

PREİMLANTASYON EMBRİYO GELİŞİM DURAKLAMASININ YARDIMLA ÜREME TEDAVİSİ SONUÇLARI ÜZERİNE ETKİSİ

THE EFFECT OF PREIMPLANTATION EMBRYO DEVELOPMENT ARREST ON ASSISTED REPRODUCTIVE TREATMENT RESULTS

Sibel BULGURCUOĞLU-KURAN¹ , Bilge ÖZSAİT-SELÇUK² 

¹İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, Reprodüktif Endokrinoloji ve İnfertilite Bilim Dalı, İstanbul, Türkiye

²İstanbul Üniversitesi, Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Genetik Anabilim Dalı, İstanbul, Türkiye

ORCID IDs of the authors: S.B.K. 0000-0003-4267-2158; B.Ö.S. 0000-0001-6808-6689

Cite this article as: Bulgurcuoglu-Kuran S, Ozsait-Selcuk, B. The effect of preimplantation embryo development arrest on assisted reproductive treatment results. J Ist Faculty Med 2019;82(4):206-11. doi: 10.26650/IUITFD.2018.0041

ÖZET

Amaç: Yardımla üreme tedavileri sırasında, insan preimplantasyon embriyoları genellikle in vitro kültür ortamı, hasta yaşı, ovarian stimülasyon protokolleri ve gametlere bağlı nedenlerle gelişimin çeşitli aşamalarında duraklayabilmektedir. Gelişimsel duraklamanın (arrest) gözlemlendiği çiftlerde normal gelişim gösteren diğer embriyoların transfer edilmesinden sonra implantasyon başarısızlığı ve düşük gözlemlenebilmektedir. Diğer yandan, embriyonik arrestin altında yatan nedenler kesin olarak açıklanamamıştır. Bu çalışmada amacımız, erken dönem embriyonik arrestin yardımla üreme teknikleri başarısı üzerine etkisinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Bu retrospektif çalışma kapsamında, 2010 ve 2018 yılları arasında yardımla üreme tedavisi gören ve ovulatuvar faktör, tubal faktör, endometriozis, açıklanamayan infertilite, ve erkek faktörü tanısı konulmuş olan 620 infertil çiftin intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu-embriyo transferi (ICSI-ET) siklusu değerlendirilmiştir. Çalışma grupları, embriyonik arrest gözlenen hastalar ve tüm embriyoları duraklamadan normal hızda gelişim gösteren (kontrol) hastalardan oluşmaktadır. Çalışma verileri, tek-yönlü değişken analizi (ANOVA) ve Ki-kare testi kullanılarak analiz edilmiştir.

Bulgular: Çalışma toplumunda, kullanılan ilaç dozu, oosit sayısı, fertilizasyon oranı, iyi kaliteli (G1) ve düşük kaliteli (GIII) embriyo oranları anlamlı olarak arrest yönünde artmışken, gebelik oranlarının azaldığı ($p<0,0001$) ve canlı doğum oranlarında iki grup arasında bir farklılığın olmadığı ($p=0,449$) tespit edilmiştir.

Sonuç: Embriyo kohortunda arrest embriyoların bulunmasının yardımla üreme teknikleri başarısı üzerine olumsuz etkilerinin olduğu çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir. Çalışmamızda elde edilen bulgular bu doğrultudadır.

Anahtar Kelimeler: Preimplantasyon dönem embriyo, yardımla üreme teknikleri, gelişimsel duraklama

ABSTRACT

Objective: During assisted reproductive treatments, human preimplantation embryo's development can sometimes may stop cleavage at various stages due to in vitro culture media, patient age, ovarian stimulation protocols, and gametes. Implantation failure and abortion can be observed after the transfer of other embryos, which have normal development, in couples with developmental arrest. On the other hand, the underlying causes of embryonic arrest cannot be explained clearly. The aim of this study was to investigate the effect of early embryonic arrest on the success of assisted reproductive techniques.

Materials and Methods: In this retrospective study of intracytoplasmic sperm injection-embryo transfer (ICSI-ET), the cycle of 620 infertile couples diagnosed with ovulatory factor, tubal factor, endometriosis, unexplained infertility, and male factor between 2010 and 2018 were evaluated. The study groups consisted of patients with embryonic arrest and control patients whose embryos developed at normal speed without interruption. The study data was analyzed using the uni-directional variable analysis (ANOVA) and the Chi-square test.

