

T.C.  
İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KLİNİK EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI



**TÜP BEBEK TEDAVİSİNDE NONOBSTRÜKTİF AZOSPERMİ  
OLAN HASTALARDA ROUND SPERMATİD ENJEKSİYONU  
YÖNTEMİNİN EMBRİYO GELİŞİMİNE VE GEBELİĞE  
ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ORHAN ÜNAL**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. MEHMET ÜNAL**

**İSTANBUL, 2024**

T.C.  
İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
KLİNİK EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI



**TÜP BEBEK TEDAVİSİNDE NONOBRÜKTİF AZOSPERMİ  
OLAN HASTALARDA ROUND SPERMATİD ENJEKSİYONU  
YÖNTEMİNİN EMBRİYO GELİŞİMİNE VE GEBELİĞE  
ETKİSİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**ORHAN ÜNAL**

**TEZ DANIŞMANI  
Prof. Dr. MEHMET ÜNAL**

**İSTANBUL, 2024**

T.C.

İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

TEZ ONAY BELGESİ

Klinik Embriyoloji Yüksek Lisans Programı 20111102006 numaralı öğrencisi Orhan ÜNAL'ın "TÜP BEBEK TEDAVİSİNDE NONOBSTRÜKTİF AZOSPERMİ OLAN HASTALARDA ROUND SPERMATİD ENJEKSİYONU YÖNETİMİNİN EMBRİYO GELİŞİMİNE VE GEBELİĞE ETKİSİ" adlı tez çalışması, Enstitümüz Yönetim Kurulunun 10.05.2024 tarih ve 2024/10 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından oy birliğiyle Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez Savunma Tarihi:** 30.05.2024

Prof. Dr. Mehmet ÜNAL

**Tez Danışmanı**

Prof. Dr. Tülay İREZ

Prof. Dr. Ayşe KAFKASLI

**Jüri Üyesi**

**Jüri Üyesi**

## ETİK BEYAN

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tezde;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

30 / 04 / 2024

Orhan ÜNAL

## ÖNSÖZ

Acıbadem Fulya Hastanesi tüp bebek bölümü kapılarını açan, tez döneminde gerekli tüm imkanları sağlayan ve bana yol gösteren hocalarıma ve ekip arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tez çalışmamın başından sonuçlandırılmasına kadar her aşamasında yardım ve desteğini aldığım, danışman hocam Prof. Dr. Mehmet ÜNAL'a, Fulya Acıbadem Tüp Bebek Merkezindeki hasta bilgilerini kullanmama izin veren ve tez çalışmamda bilgi ve tecrübeleriyle yardımcı olan Emb.Hasan BENLİ 'ye teşekkürlerimi borç bilirim.

Her koşulda yanımda olup, desteklerini benden hiç esirgemeyen, eğitimime başladığım ilk günden beri bana her konuda yardımcı olan ve manevi gücü bana hissettiren çok kıymetli sevgili annem Şahinde ÜNAL'a, sevgili babam Osman ÜNAL'a, kız kardeşim Betül ÜNAL'a eşim Merve ÜNAL'a ve sevgili kızım Asel Neva ÜNAL'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

İSTANBUL, 2024

Orhan ÜNAL

# İÇİNDEKİLER

|   |      |
|---|------|
| ETİK BEYAN.....   | İV   |
| ÖNSÖZ.....  | V    |
| İÇİNDEKİLER .....   | VI   |
| TABLolar LİSTESİ.....   | viii |
| ŞEKİLLER LİSTESİ.....   | İX   |
| KISALTMALAR LİSTESİ.....  | X    |
| ÖZET.....   | XI   |
| ABSTRACT.....   | Xiii |
| 1. GİRİŞ .....  | 1    |
| 2. GENEL BİLGİLER.....  | 2    |
| 2.1. İnfertilite Nedir? .....   | 2    |
| 2.2. Oogenez .....  | 3    |
| 2.3.Oosit Toplama Prosedürü (Oosit Pick Up; Opu).....                   | 7    |
| 2.4. Morfolojik Olarak Oositlerin Değerlendirilmesi .....               | 8    |
| 2.5. Oositlerin Kumulus-Korona Kompleksine Göre Sınıflandırılması.....  | 8    |
| 2.6. Erkek Üreme Sistemi .....  | 9    |
| 2.6.1. Gonadlar .....   | 10   |
| 2.6.2. Spermatogenez .....  | 11   |
| 2.6.3. Spermatozoon yapısı.....   | 14   |
| 2.7. Erkek İnfertilitesi .....  | 15   |
| 2.7.1 Embriyonik gelişim .....  | 17   |
| 2.7.2 Azoospermi .....  | 18   |
| 2.7.2.1. Pre-Testiküler Azoospermi.....                                 | 18   |
| 2.7.2.2 Post-Testiküler Tıkanıklık veya Obstrüktif Azoospermi (OA)..... | 18   |
| 2.7.2.3. Obstrüktif Olmayan Azoospermi (NOA) .....                      | 18   |
| 2.7.2.4. Round spermatid .....  | 19   |
| 2.8. Round Spermatid enjeksiyonu.....                                   | 22   |

|  |    |
|--|----|
| 2.9. Azoospermik Hastaların Tedavisi .....                           | 24 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....   | 26 |
| 3.1. Çalışmaya Alınan Gruplar ve Özellikleri .....                   | 26 |
| 3.2. Hazırlık İşlemleri .....  | 27 |
| 3.2.1. Oosit Pick Up (OPU) Kültür Kabı Hazırlık .....                | 27 |
| 3.2.2. Hyaluronidaz Kültür Kabı Hazırlık Aşaması .....               | 27 |
| 3.2.3. Hyaluronidaz İşlemi Sonrası Kültür Kabı Hazırlık Aşaması..... | 28 |
| 3.2.4. ROSİ Kültür Kabı Hazırlık Aşaması .....                       | 29 |
| 3.3. Embriyo Kültürü ve İnkübasyonu .....                            | 30 |
| 3.4. Kullanılan Malzemeler, Firmalar ve Ülkeler .....                | 31 |
| 3.5. Protokoller .....   | 32 |
| 3.5.1. Ovülasyon İndüksiyonu Protokolleri ve OPU İşlemi.....         | 32 |
| 3.5.2. Tese Örneğinin Hazırlanma Aşaması .....                       | 33 |
| 3.5.2.1. Dansite Gradient Yöntemi .....                              | 33 |
| 3.5.2.2. Hyaluronidaz İşlemi Uygulama Aşaması .....                  | 33 |
| 3.5.2.3. ROSİ işlemi Uygulama Aşaması.....                           | 34 |
| 3.5.3. Fertilizasyon ve İleri Embriyo Kültürü .....                  | 34 |
| 3.5.4. Embriyo Dondurma Uygulama Aşaması.....                        | 35 |
| 3.5.5. Embriyo Çözdürme Uygulama Aşaması.....                        | 35 |
| 3.5.6. Embriyo Transferi Uygulama Aşaması .....                      | 35 |
| 4. BULGULAR.....   | 36 |
| 5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....  | 40 |
| 6. KAYNAKLAR .....   | 43 |
| EKLER.....   | 47 |
| EK-1 Etik Kurul Onayı .....  | 47 |
| EK-2 Hastane Onayı .....   | 48 |
| EK-3 Aydınlatılmış Onam Formu .....                                  | 49 |

## TABLÖLAR LİSTESİ

|   |    |
|---|----|
| Tablo 4 . 1: Hasta ve tedavi döngüsü özellikleri .....  | 36 |
| Tablo 4 . 2: Tanımlayıcı Özelliklerin Dağılımı.....   | 37 |
| Tablo 4 . 3:Taze TESE ve Dondurulmuş TESE Spermatozoidlerin Fertilizasyon Parametreleri ve Gebelik Oranlarının Karşılaştırılması..... | 38 |



## ŞEKİLLER LİSTESİ

|  |    |
|--|----|
| Şekil 2.1: Çiflerde infertalite dağılımları grafiği.....   | 3  |
| Şekil 2.2: İnsan ovaryumlarında 51 yaşına kadar folikül sayısı.....  | 4  |
| Şekil 2.3: Yetişkin insan overlerinin fotomikrografik kesitleri.....   | 6  |
| Şekil 2.4: Oositlerin morfolojik değerlendirilmesi.....  | 9  |
| Şekil 2.5: Erkek Üreme Sistemi.....  | 10 |
| Şekil 2.6: Memeli spermatogenez aşamaları.....   | 14 |
| Şekil 2.7: Olgun bir spermiyumun yapısı.....   | 15 |
| Şekil 2.8: Nomarski optikleri tarafından gözlemlenen dağınık, canlı insan testis hücreleri.....                            | 20 |
| Şekil 2.9: Seminifer tübüllerin mekanik maserasyonunun ardından kollajenaz ve DNAz ile tedaviden sonra testis listesi..... | 21 |
| Şekil 2.10: Seminifer tübüllerin enzimatik ayrışmasından sonra elde edilen çeşitli hücre tiplerinin daha fazla örneği..... | 22 |
| Şekil 2.11: ROSİ prosedürü.....  | 23 |
| Şekil 2.12: Spermatid evreleri.....  | 24 |
| Şekil 2.13: m-TESE işlemi sırasında seçilen seminifer tübüller.....  | 25 |
| Şekil 3.1: Opu Kültür Kabı.....  | 27 |
| Şekil 3.2: Hyaluronidaz Kültür Kabı.....   | 28 |
| Şekil 3.3: Hyaluronidaz İşlemi Sonrası 4 Damlacıklı Kültür Kabı.....   | 28 |
| Şekil 3.4: Round spermatid enjeksiyon Kültür Kabı.....   | 29 |
| Şekil 3.5: Multi droplet culture dish ve Electro cell fusion generator cihazı.....   | 30 |

## KISALTMALAR LİSTESİ

CSCM: Continuous Single Culture Medium

ET: Embriyo Transfer

FSH: Folikül Uyarıcı Hormon

GnRH: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon

hCG: İnsan Koryonik Gonadotropin

IVF: In Vitro Fertilizasyon

ICSI: Intrazitoplazmik sperm enjeksiyonu

LH: Luteinizan Hormon

ml : mililitre

µl: mikrolitre

mII: Metafaz II aşaması

MESA: Mikrodiseksiyon Epididimal Sperm Aspirasyonu

mikro-TESE: Mikrocerrahi Sperm Ekstarksiyonu

NOA: Obsrütif olmayan azospermi

NOA : Non-Obstrütif Azospermi

OPU: Oosit toplama işlemi

PN: Pronükleus

PESA: Perkütan Epididimal Sperm Aspirasyonu

ROSİ: Round spermatid enjeksiyonu

Round spermatid: Yuvarlak spermatid

Rpm: Dakikada devir sayısı

TESE: Testiküler Sperm Ekstraksiyon

## ÖZET

### TÜP BEBEK TEDAVİSİNDE NONOBSTRÜKTİF AZOSPERMİ OLAN HASTALARDA ROUND SPERMATİD ENJEKSİYONU YÖNTEMİNİN EMBRİYO GELİŞİMİNE VE GEBELİĞE ETKİSİ

**Amaç:** Tüp bebek tedavisi uygulanmış hastalarda, round spermatid enjeksiyonu yönteminin etkisini araştırmak amacıyla hastaların embriyo gelişimi ve gebelik oluşumunu incelenmesi amaçlanmıştır.

**Materyal ve Metot:** Acıbadem Fulya Hastanesi tüp bebek bölümünde 351 IVF hastasının bilgisayar ortamından verileri alınarak retrospektif olarak çalışılmıştır. Mikroskopik testiküler sperm ekstraksiyonu (mikro-TESE) yöntemi ile tespit edilen, round spermatidlerin enjeksiyonu (ROSI) ile embriyo gelişimi, gebelik oluşumu ve gebelik oranları üzerine olan etkileri incelenmiştir.

**Bulgular:** Çalışmamızın kriterlerine uygun 351 hasta dahil edildi. Bu vakalardan %54,4'ü (n=191) taze TESE, %45,6'sı (n=160) dondurulmuş TESE olgularıydı. N=91 (%26) hastada ET yapıldı, embriyo kaliteleri ve gebelik görülme oranları açısından anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ( $P<0,05$ ). Transfer edilen embriyolardan (%74,8) n=68'i üçüncü gün, (%25,2) n=23'ü beşinci gün transfer edildiği görüldü. Taze round spermatid ve dondurulmuş round spermatid enjeksiyonu arasında gebelik oranları açısından her iki yöntem arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir ( $P<0,05$ )

**Sonuç:** Taze round spermatid ve dondurulmuş round spermatid enjeksiyonu arasında bir üstünlük olmadığı her iki yöntem arasında gebelik oranları açısından bir farklılık gözlemedik.

Orhan ÜNAL, 2024

**Anahtar Kelimeler:** m-TESE, ROSİ , ET, Gebelik



## ABSTRACT

### THE EFFECT OF ROUND SPERMATID INJECTION METHOD ON EMBRYO DEVELOPMENT AND PREGNANCY IN PATIENTS WITH NONOBSTRUCTIVE AZOOSPERMIA UNDERGOING IVF TREATMENT

**Objective:** The aim of this study was to investigate the effect of the round spermatid injection method on embryo development and pregnancy outcomes in patients undergoing IVF treatment.

**Materials and Methods:** Data of 351 IVF patients from Acıbadem Fulya Hospital IVF department were retrospectively analyzed. The round spermatids are detected by microscopic testicular sperm extraction method (micro-TESE), and the effects of injection of these round spermatids (ROSI) on embryo development, pregnancy occurrence, and pregnancy rates were examined.

**Results:** A total of 351 patients meeting the criteria of our study were included. Among these cases, 54.4% (n=191) were fresh TESE cases, and 45.6% (n=160) were frozen TESE cases. Embryo transfer (ET) was performed in N=91 (26%) of patients, and no significant difference was found in terms of embryo qualities and pregnancy rates ( $P<0.05$ ). It was observed that out of the transferred embryos, (74.8%) n=68 were transferred on the third day, and (25.2%) n=23 were transferred on the fifth day. There was no significant difference in pregnancy rates between fresh round spermatid injection and frozen round spermatid injection methods ( $P<0.05$ ).

**Conclusion:** We did not observe a superiority of either fresh or frozen round spermatid injection method in terms of pregnancy rates.

Orhan ÜNAL, 2024

**Keywords:** m-TESE, ROSÍ, ET, Pregnancy



## 1. GİRİŞ

Azospermi, üreme yollarının tıkanması (obstrüktif azospermi) veya spermilerin ejakülatta görünmemesi için yetersiz sperm üretimi (obstrüktif olmayan azospermi) nedeniyle oluşabilir. Azospermi teşhisi, tam semen örneklerinin mikroskopik analiz kullanılarak santrifüjlenmesinden sonra spermatozoa yokluğuna göre konur. Hiçbir spermatozoanın bulunmadığı bu durumlarda, bazı bilim adamları, kemirgen hayvan modelinde halihazırda mevcut olan verilere dayanarak spermatid enjeksiyonu girişiminde bulunmuştur (Ogura vd., 1993).

