



SAğLIK BAKANLIğI
SAğLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
ETLİK ZÜBEYDE HANIM KADIN HASTALIKLARI EğİTİM
VE ARAşTIRMA HASTANESİ

İN VİTRO FERTİLİZASYON (IVF) TEDAVİSİNDE
FERTİLİZASYON BAşARISIZLIğINI VE EMBRİYO GELİşİM
YETERSİZLİğİNİ PREDİKTE EDEN FAKTÖRLERİN
ARAşTIRILMASI

Dr. Mustafa AKşAR

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Serdar DİLBAZ

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Ankara/2020



ÖNSÖZ

T.C. Sağlık Bakanlığı Sağlık Bilimleri Üniversitesi Etlik Zübeyde Hanım Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Hastane Başhekimimiz Sayın Prof. Dr. Yaprak ÜSTÜN'e;

Tez çalışmalarım süresince, bilgi ve tecrübesiyle çalışmalarına her alanında destek veren, saygıdeğer ve babacan danışman hocam Prof. Dr. Serdar DİLBAZ'a;

Asistanlık eğitimim boyunca bilgi ve becerilerini benden esirgemeyen klinik şeflerime, hocalarıma;

Tez çalışmamda bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, başta Doç. Dr. Vakkas Korkmaz, Doç. Dr. Runa Özelçi ve Op. Dr. Çağatayhan Öztürk olmak üzere uzmanlarıma;

Birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma, hemşirelerimize, personellerimize;

Benden hiçbir zaman desteğini esirgemeyen, eğitim hayatımın her döneminde sonsuz destek, sabır ve anlayış gösteren anneme, babama, kardeşlerime;

Eğitimime her zaman en büyük desteği veren, her türlü üzüntümü ve sevincimi paylaştığım, en iyi arkadaşım, sevgili eşim Gözde AKŞAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Mustafa AKŞAR

ÖNSÖZ	i
KISALTMALAR	iii
TABLolar LİSTESİ.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vi
ÖZET	vii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1.İNFERTİL ÇİFTİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	3
2.1.1. Anamnez.....	3
2.1.2. Fizik Muayene.....	3
2.1.3. Tanı Testleri	4
2.1.3.1 Semen Parametrelerinin Değerlendirilmesi	4
2.1.3.2 Ovulatuvar Fonksiyonun Değerlendirilmesi	4
2.1.3.3 Ovaryan Rezervin Değerlendirilmesi.....	5
2.1.3.4 Tubal Geçişin Değerlendirilmesi	5
2.1.3.5 Uterin Kavitenin Değerlendirilmesi	5
2.2. İNFERTİLİTE NEDENLERİ.....	6
2.2.1 Kadın infertilitesi.....	6
2.2.1.1 Ovulatuvar Disfonksiyon	6
2.2.1.2 Tubal Faktör ve Pelvik Adezyonlar	7
2.2.1.3 Uterin Faktörler.....	7
2.2.1.4 Endometriozis	8
2.2.2 Erkek infertilitesi.....	8
2.2.3 Açıklanamayan İnfertilite.....	10
2.3 İNFERTİLİTE TEDAVİSİ VE IVF'İN YERİ	11
2.3.1 IVF Tedavi Protokolleri	12
2.3.1.1 Klomifen Sitrat ile Ovulasyon İndüksiyonu	12
2.3.1.2 Uzun Protokol	12
2.3.1.3 GnRH Agonist ve Ekzojen Gonadotropinin Beraber Uygulanması	13
(Kısa = Flare Protokol)	13
2.3.1.4 GnRH Antagonist Protokol	14
2.3.2 Oosit toplama	14
2.3.3 Sperm Elde Edilmesi	15
2.3.4 İn vitro Fertilizasyon ve Embriyo Gelişimi.....	15
2.3.5 İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu	18
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	18
3.1 ARAŞTIRMANIN YERİ VE ZAMANI	18
3.2. ARAŞTIRMA EVRENİ VE ÖRNEKLEMİ.....	19
3.3. ARAŞTIRMA TİPİ, DEĞİŞKENLERİ VE YÖNTEM	19
3.4. ARAŞTIRMAYA DAHİL ETME VE DIŞLAMA KRİTERLERİ.....	20
3.5. VERİLERİN ANALİZİ VE İSTATİSTİK	21
4. BULGULAR.....	21
5. TARTIŞMA.....	38
KAYNAKLAR	45

KISALTMALAR

AFC	: Antral folikül sayısı
AMH	: Anti müllerian hormon
AZF	: Azospermia faktör
CC	: Klomifen sitrat
CFTR	: Kistik fibrozis transmembran regülatör geni
DOR	: Düşük over rezervi
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
E2	: Estradiol
EGY	: Embriyo gelişim yetersizliği
EZH	: Etlik Zübeyde Hanım
ESHRE	: European Society of Human Reproduction and Embryology
FSH	: Folikül stimüle edici hormon
GnRH	: Gonadotropin salgılatıcı hormon
H/S	: Histeroskopi
HCG	: İnsan koryonik gonadotropin
HMG	: İnsan menopozal hormonu
HSG	: Histerosalpingografi
ICSI	: Intracytoplasmic sperm injection
IUI	: İntra uterin inseminasyon
IVF	: İn vitro fertilizasyon
KOH	: Kontrollü ovaryan stimülasyon
L/S	: Laparoskopi
LH	: Luteinleştirici hormon
MESA	: Mikrodiseksiyon epididimal sperm aspirasyonu
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
OHSS	: Ovaryan hiperstimülasyon sendromu
OKS	: Oral kontraseptif
OPU	: Oosit pick up (oosit toplama işlemi)
PESA	: Perkütan epididimal sperm aspirasyonu
PKOS	: Polikistik Over Sendromu
SIS	: Salin infüzyon sonografi

TESE	: Testiküler sperm aspirasyonu
TFB	: Total fertilizasyon başarısızlığı
TSH	: Tiroid stimüle edici hormon
USG	: Ultrasonografi
VKİ (BMI)	: Vücut kitle indeksi
YÜT	: Yardımcı üreme tekniği



TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1. Semen analizi parametreleri	4
Tablo 2. Semen analizi değerlendirilmesi	9
Tablo 3. Tüm çalışma grubuna dahil edilen kadınlara ait bazal klinik ve biyokimyasal parametreler	22
Tablo 4. Tüm çalışma grubunun infertilite tiplerine göre dağılımı	23
Tablo 5. Dahil edilen erkeklere ait bazal semen parametreleri	23
Tablo 6. Hastaların uygulanan tedavi protokollerine göre dağılımı.....	24
Tablo 7. Dahil edilen olguların fertilizasyon başarısına göre karşılaştırılması	25
Tablo 8. İnfertilite etiyolojisine göre fertilizasyon başarısının karşılaştırılması	27
Tablo 9. Uygulanan tedavi protokolüne göre fertilizasyon başarısının karşılaştırılması	28
Tablo 10. Sperm elde etme tekniklerinin fertilizasyon başarısına etkisi.....	28
Tablo 11. Dahil edilen erkeklere ait semen parametrelerinin fertilizasyon başarısına etkisinin karşılaştırılması.....	29
Tablo 12. Spermiogram sonuçlarının fertilizasyon başarısına etkisinin araştırılması	30
Tablo 13. Primer infertilite ve sekonder infertilitenin fertilizasyon başarısına etkisi	30
Tablo 14. Ovulasyon indüksiyonunda kullanılan ilaçların fertilizasyon başarısına etkisi	31
Tablo 15. Değişkenler arası korelasyonlar	32
Tablo 16. Univariate ve Multivariate regresyon analizi	33
Tablo 17. Dahil edilen olguların fertilizasyon başarısına göre TFB, EGY ve başarılı fertilizasyon olarak karşılaştırılması	36

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Fertilizasyon başarısına göre parametrelerinin dağılımı	26
Şekil 2. 2PN sayısının fertilizasyon başarısı öngörüsü açısından ROC analizi	34
Şekil 3. TFB, EGY ve başarılı fertilizasyon olgularının dağılımı	37



ÖZET

İN VİTRO FERTİLİZASYON (IVF) TEDAVİSİNDE FERTİLİZASYON BAŞARISIZLIĞINI VE EMBRİYO GELİŞİM YETERSİZLİĞİNİ PREDİKTE EDEN FAKTÖRLERİN ARAŞTIRILMASI

AMAÇ: Bu çalışma in vitro fertilizasyon (IVF) tedavisine alınan ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) uygulanan hastalarda toplam fertilizasyon başarısızlığı ve embriyo gelişim yetersizliği nedenlerinin saptanması ve siklus sonucunun önceden öngörülebilmesi amacıyla yapıldı.

MATERYAL VE METOT: Ocak 2016-Aralık 2019 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Etlik Zübeyde Hanım Uygulama ve Araştırma Hastanesi Yardımcı Üreme Teknikleri Merkezine başvurup IVF tedavisine alınan ve ICSI uygulanan infertilite hastaları (n=1846); ICSI uygulaması sonucuna göre toplam fertilizasyon başarısızlığı, embriyo gelişim yetersizliği ve başarılı fertilizasyon açısından analiz edildi. Çalışmaya dahil edilen hastalar iki gruba ayrıldı. Başarılı fertilizasyon elde edilen grup (Grup I, n=1412) ile başarısız fertilizasyonla sonuçlanan grup (Grup II, n=434); fertilizasyon başarısını etkileyebilecek yaş, vücut kitle indeksi (VKİ), erken foliküler fazda folikül stimüle edici hormon (FSH) ve östradiol (E2) seviyesi, serum anti müllerian hormon (AMH) seviyesi, antral folikül sayısı, infertilite süresi, infertilite etiyojisi, oosit pick up (OPU) günü östradiol seviyesi, OPU'da toplanan oosit sayısı, spermiogram parametreleri, 2PN sayısı, ovulasyon indüksiyon süresi, uygulanan toplam gonodotropin dozu açısından retrospektif olarak karşılaştırıldı.

BULGULAR: 1846 siklusun dahil edildiği çalışmada fertilizasyonu başarılı olan ve transfere uygun kalitede embriyo elde edilen siklus oranı %76,5 (1412/1846) olarak saptandı. Toplam fertilizasyon başarısızlığı %6,6 (121/1846) ve embriyo gelişim yetersizliği %16,9 (313/1846) oranında tespit edildi. Başarılı fertilizasyon elde edilen grup (Grup I) ile başarısız fertilizasyonla sonuçlanan grubun (Grup II) karşılaştırılmasında VKİ, 3. gün E2 seviyesi, ovulasyon indüksiyon süresi ve infertilite süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Grup I ve grup II arasında sırasıyla yaş [(31 (19-46) vs 33 (18-47), $p<0.001$], 3. gün FSH seviyesi

[(7,69 (0,48-62) vs 9,2 (0,71-42), $p<0.001$], OPU günü E2 seviyesi [1310 (97-7731) vs 785 (58-5959), $p<0.001$], serum AMH seviyesi [1,81 (0,01-33) vs 0,7 (0,01-74), $p<0.001$], antral folikül sayısı [10 (0-30) vs 6 (0-30), $p<0.001$], OPU günü toplanan oosit sayısı [10 (1-144) vs 5 (1-31), $p<0.001$] ve 2PN sayısı [4 (1-28) vs 1 (0-16), $p<0.001$] açısından ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Dahil edilen hastaları sperm elde etme tekniklerine göre gruplandırdığımızda spermin en fazla ejakülatan elde edildiği (1605/1747), ikinci sırada testiküler sperm ekstraksiyonu (TESE) işleminin uygulandığı (132/1747) görüldü. Fertilizasyon başarısı ejakülatan elde edilen spermelerde %75,4 (1211/1605), TESE uygulananlarda %70,4 (93/132), diğer tekniklerin tercih edildiği grupta (MESA, PESA vs.) ise %80 (8/10) olarak saptandı ($p=0,771$). Gruplar spermiogram parametrelerine göre karşılaştırıldığında toplam sperm sayısı, motilite oranı [% (A+B)], toplam ileri hareketli sperm sayısı, Kruger oranı (%) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). İki grup arasında sadece erkek yaşı [33 (20-55) vs 34 (22-67), $p<0,01$] açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. Dahil edilen olguların %64,6'sı (1194/1846) primer infertil iken, %35,4'ü (652/1846) sekonder infertil idi. Primer ve sekonder infertil olguların fertilizasyon başarısı açısından karşılaştırılmasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (%75,1 vs %78,9, $p=0,065$). Fertilizasyon başarısını etkileyebilecek faktörler üzerinde oluşturulan univariate regresyon modelinde kadın yaşı, serum AMH düzeyi, 3. gün FSH seviyesi, OPU günü östradiol seviyesi, antral folikül sayısı, toplanan oosit sayısı ve 2PN sayısı başarılı fertilizasyon ile anlamlı olarak ilişkili saptandı ($p<0,05$). Ancak bu faktörlerin multivariate lojistik regresyon analizinde sadece 2PN sayısı fertilizasyon başarısı için bağımsız prognostik faktör olarak saptandı [OR=12,016 (7,529-19,176), $p<0,001$].

SONUÇ: Başarılı fertilizasyon elde edilen grup (Grup I) ile başarısız fertilizasyon elde edilen grubun (Grup II) karşılaştırılmasında VKİ, 3. gün E2 seviyesi, ovulasyon indüksiyon süresi ve infertilite süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Kadın yaşı, serum AMH seviyesi, 3. gün FSH seviyesi, OPU günü östradiol seviyesi, Antral folikül sayısı, OPU'da toplanan oosit sayısı ve 2PN sayısı açısından ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,005$). Multivariate lojistik regresyon analizinde sadece 2PN sayısı başarılı fertilizasyon için bağımsız prognostik faktör olarak saptandı [OR=12,016 (7,529-19,176), $p<0,001$]. Yapılan

receiver operating curve (ROC) analizinde 2PN sayısı fertilizasyon başarısını anlamlı olarak öngörmekte idi. Optimal cut off %75 sensitivite, %78 spesifite ile 2,5 olarak hesaplandı (area under curve (AUC): 0.845, $p<0.001$). 2PN değeri fertilizasyonun bir göstergesi olarak kullanılırken yaptığımız çalışmada transfere uygun kaliteli embriyo elde edilebileceğini öngörmeye kullanılabilecek bir parametre olarak saptandı.

ANAHTAR KELİMELELER: Embriyo gelişim duraksaması, embriyo gelişim yetersizliği, in vitro fertilizasyon, intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu, toplam fertilizasyon başarısızlığı



ABSTRACT

DEFINING THE PARAMETERS CAUSING TOTAL FERTILIZATION FAILURE AND EMBRYO DEVELOPMENT ARREST IN IN VITRO FERTILIZATION (IVF) TREATMENT

OBJECTIVE: The aim of the study was to determine the causes of total fertilization failure and embryo development failure and predict the cycle outcome in patients undergoing in vitro fertilization (IVF) treatment and ICSI (intracytoplasmic sperm injection).

MATERIAL AND METHOD: Between January 2016 and December 2019, infertility patients who applied to Etlik Zübeyde Hanım Practice and Research Hospital Assistant Reproductive Techniques Center and applied ICSI (n = 1846) for IVF treatment; according to the results of ICSI application; patients analyzed as total fertilization failure, embryo development failure and successful fertilization. The patients included in the study were divided into two groups. “successful fertilization” (group I, n = 1412) and “fertilization failure” (group II, n = 434) were retrospectively assessed for the parameters; age, body mass index (BMI), serum follicle stimulating hormone (FSH) and estradiol level on early follicular phase days, serum anti-mullerian hormone (AMH) level, antral follicle count, duration of infertility, etiology of infertility, estradiol level on oocyte pick up (OPU) day, picked oocyte number, spermogram parameters, 2PN number, duration of ovulation induction, and total dose of gonadotropin.

RESULTS: In the study 1846 cycles were included, the number of cycles with fertilization failure was found to be 23,5% (434/1846). Total fertilization failure was determined as 6.6% (121/1846) and inadequate embryo development was detected as 16.9% (313/1846). There was no statistically significant difference between the groups with successful fertilization (group I) and the group with fertilization failure (group II) in terms of BMI, serum estradiol level on day 3, duration of ovulation induction and duration of infertility ($p > 0.05$). Statistically significant difference was identified between group I and group II in terms of age [31 (19-46) vs 33 (18-47), $p < 0.001$],

serum FSH level on day 3, estradiol level on the day of OPU [1310 (97-7731) vs 785 (58-5959), $p < 0.001$], serum AMH level [1,81 (0,01-33) vs 0,7 (0,01-74), $p < 0.001$], antral follicle count [10 (0-30) vs 6 (0-30), $p < 0.001$], picked oocyte number on the day of OPU [10 (1-144) vs 5 (1-31), $p < 0.001$] and 2PN number [4 (1-28) vs 1 (0-16), $p < 0.001$]. The included patients were analyzed according to sperm retrieval techniques and seen that sperm was obtained mostly from the ejaculate (1605/1747) and TESE procedure was applied in the second row (132/1747). Fertilization success was obtained as 75.4% (1211/1605) in which group sperm retrieved from the ejaculate, 70.4% (93/132) in TESE applications, and 80% (8/10) in the group other techniques were performed (MESA, PESA etc.). ($p = 0.771$). There was no statistically significant difference between the groups in terms of total sperm count, motility rate [% (A + B)], progressive sperm motility, Kruger rate (%) ($p > 0.05$). Multivariate logistic regression model was applied to sort out the factors that may predict the fertilization success, only 2PN number was identified as a significant independent predictor of successful fertilization [OR = 12,016 (7,529-19,176), $p < 0.001$].

CONCLUSION: There was no statistically significant difference between the group with successful fertilization (group 1) and the group with fertilization failure (group 2) in terms of BMI, serum estradiol level on day 3, ovulation induction time and duration of infertility ($p > 0.05$). Statistically significant difference was determined for the parameters; female age, serum AMH level, FSH level on day 3, estradiol level on OPU day, Antral follicle count, picked oocyte count and 2PN number ($p < 0.005$). In the multivariate logistic regression model of these factors, only 2PN number was identified as a significant independent predictor of successful fertilization [OR = 12,016 (7,529-19,176), $p < 0.001$]. In the ROC analysis, 2PN number significantly predicted fertilization success. The optimal cut off was calculated as 2.5 ((75% sensitivity and 78% specificity)(AUC: 0.845, $p < 0.001$)). Last of all the 2PN value has been used as an indicator of fertilization. In the study, it is determined as an independent prognostic parameter that can be used to predict that a quality embryo can be obtained for transfer.

