



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM
ANABİLİM DALI**

**İNFERTİL HASTALARIN FOLİKÜL SIVISINDA
PESTİSİT (ORGANOKLORİN VE METABOLİTLERİ)
ARAŞTIRILMASI VE GEBELİK ÜZERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Simay ATKAYA

Antalya, 2015



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
KADIN HASTALIKLARI VE DOĞUM
ANABİLİM DALI**

**İNFERTİL HASTALARIN FOLİKÜL SIVISINDA
PESTİSİT (ORGANOKLORİN VE METABOLİTLERİ)
ARAŞTIRILMASI VE GEBELİK ÜZERİNE ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Simay ATKAYA

Tez Danışmanı: Yrd.Doç.Dr. Murat ÖZEKİNCİ

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2015

TEŐEKKÖR

Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakóltesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalında ihtisas eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof.Dr. Selahattin KUMRU başta olmak üzere çok değerli tüm hocalarıma,

Uzmanlık eğitimim sürecinde ve tez çalışmalarımnda değerli yardım ve katkılarını esirgemeyen Sayın Yrd.Doç.Dr. Murat ÖZEKİNCİ'ye,

Tüp bebek bölümü çalışanlarına, asistan arkadaşlarıma ve kliniğın diğer çalışanlarına sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bugünlere gelmemde büyük emeğı olan aileme, varlığıyla bana en büyük desteğı veren sevgili eşim Uzm.Dr. Başar ATKAYA'ya teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kısaltmalar ve Simgeler Dizini	iii
Tablolar Dizini	v
Şekiller ve Grafikler Dizini	vi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. İnfertilite Nedenleri	3
2.1.1. Ovulatuvar bozukluk	4
2.1.2. Tubal / Peritoneal faktörler	4
2.1.2.1. Tubal faktör	4
2.1.2.2. Endometriozis	5
2.1.3. Servikal ve uterin nedenler	6
2.1.3.1. Myom uterin	6
2.1.3.2. Asherman Sendromu	6
2.1.3.3. Endometrial polip	6
2.1.3.4. Servikal faktör	6
2.1.4. Konjenital uterin nedenler	7
2.1.5. Erkek faktörü	8
2.1.6. Açıklanamayan infertilite	8
2.2. İnfertilite Ne Zaman Değerlendirilmeli?	9
2.3. İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi	10
2.3.1. Öykü	10
2.3.2. Fizik muayene	10
2.3.3. Tanısal testler	11
2.3.3.1. Pap smear alınması, direkt yayma ve taze preparatlar, servikal kültür, mikoplazma kültürü, servikal klamidya antijeni bakılması	11
2.3.3.2. Ovulasyonun ve over rezervinin değerlendirilmesi	11
2.3.3.3. Fallop tüplerinin değerlendirilmesi	16
2.3.3.4. Endometrial kavitenin değerlendirilmesi	16
2.3.3.5. Laparoskopi	16
2.3.4. Erkek infertilitesinin değerlendirilmesi	17
2.3.4.1. Semen analizi	17
2.3.4.2. Post-ejakulatuvar idrar analizi	19
2.3.4.3. Skrotal ultrasonografi	19

2.3.4.4. Transrektal USG	19
2.3.4.5. Hormonal tetkikler	19
2.3.4.6. Genetik tetkikler	20
2.3.4.7. Sperm fonksiyon testleri	20
2.4. Pestisitler	21
2.4.1. Pestisitlerin sınıflandırılması	22
2.4.1.1. Kullanım alanına göre	22
2.4.1.2. Etkin maddelerin kökenlerine göre	22
2.4.1.3. Etki şekillerine göre	22
2.4.1.4. Zararının biyolojik dönemine göre	22
2.4.1.5. Kontrol ettiğini zararının ve konukçunun durumuna göre	22
2.4.2. Pestisit metabolizması	23
2.4.3. Türkiye’de ve dünyada pestisit kullanımı	24
2.4.3.1. Pestisit tüketimi	25
2.4.3.2. Tüketilen pestisitlerin nitelikleri	25
2.4.3.3. Pestisitlerin çevresel yayılımı	25
2.4.4. Pestisitlerin insanlara etkileri	26
2.4.5. Gıdalarda pestisit ve kalıntılarının azaltılması olanakları	28
2.4.6. Özet	28
3. MATERYAL VE METOD	30
3.1. Hastaların Değerlendirilmesi	30
3.2. Tedavi Protokolleri	31
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	37
4. BULGULAR	38
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇLAR	48
7. ÖZET	49
8. ABSTRACT	50
9. KAYNAKLAR	51

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

2PN	Fertilize Oosit
ALP	Alkalen Fosfataz
ALT-SGPT	Alanin Transaminaz
AMH	Anti Müllerin Hormon
ASA	Anti Sperm Antikor
AST-SGOT	Aspartat Transaminaz
BBT	Bazal Vücut Sıcaklığı
BUN	Kan Üre Nitrojen
CCCT	Klomifen Sitrat Challenge Testi
COX	Siklooksijenaz
D&C	Dilasyon & Küretaj
DNA	Deoksiribonükleik Asit
E2	Estradiol
EBK	Endokrin Bozan Kimyasallar
ESHRE	Avrupa Üreme Cemiyeti
ET	Embryo Transferi
FSH	Folikül Stimulan Hormon
GnRh	Gonadotropin Relasing Hormon
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon S-Transferaz
HCG	Human Koryonik Gonadotropin
HMG	Human Menapozal Gonadotropin
HSG	Histerosalpingografi
ICSI	İntrasitoplazmik Sperm Enjeksiyonu
IG	İmmunglobulin
IUA	İntra Uterin Araç
IUI	İntrauterin İnseminasyon
IVF	In Vitro Fertilizasyon
KOH	Kontrollü Overyan Hiperstimülasyon

LDH	Laktat Dehidrogenaz
LH	Luteinizan Hormon
MRL	Maksimum Kalıntı Değerleri
OHSS	Overyen Hiperstimulasyon Sendromu
OPU	Oosit Pick Up
PCO	Polikistik Over
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ Asidi
TVUSG	Trans Vajinal Ultrasonografi
WHO	Dünya Sağlık Örgütü



TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. İnfertilite sebepleri	4
2.2. Müllerian anomalilerin sınıflandırılması	7
2.3. İzah edilemeyen infertilite olası etyolojileri	9
2.4. Bazı ülkelerde pestisit kullanımı	24
2.5. Pestisitlerin kronik etkileri	27
4.1. Çalışmaya alınan hastaların demografik özellikleri	38
4.2. IVF- ICSI siklus karakteristikleri	40
4.3. Hastaların demografik özelliklerinin pestistle olan ilişkisi	41
4.4. IVF-ICSI sikluslarının karakteristik özelliklerinin pestistle karşılaştırılması	43

ŞEKİLLER VE GRAFİKLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Menstrüel siklustaki hormonal değişiklikler	12
2.2. Normal ovulatuar bir siklusta bazal vücut ısısı grafiği	12
2.3. Pestisit metabolizması	24
3.1. İyi kaliteli oosit	33
3.2. Kötü kaliteli oosit	33
3.3. Üçüncü gün iyi kaliteli embriyo	34
3.4. QuEChERS yöntemi ile örnek hazırlama işlemi iş akış şeması	36
<u>Grafik</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. Çalışmaya alınan hastaların infertilite oranları	39
4.2. Pestisitlerin oosit kalitesine etkisi	42

1. GİRİŞ

İnfertilite, çiftlerin bir yıl süre ile korunmaksızın düzenli cinsel ilişkide bulunmasına rağmen gebe kalamaması olarak tanımlanır (1).

Sağlıklı çiftlerin yaklaşık %85-90'ında daha önce hiç korunmamış ya da korunmayı bırakmış olsunlar, ilk yıl içerisinde gebelik beklenmektedir (1). Bu hipotez bize infertilitenin genç çiftlerin %10-15'ini ilgilendiren bir sorun olduğunu düşündürmektedir.

Bu sebepten ötürü infertilitenin değerlendirilmeye başlama zamanı ile ilgili genel görüş, bir yıl boyunca herhangi bir korunma yöntemi kullanmadan, düzenli cinsel ilişkiye rağmen gebelik gelişmemesidir (34).

Bazı durumlarda değerlendirmeye daha erken başlamak gerekebilir ki bunlar; kadın 35'inden büyük, menstrüel siklüsün düzensiz, bilinen veya şüphelenilen uterin/tubal hastalık ve endometriozis varlığıdır (36).

İnfertil çiftlerin değerlendirilmesine ilk olarak öykü ve fizik muayene ile başlanmalıdır. Başlangıç olarak erkek nedenli infertilitenin değerlendirilmesi için semen analizi, ovulasyonun değerlendirilmesi için menstrual öykü ve luteal faz progesteron ölçümü, tüplerin açıklığının ve endometrial kavitenin değerlendirilmesi için histerosalpingografi, over rezervinin değerlendirilmesi, menstruasyon siklüsünün 3. gününde serum FSH (folikül stimüle edici hormon) ve E2 (östradiol) ölçümü, ultrason ile antral folikül sayımı ve siklus gününden bağımsız anti müllerin hormon (AMH) bakılması ile yapılmaktadır. Bazı hastalarda daha ayrıntılı testler gerekebilir. Örnek verecek olursak; uterin myom ve over kistlerini değerlendirmek için pelvik ultrasonografi, endometriozis veya diğer pelvik patolojileri değerlendirmek için laparoskopi, eğer kavitede implantasyonu engelleyecek yer kaplayan bir kitle (polip, myom...) şüpheleniyorsa histeroskopi yapılması gerekebilir (5, 6).

İnfertilite ile ilişkisi düşünülen endokrin hastalıklar açısından TSH ve prolaktin hormon düzeylerine bakılabilir.

Yapılan rutin ve ayrıntılı tetkikler sonucunda infertilitenin sebebi bulunup nedene yönelik tedavi uygulanmalıdır, ancak elde tutulur bir nedenin bulunamadığı çiftlere ise açıklanamayan infertilite tanısı konur ve tedavisi

ampiriktir. Açıklanamayan infertilite; antagonist servikal sekresyonlar, erken embriyonel implantasyonda defektif endometrial reseptivite, anormal tubal siliyal aktivite, defektif ovum pick-up mekanizması, luteinize unrüptüre folikül sendromu, ek hormonal anormaliteleri, luteal faz defekti, bozulmuş oosit ve/veya sperm fertilizasyon kapasitesi, minimal veya orta düzeyde endometriozis, immünolojik faktörler, bozulmuş peritoneal makrofaj aktivitesi, bozulmuş peritoneal sıvı antioksidan fonksiyonu gibi sebeplere bağlı oluşabilir (33).

Son zamanlarda infertil hastalarda yapılan çalışmalarda, alınan kan sperm ve folikül sıvısı örneklerinde organoklorin metaboliti tespit edilmiştir. Genel popülasyonda organoklorin pestisit maruziyeti yaygın bir durumdur. Hayvan çalışmalarında üreme sağlığı ve erken gebelik üzerine yan etkileri kanıtlanmış ancak insan çalışması azdır.

2. GENEL BİLGİLER

İnfertilite, çiftlerin bir yıl süre ile korunmaksızın düzenli cinsel ilişkide bulunmasına rağmen gebe kalamamasıdır (1).

Öncesinde hiç gebelik oluşmamışsa primer infertilite; canlı doğumla sonuçlansın ya da sonuçlanmasın, en az bir gebelik oluşmuşsa sekonder infertilite denir (2).

İnfertilite sıklığı ve nedenleri toplumdan topluma değişkenlik gösterir. Bir menstürel siklusta, gebe kalma olasılığı fekdabilite, canlı doğuma kadar gidebilecek gebelik oluşma olasılığı ise fekdante olarak tanımlanır. Sağlıklı bir çiftin bir ayda gebe kalma şansı yaklaşık %25, ilk yıl için %85, 2. yıl için %93'tür (3).

Sağlıklı çiftlerde gebeliğin oluşmadığı siklus sayısı ne kadar artar ise fekdabilite oranları da azalmaktadır. Otuz bir yaş üstünde, yaş artımı ile fekdabilite oranları azalmaktadır (4).

Çiftlerin %30-40'ında erkek, %40-50'sinde ise kadın infertiliteden sorumludur. Yüzde 10-15 çiftte ise günümüzdeki mevcut standart tanısal testler ile izah edilemeyen (açıklanamayan) infertilite mevcuttur (5, 6).

Günümüzde yardımcı üreme tekniklerinin gelişmesi, infertil çiftlerin tedavi şansları artmıştır. Sonuçların olumlu olması açısından infertiliteye neden olan sebepler iyi belirlenmeli ve nedene yönelik tedavi yapılmalıdır.

2.1. İnfertilite Nedenleri

Dünya Sağlık Örgütünün yaptığı çalışmaya sonucunda infertilite nedenleri; %20 erkek faktörü, %38 kadın faktörü, %27 erkek ve kadın faktörü birlikte, %15 ise açıklanamayan şeklinde bulunmuştur (7). Fakat bu dağılım, toplumun demografik ve çevresel özelliklerine bağlı olarak değişim göstermektedir ve infertilite; primer ya da sekonder fark etmeksizin bu faktörlerin sıklığı benzerdir (8).

İnfertilitenin en sık sebepleri; ovulatuvar bozukluk, tubal ve peritoneal patoloji ve erkek faktörleridir; uterin patoloji az görülmektedir ve kalan kısım açıklanamayan infertilitedir (Tablo 2.1). Yaşla birlikte sıklıkları değişmektedir.

Genç kadınlarda ovulasyon bozuklukları daha sık iken, tubal ve peritoneal patoloji genç ve yaşlılarda eşit sıklıkta izlenir. Erkek faktörü ve açıklanamayan infertilite ise, yaşlı çiftlerde daha sık görülür (9).

Tablo 2.1. İnfertilite sebepleri (9).

1) Kadına ait nedenler (%40-45) • Ovulatuvar (%30-40) • Tubal / Peritoneal faktör (%20-40) • Servikal ve immünolojik faktörler (%1-2) • Diğer
2) Erkeğe ait nedenler (%30-40)
3) Açıklanamayan (%10-15)

2.1.1. Ovulatuvar bozukluk

Kadın kaynaklı infertilitenin %30-40'ını oluşturur. En sık görülen kadın infertilitesi nedenidir (3). Anovulasyon, amenore ve adet düzensizlikleri başlıca belirtileridir. Ovulasyonun oluşup oluşmadığı, infertil hastada ilk başlarda tespit etmemiz gereken durumdur.

Ovulasyon, hipotalamus, hipofiz ve over aksının aralarındaki düzene bağlıdır. Her basamağı eş öneme sahip olup, herhangi bir basamağında olabilecek olumsuz bir durum anovulasyona sebep olabilir.

Bu sebeple; hastamızda anovulasyona rastladıysak ayırıcı tanılarımızda bu aksı bozabilecek hipotalo-hipofizer hastalıklar, anoreksiya nevroza, PKOS, prematür ovarian yetmezlik, hipotroidizm gibi hastalıkları mutlaka düşünmeliyiz.

2.1.2. Tubal / Peritoneal faktörler

2.1.2.1. Tubal faktör

İnfertilite nedenlerinin %20'sinden tubal / peritoneal faktörler sorumludur. Pelvik inflamatuvar hastalıklar, apendisit, septik abortus, önceki tubal cerrahi, pelvik enfeksiyona neden olan IUA kullanımı, C.trahomatis ile subklinik pelvik enfeksiyonlar tubal hasar için zemin oluştururlar. Fallop tüpünün uç kısmının obstrüksiyonu hidrosalpinks ile sonuçlanabilir. Hidrosalpinks oosit ve sperm

geçişindeki bozulmanın yanı sıra, tubal içeriğin endometrial kaviteye ters akımı sonucu embriyonun yapışmasında da bozulmaya neden olmaktadır.

HSG ve laparoskopi tubal hasarı değerlendirmede altın standart testlerdendir. HSG’de laparoskopiye üstün tarafı uterin kavite ile bilgi vermesi ve işlem sırasında peritoneal ortamın değişmesi sonucu fekundabiliteyi arttırmasıdır. Ancak; batınla ilgili bilgi verememesi, adhezyonlar, endometriozis gibi peritoneal hastalıklar için aydınlatıcı olmaması dezavantajıdır.

Laparoskopi adhezyonları, endometriozisi tespit edebilir ve saptanan anormalliklerin tedavisini sağlar. Tubal hasarı göstermede daha sensitif ve spesifiktir. Hidrosalpinksin çıkarılması İVF (in vitro fertilizasyon) başarısını artırır (21). Hidrosalpinksin olan kadınlarda İVF başarısı, salpenjektomi yapılan veya normal kadınların yarısı kadardır. Bu nedenle hidrosalpinksin olan tüm kadınlara İVF’den önce salpenjektomi yapılması önerilir (22). HSG’de proksimal tubal oklüzyon görüldüğünde doğrulayıcı testler (selektif tubal kataterizasyon ya da laparoskopi) yapılma gereği vardır. Cerrahi tedavi sonrası gebe kalanların oranı %20’dir ve bu grupta ektopik gebelik oranı %20’dir (23).

Buna karşın IVF, ICSI uygulanmış hastaların ilk tedavi siklusundaki gebelik oranı %21 bulunmuştur (24).

2.1.2.2. Endometriozis

Endometriozis; endometrial bez ve stromanın endometrium dışında farklı bir yerde bulunmasıdır. Pelvik ağrı ve infertilite ile ilişkili bir hastalıktır. İnfertil kadınlarda fertil kadınlara göre endometriozis prevalansı daha fazladır (%21-47’ye karşı %5). Endometriozis, eğer tubal adezyona sebep olmuşsa infertilite sebebi sayılabilir, onun dışında infertilite nedeni olup olmadığı netlik kazanmamıştır. Endometriotik odakların ablasyonu gebelik oranlarını arttırdığı belirtilmektedir. Ama; ovulasyonu baskılamamanın beklentisel tedavi ya da YÜT (yardımla üreme teknikleri) tedavisine göre sadece potansiyel konsepsiyonu geciktirdiği yolunda veriler mevcuttur (25). İleri evre endometriozis ise cerrahi tedavi endikasyonudur.