Round spermatidler, kuyruk taşıyan spermilere dönüşmeden hemen önceki aşamadaki haploid erkek germ hücreleridir. Round spermatidlerin fare oositlerine enjeksiyon yapılmasının ardından canlı yavru doğduktan sonra, sperm üretemeyen bazı kısır erkekler için olgun spermatozoa yerine round spermatidlerin kullanılmasını önermektedir. İşlem round spermatid enjeksiyonu (ROSİ) olarak adlandırılır (Edwards vd., 1994)

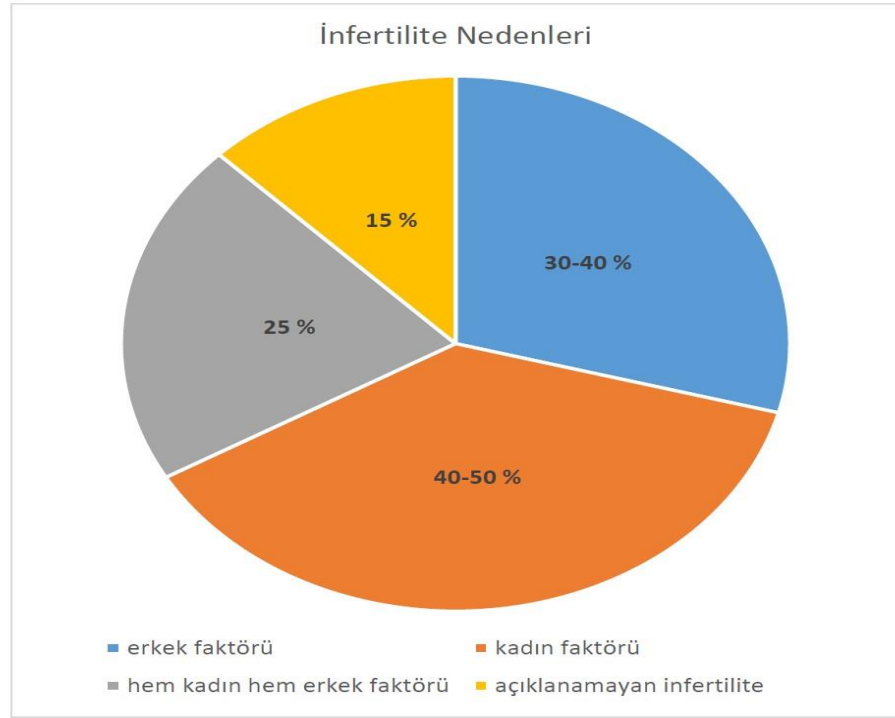
İnsan round spermatid enjeksiyonu (ROSİ) ve IVF sonrasında, diploid zigotların gelişiminin altında yatan mekanizmaları anlamak ve her birinde ilk embriyonik hücre bölünmesinden önceki interpronükleer etkileşimlerin biyolojik önemini belirlemek için daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu çalışma, bu tür zigotların, bazıları canlı embriyolara yol açabileceğinden, transfer için düşünülmesi gerektiğini göstermektedir. TESE örneklerinde testiküler spermatozoa bulunmadığında, ROSİ işlemi için round spermatid hücreleri kullanılarak oluşacak embriyoların, transferi ile gebelik elde edebilmeyi amaçlamıştır. Bu konuda daha fazla vaka sayısı ile, gebelik sonuçlarının da dahil edildiği prospektif randomize çalışmalara ihtiyaç vardır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. İnfertilite Nedir?

Kısırlık , çiftlerin 12 aylık düzenli ve korunmasız cinsel ilişkiden sonra gebeliğin oluşmaması durumudur. İnfertilite halkın %15'ine tesir etmektedir. Erkek kısırlığı ise; erkeğin düzenli ve korunmasız ilişkiye rağmen 1 yıl içerisinde gebelik elde edilememesi olarak tanımlanmaktadır. İnfertilite erkeği ve kadını etkileyen bir durumdur. Kadın kaynaklı infertilite oranı %40-50, erkek kaynaklı infertilite oranı %30-40, kadın ve erkek kaynaklı infertilite oranı %25, açıklanamayan infertilite oranı ise %15 görülmektedir. Erkek infertilitesine; Kronik stres, ürogenital anormallikler, metabolik hastalıklar, genetik bozukluklar, testise ait nedenler, sperm üretim bozukluğuna bağlı nedenler (non-obstrüktif) ve sperm taşıyıcı kanallarda oluşan tıkanıklıklar gibi çeşitli etkenler sebep olabilmektedir (Dutta vd., 2019) (**Şekil 2.1**).

Kadınların her siklusunda sadece %25 gebelik şansı olduğu belirtilmiştir. 20- 25 yaşlarındaki kadınlarda fertilite en yüksek sınırdadır. 35 yaşından sonra ise kaliteli oosit sayısı ciddi düzeyde azalır, 40'lı yaşlardan sonra minimal düzeydedir. 20-30 yaşlarındaki erkeklerde kaliteli sperm sayısı en yüksek düzeydedir. 40 yaşından sonra hareketli ve kaliteli sperm sayısı azalmaktadır (Açıkgöz, 2019).

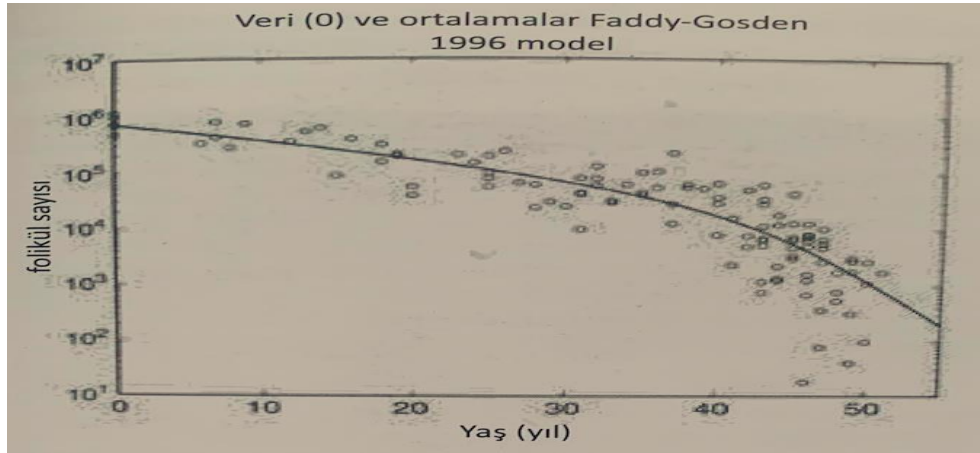


**Şekil 2.1:** Çiftlerde İnfertilite Dağılımları Grafiği (Bayram H., 2019)

## 2.2. Oogenez

Primitif germ hücreleri önce oogonia'lara daha sonra da olgun oositlere dönüşüm sürecini tanımlar. Primordial üreme hücreleri dişi gonadlara iletdikten sonra, önce oogonialara dönüşürler daha sonrasında mitotik bölünme ile sayıları artar. Üçüncü ay bitiminde oogonialardan primer oositler oluşur. Primer oositler tek tabaka yassı foliküller hücre tabakası ve etrafında ovarian stroma hücrelerinden oluşan konnektif doku ile çevrelenmiş olup bu yapı primordial folikül olarak isimlendirilir. Oluşan primer oositlerde 1. mayotik bölünme başlar, ancak bu oositler seksüel matüritenin ve menstruel siklusların başladığı puberteye kadar mayoz bölünmenin profaz evresinde (dictyotene) kalırlar. Bunda primer oositlerin çevresindeki foliküler hücrelerden salgılanan ve oositin mayotik bölünmenin bu aşamasında kalmasını sağlayan oosit maturasyon inhibitörü (OMI) olarak adlandırılan bir maddenin rol oynadığı düşünülmektedir. Bu süreçte oogoniaların büyük çoğunluğu mitoz ile çoğalırken bir kısmı daha büyük olan primer

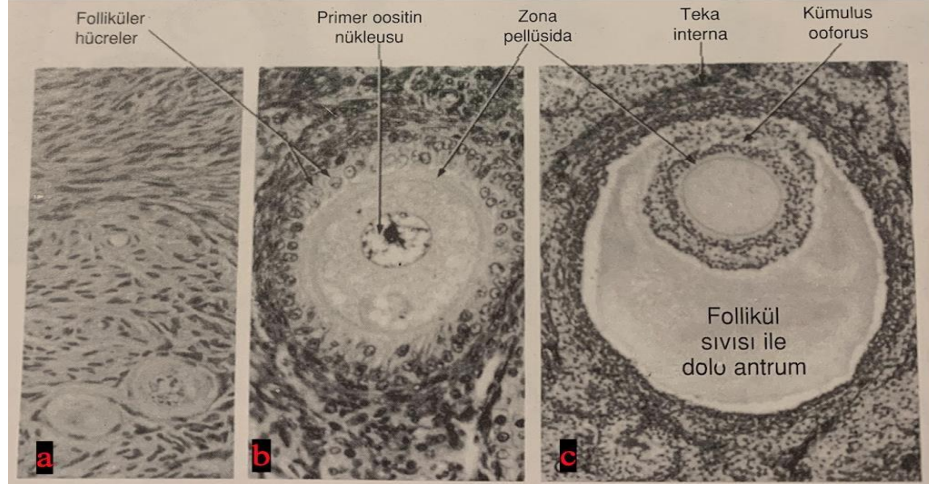
oositlere dönüşmektedir. İntrauterin yaşamın yaklaşık olarak 5. ayı civarında overlerdeki germ hücreleri maksimum seviyeye, tahminen 7.000.000'a ulaşır. Bu evrede başlayan hücre dejenerasyonu ile oogonilerin çoğu ve bu arada primer oositlerin bir kısmı atreziye uğrayarak yok olur. Yaklaşık 7. ayda oogonilerin çoğu atretik hale geçerken canlılığını sürdüren primer oositler 1. mayoz bölünme aşamasında kalırlar. Doğumdan sonra tüm primer oositler ilk mayoz bölünmenin profaz aşamasındadır ve puberteye kadar ilk mayoz bölünme tamamlanmaz. Sürekli olan atrezi sonucunda doğumda geriye yaklaşık 700.000-2.000.000 primer oosit kaldığı ve bunların da çoğunluğu ilerleyen zamanda atrezi sonucunda kaybolduğu için pubertede her iki overde yaklaşık 400.000 oosit bulunur. Puberteden sonra erkeklerde primer spermatozoidlerin üretiminin devam etmesine karşın kadınlarda doğumdan sonra primer oositin oluşumu gerçekleşmez bu sebeple kadınlar overlerinde belirli bir oosit rezervi ile dünyaya gelmektedirler. Çeşitli olayların sonucunda pubertenin başlaması ile kadınlarda menstruel ve ovarian sikluslar başlar ve hipotalamus, hipofiz, overler, uterus, fallop tüpleri, vajina ve meme bezleri arasındaki etkileşimler ile üreme sistemi gebeliğe hazırlanmaktadır (Vicdan ve Işık, 1999).



**Şekil 2.2:** İnsan Ovaryumlarında 51 Yaşına Kadar Folikül Sayısındaki Varyasyonlar (Elder., Dale, 2013)

Puberteyi başlatan olaylar sonucunda hipotalamustaki nörosekretuar hücrelerden salgılanan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) hipotalamohipofizer portal

dolaşım aracılığı ile hipofiz bezinin ön lobundan over üzerine etkili olan ve siklik ovarian değişiklikleri başlatan folikül uyarıcı (FSH) ve luteinizan (LH) hormonların salgılanmasını sağlar. Bu iki hormon overlerdeki siklik değişikliklerin uyarılmasını ve kontrolünden (ovarian siklus) sorumludur (Vicdan ve Işık, 1999). FSH overlerde ovarian foliküllerin gelişimini ve foliküler hücrelerden östrojen salgılanmasını uyarırken; LH sekonder oositte 1. mayotik bölünmenin tamamlanmasını, ovülasyonun tetiklenmesini ve oluşan korpus luteumdan progesteron salgılanmasını sağlar. Her bir ovarian siklusta salgılanan FSH'nın etkisi ile 5-15 primordial folikül olgunlaşmaya ve büyümeye başlar, çevreleyen tek sıra yassı epitel, küboid ve çok tabakalı granüloza hücrelerine dönüşür ve primer folikül oluşmaktadır (Vicdan ve Işık, 1999). Granüloza hücreleri ile onları çevreleyen stroma arasındaki bazal membran teka folikülü olarak adlandırılır. Aynı zamanda granüloza hücrelerinden veya ihtimalle oositin kendisinden salgılanan glikoprotein yapısındaki zona pellusida oositin yüzeyini sarar. Folikülün büyüebilmesi için teka hücreleri sekretuar hücreleri içeren bir iç tabaka (teka interna) ve fibroblast hücrelerini içeren konnektif dokudan oluşan bir dış tabaka (teka eksterna) olmak üzere organize olur. Gelişimin devam etmesi ile granüloza hücreleri arasında içi sıvı dolu bir boşluk şekillenerek antrumu oluşturur ve bu aşamada folikül sekonder folikül olarak adlandırılır (Vicdan ve Işık, 1999). Zamanla antrum belirgin derecede büyür ve oositi çevreleyen granüloza hücreleri sağlam kalarak antrumdan ayrılır ve kumulus ooforusu oluşturur. Olgunlaşma aşamasına gelen folikül bu süreçten sonra Graaf veya tersiyer folikül olarak adlandırılır. Graff folikülü çevreleyen teka interna, kan damarları tarafından zengindir ve steroid sekresyonunu sağlar. Destek görevi yapan teka eksterna ise ovarian stroma ile yakın ilişkidir.



**Şekil 2.3:** Yetişkin İnsan Overlerinin Fotomikrografik Kesitleri

a) Primer Oositleri İçeren İki Primordial Folikül b) Zona Pellüsida Ve Foliküler Hücrelerle Çevrili Primer Oosit İçeren Gelişen Folikül c) Matür Folikül

(*In Vitro* Fertilizasyon Ve Mikromanipülasyon Uygulamalarında Laboratuvar Kitabından Alınmıştır.)

Her bir ovarian siklusta birçok primordial folikül gelişmeye başladığı ve bunun sonucunda olgunluk aşamasına ulaşan folikül veya foliküller tespit edilmiştir. Diğerlerinin ise atreziye uğradığı ve sonucunda atretik folikül oluştuğu ifade edilmiştir. Folikülün maturasyona ulaşması ile ve bu arada folikül hücrelerinden salgılanan östrojenin tesiri ile endojen LH salgılanması uyarılır ve primer oosit ilk mayoz bölünmesini bitirir. Bu birbirine eşit olmayan iki kardeş hücrenin oluşumu ile sonuçlanır. Her biri çift yapılı 23 kromozom içeren bu hücrelerden büyük olanı sekonder oositir ve sitoplazmanın hemen tümünü alır, diğer küçük olanı ise birinci kutup cisimciğidir. Birinci kutup cisimciği zona ile oosit membranı arasındaki perivitellin aralıkta yer alır. Böylece ilk mayotik bölünme hemen ovulasyondan önce gerçekleşir. Siklus ortasında görülen endojen LH piki ile ovulasyon gerçekleştikten sonra oositin 2. mayotik bölünmesinin tamamlanması oositin fertilize olmasına bağlıdır. Fertilizasyon gerçekleşmezse oosit 24 saat içerisinde dejenere olurken, fertilizasyonun gerçekleşmesi durumunda DNA

replikasyonu olmaksızın hücre ikinci mayotik bölünmesini tamamlar. 6 Primer oosit LH etkisi ile ilk mayotik bölünmesini tamamlarken aynı zamanda over yüzeyinde bir çıkıntı oluşur ve bu çıkıntının en uç noktasında avasküler bir alan belirir (stigma). Over yüzeyindeki bu lokal zayıflama bölgesinden artan folikül içi basınç, prostaglandinler tarafından uyarılan düz kasların kasılması ve çeşitli enzimlerin etkisi ile foliküler sıvı sızıntısı başlar ve daha sonra bu belirginleşerek foliküler sıvı, oosit ve onu çevreleyen granuloza hücreleri overlerden atılır (ovulasyon). Ovulasyonu izleyerek folikül duvarında kalan granuloza hücreleri ve teka interna hücreleri vaskülarize olur ve LH etkisi ile luteal hücrelere evrilerek korpus luteumu oluştururlar ve progesteron sekresyonu başlatılır. Ovulasyon öncesi gelişen foliküllerden salgılanan östrojenin etkisi ile proliferasyonuna ulaşan endometrium, ovulasyondan sonra salgılanan progesteronun etkisi ile sekretuar faza geçerek implantasyona hazırlanır (Gökçimen ve Temel, 2009). Fertilizasyonun gerçekleşmediği durumda ovulasyondan yaklaşık 9-10 gün sonra korpus luteum dejenere olarak fibrotik bir doku olan korpus albikansa dönüşür ve eş zamanlı azalan progesteron sekresyonuna bağlı olarak implantasyon için hazırlanan endometriumun menstruel kanama ile boşalır (menstruasyon). Fertilizasyonun gerçekleştiği durumda ise gelişen embriyodaki trofoblastik hücrelerden salgılanan insan koryonik gonadotropininin (hCG) etkisi ile korpus luteum dejenerasyondan kurtulur ve gelişimini sürdürerek gebelik korpus luteumuna dönüştürülür. Gebelik korpus luteumunun fonksiyonları gebeliğin 3. ayının sonuna kadar sürer ve daha sonra gerileyerek görevini gelişmekte olan plasentaya bırakır (Çelikkalkan Şençoban ve Gaye Arzu, 2018).

