarıdan aşağı uzanan, içlerinde bol miktarda ter ve yağ bezleri, kan damarları ve sinirler bulunan, iki deri kıvrımından oluşmuştur¹².

Labia minora (küçük dudaklar), büyük dudakların hemen altında vagina girişini çevreleyen yaprak biçiminde iki küçük deri kıvrımıdır. Kıl ve deri altı dokusu bulunmaz.

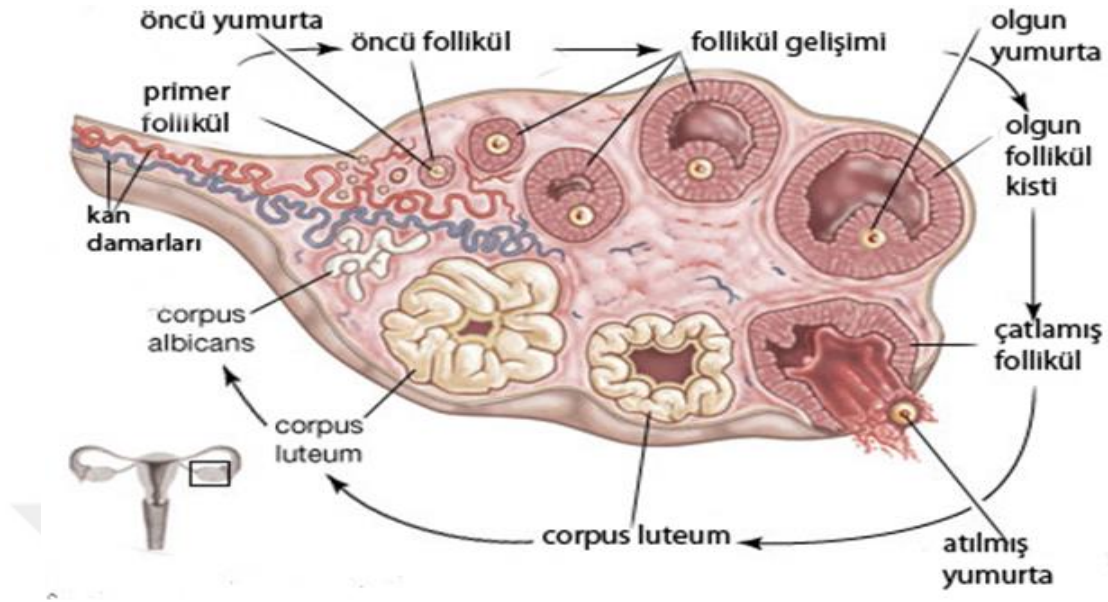
Klitoris (bızır); kadın cinsel organının üst bölümünde küçük dudakların bittiği yerde (frenulumda) bulunur. Erkekteki penise benzer şekilde cinsel uyarı ile sertleşen ve büyüyen erektil bir organdır. Dışında preaputium klitoridis adını verdiğimiz bir deri vardır. Erkek erektil organı penis'ten tek farkı içerisinden Uretra'nın (sidik kanalının) geçmeyişi ve cinsel duyarlılığı sağlar.

Hymen (kızlık zarı); vagina girişinden hemen sonra bağ dokusu ve damarlardan oluşan ince bir deri kıvrımıdır (zardır). Zarın ortası, adet kanamasının dışarı atılmasını sağlayacak biçimde açıktır. Ender olarak tümüyle kapalı olabilir¹³.



Şekil 2: Dişi Üreme Sistemi¹⁴

Kız çocukları çocukluktan ergenliğe geçerken genellikle 12-14 (bazen soğuk ülkelerde 16 yaşa kadar uzayabilir) yaş civarında adet görmeye başlar. Adet görme, her ay uterus (rahim) içini döşeyen endometrium tabakasının kalınlaşması, dökülmesi ve az bir kanama ile uterustan vajinaya, oradan da vulvadan dışarıya atılmasıdır. Overlerde her adet döneminde bir oosit olgunlaşır. Oosit olgunlaşması adet kanamasının ilk günü başlar ve ortalama 14 gün sürer. Olgunlaşan oosit dışarı adet kanamasının 12-16 günleri arasında atılır. Aylık periyotlar halinde olgunlaşmış yumurta hücresinin foliküllerden salındığı ovulasyon olayın da fertilize olmamış ovum 24-48 saat sonra canlılığını kaybederek yok olur. Fimbria ovarica adını verdiğimiz Anatomik oluşum ise atılacağı zaman ovarium'ların (yumurtalıkların) üzerine bir el gibi yapışıp vantuz gibi yumurtayı içine alır.



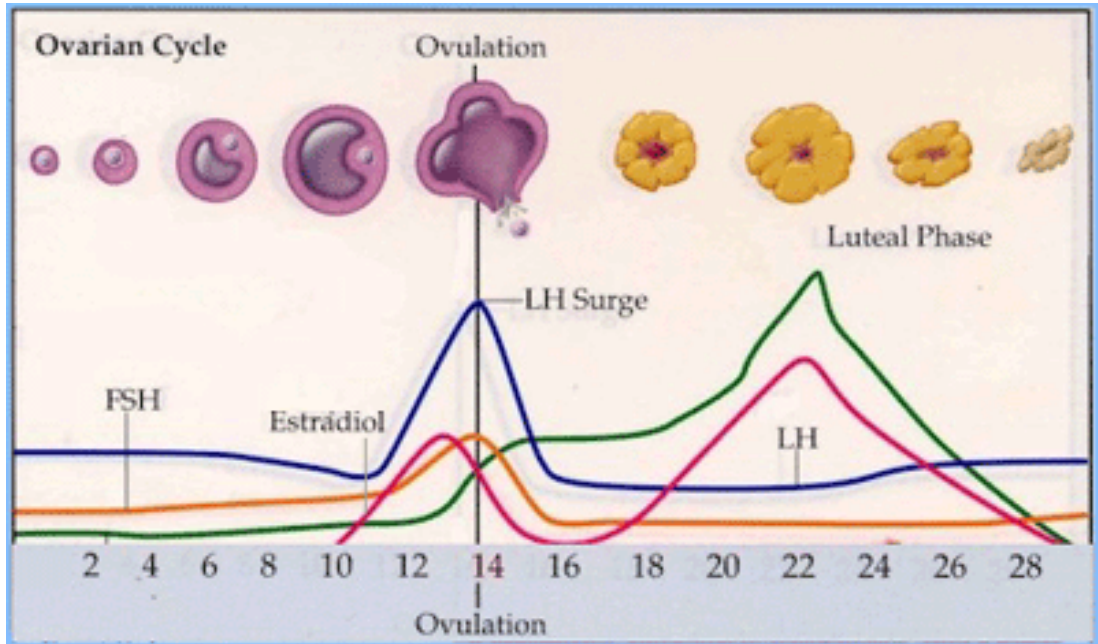
Şekil3:Dişi Üreme Sistemi – Ovulasyon Döngüsü¹⁵

Eğer yumurta tüp içindeyken cinsel ilişki olmuşsa, kadına geçen ve Uterus'tan / rahimden) yukarıya doğru ilerleyen sperm, erkekten getirdiği genetik özellikleri (erkeğe ait DNA zinciri taşıyan 23 adet kromozomu) yumurtaya aktarır. Bu olaya fertilizasyon (döllenme) denir. Döllenmiş yumurta bölüne bölüne çoğalırken, ductus fallopi'a'dan Uterus'a doğru iner ve uterus içine ulaştığında adet gününden itibaren kalınlaşan ve yumurtlamadan sonra bebeğin yerleşmesi için özel bir şekil alan rahmin iç yüzeyini döşeyen endometriyum'a yerleşir¹⁶.

Endometriyumdaki değişimler yumurta gelişirken ve atıldıktan sonra overlerden salgılanan hormonların etkisi ile oluşur. Böylece yeni bir bebeğin oluşum öyküsü başlar.

Döllenmiş yumurta yerleştiği anda çeperlerinde binlerce hücre bulunan su dolu küçük bir lastik top görünümündedir. Daha sonra bu yapı içindeki hücrelerden bir kısmı fetüs (cenin) oluşumunu sürdürürken, bir kısım hücreler de anne ile bebek arasındaki ilişkiyi sağlayan bir yapıya, halk arasında "çocuk eşi"

denilen “plasenta” ya dönüşür. Eğer gebelik olursa plasenta salgıladığı hormonlarla hem yumurtalığın işlevini üstlenir hem de uterus içini bebek için uygun ortamda tutar. Gebelik oluşmazsa plasenta oluşmayacağından yumurtalığın görevini sürdüreceği hormonlar da oluşmaz. Böylece endometriyum beslenmesi bozulur ve adet kanaması ileatılır. İlk adet görme yaşı bir kızdan diğerine değişir. 12 ile 16 arasında herhangi bir yaşta olabilir. Adet döngüsü, bir kanamanın başlamasından, diğer kanamanın başlangıcına kadar geçen süredir. Kişiyeye göre değişiklik gösterebilirse de iki adet dönemi arasındaki süre ortalama 28 gündür. 21 ile 35 gün arasındaki süreler normal kabul edilir. Bu döneme yeni giren genç kızlarda ilk 1 – 2 yılda adet düzensizlikleri olabilir. Daha sonra adetlerinin belli bir düzende olması gerekir. Kanama miktarı da kişiyeye göre değişiklik gösterir. Adet dönemleri birbirini izleyerek Adet döneminin ve yumurtlamanın sona erdiği Menopoza dek sürer. Menopoz, adet kanamalarının artık olmamaya başladığı, yumurtlamanın sona erdiği döneme verilen isimdir. Ortalama olarak 45 – 52 yaşları arasında adet görme sona erer¹⁷.



Şekil 4: Dişi Üreme Sistemi – Ovulasyonda Hormonal Değişimler¹⁸

2.2. Gametogenez

Canlı organizmalarda üreme süreci, anne ve babaya ait kromozomların birleşmesini takiben kendi genetik özelliklerini kazanan zigot ile başlamaktadır. Oluşan diploid kromozoma sahip zigot formunun arka arkaya geçirdiği mitoz bölünmeler embriyo denilen ilk canlı taslağının oluşumu ile devam etmektedir. Embriyonik gelişimin ilk aşamalarında, somatik ve germ hücre soyları ile birbirinden ayrılmaktadır. Germ hücreleri, embriyonik gelişim sırasında farklılaşmamış gonadlara göç ederek, mitoz ve mayoz bölünme süreçlerine girmektedir. Germ hücrelerinin olgunlaşması ve kromozom sayılarının indirgenmesi sürecine dişilerde oogeneze, erkeklerde ise spermatogenez adı verilmektedir. Sonuç olarak, gelişimin devamlılığında mitoz ve mayoz hücre bölünmeleri ökaryotik hücrelerde her hücre bölünmesi, DNA sentezinin olduğu ve yaklaşık 8 saat süren bir sentez fazıyla (S) başlamaktadır. Bunu yaklaşık 4 saat süren Gap2 (G2) fazı izlemektedir. Bu fazda kromozom yapısı diploiddir. Ardından yaklaşık 1 saat süren mitoz fazı (M) gelir. Bu fazda kromozomların görünür hale geldiği profaz ve mitotik iğciğin oluşturduğu metafaz evreleri gerçekleşir. Bunu sürekli bir değişimin olduğu interfaz izler (G1). Bu evrelerin dışında her hücre tipinde görülmeyen ancak, üreme hücrelerinde izlenen G0 fazı vardır. Hücre siklusunun bütün fazları hücre-bölünme siklus genlerinin (cdc), bir grubu tarafından kodlanan özgün proteinler tarafından düzenlenmektedir. Bu proteinler özellikle, G1'den S'ye ve G2'den M'ye geçiş sırasında etkindir^{19,20}.

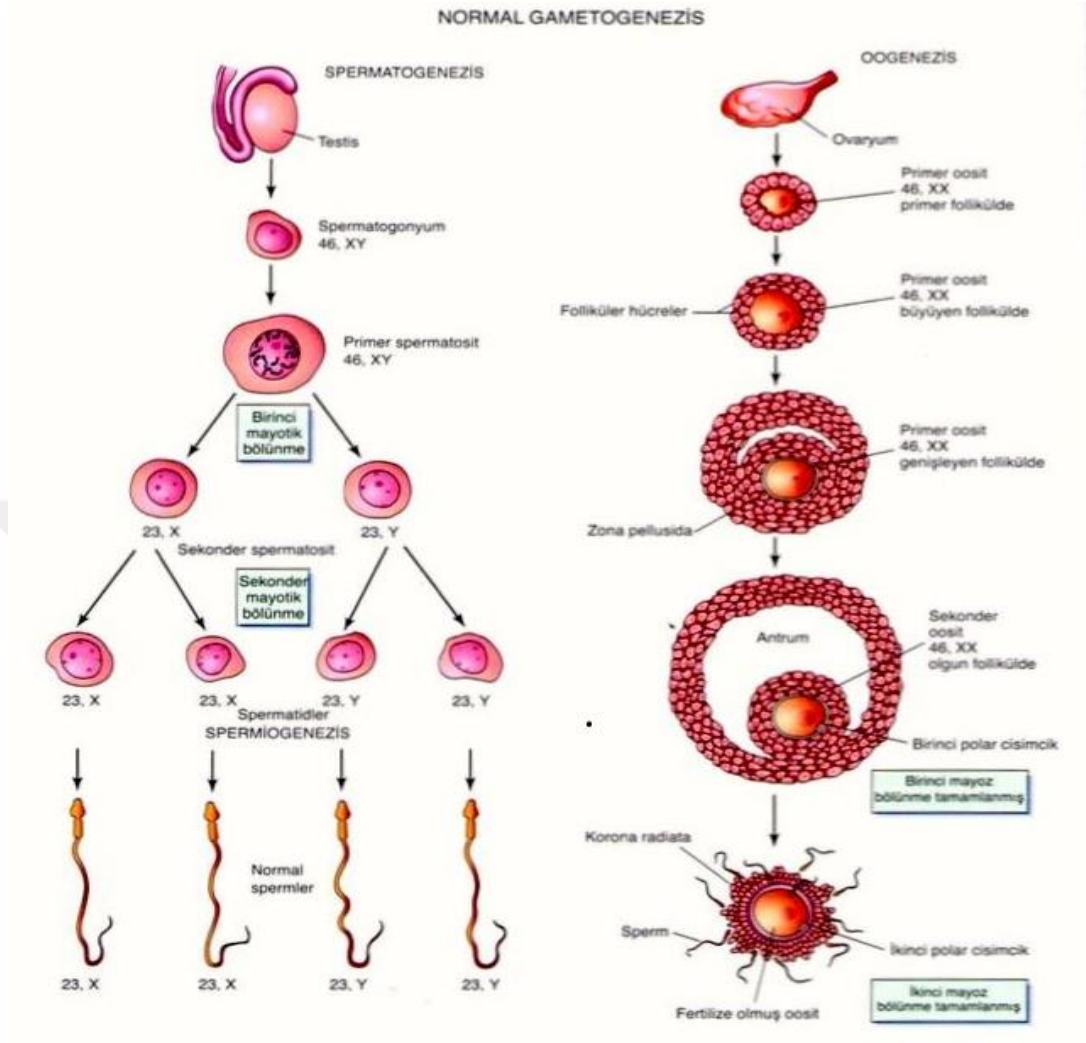
Erkek üreme hücrelerinin oluşturduğu spermatogenezin ilk hücresi, diploid kromozoma sahip spermatogoniumdur. Pubertenin başlangıcında spermatogonium, testislerdeki seminifer tubüllerde proliferasyon olarak, spermatosit oluşumuna doğru farklılaşmaktadır. Oluşan primer spermatositin mayoz bölünme geçirmesiyle iki adet sekonder spermatosit oluşmaktadır. Geçirilen 2. bir mayoz bölünme sonrasında da dört adet spermatid hücresi oluşmaktadır. Spermatid geçirdiği matürasyon aşamasından sonra spermatozoa halini almaktadır. İnsanlarda birinci mayozun başlangıcından primer spermatosite kadar olan farklılaşma ve olgun

spermatositin oluşumu yaklaşık altı hafta sürmektedir. Bir spermatozoanın matürasyonu ancak dişi üreme kanallarında tamamlanabilmektedir¹⁹.

