

T.C.  
YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI  
KLİNİK EMBRİYOLOJİ PROGRAMI

**İZOLE TERATOZOOSPERMİ GRUBU HASTA SİKLUSLARINDAN ELDE  
EDİLEN EMBRİYOLARDA GÖZLENEN SAYISAL ANÖPLOİDİ  
ORANLARININ VE EMBRİYO GELİŞİM SKORLARININ  
KARŞILAŞTIRILMALI DEĞERLENDİRİLMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**BİHTER ÜRGÜPLÜOĞLU**

Danışman  
**Prof. Dr. Tülay İREZ**

İstanbul,2016

**T.C.**  
**YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ**  
**Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı yüksek Lisans Programı  
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından  
yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.**

**Tez Savunma Tarihi : 30/06/2016**

**Jüri Başkanı**  
**Prof. Dr. Tülay İrez**  
**Biruni Üniversitesi**

Prof. Dr. İmer OKAR  
Yeni Yüzyıl Üniversitesi

Doç. Dr. Meriç KARACAN

## **BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar tüm aşamalarda etik dışı hiçbir davranışımın olmadığını, tezimdaki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması sonucu elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlar için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

**Bihter ÜRGÜPLÜOĞLU**

**İmza**

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmam süresince, deneyimleri ile her zaman yanımda olan, bilgi birikimi ile bize yol gösteren, hoşgörü ve desteğini esirgemeyen Sayın hocam Prof.Dr.TÜLAY İREZ' e

Değerli katkılarıyla bana bu yolda ışık olan, mesleğimi bana sevdiren, desteğini her zaman hissettiğim Sayın SEMRA SERTYEL 'e,

Çalışmamı sürdürebileceğim laboratuvar ortamını bana sağlayan CENTRUM KLİNİĞİ ekibine ve Sayın Hocam Prof. Dr. RECAİ PABUÇCU' ya,

Tez çalışmam sırasında destek olan değerli çalışma arkadaşım ÖZGÜR DOĞUŐ DEMİRKIRAN'a

Ve son olarak benden yana asla inançlarını yitirmeyen, bana her daim güvenen, sevgilerini daima hissettiğim, yüksek lisansım ve tüm eğitim hayatım boyunca maddi manevi desteklerini benden esirgemeyen sevgili annem ve sevgili babama teşekkürü borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	i
BEYAN .....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
RESİM LİSTESİ.....	vii
TABLO LİSTESİ.....	ix
SİMGE VE KISALTMALAR .....	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Erkek Üreme Sistemi.....	3
2.1.1. Testis Histolojisi.....	4
2.1.2. Spermatogenez .....	5
2.1.2.1.Spermatogonyal Evre.....	6
2.1.2.2. Mayoz Bölünme .....	7
2.1.2.3.Spermiyogenez.....	8
2.1.2.4.Olgun Spermatozoa .....	10
2.2. Erkek İnfertilitesi.....	11
2.2.1. Semen Analizi.....	12
2.2.1.2. Semen Analizinde Spermatozoanın Mikroskopik İncelenmesi .....	13
2.3. Sperm Morfolojisi.....	15
2.3.1. Sperm Morfoloji Değerlendirilmesinin Tarihsel Gelişimi .....	15
2.3.2. Strict Tygerberg Kriterleri.....	16
2.3.3. Sperm Morfolojisinin Klinik Önemi .....	18
2.3.4. Morfolojik Bozuklukların İnfertiliteye Etkisi.....	19
2.3.5. Morfolojik Terminoloji .....	20
2.3.6. Morfolojik Değerlendirme .....	21
2.3.6.1. Sperm Anomalilerinin Tanımlanması.....	21

2.4. IMSI İşlemi.....	37
2.5. ICSI İşlemi.....	37
2.6. Embriyo Biyopsi İşlemi.....	37
3.GEREÇ ve YÖNTEM.....	39
3.1. Gereç ve Malzemeler.....	39
3.2. Androlojik Değerlendirme için Semen Verme Tekniği.....	40
3.3. Sperm Kabul Etme İşlemi.....	41
3.4. Spermin İncelenmesi.....	41
3.5. Sperm Morfoloji Değerlendirilmesi için Spermac Boyama Tekniği.....	42
3.6. Sperm Hazırlama Teknikleri.....	44
3.6.1. Gradient Hazırlama Yöntemi.....	44
3.6.2 Swim Up Sperm Hazırlama Yöntemi.....	44
3.7. Folikül Aspirasyonu (OPU) , Denudasyon ve İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI) İşlemi.....	45
3.8. Biyopsi İşlemi.....	48
4.BULGULAR.....	51
4.1. Çalışma Amacı.....	51
4.2. Çalışma Modeli.....	51
4.3. Çalışma Dizaynı.....	52
4.4. Çalışma Sonuçları.....	53
5.TARTIŞMA.....	60
6. SONUÇ.....	63
7. ÖZET.....	65
8.SUMMARY.....	68
9. KAYNAKLAR.....	71
10. ÖZGEÇMİŞ.....	75

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Erkek Genital Sistemi .....	3
Şekil 2. Seminifer tübüller ve tübüller arası saha ( H+E, x40) .....	5
Şekil 3. Spermatogenez ve Spermiyogenez evreleri.....	6
Şekil 4. İnsanda Spermiyogenezisin Şematik Gösterimi .....	10
Şekil 5. Olgun Spermatazoanın Yapısı .....	11
Şekil 6. Normal Morfolojiye Sahip Sperm Görüntüsü [10] .....	15
Şekil 7. Kruger morfolojik kriterlerine göre sperm morfolojisi değerlendirilmesi .....	18
Şekil 8. ICSI işlemi için hazırlanan özel dish Örneği .....	46
Şekil 9. PGT Uygulaması İçin Yapılan Dish Örneği .....	49

## RESİM LİSTESİ

Resim 1. Normal Sperm İle Piriform (Amorf) Karşılaştırması. ....	21
Resim 2. Makrosefal Morfolojiye Sahip Sperm Görüntüsü.....	22
Resim 3. Makrosefal Morfolojiye Sahip Sperm Görüntüsü.....	22
Resim 4. Makrosefal Morfolojiye Sahip Sperm Görüntüsü.....	23
Resim 5. Makrosefal Morfolojiye Sahip Sperm Görüntüsü.....	23
Resim 6. Makrosefal Morfolojiye Sahip Sperm Görüntüsü.....	24
Resim 7. İnverted Mikroskop Görüntüsü Ve Sperm Boyama Sonrası Yuvarlak Baş Sperm Görüntüsü. ....	24
Resim 8. Pin Head Sperm Görüntüsü.....	25
Resim 9. Diadem Defekt. ....	25
Resim 10. Tapered Sperm Görüntüsü .....	26
Resim 11. Elongate Sperm Görüntüsü .....	26
Resim 12. Çift Başlı Sperm Görüntüsü .....	27
Resim 13. Yarık Başlı Sperm Görüntüsü .....	28
Resim 14. Vakuol Bulunduran Sperm Görüntüsü .....	28
Resim 15. Akrozomal Kist Bulunduran Sperm Görüntüsü .....	29
Resim 16. Uç Kısmında Kist Bulunduran Sperm Görüntüsü.....	30
Resim 17. Akrozomal Kist Görülen Sperm Görüntüsü .....	30
Resim 18. Akrozom Kaybı. ....	31
Resim 19. Küçük Akrozoma Sahip Sperm Görüntüsü .....	31
Resim 20. Akrozomal Vakuol İçeren Sperm Görüntüsü.....	32
Resim 21. Nükleus Vakuolleri Görülen Sperm Örneği .....	32
Resim 22. Segmental Mitokondriyal Aplazi Görülen Sperm Örneği .....	33
Resim 23. Kıvrılmış kuyruğa sahip sperm görüntüsü.....	33



Resim 24. Abaksiyel yerleşime sahip sperm görüntüsü .....	34
Resim 25. Çift Kuyruklu Sperm Görüntüsü. ....	34
Resim 26. Kısa Ve Küt Kuyruklu Sperm Görüntüsü. ....	35
Resim 27. Dag Defekti Görülen Sperm Görüntüsü. ....	35
Resim 28. Kıvrılmış Kuyruklara Sahip Sperm Görüntüleri. ....	36
Resim 29. sperm morfolojisi boyama tekniği. ....	43
Resim 30. 1000X Büyütme Altında İmmersiyon Yağı Ve Objektifi Kullanılarak Sperm Morfolojisi Bakılır. ....	43
Resim 31. ICSI İşlemi Sırasından Görüntü .....	47
Resim 32. ICSI İşlemi .....	47
Resim 33. 72. Saatte Biyopsi İşlemine Uygun 8 Hücreli Embriyo .....	49
Resim 34. Embriyo Biyopsi İşlemi .....	50

## TABLO LİSTESİ

- Tablo 1. PGT uygulanan ve uygulanmayan izole teratozoospermi grubu (Grup I) morfolojiye sahip hastaların siklus bilgileri. .... 53
- Tablo 2. PGT uygulanan ve uygulanmayan hiç normal morfolojiye sahip olmayan hasta sikluslarının (Grup I) embriyo gelişim skorları. .... 54
- Tablo 3. PGT uygulanan ve uygulanmayan dominant makrosefal morfolojiye sahip hasta grubunun ( GRUP II ) siklus bilgileri. .... 55
- Tablo 4. PGT uygulanan ve uygulanmayan dominant makrosefal morfolojideki hasta sikluslarının (GRUP II) embriyo gelişim skorlarının istatistiksel verileri. .... 57
- Tablo 5. GRUP I ve GRUP II nin preimplantasyon genetik tanımlama (PGT) işlemi sonrası sonuçlarının karşılaştırılması. .... 58
- Tablo 6. GRUP I ve GRUP II nin preimplantasyon genetik tanımlama (PGT) işlemi sonrası anöploidi oranlarının karşılaştırılması. .... 59

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b>PGD – PGT</b>	Pre İmplantasyon Genetik Tanı
<b>ET</b>	Embriyo Transferi
<b>EB</b>	Embriyo Biyopsisi
<b>IMSI</b>	İntrasitoplazmik Morfolojik Olarak Seçilmiş Sperm Enjeksiyonu
<b>ICSI</b>	İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu
<b>HTF</b>	Human Tubal Fluid
<b>IVF</b>	İn Vitro Fertilizasyon
<b>OPU</b>	Oocyte pick up- Oosit Aspirasyonu
<b>HSA</b>	Human Serum Albumin
<b>WHO</b>	Dünya Sağlık Örgütü
<b>PN</b>	Pronükleus
<b>FISH</b>	Fluorescence In Situ Hybridisation
<b>DNA</b>	Deoksiribonükleik Asit
<b>FIX</b>	Fiksasyon
<b>ML</b>	Mililitre
<b>µL</b>	Mikrolitre

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son 20 yıl içerisinde sperm morfolojisinin, yardımcı üreme merkezlerinde günlük değerlendirmelerde pratik ve klinik yönde büyük önem taşıdığı ortaya konulmuştur. Sperm fonksiyonunu değerlendirmek için pek çok test geliştirilmiştir. Bu testler çok detaylı, uygulaması güç, standart olarak her laboratuvarın kullanımına uygunluk göstermeyen özellikler taşıdıkları gözlenmiştir. Bununla birlikte, konvansiyonel semen analizi, detaylı bir morfolojik değerlendirme ile kombine edildiğinde, erkek üreme potansiyelinin araştırılmasında en önemli test haline gelmiştir. Böyle ayrıntılı bir değerlendirme ile sperm fonksiyonunu yansıtan çok değerli bilgiler elde edilebilir ve özellikle yardımcı üreme tekniklerinin kullanımında başarı ya da başarısızlık önceden ortaya konulabilir. Sperm morfolojik değerlendirmesi, bir laboratuvarında uygun şekilde uygulanabildiği süreçte klinisyene kısa sürede önemli bilgiler verebilmektedir. Sperm kalitesinin en önemli göstergelerinden biri morfolojisidir. Semen analizinde değerlendirilen parametreler içerisinde spermin kapasitesi konusunda en önemli bilgiyi hareketlilik ile beraber sperm morfolojisi sağlamaktadır. Sperm morfolojisinin değerlendirilmesinde kullanılan iki temel metot vardır. WHO kriterleri ve Kruger'in kesin değerleri. Kruger'in kesin değerleri, morfolojik değerlendirme konusunda daha detaylı bir inceleme imkanı sağlaması nedeniyle en çok kabul gören metottur. Bu kriterlere göre yapılan incelemede spermin baş, boyun ve kuyruk bölgesine ait toplam 38 farklı anomali net bir şekilde tanımlanabilmektedir. Bu değerlendirme sonucunda %4'ün altında normal baş bulunması teratozoospermi olarak tanımlanır.

Bu çalışmada normal başlı sperme rastlanmayan (izole teratozoospermi) ve normal sperme rastlanmamakla birlikte makrosefal spermelerin %35 in üzerinde izlendiği sperm örneklerinden, yüksek büyütme altında (6800x) sperm seçimi yapılarak geliştirilmiş embriyolar incelenmiştir. Çalışmanın amacı, bu gruptaki spermelerin kullanılma zorunluluğu olduğu

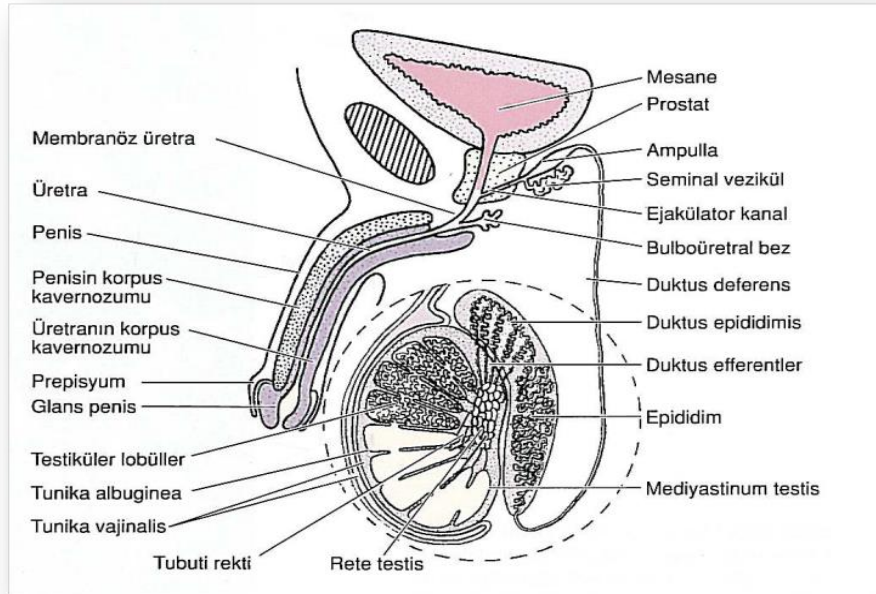
durumlarda pre-implantasyon genetik tanı (PGT) işleminin normal embriyoyu seçip sağlıklı gebeliğe ulaşmaktaki öneminin ortaya konulabilmesidir.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Erkek Üreme Sistemi

Erkek üreme sistemi; testisler, genital kanallar, yardımcı genital bezler ve penisten oluşmaktadır. Testisler hem hormonları hem de spermatozoa üretmesi açısından çift fonksiyona sahip organlardır. Genital kanallar, testiste üretilen spermeleri penise taşıyan duktus epididimis, duktus deferens (vas deferens) ve uretradan oluşmaktadır. Yardımcı genital bezler ise seminal veziküller, prostat bezi ve bulboüretral bezlerdir. Penis, erektil dokudan oluşmuş kopulasyon organıdır. Genital kanallar ve yardımcı bezler, düz kas kasılmalarının da yardımı ile spermatozoayı kanallara gönderen salgıları üretir. Bu salgılar aynı zamanda erkek üreme sistemi içinde bulunan spermatozoonlar için gerekli besinleri sağlar. Spermatozoonlar ile birlikte genital kanallar ve yardımcı bezlerin salgısı, penis yoluyla dışı üreme sistemine ileten semeni oluşturur (Şekil 1) [1, 2] .



Şekil 1. Erkek Genital Sistemi

### 2.1.1. Testis Histolojisi

Testisler, karın boşluğunun dışında skrotum içinde yer alan bir çift organdır. Bu yerleşimleri testislerin, vücut sıcaklığından 2-3°C düşük bir sıcaklıkta olmalarını sağlar. Normal spermatogenez için 34°-35°C sıcaklık gereklidir.

Olgun testisin arka yüzü duktus epididimis ile ilişkilidir. Hem testis, hem de duktus epididimis, skrotal kese içerisinde duktus deferens, spermatik arter, venöz ve lenfatik pleksusları içeren spermatik kordon ile asılıdır. Testis, rete testisin yer aldığı yerde kalınlaşarak mediastinumu oluşturan tunika albugina ile çevrenir. Mediastinumdan testiküler kitleye doğru uzanan fibröz septumlar dokuyu 250-300 lopçuğa ayırmaktadır. Her bir lopçuk, bir ile dört seminifer tubül içerir. Her bir seminifer tubül yaklaşık 150 µm çapta ve 80 cm uzunluğunda iki ucu "U" şeklinde olan ve rete testise açılan tüplerdir. Rete testis, seminifer tubülde oluşan testiküler spermatozoa, salgısal proteinler ve iyonları toplayan kanallar ağıdır. Seminifer tubül iki belirgin hücre popülasyonunu içeren özelleşmiş seminifer epitel ile döşeli merkezi bir lümeninden oluşur.