### **2.3.Oosit Toplama Prosedürü (Oosit Pick Up; Opu)**

Louise Brown'ın doğumuyla infertilite tedavisinde yeni bir dönemin başladığı ifade edilmiştir. IVF tekniklerinde çok önemli gelişmeler yaşandığı ve yeni gelişmelere açık bir konu olarak güncelliğini korumakta olduğu belirtilmektedir. (Asyalı vd., 2010). İlk IVF bebeği naturel sıklusta gelişen tek bir oositin laparoskopik yöntemle aspire edilip inseminasyonun hemen gerçekleştirilmesinden sonra gelişen embriyonun transferiyle dünyaya gelmiştir. Dünyanın birçok yerindeki IVF

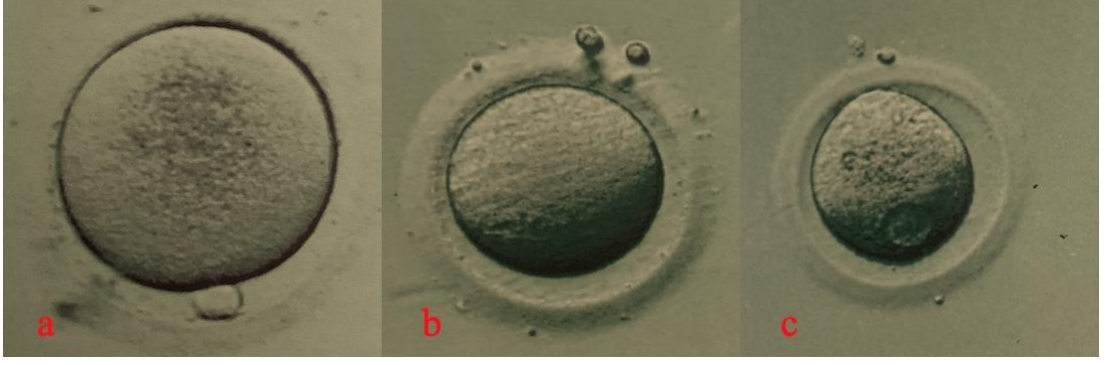
merkezlerinde kontrollü ovaryan stimülasyon protokolleriyle çok sayıda oosit elde edilmektedir.

#### **2.4. Morfolojik Olarak Oositlerin Değerlendirilmesi**

IVF’de total dölleme defekti (Total Fertilization Failure, TFF) ile karşılaşıldığında önceden sperm parametreleri etkili olduğu düşünülürken; fertilizasyon kontrolünde döllemeyen oositlerin bir bölümünün hala immatür olduğu gözlemlenmesi sonucu, oositlerde matürasyon değerlendirmesinin ve inseminasyon zamanlamasının önemli olduğu vurgulanmaktadır. Klasik IVF’de döllememenin nedeni sperm penetrasyonun gerçekleşmemesi şeklinde ifade edilmesine karşın, İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonunda (ICSI) da bir kısım oositlerin döllemeyişi oosit aktive edici faktörün (Oocyte Activating Factor, OAF) yetersizliğine bağlanmış olduğu düşünülmekle birlikte IVF’de fertilize olmamış oositlerde morfolojik anomalilerin olduğu ifade edilmektedir (Delilbaşı, 2008). IVF’den farklı olarak; ICSI’de oositlerin etrafındaki kumulus-korona hücrelerinin uzaklaştırılması ile oositlerin yapısal özelliklerini ve morfolojik özelliklerini anlamak için yararlıdır.

#### **2.5. Oositlerin Kumulus-Korona Kompleksine Göre Sınıflandırılması**

Klasik IVF’de oositlerin morfolojik özellikleri, çevresinde bulunan kumulus-korona hücrelerinden dolayı görülemez. Ancak oositlerin matürasyonlarını ve dolayısıyla inseminasyon zamanlamasını saptayabilmek için kumulus-korona kompleksindeki (Cumulus-Corona Complex, CCC) hücrelerin miktar, dağılım ve düzenlerine göre değerlendirilir. IVF’den farklı olarak ICSI işleminden önce oositin etrafındaki hücreler mekanik ve kimyasal yöntemlerle uzaklaştırılır. Bunun sonucunda yapısal özellikleri ve oosit maturasyonu daha net olarak gözlemlenebilir. İyi kalitedeki bir Metafaz 2 (MII) oosit; şeffaf veya hafifçe granüler sitoplazmaya sahip, perivitellin aralığın dar ve zona pellusidanın renksiz görüldüğü bir hücredir (Delilbaşı, 2008).

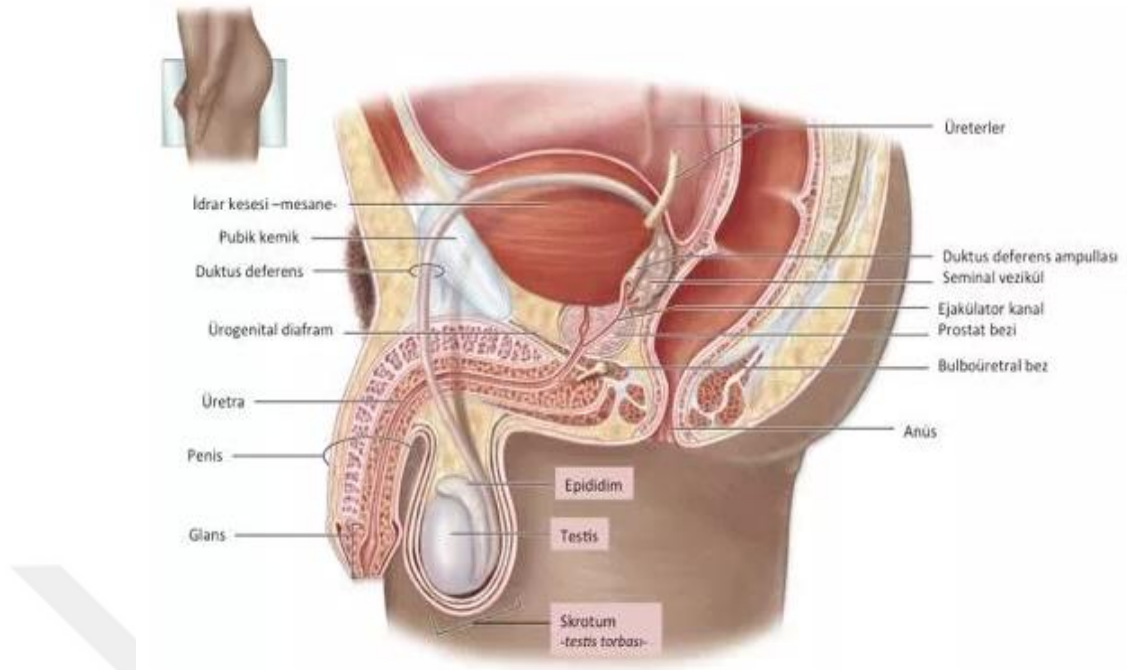


**Şekil 2.4:** Oositlerin Morfolojik Değerlendirilmesi

- (a) Metafaz II Oosit. (b) Kutup Cisimciği Oluşmayan Oosit.  
(c) Germinal Vezikül İçeren İmmatür (GV) Oosit

## 2.6. Erkek Üreme Sistemi

Erkek üreme sistemi dört bölümden oluşmaktadır. Bunlar; Testisler, genital kanallar, yardımcı bezler ve penisten oluşmaktadır. Testis, spermatogenez (spermin üretimi) ve steroidogenez (androjenlerin sentezlenmesi) olmak üzere iki görevi vardır (Michael, 2014). Genital kanallar ve yardımcı bezler spermin aktivitesi için gerekli olan salgıları üretiminden görevlidir aynı zamanda spermatozoonları ve salgıları penil uretradan dışarı atmak için kasılırlar. Bu salgılar spermatozoonlara gerekli besinleri sağlarlar. Spermatozoonlar ile yardımcı bezlerin salgıları, penis aracılığıyla dışı üreme sistemine bırakılan ejakülatı oluşturmaktadır (Anthony vd., 2019).



**Şekil 2.5:** Erkek Üreme Sistemi

### 2.6.1. Gonadlar

a) Testis: Penisin her iki yanında konumlanır. Sperm üretimi ve testosteron hormonu salgılanmasından görevlidir. Testisin hem ekzokrin hem de endokrin salgılama özelliği vardır. Spermatozoon ekzokrin ürün iken, testosteron endokrin üründür. Vücuttaki testosteronun az bir kısmı böbrek üstü bezlerinde üretilirken büyük bir bölümü testislerde üretilir.

b) Seminifer tübüller: Holokrin tipte salgılama yapan testisin salgılayıcı dokusudur ve içerisinde spermium üretilir. Her bir testiste yaklaşık olarak 250 lobül vardır. Herbir lobülde katlanmış seminifer tübüller bulunmaktadır. Bu tübüllerin epitelyum yapısı 3 tür hücreyi içinde barındırmaktadır (Miettinen vd., 1985).

1- Sertoli Hücreleri: Seminifer tübüllerin prizmatik hücreleridir (Akçaoğlu, 2018). Gelişen spermatogenik seri hücrelerinin beslenmesini ve desteklenmesini sağlar.

Bariyer oluşturarak spermatogenik hücreleri zararlı etkenlerden korur. Fagositoz ve sekresyon yapar.

2- Spermatogenik (Germ) Hücreler: Seminifer tübülü kaplayan çok katlı epiteli oluştururlar. Bu hücreler çoğalıp, şekil değiştirerek olgun spermiumları oluştururlar. Spermatogonia olarak bilinen olgunlaşmamış hücrelerin apikal kısımda bulunurlar. Olgunlaşmış hücreler ise tübülün lümen tarafında yer alıp spermatid olarak adlandırılır.

3- Leydig Hücreleri: İnterstisyumda yer alan poligonal, büyük asidofilik boyanan granüllü hücreler olduğu bildirilmiştir. Büyük yağ damlaları taşırlar. Testosteron salgılanmasını, sperm üretiminin başlamasını ve spermatogenezin devam ettirilmesini, aksesuar cinsiyet bezlerinin sekresyon faaliyetini ve sekonder seks karakterlerinin gelişimini ve devamlılığı için gereklidir (Kwang W. Jeon, 2004).

### **2.6.2. Spermatogenez**

Spermatogonyumdan sperm oluşumu ve gelişimine spermatogenez denir. Ergenlik döneminde kök ve progenitör hücre olan spermatogonyumlar yuvarlak, küçük ve yaklaşık 12 µm boyutunda olan hücrelerdir. Bu hücreler bazal membranın üstünde yer alır ve Sertoli hücrelerinin yüzeyleriyle yakın uyum içerisindeyler ancak Sertoli hücrelerinin arasında bulunan engelleyici bağlantıların altında bulunduğu için 'kan-testis' bariyerine dahil olmazlar. Toplamda 3 çeşit spermatogonyum bulunmaktadır (Kierszenbaum, 2006). Bu yapılar histolojik preparatlardaki nükleus görünümüne göre birbirlerinden uzaklaşmışlardır. Tip A koyu spermatogonyumların kromatinleri ince granüllü yapıdadırlar. Ayrıca nükleusları oval ve sıkı bazofilik özelliktedir. Spermatogonyumlar kök hücre veya bölünerek Tip A açık spermatogonyumları meydana getirir. Tip A açık spermatogonyumlar ise açık renk, ince granüllü ve oval nükleusa sahiptir. Ayrıca mitoz bölünme sonucunda sayıları artarak Tip B spermatogonyumlarını meydana getirirler. Tip B spermatogonyumlar sıkı kromatin ve yuvarlak nükleuslara sahiptirler. Tip B spermatogonyumlar mitotik bölünmelerini ve DNA sentezini

tamamlayarak primer spermatositi meydana getirmek için bölünürler (Şekil 2.6). Bu süreç yaklaşık on gün sürebilmektedir. Birinci mayoz bölünmenin 'Profaz' aşamasında leptoten, zigoten, pakiten, diploten ve diakinez evreleri görülür. Burada gerçekleşen 4 olaydan ilki homolog kromozom eşleşmesi için gerekli sinaptonemal kompleks oluşumu, homolog kromozomların eşleşmesi (sinaps), crossing-over (homolog kromozomlarda kardeş olmayan kromatidler arasında bilgi değişimi) ve son olarak disjunction (homolog kromozomların ayrılma) olayıdır. Profaz evresinden sonra kardeş kromatidler metafaz, anafaz ve telofaz evrelerinden geçerek sekonder spermatozoidlere ayrılır. İkinci mayoz bölünmenin tamamlanması ile spermatozoidler oluşmaktadır (Reece vd., 2014).

DNA sentez olayının son kısmında; primer spermatozoid oluşumundan sonra mayoz evresinden önce DNA'larını kopyalarlar, sonuç olarakta her primer spermatozoid (2n) kromozom bulunur. Mayoz 1 sonunda kromozom sayısı yarıya (2n'den n'e) düşer. Böylelikle DNA miktarını haploid duruma getirmiş olur. Mayoz 2 öncesinde DNA replikasyonu gerçekleşmediği için bölünmeden sonra spermatozoidler haploid (n) sayıda kromozoma sahip olurlar.

Spermatogenezin son evresindeki spermiyogenez spermatozoidlerin morfolojik farklılaşması ile sperm oluşumunu sağlar. Bu zaman sürecinde hücre bölünmesi olmaz. Haploid spermatozoidler yaklaşık olarak 7-8 µm boyundadır ve seminifer tübül lümenine yakındırlar. Spermiyogenez akrozom oluşumuyla birlikte çekirdek yoğunlaşmasını, uzamasın, flagellum gelişimi ve sitoplazmanın kaybolmasını içeren bir prosetir.

Kamçı (flagellum) gelişimi: Distal sentriyolden kamçı oluşumu başlar. Bu süreçte sentriyoller sorumludur. Aksonem yapısı yoğun fiberler ve fibroz kılıf ile örtülüdür. Dış yoğun fiberlerin etrafını kılıf gibi saran mitokondriyonlar boyun kısmında yer alır. Ayrıca mitokondriyonların bulunduğu bu kısım kuyruğun orta parçasıdır. Asıl parça ise kalın fiberlerin ve aksonemal kompleksin dışında bulunan fibröz kılıfı içerir. Son kısım ise kamçının son kısmı olan 5 µm kısmıdır ve sadece aksonemal kompleksi içermektedir.