KEYWORDS: Embryo development arrest, embryo development failure, in vitro fertilization, intracytoplasmic sperm injection, total fertilization failure



1.GİRİŞ VE AMAÇ

İnfertilite fizyolojik, biyolojik ve sosyoekonomik pek çok faktörün rol aldığı yaygın bir durumdur. Çiftlerin yaklaşık %15'i bu durumdan etkilenmektedir (1). İnfertilite çiftleri etkileyen bir durum olmakla birlikte: 35 yaş altında 12 ay boyunca korunmasız ilişkiye rağmen gebe kalamama veya 35 yaşından sonra 6 ay korunmasız ilişkiye rağmen gebe kalamamayı tarif eder (2). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) standart tanı protokollerine göre, infertil çiftlerde kadına ait nedenler %40-45, erkeğe ait nedenler %30-40, tanısız yöntemlerle etiyojisi aydınlatılamayan ve açıklanamayan infertilite %10-15 rol oynamaktadır (3). İn vitro fertilizasyon (IVF), infertil çiftlerin gebelik elde etmesi için planlı olarak kadınların overlerinde oositlerin büyütülmesi, sayılarının artırılması, toplanması ve in vitro ortamda sperm ile birleştirilip fertilize olmasını sağlayan bir uygulamadır (4). IVF ile gebelik oranları %40-45'lere, canlı doğum ise %30-35'lere ulaşmaktadır (5). İntrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI), tek bir spermin doğrudan olgun bir oositin sitoplazmasına enjekte edilmesiyle gerçekleştirilen bir tekniği ifade eder. Suboptimal semen parametreleri olan veya konvansiyonel IVF'ten sonra fertilizasyon gerçekleşmeyen veya düşük fertilizasyon oranı olan erkeklerde, fertilizasyon oranlarını arttırmak için kullanılan etkili bir yöntemdir (6). ICSI ilk kez 1988 yılında insan gametlerine uygulanmıştır (7). İlk gebelikler 1992'de Belçika'da bildirilmiştir (8). Bu teknik daha önceleri sürekli olarak kullanılan mikromanipülasyon tekniklerinden daha yüksek fertilizasyon oranları göstermiştir ve daha yüksek implantasyon oranlarına sahip, daha fazla embriyo geliştirilmiştir (8). ICSI'nin neredeyse her tür spermatozoa ile oositleri fertilize etme kapasitesi, bu tekniği erkek infertilitesi için en başarılı tedavi haline getirmiştir. Amerika Birleşik Devletleri'nde ICSI kullanımı, erkek infertilitesi tanısı alanlarda 1995'ten bu yana önemli ölçüde artmıştır (9). Erkek infertilitesi için ICSI kullanımı 2003 yılında yüzde 84 iken 2012 yılında % 93'e yükselmiştir (10). Günümüzde ülkemizde de benzer oranlarda uygulanmaktadır; birçok klinikte hastalar için sıkıntılı bir süreç olan yardımcı üreme tekniklerinde başarı oranının yüksek olması sebebiyle standart bir teknik/tedavi haline gelmiştir. Hastanemizde IVF tedavisine alınan hastalara rutin ICSI uygulanmaktadır. Önceki IVF sikluslarında başarısız fertilizasyon olması, embriyoların preimplantasyon genetik tarama ve tanısında, dondurulmuş oositlerin fertilizasyonu ve oositlerin in vitro olgunlaşması için de kullanılmaktadır

(11). ICSI ayrıca suboptimal semen parametrelerine sahip erkeklerde, oositlerin bazı morfolojik anomalileri ve zona pellucida anomalileri gibi seçilmiş kadın infertilitesinin tedavisinde de birinci sırada tercih edilen yöntemdir (12). Erkek infertilitesi olan çiftlerde ICSI ile %80'e kadar fertilizasyon oranları ve %45'e kadar klinik gebelik oranları gözlenmektedir (13). ICSI'de fertilizasyon kesin olmasa da başarısızlık insidansı düşüktür ve tüm ICSI sikluslarının yaklaşık olarak %1-3'ünde saptanmaktadır. Total fertilizasyon başarısızlığı (TFB), oosit toplanması sonrası tüm olgun oositlerin fertilizasyon başarısızlığını ifade etmektedir. Fertilizasyon başarısızlığı, genel olarak bozulmuş semen parametreleri ve sperm morfolojilerine sahip erkek infertilitesi ile düşük oosit sayısı ve kalitesi olan sikluslarda görülür (14). Tekrarlayan ICSI sikluslarında başarısızlık oranları giderek artmakta 2. ICSI denemelerinde bu oran %13'lere çıkmaktadır (15). Embriyo gelişim yetersizliği (EGY), fertilizasyon oluşmasına rağmen uygun kalitede embriyo gelişmemesini ve gelişim aşamasında duraklamayı tarif eder. Fertilizasyon anomalileri ise haploidi (tek pronukleus, 1PN), triploidi (üç pronukleus, 3PN), tetraploidi (dört pronukleus, 4PN) veya diğer ploidileri tarif etmektedir (16). Kullanılan inseminasyon tekniğine bağlı olarak anormal fertilizasyona neden olan etkenler ve oluşum mekanizmaları değişmektedir. Biz de çalışmamızda kliniğimizde standart olarak uygulanan ICSI prosedüründe fertilizasyon başarısızlığını ve embriyo gelişim yetersizliğini etkileyen faktörleri araştırmayı planladık. Bu çalışmanın amacı, fertilizasyon başarısızlığının ve embriyo gelişim yetersizliğinin nedenlerini araştırmak, birçok etiyolojiye sahip infertilite hastalarında nedene bağlı fertilizasyon başarısızlık oranlarını araştırmak, uygulanan IVF protokollerinin, uygulanan ilaç dozlarının, toplanan oosit sayısının, oosit kalitesinin, semen parametreleri ve sperm morfolojilerinin fertilizasyon başarısızlığına ve embriyo gelişim yetersizliğine etkilerini saptamaya çalışmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

İnfertilite çiftlerin yaklaşık %15'ini etkileyen küresel bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır (1). Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) tanımına göre infertilite, çiftlerin 12 ay veya daha uzun süreli düzenli, korunmasız ilişkiye rağmen klinik gebeliğin oluşmadığı reproduktif sistemin bir hastalığı olarak tanımlanmaktadır (17). Primer infertilite daha önce hiç gebelik oluşmayan bir çifti tanımlarken, sekonder

infertilite ise geçirilmiş bir gebeliği takiben tekrar bir gebelik oluşamaması durumu olarak tanımlanmaktadır (17). Fekundabilite, bir menstrüel siklusta gebelik oluşma olasılığını belirtir ve normal çiftlerde %20-25 olarak bildirilmiştir. Fekundite ise bir siklusun canlı doğumla sonuçlanma olasılığı olarak tanımlanmaktadır (18). Son yirmi beş yıl içerisinde hem primer hem de sekonder infertilite sebeplerinde belirgin bir değişim olmamasına rağmen; sosyoekonomik yapıdaki değişim ve evlilik yaşının ötelenmesi nedeniyle yardımcı üreme tekniklerine gereksinim artmaktadır (19).

2.1.İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi

İnfertilite çiftleri etkileyen bir durum olmakla birlikte: 35 yaş altında 12 ay boyunca korunmasız ilişkiye rağmen gebe kalamama ve ya 35 yaşından sonra 6 ay korunmasız ilişkiye rağmen gebe kalamamayı tarif eder (2). Özgeçmişinde risk faktörü bulunanlarda (ovaryan cerrahi öyküsü, pelvik radyasyon öyküsü, ileri derecede endometriozis, bilinen uterin veya tubal hastalık öyküsü, otoimmün hastalık öyküsü) ve ileri anne yaşında değerlendirme öne çekilebilir (20).

2.1.1. Anamnez

Çocuk istemi ile başvuran çiftlerin öyküsü detaylı alınmalıdır. İnfertilite süresi; varsa daha önce uygulanan infertilite tedavisi, yapılan IVF ve embriyo transferleri, seksüel öykü, koitus sıklığı, menstrüasyon düzeni, sigara, alkol, ilaç kullanımı, sistemik hastalıklar, dismenore, disparoni, hirsutizm, tiroid hastalıkları, galaktore varlığı, anormal servikal ‘smear’ sonucu, geçirilmiş operasyonlar, cinsel yolla bulaşan hastalık öyküsü, ailede erken menopoz; ailede ölü doğum, mental retardasyon, genetik mutasyon öyküsü anamnezde sorgulanmalıdır (21).

2.1.2. Fizik Muayene

Kan basıncı ölçülmeli, vücut kitle indeksi hesaplanmalı ve yükseğe not edilmelidir. Abdominal obezite varlığında insülin direnci gelişebilir ve artmış vücut kitle indeksi ile birlikte infertiliteye sebep olabilir (22). Sekonder seks karakterleri incelenmelidir. Turner sendromu gibi kromozomal hastalıklar akılda tutulmalıdır (23). Jinekolojik muayene ile vagina ve serviks muayene edilmeli, anatomik ve konjenital patolojiler açısından değerlendirilmelidir. Rektovajinal muayeneyi de pelvik muayenenin bir parçası olarak yapmak gerekmektedir.

2.1.3. Tanı Testleri

Spermiogram, histerosalpingografi, histereskopi, siklusun üçüncü gününde; folikül stimüle edici hormon (FSH), luteinize edici hormon (LH) ve östradiol bakılabilir, dinamik ovaryan rezerv testleri yapılabilir, anti müllerian hormon ve antral folikül sayısı değerlendirilir.

2.1.3.1 Semen Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Semen analizi erkek infertilitesini araştırırken esas role sahiptir. 2 ila 7 gün arasında cinsel perhiz sonrası örnek verilmelidir. Laboratuvara bir saat içerisinde ulaştırılmalıdır (24). Anormal sonuç varlığında test en az iki kez 15 gün arayla tekrarlanmalıdır (25). Semen analizinde DSÖ'nün 2010 referans değerleri baz alınmaktadır. Normal spermiogram sonuçları Tablo 1'deki gibi tanımlanmaktadır (26).

Tablo 1. Semen analizi parametreleri

Sperm parametreleri	Normal referans değerleri
Ejakülat volümü	>1.5 ml
Sperm konsantrasyonu	> 15 milyon/ml
pH	≥ 7,2
Motilite	>%40
Total sperm sayısı	> 39 milyon/ejakülat
İleri progresyon skoru (0-4)	>2
Normal morfoloji (Kruger)	>%4
İleri hareket	%32
Total hareket	%40

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) 2010

2.1.3.2 Ovulatuvar Fonksiyonun Değerlendirilmesi

Ovulatuvar bozukluk yaygın bir infertilite sebebi olması nedeniyle tanısı oldukça önemlidir (27). Kadına bağlı infertilitenin %25-30'unu oluşturur. Anovulasyon, amenore ve adet düzensizlikleri ile kendini gösterir. İnfertil hastalarda ovulasyonun olup olmadığı mutlaka tespit edilmelidir. Mid lüteal (sonraki menstrüasyondan bir hafta önce) progesteron değerinin > 3 ng/ml olması ovulasyonu

destekler (28). Günlük ultrasonografi ile folikül takibi de ovulasyon takibinde kullanılabilecek bir diğer yöntemdir (29).

2.1.3.3 Ovaryan Rezervin Değerlendirilmesi

Azalmış over rezervi oosit sayısının, kalitesinin ve üreme potansiyelinin azalmasını tarifler (30). Ovaryan kapasiteyi göstermek için bir çok test bulunmuştur, ancak hiç biri gebelik potansiyelini öngörmeye tek başına yeterli değildir (29). Menstrüasyonun 3. gününde FSH ve östradiol ölçümü ile AMH ölçümü en sık kullanılan testlerdir. FSH'nın normal değerlerde olması bir anlam ifade etmezken, yüksek olması gebelik şansını azaltır (31). FSH değerinin > 20 mIU/mL olması tedavisiz gebelik şansının düşük olduğunu gösterir (31). Bir diğer parametre olan östradiolün, menstrüasyonun 3. gününde >80 pg/mL olması IVF siklus iptali ve düşük gebelik oranlarıyla ilişkili bulunmuştur (32). AMH primordial folikül havuzunu gösteren, antral ve pre-antral foliküllerden salgılanan hormondur (33). IVF tedavisinde kötü ovaryan yanıtı ve aşırı ovaryan yanıtı göstermede en etkili parametredir (34). AMH siklus bağımsızdır ve antral foliküllerden sürekli salgılanır (35). Tanımlanmış infertilitesi olmayanlarda fertilite potansiyelini, gebelik durumunu ve menopozal durumu öngörmeye yetersizdir (35). Rezerv hakkında fikir veren bir diğer parametremiz antral folikül sayısıdır (AFC). Yaş ile birlikte yaklaşık %4 oranında azalır ve yaş ile korelasyonu oldukça yüksektir (36). AFC<5 olması düşük ovaryan rezervi düşündürür (37).

2.1.3.4 Tubal Geçişin Değerlendirilmesi

Tubal faktör kadın infertilitesinin yaklaşık %11'ini oluşturmaktadır (38). Bu nedenle tubal geçişin tanımlanması oldukça önemlidir. HSG tubal geçişi göstermede oldukça etkilidir. Hem tanı hem de tedavi etkisi olması nedeniyle ilk sırada tercih edilir (39). Su ve yağ bazlı opak maddeler kullanılabilir. HSG proksimal tubal oklüzyonu göstermede sınırlı etkinliğe sahipken distal oklüzyonu göstermede daha etkilidir. Uterin kavite hakkında da fikir sağlar. Peritubal adezyon ve endometriozis varlığında ise fayda sağlamaz (40). Tubal geçişi göstermede altın standart tanı yöntemi ise laparoskopidir (39).

2.1.3.5 Uterin Kavitenin Değerlendirilmesi

Mekanik ya da reseptif olarak endometrial implantasyonun bozulması infertilite ile ilişkilidir. Ultrason myometrium, endometrium ve adneksi göstermede

fikir sağlarken; salin infüzyon sonografi (SIS); uterin sineşi, polip ve konjenital anomalileri göstermede daha etkilidir (36). Histeroskopi de SIS kadar etkili bir görüntüleme yöntemidir (36). Konjenital anomalileri göstermede ise manyetik rezonans görüntüleme ve üç boyutlu ultrason daha üstün bulunmuştur (41).

2.2. İnfertilite Nedenleri

İnfertilite çiftlerin %15'ini etkileyen yaygın bir problemdir (1). Etiyolojisine baktığımızda erkek faktörü %26, ovulatuvar disfonksiyon %21, tubal faktör %14, endometriozis %6, açıklanamayan infertilite %28 yer tutmaktadır (19). Çiftlerin birçoğu birden fazla problemle karşılaşmaktadır (42). Etiyolojinin saptanması tedavi açısından oldukça önemlidir.

2.2.1 Kadın infertilitesi

İnfertilite sebeplerine baktığımızda en sık kadın infertilitesi ile karşılaşmaktayız (%37) (43). Kadın infertilitesi nedenlerini detaylı gruplandırarak olursak, beş ana başlık altında toplayabiliriz:

1. Ovulatuvar disfonksiyon (%21)
2. Endometriozis (%15)
3. Pelvik adezyon (%12)
4. Tubal faktör (%11)
5. Hiperprolaktinemi (%7)

2.2.1.1 Ovulatuvar Disfonksiyon

Çiftlerin yaklaşık %20-25'ini etkileyen, kadın infertilitesi nedenleri arasında en sık karşılaştığımız problemdir (44). DSÖ üç alt gruba ayırmıştır:

1. Hipotalamik-pitüiter bozukluk (%10): Sıklıkla amenore ile semptom verir. Gonodotropin ve estradiol seviyeleri düşüktür. Hipotalamus-hipofiz aksında problem vardır (44). Tedavide FSH ve LH ile ovulasyon indüksiyonu uygulaması yapılır (44).
2. Hipotalamus-pitüiter-over aks disfonksiyonu (%85): Polikistik over sendromu (PKOS) reproduktüf çağıdaki kadınların %5-10'unu etkileyen yaygın bir hastalıktır. Grup 2 anovulasyonun en sık nedenidir. 2003 yılındaki Rotterdam kriterlerine göre tanı alır. İnfertilite tedavisi

için kilo kaybı sağlanmalıdır. Gonodotropin ile ovulasyon indüksiyonu ve IVF tedavisi denenebilir (44).

3. Ovaryan yetmezlik (%5): İntrauterin dönemde belirlenen oosit sayısının ve kalitesinin azalmasının sonucudur. Over rezervini etkileyen faktörleri yaş, genetik faktörler, yaşam tarzı (alkol, sigara vb.), geçirilmiş ovaryan cerrahi, otoimmün hastalıklar, radyoterapi ve kemoterapi olarak sıralayabiliriz (45). Azalmış over rezervi (DOR) tanısı konulması için dünyaca kabul edilen Bologna kriterleri esas alınmaktadır. 2011 yılında European Society for Human Reproduction and Embryology bünyesinde kabul edilmiştir. 3 kriterden 2'si bulunmalıdır (1- İleri maternal yaş (≥ 40) veya kötü over cevabı için bir risk faktörü (kemoterapi, radyoterapi, ovaryan cerrahi vs) varlığı, 2- Daha önceden yapılan stimülasyon sonrası ≤ 3 oosit elde edilmiş olması, 3- Azalmış over rezerv testi varlığı (AFC $< 5-7$ ve/veya AMH < 1.2 ng/ml) (46).

2.2.1.2 Tubal Faktör ve Pelvik Adezyonlar

Tubal hastalıklar ve pelvik adezyonlar sperm ve oositin tubal taşınmasını bozabileceği için infertiliteye yol açabilmektedir. Etiyolojisinde en sık klamidy ve gonore enfeksiyonu yatmaktadır (47). Distal tubal tıkanıklıklar hidrosalpenkse yol açıp IVF başarısını olumsuz etkileyebilir (48). Hidrosalpeks gelişmesi sperm migrasyonunu bozar ayrıca tüp içeriğinin retrograd olarak kaviteye dolmasına sebebiyet verir. Bu nedenle embriyo implantasyonuna uygun olmayan ortam oluşur ve fertilizasyon azalır (49). IVF tedavisine başlanmadan önce distal hidrosalpenksin tedavi edilmesi (salpenjektomi yapılması) gebelik oranlarını artırır (50). İnflamatuvar barsak hastalığı, apendiks inflamasyonu, endometriozis, geçirilmiş pelvik cerrahiye bağlı adezyonlar, pelvik tüberkülozis tubal transportu bozarak infertiliteye sebep olabilen diğer faktörlerdir (47).

2.2.1.3 Uterin Faktörler

Endometrial reseptiviteyi azaltan veya mekanik etki ile implantasyon başarısızlığına neden olabilen faktörler infertilite ile ilişkilidir (51). Fertiliteyi etkileyebilecek bazı uterin faktörler; konjenital malformasyonlar, leiomyomlar,

endometrial polipler ve intrauterin adezyonlardır. Leiomyomlar benign monoklonal düz kas hücrelerinden köken alan tümörlerdir. Yalnızca submukozal olanlar veya kaviteyi dolduranlar infertiliteye sebep olmaktadır (52). İntramural ve subseröz myomların infertilite üzerine etkisi tartışmalıdır. Submuköz myomların histeroskopik olarak eksizyonunun gebelik şansını arttırdığı gösterilmiştir (53). Bu durum mekanik etki ile implantasyon kısıtlılığının örneğidir. Uterin konjenital anomali prevalansı %5 olarak bulunmuştur. İnfertil çiftlerde bu oran %8'lere ulaşmaktadır (54). Konjenital anomalileri görüntülemeye MRG'nin sensitivite ve spesifitesi %100'lere ulaşmaktadır (55). Uterin septum en sık görülen uterin anomalidir ve reproduktif başarısızlık ve obstetrik komplikasyonlarla ilişkilidir (54). Uterin septumun histeroskopik eksizyonu özellikle tekrarlayan gebelik kaybı olan grupta önerilmektedir. İnfertilite tedavisi başlayacağımız hastalarda da fayda sağlayabilir (56). Endometrial polipler de implantasyonu bozabilen bir diğer faktördür. Endometrial polip prevalansı IVF tedavisi başlanacak hastalarda %6-8'dir (57). IVF tedavisi öncesi histeroskopik polip rezeksiyonu yapılanlarda gebelik oranlarında artış saptanmıştır (58).

2.2.1.4 Endometriozis

Endometriozis endometrial dokunun uterin kavite dışında bulunmasıdır. Reprodüktif dönemdeki kadınların %10-15'inde bulunur. İnfertilite tanısı alanların %25-50'sinde endometriozis de eşlik eder (59). Endometriozis inflamatuvar mediyatörlerin salgılandığı kronik bir süreçtir. Ortaya çıkan mediyatörlerin folikülogenez, fertilizasyon ve implantasyon bozukluğuna neden olduğu gösterilmiştir (60). Endometriozis ile infertilite ilişkisi tam anlamıyla açıklanamamakla birlikte infertilite endometriozisin derecesiyle ilişkilidir (61). Hafif ve orta dereceli endometriozis varlığının IVF tedavisinde gebelik oranlarını olumsuz etkilemediği saptanmış; bununla birlikte ileri derecede endometriozis varlığında ise gebelik oranları, toplanan oosit sayıları ve implantasyon oranları azalmıştır (62). Ancak bu konu hala tartışmalıdır.

2.2.2 Erkek infertilitesi

İnfertil çiftlerde %26 oranında sebep erkek faktörüdür (19). %27 oranında ise hem kadın hem erkek faktörü rol oynamaktadır. Erkek infertilitesinin başlangıç değerlendirmesi; dikkatli bir anamnez ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) kriterlerine uygun olarak iki adet semen analizi ve fizik muayeneyi içermelidir. Semen analizini

çevresel toksinler, ilaçlar, kriptorşişizm, geçirilmiş orşit, varikosel, sigara kullanımı ve radyasyon etkilemektedir. Semen analiz sonuçlarına göre tanımlamalar Tablo 2’de aktarılmıştır.

