**T.C.**

**İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KLİNİK EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

# HYALURONİK ASİT İÇERİKLİ SPERM SEÇİMİ VE ANEUPLOİDİ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SELİN ARDA AYDEN**

**TEZ DANIŞMANI**
**Prof. Dr. TÜLAY İREZ**

**İSTANBUL, 2024**

**T.C.**

**İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KLİNİK EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

# HYALURONİK ASİT İÇERİKLİ SPERM SEÇİMİ VE ANEUPLOİDİ

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SELİN ARDA AYDEN**

**TEZ DANIŞMANI**
**Prof. Dr. TÜLAY İREZ**

**İSTANBUL, 2024**

**T.C.**

**İSTANBUL YENİ YÜZYIL ÜNİVERSİTESİ**

**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ**

**TEZ ONAY BELGESİ**

Klinik Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı **21111102002** numaralı öğrencisi Selin ARDA AYDEN'in "**Hyaluronik Asit İçerikli Sperm Seçimi ve Aneuploidi"** adlı tez çalışması, Enstitümüz Yönetim Kurulunun 28.05.2024 tarih ve 2024/11 sayılı kararıyla oluşturulan jüri tarafından oy birliğiyle Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

**Tez Savunma Tarihi**: 11.06.2024

Prof. Dr. Tülay İREZ
**Tez Danışmanı**

Prof. Dr. Kutsiye Pelin ÖÇAL
**Jüri Üyesi**

Dr. Öğr. Üyesi Nurten DAYIOĞLU
**Jüri Üyesi**

ETİK BEYAN

İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarınauygun 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 bulunarakkaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumdaaleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

11 /06 / 2024

SELİN ARDA AYDEN

# ÖNSÖZ

Tezin hazırlanmasında başta tüm desteği ile her zaman yanımda olan eşim, annem,babam ve kardeşime teşekkürlerimi sunarım.

Tezin hazırlanmasında bilgisi ile bana her zaman ışık tutan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Tülay İREZ'e saygı ve sevgilerimi sunarım.

İSTANBUL, 2024

SELİN ARDA AYDEN

# İÇİNDEKİLER

**ETİK BEYAN** ..... i

**ÖNSÖZ** ..... ii

**TABLOLAR LİSTESİ** ..... v

**ŞEKİLLER LİSTESİ** ..... vi

**KISALTMALAR LİSTESİ** ..... vii

**ÖZET** ..... viii

**ABSTRACT** ..... ix

1. **GİRİŞ** ..... 1-2
2. **GENEL BİLGİLER** ..... 3-26
   - 2.1. **İnfertilite** ..... 3-4
   - 2.2. **In Vitro Fertilizasyon** ..... 4-5
   - 2.3. **Kadın Üreme Sistemi** ..... 6-11
     - 2.3.1. **Oogenez** ..... 8-9
     - 2.3.2. **Menstrual Siklus** ..... 10-11
   - 2.4. **Erkek Üreme Sistemi** ..... 11-18
     - 2.4.1. **Spermatogenez** ..... 14-15
     - 2.4.2. **Sperm Hücresinin Anatomik Yapısı** ..... 15-17
     - 2.4.3. **Ejakülasyon** ..... 17
     - 2.4.4. **Semen Analizi** ..... 17-18
   - 2.5. **Aneuploidi** ..... 18-21
   - 2.6. **Intra Sitoplazmik Sperm Enjeksiyonu** ..... 21-22
   - 2.7. **Fizyolojik Intra Sitoplazmik Sperm Enjeksiyonu** ..... 22-24
     - 2.7.1. **Fizyolojik Intra Sitoplazmik Sperm Enjeksiyonu Protokolü** ..... 24
   - 2.8. **FISH Tekniği** ..... 24-26

**3. GEREÇ VE YÖNTEM..... 27-28**

**3.1. Hasta Popülasyonu ve Dahil Edilme Kriterleri..... 27**

**3.2. İncelenen Parametreler……28**

**3.3. İstatistiksel Analizler……28**

**4. BULGULAR……29-35**

**5. TARTIŞMA VE SONUÇ……36-38**

**6. KAYNAKLAR……39-44**

# TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.4.4.1: Dünya Sağlık Örgütü Semen Analiz Kriterleri……18

Tablo 2.5.1: Otozomal Aneuploidiler……..19

Tablo 2.5.2: Kromozomal Aneuploidiler…….20

Tablo 4.1: Kadın Hasta Demografik Bilgileri……..29

Tablo 4.2: Gruplarda Kadın Hasta Demografik Bilgileri ve Karşılaştırma…….30

Tablo 4.3: Erkek Hasta Sperm Özellikleri……...31

Tablo 4.4: Gruplarda Erkek Hasta Sperm Özellikleri ve Karşılaştırma…….. 32

Tablo 4.5: Gruplarda Gebelik ve Doğum Durumu Karşılaştırma……... 32

Tablo 4.6: Gruplarda 1. Ve 2. Gün Fertilizasyon Süreci ve Karşılaştırma……..33

Tablo 4.7: Gruplarda 3. Gün Fertilizasyon Süreci ve Karşılaştırma……... 34

Tablo 4.8: Gruplarda Kromozom Özelliği……. 34

# ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.1: Kadın Üreme Sisteminde Tubal Faktör ..... 4

Şekil 2.3.1: Kadın Üreme Organları ..... 7

Şekil 2.3.2: Endometrium Katmanları ve Uterus Bölümleri ..... 7

Şekil 2.3.1.1: Oogenez Şeması ..... 9

Şekil 2.3.2.1: Menstrual Siklus Döneminde Hormon Düzeyleri ..... 10

Şekil 2.4.1: Erkek Üreme Sistemi ..... 12

Şekil 2.4.2: Erkek Üreme Sistemi İç Organları ..... 13

Şekil 2.4.1.1: Spermotogenez Şeması ..... 15

Şekil 2.4.2.1: Sperm Hücresinin Bölümleri ..... 16

Şekil 2.4.3.1: Spermin Vücut İçerisinde İzlediği Yol ..... 17

Şekil 2.5.1: Triple X Sendromu ..... 21

Şekil 2.5.2: Turner Sendromu ..... 21

Şekil 2.7.1: Sperm Mikroenjeksiyonu ..... 23

Şekil 2.7.1.1: Petri Kabı İçerisinde Sperm Örnekleri ..... 24

Şekil 4.1: Oosit Dağılımı ..... 30

# KISALTMALAR LİSTESİ

AMH: Anti Müllerian Hormon

DJ: Dejenere

FISH: Floresan In Situ Hibridizasyon

FSH: Folikül Stimüle Edici Hormon

GnRH: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon

HA: Hyaluronik Asit

ICSI: Intra Sitoplazmik Sperm Enjeksiyonu

IVF: In Vitro Fertilizasyon

LBR: Canlı Doğum Oranı

LH: Luteinizan Hormon

OPU: Yumurta Toplama

PCOS: Polikistik Over Sendromu

PGD: İmplantasyon Öncesi Genetik Tanı

PICSI: Fizyolojik Intra Sitoplazmik Sperm Enjeksiyonu

SD: Standart Sapma

# ÖZET

## HYALURONİK ASİT İÇERİKLİ SPERM SEÇİMİ VE ANEUPLOİDİ

Uygun olan spermin seçimi IVF/ICSI uygulamalarında çok önemlidir. Geleneksel teknikler buna olanak vermemektedir. Günümüzde kullanılan teknik, sperm canlılığı ve morfolojisine göre seçim ile sınırlıdır. Hyaluronik asit bağlanmasına dayalı geliştirilen teknik hakkında araştırmacılar olumlu yaklaşmaktadır. İlk kez Huszar ve arkadaşları tarafından oluşturulan bu teknik ile Oosit-kümülüs kompleksini çevreleyen hücre dışı matrisin önemli bir bileşeni olan hyaluronik asite (HA) bağlanan spermlerin daha olgun olduğu, daha iyi DNA sıkışmasına ve daha az kalıntı sitoplazmaya sahip olduğu rapor edilmiştir. ‘’Hyaluronik Asit İçerikli Sperm Seçimi ve Aneuploidi’’ çalışmamızın amacı, açıklanamayan infertil olgularda canlı doğum oranı (LBR) üzerinde ICSI öncesinde spermin hyaluronik asit (HA) seçiminin geleneksel olarak seçilmiş sperme karşı etkinliğini belirlemek, embriyo gelişimi ve aneuploidi sonuçları ile test etmektir.

Bu retrospektif çalışma İstinye Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Gaziosmanpaşa şubesinin 2019-2023 verilerine dayanarak 27 açıklanamayan infertil hasta grubunda 15 ICSI, 12 de PICSI uygulamalarının sonuçlarını içermektedir. Grupların karşılaştırılması SPSS istatistik paketi ile değerlendirilmiştir.

Çalışmamız sonucu PICSI yönteminin açıklanamayan infertil olgularda gebelik, aneuploidi sonuçlarını değiştirmediğini ortaya koymuştur ($p>0,05$).

Elde ettiğimiz bulgular sonucunda, diğer endikasyonlu hastalarda da karşılaştırılması ve bu yöntemin etkinliği için daha fazla araştırma yapılması gerekli görülmüştür.

**Anahtar Kelimeler:** Hyaluronik Asit, IVF, ICSI, PICSI, Aneuploidi

SELİN ARDA AYDEN, 2024

# ABSTRACT

## HYALURONIC ACID CONTAINING SPERM SELECTION AND ANEUPLOIDY

The selection of suitable sperm is very important in IVF/ICSI applications. Traditional techniques do not allow this. The method used today is limited to selection based on sperm viability and morphology. With this technique, first created by Huszar et al., it has been reported that spermatozoa bound to hyaluronic acid (HA), an essential component of the extracellular matrix surrounding the oocyte-cumulus complex, are more mature, have better DNA compression and less residual cytoplasm. The aim of our study "Content Sperm Selection and Aneuploidy" is to determine the effectiveness of hyaluronic acid (HA) selectionof sperm against traditionally selected sperm before ICSI on the live birth rate (LBR) in unexplained infertile cases and to test it with embryo development and aneuploidy results.

This retrospective study includes the results of 15 ICSI and 12 PICSI applications in 27 unexplained infertile patient groups, based on İstinye Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Gaziosmanpaşa Center 2019-2023 data. The comparison of the groupswas evaluated with the spss statistical package.

The result of our study revealed that the PICSI method did not change pregnancy andaneuploidy results in unexplained infertile cases ($p>0.05$).

It was deemed necessary to compare our findings in patients with other indications and to conduct further research on the effectiveness of this method.



**Key Words:** Hyaluronic Acid, IVF, ICSI, PICSI, Aneuploidy



SELİN ARDA AYDEN, 2024

# 1. GİRİŞ

İntra sitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI), yaygın olarak kullanılan bir in vitro fertilizasyon tekniğidir. ICSI uygulamasında sperm seçimi morfolojik olarak yapılmaktadır ancak bu şekilde seçim her zaman doğru spermin seçilmesini sağlamamaktadır. Hyaluronik asit oosit çevresinde bulunan kümülüs-korona hücrelerinden salgılanır ve fertilizasyon öncesi spermler için kimyasal uyarı oluşturarak kemotaksis hareketi başlatır (Vaughan 2019). Sperm başında ise hyaluronik asit reseptörlerinin varlığı, aynı zamanda sperm maturasyonunun da bir göstergesi olarak yer alır (Jakab ve ark 2005). Bu kapsamda hyaluronik aside bağlananspermlerin kaliteli olduğu varsayılmaktadır (Jakab 2005, Dandekar ve arkadaşları, 1992,Parmegiani ve diğerleri, 2010; Mokanszki ve diğerleri, 2014; Rashki Ghaleno ve diğerleri, 2016, West ve ark 2022). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kriterlerine dayalı standart sperm fonksiyonu ölçümleri arasındaki uyumu bildiren çeşitli çalışmalar, anormal derecede düşük HBS'ye sahip erkeklerin genellikle kısır olduğunu ve bu nedenle çocuk sahibi olmada zorluk yaşama olasılıklarının daha yüksek olduğunu öne sürmektedir. (Tarozzi ve ark., 2014). PICSIolarak adlandırılan yöntem, ICSI için sperm seçmek amacıyla geliştirilmiş bir sperm seçme tekniği olarak kullanılmaktadır (Huszar ve ark 2007). Birçok çalışma, geleneksel ICSI ile karşılaştırıldığında PICSI kullanıldığında IVF tedavisi sonuçlarının iyileştiğini bildirdi; ancak çalışmaların çoğunluğunun gücünün yetersiz olduğu anlaşılmaktadır (Worillow ve ark 2013).