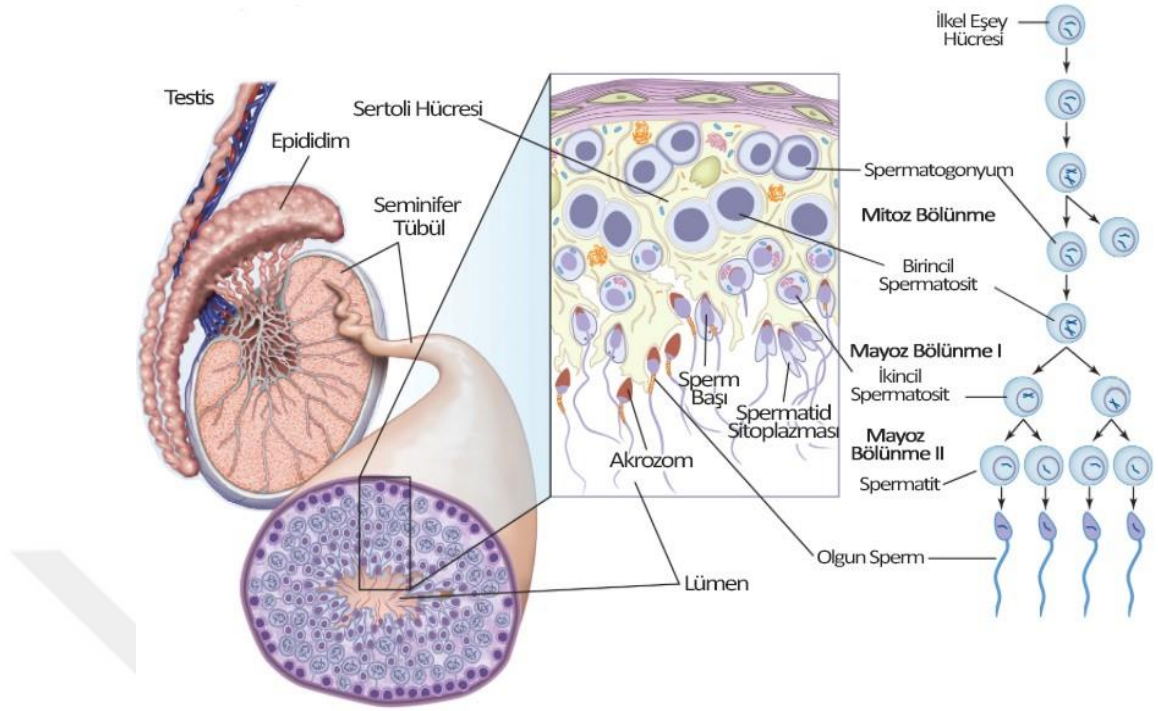
Akrozom gelişimi: Spermin baş kısmında bulunan enzim içeren gözeneklerdir. Bu enzimler hiyalüronidaz, nöraminidaz, asit fosfataz ve tripsin etkisi gösteren proteaz enzimleridir. Bu enzimler fertilizasyon sırasında ortaya çıkarak, yumurtayı delmektedir. Akrozomun gelişim evresi 4 kısımdan oluşur. Bunlar; Golgi fazı, kep (şapka) fazı, akrozomal faz ve maturasyon (olgunlaşma) fazıdır.

**Golgi Fazı:** Spermatidlerin sitoplazmasında bulunurlar. Golgi kompleksinde proakrozomal granüller birikerek golgiden ayrılır. Hemen ardından ayrılan bu granüller akrozomal granülü meydana getirirler. Bu arada sentriyoller akrozomun karşı tarafında hücre yüzeyine yakın konumlanırlar. Böylece çekirdeğin alt tarafında kamçı aksonemi meydana gelir ve sentriyoller tekrar nukleusa göç ederek, aksonemal bileşenlerinin etrafına sarar.

**Kep (şapka) fazı:** Akrozomal vezikül, nukleusun ön parçasının üzerini örter. Oluşan bu yapıya 'akrozomal kep' denir. Akrozomal kepin altında kalan nukleer zarf parçalarını kaybederken aynı anda kalınlaşarak nukleer fazda yoğunlaşmayı sağlar.

**Akrozomal Faz:** Akrozom apikal plazma zarına yaklaşarak çekirdeğin üçte birlik kısmını kaplar. Sitoplazmik mikrotübüller spermatidin arka kutbuna doğru uzar ve silindirik bir kılıf olan manşet'i oluşturur. Distal sendriyolden mikrotübül yapıdaki aksonem oluşmaktadır..

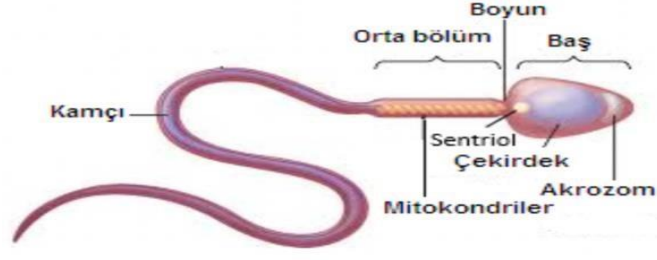
**Matürasyon (olgunlaşma) fazı:** Sertoli hücreleri spermin geri kalan sitoplazma kısmını fagosite eder. Daha sonra da spermler seminifer tübülün lümenine serbest bir şekilde salınır.



**Şekil 2.6:** Memeli Spermatogenez Aşamaları: Testiste Olgun Sperm Oluşumu İçin Gerçekleşen Spermatogenez Aşamaları (Yaung G ve ark.)

### 2.6.3. Spermatozoon yapısı

Spermiyogenez; spermatozoonun oluşması ile son bulmaktadır. Olgun bir spermin uzunluğu yaklaşık olarak 60  $\mu\text{m}$ 'dir. Spermatozoon başı yassı olup; 4,5  $\mu\text{m}$  uzunluğunda 3  $\mu\text{m}$  eninde ve 1  $\mu\text{m}$  kalınlığındadır. Kuyruk 45-50  $\mu\text{m}$  uzunluğundadır. Boyun, orta parça, esas parça ve son parça olmak üzere 4 kısımdan oluşur (Grudzinskas vd., 2022). Spermatozoonun hareket kazanmasını mikrotübül yapısı sayesinde aksonem sağlar.



**Şekil 2.7:** Olgun Bir Spermiumun Yapısı

## 2.7. Erkek İnfertilitesi

Çiftlerin 12 aylık düzenli ve korunmasız cinsel ilişkiden sonra gebeliğin oluşmaması durumudur. Bunlarında %15'i infertilite için tedavi olup, %5'i istemelerine rağmen bebek sahibi olamamaktadır. Erkek infertilitesine, erkek genital bezindeki çeşitli enfeksiyonlar, varikosel, bazı ilaçlar, çevresel faktörler, sperm atım bozukluğu, sigara kullanımı gibi çeşitli koşullar neden olur. Erkek subfertilitesinin başlıca etiyolojik nedenleri dört ana grupta incelenebilir (O'Flynn vd., 2010).

|  |   |        |
|--|---|--------|
| Primer bozukluklar (Testiküler hastalıklar)                | ➔ | %30-40 |
| Sperm iletimi bozuklukları (Post-testiküler patolojiler)   | ➔ | %10-20 |
| Hipotalamo-Hipofizer bozukluklar (Pre-testiküler nedenler) | ➔ | %1-2   |
| Sebebi bilinmeyen bozukluklar                              | ➔ | %40-50 |

## 1.Hipotalamo-Hipofizer bozukluklar (Pre-testiküler nedenler)

|                      |   |  |
|----------------------|---|--|
| Kallman sendromu     | Hipotalamik veya hipofizer tümörler (kraniofarengioma, makroadenom) | İlaçlar (GnRH analogları, glukokortikoidler) |
| Tek gen mutasyonları | İnfiltratif hastalıklar (sarkoidoz, histiyositoz)                   | Hiperprolaktinemi                            |

## 2.Primer bozukluklar (Testiküler hastalıklar)

|                      |               |                         |
|----------------------|---------------|-------------------------|
| Klinefelter Sendromu | Kriptorsidizm | İlaçlar                 |
| Radyasyon            | Varikosel     | Y Kromozom delesyonları |
| Tek gen mutasyonları | Enfeksiyonlar | Çevresel faktörler      |

### 3. Sperm iletimi bozuklukları (Post-testiküler patolojiler)

|   |  |
|---|--|
| Young sendromu                                  | Doğuştan vaz deferens yokluğu                  |
| Vaz deferens tıkanıklığı (klamidya, tüberküloz) | Kartagener sendromu (primer siliyer diskinezi) |
| Vazektomi                                       | Epididimal tıkanıklık veya fonksiyon bozukluğu |

#### 2.7.1 Embriyonik gelişim

Fertilize olmuş oosit zigot adını alır. Zigot sferik, küçük ve vertikal eksen boyunca polarizasyon gösteren bir hücredir. Zigot mitotik aktivasyon ile bölünmeye başlar ve hücre bölünmesi sonucu blastomerler oluşur. Fertilizasyondan sonra iki haploid pronukleusun DNA'larını ikiye katlamalarıyla mitoz bölünme başlar. İnseminasyondan 20-34 saat sonra iki pronukleus birleşip singami oluşur. 35,6. saatte sitoplazma ikiye bölünür ve iki diploid blastomer meydana gelir. Spermatozoon ve oosit döllenmesi sonucu, sentriyol ve mikrotübüller erkek ve dişi pronukleuslarını bir araya getirir ve inseminasyondan yaklaşık 16-18 saat sonra oosit sitoplazmasının ortasında pronukleuslar gözlenir (Delilbaşı, 2007). Pronukleusların içindeki nukleolus ve nuklear prekürsor cisimcikler (Nucleolar Precursor Body, NPB), yerleşim yerlerine göre embriyonun gelişimi ve kromozomal özellikleri hakkında bilgi verir. 18 Normal fertilize olmuş oositlerde, iki pronukleusun birleşmesinin ardından, kromozomlar kalın bir iğ boyunca dizilirler ve singami oluşur. Sentriyoller kromatidleri çeker, her iki kutup arasında gerilme olur ve inseminasyonu takiben ortalama 35,6 saate zigot, iki hücreli bir embriyo haline gelir (Delilbaşı, 2007).

Anormal fertilizasyon genelde ikinci polar cisimciğin kaldığı anormal veya fragmente pronukleus (PN) içeren oositler olarak 2 grup altında incelenir. Değişik kombinasyonları olabilir. En sık görülen fertilizasyon anormallikleri 1PN ve 3PN'dir (Işık ve Vicdan, 1999).

## **2.7.2 Azoospermi**

Azoospermi, semen örneğinde sperm ve spermatogenik hücrelerin bulunmaması olayıdır. Bu durum genellikle gonadların sekresyon bozukluklarına eşlik eden, seminal kanalların tam obstrüksiyonu sebebiyle oluşabilmektedir. Spermin seminal sıvıda olmaması sebebiyle bu durum erkek infertilitesine neden olmaktadır. Toplumda azoospermi vakalarının yaygın olarak %2 olarak bildirmişlerdir. Aynı zamanda %10-20 kadar yüksek olduğunu gösteren araştırmalar mevcuttur. Testiküler histoloji, tübüler hasardan hipospermatogeneze kadar değişen, spermatogenik bozuklukların farklı boyutlarını göstermektedir (Nadir vd., 2009).

### **2.7.2.1. Pre-Testiküler Azoospermi**

Tüm azoospermi olan erkeklerin %2'sini kapsamaktadır; hipotalamik veya hipofiz anormallikleri sebebiyle hipogonadotropik-hipogonadizm şeklinde tanımlanmaktadır (Elzanaty,2013).

### **2.7.2.2 Post-Testiküler Tıkanıklık veya Obstrüktif Azoospermi (OA)**

Tüm azoospermi olan erkeklerin %60'ını kapsamaktadır. Bu durumda spermatogenez olağandır fakat obstrüktif azoospermi veya retrograd ejakülasyon görünmektedir (Jarvi, 2010).

### **2.7.2.3. Obstrüktif Olmayan Azoospermi (NOA)**

Azoospermi yaygın olarak erkeklerin yaklaşık %10 ile %15'ini ve bütün erkek nüfusunun yaklaşık olarak %1'ini ve tüm azoospermi olan erkeklerin %40'ını kapsamaktadır. NOA testiküler yetmezlikten meydana gelmektedir. Bu durum da

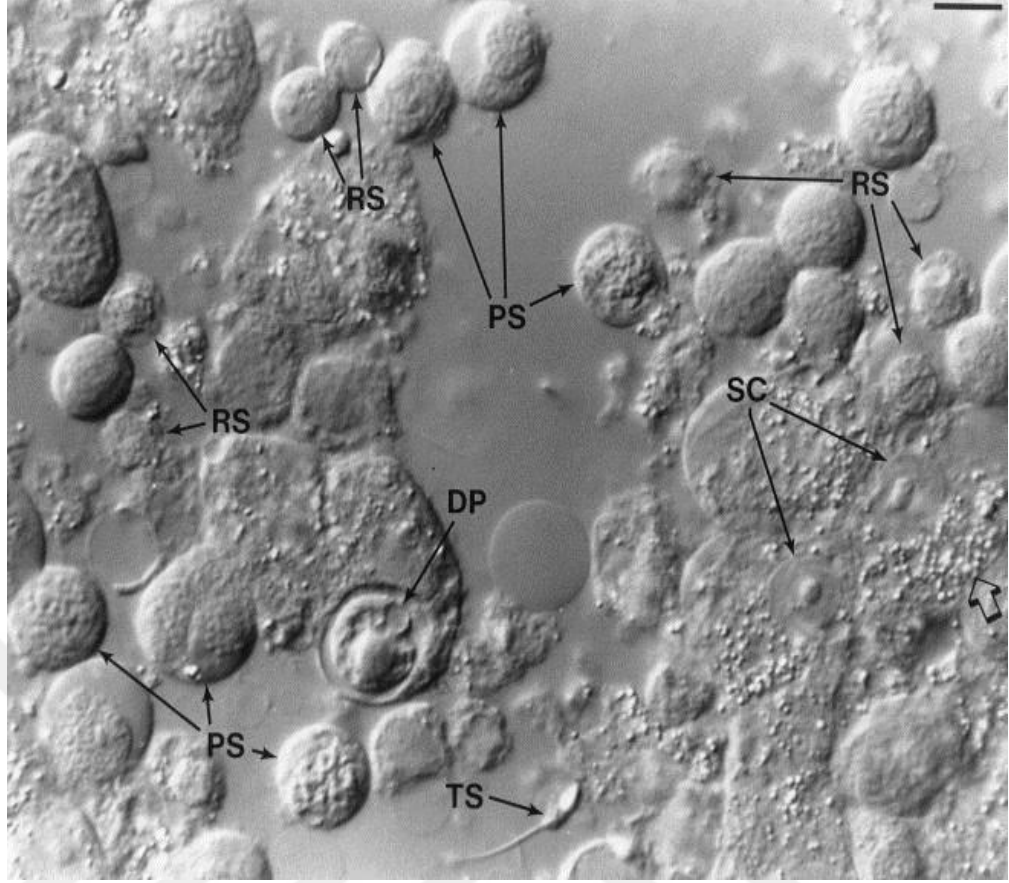
testisde olgun sperm bulunmamaktadır. Testiküler yetmezlik etiyojileri arasında seks kromozom anomalileri, translokasyonlar, Y kromozomu mikrodelsyonları, inmemiş testis, testis torsiyonu, radyasyon, toksinler ve varikosel gibi genetik bozukluklar ve çevresel faktörler yer bulmaktadır (Elzanaty, 2013).

Epigenetik faktörler olarak anormal DNA metilasyonu ve histon modifikasyonu embriyogenezin doğal akışını bozabilir ve azospermi'ye neden olabilmektedir (Vander Borcht, 2013).