2.1.3. Servikal ve uterin nedenler

2.1.3.1. Myom uterin

Myomlar yaygın görülen uterusun düz kasından köken alan monoklonal tümörlerdir. Myomlarla infertilite arasındaki ilişki tartışmalıdır. Yerleşim yeri myomların infertilitedeki rolünü belirleyen en önemli parametredir. Kornual myom tüpün interstisyel segmentine yerleşip, uterin kontraktilite ve ovum-sperm geçişini bozarak, submükoz myomlar ise implantasyonu bozarak infertiliteye sebep olurlar. Subseröz ve intramural myomlar ise kaviteyle ilişkileri yok ise infertilitede esas rolü oynamazlar.

2.1.3.2. Asherman Sendromu

Patofizyolojisi travma sonrası endometrium damarlanması ve fonksiyonunda bozulmadır. Sıklıkla uterin kaviteye yapılan D&C işleminden sonra görülür. İntrauterin adezyonlarda en sık görülen semptomlar; hipomenore, amenore, dismenore gibi menstrüel bozukluklar ve infertilitedir. Kavitede fibromusküler bantlar vardır. Bu bantlar histeroskopik olarak kesilir. Adezyolizis sonrası mens döneminde düzelme (%70-90) gebelik sonuçlarında artış (%25-70) saptanır.

2.1.3.3. Endometrial polip

Prevelansı %3-5'dir (26). İnfertilite üzerine etkisi belirsizdir.

2.1.3.4. Servikal faktör

Servikal mukus ejakülattan spermleri yakalayarak diğer seminal proteinleri ayırır, anormal morfolojili spermleri ayırır ve sperm için depo görevi yapar. Böylece spermin canlı kalma süresini uzatır (27). İnfertilitedeki rolü %3-5'tir. Östrojen mukus üretimini artırırken, progesteronu baskılar. Servikal mukus miktarı ovulasyon döneminde artar, daha sulu, daha alkali yapıda olur, elasikiyeti artmıştır. Mukusun elastikiyet özelliğine Spinbarkeit testi ile değerlendirilir. Fern testi; östrojenin mukus üzerine etkisi araştırır ve bu test pozitifdir.

Servikal mukusun yeterli olup olmadığını, sperm-mukus ilişkisini değerlendirmek için postkoital test kullanılmaktadır. Testin pozitifliği servikal

faktöre bağılı infertiliteyi dışlar. Pozitiflik kriteri ise; postkoital mukus incelemesinde spermatozoa görülmesidir (28).

2.1.4. Konjenital uterin nedenler

Uterin anomaliler blastokistin implante olduğu bölgede anomali mevcutsa implantasyonu engelleyebilirken, ikinci ve üçüncü trimestr gebelik kayıplarına sebep olur. Yapılan çalışmalarda uterin septum sıklığının fertil ve infertil kadınlarda benzer ve yaklaşık %1 olduğu ancak tekrarlayan gebelik kaybı olanlarda daha yüksek olduğu (%3-5) bulunmuştur. Tüm konjenital uterin anomaliler içerisinde uterin septum en sık görülen ve reproduktif yetersizlik ve obstetrik komplikasyonlarla en sık ilişkili olan anomalidir (29).

Uterin anomaliler ESHRE 2013 sınıflandırmasına göre şu şekildedir ve Tablo 2.2’de belirtilmiştir (30).

Tablo 2.2. Müllerian anomalilerin sınıflandırılması.

Uterus	Servikal / Vajinal
U0 Normal uterus	C0 Normal serviks V0 Normal vajen
U1 Dismorfik uterus T. shaped Başlangıç aşaması Diğer	C1 Septal serviks V1 Longitudinal vajinal septum (tam kapatmayan)
U2 Septat Uterus Parsiyel Komplet	C2 Çift normal serviks V2 Longitudinal vajinal septum (tam kapatan)
U3 Bikornual Uterus Parsiyel Komplet Septat	C3 Tek taraflı servikal aplazi V3 Transvers vajinal septum/imperfore hymen
U4 Hemi – uterus Rudimenter kaviteli Kavitesiz	C4 Servikal aplazi V4 Vajinal aplazi
U5 Aplastik Rudimenter kaviteli (Bir ya da tek boynuzlu) Kavitesiz	
U6 Kategori dışı	

2.1.5. Erkek faktörü

Testisler, seminifer tübül ve leydig hücreleri olmak üzere iki ayrı yapıdan oluşurlar. Leydig hücreleri tarafından testosteron üretimi yapılır. Seminifer tübüller ise spermatogonia ve sertoli hücrelerinden oluşur. Kan-testis bariyerini oluşturan yapı ise sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılardır. Bu bariyer sayesinde germ hücreleri antikorlardan ve çevresel toksinlerden korunurlar.

Spermatogenezis, seminifer tübüllerde meydana gelir ve tamamlanması yaklaşık 74 gün sürer. Spermatogenezis üç basamakta olmaktadır. Birinci basamak spermatositogenezisdir (proliferatif / mitotik faz) ve başlaması ile 46 kromozomlu spermatogonia büyür, olgunlaşır ve primer spermatositi oluşturur. İkinci basamak mayotik fazdır ve mayoz 1'in tamamlanması ile 2 adet 23 kromozomlu sekonder spermatosit oluşur. Gelişen her iki sekonder spermatosit 2. mayoz bölünmeye girer ve 4 adet 23 kromozomlu spermatit oluşur. Üçüncü basamak spermiyogenezisdir ve gelişen spermatidlerin her biri olgun spermatozoaya dönüşür. Spermatozoalar, seminifer tübül lümenine geçerler ve buradan kaput epidimise taşınırlar. Epididimiste spermier maturasyona uğrayıp, hareket yeteneklerini kazanırlar. Ejakülasyona kadar da epididimiste depolanırlar. Epididimisin kuyruk bölgesi hareketli ve fertilizasyon yeteneğine sahip spermierin saptanabileceği ilk yerdir (31). İnfertilite prevelansı yaklaşık %15'tir. Salt erkek nedenli infertilite %20 iken, kadın ve açıklanamayan infertiliteyle beraber hesaplandığında yaklaşık %50'ye varan bir orandır. Normal bir erkeğin günde 120 milyon sperm üretmesi beklenir. Üreme çağındaki erkeklerde infertilite oranı %6 kadardır ve bunların %90'ında bozulmuş spermatogenez vardır. Erkek infertilitesi nedenleri, hipotalamik hipofizer hastalıklar (yaklaşık %2), testiküler hastalıklar (%30-40), post testiküler nedenler ve idiopatik (%40-50) olarak ana maddelerde toplayabiliriz.

2.1.6. Açıklanamayan infertilite

%10-30 infertil çiftte tüm araştırmalara rağmen infertilite neden izah edilemez Bu hastalarda; ovulasyonun objektif kanıtları, bilateral fallop tüplerinin açık ve endometrial kavitenin normal olduğu, semen analizinin normal ve overyan rezervin yeterli olduğu gösterilmelidir. Bu grup açıklanamayan infertilite olarak

adlandırılır. Nedeni açıklanamayan infertilite, normal reproduktif dağılımın alt sınırını veya standart değerlendirme metodları ile tanısı konulamayan sperm veya oosit fonksiyon anormalliklerini, fertilizasyon veya implantasyon bozukluklarını içerir. Siklus fekunditesi bu hastalarda %2-4'tür. Tedavi de siklus fekunditesini arttırmaya yöneliktir (32).

İzah edilemeyen infertilite olası etyolojiler yer almaktadır.

Tablo 2.3. İzah edilemeyen infertilite olası etyolojileri (33).

- 1) Antagonist servikal sekresyonlar,
- 2) Erken embriyonel implantasyonda defektif endometrial reseptivite,
- 3) Anormal tubal siliyal aktivite,
- 4) Defektif ovum pick-up mekanizması,
- 5) Luteinize unrüptüre folikül sendromu,
- 6) Ek hormonal anormallikleri, örnek; Luteal faz defekti,
- 7) Bozulmuş oosit ve/veya sperm fertilizasyon kapasitesi,
- 8) Minimal veya orta düzeyde endometriozis,
- 9) İmmünolojik faktörler,
- 10) Bozulmuş peritoneal makrofaj aktivitesi,
- 11) Bozulmuş peritoneal sıvı antioksidan fonksiyonu.

2.2. İnfertilite Ne Zaman Değerlendirilmeli?

İnfertilitenin değerlendirilmeye başlama zamanı ile ilgili genel görüş; düzenli ve korunmasız 12 ay cinsel ilişki sonrası gebelik elde edilememesi durumudur. Değerlendirme; kadın yaşı ileriye ya da öykü ve veya fizik muayeneye bağlı bulgular varsa daha erken başlanabilir (34). 35 yaşından sonra over rezervinde azalmaya bağlı olarak fekunditede anlamlı azalma meydana geldiği için 35-40 yaş arası infertil kadınlarda değerlendirme 6 aylık korunmasız cinsel ilişki sonrası gebelik elde edilemediğinde, 40 yaş üzeri kadınlarda ise 6 ay da beklemeden başlanmalıdır (35).

Kadınların over rezervinde azalma açısından risk faktörü varsa (geçirilmiş overyan cerrahi, sitotoksik ilaçlara maruziyet, pelvik radyoterapi öyküsü, otoimmün hastalıklar, erken menopoz için güçlü aile öyküsünün bulunması gibi), ileri evre endometriozis, bilinen veya şüphelenilen tubal veya uterin hastalık varsa

değerlendirmeye hemen başlanmalıdır (36). Erkeklerde de tedavi gerektiren testiküler travma öyküsü varsa, erişkin yaşta kabakulak öyküsü, seksüel disfonksiyon, kemoterapi veya radyoterapi öyküsü varsa değerlendirme vakit kaybetmeden başlanabilir.

2.3. İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi

2.3.1. Öykü

Değerlendirme öykü ve fizik muayene ile başlamalıdır. Hastalarla yaptığımız görüşmelerde başlıca sormamız gereken sorular vardır. Örnek verecek olursak;

- Süre? Çiftlerin ne zamandır korunmasız ilişkilerinin olduğu, daha önce herhangi bir klinikte değerlendirilip, değerlendirilmedikleri, varsa aldıkları tedavi konusunda bilgi almamız gerekir.
- Mens dönemlerini ayrıntılı sorgulamamız gerekir. Hipotalamus, hipofiz, overler ve endometrium aksının düzeni hakkında bilgi verir.
- Önceki operasyonları, jinekolojik hastalıklar, anovulasyona neden olabilecek medikal durumlar konusunda ayrıntıya girmeliyiz. Operasyon sonrası oluşabilecek adezyonlar, enfeksiyonlar gibi problemler tedavi ve sonuçlarını etkileyebilir.
- Varsa önceki gebeliğini sorgulamamız gerekir. Düşük, postpartum ve postoperatif komplikasyonlar kadın fertilitasını engelleyebilir.
- Cinsel ilişkilerinin sıklığı, seksüel disfonksiyon sorgulanmalıdır.
- Aile öyküsü özellikle genetik mutasyonlar açısından önemlidir.
- Yaş, egzersiz, sigara, alkol kullanımı, stres maruziyeti sorgulanmalıdır. Kadın partnerin sigara içiciliği fekundabilitiyi olumsuz etkilemektedir (25).

2.3.2. Fizik muayene

Fizik muayenede infertilitenin muhtemel nedenleriyle ilişkili bulgular değerlendirilmelidir. Çiftlerin vücut yağ indeksleri hesaplanmalıdır. Vücut yağ indeksleri yüksek olan çiftlerde fertilitate azalmıştır.

Guatr, galaktore veya androjen fazlalığı bulguları (hirsutizm, akne, virilizasyon, erkekte saç dökülmesi) hormonal bir bozukluğun göstergesi olabilirler.

Genital sistemle ilgili yapısal anomalilerin varlığı fizik muayenede değerlendirilmelidir. Adneksiyal veya douglasta ele gelen bir kitle veya muayene sırasında ağrı duyması kronik pelvik inflamatuvar hastalığın veya endometriozis bir bulgusu olabilir. Douglasta, uterosakral ligamentte, rektovajinal septumda endometriozis varlığı açısından derinlemesine palpe etmemiz gerekir.

Muayenemiz sırasında uterusun büyümüş olması, mobilizasyonun kısıtlanması adenomyozis, adezyonlar konusunda şüphe uyandırır.

2.3.3. Tanısal testler

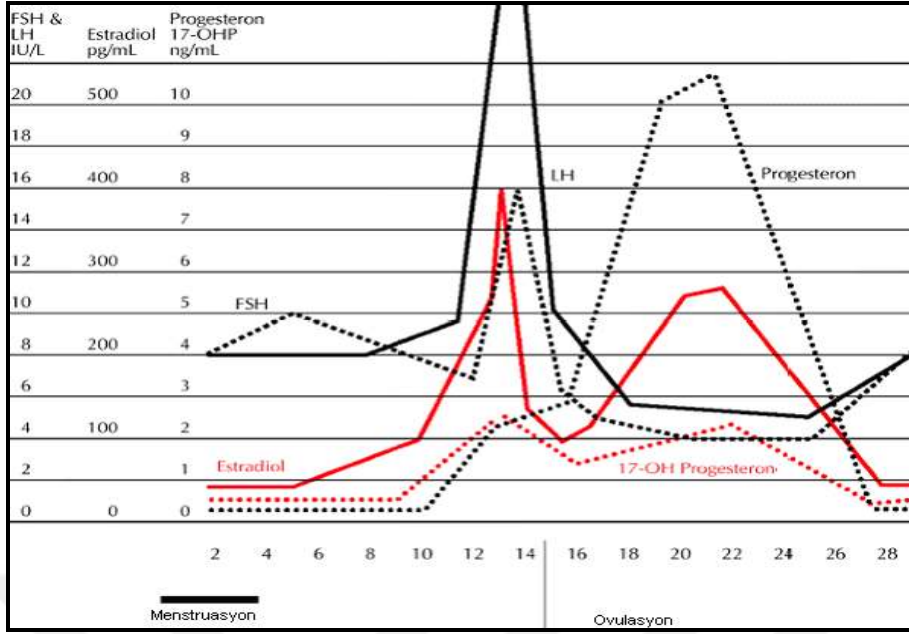
2.3.3.1. Pap smear alınması, direkt yayma ve taze preparatlar, servikal kültür, mikoplazma kültürü, servikal klamidya antijeni bakılması

- *Klamidya Ig G antikorları*: Tubal hasarın varlığı hakkında bilgi veren non-invaziv ucuz, kolay bir testtir. Son zamanlarda yapılan birçok çalışmada, Klamidya enfeksiyonlarının pelvik inflamatuvar hastalık yaratmadan da tubal hasara sebep olarak infertiliteye neden olduğu düşünülmektedir (37).

2.3.3.2. Ovulasyonun ve over rezervinin değerlendirilmesi

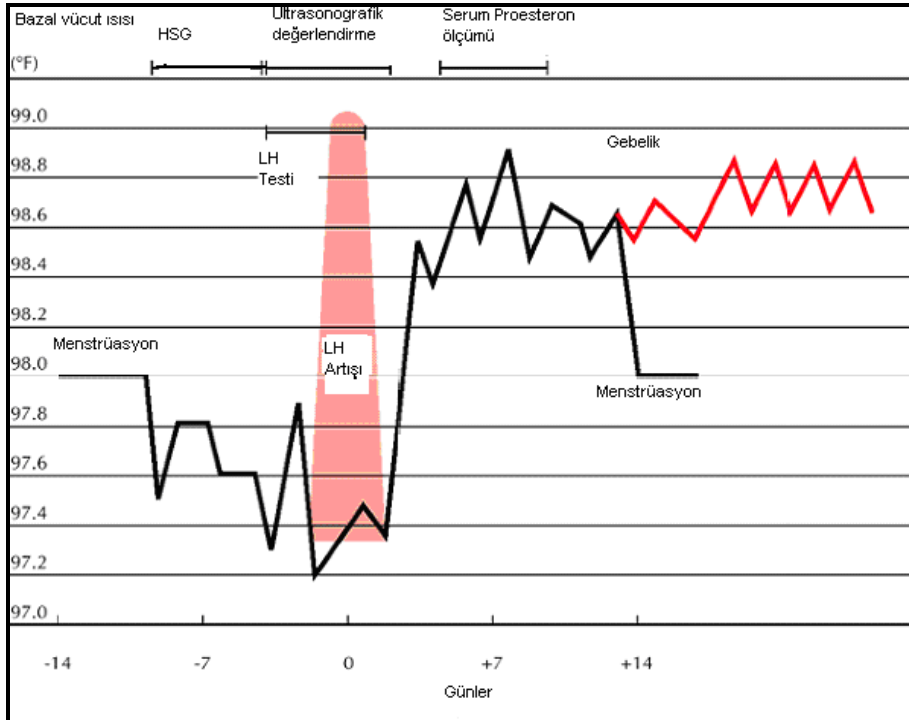
Ovulasyon tespiti için değişik yöntemler kullanılabilir.

- ✓ *Öykü*: Düzenli bir adet kanaması (21-35. günler arasında) ve öncesinde mense özgü olduğunu düşündüğümüz göğüslerdeki şişkinlik hissi ve hassasiyet, dismenore gibi semptomlar muhtemel ovulasyona ait belirtilerdir,
- ✓ *LH monitorizasyonu*: Ovulasyon LH yükselmeye başladıktan 34-36, LH pikinden 10-12 saat sonra gerçekleşir. Bu sebepten ötürü, LH yükselmesinin gösterilmesi ovulasyonun varlığını ortaya koyabilir (10,11). Menstrüel siklustaki hormonal değişiklikler Şekil 2.1'de gösterilmiştir.



Şekil 2.1. Menstrüel siklustaki hormonal değişiklikler (12).

Bazal vücut sıcaklığı: Sıcaklık foliküler fazda düşük seyreder, ovulasyon gerçekleşikten sonra -bu dönem luteal fazdır- yaklaşık 0,5-1 derece artış olur, kanamadan hemen öncesinde bazal seviyesine düşer.



Şekil 2.2. Normal ovulatuar bir siklusta bazal vücut ısısı grafiği (12).