Tablo 2. Semen analizi değerlendirilmesi

Terminoloji	Tanım
Normospermi	Sperm sayısının, hareketliliğinin ve şeklinin normal olması
Oligospermi	Sperm sayısının normal değerlerden düşük olması
Azospermi	Semende hiç spermatozoa bulunmaması
Aspermi	Hiç ejakülat elde edilmemesi
Astenospermi	Sperm hareketliliğinin normal değerlerden düşük olması
Teratospermi	Normal şekilli sperm oranının normal değerlerden düşük olması
Oligoastenoteratospermi	Her üç değişkenin bozukluğunu gösterir

Çoğu infertil erkekte oligospermi ya da azospermi mevcut iken semen parametreleri tamamen normal olan infertil bir grup da saptanmıştır (63). Epidemiyolojik çalışmalarda fertilité oranları yaşla birlikte azalmakta iken; yardımcı üreme tekniklerinde bu sonuçlar farklılık göstermektedir (64). Erkek infertilitesine yol açan faktörler başlıca 4 ana başlık altında sınıflandırılabilir (63):

1. Spermatogenezi etkileyen primer testiküler defektler (%65-80)
2. İdiyopatik (%10-20)
3. Endokrin ve sistemik hastalıklar (%1-2)
4. Sperm transport bozuklukları (%5)

Primer testiküler defektlerden en sık idiyopatik disspermatogenezis görülmektedir. Sperm sayısında, morfolojisinde veya hareketinde anormal sonuçlar ile karakterizedir. Genetik faktörler %5-10 arasında erkek infertilitesinin nedenleridir (65). Y kromozomu mikrolelesyonları bu grupta yaklaşık %20 oranında yer tutmaktadır. AZF mikrolelesyonu iyi tanımlanmış ve sık karşılaşılan; oligospermi ve azospermiye yol açan genetik faktördür. Testiküler biyopsi yapılması bu popülasyonda germinal hücre maturasyon bozukluğunu göstermede fayda sağlayabilir (65). Azospermi saptanan hastalarda Klinefelter insidansı %10-15 arasında bulunmuştur. Klinefelter bu popülasyonda akılda tutulmalı ve hasta fenotip olarak detaylı değerlendirilmelidir. Seks kromozomunda anöploidi ve ekstra X(XXY) kromozomu taşır. Primer hipogonadizm, azospermi ve testosteron yetersizliği bulunur (66).

Astenospermi saptanan hastalarda vas deferens ve epididimisin konjenital anomalisi, obstrüksiyonu veya disfonksiyonunun etiyolojide sorgulanması gerekmektedir. Obstrüksiyon klamidya, gonore veya tuberkulozis kaynaklı enfeksiyona sekonder oluşabilir (67). İnfertil erkeklerde konjenital vas deferens yokluğu %1-2'dir. Bu hastalarda çoğunlukla Kistik fibrozis transmembran regülatör (CFTR) mutasyonu izlenmektedir (68). Genetik tanı testleri bu popülasyonda akılda tutulmalıdır.

2.2.3 Açıklanamayan İnfertilite

Herhangi bir neden bulunmamasına rağmen; 35 yaş altında 12 ay boyunca korunmasız ilişkiye rağmen gebe kalamama veya 35 yaşından sonra 6 ay korunmasız ilişkiye rağmen gebe kalamamayı tarif eder (2). Çift detaylı değerlendirildikten sonra; normal değerlerde semen parametreleri, normal over rezervi, pelvik ve tubal patoloji ile endometriozis olmaması, ovulatuvar disfonksiyon olmaması ve buna rağmen infertil olma durumudur. Etiyolojisi tam olarak aydınlatılamamasına rağmen bazı hipotezler ortaya atılmıştır. Defektif endometrial reseptivitenin blastokist invazyonu, migrasyonu ve implantasyonuna engel olması ve açıklanamayan infertiliteye neden olması bunlardan biridir (69). Açıklanamayan infertilite nedeni ile IVF tedavisi alanlarda tubal faktör nedeni ile IVF olanlara göre total fertilizasyon başarısızlığı (TFB) daha fazla bulunmuş ve bu durumun minör oosit ve sperm fonksiyon bozukluğuna bağlı

olabileceği gösterilmiştir (70). Bir başka çalışmada semen analizinde sperm konsantrasyonu ve motilitesi normal değerlerin alt sınırında bulunmuştur (71).

2.3 İnfertilite Tedavisi ve IVF'in Yeri

İnfertilite medikal, psikososyal ve ekonomik pek çok faktörü içeren kompleks bir durumdur. Tedaviye yaşam değişikliği ile başlanmalıdır. Sigara kullanımı terk edilmeli, kafein ve alkol tüketimi kısıtlanmalı ve koit sıklığı arttırılmalıdır (72). Tedavi seçiminde hasta ve hekim ortak karar vermelidir. Bu seçimde tedavi etkinliği, hasta sorumluluğu, risk ve maliyet en önemli dört parametreyi oluşturmaktadır (73). Tedavi seçiminde en önemli konu etiyolojinin doğru belirlenmesidir. Örneğin anovulasyon nedeniyle ovulasyon indüksiyonu yapılan hastalarda fekundabilite normal popülasyonla aynı iken; bilateral tubal obstrüksiyon tanısında ovulasyon indüksiyonu beyhude çabadır (74). IVF ilk sırada denenmelidir. Bununla beraber tek taraflı tubal obstrüksiyon nedeniyle yapılan kontrollü ovaryan stimülasyon (KOH) ve intrauterin inseminasyon (IUI) ile açıklanamayan infertilite nedeniyle yapılan olgular kıyaslandığında gebelik sonuçları benzer bulunmuştur (75). Sonuçta doğru teşhis doğru tedavi doğurur.

Yardımcı üreme teknikleri (YÜT) son yıllarda gelişen teknoloji ile birlikte yaygınlaşmış ve infertilite tedavisinde kullanılan en etkin yöntem olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu yöntemlerden en çok tercih edileni IVF'tir (3). IVF; kontrollü ovaryan stimülasyon sağlamak için ekzojen gonodotropin verilerek olgunlaştırılan oositlerin, transvajinal ultrasonografi eşliğinde vajinal yoldan toplanması, laboratuvar ortamında fertilize edilmesi, vajinal yoldan endometrial kaviteye transfer edilmesi işlemidir (3). İlk canlı doğum 1978 yılında bildirilmiştir (76). Amerika Birleşik Devletleri'nde tüm doğumların %1.5'i ve çoğul gebeliklerin %20'si IVF sonucunda gerçekleşmektedir (77). Tubal faktör, erkek faktörü, açıklanamayan infertilite, azalmış over rezervi ve endometriosis en sık karşılaşılan endikasyonlarıdır. Buna ek olarak preimplantasyon genetik tanı ve mitokondrial hastalıkların önlenmesi gibi nedenlerle de tercih edilmektedir. Tedavide başarı şansını arttırmanın en önemli yolu doğru hasta seçimidir. Yaş, infertilite etiyolojisi, obstetrik öykü gibi pek çok neden IVF başarısını etkilemektedir (78). IVF başarısını etkileyen en önemli parametre anne yaşıdır (78).

2012 yılında yapılan bir çalışmada, anne yaşına göre canlı doğum oranları karşılaştırıldığında: <35 yaş (%40,7), 35-37 (%31,3), 38-40 (%22,2), 41-42 (%11,8) ve >42 (%3,9) olarak bulunmuştur (79). IVF başarısını etkileyen bir diğer parametre gonodotropine yetersiz over yanıtı ve kötü oosit kalitesidir (80). Yaşla birlikte oosit kalitesinde azalma olması bu durumu destekler. Menstrüasyonun üçüncü gününde FSH>20 mIU/mL olan ve tekrarlayan ölçümlerde de FSH yüksekliği kesinleşmiş kişilerde IVF başarısı düşük saptanmıştır (81). Bu sonuçlar da göstermektedir ki doğru hasta seçilimi başarıyı etkileyen en önemli parametredir.

2.3.1 IVF Tedavi Protokolleri

IVF tedavisi sonrası ilk canlı doğum, doğal siklus ile spontan bir ovulasyonu takiben bir adet embriyo transferi yapılarak elde edilmiştir (77). Doğal siklusta; siklus başına gebelik oranı siklus boyunca bir adet oosit elde edilebildiği için düşüktür (4). Siklus iptal oranları yüksektir. Siklus boyunca birden fazla olgun oosit elde edilmesinin ve multipl embriyo transferinin gebelik oranlarını arttığı gösterilmiştir (80). Bu nedenle ovaryan stimülasyon sağlayan farklı tedavi protokolleri geliştirilmiştir.

2.3.1.1 Klomifen Sitrat ile Ovulasyon İndüksiyonu

Klomifen sitrat ovulasyon indüksiyonunda kullanılan östrojen reseptör modülatörü bir ilaçtır. IVF tedavisinde tek ilaç olarak kullanılması nadirdir. Siklusun 3-5. günlerinden itibaren 5-7 gün süreyle günlük 50-150 mg olarak uygulanabilir. Siklus iptal oranları doğal siklus ile karşılaştırıldığında daha düşüktür. Toplanan oosit sayısı, transfer edilen embriyo ve gebelik oranları ise daha yüksektir (82). Doğal siklularda olduğu gibi, ekzojen hCG enjeksiyonu follikül belirli bir olgunluğa ulaştığı zaman yapılır.

2.3.1.2 Uzun Protokol

IVF siklusu öncesi yaklaşık iki hafta süreyle GnRH agonist, antagonist veya oral kontraseptif ilaçlarla endojen hipofizer gonadotropin stimülasyonunu baskılamak ve erken LH salınımını engellemek için geliştirilmiştir. Hipofizden salgılanan FSH ve

LH seviyelerini azaltır, follikül gelişimini durdurur. Endojen LH'nın erken ve kontrolsüz yükselmesi sonucu gelişen prematür luteinizasyonu ve ovulasyonu önler. Overin istirahatte olduğu dönemde ekzojen gonadotropinlere başlanır. Bu protokolda en çok GnRH agonist ilaçlar tercih edilmektedir. Piyasada en çok kullanılan ilaçlar leuprolid asetat içermektedir. Günlük 0.5-1 mg/gün subkutan olarak uygulanır. Kullanımdaki diğer agonist ajanlar aşağıda sıralanmıştır.

Kullanımdaki GnRH agonistleri:

- Leuprolid asetat→ subkutan uygulanır
- Triptorelin asetat→ subkutan uygulanır
- Nafarelin asetat→ intranazal uygulanır
- Buserelin asetat→ subkutan / intranazal uygulanır

Agonist ilaçlar kendi aralarında kıyaslandığında bütün ilaçların etkinlikleri benzer bulunmuştur (83). Çalışmalarda istenmeyen sonuçlara yol açmadıkları ve güvenilir oldukları görülmüştür (84). Günlük kullanıma ek olarak tek seferde uygulanan uzun etkili depo formda GnRH agonist tedavileri de (leuprolid asetat) bulunmaktadır; ancak gonadotropin indüksiyonu için gerekli doz ve süre günlük enjeksiyonlara göre daha fazla bulunmuştur ve gebelik oranlarının değişmediği saptanmıştır (85).

Down regülasyonun gerçekleştiğini gösteren en önemli parametreler östradiol seviyesinin <30 pg/mL olması ve transvajinal ultrasonografide >10mm folikül saptanmamasıdır (86). Hipofizer baskılanma saptanmış ise gonadotropin ile uyarım yapılmaya başlanır. Hastanın yaşı, VKİ, antral folikül sayısı, mevcut over rezervi, over yanıtı gibi faktörlere göre bireysel gonadotropin dozu ayarlanır (86).

2.3.1.3 GnRH Agonist ve Ekzojen Gonadotropinin Beraber Uygulanması

(Kısa = Flare Protokol)

Bu protokolda GnRH agonisti erken foliküler fazın başında uygulanır ve akabinde tedaviye rFSH ve hMG eklenerek gonadotropin stimülayonuna başlanır.

GnRH agonisti foliküler gelişimi uyarır ve prematür endojen LH salgılanmasını engeller. Bu uygulamada over supresyonu fazla değildir ve GnRH reseptörlerinin başlangıç uyarılması ile birlikte endojen gonadotropinlerin salınımı, ekzojen gonadotropinlerin etkisini artırmaktadır. Çalışmalarda GnRH dozunu azaltarak daha iyi ovaryan yanıt alınabileceği gösterilmiştir (87). Bu zeminde yeni flare protokoller geliştirilmiştir. 1996 yılında yapılan bir çalışmada flare-up protokolü uygulanan, kötü ovaryan yanıtı olan hastalarda; toplanan oosit sayısının daha az olmasına rağmen yüksek gebelik oranları ve düşük siklus iptal oranları olduğu saptanmıştır (88). Bu çalışma da desteklemektedir ki kötü ovaryan yanıtı olanlarda kullanılabilecek tedavi seçeneklerinden biridir. Flare protokoller arasında en sık kullanılanlardan biri mikro doz yöntemidir. 14-21 günlük oral kontraseptif supresyonunu takiben mikrod doz olarak hazırlanmış leuprolid asetat, siklusun 1. günü, günde 2 kez 40 µg olacak şekilde başlanır. Leuprolid tedavisinin üçüncü günü yüksek doz (300-450 IU/gün) gonadotropin eklenir. Bu yöntemde OKS etkisi ile corpus luteum oluşumu engellenir ve serum androjen ve progesteron düzeylerinde artış olmaz. Çalışmalarda mikro doz yöntemi kullanılan hastalarda oosit toplama günü yüksek östradiol seviyesi, daha fazla oosit sayısı, daha az prematür luteinizasyon saptanmıştır (89).

2.3.1.4 GnRH Antagonist Protokol

İlk kez 1990'lı yıllarda keşfedilmiştir. GnRH reseptörlerini kompetitif ve doz bağımlı bir şekilde bloke eder (90). Hızlı bir şekilde LH pikini önler ve gonadotropin salınmasını suprese eder. Agonist protokol ile kıyaslandığında yan etkisi daha azdır, tedavi süresi daha kısadır ve hasta uyumu daha fazladır (91). 2011 yılında yayınlanan bir meta analizde OHSS riski agonist protokole göre düşük saptanmıştır (91). 2016 yılında 12,212 hasta dahil edilerek yapılan bir başka çalışmada agonist protokol ile antagonist protokol arasında gebelik oranları açısından anlamlı fark saptanmamıştır. Günümüzde cetoreliks ve ganireliks etken maddeli preparatları piyasada mevcuttur.

2.3.2 Oosit toplama

Transvajinal ultrason eşliğinde folikül aspirasyonu yöntemiyle uygulanmaktadır. İnsan koryonik gonadotropin (hCG) uygulamasından 34-36 saat sonra gerçekleştirilir. Bu süreyi uzatmak ovulasyon ihtimalini arttırmaz ancak erken

toplama daha az matür oosit elde edilmesine neden olabilir (92). Lokal analjezi veya intravenöz anestezi eşliğinde yapılır. Uygulama sırasında uygulanan kombine anestezi tekniklerinin daha etkin olduğu gösterilmiştir (93). Oosit toplanması için vajenin izotonik solüsyon ile birkaç kez yıkanarak hazırlanması uygundur. Oosit toplama öncesi mutlaka kalıcı olmayan bir kateter ile mesane boşaltılmalıdır (3). Profilaktik antibiyotik kullanılması enfeksiyon oranını düşürebilir; ancak klinik gebelik oranlarına etkisi saptanmamıştır (94). 1991 ile 2008 yılları arasında yapılan, yaklaşık 400 bin hastanın dahil edildiği bir çalışmada toplanan oosit sayısının gebelik oranlarını arttırdığı saptanmıştır (95).

2.3.3 Sperm Elde Edilmesi

Spermiler genellikle ejakülatın elde edilir. Oligospermi veya azospermi durumunda fertilizasyon amacıyla kullanılacak spermere ulaşmak için bazı yöntemler geliştirilmiştir. Sperm toplama tekniği spermin elde edildiği bölgeye göre (testiküler, epididimal) veya tekniğin yapılış şekline göre isimlendirilir. Mikrodiseksiyon epididimal sperm aspirasyonu (MESA); perkütan epididimal sperm aspirasyonu (PESA); testiküler sperm aspirasyonu (TESE) en sık uygulanan tekniklerdir (96). Yöntemler kıyaslandığında fertilizasyon, gebelik ve canlı doğum oranları arasında fark saptanmamıştır (97). Epididimal aspirasyon tekniğinde komplikasyon riski daha düşük olduğu için daha sık tercih edilir. Non obstrüktif azospermili olgularda, testiste sperm matür ya da immatür halde bulunabilir. Non obstrüktif azaospermisi olan hasta grubu ile obstrüktif azospermisi olan hastalar kıyaslandığında non obstrüktif grupta fertilizasyon oranlarının daha düşük olduğu ancak gebelik oranlarının değişmediği gösterilmiştir (98). TESE non obstrüktif azospermisi bulunan hastalarda oldukça başarılı bir yöntemdir.

2.3.4 İn vitro Fertilizasyon ve Embriyo Gelişimi

Kadından oositlerin toplanacağı zaman erkek de sperm verir. Ejakülatın veya canlı spermin olmadığı durumlarda girişimsel yöntemlerle sperm elde edilebilir. Elde edilen semen özel bir kap içine alınır ve likefaksiyon beklenir. Sperm hazırlamak için en çok kullanılan yöntemler yüzme ve yoğunluk gradienti santrifugasyon yöntemidir. Semen sonuçları anormal olgularda ikinci yöntem daha çok tercih edilir (3). “Semen

sperm sayısı, hareketliliği ve morfolojisi yönünden incelenir. İncelenen sperm fertilizasyon için hazırlanır. Sperm hazırlaması iki nedenden dolayı önemlidir. Bunlardan birincisi seminal plazmada bulunan yabancı proteinleri temizlemek, ikincisi ise akrozom reaksiyonunu indükleyerek hiperaktivasyon sağlamaktır. Ayrılan spermeler kapıtasyon amacıyla yüksek oranda protein içeren inkübasyona bırakılır (median 0.5-4 saat). Genelde her oosit 50-100 bin hareketli sperm ile birlikte 37°C sıcaklık, %5 karbondioksitli ve %98 nemli ortamda 12-18 saat bekletilir” (3). Sperm parametleri bozuk olan hastalarda sperm sayısının artırılmasının fertilizasyon oranlarını arttırdığı gösterilmiştir (99). Akrozomal reaksiyon zona pellusidayı geçmek için şarttır ve sperm ile zona pellucidanın teması ile ortaya çıkar. Sperm penetrasyonu oositi uyarır ve ikinci mayoz bölünmeyi uyararak kromatidlerin oosit ve ikinci polar cisimcik arasında dağılmasını sağlar. Oositler fertilizasyon varlığı açısından inseminasyondan yaklaşık 18 saat sonra gözlenir. Normalde fertilize olmuş oosit 2 ayrı pronukleus gösterir. Bir tanesi oositte bir tanesi spermden gelir ve 2 tane polar cisimcik vardır (3). Zigotlar fazladan pronukleus varlığı açısından mutlaka ayrıntılı olarak incelenmelidir; çünkü polinukleuslu embriyolar normal olarak bölünebilir ve gelişimini daha ileri fazlara kadar sürdürebilir. Fertilizasyon aşaması yaklaşık 24 saat gerektirir ve ilk mitotik bölünmeyle birlikte sona erer (3). Toplam fertilizasyon başarısızlığı (TFB), oosit toplanması sonrası tüm olgun oositlerin fertilizasyon başarısızlığını ifade etmektedir, fertilizasyon başarısızlığı, genel olarak bozulmuş semen parametrelerine ve morfolojilerine sahip erkek infertilitesi ile düşük oosit sayısı ve kalitesi olan sikluslarda görülür (14). Bu nedenle ciddi erkek faktörü veya önceki siklusta fertilizasyon başarısızlığı olanlarda ICSI uygulanabilir (8). Fertilizasyon anomalileri ise haploidi (tek pronukleus, 1PN), triploidi (üç pronukleus, 3PN), tetraploidi (dört pronukleus, 4PN) veya diğer ploidileri tarif etmektedir (16). Fertilizasyon kontrolünde oositlerde tek pronukleus görülmesi haploidi olarak tariflenir ve bunlar genellikle ginogenik veya androjenik zigotlardır. Bu zigotlar blastosist evresine kadar gelişimini sürdürebilir. 1PN zigotların büyük bir bölümü ikinci pronukleusun varlığını gösterebilir. ICSI’de tek pronukleuslu zigotların haploid olduğu ve oosit aktivasyonu ile şekillendiği kabul edilmektedir; bu nedenle 1PN zigotlardan gelişen embriyoların transferinden kaçınılmalıdır (100). Triploidi fertilizasyon kontrolünde oosit sitoplazması içinde üç pronukleusun şekillenmesiyle

kolayca gözlenebilir ve bu sırada 2PN zigotlardan ayrılmaz ise erken dönemde sergileyeceği özelliklerin farklı olmaması nedeni ile ayırt edilemez. 3PN oluşumu ooplazma içerisine iki spermin penetre olması, spermin binukleer oosite penetre olması, oosite binukleer spermin penetre olması veya kutup cisimciğinin kromozomunun retansiyonu nedeni ile meydana gelebilir (101). ICSI’de uygulayıcının tecrübesizliği nedeni ile pipete iki sperm çekilmiş olabileceği veya pipet dışına yapışan spermelerin de triploidiye neden olabileceği unutulmamalıdır. Yapılan bir çalışmada 1PN ve 3PN zigotların, 2 pronukleuslu zigotlara göre gelişme potansiyelinin yetersiz ve implantasyon oranlarının düşük olduğu ve hücre sayısı bakımından daha yavaş geliştikleri gösterilmiştir (16). Fertilizasyon anomalilerinden bir diğeri de gecikmiş fertilizasyondur. Fertilizasyon ICSI’de 48. Saatte gözlenebilir ve gecikmiş fertilizasyon olarak tanımlanır. Oositlerin morfolojik ve moleküler faktörlerinin veya sperm defektlerinin neden olabileceği gösterilmiştir (102). Fertilizasyon kontrolünde pronukleusların boyutları, yerleşimleri ve birbirleriyle pozisyonları da önem arz eder. Pronukleusların normal gelişiminde oosit sitoplazmasının merkezine yerleşmesi beklenir ve gerçekleşmemesi durumunda hücresel sistemin yetersizliğini düşündürür. Pronukleusların periferde kaldığı zigotlardan gelişen embriyolar düzensiz bölünmeler gösterebilir. Pronukleus büyüklüğü farklılık gösteren zigotlardan gelişen embriyolarda çoğunlukla kromozomal anomaliler de eşlik eder (103). Fertilizasyon başarısını etkileyen bir diğer etken suboptimal kültür koşullarıdır. Oositlerin manipülasyonu sırasında ısı, pH ve ozmolarite değişimi önemli parametrelerdendir. pH değişiminin total fertilizasyon başarısızlığına neden olabileceği ve oositlerin ileri gelişiminin sınırlanabileceği gösterilmiştir (104). ICSI’de kullanılan PVP (polivinilpirolidon), fertilizasyon başarısını ve normal embriyo gelişimini olumsuz etkileyebilir (105). Bu nedenle spermeler içerisinde kısa süreli tutulmalı ve ooplazmaya fazla miktarda verilmesinden kaçınılmalıdır.