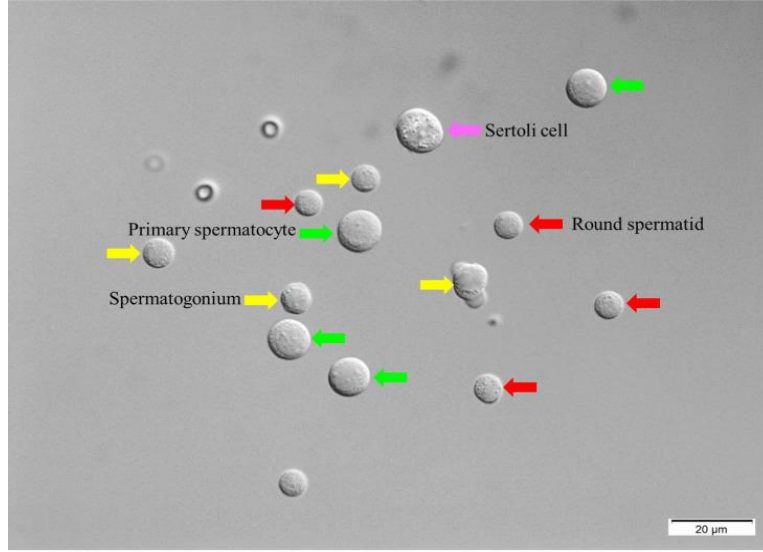
NOA genetik olarak kompleks, multifaktoriyel ve fazlasıyla heterojen bir endikasyondur. İnfertil erkeklerin %10'u ve azospermik infertil erkeklerin %60'ını oluşturmaktadırlar (Ishikawa vd., 2012). Erkek infertilitesinin en şiddetli formudur. NOA, spermatogenezde meydana gelen hatalar sonucunda ejakülatta hiç sperm bulunmadığı durumdur. Bu kusurlar pretestiküler ve/veya testiküler kaynaklı olarak karşımıza çıkabilmektedir (Hamada vd., 2013).

#### **2.7.2.4. Round spermatid**

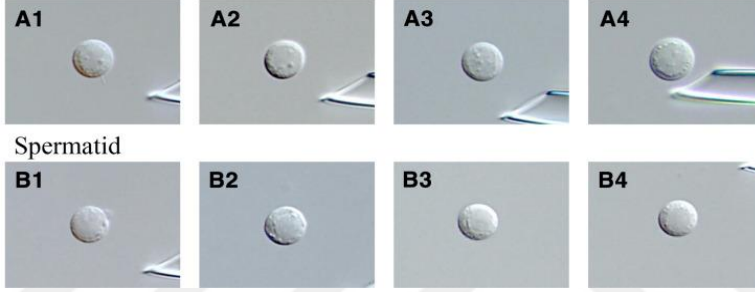
Spermatidler küçük (8µm çapında) ve yuvarlak hücrelerdir, kuyruk taşıyan spermatozoaya dönüşmeden hemen önceki aşamadaki haploid erkek germ hücreleridir. Spermatogonyum hücresinden köken alan spermatidler birbirlerine sitoplazmik köprülerle bağlı kalarak küme halinde seminifer tübülün lümenine yakın bir yerde toplanmaktadırlar (Jonhson vd., 1992).



**Şekil 2.8:** Nomarski Optikleri Tarafından Gözlemlenen Dağınık, Canlı İnsan Testis Hücreleri. Bazıları küresel görünse de Sertoli hücre çekirdekleri ( SC ) küresel değildir. Sertoli hücre sitoplazması granüler görünümdedir ( açık ok ). Küresel çekirdekli germ hücreleri arasında birincil spermatositler ( PS ) ve yuvarlak spermatidler ( RS ) bulunur. Testis spermi ( TS ) diğer hücrelerden ayrılır. Bazen kültürde dejenere germ hücreleri (birincil spermatositler; DP ) gözlenir. Çubuk, 10 mikron. (Johnson L, Texas A&M Üniversitesi'nden.)



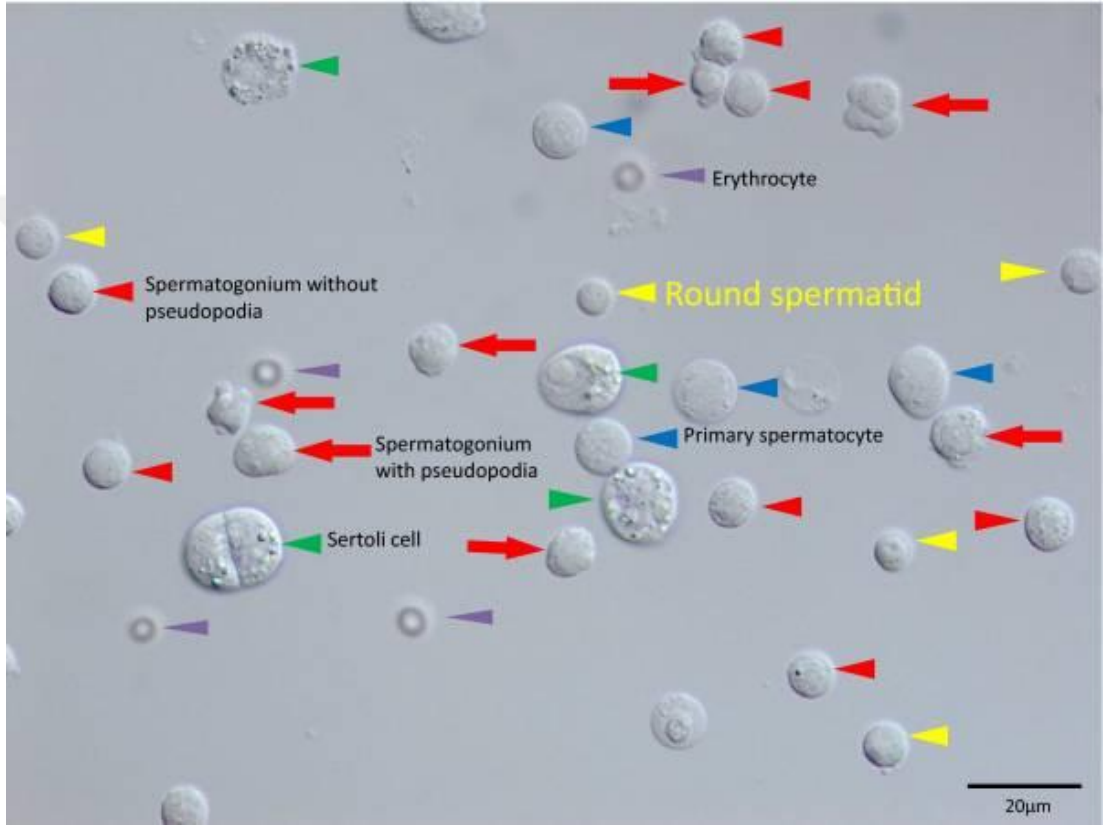
Spermatogonium



**Şekil 2.9:** Seminifer Tübüllerin Mekanik Maserasyonunun Ardından Kollajenaz Ve DNAz İle Tedaviden Sonra Testis Listesi: Sertoli hücresi ( mor ok ); yuvarlak spermatidler ( kırmızı oklar ); spermatogonia ( sarı oklar ) ve birincil spermatisitler ( yeşil oklar ). Girişim-kontrast mikroskobu altında fotoğraflandı. Bir spermatogoniumun ( A1-A4 ) yapılannda bir veya daha yaygın olarak birkaç nükleol bulunurken, spermatidin ( B1-B4 ) eklenmesinde yoktur. (Johnson L, Texas A&M Üniversitesi'nden.)

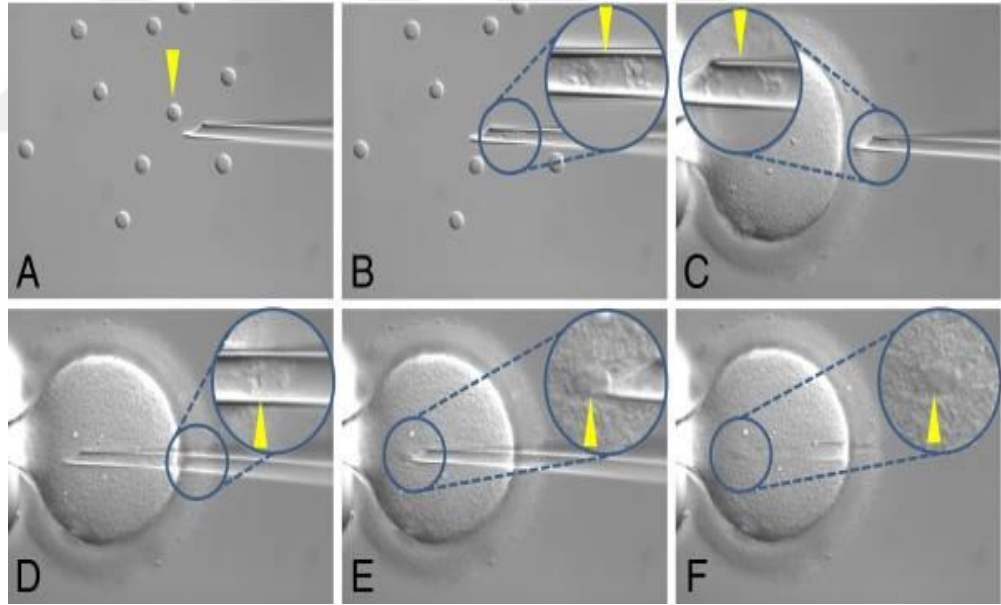
## 2.8. Round Spermadid enjeksiyonu

Olgun spermatozoa yerine yuvarlak spermadidlerin kullanılmasına yuvarlak spermadid enjeksiyonu (ROSI) adı verilmektedir (Tesarik ve Mendoza, 1996).

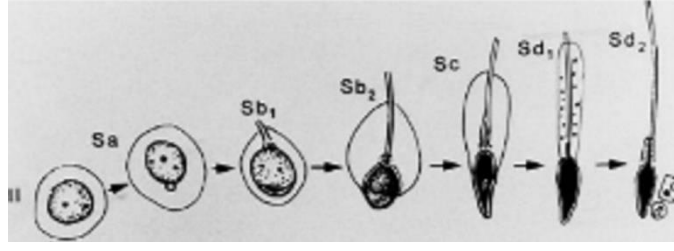


**Şekil 2.10:** Seminifer Tübüllerin Enzimatik Ayrışmasından Sonra Elde Edilen Çeşitli Hücre Tiplerinin Daha Fazla Örneği. Yuvarlak spermadidler sarı ok uçlarıyla işaretlenmiştir. (Büyütme: 400×.) (Johnson L, Texas A&M Üniversitesi'nden.)

Yuvarlak spermatidler en küçük spermatogonik hücrelerdir. (8 µm çapında). Diğer hücrelerin aksine, belirgin nükleollere sahip değiller ve çekirdeği çevreleyen sitoplazmanın kenarı, spermatogoniumdakinden daha incedir, çıkıntılı aktif psödopodyum sıklıkla spermatogonia'da görülürken, yuvarlak spermatidlerde görülmez. Hücrenin spermatid olduğuna dair kesin kanıt olan akrozom keseciği veya başlığı, spermatidlerin %10'undan azında mevcuttur. Yuvarlak spermatidin bir diğer önemli özelliği, hücre enjeksiyon pipeti içinde ileri geri çekildiğinde sitoplazmasının çekirdekten kolayca ayrılabilmesidir. Bu nedenle, bazı spermatogonialar yuvarlak spermatidlere benzese de pipetleme sitoplazmalarını spermatidlerdeki kadar kolay bir şekilde çekirdekten ayırmaz. Yaklaşık yuvarlak spermatid büyüklüğündeki lenfositler, yuvarlak spermatidlerin aksine kuvvetli pipetlemeyle bile kırılmayan "sert" bir plazma zarına sahiptirler (Tanaka vd., 2015).



**Şekil 2.11:** ROSİ Prosedürü. ( A ) Bir spermatid almadan hemen önce. ( B ) Enjeksiyon pipetine bir spermatid aspire edildi, plazma zarı kırıldı. Beyaz ok ucu spermatid çekirdeğini gösterir. ( C – F ) Spermatid enjeksiyonundan önce, sırasında ve sonrasında oositler. Ok ucu spermatid çekirdeğini gösterir. (Büyütme: A–F , 400×.) (Johnson L, Texas A&M Üniversitesi'nden.)

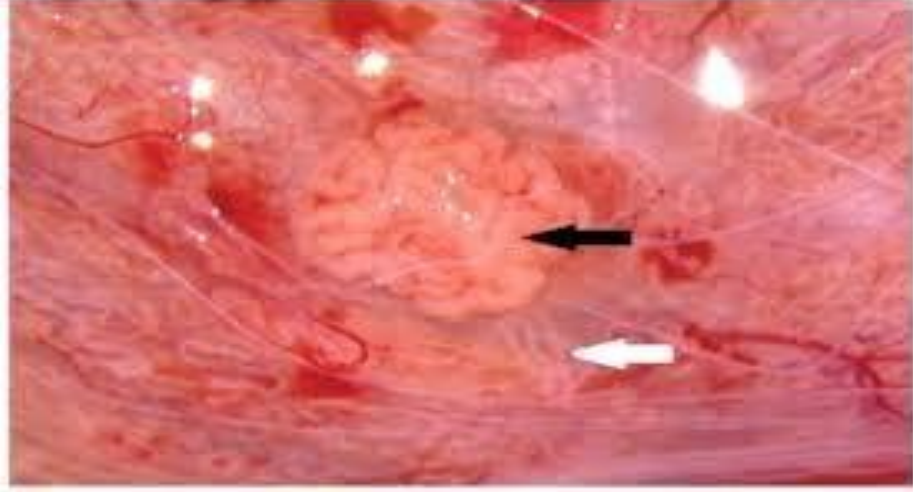


Şekil 2.12: Spermatid Evreleri

## 2.9. Azoospermik Hastaların Tedavisi

Epididime bağlı tıkanıklıklar obstrüktif azoospermi'lerin yaklaşık %20-30'unu kapsamaktadır. Proksimal tıkanıklıklarda obstrüksiyonun yerine göre vazovazostomi veya epididimo-vazostomi, distal obstrüksiyona yol açan ejakülatör kanal patolojilerinde transüretal yolla ejakülatör kanalın rezeksiyonu seçkin tedavi seçeneklerini oluşturur. Nonobstrüktif azoospermide histolojik olarak ya germ hücre aplazisi matürasyon arresti ya da tübüler skleroz ve atrofi görülmektedir. Nonobstrüktif azoospermi'de çoğunlukla testisler küçük boyutlarda ve yumuşaktır, matürasyon arrestinde ise testisler doğal boyuttadır. Hipogonadotropik hipogonadizme bağlı testiste sekonder yetmezlik gelişir ve tahlillerde FSH, LH ve testosteron hormonlarının düşük seviyede olduğu görülür. Bu tanıyı alan hastalarda hormon tedavisi ile başarı elde edilebilmektedir (Ünal vd., 2019).

Sperm üretmedeki problem testis biyopsisi ve histopatolojik değerlendirmeyle anlaşılır. Obstrüktif nedene bağlı azoospermide cerrahi yöntemle sperm bulma şansı oldukça fazladır. Nonobstrüktif azoospermi'de sperm elde etme bakımından çeşitli cerrahi yöntemler olmasına rağmen, son yıllarda mikroTESE (microdissection testicular sperm extraction) önemli yöntem olarak ön plana çıkmıştır. Mikro TESE işlemi, lokal ya da genel anestezi altında, testis torbası (skrotum) üzerinden yapılan bir ekvatorial kesi ile skrotal açıklık sağlanır ve mikroskop eşliğinde açık teknik kullanılarak sperm hücresi aranır. Biyopsiler alınırken yaklaşık x25 optik büyütme kullanılmaktadır. Tüm testis dokusunun tamamı açılarak, testis parankiminin tüm alanları incelenmektedir (Flannigan vd., 2017).