Results: In the study population, the drug dose, oocyte count, fertilization rate, and high and low grade embryo ratios were increased in the direction of arrest. On the one hand, pregnancy rates decreased ($p<0.0001$). On the other hand, there was no difference between the two groups in live birth rates ($p=0.449$).

Conclusion: In several studies, it was stated that the presence of arrested embryos in the embryo cohort had negative effects on the success of assisted reproductive techniques. The findings of this study support that claim.

Keywords: Preimplantation stage embryo, assisted reproductive techniques, arrest

İletişim kurulacak yazar/Corresponding author: sbulgurcuoglu@yahoo.com

Başvuru/Submitted: 26.12.2018 • **Revizyon Talebi/Revision Requested:** 20.03.2019 •

Son Revizyon/Last Revision Received: 29.05.2019 • **Kabul/Accepted:** 21.06.2019 • **Online Yayın/Published Online:** 04.09.2019

©Telif Hakkı 2019 J Ist Faculty Med - Makale metnine jmed.istanbul.edu.tr web sayfasından ulaşılabilir.

©Copyright 2019 by J Ist Faculty Med - Available online at jmed.istanbul.edu.tr

GİRİŞ

Başarılı insan üremesi, sağlıklı gamet oluşumu, normal döllenme ve erken embriyonik gelişim ile başlamaktadır. Bu adımların herhangi birinde meydana gelen anomali infertiliteye yol açmaktadır. İn vitro fertilizasyon (IVF) ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI) siklusları sırasında birçok infertil hastada başarısızlık gözlenebilmektedir. Bu tedaviler sonrasında gözlenen tekrarlayan başarısızlıklarda, erken embriyonik gelişim duraklaması (arrest) sık görülen bir durumdur. Embriyonik arrestin nedenlerinin araştırılması konusunda çeşitli çalışmalar yapılmasına rağmen, nedenleri hakkında bilinenler oldukça sınırlıdır (1).

İstanbul konsensusu ve Lan KC ve arkadaşlarının daha önceki embriyo değerlendirme raporlarına göre; 24 saatlik bir süre boyunca bölünme göstermeyen embriyolar, tek hücreli aşamada duraklayanlar (PN arrest) da dahil olmak üzere gelişimi duraklamış embriyolar olarak tanımlanmaktadır (2,3). Preimplantasyon dönem embriyoları genellikle hastanın yaşı, ovarian stimülasyon protokolleri ve yetersiz in vitro kültür koşulları, oositin yeterli olgunluğa ulaşamaması ve paternal faktörler gibi nedenlere bağlı olarak çeşitli gelişim aşamalarında duraklayabilmektedir (4-7). Embriyonik arrest olan embriyolarda çeşitli moleküler ve kromozomal anomaliler olduğu gösterilmiştir. Özellikle kromozomal aneuploidilerin gözlemlendiği arrest embriyolar implantasyon başarısızlığı ve yüksek düşük oranları ile ilişkilendirilmiştir (8,5). Diğer yandan, bazı çalışmalar 4-8 hücre öncesinde gözlenen arrestlerde embriyonik genom aktivasyonu henüz gerçekleşmediği için embriyolarda bölünmenin durmasına neden olacağı belirtilmektedir (2). Bu yöndeki çalışmalarda daha çok mozaizm, monospermik poliploidi ve haploidi gibi post-mayoz anomalilerin, embriyo gelişim potansiyeli ve özellikle embriyo bölünme durması ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (9,10).

İnsan embriyolarının in vitro kültüründe, genellikle 2-4 hücreli aşamada erken embriyonik gelişimsel duraklama gözlenmektedir (11,12). Gelişimsel duraklamada apoptoz da belirleyici rol oynamaktadır (13). Apoptoz sürecinin, oositin kalitesi, sitoplazmik ve nükleer maturasyonu ile yakından ilişkili olduğu gösterilmiştir (14).