Son yıllarda yardımcı üreme tekniklerinde kaydedilen ilerlemeler In Vitro Fertilizasyon (IVF) tedavilerinde yeni yöntemlerin geliştirilmesine ve canlı doğum oranlarının artmasına olanak tanımıştır. İlk kez Huszar ve arkadaşları tarafından oluşturulan bu teknik ile Oosit-kümülüs kompleksini çevreleyen hücre dışı matrisin önemli bir bileşeni olan hyaluronik asite (HA) bağlanan spermlerin daha olgun olduğu, daha iyi DNA sıkışmasına ve daha az kalıntı sitoplazmaya sahip olduğu rapor edilmiştir (Huszar ve ark 2007). Bu bağlamda Hyaluronik Asit bağlanan spermlerin seçilerek mikro enjeksiyon işleminin gerçekleştirilmesi sağlıklı bir embriyo gelişimi için umut verici bir yaklaşım olarak öne çıkmaktadır. Hyaluronik asitin olgun ve genetik olarak sağlıklı

spermlerin seçilmesinde rol oynadığı bilinmektedir. Bu yöntem ile gerçekleştirilen mikro enjeksiyon tekniği aneuploidi adı verilen kromozom sayısında değişiklik (artış-eksiklik) görülmesine bağlı kromozom anomalilerin tespitinde kritik bir rol oynayabilir.

Son zamanlarda, Hyaluronik Asit Bağlayıcı Sperm Seçimi (HABSelect) çalışması olarakbilinen büyük, çok merkezli, randomize kontrollü bir çalışma, PICSI ile düşük oranlarında önemli bir azalma buldu, ancak canlı doğum oranı üzerinde anlamlı bir etkisi olmadı (Miller ve ark 2019). PICSI'nin uzun vadeli yavru sağlığının iyileştirilmesi gibi gelecekteki araştırmalarla onaylanması koşuluyla avantaj sağlayabileceği hala birçok yol vardır. Diğer gelişmiş sperm seçimi teknikleri arasında intra sitoplazmik morfolojik olarak seçilmiş sperm enjeksiyonu, manyetik olarak aktifleştirilen hücre sınıflandırması ve Zeta potansiyeli sperm seçimi; ancak en son Cochrane incelemesi, bu tekniklerin canlı doğum oranları gibi klinik sonuçları iyileştirip iyileştirmediğini belirlemek için şu anda yeterli kanıt bulunmadığı sonucuna varmıştır (McDowell 2014). Mevcut çalışmalar endikasyonların dikkate alınmaksızın PICSI sonuçlarını sunmuştur. Bu nedenle bu çalışmada kadın yaşının ve kadın ve erkekte önemli bir endikasyon bulunmadığı durumda sonuçları görmek istedik.

Çalışmamızın amacı Fizyolojik İntra Sitoplazmik Sperm Enjeksiyonunun (PICSI) ve geleneksel İntra Sitoplazmik Sperm Enjeksiyonunun (ICSI) farklarını açıklanamayan infertil olgularda değerlendirmek, bu yöntemlerin canlı doğum oranı (LBR) üzerinde ICSI öncesindeki hyaluronik asite bağlanmış spermin geleneksel olarak seçilmiş sperme karşı etkinliğini embriyo gelişimi ve aneuploidi sonuçları ile incelemektir.

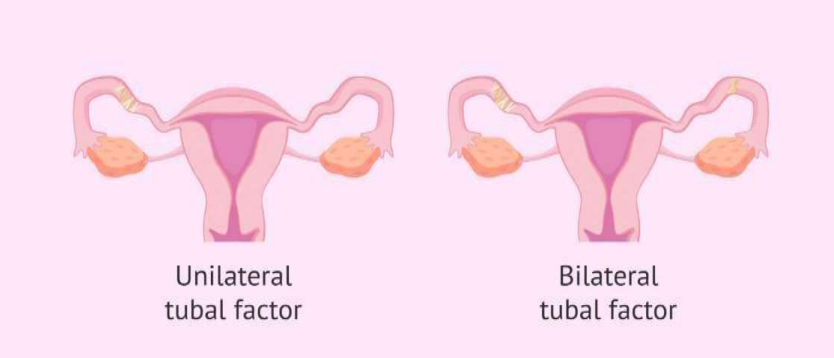
# 2. GENEL BİLGİLER

## 2.1. İnfertilite

İnfertilite, çiftlerin bir yıl boyunca düzenli ve korunmasız ilişkiye girmesine rağmen gebelik elde edilememesi olarak tanımlanmaktadır. Çiftlerin tanı alması için her ikisinin de kliniğe başvurması gerekmektedir. Erkek ve kadının ayrı olarak detaylı klinik değerlendirilmelerinin yapılması gerekmektedir. Klinik değerlendirmeler sonucu tedavi şemasına karar verilmektedir. Klinik değerlendirmeler sırasında kadında ovulasyon düzeni, Anti Mullerian Hormon (AMH) düzeyi ve kadın üreme sisteminde tespit edilebilecek herhangi bir anomali (tubal faktör) gibi çeşitli kriterler araştırılmaktadır. Erkekte ise sperm kalitesi, erkek üreme sistemi anomalisi gibi kriterler değerlendirilmektedir. Ek olarak varikosel gibi infertilite üzerinde etkisi olduğu bildirilen rahatsızlıklar araştırılmaktadır.

İnfertilite tanısı alan çiftlerin %85'inde infertilitenin tespit edilebilen bir nedeni vardır. Geri kalan %15'lik kısmı oluşturan çiftler ise tanımlanamayan infertilite tanısı almaktadır (Thurin- Kjellberg, A., & Carlsson, P., 2023). Tanımlanamayan infertiliteye aşırı kilo alımı, sigara kullanımı gibi yaşam tarzı ve çevresel faktörlerin sebep olabileceği öngörülmektedir. İnfertilite, kadın faktörlü, erkek faktörlü ya da çiftlerden her ikisinde de görülebilecek üreme fonksiyonu bozukluklarından kaynaklanabilmektedir. Gebeliğin oluşabilmesi için kadın üreme sistemi, hipofiz bezi ve endokrin sisteminin sağlıklı bir şekilde çalışması gerekmektedir.

Kadın faktörlü infertilitede birçok sebep ile karışılabilmektedir. Ovulasyon düzensizlikleri, endometriozis, Polikistik Over Sendromu (PCOS), AMH düşüklüğü, ileri yaş veya tiroit hormon bozuklukları kadın faktörlü infertilite sebepleri arasında yer almaktadır. Ek olarak tedavi edilmemiş çift taraflı tubal faktör durumu da in vitro fertilizasyon ile endikedir. Kadın üreme sisteminin bir parçası olan fallop tüplerinin tıkanıklığı tubal faktör olarak adlandırılmaktadır. Gebeliğin doğal yollar ile gerçekleşmesi için fallop tüplerinin embriyonun taşınmasına ya da geçişine izin vermesi gerekmektedir.




**Şekil 2.1.1:** Kadın Üreme Sisteminde Tubal Faktör

Erkek üreme sisteminde ise sperm üretimi fertilizasyonda büyük öneme sahiptir. Sperm üretimi ve olgunlaşması yaklaşık olarak 74 gün sürmektedir. Sperm, canlılık hareketlilik ve şekil olarak değerlendirilmektedir. Sperm kriterleri fertilizasyon için elverişli olmalıdır.

Erkek faktörünün infertilite tanısında %30-50'lik paydayı oluşturduğu tahmin edilmektedir (Barratt et al., 2017). Testis fonksiyonlarının bozulması, semen kalitesinin düşük olması gibi etmenler erkek faktörlü infertilitede rol oynamaktadır. İn vitro fertilizasyon öncesi kaliteli sperm seçimi büyük önem arz etmektedir. Şiddetli erkek faktörü infertilitede in vitro fertilizasyon ile ilişkilidir.

## 2.2. In Vitro Fertilizasyon

İnfertilite tanısı almış çiftler için umut verici bir yöntem olan in vitro fertilizasyon, modern tıbbın en önemli başarılarından biridir. IVF, on iki ay boyunca korunmasız cinsel ilişkiye girmesine rağmen doğal yollarla gebe kalamayan infertil tanısı almış çiftler için geliştirilen birtedavi yöntemidir. Bu yöntemde, kadın hasta için yumurta toplama (OPU) işlemi gerçekleştirilmektedir. Yumurtalıklarından alınan olgun yumurtalar laboratuvar ortamındaerkek hastadan toplanan sperm hücreleri ile fertilizasyon için bir araya getirilir. Başarılı fertilizasyondan sonra elde edilen embriyolar rahim içine transfer edilir.

IVF tedavisi, birkaç adımdan oluşmaktadır. Tedavide ilk adım olarak, kadın hastanın overleri uygun hormon ilaçlarıyla uyarılır ve uyarılma sonucu olgunlaşan yumurtalar toplanır. Daha sonra, erkek hastadan sperm örneği alınır. Spermler morfolojik ve canlılık kriterlerine bakılarak değerlendirilir. Spermler yumurta hücresi ile bir araya getirilir. Bu aşamada, laboratuvar ortamında ertilizasyon gerçekleşir ve embriyolar oluşur.

Oluşan embriyolar, laboratuvar ortamında uygun şartlarda birkaç gün boyunca izlenir ve bu embriyolar arasında en sağlıklı olan seçilerek rahim içine transfer edilir. Transfer işlemi genellikle hastanın doğal siklusuna uygun olarak yapılır, böylece embriyonun tutunma şansı artar.

IVF tedavisi, birçok çift için başarılı sonuçlar sağlamaktadır. Fakat, her tedavi süreci ve her çiftin sonucunu etkileyecek faktörler farklılık gösterebilmektedir. Yaş, infertilite nedenleri, yumurta kalitesi ve sperm kalitesi gibi değişkenler bu faktörler arasında yer almaktadır.IVF tedavisinin son yıllarda hastalar için sunduğu avantajlar artmıştır (Human Reproduction Update, n.d.). Yalnızca infertilite sorunu yaşayan çiftlerin tedavi yöntemi olarak kullanılmamakta, eş zamanda genetik hastalıkların önlenmesi veya nesilden nesile aktarılmasıriskinin azaltılması için de kullanılabilmektedir. Örneğin, genetik hastalıkların bulunduğu ailelerde, embriyoların genetik analizinin yapılması ile transfer döneminde sağlıklı embriyoların kadın hastaya transfer edilmesi sağlanabilmektedir.

Ancak her tedavi yönteminde olduğu gibi IVF tedavisinin de bazı riskleri bulunmaktadır. Abort ve çoklu gebelik riskler arsında gösterilebilmektedir (Barratt et al., 2017). Tedavi süreci detaylı klinik değerlendirmeler ile planlanmalıdır.

## 2.3. Kadın Üreme Sistemi

Kadın üreme sisteminin üç temel işlevi bulunmaktadır. Vücudun gebeliğe hazırlanması, menstrual siklusun düzenlenmesi ve gebelik süreci kadın üreme sisteminin işlevleri arasında yer almaktadır. Kadın üreme organları iç genital üreme organları ve dış genital üreme organları olarak ikiye ayrılmaktadır. Kadın iç genital organları vajina, serviks, overler ve uterustan oluşmaktadır. Kadın dış genital organları ise labium majör, klitoris, labium minör, üretral açıklıktan oluşmaktadır.

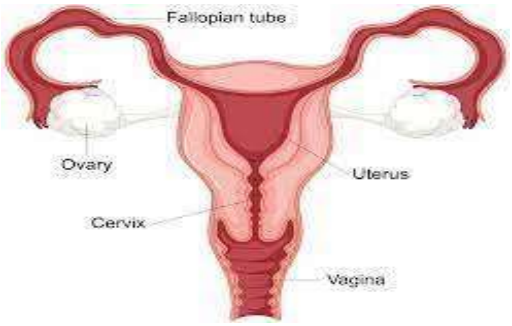
Dış genital organlar, iç genital organları enfeksiyondan korur ve spermin vajinaya girişine olanak sağlamaktadır. Dış genital organların bütününe vulva adı verilmektedir.

Labia majör dış üreme organlarını çevreler ve korur. Puberte döneminden labia majörde deride kıllanma gözlemlenmektedir (McLaughlin, 2023). Ter ve yağ salgılayan bezler de burada bulunmaktadır.

Labia minör çeşitli boyut ve şekillerde olan çok hassas bir dış genital organdır. Labia majörüniç kısmında bulunmaktadırlar.

Klitoris, labia minörlerin arasında bulunmaktadır. Birçok sinir hücresi içermektedir. Dolayısı ile uyarılmaya karşı çok hassastır. Klitorisin altında ise üretral açıklık bulunmaktadır, idrar buradan vücut dışına atılmaktadır.

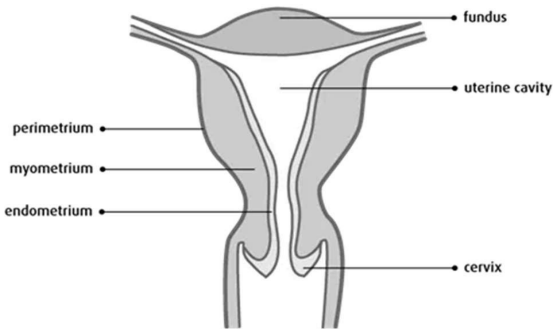
Kadın iç genital organlarından biri olan **vajina** mukozal yapısı sayesinde nemli kalmaktadır. Uterusu vücut dışına bağlayan kanaldır.




**Şekil 2.3.1:** Kadın Üreme Organları

**Fallop tüpleri** yumurtanın overlerden uterusa geçişini sağlayan kanallardır. Fertilizasyon fallop tüperinde gerçekleşmektedir.