**Şekil 2.13 :** M-TESE İşlemi Sırasında Seçilen Seminifer Tübüller (25× Büyütme)

Nonobstrüktif azoospermi tedavisinde amaç, hormonları düzenlemektir. FSH normalden fazla yüksek ise düşürmek, testosteron düşük ise yükseltmek ve testosteron/estradiol dengesini kurarak fizyolojik denge sağlanmalıdır. Sperm bulunamayan bir mikroTESE'den sonra, hormon replasmanı veya ilaç tedavileriyle sperm elde etme şansı artabilir, diğer sperm elde etme yöntemleri başlıca;

- Mikrodiseksiyon Epididimal Sperm Aspirasyonu (MESA)
- Perkütan Epididimal Sperm Aspirasyonu (PESA)
- Testiküler Sperm Aspirasyonu (TESA)
- Mikrocerrahi Sperm Ekstarksiyonu (mikro-TESE)

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

#### 3.1. Çalışmaya Alınan Gruplar ve Özellikleri

2019-2021 yılları arasında Acıbadem Fulya Hastanesi tüp bebek bölümü yardımcı üreme teknikleri kliniğine başvurmuş kişilerin verileri araştırılmıştır. Acıbadem Fulya Hastanesi tüp bebek bölümünde nonobstrüktif azospermi tespit edilerek cerrahi testiküler sperm ekstraksiyonu yöntemi ile ROSİ uygulanan hastaların dosyaları geriye dönük (retrospektif) olarak incelenmiştir. Nonobstrüktif azospermi dışındaki hastalar çalışmaya dahil edilmemiştir.

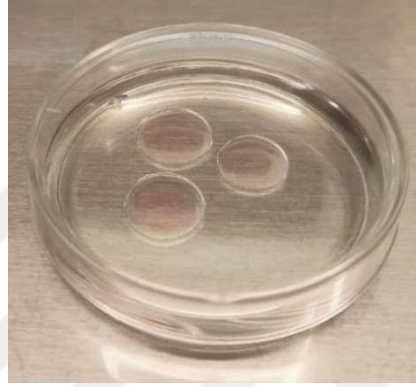
Dosyaları incelenen hastalardan kriterlere uyan 351 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmamızda nonobstrüktif azospermi hastalardan elde edilen round spermatidlerin enjeksiyonu ile yumurtaların döllenesini, embriyo gelişimini ve gebelik oluşturma potansiyeli incelenmiştir. Dosya incelenmesi ve bilgisayarlardan alınan veriler, Acıbadem Fulya Tüp Bebek Merkezine infertilite sebebinden dolayı merkeze gelen hastalar içerisinde ele alındı.

Kadın yaşı olarak, 38 yaşından küçük olan hastalar ele alındı ve yumurta sayısı 3'ten fazla olan hastalar değerlendirildi. ROSİ işlemi sonrası embriyo oluşumları ve gebelik oranları incelendi

## 3.2. Hazırlık İşlemleri

### 3.2.1. Oosit Pick Up (OPU) Kültür Kabı Hazırlık

Her bir vaka için opu işleminde kullanılmak üzere üç adet G-MOPS medium damlacığı olan ve opu işlemi tamamlandıktan sonra temiz G-MOPS mediumlu damlacığa aktarılması için iki adet 60 cm'lik kültür kabı kullanılarak opu kültür kabının damlacıkların üzeri kapanana kadar embriyo kültür yağı konuldu (Şekil 3.1).



Şekil 3.1: Opu Kültür Kabı

### 3.2.2. Hyaluronidaz Kültür Kabı Hazırlık Aşaması

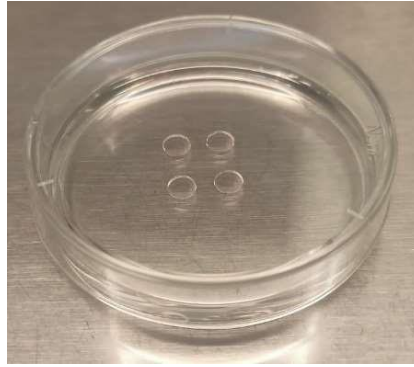
Hyaluronidaz kültür kabı hazırlığı için 1 ml'lik steril pipet ile 300 µl'lik G-MOPS damlacığı oluşturuldu. Yıkama işleminde kullanılmak üzere 7-8 adet 40-50 µl G-MOPS medium kullanılarak damlacıklar hazırlandı. 300 µl'lik G-MOPS damlacığının çerisine 100 µl Hyaluronidaz solüsyonu ilave edildi ve kültür kabının üzerini kapatana kadar embriyo kültür yağı ile kapandı (Şekil 3.2).



**Şekil 3.2:** Hyaluronidaz Kültür Kabı

### **3.2.3. Hyaluronidaz İşlemi Sonrası Kültür Kabı Hazırlık Aşaması**

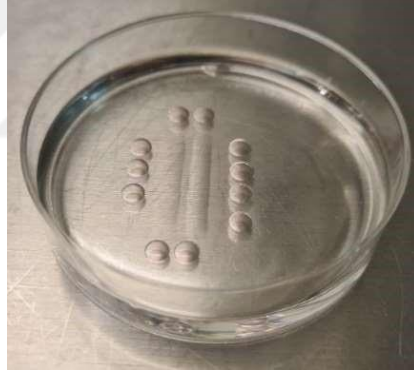
Her olguda kültür kabı kullanılarak 60 cm'lik kültür kabına dört adet 30  $\mu$ l LG mediumlu damlacık yapılarak kültür kabının damlacıkları kapanana kadar embriyo kültür yağı ile kapandı (**Şekil 3.3**).



**Şekil 3.3:** Hyaluronidaz İşlemi Sonrası 4 Damlacıklı Kültür Kabı

### 3.2.4. ROSİ Kùltür Kabı Hazırlık Aşaması

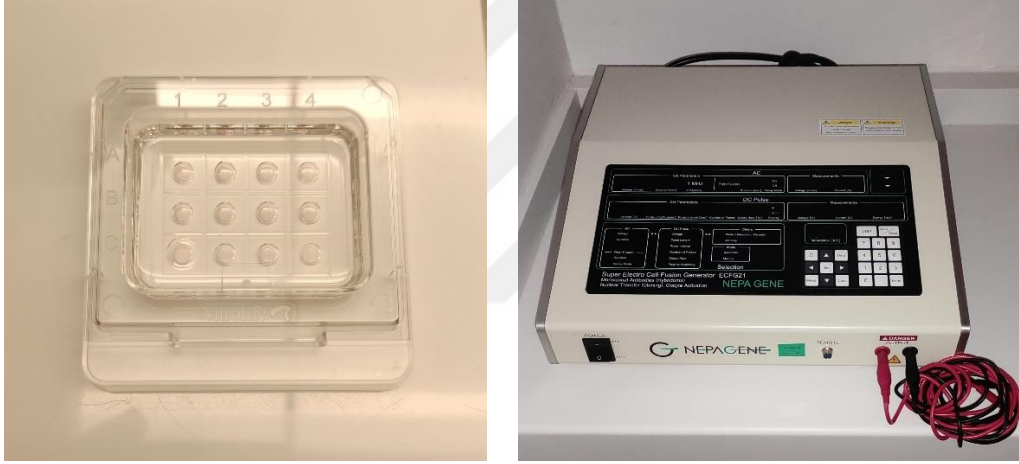
ROSİ için kullanılacak hazırlık için hazırlanmış olan G-MOPS mediumu kullanıldı. 60 ml'lik Falcon kùltür kabının kapak kısmı ters çevrildi saat 12, 3, 6 ve 9 hizasına round spermatid enjeksiyonu yapılacak MII oositler için 5 µl'lik G-MOPS Medium kullanarak damlacıklar hazırlandı. Saat 9 yönünde MII oositleri yıkama işlemi için 3 adet 10 µl'lik damlacık yapıldı. Orta merkezin sol tarafına sperm havuzu için 10 µl'lik G-MOPS mediumlu dikdörtgen şeklinde havuz yapıldı. 10 µl'lik G-MOPS medium'un sağ tarafına yine dikdörtgen biçiminde 12 µl olarak %10'luk PVP (Polyvinylpyrolidone) damlacığı aşağıdan yukarı doğru yayıldı. ROSİ kùltür kabının hazırlığı bittikten sonra üzeri damlacıklar kapanana kadar embriyo kùltür yağı ile kaplanarak 37°C'de en az yarım saat etüv de bekletilmeye alındı (**Şekil 3.4**)



**Şekil 3.4:** Round Spermatid Enjeksiyon Kùltür Kabı

### 3.3. Embriyo Kùltürü ve İnkübasyonu

Daha önce açıklanan kriterlere göre seçilen olası bir spermatid, plazma zarını parçalamak için ileri geri emilen bir enjeksiyon pipetine çekildi. Daha sonra çekirdek, az miktarda sitoplazmayla birlikte bir oosite enjekte edildi. Bu, oositin elektrikle uyarılmasından yaklaşık 20 dakika sonra gerçekleştirildi, ROSİ oositleri daha sonra global total LP medium bulunan multi droplet culture dish kuyucukların içerisine bırakılarak, inkübatör ortamı %6 CO<sub>2</sub>, %5 O<sub>2</sub> ve 37°C'de kùltür edildiler (Şekil 3.5).



Şekil 3.5: Multi Droplet Culture Dish Ve Electro Cell Fusion Generator Cihazı

### 3.4. Kullanılan Malzemeler, Firmalar ve Ülkeler

|    |                                   |                            |           |
|----|-----------------------------------|----------------------------|-----------|
| 1  | Falcon Pipetler                   | B.D.Bionsciences           | U.S.A     |
| 2  | Single Step Medium                | IrvineScientific           | U.S.A     |
| 3  | Global total LP                   | CoopSurgical               | U.S.A     |
| 4  | Nunc dış                          | ThermoScientific           | DANİMARKA |
| 5  | Hamilton Enjektör                 | Hamilton Company           | U.S.A     |
| 6  | G-Mops                            | Vitrolife                  | İSVEÇ     |
| 7  | Ependorflar                       | EppendorfGmbh              | ALMANYA   |
| 8  | Laminar Flow                      | LaboGene APS               | DANİMARKA |
| 9  | Laminar Flow Mikroskobu           | Carl ZeissGmbh             | ALMANYA   |
| 10 | Mikromaniplator                   | NarishigeScientificInt.Lab | JAPONYA   |
| 11 | ROSI İğnesi                       | Sunlight                   | U.S.A     |
| 12 | Nc-ubabator Marka Model           | International              | HOLLANDA  |
| 13 | Santrifuge                        | LaboGene APS               | DANİMARKA |
| 14 | Opu Toplama dış                   | SarstedGmbh                | ALMANYA   |
| 15 | Pastör Pipetler                   | HeinzHerenzMedi.Gmbh       | ALMANYA   |
| 16 | Sperm Washırvıne                  | IrvineScientific           | U.S.A     |
| 17 | Pure Sperm Nidakon                | NidaconInernational        | İSVEÇ     |
| 18 | 200 Likpipetör                    | EppendorfGmbh              | ALMANYA   |
| 19 | 10 Mikrolitrelikpipetör           | EppendorfGmbh              | ALMANYA   |
| 20 | Streril Sperm Kabı                | Fırat Med                  | TURKİYE   |
| 21 | Opu için Puar                     | IsolabLab. Gmbh            | ALMANYA   |
| 22 | Mini Inkubator labotec laminar    | LabotectLab.Tec.           | ALMANYA   |
| 23 | Makler Kamerası                   | SefiMedical                | İSRAİL    |
| 24 | Sperm Sayımı İçin Mikroskop       | Carl ZeissGmbh             | ALMANYA   |
| 25 | Hyalurımdase                      | Irvine Scientific          | U.S.A     |
| 26 | Polyvinylpyrrolidone              | IrvineScientific           | U.S.A     |
| 27 | Ovoil                             | Vitrolife                  | İSVEÇ     |
| 28 | 140 Denudasyon Pipeti             | GyneticsMed. Produc        | BELÇİKA   |
| 29 | Modified Human Tubal Fluid (MHtf) | IrvineScientific           | U.S.A     |
| 30 | Transfer Kateterleri              | Smith Medical              | MEKSİKA   |
| 31 | Steril Eldiven                    | Beybi Plastik              | TURKİYE   |

### 3.5. Protokoller

#### 3.5.1. Ovülasyon İndüksiyonu Protokolleri ve OPU İşlemi

Hastaların menstrüel siklusların 2. ya da 3. günü merkez de kan değerlendirmeleri ve transvajinal ultrasonografik değerlendirmeleri yapıldı. Progesteron düzeyi kanda 1.5 ng/ml'nin altında ve transvajinal ultrasonografide kistik oluşum gözlenmeyen hasta bireylere ovülasyon indüksiyon protokolü uygulandı. Ovülasyon indüksiyonun da 6. Gün antagonist (Cetrotide, Merck, İsveç) tedaviye eklendi ve hCG gününe kadar kullanılmaya devam edildi. Hastalar belirli zaman aralıklarında kan ve ultrasonografi olarak değerlendirilmeleri ve 18mm ve üzeri 3 folikül gözlemlendiğinde hCG (Ovitralle, Merck, İsveç) enjeksiyon saati verildi. OPU işlemi hCG enjeksiyonundan 35 saat sonra genel anestezi altında steril şartlarda ve transvajinal ultrason eşliğinde, oosit toplama seti, oosit toplama iğnesi ile gerçekleştirildi.

Bir gün önceden hazırlanmış olan ve OPU işleminde gerekli olan mHTF mediumu, 100 cm<sup>2</sup>'lik flasklara eşit miktarda bölündü, OPU işlemlerinde kullanılacak flasklar ısınması için 37°C sıcaklığa ayarlanmış olan etüve konuldu. 37°C'ye ayarlı ısıtıcı tablada saklanan 20 ml'lik tüplere transvajinal ultrason eşliğinde aspire edilen folikül sıvıları bir gün önceden hazırlanmış olan Modifiye HTF mediumu (Irvine Scientific) kullanılarak tüplere aspire edildi ve kısa bir süre içerisinde oosit kontrolü yapılması için laboratuvara ulaştırıldı.

Laboratuvara gelen 20 ml'lik folikül sıvısını içeren tüpler yumurta kabına dökülerek Laminar Air Flow kabin 'de stereo mikroskop aracılığıyla mikroskop altında oosit olup olmadığı kontrol edildi. Stereo mikroskop altında, steril pastör pipet ile bir gün önceden hazırlanıp gazlı ve pH değerinin 7,25 ile 7,35 aralığında sabit olan ve inkübatörde muhafaza edilen OPU kültür kabına aktarılarak işlem sonunda ikinci temiz OPU kültür kabına aktarıldı.

### **3.5.2. Tese Örneğinin Hazırlanma Aşaması**

#### **3.5.2.1. Dansite Gradient Yöntemi**

Tese örneği, aspirasyonu yapılan ve oositleri toplanan hastanın eşi işlem günü üzerinde adı, soyadı, eş adı, T.C kimlik numarası, hasta barkodu ve protokolü olan steril tese toplama kabı ile birlikte, laboratuvara ulaştırıldı.

