



T.C.

UFUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI

KLİNİK EMBRİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**SPERM SAYISI VE HAREKETLİLİĞİ NORMAL OLGULARDAKİ,
NORMAL MORFOLOJİSİ SIFIR, MAJOR ANOMALİLİ VE
NORMALİ OLAN ÖRNEKLERİN EMBRİYO GELİŞİM VE
GEBELİK SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HÜSEYİN GÜNEŞ

ANKARA

2021

T.C.
UFUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM ANABİLİM DALI
KLİNİK EMBRİYOLOJİ YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

**SPERM SAYISI VE HAREKETLİLİĞİ NORMAL OLGULARDAKİ,
NORMAL MORFOLOJİSİ SIFIR, MAJOR ANOMALİLİ VE
NORMALİ OLAN ÖRNEKLERİN EMBRİYO GELİŞİM VE
GEBELİK SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HÜSEYİN GÜNEŞ

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. RECAİ PABUÇCU

ANKARA

2021

BİLDİRİM

Hazırladığım tezin tamamen kendi çalışmam olduğunu ve her alıntıya kaynak gösterdiğimi taahhüt eder, tezimin kağıt ve elektronik kopyalarının Ufuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü arşivlerinde aşağıda belirttiğim koşullardan birine göre saklanmasına izin verdiğimi onaylarım:

(X) Tezimin tamamı her yerden erişime açılabilir.

15.01.2021

HÜSEYİN GÜNEŞ



TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince teorik ve deneysel yönden altyapı oluşturmamı sağlayan, bu süreçte tecrübeleri ile destek olan, tez çalışmalarım için olanak sağlayan değerli hocam Prof. Dr. RECAİ PABUÇCU' ya teşekkür ederim.

Yıllardır hiçbir fedakarlıktan kaçınmadan bugünlere gelmemi sağlayan, her zaman en büyük destekçilerim olan aileme sonsuz teşekkürü borç bilirim.

Her zaman yanımda olan ve destekleyen çekirdek ailem eşim Aydan Güneş'e kızım Öykü Güneş' e teşekkür ederim.

Tez çalışmamda bana desteği olan, aynı zamanda klinik embriyolojiye yönlendiren üniversiteden arkadaşım ve şuan laboratuvar sorumlum olan Özgür Doğuş Demirkıran'a teşekkür ederim.

Tez çalışmamda her türlü sıkıntıda yardımına koşan arkadaşım Sadık Doğan'a teşekkür ederim.

Hüseyin GÜNEŞ

Ocak 2021

ÖZET

Güneş Hüseyin. Sperm Sayısı ve Hareketliliği Normal Olgulardaki, Normal Morfolojisi Sıfır, Major Anomalili (Globozoosperm, Makrosefal ve Tail stump) ve Normali Olan Örneklerin Embriyo Gelişim ve Gebelik Sonuçlarının Karşılaştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 2021

İnfertilite, çiftlerin 1 yıl korunmamasına rağmen gebe kalamamasıdır. Çiftlerin infertilite nedenlerini ortaya çıkarmak için kadın ve erkek infertilitesi olarak ikiye ayırıp, öncelikli olarak semen analizi ovulasyon araştırması ve tübal açıklığın kontrolü amacıyla klinik ve laboratuvar tetkikleri yapılmaktadır. Bu çiftler incelendiğinde, %30-40 erkek faktörünün %40-50 kadın faktörünün ve %25 oranında her ikisine bağlı faktörlerin neden olduğu ortaya çıkmaktadır. Ayrıca tüm infertilite nedenlerinin %15'ini açıklayamayan infertilite oluşturmaktadır. Kruger kriterlerine göre, %4'ün altında normal morfolojili sperm görülmesine teratozoospermi denir. Spermlerdeki morfolojik anomalilerin şiddetli olması, onun döllenme kapasitesini olumsuz etkilemektedir. Bu tezin amacı; erkeklerin sperm sayısı ve hareketliliğinin normal olmasına rağmen sperm morfolojisi anormal olan, major anomalili olan (globozoosperm, macrocephal sperm, tail stump sperm) görülen vakalarda YÜT (Yardımcı üreme tetkikleri) uygulamalarında embriyo gelişimi ve gebelik sonuçlarının araştırılmasıdır. Bu çalışmaya 2017-2019 yılları arasında Centrum Clinic Tüp Bebek Merkezine başvurmuş 100 hasta dahil edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: İnfertilite, sperm morfolojisi, gebelik, teratazoosperm

ABSTRACT

Güneş Hüseyin. Comparison of the Embryonic Development and the Pregnancy Rates of the Cases Which Has Normal Sperm Count and Motility But Major Abnormal Morphology (Globozoospermia, Mecrocephal Anomaly , Tail Stump Anomaly), Master Thesis, Ankara, 2021

Infertility is a condition in which there is no pregnancy despite non-protection and regular sexual intercourse. In order to reveal the causes of infertility of couples , semen analysis, ovulation and tubal patency should be controlled by dividing into two as female and male infertility by performing clinic and laboratory tests. When these couples are examined, it is revealed that 30-40% male factor, 40-50% female factor and 25% both related infertility observed. Also , unexplained infertility is seen in 15% of all infertility cases. According to Kruger Criteria, seeing sperm which normal morphology below 4% is called teratozoospermia. The aim of this thesis is investigation of the embryonic development and pregnancy rates of the cases which has normal sperm count and motility but major abnormal morphology (globozoospermia, mecrocephal anomaly, tail stump anomaly). This study included 100 patients who applied to Centrum Clinic IVF Center between 2017-2019

Key words: Infertility, Sperm morphology, Pregnancy, teratozoopermia

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

KABUL VE ONAY	i
BİLDİRİM	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
GRAFİKLER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. SPERM.....	2
2.2. ERKEK ÜREME SİSTEMİ	3
2.3. TESTİS.....	4
2.3.1. Leydig Hücreler.....	5
2.3.2. Seminifer Tübüller	6
2.3.3. Sertoli Hücreler	6
2.4. SPERMATOGENEZ	6
2.5. SPERMİYOGENEZ.....	8
2.6. SPERMİN YAPISI.....	9
2.7. ERKEK İNFERTİLİTESİ	9
2.8. SEMEN ANALİZİ	11
2.9. SPERM MORFOLOJİSİ.....	12
2.10. SPERM ANOMALİLERİNİN TANIMLANMASI	14
2.10.1. Baş Şekil Anomalileri	14
2.10.2. Akrozom Anomalileri	17
2.10.3. Nükleus Anomalileri	17
2.10.4. Orta Kısım Anomalileri.....	17

2.10.5. Kuyruk Anomalileri	18
2.10.6. Karışık Anomaliler	19
2.10.7. İmmatür Form	19
2.10.8. Aglutinasyon	19
2.10.9. Sınıflandırılmayan	19
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	21
3.1. MATERYAL.....	21
3.2.YÖNTEM.....	22
3.2.1. Ejekulat ile Sperm Alma İşlemi	22
3.2.2. Spermin İncelenmesi	23
3.2.3. Sperm Hazırlama Tekniği	23
3.2.4. OPU ve Denudasyon	24
3.2.5. ICSI İşlemi	24
3.2.6. Klivaj Dönemi Embriyo Sınıflandırılması	25
3.2.7. Blastosöl Kavite Oluşumuna Göre Sınıflandırma	26
3.2.8. Embriyo Transferi	28
4. BULGULAR VE SONUÇ	30
5.TARTIŞMA	35
KAYNAKLAR	38
EKLER.....	41
EK-1. ETİK KURUL ONAYI	41
ÖZGEÇMİŞ.....	42

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DNA:	Deoksiribo Nükleik Asit
IVF:	In vitro fertilizasyon
ÜYT:	Üremeye Yardımcı Teknikler
WHO:	Dünya Sağlık Örgütü



TABLolar DİZİNİ**Sayfa No:**

Tablo 1. Semen Analizi Referans Değerleri.....	11
Tablo 2. Krugerin kriterlerine göre sperm morfolojisi.....	13
Tablo 3. Gruplara göre çalışmaya dahil edilen olguların ve eşlerinin yaşlarının karşılaştırılması	30
Tablo 4. Gruplara göre çalışmaya dahil edilen olguların sperm sayıları, sperm hareketliliği ve morfoloji sonuçları karşılaştırması.....	31
Tablo 5. Gruplara göre çalışmaya dahil edilen olguların deneme sayıları ve değerleri karşılaştırması	33
Tablo 6. Gruplara göre çalışmaya dahil edilen olguların total freez, fresh ET, gebelik sonucu, kese görülme ve canlı doğum oranlarının karşılaştırması.....	34

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1. Spermin mikroskopik anatomisi	3
Şekil 2. Erkek Üreme Organları	4
Şekil 3. Testis yapısı	5
Şekil 4. Spermatogenez.....	7
Şekil 5. Spermiyogenez	8
Şekil 6. Macrocephal sperm.....	14
Şekil 7. Globozoospermia görüntüsü.....	15
Şekil 8. Pin-head sperm mikroskop görüntüsü	15
Şekil 9. Diadem defekti sperm.....	16
Şekil 10. Vakuollü Sperm.....	16
Şekil 11. Tail-Stump sperm görüntüsü	18
Şekil 12. Kruger morfolojik kriterlerine göre sperm morfolojisi değerlendirilmesi	20
Şekil 13. Olympus IX71 floresans mikroskobu	25
Şekil 14. Early blastokist	26
Şekil 15. Blastokist embriyo	26
Şekil 16. Full blastokist embriyo	27
Şekil 17. Expanded Blastokist embriyo	27
Şekil 18. Hatching blastosit embriyo	28
Şekil 19. Hatched blastokist embriyo	28

GRAFİKLER DİZİNİ

Sayfa No:

Grafik 1. Gruplara göre sperm sayıları dağılımı32

Grafik 2. Gruplara göre sperm hareketliliği dağılımı32



1. GİRİŞ

İnfertilite, çiftlerin bir yıl boyunca herhangi bir koruma uygulanmadığına ve düzenli cinsel ilişki bulunduğu halde hamileliğin olmadığı bir durumdur. İnfertilite sorunu, çiftlerin yaklaşık %10-15'ini etkileyen bir sorundur. İnfertilite sorunu olmayan bir çift, yumurtlama döngüsü başına %25 oranında hamile olma şansına sahiptir. Doğum kontrol kullanmayan normal çiftlerin %57'si ilk üç ay içinde, altı ay içinde %72 ve bir yıl içinde %85'i gebe kaldıracılmaktadır. İnfertil çiftlere sunulan tedavi alternatifleri arasında Üremeye Yardımcı Teknisyenler (UYT), yüksek başarı oranlarına sahip önemli bir yere sahiptir. Genellikle, in vitro fertilizasyon (IVF), dişi yumurtalıklardan oositlerin toplanmasını, in vitro ortamda oosit fertilizasyonunu ve embriyoların uterusu transferini içerir. Bazı IVF işlemleri, doğrudan oosit içine sperm enjekte edilerek gerçekleştirilir (Mikroenjeksiyon = ICSI). IVF / mikroenjeksiyon uygulamasında tanıya bağlı olarak klinik gebelik başarı oranları% 30-40 arasında düşüktür.