Embriyo gelişim yetersizliği (EGY): fertilizasyon oluşmasına rağmen transfer edilebilecek kalitede embriyonun gelişmemesini ve embriyo gelişim duraklamasını tarif eder. Tüm IVF sikluslarının yaklaşık %10-15’inde görülmektedir (106). Etiyolojisi tam olarak aydınlatılamamış olmakla birlikte fertilizasyon anomalileri nedeniyle meydana gelebilir. Kromozomal anomaliler yaklaşık %50’sine eşlik etmektedir (107). Nükleer ve sitoplazmik fragmantasyona neden olan apoptozisin aşırı

aktivasyonu nedeniyle meydana gelebildiği gösterilmiştir (108). Oksidatif stres olası etkenler arasında düşünülmektedir (109).

2.3.5 İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu

ICSI tek bir sperm hücresinin zona pellusidayı aşarak, direkt olarak oosit sitoplazmasına enjeksiyonu işlemidir. ICSI, erkekten kaynaklanan infertiliteyi tedavide uygulanan en etkin mikromanipülasyon tekniğidir. İlk kez 1988 yılında uygulanmıştır (7). İlk gebelikler 1992'de Belçika'da bildirilmiştir (8). Çalışmalarda daha yüksek fertilizasyon ve gebelik oranları ile sonuçlanmaktadır. "ICSI tekniğinde, ilk önce bir enjeksiyon pipetiyle seçilmiş tek bir sperm kuyruğuna basılarak hareket etmemesi sağlanır ve daha sonra pipete çekilir. Toplanan oositler etrafındaki kümülüs ve granüloza hücrelerinden arındırılır. Polar cisimcikleri saat 6 ve 12 hizasına gelecek şekilde sabitlenir ve saat 3 hizasından girilir. Pipet zona pellucida ve oolemmayı geçerek spermi direkt ooplasma içerisine yerleştirir" (3). ICSI'de akrozom reaksiyonuna gerek yoktur. Ooplasmanın direkt olarak yırtılması spermin hareketsizleştirilerek oositin pipete aspirasyonu ile oosit aktivasyonu sağlanır (3). ICSI'de fertilizasyon başarısını etkileyen en önemli sperm parametresi ileri hareketli sperm sayısıdır (14). 2019 yılında yapılan bir çalışmada morfolojik ve genetik olarak en iyi spermin seçilmesinin düşük oranlarını azalttığı gösterilmiştir (110). ICSI'de fertilizasyon başarısızlığını etkileyen bir diğer parametre toplanan oosit sayısı ve kalitesidir (14). Tekniğin uygulanma yöntemi ve uygulayanın tecrübesi oldukça önemlidir. Bu nedenle her merkez kendi oranlarını analiz etmelidir (111).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1 Araştırmanın Yeri ve Zamanı

Çalışma Ocak 2016 ve Aralık 2019 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim Araştırma Hastanesi Üremeye Yardımcı Tedavi Kliniği'ne infertilite tedavisi için başvurup IVF tedavisine alınan ve ICSI uygulanan (n=1846) hastalarda yapıldı. Çalışmaya dahil

edilen hastaların dosyaları ilgili üniversite etik kurulunun 17.01.2020 tarihli 01-21 sayılı izni doğrultusunda klinik veri tabanından retrospektif olarak tarandı. Değişkenler saptanarak analiz için kaydedildi.

3.2. Araştırma Evreni ve Örneklemi

Çalışmada Ocak 2016 ve Aralık 2019 tarihleri arasında Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim Araştırma Hastanesi Üremeye Yardımcı Tedavi Kliniği'nde infertilite tedavisi almış ve IVF tedavisi kapsamında ICSI uygulanmış hastaların (n=1846) dosya kayıtları veri tabanından alınarak retrospektif olarak incelendi. Başarılı fertilizasyon elde edilen grup (Grup I, n=1412) ve başarısız fertilizasyon ile sonuçlanan grup (Grup II, n=434) istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

3.3. Araştırma Tipi, Değişkenleri ve Yöntem

Çalışmamız tanımlayıcı tipte epidemiyolojik bir araştırmadır. Kadın yaşı, VKİ, 3. gün FSH seviyesi, OPU günü östradiol seviyesi, serum AMH seviyesi, antral folikül sayısı, uygulanan GnRH toplam dozu, ovulasyon indüksiyon süresi, OPU günü toplanan oosit sayısı, infertilite süresi, 2PN sayısı, infertilite etiyolojisi, sperm elde etme tekniği, spermiyogram sonuçları, kullanılan ovulasyon indüksiyon ajanı kayıt edildi.

1846 siklusun dahil edildiği çalışmamızda kontrollü ovaryan stimülasyon amacı ile GnRH agonist, GnRH antagonist, oral kontraseptif (OKS) long luteal veya mikrod doz flare protokoller uygulandı. Gonodotropin olarak recFSH ve/veya recLH kullanıldı. Gonodotropin dozu hastaya göre bireyselleştirildi. Folikül takibi ve siklus monitörizasyonu seri serum LH, E2 ve progesteron düzeyleri ölçülerek ve TVUSG ile folikül sayı ve boyutları değerlendirilerek gerçekleştirildi. Oosit toplama (OPU) üç folikülün ortalama çapı 17 mm'ye ulaştığında, subkütan rekombinant hCG (Ovitrelle, Serono, İstanbul, Türkiye) uygulamasından 36 saat sonra, TVUSG eşliğinde aspirasyon iğnesi kullanılarak yapıldı. Oositler hyalüronidaz içeren solüsyonlarda bekletilerek kümülüs ooforustan uzaklaştırıldı (Vitrolife, İsveç). Oositler ICSI işlemi uygulanıncaya kadar 37°C sıcaklıkta, %5 karbondioksitli ve %95 nemli ortamda bekletildi (G-IVF medium, Vitrolife, İsveç).

Sperm 2-7 günlük cinsel perhiz sonrası, oosit toplama günü büyük çoğunlukla ejakülatın elde edildi. Ejakülatın veya canlı spermin olmadığı durumlarda girişimsel yöntemlerle lokal anestezi altında mikrodiseksiyon epididimal sperm aspirasyonu (MESA); perkütan epididimal sperm aspirasyonu (PESA) veya testiküler sperm aspirasyonu (TESE) uygulandı. Semen sperm sayısı, hareketliliği ve morfolojisi yönünden incelendi. İncelenen sperm fertilizasyon için hazırlandı.

Tüm hastalara fertilizasyon amacı ile ICSI işlemi uygulandı. Enjeksiyon pipeti vasıtası ile seçilen tek bir sperm kuyruğundan yakalandı, hareket etmemesi sağlandı ve daha sonra pipete çekildi. Toplanan oositler etrafındaki kümülüs ve granüloza hücrelerinden arındırıldı. Polar cisimcikleri sabitlendi. Pipet ile zona pellucida ve oolemma geçilerek sperm direkt olarak ooplazma içerisine yerleştirildi. Oositler fertilizasyon varlığı açısından inseminasyondan yaklaşık 18 saat sonra pronukleus ve kutup cisimcikleri açısından incelendi. 2PN yapısı göstermeyen ve tüm oositlerde bu durumun gözlendiği sikluslar TFB (n=121) sonucu ile kayıt edildi.

Embriyo kültürü ardışık medium sistemi kullanılarak gerçekleştirildi. Embriyo gelişimi günlük olarak takip edildi. Değerlendirilme sırasında morfolojik kriterler kullanıldı [3]. Gelişim gününe uygun olarak, hücre boyutu, blastomer çekirdek yapısı ve fragmantasyon durumu değerlendirilerek kaydedildi. Fertilizasyon oluşmasına rağmen uygun kalitede embriyo elde edilemeyen ve gelişim aşamasında duraklayan sikluslar EGY (n=313) sonucu ile kayıt edildi.

EGY ve TFB sonuçları (başarısız fertilizasyon, n=434); transfere uygun kalitede embriyo elde edilen grup (başarılı fertilizasyon, n=1412) ile karşılaştırıldı.

3.4. Araştırmaya Dahil Etme ve Dışlama Kriterleri

Ocak 2016 ve Aralık 2019 tarihleri arasında IVF tedavisi kapsamında ICSI uygulanmış tüm hastalar çalışmaya dahil edildi. IVF tedavisi almış ancak oosit ya da sperm elde edilememiş hastalar dahil edilmedi. Kontrolsüz sistemik hastalığı bulunan hastamız olmadığı için bu sebeple hariç tutulan kimse olmadı.

3.5. Verilerin Analizi ve İstatistik

Çalışmanın sonunda dahil edilen tüm hastalara ait veriler SPSS versiyon 22 kullanılarak yapıldı. Devamlı verilerin dağılımı Kolmogorov-Smirnov normallik testi kullanılarak belirlendi. Devamlı veriler normal dağılım göstermediği için median, minimum ve maksimum değerleri tanımlayıcı istatistik ile hesaplandı. Non parametrik dağılım gösteren devamlı verilerin iki grup arasındaki karşılaştırmalar için Mann-Whitney U test, üç grup arasındaki karşılaştırmaları için Kruskal Wallis testi kullanıldı. Gruplar arası kategorik değişkenler Ki-Kare ve Fisher exact testi kullanıldı. Üçlü karşılaştırmalarda anlamlı farklılık saptanan verilerin ikili karşılaştırmalarında Bonferroni düzeltmesi ile Mann-Whitney U testi kullanıldı. Değişkenler arası korelasyonlarda Spearman korelasyon analizi kullanıldı. Fertilizasyon başarısını öngören faktörlerin değerlendirilmesinde univariate ve multivariate regresyon analizi kullanıldı. Prognostik faktörlere ait optimal cut off, sensitivite ve spesifite değerleri ROC analizi kullanılarak hesaplandı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tüp Bebek Merkezine 2016 Ocak ile 2019 Aralık ayları arasında toplam 2025 hasta kabul edilmiştir. Bu hastalardan 1846'sına ICSI uygulanmıştır ve hasta popülasyonumuzu oluşturmaktadır. ICSI uygulanan hastalara baktığımızda hastaların hiçbirinde kontrolsüz dahili hastalık mevcut değildi.

Fertilizasyonu başarılı olan ve transfere uygun kalitede embriyo elde edilen siklus oranı %76,5 (1412/1846) olarak saptandı. Toplam fertilizasyon başarısızlığı %6,6 (121/1846) ve embriyo gelişim yetersizliği %16,9 (313/1846) oranında tespit edildi.

Dahil edilen tüm kadın hastaların median yaşı 32 (18-47), VKİ 25,8 (15-45), üçüncü gün FSH seviyesi 7,95 (0,5-62) mU/mL, OPU günü östradiol seviyesi 1108 (60-7760) pg/mL, AMH seviyesi 1,46 (0,01-76) ng/mL, OPU günü toplanan oosit

sayısı 8 (1-43) ve antral folikül sayısı 8 (0-30) olarak saptandı. Tüm çalışma grubunun bazal klinik ve biyokimyasal özellikleri Tablo 3'te gösterilmiştir.

Tablo 3. Tüm çalışma grubuna dahil edilen kadınlara ait bazal klinik ve biyokimyasal parametreler

	Median	Min-Max
Yaş	32	18-47
Gravide	0	0-7
Yaşayan	0	0-4
Abortus	0	0-6
Vücut kitle indeksi, kg/m²	25,8	15-45
FSH, mU/mL	7,95	0,5-62
E2, pg/mL	46	11-596
OPU E2, pg/mL	1108	60-7760
AMH, ng/mL	1,46	0,01-76
Toplanan Oosit Sayısı	8	1-43
OPU'da elde edilen M2 oosit sayısı	7	0-32
Antral Folikül Sayısı	8	0-30

FSH: folikül stimüle edici hormon, E2: östradiol, OPU: oosit pick up, AMH: anti-müllerian hormon

Dahil edilen hastaların infertilite etiyolojisine göre dağılımına baktığımızda; olguların %29,2'sinde ovulatuvar disfonksiyon, %24,3'ünde erkek faktörü, %12,6'sında açıklanamayan infertilite, %12,2'sinde DOR (azalmış over rezervi) ve %7,6'sında endometriozis mevcuttu. Tüm çalışma grubunun infertilite etiyolojisine göre dağılımı Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. Tüm çalışma grubunun infertilite tiplerine göre dağılımı

	Hasta sayısı (n)	Yüzdesi (%)
Açıklanamayan	231	12,6
Erkek Faktörü	449	24,3
DOR	226	12,2
Endometriozis	140	7,6
Ovulatuvar Disfonksiyon	540	29,2
Tubal Faktör	260	14,1
Toplam	1846	100

DOR: azalmış over rezervi

Çalışmaya dahil edilen erkeklerin median yaşı 34 (20-67), toplam hareketli sperm oranı %75 (0-100), toplam ileri hareketli sperm sayısı 12,000 (0-239,000), toplam sperm sayısı 41 milyon (0-235) ve Kruger oranı %8 (0-37) olarak saptandı. Dahil edilen erkeklere ait bazal semen parametreleri Tablo 5’te özetlenmiştir.

Tablo 5. Dahil edilen erkeklere ait bazal semen parametreleri

	Median	Min-Max
Erkek Yaşı	34	20-67
Motilite (%A + B)	75	0-100
İleri hareketli sperm sayısı	12000	0- 239000
Toplam sperm sayısı (milyon)	41	0-235
Kruger oranı (%)	8	0-37

Hastaların uygulanan tedavi protokollerine göre dağılımına baktığımızda; en fazla %59,3 (n=1032) ile antagonist protokol uygulanmış iken, ikinci sırada ise %32,2 (n=560) ile OKS+ long luteal protokolü uygulanmıştı. GnRH protokollerine göre hastaların dağılımı Tablo 6’da özetlenmiştir.

Tablo 6. Hastaların uygulanan tedavi protokollerine göre dağılımı

	Hasta Sayısı (n)	Yüzdesi (%)
OKS+ long luteal	560	32,2
Antagonist	1032	59,3
Luteal E2+Antagonist	136	7,8
Letrozol-antagonist	10	0,5
Luteal	1	0,1
E2+Letrozol+Antagonist	1	0,1
Toplam	1739	100

OKS: oral kontraseptif, E2: östradiol

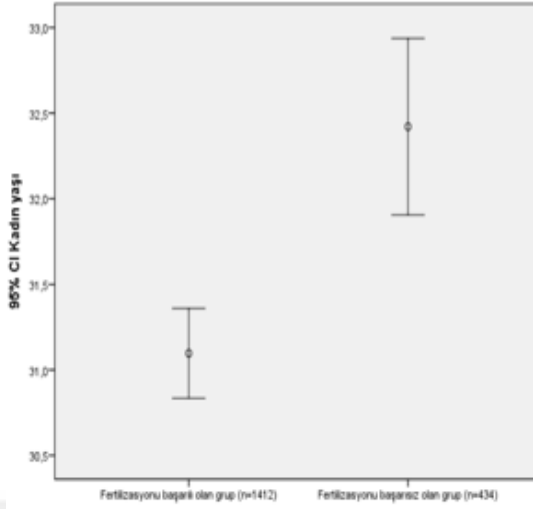
Başarılı fertilizasyon elde edilen grup (Grup I) ile başarısız fertilizasyonla sonuçlanan grubun (Grup II) karşılaştırılmasında VKİ, 3. gün E2 seviyesi, ovulasyon indüksiyon süresi ve infertilite süresi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). İki grup arasında yaş [(31 (19-46) vs 33 (18-47), $p<0.001$, sırasıyla], 3. gün FSH seviyesi [(7,69 (0,48-62) vs 9,2 (0,71-42), $p<0.001$, sırasıyla], OPU günü östradiol seviyesi [1310 (97-7731) vs 785 (58-5959), $p<0.001$, sırasıyla], serum AMH seviyesi [1,81 (0,01-33) vs 0,7 (0,01-74), $p<0.001$, sırasıyla], antral folikül sayısı [10 (0-30) vs 6 (0-30), $p<0.001$, sırasıyla], OPU günü toplanan oosit sayısı [10 (1-144) vs 5 (1-31), $p<0.001$, sırasıyla] ve 2PN sayısı [4 (1-28) vs 1 (0-16), $p<0.001$, sırasıyla] açısından ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Fertilizasyon başarısına göre iki grubun karşılaştırılması Tablo 7’de özetlenmiştir. Şekil I’ de fertilizasyonu başarılı olan grup ile başarısız olan grubun yukarıdaki parametreler için karşılaştırmaları tablolar halinde detaylı olarak gösterilmiştir.