**Uterus** doğuma kadar embriyonun gelişimini ve büyümesini tamamladığı yerdir**.** İçi boş kalınduvarlı bir yapıya sahiptir. Fertilizasyonda önemli bir role sahiptir, embriyonun implante olduğu ve geliştiği kadın iç genital organıdır. Uterus üç tabakadan oluşmaktadır. Endometrium, myometrium ve perimetrium katmanlarından oluşmaktadır. En iç kısım endometriumdur. Menstrual siklus boyunca değişimler göstererek fertilizasyon gerçekleşmez ise her menstrual siklus döneminde 3/2'si atılmaktadır. Orta tabakasına myometrium denir. Myometrium uterusun en kalın tabakasıdır, istemsiz çalışan düz kaslardan oluşur. Bu kaslar menstrüasyon esnasında uterusun içinde biriken kanı kasılarak vücuttan atmaktadır. Bu kaslar doğum esnasında da kasılarak bebeğin anne vücudundan çıkmasında görev almaktadır. Perimetrium; en dış tabaka ise dış yüzeyi kaplayan ince membran ile kaplıdır.




**Şekil 2.3.2:** Endometrium Katmanları ve Uterus Bölümleri

**Overler** kadın iç genital organlarından bir diğeridir. Uterusun her iki tarafında bulunmaktadır. Her bir overin içerisinde yumurta üretiminde görev alan çok sayıda folikül bulunmaktadır. Overler sağlıklı bir kadında gametogenez ile her ay uterusa fallop tüpleri aracılığı ile ovum gönderilmesinden sorumludur. Östradiol ve progesteron üretiminde görev almaktadırlar.

Östrojen hormonu kadınlarda cinsiyet özelliklerinin gelişmesi ve sürdürülmesinde görev almaktadır. Progesteron ise endometriyum ve memelerin gelişmesinde görev almaktadır. Overlerden östrojen ve progesterona ek olarak relaksin ve inhibin hormonu da salgılanmaktadır. Relaksin hormonu gebeliğin sonunda simfizis pubisin gevşemesinden sorumludur. İnhibin ise FSH salgısının inhibasyonunda görev almaktadır.

### 2.3.1. Oogenez

Oogenez kadınlarda fetal hayatta başlamaktadır. Spermatogenezin aksine yaşam boyu sürmez, menapoz döneminde kadınlarda oogenez sona ermektedir. Gebeliğin 5-6. aylarında oogonia sayısı en yüksek değere ulaşmaktadır. 6-7 milyon oogonia oluşmaktadır. İlk mayoz bölünme bu evrede başlar. Birincil oosit ise doğumda 1-2 milyon, puberte döneminde 400.000 civarında olup menopozda sayı giderek düşer ve oogenez süreci menopoz döneminde durmaktadır (Jensen & Skakkebaek, 2024).

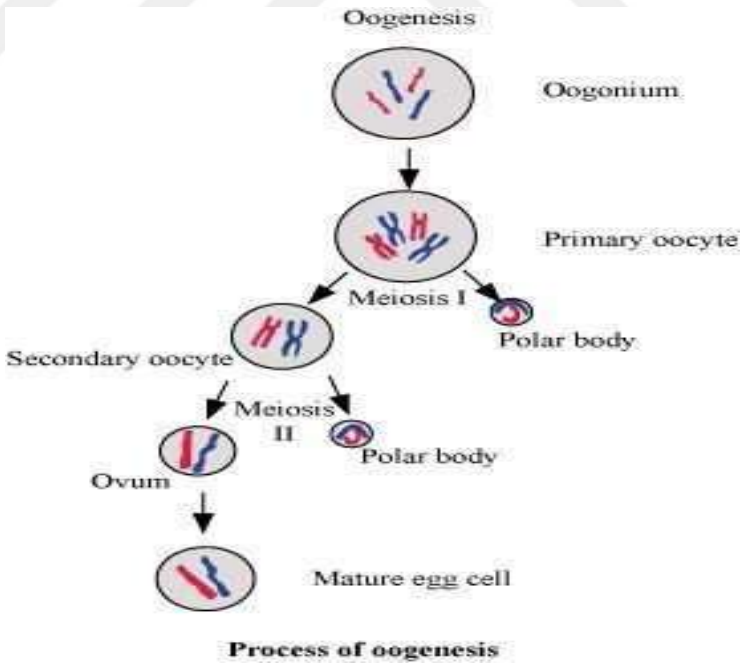
Overlerde çok sayıda over folikülü bulunmaktadır. Her folikülde bir adet birincil oosit bulunmaktadır. Her ay bir yumurta hücresi olgunlaşarak fertilizasyonun gerçekleşebilmesiiçin overlerin dışına bırakılmaktadır.

Kadınlarda oogenez süreci iki kez duraksamaktadır. İlk duraksama doğum öncesi ikinciduraklama ovulasyon öncesinde gerçekleşir.

Oogenez iki evrede gerçekleşmektedir. Birinci evre doğum öncesi olgunlaşma evresi ikinci evre ise doğum sonrası olgunlaşma evresidir. Doğum öncesi olgunlaşma evresinde yumurtalıkana hücresi mitozla çoğalarak oogonyumları

oluşturur. Oluşan oogonyumlar mitoz bölünme ile birincil oositleri oluşturmaktadır. Birincil oositler doğuma yakın süreçte mayoz 1 profaz evresinde duraksar. Doğum sonrası olgunlaşma evresinde tüm birincil oositler, 1. Mayozun profaz evresinde dinlenmededir. Oogenez süreci puberte dönemine kadar duraklar. Puberte dönemi ile folikül olgun hale gelir ve mayoz 1 tamamlanır. Haploid kromozomlu 2 yavru hücre oluşur. Yavru hücrelerin büyüklükleri birbirinden farklıdır. Biri sitoplazmanın büyük bir kısmını içeren ikincil oosit diğeri ise az sitoplazma içeren birinci kutup cisimciğidir. Kutup cisimciği az sitoplazma içermesi nedeni ile bir süre sonra kaybolmaktadır. İkincil oosit mayoz II sürecine girer.

İkincil oosit mayoz II metafaz evresinde iken ovulasyon gerçekleşir. Ovulasyon ile folikülden dışarı bırakılan ikincil oosit fallop tüplerine alınır. İkincil oosit fallop tüplerinde bir sperm ile karşılaşır ise fertilizasyon ile 2. Mayoz bölünme tamamlanır ve zigot oluşur. İkincil oosit fallop tüplerinde sperm ile karşılaşmaz ise zamanla ikincil oosit dejenere (DJ) olmaktadır.

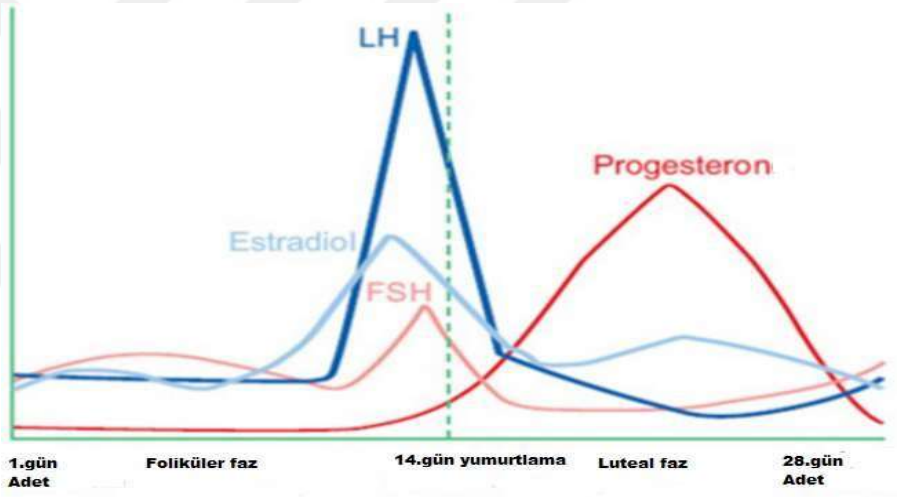



**Şekil 2.3.1.1:** Oogenez Şeması

### 2.3.2. Menstrual siklus

Kadın genital sistem fizyolojisi, hipotalamus, hipofiz ve kadın genital organlar arasında hormonlar ile düzenlenen karmaşık bir yapıya sahiptir. Bu karmaşık fizyolojide temel olarak rol oynayan hormonlar hipotalamustan salgılanan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH), hipofizden salgılanan folikül stimüle edici hormon (FSH) ve luteinizan hormon (LH), overlerden salgılanan östrojenler, androjenler, progesterondur.

Menstrual siklus tüm genital sistemi etkileyen değişimleri kapsar ve foliküler (proliferatif) fazve luteal (sekretuar) faz olmak üzere iki dönemden oluşur. Menstrual siklus ortalama olarak28 gündür (Stern & McClintock, 2023).




**Şekil 2.3.2.1:** Menstrual Siklus Döneminde Hormon Düzeyleri

Foliküler faz adetin birinci gününden LH yükselmesinden önceki güne kadar olan süreyi kapsamaktadır. Luteal faz, LH yükselmesi ile başlar ve bir sonraki menstrüasyona kadar sürer.Adet döngüsü dört ayrı yapının uyumlu bir şekilde çalışması sonucunda endometriumda oluşan değişikliklerle gerçekleşir. Bu yapılar; hipotalamus, hipofiz, overler ve uterustur. Bu dört bölümün herhangi birisinde problem olduğunda menstrüasyon düzensizliği ya da amenore meydana gelmektedir.

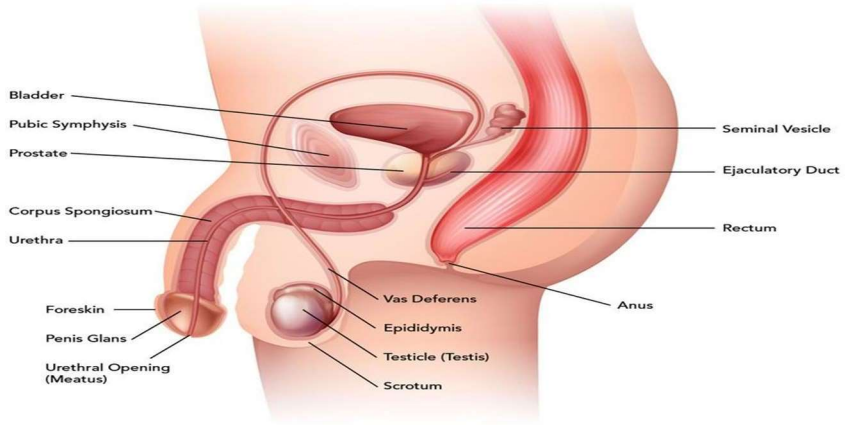
Menstrual siklusta rol oynayan hormonlar arasında GnRH, LH, FSH, estradiol, progesteron ve östrojen bulunmaktadır. Gonadotropin salgılatıcı hormon, hipotalamustaki hücrelerden üretilir. Hipofiz bezi luteinize edici hormon ve folikül uyarıcı hormonlarını üretir. FSH,granüloza hücrelerinin gelişimini uyarır ve androjenleri östrojenlere çeviren aromataz enzimini indükler. FSH hormonu ön hipofizden salgılanır ve GnRH tarafından kontrol edilir. FSH, folikülleri uyarır ve overlerden salgılanan estradiol artar. FSH azalırken estradiol artmaya devam eder. Estradiol artınca pozitif feed back mekanizması ise LH peak yapar (Herbison & Moenter, 2023). LH'ın peak yapması yumurtanın son maturasyonu ve folikülün çatlaması için çok önemlidir. Progesteronun peak yaptığı dönemde embriyo uterin kaviteye gelmektedir. Luteal fazda östrojen harici diğer tüm hormonların seviyesinde düşüş vardır.

Fertilizasyon gerçekleşmez ise LH, östrojen ve progesteron seviyeleri düşer. Korpus luteum bozulur. Korpus luteum bozulması sonucunda yumurta endometriyum dokuları ile vücuttan dışarı atılmaktadır.

## 2.4. Erkek Üreme Sistemi

Erkek üreme sisteminin 3 temel işlevi bulunmaktadır. Spermatogenezin düzenlenmesi, testosteronun salgılarının düzenlenmesi ve erkek cinsel işlem performansının düzenlenmesi erkek üreme sisteminin işlevleridir.

Erkek üreme sistemi de kadın üreme sistemi gibi dış genital organlar ve iç genital organlardan oluşmaktadır. Erkek üreme sistemi sperm ve gametleri oluşturmaktadır. Penis ve skrotum dış genital organları oluşturmaktadır. Testis, vaz deferens, epididim ve salgı bezleri ise iç genital organları oluşturmaktadır.




**Şekil 2.4.1:** Erkek Üreme Sistemi

Dış genital organlardan penis, süngerimsi dokuya sahip erkek üreme organıdır. Baş ve gövde olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Baş kısmında çok sayıda sinir ucu bulunmaktadır. Gövdenin içerisinde üretra yer almaktadır. Üretra hem ejakülatın hem de idrarın vücuttan dışarı atılmasından sorumludur.