Bu hücreler;

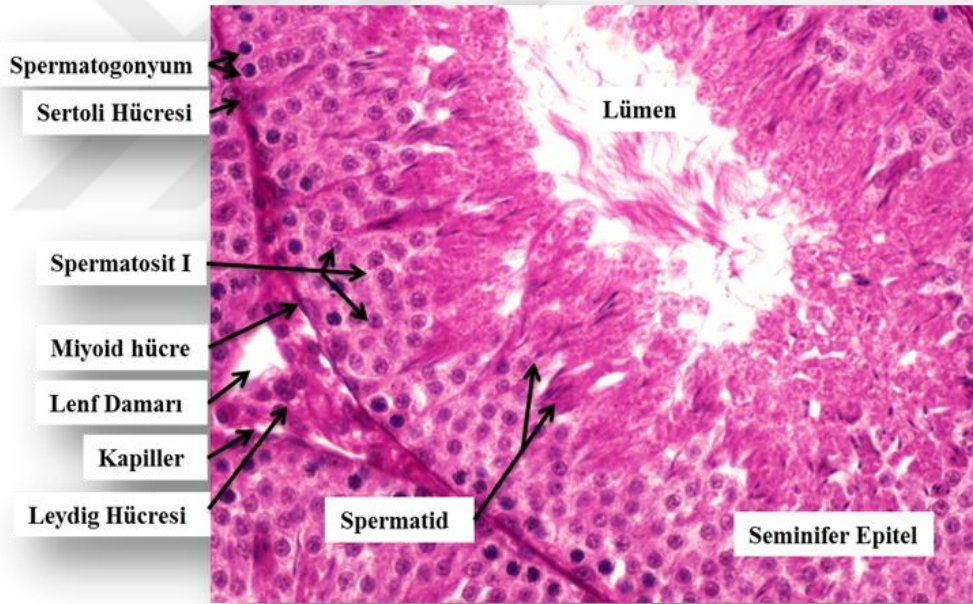
- Somatik Sertoli hücreleri
- Spermatogenik hücreler (spermatogonyumlar, spermatositler ve spermatidler)

Seminifer tubül epiteli; bir bazal membran, kollagen lifler, fibroblastlar ve kasılabilir miyoid hücrelerden oluşan bir duvarla çevrenmiştir. Miyoid hücreler hareketsiz spermatozoonları rete testise ilerleten ritmik kasılma aktivitelerinden sorumludur. Spermatozoonlar,

epididimal kanaldan geçtikten sonra ileri hareket özelliği kazanırlar. Seminifer tubüller arasında, kan damarları, lenfatik kanallar veya sinüzoidler, makrofaj ve androjen üreten Leydig hücre grupları bulunmaktadır [1, 2].

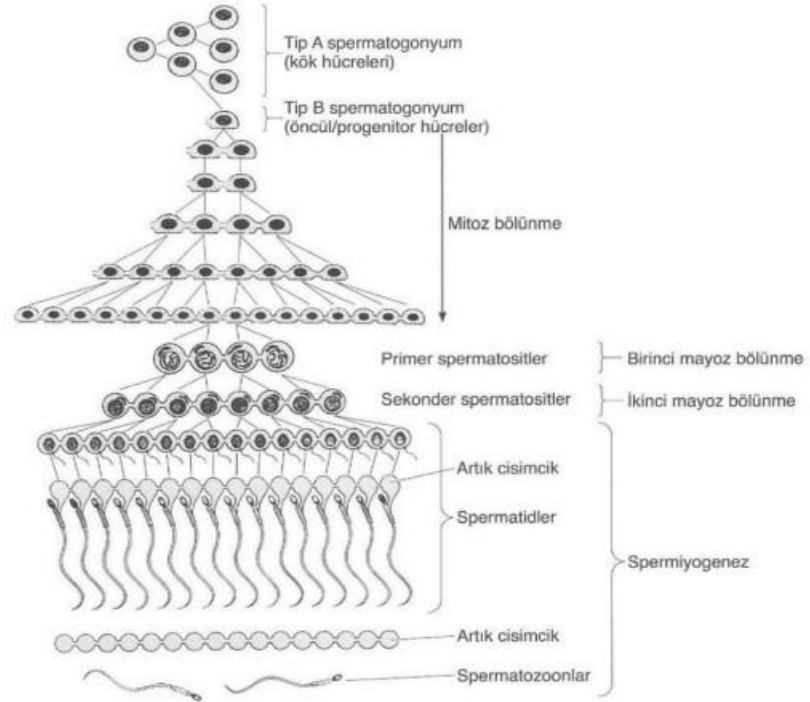
### 2.1.2. Spermatogenez

Spermatogenez, erkek germ hücrelerinin oluşmasını, sayılarının artmasını ve olgun spermatozoonlara dönüşmesini sağlayan bir süreçtir. Bu süreç, tek sıra Sertoli hücreleri ve spermatogenik seriye ait hücrelerle çevrili seminifer tubüllerde gerçekleşir (Şekil 2, Şekil 3) [2].



**Şekil 2.** Seminifer tübüller ve tübüller arası saha ( H+E, x40)





**Şekil 3.** Spermatogenez ve Spermioyenez evreleri

### 2.1.2.1. Spermatogonyal Evre

Spermatogonyumlar, seminifer tubül bazal kompartmanında bazal lamina ile doğrudan ilişkide olan diploid spermatogenik hücrelerdir. Sertoli hücreleri arasındaki zonula okludens altında yer aldığından, kan-testis bariyeri dışında yer alırlar. Spermatogonyumlar, spermatogonyal kök hücrelerinden köken alırlar ve puberte ile beraber mitotik hücre bölünmeleri geçirirler.

İki temel morfolojik spermatogonyal hücre tipi vardır:

- Tip A spermatogonyum (İnsan testislerinde koyu ve açık spermatogonyumlar olarak gözlenir)

- Tip B spermatogonyum

Spermatogonyal kök hücrelerin erkek infertilitesinde önemli etkileri vardır. Bu hücreler kısmen inaktif hücrelerdir ve bu nedenle radyasyon ve kanser kemoterapisine dirençlidirler. Mitotik olarak bölünen spermatogonyumlar, mayoz bölünme ile meydana gelen spermatositler ve farklılaşmakta olan spermatidler kanser kemoterapisine ve radyasyona duyarlıdır. Radyoterapi veya anti-kanser kemoterapisinin sonlandırılmasından sonra, spermatogonyal kök hücreler spermatogenik süreci yeniden oluşturabilirler. Postmitotik Sertoli hücreleri bu tedavilere yüksek oranda dirençlidir. Başarılı mitotik bölünmeler geçirdikten sonra, tip B spermatogonyumlar, son S fazını (DNA sentezi) tamamlayıp mayoz bölünmenin profaz aşamasına girerler [1-3].

### **2.1.2.2. Mayoz Bölünme**

Tip B spermatogonyumların en son mitotik bölünmesinin ardından, ortaya çıkan yavru hücreler, DNA sentezler (S fazı) ve G2 fazına ilerler ve 4N DNA içerikleri ile birinci mayoz bölünmeye başlarlar. Birinci mayoz bölünme, yaklaşık 10 gün süren uzun bir profaz ile karakterizedir. Birinci mayoz bölünmenin profazının alt evreleri; leptoten (ipliksi), zigoten (eşleşen), pakiten (kalınlaşan), diploten (çift görünen) ve diyakinez (uzaklaşan) evreleridir.

Bu alt evreler 4 temel olayla karakterize edilir:

1. Zigoten-pakiten evresinde homolog kromozomların (otozomlar ve seks kromozomları X ve Y) eşleşmesini ya da sinapsını kolaylaştıran sinaptonemal kompleks oluşumu,

2. Homolog kromozomların eşleşmesi (sinapsis),

3. Krossing-over: Homolog kromozomların kardeş olmayan kromatidleri arasında genetik bilgi değişimi,

4. Ayrılma (disjunction): Eşleşmiş homolog kromozomların ayrılması.

Bu uzamış profaz evresinden sonra, kardeş kromatid çiftleri metafaz, anafaz ve telofaz evrelerinden geçer ve yavru hücrelere (sekonder spermatositlere) dağılır. İkinci mayoz bölünme sırasında, profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evreleri kardeş kromatidleri yavru hücrelere (spermatidlere) dağılırlar.

Mayoz bölünmenin üç önemli sonucu;

1. Spermatozoon ve oosit, her biri homolog kromozom çiftinin sadece bir temsilcisini içerir.

2. Maternal ve paternal kromozomlar rastgele dağılır.

3. Krossing-over genetik çeşitliliği artırır [2, 3] .

### **2.1.2.3.Spermiyogenez**

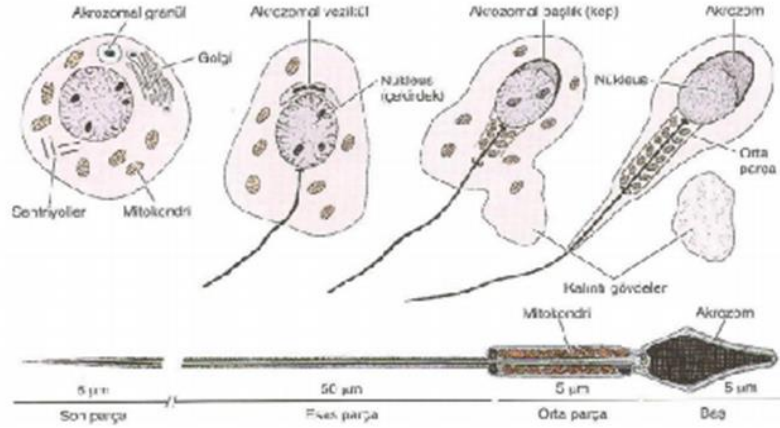
Haploid spermatidler, seminifer tubül lümenine yakın adluminal kompartmanda yerleşmişlerdir. Spermatidler, Sertoli hücrelerinin sitoplazma çöküntüleri içinde gömülüdür. Spermatidler, spermiyogenez adı verilen farklılaşma sürecine girerler (Şekil 3) [1].

Spermiyogenez, spermatogenezin son aşamasıdır. Üç ana olay spermiyogenezi karakterize eder.

**1. Flagellum (kamçı) gelişmesi:** Flagellum, distal sentriyolden gelişir. Keratin içeren dış yoğun lifler ve bir fibröz kılıf ile çevrili bir aksoneme (eş merkezli dizilime sahip 9+2 mikrotübül çiftleri) sahiptir. Mitokondriyumlar kuyruğun proksimal bölümü (orta parça) çevresinde helikoidal / sarmalımsı bir kılıf oluşturur.

**2. Akrozom gelişmesi:** Akrozom oluşumu, döllenme için gerekli olan hidrolitik enzimlerin sürekli sentezinin gerçekleştiği ve depolandığı akrozomal keseyi içerir. Akrozomun gelişmesi, Golgi evresi, kep (şapka) evresi, akrozomal evre ve olgunlaşma evresi olmak üzere 4 ardışık evreden oluşur.

**3. Nüklear yoğunlaşma:** Somatik histonlar (H1, H2A, H2B, H4), arjinin ve lizin zengin protaminler ile yer değiştirdiğinde nüklear yoğunlaşma oluşur. Bu somatik histonların protaminlere dönüşümünden sonra, nükleozomlar kaybolur ve çekirdek materyalini yoğunlaştırmak için düz kromatin lifler yan yana dizilir. Spermiyogenezin olgunlaşma aşamasından sonra belirgin bir RNA sentezi yoktur. Sonucu spermatid olgunlaşma evresi sırasında, mitokondriler, gelişmiş flagellum boyunca dizilmelerini tamamlar, çekirdek uzar, yoğunlaşır ve manşet kaudal yönde göç eder. Olgunlaşma işlemi, çekirdek uzamış, yoğunlaşmış şeklini aldığı anda, manşet dağılmaya başladığında ve dış yoğun lifler tamamen organize olduğunda tamamlanır (Şekil 4) [1].



**Şekil 4.** İnsanda Spermijenezisin Şematik Gösterimi

#### 2.1.2.4.Olgun Spermatozoa

50–60 µm uzunluğunda hareketli bir hücredir. Spermijum; baş, boyun, orta parça ve kuyruk olmak üzere 4 bölümden oluşur;

**1. Baş:** Yassı oval biçimdedir. Yoğun kromatinli bir çekirdek, çekirdeğin üzerinde onu kep gibi saran akrozom ile bu ikisini kuşatan çok az sitoplazma içerir ve en dıştan hücre zarı ile çevrilidir.

**2. Boyun:** Spermatozoanın baş ile kuyruk orta parçasını bağlayan kısa bir bölümdür. Hemen çekirdeğin altında yer alan transvers yerleşimli proksimal entriyol ve bundan çıkan filum aksiyale bulunur (filum aksiyale= 9+2 düzeninde mikrotübül sistemi).

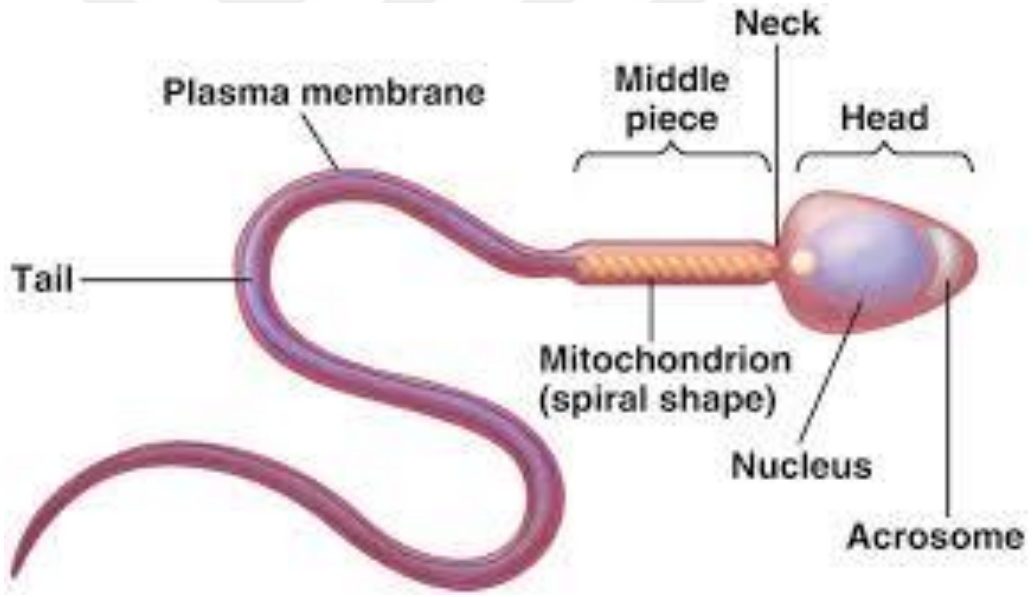
**3. Orta Parça:** Bu bölümde spiral yerleşimli mitokondriyonlar bulunur alt tarafta distal sentriyol ile sonlanır.

#### 4- Kuyruk: İki bölümdür:

a) Ana parça,

b) Son parça

Kuyruk ortada filum aksiyale, çevresinde kaba longitudinal seyirli dış fibrillerden ve her ikisini dıştan kuşatan fibröz bir kılıftan oluşur. Son parçaya doğru kuyruğu oluşturan bu yapılar yoğunluk yönünden giderek azalır ve son kısımda sadece mikrotübüller kalır (Şekil 5.) [3, 4].



Şekil 5. Olgun Spermatazoanın Yapısı

## 2.2. Erkek İnfertilitesi

Dünya sağlık örgütü (WHO) infertilite tanımlamasını “en az bir yıl süreyle çiftlerin korunmasız olarak ilişkide bulunmalarına karşın çocuk sahibi olamamaları” olarak yapmaktadır. Kısır çiftlerin %25-30’unda yalnızca erkeğe bağlı faktörler, %35-40’ında yalnızca kadına bağlı faktörler

bulunmaktadır. Ayrıca %20-25'inde ise hem erkek hem kadın faktörü, %10-15'inde ise nedeni bilinmeyen sorunlar bulunmaktadır. Bu yüzdelerden yola çıkarak kısırlık sebebinin erkek olduğu durumlar %50 civarındadır. Bu yüzden tanı yöntemleri arasında erkeğin değerlendirilmesi önemlidir. Semen parametrelerinin bilinmesi, bize hangi olgulara inseminasyon, hangi olgulara klasik in vitro fertilizasyon (IVF) ve hangi olgulara intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) uygulaması yapmamız konusunda ışık tutacaktır [5]. Klasik in vitro fertilizasyonun yeterli sayıda motil spermin olması halinde erkek subfertilitesinde de çözüm olabileceğinin gösterilmesi üzerine IVF uygulamaları anovulasyon, tubal faktör ve açıklanamayan infertilite dışında erkek subfertilitesinde de kullanılmaya başlanmıştır. Ancak erkek subfertilitesinde sperm parametrelerinin yetersiz olmasının, fertilizasyon oranının düşmesine neden olduğu bilinmektedir [6]. Fertilizasyonda etkili olan sperm parametreleri arasında sperm sayısı önemlidir. WHO standartlarına göre 20 milyon/ml ve daha fazla olması normal kabul edilmektedir. Ejakülatta hiç sperm bulunmaması anlamına gelen azospermi olgusu, erkeklerin %1'inde, infertilite olgularının ise %10-15'inde bulunur.