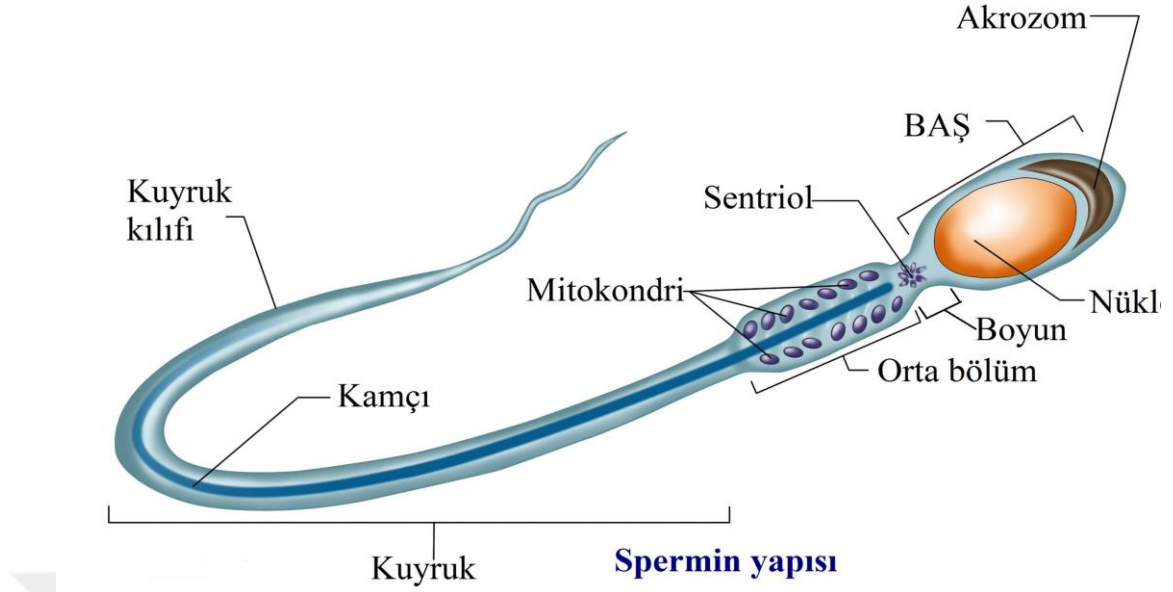
Son yıllarda sperm morfolojisinin yardımcı üreme merkezlerinde klinik yönde büyük önem taşıdığı ortaya konmuştur. Detaylı semen analizi , morfolojik değerlendirme ile kombine edildiğinde erkek infertilite potansiyelinin araştırılmasında en önemli test haline gelmiştir. Spermin kalitesinin en önemli göstergelerinden biri morfolojisidir. Spermin morfolojisinin değerlendirilmesinde iki metod vardır. WHO kriterleri ve Krugerin kesin değerleri. Bu değerlendirmelere göre yapılan sperm morfolojisi incelemesinde baş, boyun ve kuyruk bölgesine ait toplamda 38 adet anomali belirlenmiştir. Bu değerlendirmeler sonucunda normal baş morfolojisi % 4 ün altında olan sperm örnekleri teratozoospermia olarak adlandırılır.

Bu tezin amacı; erkeklerde sperm sayısı ve hareketliliği normal olan hastaların sperm morfolojisinin; normal morfolojisi sıfır olan, major anomalisi olan ve normali olan hastaların embriyonik gelişim süreci ve bu sürecin gebelik yansıması karşılaştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. SPERM

Sperm erkek bireye ait üreme hücresidir. Testislerde oluşumu başlayan spermin ilk üretimi erkeğin ergenliğe girmesiyle başlar ve yaşam boyunca sürer. Sperm hücrelerinin testislerde başlayan üretimi ve olgunlaşma süreci 72 gün kadardır. Spermin baş kısmında bulunan döllenme esnasında oosite aktaracağı kalıtsal bilgiyi (DNA) taşır. Spermde kuyruk vardır ve hareketlidir. Bir cinsel ilişki sırasında yaklaşık 150-200 milyon sperm salgılanır. Oositi yalnızca bir sperm dölleyebilir. Bir sperm hücresinin uzunluğu 60µm kadardır. Sperm hücresi baş, boyun, orta kısım ve kuyruk bölümlerinden oluşur. Oval ve düz baş 4.5x3µ'dir. Kafanın çoğu çekirdeği sarar. Başın 2/3 ön kısmı akrozom adı verilen bir kılıfla kaplanmıştır. Sperm oosite ulaştığında, oosite girebilmek için akrozomunda bulunan enzimler vasıtasıyla oosit zarından geçerek DNA sını oosite aktarmış olur. Akrozom, spermin baş kısmında bulunan çekirdeği sapka şeklinde saran kısımdır. Akrozom içerisinde lizozom ve golgi aleti gibi organelleri bolca bulundurur. Akrozom içerdiği enzimler oositin çevresini saran granüloza hücreleri ve zarın eritilmesini sağlar. Korneal oofor erime hiyalüronidazı, korona radyatörünü eriten korona nüfuz eden bir enzimdir (CPE) ve erime noktası zona pelusidum olan akrosin enzimidir. Sperm kafasının yumurta sitoplazmasına girdikten sonra açık os onarımı için gerekli olan nuriminidaz enzimi akrozomal olarak serbest bırakılır (1). Spermiler meni olarak isimlendirilen kıvamı yoğun bir sıvının içinde bulunur (1). Spermilerin küçük bir bölümü epididim'de, çoğunluğu ise vas deferens'te depolanır ve fertilizasyon özelliklerini en az 1 ay kaybetmezler (2). Spermin mikroskop altındaki anatomisi şekil 1'deki gibidir.



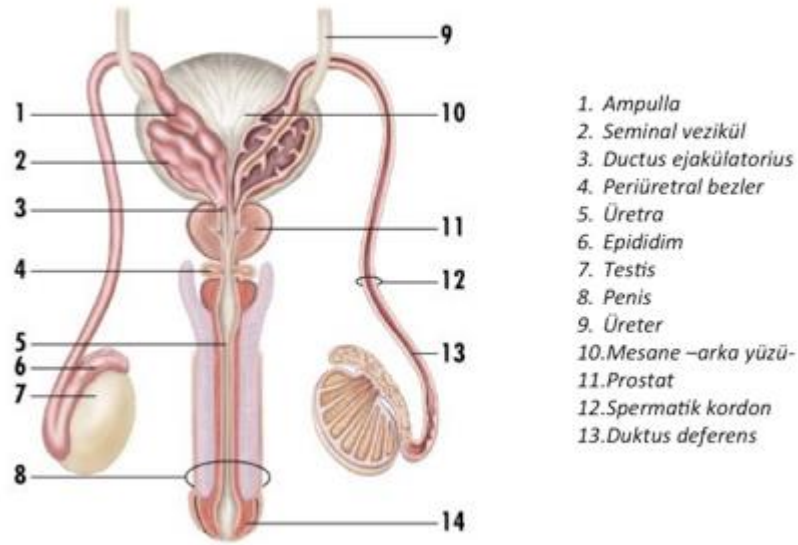
Şekil 1. Spermin mikroskopik anatomisi

2.2. ERKEK ÜREME SİSTEMİ

Erkek üreme sistemi, üreme hücrelerini oluşturan sistemdir. Bu sistem sperm üretimi sağlandıktan sonra onları dişi üreme sistemine aktarır, hormon üretimi ve salgılanmasını sağlar.

Erkek üreme sisteminde testisler (bir çift gonad), genital boşalma yolları (tubuli rekte, duktuli efferentes, rete testis, epididymis , ductus deferens , ductus ejakulatoris) ve aksesuar bezlerle (glandula bulboüretralis, prostat ve vezikula seminalis) penisten oluşur.

Erkek üreme organları iki kısımda incelenir: dış genital organlar ve iç genital organlar. Dış üreme organları scrotum ve penistir. İç üreme organları testisler ve spermatazoonun depo ve taşıyıcısı olarak görev yapan sistemdir.



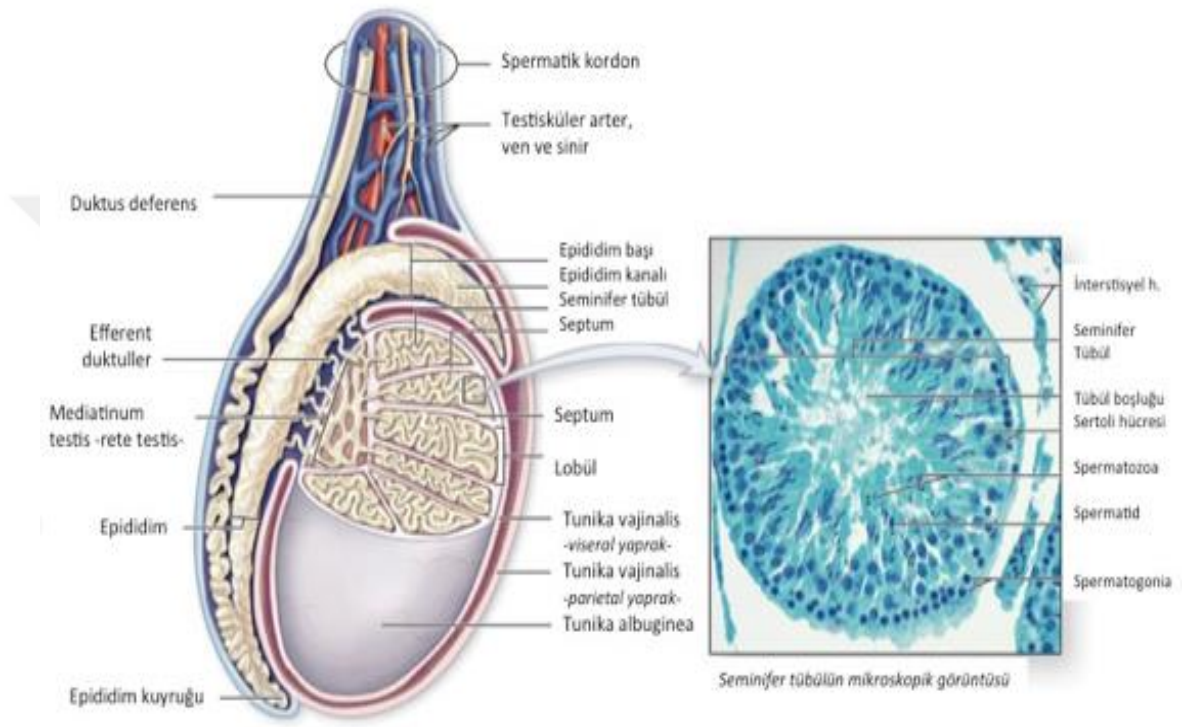
Şekil 2. Erkek Üreme Organları

2.3. TESTİS

Erkek üreme sisteminin en temel üreme organı olarak kabul edilen testisler, skrotumun içerisinde bulunmaktadır ve hem sağ hem de sol yanlı olarak ortalama 4x2 ile 5x3 santimetre boyutlarına sahiptirler. Testislerin karın boşluğunun dışında skrotum içinde yer alması vücut ısısından yaklaşık 2-3 santigrat derece düşük bir ısıda olmasını sağlar. Normal spermatogenez için yaklaşık 34-35 santigrat derece sıcaklık gerekir. Testislerin ortalama ağırlıkları 10 ila 15 gram arasında değişir. Testisler, erkek üreme sisteminde yer alan erkek üreme hücrelerini yani spermatozoonlar ile erkek seks hormonu olarak adlandırılan androgenleri üreten üreme sistemi elemanlarıdır. Testisler ekzokrin ve endokrin fonksiyonlu tübüler bezlerdir. Öncül erkek hormonu olan testesteronun salgılanmasından ve sperm üretilmesinden sorumludur(4).

Tunica vaginalis testisleri dışarıdan sarar(şekil.3). Testis dokusu içindeki spermier tübüler yapılarda gelişimlerini sürdürürler. Fibröz bağ dokusundan oluşan tunika albuginea seminifer tübüllerin bulunduğu loboli testisi çevreler. Tunika albugineadan ayrılan ince, fibröz bağ dokusu bölmeler (septa) mediastinuma doğru uzanarak testisi, sayıları 200-300 arasında değişken piramidial lobüllere ayırırlar. Bu lobüllerin her birinin içerisinde bir ya da dört tane çok kıvrımlı seminifer tübül bulunur. Bu tübüllerin

uzunlukları da 30-80 cm, çapı 150-250 mikrometre kadardır. Seminifer tübüller bazal bir membranla çevrilidir ve bunun dışında gevşek bağ dokusu yapısındaki lamina propria bulunur. Bazal membranın hemen dışında, tübüllerin çevresinde 3-4 sıra myoid hücre dizisi bulunur. Bu hücreler dizisinin ritmik kasılmasıyla seminifer tübüllerdeki sperm, boşalma kanallarına doğru ilerler (5).



Şekil 3. Testis yapısı

2.3.1. Leydig Hücreler

İnterstisyel veya Leydig hücreleri, seminifer boruları çevreleyen bağ dokusunda bulunur. Bunlar, germinal epitel hücrelerinin büyümesinden, korunmasından ve luteinizan hormon varlığında sekonder cinsiyet özelliklerinin gelişmesinden sorumlu erkek cinsiyet hormonu olan testosteronu üretirler (6).

2.3.2. Seminifer Tübüller

Seminifer tübüller kıvrıntılı bir yapıya sahiptir. Tüplerin başlangıç kısmı kapalıdır, sonlanırken lümen daralır ve tübüli rekti (düz tübüller) adını alır. Seminifer tübüllerin yaklaşık çapları 150-250 mikrometre kadardır ve uzunlukları da 30-80 cm dir. Düz tübüller içi epitel hücreleriyle döşeli rete testis'e bağlanır. Anastomoz yapan rete testisler 10-20 duktuli efferentes'ler ile epididimis'in başına bağlanır. Bu tübüller yani tübüli rekti, rete testis ve duktuli efferentes üreme sistemindeki genital kanallardır.