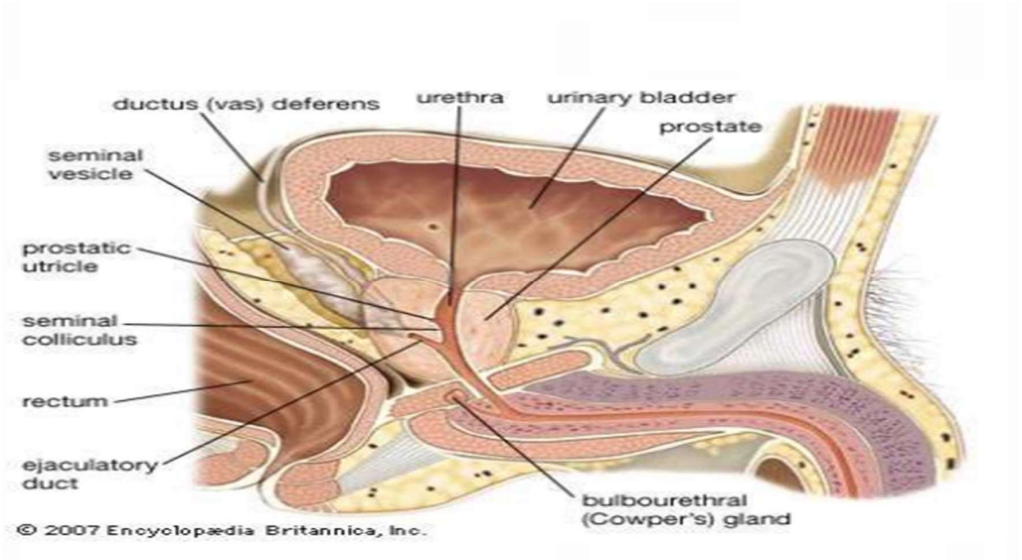
Erkek dış gential organlarından olan skrotum, içinde testisleri sperm kanallarını ve çok sayıda damarı bulundurmaktadır. Skrotumun sperm üretiminde çok büyük bir rolü vardır. Testislerin vücut ısısından daha soğuk durmasını sağlayan torba şekline benzer bu yapı erkek üreme sistemi için çok önemlidir. Skrotumun ısısı 32 derecedir. Spermatogenez bu ısıda devam etmektedir.

Testis ise bir erkek üreme sistemi iç organıdır. Embriyogenezde abdominal kavitede yer alan testisler ingunial kanal yolu ile skrotuma inerler. Testislerin skrotumuna inmeyerek abdominalkavitede kalması durumu kriptorşidizm olarak adlandırılmaktadır (Leslie, Sajjad, & Villanueva, 2023). Erkeklerde bu durumda spermatogenez gerçekleşmemektedir. Testis skrotumun içerisinde yer almaktadır. Testisler sperm üretiminden sorumlu organlardır. Fertilizasyonda önemli bir rol oynamaktadır. Testisler seminifer tüpçükler içerir. Tüpçüklerin içinde yer alan hücreler ile testisler, testosteron hormonu salgılamaktadır.

İç organlardan bir diğeri ise epididimdir. Testis kanalcıkları ile bağlantılı olan epididim sperm hücrelerinin olgunlaştığı ve depolandığı yapıdır. Epididim sarmal tüp yapıdadır.

Vaz deferens, epididim ile üretra arasındaki kanaldır. Ana sperm iletim kanalı olarak fertilizasyonda görev almaktadır.

Prostat, bulboüretral bezler ve vesika seminalis yardımcı cinsiyet bezleri olarak görev almaktadır. Bezler spermin içinde yaşadığı ve ejakülasyonla birlikte vücuttan dışarı atılan seminal sıvıyı üretmektedirler. Seminal Veziküller, mesanenin bir tarafındaki vas deferense bağlanan kese benzeri yapılardır. Fruktoz içeren yapışkan sarımsı bir sıvı üretirler. Fruktoz sperm hareketliliği için enerji sağlamaktadır. Erkek üreme sisteminde prostat bezi ise, mesanenin hemen altında, üretranın tabanındaki boşalma kanallarını çevreler. Prostat Bezi, sperm hücreleri, prostat sıvısı ve seminal sıvıdan oluşan sıvı bir karışım olan meni üretiminden sorumludur. Bulbouretral bezler, üretranın yanlarında, prostat bezinin hemen altında yer alan iki küçük bezdir.




**Şekil 2.4.2:** Erkek Üreme Sistemi İç Organları

### 2.4.1. Spermatogenez

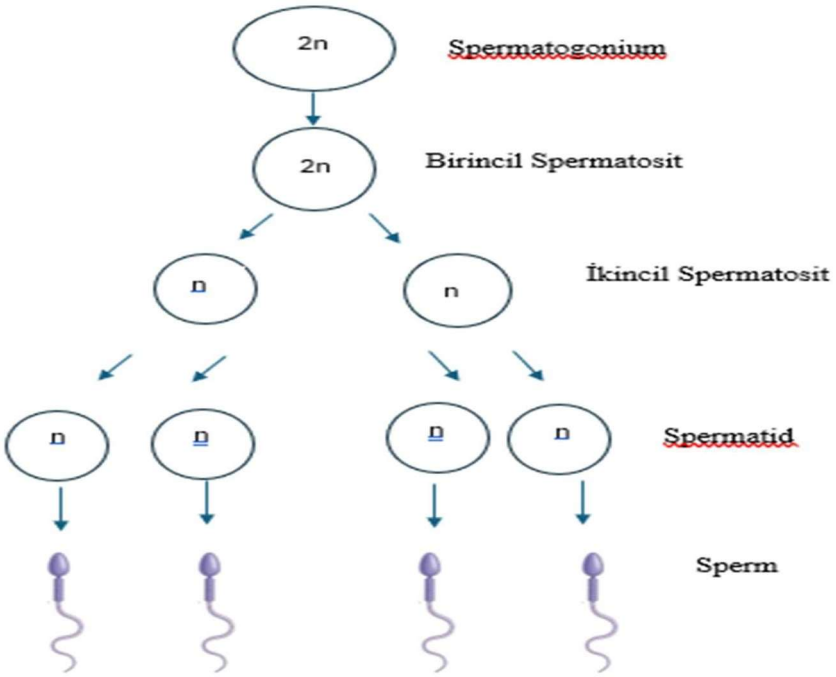
Spermatogenez sperm hücrelerinin oluşumudur, seminifer tübüllerde gerçekleşmektedir. Puberteden hemen önce başlamaktadır. Yaşlılıkta giderek azalmaktadır. Oogenez sürecinin aksine yaşam boyu sürmektedir.

Diploid hücreler, tübüllerin dış duvarının yakınında bulunur. Bu hücreler sürekli mitoz bölünmeyle çoğalır. Yaklaşık 3 milyon tanesi mayoz bölünme geçiren primer spermatositlere farklılaşır. Oluşan birincil spermatositin mayoz I evresinde, her biri haploid (n=23) sayıda kromozoma sahip olan ikincil spermatositleri üretilmektedir.

Hücreler hala kopya halindedir ve her biri iki özdeş kromatitten oluşur. Bu haploid hücrelerin her birinin farklılaşmasıyla bir sperm hücresi gelişmektedir. Gelişen sperm hücreleri seminifer tübülün merkezine iletilmektedir. Sperm hücreleri seminifer tübülden epididimise geçerek olgunlaşır. Sperm olgunlaşması yaklaşık olarak 65-70 gün sürmektedir. Epididimde olgunlaşan spermler ejakülasyona kadar yine epididimde depolanmaktadır.

Testosteron, luteizan hormon (LH), folikül stimulan hormon (FSH), androjen bağlayıcı proteinlerin ve büyüme hormonu spermatogenizi etkileyen hormonal faktörler arasında yer almaktadır.

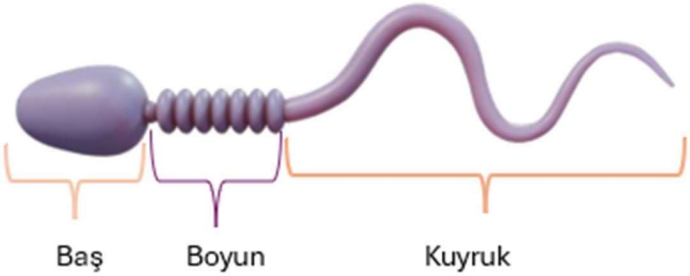
Testisin esas endokrin salgısı olan testosteron interstisyel hücreler (Leydig hücreleri) tarafından sentez edilmektedir. Salgılanan testosteron hormonu sperm oluşumu sırasında germinal hücrelerin bölünmesi ve gelişiminde rol oynamaktadır. FSH, sertoli hücrelerini uyarmaktadır. Böylelikle androjen bağlayıcı protein (ABP) sentezi ve salınımını stimüle eder. Aynı zamanda spermatidlerin sperme dönüşümünde rol oynamaktadır. Androjen bağlayıcı protein spermin olgunlaşma sürecine de yardımcı olmaktadır. FSH spermatogenezinbaşlatılmasında, LH ve testosteron ise sürekliliğinde önemli bir role sahiptir. Büyüme hormonu ise testislerin temel metabolik işlevlerine yardımcı olarak spermatogonyumların erken bölünmesini hızlandırır.




**Şekil 2.4.1.1:** Spermotogenez Şeması

### 2.4.2. Sperm hücresinin anatomik yapısı

Kadın ve erkek üreme sistemi insanların yaşamlarını sürdürebilmeleri için kritik bir role sahiptir. Bu sistemdeki en önemli role sahip hücrelerden biri ise sperm hücresidir. Erkeklerin üreme yeteneğini sağlar ve fertilizasyon sürecinde önemli bir rol oynamaktadır. Fertilizasyon sürecini incelemek, infertilite tanı ve tedavisinde sperm hücresinin anatomik yapısını ve fizyolojik özelliklerini incelemek gerekmektedir. Sperm, baş boyun ve kuyruk olmak üzere üç ana bölümden oluşmaktadır.




**Şekil 2.4.2.1:** Sperm Hücresinin Bölümleri

Baş bölümü spermin ön kısmını oluşturmaktadır. Sperm hücresinin başı çekirdeği içinde barındırmaktadır. Çekirdek sperm hücresinin genetik materyalini taşımaktadır. Fertilizasyon sürecinde yumurta hücresi ile birleşen sperm hücresinin çekirdeği kaynaşır ve embriyo oluşumu başlar. Sperm hücresinin başında çekirdeğe ek olarak akrozom adı verilen kapsüle benzeyen bir yapı bulunmaktadır. Akrozomun içinde bulunan enzimler sayesinde sperm yumurta hücresini delip yumurta hücresinin içine girebilmektedir.

Sperm hücresinin diğer bir ana bölümünü oluşturan boyun bölgesi, baş ile kuyruk arasında kalan kısımdır. Boyun bölgesi mitokondri organelini içermektedir. Sperm boyun bölgesinden yer alan mitokondrinin üretmiş olduğu enerji sayesinden ileri doğru hareket gösterebilir.Böylelikle yumurta hücresine ilerler ve fertilizasyon gerçekleşebilmektedir.

Kuyruk bölümü, sperm hücresinin hareket etmesini sağlayan uzun ve ince bir yapıdır. Flagellum olarak bilinen bu yapı dalgalı bir şekilde hareket ederek sperm hücresini ileri doğruitmeye yardımcı olur.

Spermin anatomik yapısının yanı sıra yapısal özelliklerinin fertilizasyon sürecinde önemi büyüktür. Sperm hücresinin dış zarı spermin dış etkilerden korunmasına ek olarak yumurta ile etkileşimini kolaylaştıran proteinler ve reseptörler içermektedir. Yumurtaya ulaşan sperm akrozom reaksiyonu sayesinde salgıladığı enzimler ile yumurtanın dış zarını deler ve fertilizasyon

başlamış olur. Tüm bu özelliklerin detaylı bir şekilde araştırılması çiftlerin üreme sağlığını değerlendirmek için önemli bir adımdır. Bu nedenle, spermin anatomik yapısı ve fizyolojik özellikleri infertilite tanı ve tedavisinde büyük bir role sahiptir.

### 2.4.3. Ejakülasyon

Ejakülasyon, semenin penisten dışarı atılmasıdır. Cinsel ilişki sırasında semen, sperm kanallarının güçlü kas kasılmaları yoluyla vücuttan zorla dışarı atılır. Cinsel uyarılmalar ile epididim, seminal kesecikler, prostat bezi ve vas deferensteki kaslar kasılır. Eş zamanlı olarak mesanenin tabanındaki sfinkter kaslarından biri kasılarak idrarın mesaneden üretraya sızmasını önler. Başka bir sfinkter de kasılarak üretranın penise girişini kapatır.

Ejakülasyonun ikinci aşaması olan semenin dışarı atılması aşamasında, penisin tabanındaki sfinkter gevşer ve semenin penise alınmasını sağlar. Ejakülasyon sırasında penis tabanı çevresinde ve üretra boyunca bir dizi güçlü kas kasılması semeni vücuttan dışarı atar.