Erkek infertilite olgularının tedavisinde en önemli ilerleme, azospermi olgularında testislerde spermatogenezin devam ettiği küçük odakların gösterilerek, bu odaklardaki olgun sperm hücrelerinin elde edilmesi olmuştur [7].

### **2.2.1. Semen Analizi**

Semen sıvısı, spermatozoanın testis ve epididimis salgısının, ejakülasyon sırasında prostat, seminal veziküller ve bulboüretral bezlerin salgılarının birleşmesiyle oluşur. Sonuç olarak, oluşan viskozitesi yüksek salgı semen adını alır. Bu salgıda spermatozoa, semen sıvısının %5'ini oluşturur [5]. İnsanda ejakülat miktarı kişisel farklılıklar göstermekle birlikte 2-6 ml. kadardır. Semen pH'sı 7.2-8.0 arasında değişkenlik gösterir ve diğer

pek çok memeliden farklı olarak insan semeni ejakülasyonun hemen sonrasında yoğunlaşır ve yaklaşık 20 dakika içinde yeniden çözülerek likefiye olur [8, 9].

### **2.2.1.2. Semen Analizinde Spermatozoanın Mikroskopik İncelenmesi**

Olgun bir sperm, başlıca baş, boyun ve kuyruk olmak üzere üç bölümden oluşur. Sperm başının büyük bir kısmını çekirdek oluşturur. Çekirdeğin 2/3'lük ön kısmını akrozom oluşturur. Akrozom başlık biçiminde olup zar ile sarılı bir organeldir. Kaudalinde hücre zarı ile çekirdek zarı arasında özelleşmiş post-akrozom denilen, hücre zarına sıkıca yapışmış bir bant bulunur [6]. Döllenme sırasında spermi saran hücre zarı, sekonder oositin hücre zarı ile bu post-akrozom bölgesinden birleşerek erir ve spermin oosit sitoplazması içerisine geçişi sağlanır.

Spermin boyun kısmı kısa bir parça olup bağlantıyı sağlamaya yönelik segmentli kolonlardan ve proksimal sentriyolden oluşur. Orta parça ise sperm hareketini sağlamak üzere gerekli enerjiyi sağlayan mitokondrileri barındırır.

Kuyruk kısmı ise sperme diklik veren fibröz tabaka ve spermin hareketliliğini sağlayan aksonem tabakasından oluşur [6].

Semen analizi, konsantrasyon, motilite ve morfoloji olarak başlıca 3 başlık altında yapılır.

#### **1- Konsantrasyon**

Ejakülatta bulunan sperm sayısı, likefaksiyonunu tamamlamış örnekte iki yöntemle değerlendirilir. Spermilerin hepsi immobilize edilerek sayım yapılır ya da hareketli ve hareketsiz spermeler birlikte değerlendirilir.



Sperm sayımı için hemositometre, microcell, CellVU, StandartCount, Makler gibi çeşitli sayım kamaraları tanımlanmış olmakla birlikte günümüzde yaygın olarak Makler sayım kamarası kullanılmaktadır. Makler kamara ile yapılan değerlendirmede iyi sonuç alınması için kamaraya konulan ejakülat miktarının 10µl'yi geçmemesi, kamaranın üst kısmı kapatıldığında 4 nokta şeklinde inkübatörlerde gökkuşağının görülmesi, kamaranın analiz öncesinde 37°C'de ya da oda ısısında olması gerekir. Sağlıklı sonuç alabilmek için 100 karelik alan içerisinde en az on karede sayım yapılır ve on karede saptanan sayı milyon/ml olarak ifade edilir [8].

## **2- Motilite**

Sperm sayımı yapılırken, sperm hareketleri 4 sınıfa ayrılır.

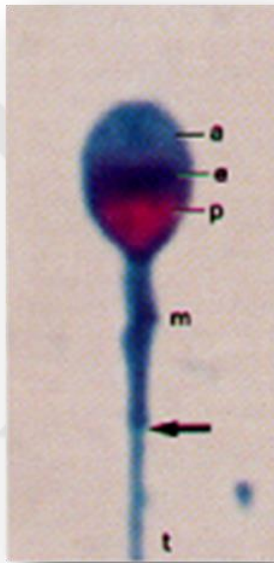
- +4 hareketli spermatozoolar; lineer bir şekilde ileri yönde hızlı hareket ederler
- +3 hareketli spermatozoolar; ileri yönde daha yavaş harekete sahiptirler
- +2 hareketli spermatozoolar; oldukları yerde hareket ederler
- +1 hareketli spermatozoolar da immotil şekilde durmaktalar.

Motilite hareketlilik anlamına gelmekte olup +4, +3 ve +2 hareketli spermatozooların toplam oranıdır. Hızlı hareketli sperm sayısı (PMSS) sadece +4 ve +3 hareketli spermatozooların oranıdır [5].

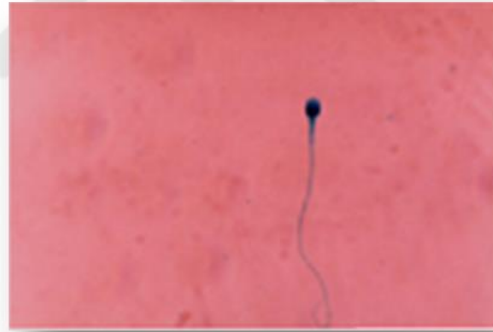
## **3- Morfoloji**

Bir sperm hücrenin normal olarak kabul edilebilmesi için sperm başı, boynu (orta parça), ve kuyruğu normal olmalıdır. Başın şekli oval

olmalıdır. Başın boyu 4-5 $\mu$ m ve genişliği 2.5-3.5 $\mu$ m olmalıdır. Baş bölgesinin %40-%70'ini kapsayan iyi tanımlanmış bir akrozomal bölge olmalıdır. Orta kısım ince uzun ve genişliği 1 $\mu$ m den az, boyu baş uzunluğunun 1.5 katı ve başa aksiyal olarak bağlanmış olmalıdır. Kuyruk düz, düzgün biçimli, orta kısımdan ince, kıvrılmamış ve yaklaşık 45 $\mu$ m uzunlukta olmalıdır. Kruger kriterlerine göre %4 ve üzeri normal sperm olmalıdır ([5], Şekil 6.).



- a: Akrozom
- e: Ekvatoral bölge
- p: Nükleer bölge
- m: Orta parça
- f: Kuyruk



**Şekil 6.** Normal Morfolojiye Sahip Sperm Görüntüsü [10]

### 2.3. Sperm Morfolojisi

#### 2.3.1. Sperm Morfoloji Değerlendirilmesinin Tarihsel Gelişimi

İnsan spermatozoasının tanımlanıp ilk olarak çizimi 1677 tarihinde Antony Van Leeuwenhoek tarafından yapılmıştır. Carry 1916 yılında

erkek infertilitesi ve sperm morfolojisi arasındaki ilişkiye dikkat çekmiştir. 1925 yılında Williams ve Savage, 1931 yılında Moench ve Holt sperm başının morfolojisi ile üreme potansiyeli arasındaki ilişkiyi ortaya koymuşlardır.

1934 yılında ilk olarak yağ immersiyon objektifi ve sperm boyama solüsyonlarını kullanan Cary ve Hotchkiss, sperm anomalilerini sınıfladılar. 1934 yılında Williams spermi morfolojik olarak ilk kez bölümlere ayırdı baş, boyun, orta kısım ve kuyruk bölümlerini tanımladı. Akrozomun varlığı ilk kez ortaya kondu. Daha sonra Willims altı grupta sperm anomalilerini sınıflandırdı. 1951 yılında Macleod ve Gold bu sınıflandırmayı geliştirdiler. 1966 yılında Freund kuyruk anomalilerini bu sınıflandırmaya eklediler [11]. 1971 yılında Eliasson, sperm başı ölçülerini saptadı ve sperm başı için bu ölçülere göre ayrıca bir standardizasyon sağlandı. 1980 yılında Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization - WHO), piriform baş, orta kısım defektleri, sitoplazmik artık ve kuyruk anomalileri 4 yeni grup olarak sınıflandırmayı zenginleştirdi. Ayrıca pin-head ve yuvarlak baş anomalileride ilave edildi [12, 13].

1992 yılında üçüncü WHO kitabında semen değerlendirmesinde sperm morfolojisine daha fazla önem verildi. Strick Tygerberg Kriterleri daha fazla önem kazandı. Bu sınıflandırmada endoservikal kanalın proksimal ve distal kısımlarında bulunan sperm popülasyonlarının farklı morfolojik özellikler taşıyor olması yönlendirici faktör halini aldı [14].

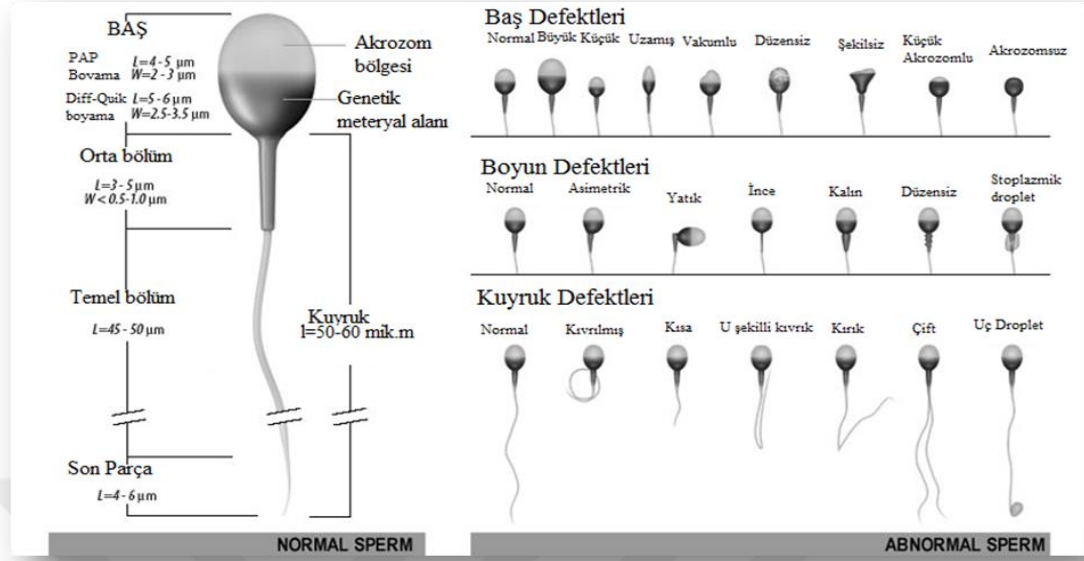
### **2.3.2. Strict Tygerberg Kriterleri**

İlk olarak Kruger ve Menvelid isimli araştırmacıların dikkat çektiği bu kriterler, spermlerin in-vitro ortamlardaki fertilizasyon potansiyelini belirlemekte en sıklıkla başvurulan değerlendirme yöntemi olmuştur. Servikal kanalın en proksimali olan internal ostium'da toplanan spermler fizyolojik

süzülme prosesinden geçmiş homojen bir popülasyon oluştururlar. Bu popülasyon normal sperm kriterleri için örnek oluşturur [15].

Strict Tygerberg kriterlerinin en önemli özelliği değerlendirmede standardizasyon sağlanmış olmasıdır. Sperm morfolojisi değerlendirilmesinde, değişik zaman aralıklarında yapılan değerlendirmelerin, aynı sonuçları ortaya koyabilmesi ve değerlendiren farklı kişilerin bu kriterleri dikkate alması nedeniyle aynı sonuca ulaşabilmeleri sağlanmıştır. Bu sınıflandırmaya strikt kriterler (sıkı kriterler) olarak anılmasının nedeni , borderline (sınır) formların da anormal olarak değerlendirilmeleri ve sadece tamamıyla kusursuz olanların normal olarak kabul edilmeleridir [16, 17] .

Dünya sağlık örgütünün önceleri %50, daha sonra %30 olarak verdiği sperm morfolojisine ait alt sınıra karşılık ; Kruger (T.F. Kruger) kriterleri ile bu alt sınırın %4 olduğu ortaya koyulmuştur. Sperm ile ilgili yapılan çalışmalar özellikle zonapellucidaya bağlanan spermelerin morfolojik değerlendirmesi sonrasında tanımlanmış ve bu çalışmalar Kruger kriterlerinin belirlenmesinde öncü olmuştur. Sperm tarafından fertilizasyonun gerçekleşmesini sağlayarak embriyogenez , haploid genom, sentrozom ve oosit aktivasyonunu sağlayacak sinyalizasyon gibi kompleks gelişmelerin sadece sperm morfolojisi ile açıklanmasının mümkün olmamasına rağmen; sperm yapısal bozukluk gösterdiği durumlarda gerek fertilizasyon, gerekse embryo gelişimi ilgili problemlere rastlanması, sperm morfolojik önemini arttırmıştır. Coetze ve Kruger'in 1998 yılında hazırladıkları meta analizde konu ile ilgili 18 yayını değerlendirip klasik IVF hastalarında, sperm morfolojisinin <%4 normal olarak saptandığı grupta gebelik oranları %15,2 olduğu halde >%4 grubunda %26,0 olarak gözlenmiştir (Şekil 7.) [16, 17].



**Şekil 7.** Kruger morfolojik kriterlerine göre sperm morfolojisi değerlendirilmesi

### 2.3.3. Sperm Morfolojisinin Klinik Önemi

Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organizasyonu- WHO) infertilitesi tanımlamasını şöyle yapmıştır: En az bir yıl süreyle çiftlerin korunmasız olarak koitusta bulunmalarına karşın çocuk sahibi olamamalarıdır. WHO tarafından gerçekleştirilen çok merkezli araştırmaların sonucunda infertilite kliniklerine başvuran çiftlerin en az 30-50 sinde erkeğe bağlı nedenler bulunduğu ortaya konmuştur.

### İnfertilite nedenlerinin oransal gösterimi (19)

İnfertilite Nedenleri	
Erkek Faktörü	%30-50
Kadına Bağlı Faktörler	%40-50
Her İkisi	%20-25
Açıklanamayan	%10-15

Bu nedenle, semen analizlerinin önemi kaçınılmazdır. WHO tarafından kurgulanan konvansiyonel semen analizinde, volüm, aglütasyon, pH, spermatogenetik hücre konsantrasyonu gibi parametrelerin yanında en önemli değerlendirme kriterleri sperm konsantrasyonu, motilite ve progresyon, morfoloji olarak belirlenmiştir.

Erkek fertilitesi değerlendirmesinde bir çok parametre değerlendirilmekle birlikte bugüne kadar tek başına fertilitite potansiyelini belirleyen bir test henüz ortaya konulamamıştır. Strick kriterler ile değerlendirilen sperm morfolojisi bu yeterliliğe çok yaklaşmıştır. Klasik fertilitite araştırmaları arasında yer alan postkoital test, sperm morfolojisi değerlendirilmesinin temellerini oluşturmuştur.

Morales ve arkadaşları, normal morfolojiye sahip spermlerin anormal spermlerden daha hızlı yüzmelerinden başka, daha yüksek dönme, flagellar hareket sıklığı ve flagellar hareket yüksekliğine sahip olduklarını göstermişlerdir. Kısaca önce morfoloji düzgün olmalıdır ve hareketlilikte buna bağlı olarak düzgün şekillenir [18].

#### **2.3.4. Morfolojik Bozuklukların İnfertiliteye Etkisi**

Normal ve normale yakın morfolojiye sahip sperm hücrelerinin seçilmesi, infertilite tedavisinde son derece önemlidir. Örneğin; akrozom, spermin oosite penetrasyonu için gerekli enzimleri içeren önemli bir bölge olduğundan, akrozom anomalileri, sperm zona pellusida bağlanmasında sorun yaratmaktadır [18]. Nukleus anomalileri, DNA içerik bozukluğu anlamına gelmektedir. Bu da sağlıklı bir embriyo gelişimini engellemektedir [19]. Sitoplazmik artık, spermin olgunlaşmadığı anlamına gelmektedir [20]. Globozoospermia, akrozomu olmayan spermatozodur ve dölleme kabiliyeti sınırlıdır [21]. Orta parça, mitokondrilerin olduğu önemli bir kısımdır. Buradaki anomaliler, enerji desteğinin noksanlığına neden olmaktadır. Bu durum

sperm hareketliliğini direkt etkilemektedir. Sperm non-aksiyel orta parçaya sahip olması, progresif hareketini düşürmektedir. Kuyruk, sperm hareketliliğini ve dikliğini sağlayan bölge olduğundan kuyruktaki anomaliler, sperm hareketini kısıtlayıcı etkiye sahiptir [5].