Sonuç olarak, yardımcı üreme hastalarında gelişen embriyoların arasında arrest embriyo varlığında, diğer normal gelişen embriyoların transferinde implantasyon ve gebelik oranlarının düştüğünü gösteren çalışmalar olmasına rağmen, etkisinin olmadığını belirten çalışmalar da bulunmaktadır (15-17). Arrest embriyo gelişimi, yardımcı üreme tedavisinde bilinen bir olgu olmasına rağmen, bu durumun yardımcı üreme tedavi sonuçları üzerine etkisinin araştırıldığı klinik çalışmalar hala yeterli sayıda değildir. Bu çalışmada amacımız, ICSI sikluslarında, arrest embriyo gelişimi ile fertilizasyon, embriyo gelişimi, implantasyon ve gebelik sonuçları arasındaki ilişkinin araştırılmasıdır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma toplumu ve hasta seçimi

Çalışmamızda, 2010-2018 yılları arasında İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Yardımla Üreme Teknikleri Ünitesi'nde yardımcı üreme tedavisi gören ve ovulatuvar faktör, tubal faktör, endometriozis, açıklanamayan infertilite, ve erkek faktörü tanısı konulmuş olan ve ICSI uygulaması sonrası 3. günde embriyo transferi (D3 ET) yapılan 620 infertil çift değerlendirmeye alınmıştır. Çalışmaya dahil edilen gruplar, embriyonik arrest gözlenen hastalar (n=331) ve tüm embriyoları duraklamadan normal hızda gelişim gösteren (kontrol) hastalardan (n=289) oluşmaktadır. Ayrıca dondurulmuş sperm, dondurulmuş embriyo, testiküler spermin kullanıldığı, 2. gün (D2 ET) ve blastokist transferlerinin (D5 ET) yapıldığı sikluslar çalışmamıza dahil edilmiştir. Bu çalışma, preimplantasyon embriyo gelişim potansiyelini etkileyen faktörlerin analiz edildiği projemizin bir bölümü olarak gerçekleştirilmiştir ve İstanbul Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurul'u tarafından onaylanmıştır (No:737).

Kontrollü ovaryen hiperstimülasyon ve yardımcı üreme teknikleri

Çalışma için seçilen hastalarımız için standart kontrollü ovulasyon induksiyonu gonadotropin hormonu kullanılarak (reombinat follikül stimulan hormon-rFSH), antagonist protokollerle (gonadotropin releasing hormon antagonisti-GnRH antagonist) gerçekleştirilmiştir (GnRH antagonist-Cetrotide, rFSH-Gonal F, Merck-Serono, Bari, İtalya, HMG-Menogon, Ferring, Kiel, Almanya). Folliküller büyümenin takibi için, ultrason kullanılmıştır. Oosit toplanması, insan koryonik gonadotropin hormonu (hCG-Ovitrelle, Merck-Serono, Bari, İtalya) uygulamasından 36 saat sonra transvaginal ultrason aracılığı ile yapılmıştır. Fertilizasyon, ICSI yöntemi kullanılarak ile gerçekleştirilmiştir. Embriyo kültürü ardışık medium sistemi kullanılarak yapılmıştır. Embriyo gelişimi günlük olarak kaydedilmiştir. Değerlendirilme sırasında morfolojik kriterler kullanılmıştır. Gelişim gününe uygun olarak, hücre boyutu ve blastomer çekirdek yapısı (her blastomer tek çekirdek içermeli) ve fragmentasyon (çekirdeksiz sitoplazma parçacıkları) durumu değerlendirilmiştir. Gelişim gününe göre yapılan değerlendirme aşağıdaki gibidir:

Zigot değerlendirmesi (D1): Zigot değerlendirmesi inseminasyondan 17+1 saat sonra yapılır. Bu aşamada pronükleuslar ve kutup cisimcikleri incelenerek skorlandırma yapılmaktadır. Her iki pronükleusta çekirdek öncüsü cisimcikler (nuclear precursor bodies-NPB) uygun yerleşimli ve yeterli sayıda olmalıdır. İki adet kutup cisimciği olmalıdır.

Bölünen embriyo değerlendirmesi (D2 ve D3): D2 embriyosu (inseminasyondan 44±1 saat sonra) birbirine eşit 2-4 adet mononükleer yapıda blastomer içermelidir. Fragmentasyon oranı <%10 olmalıdır. İdeal bir D3 (68±1 saat) embriyosu (G1) ise 6-8 adet birbirine eşit mononükleer blastomer içermelidir ve yine <%10 fragmentasyon oranı olmalıdır (Fragmentasyon derecesi; hafif <%10, orta %10-25 ve ciddi >%25 şeklindedir) (2).