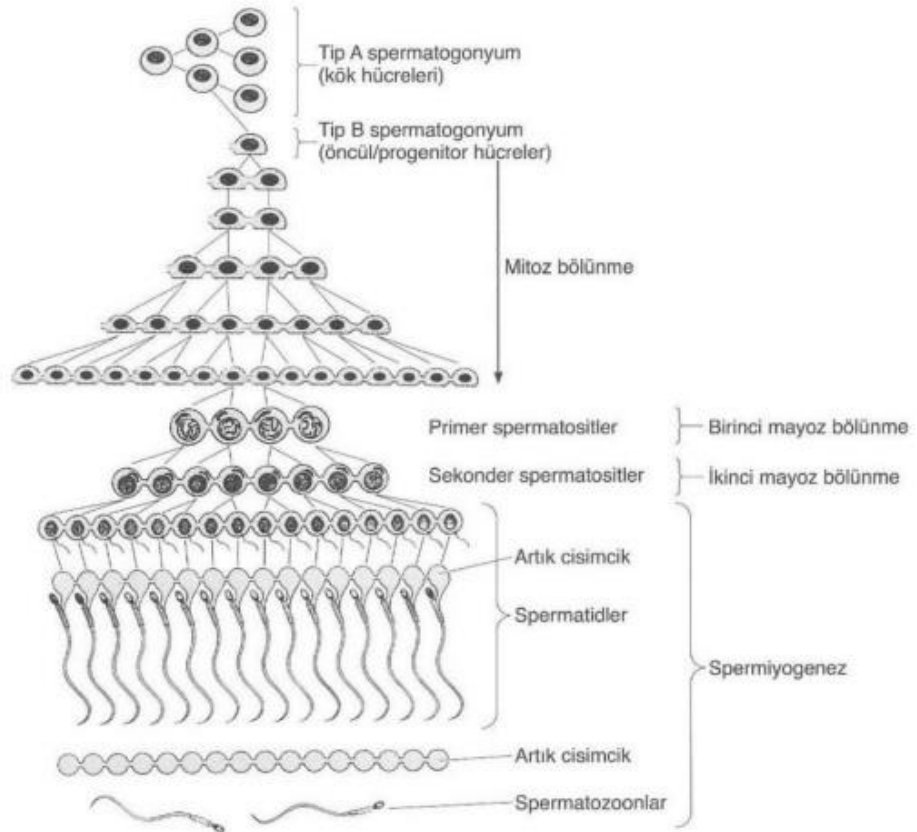
2.3.3. Sertoli Hücreler

Sertoli hücreleri; belirgin nükleolusları, düzensiz kenarlı nükleusları, düşük mitotik indeksleri, germ hücreleri ile aralarındaki bağlantılar ve komşu Sertoli hücre membranları arasındaki sıkı tek tip bileşke yapıları ile karakterizedirler. Seminifer tübülün bazal membran üzerinde yer alan sertoli hücreler tübül lümenine doğru ipliksi sitoplazmik dallanmalar gönderirler. Sertoli hücrelerinin sitoplazmik uzantıları arasında germinal hücreler yer alır. Daha ileri evrelerde spermatosit ve spermatidler bu epitelin daha üst seviyelerinde ve diferansiye olmamış spermatogonyum bazal membranının yakınında yer alırlar (7). Sertoli hücrelerinin işlevleri; kan testis bariyeri oluşturmak, gelişmekte olan spermatazoonların beslenmesini, korunması ve desteklenmesinin düzenlenmesini sağlamak, Anti-Müllerian hormon üretimini sağlamak, androjen-bağlayıcı protein üretimi, testosteronun yoğunlaştırılması, inhibin ve inhibin salgılanmasıdır (8).

2.4. SPERMATOGENEZ

Spermatogenez; ön hipofizin gonadotropik hormonlarını uyarması sonucunda testislerdeki seminifer tüpler içerisinde gerçekleşen matür spermi oluşturmalarıdır. Spermatogenez puberteyle birlikte başlar (13–16 yaş) ve yaşlanmayla birlikte hızı yavaşlayarak yaşlılığın son dönemlerine kadar sürebilir. Matür spermler spermatogonium germ hücrelerinden oluşmaktadır. Bu süreç spermatogoniumların mitoz ile çoğalma aşaması olan spermatositogenez, oluşan spermatogoniumun mayoz

bölünme ile DNA'nın yarılandığı bu evrede spermin matür hale ulaştığı spermiyogenez aşamalarını içerir (Şekil 4). Testiste germ hücreleri ile birlikte peritübüler myeloid hücreler ve germ hücrelerine yapısal, immünolojik ve nütrisyonel desteği sağlayan sertoli hücreleri de bulunmaktadır (9).



Şekil 4. Spermatogenez

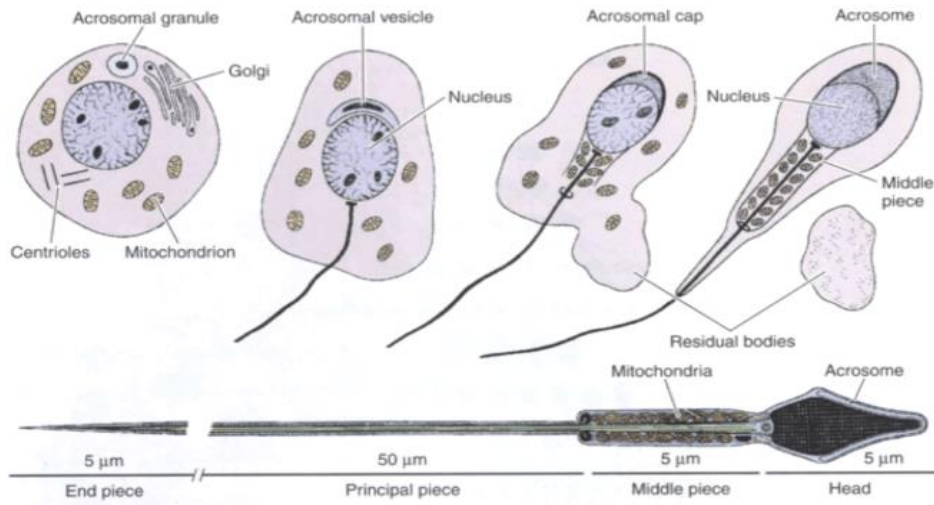
Spermatogenez temel olarak üç evreye sahiptir. Bu evreler; (i)mitoz bölünmenin gerçekleştiği spermatogonial evre (ii) mayoz bölünmenin gerçekleştiği spermatosit evre ve (iii) bölünme gerçekleşmeyen spermatid evredir.

Spermatogenez, sperm üretim aşaması olarak kabul edilmektedir. Çoğalma, pubertede mitoz bölünmeler sayesinde başlamaktadır. Bu evrede hücrelerin iki tip yol izlediği bilinmektedir. A tipi spermatogoniumlar kök hücre olarak bölünmeye başlayarak yeni hücreler oluştururlar. B tipi spermatogoniumlar ise farklılaşma sürecine girerler ve primer spermatositlere dönüşürler. Spermatogenezin en büyük hücreleri primer

spermatositlerdir. Primer spermatositler mayoz bölünme gerçekleştirirler ve birinci mayoz bölünmeden sonra sekonder spermatosit olarak adlandırılırlar. İkinci mayoz bölünme evresinden sonra ise içerisinde 23 adet kormozon barındıran spermatit olarak adlandırılan hücreleri oluştururlar ve bu oluşum sonucunda spermatogenez sonuçlanır. Spermatogenez sürecinin sonuçlanmasından sonra sperm oluşumunun son aşaması olan spermiyogenez olarak adlandırılan evre başlar. Bu evre, hücre bölünmesi içermeyen bir evredir. Spermin olgunluğa erişmesinin gerçekleştiği evrede spermatitlerden farklılaşan spermiler seminifer tübüllerin lümenine bırakılmaktadır (10).

2.5. SPERMİYOGENEZ

Spermatogenezin son aşaması olan spermiyogenez, spermatidlerin olgun, hareketli spermatozoalara doğru olgunlaştığı aşamadır. Spermatid, bir çekirdek, sentriol, golgi aygıtı ve mitokondri içeren dairesel yapıdaki bir hücredir. Tüm bu bileşenler spermatozoon oluşumunda rol alır. Mayoz evresinin bitmesinden sonra, haploid yuvarlak spermatitler, bir hücre iskeleti ağı ile küçük, non-polarize hücreler halinde spermiyogenezise girerler (11). Haploid spermatidler, yeniden yapılanmaya maruz kaldıklarında, bu ağ birden fazla kompleks halinde ve bazı durumlarda, spermatidin yeniden biçimlenmesi ve sperm fonksiyonuna entegre olan benzersiz, iskelet yapıları olarak yeniden düzenlenir.



Şekil 5. Spermiyogenez

2.6. SPERMİN YAPISI

Olgun spermiyum hareketli ve yaklaşık 50–60 µm uzunluğunda olan bir hücredir. Spermiyum baş, boyun, orta parka ve kuyruktan oluşan 4 bölümdür.

1-Baş: Spermin baş bölgesinde nükleus bulunmaktadır. Nükleus içerisinde kalıtsal bilgileri gelecek nesillere aktarma görevi olan DNA bulunmaktadır. Buna ek olarak baş kısımda ayrıca içerisinde çeşitli enzimleri barındıran akrozom bölgesi mevcuttur (12). Yassı ve oval biçimdedir.

2-Boyun: Sperm hücresinin orta kısmında boyun yapısı yer almaktadır. Boyun bölgesini sarmış olan mitokondri kılıfı hücrenin enerji deposunu oluşturmaktadır. Kuyruk ile baş bölgesini birbirine bağlamaktadır (13).

3- Orta parça: Spermin bu kısmında spiral yerleşimli mitokondriyonlar bulunur ve bunlar alt tarafta distal sentriyol ile sonlanır.

4- Kuyruk: Kuyruk kısım ise spermin hareketini sağlayan sil yapısındaki mikrotübüllerden oluşmaktadır. Kamçı hareketleri gerçekleştirerek yön tayinini belirler. Spermin bu kısmında yaşanacak olan anomali durumları, doğal yoldan gebeliğin oluşmasında engel teşkil etmekte ve infertiliteye sebebiyet vermektedir. Ancak bu durum baş kısımda oluşacak anomalinin etkilerine göre klinik anlamda daha kompanse edilebilir durumdadır (14).

2.7. ERKEK İNFERTİLİTESİ

İnfertilite tanımı; çocuk sahibi olmak isteyen ancak doğal yollar denenerek tüm şartlar oluşturulmasına karşın yine de başarıya ulaşamayan çiftler için kullanılmaktadır. Eğer sorun kadın kaynaklı ise kadın infertilitesi, erkek kaynaklı ise erkek infertilitesi olarak adlandırılmaktadır (15). Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) infertiliteyi tanımlaması; çiftlerin bir yıl boyunca korunmadan düzenli cinsel ilişkiye girmesine rağmen gebe kalamama durumudur. Günümüzde ise çiftlerin % 10- 15' inde infertiliteyle karşılaşmaktadır. Üreme çağındaki çiftlerin yaklaşık % 40-50' sinde kadınsal kaynaklı

infertilite varken, yaklaşık % 30-40' ında erkeksel kaynaklı infertilite durumu görülmektedir. Üreme çağındaki bu çiftlerin %10-15' inde ise günümüzdeki mevcut standart tanısal testler ile açıklanamayan infertilite mevcuttur (16). Bu sonuçlar kapsamında infertilitenin neredeyse yarısının erkek eş kaynaklı olduğu sonucuna varmak mümkündür.

Dünya Sağlık Örgütü tarafından belirlenmiş olan erkek infertilitesi kapsamındaki etyolojik gruplar (17);

- Ejakülatuar disfonksiyon
- İmmünolojik sebepler
- Aksesuar bezleri enfeksiyonu
- İzole seminal plazma anomalileri
- İatrojenik sebepler
- Sistematik sebepler
- Akiz testiküler hasar
- Konjenital anomaliler
- Varikosel
- Endokrin kaynaklı sebepler
- İdiopatik oligozoospermi
- İdiopatik teratozoospermi
- Obstrüktif kriptozoospermi
- İdiopatik azoospermi

Erkek infertilitesi değerlendirmeye alınırken bir ürolog ya da bu konuda uzman kişi tarafından yapılmış fizik muayene, tıbbi ve üreme öyküsü ve en azından iki semen analizi değerlendirilmelidir. Sonuçlara bakılarak infertilitenin etyolojisini değerlendirilip ilave testler talep edilebilir. Bu testler; ek semen analizi, postejakulatuvar idrar analizi, ultrasonoğrafi, endokrin değerlendirme, semen ve spermle ilgili özel testler ve genetik tarama olarak talep edilebilir. Erkek infertilisinde semen parametrelerinin bilinmesi, bize hangi olgulara inseminasyon, hangi olgulara klasik in vitro fertilizasyon

(IVF) ve hangi olgulara intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) uygulaması yapılması konusunda yön gösterecektir.