### 2.3.5. Morfolojik Terminoloji

**Normospermi:** Mililitredeki sperm sayısının 20 milyon ve üzeri olmasıdır.

**Oligospermi:** Mililitredeki sperm sayısının 20 milyondan az olmasıdır.

**Polispermi:** Mililitredeki sperm sayısının 20 milyondan çok fazla olmasıdır.

**Azospermi:** Tüm ejakülatta hiç sperm bulunmamasıdır.

**Aspermi:** Seminal plazma üretiminin olmamasıdır.

**Nekrospermi:** Spermilerin ölü olmasıdır.

**Astenospermi:** Motilitenin %30'dan daha az olmasıdır.

**Lökositospermi:** Semende lökositlerin 1 milyon/ml'den daha fazla olmasıdır.

**Hiperspermi:** Semen hacminin 6 ml'den daha fazla olmasıdır.

**Hipospermi:** Semen 1 ml veya daha az olmasıdır.

**Globozoospermi:** Spermde akrozom yokluğudur.

**Teratospermi:** Morfolojik olarak anormal spermilerin çoğunlukta olmasıdır.

**İzoleteratozoospermi:** Yapılan morfolojik inceleme sonucunda Kruger'in kriterlerine göre semen örneğinde hiç normal morfolojiye sahip sperm görülmemesi durumuna verilen addır [22].

## 2.3.6. Morfolojik Değerlendirme

### 2.3.6.1. Sperm Anomalilerinin Tanımlanması

Kesin kriterler ile sperm morfolojisi değerlendirmesinde yukarıda boyutları verilerek tanımlanan spermier dışında kalan tüm spermier anormal olarak kabul edilir. Anormal sperm formları aşağıdaki şekillerde olabilir.

#### 1.Baş şekil Anomalileri:

**a) Borderline (sınırdaki) baş anomalileri:** Bunlar hafif anomaliler olup, ilgili spermii belirli bir anormal form sınıfına sokmaz.

**b) Piriform (amorf):** Deforme olmuş baş anomalisidir ve kontur bozuklukları içerir (Resim 1.).

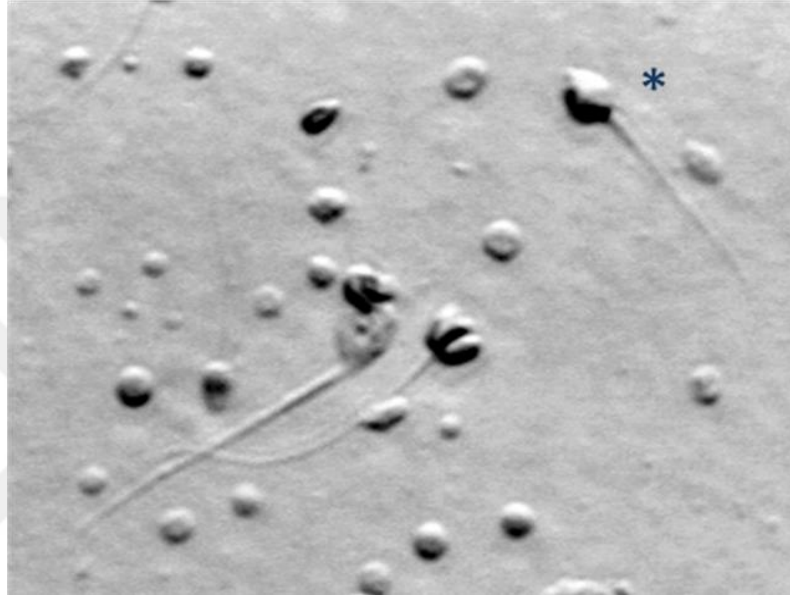


**Resim 1.** Normal Sperm İle Piriform (Amorf) Karşılaştırması.

**c) Makrosefal sperm (Büyük baş):** Sperm başının olması gereken normal boyutundan (4-5 $\mu$ m boy ve 2.5-3.5 $\mu$ m genişlik) daha büyük olması durumudur (Resim 2,3,4,5,6). Makrosefal başlı sperme uygulanan



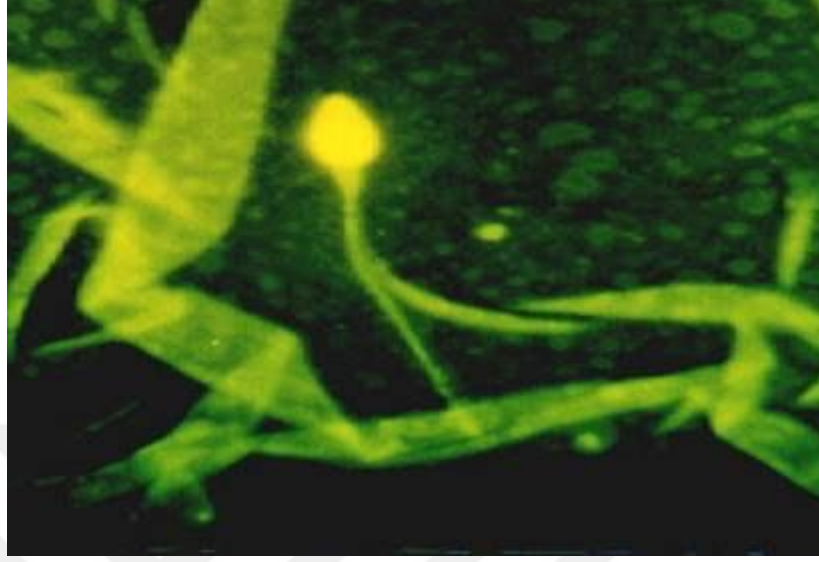
sperm FISH işlemi sonrası 18. kromozomun 3 tane olması (Trizomi18) ve bir X iki Y kromozom olması (XYY) bir non-disjunction (kromozomların olması gerektiği kurulumda ayrılamaması) problemidir ve spermdeki abnormal segregasyonun (anormal kromozomal dağılım) sonucudur (31)



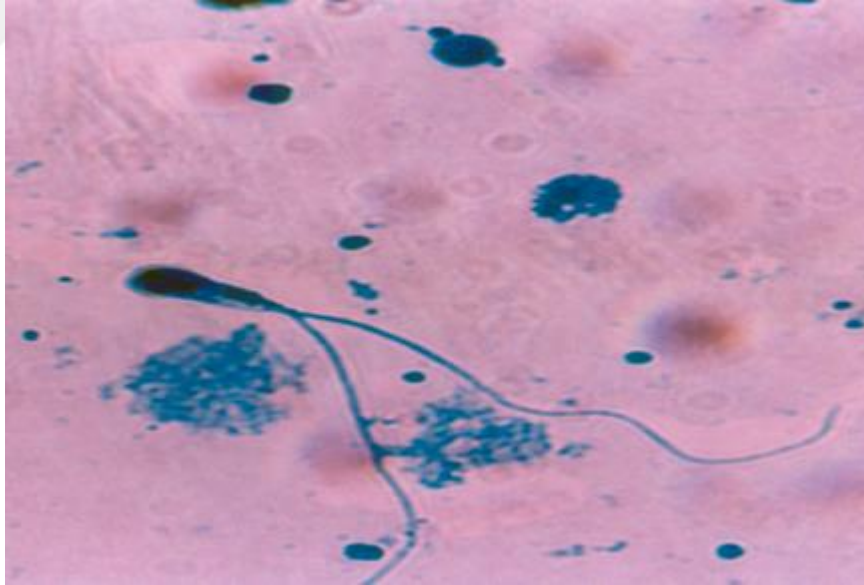
**Resim 2.** Makrosefal Morfolojiye Sahip Sperm Görüntüsü.



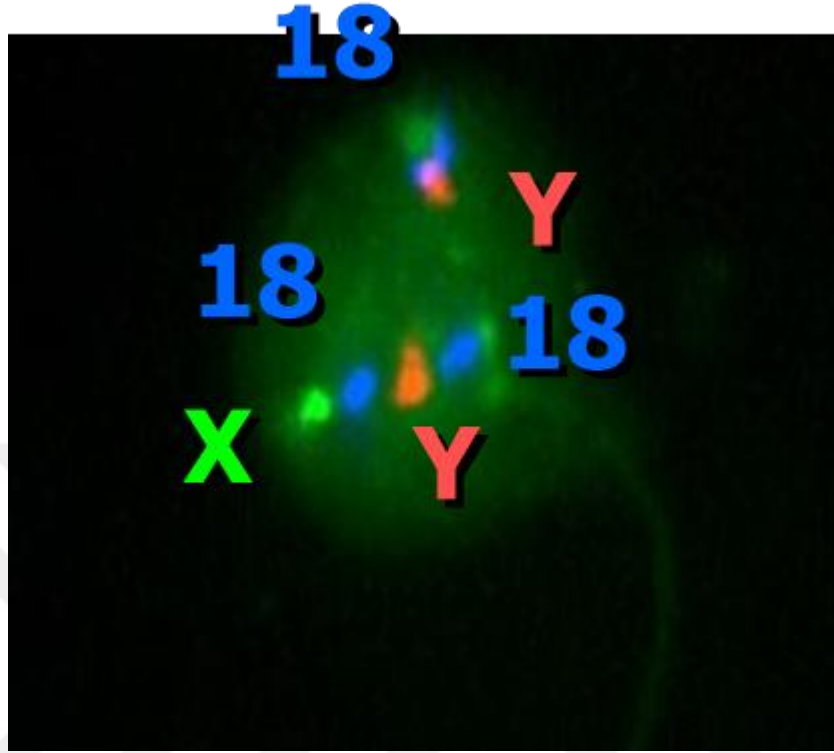
**Resim 3.** Makrosefal Morfolojiye Sahip Sperm Görüntüsü



**Resim 4.** Makrosefal Morfolojiye Sahip Sperm Görüntüsü

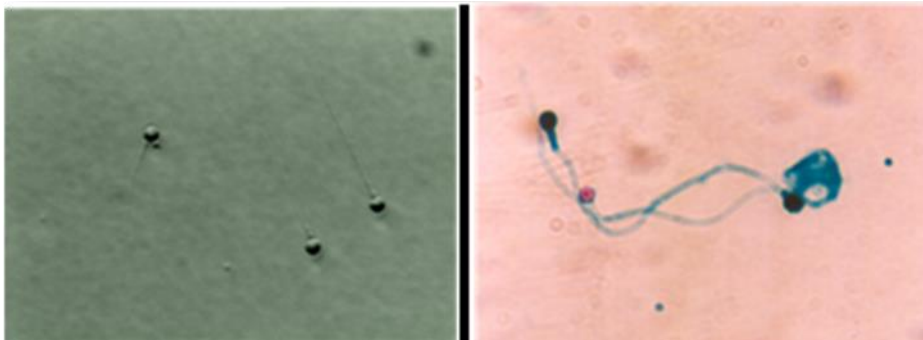


**Resim 5.** Makrosefal Morfolojiye Sahip Sperm Görüntüsü



**Resim 6.** Makrosefal Morfolojiye Sahip Sperm Görüntüsü

**d) Yuvarlak Baş Sperm (Globozoospermia):** Genellikle akrozom yokluğu nedeniyle sperm başı yuvarlak şekil alır. İmmatürite işaretidir(Resim 7.).



**Resim 7.** İverted Mikroskop Görüntüsü Ve Spermac Boyama Sonrası Yuvarlak Baş Sperm Görüntüsü.

e) **Pin-head (İğne Baş) Sperm:** Sperm başı toplu iğne şeklindedir (Resim 8.).



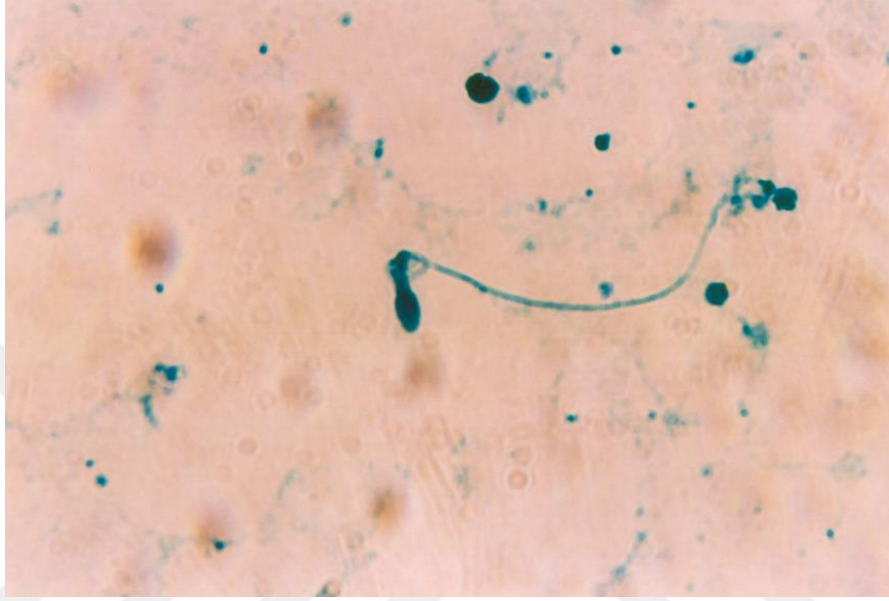
**Resim 8.** Pin Head Sperm Görüntüsü.

f) **Diadem defekti:** Sperm başı üzerinde (nüklear kısımla akrozomal kısım arasındaki ekvotaryal bölgede) yer alan içeri doğru invajinasyonlardır. Nükleus içine doğru olan invajinasyonlardır (Resim 9.).



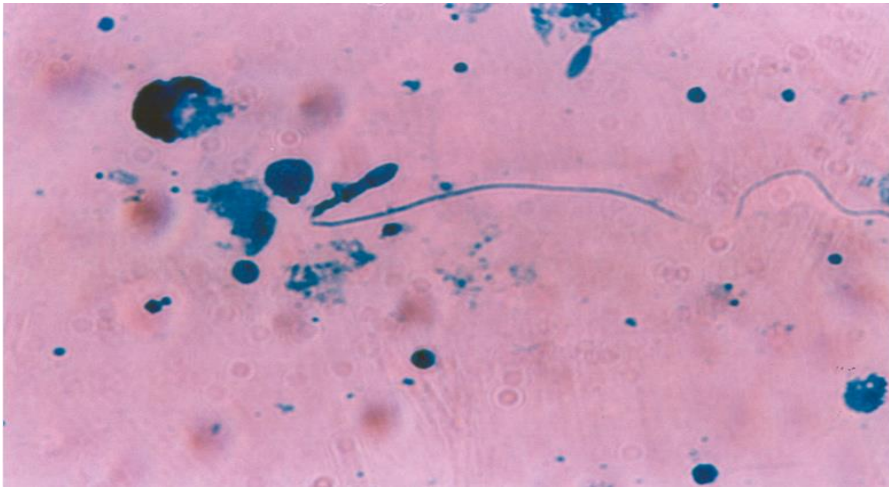
**Resim 9.**Diadem Defekt.

**g) Uzun ve Sivri (Tapered) Sperm:** Sperm başının uzun ve sivri olması durumudur. Akrozom yokluğu veya anomalisi durumunda ortaya çıkar (Resim 10).



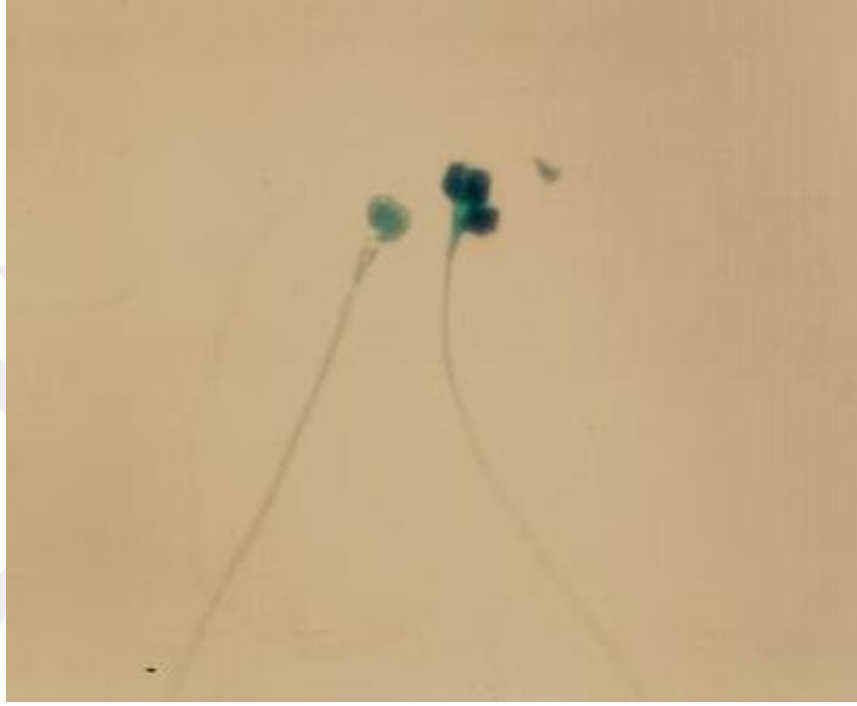
**Resim 10.** Tapered Sperm Görüntüsü

**h) Uzamış(Elonge)Sperm :** Sperm başı tapered formda olduğu gibi sivri değildir, ancak tanımlanan boyutlardan daha uzundur. Postakromozom kısmında incelleme söz konusudur (Resim 11).