Embriyoların gelişimi günlük değerlendirildikten sonra, embriyo transferi gelişimin üçüncü gününde (D3) abdominal ultrason altında gerçekleştirilmiştir. İmplantasyon, embriyo transferini takiben 12. günde periferik kandan β -human koryonik gonodotropin (β -hCG) tayini (>10 IU/mL) ve klinik gebelik ise ultrasonda fetal kardiyak aktivitenin görülmesi ile belirlenmiştir.

Embriyonik gelişim duraklaması olan embriyolar, fertilizasyon kontrolü yapıldıktan gelişimin ikinci gününde (D2) pronükleus evresinde (PN) gözlenen arrest ve gelişimin üçüncü gününde (D3) 2-4 hücre evresindeki arrest şeklinde ele alınmıştır (2).

İstatistiksel analizler

Yaş, D3FSH, vücut kitle indeksi (VKİ), metafaz II (MII) oosit sayısı, fertilizasyon oranı, yüksek kaliteli embriyo sayısı ve semen parametreleri gibi değişkenlerin ilişkisinin araştırılması

amacı ile tek-yönlü değişken analizi (ANOVA) testi kullanılmıştır. Kategorik çalışma grubu implantasyon ve klinik gebelik oranları ile karşılaştırılması Ki-Kare testi ile gerçekleştirilmiştir. İki-uçlu ("two-tailed") p değeri $<0,05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Tüm istatistiksel analizler SPSS ver. 21,0 programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

BULGULAR

Arrest grubu için ortalama kadın yaşı $31,6 (\pm 4,66)$ ve erkek yaşı $34,54 (\pm 5,26)$, kontrol grubu için ortalama kadın yaşı $32,04 (\pm 4,51)$, erkek yaşı ise $34,91 (\pm 4,87)$ olarak belirlenmiştir. Kontrol ve arrest grupları arasında kadın yaşı, erkek yaşı, VKİ ve üçüncü gün bazal hormon değerleri (follikül stimulan hormon (FSH), lüteinizan hormon (LH), östradiol (E2) ve prolaktin (PRL)) karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 1).

Tablo 1: Embriyonik gelişim arresti olan hasta grubu ve kontrol grubunun demografik ve hormonal özelliklerinin karşılaştırılması

	Kontrol grubu	Arrest grubu	p değeri
Kadın yaşı, yıl	32,04 \pm 4,51	31,6 \pm 4,66	0,316
Erkek yaşı, yıl	34,91 \pm 4,87	34,54 \pm 5,26	0,386
VKİ, kg/m ²	25,77 \pm 4,9	27,02 \pm 16,23	0,116
FSH, mIU/ml	7,2 \pm 3,19	7,3 \pm 4,4	0,140
LH, IU/ml	6,15 \pm 4,46	6,44 \pm 4,98	0,271
E2, pg/ml	50,0 \pm 38,0	53,3 \pm 50,5	0,110
PRL, ng/ml	17,4 \pm 12,9	15,9 \pm 11,3	0,274

VKİ, vücut kitle indeksi; FSH, follikül stimulan hormon; LH, lüteinizan hormon; E2, östradiol; PRL, prolaktin. p değerleri p değerleri tek-yönlü ANOVA testi ile elde edilmiştir. Değerler ortalama standart sapma şeklinde verilmiştir. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Tablo 2: Arrest ve kontrol gruplarına ait yardımcı üreme teknikleri sonuçlarının karşılaştırılması

	Kontrol grubu	Arrest grubu	p değeri
Antagonist doz	1,04 \pm 0,33	2,86 \pm 10,39	$<0,0001$
Oosit sayı	7,46 \pm 4,49	9,65 \pm 5,77	$<0,0001$
GV oosit sayısı	0,53 \pm 1,08	0,54 \pm 1,46	0,647
MI oosit sayısı	0,46 \pm 0,90	0,53 \pm 1,25	0,052
MII oosit sayısı	6,23 \pm 3,93	8,32 \pm 5,14	$<0,0001$
GIV oosit sayısı	0,20 \pm 0,57	0,30 \pm 0,63	$<0,0001$
Fertilizasyon oranı	70,42 \pm 24,72	73,33 \pm 21,44	$<0,0001$
İyi kalite embriyo	2,23 \pm 1,77	2,56 \pm 2,51	$<0,0001$
Düşük kalite embriyo	0,20 \pm 0,58	0,45 \pm 1,01	$<0,0001$
Gebelik	113/331 %34,1	57/289 %19,7	0,0001
Doğum	38/57 %66,6	82/113 %72,6	0,449