Gametogenesis ilkel erkek ve dişi hücrelerinin gelişip olgunlaşmasıdır. İkel erkek cins hücrelerinin gelişip olgunlaşmasına spermatogenesis adı verilmektedir. Spermatogenesis bir gelişme olgusu olup farklılaşmamış ilkel erkek cins hücrelerinin ileri derecede farklılaşmış spermiumlara dönüşmesi olayıdır. Spermatogenesis üç aşamada gerçekleşmektedir:

Spermatositogenesis, mayoz, spermiogenesisdir. Seminiferüs tubullerin alt tabakasında bulunan spermatogonial kök hücreleri bulunmaktadır ve puberta öncesinde spermatogonia olarak ifade edilmektedir. Puberta sonrasında üç temel kategoride sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflandırma spermatogonia olarak ifade edilmektedir. İlk ikisi farklılaşmamış spermatogonia olarak tanımlanırken diğeri ise olgun spermatozoa oluşturmak üzere spermatogenesis döngüsüne girmektedir^{19,20}.

Gametogeneze de germ hücreleri önce proliferasyon, arkasından hücre siklusunda bir müddet duraklama ve devamında hücre farklılaşması aşamalarını geçirmektedir²¹. Doğumdan sonra yeniden çoğalma başlayarak, spermatogonial stem cell'leri oluşturur ve bunlar arasında da bazıları 10. günden itibaren aktifleşerek farklılaşmakta ve mayozu girmektedir²².



Şekil 5: Klinik yönleriyle insan embriyolojisi²³. Normal gametogenezis;germ hücrelerinin gamete dönüşmesi.Spermatogenezis ve oogenezis karşılaştırarak şematik olarak açıklanmıştır.Doğumdan önce primer oosit olduğu için bu şekilde oogonia gösterilmemistir.Her aşamada germ hücrelerinin kromozom içeriği gösterilmiştir.Kromozomların toplam sayısı gösterildikten sonra,bu sayının içindeki cinsiyet kromozomu virgülden sonra belirtilmiştir.1:İki mayoz bölünmeden sonra diploid (46) kromozom sayısı habloid (23) sayıya düşer.2:Bir tane spermatozitten dörten sperm oluşmasına karşın bir primer oositin olgunlaşmasından sadece bir olgun oosit oluşur.3:Oogenezis sırasında sitoplazma büyük bir hücre (olgun oosit yada ovum) oluşturmak için korunur.Polar cisimcikler küçük işlevsel olmayan hücrelerdir,dejenere olarak ortadan kaldırılırlar.

2.2.1. Spermatogenez

Spermatogonyumdan, spermatozoon oluşumuna kadar erkek tohum hücrelerinin gösterdiği histolojik süreç spermatogenez (spermatonezis) olarak adlandırılmaktadır. Yeni doğan bir erkek çocukta seminifer tübüllerde bol sertoli hücresi ve daha az sayıda spermatogonyum bulunmaktadır. Puberteye yaklaştıkça (cinsel olgunluk dönemi) spermatogonyumların sayısı artmaktadır. Puberte ile birlikte spermatozoa üretilmeye başlamaktadır. Bu üretim 45 yaşa kadar aktif olarak sürmektedir. 45 yaştan sonra da azalarak yaşam boyu devam etmektedir.

Spermatogenez olayını daha anlaşılır biçime sokmak için 3 döneme ayırmak gerekmektedir. Bunlar;

-Spermatositogenezis: İlkel erkek cins hücrelerinin (spermatogonyumların) primer spermatositlere farklılaşmasıdır.

-Mayoz Bölünme: Primer spermatositlerin bölünüp sekonder spermatositlere dönüşmesi onlarında farklılaşarak spermatidleri oluşturduğu dönemdir.

-Spermiyogenezis: Spermatidlerin spermiyumlara farklılaşması olayıdır²⁴.

Sperm üretimi oldukça uzun ve karmaşık bir süreçtir. 72 günlük sikluslar halindeki insan spermatogenezisi pubertede başlamaktadır, yaşam boyunca sürmektedir. Germ hücrelerinin çeşitli aşamalardan geçtikten sonra sperm hücresi haline gelmesi "spermatogenez" olarak adlandırılmaktadır. Bu süreç içinde germ hücreleri mayoz bölünme sonrası 46 kromozomlu diploid halden 23 kromozomlu haploid hale gelmektedirler ve yine 23 kromozom içeren haploid yumurta hücresi ile birleşerek yine 46 kromozomlu yeni bir bireyin oluşmasına olanak sağlamaktadır.

Spermatogenez proliferasyon fazı, redüksiyon-bölünme fazı ve farklılaşma fazı olmak üzere üç aşamada incelenmektedir. Her aşamada hücreler spermatogonia, spermatozoon, spermatid gibi farklı isimler almaktadırlar^{25,26,27,28}.

Testis dokusu, içinde kan damarları, sinir lifleri ve kas hücreleri içeren bir kapsül tarafından çevrelenmiş (skrotum) bir yapının içindedir. Spermatogenez, testiste seminifer tübüllerin içinde gerçekleşmektedir. Her bir testis içinde yaklaşık 500 seminifer tübül bulunmaktadır ve tek bir tübülün uzunluğu 30-70 santimetredir. Seminifer tübüller testis hacminin yaklaşık %80-90'ını oluştururlar. Bu nedenle testis hacmi kabaca sperm üretim potansiyeli hakkında fikir vermektedir^{29,30,31,32}.

Seminifer epitel farklı tip hücre grupları içermektedir. Germ hücreleri sperm yapımından sorumluyken sertoli hücreleri germ hücrelerinin etrafında destek dokusunu oluştururlar. Testislerde bulunan bir diğer hücre türü de erkek seks hormonu olan testosteron yapımını sağlayan Leydig hücreleridir. Seminifer tübül içinde spermatogenezin tüm aşamalarındaki öncül hücreleri bulunmaktadır. Farklılaşma fazını tamamlayan hücreler seminifer tübül içine salınmaktadırlar. Bu nedenle testisin farklı kesimlerindeki alanlarda gelişimin değişik evrelerindeki sperm üretimi devam eder. Germinal hücreler; spermatogonyum, spermatozoon, spermatid ve spermatozoonlardır³³. Bunlar primordial germ hücrelerinden köken alan gonositlerden kaynağını alırlar. Hem dişide hem de erkekte ilk primordial germ hücreleri 4. haftada endodermal duvarda gelişerek gonad taslaklarına doğru yol alır. Gonadların oluşmasını işaret eden ilk belirtiler 5. haftada başlar. Seminifer tübül bazal membranı üzerinde oturan spermatogonyumlar, küçük diploid germ hücreleridir, puberteye kadar bölünmezler³⁴. Doğumdan önceki dönemde ortaya çıkan germ hücrelerinde üç tür spermatogonyum gelişir. Bunlar açık tip A (Ap), koyu tip A (Ad) ve B tipi spermatogonyumlardır. B tipi spermatogonyumlar primer spermatozoonlarla süreklilik sağlar. Yani tip B spermatogonyumların son mitoz bölünmesinden sonra primer spermatozoonlar ortaya çıkar. Gonositlerden üreyen ilkel spermatogonyumun ileri derecede özelleşmiş spermatozoon haline gelinceye kadar geçirdiği sürece spermatogenez denir. Spermatogonyumlar, açık veya soluk A tipi

spermatogonyumlar B tiplerinden daha azdır. Oval veya yuvarlak şekilli bu hücreler her zaman bazal lamina üzerine otururlar. Hücre şekline uyum gösteren yuvarlak veya oval çekirdeği ince kromatinlidir. Genelde tek bir nukleolus görülür. A tipi spermatogonyumların sitoplazmasında organeller dağınıktır. Açık A tipi spermatogonyumlar yedek hücrelerdir. Gerektiğinde spermatogenezi başlatmak için devreye girerler³⁵.

Koyu A tipi spermatogonyumların bir türü de bazal lamina ile bağlantıları en çok olan, uzamış spermatogonyumlar olarak tarif edilmiştir. Bunlar koyu bazofilik boyanan, oval heterokromatik nukleuslara sahip, küçük hücrelerdir. Seminifer epitelyumun kök ya da rezerv hücreleri olarak değerlendirilirler. Düzensiz aralıklarla bölünerek, hem yeni tip A spermatogonyumları, hem de açık tip A hücreleri meydana getirirler. Sitoplazmik organeller açık tiplerden pek farklı değildir³⁶.

Spermatogonyumların en çok bulunan tipi B tipi spermatogonyumlardır. Bunlar da bazal lamina üzerine otururlar. Fakat bazal lamina ile bağlantıları daha azdır. Hücrelerin çekirdeği merkezi olarak yerleşmiş ve yuvarlak şekillidir. Çekirdekte bir ya da iki koyu boyanan çekirdekçik bulunur. Sitoplazmada diğer A tiplerine göre daha fazla ribozom bulunur. Oval yerine yuvarlak olan nukleusları dışında açık tip A spermatogonyumlara benzerler. Mitozla bölünerek primer spermatositleri meydana getirirler. Soluk veya açık A tipi spermatogonyumlar kök hücrelerdir. Bunlar bölünerek hem yeni soluk A tipi spermatogonyumları yaparlar hem de koyu tip hücreleri oluştururlar. Koyu A tipi hücrelerde B tipi hücreleri oluşturmak için bölünürler. B tipi spermatogonyumların son mitotik bölünmelerinden sonra primer spermatositler ortaya çıkarlar. İlk ortaya çıkan primer spermatositlerin uzun profaz dönemleri olduğundan artan bir yoğunlaşma gösterirler. Bu hücreler mayoz bölünmenin preleptoten, leptoten, zigoten, pakiten ve diploten safhalarını geçirerek sekonder spermatositlere dönüşürler. Bunlar de ikinci bir mayoz bölünme geçirerek haploid kromozom setine sahip olan spermatidleri oluştururlar. Spermatidler herhangi bir bölünme geçirmeden, bir seri değişiklikler geçirerek

spermatozoonu, onlar da tipik şekilli eriskin spermleri meydana getirirler. Spermatisitler de birbirleri ile sitoplazma köprüleri aracılığı ile bağlıdır. Bu özellikler spermatidlerde de devam eder. Böylece kardeş hücrelerle birlikte davranmak için fiziksel bir süreklilik sağlanır³⁶.

B tipi spermatogonyular, mayoz bölünme geçirecek olan spermatisitlere dönüşürler. Spermatidler spermatisitlerin ikinci mayoz bölünmelerinden sonra haploid kromozoma sahip spermatidler oluşur. Erken dönemde spermatidler nispeten küçük, küresel şekilli hücrelerdir. Nukleusları ince kromatinlidir, arada yoğun kromatin yumakları vardır. Nukleus kısa sürede daha da küçülür. Sitoplazmada dağınık düz endoplazmik retikulum, küçük ve periferde dizili, yuvarlak, kristası belirgin olmayan mitokondriyumlar ve iyi gelişmiş golgi kompleksi görülür. Granüllü endoplazmik retikulum azdır. Küçük ve hücre zarı altında dizilmiş mitokondriyumlar spermatid sitoplazmasının tanınmasını kolaylaştırır. Nukleus yakınında tipik, kitle halinde kromatin cisimciği görülür. Bu yapı düzensiz, koyu, fibrilli ve granüllü sahalar içerir, ribonükleoproteinden zengindir. Çekirdek ve sitoplazmasında bir seri değişiklikler gösteren spermatidde, birbirini takip eden fazlar izlenir. Spermatid olgunlaşması sırasındaki değişiklikler türlere göre farklılıklar gösterse de genel özellikleri ile hemen hemen aynıdır. Spermatiddeki değişiklikler sonucu oluşan türe özgü genetik özellikleri taşıyan hücre spermiumdur³⁵.

2.2.2. Oogenez

Overler, dışıde gametlerin üretilmesi (gametogenesis) ve steroid yapıdaki hormonların sentezlenip salgılanmasıyla yükümlüdür. Overlerden olgun bir oositin oluşturularak atılması (ovulasyon) pubertede başlamaktadır ve menapoza kadar devam etmektedir. İnsanda ovulasyon menstürasyonun başlangıcından itibaren 13-14. Günlerde gerçekleşmektedir ve her 28 günde bir oositin atılmasıyla tekrarlanan bu olaylar menstüreal siklus olarak bilinmektedir. Menstüreal siklus 3 fazdan oluşmaktadır.

1-Folikül büyüme ve gelişimin görüldüğü foliküler faz,

2-Ovulasyon

3-Korpus Luteum (KL) oluşumuyla birlikte durağan bir sürecin gözlemlendiği luteal faz³⁷.