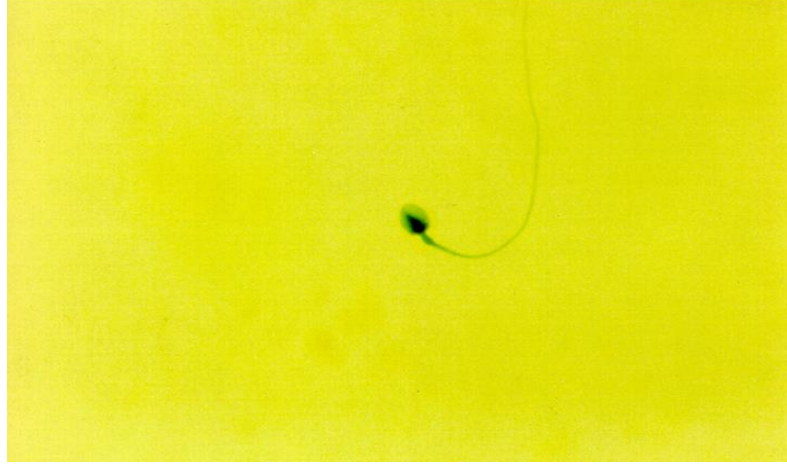
**Resim 11.** Elonge Sperm Görüntüsü

**ı) ift Baş Sperm:** Tek kuyruk, tek orta kısım olduğu halde sperm başının çift olması durumudur. İmmatürite işareti olabilir (İnkomplet seperasyon) (Resim 12).



**Resim 12.** ift Başlı Sperm Görüntüsü

**j) Yarık Baş Sperm:** Aynı sperm başı içinde birden fazla nükleus bulunması durumunda görülebilir. Bu durumda sperm haploid değildir. İmmatürite işareti olabilir (Resim 13).



**Resim 13.** Yarık Başlı Sperm Görüntüsü

**k) Vakuol:** Sperm başında boya almayan içi sıvı dolu boşluklar vardır (Resim 14).



**Resim 14.** Vakuol Bulunduran Sperm Görüntüsü

## 2.Akrozom Anomalileri

a) **Primer Akrozom Anomalileri:** Spermin gelişmesi ve diferansiyasyonu sırasında meydana gelen anomalilerdir. Anormal formasyon, anormal dağılım ve sperm başına anormal bağlanma şeklinde ortaya çıkar.

b) **Akrozomal Kistler:** Primer akrozom anomalileridir (Resim 15).



**Resim 15.** Akrozomal Kist Bulunduran Sperm Görüntüsü



**c) Nipple kist:** Akrozomun en uç kısmında yer alan kistlerdir (Resim 16).



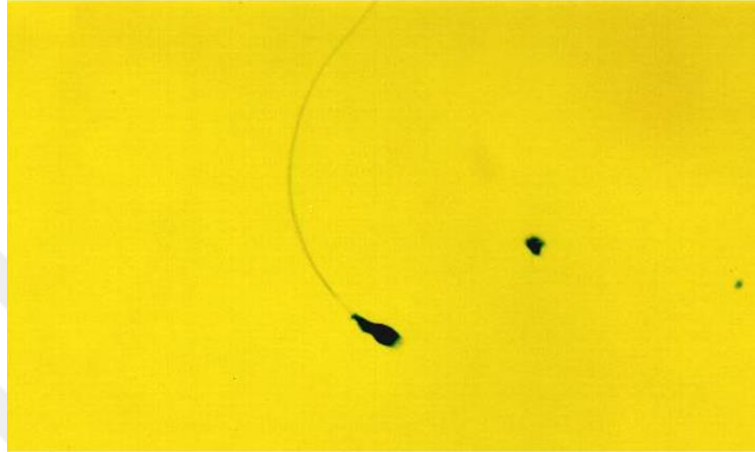
**Resim 16.** Uç Kısmında Kist Bulunduran Sperm Görüntüsü.

**d) Aberan Akrozom:** Primer akrozom anomalileridir. Homojen olmayan boya dağılımı ve kontur bozukluğu vardır (Resim 17).



**Resim 17.** Aberan Akrozom Görülen Sperm Görüntüsü

**e) Sekonder Akrozom Anomalileri:** Sperm membranının eksternal etkenler, yaşlanma veya harabiyetine bağlı olarak akrozom içeriğinin kaybıdır veya akrozomun sperm başının %40'ından daha azını kaplamasıdır (Resim 18).



**Resim 18.** Akrozom Kaybı.

**f) Küçük Akrozom:** Akrozomun sperm başının %40'ından daha azını kaplamasıdır (Resim 19).



**Resim 19.** Küçük Akrozoma Sahip Sperm Görüntüsü

**g) Büyük Akrozom:** Akrozomun sperm başının %70'inden daha fazlasını kaplamasıdır

**e) Vakuol:** Akrozom içinde boya olmayan alan olarak görülür (Resim 20).



**Resim 20.** Akrozomal Vakuol İçeren Sperm Görüntüsü.

**3.Nükleus Anomalileri:** Çekirdek boyanmasının homojen olmadığı ve şekil bozukluğuna sahip olduğu durumlardır.

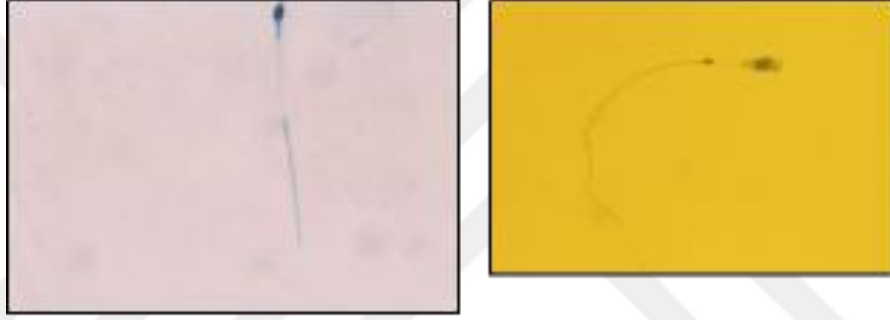
**a) Nükleus vakuolleri:** Çekirdek içinde boşluk alanları vardır (Resim 21).



**Resim 21.** Nükleus Vakuolleri Görülen Sperm Örneği

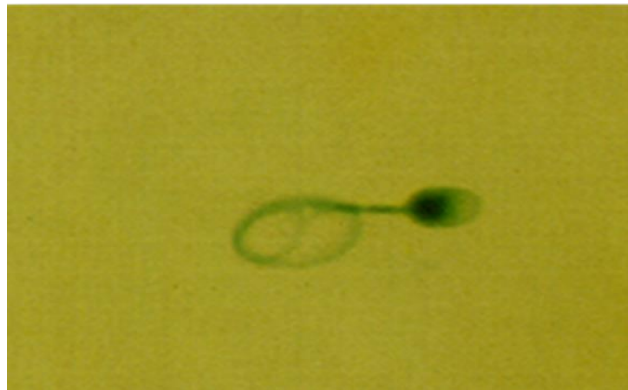
**4.Orta Kısım Anomalileri:** Mitokondrilerin yer aldığı bölüm olduğu için çok önem arz ederler. Spermin enerji desteğinden yoksun kalması söz konusu olabilir ve bu durumlarda sperm hareketi veya progresyonu etkilenebilir. Orta kısım anomalileri baş veya kuyruk anomalileri ile birlikte olabilir.

**a) Segmental Mitokondriyal Aplazi:** Orta kısmın belirli bir bölümünün ince ve mitokondriden yoksun olması durumudur. Genel orta kısım kalınlığından daha dar bir alan olarak boyanırlar (Resim 22).



**Resim 22.** Segmental Mitokondriyal Aplazi Görülen Sperm Örneği

**b) Kıvrılmış Kuyruk:** Baş ile kuyruk arasında orta kısım zayıflığı veya yokluğu söz konusudur. Baş ile orta kısım, sitoplazmik bir parça ile birbirine tutunur. Bu spermelerin progresif motilite göstermeleri söz konusu değildir (Resim 23).



**Resim 23.** Kıvrılmış kuyruğa sahip sperm görüntüsü.

**c) Abaksiyel Yerleşim:** Sperm başı ile orta kısım aynı aks üzerinde değildir. Progresif motiliteyi güçleştirir (Resim 24) [23].



**Resim 24.** Abaksiyel yerleşime sahip sperm görüntüsü

**5.Kuyruk Anomalileri:** Total motilite yokluğu veya non-progresif motilite şeklinde hareketlilik bozukluklarına yol açabilen defektlerdir.

**a) Çift kuyruk:** Tek baş ve çift kuyruk şeklinde olur ve motiliteyi etkiler (Resim 25).



**Resim 25.** Çift Kuyruklu Sperm Görüntüsü.

**b) Kısa ve küt kuyruk (tail-stump):** Tanımlanan boyutlardan daha kısa ve kalın kuyruk boyu söz konusudur(Resim 26).



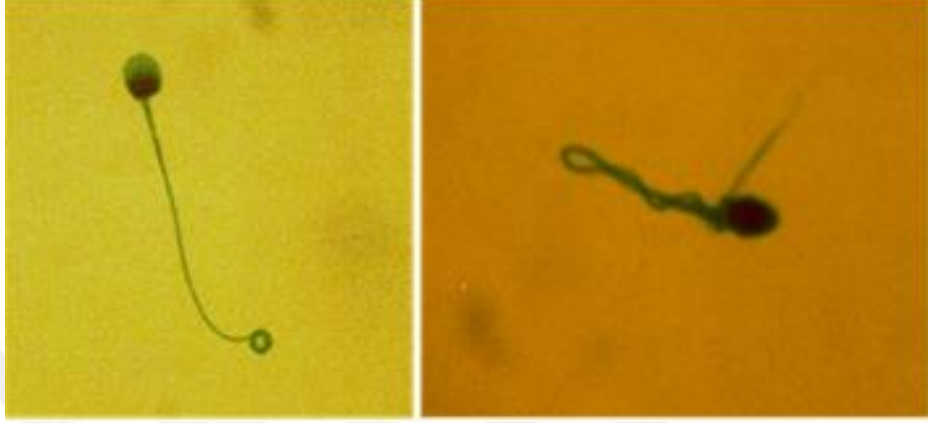
**Resim 26.** Kısa Ve Küt Kuyruklu Sperm Görüntüsü.

**c) Dag defekti:** Kuyruk mikrofibillerinin anomalisidir. Kuyruk şekil bozukluğu olarak gözlenir. Kuyruk bütünüyle kıvrılmış durumdadır (Resim 27).



**Resim 27.** Dag Defekti Görülen Sperm Görüntüsü.

**d) Coiled (sarmaşık):** Progresif motiliteyi engelleyecek şekilde kıvrık bir kuyruk yapısıdır. Kuyruğun uç kısmında veya tümünde olabilir. Genelde başın çevresine kıvrılmış kuyruk yapısı söz konusudur(Resim 28).



**Resim 28.** Kırılmış Kuyruklara Sahip Sperm Görüntüleri.

**6. Karışık Anomaliler:** Baş ve kuyruk anomalilerinin aynı sperm üzerinde bulunması durumudur.

**7. İmmatür Form:** Primer ve sekonder spermatositler veya spermatidler olabilir. Çok nükleuslu olabilir. Kuyuksuz, yuvarlak formda veya immatür kuyruk yapısına sahip olabilirler.

**8. Aglutinasyon:** Spermilerin kümelendiği kalabalık alanlardır. İmmünolojik interfilite nedeniyle kümelenme olabilir. Ancak lam üzerine semenin yayılması esnasında yapılabilecek hatalar da aynı kümelenmeye neden olabilir [24].

**9.Sınıflandırılmayan:** Yukarıda tanımlanan anomalilerden herhangi birine giremeyen bozuk şekilli olan spermelerdir.

## **2.4. IMSI İşlemi**

Normal şartlarda ICSI işlemi 200-400 kat büyütme altında özel ekipmanlı mikroskoplar ile yapılmaktadır. IMSI özellikle şiddetli erkek faktörü (teratozoaspermi - izole teratozoospermi) olan hastaların tedavisi için geliştirilmiş bir yöntemdir. Bu yöntem ile yüksek büyütme objektifleri ve özel görüntüleme filtreleri ve sistemleri ile oluşturulan mikroskoplar kullanılarak yaklaşık 8000 kat kadar büyütme olanağı sağlanmaktadır. Böylece spermeler daha detaylı olarak incelenebilmektedir[25].

## **2.5. ICSI İşlemi**

ICSI, tek bir spermin oosit sitoplazması içine enjekte edilmesidir. Bu işlem özel ekipmanlı mikro-manipulatörler ile yapılmaktadır. Tek bir spermin içine girebileceği boyutlardaki özel mikro iğneler ile oosite zarar vermeden oosit sitoplazması içine sperm bırakılarak döllenme işlemi gerçekleştirilir[25].

## **2.6. Embriyo Biyopsi İşlemi**

Embriyo biyopsi, embriyonun, genetikte incelenen kromozomlar açısından, normal olup olmadığını, teşhis etmek amacıyla uygulanan bir yöntemdir. Embriyo biyopsi işlemi ile embriyonun transferi yapılmadan önce test edilmesi çiftlerin herhangi bir genetik hastalık taşıyıp taşımadığı hakkında bilgi veren önemli bir yöntemdir. Embriyodan biyopsiyle alınan hücre, genetik bölümüne iletilir. Burada, alınan blastomer biyopsisi uygun teknikler ile inceleme yapılarak kromozomal anormallikler belirlenir. Bu işlem implantasyon öncesi genetik tanımlama ( PGT ) olarak adlandırılır. Yapılan genetik inceleme sonucunda tanımlanan normal embriyoların transferi gerçekleştirilir.



Embriyoloji laboratuvarında, embriyo biyopsi işlemi embriyonun 3 farklı döneminde endikasyona bağılı olarak biyopsi uygulanır. 1- Zigot döneminde Polar body- kutup cismi biyopsisi, 2- 3. günde Blastomer biyopsisi (embriyo biyopsi), 3- Blastosist döneminde Trofoektoderm biyopsisi. [25].



### 3.GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Gereç ve Malzemeler

Konik Tüp (Falcon)

Sperm Yıkama Mediumu (Sage)

Gradient Medium (Sage)

Serolojik Pipet (Falcon)

HEPES Tamponu HTF-Human Tubal Fluid Medium (Sage)

Human Serum Albumin (Sage)

Single Step Medium (Sage)

Paraffin Yağ (Sage)

CaMg Free Biyopsi Mediumu (Sage)

Kültür Dishleri (Nunc)

ICSI İğnesi (Humagen)

Biyopsi İğnesi (Humagen)

Holding İğnesi (Humagen)

Pastör Pipetler (Falcon)

Mikropipet (Ependorf)

Makler Sperm Sayım Kamarası

Spermac Sperm Boyama Kiti

Hyase (Sage)

ICSI Dish (Nunc)

Denudasyon Pipetleri (Research)

Transfer Kateterleri (Wallace)

### 3.2. Androlojik Değerlendirme için Semen Verme Tekniği

**a)** Güvenilir bir sonuca ulaşabilmek için ejakülat, masturbasyon ile elde edilir. Ejakülat, koitus interruptus, toksik olmayan özel prezervatifler ya da prostat masajı ile de alınabilir fakat bu yollarla elde edilecek örneklerin değerlendirilmesi sağlıklı olmayabileceği unutulmamalıdır.

**b)** Ejaklatın merkez dışından getirilmesine izin verilmemelidir. Dışarıdan getirilen spermeler, ısı değişikliği ve güneş işığına maruz kalabileceklerinden elde edilecek sonuçlar etkilenebilir.

**c)** Hastaya öncelikle psikolojik rahatlama sağlanmalıdır. Masturbasyon ile ejakülat vermenin hastalar üzerinde psikolojik bir baskı yaratabileceği göz önüne alınarak, hastaların mümkün olduğunca rahat bir ortamda olmaları ve ejaklatın toplanacağı yerde bu iş için hazırlanmış özel bir odanın olması gerekmektedir.

**d)** 3 ile 5 gün arasında cinsel perhiz sağlanmalıdır.

**e)** Masturbasyon ncesi hastanın ellerini normal bir sabunla yıkaması ve kurulaması gerekmektedir. Masturbasyon için vazelin, spermotoksik olabilecek sabun ve diğer yağlı maddeler (krem, jel) kullanılmamalıdır.

**f)** Ejaklatının tümünün örnek kabında toplanabilmesi sağlamalıdır. Özellikle ilk damlaların çok değerli olduğu, sperm konsantrasyonunun bu kısımda en yoğun olarak bulunduğu konusunda hasta bilgilendirilmelidir.

### 3.3. Sperm Kabul Etme İşlemi

a) Sperm verecek olan hastaya semen verme teknikleri ayrıntılarıyla anlatılır.

b) Semen örneği, kapalı kutu içinde kabul edilir.

c) Semen alındığı saat, hasta adı, hastanın da göreceği şekilde kutu üzerine cam kalemiyle yazılır.

d) Örnek kutusu güneş ışığı görmeyecek şekilde ve oda ısısında , 20 -30 dakika likefaksiyon için bekletilir.

### 3.4. Sperm İncelenmesi

Hasta tarafından steril sperm kabına verilen örnek sayı, hareket ve morfoloji yönünden değerlendirilir. Örneğin değerlendirme aşamaları şu şekildedir:

- Örnek oda ısısında veya 37 derece inkübatörde 20-30 dakika likefaksiyon için bekletilir.
- Likefiye olan sperm örneği, değerlendirme öncesi bir pipet yardımı ile örnek homojenize edilir.
- Makler sperm sayma kamarası ile sperm sayımı yapılır. Eğer örnekte 5milyon /ml 'den daha az konsantrasyonda sperm varsa örnek konsantrasyon işlemi uygulanır. Böylece incelenecek örnek alanındaki sperm sayısı arttırılır.
- Boyaması yapılacak sperm örneği lam üzerine ince şekilde yayılıp kurutularak, yayma preparat hazırlanır.