Tablo 7. Dahil edilen olguların fertilizasyon başarısına göre karşılaştırılması

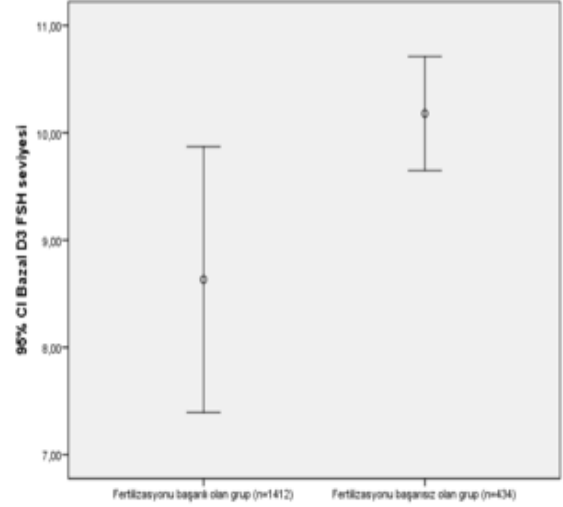
	Başarılı fertilizasyon n:1412	Başarısız fertilizasyon n:434	p
Kadın yaşı, yıl	31 (19-46)	33 (18-47)	<0.001
VKİ, kg/m²	25,6 (15,7-44,8)	26 (17-45,4)	0,265
FSH, mIU/mL	7,69 (0,48-62)	9,2 (0,71-42)	<0.001
Estradiol, pg/mL	47,9 (11,8-482)	44 (11,6-596)	0,874
OPU günü	1310 (97-7731)	785 (58-5959)	<0.001
östradiol seviyesi, pg/mL			
AMH, ng/mL	1,81 (0,01-33)	0,7 (0,01-74)	<0.001
Antral Folikül Sayısı	10 (0-30)	6 (0-30)	<0.001
Uygulanan gonodotropin toplam dozu	2025 (675-7800)	2400 (688-5550)	<0.001
Ovulasyon	10 (6-17)	10 (5-15)	0,062
İndüksiyon süresi, gün			
OPU günü	10 (1-144)	5 (1-31)	<0.001
toplanan oosit sayısı			
OPU’da elde edilen M2 oosit sayısı	8 (1-32)	3 (0-26)	<0.001
İnfertilite süresi, ay	54 (1-288)	57 (2-276)	0,642
2PN sayısı	4 (1-28)	1 (0-16)	<0.001

VKİ: vücut kitle indeksi, FSH: folikül stimüle edici hormon, OPU: oocyte pick up, AMH: anti-müllerian hormon

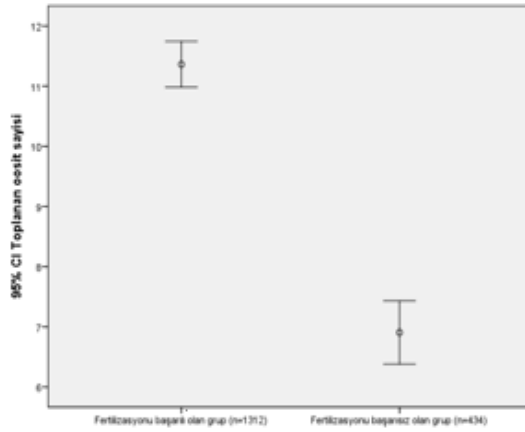
Şekil I. Fertilizasyon başarısına göre kadın yaşlarının karşılaştırılması ($p<0,001$)



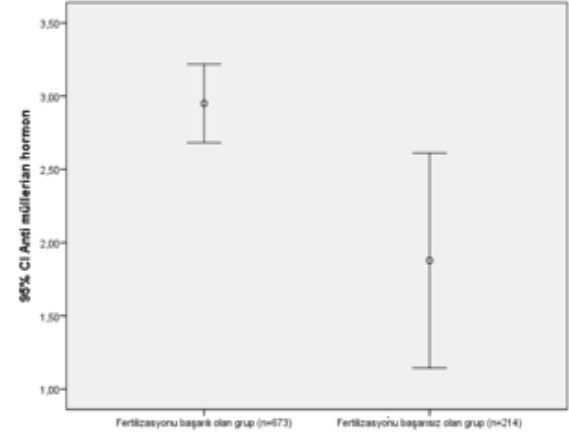
Şekil II. Fertilizasyon başarısına göre 3. gün bazal FSH seviyelerinin karşılaştırılması ($p<0,001$)



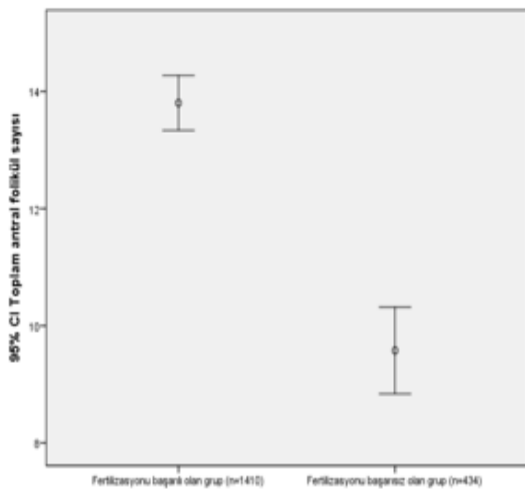
Şekil III. Fertilizasyon başarısına göre OPU'da toplanan oosit sayılarının karşılaştırılması ($p<0,001$)



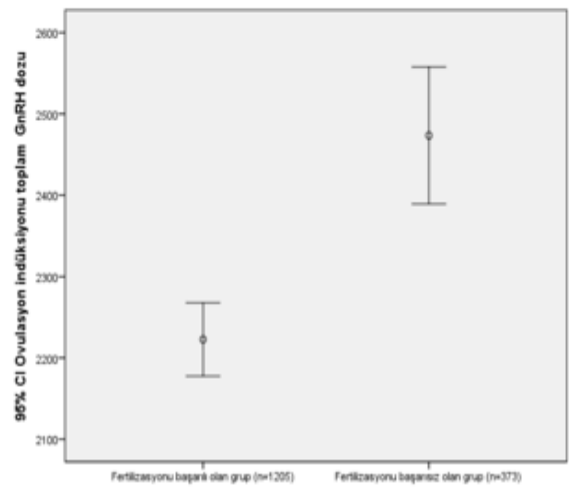
Şekil IV. Fertilizasyon başarısına göre serum AMH seviyelerinin karşılaştırılması ($p<0,001$)



Şekil V. Fertilizasyon başarısına göre antral folikül sayılarının karşılaştırılması ($p<0,001$)



Şekil VI. Fertilizasyon başarısına göre ovulasyon indüksiyonunda kullanılan toplam GnRH dozunun karşılaştırılması ($p<0,001$)



Şekil 1. Fertilizasyon başarısına göre parametrelerinin dağılımı

İnfertilite etiyolojisine göre olgular alt gruplara ayrıldığında ovulatuvar disfonksiyonu olan olguların %97,5'inde, erkek faktörü olan olguların %92,6'sında, açıklanamayan infertilitesi olan olguların %85'inde, DOR olgularının %59,2'sinde fertilizasyon başarılı iken; endometriozisli olguların %32,1'inde ve tubal faktör olan olguların sadece %35,3'ünde fertilizasyon başarılı idi. İnfertilite etiyolojisine göre karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,001$). İnfertilite etiyolojisine göre fertilizasyon oranları Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8. infertilite etiyolojisine göre fertilizasyon başarısının karşılaştırılması

	Başarılı fertilizasyon n:1412	Başarısız fertilizasyon n:434	p
Açıklanamayan	%85 (198/231)	%15 (33/231)	<0,001
Erkek faktörü	%92,6 (416/449)	%7,1 (33/449)	
DOR	%59,2 (134/226)	%40,8 (92/226)	
Endometriozis	%32,1 (45/140)	%67,9 (95/140)	
Ovulatuvar disfonksiyon	%97,5 (527/540)	%2,5 (13/540)	
Tubal faktör	%35,3 (92/260)	%64,7 (168/260)	
Toplam	1412	434	

DOR: azalmış over rezervi

Uygulanan tedavi protokollerine göre gruplar karşılaştırıldığında fertilizasyon başarısı antagonist protokol uygulananlarda %76,7, OKS+ long luteal uygulananlarda %75,3 olarak tespit edilir iken; letrozol+ antagonist kullanılanlarda %40, luteal E2+ antagonist kullananlarda ise %36,1 olarak saptandı. Tedavi protokollerine göre karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0.001$, Tablo 9).

Tablo 9. Uygulanan tedavi protokolüne göre fertilizasyon başarısının karşılaştırılması

	Başarılı fertilizasyon n:1305	Başarısız fertilizasyon n:433	p
OKS+ long luteal	%75,3 (422/560)	%24,7 (138/560)	<0,001
Antagonist	%76,7 (792/1032)	%23,3 (240/1032)	
Luteal E2+Antagonist	%63,9 (87/136)	%36,1 (49/136)	
Letrozol+antagonist	%40 (4/10)	%60 (6/10)	
Toplam	1305	433	

OKS: oral kontraseptif, E2: östradiol

Dahil edilen hastaları sperm elde etme tekniklerine göre gruplandırdığımızda spermin en fazla ejakülattan elde edildiği (1604/1746), ikinci sırada TESE işleminin uygulandığı (132/1746) görüldü. Fertilizasyon başarısı ejakülattan elde edilen spermelerde %75,4 (1211/1604), TESE uygulananlarda %70,4 (93/132), diğer tekniklerin tercih edildiği grupta (MESA, PESA vs.) ise %80 (8/10) olarak saptandı. Sperm elde etme yöntemine göre karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamı fark saptanmadı (p=0,771, Tablo 10).

Tablo 10. Sperm elde etme tekniklerinin fertilizasyon başarısına etkisi

	Başarılı fertilizasyon n:1312	Başarısız fertilizasyon n:434	p
Ejakulat	%75,4 (1211/1604)	%24,6 (393/1604)	0,771
TESE	%70,4 (93/132)	%29,6 (39/132)	
Diğer	%80 (8/10)	%20 (2/10)	
Toplam	1312	434	

TESE: testiküler sperm ekstraksiyonu

Grup I ile grup II karşılaştırıldığında toplam sperm sayısı, motilite oranı [% (A+B)], toplam ileri hareketli sperm sayısı, Kruger oranı (%) açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). İki grup arasında sadece erkek yaşı [33 (20-55) vs 34 (22-67), $p<0,01$, sırasıyla] açısından istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edildi. Semen parametrelerine göre karşılaştırma Tablo 11’de özetlenmiştir.

Tablo 11. Dahil edilen erkeklere ait semen parametrelerinin fertilizasyon başarısına etkisinin karşılaştırılması

	Başarılı fertilizasyon n:1412	Başarısız fertilizasyon n:434	p
Yaş, yıl	33 (20-55)	34 (22-67)	0,01
Toplam sperm Sayısı, milyon	44 (0-235)	35 (0-232)	0,225
Motilite (%) (A+B)	75 (0-100)	71 (0-100)	0,123
Toplam ileri hareketli sperm sayısı	13100 (0-239,000)	11000 (0-216,000)	0,309
Kruger oranı (%)	8 (0-35)	7 (0-37)	0,199

Tüm erkek popülasyonuna baktığımızda en sık normal değerlerde spermiogram sonucunun olduğu görüldü (1165/1844). İkinci sırada oligospermi (437/1844) ile karşılaşıldı. Spermiogram sonuçlarına göre gruplar kıyaslandığında ise gruplar arasında fertilizasyon başarısı açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,870$). Spermiogram sonuçlarına göre karşılaştırma Tablo 12’de özetlenmiştir.

Tablo 12. Spermiogram sonuçlarının fertilizasyon başarısına etkisinin araştırılması

	Başarılı fertilizasyon n:1410	Başarısız fertilizasyon n:434	p
Normal	%76,5 (892/1165)	%23,5 (273/1165)	0,870
Oligospermi	%77,3 (338/437)	%22,7 (99/437)	
Azospermi	%72,1 (122/169)	%27,9 (47/169)	
Kriptozospermi	%77,4 (48/62)	%22,6 (14/62)	
Diğer	%90,9 (10/11)	%9,1 (1/11)	
Total	1410	434	

Dahil edilen olguların %64,6'sı (1194/1846) primer infertil iken, %35,4'ü (652/1846) sekonder infertil idi. Primer ve sekonder infertil olguların fertilizasyon başarısı açısından karşılaştırılmasında ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı [%75,1 vs %78,9, p=0,065, sırasıyla, Tablo 13].

Tablo 13. Primer infertilite ve sekonder infertilitenin fertilizasyon başarısına etkisi

	Başarılı fertilizasyon n:1412	Başarısız fertilizasyon n:434	p
Primer infertilite	%75,1 (898/1194)	%24,9 (296/1194)	0,065
Sekonder infertilite	%78,9 (514/652)	%21,1 (138/652)	
Toplam	1412	434	

Ovulasyon indüksiyonunda kullanılan ilaçlara göre alt gruplara ayırdığımızda fertilizasyon başarı oranı en yüksek recFSH+ HMG kullanılanlarda %91 (673/946), daha sonra tek başına recFSH kullanılanlarda %84,5 (530/627) olarak tespit edilir iken; yalnız HMG kullanılanlarda %63 (106/168), recFSH+ recLH kullanılanlarda %71,4

(5/7) olarak saptandı. Ovulasyon indüksiyon akanlarına göre karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,001$, Tablo 14).

Tablo 14. Ovulasyon indüksiyonunda kullanılan ilaçların fertilizasyon başarısına etkisi

	Başarılı fertilizasyon n:1314	Başarısız Fertilizasyon n:434	p
RecFSH+ HMG	%91 (673/946)	%9 (273/946)	<0,001
RecFSH	%84,5 (530/627)	%15,5 (97/627)	
HMG	%63 (106/168)	%37 (62/168)	
RecFSH+ RecLH	%71,4 (5/7)	%28,6 (2/7)	
Toplam	1314	434	

RecFSH: rekombinant folikül stimüle edici hormon, RecLH: rekombinant lüteinleştirici hormon,
HMG: insan menopozal gonodotropin

Yapılan korelasyon analizinde serum AMH düzeyi, kadın yaşı ($r=-0,375$, $p<0,001$), toplam AFC ($r=0,760$, $p<0,001$), OPU günü östradiol seviyesi ($r=0,643$, $p<0,001$), toplanan oosit sayısı ($r=0,701$, $p<0,001$), M2 oosit sayısı ($r=0,667$, $p<0,001$) ve bazal D3 FSH seviyesi ($r=-0,409$, $p<0,001$) ile anlamlı olarak ilişkili idi. Kadın yaşı, antral folikül sayısı ($r=-0,407$, $p<0,001$), OPU günü östradiol seviyesi ($r=-0,294$, $p<0,001$), toplanan oosit sayısı ($r=-0,366$, $p<0,001$), bazal D3 FSH seviyesi ($r=0,216$, $p<0,001$) ve M2 oosit sayısı ($r=-0,317$, $p<0,001$) ile anlamlı olarak ilişkili idi. Toplam antral folikül sayısı, OPU günü östradiol seviyesi ($r=0,555$, $p<0,001$), toplanan oosit sayısı ($r=0,613$, $p<0,001$), bazal D3 FSH seviyesi ($r=-0,409$, $p<0,001$) ve M2 oosit sayısı ($r=0,564$, $p<0,001$) ile anlamlı olarak ilişkili idi. OPU günü östradiol seviyesi, toplanan oosit sayısı ($r=0,767$, $p<0,001$), bazal D3 FSH seviyesi ($r=-0,433$, $p<0,001$) ve M2 sayısı ($r=0,712$, $p<0,001$) ile anlamlı olarak ilişkili idi. Toplanan oosit sayısı, bazal D3 FSH seviyesi ($r=-0,421$, $p<0,001$) ve M2 sayısı ($r=0,900$, $p<0,001$) ile anlamlı olarak ilişkili idi. Bazal serum FSH seviyesi ise M2 oosit sayısı ($r=-0,395$, $p<0,001$) ile anlamlı olarak ilişkili idi. Korelasyon analizi Tablo 15’te özetlenmiştir.

Tablo 15. Değişkenler arası korelasyonlar

Korelasyon								
		AMH	Kadın Yaşı	Toplam AF sayısı	OPU Günü E2	Toplanan Oosit Sayısı	Bazal D3 FSH	OPU'da elde edilen M2 oosit sayısı
AMH	r	1,000	-0,375**	0,760**	0,643**	0,701**	-0,409**	,667**
	p		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Kadın yaşı, yıl	r	-0,375**	1,000	-0,407**	-0,294**	-0,366**	0,216**	-,317**
	p	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000	0,000
Toplam antral folikül sayısı	r	,0760**	-0,407**	1,000	0,555**	0,613**	-0,409**	,564**
	p	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000	0,000
OPU Günü östradiol seviyesi, pg/ml	r	0,643**	-0,294**	0,555**	1,000	0,767**	-0,433**	,712**
	p	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000	0,000
Toplanan Oosit Sayısı	r	0,701**	-0,366**	0,613**	0,767**	1,000	-0,421**	,900**
	p	0,000	0,000	0,000	0,000		0,000	0,000
3. gün FSH seviyesi, mIU/mL	r	-0,409**	0,216**	-0,409**	-0,433**	-0,421**	1,000	-,395**
	p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000		0,000
OPU'da elde edilen M2 oosit sayısı	r	0,667*	-,317**	,564**	,712**	,900**	-,395**	1,000
	p	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	

AMH: anti-müllerian hormon, OPU: oosit pick up, FSH: folikül stimüle edici hormon, AF: antral folikül, E2: östradiol

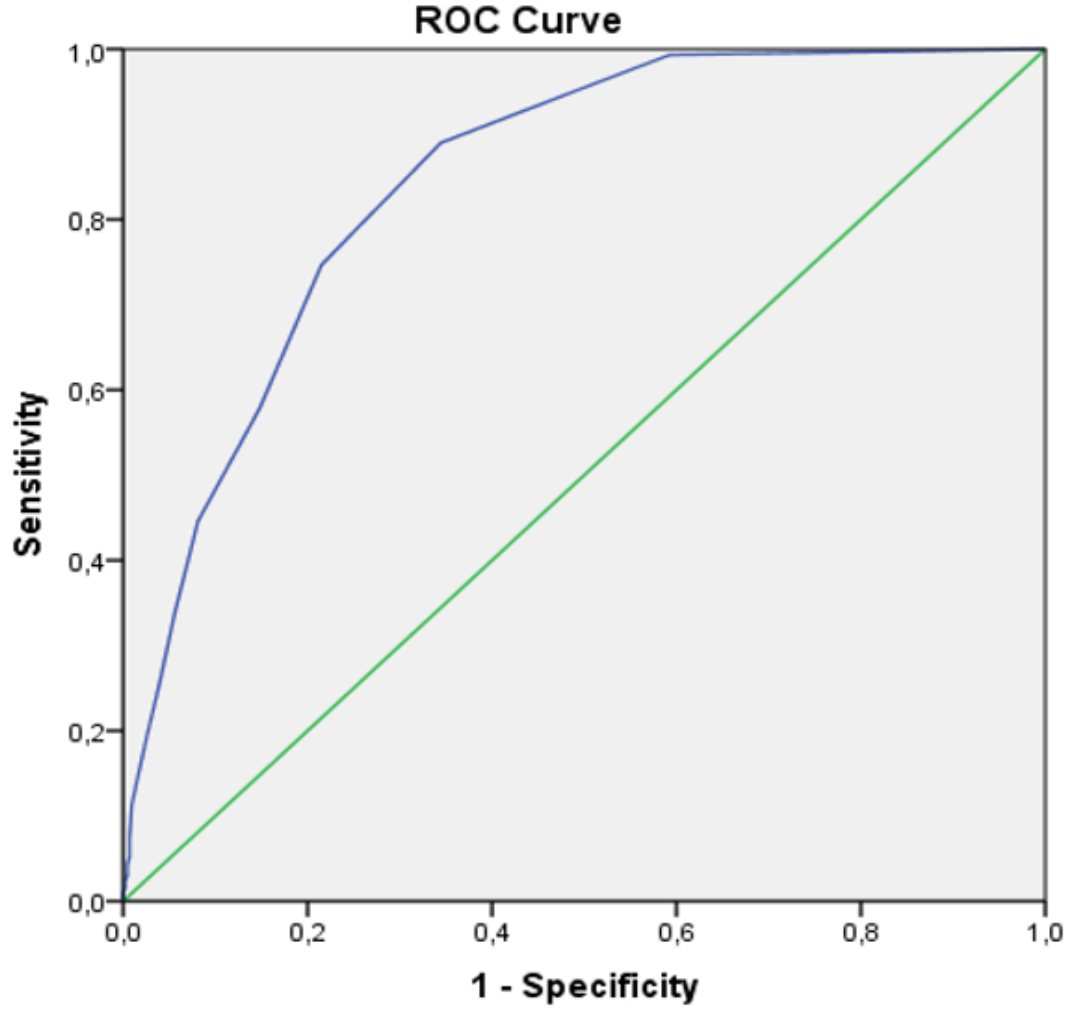
Fertilizasyon başarısını etkileyebilecek faktörler üzerinde oluşturulan univariate regresyon modelinde kadın yaşı, serum AMH düzeyi, 3. gün FSH seviyesi, OPU günü östradiol seviyesi, antral folikül sayısı, toplanan oosit sayısı ve 2PN sayısı başarılı fertilizasyon ile anlamlı olarak ilişkili idi ($p < 0,05$). Ancak bu faktörlerin multivariate lojistik regresyon analizinde sadece 2PN sayısı başarılı fertilizasyon için bağımsız prognostik faktör olarak saptandı [OR=12,016 (7,529-19,176), $p < 0,001$]. Univariate ve multivariate analiz Tablo 16'da gösterilmiştir.