Gradient solüsyonları 2-8 derecedeki buzdolabında bulunması gerekir ve işlemin yapılacağı sabah kullanılması için oda ısısına getirilmelidir. Gradient mediumu, %40 ve %80'lik gradientler kullanıldı. Gelen tese örneği 60 mm lik dişlerin içine konulan 1 ml sperm yıkama solüsyonu içinde seminifer tübülleri disekte edilerek birbirlerinden ayrılır. 15 ml'lik falcon tüplerine pastör pipet yardımı ile konulduktan sonra gradient işlemi için hazır hale getirilir. TESE örnekleri 12 dakika da 1400 rpm e ayarlanarak santrifüj edildi. Santrifüj bitimi sonrası ayrışan tese tübülleri 15 ml'lik falcon 2095 konik tüpün içinden steril cam pastör pipet ve enjektör ile çekilerek 1200 rpm'ye ayarlanarak 5 dakika santrifüj edilip yıkandı. Sperm yıkamak için bir önceki günden hazırladığımız origio sperm wash yıkama medium kullanıldı. Santrifüj bitiminde yıkanan tese örnekleri mikroskop altında değerlendirildi ve androloji kayıt defterine not edildi.

#### **3.5.2.2. Hyaluronidaz İşlemi Uygulama Aşaması**

Hyaluronidaz kültür kabı en az 45 dakika öncesinden hazırlanıp 37°C sıcaklıkta bulunan etüve kaldırıldı. OPU işleminden yaklaşık iki saat sonra Hyaluronidaz işlemi gerçekleştirildi. Hyaluronidaz enzimi ile oosit etrafında olan kümülüs hücrelerini uzaklaştırarak oositlerin maturasyon olmasına göre sınıflandırıldı ve GV, MI ve MII aşamasında gelmiş olan oositler hyaluronidaz sonrası hastaya ait 4'lü (Şekil 3.3) kültür kabına olgunluklarına göre aktarılarak hastaya ait etiket yapıştırıldı ve %6 CO<sub>2</sub>, %5 O<sub>2</sub>, %95 nem ve 37 °C sabit olan inkübatöre kaldırıldı.

### 3.5.2.3. ROSİ işlemi Uygulama Aşaması

ROSİ işlemi uygulaması, ısıtılmış yüzeyi olan invert mikroskopun, yaklaşık olarak 400x2 büyütmeyle belli bir açı verilmiş olan steril tek kullanımlık cam mikropipetler yardımıyla spermatid, plazma zarını parçalamak için ileri geri emilen bir enjeksiyon pipetine çekildi. Daha sonra çekirdek, az miktarda sitoplazmayla birlikte bir oosite enjekte edildi.

Kişiye ait hazırlanmış olan TESE örneği ROSİ kültür kabındaki spermatid damlacığına konuldu. MII oositler önce sol taraftaki üç damlacıkta g-mops medium ile hazırlanmış olan damlacıklarda yıkandı ardından MII oositler saat 12, 3, 6 yönlerine yerleştirildi. Oositi tutmak için holding iğnesi ile sabitlenen MII oosite uygun açı verilerek ve kutup cisimciği (polar body) saat 12 veya 6 yönüne göre ayarlanarak ROSİ iğnesi ile spermatid enjekte edildi. Bu işlem her MII oosit için tekrar edildi. Mikroenjeksiyon işlemi bittikten sonra kültür kabına alındı ve hastanın etiketi yapıştırıldı kültür kaplarında her bir kuyucuğa bir oosit aktarıldı. Kültür kabına aktarıldı.

### 3.5.3. Fertilizasyon ve İleri Embriyo Kültürü

Round spermatid mikroenjeksiyon işleminden bir gün sonra 16 ile 20 saat arasında invert mikroskop altında fertilizasyon kontrolü yapıldı. Fertilizasyon gözlemlenmiş 2 pronükleus (2PN) içeren oositler normal olarak döllenmiş olarak kabul edildi.

1. Erken Blastosist: Embriyo hacimin yarısından az blastosel kavitesine sahip olan embriyolar,
2. Blastosist: Embriyo hacimin yarısından daha fazla blastosel kavitesine sahip olan embriyolar,
3. Tam Blastosist: Blastosel kavite kısmı embriyo hacminin neredeyse tamamını kaplayan embriyolar,

4. Ekspanse Blastosist: Blastosel kavitesi hacimi iyice artmış, çap genişleyerek zonası iyice incelmış olan embriyolar,

5. HaT.Ching Blastosist: Embriyonun fazla büyüyerek incelmış olan zonayı patlatıp embriyonun bir kısmının dışarı çıkması

6. Full HaT.Ching Blastosist: Tamamen zonadan ayrılmış olan embriyolar.

#### **3.5.4. Embriyo Dondurma Uygulama Aşaması**

Embriyo transferi dondurulmadan veya dondurularak yapılabilir. Eskiden daha çok taze transfer yapılırken günümüzde çoğunlukla donmuş embriyo transferi yapılmaktadır. Embriyo dondurma işlemi ES ve VS solüsyon kullanılarak soğuk zemin’de ve oda sıcaklığında yapıldı.

#### **3.5.5. Embriyo Çözdürme Uygulama Aşaması**

Hastaya ait embriyoloji dondurma formu incelendi ve en iyi kalite embriyosu çözülmesi için dosyada gerekli işlemler yapıldı. Hastaya ait çözülecek olan embriyo straw’ı sıvı azot tank adresine göre çıkarıldı. Hasta’nın adı, soyadı, eşinin adı, protokol numarası, T.C. kimlik numarası, kaçınıcı gün kaç embriyosunun dondurulduğu kontrol edildi. Çözdürme işlemi soğuk zeminde ve oda sıcaklığında gerçekleştirildi.

#### **3.5.6. Embriyo Transferi Uygulama Aşaması**

Transfer yapılacak hasta’nın yasal durumu, klinik durumu ve embriyo kalitesine göre değerlendirildi. Embriyo çözdürme işlemi sonrası embriyo CSCM içeren kültür kabına alındı. Sabah çözülmesi yapılan blastosist embriyonun transfer sürecine kadar kellebe yapıdan tamamen açılması için transfer işlemi genelde öğleden sonra yapıldı. Embriyo CSCM kültür kabından ayrı bir CSCM Nunc Fourwell’ine (ThermoScientific) taşındı. Embriyo transferi steril şekilde transfer kataterine embriyo yüklenerek yaklaşık 20-25 mikrolitre CSCM ile hastaya 23 cm’lik embriyo

transfer katateri ile transferi gerçekleştirildi. Hastaya embriyo transfer işlemi olduktan sonra katater enjektör yardımıyla 4 hazneli embriyo kültür kabına (fourwell'e) boşaltıldı ve embriyonun endometriuma yerleşip yerleşmediği kontrol edildi.

#### 4. BULGULAR

Çalışmanın bu bölümünde 2019-2021 yıllarında Acıbadem Fulya Hastanesinin Tüp bebek merkezine başvurmuş 351 infertil cerrahi testiküler sperm ekstraksiyonu yöntemi ile ROSİ uygulanan hastaların embriyo gelişimini ve gebelik oluşturma potansiyeli incelenmiştir.

**Tablo 4 . 1:** Hasta ve tedavi döngüsü özellikleri

| <b>Döngüler</b>                       | <b>351</b>                |
|---------------------------------------|---------------------------|
| <b>Ortalama kadın yaşı</b>            | <b>30,2 (&lt;38)</b>      |
| <b>Alınan yumurta sayısı</b>          | <b>3891 (11,08 ±5,52)</b> |
| <b>Enjekte edilen oosit sayısı</b>    | <b>3842</b>               |
| <b>Döllenen oosit sayısı 2 PN (%)</b> | <b>146/3842 (3,8)</b>     |

PN = Pronükleus.

**Tablo 4 . 2:** Tanımlayıcı Özelliklerin Dağılımı

|                              |                         | n          | %           |
|------------------------------|-------------------------|------------|-------------|
| <b>Gruplar</b>               | <b>Taze TESE</b>        | <b>191</b> | <b>54,4</b> |
|                              | <b>Dondurulmuş TESE</b> | <b>160</b> | <b>45,6</b> |
| <b>ET yapılma Durumu</b>     | <b>Var</b>              | <b>91</b>  | <b>26</b>   |
|                              | <b>Yok</b>              | <b>260</b> | <b>74</b>   |
| <b>ET gebelik Durumu</b>     | <b>Gebelik var</b>      | <b>0</b>   | <b>0</b>    |
|                              | <b>Gebelik yok</b>      | <b>351</b> | <b>100</b>  |
| <b>Fertilizasyon</b>         | <b>Var</b>              | <b>146</b> | <b>41,6</b> |
|                              | <b>Yok</b>              | <b>205</b> | <b>58,4</b> |
| <b>2PN sayısı</b>            | <b>≤ 3</b>              | <b>120</b> | <b>82,2</b> |
|                              | <b>≥ 4</b>              | <b>26</b>  | <b>17,8</b> |
| <b>Embriyo Transfer günü</b> | <b>3. Gün</b>           | <b>68</b>  | <b>74,8</b> |
|                              | <b>5. gün</b>           | <b>23</b>  | <b>25,2</b> |

Çalışmamızın kriterlerine uygun 351 hasta dahil edildi. Bu vakalardan %54,4'ü (n=191) taze TESE, %45,6'sı (n=160) dondurulmuş TESE olgularıydı.

Araştırmaya katılan 351 vakadan (%74) n=260'ında çeşitli sebeplerle embriyo transferi (ET) yapılmadı. N=91 (%26) olguda ET yapıldığı görüldü.

Çalışma kriterlerimize uyan vakaları incelerken ET yapılan 91 vakada gebelik görülmedi.

Araştırmamızda bulunan 351 olgunun fertilizasyon oranlarını bulmak için 2PN değerine bakılmıştır. Sonuç olarak (%41,6) n=146 vakada fertilizasyon oluştuğu, (%58,4) n=205 olguda fertilizasyon oluşmadığı görüldü. 2PN sayılarına bakıldığında, 351 olgunun (%82,2) n=120' sinde 2PN embriyo sayısı  $\leq 3$  iken, (17,8) n=26' sını da  $\geq 4$  olarak bulundu.

Transfer edilen embriyolardan (%74,8) n=68'i üçüncü gün, (%25,2) n=23'ü beşinci gün transfer edildiği görüldü.

**Tablo 4 . 3:**Taze TESE ve Dondurulmuş TESE Spermadlerin Fertilizasyon Parametreleri ve Gebelik Oranlarının Karşılaştırılması

|                       |             | Taze<br>TESE<br>(n) | Dondurulmuş<br>TESE<br>(n) | X <sup>2</sup> | P    |
|-----------------------|-------------|---------------------|----------------------------|----------------|------|
| Gebelik Durumları     | Gebelik var | 0                   | 0                          | 0              | -    |
|                       | Gebelik yok | 191                 | 160                        |                |      |
| ET                    | Var         | 60                  | 31                         | 1,88           | 0,17 |
|                       | Yok         | 150                 | 110                        |                |      |
| Fertilizasyon         | Var         | 84                  | 62                         | 0,15           | 0,67 |
|                       | Yok         | 122                 | 83                         |                |      |
| 2PN sayısı            | ≤ 3         | 76                  | 44                         | 0,01           | 0,86 |
|                       | ≥ 4         | 16                  | 10                         |                |      |
| Embriyo transfer günü | 3. Gün      | 40                  | 28                         | 0,02           | 0,72 |
|                       | 5. Gün      | 13                  | 10                         |                |      |

Ki-Kare Testi

\*  $p < 0,005$

Tablo 4'te, yapılan analiz neticesinde kullanılan sperm türü ile ET oranı arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi. Diğer değişkenler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi. Gebelik açısından iki grupta da gebelik gözlenmedi.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Nonobstrüktif azospermi olan hastalarda round spermatid enjeksiyonu için mikro-TESE etkili bir yöntemdir. Çalışmamızda taze mTESE ve dondurulup çözülmüş mTESE ile elde edilmiş round spermatidlerle yapılan ROSİ sonucu fertilizasyonda anlamlı fark tespit edilmemiştir. 1995 yılında Antinori ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, nonobstrüktif azospermi (NOA) hastalarında taze ve dondurularak saklanılan spermatidleri kullanarak yapılan mikro-TESE sonuçlarının klinik değerlendirmesinde 30 NOA'lı hasta tedavi görmüş, bunlardan 15 hastada taze spermatid, 15 hastada dondurularak saklanılan spermatidler kullanıldığını, sonuç olarak da NOA'lı vakalarda taze testis spermatidlerinde dölleme gerçekleşmediği, dondurularak saklanan testis spermatidlerde ise %40 oranında döllemenin sağlandığı rapor edilmektedir. (Antinori vd., 1995).

Levrant ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, taze ve dondurularak çözülmüş spermatidleri ile yapılan IVF-ROSİ sikluslarında incelenen parametrelerden hiçbirinde anlamlı fark bulunmamaktadır. Fertilizasyon oranları taze testis spermatid ile %43'e karşı %47, ET oranları %46'ya karşı %54 olduğunu ve gebelik elde edilemediği bildirilmektedir (Levrant vd., 2000). Bizim yaptığımız çalışma sonucunda da taze spermatid uygulanan vakaların fertilizasyon oranı %63, dondurulup çözülmüş spermatid vakaların fertilizasyon oranı %37 bulunmuştur. ET oranları ise taze spermatid vakalarında %58 iken dondurulup çözülmüş spermatid vakalarında %41 bulunmuş, gebelik elde edilememiştir.

Yapılan başka bir çalışmada uzamış spermatidler ile round spermatidler karşılaştırıldığında, uzamış spermatidlerde 18 oositten 10'u döllendiği, ikinci grupta enjekte edilen round spermatidlerde 49 oositten 9'unda dölleme ve bölünme görüldüğü belirtilmektedir. Dondurulmuş-çözülmüş testis dokusundan elde edilen uzun spermatidlerle iki klinik gebelik elde edildiğini, round spermatidlerde gebelik saptanmadığı belirtilmektedir (Al-hasani vd., 1999). Yuvarlak spermatidlerin intrasitoplazmik enjeksiyonu, olgunlaşmanın daha ileri aşamalarında spermatojenik hücrelerin enjeksiyonu ile karşılaştırıldığında daha düşük bir fertilizasyon oranı ile

ilişkilendirilmektedir (Vanderzwalmen vd., 1998). Spermatozoa içermeyen hastalarda, yani tam spermiogenez başarısızlığı olan hastalarda spermatidlerin, oosit aktivasyonundan sorumlu faktörlerde sıklıkla eksik olduğu desteklenmektedir (Tesarik vd., 1998).

2002 yılında Urman ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada taze round spermatid kullanılarak yapılan ROSİ işlemleri sonrasında 58 olgunun 12'sinde embriyo transferi gerçekleştiğini, 2PN embriyolardan blastokist oluşum oranı %7,6 iken 1PN embriyolarda ise %6 olduğunu. 12 hastada toplam 16 blastokist transfer edildiğini; bu blastokistlerden beşi 1PN embriyolardan oluştuğunu ve gebelik elde edilemediği rapor edilmektedir (Urman vd., 2002). Bizim çalışmamızda 351 olgunun 91 tanesinde embriyo transferi gerçekleştirildi, bunlardan 2PN embriyolardan blastokist oluşum oranı %25,2 idi. 91 hastada 23 tanesinde blastokist transfer edildi.

1997 yılında Yamanaka ve arkadaşları tarafından yapılan diğer bir çalışmada 49 olgun oosite başarıyla round spermatid enjekte edildiği ve ardından 24 embriyo dokuz kadına transfer edilip, gebelik sağlanamadığı belirtilmektedir (Yamanaka vd., 1997).