- Yayma işleminde lam üzerine bir damla sperm damlatılır, lam veya lamel yardımıyla 45° açı ile damlacık lam üzerine yayılır.

### **3.5. Sperm Morfoloji Değerlendirilmesi için Spermac Boyama Tekniği**

**a)** Lam üzerine yayılan sperm oda sıcaklığında kurutulduktan sonra spermlerin lama yapışması için fiksasyon (FIX) solüsyonuna alınır.

**b)** Fiksatif içerisinde 5 dakika bekletilir.

**c)** Lam su dolu şale içerisine hafifçe çalkalanarak fiksatif yıkanır.

**d)** Örnek solüsyon A'da 90 saniye bekletilir.

**e)** Su dolu şale içinde örnek çalkalanarak solüsyon A'dan arındırılır.

**f)** Solüsyon B'de 90 saniye bekletilir.

**g)** Su dolu şale içinde örnek çalkalanarak solüsyon B'den arındırılır.

**h)** Solüsyon C'de 45 saniye bekletilir.

**i)** Su dolu şale içinde örnek çalkalanarak solüsyon C'den arındırılır.

**l)** Boyanmış lam oda sıcaklığında bekletilerek kurutulur.

**j)** Morfolojik değerlendirme, 100x objektif ile immersiyon yağı kullanılarak yapılır

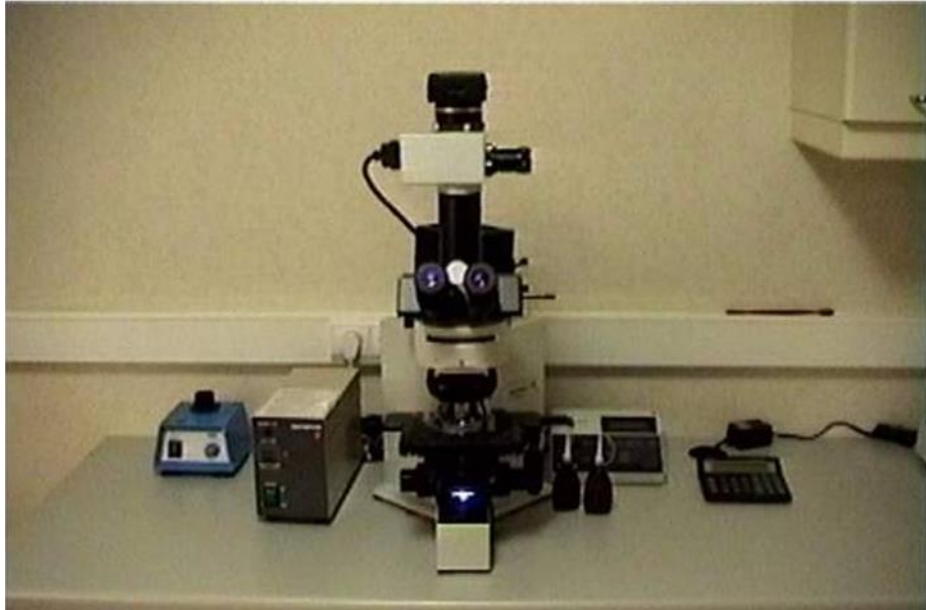
**k)** Spermlerin morfolojik yapısı değerlendirilir.

l) Değerlendirme sırasında hücre kümelerinin bulunduğu bölgelerdeki spermler değerlendirme dışı bırakılır.

m) Preperatın farklı bölgelerinden minimum 200 hücre sayılarak değerlendirme.(Resim 29,30)



**Resim 29.** sperm morfolojisi boyama tekniği.



**Resim 30.**1000X Büyütme Altında İmmersiyon Yağı Ve Objektifi Kullanılarak Sperm Morfolojisi Bakılır.

### **3.6. Sperm Hazırlama Teknikleri**

#### **3.6.1. Gradient Hazırlama Yöntemi**

Semen örneği likefiye olduktan sonra gradient yöntemi ile ICSI işlemi için hazırlanır. Sperm gradient solüsyonu ile sperm yıkama solüsyonu konik tüplere %90, %45 oranında hazırlanıp en yoğun katman altta olacak şekilde yerleştirilir. Ardından üzerlerine 1ml likefiye olmuş ejakülat steril cam pipet ile konik tüp 45 derecelik açıyla tutularak gradienti bozmadan yavaşça üzerine eklenir. 1200 rpm de 20 dakika santrifüj edilir. Santrifüj sonrası oluşan pellet steril cam pastör pipet ile çekilerek 1 ml temiz sperm yıkama solüsyonuna eklenerek gradient mediumundan arındırılmak üzere 1500 rpm de 5 dk santrifüj edilir. Santrifüj sonrası örnek 0,2-0,4 ml kalacak şekilde üst kısmı pipet yardımıyla uzaklaştırılır. Pellet kısmı homojenize edilerek, üzerine hasta ve eşinin ad ve soyad bilgilerinin yazıldığı küçük tüplere aktarılır. Daha sonra bu tüplerden mikropipet yardımıyla alınan sperm örneği, ICSI yapılmak üzere dish içine basılır.

#### **3.6.2 Swim Up Sperm Hazırlama Yöntemi**

Semen örneği likefiye olduktan sonra eğer sperm sayısı ve hareketi uygun ise Swim Up yöntemi ile sperm ICSI işlemi için hazırlanır. Likefiye olmuş semen örneği ile sperm yıkama mediumu birebir oranında konik tüplere eklenerek homojenize edilir. Genellikle 2ml semen örneği, 2ml sperm yıkama mediumu kullanılır. Homojenize edilen örnek 1600 rpm de 5 dakika santrifüj edilir. Daha sonra dibe çöken pellet kısmının üstündeki süpernatant pipet yardımıyla uzaklaştırılır. Yaklaşık 0,2-0,5 ml pelletin üzerine, konik tüp 45 derece açıyla eğilerek pellet kaldırılmadan sperm yıkama mediumu eklenir. Pelletin üst kısmında temiz sperm yıkama medium katmanı oluşturularak spermlerin buraya yüzlemeleri beklenir. Medium eklendikten sonra tüp 45 derecelik eğimli şekilde inkübatöre kaldırılır. 30-45

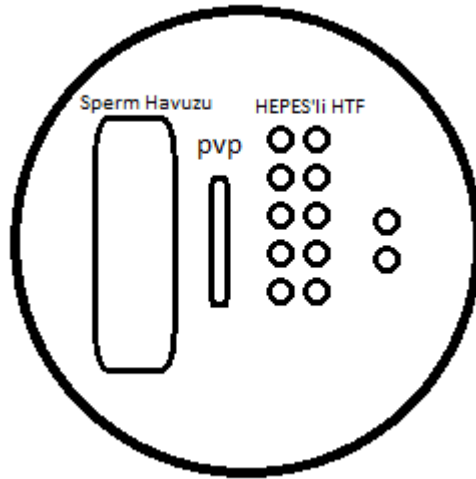
dakika sonra temiz mediuma doğru yüzmüş olan spermier çekilerek hastanın ve eşinin ad ve soyadlarının yazıldığı ayrı küçük tüp içerisine alınarak ICSI işlemi için hazır hale getirilir.

### **3.7. Folikül Aspirasyonu (OPU) , Denudasyon ve İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI) İşlemi**

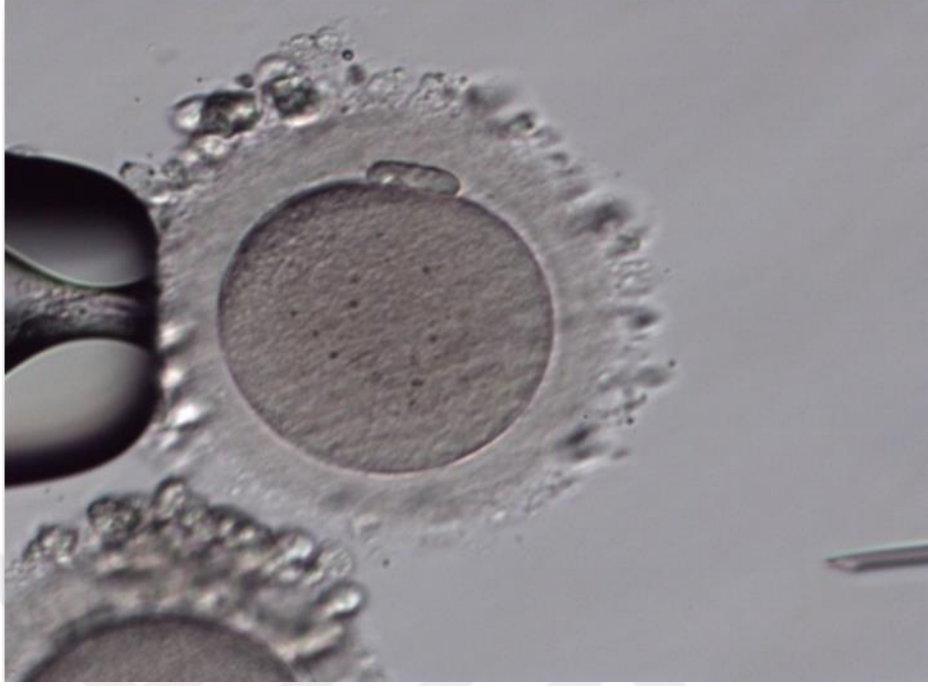
OPU işlemi ile hasta ovaryumundaki gelişen foliküllerden özel OPU iğneleri ile folikül sıvıları aspire edilerek laboratuara iletilir. Bir tüp ile laboratuara iletilen folikül sıvıları içerisinden kümülüs oosit kompleksleri toplanarak Hepseli HTF içerisine toplanır. Buraya biriktirilerek toplanan kümülüs oosit kompleksleri daha sonra tek aşamalı kültür mediumu içine alınarak. pH'ı 7,30 olacak şekilde CO<sub>2</sub> ve O<sub>2</sub> seviyeleri ayarlanan inkübatörlere kaldırılarak 2-4 saat inkübe edilir. Bu sürenin sonunda, denüdasyon işlemi uygulandı. Denüdasyon HTF içerisine 40 IU/ml yoğunluğunda hazırlanan hyalüronidaz solüsyonu içinde mekanik pipetleme ile gerçekleştirilir. Bu işlemden sonra oositler 60 dakikalık bir inkübasyon sonrası ICSI işlemine alınır. ICSI işlemi özel olarak hazırlanan ICSI dishleri içinde yapılır (Şekil 8). Sperm havuzu içerisinden seçilen sperm PVP havuzuna alınır. Bu havuzun özelliği spermin hareketini yavaşlatarak sperm havuzundan toplanan spermierin incelenip normale en yakın olanların seçilmesi ve spermin immobilizasyona olanak sağlamaktır. Sperm immobilizasyonunda, mikroenjeksiyon pipetinin uç kısmı ile sperm, boynuna yakın kısmından hafifçe immobilize edilir. Kuyruğa doğru pipet ucu ileri geri kaydırılarak sperm kendi etrafında döndürülür. Sonunda ani bir hareketle kuyruğun kıvrılması ve sperm membranının zedelenmesi sağlanır. İmmobilize edilmiş spermin kuyruk kısmından aspire edilerek ICSI pipeti içerisine alınır. Sperm ICSI pipeti içinde iken yağ içinden çıkmadan Hepseli HTF içeren ilk oosit dropletine gidilir. Droplet içindeki oosit, Holding pipeti ile hafifçe aspire edilerek sabitleştirilir. ICSI pipeti ile oosit, kutup cisimciği saat 6-12 yönünde olacak şekilde hizalanır. ICSI pipetiyle oositin ekvatorial düzleminden ICSI



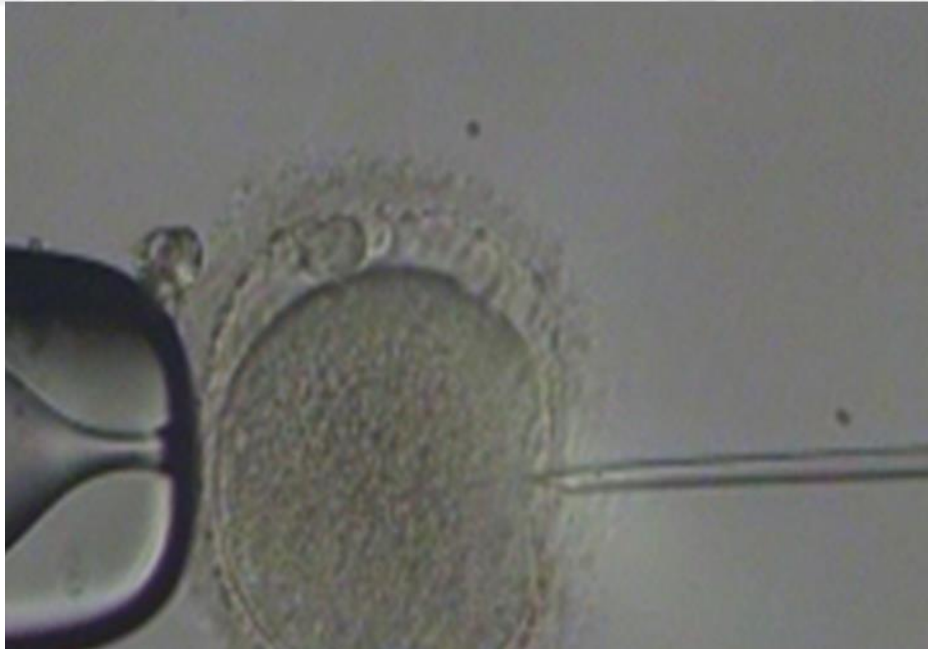
iğnesi ile içine yavaşça girilir (Resim 29.). Oositin ortalarına gelindiğinde oosit içeriği yavaşça pipet içine aspire edilir. Aspirasyon yapılırken oolemma kırıldığı anda sitoplazmasının aspirasyonu hızlanır. Kırılma görüldükten sonra aspire edilen sitoplazmayla beraber sperm oosit içerisine bırakılıp, pipet oositin dışına çıkarılır (Resim 31,32). Bu işlem tüm oositlerde sırayla uygulanır. ICSI sonrası oositler HEPES'li HTF içinden alınarak her bir droplete bir oosit gelecek şekilde tek aşamalı kültür mediumundan oluşan dishlere yerleştirilip inkübatördeki yerlerine kaldırılır. Oositlerin dölllenmesini takiben (1.gün) 3.gün sabahına kadar embriyolar tek aşamalı kültür ortamı içerisinde muhafaza edilir.



**Şekil 8.** ICSI işlemi için hazırlanan özel dish Örneği



**Resim 31.** ICSI İşlemi Sırasından Görüntü



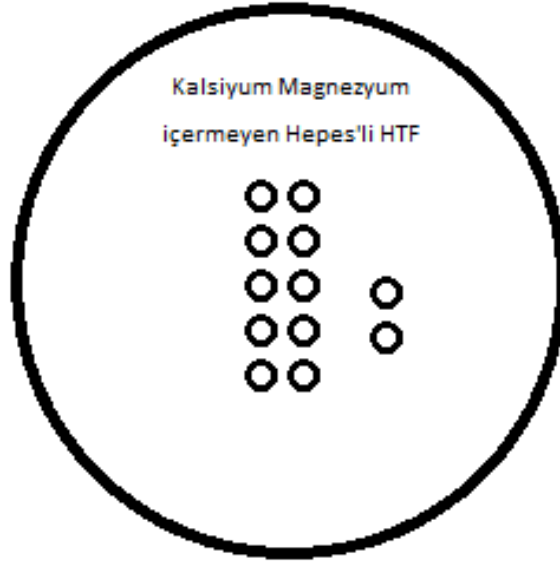
**Resim 32.** ICSI İşlemi

### 3.8. Biyopsi İşlemi

ICSI işlemini (0.gün) takiben 3. Güne kadar embriyo gelişimi takip edilir. Normal şartlarda 2. Günde 4 hücreli, 3. Günde en az 8 hücreli embriyo gözlenir. 3. Günde 8 hücreli embriyo biyopsi işlemi için uygun haldedir (Resim 33,34). Biyopsi işlemi, embriyoların blastomer sayıları bu işlem için elverişli ise, 3.gün sabah saatlerinde yapılır. Embriyo biyopsi işlemi Kalsiyum ve Magnezyum iyonlarını içermeyen sukroz ve HEPES içeren, kültür ortamında (37°C de inkübe edilmiş) gerçekleştirilir. Bu işlem Silikon yağ içeren, biyopsi pipeti ile mikromanipulatör sistemi olan, ısıtıcı tablalı (37°C) invert mikroskop altında gerçekleştirilir. 10X-40X objektifler kullanılır. Embriyo biyopsisine uygun embriyolara, zona pellusidasına lazer ile oluşturulan açıklıktan silikon yağ içeren, biyopsi pipeti (30-35 µm) ile bir blastomer aspire edilir. Biyopsi uygulanan embriyolar, tek aşamalı kültür ortamında yıkanarak biyopsi mediumundan temizlenir. Daha sonra tek aşamalı kültür ortamı içeren petri içinde inkübatöre kaldırılır. Aspire edilen blastomerler uygun şekilde işaretlenerek genetik tahlil merkezine iletilir.