Tablo 16. Univariate ve Multivariate regresyon analizi

	Univariate Analiz		Multivariate Analiz			
	Olgular	p	Odds ratio	95% C.I.for EXP(B)		p
				Lower	Upper	
Kadın yaşı, yıl						
<32	773/956	<0,001	0,927	0,625	1,376	0,706
≥32	638/886					
AMH, ng/mL						
<1,46	296/440	<0.001	1,068	0,647	1,763	0,796
≥1,46	378/447					
3. gün FSH seviyesi, mIU/mL						
<7,95	862/1040	<0.001	0,878	0,592	1,303	0,52
≥7,95	545/801					
OPU günü östradiol seviyesi, pg/mL						
<1108	549/837	<0.001	0,851	0,504	1,439	0,548
≥1108	756/898					
Antral folikül sayısı						
<8	423/652	<0.001	0,915	0,572	1,465	0,712
≥8	988/1193					
Toplanan oosit sayısı						
<8	428/711	<0.001	1,356	0,788	2,332	0,272
≥8	885/1036					
2PN sayısı						
<3	332/671	<0.001	12,016	7,529	19,176	<0.001
≥3	980/1073					

AMH: anti-müllerian hormon, FSH: folikül stimüle edici hormon, OPU: oosit pick up

Yapılan ROC analizinde 2PN sayısı fertilizasyon başarısını anlamlı olarak öngörmekte idi. Optimal cut off %75 sensitivite, %78 spesifite ile 2,5 olarak hesaplandı (AUC: 0.845, $p<0.001$, Şekil 2).



Şekil 2. 2PN sayısının fertilizasyon başarısı öngörüsü açısından ROC analizi

TFB, EGY ve başarılı fertilizasyon grupları kendi aralarında ve üçlü olarak karşılaştırıldığında; kadın yaşı [35 (24-47) vs 33 (18-46) vs 31 (19-46), $p<0,001$, sırasıyla], OPU günü östradiol seviyesi [589,8 (69,1-5256,5) vs 821,5 (58,3-5852,9) vs 1310,3 (97,3-7731,9), $p<0,001$, sırasıyla], antral folikül sayısı [5 (0-30) vs 7 (0-30) vs 10 (0-30), $p<0,001$, sırasıyla], OPU günü toplanan oosit sayısı [4 (1-29) vs 5 (1-31) vs 10 (1-43), $p<0,001$, sırasıyla], OPU’da elde edilen M2 oosit sayısı [2 (0-20) vs 4 (0-26) vs 8 (1-32), $p<0,001$, sırasıyla] ve 2PN sayısı [0 vs 1 (0-16) vs 4 (0-28), $p<0,001$, sırasıyla] açısından baktığımızda her üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut idi ($p<0,001$).

Serum AHM düzeyi TFB ve EGY grupları arasında benzer iken, fertilizasyonu başarılı olan grupta diğer iki gruba göre anlamlı olarak daha yüksek idi [0,63 (0,1-13) vs 0,7 (0,1-74) vs 1,75 (0,1-33), $p<0,001$, sırasıyla]. 3. gün serum FSH seviyesi TFB ve EGY grubunda benzer iken fertilizasyonu başarılı grupta ise anlamlı olarak düşük saptandı [10,7 (2,48-22,92) vs 8,9 (0,7-42) vs 7,7 (0,42-62), $p<0,001$, sırasıyla]. Uygulanan gonodotropin toplam dozu karşılaştırıldığında TFB ve EGY gruplarında benzer iken, başarılı fertilizasyonda anlamlı şekilde düşük saptandı [2400 (1100-5250) vs 2250 (688-5550) vs 2025 (800-5250), $p<0,001$, sırasıyla]. Her üç grup arasında vücut kitle indeksi, 3. gün östradiol seviyesi, ovulasyon indüksiyon süresi ve infertilite süresi açısından ise istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). Tablo 17’de üç grubun kendi aralarında ve üçlü olarak karşılaştırılması özetlendi. Şekil 3’te yukarıda bahsedilen parametreler için TFB, EGY ve fertilizasyonu başarılı olan grupların dağılım grafikleri detaylı olarak gösterildi.

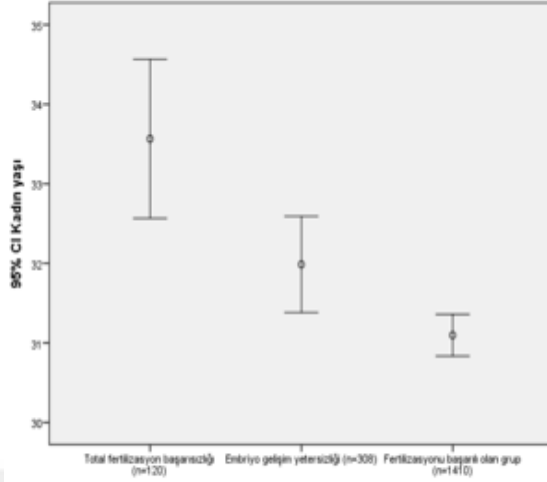
Tablo 17. Dahil edilen olguların fertilizasyon başarısına göre TFB, EGY ve başarılı fertilizasyon olarak karşılaştırılması

	TFB n= 121	EGY n= 313	Başarılı Fertilizasyon n= 1412	p
Kadın yaşı, yıl	35 (24-47) ^a	33 (18-46) ^b	31 (19-46) ^c	<0,001
VKİ, kg/m²	26,9 (17-45)	25,75 (17-43)	25,8 (15,7-44,8)	0,153
FSH, mIU/mL	10,7 (2,48-22,92) ^a	8,9 (0,7-42) ^a	7,7 (0,42-62) ^b	<0,001
Estradiol, pg/mL	43 (11,8-178)	45,1 (15-496)	47,5 (11,8-492)	0,983
OPU günü	589,8 (69,1-5256,5) ^a	821,5 (58,3-5852,9) ^b	1310,3 (97,3-7731,9) ^c	<0,001
östradiol seviyesi, pg/mL				
AMH, ng/mL	0,63 (0,1-13) ^a	0,7 (0,1-74) ^a	1,75 (0,1-33) ^b	<0,001
Antral Folikül Sayısı	5 (0-30) ^a	7 (0-30) ^b	10 (0-30) ^c	<0,001
Uygulanan gonodotropin toplam dozu	2400 (1100-5250) ^a	2250 (688-5550) ^a	2025 (800-5250) ^b	<0,001
Ovulasyon İndüksiyon süresi, gün	10 (6-15)	10 (6-15)	10 (6-16)	0,222
OPU günü	4 (1-29) ^a	5 (1-31) ^b	10 (1-43) ^c	<0,001
toplanan oosit sayısı				
OPU’da elde edilen M2 oosit sayısı	2 (0-20) ^a	4 (0-26) ^b	8 (1-32) ^c	<0,001
İnfertilite süresi, ay	48 (7-228)	60 (2-276)	48 (1-264)	0,881
2PN sayısı	-	1 (0-16) ^a	4 (0-28) ^b	<0,001

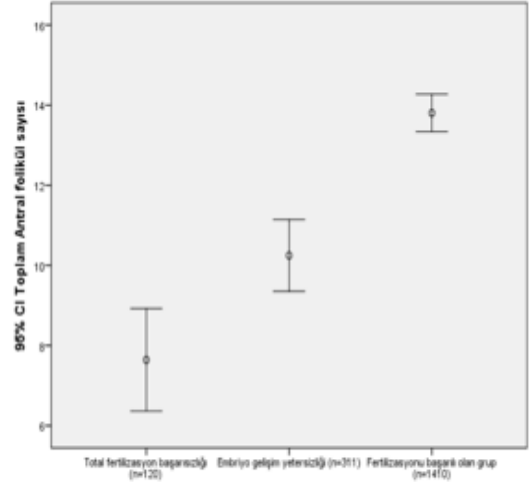
VKİ: vücut kitle indeksi, FSH: folikül stimüle edici hormon, AMH: anti-müllerian hormon, OPU: oosit pick up

a,b,c; farklı harflerle gösterilen gruplar kendi aralarında istatistiksel olarak farklıdır

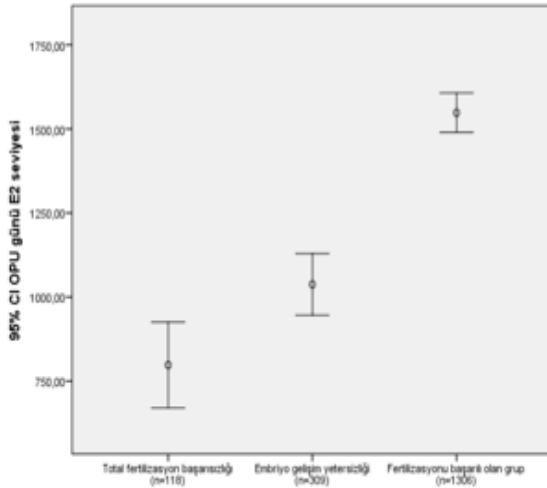
Şekil VII. Fertilizasyon durumuna göre üçlü grup halinde karşılaştırıldığında kadın yaşının karşılaştırılması ($p<0,001$)



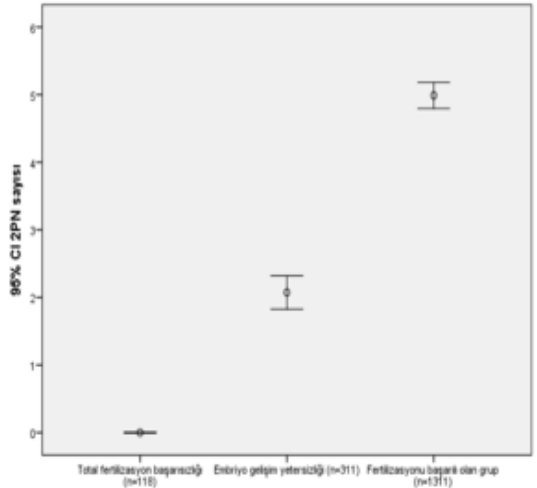
Şekil VIII. Fertilizasyon durumuna göre üçlü grup halinde karşılaştırıldığında toplam antral folikül sayısına göre karşılaştırılması ($p<0,001$)



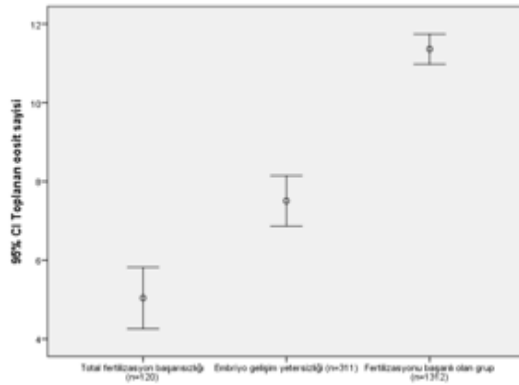
Şekil IX. Fertilizasyon durumuna göre üçlü grup halinde karşılaştırıldığında OPU günü östradiol seviyesinin karşılaştırılması ($p<0,001$)



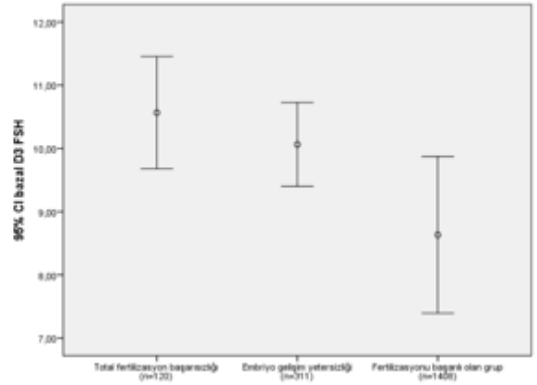
Şekil X. Fertilizasyon durumuna göre üçlü grup halinde karşılaştırıldığında 2PN hücre sayısının karşılaştırılması ($p<0,001$)



Şekil XI. Fertilizasyon durumuna göre üçlü grup halinde karşılaştırıldığında OPU'da toplanan oosit sayılarının karşılaştırılması ($p<0,001$)



Şekil XII. Fertilizasyon durumuna göre üçlü grup halinde karşılaştırıldığında 3. gün bazal FSH seviyelerinin karşılaştırılması ($p<0,001$)



Şekil 3. TFB, EGY ve başarılı fertilizasyon olgularının dağılımı

5. TARTIŞMA

ICSI uygulanan olgularda fertilizasyon başarısızlığı ve embriyo gelişim yetersizliği halen hem klinisyen hem de hasta için önemli bir stres faktörü olarak karşımıza çıkmaktadır. IVF tedavisinin getirdiği hem maddi hem de manevi yükleri göz önüne aldığımızda siklus başına başarı oranımızı maksimize etmek önem arz eder. ICSI uygulanmaya başladıktan sonra konvansiyonel IVF tekniğine göre fertilizasyon başarısızlığı oranı önemli ölçüde azalma göstermiştir. Liu J. ve arkadaşları tarafından 1994 yılında 2732 siklus dahil edilerek yapılan çalışmada TFB oranı %3 olarak saptanmıştır (14). Yanagida K. tarafından yapılan bir çalışmada TFB oranı % 5,6 olarak tespit edilmiştir (112). Shinar ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada ise TFB oranı %4,3 olarak saptanmıştır (113). Bununla birlikte ICSI uygulanan hastalarda EGY oranı, Betts ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada %15 oranında rapor edilmiştir (106). Shu-Tao ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise EGY %15,6 oranında saptanmıştır (114). Bizim çalışmamızda da tüm ICSI olgularında TFB %6,6 ve EGY %16,9 oranında, literatürle benzer oranlarda meydana gelmiştir.

Fertilizasyon başarısını arttırmak için birçok yeni çalışma yapılmakta ve birçok yeni yöntem denenmektedir. Daha önce yapılan çalışmalara baktığımızda fertilizasyon başarısızlığının esas nedeni olarak ciddi erkek faktörü düşünülmektedir. Liu J. ve arkadaşları fertilizasyon başarısızlığı nedenlerini genel olarak bozulmuş semen parametreleri, bozulmuş sperm morfolojileri ile düşük oosit sayısı ve kalitesi olan sikluslar olarak tariflemişlerdir (14). Gabrielsen ve arkadaşları tarafından 258 hasta dahil edilerek yapılan bir çalışmada oosit defektleri nedeniyle fertilizasyon başarısızlığı olabileceği bildirilmiştir (115). Literatürde infertilite etiyolojisinin fertilizasyon başarısı üzerine etkisini konu alan birçok çalışma yapılmıştır. Önceleri erkek infertilitesi esas neden olarak gösterilirken son zamanlarda moleküler düzeyde araştırmaların yoğunlaşmasıyla çalışmalar açıklanamayan infertilite üzerine kaymıştır. Liu ve arkadaşları tarafından 2016 yılında yapılan bir çalışmada infertilite etiyolojisine göre hastalar karşılaştırıldığında embriyo gelişim duraklaması en fazla açıklanamayan infertilite olan grupta saptanmıştır (116). Shinar ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise erkek faktörüne bağlı infertilitede TFB oranı daha yüksek saptanmıştır

(113). Biz de çalışmamızda infertilite etiyolojisine göre hastaları karşılaştırdığımızda fertilizasyon başarısı açısından anlamlı fark saptadık ($p<0,001$). En yüksek fertilizasyon başarısını ovulatuar disfonksiyonu olan grupta izledik %97,5 (527/540). Fertilizasyon başarısı en düşük grup ise endometriozisin eşlik ettiği grup olarak saptandı %32,1 (45/140). Bulgularımıza baktığımızda infertilite etiyolojilerinin iç içe geçmesi ve birden fazla hastalığı olan olguların varlığı nedeni ile sonuçlar kısıtlı bilgi sağlamaktadır. Çalışmamızda infertilite etiyolojisi ile birlikte infertilite süresini de karşılaştırdığımızda gruplar arasında fark saptanmadı ($p=0,642$). Literatürde Liu L. ve arkadaşları; çalışmamızla benzer şekilde embriyo gelişim duraklaması olanlar ile infertilite süresi açısından fark saptamamıştır (116). Yine benzer şekilde Sarıkaya ve arkadaşları infertilite süresi açısından fark tespit etmemişlerdir (15).

ICSI sırasında uygun olmayan teknik kullanımı veya uygulayıcının tecrübesizliği sonucu fertilizasyon başarısızlığı gelişebilmektedir. Örneğin uygun olmayan pipet seçilmesi, pipete fazladan sperm yapışması veya aşırı ooplazma aspirasyonu gibi sebeplerle fertilizasyon başarısızlığı veya anomali oluşabilir. Vanderzwalmen ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada uygulayıcı kaynaklı oluşan bir durum olan immobilizasyonu tam olarak sağlanmamış spermin enjekte edilmesinin fertilizasyon başarısını azalttığı gösterilmiştir (117). Fertilizasyon başarısızlığını öngörmek için yapılan bir çalışmada Shen ve arkadaşları sperm hareketliliği ve ICSI uygulayıcısını en önemli iki prediktif faktör olarak tespit etmiştir. Yine bu çalışmada fertilizasyonun ilk göstergelerinden olan 2PN sayısı için ICSI operatörü bağımsız risk faktörü olarak saptanmıştır (118). Çalışmamız süresince ICSI uygulayıcımızın aynı olması nedeniyle uygulayıcının fertilizasyon başarısına etkisini çalışmamız tam olarak açıklayamamaktadır.

ICSI'nin temel prensibi erkek faktörüne bağlı nedenleri minimize etmektir. Fertilizasyon başarısızlığının en önemli prediktif faktörlerinden birinin sperm morfolojisi olduğu düşünülmekte iken 2011 yılında yapılan bir çalışmada Sarıkaya ve arkadaşları semen parametrelerinden Kruger oranı ve ileri hareketli sperm sayısını TFB olan grup ile fertilizasyonu başarılı olan grupta benzer saptamışlardır (15). Bir başka çalışmada Svalander ve arkadaşları sperm morfolojisinin fertilizasyon başarısızlığı ile ilişkili olmadığını bildirmiştir (119). Liu ve arkadaşları tarafından

1900 hasta ve 2732 ICSI siklusu dahil edilerek yapılan bir çalışmada ise sperm konsantrasyonu ve morfolojisi açısından fark saptanmamıştır (14). Yine 2019 yılında Bulgurcuoğlu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada embriyo gelişim duraksaması olanlarda toplam sperm sayısı, ileri hareketli sperm sayısı, Kruger oranı ve sperm konsantrasyonu açısından fark saptanmamıştır (120). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde gruplar arasında spermiogram sonuçları açısından fark saptanmadı ($p=0,771$); ancak erkeğe ait nedenlerden sadece yaş [33 (20-55) vs 34 (22-67), $p<0,01$, sırasıyla] açısından anlamlı fark tespit edildi.

Yakın dönemde ortaya atılan bir diğer görüş DNA fragmentasyon oranlarının fertilizasyon başarısını olumsuz etkileyebileceğidir. Virro ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada sperm DNA fragmentasyon oranının artması düşük gebelik oranları ve artmış abortus riski ile ilişkili bulunmuştur (121). 2017 yılında Sedo ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise sperm DNA fragmentasyonunun artması düşük blastulasyon ve gebelik oranları ile ilişkili bulunmuş ancak fertilizasyon oranı ile ilişkisi saptanmamıştır (122). Yapılan çalışmalar spermatozoaları DNA fragmentasyon oranlarına göre karşılaştırmanın fertilizasyon başarısı ve embriyo gelişim duraklaması açısından bilgi sağlayabileceğini göstermektedir.