Bazal vücut sıcaklığı ovulatuar bir kadında bifazik patern olarak izlenir. En düşük sıcaklığı ovulasyondan bir gün önce veya ovulasyon günü izlenirken, yükselmesi progesteron konsantrasyonu >5 ng/ml olduğunda gerçekleşir. Bazal vücut ısısı en yüksek dereceye ulaştığında döllenmeye müsait olan zamanın bittiğini düşünmekteyiz. Bazal vücut ısısına bakıp fertilité konusunda yorum yapacak olursak, en fertil dönemin midsiklus pik'inden bir hafta önceki dönem olduğunu söyleyebiliriz. Böylece mens dönemleri düzenli olan kadınlarda bazal vücut sıcaklığı grafiğinin çıkarılması ile en düşük ve en yüksek derecedeki zaman dilimi belirlenip bu dönemde gün aşırı ilişki önerilebilmektedir.

Bazal vücut ısısının avantajı maliyetinin düşük olmasıdır. Fakat, mens dönemi düzenli olan her kadında bifazik patern gözlenemeyebilir. Bazal vücut ısısı şemasında monofazik patern anovulasyonu, sıcaklık artışının ise 10 günden kısa sürmesi luteal faz yetersizliğini düşündürür (13).

Midluteal serum progesteron ölçümü: Progesteron; ovulasyon sonrası korpus luteum oluşmasıyla luteinize olan granuloza hücrelerinden salgılanır. Ovulasyon sonrası salgılanmasından dolayı, progesteron seviyelerinde artış ovulasyonun indirekt bulgusu olarak sayılır.

Ölçüm pik yaptığı midluteal fazda yapılmalıdır (14).

Progesteron, foliküler fazda <1 ng/ml'dir. Serumda ölçülen miktarın >3 ng/ml olması ovulasyonu göstermektedir. Luteal faz tanısı koymak için ovulasyondan sonra 5-9. günler arasında üç ölçüm alınmalıdır. Bu ölçümler sonucunda tek ölçümün 10 ng/ml ya da üç ölçümün toplamının 30 ng/ml olması durumunda luteal faz yetmezliği yoktur diyebilmekteyiz (15).

Üriner LH sekresyonu: LH artışı yaklaşık 50 saat sürer. LH sabah saatlerinde salınır ve birkaç saat sonra idrarda tespit edilir. Bu sebeple ölçüm için ideal zaman saat 16.00-22.00 arası olarak düşünülmektedir. LH artışının olduğu gün ya da ertesi gün en fertil dönemdir ve bu dönem ilişki ve inseminasyon için çok uygundur (16, 17, 18).

Endometrial biyopsi: Biyopsi sonucunda proliferatif endometrium gelmesi anovulasyonu gösteren bir durumdur. İşlem geç luteal dönemde beklenen menstruasyondan 2-3 gün önce alınır. Siklus gününe göre 2 gün veya daha fazla gecikme, luteal faz yetmezliğini düşündürür (15).

- ✓ Ultrasonografik monitörizasyon: Seri ultrasonografik takip ile dominant folikül gelişimi ve ovulasyondan sonra folikülün gerilemesi izlenerek ovulasyon olup olmadığı saptanabilir. Kanamanın 3. gününde tercihen transvajinal ultrason kullanılarak overler, antral foliküler değerlendirilir. Siklusun 5-7 günlerinde seçilen dominant folikül ovule olana kadar günde 1-4 mm büyüme gösterir. Ovulasyon sırasında ölçülen folikül çapı genelde 21-23 mm'dir (19, 20).
- ✓ Over rezervinin değerlendirilmesi: Over rezerv değerlendirilmesinde yaş faktörü önemlidir. Eğer kadın 35 yaşından büyükse veya prematür overyan yetmezlik için risk faktörü varsa daha genç yaşlarda değerlendirilmesi gerekebilir. İlk olarak siklusun 3. günü FSH ölçümü önerilir. Overyan rezervi değerlendirmede diğer yöntemler ise; antral folikül sayımı, antimüllerian hormon ölçümü (AMH) ve klomifen sitrat stimülasyon testleridir (KSST).
- ✓ FSH, Estradiol ölçümü ve Klomifen Sitrat testi: Overyan rezervi yeterli kadınlarda, siklusun erken dönemlerinde küçük foliküllerden salınan overyan hormonlar FSH'yı düşük seviyelerde tutar. Aksine over rezervi azalmış ve overyan hormon salınımı yetersiz olan kadınlarda ise hipofizden salınan FSH inhibe edilemez ve siklusun erken dönemlerinde FSH seviyesi artar (38). Yaptığımız testlerin temeli de bu hipoteze dayanır.

Menstüryel kanamanın 3. günde alınan kandaki FSH düzeyi <10 mIU/ml ise overyan rezervin yeterli olduğu sonucuna varılır. Fakat FSH >20 mIU/ml ise gebelik elde etme ihtimali çok düşüktür.

İnfertilite tedavisi gören kadınlarda gebeliği öngörmede siklusun 3. günü bazal FSH ölçümü ve KSST sonuçları benzerdir (39, 40).

Siklusun 5-9. günleri arasında hastalara oral yoldan 100 mg klomifen sitrat uygulanır ve sonrasında bir sonraki siklusun 3. ve 10. günleri FSH ve 3. gün estradiol (E2) bakılır. FSH seviyesi 3. ve 10. günlerde yapılan iki ölçümde de 15 mIU/ml'den düşük ise over rezervi yeterlidir ama seviye >15 mIU/ ml'den yüksek ise over rezervinin azalmış olduğunu gösterir.

Siklusun 3. günü klomifen sitrat verilmeksizin ölçülen estradiol seviyesi de over rezervin değerlendirilmesinde kullanılabilir (41). Over rezervinin azalmasıyla, inhibin üretimi azalır, FSH düzeyi artar. Bu durum da erken foliküler dönemde estradiol düzeylerinin yükselmesiyle sonuçlanır. Siklusun 3. gününde bakılan estradiol düzeyi <60-80 pg/ml ise over rezervi yeterli, seviye >60-80 pg/ml ise siklus iptal etme oranları daha yüksek ve gebelik şansı daha düşük bulunmuştur. Estradiol seviyesi >100 pg/ml ise gebelik ihtimalinin olmadığını düşündürür (42).

- ✓ Antral folikül ölçümü: Ultrasonografi yardımı ile boyutları 2-10 mm arasında değişen foliküller sayılır. Saydığımız folikül sayıları 4-10 arasında ise over rezervi konusunda olumlu bir sonuç bildirirken, sayı 4'ten az ise olumsuz olduğunu bildirir (43). Ama over rezervi konusunda iyi belirteç olan antral folikül sayısını oosit kalitesi ya da gebelik sonuçlarında kullanmada yeteri kadar iyi bir belirteç değildir (44).

Anti müllerien hormon (AMH)

AMH salınımı preantral ve erken antral foliküllerden olmaktadır. Böylece AMH seviyesi bize primordiyal foliküller konusunda bilgi verir. Yaş ilerledikçe primordiyal foliküllerin azalmasına bağlı AMH düzeyi de azalır (45).

Gittikçe azalan AMH düzeyleri menopozda ölçülemeyecek düzeye gelir (46). AMH düzeyi azalan over fonksiyonunun erken, güvenilir ve direkt göstergesidir ancak eşik değer hakkında ortak bir görüş yoktur (47). Serum AMH düzeyinin 0.5 ng/ml'nin üzerinde olması over rezervi konusunda olumlu bilgi verirken daha düşük seviyeler over rezervinin azaldığını gösterir. 0.15 ng/ml'nin altındaki düzeyler ise İVF başarısızlığını gösterebilir (48).

2.3.3.3. Fallop tüplerinin değerlendirilmesi

Fallop tüplerinin değerlendirilmesinde altın standart tetkik histerosalpingorafidir (HSG). Tetkik sırasında uterin kaviteyle ilgili de bilgi ediniriz. Batın içini değerlendiremeyiz. Tanısal amaçlı yaptığımız HSG'nin aynı zaman da tedavi edici etkisi de vardır. Subfertil grupta HSG yapılan kadınlarda gebelik oranları HSG yapılmayanlara göre daha yüksektir (49).

2.3.3.4. Endometrial kavitenin değerlendirilmesi

Kaviteyi değerlendirme amaçlı birçok tanısal test kullanabiliriz. Tüpleri değerlendirirken değindiğimiz gibi HSG bunlardan biridir. Kaviteyle ilişkili submuköz myomlar, polipler, adezyonlar, uterin kavite anomalilerinin tanınmasında önemli bir rol oynar.

USG'de myomların değerlendirilmesinde oldukça kullanışlıdır ve salin infüzyon sonografi submüköz myomların saptanmasında en iyi görüntüleme yöntemidir. Aynı zamanda polip, adezyon, anomali saptamada salin infüzyon sonografi rutin ultrasonografiye kıyasla daha üstündür (50). Endometrial kavite ile ilgili anomalilerin değerlendirilmesinde altın standart histeroskopidir. Hem diaagnostik hem de teröpatik etkisinden yararlanılır (36).

2.3.3.5. Laparoskopi

Laparoskopi ise; tanısal ve/veya operatif amaçlı yapılabilir. İnfertilitenin değerlendirilmesinde laparoskopinin rolü tartışmalıdır. Pahalı ve invaziv bir tetkiktir. Endometriyozis varlığını düşündüren (dismenore, pelvik ağrı, derin dispareni), pelvik adezyon ve tubal hastalık hikayesi varlığında (pelvik ağrı hikayesi, komplike apandisit, pelvik enfeksiyon, pelvik cerrahi, geçirilmiş ektopik gebelik), anormal fizik muayene ve HSG varlığında laparoskopi yapılabilir (51). Açıklanamayan veya erkek nedenli infertilite tanısı alan hastalarda tedavi planını değiştirmedikinden tanısal testler arasında laparoskopinin rolü olmadığı düşünülmektedir.

2.3.4. Erkek infertilitesinin değerlendirilmesi

2.3.4.1. Semen analizi

Öykü ve fizik muayeneye ek olarak semen analizi etiyoloji konusunda bilgi verir. Semen örneği vermeden hastalar 2-3 günlük cinsel perhiz uygularlar ve sonrasında tercihen mastürbasyon yöntemi ile alınır. Semen örneği toplandıktan bir saat içinde incelenmelidir. İlk verilen örnek normal sınırlarda ise test tekrarlanmaz; fakat anormal bir durum olması halinde 6-12 hafta sonra ikinci bir örnek alınmalıdır (6).

Standart analiz; semen volümü ve pH ölçümü, aglütinasyonun değerlendirilmesi, sperm konsantrasyonu, motilitesi ve morfolojisinin değerlendirilmesi, sperm lökosit sayısının ve immatür germ hücrelerin değerlendirilmesini kapsar.

Analizin parametrelerine bakacak olursak;

- ✓ Koagülasyon: Ejakülasyon sonrası semenin sıvı halden yarı katı hale geçmesidir. Koagülasyon oluşmazsa eğer seminal vezikül ve vas deferensin yokluğundan şüphelenilir,
- ✓ Likefaksiyon: Koagüle olan semen 5-20 dakika içinde likefiye olur. Likefikasyon gelişimi prostatta yapılan proteolitik bir enzim olan fibrinolizinle olur. Böylece likefaksiyon normal prostat işlevinin bir göstergesidir,
- ✓ Viskosite: Likefiye olan semenden damla yöntemiyle ölçülür. Pipete çekilen semen damlatılır ve oluşan iplikçiğin boyu ölçülür. Ölçülen boy 20 mm'ye kadar normal, 20-40 mm arası hafifçe artmış, 40-80 mm arası oldukça artmış ve 80 mm üstü ise çok artmış olarak sınıflandırılır. Viskozite artmış ise; genital traktusda, prostatda veya seminal vezikülde bir enfeksiyondan şüphelendirir. Uygunsuz kap kullanımı, sık ejakülasyon da viskozitenin artış sebebi olabilir,
- ✓ Volüm: 3-5 günlük cinsel perhiz ardından 2-6 ml'dir,
- ✓ Renk: Gri opak renktedir fakat uzun süre cinsel ilişki olmazsa rengi sarıya dönüşür. Konsantrasyon azalınca rengi açık/sulu şekle döner, artınca bulanır,

- ✓ Koku: Sperminin oksidasyonu ile koku oluşur. Normalden farklı bir koku saptanması enfeksiyon göstergesidir,
- ✓ pH: 7.2-7.8 arası normal değerlerdir.

Standart semen analizinin değerlendirilmesinde Dünya Sağlık Örgütü'nün belirlediği en alt sınır değerler aşağıda gösterilmiştir (52):

- ✓ Volüm: 1.5 ml,
- ✓ İleri hareketli sperm oranı: %32,
- ✓ Total sperm sayısı: 39 milyon spermatozoa/ejakulat,
- ✓ Sperm konsantrasyonu: 15 milyon spermatozoa/ml,
- ✓ Morfoloji: %4 normal morfoloji,
- ✓ Total hareketli sperm oranı: %40.

Azoospermi ve oligozoospermi gibi semen anomalilerine azalmış semen volümü eşlik ediyorsa, genital trakt obstrüksiyonunu gösterir.

Sperm hareketleri mikroskopik olarak değerlendirilir ve progresif hareketli, nonprogresif hareketli ve hareketsiz olarak ayrılır. Spermatozoaların en az %40'ı hareketli ve en az %32'si ileri hareketli olmalıdır.

2.3.4.1.1. Semen anomalilerinin adlandırılması (WHO kriterleri)

- ✓ Aspermia: Ejakülatın olmaması,
- ✓ Oligozoospermia: $<15 \times 10^6$ sperm /ml olması,
- ✓ Hipospermia: Ejakulat volümünün <1 ml olması,
- ✓ Hematospermia: Ejakülatta kan olması,
- ✓ Lökositospermia: Ejakülatta beyaz küre olması,
- ✓ Polizoospermia: $>250 \times 10^6$ sperm /ml olması,
- ✓ Hiperspermia: Ejakulat volümü >6 ml,
- ✓ Azoospermia: Ejakülatta sperm olmaması,
- ✓ Asthenozoospermia: Zayıf motilite ve/veya ileri doğru hareketlilik olması,
- ✓ Teratozoospermia: Normal şekilli sperm yüzdesinin azalmış olması ($<4\%$ Kruger),
- ✓ Nekrozoospermia: Supravital boyama ile tüm spermilerin ölü olması,
- ✓ Globozoospermia: Yuvarlak başlı akrozomsuz sperm olması.

2.3.4.2. Post-ejakulatuar idrar analizi

Ejakulat hacminin 1 ml'nin altında olması veya hiç ejakulat yok ise retrograd ejakulasyon, ejakulatuar kanal obstrüksiyonu, hipogonadizm veya bilateral konjenital vaz deferens agenezisi gibi patolojik durumlar açısından araştırılmalıdır. Post ejakulatuar idrar analizi retrograd ejakulasyon için tanı koydurucudur. Post ejakulatuar idrarın incelenmesi 10 dakika 300 devirde santrifüje edildikten sonra alınan mikroskopik olarak 400 büyütme tanımlanır. Post ejakulatuar idrar analizinde sperm görülmesi Retrograd ejakulasyon tanısı da post ejakulatuar idrar analizinde sperm görülmesi ile konur. Fakat idrarda en az kaç sperm görülmesi gerektiği konusunda konsensüs yoktur. Genel görüş her sahada 5-10 sperm görülmesinin yeterli olması yönündedir.

2.3.4.3. Skrotal ultrasonografi

Varikozel, spermatosel, epididimal endurasyon ve testiküler kitle gibi skrotal patolojiler muayene sırasında saptanabilir. Palpasyonun net bilgi vermediği testiküler kitle veya subklinik varikozel tanısı koymak için skrotal ultrasonografi yapılmalıdır.

2.3.4.4. Transrektal USG

Post-ejakulatuar idrar tetkikinde sperm olmayan, serum testosteron düzeyi normal sınırlarda olan, fizik muayenesinde ele gelen iki taraflı vaz deferensleri bulunan, ejakulat hacmi düşük olan bir hastada TRUSG yapılmalıdır. Normal seminal keselerin anterior-posterior çapları 1,5 cm'den kısadır. Seminal veziküllerde ve ejakulatuar kanallarda genişleme komplet veya parsiyel obstrüksiyonu düşündürür.

2.3.4.5. Hormonal tetkikler

İnfertilite değerlendirmesinde erkeklerde kanda FSH ve LH düzeyi bakılması önerilir (53). Serum testosteron seviyesi düşük, serum FSH ve LH seviyeleri yüksekse primer hipogonadizm, düşük veya normale sekonder hipogonadizm tanısı konur. Sperm sayısı ve serum LH seviyesi düşükse, ekzojen anabolik veya androjenik steroidlerin kullanımı düşünülmelidir Düşük serum

testosteron seviyesine düşük ya da normal seviyede LH eşlik ediyorsa, serum prolaktin düzeyi ölçülmelidir.

2.3.4.6. Genetik tetkikler

İnfertil erkeklerde yaklaşık %10-18’inde Y kromozomu mikrolelesyonu tespit edilebilir. AZFa veya AZFb bölgelerinin tümüyle delesyonu azospermi ve Sertoli Cell Only Sendromuna sebep olur. Bu bölgelerin kısmi delesyonu veya AZFc bölgesinin tümüyle delesyonu hipospermatogenezisten Sertoli Cell Only Sendroma kadar değişik fenotiplere neden olur ve ciddi oligozoospermi veya azospermi ile kendini gösterir. Bu delesyonlar sperm konsantrasyonu 5 milyon/ml’nin üstünde olan erkeklerde nadir görülürler (54).

Y kromozomu mikrolelesyonları İCSİ ile embriyoya aktarılabılır, bu da genetik testlerin önemini gösterir (55). Sperm konsantrasyonu 10 milyon/ml’den az olan infertil erkeklerde karyotip analizi önerilmektedir (56).

2.3.4.7. Sperm fonksiyon testleri

- ✓ Human zona pellusida binding test: Hemizona assay testi ile oositten ayrılan zona kullanılarak spermin zona pellusidaya bağlanmasına bakılır (31),
- ✓ Akrozom reaksiyonu,
- ✓ Zona-free hamster oosit penetrasyon testi: İn vivo ve in vitro fertilizasyon başarısı açısından bilgi verir (57),
- ✓ Bilgisayar yardımcı sperm analiz: Açıklanamayan infertilite sebebiyle takip edilen erkeklerde sperm hareket özelliklerini, in vivo ve in vitro fertilizasyon kapasitesi konusunda bilgi veren yöntemdir. Sperm konsantrasyonunun, hareketini ve morfolojiyi değerlendirilmede kullanılabilir (58).