**Şekil 2.4.3.1:** Spermin Vücut İçerisinde İzlediği Yol

### 2.4.4. Semen analizi

Düzenli olarak bir yıl boyunca korunmasız ilişkiye girmiş ancak gebelik elde edememiş çiftler infertil olarak kabul edilmektedir. Erkek infertilitesi araştırılırken başvurulan ilk yöntem sperm kalitesini değerlendirmek amacı ile semen analizidir. Semen analizinde çalışılacak ejakülatın en az 48 saatlik cinsel perhiz sonrasında alınması önerilmektedir (Xie, Hämmerli,& Leeners, 2024). Ejakülat incelenirken viskozite, miktarı ve likefaksiyon süresi

değerlendirilmektedir. İlk değerlendirmeden hastadan iki örnek alınması önerilmektedir. Günümüzde semen analizi değerlendirmesinde WHO parametreleri kullanılmaktadır.

**Tablo 2.4.4.1:** Dünya Sağlık Örgütü Semen Analiz Kriterleri

| | |
|---|---|
| Volüm | 1.4 (ml) |
| Sperm Sayısı | 39 (milyon) |
| Hareketlilik | 42 (%) |
| Canlılık | 54 (%) |
| Konsantrasyon | 15 (milyon/ml) |
| Sperm Morfolojisi | 4 (%) |
| Progressive Motilite | 30(%) |

Semen analizinin değerlendirilmesinde sperm konsantrasyonuna göre bir sınıflandırma yapılabilmektedir. Azospermi, incelenen ejakülatta hiç spermatoza bulunmamasıdır. Normospermi, sperm hücrelerinin canlı ve hareketli olmasıdır. Oligospermi ejakülatta sperm sayısının az olmasıdır. Teratospermi, şekil bakımından sağlıklı olan spermin az olmasıdır. Astenospermi ise ejakülattaki spermlerin hareketliliğinin normal değerden düşük olması durumudur.

## 2.5. Aneuploidi

İnsanlarda her hücre normalde 23 çift kromozom içerir, yani toplam 46 kromozom. Otozom adı verilen bu çiftlerden 22'si hem erkeklerde hem de kadınlarda aynı görünür. İnsanlarda 22 çift numaralı kromozom (otozom) ve bir çift cinsiyet kromozomu (XX veya XY) olmak üzere toplam 46 adet bulunur.

Kromozom sayısında değişiklik (artış-eksiklik) görülmesine aneuploidi denilmektedir. Kromozomların ayrılamamasına (non-disjunction), mayoz I veya mayoz II'deki anormal hücre bölünmeleri neden olabilir. Bu durum aneuploidi

ile sonuçlanmaktadır. Kromozomların mayozun I. anafazında birbirinden ayrılıp zıt kutuplara çekilmesi gerekmektedir. Bazı durumlarda birbirinden ayrılmayıp birlikte aynı kutba giderler. Sonuçta, bir mayozla meydanagelen iki çeşit eşey hücresinden biri aynı kromozomdan ikisini birden taşıyacaktır. ‘‘n+1’’ olarak değerlendirilecektir. Diğer eşey hücresi ise bu kromozom çeşidini hiç taşımayacaktır. ‘‘n-1’’ olarak değerlendirilecektir.

**Trizomi**, somatik hücrelerde kromozom sayısının normalden bir fazla olmasıdır. Trizomi, mayoz sırasında ayrılmaması sonucunda gerçekleşebilir. Üç tip trizomi bulunmaktadır. Birincisi trizomi 13, ikincisi ise trizomi 18’dir ve sonuncusu trizomi 21’dir.

**Tablo 2.5.1.:** Otozomal Aneuploidiler

| | |
|---|---|
| Down Sendromu | Trizomi 21 |
| Edward Sendromu | Trizomi 18 |
| Patau Sendromu | Trizomi 13 |

Trizomi 21, en sık görülen kromozomal rahatsızlıktır. Kromozomların mayoz bölünmede ayrılmaması ile karakterizedir. İnsanda 21. Kromozomun fazladan bir kopyasına sahip olunması durumudur. 47, XX olarak tanımlanmıştır. Anneden alınan kan örneğinden ya da fetüsün amniyotik sıvısından alınan hücrelerde Floresan In Situ Hibrizasyon (FISH) yöntemi ile tespit edilebilmektedir. Anne adayının yaşının ilerlemesi ile Trizomi 21 riski de artmaktadır.

Trizomi 13, Patau sendromu olarak da bilinmektedir. Trizomi 13 vücut hücrelerinde bulunmakta olan 13. Kromozomun 2 kopya yerine 3 kopyasının bulunduğu genetik bir sendromdur. 10.000 doğumdan birinde görülmektedir. Trizomi 13 oldukça ağır bir anomali türüdür. Bu neden ile doğan bebeklerin %95’i ilk yılda kaybedilmektedir. Patau sendromunda mozaik durum söz konusu olabilmektedir. Bu durumda hücrelerin bir kısmı normal yapıda olacağından belirli bir süre yaşam mümkün olabilmektedir. Sendromun prognozu kötü olduğuiçin erken prenatal tanı çok önemlidir. Down sendromunda olduğu gibi Patau sendromunda daanne yaşı arttıkça risk artmaktadır (Pereira, 2023).

Trizomi 18 de bir kromozom anomalisidir. Çift kopya olması gereken 18. Kromozomun üç kopya olması ile Trizomi 18 meydana gelmektedir. Edwards Sendromu olarak da bilinmektedir. Trizomi 18, Down sendromundan sonra görülen en sık ikinci anomalidir.Genellikle fetüs tam gelişemez ve gebelik ölü doğum ile sonuçlanmaktadır. Doğum sonrasıise düşük sağkalım görülmektedir.

Triploidi, 3 takım kromozom seti bulunması durumudur. Genellikle yaşam ile uyumsuzdur. Abort ile sonuçlanan gebeliklerde embriyolarda yapılan kromozom analizleri ile tespit edilmiştir. Triploidi iki spermin tek bir yumurta hücresi ile birleşmesi sonucunda görülebilmektedir.

Monosomi, somatik hücrelerde bir kromozomun eksikliğidir. Genellikle gonozomol kromozomlarda görülmektedir. Otozomal kromozom kayıpları çoğunluklar letaldir. Turner sendromu bir monosomi örneğidir.

**Tablo 2.5.2:** Kromozomal Aneuploidiler

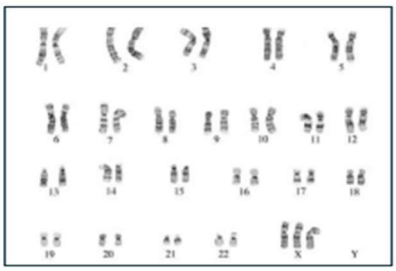
| | |
|---|---|
| Turner Sendromu | 45, XO |
| Triple X Sendromu | 47, XXX |
| Klinefelter Sendromu | 47, XXY |
| Jacobs Sendromu | 47,XYY |

Turner Sendromu, kadınlarda görülen bir kromozomal anomalidir. Eşey kromozomlarından biri olan X kromozomun eksikliği ya da yapısal bozukluğu olarak tanımlanmaktadır. İnsidansı 1/2.000'dir. Sendroma sahip kadınlarda menstrüasyon görülmemektedir. Göğüs ve kalça gelişimi olmamaktadır. Belirgin olarak geniş bir boyun ve omuz yapıları bulunmaktadır.

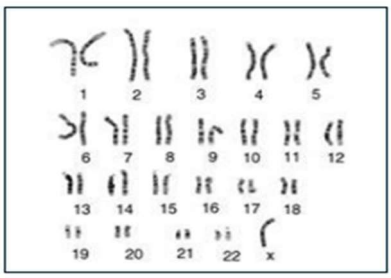
Triple X sendromu, süper dişi sendromu olarak da adlandırılmaktadır. En sık görülen aneuploidilerden biridir. 2.000 doğumdan birinde görülebilmektedir. Normal fiziksel ve mental gelişim görülmektedir.

Klinefelter Sendromu (47,XXY), erkekte testosteron eksikliğine bağlı olarak cinsel gelişimin yavaşlaması ile birlikte infertilite ile ilişkili en yaygın görülen kromozomal anomalidir. 1.000 doğumdan birinde klinefelter sendromu görülmektedir.

Jacob's Sendromu (47,XYY), süper erkek olarak da adlandırılan kromozomal bir anomalidir. Hastalarda çocukluk döneminde öğrenme güçlüğü ve konuşma becerisinde zorluk görülebilmektedir.



**Şekil 2.5.1:** Triple X Sendromu



**Şekil 2.5.2:** Turner Sendromu

## 2.6. Intra Sitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (ICSI)

Laboratuvar ortamında tek bir spermin seçilerek mikro enjeksiyon iğnesi ile yumurta hücresine enjekte edilmesi intra sitoplazmik sperm enjeksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Geleneksel in vitro fertilizasyon yönteminde laboratuvar ortamında spermlerin ve olgun yumurtanın karşılaştırılarak fertilizasyonun gerçekleşmesi beklenmektedir. ICSI şiddetli erkek faktörlü infertil çiftlerde tedavi amacı ilk olarak 1992 yılında geliştirildi. (Palermo ve ark., 1992).

İlk olarak şiddetli erkek faktörlü infertil çiftlerde tedavi olarak kullanılmasına karşın 2000'li yılların başında erkek faktörüne bakılmaksızın infertil çiftlerde sıklıkla tercih edilenbir teknik haline gelmiştir. (Boulet ve ark., 2015).

ICSI tekniği infertilite tanımlanmış çiftlerde yapılan semen analizinde sperm sayısı ya da hareketliliği az ise tercih edilebilmektedir. Kadın hastada ovulasyon düzensiz ya da ovum üretimi yetersiz ise ICSI tekniğine fertilizasyon şansını arttırmak amacı ile başvurulabilmektedir.

Açıklanamayan infertilite tanısı almış çiftlerde de sıklıkla ICSI tekniği tercih edilmektedir. (Check ve ark., 2011)

ICSI tekniği üç aşamalı bir süreçtir. İlk olarak laboratuvar ortamında kadın hastadan alınan yumurtalar uygun koşullar altında büyütülmek için toplanmaktadır. Yumurtaların büyüme süreci aşama aşama mikroskop altında kontrol edilmektedir. Olgunlaşan yumurtalar tespit edilir ve ICSI işlemine hazırlanır. İkinci aşama olarak ICSI işleminde enjekte edilecek hastadan alınan sperm mikroskop altında incelenir. Tek bir sperm hücresi seçilir. İşlemin son aşaması olarak seçilen sperm mikro enjeksiyon iğnesi ile mikroskop altında yumurta hücresinin içine enjekte edilir.

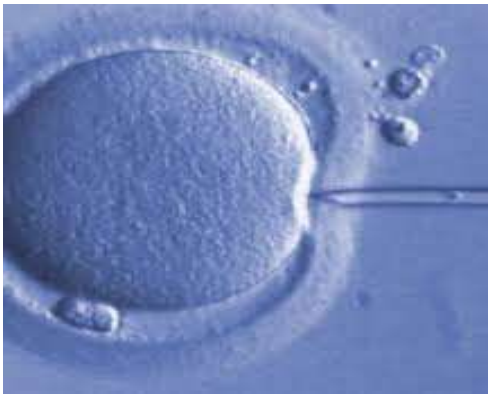
ICSI işleminden sonra fertilizasyon 15-24 saat içerisinde gerçekleşmektedir. Yumurta mikroskop altında incelenmektedir. İşlemden bir gün sonra yumurtada pronukleus saptanması beklenmektedir. Pronukleus saptanan döllenmiş yumurtanın belirli bir süre uygun koşullarda besiyerinde tutularak bölünmeye başlaması beklenmektedir. Daha sonra gelişen embriyolar uygun transfer tarih ve koşulunda anne adayına transfer edilmektedir.

## 2.7. Fizyolojik Intra Sitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (PICSI)

Fizyolojik Intra Sitoplazmik Sperm Enjeksiyonu (PICSI) in vitro fertilizasyon tedavisinde kullanılan tekniklerden biridir. Bu teknik ile yumurta ile birleşecek olan spermin seçimi sırasında hedef en iyi kalitedeki spermleri seçerek toplamaktır.

Fizyolojik Intra Sitoplazmik Sperm Enjeksiyonu da geleneksel intra sitoplazmik sperm enjeksiyonu gibi seçilen bir spermin yumurtaya enjekte edilmesi esasına dayanmaktadır.Geleneksel ICSI tekniğinde enjekte edilecek sperm morfoloji ve motilite kriter kontrolleri içinmikroskop altına alınmaktadır (Chen, Y., Zhao, X., & Zhang, Y. ,2019). Sadece morfolojik vemotilite kriterleri kontrol edildiğinde kromozomal hasara sahip spermin seçilme olasılığı da artmaktadır.

PICSI tekniğinde ise geleneksel ICSI yönteminden farklı olarak sperm DNA hasarı da değerlendirilmektedir (Thompson, C., & Steer, P. J., 2020).