2.8. SEMEN ANALİZİ

Erkek infertilitesinin araştırılmasında semen analizi laboratuvar değerlendirilmesinin temel taşıdır. Edward Martin 1902 yılında ilk semen analizini yapmıştır. Fertiliteyi belirlemede semen analizinin önemi göz önüne alındığında 1980'lerde WHO, semen analizi kriterlerinin ayrıntılı olarak anlatıldığı bir el kitabı çıkarmış ve böylece semen analizini standardize hale gelmiştir (18).

Erkek bireylerin, son 6 ay içerisinde 1 er ay ara ile yapılmış olma şartıyla ortalama 3 ay ara ile en az 2 semen analizine bakılarak erkek infertilesi değerlendirilir. Androloji laboratuvar standartlarının sağlandığı bir laboratuvar, semen analizi gerekli kriterlere uyularak yapılmalıdır. Semen analizinde, sperm ve semenin karakteristik özelliklerini belirlemek ve uzman bir hekim tarafından değerlendirmeye alınmasını sağlayan androloji laboratuvarlarında incelenen test yöntemidir (19).

DSÖ tarafından 2009 yılında yayınlanan semen analizin referans değerleri Tablo 1'de değerlendirilmiştir.

Tablo 1. Semen Analizi Referans Değerleri

Parametre	Alt Referans Limiti
Semen Hacmi (ml)	≥1.5 (1.4-1.7)
pH	≥7.2
Sperm Konsantrasyonu (106/ml)	≥ 15 (12-16)
Toplam Sperm Sayısı (106 / ejekülât)	≥39 (33-46)
Toplam motilite (PR + NP, %)	≥40 (38-42)
Progresif Motilite (PR, %)	≥32 (31-34)
Sperm morfolojisi (normal formlar, %)	≥4 (3.0-4.0)
Peroksidaz-pozitif lökositler (106 / ml)	<1.0
MAR testi (bağlı bulunan motil spermatozoa, %)	<50
Immunobead testi (bağlı bulunan motil spermatozoa, %)	<50
Seminal zinc (mol/ejekülât)	2.4
Seminal fructose (mol/ejekülât)	13
Seminal nötral glukozidaz (mU/ejekülât)	20

PR: progresif motilite; NP: non-progresif motilite

(WHO Laboratory manual for the examination and processing of human semen- 5. Baskıdan alınmıştır).

Bazı semen değişkenleri için terminoloji şu şekildedir.

- Oligozoospermi: Referans değerden düşük sperm konsantrasyonu
- Asthenozoospermi: Referans değerden daha düşük hareketlilik
- Normozoospermi: Referans değerlerde tanımlanan normal ejakülat
- Oligoasthenoteratozoospermia: Her üç değişkenin de bozukluğuna işaret eder (sadece iki ön ekin kombinasyonu da kullanılabilir)
- Teratozoospermi: Referans değerden daha düşük morfoloji
- Aspermia: Hiç ejakülat elde edilememesi
- Azoospermi: Ejakülatta hiç spermatozoa bulunamaması (20).

Semen analizinin en önemli kısmı mikroskopik incelemedir. Analiz için kullanılacak alet ve yöntem çok dikkatli seçilmelidir. Laboratuvarda sürekli olarak kullanılan hemositometrilerin sperm sayım sonuçlarındaki doğruluğu bu aletlerdeki spermin konulduğu bölümün derinliğinin çok fazla olması nedeniyle tartışmalıdır. Bu tartışmaların önlemek için 1978 yılında Maklerin sperm sayımı için tasarlanmış olduğu Makler sperm sayım aletleri kullanılmaktadır. Semen örneklerinin incelenmesinde 10 mm derinliğine sahip gözeneğin olması spermatozoanın tek bir düzlem üzerinde serbest hareketlerine olanak sağlamakta, ayrıca sayım işlemi daha kolay yapılmaktadır. Maklerin sperm sayım aletiyle sperm hareketlilik yüzdeleri daha kesin olarak saptanabilmektedir. Mikroskopik inceleme esnasında toplam sperm sayısı, yuvarlak hücre sayısı, hareketliliği, varsa aglütinasyonun değerlendirilmesi, morfoloji ve yuvarlak hücrelerin sınıflandırılması incelenir. Makler sayım aletinde semen seyreltilmeden değerlendirmeye alınır. Güvenilir bir değerlendirme için standart olan 100 karedeki spermleri sayılmalıdır. Kullanılan alete bağlı olarak, tek karedeki ortalama sperm sayısı temel alınıp sperm sayımı milyon/ml olarak ifade edilmektedir.

2.9. SPERM MORFOLOJİSİ

Morfoloji; Spermin fertilazasyon kapasitesinin morfolojik incelenmesi 1951 yıllarında başlar. Kruger ve arkadaşlarının ‘Strict’ kriterleri morfoloji değerlendirilmesinin tanımlanmasıyla bu parametre giderek artan bir önem kazanmıştır (21). Kruger ve arkadaşlarının bu yöntemi 1986 yılında yayınlanmış ve 1990 yılında Menkveld ve

arkadaşları tarafından modifiye edilmiştir (22). Morfoloji değerlendirmesinde rutin incelemelerde yerini alan bu yöntem, WHO kriterlerine göre olan üstünlüğünü de gösterilmiştir. Krugerin kriterlerine göre morfoloji % 4 den az, % 4-14 ve % 14 den fazla olarak sınıflandırılmaktadır. Normal morfoloji % 4'den az olduğunda IVF ile her oosit başına fertilizasyon oranı % 7,6 iken, % 14'den büyük olanlarda oran % 63,9'a yükselmektedir (23).

Sperm morfolojisi spermatogenezin kalitesini ortaya koymaktadır. Morfolojik açıdan oluşan anomaliler [teratospermi] üç şekilde sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflandırılma anomalinin lokasyonuna göre yapılmaktadır ve baş bölgesi, boyun bölgesi, kuyruk bölgesi teratospermileri olarak adlandırılmaktadır. Teratospermi, varioksel, primer, sekonder, testiküler yetmezlikler ile ilişkilendirilebilmektedir.

Doğru ve etkin olarak değerlendirilen bir morfolojik değerlendirme için spermin mutlak surette boyanması gerekmektedir. Bu boyama işlemi için uygulamada sıklıkla Papnicolau Yöntemi ile Diff-Quick yöntemi kullanılmaktadır.

Kruger in kesin kriterlerine göre sperm morfolojisi tablo.2 de ki gibidir.

Tablo 2. Krugerin kriterlerine göre sperm morfolojisi

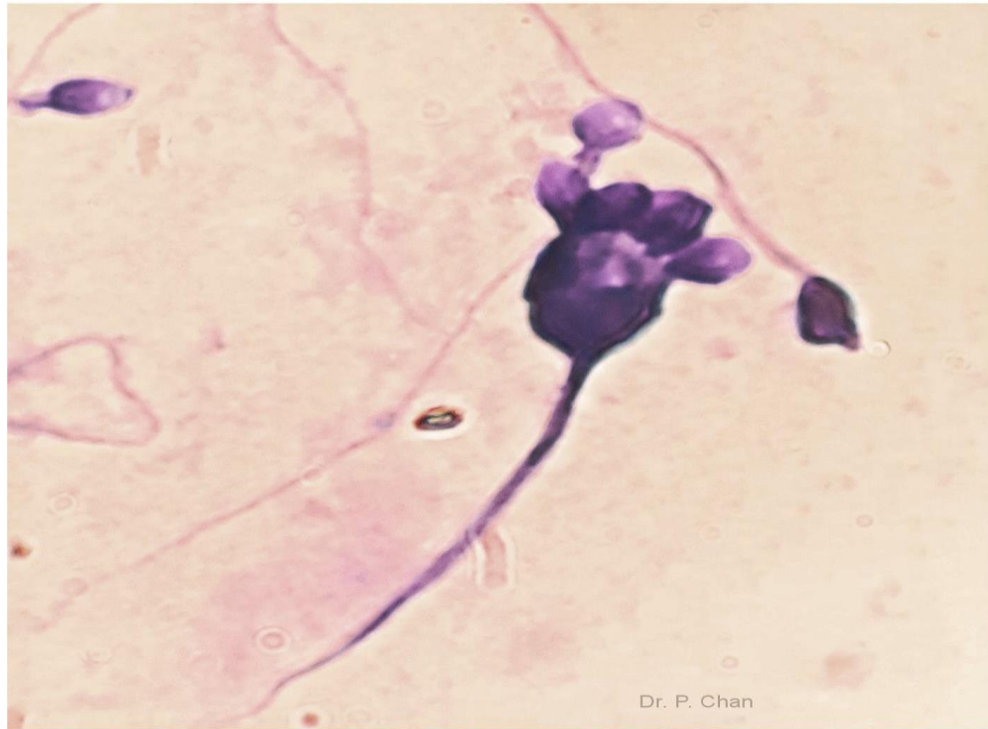
Baş Uzunluk: 5-6 mikron Genişlik: 2.5-3.5 mikron
Akrozom Başın % 40-70'ini oluşturmali
Orta parça Genişlik 1 mikron Uzunluk 1.5 x baş uzunluğu
Kuyruk Boyu yaklaşık 45 mikron Uniform Orta parçadan daha ince Kıvrılmamış Kırık içermeyen
Sitoplazmik artık Baş alanının % 30-70'inden az Sadece orta parçada lokalize

2.10. SPERM ANOMALİLERİNİN TANIMLANMASI

Kruger in kesin kriterlerine göre sperm morfolojisi normal olan spermelerin dışında kalan tüm spermeler anormal olarak kabul edilir. Anormal sperm formları aşağıdaki şekillerde olabilir.

2.10.1. Baş Şekil Anomalileri

- a) **Borderline (sınırdan) baş anomalileri:** Bunlar hafif baş anomalileri olup, bu anomali spermi belirli bir anormal form sınıfına sokmaz.
- b) **Piriform (amorf):** Sperm başı armut şeklinde olan spermelerdir. Deforme olma durumu söz konusudur ve kontur bozukluklar içerir.
- c) **Makrosefal sperm (Büyük baş):** Sperm baş büyüklüğü normal boyutlardan büyük çoğunlukla düzensiz yapıda ve multinükleer (çok çekirdekli) olması durumudur. Makrosefal başlı spermeler spermatogenez sonucunda oluşması gereken 4n yapısının birbirinden ayrılmadan gelişmesiyle oluşur.



Şekil 6. Macrocephal sperm

- d) Globozoospermia (Yuvarlak Baş Sperm):** Yuvarlak başlı spermlerdir. Globozoospermin akrozoma sahip olmaması ve spermin iskelet yapısındaki problemlerden kaynaklı normalde oval olması gereken ve akrozom kepi içeren baş yapısının bozulmasıyla oluşur.



Şekil 7. Globozoospermia görüntüsü

- e) Pin-head (İğne Baş) Sperm:** Sperm başının toplu iğne şeklinde olmasıdır.



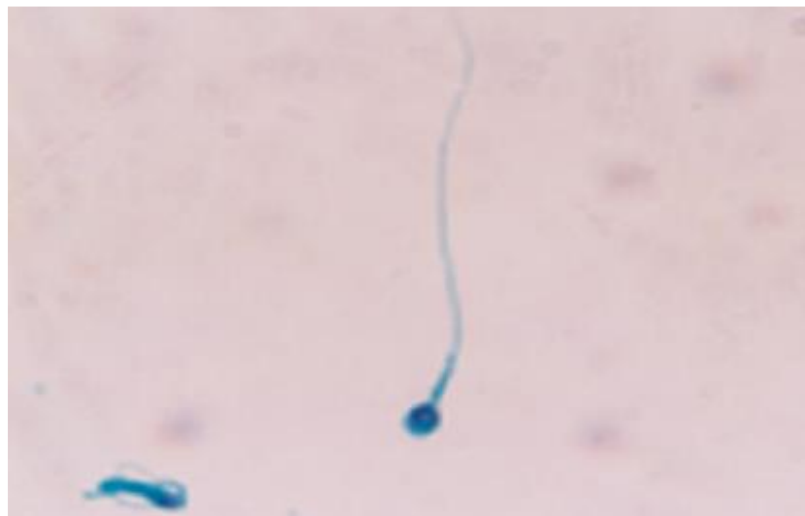
Şekil 8. Pin-head sperm mikroskop görüntüsü

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



Şekil 9. Diadem defekti sperm

- g) Uzun ve Sivri (Tapered) Sperm:** Sperm baş kısmının sivri ve uzun olmasıdır. Akrozom anomalisi veya yokluğu durumunda ortaya çıkar.
- h) Uzamış (Elonge)Sperm:** Sperm başı tapered formda olduğu gibi sivri değildir, ancak normal boyutlardan daha uzundur. Postakromozom kısmında incelme durumu söz konusudur.
- i) Çift Baş Sperm:** Tek kuyruk, tek orta kısım olduğu halde sperm başının çift olması durumudur. İmmatürite işareti olabilir (İnkomplet seperasyon)
- j) Yarık Baş Sperm:** Aynı sperm başı içerisinde birden fazla nükleus bulunması durumunda görülür. Bu durumda sperm haploid değildir. İmmatürite işareti olabilir
- k) Vakuol:** Sperm başında boya almayan içi sıvı dolu boşluklar vardır.