1990'larda ROSİ yoluyla başarılı doğumlar ve sağlıklı yavrular elde edildiğini bildiren birçok hayvan çalışması bulunmaktadır. Kimura ve Yanagimachi 1995 yılında farelerde sağlıklı yavrularda %77 oranında dölleme ve %28,2 gebelik oranı bildirmektedir. Spermatid enjeksiyonu ile insan fertilizasyonuna ilişkin ilk rapor 1995 yılında Vanderzwalmen ve arkadaşları tarafından yapılmıştır. Tesarik ve arkadaşları daha sonra 1996 yılında 6'sı yuvarlak spermatidli olmak üzere 11 spermatid enjeksiyonu vakasından oluşan bir vaka serisi yayınladılar. Dölleme, 11 tedavi siklusunun 10'unda meydana geldiğini ve 2 ROSİ siklusunda gebelik elde edildiği rapor edilmektedir (Tesarik vd., 1996). Olgunlaşmamış germ hücresi tipinin (yuvarlak, uzamış spermatid) dölleme ve sonraki embriyo gelişimi üzerindeki etkisi tartışmalı bir konu olduğu belirtilmektedir (Tesarik ve Mendoza, 1996). Ejakülatlardan alınan round spermatid kullanılarak başarılı gebelikler rapor edilmesine rağmen spermatidlerin büyük çoğunluğu uzadığını, uzayan spermatidin

enjeksiyonundan sonra daha yüksek fertilizasyon olduğu rapor edilmektedir (Vanderzwalmen vd., 1997).

2002 yılında Sousa ve arkadaşları yapılan bir çalışmada toplamda 87 ICSI, 39 uzatılmış spermatid enjeksiyonu ve 33 yuvarlak spermatid enjeksiyonu (ROSİ) tedavi döngüsünü açıkladılar; ortalama fertilizasyon oranı değerleri %71,4, %53,6 ve %17 ve klinik gebelik oranları 31,7, 26,3 ve 0'dı. Testiküler sperm ile taze veya dondurulup çözülmüş uzun spermatidler arasında önemli bir sonuç farkı gözlenmediğini bununla birlikte, sağlam yuvarlak spermatidlerin enjeksiyonu, çok düşük dölleme oranları gösterdiğini belirtmektedirler (Sousa ve vd., 2002).

2015 yılında Tanaka ve arkadaşları 734 oositin ROSİ'sini takiben 12 kadından doğan 14 çocuğun doğumunu, 2018 yılında da 83 çiftten 90 bebeğin doğumunu, Eylül 2011'den Aralık 2014'e kadar Japonya'nın çeşitli yerlerindeki kliniklerde doğumun olduğunu, ROSİ sonrasında gebelik elde edilememesinin nedenlerinden biri, oositlerin uygunsuz aktivasyonu olabileceğini, ROSİ öncesinde oositlere elektriksel akımın uygulandığını bildirmektedirler (Tanaka vd., 2015)

Taze ve dondurulmuş round spermatidlerle yapılan 351 vakada 146'sında dölleme gerçekleşirken 205'inde dölleme gerçekleşmedi. Embriyo transferi yapılan 91 olguda ise gebelik görülmedi. Bizim yaptığımız çalışmada ROSİ öncesinde oositlere elektriksel aktivasyon uygulanmıştır. Round spermatidin mikroskopik gözlemi, doğru seçimi önemlidir. Round spermatidlerin çekirdek-sitoplazma oranı spermatogoniyadan biraz daha yüksek olmasına rağmen, daha küçük spermatogonia ile yuvarlak spermatidleri birbirinden ayırmak zor olabilir ayrıca kullandığımız round spermatidlerden bazılarının dejenerasyon sürecinde olması mümkündür. Genç spermatidleri yaşlanmış olanlardan ayırt edebilmemiz gerekiyor. Aşırı uzun süre yuvarlak spermatid olarak kalan hücrelerde DNA hasarı birikebilmektedir. (Jurisicova vd., 1999). ROSİ'nin düşük verimliliğinin altında yatan mekanizmalar konusunda çalışmaların hala sınırlı olduğu görülmektedir. Round spermatidin mikroskopik gözlemi, doğru seçimi ve oosit aktivasyonunun yeniden gözden geçirilmesi ile daha fazla klinik çalışmaya ihtiyaç duyulduğunu bildirmekteyiz.

## 6. KAYNAKLAR

Ogura A. Matsuda J. Yanagimachi R. Birth of normal young after electrofusion of mouse oocytes with round spermatids. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994; 91: 7460-7462

Edwards R.G. Tarin J.J. Dean N.Hirsch A.Tan S.L. Are spermatid injections into human oocytes now mandatory? *Hum Reprod*. 1994; 9: 2217-2219

Dutta S, Majzoub A, Agarwal A. Oxidative stress and sperm function: A systematic review on evaluation and management. *Arab J Urol*. 17(2):87-97, 2019.

Açikgöz, Y. (2019). İntrasitoplazmik sperm injeksiyonu tedavisine başlanan çiftlerde embriyo transferi öncesi siklus iptal nedenleri

Işık, A. Z., Vicdan, K. (1999a). *In Vitro Fertilizasyon Ve Mikromanipülasyon Uygulamalarında Laboratuvar*, 130

Elder, K., Dale, B. (2013). *In-Vitro Fertilizasyon*

Gökçimen, A., Temel, S. (2009). İmplantasyon ve moleküler etkileşimler. *SDU Medical Faculty Journal*, 11(4).

<https://doi.org/10.17343/SDUTFD.26427>

Çelikkalkan, Şençoban., Gaye, Arzu. (2018). Gebe sıçan ovaryumunda damar gelişiminin histolojik incelemesi

Asyalı, A., Menevşe, S. (2010). İvf Tedavisi Sonrası İmplantasyon Başarısızlığı Olan Olgularda Endometrial Igf2 Ve H19 Gen Ekspresyonlarının Fertil Grupla Karşılaştırılması

Delilbaşı, L. (2008). *In Vitro Fertilizasyon (IVF) Laboratuvar Yöntemleri*

Michael H. Ross WP. *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas.*; 2014

Anthony L. Mescher. *Junqueira Temel Histoloji Konu ve Atlas.*; 2019.

Miettinen, M., Virtanen, I., Talerman, A. (1985). Intermediate filament proteins in human testis and testicular germ-cell tumors. *The American Journal of Pathology*, 120(3), 402.

Akçaoğlu, G. (2018). İnfertil çiftlerde erkek faktörünün embriyo kalitesi ve implantasyon üzerine etkisinin retrospektif araştırılması

Kwang, W. Jeon. (2004). *International Review of Cytology. A Survey of Cell Biology*

Kierszenbaum, A., *Histoloji ve Hücre Hücre Biyolojisi-Patolojiye Giriş.*; 2006.

Reece, J B. *Campbell biology*. In: Pearson Boston; 2014:984.

Grudzinskas, J., Grudzinskas, G. J., Yovich, J. L. (2022). *Gametes - The Spermatozoon*

Nadir K., Filiz Ö., M.E.Yıldırım, Ö. Özdemir, Metilentetrahidrofolat Redüktaz (Mthfr) C677t ve A1298c Gen Polimorfizmleri, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2009: 16 (3) 157-161.

Elzanaty S. Non-obstructive azoospermia and clinical varicocele:therapeutic options. *Int Urol Nephrol*, 2013: 45:669–67.

Vander Borgh M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clin Biochem*. 2018;62:2-10.

Ishikawa T. Surgical recovery of sperm in non-obstructive azoospermia. *Asian J Androl*. 2012;14(1):109.

Hamada AJ, Esteves SC, Agarwal A. A comprehensive review of genetics and genetic testing in azoospermia. *Clinics*. 2013;68:39-60.

Johnson L, Chaturvedi P, Williams JD. Missing generations of spermatocytes and spermatids in seminiferous epithelium contribute to low efficiency of spermatogenesis in humans. *Biol Reprod*. 1992; 47: 1091-1098.

Ünal, M. S., & Özer, M. C. (2019). Nonobstrüktif Azospermi Olgularında Yeni Yaklaşımlar. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(1), 111-116.

Flannigan, Ryan, Phil V. Bach, ve Peter N. Schlegel. "Microdissection testicular sperm extraction". *Translational Andrology and Urology* 6, sy 4 (Ağustos 2017): 74552.

Tesarik J, Mendoza C. Spermatid injection into human oocytes. I. Laboratory techniques and special features of zygote development. *Hum Reprod*. 1996;11(4):772-9.

Antinori S, Versaci C, Dani G, Antinori M, Selman H. Successful fertilization and pregnancy after injection of frozen-thawed round spermatids into human oocytes. *J Hum Reprod*. 1997;12(3):554-6.

Levrán D, Nahum H, Farhi J, Weissman A. Poor outcome with round spermatid injection in azoospermic patients with maturation arrest. *Fertil Steril*. 2000;74(3):443-9.

Al-Hasani S, Ludwig M, Palermo I, Küpker W, Sandmann J, Johannisson R, et al. Intracytoplasmic injection of round and elongated spermatids from azoospermic patients: results and review. *Hum Reprod*. 1999;14(Suppl 1):97-107.

Vanderzwalmen P, Zech H, Birkenfeld A, Yemini M, Bertin G, Lejeune B, et al. Intracytoplasmic injection of spermatids retrieved from testicular tissue: influence

of testicular pathology, type of selected spermatids and oocyte activation. *Hum Reprod.* 1997;12(6):1203–13.

Urman B, Alatas C, Aksoy S, Mercan R, Nuhoglu A, Mumcu A, et al. Transfer at the blastocyst stage of embryos derived from testicular round spermatid injection. *Hum Reprod.* 2002;17(3):741–3.

Yamanaka K, Sofikitis NV, Miyagawa I, Yamamoto Y, Toda T, Antypas S, et al. Ooplasmic round spermatid nuclear injection procedures as an experimental treatment for nonobstructive azoospermia. *J Assisted Reprod Genetics.* 1997;14(1):55–62.

Kimura Y, Yanagimachi R. Mouse oocytes injected with testicular spermatozoa or round spermatids can develop into normal offspring. *Development.* 1995;121(8):2397–405.

Sousa M, Cremades N, Silva J, Oliveira C, Ferraz L, da Silva JT, et al. Predictive value of testicular histology in secretory azoospermic subgroups and clinical outcome after microinjection of fresh and frozen–thawed sperm and spermatids. *J Human Reprod.* 2002;17(7):1800–10.

Tesarik J, Cruz-Navarro N, Moreno E, Canete MT, Mendoza C. Birth of healthy twins after fertilization with in vitro cultured spermatids from a patient with massive in vivo apoptosis of postmeiotic germ cells. *Fertil Steril.* 2000;74(5):1044–6.

Tanaka A, Nagayoshi M, Takemoto Y, Tanaka I, Kusunoki H, Watanabe S, et al. Fourteen babies born after round spermatid injection into human oocytes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2015;112(47):14629–34.

Tanaka A, Suzuki K, Nagayoshi M, Tanaka A, Takemoto Y, Watanabe S, et al. Ninety babies born after round spermatid injection into oocytes: survey of their development from fertilization to 2 years of age. *Fertil Steril.* 2018;110(3):443–51.

## EKLER

### EK-1 Etik Kurul Onayı



T.C.  
*Istanbul*  
YENİ YÜZYIL  
ÜNİVERSİTESİ

FEN,SOSYAL VE GİRİŞİMSEL OLMAYAN SAĞLIK  
BİLİMLERİ ARAŞTIRMALARI ETİK KURULU

08.03.2022

İlgi : Etik Kurul Onayı.

Sayın  
Orhan ÜNAL

Istanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Etik Kurulunun 07.03.2022 tarih ve 2022/03-828 sayılı toplantı sonucunda **\*\* Tüp bebek tedavisinde nonobstrüktif azospermi olan hastalarda round spermatid enjeksiyonu yönteminin embriyo gelişimine ve gebeliğe etkisi\*\*** başlıklı çalışmanız Fen, Sosyal ve Girişimsel Olmayan Sağlık Bilimleri Araştırmaları Etik Kurul Kurulumuzca oy birliği ile **UYGUN** bulunmuştur.

Araştırmanız süresince çalışmanızda özellikle konu başlığı, gereç ve yöntemler konusu ile ilgili olarak değişiklikler söz konusu olursa tekrar değerlendirilmesi gereklidir.

Not: İşbu belge İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Fen, Sosyal ve Girişimsel Olmayan Sağlık Bilimleri Araştırmaları Etik Kurul Yönergesi temelinde kaleme alınmıştır.

İş bu belge kurum onayı dahilinde geçerlidir.

Prof.Dr.Cüneyt ULUTİN

Istanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi  
Fen,Sosyal ve Girişimsel Olmayan  
Sağlık Bilimleri Araştırmaları  
Etik Kurulu Başkanı

## EK-2 Hastane Onayı

02/02/2022

### ACIBADEM FULYA HASTANESİ DİREKTÖRLÜĞÜNE

Acıbadem Fulya Hastanesi Tüp Bebek Bölümünde biyolog olarak görev yapmaktayım. "Tüp bebek tedavisinde nonobstrüktif azospermi olan hastalarda round spermatid enjeksiyonu yönteminin embriyo gelişimine ve gebeliğe etkisi" başlıklı tez çalışması Acıbadem Fulya Hastanesinde yapılabilmesi için izin konusunda, gereğinin yapılmasını arz ederim.

Orhan ÜNAL

Prof.Dr. Mehmet ÜNAL

*Orhan ÜNAL*



## EK-3 Aydınlatılmış Onam Formu

FORM 3



T.C.  
*İstanbul*  
YENİ YÜZYIL  
ÜNİVERSİTESİ

### FEN, SOSYAL VE GİRİŞİMSEL OLMAYAN SAĞLIK BİLİMLERİ ARAŞTIRMALARI ETİK KURUL AYDINLATILMIŞ ONAM FORMU

Değerli katılımcı, sizi **Tüp bebek tedavisinde nonobstrüktif azospermi olan hastalarda round spermatid enjeksiyonu yönteminin embriyo gelişimine ve gebeliğe etkisi** konulu araştırmaya katılmaya davet ediyoruz.

Söz konusu çalışma, bir tez çalışması gerekliliğidir.

#### **Bu çalışmanın amacı:**

Round spermatid enjeksiyonu (ROSI) yapılmış olan erkek faktörlü olgulara ait verilerin retrospektif olarak kullanılması planlanmaktadır. Tüp bebek tedavisi uygulanmış hastalarda, round spermatid enjeksiyonu yönteminin etkisini araştırmak amacıyla hastaların embriyo gelişimi ve gebelik oluşumunu incelenmesi amaçlanmıştır.

#### **Kullanılacak yöntemler:**

Çalışmamızda embriyo gelişimi ve gebelik oluşturması için round spermatid enjeksiyonu yöntemi kullanılarak yumurtanın döllenmesini ve embriyonun gelişimi incelenecektir. Mikroskopik testiküler sperm ekstraksiyonu (mikro-TESE) yöntemi ile tespit edilen, round spermatidlerin enjeksiyonu (ROSI) ile embriyo gelişimi ve gebelik oluşumu takip edilecektir.

**Açıklamalar:**

*Elde edilecek tüm veriler anonim olup, tamamen gizli kalacaktır. Hiçbir veri başka bir formatta başka bir amaçla yayınlamayacaktır. Veriler güvenli bir ortamda saklanacak ve sadece araştırmacı erişime sahip olacaktır. Herhangi bir kayıt veya yazılı metin kullanıcı tarafından çalışma tamamlandığında yok edilecektir. Bu çalışmaya katılım gönüllüdür. Bu çalışmaya katılmak veya katılmamak, Yeni Yüzyıl Üniversitesi ile mevcut veya gelecekteki ilişkilerinizi etkilemez. Eğer katılmaya karar verirsiniz, istediğiniz zaman ayrılma hakkına sahip olup tüm verilerinizin tahrip edilmesini isteyebilirsiniz.*

*İletişim ve Sorular için lütfen Orhan UNAL (05067240491) ile irtibata geçiniz.*

**Rıza Beyanı:**

Yukarıdaki bilgileri okudum ve aydınlatıldım,   
Çalışmaya katılmayı kabul ediyorum.

**İmza:****Tarih:****Araştırmacı İmzası:****Tarih:** 16.02.22