GV, germinal vesikül; MI, metafaz I; MII, metafaz II, GIV, grade IV. p değerleri tek-yönlü ANOVA ve Ki-kare testi ile elde edilmiştir. Değerler ortalama standart sapma şeklinde verilmiştir. $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir

Tablo 3: Arrest ve kontrol gruplarına ait hastaların sperm parametreleri

	Kontrol grubu	Arrest grubu	p değeri
Sperm hacim	2,05±1,03	2,03±1,00	0,445
Total sperm sayı	67,7×10 ⁶ ±80,8×10 ⁶	74,9 ×10 ⁶ ±92 ×10 ⁶	0,105
Sperm motilite	44,40±20,89	42,25±21,42	0,504
Sperm morfolojisi	6,82±7,14	6,00±7,12	0,844

p değerleri tek-yönlü ANOVA testi ile elde edilmiştir. Değerler ortalama standart sapma şeklinde verilmiştir. p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

Kontrol ve arrest çalışma grupları arasındaki yardımla üreme teknikleri sonuçlarının karşılaştırılması Tablo 2’de sunulmuştur. Gruplar arasında karşılaştırma indüksiyonunda kullanılan antogonist dozunun total miktarı karşılaştırıldığında belirgin şekilde anlamlı olduğu gözlenmiştir (p<0,0001). Diğer yandan, oosit sayısı, maturasyonu ve kalitesi açısından incelendiğinde, toplam oosit sayısı, MII (matur) oosit sayısı ve GIV (düşük kaliteli) oosit sayısı, fertilizasyon oranları açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu bulunmuştur (p<0,0001). ICSI işlemi sonrasında elde edilen embriyoların kaliteleri karşılaştırıldığında GI (iyi kalite) ve GIII (düşük kalite) embriyoların istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir (p<0,0001).

Çalışma toplumundaki hastaların gebelik sonuçları karşılaştırıldığında, kontrol grubundaki hastaların %34,1’inde, arrest grubundaki hastaların ise %19,7’sinde gebelik elde edilmiştir (p<0,0001). Her iki grup doğum sonuçları karşılaştırıldığında aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p=0,449).

Ek olarak, arrest ve kontrol grubu hastaların sperm parametreleri karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılık gözlenmemiştir. Çalışma gruplarına ait sperm parametreleri Tablo 3’de sunulmuştur.

TARTIŞMA

Erken dönem embriyolarda gözlenen gelişimsel duraklama, in vitro kültür ortamında geliştirilen memeli embriyolarında sık rastlanan olumsuz bir durumdur (18-20). İnsanlarda, in vitro geliştirilen embriyoların %50’si gelişimin ilk haftasında gelişimsel duraklama göstermekte (13) ve yaklaşık %8’i iki hücreli aşamada gözlenmektedir (21). Bu retrospektif çalışmada, yardımla üreme tedavisi gören hastaların embriyo kohortunda gelişim duraklaması gösteren embriyoların varlığının ovulasyon indüksiyonunda kullanılan total antagonist dozu ile ilişkili olduğu gözlenmiştir. Diğer yandan, embriyonik arrestin oosit sayısı ve embriyo sayısı ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir.

Arrest embriyoların %48’inde kromozomal anomaliler gözlenmektedir (22,14). Kromozomal anomalilerin başında da aneuploidiler yer almaktadır. Bunun yanısıra, apoptoz ve oksidatif stres kaynaklı nedenlerden de embriyolar

da gelişim duraklaması olduğu gösterilmiştir (13,18). Bu moleküler mekanizmalardaki değişikliklere genel olarak yaş, in vitro kültür şartları, ovarian stimülasyon protokolleri, erkeğe ait faktörler neden olabilmektedir (5-7,23). Gelişimi duraklamış olan embriyoların metabolizmasının sağlıklı olanlardan farklılık gösterdiği, hem morfolojik hem de gen ekspresyonu açısından sessiz hücreler olduğu belirtilmektedir (12). Bununla beraber yine de bu olgu hakkında geniş bilgi bulunmamaktadır. Arrest embriyonun ya da tedavi siklusunda arrest embriyonun bulunduğu embriyo grubundan gelişimi normal olanların transferi sonrasında, implantasyon, gebelik ve abort oranlarına etkisinin araştırıldığı çalışılma sayısı hakkında veriler oldukça azdır (5,15).