2.4. Pestisitler

Hayvanlar bazı bitkiler, mantarlar ve/veya bakteri ve virüs gibi zararlıları önlemek için kullanılan kimyasal bileşiklerdir. Dünyada 700'den fazla çeşit, her yıl 2.2 milyar kg pestisit kullanılmaktadır. Tarım ürünlerini büyük ölçüde zarara uğratan hastalıkların yayılmasına neden olan zararlılarla karşı kullanılan ilaçların hepsi pestisit olarak anılır ve zarar verene göre isimlendirilir.

Pestisitlerin kullanımı öncelere dayanmaktadır. M.Ö. 1500'lere ait bir papirüs üzerinde bit, pire ve eşek arılarına karşı insektisitlerin hazırlanışına dair bilgiler bulunmuştur.

19.YY'da zararlılara karşı inorganik pestisitler kullanılmış, 1940'lardan sonra pestisit üretiminde organik kimyadan faydalanılmış, DDT ve diğer iyi bilinen insektisit ve herbisitler bulunmuştur.

Yoğun ve bilinçsiz pestisit kullanımı sonucu gıdalarda, toprak, su ve havada kullanılan pestisit kendisi ya da metabolitleri kalabilmektedir. Hedef olmayan diğer organizmalar ve insanlar üzerinde olumsuz etkiler yaratabilir. Pestisit kalıntıları ilk kez 1948 ve 1951 yıllarında insan vücudunda organik klorlu pestisitlerin kalıntılarının bulunmuştur. Bazı pestisitler toksikolojik açıdan zarar oluşturmazken, bazılarının kanserojen, sinir sistemi üzerine etkileri ve hatta mutasyona sebep oldukları saptanmıştır. Bu nedenle 1960 yılında FAO ve WHO "Pestisit Kalıntıları Kodeks Komitesi" kurulmuş ve bu komitenin çalışmaları sonucu konu ile ilgili tanımlamalar yapılmış, bilimsel araştırma verileri sonucunda gıdalarda bulunmasına izin verilen maksimum kalıntı değerleri (MRL) saptanmıştır.

2.4.1. Pestisitlerin sınıflandırılması

2.4.1.1. Kullanım alanlarına göre (59)

<u>Pestisit Tipi</u>	<u>Hedef Organizma</u>
Avasit	Küfler
Bakterisit	Bakteriler
İnsektisit	Böcekler
Fungisit	Funguslar
Herbisit	Yabancı otlar
Molusisit	Yumuşakçalar
Rodentisit	Kemirgenler
Afisitler	Yaprak bitleri
Nematositler	Nemetotlar
Molluskisitler	Salyangozlar
Algisitler	Algler
Avenisitler	Kuşlar
Akarisit	Akarlar

2.4.1.2. Etkin maddelerin kökenlerine göre

- ✓ İnorganik maddeler
- ✓ Organik maddeler

*Doğal organik

Petrol yağları
Bitkisel maddeler

*Sentetik organik

Organik fosforllular
Klorlu hidrokarbonlar
Diğer sentetikler

2.4.1.3. Etki şekillerine göre

2.4.1.4. Zararlının biyolojik dönemine göre

2.4.1.5. Kontrol ettiği zararlının ve konukçunun durumuna göre

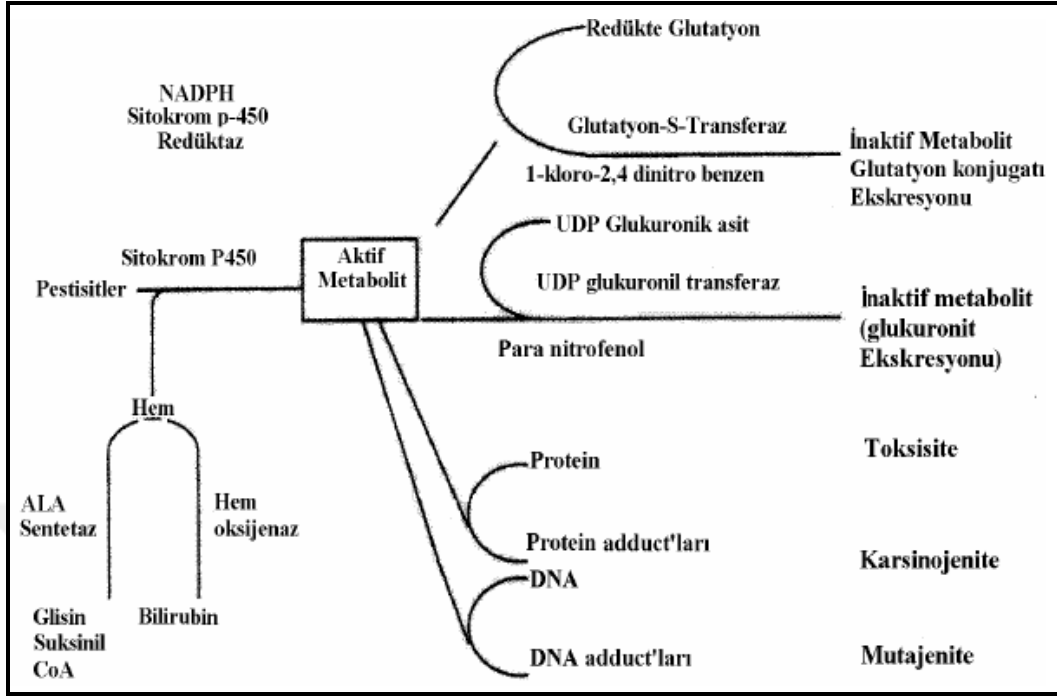
2.4.2. Pestisit metabolizması

Pestisitler vücutta birçok enzimatik tepkimelere katılmaktadır (60). Enzimatik tepkimeler, kimyasal değişimin türüne göre 4 ana grupta incelenir. Sınıflayacak olursak; oksidasyon, redüksiyon, kopma ve konjugasyondur. Oksidasyon, redüksiyon ve kopma faz I aşaması iken, konjugasyon faz II aşamasıdır. Faz I aşamasında pestisitler, karaciğerde sitokrom P450 monooksijenazlar tarafından oksidasyona uğrarlar. Sonucunda yarı ömrü kısa olan polar cisimlere dönüşürler. Faz II aşamasında ise değişime uğrayan pestisitler sudaki polariteleri yüksek olan glukuronik asitle ya da glutatyon (GSH) ile konjuge edilirler. Pestisit transformasyonu sonucunda aktivasyona uğrayan pestisit metabolitleri doku makromoleküllerine (DNA, protein) kovalent olarak bağlanıp, biyolojik yarı ömürlerini artırırlar. Pestisit metabolitlerinin DNA gibi hücrel makromoleküler, nörolojik önemi olan esterazlara bağlanması onkojenik ve nörotoksik anormallikleri hızlandırmaktadır. Pestisit toksikolojisinde transformasyonu daha önemli kılan üç önemli enzim yer almaktadır (60).

1. *Sitokrom P450 redüktaz*: Birçok memelilerde ve böceklerde bulunur. Karaciğer hücrelerinin özellikle santralobüler bölgesinde yoğun bulunmaktadır. Sitokrom P450 redüktaz enzimi ilaç ve kimyasal maddelerin (pestisit, poliaromatik hidrokarbonlar v.b.) transformasyonunda rol oynamakta ve oksijen radikallerinin üretiminde önemli bir kaynak oluşturlar. Birçok pestisit grupları poliklorlubifeniller ve siklodienler (DDT, aldrin/dieldrin, klordan, toksafen, heptaklor, lindan, endosulfan ve mireks) sitokrom P450'yi indüklemektedir.

2. *Glutatyon-S-transferaz (GST)*: Sitotoksik ve karsinojenik ajanlara karşı hücreyi korumada önemli rol oynayan izoenzimlerdendir. Pestisit metabolitleri, GSH ile konjugasyon sonucu inaktif hale gelir. Pestisitlerin GST enziminin “mü” izoenzimine bağlanma istekleri fazladır.

3. *UDP-glukuronil transferaz*: Glukoronik asitle konjugasyonda, glukoranat üridindifosfat (UDP) glukuronik asittir. Reaksiyon UDP-glukuronil transferaz enzimi tarafından kataliz edilir. Enzimin amacı ilaçlar, bilirubin, steroid hormonlar, v.b. gibi maddelerin glukuronik asitle konjugasyonudur.



Şekil 2.3. Pestisit metabolizması.

2.4.3. Türkiye’de ve dünyada pestisit kullanımı

Dünyada pestisit tüketimi yılda 3 milyon tondur. Türkiye’de 2002 yılı sonu itibariyle 2100’e yakın ruhsatlı ilaç olup, bunlar içinde yer alan etkili madde 358’dir. Her ülkede hektar ölçümüne kullanılan etkili madde miktarı değişir.

Tablo 2.4. Bazı ülkelerde pestisit kullanımı (kg e.m/ha) (63).

Ülke	kg e.m/ha
Hollanda	17,5
Belçika	10.7
İtalya	7,6
Yunanistan	6,0
Almanya ve Fransa	4,4
Türkiye	0,5

2.4.3.1. Pestisit tüketimi

Dünya pestisit tüketimindeki artış, her ne kadar son yıllarda bir duraklama dönemine girdiyse de (64) 1983-1993 döneminde %3,4 1993-1994'de ise %18,5'lik yıllık artış olmuştur (65).

Değerlere bakacak olursak, Türkiye'nin 22 yıldaki pestisit tüketimindeki ortalama yıllık artış, özellikle 1983-1995 yıllarındaki dünya pestisit tüketimindeki artışa göre daha az bulunmuştur.

Türkiye'deki pestisit tüketimi konusunda Türkiye Ziraat Mühendisliği 6. Teknik Kongresi'nde öne sürülen görüşlerde her geçen yıl tarım ilacı tüketiminin arttığı belirlenmiştir. Kongredeki görüşlere göre pestisit tüketimi 1979 yılına göre 2002 yılında %45.29'luk bir artış göstermiştir (63).

2.4.3.2. Tüketilen pestisitlerin nitelikleri

Tüketilen pestisitlerin sağlığa çevreye zararları, yararlarının incelenmesi, tüketime göre daha önemlidir. Uzun süre çevrede kalmayı sürdüren pestisitler, mutajen, teratojen ve kanserojen olabilirler. Kullanılma alanlarının çok geniş olması sebebiyle pestisitlerin çevreye ve canlılara olan zararları artmaktadır. Pestisitler diğer toksik materyallerden kimyasal ve sosyal olarak ayrı bir gruptadır. Çünkü toksik etkileri doğrudan belirli bir organizmayı etkilememektedir (66, 67).

Pestisitler, mikroorganizmalar, kuşlar ve balıklar, arılar ve omurgasızlar gibi ana hedef olmayan organizmalarda ölümlere neden olabilirler. Kuş, balık ve diğer organizmalarda üreme yeteneğinin azalmasına neden olabilirler (68) ve böylece hedef olmayan organizmalarda dayanıklılık oluşması sonucu insanlara hastalık taşıyan böcek ve parazitlerin kontrolden çıkmasına neden olabilirler ve ekosistemin uzun dönemini etkileyebilirler (69).

2.4.3.3. Pestisitlerin çevresel yayılımı

Pestisitlerin çevresel yayılımı farklı şekillerde olabilmektedir. Pestisitler, sis-duman makineleri ve basınçlı kutulardan püskürtme yolu ile uygulandığında havaya dağılmaktadır. Dağılım alanı, birçok faktöre göre değişir. Bunlar, parçacıkların büyüklüğü, püskürtülen hacim, hava akımı ve hava sıcaklığıdır (70).

Su aracılığı ile yayılımda pestisitlerin suya geçişi, evlerden, bitkilerden ve tarımsal bölgelerden bulaşma ile veya kimyasalların doğrudan suya verilmesi ile olabilmektedir (71).

Gıda yoluyla yayılımda ise iki şekilde olabilmektedir. Taşıma ya da depolama sırasında gıdalara bulaş olabilir. Bu durumda kitleleri etkileyebilir (70).

Toprakla yayılım; sızma, evaporasyon, erozyon, bitkilerce taşınma gibi değişik şekillerde olur (70).

Pestisitlerin ev içi kullanımı kazalara bağlı zehirlenme riskini arttırmaktadır. Ev ortamında kolaylıkla el atında olan bir kimyasal olacağından intihar ve cinayet amaçlı kullanım ihtimali de artacaktır (71).

2.4.4. Pestisitlerin insanlara etkileri

İnsanların ot yiyen canlı olması nedeniyle bugün her insanın bünyesinde pestisit kalıntılarına rastlanmaktadır. Kalıcılık etkisi olan pestisitlerin toprakta kalan miktarlarının yetiştirilen ürünler aracılığıyla insan sağlığını, ilaçların yeraltı sularına karışmasıyla da hem hayvan hem de insan sağlığını da etkilediği bilinmektedir (61).

İnsana etkisi doğrudan ve dolaylı olmak üzere iki şekilde gerçekleşir;

Doğrudan etki; pestisit hava, deri veya oral yolla doğrudan girmesi sonucu oluşur. Bu şekilde etkilenme sonucu oluşan zehirlenmelere “akut zehirlenme” denir. Akut zehirlenme, pestisit bir defada alınan tek bir dozunun, emildikten sonra ilacın ani zehirlenme yapma ihtimalidir. Akut zehirlenmeler, dikkatsiz kullanımlar sonucunda olduğu gibi, ilacın tarım dışı yanlış kullanılması ile de oluşur.

Dolaylı etki; Pestisit kalıntılarını içeren bitkisel ve hayvansal besinlerin yenmesiyle yemek oluşan zehirlenmelerdir. Kronik zehirlenme olarak adlandırılırlar. Klorlanmış hidrokarbonlu insektisitler vücudun yağ dokusunda depo edilirler. Lindane karaciğer ve böbrekte birikip, santral sinir sistemine hasar verirler.

Tarımda sıklıkla kullanılan pestisitler, hidrojen peroksit (H_2O_2), süperoksit ($O_2^{\cdot-}$) ve hidroksil ($\cdot OH$) radikali gibi reaktif oksijen türlerini oluştururlar. Bu radikaller, biyolojik makromoleküllerle reaksiyona girip, enzimlerin çalışmasını

bozup ve DNA hasarına sebep olabilirler. Pestisitler, yağlı dokularda depolanarak çoklu doymamış yağ asitlerinin (PUFA) peroksidasyonuna neden olurlar. Bu serbest radikaller, savunma sistemi tarafından inaktive edilmezlerse, oksidatif strese neden olurlar. Sonuçta; DNA hasarı ve apoptozis gibi patolojik durumlar gözlenir.

Tarım sektöründe çalışan ve 3-15 yıl ilaç püskürten çiftçilerde yaptıkları çalışmalarda serum aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), laktat dehidrogenaz (LDH) ve alkalen fosfataz (ALP) enzimlerinin aktivitelerinde artış olduğu gözlenmiştir. Tarım ilaçlarının kanın şekilli elamanlarına yani eritrosit ve lökositlere olası zararlı etkileri de yapılan hayvan deneylerinde belirtilmiştir (62).

Tarımda kullanılan 40 çeşit kimyasal ilacın kronik etkilerinin dışında, uygulama sırasında akut zehirlenme ve ölüm olayları da görülmektedir. Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre, her yıl 500.000 kişi tarım ilaçları ile zehirlenmekte ve bunlardan 5.000'i bu nedenle hayatını kaybetmektedir. Bugün ABD'de ve ülkemizde yaygın olarak kullanılan tarım ilaçlarının beyin kanseri, lenfoma ve lösemi gibi hastalıklara neden olduğu ve birçok sistemi olumsuz etkilediğine dair bulgular giderek çoğalmaktadır (72).

Tablo 2.5. Pestisitlerin kronik etkileri.

Organ / Sistem	Etki
Sinir sistemi	Vejetatif sendrom polinöropati, ensefalopati, distoni
Solunum sistemi	Kronik trakeit, akciğer amfizem, bronşial astım
Kardiyovasküler sistem	Kronik myokard toksisitesi, kronik koroner yetmezlik
Karaciğer	Kronik hepatit, kolesistit, detoksifikasyon ve diğer fonksiyonlarda bozulma
Böbrekler	Albüminüri, noktüri, üre ve kreatinin artışı
Gastrointestinal sistem	Kronik gastrit, duodenit, ülser, kronik kolit
Dolaşım sistemi ve kan	Lökopeni, retikülositlerde artma, lenfositler, lenfopeni
Deri	Dermatit, egzema
Gözler	Konkojtit, blefarit

2.4.5. Gıdalarda pestisitler ve kalıntılarının azaltılma olanakları

Üretimde tarımsal ilaçların sık kullanılması, doğada ve çeşitli ürünlerdeki kalıntıların artmasına neden olmaktadır. Pestisitlerin ekosistemdeki etkileri içinde “gıda zinciri” kalıntıların taşınması ve artması yönünden önemlidir. Pestisit - gıda - insan ilişkisi geleceği de etkilemektedir. Gıdalara gereksiz olarak fazla ve sık uygulanan tarım ilaçları gıdalarda pestisit birikimini artırmaktadır. Kalıntılar sadece dış yüzeyde değil, gıdaların iç kısımlarına da invaze olabilmektedirler. Sonuç olarak bu gıdaları tüketen canlılar olumsuz etkilenebilmektedirler (73).

Kullanılan ilaçların ya da kullanım şeklinin denetlenmesi yetersizdir. Çünkü hammadde ve mamul (işlenmiş) gıda maddelerin de farklı seviyelerde tarım ilacı kalıntısı içermesi mümkündür.

Bu sebepten ötürü tarım ürünlerinin gıda olarak işlenmesi sürecindeki teknolojik işlemler ile (yıkama, kabuk soyma, ısıl işlem, ışınlama... vb.) tarım ilacı kalıntılarının azaltılması ve kontrolü zorunludur (71).

Gıda maddesi üretiminde en önemli ve temel işlem olan yıkama ile tarım ilacı kalıntıları ciddi seviyede azalır. Örnek verecek olursa, su ile yıkamada taze fasulyedeki malathion kalıntısı %96 oranında, şeftalide ise aynı etkin maddenin azalması %38-40 oranında olmaktadır (74).