**Şekil 2.7.1:** Sperm Mikroenjeksiyonu

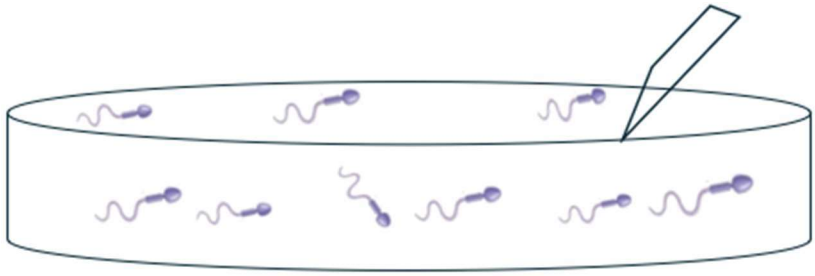
Son yıllarda yapılan çalışmalarda araştırmacılar Hyaluronik asit bağlanmasına dayalı geliştirilen tekniklere olumlu bakmaktadır. İlk olarak Huszar ve arkadaşları tarafından oluşturulmuş bu teknik sayesinde Oosit-kümülüs kompleksini çevreleyen hücre dışı matrisin önemli bir bileşeni olan hyaluronik asite (HA) bağlanan spermlerin daha olgun olduğu, daha iyi DNA sıkışmasına ve daha az kalıntı sitoplazmaya sahip olduğu rapor edilmiştir (Dandekar ve arkadaşları, 1992). (Parmegiani ve diğerleri, 2010; Mokanszki ve diğerleri, 2014; Rashki Ghaleno ve diğerleri, 2016, West ve ark 2022). Çalışmada canlı ve cansız spermi ayırt etmek için FertiLight kiti kullanılmıştır. Anilin mavisi kromatin boyama ile kalıcı histonlar tespit edilirken pisum sativum lektin boyama ile akrozomal bütünlük ortaya çıkarıldı. Yalnızca canlıspermde HA bağlanması görüldü. Ek olarak Hyaluronik asit bağlı spermde reaksiyona girmemiş akrozomlar görülür.

Çalışmanın amacına uygun olarak sperm olgunluğunun veolgunlaşmamışlığının tüm belirteçleri, HA'ya bağlı spermin olgun olduğu hipotezinidestekledi.
PICSI tekniği ile DNA hasarı olmayan spermlerin fertilizasyon için seçilmesi böylelikle canlı doğum oranlarının arttırılması ve doğan bebeklerde aneuploidi riskini en aza indirgemek hedeflenmektedir (Bernstein, J., & Juarez, M. A. ,2018).

### 2.7.1. Fizyolojik ıntra sitoplazmik sperm enjeksiyonu protokolü

Fizyolojik ICSI in vitro fertilizasyon tedavi yöntemlerinde spermin yumurtaya bağlanma yeteneğini arttırmayı amaçlayan tekniktir. Geleneksel mikro enjeksiyondan farkı sperminfizyolojik bir çalışma protokolüne tabii tutulmasıdır.

Fizyolojik ICSI dört adımdan oluşmaktadır. İlk adım spermin bağlanma özelliğini imceleyebilmek için Petri kabı hazırlık aşamasıdır. Bu protokolde petri kabı hyaluronik asit ile kaplanmaktadır. İkinci adım ise semen analizi ile değerlendirilip hazırlanmış spermlerin hazırlanan hyaluronik asit kaplı petri kaplarına eklenmesidir. Sperm eklenen petri kabı laboratuvar ortamında belirli sıcaklık ve PH değerinde inkübe edilmektedir. Bu sayede sperm örneklerinin hyaluronik asit ile kaynaşması beklenmektedir. Son adım olarak petri kapları mikroskop altında incelenmektedir. Hyaluronik asite bağlanan spermler mikroskop altında tespit edilir ve intra sitoplazmik sperm enjeksiyonu için hazır edilir. Son yıllarda yapılan çalışmalar hyaluronik asite bağlanan spermin daha az DNA sıkışması gösterdiği ve daha az DNA hasarına sahip olduğunu göstermektedir.



**Şekil 2.7.1.1:** Petri Kabı İçerisinde Sperm Örnekleri

## 2.8. Floresan In Situ Hibridizasyon

Floresan in situ hibridizasyon (FISH) moleküler biyoloji alanında önemli role sahip bir tekniktir bu teknik sayesinde hücrelerin DNA dizileri belirlenebilir. FISH sayesinde hücrelerdeki DNA dağılımı ve organizasyonu araştırılabilir özellikle kromozomlar anomalilerin tespit edilmesinde ve genetik tanıda yaygın

olarak kullanılan bir tekniktir (Peters, Steele, & Breg, 2023). Son yıllarda infertilite tedavisinde kullanılan in vitro fertilizasyon tedavisinde embriyonun oluşturulması ve embriyonun oluşturulmasından sonraki süreçte genetik yapılarının incelenmesi ve sağlıklı gebelik şansını arttırmak için önemli bir adımdır. FISH tekniği IVF tedavisinde embriyolarının genetik yapısını analiz etmek için önemli bir rol oynamaktadır (Peters, Steele, & Breg, 2023). Embriyoların kromozomal yapılarını incelemek için pre-implantasyon genetik tanıda FISH tekniği iyi bir seçenektir. IVFtedavisinde embriyolarda meydana gelebilecek herhangi bir genetik anomali embriyonun implantasyonunu engelleyebilir veya abort durumuna neden olabilir. Bu neden ile embriyolarının genetik yapısının incelenmesi sağlıklı bir gebelik şansını ve canlı doğumoranını arttırabilir (Wang & Zhang, 2023). FISH tekniği genetik analiz için kromozomal anomaliler hızlı ve hassas bir şekilde tespit edebilmektedir. Bu teknik sayesinde hem hızlı sonuçlar elde edilmekte hem de embriyonun genetik yapısını incelemek için minimal bir hücre örneği yeterli olmaktadır. FISH tekniği özellikle belirli kromozomal anomalileri tespit edebilmek için yüksek duyarlılık sağlar. FISH tekniğinde belirli kromozom bölgelerine DNA probları bağlanır ve böylece bu kromozomların varlığını veya yokluğunu tespit edebiliriz. FISH tekniği, örnek hazırlığı, hedef DNA'nın denatürasyonu, probların hazırlanması, hibridizasyon, yıkama, boyama, mikroskopi ve sonuçların yorumlanması adımlarından oluşmaktadır Örnek hazırlığı aşamasında doku veya hücreler toplanır daha sonrasında mikroskopla yayılır ve hücreler fiksasyon yöntemi ile sabitlenir. İkinci adım olan hedefDNA'nın denatürasyonu ise hücrelerin içindeki DNA'nın iki zincirinin birbirinden ayrılmasıdır. Bunun için yüksek sıcaklık veya kimyasallar kullanılmaktadır. Bu adımda DNA tek zincirli hale gelir. Ardından floresan probların seçimi gerçekleştirilmektedir. Spesifikkromozomal bölgeleri hedefleyen floresan boyalarla işaretlenmiş DNA propları hazırlanır. Proplar da hedef DNA gibi tek zincir haline getirilir. Hibridizasyon için prop hedef DNA zinciri üzerine uygulanmaktadır. Proplar DNA'ya bağlanmak için hücrelere nüfus eder bu hibridizasyon sürecidir. Hibridizasyon sonrası hücreler bağlanmamış veya spesifik olmayan propları uzaklaştırmak için yıkanmaktadır. Yıkama aşamasından sonra hücre çekirdeklerinin kontrast oluşturması için floresan boyalarla boyanır. Son aşama olarak ise örnekler floresan mikroskopta

incelenir. Spesifik kromozom bölgelerine bağlı olan floresan proplar belirli renklerde ışıma/parlama yapmaktadır. Böylelikle mikroskop altında spesifik kromozom bölgeleri incelenebilir bu nedenle FISH tekniğinde kromozomlardaki sayısal veya yapısal değişiklikler tespit edilebilir. Embriyo gelişim sürecinde aneuploidi varlığının tespiti için büyük önem arz etmektedir.

# 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Araştırma retrospektif olarak İstinye Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Merkezi Gaziosmanpaşa şubesinde yürütülmüştür. Hyaluronik Asit İçerikli Sperm Seçimi ve Aneuploidi konu başlıklı tez çalışmamız, İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Fen, Sosyal, ve Girişimsel Olmayan Sağlık Bilimleri Araştırmaları Etik Kurulu'nun gerçekleştirmiş olduğu 06.05.2024 tarih ve 2024/05-1270 sayılı toplantısı sonucunda 'UYGUN' bulunmuştur.

Retrospektif çalışmamız, PICSI veya ICSI ile seçilen spermler ile yapılan intra sitoplazmik sperm enjeksiyonu sonrası gelişen embriyoların PGD yöntemi ile aneuploidi taramasına dayalı, embriyo gelişim parametrelerini ve IVF sonuçlarını içermektedir. Embriyoların incelenmesinde PGD yöntemi olarak Floresan In Situ Hibridizasyon tekniği kullanıldı. Olgulardan elde edilen veriler Excel tablosuna yerleştirilip istatistiksel değerlendirme yapılmış olup PICSI yönteminin gelişen embriyolarda aneuploidi seçiminde ne gibi yararı olduğu araştırıldı. Çalışmada tüm prosedürler etik kurul onayı doğrultusunda gerçekleştirildi.

## 3.1. Hasta Popülasyonu ve Dahil Edilme Kriterleri

Sebebi tanımlanamayan infertil kabul edilen 27 çift araştırmaya dahil edildi. Yaş aralığı 25-35olan kadın hasta ve 25-45 yaş aralığında eşleri çalışmaya dahil edildi. Eşlerde semen analizinde sperm bulunan olgular değerlendirmeye alındı. 35 yaş üstü kadın hasta, azoospermiye sahip erkek hastalar araştırmaya dahil edilmedi. Tüm olgular PGD testinden geçmiştir. Bu kriterleri taşımayan olgular araştırmaya dahil edilmemiştir.

Hastalar önceden programlandığından araştırmadan çıkarılma söz konusu olmamıştır.Çalışma, bir diagnostik test ile ilgili olduğundan ve hastalara bir tedavi uygulanmadığından çıkarılma kriteri bulunmamaktadır.

### 3.2. İncelenen Parametreler

Hasta yaşı, oosit sayısı, fertilizasyon oranları, gelişen embriyo kalitesi, gebelik, gebelikkayıpları ve doğum oranları ile PGD sonuçları her iki grupta değerlendirildi.

### 3.3. İstatiksel Analizler

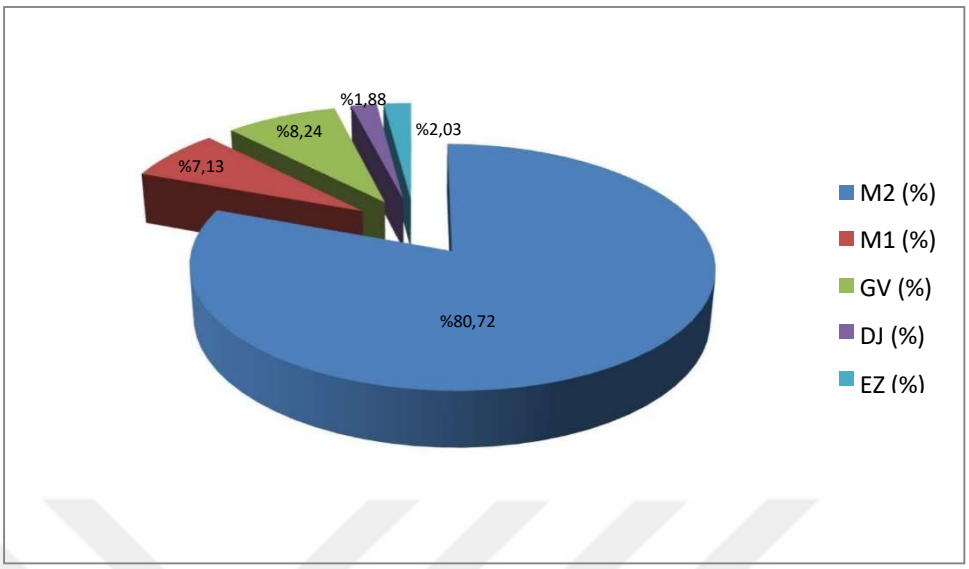
Sonuçlar, normal sayısal değişkenler için ortalama±standart sapma (SD), kategorik değişkenler için medyan±çeyrekler arası aralık ve yüzde olarak ifade edildi. Normal dağılıma sahip ve yeterli büyüklükteki örneklerin ortalamaları, bağımsız örnekler parametrik testi (bağımsız örnekler t-Testi) ile karşılaştırıldı. Nicel değişkenlerin normal dağılım kontrolü shapiro wilk analizi ile kontrol edilmiştir, normal dağılım gösteren nicel değişkenlerde grup karşılaştırması one way anova ile, normal olmayan dağılım için medyanlar, Mann-Whitney U-testi parametrik olmayan test ile karşılaştırıldı. Kategorik değişkenler ki-kare testi kullanılarak karşılaştırılmış olup, P-değerleri <0.05 anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analiz, Statistical Package for the Social Sciences 20 (SPSS Inc., Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapıldı.