Şekil 10. Vakuollü Sperm

2.10.2. Akrozom Anomalileri

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

b) Akrozomal Kistler: Primer akrozom anomalileridir.

c) Nipple kist: Akrozom spermin en uç kısmında yer alan kistlerdir.

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

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

f) Küçük Akrozom: Akrozomun normalden daha az, sperm başının %40'ından daha azını kaplamasıdır.

g) Büyük Akrozom: Akrozomun normalden daha fazla, sperm başının %70'inden daha fazlasını kaplamasıdır.

h) Vakuol: Akrozom içinde boya olmayan alan olarak görülür.

2.10.3. Nükleus Anomalileri

Çekirdek boyanmasının homojen olmadığı ve şekil bozukluğuna sahip olduğu durumlardır.

a) Nükleus vakuolleri: Çekirdek içinde boşluk alanları vardır.

2.10.4. Orta Kısım Anomalileri

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

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

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

c) Abaksiyel Yerleşim: Sperm başı ile orta kısım aynı aks üzerinde değildir. Progresif motiliteyi güçleştirir.

2.10.5. Kuyruk Anomalileri

Non-progresif motilite veya total motilite yokluğu şeklindeki hareketlilik bozukluklarında ortaya çıkabilen defektlerdir.

a) Çift kuyruk: Tek baş ve çift kuyruk şeklinde olur ve motiliteyi etkiler.

b) Kısa ve küt kuyruk (tail-stump): Tail-stump defekti, sperm kuyruğunda proteinyapılarındaki eksikliklerden ya da bozukluklarından kaynaklanan kısa, küt ve kalınlaşmış kuyruğa olan en şiddetli kuyruk anomalisidir. Kuyruktaki kalınlaşmalar, kuyruğu çevresindeki fibröz yapısının kontrolsüz gelişmesinden kaynaklanabilir.



Şekil 11. Tail-Stump sperm görüntüsü

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

2.10.6. Karışık Anomaliler

Baş ve kuyruk anomalilerinin aynı sperm üzerinde bulunması durumudur.

2.10.7. İmmatür Form

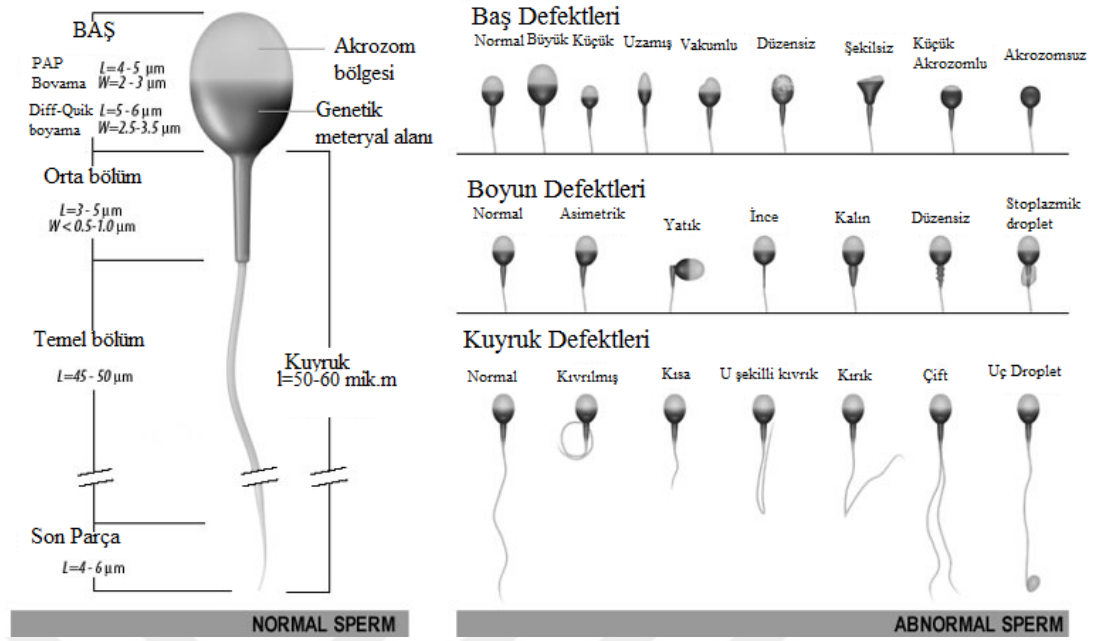
Primer ve sekonder spermatositler veya spermatidler olabilir. Çok nükleuslu olabilir. Kuyruksuz, yuvarlak formda veya immatür kuyruk yapısına sahip olabilirler.

2.10.8. Aglutinasyon

Spermilerin kümelendiği kalabalık alanlardır. İmmünolojik interfilite nedeniyle kümelenme olabilir. Ancak lam üzerine semenin yayılması esnasında yapılabilecek hatalar da aynı kümelenmeye neden olabilir.

2.10.9. Sınıflandırılmayan

Yukarıda tanımlanan anomalilerden herhangi birine giremeyen bozuk şekilli olan spermlerdir.



Şekil 12. Kruger morfolojik kriterlerine göre sperm morfolojisi değerlendirilmesi

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışma 2017-2019 yılları arasında Centrum Klinik Tüp Bebek Merkezinde infertilite problemi nedeniyle başvuran kriterlerimiz dahilinde hastalardan alınan verilerin retrospektif incelenmesini içerir.

Dosyaları incelenmesi yapılan hastalar Centrum Klinik Tüp Bebek Merkezine tüp bebek tedavisine başlayan hastalar arasından seçilmiştir.

Bu çalışmaya infertilite nedeni sperm morfolojisi faktörü olan hastalar dahil edilmiştir.

Bu çalışmada; 20 hasta normal morfolojisi sıfır olan, 60 hasta major anomalili (20 hasta globozoosperm, 20 hasta macrocephal, 20 hasta tail stump), 20 hasta normal grup olarak çalışılmıştır.

3.1. MATERYAL

Konik Tüp (Falcon2095)

Küçük tüp (Falcon 2003)

Büyük Tüp (Falcon 2001)

Sperm Yıkama Mediumu (İrvine spermwash)

Gradient Medium (Puresperm)

Serolojik Pipet (Vitrolife)

HEPES Tamponu dış ortam mediumu (MHM irvine)

Single Step Medium (İrvine)

Paraffin Yağ (İrvine)

Kültür Dishleri (Nunc)

ICSI İğnesi (Humagen)

Holding İğnesi (Humagen)

Pastör Pipetler (Falcon7575)

Mikropipet (Ependorf)

Makler Sperm Sayım Kamarası

Spermac Sperm Boyama Kiti

Hyase (Sage)
 ICSI Dish (Vitrolife)
 Denudasyon Pipetleri (Research)
 Transfer Kateterleri (Wallace)

3.2.YÖNTEM

Bu çalışma da 2017-2019 yılları arasında Centrum Clinic Tüp Bebek Merkezine 100 hastanın analizi yapıldı. Sperm morfolojisine göre 100 hastaya ejakülat ile ıcsı yapılan normal morfolojisi sıfır olan (grup1 n=20), major anomalili (grup 2 n=60) ve normal olan (grup 3 n=20) olmak üzere 3 grupta incelendi. İstatiksel olarak erkek yaşı, kadın yaşı ,e2, amh, oosit sayısı , transfer edilen embriyo kalitesi, gebelik oranları, kese görümü ve canlı doğum değerlendirildi.

3.2.1. Ejekulat ile Sperm Alma İşlemi

- a) Güvenilir bir sonuca ulaşabilmek için ejakülat, masturbasyon ile elde edilir. Özel sperm verme odalarında alınır. Hasta odaya alınırken üzerinde bilgileri yazılı olan steril kap verilir.
- b) Ejakülatın merkez dışından getirilmesine izin verilmemelidir.Merkeze dışarıdan getirilen spermler, güneş ışığına ve ısı değişikliğine maruz kalabileceklerinden elde edilecek sonuçlar etkilenebilir.
- c) Cinsel perhiz günü 3 ila 5 gün arasında olması sağlanmalıdır.
- d) Masturbasyon öncesi hastanın ellerini normal bir sabunla yıkaması ve kurulaması gerekmektedir. Masturbasyon için vazelin, spermotoksik olabilecek sabun ve diğer yağlı maddeler (krem, jel) kullanılmamalıdır.
- e) Ejakülatının tümünün örnek kabında toplanabilmesi sağlamalıdır. Özellikle ilk damlaların çok değerli olduğu, sperm konsantrasyonunun bu kısımda en yoğun olarak bulunduğu konusunda hasta bilgilendirilmelidir.

3.2.2. Spermin İncelenmesi

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

- Örnek oda ısısında veya 37°C inkübatörde 20-30 dakika likefaksiyon için bekletilir.
- Likefiye olan sperm örneği, değerlendirme öncesi bir pipet yardımı ile örnek homojenize edilir.
- Makler sperm sayma kamerası ile sperm sayımı yapılır.
- Boyaması yapılacak sperm örneği lam üzerine ince şekilde yayılıp kurutularak, yayma preparat hazırlanır.
- Yayma işleminde lam üzerine bir damla sperm damlatılır, lam veya lamel yardımıyla 45 derece açı ile damlacık lam üzerine yayılır.

3.2.3. Sperm Hazırlama Tekniği

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

b) Swim up: Semen örneği likefiye olduktan sonra eğer sperm sayısı ve hareketi uygun ise Swim Up yöntemi ile sperm ICSI işlemi için hazırlanır. Likefiye olmuş semen örneği ile sperm yıkama mediumu birebir oranında konik tüplere eklenerek homojenize

edilir. Genellikle 2ml semen örneği, 2ml sperm yıkama mediumu kullanılır. Homojenize edilen örnek 1600 rpm de 5 dakika santrifüj edilir. Daha sonra dibe çöken pellet kısmının üstündeki süpernatant pipet yardımıyla uzaklaştırılır. Yaklaşık 0,2-0,5 ml pelletin üzerine, konik tüp 45 derece açıyla eğilerek pellet kaldırılmadan sperm yıkama mediumu eklenir. Pelletin üst kısmında temiz sperm yıkama medium katmanı oluşturularak spermlerin buraya yüzlemeleri beklenir. Medium eklendikten sonra tüp 45 derecelik eğimli şekilde inkübatöre kaldırılır. 30-45 dakika sonra temiz mediuma doğru yüzmüş olan spermler çekilerek hastanın ve eşinin ad ve soyadlarının yazıldığı ayrı küçük tüp içerisine alınarak ICSI işlemi için hazır hale getirilir.

3.2.4. OPU ve Denudasyon

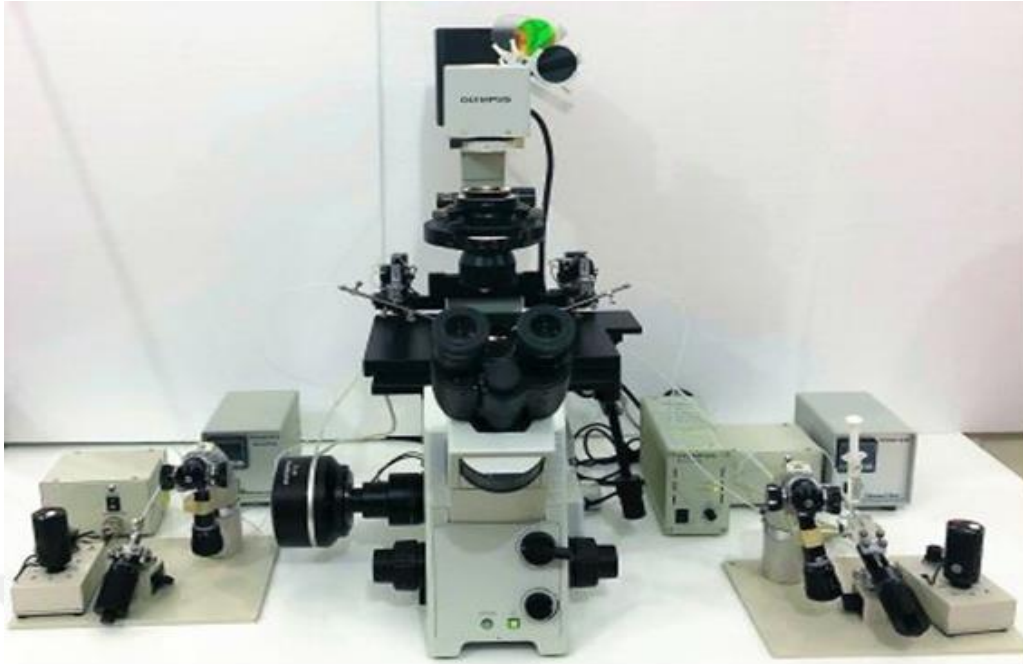
Oosit aspirasyonundan sonra foliküllerden elde edilen kümülüs oosit kompleksleri HTF (human tubal fluid) ile yıkanıp yaklaşık 3 saat %6 CO₂, %5 O₂ ve 37 °C'ye ayarlı inkübatörde bekletildiler.