Yıkama işleminin aynı tarım ilacı kalıntısının azalmasındaki etkisi ürün çeşitlerine göre değişir. Yıkama işlemi ile kontak etkili ilaçlar ayrıştırılır. Sistemik etkili (ürünün içine kadar yerleşmiş) ilaçlarda ise yıkama işleminde pek fayda görülmemektedir. Kontak etkili tarım ilacı kalıntılarını uzaklaştırmada etkili bir yöntem ise kabuk soymadır. Haşlama, pişirme, pastörizasyon ve sterilizasyon gibi ısıl işlemler sonucunda tarım ilacı kalıntıları önemli düzeyde azaltılır (74).

2.4.6. Özet

Dünyada ve ülkemizde tarım bir takım amaçlar doğrultusunda pestisitler yoğun olarak kullanılmaktadır. Tarımsal savaşta kullanılan pestisitler hedef organizmalara zarar verebildikleri gibi, hedef olmayan canlılarda da hasarlara yol açmaktadırlar (66, 75). Ülkemizde besinlerin pestisit kullanımı sonucu gördüğü zarar yeterince araştırılamamıştır. Pestisitlerin bitkisel ve hayvansal besinlerle insan dokularındaki rezidünün belirlenmesi, alınacak önlemler açısından zorunlu

hale gelmiştir. Çok güçlü çevre kirliliğine neden olduğu düşünülen pestisitlerin (özellikle organik klorlu pestisitler) lipofilik karaktere, yüksek biyolojik birikime ve östrojenik aktiviteye sahip olmaları nedeniyle meme kanseri için “risk faktörü” olabileceği düşünülmektedir (75, 76, 77).

Tümörejenik etkili pestisitler

Aريلhidrokarbon (Ah) benzeri bir reseptöre bağlanıp, sinyal iletimini hızlandırmakta, hücre farklılaşması ve büyümesi üzerine pleiotropik etki göstermektedir. Bu şekilde oluşan hücresel sinyal iletimindeki düzensizlikler dokularda pestisit rezidülerine neden olmaktadır (78).

Pestisitler herhangi bir yolla vücuda girdikten sonra daha sistemik dolaşıma geçmeden, Karaciğerde sitokrom P450 monooksijenaz sistemi ile metabolize olmaktadır. Metabolitler GST ya da glukuronidasyon mekanizmaları ile toksifiye edilir. Ek olarak, reaktif metabolit protein, DNA gibi önemli doku makromolekülleri ile “adductları” oluşturabilir. Bu şekilde kovalent bağlanma, toksisite, karsinojenite, mutajenite ve teratojeniteye neden olmaktadır (60). Ülkemizde denetimden yoksun, bilinçsizce ve hiçbir koruyucu önlem alınmadan kullanılan pestisitler, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, erken yaşlanma ve katarakt gibi hastalıkların oluşma riskini artırmaktadırlar.

3. MATERİYAL VE METOD

Bu çalışmanın amacı; pestisitlerin oosit gelişimi üzerine etkilerini araştırmaktır. IVF tedavisi uygulanan hastalarda oosit toplama işleminde aspire edilen folikül sıvısında organoklorin metabolitlerini araştırdık ve sonuçları klinik gebelik oranları ile karşılaştırdık. Yaş, pestisit varlığı, oosit morfolojisi, embriyo kalitesi, fertilizasyon oranı, gebelik sonucu bu çalışmada kullanılan başlıca parametrelerdir.

Kasım 2014 - Mayıs 2015 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Tüp Bebek Merkezi'ne başvuran 21 ile 43 yaş arası, şiddetli erkek faktörü'nün azospermi (97), teratozospermi (98) dışlandığı 98 infertil hasta çalışmaya alınmıştır.

Çalışmamız Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmış olup; (70904504 sayılı, 439 karar numara) çalışmaya katılan tüm hastalara çalışma öncesi bilgilendirme / onam formu okutulup, gerekli bilgiler verildikten sonra imzaları alınmıştır.

3.1. Hastaların Değerlendirilmesi

Seçilen hastaların ilk muayenelerinde yaş, obstetrik ve jinekolojik özgeçmişleri, menstruel siklus düzenleri sorgulandı.

Fizik muayenelerinde boy, ağırlık ve vücut - kitle indeksleri (ağırlık/ boy²) hesaplandı. Rutin pelvik muayeneleri yapıldı.

Tedavi öncesinde kliniğimizde; Hemogram, açlık kan şekeri, BUN, kreatinin, SGOT, SGPT, elektrolitler (sodyum, potasyum, klorür), hepatit markerleri (Hbs Ag, anti HIV, anti HCV), rubella immunglobulin (IG) G, IG M, tiroid fonksiyon testleri, prolaktin değerlerine bakılmaktadır.

Tedaviye alınan hastaların siklus döngülerinin 2.-3. günlerinde bazal hormonal tetkikleri (FSH, LH, E2) yapıldı. Kan verme işlemi sonrası tarafımızca trans vajinal ultrasonografi (TVUSG) yapıldı. Transvajinal ultrasonografi ile endometrium kalınlığı, over boyutları, antral folikül sayısı ve çapları ölçüldü. Bunun için General Electric Medical Systems Logiq 9 Ultrasonun 4-8 mHz'lik vajinal probu kullanıldı.

3.2. Tedavi Protokolleri

Çalışmaya alınan hastalara 4 ayrı tedavi protokolü planlandı. 47 hastaya antagonist, 36 hastaya long, 10 hastaya patch ve 5 hastaya femara rejimleri uygulandı.

GnRH antagonist protokolde siklusun 2. ya da 3. günü r-FSH ile stimülasyona başlandı. Stimülasyonun 5.-6. günü dominant folikül 13 mm büyüklüğüne ulaştığında antagonist olarak Ganirelix (Orgalutran, Organon) ve/veya cetrotirelix (Cetrotide-Serono) 0.25 mg/gün dozunda başlandı. Tedaviye yanıt ultrason takibi ve serum E2 değerleri bakılarak yapıldı. hCG gününe kadar devam edildi.

Long protokolde hastalara önceki sikluslarının 21. günü Lucrin (leuprolide asetat-ABBOTT) 1 mg/gün dozunda başlandı.

Agonist tedavi ile yeterli down regülasyon sağlandıktan sonra, menstrual siklusun 3. gününde over stimülasyonuna başlandı. Lucrin dozu yarıya düştü. Pitiüter down regülasyon kriteri olarak tvusg de 15 mm'den büyük folikül olmaması, E2 değerinin 50 pg/ml'nin altında olması, endometrial kalınlığın 5 mm'den küçük olması ve LH'nın 10 mIU/ml'den az olması kabul edildi.

Stimulasyonda r-FSH (Gonal-F; Serono, İtalya) ve gereğinde hMG (Menopur, Ferring, İsveç) kullanıldı. Başlangıç dozu belirlenirken her bir olgu için yaş, over rezervi, daha önce tedavi aldı ve başarılı oldu ise o tedavideki ilaç dozları göz önüne alındı. Sabah ve/veya akşam subkutan enjeksiyonlar karın bölgesine hastanın kendisi tarafından uygulandı. Stimülasyonun 5.-6. gününden itibaren TVUSG ile folikül sayısı, boyutu ve serum östradiol ölçümleri ile değerlendirilen hastalar over cevabına göre yeni doz ayarlaması yapıldı ve stimülasyon hCG gününe dek devam etti.

Femara protokolünde, siklusun 1.-2. günü over stimülasyonuna başlanır. Tedaviye başlandığı gün tvusg yapıp, serum E2 düzeyi bakılır. Stimülasyona Femara (Letrozol) ve uyarıcı iğnelere (Gonal-F, Menogon, Puregon, Menopur) başlanır. Femara'nın her tableti 2.5 mg'dır. Günde 1 kez oral yoldan 5 gün boyunca verildi. Başlangıç dozu belirlenirken her bir olgu için yaş, over rezervi, daha önce tedavi aldı ve başarılı oldu ise o tedavideki ilaç dozları göz önüne alındı. Önde giden folikül 13-14 mm'ye ulaştığında veya serum E2 seviyesi 600

pg/ml'nin üstüne çıktığında Cetrotide 0.25 mg cilt altı günde 1 kez yapıldı. Cetrotide kullanımı hCG gününe kadar devam edildi.

Patch protokolünde; hastalar siklusun 24. gününde bantlarını (Estraderm, Novartis Australia) yapıştırdılar. Bantların içeriği 2.0 mg estradioldür. Gün aşırı bantlarını yenilediler. Mens kanaması başlayınca yenilemeyip, kendiliğinden düşmesini beklediler. Siklusun 25. gününde GnRH antagonist 0.25 mg (Cetrotide 0.25 mg veya Orgalutran 0.25 mg) üç gün boyunca subkutan uygulandı. Siklusun 2. gününde 300IU gonadotropin ve 300 veya 150 IU hmg başlandı. İndüksiyonun 6. gününde GnRH antagonist 0.25 mg subkutan uygulandı ve bu işlem hCG gününe kadar devam etti.

Tüm protokollerde oosit matürasyonu için hCG uygulama kriteri aynıydı. Önde giden folikül 18 mm olduğunda veya foliküllerden ikisi 17 mm olduğunda r-hCG 250 µgr (Ovitrelle, Serono, İtalya) ile ovulasyon tetiklemesi yapıldı. Serum E2 değerlerine bakıldı ve siklustaki maksimum E2 değeri not edildi. Oosit toplama işlemi hCG uygulamasından 35-36 saat sonra gerçekleştirildi.

Oosit toplama işlemi ameliyathane şartlarında, hastaya, anestezi doktorları tarafından sedo-analjezi sağlanarak gerçekleştirildi. Ultrason eşliğinde aspire edilen foliküllere flushing uygulaması yapılmadı. Alınan folikül sıvı örnekleri Embriyologlar tarafından incelendi. Aldığımız sıvıdan oosit ya da oositler alındıktan sonra kalan atık folikül sıvısı -20°C'de donduruldu.

Toplanan oositlerin morfolojisi her bir hasta için ayrı ayrı embriyologlar tarafından not edildi. Oosit morfolojisi oositlerde dismorfizm olup olmamasına göre değerlendirildi. Oosit dismorfizmi sitoplazmik ve ekstrasitoplazmik olarak iki grupta incelenir. Sitoplazmik dismorfizm; koyu renkli, merkezi granülasyon ve düz endoplazmik retikulum yığınları içeren oositleri içerir. Ekstrasitoplazmik dismorfizm ise geniş perivitelin alan, perivitelin alanda debris varlığı, birinci polar cisim anomalileri ve zona pellucidanın anormal şeklini ya da kalınlığını içerir (80). Ekstrasitoplazmik dismorfizmin mevcudiyeti embriyo kalitesi üzerine etkisi net olarak gösterilemediği için çalışmamızda yer verilmemiştir (99). Çalışmamızda sitoplazmik dismorfizm'i bulunan oositler 'kötü morfoloji' olarak sınıflandırılıp kötü kaliteli oositler grubuna, diğer oositler ise normal morfolojili kabul edilip normal morfolojili, iyi kaliteli oositler grubuna alındılar (80).



Şekil 3.1. İyi kaliteli oosit.



Şekil 3.2. Kötü kaliteli oosit.

Günlere göre bölünen oosit sayısı, 2PN zigot sayısı, oluşan embriyoların kalitesi yine embriyologlar tarafından kayıt edildi. Embriyo kalitesinde (100);

- Çekirdekli blastomer yokluğu,
- 2. gün 4-5 blastomer varlığı,
- 3. gün 7 veya daha fazla blastomer varlığı,
- %20 veya daha az miktarda çekirdeksiz fragman

gibi belirteçler kıstas alındı.



Şekil 3.3. Üçüncü gün iyi kaliteli embriyo.

Çalışmamızda folikül sıvısı toplanılan ancak; aspire edilen folikül sıvılarında oosit çıkmayan ya da, oosit çıkmış olup fertilizasyonun gerçekleşmediği buna bağlı olarak da embriyo transferi yapılamayan olgular siklus iptali olarak değerlendirildi.

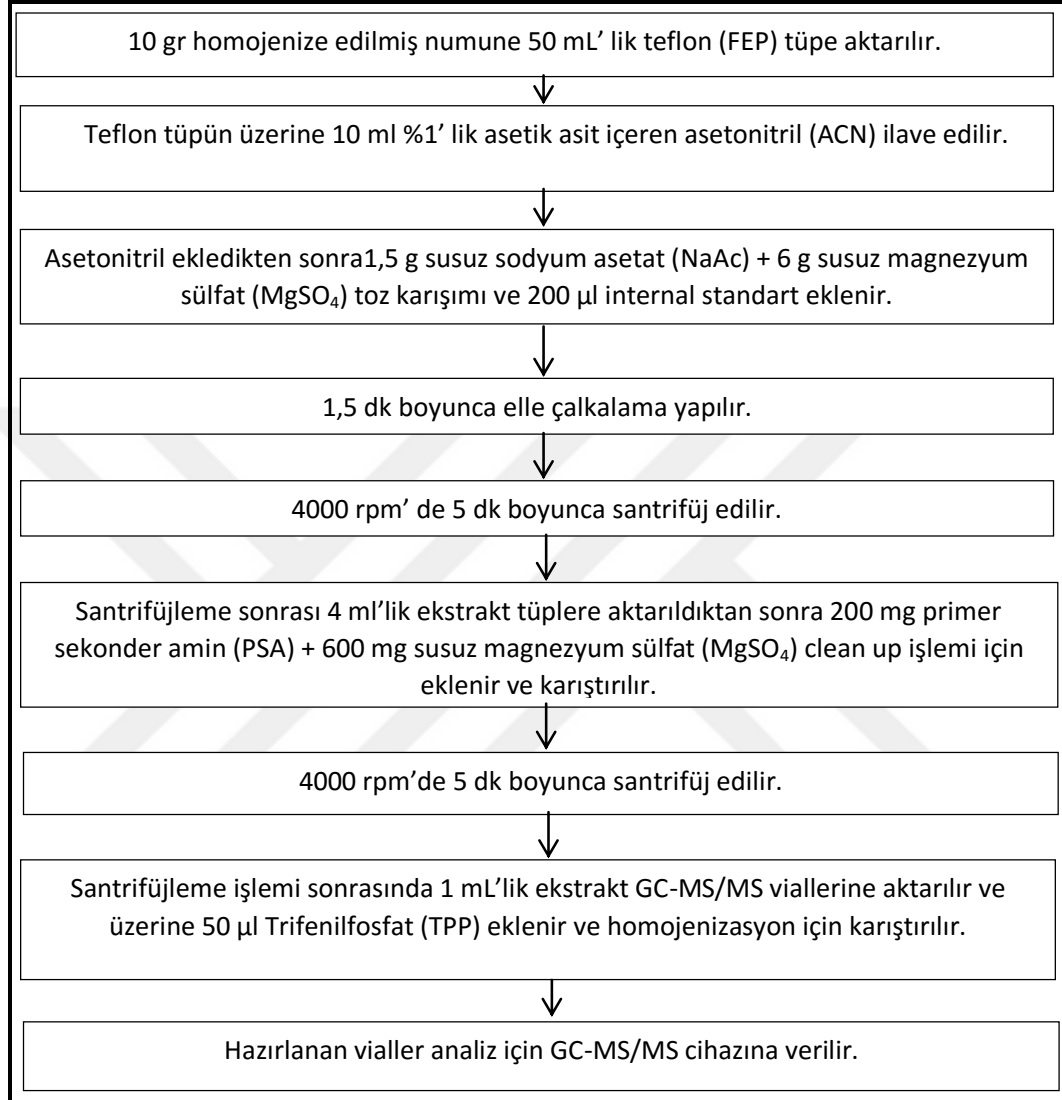
Folikül sıvıları Akdeniz Üniversitesi Gıda Güvenliği ve Tarımsal Araştırmalar Merkezinde gaz kromatografisi kütle-kütle spektrometre cihazında çalışıldı. Gaz kromatografi uyumlu organoklorlu pestisitlerin tespiti ve analizleri Thermo Scientific Trace GC Ultra, Thermo Scientific TSQ Quantum XLS

(Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, Massachusetts, USA) sistemi ile gerçekleştirildi. Kromatografik değerlendirmeler Xcalibur yazılımı kullanılarak yapıldı. Kromatografik ayırım sağlamak amacıyla analitik kolon olarak Thermo Scientific TRACE™ TR-5MS (5% Phenyl polysilphenylene-siloxane) (Thermo Fisher Scientific Inc. Waltham, Massachusetts, USA) kapiler gaz kromatografi kolonu kullanıldı. Folikül sıvısı numunelerinde QuEChERS metodu ile ön hazırlıkları yapılarak ekstraksiyonlar gerçekleştirildi, GC-MS/MS sistemine enjekte edildi.

Farklı GC fırın sıcaklık programı denemeleri yapılarak en uygun kromatografik ayırım sağlandı ve bu sayede her bir pestisit için farklı alıkonma süreleri tespit edildi. Bu ayırım, özellikle izomerleri olan ve ancak maksimum kalıntı limitleri birbirinden farklı olan pestisitler için de sağlandı (HCH ve izomerleri). Kapiler kolon ve uygun fırın sıcaklık programı kombinasyonu sayesinde kromatografik olarak ayırımları sağlanan gaz kromatografi uyumlu organoklorlu pestisitler, sıralı şekilde dedektöre yönlendirildi. Dedektörde ilk olarak iyon kaynağına giriş yapan pestisitler elektron bombardımanı (EI) sayesinde iyon parçacıklarına ayrıştırıldı. İyonlaşma anında negatif ve pozitif iyonlar aynı anda oluşacaktır. Her bir pestisit için ilk iyonlaşmadan (EI) elde edilen responsu yüksek fragmentasyon iyonları tespit edildi. Elde edilen bu iyonlardan hangilerinin çarpıştırma (collision) bölgesine (quadrupol2) gönderilerek hangi kütle filtrelerinin oluşturulacağına karar verildi. İkinci fragmentasyonda oluşan iyon parçacıklarını maksimize etmek için uygulanması gereken en uygun voltaj gerilimleri ve çarpıştırma gazı olarak argon gazı akış miktarı belirlendi. Bu sayede her bir pestisit için spesifik ürün iyon spektrumu elde edilmesi sağlandı. Bu işlemlerden sonra konsantrasyonları bilinen gaz kromatografi uyumlu organoklorlu pestisitlerin saf standartları analiz edilerek cihazdan elde edilen veriler ile örneklerin analizi sonucu cihazdan elde edilen pestisitlere ait veriler kıyaslanarak kantitatif sonuçlara ulaşıldı.