**Resim 33.** 72. Saatte Biyopsi İşlemine Uygun 8 Hücreli Embriyo



**Şekil 9.** PGT Uygulaması İçin Yapılan Dish Örneği



**Resim 34.** Embriyo Biyopsi İşlemi

## 4.BULGULAR

### 4.1. Çalışma Amacı

Bu çalışmada, toplam 142 hastanın embriyo gelişimi, gebelik ve düşük sonuçları, preimplantasyon genetik tarama (PGT) yapılan ve PGT yapılmayan olarak sınıflandırılıp karşılaştırılarak, PGT sonrası anöploidi oranlarının incelenmesi sağlanmıştır. Çalışma 2010 mayıs – 2015 mayıs ayları arasında Taksim Alman Hastanesi ve Ankara Centrum Tüp bebek merkezinde tedavi görmüş vakaların sonuçları ile hazırlanarak tamamlanmıştır. Çalışmada nihai hedef, PGT sonrası ortaya konan sonuçlar ışığında, bu iki gruptaki hastaların embriyo transfer işlemi öncesi embriyolarının genetik olarak tanımlanmasının gerekliliğinin ortaya konulmasıdır.

### 4.2. Çalışma Modeli

Çalışmada morfolojik inceleme sonrası normal sperme rastlanmayan izole teratozoospermi vakalar ile normal morfolojili spermleri bulunmayıp makrosefal spermlerin dominant yer aldığı (%35 in üzerinde) vakalardan elde edilen embriyoların, PGT uygulanan ve uygulanmayan olarak karşılaştırmalı embriyo gelişim skorları (gebelik, implantasyon ve düşük) ve anöploidi oranları izlenmiştir. PGT uygulanmayan grup kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Çalışma sonrasında Kruger'in sıkı kriterlerine göre normal sperm bulunmayan 1. Grup hastaların ve normal sperm olmama özelliği yanında dominant olarak makrosefal spermlere sahip olan 2. Grup hastaların, hazırlanan sperm örneklerinde bulunan, normal morfolojiye en yakın olan spermlerin seçimi ve mikro-enjeksiyonu sonrası elde edilen embriyoların gebelik ve düşük oranları karşılaştırılmıştır.

### 4.3. Çalışma Dizaynı

Çalışmada toplam 142 hastanın siklus verileri ve sonuçları değerlendirilmiştir. Sonuçlar siklus sayısı, ortalama kadın ve erkek hastaların yaşları ve infertilite sürelerine göre değerlendirmeye alınmıştır. Daha sonra da siklus verileri, fertilizasyon oranları, transfer edilen embriyo sayıları, gebelik ve düşük oranlarına göre değerlendirilmiştir. 1. grup (n=84) 18 hasta PGT yapılarak, 66 hasta PGT yapılmaksızın değerlendirilmiştir (PGT uygulaması sonrası 4 hastanın normal embriyosu olmaması nedeni ile embriyo transferleri iptal edilmiştir). 2. gruptaki hastalar (n=58) 14 PGT ve 44 PGT yapılmadan değerlendirilip karşılaştırılmalı olarak analiz edilmiştir (PGT uygulaması sonrası 2 hastanın normal embriyosu olmaması nedeni ile embriyo transferleri iptal edilmiştir). Daha sonrasında PGT uygulanmış olan toplam 32 hasta ve 96 embriyo analiz sonuçlarına göre istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

#### 4.4. Çalışma Sonuçları

Sperm örneğinde hiç normal başlı sperme rastlanmamış 1. gruptaki hasta sayısı, ortalama kadın ve erkek yaşı, infertilite süreleri PGT uygulanmış ve uygulanmamış olarak iki kategoride karşılaştırılmıştır. (Tablo:1).

**Tablo 1.** PGT uygulanan ve uygulanmayan izole teratozoospermi grubu (Grup I) morfolojiye sahip hastaların siklus bilgileri.

GRUP I	PGT	PGT YAPILMAYAN	P
Siklus Sayısı	18	66	Ns
Ort.Kadın Yaşı	31,1 ± 2,31	30,2 ± 2,11	Ns
Ort.Erkek Yaşı	38,13 ± 2,15	36,12 ± 2,08	Ns
İnfertilite Süresi	10,2 ± 2,11	8,82 ± 2,3	Ns



1. Gruptaki hastaların (izoleteratozoo) fertilizasyon oranları, transfer edilen ortalama embriyo sayısı, gebelik oranı ve düşük oranı PGT uygulanan ve uygulanmayan olarak karşılaştırılmıştır. Döllenme, gebelik ve düşük oranlarında anlamlı bir farklılık görülmemiştir (Tablo 2).

**Tablo 2.** PGT uygulanan ve uygulanmayan hiç normal morfolojiye sahip olmayan hasta sikluslarının (Grup I) embriyo gelişim skorları.

GRUP I	PGT	PGT YAPILMAYAN	P
Fertilizasyon Oranı	% 63.2	%61.32	
Transfer Edilen Ortalama Embriyo Sayısı	1,86±0,6	1,98±0,8	
Gebelik Oranı	%42.9(6/14)	%40,9(27/66)	Ns
Düşük	%16.66(1/6)	%25,9(7/27)	Ns

(#): *Chi Square Test*

Sperm örneğinde hiç normal başlı sperme rastlanmamakla beraber dominant olarak büyük başlı spermlerin yer aldığı (%35 in üzerinde)

2.grupta; hasta sayısı, ortalama kadın ve erkek yaşı, infertilite süreleri, PGT uygulanmış ve uygulanmamış olarak iki kategoride karşılaştırılmıştır. (Tablo 3).

**Tablo 3.** PGT uygulanan ve uygulanmayan dominant makrosefal morfolojiye sahip hasta grubunun ( GRUP II ) siklus bilgileri.

GRUP II	PGT	PGT YAPILMAYAN	P
Siklus Sayısı	14	44	Ns
Ort.Kadın Yaşı	34,2±1,78	33,5±2,01	Ns
Ort.Erkek Yaşı	37,3±2,13	35,2±1,89	Ns
İnfertilite Süresi	14,2±2,3	12,4±2,1	Ns

(#): *Chi Square Test*

2. Grup hastalardaki siklus bilgileri karşılaştırılmıştır. Döllenme ve transfer edilen embriyo sayısı ortalamalarında anlamlı fark bulunmamakla birlikte, gebelik oranlarında anlamlı farklılık gözlenmiştir.

Bu gruptaki hastalarda, PGT uygulanan grupta %12,5 oranında daha yüksek gebelik elde edilmiştir (Grup II, PGT uygulanan grubun gebelik oranı %25 iken PGT uygulanmayanlarda %12,5'tir). Bununla birlikte elde edilmiş gebeliklerde düşük söz konusu olduğunda, PGT uygulanan grupta düşük görülmediği halde; PGT uygulanmamış grupta gebelik kaybı oranının %20 olduğu gözlenmiştir. Gebelik kaybı oranlarında karşılaştırılan sayıların düşük olması nedeniyle farklılık oranları, istatistiksel olarak anlamlı sonuç vermemiştir (Tablo 4).

**Tablo 4.** PGT uygulanan ve uygulanmayan dominant makrosefal morfolojideki hasta sikluslarının (GRUP II) embriyo gelişim skorlarının istatistiksel verileri.

GRUP II	PGT	PGT YAPILMAYAN	P
Fertilizasyon Oranı	42,3%	43%	NS
Transfer Edilen Ortalama Embriyo Sayısı	1,96±1,2	1,83±1,7	NS
Gebelik Oranı	%25(3/12)*	%12,5(5/40)*	0,05*
Düşük	%0(0/3)	%20(1/5)	NS

(#): *Chi Square Test*

GRUP I ve GRUP II de bulunan hastalara ait embriyoların PGT sonrası değerlendirilme oranları ile birlikte, kromozomal kurulumlarının normal ve anormal değerleri karşılaştırılmış ve anlamlı farklılık gözlenmiştir. Grup I'deki embriyolara yapılan genetik tanımlama sonrası %18 oranında daha fazla normal embriyo bulunduğu gözlenmektedir ( $P \geq 0,05$ ) (Tablo 5).

**Tablo 5.** GRUP I ve GRUP II nin preimplantasyon genetik tanımlama (PGT) işlemi sonrası sonuçlarının karşılaştırılması

		GRUP I		GRUP II		
	(n)	(%)	(n)	(%)	P	
Hasta sayısı	18		14		NS	
Değ.emb. sayısı	54		42		NS	
Normal	20	<b>%37*</b>	8	<b>%19*</b>	<b>0,05*</b>	
Anormal	34	<b>%63*</b>	34	<b>%81*</b>	<b>0,05*</b>	

\* $P < 0.05$  (Pearson's correlation analysis)

Her iki grup içinde anormal embriyoların anomalileri tanımlanıp sınıflandırılmış ve değerleri karşılaştırılmıştır. 2. Grubun monozomi, trizomi ve kompleks anöploidi oranlarının 1. Gruba göre daha yüksek oranda olduğunu gözlemlemektedir (Monozomi oranı Grup I de %29,17 iken Grup II de %33,33 olarak ,Trizomi oranı Grup I de %33,33 iken Grup II de %37,5 olarak , kompleks anöploidi oranı Grup I de %16,66 iken Grup II'de %20,83'e yükselmiştir) (Tablo 6). Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı fark oluşturmamıştır.

**Tablo 6.** GRUP I ve GRUP II nin preimplantasyon genetik tanımlama (PGT) işlemi sonrası anöploidi oranlarının karşılaştırılması

	GrupI(n)	GrupI %	GrupII(n)	GrupII%	p
<b>Anormal Embriyo</b>	34	<b>63*</b>	34	<b>81*</b>	<b>0,05*</b>
<b>Anöploidi</b>	24	66,66	24	70,6	NS
<b>Monozomi</b>	7	29,17	8	33,33	NS
<b>Trizomi</b>	8	33,33	9	37,5	NS
<b>Tetrazomi</b>	2	8,33	2	8,33	NS
<b>Kompleks</b>	4	16,66	5	20,83	NS
<b>Nullzomi</b>	3	12,5	0	0	NS
<b>Triploidi</b>	3	8,3	4	11,8	NS
<b>Haploidi</b>	4	11,1	3	8,8	NS
<b>Tetraploidi</b>	3	8,3	3	8,8	NS

**\*p<0.05 (Pearson's correlation analysis)**

## 5.TARTIŞMA

Yakın zamanda yapılan çalışmalar infertilite nedeniyle değerlendirilen çiftlerin %40-50 sinden fazlasında erkek faktörünün sorumlu olduğunu göstermiştir [26]. Erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde, infertilite sebeplerinin gösterilmesinde semen analizi oldukça önemlidir. Semen analizinde değerlendirilen parametreler; ejakülat miktarı, sperm hareketi, total sperm sayısı ve sperm morfolojisidir. Geçmişte sperm morfolojisinin değerlendirilmesi ve klinik önemi erkek infertilite potansiyelinin tayini yönünde tartışmalı olsada yakın zamanda yapılan çalışmalar morfolojik değerlendirmenin çiftlerde gebelik sonuçları için sensitif ve spesifik olduğunu belirtmektedir [16, 17]. Bazı çalışmalar anormal morfolojinin ICSI sonuçlarını etkilemediğini iddia etmiştir [27-32]. Örneğin McKenzie ve arkadaşları IVF/ICSI uygulanan 45 olguyu Kruger kriterlerine göre incelemişler ve ağır teratospermi görülen olgularda gebelik oranlarının kabul edilebilir sınırlarda olduğunu belirtmişlerdir [33]. Yaptığımız çalışmalar gösteriyor ki normal morfolojiye sahip olmayan (izole teratozoospermi) spermle hazırlanan embriyoların gelişim skorları incelendiğinde gebelik ve düşük oranları PGT yapılan embriyolarla karşılaştırıldığında anlamlı bir fark oluşturmamıştır. PGT yapılmamış grupta düşük oranı %16,7 PGT uygulanmayan grupta %25,9 olarak gözlenmiştir (Tablo 2). PGT uygulaması ile düşük oranı daha az görülmekle birlikte istatistiksel anlamlılık görülmemiştir. PGT uygulanan 1. ve 2. Grup spermle oluşturulan embriyolarda karşılaştığımız bu durum anomalilerin saptanması doğrultusunda sağlıklı embriyo seçiminin gerçekleştirilebileceğini ispatlar niteliktedir. Yukarıda belirttiğimiz gibi grup I de PGT, gebelik oranlarında anlamlı bir farklılık yaratmamıştır. Fakat; özellikle 2. gruptaki spermle ile gelişen embriyo transferlerinde PGT uygulanan vakalarda anlamlı olarak daha yüksek oranda gebelik gözlenmiştir (Grup II, PGT uygulanan grubun gebelik oranı %25 iken PGT uygulanmayanlarda %12,5'tir) (Tablo:3). Yani bu sonuç doğrultusunda dominant makrosefal grubunda PGT uygulanarak anomalilerin saptanması

izole teratozoospermi grubundaki gibi düşük oranına pozitif etki etmemiş fakat ilk gruptan farklı olarak, gebelik oranlarını olumlu yönde etkilemiştir. Guichaua ve arkadaşlarının çalışmasında makrosefalik sperm oranları yüksek olan erkeklerde yardımcı üreme yöntemleri ile gebelik oranlarının %13 olduğu bu oranın bu parametrenin olmadığı grupta %28 olarak belirtildiği görülmektedir [30]. Biz de çalışmamızda izole teratozoospermi grubunun PGT uygulanan ve uygulanmayan gruplarında, dominant makrosefal grubuna oranla Guichaua ve arkadaşlarının çalışmasında olduğu gibi belirgin yüksek gebelik oranı gözlemledik. Kahraman ve arkadaşları ise intrasitoplazmik sperm injeksiyonu (ICSI) yapılan olgular içerisinde büyük baş spermatozoası olan 17 olguyu incelemiş ve gebelik oranları baş anomalisi olanlarda % 9.1 iken kontrol grubunda % 40 olarak belirlenmiştir [31].

Bu çalışmalar ışığında, çalışmamızda olduğu gibi PGT sayesinde, anöploid embriyoların ayrılmasıyla, makrosefal grubumuzda gebelik oranı pozitif olarak etkilenmiştir. Bu çalışma sonucunda elde ettiğimiz istatistiksel veriler, yapılan bu iki çalışmayı destekler niteliktedir. İzole teratozoospermia ve makrosefal grubun PGT sonuçları dahilindeki anöploidi oranlarını karşılaştırdığımızda ise göze çarpan ilk nokta anormal embriyo oranının makrosefalik grupta anlamlı olarak daha yüksek olmasıdır (Grup II de PGT sonucunda anormal görülen embriyo oranı %81, Grup I de bu oran %63'dür)( $p<0,05$ ). Diğer yandan anlamlı olmamakla birlikte monozomi (Grup I de monozomi görülen embriyo oranı %29,16 iken Grup II de %33,33'dür), trizomi (Grup I de trizomi görülen embriyo oranı %33,3 iken Grup II de %37,5'dir) ve kompleks anöploidi (kompleks anöploidi oranı Grup I de %16,6 iken Grup II'de %20,83'e yükselmiştir) görülme oranlarında makrosefal grupta daha fazladır (Tablo 5).

Makrosefal spermiler ile işlem yapılmamasına rağmen bu morfolojiye sahip spermeleri dominant olarak bulunduran örneklerdeki diğer



spermlerinde abnormal kromozomal segragasyon anomalisi taşıdığı düşünülmektedir. Dominant Makrosefal sikluslardaki bu yüksek anormal embriyo oranı, makrosefal gruba PGT uygulanmaması durumunda elde ettiğimiz gebelik oranının, PGT uygulananlara göre düşük olmasını, düşük oranının da PGT uygulananlara göre yüksek olmasını açıklar niteliktedir.



## 6. SONUÇ

Bu çalışmada normal morfolojili sperm bulunmayan iki ayrı izole teratozoospermi grubu gebelik, düşük oranları, anormal embriyo oranı ve kromozomal anöploidi oranları ile karşılaştırılmıştır. 1. Grup sadece normal spermi bulunmayan spermelerden ikinci grup ise normal sperm olmaması yanında %35 üzeri dominant makrosefal (büyükbaş) anomalisi içeren gruptan oluşmaktadır. ICSI uygulamasında en uygun büyüklük ve morfolojide spermeler seçilmiştir.

Çalışmamızda izole teratozoospermi grubu ve Makrosefal morfolojili spermelerle elde ettiğimiz embriyolara PGT uygulanmış ve aynı gruba ait PGT uygulanmamış (kontrol grubu) hasta sikluslarıyla gebelik, düşük, anormal embriyo oranı ve anöploidi oranları karşılaştırılmıştır. Bu bulgular doğrultusunda; izole teratozoospermi grup spermelerle (Grup I) elde edilen embriyolardan oluşan grubun verileri incelendiğinde PGT uygulanan ve uygulanmayan embriyolara ait hastaların gebelik ve düşük oranları arasında anlamlı farklılık görülmemiştir. Makrosefal dominant semen örneğindeki (Grup II) spermelerle elde edilen embriyolardan oluşan grubun verileri incelendiğinde ise PGT uygulanan hasta sikluslarının düşük oranı PGT uygulanmayan grupla birbirine yakın değerlerde olmasıyla beraber PGT'nin pozitif olarak gebelik oranına yansıdığını görmekteyiz. Bu doğrultuda elde edilen veriler ışığında; PGT uygulaması anomalilerin belirlenmesi ve gebelik oranının artmasını sağlamakta; bu durum istatistiksel olarak anlamlı farkla desteklenmektedir [34, 35].