# 4. BULGULAR

**Tablo 4.1:** Kadın Hasta Demografik Bilgileri.

| n=27 | Minimum | Maksimum | Ortalama | Std. Sapma |
|---|---|---|---|---|
| Yaş | 23,00 | 34,00 | 29,19 | 3,09 |
| Toplam oosit | 13,00 | 34,00 | 21,78 | 5,00 |
| M2 (%) | 58,82 | 100,00 | 80,72 | 11,09 |
| M1 (%) | 0,00 | 20,00 | 7,13 | 7,16 |
| GV (%) | 0,00 | 20,00 | 8,24 | 6,89 |
| DJ (%) | 0,00 | 10,00 | 1,88 | 3,41 |
| EZ (%) | 0,00 | 20,00 | 2,03 | 4,89 |
| Sol over (3. gün) | 5,00 | 16,00 | 9,81 | 2,84 |
| Sağ over (3. gün) | 2,00 | 17,00 | 9,81 | 3,04 |
| E2 (pg/ml) | 8,50 | 63,00 | 31,57 | 13,21 |
| İndüksiyon dozu (IU) | 1425,00 | 4500,00 | 3033,33 | 846,57 |

Yaş ortalaması 29 olan 27 kadın hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmada incelenen toplamoosit sayısının ortalaması 21'dir. Çalışmada tespit edilen M2 düzeyi ortalama olarak %80'dir.




**Şekil 4.1:** Oosit dağılımı.

M2 düzeyine ulaşan oosit sayısı ortalama olarak %80,72'dir. Çalışmada dejenere olan oositsayısı ortalama %1,88'dir.

**Tablo 4.2. :** Gruplarda Kadın Hasta Demografik Bilgileri ve Karşılaştırma.

| | ICSI(n=15) | | PICSI(n=12) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ortalama | Std.Sapma | Ortalama | Std. Sapma | Z*** | p |
| Yaş | 29,40 | 2,82 | 28,92 | 3,50 | 0,27 | 0,787 |
| Toplam oosit | 22,47 | 4,69 | 20,92 | 5,45 | 1,18 | 0,238 |
| M2 (%) | 79,49 | 12,40 | 82,25 | 9,51 | 0,69 | 0,489 |
| M1 (%) | 8,30 | 7,83 | 5,66 | 6,22 | 0,75 | 0,452 |
| GV (%) | 7,29 | 7,49 | 9,44 | 6,18 | 0,89 | 0,373 |
| DJ (%) | 1,79 | 3,72 | 1,99 | 3,14 | 0,47 | 0,635 |
| EZ (%) | 3,13 | 6,11 | 0,67 | 2,31 | 1,22 | 0,221 |
| Sol over (3. gün) | 9,80 | 3,05 | 9,83 | 2,69 | 0,05 | 0,959 |
| Sağ over (3. gün) | 10,07 | 3,51 | 9,50 | 2,43 | 0,72 | 0,474 |
| E2 (pg/ml) | 32,03 | 10,36 | 31,00 | 16,60 | 0,44 | 0,660 |
| İndüksiyon dozu (IU) | 3070,00 | 705,54 | 2987,50 | 1027,77 | 0,10 | 0,921 |

***: Mann-Whitney Test

Kadın demografik özellikleri gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05).

Çiftlerden 15'ine ICSI tekniği uygulanmıştır. Çiftlerden 12'sine PICSI tekniği uygulanmıştır. Her iki grup arasında kadın hasta yaş farkında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır.

ICSI uygulanan 15 kadın hastada ortalama M2 düzeyine ulaşan oosit sayısı %79,49'dur. PICSI uygulanan 12 kadın hastada ortalama M2 düzeyine ulaşan oosit sayısı %82,25'tir.

**Tablo 4.3. :** Erkek Hasta Sperm Özellikleri.

| n=27 | Minimum | Maksimum | Ortalama | Std. Sapma |
|---|---|---|---|---|
| Yaş | 25,00 | 41,00 | 32,15 | 4,87 |
| Sperm sayısı | 21,00 | 185,00 | 54,15 | 32,38 |
| Motilite | 30,00 | 83,00 | 50,37 | 12,44 |
| Morfoloji | 5,00 | 9,00 | 7,04 | 1,02 |
| volum (ml) | 1,50 | 4,50 | 2,20 | 0,79 |
| Sperm sayısı (yıkama) | 8,00 | 60,00 | 21,93 | 11,21 |
| Motilite (yıkama) | 62,00 | 95,00 | 77,56 | 9,30 |
| Morfoloji (yıkama) | 9,00 | 17,00 | 12,78 | 2,17 |

Çalışmaya ortalama yaşı 32 olan 27 erkek hasta dahil edilmiştir. Sperm sayısı ortalama 54milyondur. Ortalama motilite %50'dir.

**Tablo 4.4. :** Gruplarda Erkek Hasta Sperm Özellikleri ve Karşılaştırma.

| | ICSI (n=15) | | PICSI (n=12) | | Z*** | p |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | Ortalama | Std. Sapma | Ortalama | Std. Sapma | | |
| Yaş | 32,27 | 4,99 | 32,00 | 4,94 | 0,12 | 0,902 |
| Sperm sayısı | 56,13 | 20,77 | 51,67 | 43,78 | 1,76 | 0,079 |
| Motilite | 50,33 | 11,54 | 50,42 | 14,00 | 0,20 | 0,845 |
| Morfoloji | 7,07 | 0,88 | 7,00 | 1,21 | 0,26 | 0,796 |
| volum (ml) | 2,07 | 0,53 | 2,38 | 1,03 | 0,36 | 0,716 |
| Sperm sayısı (yıkama) | 22,47 | 8,43 | 21,25 | 14,35 | 1,30 | 0,194 |
| Motilite (yıkama) | 78,73 | 8,51 | 76,08 | 10,41 | 0,91 | 0,365 |
| Morfoloji (yıkama) | 13,13 | 1,85 | 12,33 | 2,53 | 0,81 | 0,416 |

***: Mann-Whitney Test

Erkek hasta sperm özellikleri gruplar arasında anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Çiftlerden 15'ine ICSI tekniği uygulanmıştır. Çiftlerden 12'sine PICSI tekniği uygulanmıştır. Her iki grup arasında erkek hasta yaş farkında anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır

Her iki grup arasında ortalama sperm sayısı, motilitesi ve morfolojisi anlamlı bir farklılıkgöstermemektedir.

**Tablo 4.5. :** Gruplarda Gebelik ve Doğum Durumu, Karşılaştırma.

| | | ICSI (n=15) | | PICSI (n=12) | | Ki Kare | p |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | n | % | n | % | | |
| Gebelik Durumu | Pozitif | 9 | 60,0% | 9 | 75,0% | 0,67 | 0,411 |
| | Negatif | 6 | 40,0% | 3 | 25,0% | | |
| Doğum Durumu | Doğum | 6 | | 7 | | | 0,50* |
| | Düşük | 3 | | 2 | | | |

*: Fisher's Exact Test

Pozitif gebelik ICSI grubunda %60, PICSI grubunda %75 tir; istatistiksel olarak önemli farksaptanamamıştır (p=0,411).

ICSI grubunda 9 pozitif gebeliğin 6'sı doğum ile sonuçlanmıştır. PICSI grubunda 9 pozitifgebeliğin 7'si doğum ile sonuçlanmıştır.

## M2 DEĞERLENDİRMELERİ:

**Tablo 4.6. :** Gruplarda 1. ve 2. Gün Fertilizasyon Süreci ve Karşılaştırma.

| | | | ICSI (n=235) | | PICSI (n=235) | | Ki Kare | p |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | n | % | n | % | | |
| 1. Gün | Pronükleus oluşumu | 2 pronükleus | 186 | 79,1% | 202 | **86,0%** | 4,78 | **0,042** |
| | | Dejenere /FF | 49 | 20,9% | 33 | 14,0% | | |
| | | | | | | | | |
| 2. gün | | | n=186 | | n=202 | | | |
| | Fragmantasyon | Yok | 158 | 84,9% | 176 | 87,1% | 0,38 | 0,535 |
| | | Var | 28 | 15,1% | 26 | 12,9% | | |
| | | | | | | | | |
| | Bölünme eşitliği | Eşit | 94 | 50,5% | 113 | 55,9% | 1,13 | 0,287 |
| | | Eşit değil | 92 | 49,5% | 89 | 44,1% | | |
| | | | | | | | | |
| | Hücre içi rengi | Aydınlık | 185 | 99,5% | 202 | 100,0% | | 0,479* |
| | | Karanlık | 1 | 0,5% | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | Ortalama | Std. Sapma | Ortalama | Std. Sapma | t ** | p |
| | Blastomer sayısı | | 3,86 | 1,08 | 3,75 | 1,08 | 0,98 | 0,328 |

*: Fisher's Exact Test ** : Bağımsız gruplarda t Testi

Birinci günde 2 pronukleus oluşma oranı PICSI grubunda (%86,0) daha fazladır ve istatistiksel olarak önemlidir (p=0,042). İkinci günde fragmantasyon, bölünme eşitliği vehücre içi rengi bakımından gruplar farklı değildir.

**Tablo 4.7. :** Gruplarda 3. Gün Fertilizasyon Süreci ve Karşılaştırma.

| | | ICSI (n=186) | | PICSI (n=202) | | Ki Kare | p |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | n | % | n | % | | |
| Fragmantasyon | Yok | 158 | 84,9% | 168 | 83,2% | 0,22 | 0,633 |
| | Var | 28 | 15,1% | 34 | 16,8% | | |
| Bölünme eşitliği | Eşit | 72 | 38,7% | 85 | 42,1% | 0,45 | 0,499 |
| | Eşit değil | 114 | 61,3% | 117 | 57,9% | | |
| Hücre içi rengi | Aydınlık | 181 | 97,3% | 201 | 99,5% | | 0,109* |
| | Karanlık | 5 | 2,7% | 1 | 0,5% | | |
| | | Ortalama | Std. Sapma | Ortalama | Std. Sapma | t ** | p |
| Blastomer sayısı | | 6,72 | 2,53 | 7,00 | 2,57 | 1,08 | 0,281 |

*: Fisher's Exact Test ** : Bağımsız gruplarda t Testi

Üçüncü gün fertilizasyon süreci incelendiğinde fragmantasyon, bölünme eşitliği ve hücre içirengi bakımından farklılık saptanmamıştır.

**Tablo 4.8. :** Gruplarda Kromozom Özelliği.

| | | ICSI | | PICSI | | Ki Kare | p |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | n | % | n | % | | |
| Kromozom 13 (n=19) | Normal | 3 | 37,5% | 4 | 36,4% | | 0,663* |
| | Anöploidi | 5 | 62,5% | 7 | 63,6% | | |
| Kromozom 18 (n=222) | Normal | 80 | 82,5% | 108 | 86,4% | 0,65 | 0,420 |
| | Anöploidi | 17 | 17,5% | 17 | 13,6% | | |
| Kromozom 21 (n=19 | Normal | 3 | 37,5% | 2 | 18,2% | | 0,335* |
| | Anöploidi | 5 | 62,5% | 9 | 81,8% | | |
| Kromozom X (n=222) | Normal | 84 | 86,6% | 114 | 91,2% | 1,20 | 0,273 |
| | Anöploidi | 13 | 13,4% | 11 | 8,8% | | |
| Kromozom Y (n=222) | Normal | 47 | 48,5% | 51 | 40,8% | 1,29 | 0,255 |
| | Anöploidi | 50 | 51,5% | 74 | 59,2% | | |

*: Fisher's Exact Test

İstatistiksel analizler:

Nitel değişkenlerin karşılaştırılmasında Pearson Ki Kare Analizi, Fisher's Exact Test, ortalamaların karşılaştırılmasında Bağımsız gruplarda t Testi ve Mann-Whitney Testuygulanmıştır.

# 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Demografik bilgileri bakımından aralarında anlamlı farkın bulunmadığı, 27 çiftin incelendiği retrospektif çalışmamız sonucunda ICSI ve PICSI tekniği uygulanan hastalarda canlı doğum oranları ve kromozomal anomaliler incelenmiştir.

Her iki yöntemde tek bir spermin mikroenjeksiyon iğnesi ile doğrudan oosite enjekte edilmesine dayanmaktadır. PICSI tekniğinde ICSI tekniğine kıyasla, sperm hücresinin hyaluronik asit kaplı bir petri kabına bağlanma yeteneğini temel almaktadır (Miller et al., 2019). PICSI tekniğinin böylelikle daha olgun ve DNA bütünlüğü daha yüksek spermlerin seçilmesine olanak tanıdığı son yıllarda araştırmacılar tarafından öne sürülmektedir (Ribas-Maaynou 2022).

Çalışmamız ICSI tekniği ile seçilmiş spermler ve PICSI tekniği ile seçilmiş spermler ile gerçekleştirilen fertilizasyon sonuçlarında kromozomal anomaliler ve canlı doğum oranları açısından anlamlı bir fark olmadığını ortaya koymuştur. Bu bulgular her iki yönteminde klinisyenler ve tedavi amacı ile kliniğe başvuran hastalar tarafından dikkate alınması gereken önemli unsurlardır.

Nasr Esfehani ve ark 2008 de yaptıkları bir çalışmada sperm kalitesi ve DNA fragmantasyon parametrelerini PICSI yöntemi sonrası elde edilen spermlerde araştırdılar ve hyaluronan'a bağlanan sperm oranı ile DNA fragmantasyonlu sperm arasında negatif bir ilişki elde ettiler (2008).