2.3. Fertilizasyon

Fertilizasyon yeteneğine sahip sperm hem maturasyon hem kapasitasyon işlemini sperm yumurta füzyonundan önce tamamlamalıdır. Maturasyon epididimlerde, kapasitasyon ise dişi üreme sisteminde meydana gelmektedir. Sperm başı 3 bölgeden oluşmaktadır;

1. Kondanse çekirdek: DNA'yı içermektedir.

2. Akrozomal kese: 3 bölgeden oluşmaktadır. Dış akrozomal membran, iç akrozomal membran, hidrolitik enzimler (hyaluronidaz, akrozin). Akrozomal kesenin incelmış bölgesi kuyruğa doğru uzayarak ekvatoryal segmenti oluşturur.

3. Plazma membranı: ZP'e kuvvetli bağlanma yatkınlığına sahip sperm reseptörleri (ZP 3 glikoproteinine bağlanır) ve fertilin içermektedir. Fertilin, disintegrin protein ailesindedir. Fertilin akromozomun ekvatoryal bölgesinin ön tarafındaki sperm plazma membranının içinde yerleşmiştir.

Fertilizasyonda 4 olay meydana gelir:

1. Akrozom reaksiyonu: Plazma membranı ile dış akrozomal membran birleşir ve akrozomal enzimler açıklıklara doğru eksozitozla salınır. Korona radiataya yakın olan sperm akrozomundan hyaluronidaz salgılar ve bu enzim korona radiata hücreleri arasında bulunan hücreler arası maddeleri eritir.

2. ZP 3'e sperm bağlanması: İlk sperm ZP 3'e bağlanır. Bu bağlanma iç akrozomal membrandan akrozim salınımına neden olur. Akrozim sperm başının zona pellusidaya girişini kolaylaştırır.

3. Sperm yumurta füzyonu: ZP'i geçen ilk sperm, oositin plazma membranı ile birleşir. Oolemma altındaki kortikal granüllerin Ca^{+2} bağımlı eksozitozunu uyarır. Ca^{+2} aracılığı ile bu granüllerden salınan proteazlar sayesinde ZP 3'ten karbonhidratlar uzaklaşır ve başka bir sperm bağlanmasını önlemek için ZP 3, ZP 2'den kısmen ayrılır.

4. Plazma membran füzyonu: Sperm plazma membranında bulunan disintegrinlerce meydana gelir.

2.3.1. Spermde Meydana Gelen Değişiklikler

Spermde meydana gelen değişiklikler; kapasitasyon, hiperaktivasyon ve akrozom reaksiyonu başlıkları altında incelenmektedir.

2.3.1.1. Kapasitasyon

Kapasitasyon, sperm fertilizasyon yeteneği kazanabilmesi için dış genital kanalı içinde geçirdiği dönemdir. Bu dönem insanda yaklaşık 7 saat sürer ve bu olayın büyük bir kısmı fallop tüpleri içinde gerçekleşmektedir³⁸. Kapasitasyon

olayında serin-treonin fosforilasyonunun rolü tam olarak bilinmemekle birlikte, kapasitasyon ve tirozin fosforilasyonunun artışı arasında bir korelasyon olduğu bilinmektedir. Kapasitasyon, sperme kolesterol girişi ile bağlantılı olan prolin kontrolündeki fosforilasyonun artışıyla bağlantılıdır. Prolin tarafından gerçekleştirilen fosforilasyon (Proline-directed phosphorylation) hücre çoğalması ve farklılaşması gibi pek çok hücrel olaydaki fosforilasyonun en büyük düzenleyicilerinden biridir³⁹.

Kapasitasyon esnasında endometriyal hücrelerden sekrete edilen interlekin-6 (IL-6) spermin fertilizasyon yeteneğini olumlu yönde etkiler, kapasitasyonu artırır. IL-6 etkilerini muhtemelen en çok, sperimde bulunan IL-6R α reseptörüne bağlanmak suretiyle meydana getirmektedir⁴⁰. Bazı kapasitasyon önleyici faktörler erkek genital kanallarında ve dişi genital kanallarında ilerleyen spermin erkenden kapasitasyon yeteneği kazanmasını önlerler. Kapasitasyon esnasında bu faktörler spermden uzaklaştırılır ve sperm ampullaya ulaştığında fertilizasyon yeteneğini kazanmış olurlar⁴¹. Kolesterol sperm motilitesini azaltmakta ve kapasitasyonun başlamasına engel olmaktadır. Bu nedenle kapasitasyonun başlatılmasındaki en önemli etken sperm membranından kolesterolün bağlanarak dışarı alınmasıdır⁴². Kalsiyum, kinaz, cAMP, G-protein ve redoks bağımlı bir olay olan kapasitasyonun⁴³ gerçekleşebilmesi için ortamda kalsiyum, bikarbonat, serum albumin, glikoz ve enerji kaynakları bulunmalıdır. Kapasitasyon olayında ikinci mesajcı olarak cAMP rol oynar. Protein kinaz A, hücre içinde gerçekleşen kapasitasyondan sorumludur ve inhibisyonu da kapasitasyonu bloke eder. Kapasitasyon gerçekleşirken meydana gelen diğer bir olay tirozin fosforilasyonunun artmasıdır. cAMP bu fosforilasyonda rol alan önemli bir enzimdir. cAMP bağımlı sinyal mekanizması ve ROS (serbest oksijen türevleri) ürünleri tirozin fosforilasyonunu başlatır. Bu sırada Ca²⁺ artışı da gözlenir^{44,45}. Tirozin ile fosforile edilen proteinler insan spermde ZP3 için reseptör görevi yapmaktadırlar⁴⁶. Bu proteinler akrozomda bulunur ve tirozin kinaz aktivasyonu gösterirler. Zona pellusidadaki proteinler ile temas ettiğinde tirozin kinaz aktive olur, tirozin fosforillenir ve fosfotirozin oluşur. Sperm membranında bulunan AKAP (A-kinase

anchor protein) adı verilen diğeri bir protein de kinaz aktivitesi gösterir ve zona pellusida proteinleri için reseptör görevi görür. Spermle dişi üreme kanallarını döşeyen epitel hücreleri arasında bir etkileşim olur, sperm akrozomal bölgesini örten plazma membranı üzerindeki glikoprotein kılıf ve seminal plazma proteinleri ortadan kaldırılır. Ancak kapasitasyonunu tamamlayan bir sperm korona radyata hücreleri arasından geçerek akrozom reaksiyonuna girebilir³⁸.

2.3.1.2. Hiperaktivasyon

Ejakulasyon sonrasında spermatozoonlar düzgün doğrusal hareket etmektedirler. Kapasitasyon sırasında ise sadece hiperaktif hareketler gözlenmektedir. Hiperaktivasyon sonucu spermatozoonların kuyruklarında kamçı benzeri hareketler gözlenir. Hiperaktivasyonun oluşumu ise spermatozoonların kalsiyum alımıyla ilgilidir.

2.3.1.3. Akrozom Reaksiyonu

Zona pellusida oogenezis esnasında oosit ve folikül hücreleri arasındaki ilişkiyi destekler, gelişimleri boyunca oositleri, yumurtaları ve embriyoları korur. Ayrıca fertilizasyon anında ve sonrasında ovulasyonla atılmış yumurta ve sperm arasındaki etkileşimi de kontrol eder. Zona pellusidası eksik bir yumurtaya sahip dişiler infertilidirler. Fertilizasyon sürecinde zona pellusidanın fonksiyonları, üzerindeki glikoproteinler tarafından gerçekleştirilir⁴⁷. Bu glikoproteinler, glikozilasyon ve sülfatasyonu kapsayan yoğun post-translasyonel modifikasyonlara bağlı olarak heterojenite gösteren ZP1, ZP2 ve ZP3'tür⁴⁸. Bu glikoproteinler sperm reseptörü olarak fonksiyon görürler. ZP3 molekülünün sperm reseptörü olarak fonksiyon görmesi fertilizasyon olayının birinci basamağında anahtar rol oynar. Sperm oosite bağlandıktan sonra ZP3, sperm akrozom reaksiyonunu tetikler⁴⁹. ZP2 sadece akrozom reaksiyonunun indüklenmesinden sonra sperm bağlayan sekonder sperm reseptörü olarak fonksiyon görür⁵⁰. Sperm baş kısmının 2/3'lük bölümünü

kaplayan akrozomun içinde akrozin ve hyaluronidaz enzimleri vardır. Kapasitasyon yeteneğini kazanan spermin zona pellusidaya penetre olabilmesi için akrozom reaksiyonuna uğraması gerekir. Sperm zona pellusidaya bağlandığında spermin başında bulunan spesifik reseptörler aktive olur ve ekzositoz gerçekleşir. Sperm plazma membranı ile dış akrozomal membran birleşince akrozom içeriği dışarı çıkar. Akrozom reaksiyonunu geçirmeyen bir sperm zona pellusida veya oolemmaya bağlanamaz⁵¹.

Somatik hücrelerde fosfoinozid-3 kinaz' ın (phosphoinositide 3-kinase-PI 3-kinase) aktivasyonu hem reseptör tirozin kinaz (RTK) hem de G-proteinleri ile etkileşime girmesi sonucu gerçekleşir. G-proteinler, RTK, inozitol fosfolipidler ve fosfoinozitol 3-kinaz insan sperm akrozom reaksiyonunda yer alırlar. Fosfoinozitol 3-kinazın selektif bir inhibitörü olan Wortmannin'in insan sperm akrozom reaksiyonunu büyük ölçüde inhibe ettiği de gösterilmiştir⁵². Sperm akrozom reaksiyonu, spermin yumurta ile kaynaşması için ön şarttır. Tamamlanmış akrozom reaksiyonu akrozomal vezikülün ekzositozunu ve akrozomal aktinin polimerizasyonunu içerir. Deniz kestanelerinde yapılan bir çalışmada, yumurta jelinin fukoz sülfat polimerinin (FSP), Ca²⁺'un iki farklı kanal içinden içeri girmesini uyardığı ve tamamlanmış akrozom reaksiyonunu indüklediği gösterilmiştir. İkinci kanal, depo kontrollü (store-operated) bir kanal olup akrozomal vezikülün ekzositozunu başlatır⁵³. Akrozom reaksiyonu, tripsin benzeri maddeleri ve akrozini de içeren bazı enzimlerin salgılanmasıyla en üst noktaya ulaşır³⁸. Ancak akrozom reaksiyonunu tamamlayan bir sperm zona pellusidayı geçebilir⁵⁴. Anjiyotensin dönüştürücü enzim (Angiotensin converting enzyme-ACE) spermin akrozomunda bulunur ve muhtemelen akrozom reaksiyonunu ve fertilizasyonu indükler. Kapasitasyonunu tamamlamış olan spermler korona radyata ile temas ettiklerinde akrozomda delinmeler olur. Spermin plazma membranı ile akrozomun dış membranı pek çok noktadankaynaşır. Bu kaynaşma noktalarında sperm plazma membranında delinmeler olur ve akrozom içindeki enzimler dışarıya verilir. Bu enzimlerden; hyaluronidaz spermin korona radyataya penetrasyonunu, tripsin benzeri maddeler zona pellusidanın sindirimini ve zona lizin ise spermin zona pellusidayı geçmesini

kolaylaştırır. Son zamanlarda spermin akrozomal kılıfı üzerinde sperm akrozom antijeni-1 (SAA-1) adı verilen bir antijen tespit edilmiştir. Monoklonal antikor tekniği kullanılarak analiz edilen bu antijenin akrozom reaksiyonunda önemli rolü olduğu ortaya konmuştur. İnfertil hastalarda, spermler immünfloresan veya RIA ile analiz edildiğinde sperm SAA-1 değeri fertillere göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. SAA-1 değerindeki düşüklük ile sperm morfolojisi arasında ise bir ilişki gösterilememiştir⁵⁵.

2.3.2. Oositte Meydana Gelen Değişiklikler

Oositte meydana gelen değişiklikler; kortikal reaksiyon, zona reaksiyon ve oosit aktivasyonu başlığı altında incelenmektedir.

2.3.2.1. Kortikal Reaksiyon

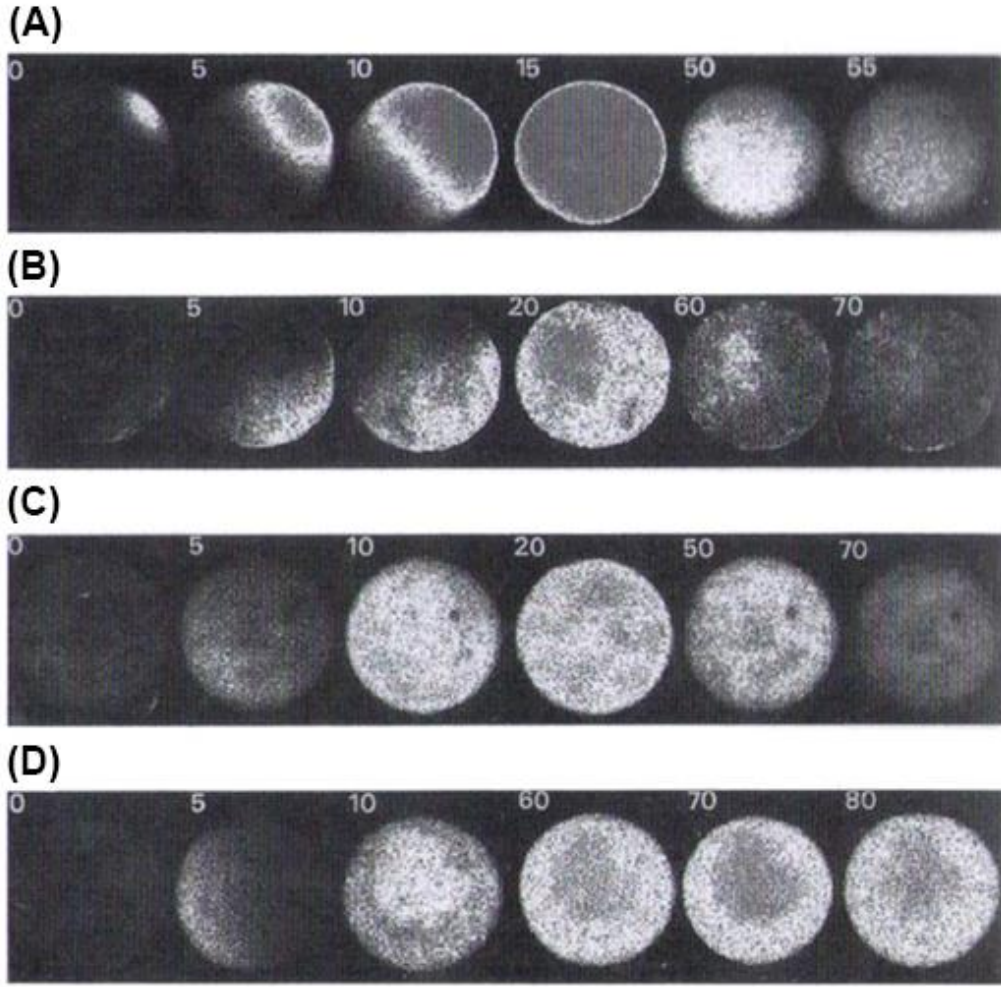
Akrozomun en önemli özelliği, “ekvatoryal segment” denilen bölümde içerdiği akrozomal enzimlerdir. Bu enzimlerden en önemlisi hyalüronidaz olup spermin kümülüs ooforusu geçmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Kümülsü geçen spermatozoa, zona pellucida’ya sıkıca bağlanır. Bu aşama spermin membran reseptörleri ile zona pellucida arasındaki etkileşimler açısından önemlidir. Zona pellucidaya bağlanmış sperm, akrozom reaksiyonuna başlar. Böylece ekvatoryal segment denen akrozomal bölgenin alt kısmındaki bölümde yoğunlaşmış diğer akrozomal enzimler ve kapasitasyon ile hiperaktive olmuş sperm hareketliliği sayesinde sperm zona pellucidayı geçer ve perivitelline boşluğu geçip ooplazmaya tutunur. Bu ilk tutunma, ekvatoryal segmentin hemen üzerindeki bölümde meydana gelir. Bu tutunma sonrasında sperm ile oolemma arasında füzyon gerçekleşir ve spermin membranı eriyerek sperm oosit plazma membranının bir parçası haline gelir. Kortikal reaksiyonu; SP zarındaki fertilin ile oolemmadaki integrinler ile birbirine bağlanmaktadır. SP’nin baş, orta ve kuyruk parçası içeri girmektedir. SP’nin oolemma’ya teması sonucunda Ca^{+} artışı gerçekleşmektedir.