Bu sürenin sonrasında, denüasyon işlemi için HTF içerisine 40IU/ml yoğunluğunda hazırlanmış hiyalüronidaz solüsyonu içinde mekanik pipetleme ile gerçekleştirildi.

3.2.5. ICSI İşlemi

ICSI, tek bir spermin oosit sitoplazması içine enjekte edilmesidir. Bu işlem özel ekipmanlı mikro-manipülatörler ile yapılmaktadır. Tek bir spermin içine girebileceği boyutlardaki özel mikro iğneler ile oosite zarar vermeden oosit sitoplazması içine sperm bırakılarak döllenme işlemi gerçekleştirilir. Mikronjeksiyon işlemi için x400 büyütmeli Olympus IX70, Olympus IX71 inverted mikroskop altında hepes içeren MHM mediumu içerisinde yapıldı.

ICSI sonrası oositler İrvine kültür ortamı içeren dropletlerden alınarak her bir droplette bir oosit gelecek şekilde dropletlerine yerleştirip inkübatördeki yerlerine kaldırıldılar.



Şekil 13. Olympus IX71 floresans mikroskobu

3.2.6. Klivaj Dönemi Embriyo Sınıflandırılması

Zigot aşamasından yaklaşık 4-8 hücreli bir embriyonun oluşumuna kadar geçen süre (2-4 gün) klivaj dönemi olarak tanımlanır. Bu dönem içerisinde zigot birbiri ile yapısal anlamda değişiklik göstermeyen ardışık iki-üç bölünme geçirir.

ICSI sonrası 2. günle 4. Gün arasında olan klivaj dönemindeki embriyoların değerlendirilmesinde önemli kriterler blastomer sayısı, blastomerlerin morfolojisi, embriyonun içerdiği fragmentasyon oranı ve son olarak sitoplazma yapısıdır. ICSI sonrası klivaj hızı normal embriyo 24-25 saat sonra 2 hücre, 2.günde yani ICSI işleminden 42-44 saat sonra 3-4 hücre, 3.günde yani ICSI işleminden 66-68 saat sonra 6-8 hücre ve 4.günde yani ICSI işleminden 90-92 saat sonra ise birleşme işaretlerine bağlı olarak 10 ve üzerinde hücreye sahip olan embriyodur.

3. günden sonraki takip sürecinde embriyonun bölünmeler ile embriyonun hücre sayısı artar ve 16-32 hücreden oluşan sıkı bir kitle haline gelir. 4. günde ise, ICSI den 92-96 saat sonrasında hücre sayısını arttırarak kompaktlaşma evresine girmesi beklenir. Bu aşamadaki bir embriyoya ‘‘morula’’ adı verilir. Moruladan sonra kavitasyon dönemi

başlar. Kavitasyonun oluşması ile kaviteden salgılanan sıvı, blastosöl oluşumunu tetikler.

3.2.7. Blastosöl Kavite Oluşumuna Göre Sınıflandırma

Kavitasyonun başlaması, embriyo yeterliliğini ve canlılığını yansıtan bir bulgudur. Embriyonun blastokist oluşturma zamanı çok önemlidir. Gardner ve arkadaşları iyi kalitede gelişen bir blastokistin implantasyon başarısını ve gebelik oranlarını olumlu yönde etkilediğini belirtmişlerdir.

Blastosel kavitesinin sınıflandırılması:

1. Early Blastokist: Blastosel kavitesi embriyo volümünün yarısından azdır.



Şekil 14. Early blastokist

2. Blastokist: Blastosel kavitesi embriyo volümünün yarısından fazladır.



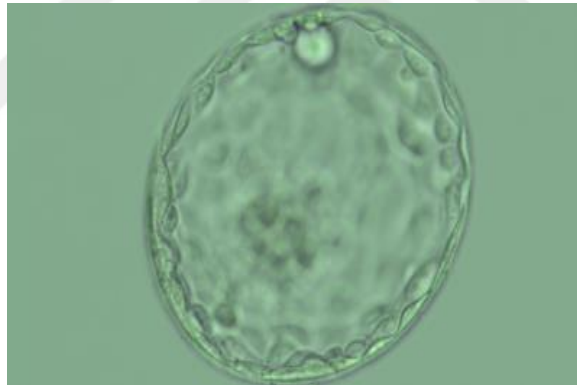
Şekil 15. Blastokist embriyo

3. Full Blastokist: Blastosel kavitesi embriyo volümünün tümünü kaplamıştır.



Şekil 16. Full blastokist embriyo

4. Expanded Blastokist: Blastosel kavitesi volümü artmış, zona iyice incelmış ve çap büyümüştür.



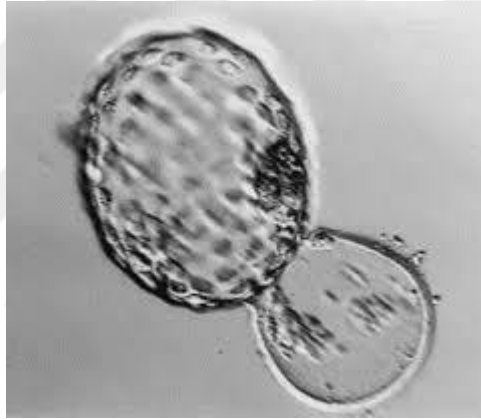
Şekil 17. Expanded Blastokist embriyo

5. Hatching Blastokist: Trofoektoderm hücrelerini zona katmanı dışına çıkmaya başlamıştır.



Şekil 18. Hatching blaskosit embriyo

6. Hatched Blastokist: Embriyo tümüyle zona katmanı dışına çıkmıştır.



Şekil 19. Hatched blastokist embriyo

3.2.8. Embriyo Transferi

Embriyo transferi, yardımcı üreme tekniklerinden en önemli basamaklardan biridir. Yardımcı üreme tekniklerinin bir bütün olarak ele alındığında başarıda %30 embriyo transfer işlemi rol oynar. Embriyo transferi tekniğinin standardizasyonunda doktor ve embriyologun tecrübesi ve uyum içerisinde çalışmalarının da başarı oranını etkilediği yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.

Yardımcı üreme tekniklerinin başarısındaki bir diğer etken ise embriyoların katatere yüklenip uterin kaviteye bırakılmaları arasında geçen süredir; bu sürenin iki dakikayı geçmemesi gerekmektedir.

Başarılı bir embriyo transfer işleminin amacı embriyoları problemsiz bir şekilde implantasyon olma ihtimalinin en yüksek olduğu zamanda ve en uygun yer olan fundusa yerleştirmektir.



4. BULGULAR VE SONUÇ

Çalışmaya dahil edilen sperm sayısı ve hareketliliği normal olgulardaki, normal morfolojisi sıfır, major anomalili ve normali grupları arasındaki olguların yaşları ve eşlerinin yaşları tablo 4.1.'de verilmiştir. Tabloya göre, majör anomalili olgularda hem çalışma dahilindeki kadınların hem de eşlerinin yaşları diğer gruplara göre daha yüksek olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$).

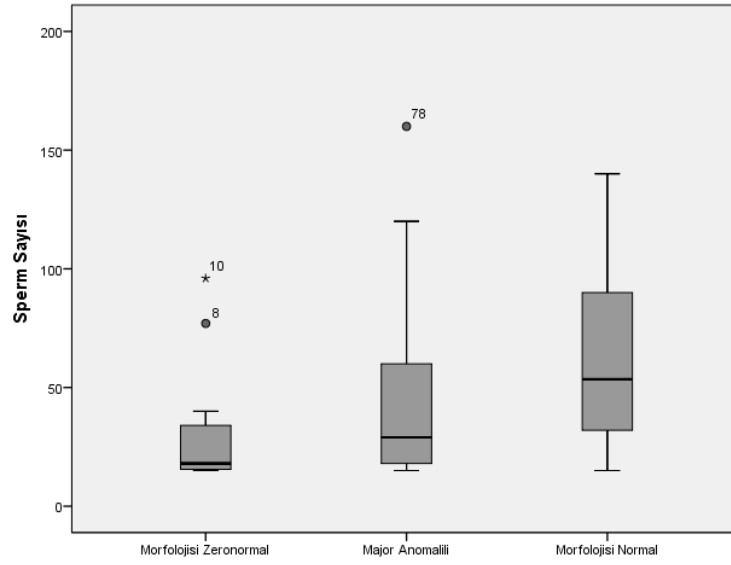
Tablo 3. Gruplara göre çalışmaya dahil edilen olguların ve eşlerinin yaşlarının karşılaştırılması

	Normal Morfolojisi Sıfır olan (n:20)	Major Anomalili (n:60)	Morfolojisi Normal (n:20)	P
Kadın Yaşı, yaş	33,60 ± 3,17 33 (28-40)	33,58 ± 5,10 34 (23-40)	32,65 ± 4,93 33,5 (25-40)	0,726
Erkek Yaşı, yaş	31,05 ± 4,73 31 (22-40)	31,60 ± 5,79 32 (21-40)	31,10 ± 5,15 31 (21-40)	0,895
Sürekli değişkenler aritmetik ortalama ± standart sapma ve medyan (minimum-maksimum değer) ile değerlendirilmiştir ve gruplar arası karşılaştırmasında kadın yaşı için one way anova test, erkek yaşı için kruskal Wallis test kullanılmıştır.				

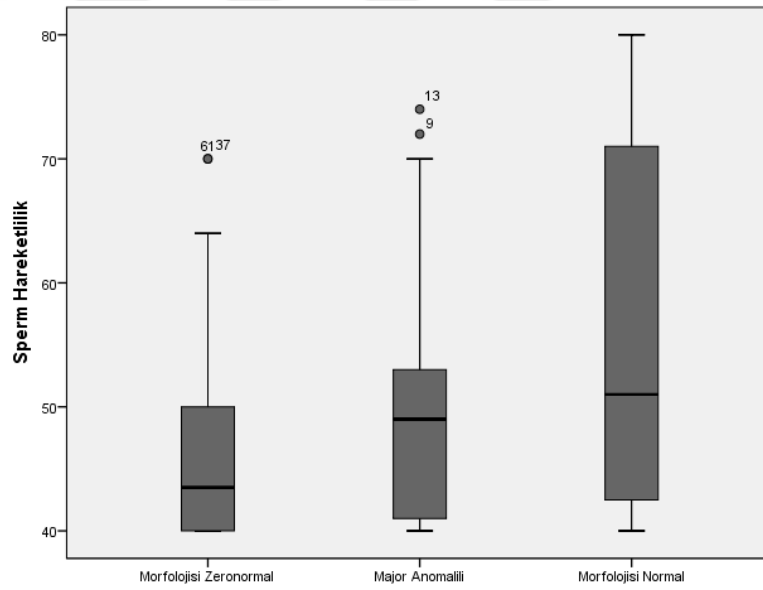
Çalışma dahilindeki gruplar arasındaki olguların sperm sayıları, sperm hareketliliği, baş morfoloji, boyun morfoloji ve kuyruk morfoloji değerleri tablo 4.2.'de verilmiştir. Tabloya göre, normal morfolojisi sıfır olanlarla majör anomalili olguların sperm sayıları morfolojisi normal olanların sperm sayılarına istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür ($p<0,05$). Morfolojisi normal olanlara göre normal morfolojisi sıfır olanlarda sperm hareketliliği en az iken majör anomalili olgularda biraz daha yüksek olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$). Normal morfolojisi sıfır olan grup ile major anomalili grup arasındaki baş, boyun ve kuyruk morfoloji sonuçları değerlendirildiğinde major anomalili olgularda baş morfoloji daha yüksek olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0,05$). Ancak boyun morfoloji ve kuyruk morfoloji sonuçları incelendiğinde Major Anomalili olgularda normal morfolojisi sıfır olan olgulara göre daha yüksek olmasına rağmen gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$).