Literatürde, PICSI yönteminin özellikle genetik hasarı daha az olan spermlerin seçilmesine olanak tanıdığından daha sağlıklı embriyolar elde edilmesine katkı sağlayacağı belirtilmektedir (Huszar, 2005,2007). Ancak PICSI ve ICSI yöntemini gebelik oranları ve kromozomal anomalileri değerlendirerek gerçekleştirmiş olduğumuz retrospektif çalışmamız bu beklentiyi destekleyecek veri sunmamaktadır.

İnsan oositleri döllenme sürecinde doğal olarak Hyaluronik Asit ile çevrelenir ve bu durum doğal sperm seçiminin gerçekleştiği ortamdır. Ayrıca olgun spermatozoada hyaluronik asit reseptörlerinin varlığı tespit edilmiş ve sperm maturasyonu, akrozom reaksiyonu, motilite, hyaluronidaz aktivitesi ve sperm-zona bağlanmasında en az üç hyaluronan bağlayıcı protein rol aldığı gösterilmiştir (Kızılay ve ark. 2017).

Jakab ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Hyaluronik Aside bağlı spermatozoanın sperm maturasyon sürecini başarı ile tamamladığını, ve testiste eksprese edilen bir şaperon proteini olan HSPA2'nin artan seviyelerini sergilediğini bildirmiştir (Jakab 2005). Ayrıca, Hyaluronik Aside bağlı spermatozoa aynı zamanda DNA fragmantasyonundanve apoptotik belirteç olan kaspaz 3'ten de yoksundur. Caylı ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Hyaluronik aside bağlı spermatozoanın, bağlayıcı olmayan benzerlerinekıyasla daha düşük bir kromozomal aneuploidi sıklığı sergilediğini gösterdiler (Caylı ve ark2004). Gelişimsel olgunlaşmanın bu biyokimyasal ve moleküler parametrelerinin her biri, başarılı implantasyon öncesi embriyo gelişimine babanın katkısında kritik bir rol oynar. Ahmadi ve ar. 2022 de yaptıkları çalışmada çeşitli sperm seçim yöntemlerini açıklanamayan infertil hasta grubunda incelediler, MAC's yönteminin bu konuda en başarılı olduğunu gösterdiler (Ahmadi 2022). DNA fragmantasyon indeksi ile Macs sonuçlarının negatif korelasyonu bulunduğunu, ancak PICSI ve swim up yönteminde bu korelasyonun elde edilemediğini ifade ettiler. Araştırıcıların bu sonuçlarının bizim sonuçlarımıza benzer olduğu anlaşılmıştır.

Ek olarak infertilite tedavisine başvurmuş erkek faktörüne sahip çiftlerde PICSI tekniğinin ICSI tekniğine kıyasla daha başarılı olduğunu kanıtlamak için yeterli bilginin de henüz mevcut olmadığı kaynaklarda bildirilmiştir (Avalos-Durán, 2018). Göde ve arkadaşlarının 2023 de yaptıkları çalışmada PGTA sikluslarında çeşitli sperm seçim yöntemleri ve euploidi ilişkisini incelediler, tek embriyo transfer sikluslarındabu seçim yöntemlerinin gebelik başarısına herhangi bir katkısının bulunmadığını, ancak bu bulguların doğrulanması için geniş çalışma grupları ile prospektif randomize çalışmalara ihtiyaç bulunduğunu açıkladılar (Göde ve ark 2023).

Bulgularımız doğrultusunda, infertil çiftler için geliştirilen yardımcı üreme teknolojileri alanında gelecek çalışmaların, PICSI ve ICSI yöntemlerinin etkilerinin daha detaylı incelenmesi ve uygulanabilirlik ile ilgili daha geniş çapta çalışmalaryapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

## 5.1. KAYNAKLAR

McLaughlin, J. E. (2023). Female External Genital Organs. MSD Manual Consumer Version. Retrieved from https://www.msdmanuals.com/home/women-s-health-issues/biology-of-the-female-reproductive-system/female-external-genital-organs

Pereira, E. M. (2023). Trisomy 13. Pediatrics In Review, 44(1), 53-54. Retrievedfrom https://doi.org/10.1542/pir.2022-005517

Stern, K. & McClintock, M. (2023). Menstrual Cycle Phases and their Physiological Impact.Journal of Reproductive Health, 35(2), 145-160. Retrieved from https://link.springer.com.

Ahmadi A, Sobhani A, Khalili MA, Agha-Rahimi A, Nabi A, Findikli N. Comparison of theEfficiency of Magnetic-Activated Cell Sorting (MACS) and Physiological Intracytoplasmic Sperm Injection (PICSI) for Sperm Selection in Cases with Unexplained Infertility. J ReprodInfertil. 2022 Jul-Sep;23(3):184-191. doi: 10.18502/jri.v23i3.10009. PMID: 36415491; PMCID: PMC9666600.

Avalos-Durán, G., Cañedo-Del Ángel, A. M. E., Rivero-Murillo, J., Zambrano-Guerrero, J. E., Carballo-Mondragón, E., & Checa-Vizcaíno, M. A. (2018). Physiological ICSI (PICSI) vs.conventional ICSI in couples with male factor: A systematic review. JBRA Assisted Reproduction, 22(2), 139-147. https://doi.org/10.5935/1518-0557.20180027

Barratt, C. L. R., Björndahl, L., De Jonge, C. J., Lamb, D. J., Osorio Martini, F., McLachlan,R., ... & Zini, A. (2017). The diagnosis of male infertility: An analysis of the evidence to support the development of global WHO guidance—challenges and future research opportunities. Human Reproduction Update, 23(6), 660-680. https://doi.org/10.1093/humupd/dmx021

Bernstein, J., & Juarez, M. A. (2018). A retrospective comparison of pregnancy outcomes inICSI and PICSI procedures. Reproductive Health, 15(1), 87.

Cayli S, Sakkas D, Vigue L, Demir R, Huszar G. Cellular maturity and apoptosis in humansperm: creatine kinase, caspase-3 and Bcl-XL levels in mature and diminished maturity sperm. Mol Hum Reprod. 2004;10(5):365–72

Chen, Y., Zhao, X., & Zhang, Y. (2019). Physiological ICSI (PICSI) versus conventionalICSI: A systematic review. Reproductive Biology and Endocrinology, 17(1), 34.

Dandekar P, Aggeler J, Talbot P. Structure, distribution and composition of the extracellularmatrix of human oocytes and cumulus masses. Hum Reprod 1992;7:391–398

Denis A Vaughan, Denny Sakkas, Sperm selection methods in the 21st century, Biology ofReproduction, Volume 101, Issue 6, December 2019, Pages 1076–
1082, https://doi.org/10.1093/biolre/ioz032

Funda Göde , Volkan Emirdar , Ibrahim Pala , Selin Madran The effect of advanced spermselection methods on euploidy rates and live birth rates in PGT-A cycles. Reproductive BioMedicine Online,Volume 47, Supplement, November 2023, 103503

Huszar G, Jakab A, Sakkas D, Ozenci CC, Cayli S, Delpiano E, Ozkavukcu S. Fertility testingand ICSI sperm selection by hyaluronic acid binding: clinical and genetic aspects. Reprod Biomed Online 2007; 14:650–663.

Huszar G, Ozenci CC, Cayli S, Zavaczki Z, Hansch E, Vigue L. Hyaluronic acid binding byhuman sperm indicates cellular maturity, viability, and unreacted acrosomal status. Fertil Steril 2003;79(Suppl 3):1616–1624.

Jakab A Sakkas D Delpiano E Cayli S Kovanci E Ward D Revelli A Huszar G. Intracytoplasmic sperm injection: a novel selection method for sperm with normal frequencyof chromosomal aneuploidies. Fertil Steril 2005; 84:1665–1673.

13. Kızılay F, Altay B. Sperm function tests in clinical practice. Turk J Urol. 2017;43(4):393–400.

Leslie, S. W., Sajjad, H., & Villanueva, C. A. (2023). Cryptorchidism. StatPearls. Retrievedfrom https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470270/

McDowell S, Kroon B, Ford E, Hook Y, Glujovsky D, Yazdani A. Advanced sperm selectiontechniques for assisted reproduction. Cochrane Database Syst Rev 2014; 10:CD010461.

Miller, D., Pavitt, S., Sharma, V., et al. (2019). Hyaluronic Acid Binding Sperm Selection for Assisted Reproduction Treatment (HABSelect): Study Protocol for a Multicentre Randomised Controlled Trial. BMJ Open, 9, e027745. https://doi.org/10.1136/bmjopen-2018-027745

Miller D Pavitt S Sharma V Forbes G Hooper R Bhattacharya S Kirkman-Brown J Coomarasamy A Lewis S Cutting R Brison D Pacey Aet al. Physiological, hyaluronan- selected intracytoplasmic sperm injection for infertility treatment (HABSelect): a parallel,two-group, randomised trial. Lancet North Am Ed 2019; 393:416–422.

Mokanszki A, Tothne EV, Bodnar B, Tandor Z, Molnar Z, Jakab A, Ujfalusi A, Olah E. Is sperm hyaluronic acid binding ability predictive for clinical success of intracytoplasmic sperminjection: PICSI vs. ICSI? Syst Biol Reprod Med 2014;60:348–354

Nasr-Esfahani, M.H.; Razavi, S.; Vahdati, A.A.; Fathi, F.; Tavalaee, M. Evaluation of SpermSelection Procedure Based on Hyaluronic Acid Binding Ability on ICSI Outcome. J. Assist. Reprod. Genet. 2008, 25, 197–203.

Palermo, G., Joris, H., Devroey, P., & Van Steirteghem, A. (1992). Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. *The Lancet, 340*(8810),17-18.

Parmegiani L, Cognigni GE, Bernardi S, Troilo E, Taraborrelli S, Arnone A, Maccarini AM,Filicori M. Comparison of two ready-to-use systems designed for sperm-hyaluronic acid binding selection before intracytoplasmic sperm injection: PICSI vs. Sperm Slow: a prospective, randomized trial. Fertil Steril 2012;98:632–637.

Rashki Ghaleno L, Rezazadeh Valojerdi M, Chehrazi M, Sahraneshin Samani F, Salman Yazdi R. Hyaluronic acid binding assay is highly sensitive to select human spermatozoa withgood progressive motility, morphology, and nuclear maturity. Gynecol Obstet Invest 2016;81:244–250

Tarozzi N, Nadalini M, Bizzaro D, Serrao L, Fava L, Scaravelli G, Borini A. Sperm- hyaluronan-binding assay: clinical value in conventional IVF under Italian law. ReprodBiomed Online 2009;19(Suppl 3):35–43.

Thompson, C., & Steer, P. J. (2020). Outcomes of PICSI versus conventional ICSI: A meta-analysis. Journal of IVF and Reproductive Medicine, 37(2), 89-97.

Thurin-Kjellberg, A., & Carlsson, P. (2023). Identifiable and unidentifiable causes of infertility: A comprehensive review. Journal of Reproductive Medicine, 68(3), 205-212.DOI:10.1000/jrm.2023.012345

West R, Coomarasamy A, Frew L, Hutton R, Kirkman-Brown J, Lawlor M, Lewis S, Partanen R, Payne-Dwyer A, Román-Montañana C, Torabi F, Tsagdi S, Miller D. Sperm selection with hyaluronic acid improved live birth outcomes among older couples and was connected to sperm DNA quality, potentially affecting all treatment outcomes. Hum Reprod.2022 May 30;37(6):1106-1125. doi: 10.1093/humrep/deac058. PMID: 35459947; PMCID: PMC9156852.

Worrilow KC, Eid S, Woodhouse D, Perloe M, Smith S, Witmyer J, Ivani K, Khoury C, BallGD, Elliot T, Lieberman J. Use of hyaluronan in the selection of sperm for intracytoplasmic sperm injection (ICSI): significant improvement in clinical outcomes-multicenter, double- blinded and randomized controlled trial. Hum Reprod 2013; 28:306–314.

Xie, M., Hämmerli, S., & Leeners, B. (2024). The Association between Abstinence Period and Semen Parameters in Humans: Results in Normal Samples and Different Sperm Pathology. Life, 14(2), 188. Retrieved from https://doi.org/10.3390/life14020188

Peters, D., Steele, M., & Breg, W. (2023). Applications of fluorescence in situ hybridization (FISH) in detecting chromosomal abnormalities. BioHorizons, 3(1), 85-99. https://doi.org/10.1093/biohorizons/3/1/85

Wang, J., & Zhang, Y. (2023). The role of preimplantation genetic testing in IVF outcomes.Fertility and Sterility, 120(4), 856-864. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2023.08.012

Human Reproduction Update. (n.d.). Fertility and aging: A comprehensive review. Retrievedfrom https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301211520300735

Jensen, T. K., & Skakkebaek, N. E. (2024). Oocyte decline from birth to menopause: The impact of age and lifestyle factors. Journal of Reproductive Biology and Endocrinology, 30(4), 400-410. https://doi.org/10.1016/j.jrbe.2024.01.003