2.3.2.2. Zona Reaksiyon

Zona reaksiyonu; döllenme esnasında devam eden akromozal faaliyetler ve akrozin enziminin etkisi sonucu spermatozoon zona pellucidayı delip geçtikten sonra spermatozoonun plazma zarı, vitellin zara yapışıp onu eriterek birleştiği zaman vitellin zarın tam altında bulunan kortikal granüllerin de vitellin zar ile birlikte eriyip kaynaşarak içeriğini perivitellin aralığa boşaltması sonucu kortikal granüller gözden kaybolurken zona pellucidanın katılması ve içerisindeki sperm almaçlarının tahrip edilmesi reaksiyonuna verilen ad olarak tanımlanmaktadır.

2.3.2.3. Oosit Aktivasyonu

Fertilizasyondan sonra embriyonel gelişimin ilk aşaması kalsiyum iyon (Ca^{2+}) salınışı ile olan oosit aktivasyonudur. Bu aktivasyon aracılığı ile kapasitasyon ve embriyo gelişimi ile ilişkili olarak polispermi önlenir; mayoz tamamlanır ve pronükleus formasyonu sağlanır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, Ca^{2+} iyon salınışının testiste spesifik fosfolipaz C zeta (PLC ζ) izoenzimi ile sağlandığı gösterilmiştir. Bu enzim aktivasyonu ile hücre içi Ca^{2+} sinyal yolağı aktive olur ve inozitol 1, 4, 5-trifosfat (InsP3) ile membran fosfolipid uyarımı; fosfotidil inozitol 4, 5 bifosfat (PIP2) ile sitoplazmik Ca^{2+} salınışı gerçekleşir. Yetmiş kilo dalton ağırlığındaki PLC ζ izoenziminin dört EF bağlanma bölgesi vardır ve bunlar X, Y ve C2 bölgeleri olarak adlandırılır. Yapılan çalışmalar anormal PLC ζ aktivasyonunun oosit içi Ca^{2+} salınışı yetersizliği ve bozulmuş aktivasyona bağlı başarısız ICSI uygulamaları ile sonuçlandığını ortaya koymaktadır. Yine yapılan çalışmalarda, PLC ζ H233L ve PLC ζ H938P olmak üzere iki farklı PLC ζ mutasyonu tanımlanmıştır. Bu yüzden PLC ζ yokluğunda normal (Wild Type=WT) PLC ζ 'nin tedavide kullanılabileceği belirtilmektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda mutant PLC ζ varlığında WT- PLC ζ ile oosit aktivasyonunun sağlandığı ve embriyo gelişiminin uyarıldığı ileri sürülmüştür⁵⁶.



Resim 1: Sperm tarafından indüklenen hücre içi kalsiyum konsantrasyon artışları ve protein kinaz C (PKC) aktivasyon ve engellenme etkilerinin konfokal mikroskop görüntüleri⁵⁷. Oositler hücre içi kalsiyum göstergesi Fluo-3 ile işaretlendikten sonra floresan mikroskop ile görüntülenmiştir. Floresan şiddetindeki değişiklikler en düşük değeri siyah olarak kodlayan renk skalasına göre çevrilmiştir. (A) PKC değişimi olmadan sperm sebebiyle kalsiyum artışı (kontrol), (B) spermatozoayla karşılaşmadan önce PKC aktivatörü 4- β -phorbol 12-myristate 13-acetate ile işleme tabi tutulmuş oositteki ilk sperm sebebiyle kalsiyum artışı. (C) Spermatozoaya maruz kalmadan önce PKC inhibitörü chelerythrine ile işleme tabi tutulmuş oositteki ilk sperm sebebiyle kalsiyum artışı (D) PKC inhibitör chelerythrine'e maruz kalmış oositin sperm penetrasyonundan sonra devam eden bir kalsiyum artışı serisi.

2.4. Pronükleusların Oluşumu

2.4.1. Erkek Pronukleuslarının Oluşumu

Oosit sitoplazması içine giren spermin nükleer içeriği dağılır ve kromatin hızlı bir şekilde sıkıca paketlenmiş durumdan gevşek bir duruma geçer. Spermin kuyruğu ve mitokondrisi dejenere olur. Spermin (ve yumurtanın her ikisinin) kromatininin nükleer membran içinde küçülmesiyle erkek pronükleus oluşur⁵⁸.

Erkek pronükleusların oluşumu üç evrede meydana gelmektedir. Bunlar;

-Spermatozoona ait çekirdek zarının erimesi,

-Yoğunlaşan spermatozoon kromatininin sitoplazmada genişlemesi,

-Pronükleus zarını oluşturmak üzere nükleer zarın yeniden şekillenmesi olarak sıralanmıştır.

2.4.2. Dişi Pronukleuslarının Oluşumu

Perivitellin aralığa çıkan enzimler zona pellusida üzerindeki sperm reseptörlerini sindirir ve zona pellusidanın diğer spermilere geçirgenliğini engeller. Başka sperm de zona pellusidaya gömülmüş olsa bile bu sayede tek bir sperm zona pellusidayı geçip oositin içine girebilir⁵⁹. Bu aşamada bölünmenin metafaz 2 safhasında bekleyen oosit sitoplazması, spermin girmesiyle aktive olur ve sekonder oosit ikinci mayoz bölünmeyi tamamlar. Böylece olgun oosit yani ovum ve ikinci polar cisimcik oluşur. Bu andan itibaren ovumun nükleusuna dişi pronükleus adı verilir⁶⁰.

2.5. Fertilizasyon Anomalileri

IVF (In vitro fertilizasyon) uygulamaları son 20 yılda gittikçe artmaktadır. ICSI (intrasitoplazmik spermatozoon enjeksiyonu) ise 1992 yılından beri yapılmaktadır. Klasik IVF'te oosit başına 50.000-100.000/ml'de normal spermatozoonla döllenme işlemi yapılırken, ICSI işlemiyle tek bir spermatozoon, oosit sitoplazması içine bırakılmaktadır. Döllenmenin düzgün bir biçimde olması için oositin spermatozoon tarafından aktive edilmesi gereklidir. ICSI işleminde oosit aktivasyonu ovolemanın mikropipetle delinmesi ve ovoplazmanın şiddetli bir şekilde aspire edilmesiyle olmaktadır. ICSI de döllenme oranı %40-70 dir. ICSI veya Klasik IVF ile döllendirme işlemi sonrası 19-20. saatte pronükleusların görülebildiği evreye pronükleer evre adı verilmekte ve oluşan yapıya prezigot denmektedir. Fertilizasyon anomalilerinin değerlendirilmesinde 2 pronükleusun görülmesi gerekmektedir.



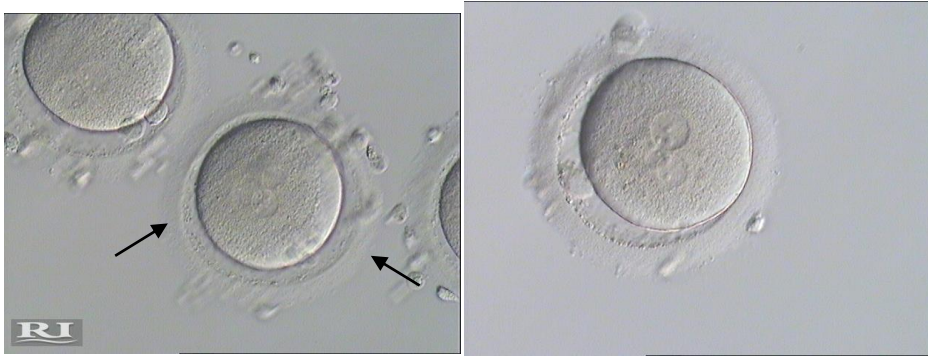
Resim 2: Merkezimizde çekilen iki pronükleusa sahip fertilize oosit (İnvert mikroskop ile X40 büyütmede)

2.5.1. Total Fertilizasyon Kusurları (Tff)

Tümüyle dölleme yetmezliği zona pellusidaya tutunan spermatozoon varlığı araştırılmaktadır. Tutunma yoksa reseptör problemi olabilmektedir.

2.5.2. Polispermik Fertilizasyon

Oosit sitoplazmasında dölleme kontrolü esnasında 2 pronükleus yerine 3 pronükleus görülmesidir. Triploidi 2 spermatozoonla dölleme sonucu oluşur. 4- 5 pronükleus (multipronükleer=polipoidi)) görülebiliyorsa da bunların bazılarının vakuol olduğu elektron mikroskobu ile gösterilmiştir. Yardımla üreme tekniklerinde triploidi %5-10, poliploidi ise %1-3 oranında görülmektedir. Polispermik dölleme sonrası gelişen 3 pronükleuslu zigotun yarıklanma bölünmeleriyle embriyonal gelişimi normal döllenen 2 pronükleuslu zigotların embriyonal gelişiminden ayırd edilemez. Bu nedenle döllendirme işlemi sonrası dölleme kontrolü zamanında (19-20.saatte) yapılmalıdır ve zigot singamiye girmeden önce pronükleus sayısı mikroskop altında tam olarak belirlenmelidir. Zira normal döllemeyen 3 ve daha fazla pronükleus içeren zigotlar embriyo transferinde kullanılamayacağı için hemen imha edilmelidir⁶



Resim 3: Merkezimizde çekilen üç pronükleusa sahip polispermik fertilizasyona örnek oositler.(İnvert mikroskop ile X40 büyütmede)

2.5.3. Monopronükleus Oluşumu

Döllenme kontrolünde 2 yerine 1 pronükleus olmasıdır. % 5-10 görülür. 4-6 saat IVF kültüründe bırakılıp tekrar incelendiğinde %25' inin 2 pronükleuslu olduğu görülmüştür (gecikmiş döllenme). Pronükleusların kaynaştığı singami aşamasında da 1 pronükleus görülebilir. Böyle zigotlar mitoz bölünme öncesindedirler ve aslında normal döllenmiş olabilirler. 1 pronükleuslu zigotlarda yapılan genetik incelemelerde; - %80' inin normal döllenmiş, -%10' unun haploidik ve - %5' inin triploidik olduğu gösterilmiştir⁶¹.



Resim 4: Merkezimizde çekilen bir pronükleusa (mono pn) sahip oosit (İnvert mikroskop ile X40 büyütmede)

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Madde Ve Çözeltiler

Global	(Life Global LGGG 50)
Global Hepes	(Life Global LGGH 50)
All Grad %100	(Life Global AGSS 100)
All Grad Wash	(Life Global GALW 100)
Paraffin Oil	(Life Global LGPO 100)
Protein Supplement	(Life Global LGPS 20)
PVP	(Life Global LPVP 2)
Hyase – 10X	(Life Global LGHY-150521E)
HTF w/HEPES	(Life Global GMHH 100)
GM508 Cult-Active	(Gynemed Ca ionofor)
HCG	(Human Chorionic Hormon)

3.2. Çalışma Grubu

3.2.1. Hasta Seçimi

Bu çalışmada Maslak IVF merkezinde birden fazla tekrarlayan IVF başarısızlığı olup tüp bebek uygulaması yapılan ve herhangi bir kadın endikasyonu bulunmayan 100 hastanın ikigruba ayrılarak incelenmesi göz önünde bulundurulmuştur. Hastaların 50' sinin oositlerine mikroenjeksiyon sonrası 15 dk. Ca⁺⁺iyonofor uygulanmış,50'sinin oositlerine mikroenjeksiyon sonrası Ca⁺⁺ iyonofor uygulanmamıştır.

3.3. Hastalara Uygulanan İşlemler

Çalışmaya alınan hasta grubumuza birden fazla oosit elde edebilmek amacı ile Antogonistovaryanstimulasyon protokolü uygulandı. Stimülasyon sırasında 5- 6.günlerinde gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH),3.günde FSH uygulandı. Olgunlaşanoositlerüriner insan koryonik gonadotropini(hCG) yapılarak, enjeksiyondan ortalama 36-40 saat sonra toplandı. Tedaviye alınan tüm hastalara eşit koşullarda aynı işlemler uygulandı.

3.3.1. Sperm Hazırlama

Tüm hastaların oosit toplama (OPU) günü mastürbasyon yoluyla toplanan semenörnekleri gradient yöntemiyle hazırlandı. Bu işlemde %90 ve %50'lik gradient medyumları(All Grad%100 Life Global) hazırlandı. Konik tüpün altına sırasıyla 0,5 ml %90'lık üzerine0,5 ml %50'lik spermgrad medyumu ve bunların üzerine de 0,5 ml semen örneği konuldu.Tüpler 2000 rpm de 12 dakika santrifüj edildi. Bir pipet yardımı ile gradient ve sementabakaları geçilerek diptekipellet alındı ve temiz bir tüpe aktarılıp 1 ml yıkama medyumu(All Grad Wash Life Global) ile karıştırılıp 1000 rpm de 10 dakika

santrifüj edildi. Tekrar süpernatant alınarak sperm sayısına bağlı olarak 0.5-1 ml pellete kültür medyumueklenerek, %5 CO₂ ortamlı inkübatöre kaldırıldı.