Tablo 4. Gruplara göre çalışmaya dahil edilen olguların sperm sayıları, sperm hareketliliği ve morfoloji sonuçları karşılaştırması

	Normal Morfolojisi sıfır olan (n:20)	Major Anomalili (n:60)	Morfolojisi Normal (n:20)	P
Sperm Sayısı	28,85 ±21,69 18 (15-96)	41,35 ±30,36 29 (15-160)	63,50 ±38,62 53,50 (15-140)	0,003^{b,c}
Hareketlilik	47,65 ±10,23 43,5 (40-70)	49,32 ±9,55 49 (40-74)	57,25 ±15,41 51 (40-80)	0,080
Baş Morfoloji	82,50 ±4,51 82 (75-92)	77,50 ±6,75 79 (54-90)	-	0,004
Boyun Morfoloji	9,95 ±3,55 10 (2-17)	11,78 ±3,49 11 (5-21)	-	0,111
Kuyruk Morfoloji	7,55 ±2,33 7,5 (3-13)	10,52 ±4,58 10 (4-29)	-	0,004
Sürekli değişkenler aritmetik ortalama ± standart sapma ve medyan (minimum-maksimum değer) ile değerlendirilmiştir ve gruplar arası karşılaştırmasında 2 grup için mann whitney u 3 grup için kruskal Wallis test kullanılmıştır. Anlamlı bulunan sonuçlar için conover ıman çoklu karşılaştırmalarında: a; Normal Morfolojisi Sıfır Olan grup ile Major Anomalili olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. b; Normal morfolojisi sıfır olan grup ile Morfolojisi Normal olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. c; Major Anomalili ile Morfolojisi Normal olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.				



Grafik 1. Gruplara göre sperm sayıları dağılımı



Grafik 2. Gruplara göre sperm hareketliliği dağılımı

Çalışma dahilindeki gruplar arasındaki olguların deneme sayıları ve değerleri tablo 4.3.'de verilmiştir. Tabloya göre, majör anomalili olguların deneme sayısı en yüksek bulunmuş olup sadece majör anomalili olgular ile morfolojisi normal olgular arasından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p < 0,05$). Majör anomalili olguların oosit sayısı en düşük bulunmuş olup sadece majör anomalili olgular ile morfolojisi

normal olgular arasından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0,05$). Majör anomalili olguların MII sayısı en düşük bulunmuş olup sadece majör anomalili olgular ile morfolojisi normal olgular arasından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0,05$). Gruplar arasında 2PN, 3. gün embriyosu, 5. gün embriyosu, E2, AMH ve endometrium açısından da en düşük medyan değerleri majör anomalili olgulara ait olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$).

Tablo 5. Gruplara göre çalışmaya dahil edilen olguların deneme sayıları ve değerleri karşılaştırması

	Normal Morfolojisi Sıfır olan (n:20)	Majör Anomalili (n:60)	Morfolojisi Normal (n:20)	P
Deneme Sayısı	2,00 $\pm$ 1,62 1 (1-7)	2,38 $\pm$ 1,74 2 (1-9)	1,40 $\pm$ 0,94 1 (1-5)	0,026^b
Oosit Sayısı	8,40 $\pm$ 5,31 6,5 (3-25)	6,43 $\pm$ 4,54 5,5 (1-25)	8,60 $\pm$ 3,75 7 (4-16)	0,020^b
M2 Sayısı	7,40 $\pm$ 5,17 5,5 (3-25)	5,48 $\pm$ 4,37 5 (1-24)	6,85 $\pm$ 3,50 6 (2-15)	0,042^b
2PN Sayısı	6,95 $\pm$ 5,15 5 (3-25)	5,08 $\pm$ 4,16 4 (1-23)	5,75 $\pm$ 3,21 5 (2-15)	0,099
3.Gün Embriyosu	5,95 $\pm$ 3,50 5 (1-17)	4,75 $\pm$ 3,87 4 (1-20)	5,25 $\pm$ 2,81 4,5 (2-13)	0,104
5.Gün Embriyosu	4,00 $\pm$ 3,55 2,5 (0-14)	3,02 $\pm$ 2,38 2 (1-13)	3,35 $\pm$ 2,35 2 (1-8)	0,547
E2	2332,85 $\pm$ 1185,86 1803 (998-4749)	1985,08 $\pm$ 1557,79 1471 (182-8350)	1976,20 $\pm$ 742,47 1927 (911-3784)	0,111
AMH	3,28 $\pm$ 2,39 2,91 (0,40-8,10)	3,50 $\pm$ 4,23 2,20 (0,04-23,5)	3,59 $\pm$ 3,39 3,75 (0,20-16)	0,737
Endometrium	10,72 $\pm$ 1,90 10,50 (8,5-15)	10,09 $\pm$ 2,08 10 (7-20)	10,69 $\pm$ 1,65 10,50 (8,50-16)	0,190
Sürekli değişkenler aritmetik ortalama $\pm$ standart sapma ve medyan (minimum-maksimum değer) ile değerlendirilmiştir ve gruplar arası karşılaştırmasında kruskal Wallis test kullanılmıştır. Anlamlı bulunan sonuçlar için conover ıman çoklu karşılaştırmalarında: a; Normal Morfolojisi Sıfır Olan ile Majör Anomalili olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. b; Normal Morfolojisi Sıfır Olan ile Morfolojisi Normal olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır. c; Majör Anomalili ile Morfolojisi Normal olgular arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır.				

Çalışma dahilindeki grupların total freez, fresh ET, gebelik sonucu, kese görülme ve canlı doğum oranları tablo 4.4.'de verilmiştir. Tabloya göre, total freez oranı en düşük olan grup majör anomalili olgular, daha sonra normal morfolojisi sıfır olan olgularda olup ve en yüksek morfolojisi normal olan olgulardadır. Majör anomalili olguların ve normal morfolojisi sıfır olan olguların ile total freez oranı morfolojisi normal olan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha düşüktür($p<0,05$). Fresh ET oranı en yüksek olan grup majör anomalili olgular, daha sonra normal morfolojisi sıfır olan olgularda olup ve en düşük morfolojisi normal olan olgulardadır. Majör anomalili olguların ve normal morfolojisi sıfır olan olguların ile fresh ET oranı morfolojisi normal olan olgulara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksektir($p<0,05$). Gebelik pozitiflik oranı en düşük olan grup majör anomalili olgular, daha sonra normal morfolojisi sıfır olan olgular olup ve en yüksek morfolojisi normal olan olgulardadır. Gruplar arasında gebelik pozitiflik açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur($p>0,05$). Gebelik pozitif olanlarda gruplar arasında kese görülme oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$). Gebelik pozitif olanlarda gruplar arasından en düşük canlı doğum oranı majör anomalili olgularda olup gruplar arasında canlı doğum oranı açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$).

Tablo 6. Gruplara göre çalışmaya dahil edilen olguların total freez, fresh ET, gebelik sonucu, kese görülme ve canlı doğum oranlarının karşılaştırması

		Normal Morfoolojisi		Major Anomalili		Morfoolojisi Normal		p
		Sıfır Olan (n:20)		(n:60)		(n:20)		
		n	(%)	n	(%)	n	(%)	
Total Freez	Evet	8	(40,0%)	30	(50,0%)	2	(10,0%)	0,007 ^{b,c}
	Hayır	12	(60,0%)	30	(50,0%)	18	(90,0%)	
Fresh ET	Evet	12	(60,0%)	30	(50,0%)	18	(90,0%)	0,007 ^{b,c}
	Hayır	8	(40,0%)	30	(50,0%)	2	(10,0%)	
Gebelik	Pozitif	8	(40,0%)	23	(38,3%)	11	(55,0%)	0,417
Sonucu	Negatif	12	(60,0%)	37	(61,7%)	9	(45,0%)	
Kese	Yok	1	(14,3%)	1	(4,3%)	-		0,383
Görülme	Var	6	(85,7%)	22	(95,7%)	11	(100%)	
Canlı Doğum	Yok	2	(28,6%)	11	(47,8%)	2	(18,2%)	0,201
	Var	5	(71,4%)	12	(52,2%)	9	(81,8%)	
Kategorik değişkenler sayı (%) ile değerlendirilmiştir. Kikare testi veya ffisher exact test uygulanmıştır.								

5.TARTIŞMA

Çiftlerin ilk bir yıl korunmasız cinsel hayata rağmen yaklaşık %15'i çocuk sahibi olamamaktadır. Olguların %30-40'ına kadın infertilitesinin varlığı neden olmakta, %20'sinde erkek infertilitesinin önemli olduğu belirtilmiştir. Bu durum infertilite olgularının yarısında erkek infertiltesinin neden olduğunu göstermektedir (24).

İnfertil çiftlerdeki açıklanamayan infertilite sıklığı %30'a kadar çıkabilmektedir. Çiftleri açıklanamayan infertilite olarak sınıflandırabilmek için tubal açıklığın normal olması, semen analizinin normal olması, ve düzenli ovulatuar menstrual siklusların bulunması gereken başlıca kriterlerdir. Bu hastalarda etyolojiden rutin infertilite değerlendirmesi ile saptanamayan nedenler sorumlu olabilir. Açıklanamayan infertilite tanısı konulmuş hastaların tedavisiz izleminde siklus başına gebelik oranları %1-3 kadardır (25.)

Erkek infertilitesi değerlendirilirken semen analizi kullanılan en temel analizlerdendir. Bu analiz tüm infertil erkek değerlendirilmesinde kullanılır. İnfertil erkekler sperm sayısına göre WHO 2010 kriterlerine göre, sperm sayısı 15 milyon/ml ve üzeri olanlar, NZS (Normozozpermi); sperm sayısı 5-15 milyon/ml arasında olanlar, hafif OZS (Oligozoospermi); sperm sayısı 5 milyon/ml altında olanlar, şiddetli OZS (Oligozoospermi); ejakülatta sperm olmayan hastalar ise AZO (Azoospermi) olarak sınıflandırılmaktadır (24).

Çalışmamızda erkek infertilite faktörlerinin embriyo gelişimi üzerine etkilerini incelemek amacıyla çalışmaya dahil edilen çiftler sperm morfolojilerine göre 3 gruba ayrılmış (grup 1'de normal morfolojisi olmayan, grup 2'de ise major anomalili morfolojiye sahip olan (globozoosperm, macrocephal sperm, tail-stump sperm, grup 3 de ise normal morfolojisi olan) ve buna göre değerlendirmeye alınmıştır.

Gebelik oranları kadın yaşının artması sonucunda azalmaktadır. Menopoz başlangıcında birkaç yıl önce düzenli ovulatuar siklusları olmasına rağmen kadın fertilitesinde azalma yaşanır. Literatür çalışmaları fertilitenin kadınlarda yaş artması sonucunda azaldığı bildirilmiştir. IVF sikluslarında yaşın ilerlemiş olması olumsuz sonuçlara neden

olmaktadır (26). Çalışmamızda her üç grupta da kadın yaşı ortalaması 35 yaş altında bulunduğundan verilerimize yaş faktörü dahil olmamaktadır.

Erkek bireylerin yaşının ilerlemesiyle sperm motilitesinde, semen volümünde ve sperm morfolojisinde azalma ile ilişkili bulunmuş, sperm konsantrasyonunda azalma gibi ilişki bulunmamıştır. Semen parametrelerinde bu azalma 35 yaşlarından sonra saptanabilmekle birlikte, 50 yaş altı erkek fertilitesinde belirgin bir azalma görülmemektedir. Erkek bireylerde yaşla birlikte erkek fertilitesinde de azalma olur. Ancak erkek yaşının fertilitite ile ilişkisi kadın yaşı kadar kuvvetli değildir (27). Bizim çalışmamızda her üç grupta da erkek yaş ortalaması 35 yaş altında bulunduğundan verilerimize yaş faktörü dahil olmamaktadır.

Küpker'e göre uzun süreli infertilite ve başarısız IVF denemeleri olan hastalarda ciddi baş anomalileri sıklıkla eşlik etmektedir. Ancak, sperme ait defektlerin ICSI'nin sonuçları üzerinde belirleyici bir değeri olduğu henüz bir kesinlik kazanmamıştır (28). Bizim çalışmamıza göre majör anomalili olguların deneme sayısı en yüksek bulunmuş olup sadece majör anomalili olgular ile morfolojisi normal olgular arasından istatistiksel olarak anlamlı farklılık vardır ($p<0,05$).