Sperm orijini ICSI başarısını etkileyen bir faktör olarak düşünülmektedir bu nedenle birçok çalışmada sperm orijinine göre fertilizasyon oranları karşılaştırılmıştır. Aboulgar ve arkadaşları tarafından 1997 yılında yapılan bir çalışmada fertilizasyon oranları açısından fark saptanmamıştır (123). 2002 yılında Göker ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise testiküler biyopsi uygulanan hastalarda fertilizasyon ve gebelik oranları anlamlı olarak düşük saptanmıştır (124). Yine Desai ve arkadaşları tarafından 2018 yılında yapılan bir çalışmada TESE uygulanan hastalarda embriyo gelişim yetersizliği anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (125). Bizim çalışmamızda ise hastalar sperm orijinine göre karşılaştırıldığında anlamlı fark tespit edilmedi ($p=0,771$). Bunun sebebi ICSI’de çok az sayıda hareketli spermin işlem için yeterli olması ve TESE uygulayıcımız ile embriyologlarımızın yeterli tecrübeye sahip olmaları olarak gösterilebilir.

2015 yılında 2542 hastanın dahil edildiği, Zhu ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada hastalar primer ve sekonder infertil olarak gruplanmış ve spermiogram sonuçları da normospermi ve oligosetnospermi olarak sınıflandırılmıştır. Çalışma sonucunda oligoastenospermi ve primer infertilite bağımsız risk faktörü olarak saptanmıştır (126). Çalışmamızda hastalar primer infertil ve sekonder infertil olarak gruplandığında gruplar arasında fertilizasyon başarısı açısından fark saptanmadı ($p=0,065$). Yine çalışmamızda spermiogram sonuçları WHO sınıflamasına göre kategorik ayrıldığında (normospermi, oligospermi vs) gruplar arasında fark saptanmadı ($p=0,870$). ICSI’de çok az sayıda hareketli ve morfolojik açıdan normal spermatozoa işlem için yeterli gelebilmektedir. Bu bilgiler ışığında ICSI’nin konvansiyonel IVF tekniğine göre çok daha az sayıda hareketli sperm varlığında dahi başarılı olabileceği söylenebilir. Bununla birlikte ICSI için kullanılabilecek yalnızca immobil spermatozoa mevcut ise fertilizasyon başarısında azalma olduğu gösterilmiştir (127). Bu nedenle morfolojik ve genetik açıdan tek ve en sağlıklı sperm seçilimi fertilizasyon başarısı açısından önem arz eder.

Toplanan oosit sayısı, oosit kalitesi ve oosit morfolojisi fertilizasyon başarısını etkileyen önemli parametreler olarak kabul edilmektedir. Optimal oosit sayısını belirleyebilmek için birçok çalışma yapılmıştır. OHSS ve çoğul gebelik riski oosit sayısı açısından sınırlayıcı faktörler olarak göz önünde bulundurulmaktadır. ICSI’de yalnızca M2 oosit kullanıldığı için olgun oosit sayısı önem arz etmektedir. 2003 yılında Melie ve arkadaşları TFB oranının; ICSI uygulanan oosit sayısı arttığında anlamlı olarak azaldığını tespit etmiştir (128). Yine bir başka çalışmada Flaherty ve arkadaşları tek oosite ICSI uygulananlarda TFB oranını %37, iki oosite uygulananlarda %13, beş veya daha fazla oosite uygulananlarda %0,8 olarak tespit etmiştir (129). Yanagida K. tarafından yapılan bir çalışmada ise tek oosite ICSI uygulananlarda TFB oranı %28,7, dörtten fazla oosite uygulananlarda <%7 olarak bulunmuştur (112). Alvarez ve arkadaşları tarafından 2013 yılında yapılan ve 1400 ICSI siklusunun dahil edildiği bir çalışmada M2 oosit sayısının azalması sonucu embriyo gelişim yetersizliğinin arttığı gösterilmiştir (130). Tüm bu çalışmaların aksine Liu ve arkadaşları M2 oosit ve 2PN sayısını embriyo gelişim duraklaması olan grupta anlamlı olarak yüksek saptamıştır. Bir başka çalışmada Bulgurcuoğlu S. toplanan oosit sayısını embriyo gelişim duraksaması olan grupta yüksek tespit etmiştir (120). Bu

sonucu embriyo gelişim yetersizliği olan grupta, oositlerin daha küçük, tam olgunlaşmamış foliküllerden toplandığı ve bunların da çok sayıda olduğu fakat düşük gelişim potansiyeli nedeniyle maturitesi yeterli olmayan yetersiz kalitede embriyolarla sonuçlandığı şeklinde açıklamaktadırlar (116). Bizim çalışmamızda ise fertilizasyon başarısızlığı olan grupta OPU’da toplanan ve ICSI uygulanan oosit sayısı anlamlı olarak düşük saptandı [10 (1-144) vs 5 (1-31), $p<0.001$]. Oositin anormal morfolojisi, genetiği ve fragilitatesinin fertilizasyonu olumsuz etkilediği bilinmektedir. Liu ve arkadaşları tarafından yapılan bu çalışmada oositteki majör anomalilerin fertilizasyon başarısızlığına neden olduğu gösterilmiştir (14). Oositler yaşlandıkça, ovulasyon sırasında işlevsiz olaylar daha sık görülür ve ilk mayotik bölünmedeki bu tür olaylar yardımcı üreme tekniklerinin başarısızlığının en yaygın nedeni olarak gösterilmiştir (131). Qi S. ve arkadaşları tarafından embriyo gelişim duraklamasının yaş ile ilişkisini araştıran çalışmada; embriyo gelişim duraklamasının yaş ile birlikte anlamlı olarak arttığı ve bu durumun artan anaplöidi riski nedeniyle olabileceği gösterilmiştir (114). Biz de çalışmamızda fertilizasyonu başarılı grupta kadın yaşı medianını anlamlı olarak daha düşük saptadık [31 (19-46) vs 33 (18-47), $p<0.001$]. Ancak multivariate analizde kadın yaşını bağımsız risk faktörü olarak saptamadık.

Antral folikül sayısı, erken foliküler fazda FSH seviyesi ve serum AMH seviyesi ovaryan kapasiteyi göstermek ve ovaryan yanıtı öngörmek için kullanılan parametrelerdendir. Ovaryan kapasitenin yüksek olması ile daha fazla oosit elde edilebilmesi ve ICSI yapılabilecek oosit sayısının artması sonucu fertilizasyon başarısının artması olasıdır. Tomas ve arkadaşları 1997 yılında yapılan bir çalışmada antral folikül sayısı ile fertilizasyon başarısı arasında pozitif anlamlı ilişki olduğunu ve gonodotropine yanıtın bu grupta daha fazla olduğunu tespit etmiştir (132). Bir başka çalışmada Wen-Quin ve arkadaşları fertilizasyon başarısı ile serum AMH düzeyinin pozitif ilişkili olduğunu bildirmiştir (133). Biz de çalışmamızda benzer şekilde antral folikül sayısını [10 (0-30) vs 6 (0-30), $p<0.001$, sırasıyla] ve serum AMH seviyesini [1,81 (0,01-33) vs 0,7 (0,01-74), $p<0.001$, sırasıyla] fertilizasyonu başarılı olan grupta daha yüksek tespit ettik.

Erken foliküler fazda serum FSH seviyesinin > 20 mU/ml ve östradiol seviyesinin > 80 pg/ml olmasının kötü ovaryan yanıt ile ilişkili olduğu gösterilmiştir.

Kötü ovaryan yanıt ile daha az oosit elde edilebileceği bilinen bir gerçektir. Daha az oosit toplanması da daha düşük fertilizasyon oranlarıyla ilişkili bulunmuştur. Taylor ve arkadaşlarının, 2001-2006 yıllarında 1363 IVF siklusunu dahil ederek yaptıkları çalışmada serum bazal FSH ve östradiol seviyeleri açısından fertilizasyonu başarılı grup ile arasında fark saptanmamıştır (134). Bulguroğlu ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada yine bazal FSH ve östradiol seviyesi açısından embriyo gelişim duraksaması olan grupta anlamlı fark saptanmamıştır (120). Liu L. ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise bazal FSH seviyesi gelişim duraksaması olan grupta anlamlı olarak düşük saptanmıştır ($p<0,001$) (116). Biz de çalışmada bazal östradiol seviyesi açısından fark tespit etmedik ($p=0,874$). Bazal FSH seviyesini ise fertilizasyonu başarılı olan grupta anlamlı şekilde düşük saptadık [(7,69 (0,48-62) vs 9,2 (0,71-42), $p<0,001$].

Shen ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada hCG günü östradiol seviyesi ile fertilizasyon başarısı arasında pozitif anlamlı ilişki saptanmıştır (118). Sarıkaya ve arkadaşları tarafından 2011 yılında yapılan bir çalışmada ise toplam fertilizasyon başarısızlığı olan grup ile hCG günü östradiol seviyesi açısından anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0,023$) (15). Çalışmamızda hCG günü östradiol seviyesi toplam fertilizasyon başarısızlığı ve embriyo gelişim yetersizliği olan grupta anlamlı olarak düşük saptandı [589,8 (69,1-5256,5) vs 821,5 (58,3-5852,9) vs 1310,3 (97,3-7731,9), $p<0,001$, sırasıyla].

Tedavi süresince kullanılan gonodotropin toplam dozunun fertilizasyon başarısına etkisini araştıran birçok çalışma yapılmıştır. Kötü ovaryan yanıtı olan hasta grubunda tedaviye cevap alınabilmesi için yüksek gonodotropin dozlarının kullanımı gerekli kılınmaktadır. Bulgurcuoğlu S. tarafından 2019 yılında yapılan bir çalışmada embriyo gelişim duraklaması olan grupta kullanılan gonodotropin toplam dozu anlamlı olarak yüksek saptanmıştır (120). Liu L. ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada ise fark saptanmamıştır (116) Biz de çalışmamızda kullanılan gonodotropin toplam dozu ile fertilizasyon başarısı arasında negatif anlamlı ilişki tespit ettik [2025 (675-7800) vs 2400 (688-5550), $p<0,001$].

SONUÇ

Tüm sonuçlar analiz edildiğinde fertilizasyon başarısını etkileyebilecek faktörleri öngörmek için hazırlanan univariate regresyon modelinde kadın yaşı, serum AMH düzeyi, 3. gün FSH seviyesi, OPU günü östradiol seviyesi, antral folikül sayısı, toplanan oosit sayısı ve 2PN sayısı başarılı fertilizasyon ile anlamlı olarak ilişkili saptandı. Ancak bu faktörlerin multivariate lojistik regresyon analizinde sadece 2PN sayısı başarılı fertilizasyon için bağımsız prognostik faktör olarak saptandı [OR=12,016 (7,529-19,176), $p<0,001$]. Yapılan ROC analizinde 2PN sayısı fertilizasyon başarısını anlamlı olarak öngörmekte idi. Optimal cut off %75 sensitivite, %78 spesifite ile 2,5 olarak hesaplandı (AUC: 0.845, $p<0.001$). 2PN değeri fertilizasyonun bir göstergesi olarak kullanılırken yaptığımız çalışmada transfere uygun kaliteli embriyo elde edilebileceğini öngörmeye kullanılabilecek bir parametre olarak saptanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Ombelet W, Cooke I, Dyer S, Serour G, Devroey P. Infertility and the provision of infertility medical services in developing countries. *Hum Reprod Update*. 2008;14(6):605-21.
2. Practice Committee of American Society for Reproductive M. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2013;99(1):63-.
3. Speroff L GN, Kase RG. *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility* 2014.
4. Ingerslev HJ, Højgaard A, Hindkjaer J, Kesmodel U. A randomized study comparing IVF in the unstimulated cycle with IVF following clomiphene citrate. *Hum Reprod*. 2001;16(4):696-702.
5. De Geyter C C-JC, Kupka MS, et al. . results generated from European registries by ESHRE: The European IVF-monitoring Consortium (EIM) for the European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE). *Hum Reprod* 2018;33(9):1586–1601. 2014.
6. Moomjy M, Sills ES, Rosenwaks Z, Palermo GD. Implications of complete fertilization failure after intracytoplasmic sperm injection for subsequent fertilization and reproductive outcome. *Hum Reprod*. 1998;13(8):2212-6.
7. Lanzendorf SE, Maloney MK, Veeck LL, Slusser J, Hodgen GD, Rosenwaks Z. A preclinical evaluation of pronuclear formation by microinjection of human spermatozoa into human oocytes. *Fertil Steril*. 1988;49(5):835-42.
8. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *Lancet*. 1992;340(8810):17-8.
9. Jain T, Gupta RS. Trends in the use of intracytoplasmic sperm injection in the United States. *N Engl J Med*. 2007;357(3):251-7.
10. Boulet SL, Mehta A, Kissin DM, Warner L, Kawwass JF, Jamieson DJ. Trends in use of and reproductive outcomes associated with intracytoplasmic sperm injection. *JAMA*. 2015;313(3):255-63.
11. Practice Committees of the American Society for Reproductive M, Society for Assisted Reproductive T. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) for non-male factor infertility: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2012;98(6):1395-9.
12. Practice Committee of American Society for Reproductive M, Practice Committee of Society for Assisted Reproductive T. Genetic considerations related to intracytoplasmic sperm injection (ICSI). *Fertil Steril*. 2008;90(5 Suppl):S182-S4.
13. Palermo GD, Neri QV, Takeuchi T, Rosenwaks Z. ICSI: where we have been and where we are going. *Semin Reprod Med*. 2009;27(2):191-201.
14. Liu J, Nagy Z, Joris H, Tournaye H, Smits J, Camus M, et al. Analysis of 76 total fertilization failure cycles out of 2732 intracytoplasmic sperm injection cycles. *Hum Reprod*. 1995;10(10):2630-6.
15. Sarikaya E, Eryilmaz OG, Deveer R, Dogan M, Mollamahmutoglu L. Analysis of 232 total fertilization failure cycles during intracytoplasmic sperm injection. *Iran J Reprod Med*. 2011;9(2):105-12.

16. Reichman DE, Jackson KV, Racowsky C. Incidence and development of zygotes exhibiting abnormal pronuclear disposition after identification of two pronuclei at the fertilization check. *Fertil Steril*. 2010;94(3):965-70.
17. infertility [press release]. 2009.
18. Spira A. Epidemiology of human reproduction. *Hum Reprod*. 1986;1(2):111-5.
19. Hull MG, Glazener CM, Kelly NJ, Conway DI, Foster PA, Hinton RA, et al. Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1985;291(6510):1693-7.
20. Practice Committee of the American Society for Reproductive M. Diagnostic evaluation of the infertile female: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2015;103(6):e44-e50.
21. Starc A, Trampuš M, Pavan Jukić D, Rotim C, Jukić T, Polona Mivšek A. Infertility And Sexual Dysfunctions: A Systematic Literature Review. *Acta Clin Croat*. 2019;58(3):508-15.
22. Leisegang K, Bouic PJD, Menkveld R, Henkel RR. Obesity is associated with increased seminal insulin and leptin alongside reduced fertility parameters in a controlled male cohort. *Reprod Biol Endocrinol*. 2014;12:34-.
23. Grynberg M, Bidet M, Benard J, Poulain M, Sonigo C, Cédric-Durnerin I, et al. Fertility preservation in Turner syndrome. *Fertil Steril*. 2016;105(1):13-9.
24. WHO laboratory manual for the examination of human semen and sperm-cervical mucus interaction [press release]. Cambridge, UK: Cambridge University Press1999.
25. Haseman JK, Hoel DG. Statistical design of toxicity assays: role of genetic structure of test animal population. *J Toxicol Environ Health*. 1979;5(1):89-101.
26. WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen [press release]. Geneva: WHO Press2010.
27. Lindsay TJ, Vitrikas KR. Evaluation and treatment of infertility. *Am Fam Physician*. 2015;91(5):308-14.
28. Wathen NC, Perry L, Lilford RJ, Chard T. Interpretation of single progesterone measurement in diagnosis of anovulation and defective luteal phase: observations on analysis of the normal range. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1984;288(6410):7-9.
29. Ecochard R, Boehringer H, Rabilloud M, Marret H. Chronological aspects of ultrasonic, hormonal, and other indirect indices of ovulation. *BJOG*. 2001;108(8):822-9.
30. Practice Committee of the American Society for Reproductive M. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. *Fertil Steril*. 2015;103(3):e9-e17.
31. Jain T, Soules MR, Collins JA. Comparison of basal follicle-stimulating hormone versus the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening. *Fertil Steril*. 2004;82(1):180-5.
32. Smotrich DB, Widra EA, Gindoff PR, Levy MJ, Hall JL, Stillman RJ. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril*. 1995;64(6):1136-40.
33. Dewailly D, Andersen CY, Balen A, Broekmans F, Dilaver N, Fanchin R, et al. The physiology and clinical utility of anti-Mullerian hormone in women. *Hum Reprod Update*. 2014;20(3):370-85.
34. Broekmans FJ, Kwee J, Hendriks DJ, Mol BW, Lambalk CB. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update*. 2006;12(6):685-718.

35. Steiner AZ, Pritchard D, Stanczyk FZ, Kesner JS, Meadows JW, Herring AH, et al. Association Between Biomarkers of Ovarian Reserve and Infertility Among Older Women of Reproductive Age. *JAMA*. 2017;318(14):1367-76.
36. Soares SR, Barbosa dos Reis MM, Camargos AF. Diagnostic accuracy of sonohysterography, transvaginal sonography, and hysterosalpingography in patients with uterine cavity diseases. *Fertil Steril*. 2000;73(2):406-11.
37. Ng EHY, Yeung WSB, Fong DYT, Ho PC. Effects of age on hormonal and ultrasound markers of ovarian reserve in Chinese women with proven fertility. *Hum Reprod*. 2003;18(10):2169-74.
38. American College of O, Gynecologists Committee on Gynecologic P, Practice C. Female age-related fertility decline. Committee Opinion No. 589. *Fertil Steril*. 2014;101(3):633-4.
39. Mohiyiddeen L, Hardiman A, Fitzgerald C, Hughes E, Mol BWJ, Johnson N, et al. Tubal flushing for subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015(5):CD003718-CD.
40. Swart P, Mol BW, van der Veen F, van Beurden M, Redekop WK, Bossuyt PM. The accuracy of hysterosalpingography in the diagnosis of tubal pathology: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 1995;64(3):486-91.
41. Infertility Workup for the Women's Health Specialist: ACOG Committee Opinion, Number 781. *Obstet Gynecol*. 2019;133(6):e377-e84.
42. Bhattacharya S, Porter M, Amalraj E, Templeton A, Hamilton M, Lee AJ, et al. The epidemiology of infertility in the North East of Scotland. *Hum Reprod*. 2009;24(12):3096-107.
43. Recent Advances in Medically Assisted Conception [press release]. 1992.
44. National Collaborating Centre for Ws, Children's H. Fertility: Assessment and Treatment for People with Fertility Problems. London: Royal College of Obstetricians & Gynaecologists; 2013.
45. Jick H, Porter J. Relation between smoking and age of natural menopause. Report from the Boston Collaborative Drug Surveillance Program, Boston University Medical Center. *Lancet*. 1977;1(8026):1354-5.
46. Ferraretti AP, La Marca A, Fauser BCJM, Tarlatzis B, Nargund G, Gianaroli L, et al. ESHRE consensus on the definition of 'poor response' to ovarian stimulation for in vitro fertilization: the Bologna criteria. *Hum Reprod*. 2011;26(7):1616-24.
47. Rhoton-Vlasak A. Infections and infertility. *Prim Care Update Ob Gyns*. 2000;7(5):200-6.
48. Dechaud H. Hydrosalpinx and ART: hydrosalpinges suitable for salpingectomy before IVF. *Hum Reprod*. 2000;15(12):2464-5.
49. Meyer WR, Castelbaum AJ, Somkuti S, Sagoskin AW, Doyle M, Harris JE, et al. Hydrosalpinges adversely affect markers of endometrial receptivity. *Hum Reprod*. 1997;12(7):1393-8.
50. Johnson N, van Voorst S, Sowter MC, Strandell A, Mol BWJ. Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilisation. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010(1):CD002125-CD.
51. Revel A. Defective endometrial receptivity. *Fertil Steril*. 2012;97(5):1028-32.
52. Pritts EA, Parker WH, Olive DL. Fibroids and infertility: an updated systematic review of the evidence. *Fertil Steril*. 2009;91(4):1215-23.

53. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Electronic address Aao, Practice Committee of the American Society for Reproductive M. Removal of myomas in asymptomatic patients to improve fertility and/or reduce miscarriage rate: a guideline. *Fertil Steril*. 2017;108(3):416-25.
54. Grimbizis GF, Camus M, Tarlatzis BC, Bontis JN, Devroey P. Clinical implications of uterine malformations and hysteroscopic treatment results. *Hum Reprod Update*. 2001;7(2):161-74.
55. Pellerito JS, McCarthy SM, Doyle MB, Glickman MG, DeCherney AH. Diagnosis of uterine anomalies: relative accuracy of MR imaging, endovaginal sonography, and hysterosalpingography. *Radiology*. 1992;183(3):795-800.
56. Pabuçcu R, Gomel V. Reproductive outcome after hysteroscopic metroplasty in women with septate uterus and otherwise unexplained infertility. *Fertil Steril*. 2004;81(6):1675-8.
57. Fatemi HM, Kasius JC, Timmermans A, van Disseldorp J, Fauser BC, Devroey P, et al. Prevalence of unsuspected uterine cavity abnormalities diagnosed by office hysteroscopy prior to in vitro fertilization. *Hum Reprod*. 2010;25(8):1959-65.
58. Lieng M, Istre O, Qvigstad E. Treatment of endometrial polyps: a systematic review. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2010;89(8):992-1002.
59. Tanahatõe SJ, Hompes PGA, Lambalk CB. Investigation of the infertile couple: should diagnostic laparoscopy be performed in the infertility work up programme in patients undergoing intrauterine insemination? *Hum Reprod*. 2003;18(1):8-11.
60. Gupta S, Goldberg JM, Aziz N, Goldberg E, Krajcir N, Agarwal A. Pathogenic mechanisms in endometriosis-associated infertility. *Fertil Steril*. 2008;90(2):247-57.
61. Macer ML, Taylor HS. Endometriosis and infertility: a review of the pathogenesis and treatment of endometriosis-associated infertility. *Obstet Gynecol Clin North Am*. 2012;39(4):535-49.
62. Barbosa MAP, Teixeira DM, Navarro PAAS, Ferriani RA, Nastri CO, Martins WP. Impact of endometriosis and its staging on assisted reproduction outcome: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2014;44(3):261-78.
63. Jungwirth A, Giwercman A, Tournaye H, Diemer T, Kopa Z, Dohle G, et al. European Association of Urology guidelines on Male Infertility: the 2012 update. *Eur Urol*. 2012;62(2):324-32.
64. Aboulghar M, Mansour R, Al-Inany H, Abou-Setta AM, Aboulghar M, Mourad L, et al. Paternal age and outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Reprod Biomed Online*. 2007;14(5):588-92.
65. Ferlin A, Arredi B, Speltra E, Cazzadore C, Selice R, Garolla A, et al. Molecular and clinical characterization of Y chromosome microdeletions in infertile men: a 10-year experience in Italy. *J Clin Endocrinol Metab*. 2007;92(3):762-70.
66. Behre HM, Bergmann M, Simoni M, Tüttelmann F. Primary Testicular Failure. In: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, Dungan K, Grossman A, et al., editors. *Endotext*. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000.
67. Tsevat DG, Wiesenfeld HC, Parks C, Peipert JF. Sexually transmitted diseases and infertility. *Am J Obstet Gynecol*. 2017;216(1):1-9.

68. Patrizio P, Asch RH, Handelin B, Silber SJ. Aetiology of congenital absence of vas deferens: genetic study of three generations. *Hum Reprod.* 1993;8(2):215-20.
69. Lessey BA. Assessment of endometrial receptivity. *Fertil Steril.* 2011;96(3):522-9.
70. Hull MG. Effectiveness of infertility treatments: choice and comparative analysis. *Int J Gynaecol Obstet.* 1994;47(2):99-108.
71. Guzick DS, Carson SA, Coutifaris C, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Steinkampf MP, et al. Efficacy of superovulation and intrauterine insemination in the treatment of infertility. National Cooperative Reproductive Medicine Network. *N Engl J Med.* 1999;340(3):177-83.
72. Sharma R, Biedenharn KR, Fedor JM, Agarwal A. Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. *Reprod Biol Endocrinol.* 2013;11:66-.
73. Dancet EA, D'Hooghe TM, van der Veen F, Bossuyt P, Sermeus W, Mol B-W, et al. "Patient-centered fertility treatment": what is required? *Fertil Steril.* 2014;101(4):924-6.
74. Collins JA, Wrixon W, Janes LB, Wilson EH. Treatment-independent pregnancy among infertile couples. *N Engl J Med.* 1983;309(20):1201-6.
75. Farhi J, Ben-Haroush A, Lande Y, Fisch B. Role of treatment with ovarian stimulation and intrauterine insemination in women with unilateral tubal occlusion diagnosed by hysterosalpingography. *Fertil Steril.* 2007;88(2):396-400.
76. Steptoe PC, Edwards RG. Birth after the reimplantation of a human embryo. *Lancet.* 1978;2(8085):366-.
77. Ory SJ. The national epidemic of multiple pregnancy and the contribution of assisted reproductive technology. *Fertil Steril.* 2013;100(4):929-30.
78. Baker VL, Luke B, Brown MB, Alvero R, Frattarelli JL, Usadi R, et al. Multivariate analysis of factors affecting probability of pregnancy and live birth with in vitro fertilization: an analysis of the Society for Assisted Reproductive Technology Clinic Outcomes Reporting System. *Fertil Steril.* 2010;94(4):1410-6.
79. European IVFMCfESoHR, Embryology, Calhaz-Jorge C, de Geyter C, Kupka MS, de Mouzon J, et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2012: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod.* 2016;31(8):1638-52.
80. Sauer MV, Paulson RJ, Lobo RA. Reversing the natural decline in human fertility. An extended clinical trial of oocyte donation to women of advanced reproductive age. *JAMA.* 1992;268(10):1275-9.
81. Martin JS, Nisker JA, Tummon IS, Daniel SA, Auckland JL, Feyles V. Future in vitro fertilization pregnancy potential of women with variably elevated day 3 follicle-stimulating hormone levels. *Fertil Steril.* 1996;65(6):1238-40.
82. Practice Committee of the American Society for Reproductive M. Use of clomiphene citrate in infertile women: a committee opinion. *Fertil Steril.* 2013;100(2):341-8.
83. Sigman M. Assisted reproductive techniques and male infertility. *Urol Clin North Am.* 1994;21(3):505-15.
84. Janssens RM, Brus L, Cahill DJ, Huirne JA, Schoemaker J, Lambalk CB. Direct ovarian effects and safety aspects of GnRH agonists and antagonists. *Hum Reprod Update.* 2000;6(5):505-18.

85. Albuquerque LE, Saconato H, Maciel MC. Depot versus daily administration of gonadotrophin releasing hormone agonist protocols for pituitary desensitization in assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst Rev*. 2002(3):CD002808-CD.
86. Fanchin R, Righini C, Ayoubi JM, Olivennes F, de Ziegler D, Frydman R. New look at endometrial echogenicity: objective computer-assisted measurements predict endometrial receptivity in in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil Steril*. 2000;74(2):274-81.
87. Tarlatzis BC, Zepiridis L, Grimbizis G, Bontis J. Clinical management of low ovarian response to stimulation for IVF: a systematic review. *Hum Reprod Update*. 2003;9(1):61-76.
88. Padilla SL, Dugan K, Maruschak V, Shalika S, Smith RD. Use of the flare-up protocol with high dose human follicle stimulating hormone and human menopausal gonadotropins for in vitro fertilization in poor responders. *Fertil Steril*. 1996;65(4):796-9.
89. Schoolcraft W, Schlenker T, Gee M, Stevens J, Wagley L. Improved controlled ovarian hyperstimulation in poor responder in vitro fertilization patients with a microdose follicle-stimulating hormone flare, growth hormone protocol. *Fertil Steril*. 1997;67(1):93-7.
90. Coccia ME, Comparetto C, Bracco GL, Scarselli G. GnRH antagonists. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 2004;115 Suppl 1:S44-S56.
91. Bodri D, Sunkara SK, Coomarasamy A. Gonadotropin-releasing hormone agonists versus antagonists for controlled ovarian hyperstimulation in oocyte donors: a systematic review and meta-analysis. *Fertil Steril*. 2011;95(1):164-9.
92. Al-Inany HG, Youssef MA, Ayeleke RO, Brown J, Lam WS, Broekmans FJ. Gonadotrophin-releasing hormone antagonists for assisted reproductive technology. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;4:CD001750-CD.
93. Kwan I, Wang R, Pearce E, Bhattacharya S. Pain relief for women undergoing oocyte retrieval for assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;5(5):CD004829-CD.
94. Kroon B, Hart RJ, Wong BMS, Ford E, Yazdani A. Antibiotics prior to embryo transfer in ART. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012(3):CD008995-CD.
95. Sunkara SK, Rittenberg V, Raine-Fenning N, Bhattacharya S, Zamora J, Coomarasamy A. Association between the number of eggs and live birth in IVF treatment: an analysis of 400 135 treatment cycles. *Hum Reprod*. 2011;26(7):1768-74.
96. Silber SJ, Van Steirteghem AC, Liu J, Nagy Z, Tournaye H, Devroey P. High fertilization and pregnancy rate after intracytoplasmic sperm injection with spermatozoa obtained from testicle biopsy. *Hum Reprod*. 1995;10(1):148-52.
97. Nicopoullos JDM, Gilling-Smith C, Almeida PA, Norman-Taylor J, Grace I, Ramsay JWA. Use of surgical sperm retrieval in azoospermic men: a meta-analysis. *Fertil Steril*. 2004;82(3):691-701.
98. De Croo I, Van der Elst J, Everaert K, De Sutter P, Dhont M. Fertilization, pregnancy and embryo implantation rates after ICSI in cases of obstructive and non-obstructive azoospermia. *Hum Reprod*. 2000;15(6):1383-8.

99. Paulson RJ, Sauer MV, Francis MM, Macaso TM, Lobo RA. A prospective controlled evaluation of TEST-yolk buffer in the preparation of sperm for human in vitro fertilization in suspected cases of male infertility. *Fertil Steril*. 1992;58(3):551-5.
100. Munné S, Tang YX, Grifo J, Cohen J. Origin of single pronucleated human zygotes. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 1993;10(4):276-9.
101. Kola I, Trounson A, Dawson G, Rogers P. Trippronuclear human oocytes: altered cleavage patterns and subsequent karyotypic analysis of embryos. *Biology of Reproduction*. 1987;37(2):395-401.
102. Sakurada K, Ishikawa H, Endo A. Cytogenetic effects of advanced maternal age and delayed fertilization on first-cleavage mouse embryos. *Cytogenetics and cell genetics*. 1996;72(1):46-9.
103. Oehninger S, Acosta AA, Veeck LL, Simonetti S, Muasher SJ. Delayed fertilization during in vitro fertilization and embryo transfer cycles: analysis of causes and impact on overall results. *Fertil Steril*. 1989;52(6):991-7.
104. Schmiady H, Tandler-Schneider A, Kentenich H. Premature chromosome condensation of the sperm nucleus after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 1996;11(10):2239-45.
105. Strehler E, Baccetti B, Sterzik K, Capitani S, Collodel G, De Santo M, et al. Detrimental effects of polyvinylpyrrolidone on the ultrastructure of spermatozoa (*Notulae seminologicae* 13). *Hum Reprod*. 1998;13(1):120-3.
106. Betts DH, Madan P. Permanent embryo arrest: molecular and cellular concepts. *Molecular Human Reproduction*. 2008;14(8):445-53.
107. Almeida PA, Bolton VN. Cytogenetic analysis of human preimplantation embryos following developmental arrest in vitro. *Reproduction, fertility, and development*. 1998;10(6):505-13.
108. Kamjoo M, Brison DR, Kimber SJ. Apoptosis in the preimplantation mouse embryo: effect of strain difference and in vitro culture. *Molecular Reproduction and Development*. 2002;61(1):67-77.
109. Hu DB, Li ZS, Ali I, Xu LJ, Fang NZ. Effect of potential role of p53 on embryo development arrest induced by H₂O₂ in mouse. *In vitro cellular & developmental biology Animal*. 2017;53(4):344-53.
110. Lepine S, McDowell S, Searle LM, Kroon B, Glujovsky D, Yazdani A. Advanced sperm selection techniques for assisted reproduction. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019;7(7):CD010461-CD.
111. Palermo GD, Alikani M, Bertoli M, Colombero LT, Moy F, Cohen J, et al. Oolemma characteristics in relation to survival and fertilization patterns of oocytes treated by intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 1996;11(1):172-6.
112. Yanagida K. Complete fertilization failure in ICSI. *Human cell*. 2004;17(4):187-93.
113. Shinar S, Almog B, Levin I, Shwartz T, Amit A, Hasson J. Total fertilization failure in intracytoplasmic sperm injection cycles--classification and management. *Gynecological endocrinology : the official journal of the International Society of Gynecological Endocrinology*. 2014;30(8):593-6.
114. Qi ST, Liang LF, Xian YX, Liu JQ, Wang W. Arrested human embryos are more likely to have abnormal chromosomes than developing embryos from women of advanced maternal age. *Journal of ovarian research*. 2014;7:65.

115. Gabrielsen A, Petersen K, Mikkelsen AL, Lindenberg S. Intracytoplasmic sperm injection does not overcome an oocyte defect in previous fertilization failure with conventional in-vitro fertilization and normal spermatozoa. *Hum Reprod.* 1996;11(9):1963-5.
116. Liu L, Cai J, Li P, Chen Y, Sha A, Ren J. Clinical outcome of IVF/ICSI cycles with an arrested embryo on day 3. 2016;9:16414-24.
117. Vanderzwalmen P, Bertin G, Lejeune B, Nijs M, Vandamme B, Schoysman R. Two essential steps for a successful intracytoplasmic sperm injection: injection of immobilized spermatozoa after rupture of the oolema. *Hum Reprod.* 1996;11(3):540-7.
118. Shen S, Khabani A, Klein N, Battaglia D. Statistical analysis of factors affecting fertilization rates and clinical outcome associated with intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril.* 2003;79(2):355-60.
119. Vandervorst M, Tournaye H, Camus M, Nagy ZP, Van Steirteghem A, Devroey P. Patients with absolutely immotile spermatozoa and intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod.* 1997;12(11):2429-33.
120. Sibel Bulgurcuoğlu, BÖ. The Effect Of Preimplantation Embryo Development Arrest On Assisted Reproductive Treatment Results. *J Ist Faculty Med* 2019. 2019.
121. Virro MR, Larson-Cook KL, Evenson DP. Sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters are related to fertilization, blastocyst development, and ongoing pregnancy in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles. *Fertil Steril.* 2004;81(5):1289-95.
122. Alvarez Sedó C, Bilinski M, Lorenzi D, Uriondo H, Noblía F, Longobucco V, et al. Effect of sperm DNA fragmentation on embryo development: clinical and biological aspects. *JBRA assisted reproduction.* 2017;21(4):343-50.
123. Aboulghar MA, Mansour RT, Serour GI, Fahmy I, Kamal A, Tawab NA, et al. Fertilization and pregnancy rates after intracytoplasmic sperm injection using ejaculate semen and surgically retrieved sperm. *Fertil Steril.* 1997;68(1):108-11.
124. Göker EN, Sendag F, Levi R, Sendag H, Tavmergen E. Comparison of the ICSI outcome of ejaculated sperm with normal, abnormal parameters and testicular sperm. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2002;104(2):129-36.
125. Desai N, Gill P, Tadros NN, Goldberg JM, Sabanegh E, Falcone T. Azoospermia and embryo morphokinetics: testicular sperm-derived embryos exhibit delays in early cell cycle events and increased arrest prior to compaction. *Journal of assisted reproduction and genetics.* 2018;35(7):1339-48.
126. Zhu J, Jiang H, He RB, Yin HQ, Wang CL, Li Y, et al. Association between etiologic factors in infertile couples and fertilization failure in conventional in vitro fertilization cycles. *Andrology.* 2015;3(4):717-22.
127. Liu J, Nagy Z, Joris H, Tournaye H, Devroey P, Van Steirteghem A. Successful fertilization and establishment of pregnancies after intracytoplasmic sperm injection in patients with globozoospermia. *Hum Reprod.* 1995;10(3):626-9.

128. Melie NA, Adeniyi OA, Igbneweka OM, Ajayi RA. Predictive value of the number of oocytes retrieved at ultrasound-directed follicular aspiration with regard to fertilization rates and pregnancy outcome in intracytoplasmic sperm injection treatment cycles. *Fertil Steril*. 2003;80(6):1376-9.
129. Flaherty SP, Payne D, Swann NJ, Matthews CD. Aetiology of failed and abnormal fertilization after intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod*. 1995;10(10):2623-9.
130. Álvarez C, García-Garrido C, Taronger R, González de Merlo G. In vitro maturation, fertilization, embryo development & clinical outcome of human metaphase-I oocytes retrieved from stimulated intracytoplasmic sperm injection cycles. *The Indian journal of medical research*. 2013;137(2):331-8.
131. Combelles CM, Cekleniak NA, Racowsky C, Albertini DF. Assessment of nuclear and cytoplasmic maturation in in-vitro matured human oocytes. *Hum Reprod*. 2002;17(4):1006-16.
132. Tomas C, Nuojuua-Huttunen S, Martikainen H. Pretreatment transvaginal ultrasound examination predicts ovarian responsiveness to gonadotrophins in in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. 1997;12(2):220-3.
133. Lin WQ, Yao LN, Zhang DX, Zhang W, Yang XJ, Yu R. The predictive value of anti-Mullerian hormone on embryo quality, blastocyst development, and pregnancy rate following in vitro fertilization-embryo transfer (IVF-ET). *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2013;30(5):649-55.
134. J. Taylor BC, G. Grudzinskas, A.H. Handyside, L.M. Shaw, A.R. Thornhill. Failed fertilisation: a review of approximately 6,000 cases of IVF/ICSI. *Fertil Steril*, 88, S153. 2007.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı soyadı: Mustafa AKŞAR

Doğum yeri, tarihi: Kayseri, 17.07.1990

Uyruğu: T.C.

Medeni durumu: evli

Görev yeri: Etlik Zübeyde Hanım Kadın Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi

E-posta adresi: mustafaaksar@hotmail.com

Telefon: 05424945989

Yabancı dil bilgisi: İngilizce

EĞİTİM BİLGİLERİ

Hacı Mustafa Gazioğlu İlköğretim Okulu, 1997-2004

Nuh Mehmet Baldöktü Anadolu Lisesi, 2004-2008

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2008-2015

S.B.Ü Etlik Zübeyde Hanım E.A.H Kadın Hastalıkları ve Doğum, 2016-2020

BİLİMSEL İLGİ ALANLARI

Perinatoloji

BİLİMSEL ETKİNLİKLERİ

Sertifikalar:

“RCOG Quality Improvement and Safety in Second Stage”, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Etlik Zübeyde Hanım Sağlık Uygulama Araştırma Merkezi, 22-23 Eylül 2018, Ankara/Türkiye.

“Hayvan Laboratuvarında Laparoskopik Cerrahi Kursu”, Medtronic Ltd., 19-22 Şubat 2020, İstanbul/Türkiye.

“Anne Sütünün Teşviki ve Bebek Dostu Sağlık Kuruluşları”, 17-19 Aralık 2018, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Etlik Zübeyde Hanım Sağlık Uygulama Araştırma Merkezi, Ankara/Türkiye.

“Fetal Ekokardiyografi Sempozyumu-1”, Sağlık Bilimleri Üniversitesi Ankara Etlik Zübeyde Hanım Sağlık Uygulama Araştırma Merkezi, 13 Ocak 2019, Ankara/Türkiye.

Sunumlar:

“Fetal İyilik Halinin Değerlendirilmesi”, 2019-2020 yılı EZH eğitim programı dahilinde

“Pelvik Anatomi Eşliğinde Laparoskopik Histerektomi Video Sunumu”, 19-22 Şubat 2020, 3. Minimal İnvaziv Jinekolojik Cerrahi Kongresi, İstanbul/Türkiye.