Çalışma toplumumuzda kontrol ve arrest içeren embriyo grupları arasında kadın ve erkek yaşı, VKİ ve kadın hormon profili arasında bir ilişki saptanmamıştır. Benzer sonuçların elde edildiği bir çalışmada farklı olarak arrest hasta grubunda normaller ile karşılaştırıldığında 3. gün FSH değerlerinin düşük olduğu bulunmuştur. Yine aynı çalışmada, iki grupta benzer dozda gonadotropin tüketimi mevcut olmakla birlikte, arrest grubunda inseminasyon sonrasında matur oosit ve 2PN embriyoların daha fazla olduğu belirtilmektedir (15). Bu durum iyi ovaryen cevap ile arrest embriyo ilişkisini vurgulamaktadır. Bununla birlikte, GI embriyo, klinik gebelik, implantasyon ve canlı doğum oranları taze embriyo transfer döngülerinin yapıldığı arrest grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu gösterilmiştir (p<0,05). Yaptığımız çalışmada ise yükselen antagonist dozu ile arrest oluşumu arasında ilişki olduğu gözlenmiştir.

Ek olarak, toplam oosit sayısı, MII oosit sayısı ve GI embriyo sayısının arrest grubunda kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir (15,24-26). Bizim bulgularımız da bu yöndedir. Arrest grubunda, antral folikül sayısı ve toplanan oositlerin, daha yüksek olmasının nedeni, oositlerinde daha küçük, az yetkin olan foliküllerden toplandığı ve bunlardan da çok sayıda fakat düşük gelişim potansiyeli olan maturitesi yeterli olmayan oositlerin elde edildiği ve daha sonra da yetersiz kalitede embriyoların geliştiği şekilde açıklanmaktadır (15). Benzer şekilde çalışmamızda da GIV oosit sayısının her iki grup arasında anlamlı farklılık gösterdiği ve arrest grubunda 1,5 kat

daha yüksek olduğu saptanmıştır. Erken embriyo gelişimi sırasında esas olarak oogenezdeki RNA ve protein sentezi büyük önem taşımaktadır (27,28). Özellikle, oositten zigota gelişim süreci maternal faktörler tarafından kontrol edildiği için erken embriyo gelişiminde oosit kalitesi önem taşımaktadır (29). Dolayısıyla oosit gelişim yetersizliği ve zayıf oosit kalitesi embriyo gelişiminin durmasına yol açarak, kadınlarda infertiliteye ve yardımla üreme tedavisinde başarısızlığa neden olabilmektedir (30-34).

Çalışma toplumumuzda arrest embriyoları olan grupta oosit sayısının yüksek olması, M II oosit sayısı ve de hem GI hem de GIII embriyo grubu ile anlamlı ilişki elde edilmesine neden olduğunu düşünmekteyiz. Diğer yandan, arrest embriyo içeren grupta normal gelişim gösterenlere kıyasla daha düşük gebelik oranının olduğu gözlenmektedir. Bu bulgu, D3'de morfolojik kriterlere göre kaliteli olarak sınıflanabilen embriyoların da olumsuz etkilenmiş olduğunu ve moleküler kapasitesinin blastokist ve implantasyonu destekleyecek kadar yetkin olmadığını düşündürmektedir. Öte yandan, canlı doğum oranları arasında iki grup arasında anlamlı farklılık olamaması implantasyonun üstesinden gelen embriyoların normal gelişim gösterebildiğini vurgulamaktadır.

Çalışmamızda retrospektif olarak araştırılan embriyonik gelişim duraklaması, kadın ve erkek yaşı, infertilite nedeni ve sigara içimi gibi çevresel etmenlere göre sınıflandırılma yapılmadan tüm çalışma toplumunun analizi ile gerçekleştirilmiştir. Bu durum çalışmamızın zayıf yanlarından birisidir. Diğer yandan, sadece ICSI uygulanan hastaların sonuçları değerlendirilmeye katılmıştır. Diğer bir fertilizasyon yöntemi olan in vitro fertilizasyon tekniği ile karşılaştırılma gerçekleştirilmemiştir. Çalışmanın bu yönlerden genişletilmesi gerekmektedir.