Numuneler, QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) yöntemi kullanılarak ekstraksiyonu gerçekleştirildi Numuneler >50 ml olacak şekilde alındı ve ekstraksiyon solventi olarak asetonitril kullanıldı. Ekstraksiyonun kalitesi internal standart olarak Parathion-Ethyl D-10 kullanılarak

kontrol altına alındı. Şekil 3.4'te QuEChERS yöntemine göre örnek hazırlama işlemleri basamaklar halinde sıra ile gösterilmiştir.



Şekil 3.4. QuEChERS yöntemi ile örnek hazırlama işlemi iş akış şeması.

25 adet organoklorin metaboliti tarandı. Bunlar; Chlorobenzilate, Chlordane, alpha, Chlordane, gamma, DDD, o,p-, DDD, p,p-, DDE, o,p-, DDE, p,p-, DDT, o,p-, DDT, p,p-, Dieldrin, Endosulfan, alpha-, Endosulfan, beta-, Endosulfansulfate, Endrin, HCH, alpha-, HCH, beta-, HCH, delta-, HCH, gamma-Lindane, Heptachlor, Heptachlor epoxide, cis-, Heptachlor epoxide, trans-, Hexachlorobenzene, Methoxychlor, Nitrofen, Quintozene'di.

Çalıştığımız metabolitlerin raporlama limiti 0,005 mg/kg'dı. Bu değerin altındaki bulgular raporlanmadı.

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulguların değerlendirilmesinde, SSPS 16.0 (SPSS Inc, Chicago, Illinois, USA programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotların (Ortalama, Standart Sapma) yanı sıra, niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım göstermeyen parametrelerin varlığında Mann Whitney U test kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Ki-Kare test kullanıldı. Anlamlılık $p < 0.05$ seviyesinde değerlendirildi. Sonuçlar G power sistemi ile kontrol edildi. Power değeri 0,99 bulundu.

4. BULGULAR

Kasım 2014 - Mayıs 2015 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Tüp Bebek Merkezi'ne başvuran 98 infertil çift çalışmaya alınmıştır.

Çalışmamızda klinik gebelik oranlarını etkileyen kadın yaşı, vücut kitle indeksi, infertilite süresi, ilk değerlendirmedeki bazal FSH, LH, E2, siklus boyunca maksimum E2 konsantrasyonları, infertilite sebepleri, tedavi tipleri, tedavide kullanılan ilaç dozları, oluşan ve transfer edilen embriyo sayıları, toplanan oosit sayıları, dondurulan embriyo sayıları gibi faktörler folikül sıvısında biriken organoklorin metabolitlerinin ölçümü sonucu elde ettiğimiz pozitif ya da negatif sonuçlara göre oluşturduğumuz gruplarla (organoklorin metaboliti var/yok) karşılaştırıldı.

Çalışmaya alınan hastaların demografik verileri Tablo 4.1'de özetlendi. Çalışma grubunda yaş ortalaması 32.65 ± 4.63 yıl idi (23-43 yıl). Analiz edilen folikül sıvılarında hastaların 6 tanesinde pestisit pozitif bulunmuştur. Bu oran %6.1'dir. Pestisit pozitif bulduğumuz grupta yaş ortalaması 36.50 ± 2.88 yıldır. Pestisit negatif grupta ise 32.40 ± 4.65 yıldır. Pestisit bulunan ve bulunmayan gruplar karşılaştırıldığında yaş parametresi anlamlı bulundu ($p < 0,05$) (Tablo 4.1 ve 4.3).

Tablo 4.1. Çalışmaya alınan hastaların demografik özellikleri.

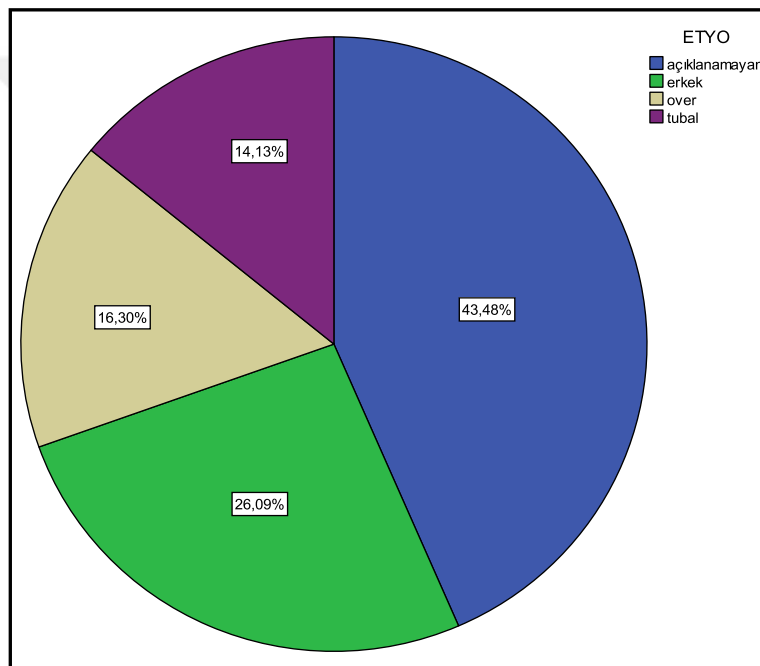
	Çalışma grubu (n=98)
Yaş (yıl)	32.65 ± 4.63
BMI (kg/m ²)	25.12 ± 3.71
İnfertilite süresi (yıl)	5.10 ± 4.30
İnfertilite etyolojisi	
• Açıklanamayan	46 (%46.9)
• Erkek faktörü	24 (%24.5)
• Over kaynaklı	15 (%15.3)
• Tubal faktör	13 (%13.3)

Çalışmaya dahil edilen hastaların yapılan fizik muayenede hesaplanan vücut kitle indeksi (BMI) ortalama değeri 25.12 ± 3.71 kg/m² olarak tespit edildi (Tablo 4.1). Pestisit gruplarına göre ayıracak olursak negatif grupta 25.14 ± 3.76 kg/m²

pozitif grupta ise 25.92 ± 2.09 kg/m² saptandı ve istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 4.3).

Ortalama infertilite süresi 5.10 ± 4.30 yıldır (Tablo 4.1). Pestisist grupları arasında infertilite süresinde anlamlı ($p > 0,05$) farklılık bulunmadı (Tablo 4.3).

Hastalar infertilite sebeplerine göre 4 gruba ayrıldı. 46 hasta (%46,9) açıklanamayan, 24 (%24,5) hastada erkek faktörü, 15 (%15,3) hastada ovaryan kaynaklı, 13 (%13,3) hastada ise tubal faktör sebebiyle infertilite tespit edildi (Tablo 4.1). Pestisist pozitif ve negatif gruplarda. infertilite sebepleri karşılaştırıldığında anlamlı bir sonuç çıkmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 4.3, Grafik 4.1).



Grafik 4.1. Çalışmaya alınan hastaların infertilite oranları.

Hastalara IVF – ICSI tedavi protokolleri başlandı. Siklus süresince bakılan değerler FSH $5,86 \pm 2,93$ (mIU/ml), LH 5.27 ± 3.45 (mIU/ml), E2 36.45 ± 25.42 (pg/ml), total antral folikül sayısı 17.16 ± 9.56 , endometrial kalınlık 3.81 ± 1.70 (mm), toplam GnRH dozu 2446 ± 1215 (mg/gün), maksimum E2 2175 ± 1506 (pg/ml) bulundu.

Opu sonrası toplanan oosit sayısı 9.03 ± 5.73 , matür oosit sayısı 5.90 ± 4.23 , immatür sayısı 2.92 ± 3.01 , fertilize zigot (2PN) 3.79 ± 3.46 , tedaviye alınan hasta başında ortalama dondurulan embriyo sayısı 0.43 ± 1.35 fertilizasyon oranı $\%62.1 \pm \%32.1$ olarak hesaplanmıştır (Tablo 4.2).

Transfer edilen embriyo sayılarındaki oran tek embriyo transferi (SET) 48 (%63.2) çift embriyo transferi (DET) 28 (%36.8), embriyo transfer günü klivaj evresi 55 (%72.4), blastosit 21 (%27.6), siklus iptali 18 (%18.3), total dondurma 4 (%4.1) saptandı. 98 hastadan siklus iptali ve total dondurmaya giden olguları çıkardıktan sonra, hesapladığımız gebelik oranı ise %28.9, 22 hastadır (76 hastada) (Tablo 4.2).

Tablo 4.2. IVF- ICSI siklus karakteristikleri.

	Çalışma grubu (n=98)
Bazal FSH (mIU/ml)	5.86±2.93
Bazal LH (mIU/ml)	5.27±3.45
Bazal E2 (pg/ml)	36.45±25.42
Hastaların tedavi protokolüne göre dağılımı	
• Antagonist	47 (%47.9)
• Long protocol	36 (%36.8)
• Patch	10 (%10.2)
• Femara	5 (%5.1)
Total antral folikül	17.16±9.56
Endometrial kalınlık (mm)	3.81±1.79
Toplam GnRH dozu (mg/gün)	2446±1215
Max E2 (pg/ml)	2175±1506
Toplanan oosit sayısı	9.03±5.73
Matür oosit sayısı	5.90±4.23
Immatür oosit sayısı	2.92±3.01
Fertilize zigot (2PN) sayısı	3.79±3.46
Fertilizasyon oranı	%62.1±%32.1
Tedaviye alınan hasta başına ortalama dondurulan embriyo sayısı	0.43±1.35
Transfer edilen embriyo	
• SET	48 (%63.2)
• DET	28 (%36.8)
Embriyo transfer günü	
• Klivaj evre (gün 2-3)	55 (%72.4)
• Blastokist (gün 5)	21 (%27.6)
Embriyo transferi oluşan siklus sayısı	76 (%77.5)
Siklus iptali	18 (%18.3)
Total dondurma	4 (%4.1)
Genel oosit kalitesi	
• İyi	83 (%84.6)
• Kötü	15 (%15.4)
Embriyo kalitesi	
• İyi kaliteli embriyo	70 (%71.4)
• Kötü kaliteli embriyo	28 (%28.6)
Embriyo transferi gelişenlerde klinik gebelik oranı	22 (%28.9)

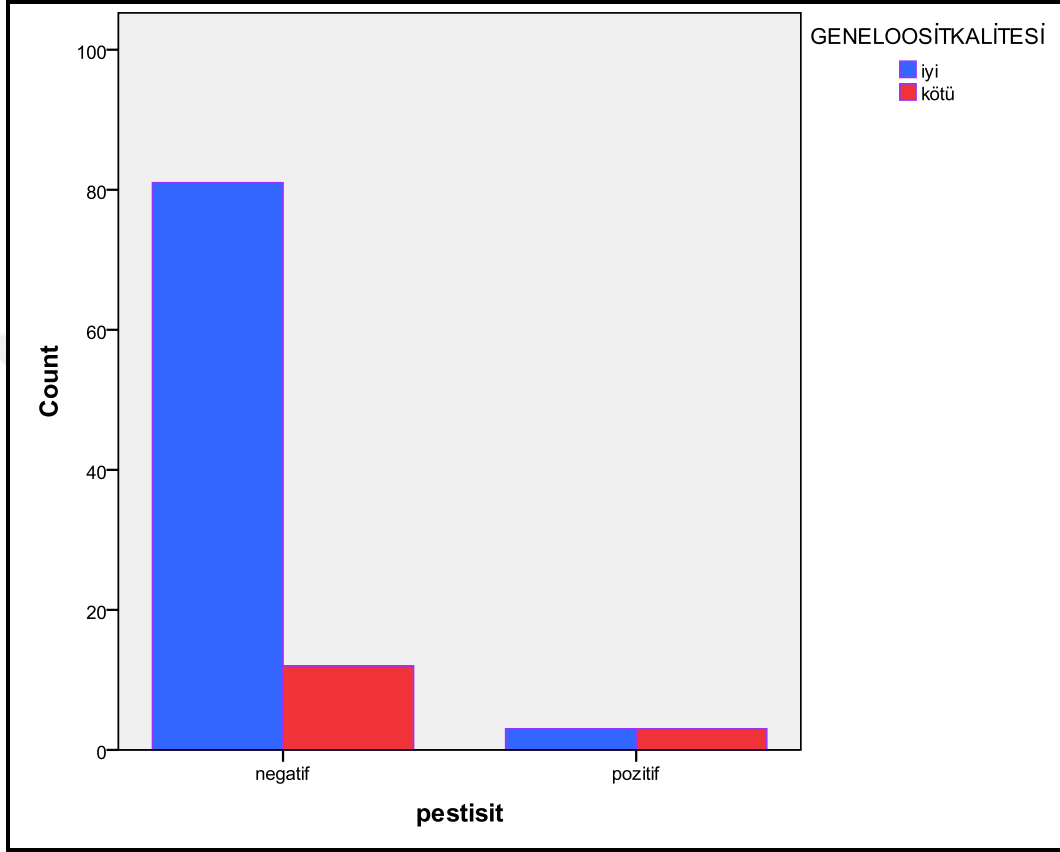
Tablo 4.3. Hastaların demografik özelliklerinin pestisit ile olan ilişkisi.

	Pestisit negatif (n=92)	Pestisit pozitif (n=6)	P değeri
Yaş (yıl)	32.40±4.65	36.50±2.88	0.025
BMI (kg/m²)	25.14±3.76	25.92±2.09	0.432
İnfertilite süresi (yıl)	4.88±4.18	7.83±5.57	0.153
İnfertilite etyolojisi			
• Açıklanamayan	44 (%47.8)	2 (%33.3)	0.610
• Erkek faktörü	23 (%25)	1 (%16.7)	0.610
• Over kaynaklı	13 (%14.1)	2 (%33.3)	0.610
• Tubal faktör	12 (%13)	1 (%16.7)	0.610

Siklus süresince bakılan hormon değerleri pestisit pozitif ve pestisit negatif gruplar açısından değerlendirildiğinde; bazal E2 düzeyinin pestisit pozitif grupta daha yüksek olduğu (67.02±39.64 pg/ml), farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır (p<0,05), bazal FSH, bazal LH düzeyleri açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 4.4). Aynı şekilde siklusun 3. günü ölçülen endometrial kalınlığı, total antral folikül sayısı, siklusta uygulanan tedavi protokolleri, hastalara uygulanan toplam gonadotropin dozu ve siklustaki maksimum E2 düzeyi pestisit grubuyla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 4.4). Opu sonrası toplanan oosit sayısı, matür oosit sayısı, immatür oosit sayısı, fertilize zigot (2PN), fertilizasyon oranı tedaviye alınan hasta başında ortalama dondurulan embriyo sayısı da pestisit pozitif ve negatif gruplar için karşılaştırıldığında farklılık saptanmadı (Tablo 4.4).

Çalışmaya katılan hastalardan toplanan oosit sayısı, matür oosit, immatür oosit sayısında istatistiksel olarak anlam bulunmasa da, oosit kalitesine baktığımızda; iyi ve kötü olarak grupladığımız oositlerin pestisit pozitif ve negatif gruplarda karşılaştırdığımızda; pestisit pozitif grupta iyi kaliteli oosit oranını %50, pestisit negatif grupta bu oranı %87 olarak saptadık. Bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p<0,05) (Tablo 4.4). Pestisit pozitif grupta kötü kaliteli oosit oranını %50, pestisit negatif grupta bu oranı %13 olarak saptadık. Bu farklılık da istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0,05) (Tablo 4.4) (Grafik 4.2). Ancak her iki grupta da -pestisit pozitif ve negatif- gebelik oranları benzer elde edilmişti. (Tablo 4.4). Embriyo gradelerinde ise iyi kalitedeki embriyolar pestisit pozitif

grupta %66.7, negatif grupta %71.7 bulundu. Kötü gradeli embriyolar ise pozitif grupta %33.3, negatif grupta %28.3'tü. İstatistiksel olarak bir fark bulunamadı (Tablo 4.2, Tablo 4.4).



Grafik 4.2. Pestisitlerin oosit kalitesine etkisi.

Tablo 4.4. IVF-ICSI sikluslarının karakteristik özelliklerinin pestisitle karşılaştırılması.

	Negatif (n=92)	Pozitif (n=6)	P değeri
Bazal FSH (mIU/ml)	5.88±2.98	5.60±2.19	0.906
Bazal LH (mIU/ml)	5.14±3.37	7.23±4.40	0.192
Bazal E2 (pg/ml)	34.46±23.16	67.02±39.64	0.032
Hastaların tedavi protokolüne göre dağılımı			
• Antagonist	44 (%47.8)	3 (%50)	0.223
• Long protocol	35 (%38)	1 (%16.6)	0.223
• Patch	8 (%8.6)	2 (%33.3)	0.223
• Femara	5 (%5.4)	0 (%0)	0.223
Total antral folikül	16.79±9.03	24.00±16.42	0.448
Endometrial kalınlık (mm)	3.79±1.79	4.14±1.76	0.296
Toplam GnRH dozu (mg/gün)	2429±1183	2708±1754	0.818
Max E2 (pg/ml)	2186±1507	2008±1624	0.468
Toplanan oosit sayısı	9.13±5.68	7.50±6.89	0.495
Matür oosit sayısı	5.96±4.21	5.00±4.82	0.623
İmmatür oosit sayısı	2.96±3.12	2.33±2.42	0.684
Fertilize zigot (2PN) sayısı	3.76±3.49	4.50±3.00	0.491
Fertilizasyon oranı	%66.6±%36.6	%61.5±%32.3	0.493
Tedaviye alınan hasta başına ortalama dondurulan embriyo sayısı	0.45±1.40	0.17±0.41	0.856
Embriyo kalitesi			
• İyi kaliteli embriyo	%71.7	%66.7	0.453
• Kötü kaliteli embriyo	%28.3	%33.3	0.453
Transfer edilen embriyo			
• SET	47 (%65.3)	1 (%25)	0.139
• DET	25 (%34.7)	3 (%75)	0.139
Embriyo transfer günü			
• Klivaj evre (gün 2-3)	51 (%70.8)	4 (%100)	0.571
• Blastokist (gün 5)	21 (%29.2)	0 (%0)	0.571
Embriyo transferi oluşan siklus sayısı	72 (%78.3)	4 (%66.7)	0.614
Siklus iptali	16 (%17.4)	2 (%33.3)	0.303
Total dondurma	4 (%4.3)	0 (%0)	1.000
Genel oosit kalitesi			
• İyi	80 (%87)	3 (%50)	0.044
• Kötü	12 (%13)	3 (%50)	0.044
Embriyo transferi gelişenlerde klinik gebelik oranı	18 (%25)	2 (%50)	0.282

5. TARTIŞMA

İnfertilite, çiftlerin bir yıl süre ile korunmaksızın düzenli cinsel ilişkide bulunmasına rağmen gebe kalamamasıdır (1). 25 Temmuz 1978'de ilk canlı tüp bebek doğumunu takiben yıllar içinde yardımcı üreme tedavi (YÜT) yöntemlerinde oldukça köklü değişiklikler olmuştur. Zaman içinde oosit, embriyo gelişim dinamikleri ve endometrium ile ilişkileri daha detaylı incelenmiş ve bu dinamikte etkili genetik ve biyokimyasal faktörler daha iyi anlaşılmıştır. Tedavi protokollerinin gelişmesi, intrasitoplasmik enjeksiyon (ICSI), oosit/embriyo gelişimi için optimize edilen mediumlar ve laboratuvar ekipmanları YÜT etkinliğini ve yaygınlığını olumlu yönde arttırmıştır.