3.3.2. Oosit Toplama İşlemi (OPU)

Oosit toplanması işlemi transvajinal ultrasonografi eşliğinde genel anestezi altında, çift yadatek lümenli steril iğne kullanılarak yapılır. Foliküler sıvıda oosit aranması laminar air flow altındaki stereomikroskop yardımı ile gerçekleştirilir. Otomatik aspirasyon pompası ile ısıtıcı demir bloklar içinde önceden ısıtılmış tüplere aspire edilen folikül sıvısı, laminarflow'un ısıtılmış yüzeyinde duran büyük petri kaplarına (NUNC 150370) dökülür. Oosit bulunduğu, pastör pipeti ile oosit korona kumulus kompleksi alınır ve bir gün önceden etüve konulan üzeri yağ ile kapatılmış Global HEPES (+HSA eklenmiş.) solüsyonuna kaldırılır. İşlem sırasında oosit kalitesini ve embriyo gelişimini etkileyebilecek olan ısı, osmolarite ve pH değişimlerini en aza indirmek için, oositler en kısa zamanda kültür medyumuna alınıp inkübatöre kaldırılır.

3.3.3. Oosit Soyma İşlemi (Denudasyon)

Oositlere, OPU işlemini takiben 1 saatlik inkübasyon süresi sonunda 1/3 oranında hyalüronidaz enzimi içeren Global HEPES medyumunu ile hazırlanmış dishlerde 10 saniye süreyle pipetleme işlemi uygulanır. Kumulus hücrelerinden temizlenen oositler hyalüronidaz enziminden kurtarılma amacıyla temiz damlalara alınarak pipetleme işlemine devam edilir. Pipet çapı azaltılarak oositlerin etrafındaki tüm kumulus hücrelerinin temizlenmesi sağlanır. Pipetleme işlemi sonrası İvert mikroskop da maturasyon değerlendirilmesi yapılır. I. polar cisimciği bulunan oositler metafaz II olarak değerlendirilir ve işlem yapılmak üzere tekrar inkübatöre kaldırılır.

3.3.4. Mikroenjeksiyon İşlemi (ICSI)

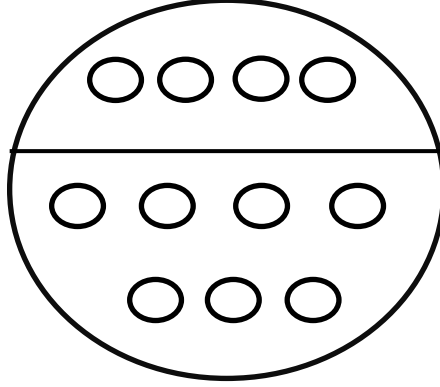
Oositlerin denudasyon işleminden 45 dakika sonra Hoffman modülasyonu olan invertedmikroskopun ısıtıcı tablası üzerinde X400 büyütmede motil spermier seçilir.1215 mikrometre çapında mikropipetler ile hareket eden spermier toplanarak, sperm immobilizasyonunu sağlayan PVP'de ani bir hareketle sperm kuyruğunun kıvrılması ve sperm membranının zedelenmesi sağlandı.

Bu işlem in vitro ortamdaspermin kapasitasyon özelliğini kazanması için gerçekleştirilir. Mikroenjeksiyon pipeti ile alınan sperm, oositin bulunduğu damlada oosite enjekte edilir. Enjeksiyon işlemi sırasında oositi in vitro ortamda aktive edebilmek için, hafif bir sitoplazma aspirasyonu yapılır. ICSI işlemi tamamlandıktan sonra bir gün önceden hazırlanan kültür mediumuna (GLOBAL MEDYUM) konularak inkübatöre kaldırılır.

3.3.5. İyonominin İşlemi (Oosit Aktivasyon)

Ca⁺⁺ iyonofor (GM 508 Cult-Active) hazır aktivasyon solüsyonu ve Global HEPES ile hazırlanmış dishler sabahtan inkübe edilir. ICSI sonrası oositler 15 dakika iyonomininle muamele edilmek üzere laminar flow kabini altındaCa⁺⁺iyonofordish'inealınıp önce Global HEPES damlarında yıkandıktan sonra GM 508 Cult-Active damlalarınaalınırak 37° C, %5.5 CO₂' li ortamda 15 dakika inkübe edilir. Daha sonra sperm enjeksiyonu yapılmış oositler iyonoforsuz taze kültür medyumuyla bolca yıkanarak inkübatöre kaldırılır.

GM 508 Cult-Active 20µl



Global HEPES 25-30µl

3.3.6. Fertilizasyon Değerlendirmesi

ICSI işlemini takiben 18. saatte inverted mikroskop altında Hoffman modülatörüyle ısıtıci tablanın üzerinde incelenen oositlerde, biri oositten diğeri ise sperm hücresinden gelen iki adet pronukleusun, 1. ve 2. kutup cisimciğinin görülmesi fertilizasyon bulgusu olarak değerlendirildi.

3.3.7. Klivaj Değerlendirmesi

Laboratuvarımızda 2. günden 4. güne kadar olan klivaj dönemindeki embriyolar mitotik açıdan değerlendirilirken göz önüne alınan kriterler blastomer sayısı, blastomer morfolojisi, embriyonun içerdiği fragmantasyon ve sitoplazma yapısıydı. Normal klivaj hızına sahip birembriyo 24-25. saatte 2 hücre, 2. günde 3-4 hücre, 3. günde 6-8 hücre ve 4. günde birleşme işaretlerine bağlı olarak 10 ve üzerinde hücreye sahip olan embriyo olarak kabul edilir.

3.3.8. Gebelik Değerlendirmesi

Oosit toplama tarihinden 12 gün sonra kanda yapılan Beta- hCG testi sonucu 20mIU/mL' nin üzerinde çıkan değerler pozitif gebelik olarak değerlendirilir.

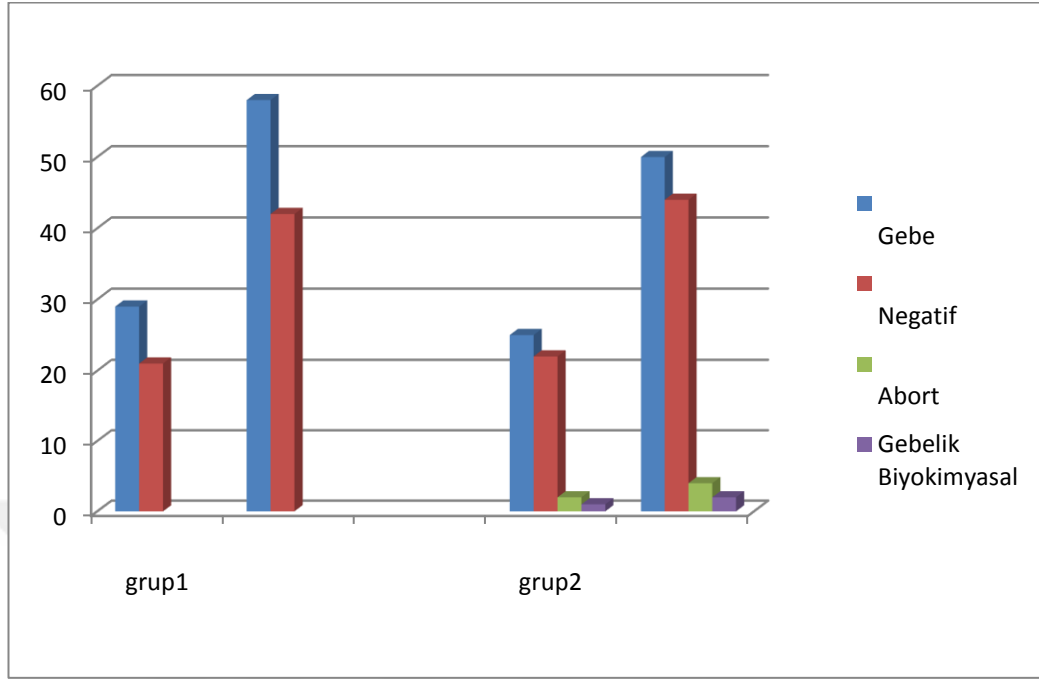
4. BULGULAR

Çalışmamızda 100 çiftin dahil edildiği iyonominin tedavisinin fertilizasyon ve gebelik sonuçları değerlendirildi. İyonominin önceki denemelerinde total fertilizasyon başarısızlığı olan veya düşük fertilizasyon gösteren hastalar da fertilizasyona faydası olup olmadığını tespit etmek amacıyla yapılan bu çalışmada, Ca⁺⁺ iyonofor kullanılmayan 50 hasta ile Ca⁺⁺ iyonoforla muamele edilen 50 hastadaki fertilizasyon ve gebelik oranları karşılaştırıldı.

Tablo1: Çalışmaya katılan bireylerin Ca⁺⁺ alım durumunun gebelik değişkenine göre incelenmesi.

		Ca ⁺⁺ iyonofor uygulanan grup		Ca ⁺⁺ iyonofor uygulanmayan grup	
		n	%	n	%
Gebelik	Gebe	29	58,0	25	50,0
	Negatif	21	42,0	22	44,0
	Abort			2	4,0
	Biyokimyasal			1	2,0

Çalışmaya katılan bireylerden Ca⁺⁺ iyonofor alanların %58'inin gebelik yaşadığı, %42'sinin ise gebelik yaşamadığı, Ca⁺⁺ iyonofor almayanların %50'si gebelik yaşadığı, %44'ü gebelik yaşamadığı, %4'ü abort gebelik yaşadığı belirlenmiştir.

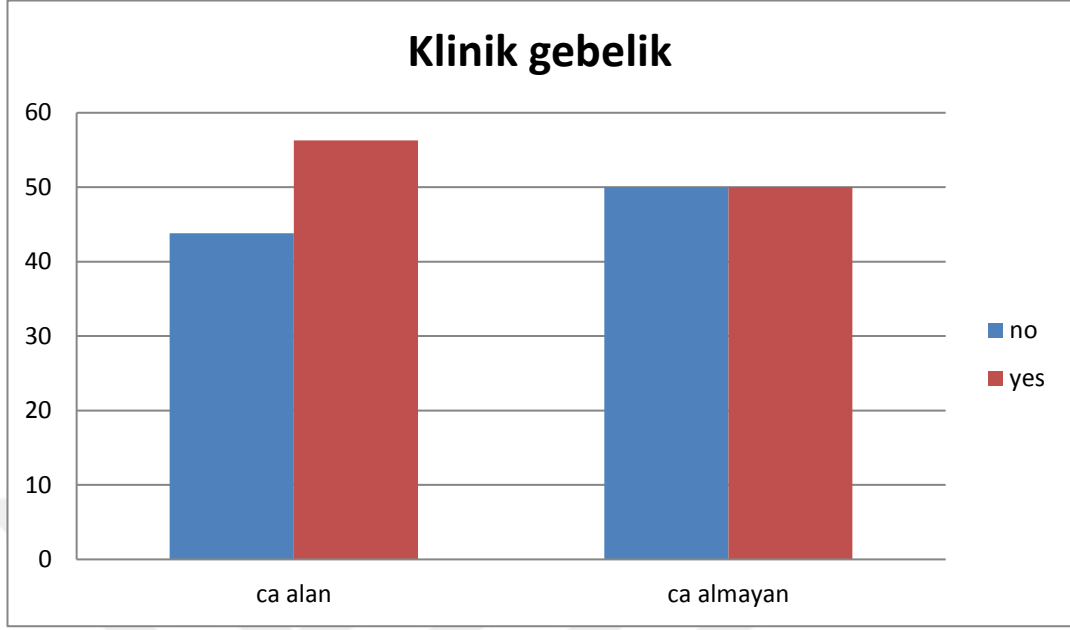


Grafik 1: Çalışmaya katılan bireylerin Ca⁺⁺ iyonofor alım durumunun gebelik değişkenine göre incelenmesi.

Tablo 2: Çalışmaya katılan bireylerin Ca⁺⁺ iyonofor alım durumunun klinik gebelik değişkenine göre incelenmesi.

		Ca ⁺⁺ uygulanan grup		Ca ⁺⁺ uygulanmayan grup	
		n	%	n	%
Klinik gebelik	Hayır	14	43,8	11	50,0
	Evet	18	56,3	11	50,0

Çalışmaya katılan bireylerden Ca⁺⁺ iyonofor alanların %56,3'ü klinik gebeliği olduğu, %43,8'i klinik gebelik olmadığı, Ca⁺⁺ iyonofor almayanların %50'si klinik gebelik yaşadığı, %50'si klinik gebelik yaşamadığı belirlenmiştir



Grafik 2: Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} iyonofor alım durumunun klinik gebelik değişkenine göre incelenmesi.