SONUÇ

Moleküler tekniklerin gelişmesiyle birlikte embriyo genom aktivasyonu ve özellikle embriyo gelişim duraklaması ile ilgili moleküler süreçler ve yollar araştırılmaktadır. Bu retrospektif çalışmadan elde edilen sonuçlar, ICSI uygulaması yapılan infertilite olgularında arrest embriyo varlığının yardımla üreme tedavisi sonuçları üzerine olumsuz etkisini vurgulamaktadır. Ancak, bu sonuçların daha geniş hasta gruplarında ve moleküler araştırmalarında yapıldığı kapsamlı çalışmalar ile araştırılması gerekmektedir.

Etik Komite Onayı: Etik komite onayı bu çalışma için, İstanbul Üniversitesi yerel etik komiteden alınmıştır (No. 737).

Hakem Değerlendirmesi: Dış bağımsız.

Yazar Katkıları: Çalışma Konsepti/Tasarım- S.B.K.; Veri Toplama- S.B.K.; Veri Analizi/Yorumlama- S.B.K., B.Ö.S.; Yazı Taslağı- S.B.K.; İçeriğin Eleştirel İncelemesi-B.Ö.S.; Son Onay ve Sorumluluk- S.B.K., B.Ö.S.

Çıkar Çatışması: Yazarlar çıkar çatışması beyan etmemişlerdir.

Finansal Destek: Yazarlar finansal destek beyan etmemişlerdir.

Ethics Committee Approval: Ethics committee approval was received for this study from Istanbul University local ethics committee (No. 737).

Peer Review: Externally peer-reviewed.

Author Contributions: Conception/Design of Study- S.B.K.; Data Acquisition- S.B.K.; Data Analysis/Interpretation- S.B.K., B.Ö.S.; Drafting Manuscript- S.B.K.; Critical Revision of Manuscript- B.Ö.S.; Final Approval and Accountability- S.B.K., B.Ö.S.

Conflict of Interest: Authors declared no conflict of interest.

Financial Disclosure: Authors declared no financial support.

KAYNAKLAR

1. Wang X, Song D, Mykytenko D, Kuang Y, Lv Q, Li B, Chen B, et al. Novel mutations in genes encoding subcortical maternal complex proteins may cause human embryonic developmental arrest. *Reprod Biomed Online* 2018;36(6):698-704. [CrossRef]
2. Special ASiRMAE and Embryology IGo. The Istanbul consensus workshop on embryo as-sessment: proceedings of an expert meeting. *Hum Reprod* 2011;26:1270-83. [CrossRef]
3. Lan KC, Huang FJ, Lin YC, Kung FT, Hsieh CH, Huang HW, et al. The predictive value of using a combined Z-score and day 3 embryo morphology score in the assessment of embryo survival on day 5. *Hum Reprod* 2003;18:1299-306. [CrossRef]
4. Favetta LA, St John EJ, King WA, Betts DH. High levels of p66shc and intracellular ROS in permanently arrested early embryos. *Free Radic Biol Med* 2007;4:1201-10. [CrossRef]
5. Qi ST, Liang LF, Xian YX, Liu JQ, Wang E. Arrested human embryos are more likely to have abnormal chromosomes than developing embryos from women of advanced maternal age. *J Ovarian Res* 2014;7:65. [CrossRef]
6. Lin YH, Chou CK, Hung YC, Yu IS, Pan HA, Lin SW, et al. SEPT12 deficiency causes sperm nucleus damage and developmental arrest of preimplantation embryos. *Fertil Steril* 2011;95:363-5. [CrossRef]
7. Burrue V, Klooster KL, Chitwood J, Ross PJ, Meyers SA. Oxidative damage to rhesus macaque spermatozoa results in mitotic arrest and transcript abundance changes in early embryos. *Biol Reprod* 2013;89:72. [CrossRef]
8. Zamora RB, Sánchez RV, Pérez JG, Díaz RR, Quintana DB, Bethencourt JC. Human zygote morphological indicators of higher rate of arrest at the first cleavage stage. *Zygote* 2011;19(4):339-44. [CrossRef]
9. Munne S, Dailey T, Sultan KM, Grifo J, Cohen J. The use of first polar bodies for pre-implantation diagnosis of aneuploidy. *Hum Reprod* 1995;10:1014-20. [CrossRef]
10. Marquez C, Sandalinas M, Bahce M, Alikani M, Munne S. Chromosome abnormalities in 1255 cleavage-stage human embryos. *Reprod Biomed Online* 2000;1:17-26. [CrossRef]