Global endüstrinin gelişmesi ile birlikte insanların endokrin sistemlerine zarar veren kimyasallarla karşılaşma ihtimali arttı. Bu kimyasalların üreme sağlığı ve erken gebelik üzerine yan etkileri kanıtlanmış ancak bu konudaki insan çalışmaları yetersizdir (100). Yardımcı üreme tekniklerinin kullanımının artması ile birlikte bu etkilerin önüne geçmeye çalışılmaktadır, ancak anlamlı sayılabilmesi için daha fazla veriye ihtiyaç vardır.

Ovaryen foliküller çok fragil bir mikroçevreye sahiplerdir. Bu çevre hormonlarla etkileşim halindedir. Endokrin bozan kimyasallar (EBK) bu etkileşimi bozmayı hedefler.

EBK'ler oosit mikroçevresini bozup, anovulasyon (81), kistik deformasyon, (82), ya da oosit kalitesini düşürüp embriyo gelişim bozuklukları ile ilişkili olabilir (83).

Pestisitler; yıllarca endüstriyel ürünlerde kullanıldılar. Amerika'da 1970'li yıllarda kullanımı yasaklanmıştır. Ancak yaygın kullanımları sonucunda hala çevresel kontaminasyonları bulunmaktadır. İlk maruziyet kontamine yemeklerden olmaktadır. Uzun yıllardır kullanılmamasına rağmen yarı ömürleri uzun olduğundan hala vücutta ölçüm yapılabilecek düzeyde saptanmaktadırlar (84).

Organoklorin ve metabolitlerinin endokrin fonksiyon bozukluğu, fertilité azalması, erken gebelik kayıplarına sebep olduğunu vurgulayan çoğunlukla hayvan çalışmaları (85, 86) ve az miktarda insan çalışmaları (87, 88, 89) vardır. Metabolit düzeyine bakmak için foliküler sıvıdan (90, 91), ovaryen dokudan (92),

plasentadan (93), uterus kasından (93), amniotik sıvıdan (93), embriyo ve fetüsten (94, 95) örnek alabiliriz.

Çalışmamızın amacı infertil hastalarda pestisitleri tespit edip, gebelik üzerine etkilerini saptamaktır. Pestisitler; literatürde endokrin bozan kimyasallar (EBK) olarak geçmektedir. Bu kimyasalların amacı oosit etrafındaki mikroçevreyi bozup, oosit gelişimini engellemektir. (100). Antral folikül düzeyinde, oosit ve foliküler hücreler foliküler sıvıda kimyasallarla yakın etkileşimdedir. Pestisitler direkt olarak bu hücreleri etkileyip, foliko ve/veya öogenezis süreçlerini etkilerler. Bu etkileşim; oosit kalitesinin bozulmasıyla sonuçlanır (100).

Oosit kalitesinin bozulması daha az oranda oositin fertilize olması ve daha az kaliteli embriyonun oluşmasına sebep olur. Embriyo kalitesi başarılı bir implantasyonun en önemli etkenidir (96). Kötü kaliteli embriyo, düşük fertilizasyon oranlarına sebep olur.

Younglai ve ark. (2001), hem serum hem de foliküler sıvıda pestisit araştırıp 5 ana metabolit bulmuşlardır. Bunlar α -klorat, p-p' diklorfentanil (p,p'-DDE), heptaklorepoksit-oksiklorat, heksaklorbenzen ve poliklorobifenil'dir. Folikül sıvısı örneklerinin %50'den fazlasında bu artıkları saptamışlardır (90), bizim çalışmamızda sadece p- p' diklorfentanil (p, p'-DDE) saptayıp, bu oran %6.1'dir. Aynı çalışmada folikül sıvısında saptanan bu metabolitlerin fertilizasyon sonrası bölünmüş oosit yüzdesiyle bir korelasyon bulunmamıştır. Bizim çalışmamızda da iki grup arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmadı.

Petro ve ark. (2011) 40 örnek foliküler sıvı, 20 örnek serumda çalışma yapmışlardır. Örneklerinde çoğunlukla bifenil klorinat ve p- p' diklorfentanil (p, p'-DDE) saptamışlardır. Çalışmalarında yaş ile kontaminantlar arasında pozitif bir korelasyon saptanmış ancak BMI ile anlamlı bir korelasyon saptanmamıştır (100). Bizim çalışmamızda da aynı şekilde yaş; pestisit pozitif grupta pestisit negatif gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ancak pestisit pozitif ve pestisit negatif grupları arasında BMI değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı. Petro ve ark.'larının çalışmasına alınan hastaların bazal E2'si ile organoklorin metabolitleri arasında düşüğe olsa negatif korelasyon saptanmıştır. Bizim çalışmamızda ise bazal E2 ile pestisit pozitif ve pestisit negatif gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı, pozitif korelasyon saptanmıştır. Pestisit

varlığı ve bazal E2 ilişkisinde çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Bu sonucun neden kaynaklandığı bilinmemektedir ve neden sonuç bağı kurabilmek için daha fazla örnek içeren çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Toplanan oosit sayıları ile kontaminatlar arasında da bir korelasyon bulunmamıştır. Biz çalışmamızda toplanan oositleri klivaj evresi ve 5. gün blastokist olarak iki ayrı grupta inceledik. Her iki grubuda pestisit pozitif ve pestisit negatif gruplarıyla karşılaştırdığımızda anlamlı bir sonuç bulamadık. Yine aynı çalışmada embriyo kalitesi ve fertilizasyon oranına bakılmış ve sonuç olarak yüksek dozda kontaminant içeren grupta düşük fertilizasyon oranı ve embriyo kalitesinin bozulduğu saptanmış. Bizim çalışmamızda ise pestisit pozitif ve pestisit negatif gruplar arasında fertilizasyon oranı ve embriyo kalitesi kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulamadık ancak oosit kalitesinin pestisit pozitif grupta pestisit negatif gruba göre bozulmuş olduğu sonucuna vardık. Petro ve ark.'larının yaptığı çalışmada da, bizim yaptığımız çalışmada da foliküler sıvıda pestisit saptanmasının klinik gebelik oranlarını etkilemediği sonucuna varılmıştır (100).

Meeker ve ark. (2009)'nın yaptığı çalışmanın amacı foliküler sıvıda organoklorin metabolitlerinin konsantrasyonlarına bakıp, infertilite tedavisine alınan hastalarda bu metabolitlerin biyolojik bir belirteç olarak kullanılabilmesiydi. Ancak çalışmanın sonucunda serumla çalışmanın daha avantajlı olabileceği düşünülmüş. Çünkü; çoğu merkezde flushing ile oosit toplama yapıldığı ve bunun da organoklorin metabolit düzeyini bozan bir durum olduğu belirtilmiştir. Foliküler sıvı örneği toplamak, serum örneği toplamaktan daha zor bir işlem olduğu için, özellikle son çalışmalarda da organoklorin metabolitlerinin serum örneklerinde folikül sıvı örneklerine göre daha yüksek konsantrasyonda bulunduğu analitik metotları serum ölçümleri ile ilgili daha geliştirmişlerdir. (101). Ancak biz de folikül sıvısı örneğinde çalışmanın oosit gelişimi ve ovaryen mikroçevre ile daha yakından ilişkili bir durum olabileceğini düşünmekteyiz (81, 82, 83). Meeker ve ark.'larının çalışmasında 72 örnek foliküler sıvı ve 265 örnek serum çalışılmıştır. Çalışma sonucunda her iki örnekte de organoklorin konsantrasyonu bulunmuş olup, serum konsantrasyonlarının iki-üç kat folikül sıvısına göre daha fazla olduğunu saptamışlardır. Çalışmalarında her iki örnekte de p-p' diklorfentanil (p,p'-DDE) metabolitinin en fazla

konsantrasyonda bulunduğu saptanmıştır. Sonuçlara bakacak olursak; yaş ve BMI'ın kontaminantlar arasında bir ilişki bulunamamıştır. Bizim alışmamızda ise yaş ile anlamlı bir ilişki varken BMI ile istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulamadık.

Çalışmamızda saptadığımız pestisit oranı (%6.1) literatüre oranlarına göre düşük bir orandır. Literatür alışmaları çoğunlukla Avrupa ya da Amerika odaklıdır (90, 100, 101). Yapılan alışmalarda Avrupa ve Amerika'da organoklorin ve metabolitlerinin kullanımının Türkiye'ye göre daha yaygın olduğu vurgulanmıştır (63). Dünyadaki pestisit kullanımının çoğunluğu ABD'dedir. Her yıl yedi milyar dolar pestisit için harcanmaktadır. Dünyada ikinci büyük pestisit tüketicisi ise Brezilya'dır. Kanada ve Batı Avrupa'da pestisit kullanım biçimi genellikle Amerika Birleşik Devletlerinininkine benzemektedir (102). Bu sebepten ötürü maruziyet miktarının az olmasından kaynaklı oransal olarak düşük bulunduğumuzu düşünmekteyiz.

Bu çalışmamız ülkemizde; foliküler sıvıda organoklorr metabolitlerini ve infertilite ile olası ilişkilerini araştıran ilk çalışma olma özelliği taşımaktadır.

6. SONUÇLAR

Biz bu çalışmamızda pestisitlerin oosit üzerine etkilerini ve gebelik sonuçlarına etkisini araştırdık. Çalışmamızı foliküler sıvı örneklerinde yürüttük ve pestisit pozitiflik oranını %6.1 olarak saptadık. Bu oran literatür bilgilerine göre daha düşük bir orandır. Literatür çalışmaları çoğunlukla Avrupa ya da Amerika odaklıdır. Yapılan çalışmalarda Avrupa ve Amerika'da organoklorin ve metabolitlerinin kullanımının dünyanın diğer coğrafyalarına göre daha yaygın olduğu vurgulanmıştır. Bu sebepten ötürü maruziyet miktarının az olmasından kaynaklı oransal olarak düşük bulduğumuzu düşünmekteyiz.

Çalışmamıza katılan hastaları birçok demografik özelliklerine göre ayırdık. Literatürle uyumlu olmak üzere yaş ve bazal E2'de anlamlı sonuçlar bulduk.

Çalışmamızın esas amacı olan pestisitlerin oosit üzerine etkisine baktığımızda literatürle uyumlu bulgular saptadık. Topladığımız toplam oosit sayısı, matür ve immatür sayısı, fertilizasyon oranı, embriyo kalitesi gibi parametreleri pestisit pozitif ve pestisit negatif gruplarıyla karşılaştırdığımızda anlamlı bir fark bulamadık, ancak pestisit pozitif grupta oosit kalitesinin pestisit negatif gruba kıyasla olumsuz etkilenebileceğini saptadık.

Gebelik oranları karşılaştırıldığında pestisit pozitif ve pestisit negatif gruplar arasında klinik gebelik açısından bir fark bulamadık.

Sonuç olarak, çalışmamızda literatürle paralel sonuçlar elde ettik ancak hipotezimizin desteklenmesi için daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

7. ÖZET

İnfertil Hastaların Folikül Sıvısında Pestisit (Organoklorin Ve Metabolitleri) Araştırılması Ve Gebelik Üzerine Etkisi

Amaç: İnfertilite tedavisinde oosit toplama sonrası artık folikül sıvıda pestisit (organoklorin ve metabolitlerini) araştırmak, pestisit varlığının oosit gelişimi, embriyo kalitesi ve gebelik üzerine etkilerini değerlendirmek.

Materyal Metod: Kasım 2014-Mayıs 2015 tarihleri arasında Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Tüp Bebek Merkezi'ne başvuran 98 hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Çalışmamızda klinik gebelik oranlarını etkileyen kadın yaşı, vücut kitle indeksi, infertilite tipi, infertilite süresi, ilk değerlendirmedeki bazal FSH, LH, E2, siklus boyunca maksimum E2 konsantrasyonları, tedavi tipleri, tedavide kullanılan ilaç dozları, oluşan ve transfer edilen embriyo sayıları, oosit kalitesi, embriyo kalitesi folikül sıvısında gaz kromatografi ve kütle spektrometresi yöntemi ile pestisit saptanmayan (pestisit negatif), folikül sıvısında pestisit saptanan (pestisit pozitif) gruplarda karşılaştırıldı. Klinik gebelik oranları ile pestisit maruziyetinin rolü araştırıldı. İstatistiksel değerlendirme için Mann Whitney U test ve Ki-Kare test kullanıldı. $p<0.05$ değeri istatistiki olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular: Çalışmamızda yer alan 98 hastadan 6 hastada folikül sıvılarında pestisit saptanmıştır. Pestisit pozitif oranı %6,1 olarak bulunmuştur. Pestisit pozitif ve pestisit negatif hasta grupları demografik özellikler, IVF – ICSI parametreleri ve gebelik sonuçları açısından karşılaştırıldığında; pestisit pozitif grupta ortalama yaş daha yüksek, bazal E2 düzeyleri daha yüksek ve oosit kalitesinde azalma mevcuttu. Bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Karşılaştırılan diğer tüm parametreler için istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Sonuç: IVF-ICSI sikluslarında folikül sıvısında pestisit varlığı kötü oosit kalitesi ile ilişkili olabilir. Böyle bir ilişkinin doğrulanması için daha fazla sayıda hastayı içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Foliküler sıvı, pestisit, organoklorin.

8. ABSTRACT

Investigation Of Pesticides (Organochlorine Compounds) In Human Follicular Fluid And Its Effects On Pregnancy Outcomes In IVF-ICSI Cycles

Objective: To determine pesticides (organochlorine and its metabolites) in follicular fluid in IVF-ICSI cycles, and to evaluate the effects of pesticides on oocyte quality, embryo quality and pregnancy outcomes.

Methods: Between November 2014 and May 2015, follicular fluid samples collected from 98 women undergoing IVF-ICSI treatment in Akdeniz University Hospital at the Center for Reproductive Medicine and Infertility. Samples were analyzed by means of gas chromatography combined with mass spectrometry to examine the presence of pesticides in follicular fluid. In the study we compared pesticide positive group and pesticide negative group in terms of age, body mass index, infertility etiology, infertility duration, basal FSH, LH, E2, maximum E2 level in the cycle, total gonadotropin dosage used, total number of embryo that were developed and transferred, oocyte and embryo quality and clinical pregnancy rates. We used Mann-Whitney-U test, Chi Square test for statistical evaluation. $p < 0.05$ value accepted for statistical significance.

Results: Follicular fluid samples collected from 98 women undergoing IVF-ICSI treatment, in 6 women follicular fluid samples were positive for pesticides. Pesticide positive rate were 6,1%. Pesticide positive and negative groups were compared in terms of demographic characteristics, IVF – ICSI parameters and pregnancy outcomes. In pesticide positive group age was higher, basal E2 levels were higher, and oocyte quality were impaired. These discrepancies were statistically significant ($p < 0.05$). For other parameters and variables there were not any difference between both groups.

Conclusion: The presence of pesticides in follicular fluid may impair oocyte quality in IVF-ICSI cycles. This association should be studied in other large trials including more patients.

Key words: Follicular fluid, pesticide, organochlorine.

9. KAYNAKLAR

1. Kişnişçi HA, Gökşin E, Durukan T, Üstay K, Ayhan A, Gürkan T, Öneroğlu LS. Erkeğe bağlı infertilite. Androloji. Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Ed. Ankara Güneş Kitabevi 1996; 1119-29, 1287.
2. Speroff L, Fritz MA. Klinik jinekolojik endokrinoloji ve infertilite. 2007.
3. Speroff L, Glass NH, Kase RG. Clinical Gynaecologic Endocrinology and Infertility. 7nd edition. 2007; 84, 171, 213, 236, 1013, 1026, 1142, 1143, 1075, 1097, 1133.
4. Berek JS. İnfertilite (In), Berek JS: İnfertilite, Adashi EY, Hillard PA. Novak Jinekoloji, İstanbul Nobel Kitabevi 12. Baskı 1998; 918-25.
5. Hugues JN. Ovarian stimulation for assisted reproductive technologies. In, Vayana E, Rowe PS, Griffin PD (eds). Current practices and controversies in assisted reproduction: report of a WHO meeting. Geneva: WHO 2002; 102-5.
6. Forti G, Krausz C. Evaluation and treatment of the infertile couple. Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism 1998; 83(129): 4177-88.
7. Comhaire FH. Towards More Objectivity in Diagnosis and Management of Male-Infertility. International Journal of Andrology 1987; 3-53.
8. Bhattacharya S. The epidemiology of infertility in the North East of Scotland. Hum Reprod 2009; 24(12): 3096-107.
9. Miller JH, Weinberg RK, Canino NL, Klein NA, Solues MR. The pattern of infertility diagnoses in women of advanced reproductive age. Am J Obstet Gynecol 1999; 181: 952.
10. World Health Organization. Temporal relationships between ovulation and defined changes in the concentration of plasma estradiol 17b luteinizing hormone, follicle stimulating hormon andprogesteron. Am J Obstetrics and Gynecology 1980; 138: 383-90.
11. Hormonal dynamics at midcycle: a reevaluation. J Clin Endocrinol Metab 1983; 57(4): 792-6.
12. Speroff L, Glass NH, Kase RG. Clinical Gynaecologic Endocrinology and Infertility. 7nd edition 2007; 84: 171, 213, 236.
13. Jordan J, Craig K, Clifton DK, Soules MR. Luteal phase defect: the sensitivity and specificity of diagnostic methods in common clinical use. Fertil Steril 1994; 62: 54.