Tablo 3: Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun infertilite nedeni değişkenine göre incelenmesi

		Ca^{++} uygulanan grup		Ca^{++} uygulanmayan grup	
		n	%	n	%
inf.nedeni ayrintili	Male-borderline	7	14,0	3	6,0
	Male-severe	8	16,0	3	6,0
	Unexplained	4	8,0	14	28,0
	PCOS	6	12,0	2	4,0
	PCOS+Male severe	6	12,0		
	Kötü Over Rezervi	2	4,0	10	20,0
	Kötü over rezervi+male severe	3	6,0		
	Kötü over rezervi+male borderline	4	8,0	4	8,0
	Tekrarlayan Abortus	2	4,0		
	PCOS+male borderline	6	12,0	6	12,0
	tekrarlayan abortus+ male borderline			1	2,0
	pcos+oligoasthenospermi			1	2,0
	oligoasthenospermi	1	2,0	3	6,0
	vajinismus+sperm morfoloji bozukluğu			1	2,0
	PCOS+ tekrarlayan gebelik kaybı	1	2,0		
	kötü over rezervi+oligospermi			1	2,0
	kötü over rezervi+uterin anomali			1	2,0

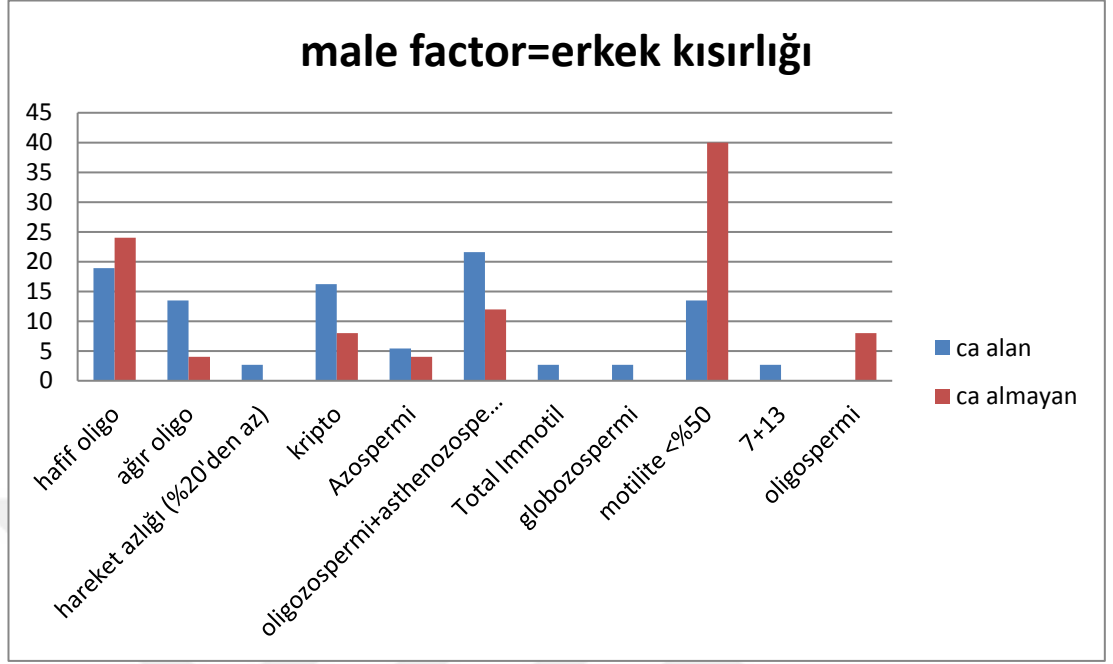
Çalışmaya katılan bireylerden Ca^{++} alanların %16'sı male severe infertilite nedeni olduğu, %14'ü male-borderline infertilite nedeni olduğu, %12'si PCOS infertilite nedeni olduğu, %12'si PCOS+Male severe infertilite nedeni olduğu,

ca almayanların %28'i unexplained infertilite nedeni olduğu, %20'si kötü over rezervi infertilite nedeni olduğu, %12'si PCOS+Male severe infertilite nedeni olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4: Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun erkek faktör değişkenine göre incelenmesi.

		Ca^{++} iyonofor alan		Ca^{++} iyonofor almayan	
		n	%	n	%
male factor=erkek kısırlığı	hafif oligo	7	18,9	6	24,0
	ağır oligo	5	13,5	1	4,0
	hareket azlığı (%20'den az)	1	2,7		
	kripto	6	16,2	2	8,0
	Azospermi	2	5,4	1	4,0
	oligozostermi+asthenozostermi	8	21,6	3	12,0
	Total Immotil	1	2,7		
	globozostermi	1	2,7		
	motilite <%50	5	13,5	10	40,0
	7+13	1	2,7		
	oligospermi			2	8,0

Çalışmaya katılan bireylerden Ca^{++} iyonofor alanların %21,6'sının kısırlık nedeninin oligozostermi+asthenozostermi olduğu, %18,9'unun almadığı, kısırlık nedeninin hafif oligo olduğu, %16,2'sinin kısırlık nedeninin kripto olduğu, %13,5'inin kısırlık nedeninin ağır oligo olduğu, ca almayanların %40'ının kısırlık nedeninin motilite <%50 olduğu, %24'ünün kısırlık nedeninin hafif oligo olduğu, %12'si kısırlık nedeninin oligozostermi+asthenozostermi olduğu belirlenmiştir.



Grafik 3: Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} iyonofor alım durumunun erkek faktör değişkenine göre incelenmesi.

Tablo 5: Çalışmaya katılan bireylerin Ca⁺⁺ alım durumunun infertilite değişkenlerine göre incelenmesi.

	Ca ⁺⁺ iyonofor almayan					Ca ⁺⁺ iyonofor alan				
	n	minimum	maksimum	ortalama	standart sapma	n	minimum	maksimum	ortalama	standart sapma
Siklus Sayısı	50	1	5	1,10	,580	50	2	5	2,34	,658
Önceki Siklus Sayısı	50	,00	4,00	,7400	1,13946	50	1,00	5,00	2,0000	1,24540
Gravida	50	0	4	,42	,906	50	0	4	,90	,995
Abortus	50	0	2	,16	,422	48	0	2	,35	,565
Kimyasal Gebelik	50	0	1	,08	,274	49	0	1	,14	,354
Ektopik	50	0	1	,08	,274	50	0	1	,08	,274
Molar Gebelik	50	0	1	,02	,141	50	0	0	,00	,000
Yasayan	50	0	2	,10	,364	50	0	2	,28	,497
Kilo	50	45,00	92,50	67,4600	10,87960	50	48,00	89,50	67,6360	10,67021
Boy	50	152,00	174,00	162,1200	5,09357	50	152,00	174,00	162,1200	5,09357
body mass index(kg/m2)	50	16,00	36,60	25,6769	4,42917	50	16,80	35,40	25,7446	4,30489

Ca⁺⁺ iyonofor uygulanmayan hastaların siklus sayısı ortalaması 1,10±0,58, önceki siklus sayısı ortalaması 0,74±1,13, gravida ortalaması 0,42±0,906, abortus ortalaması 0,16±0,422, kimyasal gebelik ortalaması 0,08±0,274, ektopik ortalaması 0,08±0,274, molar gebelik ortalaması 0,02±0,141, yasayan gebelik ortalaması 0,10±0,364, bmi ortalaması 25,67±4,42 olduğu belirlenmiştir.

Ca⁺⁺ iyonofor uygulanana hastaların siklus sayısının ortalaması 2,34±0,658, önceki siklus sayısı ortalaması 2,00±1,245, gravida ortalaması 0,90±0,995, abortus ortalamasının 0,35±0,565, kimyasal gebelik ortalamasının 0,14±0,354, ektopik ortalamasının 0,08±0,274, yaşayan gebelik ortalamasının 0,28±0,497, BMİ ortalamasının 25,74±4,30 olduğu belirlenmiştir.

Tablo 6: Çalışmaya katılan bireylerin Ca⁺⁺ alım durumunun erkek sigara kullanma durumu değişkenine göre incelenmesi

	Ca ⁺⁺ iyonofor almayan		Ca ⁺⁺ iyonofor alan		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
hayır	32	49,2	33	50,8	65	100,0
evet	18	51,4	17	48,6	35	100,0
toplam	50	50,0	50	50,0	100	100,0

Kikare: 0,044; p: 1,000

Çalışmaya katılan bireylerden Ca⁺⁺ iyonofor uygulanmayan erkeklerin %51,4'ünün sigara kullandığı, %49,2'sinin sigara kullanmadığı, Ca⁺⁺ iyonofor uygulanan erkeklerin %48,6'sının sigara kullandığı, %50,8'inin sigara kullanmadığı belirlenmiştir.

Tablo 7: Çalışmaya katılan bireylerin Ca⁺⁺ alım durumunun kadın sigara kullanma durumu değişkenine göre incelenmesi

	Ca ⁺⁺ iyonofor almayan		Ca ⁺⁺ iyonofor alan		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
hayır	45	50,0	45	50,0	90	100,0
evet	5	50,0	5	50,0	10	100,0
toplam	50	50,0	50	50,0	100	100,0

Kikare: 0,000; p: 1,000

Çalışmaya katılan bireylerden Ca⁺⁺ iyonofor uygulanmayan kadınların %50'sinin sigara kullandığı, %50'sinin sigara kullanmadığı, Ca⁺⁺ iyonofor uygulanan erkeklerin %50'sinin sigara kullandığı, %50'sinin sigara kullanmadığı belirlenmiştir.

Tablo 8: Çalışmaya katılan bireylerin Ca⁺⁺ alım durumunun kadınlardaki karyotip değişkenine göre incelenmesi

	Ca ⁺⁺ iyonofor almayan		Ca ⁺⁺ iyonofor alan		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
yok	21	42,0	15	30,0	36	36,0
46, XX	19	38,0	26	52,0	45	45,0
bilinmiyor	9	18,0	8	16,0	17	17,0
önerildi	1	2,0	1	2,0	2	2,0
toplam	50	100,0	50	100,0	100	100,0

kikare: 2,148; p: 0,542

Çalışmaya katılan Ca⁺⁺ uygulanmayan hastalardan kadınların %42'sinin karyotip sayısının olmadığı, %38'inin karyotip sayısının 46 XX olduğu, %18'inin karyotipi bilinmediği, Ca⁺⁺ uygulanan hastalardan kadınların %30'unun karyotip sayısının olmadığı, %52'sinin karyotip sayısının 46 XX olduğu, %16'sının karyotipi bilinmediği belirlenmiştir.

Tablo 9: Çalışmaya katılan bireylerin Ca⁺⁺ alım durumunun erkeklerdeki karyotip değişkenine göre incelenmesi

	Ca ⁺⁺ iyonofor almayan		Ca ⁺⁺ iyonofor alan		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
yok	21	42,0	15	30,0	36	36,0
46, XY qh	1	2,0	0	0,0	1	1,0
46,XY	18	36,0	26	52,0	44	44,0
5. ve 16. kromozomlarda dengeli translokasyon	1	2,0	1	2,0	2	2,0
önerildi	1	2,0	1	2,0	2	2,0
bilinmiyor	8	16,0	7	14,0	15	15,0
toplam	50	100,0	50	100,0	100	100,0

kikare: 3,521; p: 0,620

Çalışmaya katılan Ca⁺⁺ iyonofor uygulanmayan hastalardan erkeklerin %42'sinin karyotip sayısının olmadığı, %2'sinin karyotip sayısının 46 XX gh olduğu, %36'sının 46 XY olduğu, %2'sinin 5. ve 16. kromozomlarda dengeli translokasyon olduğu, %16'sının karyotipi bilinmediği, Ca⁺⁺ iyonofor uygulanan hastalardan erkeklerin %30'unun karyotip sayısının olmadığı, %52'sinin karyotipinin 46 XY olduğu, %2'sinin 5. ve 16. kromozomlarda dengeli translokasyon olduğu, %14'ünün ise karyotipinin bilinmediği belirlenmiştir.

Tablo 10: Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun infertilite tipi değişkenine göre incelenmesi

	Ca^{++} iyonofor almayan		Ca^{++} iyonofor alan		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
primer	37	75,5	21	42,9	58	59,2
sekonder	12	24,5	28	57,1	40	40,8
toplam	49	100,0	49	100,0	98	100,0

kikare: 10,814; p: 0,002

Çalışmaya katılan bireylerden Ca^{++} iyonofor almayanların %75,5'inin infertilite tipinin primer olduğu, %24,5'inin infertilite tipinin sekonder olduğu, Ca^{++} iyonofor alanların %42,9'unun infertilite tipinin primer olduğu, %57,1'inin infertilite tipinin sekonder olduğu belirlenmiştir.

Tablo 11: Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun erkeğe ait operasyon ve nedeni değişkenine göre incelenmesi

	Ca^{++} iyonofor almayan		Ca^{++} iyonofor alan		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
yok	31	73,8	31	73,8	62	73,8
varikozel	8	19,0	8	19,0	16	19,0
TESE	2	4,8	2	4,8	4	4,8
testis tümörü	1	2,4	1	2,4	2	2,4
toplam	42	100,0	42	100,0	84	100,0

Çalışmaya katılan bireylerden Ca^{++} iyonofor uygulanmayan erkeklerde %73,8'inde operasyon olmadığı, %19'unun varikozel operasyonu olduğu, %4,8'inin TESE operasyonu olduğu, %2,4'ünün testis tümörü operasyonu olduğu belirlenmiştir. Ca^{++} iyonofor uygulanan erkeklerde %73,8'ünün operasyon olmadığı, %19'unun varikozel operasyonu olduğu, %4,8'inin TESE operasyonu olduğu, %2,4'ü ise testis tümörü operasyonu geçirdiği belirlenmiştir.

Tablo 12: Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} alım durumunun sperm sorunu değişkenine göre incelenmesi

	Ca^{++} iyonofor almayan		Ca^{++} iyonofor alan	
	n	%	n	%
hafif oligo	2	7,7	1	4,5
ağır oligo	1	3,8	2	9,2
terato (%4'den az)	1	3,8	1	4,5
kripto	4	15,5	3	13,6
Azospermi	3	11,5	3	13,6
oligozostermi+asthenozostermi	7	26,9	4	18,2
motilite <%50	8	30,8	8	36,4
	26	100,0	22	100,0

Çalışmaya katılan bireylerden Ca^{++} iyonofor uygulanmayan erkeklerin %7,7'sinin hafif oligo sperm sorunu olduğu, %3,8'inin ağır oligo sperm sorunu olduğu, %3,8'inin terato sperm sorunu olduğu, %15,5'inin kripto sperm sorunu olduğu, %11,5'inin azospermi sorunu olduğu, %26,9'unun oligozostermi+asthenozostermi sorunu olduğu, %30,8'inin motilite olduğu belirlenmiştir.

Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} iyonofor uygulanan erkeklerin %4,5'inin hafif oligo sperm sorunu olduğu, %9,2'sinin ağır oligo sperm sorunu olduğu, %4,5'inin terato sperm sorunu olduğu, %13,6'sının azospermi sperm sorunu olduğu, %18,2'si oligozostermi+asthenozostermi sorunu olduğu, %36,4'ünün motilite sorunu olduğu belirlenmiştir.

Tablo 13: Çalışmaya katılan bireylerin Ca⁺⁺ alım durumunun değişkenine göre incelenmesi

	Ca ⁺⁺ iyonofor almayan					Ca ⁺⁺ iyonofor alan				
	n	minimum	maksimum	ortalama	standart sapma	n	minimum	maksimum	ortalama	standart sapma
OPU-yıkama öncesi sperm sayısı	43	2	104	36,28	30,584	44	3	115	45,70	32,855
OPU-yıkama öncesi toplam motilite	43	5	80	45,79	16,651	44	14	91	52,93	18,164
OPU-yıkama öncesi progresif motilite	41	0	58	14,56	14,054	42	0	74	14,81	17,393
spermmorf	45	1,0	6,0	1,911	1,2399	45	1,0	6,0	1,911	1,2399

Çalışmaya katılan bireylerin Ca^{++} iyonofor uygulanmayanların OPU-yıkama öncesi sperm sayısının ortalaması $36,28 \pm 30,58$, OPU-yıkama öncesi toplam motilite sayısının ortalaması $45,79 \pm 16,65$, OPU-yıkama öncesi progresif motilite sayısının ortalaması $14,56 \pm 14,05$, sperm orf sayısının ortalaması $1,91 \pm 1,23$ olduğu belirlenmiştir.