Verileri analiz ettiğimiz her üç çalışma grubunda ortalama fertilize (2pn) olan M2 oosit sayısı, klivaj embriyo sayısı, 3.gün gelişen toplam embriyo sayısı ve 3.gün grade 1, grade2, grade 3 embriyo sayıları ve embriyo dondurma oranları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi ($p>0.05$).

Nagy ve ark. (2005) 966 mikro injeksiyon siklusunu fertilizasyon, embriyo gelişimi ve gebelik oranları açısından analiz etmek için toplam sperm sayısı, sperm hareketliliği ve morfoloji faktörlerini inceleyerek, ICSI sonuçlarını ortaya koymuşlardır. Sperm bozukluğunun derecesinin ve şeklinin ICSI sonuçlarında çok fazla etkisinin olmadığını bildirmişlerdir. Sadece bir hareketsiz sperm oosit içine enjekte edilirse ICSI sonucuna önemli ölçüde etki edeceği belirtilmiştir. Bundan dolayı mikro-enjeksiyonda oosit başına en az bir canlı spermin olması ICSI için başarılı bir sonuç oluşturacağı anlamına gelmektedir (29).

Çalışmamız sırasında sperm değerlendirmesinde baş defekti olmayan boyun ya da kuyruk defekti olan spermelerde anormal olarak değerlendirildi. Boyun ve kuyruk deformiteleri in vivo ortamda ya da konvansiyonel ivf de gebelik oranlarını negatif yönde etkilerken ICSI sonuçlarını etkilemez (30). ICSI işlemi esnasında embryolog, sperm seçilimi sırasında normale en yakın baş morfolojisine sahip olan spermi seçtiği için baş deformitelerinin oluşturacağı fark azaltılmış olabilir (31).

Çalışmamızın ana parametreleri fertilizasyon, implantasyon, sperm morfolojisi ve klinik gebelikler idi. Sperm kalitesinin bu parametrelerde katkısı önemlidir, ancak bu parametreleri aynı oranda etkileyecek oosit faktörü de vardır. Bu sebepten dolayı çalışmanın sonuçlarını negatif yönde etkileyecek ileri maternal yaş, düşük over rezervi, polikistik over gibi parametrelere sahip olan hasta grupları çalışmaya dahil edilmedi. Çalışma grupları açıklanamayan infertilite çiftlerinden seçildi.

Bizim sonuçlarımıza göre gebelik oranları ve klinik gebelik oranları değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermedi ($p>0.05$). Sonuç olarak denebilir globozoospermi ve immotil silia sendromu haricinde, sperme ait başka hiçbir bozukluk ICSI sonuçlarına önemli bir şekilde etki etmemektedir. Bu nedenle de ciddi erkek subfertilitesinin tedavisindeki en iyi yöntem ICSI'dir

KAYNAKLAR

1. Cebesoy, F.B., K. Aydos, and C. Unlu, Effect of sperm chromatin damage on fertilization ratio and embryo quality post-ICSI. Arch Androl, 2006. 52(5): p. 397-402.
3. . Christopher J. De Jonge ve Christopher LR Barratt. (2017). Sperm Hücresi: Üretim, Olgunlaşma, Döllenme, Rejenerasyon. .
4. Liza O'Donnell, PhD, Peter Stanton, PhD, and David M de Kretser, M.D., PhD. Endocrinology of the Male Reproductive System and Spermatogenesis. MDText.com. [Çevrimiçi] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279031/>.
5. Sadler, TW. (1985). Gametogenesis [Gametogenezis]. Langman's Medical Embryology. 5.th ed., Baltimore, Williams and Wilkins
6. Nassar, George N., ve Stephen W. Leslie. "Physiology, Testosterone". İçinde StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2019. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK526128/>
7. Ewing LL, Davis JC, Zirkin BR. Regulation of testicular function: a spatial and temporal view. International review of physiology. (Greep RO, ed). Baltimore. University Park Press. 41, 1980.
8. Kenehara H, Song K, Ueda H, Shiota N, Azuma H, Katsuoka Y, Miyazaki H, Miyazaki M. İnvolvement of angiotensin II receptor subtypes during testicular development in rats. Int J Androl 1998;21(4): 186-195.
9. Hai Y, Hou J, Liu Y, Liu Y, Yang H, Li Z, et al., editors. The roles and regulation of Sertoli cells in fate determinations of spermatogonial stem cells and spermatogenesis. Seminars in cell & developmental biology; 2014: Elsevier
10. Janqueira L.C., Carneior, J. *Temel Histoloji* Solakoğlu, S., Aytekin Y., (çev.) İstanbul. Nobel tıp Kitabevleri, 2009
11. Griswold MD. Spermatogenesis: The Commitment to Meiosis. Physiol Rev 2016;96:1–17
12. Ickowicz D. et al. Mechanism of sperm capacitation and the acrosome.
13. Chemes H.E. and Sedo C.E., Tales of the Tail and Sperm Head Aches Changing concepts on the prognostic significance of sperm pathologies affecting the head, neck and tail, Asian Journal of Andrology (2012) 14–23
14. Karabulut S. et ve ark. Male infertility, azoospermia and cryptozoospermia incidence among three infertility clinics in Turkey, Turk J Urol 2018; 44(2): 109-13 doi: 10. 5152

15. Chandra A., Journal of Advanced Pharmaceutical Tecnology and Research, 2010 Sep, Pmid:22247873
16. Speroff L, Fritz MA. Clinical Gynaecologic Endocrinology and Infertility. 8nd edition. 2011.
17. Rowe, P.J., Comhaire, F., Hargreave, T. Mellows, H. *WHO Manuel for the Standardized Investigation and Diagnosis of the Infertile Couple*. Cambrdige. Press Syndicate of the University of Cambridge, 1993.
18. Çelik Ö. Yardımcı Üreme Teknikleri Temel Klinik Ve Embriyolojik Uygulamalar, Nobel Kitabevi, 2011, Adana
19. Çiçek M.N. Temel Üreme Endokrinolojisi ve İnfertilite, Palme yayıncılık, Ankara. (2008)
20. Günalp S, Aktan E, Yücel A (eds). WHO labaratuar el kitabı: insan semeni ve sperm servikal mukus etkileşimi değerdendirilmesi. Ankara: Tıp Teknik Yayınevi, 4. baskı, 2002
21. Kruger TF, Menkveld R, Stander FS, Lombard CJ, Van der Merwe JP, Van Zyl JA, Smith KA. Sperm morphologic features as a prognostic factor in vitro fertilization. *Fertil Steril* 1986;46: 1118-1123
22. Menkveld R, Stander FSH, Kotze TJW, Kruger TF, Van Zyl JA. The evaluation of morphological characteristic of human spermatozoa according the strict criteria. *Human Reproduction* 1990,(5):586-592.
23. Işık A. Z. Vicdan K. In Vitro Fertilizasyon ve Mikromanüplasyon Uygulamalarında Laboratuar. 1999:79,129,151.
24. Tournaye, HJ., Cohlen, BJ. (2012). Management of male factor infertility. *Best Pract Res Clin Obs Gyn*, 769-75.
25. Katz, D.F., D.A. Slade, and S.T. Nakajima, Analysis of pre-ovulatory changes in cervical mucus hydration and sperm penetrability. *Adv Contracept*, 1997. 13(2-3): p. 143-51.
26. Ron-El, R., et al., Outcome of assisted reproductive technology in women over the age of 41. *Fertil Steril*, 2000. 74(3): p. 471-5.
27. Practice Committee of the American Society for Reproductive, M., Aging and infertility in women. *Fertil Steril*, 2006. 86(5 Suppl 1): p. S248-52.
28. Kupker W. Ultrastructure of gametes and intracytoplasmic sperm injection: the significance of sperm morphology. *Hum Reprod*. 1998 Apr;13 Suppl 1:99-106.

29. Nagy, Z. P., Liu, J., Joris, H., Verheyen, G., Tournaye, H., Camus, M., ... & Van Steirteghem, A. C. (1995). Andrology: The result of intracytoplasmic sperm injection is not related to any of the three basic sperm parameters. *Human Reproduction*, 10(5), 1123-1129.
30. Aneck De Vos. Influence of individual sperm morphology on fertilization, embryo morphology, and pregnancy outcome of intracytoplasmic sperm injection. *Fertil Steril* 2003;79:42-48
31. Jane E.Miller.The effect of intracytoplasmic sperm injection and sperm parameters on blastocyst development in vitro.*Hum.Reprod* 2001; 16: 918 – 24
2. “27.1 Erkek Üreme Sisteminin Anatomisi ve Fizyolojisi - Anatomi ve Fizyolojisi”. Erişim 21 Ekim 2019. <https://opentextbc.ca/anatomyandphysiology/chapter/27-1-anatomy-and-physiology-of-the-male-reproductive-system>



EKLER

EK-1. ETİK KURUL ONAYI



**GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMA
DEĞERLENDİRME KOMİSYONU ONAY FORMU**

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROJE BAŞVURU TARİHİ/SAYI	20200124/3
	ARAŞTIRMANIN ADI	"Mayoz markerlerinin, klinefelter sendromlu hastalarda, tedavi sonrası, tese sonuçları açısından prediktif (öngörü) değeri"
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI	Prof. Dr. Ahmet Hakan HALILOĞLU
	ARAŞTIRMANIN YERİ	Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	X
	GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRME VE ONAM FORMU	
	OLGU RAPOR FORMU	
	ARAŞTIRMANIN BÜTÇESİ	
KARAR BİLGİLERİ	ARAŞTIRICI BROŞÜRÜ (varsa)	
	Değerlendirme amacıyla Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji Anabilim Dalı Öğretim üyesi Prof. Dr. Ahmet Hakan HALILOĞLU' nun yürütücüsü olduğu ve Ufuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Klinik Embriyoloji Yüksek Lisans Programı öğrencisi Nafia YELLİ ALTUN'un yüksek lisans tez çalışması olarak planlanan yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler 24/01/2020 tarihinde Ufuk Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırma Değerlendirme Komisyonunda çalışma esasları doğrultusunda ve araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş araştırma etiğine uygun tasarlanmış olmasından dolayı onay verilmesine karar verilmiştir.	

KOMİSYON ÜYELERİ						
Unvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	E/K	İlişki	Katılım	İmza
Prof.Dr. Dikmen ARIBAL	Genel Cerrahi	UFUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ	E	☒ E ☒ H	☒ E ☒ H	
Prof.Dr. Nurşen DÜZGÜN	İç Hastalıkları	UFUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ	K	☒ E ☒ H	☒ E ☒ H	
Prof. Dr. Recai PABUÇCU	Kadın Hastalıkları ve Doğum	UFUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ	E	☒ E ☒ H	☒ E ☒ H	
Prof.Dr. Ferit PEHLİVAN	Biyofizik	UFUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ	E	☒ E ☒ H	☒ E ☒ H	
Prof.Dr. Aytül ÇAKMAK	Halk Sağlığı	UFUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ	K	☒ E ☒ H	☒ E ☒ H	
Prof.Dr. Arzu PAMPAL	Çocuk Cerrahisi	UFUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ	K	☒ E ☒ H	☒ E ☒ H	
Dr. Öğr. Üyesi. Mukadder GÜN	Tıp Tarihi ve Etik	UFUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ	K	☒ E ☒ H	☒ E ☒ H	
Dr. Öğr. Üyesi. Tuba ÇANDAR	Tıbbi Biyokimya	UFUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ	K	☒ E ☒ H	☒ E ☒ H	
Dr. Öğr. Üyesi. Duygu TOZCU	Fizyoloji	UFUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ	K	☒ E ☒ H	☒ E ☒ H	
Ecz. Nilgün SÜER	Eczacı	UFUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ	K	☒ E ☒ H	☒ E ☒ H	

E/K: Cinsiyeti; *Araştırmayla ilişki; ** Toplantıda bulunma

ADRES : Ufuk Üniversitesi Mevlana Bulvarı No:86/88 06520 BALGAT/ANKARA

Tel : (0312) 204 40 00 Faks : (0312) 287 23 90

WEB : www.ufuk.edu.tr e-mail : ufukuni@ufuk.edu.tr

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Hüseyin Güneş
Doğum Yeri ve Tarihi : Altındağ / 04.12.1987

Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi : Balıkesir Üniversitesi
Yüksek Lisans Öğrenimi : Ufuk Üniversitesi

İş Deneyimi

Çalıştığı Kurumlar : Centrum Clinic Tüp Bebek Merkezi (2015-halen)

İletişim

E-Posta Adresi : huseyingns87@gmail.com
Tarih : 15.01.2021