14. Berek JS. Infertilite (In), Berek JS: Infertility, Adashi EY, Hillard PA. Novak Jinekoloji, İstanbul Nobel Kitabevi 12. Baskı 1998; 918-25.
15. Muñoz E, Taboas E, Portela S, Aguilar J, Fernandez I, Muñoz L, Bosch E. Treatment of luteal phase defects in assisted reproduction. *Curr Drug Targets* 2013;14(8): 832-42.
16. Miller PB, Soules MR. The usefulness of urinary LH kit for ovulation prediction during menstrual cycles of normal women. *Obstet Gynecol* 1996; 87: 13-55.
17. Martinez AR, Bernardus RE, Vermeiden JP, Schoemaker J. Time schedules of intrauterine insemination after urinary luteinizing hormone surge detection and pregnancy results. *Gynecol Endocrinol* 1994; 8: 1.
18. Meyer WR, Smith PM, Clark MR, Cusmano LL, Fritz MA. Therapeutic cup insemination with cryopreserved donor sperm: prognostic value of cervical mucus score at insemination and the number of motile sperm in mucus at 24 hours. *Fertil Steril* 1996; 66: 43-5.
19. Preovulatory follicular size: a comparison of ultrasound and laparoscopic measurements. *Fertil Steril* 1980; 34(1): 24-6.
20. Morphological and functional relations of Graafian follicle growth to ovulation in women using ultrasonic, laparoscopic and biochemical measurements. *Br J Obstet Gynaecol* 1981; 88(2): 81-90.
21. Strandell A. Hydrosalpinx and IVF outcome: cumulative results after salpingectomy in a randomized controlled trial. *Hum Reprod* 2001; 16(11): [22 Johnson N, et al. Surgical treatment for tubal disease in women due to undergo in vitro fertilisation. *Cochrane Database Syst Rev*, 2010(1): p. CD002125.]. 2403-10.]
23. Barbieri RL. Female infertility. In Strauss FJ, Barbieri RL (eds), *Reproductive Endocrinology*. Pennsylvania Elsevier Inc., 5th ed 2004; 633-8.
24. Evers JLH, Hoons HW, Lond JA. Treatment independent pregnancy rate in patients with severe reproductive disorders. *Human Reproduction* 1998; 13(5): 1206-9.
25. The ASHRE Capri Workshop Group. Optimal use of infertility diagnostic tests and treatments. *Human Reproduction* 2000; 15(3): 723-32.
26. La Torre R. Transvaginal sonographic evaluation of endometrial polyps: a comparison with two dimensional and three dimensional contrast sonography. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1999; 26(3-4): 171-3.

27. Eggert-Kruse W. Clinical relevance of sperm morphology assessment using strict criteria and relationship with sperm-mucus interaction in vivo and in vitro. *Fertil Steril* 1995; 63(3): 612-24.
28. Eimers JM, te Velde ER, Gerritse R, van Kooy RJ, Kremer J, Habbema JD. The validity of the postcoital test for estimating the probability of conceiving. *Am J Obstet Gynecol* 1994; 171: 65-70.
29. Homer HA, Li TC, Cooke ID. The septate uterus: a review of management and reproductive outcome. *Fertil Steril* 2000; 73(1): 1-14.
30. Grimbizis GF, Gordts S, Di Spiezio. The ESHRE/ESGE consensus on the classification of female genital tract congenital anomalies *Hum Reprod* 2013; 28(8): 20-32.
31. Samplaski MK. New generation of diagnostic tests for infertility: review of specialized semen tests. *Int J Urol* 2010; 17(10): 839-47.
32. Guzick DS, Sullivan MW, Adamson GD, Cedars MI, Falk RJ, Peterson EP, Stenkampf MP. Efficacy of treatment of unexplained infertility. *Fertil Steril* 1998; 70: 207.
33. Tıraş MB, Aybar F. İn vitro Fertilizasyon (ivf)-intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) Endikasyonları. *Türkiye Klinikleri, J Surg Med Sci* 2006; 2(5): 37-41.
34. Practice Committee of the American Society for Reproductive. Definitions of infertility and recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2008; 89(6): 160.
35. Committee on Gynecologic Practice of American College of, Gynecologists, and M. Practice Committee of American Society for Reproductive, Age-related fertility decline: a committee opinion. *Fertil Steril* 2008; 90(3): 486-7.
36. Practice Committee of the American Society for Reproductive. Optimal evaluation of the infertile female. *Fertil Steril* 2006; 86(5 Suppl 1): 264-7.
37. Mol BW, Dijkman B, Werthwim P, Lijmer J, van der Veen F, Bossuyt PM. The accuracy of serum chlamydial antibodies in the diagnosis of tubal pathology: a meta-analysis. *Fertil Steril* 1997; 67: 1031.
38. Abdalla H, Thum MY. An elevated basal FSH reflects a quantitative rather than qualitative decline of the ovarian reserve. *Hum Reprod* 2004; 19(4): 893-8.
39. Jain T, Soules MR, Collins JA. Comparison of basal follicle-stimulating hormone versus the clomiphene citrate challenge test for ovarian reserve screening. *Fertil Steril* 2004; 82(1): 180-5.

40. Hendriks DJ. The clomiphene citrate challenge test for the prediction of poor ovarian response and nonpregnancy in patients undergoing in vitro fertilization: a systematic review. *Fertil Steril* 2006; 86(4): 807-18.
41. Broekmans FJ. A systematic review of tests predicting ovarian reserve and IVF outcome. *Hum Reprod Update* 2006; 12(6): 685-718.
42. Smotrich DB. Prognostic value of day 3 estradiol on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril* 1995; 64(6): 1136-40.
43. Broekmans FJ. The antral follicle count: practical recommendations for better standardization. *Fertil Steril* 2010; 94(3): 1044-51.
44. Hsu A. Antral follicle count in clinical practice: analyzing clinical relevance. *Fertil Steril* 2011; 95(2): 474-9.
45. Seifer DB, Baker VL, Leader B. Age-specific serum anti-Mullerian hormone values for 17,120 women presenting to fertility centers within the United States. *Fertil Steril* 2011; 95(2): 747-50.
46. Vet A. Antimullerian hormone serum levels: a putative marker for ovarian aging. *Fertil Steril* 2002; 77(2): 357-62.
47. Almog B. Age-related normograms of serum antimullerian hormone levels in a population of infertile women: a multicenter study. *Fertil Steril* 2011; 95(7): 2359-63, 2363 e1.
48. Gnoth C. Relevance of anti-Mullerian hormone measurement in a routine IVF program. *Hum Reprod* 2008; 23(6): 1359-65.
49. Luttjeboer F. Tubal flushing for subfertility. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; 3: CD003718.
50. Soares SR, Barbosa dos Reis MM, Camargos AF. Diagnostic accuracy of sonohysterography, transvaginal sonography, and hysterosalpingography in patients with uterine cavity diseases. *Fertil Steril* 2000; 73(2): 406-11.
51. Smith S, Pfeifer SM, Collins JA. Diagnosis and management of female infertility. *JAMA* 2003; 290(13): 1767-70.
52. Cooper TG. World Health Organization reference values for human semen characteristics. *Hum Reprod Update* 2010; 16(3): 231-45.
53. Sokol RZ. Endocrinology of male infertility: evaluation and treatment. *Semin Reprod Med* 2009; 27(2): 149-58.
54. De Kretser DM, Baker HW. Infertility in men: recent advances and continuing controversies. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84(10): 3443-50.

55. Page DC, Silber S, Brown LG. Men with infertility caused by AZFc deletion can produce sons by intracytoplasmic sperm injection, but are likely to transmit the deletion and infertility. *Hum Reprod* 1999; 14(7): 1722-6.
56. McLachlan RI, O'Bryan MK. Clinical Review#: State of the art for genetic testing of infertile men. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95(3): 1013-24.
57. Consensus workshop on advanced diagnostic andrology techniques. ESHRE (European Society of Human Reproduction and Embryology) Andrology Special Interest Group. *Hum Reprod* 1996; 11(7): 1463-79.
58. Farrell PB, Foote RH, Zinaman MJ. Motility and other characteristics of human sperm can be measured by computer-assisted sperm analysis of samples stained with Hoechst 33342. *Fertil Steril* 1996; 66(3): 446-53.
59. Tanık A, Gürel M, Toröz İ, Gönenç İE. Tarım İlaçlarının Çevreye Etkileri ve Yönetim Yaklaşımları, 2000 GAP Çevre Kongresi, 16-18 Ekim 2000, Şanlıurfa.
60. Kitchin KT. An enzymatic approach to biotransformation. *Meth Find Exptl Clin Pharmacol* 1984; 6: 303-10.
61. Weizman Z, Sofer S. Acute pancreatitis in children with anticholinesterase insecticide intoxication. *Pediatrics* 1992; 204-6.
62. Kamal AAM, Elgary MT, Maklady F, Mostafa MA, Massaud A. Serum cholinesterase and liver function among a group of organophosphorus pesticides sprayers in Egypt. *Journal of Toxicology Experimentale* 1990; 10: 7-8, 427-35.
63. Delen N, Durmuşoğlu E, Güncan A, Güngör N, Turgut C, Burçak A. Türkiye'de Pestisit Kullanımı, Kalıntı ve Organizmalarda Duyarlılık Azalışı Sorunları, VI. Türkiye Ziraat Mühendisliği Teknik Kongresi, 3-7 Ocak 2005, Ankara.
64. European Agrochem Market Declines, Agrow 2003.
65. Lorbeer JW, Delen N, Tosun N. Chemical Control 2001; 199-203, In: *Encyclopedia of Plant Pathology*, Vol. 1. Eds: O.C. Maloy and T.D. Murray. Jhon Wilay and Sous, New York.
66. Vural N. Toksikoloji. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara 1996; 73: 659.
67. Kumbur H, Özer Z, Özsoy HD. Tarım ilaçlarının (Pestisitlerin) Çevresel Etkileri ve Mersin İli'nde Kullanım Düzeyleri. In: GAP, IV. Tarım Kongresi, Bildiri Kitapçığı 2005; 702-7.
68. Yücel Ü. Pestisitlerin insan ve çevre üzerine etkileri. Ankara Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi, Nükleer Kimya Bölümü, Ders Notları 2007.

69. Ögüt S, Küçüköner E. Isparta ve Çevresinde Tarımsal Üretiminde Kullanılan Önemli Tarım İlaçları (Pestisitler). 10. Gıda Kongresi, Kongre Kitapçığı Erzurum 2008; 369.
70. Güler Ç, Çobanoğlu Z. Pestisitler. Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi, No:52. Sağlık Bakanlığı Yayınları. İlköz Matbaası, Ankara 1997 (Güler ve Çobanoğlu, 1997).
71. Artık N, Ekşi A. Gıdalarda Pestisit Kalıntıları ve Limitleri. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları 1993; 16, 22.
72. Gomez-Arroyo S, Diaz-Sanchez Y, Meneses-Perez MA, Villalobos-Pietrini R, De Leon-Rodriguez J. Cytogenetic biomonitoring in a Mexican floriculture worker group exposed to pesticides. Mutation Research 2000; 466: 117-24.
73. Yılmaz N. Türkiye Tarımsal İlacı Çok Değil Bilinçsiz Kullanıyor. Dünya Gıda Yayıncılığı 2002; 6, 59.
74. Hışıl Y. Gıdalarda Pestisit Kalıntıları ve Azaltma Yolları. 3. Gıda Kongresi. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları 1982; 4, 276-97.
75. MacMahon B. Pesticide residues and breast cancer. J Natl Cancer Inst 1994; 86: 572-3.
76. Wolff MS, Toniolo PG, Lee EW. Blood levels of organochlorine residues and risk of breast cancer. J Natl Cancer Inst 1993; 85: 648-52.
77. Falck F, Ricci A, Wolff MS. Pesticide and polychlorinated biphenyl residues in human breast lipids and their relation to breast cancer. Arch Environ Health 1992; 47: 143-6.
78. Hunter DJ, Kelsey KT. Pesticide residues and breast cancer: the harvest of a silent spring. J Natl Cancer Inst 1993; 85: 598-9.
79. Zinaman MJ. Estimates of human fertility and pregnancy loss. Fertil Steril 1996; 65(3): 503-9.
80. Dolgushina NV, Syrkasheva AG, Makarova NP, Kovalskaya EV, Kalinina EA, Sukhikh GT. Correlation between oocyte morphology and the embryo aneuploidy rate in IVF cycles, Gynecological Endocrinology 2015; 31(1): 61-4, DOI: 10.3109/09513590.2015.1086511.
81. Mumford SL, Schisterman EF, Siega Riz AM, Gaskins AJ, Steiner AZ, Daniels JL, Olshan AF, Hediger ML, Hovey K, Wactawski-Wende J, et al. Cholesterol, endocrine and metabolic disturbances in sporadic anovulatory women with regular menstruation. Hum Reprod 2011; 26: 423-30. doi:10.1093/humrep/deq322.

82. Baptiste CG, Battista MC, Trottier A, Baillargeon. Insulin and hyperandrogenism in women with polycystic ovary syndrome. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010; 122: 42-52.
83. Leroy JLMR, Vanholder T, Mateusen B, Christophe A, Opsomer G, de Kruif A, Genicot G, Van Soom A. Non-esterified fatty acids in follicular fluid of dairy cows and their effect on developmental capacity of bovine oocytes in vitro. *Reproduction* 2005; 130: 485-95. doi:10.1530/rep.1.00735
84. Marani M, Maroni M, Colosio C, Ferioli A, Fait A: Biological Monitoring of Pesticide Exposure: a review. *Toxicology* 2000; 143: 1-118.
85. Tiemann U. In vivo and in vitro effects of the organochlorine pesticides DDT, TCPM, methoxychlor, and lindane on the female reproductive tract of mammals: a review. *Reprod Toxicol* 2008.
86. Pocar P, Brevini TA, Antonini S, Gandolfi F. Cellular and molecular mechanisms mediating the effect of polychlorinated biphenyls on oocyte in vitro maturation. *Reprod Toxicol* 2006; 22: 242-9.
87. Longnecker MP, Klebanoff MA, Dunson DB, Guo X, Chen Z, Zhou H, Brock JW: Maternal serum level of the DDT metabolite DDE in relation to fetal loss in previous pregnancies.
88. Venners SA, Korrick S, Xu X, Chen C, Guang W, Huang A, Altshul L, Perry M, Fu L, Wang X: Preconception serum DDT and pregnancy loss: a prospective study using a biomarker of pregnancy.
89. Toft G, Hagmar L, Giwercman A, Bonde JP. Epidemiological evidence on reproductive effects of persistent organochlorines in humans. *Reprod Toxicol* 2004; 19: 5-26.
90. Younglai EV, Foster WG, Hughes EG, Trim K, Jarrell JF. Levels of environmental contaminants in human follicular fluid, serum, and seminal plasma of couples undergoing in vitro fertilization. *Arch Environ Contam Toxicol* 2002; 43: 121-6.
91. De Felip E, di Domenico A, Miniero R, Silvestroni L. Polychlorobiphenyls and other organochlorine compounds in human follicular fluid. *Chemosphere* 2004; 54: 1445-9.
92. Mes J, Marchand L, Davies DJ. Organochlorine residues in adipose tissue of Canadians. *Bull Environ Contam Toxicol* 1990; 45: 681-8.
93. Polishuk ZW, Wassermann D, Wassermann M, Cucos S, Ron M. Organochlorine compounds in mother and fetus during labor *Environ Res* 1977; 13: 278-84.

94. Covaci A, Jorens P, Jacquemyn Y, Schepens P. Distribution of PCBs and organochlorine pesticides in umbilical cord and maternal serum. *Sci Total Environ* 2002; 298: 45-53.
95. Nishimura H, Shiota K, Tanimura T, Mizutani T, Matsumoto M, Ueda M: Levels of polychlorinated biphenyls and organochlorine insecticides in human embryos and fetuses. *Paediatrician* 1977; 6: 45-57.
96. Cakmak H, Taylor HS. Implantation failure: molecular mechanisms and clinical treatment. *Hum Reprod Update* 2011; 17: 242-53.
97. Sharif K. Reclassification of azoospermia: the time has come? *Human Reproduction* 15: 237-8.
98. Faure AK, Aknin-Seifer I, Frerot G, Pelletier R, De Robertis C, Cans C, Levy R, Jimenez C, Lejeune H, Terrier N, Bergues U, Hennebicq S, Rousseaux S. Predictive factors for an increased risk of sperm aneuploidies in oligo-astheno-teratozoospermic males. Received 27 July 2006; revised 8 October 2006; accepted 10 October 2006 doi:10.1111/j.1365-2605.2006.00726.
99. Rienzi L, Ubaldi FM, Iacobelli M. Significance of metaphase II human oocyte morphology on ICSI outcome. *Fertil Steril* 2008; 90: 1692–700.
100. Petro EM, Leroy JL, Covaci A, Fransen E, De Neubourg D, Dirtu AC, De Pauw I, Bols PE. Endocrine-disrupting chemicals in human follicular fluid impair in vitro oocyte developmental competence. *Hum Reprod* 2012; 27(4): 1025-33. doi: 10.1093/humrep/der448. Epub 2012 Jan 20.
101. Meeker JD, Missmer SA, Altshul L, Vitonis AF, Ryan L, Cramer DW, Hauser R. Serum and follicular fluid organochlorine concentrations among women undergoing assisted reproduction technologies. *Environ Health* 2009; 8: 32. doi: 10.1186/1476-069X-8-32.
102. WHO, Public Health Impact of Pesticides Used in Agriculture, Report of WHO/UNEP Working Group, WHO, Geneva 1989.