Ca^{++} iyonofor uygulananların OPU-yıkama öncesi sperm sayısının ortalaması $45,7 \pm 32,85$, OPU-yıkama öncesi toplam motilite sayısının ortalaması $52,93 \pm 18,16$, OPU-yıkama öncesi progresif motilite sayısının ortalaması $14,81 \pm 17,39$, sperm orf sayısının ortalaması $1,91 \pm 1,23$ olduğu belirlenmiştir.

Tablo 14: Çalışmaya katılan bireylerin Ca⁺⁺ alım durumunundeğişkenine göre incelenmesi

	Ca ⁺⁺ iyonofor almayan			Ca ⁺⁺ iyonofor alan	
	n	%		n	%
yok	41	82,0	yok	41	82,0
globo &85-90	1	2,0	globo %60	1	2,0
nadir alanlarda immotil ve motil sperm görüldü	1	2,0	granüle oosit	1	2,0
oositler normalden büyük	1	2,0	granüle oositler	1	2,0
oositler oval	1	2,0	oositlerde SER var	1	2,0
oositler santral granüle,koyu.Sperm akrozomal içerik yetersiz,küçük baş	1	2,0	sperm morfolojisi çok kötü,oositler koyu granule	1	2,0
oositler santral granüle,ve SER var	1	2,0	sperm morfolojisi kötü	2	4,0
sperm morfolojisi çok kötü	1	2,0	sperm morfolojisi kötü,yumurtalar koyu granüle	1	2,0
sperm morfolojisi kötü	1	2,0	yumurtalar koyu granüle	1	2,0
Yoğun santral granüle oositler,zonalar irregüler.	1	2,0			

Çalışmaya katılan bireylerin Ca⁺⁺ iyonofor uygulanmayanların %82'inin sperm oosit durumu olmadığı, %2'sinin globo oranının %85-90 olduğu, %2'sinin nadir alanlarda immotil ve motil sperm görüldüğü, %2'sinin oositler normalden büyük olduğu, %2'sinin oositler oval olduğu, %2'sinin oositler santral granüle,koyu.Sperm akrozomal içerik yetersiz,küçük baş olduğu, %2'sinin oositler santral granüle,ve SER var olduğu, %2'sinin sperm morfolojisi çok kötü olduğu,

%2'sinin sperm morfolojisi kötü olduğu, %2'sinin Yoğun santral granüle oositler,zonalar irregüler olduğu belirlenmiştir.

Ca⁺⁺ iyonofor uygulananların %82'sinin sperm oosit durumu olmadığı, %2'sinin globo %60 olduğu, %2'sinin granüle oosit olduğu, %2'sinin granüle oositler olduğu, %2'sinin oositlerde SER var olduğu, %2'sinin sperm morfolojisi çok kötü,oositler koyu granule olduğu, %2'sinin sperm morfolojisi kötü olduğu, %2'sinin sperm morfolojisi kötü,yumurtalar koyu granüle olduğu, %2'sinin yumurtalar koyu granüle olduğu belirlenmiştir.

Tablo 15: Çalışmaya katılan bireylerin Ca⁺⁺ alım durumunun sperm kaynağı ve cerrahi sperm elde etme değişkenine göre incelenmesi

	Ca ⁺⁺ iyonofor almayan		Ca ⁺⁺ iyonofor alan		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
ejakülat spermi kullanıldı	47	94,0	47	94,0	94	94,0
TESE	3	6,0	1	2,0	4	4,0
TESA	0	0,0	1	2,0	1	1,0
TESE çözme	0	0,0	1	2,0	1	1,0
toplam	50	100,0	50	100,0	100	100,0

Çalışmaya katılan bireylerin Ca⁺⁺ iyonofor uygulanmayanların %94'ünün sperm kaynağının ejakülat sperm kullanıldığı, %6'sının sperm kaynağının TESE olduğu belirlenmiştir.

Ca⁺⁺ iyonofor uygulananların %94'ünün sperm kaynağının ejakülat sperm kullanıldığı, %2'sinin sperm kaynağının TESE olduğu, %2'sinin sperm kaynağının TESA olduğu, %2'sinin sperm kaynağının TESE çözme olduğu belirlenmiştir.

5. TARTIŞMA

Fertilizasyon başarısızlığı, ICSI sonrası yaklaşık olarak %30 oositte gözlenen bir olaydır. Düşük fertilizasyon oranı ICSI sonrası oositlerin %25'inden azının fertilizasyonu olarak tanımlanır⁶². ICSI sonrası oluşan total fertilizasyon başarısızlığı ise %1,29 ile %3 arasında gözlenen bir olaydır⁶³.

Oositaktivasyonu için, fertilizasyon sırasında hücre içine Ca^{++} salınımı gereklidir. Bu salınım, sperm-oosit füzyonundan sonra sperm kaynaklı oosit aktive edici faktörlerin serbest kalmasıyla sağlanır. Ca^{++} iyonofor, oosit aktivasyonu amacıyla ilk olarak 1990'larda kullanılmaya başlanmıştır⁶².

Hoshi ve arkadaşları 1995 yılında fertilizasyon oranını arttırmak amacıyla ICSI sonrası oosit aktive edici olarak Ca^{++} iyonofor kullanmış ve ilk gebeliği rapor etmişlerdir⁶⁴.

Battaglia ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada ilk denemesinde %7 fertilizasyon oranı elde etmiş globozoospermi hastasının fertilize olmamış oositlerine, ICSI den 20 saat sonra Ca^{++} iyonofor uygulamışlardır. Toplam oositlerin %79' unda fertilizasyon ve bölünme bildirmişlerdir. Aynı hastanın 2. denemesinde ICSI yapılan 28 oositin 8' ine Ca^{++} iyonofor uygulamışları 20 oosite iyonofor uygulamamışlardır. iyonoforla muamele edilenlerin %75' i normal dölllenme gösterirken, iyonofor kullanılmayanların sadece %10' u döllenmiştir. Bu döllenmeyen oositlere 20 saat sonra yapılan iyonofor uygulamasının sonucunda %73 fertilizasyon bildirmişlerdir. Fakat her iki denemede de gebelik elde edilmemiştir⁶⁵. Bu yaptığımız çalışmada da benzer şekilde Ca^{++} iyonoforun oosit aktivasyonunu sağlayarak fertilizasyon oranını arttırdığını gözlemledik.

Tejera ve arkadaşları globozoospermik bir hastanın eşinden toplanan 23 metafaz II oosite yapılan enjeksiyon sonrası, oositlerin 14 tanesine kimyasal bir

işlem uygulamazken (Grup 1) , 9 adet oosite oosit aktive edici olarak Ca^{++} iyonofor uygulamışlardır (Grup 2). Grup 1' deki fertilizasyon oranı %35' ken, grup 2 deki fertilizasyonu %55 olarak bildirmişlerdir. Grup 1' deki embriyo gelişimi yavaş ve zayıf kalitede devam ederken, Ca^{++} iyonofor uygulanan grupta daha iyi bir bölünme oranı izlemişlerdir. Grup 2' deki 2 embriyonun transferi sonucu gebelik ve canlı doğum rapor etmişlerdir⁶².

Birkaç nadir çalışmada normal fertilizasyon rapor edilmesine karşın globozoospermi diğer teratozoospermilerle kıyaslandığında ICSI'de fertilizasyon oranlarını düşürür. Liu ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada da 7 globozoospermik hastanın 4 ünde ICSI sonrası total fertilizasyon başarısızlığı görülmüştür⁶⁵.Kalsiyum iyonofor ile oosit aktivasyonu artmış ve canlı doğumlar bildirilmiştir⁶⁶.

Bazı çalışmalar globozoospermisi olan erkeklerde kromatin kondensasyonu, yapısal ve numerik kromozom anormallikleri olmadığını ve yardımcı fertilizasyon teknikleri ile gebelikler elde edilebileceğini savunurken diğer çalışmalar; irregüler nükleer kondensasyon, düşük protamin 1 ve 2 seviyeleri, değişen P1 ve P2 oranları, yüksek seviyede nükleer histonlar ve artmış anöploidi oranları rapor etmiştir. Bu hastalarda ICSI ve oosit aktivasyonu fertilizasyonu gerçekleştirir ancak sağlıklı canlı bir gebelik sağlanabilir mi bilinmemektedir^{67,68}.

Spermlerde bulunan ve oositlerde putatif aktivasyonu sağlayan faktör ilk kez hamster sperm ekstratlarından 1997 yılında elde edilebilmiştir. Parrington ve arkadaşlarının bu çalışmasında osillin adı verilen oligometrik proteinin fare oositlerine enjeksiyonuyla Ca^{++} un dalgalar halinde salgılanması (osilasyon) uyarılabilmektedir. Araştırmacılar bu proteinin karşıtı olan antikoru kullanarak bu molekülün hamster ve insan spermlerinin ekvatoriyal segmentine lokalize olduğunu gözlemlemişlerdir. Bu da in vivo ve klasik IVF'de fertilizasyon sürecinde spermin

oosite ekvatoriyal segment bölgesinden birleşmesinin nedenini daha iyi açıklayabilmektedir⁶⁹.

Lawrence ve arkadaşlarının deneysel çalışmasında fare oositlerinde sperm oosite bağlanmasının kesilmesine karşın Ca^{++} dalgalanmalarının devam etmesi; sinyalizasyonun sperm bağlanmasıyla değil, fakat gametlerin membran füzyonundan sonra geliştiğini göstermiştir⁷⁰. Bu bulgular oosit aktivasyonunun reseptörlerce yönlendirilen bir olay olmadığını, sperm oosite aktardığı bir faktörün kalsiyum metabolizmasını etkilemesiyle gerçekleştiğini göstermektedir⁷¹. Fertilizasyon sürecinde oosit sitoplazması içinde kalsiyumun periyodik olarak artmasının klasik IVF ve in vivo fertilizasyonda benzer olması beklenir, ancak ICSI de fertilizasyon sürecinin birçok basamağı atlandığı için bu gelişmeler daha dikkat çekici olarak değerlendirilmiştir. ICSI sonrası oositlerin nasıl aktive olduğu sorusuna ilk cevaplar Tesarik ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma ile gelmiştir⁷².

Araştırmacılar ICSI de pipetin oosit sitoplazmasına sokulmasıyla oositin bir miktar mekanik yolla uyarıldığını ve uyarının aslında pipetin içinde sperm bulunmasından kaynaklandığını belirtmişlerdir. Aynı çalışmada oositin ICSI den sonraki 4-12 saat içinde aktive olduğu ve sürenin değişken olmasının oositler arasındaki farklılıklardan kaynaklandığı belirtilmiştir. Bu çalışmanın bir başka yorumu da sperm tarafından oosite aktarılan SAOAF'nin Ca^{++} modülasyonunda etkin rol oynadığı ve aynı özelliklerin gerçekleşmesine karşın ICSI'den sonra fertilizasyonun klasik IVF ve in vivo fertilizasyondakinden bir miktar farklılık gösterdiğidir. Bu farklılıklar da aslında enjeksiyon prosedürünün kendisinden veya seçilen sperm özelliklerinden kaynaklanabilir. Ancak yapılan tüm araştırmaların sonucunda ulaşılan ortak görüş oosit aktivasyonunda sperm tarafından oosite taşınan oositi aktive edici faktörün etkili olduğu yönündedir⁷³.

6. SONUÇ

Bu çalışmada fertilizasyon problemi yaşayan hastalarda oosit aktivasyonunu sağlamak amacıyla Ca^{++} iyonofor kullanımının fertilizasyon ve gebelik oranlarına etkisinin gösterilmesi amaçlanmıştır.

Bu amaçla önceki denemesinde düşük fertilizasyon oranı elde edilen ya da hiç fertilize olmayan en az 1 matür oosit elde edilen 100 çiftin yarısının tüm matür oositlerine ICSI sonrası kalsiyum iyonofor tedavisi yapılmıştır.

Çalışmanın sonucunda önceki denemelerinde düşük fertilizasyon oranına sahip olan veya total fertilizasyon başarısızlığı yaşayan hastalara, oosit aktivasyonu amacıyla yapılan Ca^{++} iyonofor uygulamasının önceki denemelere göre fertilizasyon ve gebelik oranlarını arttırdığı gözlenmiş olmakla birlikte, bu çalışmayı destekleyen yeni çalışmaların yapılması da önerilmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Flaherty SP, Payne D, Matthews CD. Fertilization failures and abnormal fertilization after intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod, 1998; 13: 155-164.
2. Sakkas D, Urner F, Bianchi PG. Et al. Sperm chromatin anomalies can influence decondensation after intracytoplasmic sperm injection. Hum Reprod, 1996; 11: 837-843.
3. Florke- Gerloff S, Topfer- Petersen E, Muller- Esterl W, Mansouri A, Schatz R, Schirren C, Schill W, Engel W. Biochemical and genetic investigation of round-headed spermatozoa in infertile men including two brothers and their father. Andrologia, 1984; 16(3): 187-202.
4. Yanagimachi R. Mammalian Fertilization In: The Physiology of Reproduction. Knobil E, Neill J. New York, Raven Press, 1994; 135-185.
5. Rifaioğlu MM. Erkek Üreme Sistemi, www.mku.edu.tr
6. Bakırcioğlu E. Erkek Üreme Sistemi Anatomisi, <http://www.emrebakircioglu.com/uzmanligimiz/erkek-infertilitesi/erkek-ureme-sistemi-anatomisi/> (30.09.2015).
7. www.msxlab.org
8. Ayyıldız A. Kadın Genital Sistem Anatomisi: Organa Genitalia Femininae, <http://www.doktorsitesi.com/makale/kadin-genital-sistem-anatomisi--organa-genitalia-femininae> (30.09.2015).
9. Dede vs Genital Anatomi, http://www.volkandede.com/index.php?option=com_content&view=article&id=75:genital-anatom&catid=7:gebelik-hazırlık&Itemid=109, (30.09.2015).
10. Şahmay S. Üreme Fizyolojisi ve Kontraseptif Yöntemlerin Etki Mekanizmaları, http://www.e-kutuphane.teb.org.tr/pdf/eczaci-das-yayinlari/ist_ecz_aile_p/7.pdf, (30.09.2015)
11. Köse R. Türkiye’de Ana ve Çocuk Sağlığında Mevcut Durum, Kaçırılan Fırsatlar, Aktüel Tıp Dergisi, 1999; 4(1), s.33-36.