Karşılaştırmalı olarak iki grubun PGT sonuçlarına bakılarak anormal embriyo ve anöploidi oranları incelendiğinde, analiz edilen embriyo sayısı ortalamaları birbirine çok yakın olmasına rağmen kromozom anomalisi saptanan anormal embriyo oranı dominant makrosefal de çok daha yüksek çıkmıştır. Yüksek oranda morfoloji bozukluğu içeren spermle oluşturulan embriyolarda kromozom anomalilerinin PGT yöntemiyle tayin edilip sağlıklı embriyoların seçilebilmesi, bu çalışmanın da desteklediği üzere canlı doğum oranına pozitif yönde katkı sağlamaktadır.



## 7. ÖZET

**Amaç:** Sperm kalitesinin en önemli göstergelerinden biri sperm morfolojisidir. Kruger'in kriterleri dahilinde yapılan detaylı incelemeler sonucunda %4'ten daha az oranda normal baş bulunması, teratozoospermi olarak adlandırılmaktadır. Bu parametrelere sahip hasta sikluslarının embriyo gelişim skorlarında ve anöploidi oranlarında sapmalar olduğu düşünülmektedir.

Bu çalışmada amacımız izole teratozoospermi (semen örneğinde normal başlı sperme rastlanmayan hasta grubu) ve izole teratozoospermi ile beraber makrosefal spermlerin dominant olarak rastlandığı iki farklı grup sperm örneği görülen sikluslarda, gebelik, düşük ve PGT (pre-implantasyon genetik tanı) sonuçlarındaki anöploidi oranlarını, karşılaştırarak değerlendirmek, böylece şiddetli morfolojik sperm defekti bulunan hastalarda PGT endikasyonunun önemini vurgulamaktır.

**Materyal ve Metod:** Centrum Tüp Bebek Merkezi'ne tedavi için başvuran, sperm morfoloji bozukluğu bulunan hasta sikluslarından oluşturulan izole teratozoospermi (Grup I) ve makrosefal dominant grup (Grup II) değerlendirmeye alındı. Bu gruptaki hastalar, PGT uygulanan ve PGT uygulanmayan (kontrol grubu) olarak ikiye ayrıldı. Bu hasta sikluslarından elde edilen embriyolara 3.gün blastomer biyopsisi yapıldı ve bu embriyolar 13, 18, 21, X ve Y kromozomları üzerinde çalışılmak üzere FISH analizi ile yapılacak olan PGT testine gönderildi.

**Bulgular:** Bu çalışma sonucunda elde edilen verilere göre; Normal morfolojiye sahip olmayan (izole teratozoospermi) spermlerle hazırlanan embriyoların gelişim skorları incelendiğinde, gebelik ve düşük oranları, PGT yapılan embriyolarla karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık

gözlenmiştir. PGT uygulanan grupta, düşük oranı daha az görülmekle birlikte istatistiksel anlamlılık göstermemiştir. PGT uygulanan 1. ve 2. Grup spermlerle oluşturulan embriyolarda karşılaştığımız bu durum anomalilerin saptanması doğrultusunda sağlıklı embriyo seçiminin gerçekleştirilebileceğini ve gebelik artışı sağlanabileceğini ispatlar niteliktedir. Yukarıda belirttiğimiz gibi PGT, 1. Grupta gebelik ve düşük oranlarında anlamlı bir farklılık yaratmamıştır. Fakat; Grup II'deki spermler kullanılan vakalarda, PGT uygulaması sonrası anlamlı olarak daha yüksek oranda gebelik elde edildiği gözlenmiştir. PGT uygulanan grupta gebelik oranı %25 iken PGT uygulanmayan grupta %12,5 olarak gözlenmiştir. İzole teratozoospermi ve dominant makrosefal grubun PGT sonuçları dahilindeki anöploidi oranlarını karşılaştırdığımızda ise; göze çarpan ilk nokta anormal embriyo oranının makrosefalik grupta anlamlı olarak daha yüksek olmasıdır (Grup II de PGT sonucunda anormal görülen embriyo oranı %81, Grup I de bu oran %63'dir) ( $p<0,05$ ). Diğer yandan anlamlı olmamakla birlikte trizomi (Grup I de trizomi görülen embriyo oranı %33.3 iken Grup II de %37.5'dur) ve kompleks anöploidi görülme oranlarında makrosefal grupta artış görülmüştür (Grup I de kompleks anöploidi görülen embriyo oranı %16.6 iken Grup II de %20.83'dir).

**Tartışma:** İzole teratozoospermi grubu spermlerle (Grup I) elde edilen embriyolardan oluşan veriler incelendiğinde, PGT uygulanan ve uygulanmayan embriyolara ait hastaların gebelik ve düşük oranlarında birbirine yakın değerler elde edilmiştir. Makrosefal dominant semen örneğindeki (Grup II) spermlerle elde edilen embriyolardan oluşan grubun verileri incelendiğinde ise PGT uygulanan hasta sikluslarının gebelik oranı, PGT uygulanmayan grupla karşılaştığında anlamlı farklılık görülmektedir. PGT'nin pozitif olarak gebelik oranına yansıdığı görülmüştür. Bununla birlikte, izole teratozoospermi grubu olgularında olduğu gibi düşük oranı, PGT yapılan grupta azalmış fakat bu azalma anlamlı farklılık oluşturmamıştır. Bu doğrultuda elde edilen sonuç; PGT sayesinde anöploidilerin belirlenmesi, gebelik oranının artışı sağlanmaktadır. Karşılaştırmalı olarak iki grubun PGT

sonuçlarına bakarak anoploldi oranları incelendiğinde, analiz edilen embriyo sayısı ortalamaları birbirine çok yakın olmasına rağmen, kromozom anomalisi saptanan anormal embriyo oranı makrosefalde çok daha yüksek çıkmıştır. Yüksek oranda morfoloji bozukluğu içeren spermlele oluşturulan embriyolarda kromozom anomalilerinin PGT yöntemiyle tayin edilip sağlıklı embriyoların seçilebilmesi bu çalışmanın da desteklediği üzere canlı doğum oranına pozitif ynde katkı sağlamaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** İzole teratozoospermi, Dominant Makrosefal Sperm, Sperm Morfolojisi, PGT, Gebelik, Dşk Oranı.

## **8.SUMMARY**

### **Aim Of The Study:**

Sperm morphological evaluation is the important parameters of sperm analysis. According to Kruger's criteria, the result of detailed semen investigation, if the normal sperm morphology is lower than the %4, that case is called as teratozoospermia. In the that case of patient cycles, considered to be a variation in the rate of embryo development scores and aneuploidy rates.

The aim of this study was to evaluate the pregnancy results and aneuploidy rates with PGD application between the izole teratozoospermi and dominant macrosphal izole teratozoospermi patient groups. As a result the major aim is emphasize the importance PGD application in the patient cycles with high morphological sperm defects.

### **Material and Method:**

The patient cycles has the sperm morphological deffects with izole teratozoospermi (Group I) and dominant macrosphal izole teratozoospermi (Group II) from Centrum IVF Center taken to the evaluation. The patients in that groups was regrouped to PGD applied or non-applied (control group). Blastomere biopsy was performed on day 3 embryos obtained from these patients cycles. Embryo biopsies was sent to PGD analysiz to examination of the 13, 18,. 21, X and Y chromosomes.

## **Results:**

According to the results of this study, when the developed embryos growing from zeronormal morphology sperm sample examined, pregnancy and abortion rates compared as preimplantation genetic diagnosis (PGD) performed or without PGD results are evaluated. Without PGD abortion result is 25.9% but after pgd abortion rates diminished to 16,7%. But the difference of that abortion results is not statistically significant. A second group (macrocephal dominant group) pregnancy result increase statistically significant with PGD technique increase from 12,5% to 25%. Abortion rates also decrease with PGD at the same group (from 20% to 0%). When we compare 2 group's aneuploidy results anormal embryo rates of second group higher first group (81% vs 63%) .On the other hand trisomy and complex aneuploidy results show also enhancement but this not show any statistical significance (for trisomy increase from 33,3% to 37,5 % and complex aneuploidy rate increase from 16.6% to 20,83%).

Anormal embryo and aneuploidy rates in dominant macrocephal cycles describe that the lower pregnancy rate and higher abortion rate in non-applied PGD group than the PGD applied group.

## **Discussion:**

Considering the results of the embryos which developed with izoleteratospermia sperms (Group I), PGD applied groups pregnancy and abortion rate is approximately similar to without PGD group. The abortion rates of embryos obtained by dominant makrocephalsperm sample (Group II) is close in PGD applied to without applied groups. But the findings are showing the results from PGD application has been shown to positively affected. The results obtained in this direction; determination of the aneuploidy with PGD, increase in pregnancy rates but not effect to abortion rates. When the



comparative aneuploidi rates examined with PGD results, Although the average number of embryos analyzed too close together and the embriyos with chromosomal anomaly is higher in dominant macrocephal group. Also trisomy and complex aneuploidy rates are higher at second group, because abnormal genetic segregation effects sperm chromosomal structure in amcrocephal dominant group.

Healthy embryo selection with PGD application is effecting positively the pregnancy rates in embryos developed with anormal sperm morphology Our study also supports these results.

**Keywords** : İzole teratozoospermi, Dominant Macrocephal Sperm, Sperm Morphology, PGD, Pregnancy, Abortion Rate .

## 9. KAYNAKLAR

1. Junqueira, L.C.U., J. Carneiro, and A.N. Contopoulos, *Basic Histology 10th Edition*, in *A Concise medical library for practitioner and student*. 2006 Nobel Tıp Kitapevi Los Altos, Calif. Norwalk, Conn. New York. p. 11 volumes.
2. Kierszenbaum, A.L. and L.L. Tres, *Histology and cell biology : an introduction to pathology*. 3rd ed. 2012, Philadelphia, PA: Saunders. xiv, 701 p.
3. Ross, M.H. and W. Pawlina, *Histology : a text and atlas : with correlated cell and molecular biology*. 5th ed. 2006, Baltimore, MD: Lippincott Williams & Wilkins. xvii, 906 p.
4. Hoogendijk, C.F., Kruger, T.F., Menkveld, R. , *Anatomy and molecular morphology of the spermatozoon. In:Male infertility diagnosis and treatment*. . Oehninger, S.c., Kruger, T.F. Infroema Healthcare, 2007: p. 3-11.
5. World Health Organization., *WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction*. 4th ed. 1999, Cambridge, UK ; New York, NY: Published on behalf of the World Health Organization by Cambridge University Press. 122 p., 128 p.
6. Delilbasi, L., *In Vitro Fertilizasyon (IVF) Laboratuvar Yöntemleri*. 2008, Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri.
7. Turunc, T., *Tüm yönleriyle TESE*. Başkent Üniversitesi Adana Uygulama ve Araştırma Merkezi, Üroloji Kliniği, Adana. 42-44.
8. Chang, M.C., *Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into the fallopian tubes*. Nature, 1951. **168**(4277): p. 697-8.
9. Green, D.P., *Mammalian fertilization as a biological machine: a working model for adhesion and fusion of sperm and oocyte*. Hum Reprod, 1993. **8**(1): p. 91-6.

10. Ford, W.C., *Comments on the release of the 5th edition of the WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen*. Asian J Androl, 2010. **12**(1): p. 59-63.
11. Belsey, M.A., Moghissi, K.S. Eliasson, R., Paulsen, C.A., Gallegos, A.J., Prasad, M.R., *Laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interaction*. 1980: Singapore, Press Concern. 43p.
12. World Health Organization., *WHO laboratory manual for the examination of human semen and semen-cervical mucus interactions*. 2nd ed. 1987, Cambridge Cambridgeshire ; New York: Published on behalf of the World Health Organization by Cambridge University Press. 67 p., 4 p. of plates.
13. Comhaire, F., et al., *Methodological aspects of sperm morphology evaluation: comparison between strict and liberal criteria*. Fertil Steril, 1994. **62**(4): p. 857-61.
14. Kruger, T.F., et al., *Sperm morphologic features as a prognostic factor in in vitro fertilization*. Fertil Steril, 1986. **46**(6): p. 1118-23.
15. Menkveld, R., et al., *Effects of different staining and washing procedures on the results of human sperm morphology evaluation by manual and computerised methods*. Andrologia, 1997. **29**(1): p. 1-7.
16. Kruger, T.F., et al., *Predictive value of abnormal sperm morphology in in vitro fertilization*. Fertil Steril, 1988. **49**(1): p. 112-7.
17. Zini, A., et al., *Biologic variability of sperm DNA denaturation in infertile men*. Urology, 2001. **58**(2): p. 258-61.
18. Rhemrev, J.P., et al., *The acrosome index, radical buffer capacity and number of isolated progressively motile spermatozoa predict IVF results*. Hum Reprod, 2001. **16**(9): p. 1885-92.
19. Sergerie, M., et al., *Sperm DNA fragmentation: threshold value in male fertility*. Hum Reprod, 2005. **20**(12): p. 3446-51.
20. Herrero, M.B., E. de Lamirande, and C. Gagnon, *Nitric oxide regulates human sperm capacitation and protein-tyrosine phosphorylation in vitro*. Biol Reprod, 1999. **61**(3): p. 575-81.

21. Dam, A.H., et al., *Globozoospermia revisited*. Hum Reprod Update, 2007. **13**(1): p. 63-75.
22. Mortimer, D., et al., *Influence of abstinence and ejaculation-to-analysis delay on semen analysis parameters of suspected infertile men*. Arch Androl, 1982. **8**(4): p. 251-6.
23. Sofikitis, N.V., et al., *Confocal scanning laser microscopy of morphometric human sperm parameters: correlation with acrosin profiles and fertilizing capacity*. Fertil Steril, 1994. **62**(2): p. 376-86.
24. Dam, A.H., et al., *Morphology of partial globozoospermia*. J Androl, 2011. **32**(2): p. 199-206.
25. Gardner, D.K., *Textbook of assisted reproductive technologies: laboratory and clinical perspectives*. 3rd ed. 2009, London: Informa Healthcare. xv, 912 p.
26. Kumar, N. and A.K. Singh, *Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature*. J Hum Reprod Sci, 2015. **8**(4): p. 191-6.
27. Bartoov, B., A. Berkovitz, and F. Eltes, *Selection of spermatozoa with normal nuclei to improve the pregnancy rate with intracytoplasmic sperm injection*. N Engl J Med, 2001. **345**(14): p. 1067-8.
28. Berkovitz, A., et al., *Does the presence of nuclear vacuoles in human sperm selected for ICSI affect pregnancy outcome?* Hum Reprod, 2006. **21**(7): p. 1787-90.
29. Berkovitz, A., et al., *How to improve IVF-ICSI outcome by sperm selection*. Reprod Biomed Online, 2006. **12**(5): p. 634-8.
30. Guichaoua, M.R., et al., *[Macrocephalic spermatozoa. What would be the impact on reproduction?]*. Gynecol Obstet Fertil, 2009. **37**(9): p. 703-11.
31. Kahraman, S., et al., *Fertility of ejaculated and testicular megalohed spermatozoa with intracytoplasmic sperm injection*. Hum Reprod, 1999. **14**(3): p. 726-30.

32. Van Zyl, J.A., Kotze, T.J.vW., Menkveld, R. , *Predictive value of spermatozoa morphology in natural fertilization. In Acosta, A.A., Swanson, R.J., Ackerman, S.B. et al. (eds),. Human Spermatozoa in Assisted Reproduction. Williams & Wilkins, Baltimore, USA., 1990: p. pp. 319–324.*
33. McKenzie, L.J., et al., *Pregnancy outcome of in vitro fertilization/intracytoplasmic sperm injection with profound teratospermia.* *Fertil Steril*, 2004. **82**(4): p. 847-9.
34. *ESHRE Preimplantation Genetic Diagnosis Consortium: data collection III (May 2001).* *Hum Reprod*, 2002. **17**(1): p. 233-46.
35. Magli, M.C., et al., *Double locus analysis of chromosome 21 for preimplantation genetic diagnosis of aneuploidy.* *Prenat Diagn*, 2001. **21**(12): p. 1080-5.

## 10. ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı	BİHTER	Soyadı	ÜRGÜPLÜOĞLU
Doğ.Yeri	ADAPAZARI	Doğ.Tarihi	05.11.1988
Uyruğu	TC	TC Kim.No	43960316866
Email	bihterurgupluoglu@hotmail.com	Tel	05545706020

### Eğitim Düzeyi

	Mezun olduğu kurumun adı	Mez.Yılı
Lisans	Fatih Üniversitesi – Fen Edebiyat Fak. Biyoloji	2013
Lise	Sakarya Üniversitesi Vakfı Özel Okulları	2005

### İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sırala)

Görevi	Kurum	Yılı
Biyolog	ANKARA CENTRUM TÜP BEBEK MERKEZİ	2015-Halen Çalışmakta
Biyolog	LİV HOSPİTAL	2014-2015
Biyolog	TAKSİM ALMAN HASTANESİ	2013-2014

Yabancı dilleri	Anlama	Konuşma	Yazma
İngilizce	İyi	İyi	iyi