12. Sezgin B. Akın A. Adölesan Dönemi Üreme Sağlığı, Sağlık ve Toplum Dergisi, Temmuz-Aralık, 1998; 8(3-4).
13. Gölbaşı Z. Adölesan Kızlara Yönelik Okula Dayalı Üreme Sağlığı Eğitim Programının Etkinliği, Hacettepe Üniversitesi Doktora Tezi, Ankara, 2002. s.40.
14. www.cuneytozcan.com.tr
15. www.cuneytozcan.com.tr
16. Fincancıoğlu N. Kahire Konferansı Çerçevesinde Üreme Sağlığı. İçinde Gençlik, Cinsel Eğitim ve Üreme Sağlığı. Anadolu Matbaa ve Tic. Koll. Şti, İstanbul, 1995. s.40-42.
17. Coşkun A. Kızılkaya N. Arslan E. Lise Öğrencilerine Yönelik Üreme Sağlığı Eğitim Programı Modeli, IV. Ulusal Hemşirelik Eğitimi Sempozyumu, 10-12 Eylül, 1997. s.126-133.
18. www.sagligimicin.com.tr
19. Yanagamachi R. Mammalian Fertilization. In Knobil E, O'Brien NJ(eds): The Physiology of Reproduction, New York, 1994. p.236.
20. Edwards, RG. Steptoe PC. Current Status of in Vitro Fertilization and Implation of Human Embryos, 1998. p.12-13.
21. Ramasamy R. Yagan N. Schlegel PN. Structural and Functional Changes to The Testis After Conventional Versus Microdissection Testicular Sperm Extraction. Urology, 2005; 65, p.1190-1194.
22. Clermont Y. Kinetics of spermatogenesis in Mammals: Seminiferous Epithelial Cycle and Spermatogonial Renewal, Physiol, 1972; 52, p.198-236.
23. Keith L. Moore, T.V.N. Pessoud s.15
24. <http://tip-dunyasi.blogspot.com.tr/2012/01/spermatogenez.html>, (30.09.2015)
25. Coetzee K. Kruger TF. Lombard CJ. Predictive Value of Normal Sperm Morphology a Structured Review, Hum Reprod Update, 1998; 4, s.73-82

26. Talerman A. Roth LM. Pathology of the Testis and its Adnexa, New York, Edinburg, London, Melbourne, Churchill Livingstone. 1986.
27. Barratt CLR. Spermatogenesis. In Grudzinskas J.G., Yovich, Gametes The Spermatozoon. Cambridge, Cambridge University, 1995; 57, p.250-267.
28. Amann RP. Structure and Function Of The Normal Testis and Epididymis, Jam Coll Toxicol, 1989; 8(3), p:457-471.
29. Paniaguar M. Nistal Testicular and Epididymal Pathology, New York, Thieme Stratton Inc. 1984.
30. Russel LD. Etlin RA. Hikim APS. Clegg ED. Histological and Histopathological Evaluation of the Testis. 1990.
31. Junqueira LC. Carneiro J. Basic Histology, 10 th Edition, Mcgraw Hill. 2003.
32. Histology Cell and Tissue Biology. Fifth Edition, Elsevier Biomedical. 1983.
33. Barratt CLR. Spermatogenesis. In Grudzinskas J.G., Yovich, Gametes The Spermatozoon. Cambridge, Cambridge University, 1995; 57, p.250-267.
34. Gartner LP. Hiatt JL. Color Textbook of Histology, Pennsylvania, W.B. Saunders Company, 1997. p.406-412.
35. Parks JE. Lee DR. Huang S. Kaproth MT. Prospects For Spermatogenesis in Vitro, Theriogenology, 2003; 59, p.73-86.
36. Syed V. Hect NB. Disruption of germ cell-sertoli cell interactions leads to spermatogenic defects, Mol Cell Endocrinol, 1995; 186, p.144-157.
37. Kierszenbaum AL. Follicle Development and Menstrual Cycle. In Histology and Cell Biology, USA, Mosby Inc, 2002; p.564-575.
38. Sadler TW. Langman's Medikal Embriyoloji, Bakalar AC(Çeviri). Palme Yayıncılık, Ankara, 2005; p.7-38.
- 39.. Jha KN. Alicioni AM. Arcelay E. Chertihin O. Kumari S. Herr JC., Evidence For The İnvolment of Proline-Directed Serine/Threonine Phosphorylation in Sperm Capacitation. Mol Hum Repro, 2006; 12(12), p.781-789.

40. Laflamme J. Akoum A. Leclerc P. Introduction of Human sperm Capacitation and Protein Tyrosine Phosphorylation by Endometrial Cells and Interleukin-6. *Mol Hum Reprod*, 2005; 11(2), p.141-150.
41. Androloji. Erkek Sağlığı. Üreme Sağlığı-Cinsel Fonksiyon Bozuklukları. http://www.androloji.info/kapasitasyon_patofiz_yoloji.php, (01.11.2015).
42. Zarintash, RJ. Cross NL. Unesterified Cholesterol Content of Human Sperm Regulates The Response of The Acrosome to The Agonist, Progesterone, *Biol Reprod*, 1996; 55(1), p.19-24.
43. Baldi E. Luconi M. Bonaccorsi L. Krausz V. Forti G. Human Sperm Activation During Capacitation and Acrosome Reaction: Role of Calcium, Protein Phosphorylation and Lipid Remodelling Pathways *Front Biosci*, 1996; 15(1), p.189-205.
44. Leclerc P. de Lamirande E. Gagnon C. Interaction between Ca²⁺, cyclic 3',5' adenosine monophosphate, the superoxide anion, and tyrosine phosphorylation pathways in the regulation of human sperm capacitation. *J Androl* 1998; 19(4), p.434-443.
45. Mandal A. Naaby-Hansen S. Wolkowicz MJ. Klotz K. Shetty J. Retief JD. FSP95, a testis-specific 95-kilodalton fibrous sheath antigen that undergoes tyrosine phosphorylation in capacitated human spermatozoa. *Biol Reprod*, 1999; 61(5), p.1184- 1197.
46. Burks DJ. Carballada R. Moore HD. Saling PM. Interaction of a tyrosine kinase from human sperm with the zona pellucida at fertilization. *Science*, 1995; 269(5220), p.83-86.
47. Wassarman P. Chen J. Cohen N. Litscher E. Liu C. Qi H. *et al.* Structure and function of the mammalian egg zona pellucida. *J Exp Zool*, 1999; 285(3), p.251-258.
48. Prasad SV. Skinner SM. Carino C. Wang N. Cartwright J. Dunbar BS. Structure and function of the proteins of the mammalian Zona pellucida. *Cells Tissues Organs*, 2000; 166(2), p.148-164.
49. OMIM. Online Mendelian Inheritance in Man. An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. <http://omim.org/entry/182889>, 01.11.2015
50. OMIM. Online Mendelian Inheritance in Man. An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders. <http://omim.org/entry/182888>, 01.11.2015

51. Zülfikaroğlu G. Özgür H. Polaturker S. Molecular Aspects of Capacitation. Archives Medical Review Journal, 2010; 19(1), p.12-24
52. Fisher HM, Brewis IA, Barratt CLR, Cooke ID, Moore HD. Phosphoinositide 3-kinase is involved in the induction of the human sperm acrosome reaction downstream of tyrosine phosphorylation. Mol Hum Reprod 1998; 4(9):849-855.
53. Hirohashi N. Vacquier VD. Store-operated calcium channels trigger exocytosis of the sea urchin sperm acrosomal vesicle. Biochem Biophys Res Commun, 2003; 304(2), p.285-292.
54. Androloji. Erkek Sağlığı. Üreme Sağlığı-Cinsel Fonksiyon Bozuklukları. <http://www.Androloji.Info/Kruger.Php>, 01.11.2015
55. Androloji. Erkek Sağlığı. Üreme Sağlığı-Cinsel Fonksiyon Bozuklukları. http://www.androloji.info/membran_yapisi_fertilizasyon.php, 01.11.2015.
56. Nomikos M. Yu Y. Elgmati K. Theodoridou M. Campbell K. Vasilakopoulou V. Erkek İntertilitesinin Başarısız Oosit Aktivasyonunun Fosfolipaz İle Önlenmesi, Erkek Üreme Sağlığı, 2012; s.36-37.
57. Sousa M, Barros A, Mendoza C, Tesarik J. Effects of protein kinase C activation and inhibition on sperm-, thimerosal-, and ryanodine-induced calcium responses of human oocytes. Mol Hum Reprod 1996; 2:699-708
58. Pathophysiology of the Reproductive System. Pregnancy and Embryology in Mammals. Fertilization and Early Embryonic Development: Introduction and Index. Fertilization.
59. Last updated on April. <http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/pathphys/reprod/fert/fert.html> (01.11.2015).
60. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi HistolojiEmbriyoloji Anabilim Dalı. Sunumlar ve Ders Notları. <http://histemb.medicine.ankara.edu.tr/Fertilizasyon-Blastosist.pdf>, (01.11.2015).
61. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dönem I Hücre Bilimleri Ders Kurulu 3. Genel Embriyoloji Ders Notları. Prof. Dr. Ali OTLU. <http://www.belgeler.com/blg/2su5/genelembriyoloji-ders-notlari>

62. Veeck LL. An atlas of human gametes and conceptuses, An illustrated reference for assisted reproductive technology, The Panthenon Publishing Group, New York, 15 April. 1999.
63. Tejera A, Molla M, Muriel L, Remohi J, Pellicer A, De Pablo JL. Successful pregnancy and childbirth after intracytoplasmic sperm injection with calcium ionophore oocyte activation in a globozoospermic patient. *Fertil Steril*, 2008; 90: 1202-1205.
64. Yanagida K. Complete fertilization failure in ICSI. *Hum Cell*, 2004; 17: 187-194.
65. Hoshi K, Yanagida K, Yazawa H. Intracytoplasmic sperm injection using immobilized or motile spermatozoon. *Fertil Steril*, 1995; 52: 276.
66. Battaglia DE, Koehler JK, Klein NA, Tucker MJ. Failure of oocyte activation after intracytoplasmic sperm injection using round-headed sperm. *Fertil Steril*, 1997; 68: 118- 22.
67. Liu J, Nagy Z, Joris H, Tournaye H, Smits J, Camus M, *et al.* Successful fertilization and establishment of pregnancies after intracytoplasmic sperm injection in patients with globozoospermia. *Hum Reprod*, 1995; 10: 626-629.
68. Tasdemir I, Tasdemir M, Tavukçuoğlu ğ, Kahraman S, Biberoglu K. Effect of abnormal sperm head morphology on the outcome of intracytoplasmic sperm injection in humans. *Hum Reprod*, 1997;12: 1214-1217.
69. Bourn H, Liu DY, Clarke GN, Baker HW. Normal fertilization and embryo development by intracytoplasmic sperm injection of round-headed acrosomeless sperm. *Fertil Steril*, 1995; 63(6): 1329-32.
70. Parrington J, Swann K, Shevchenko VI. *et al.* Calcium oscillation in mammalian eggs triggered by a soluble sperm protein. *Nature*, 1997; 379: 364-368.
71. Lawrence Y, Whitaker M, Swann K. Sperm-egg fusion is the prelude to the initial Ca⁺⁺ increase at fertilization in the mouse. *Devel*, 1997; 124: 233-241.
72. Swann K, Lai FA. A novel signalling mechanism for generating Ca⁺⁺ oscillations at fertilization in mammals. *Bio Assays*, 1997; 19: 371-378.
73. Tesarik J, Sousa M, Testast J. Human oocyte activation after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*, 1994; 9: 511-518.

8. ETİK KURUL KARARI



ACIBADEM

Ü N İ V E R S İ T E S İ

SAYI: ATADEK-2015/6

KONU: Etik Kurul Kararı

Sayın Prof. Dr. Nezih Hekim, Melda Atay

Sorumluğunu yürüttüğünüz “Tekrarlayan fertilizasyon başarısızlıklarındaki kalsiyum iyonoforun oosit aktivasyonuna etkisi” başlıklı proje 05.05.2015 tarih 2015/6 Sayılı Atadek

Kurul toplantısında görüşülmüş olup 2015-6/17 karar numarası ile tıbbi etik yönden uygun bulunmuştur. Ancak kişisel bilgilerin gizli tutulacağına dair onaylanmalıdır.

Prof. Dr. İsmail Hakkı
ULUS
ATADEK Kurul
Başkanı

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'İsmail Hakkı'.

9. ONAM FORMU

ONAY

“Tekrarlayan Fertilizasyon Başarısızlıklarında Ca^{++} İyonoforun Etkisi”, başlıklı yüksek lisans tezimde Maslak Acıbadem Hastanesi Tüp Bebek Bölümünde 2011-2015 tarihleri arasında IVF tedavisi gören hastaların bilgilerini veri elde etmek için kullandığımı ve hastaların gerek kişisel gerekse tıbbi bilgilerini gizli tuttuğumu beyan ederim.

Acıbadem Maslak Hastanesi

Başhekim

Prof.Dr. Çağlar ÇUHADAROĞLU

Acıbadem Maslak

Prof. Dr. Erol T. Aş
Acıbadem Maslak Hastanesi
Ardın Hastanesi Uzman
Dip. No: 30344

Öğrenci

MeldaATAY

10. ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Doğum Tarihi: 16.02.1982

Doğum Yeri: Adalar/Büyükdada

Uyruğu: T.C.

Medeni Hali: Bekar

e-mail: melda_atay@hotmail.com

EĞİTİM DURUMU

2013-2016	Yeni Yüzyıl Üniversitesi Klinik Embriyoloji Tekrarlayan Fertilizasyon Başarısızlıklarında Ca ⁺⁺ iyonoforun Etkisi.
2000-2004	Balıkesir Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi - Biyoloji Bölümü
1996-1999	Kartal Lisesi Fen Bilimleri
1993-1996	Ezcacıbaşı İlköğretim Okulu

YABANCI DİL

İngilizce

İŞ DENEYİMİ

2005-2010	Euro Fertil Tüp Bebek Merkezi Embriyoloji ve Androloji Laboratuvarları.
-----------	--

2011- Halen Maslak Acıbadem Hastanesi Tüp Bebek Bölümü
Embriyoloji Laboratuarı.

STAJ DENEYİMLERİ

2004 **İsviçre Hastanesi** Biokimya Laboratuarı
2003 **Kartal Lütfü Kırdar Eğitim Ve Araştırma Hastanesi** Biokimya
Ve Hormon Laboratuarı.