11. Memili E, First NL. Zygotic and embryonic gene expression in cow: a review of timing and mechanisms of early gene expression as compared with other species. *Zygote* 2000;8:87-96. [\[CrossRef\]](#)
12. Betts DH, Madan P. Permanent embryo arrest: molecular and cellular concepts. *Mol Hum Reprod* 2008;14:445-53. [\[CrossRef\]](#)
13. Hardy K, Spanos S, Becker D, Iannelli P, Winston RML, Stark J. From cell death to embryo arrest: mathematical models of human preimplantation embryo development. *Dev Biol* 2001;98:1655-60. [\[CrossRef\]](#)
14. Benkhalifa M, Kahraman S, Caserta D, Domez E, Qumsiyeh MB. Morphological and cytogenetic analysis of intact oocytes and blocked zygotes. *Prenat Diagn* 2003;23:397-404. [\[CrossRef\]](#)
15. Liu L, Cai J, Chen PLY, Sha A, Ren J. Clinical outcome of IVF/ICSI cycles with an arrested embryo on day 3. *Int J Clin Exp Med* 2016;9(8):16414-24.
16. Jun SH, Choi B, Shahine L, Westphal LM, Behr B, Reijo Pera RA et al. Defining human embryo phenotypes by cohort-specific prognostic factors. *PLoS One* 2008;3:e2562. [\[CrossRef\]](#)
17. Daughtry BL, Chavez SL. Chromosomal instability in mammalian pre-implantation embryos: potential causes, detection methods, and clinical consequences. *Cell Tissue Res* 2016;363(1):201-25. [\[CrossRef\]](#)
18. Johnson MH, Nasr-Esfahani MH. Radical solutions and cultural problems: could free oxygen radicals be responsible for the impaired development of preimplantation mammalian embryos in vitro? *Bioessays* 1994;16(1):31-8. [\[CrossRef\]](#)
19. Betts DH, King WA. Genetic regulation of embryo death and senescence. *Theriogenology* 2001;55:171-91. [\[CrossRef\]](#)
20. Favetta LA, Robert C, St John EJ, Betts DH, King WA. p66shc, but not p53, is involved in early arrest of in vitro-produced bovine embryos. *Mol Hum Reprod* 2004;10(6):383-92. [\[CrossRef\]](#)
21. Chi L, de Jesus E, Adler A, Grifo JA, Berkeley AS, Krey LC. 2-cell stage arrest in human embryos: incidence and developmental potential in different culture media. *Fertil Steril* 2000;74(S1.1):S222. [\[CrossRef\]](#)
22. Almeida PA, Bolton VN. Cytogenetic analysis of human preimplantation embryos following developmental arrest in vitro. *Reprod Fertil Dev* 1998;10(6):505-13. [\[CrossRef\]](#)
23. Miller JE, Smith TT. The effect of intracytoplasmic sperm injection and semen parameters on blastocyst development in vitro. *Hum Reprod* 2001;16(5):918-24. [\[CrossRef\]](#)
24. Van Loendersloot LL, Van Wely M, Limpens J, Bossuyt PM, Repping S, Van der Veen F. Predictive factors in in vitro fertilization (IVF): a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2010;16:577-589. [\[CrossRef\]](#)
25. Cai QF, Wan F, Huang R, Zhang HW. Factors predicting the cumulative outcome of IVF/ICSI treatment: a multivariable analysis of 2450 patients. *Hum Reprod* 2011;26:2532-40. [\[CrossRef\]](#)
26. Steward RG, Lan L, Shah AA, Yeh JS, Price TM, Goldfarb JM, et al. Oocyte number as a predictor for ovarian hyperstimulation syndrome and live birth: an analysis of 256,381 in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril* 2014;101:967-73. [\[CrossRef\]](#)
27. Biase FH, Everts RE, Oliveira R, Santos-Biase WK, Fonseca Merighe GK, Smith LC, et al. Messenger RNAs in metaphase II oocytes correlate with successful embryo development to the blastocyst stage. *Zygote* 2014;22:69-79. [\[CrossRef\]](#)
28. Tosti E, Boni R, Gallo A, Silvestre F. Ion currents modulating oocyte maturation in animals. *Syst Biol Reprod Med* 2013;59:61-8. [\[CrossRef\]](#)
29. Yurttas P, Morency E, Coonrod SA. Use of proteomics to identify highly abundant maternal factors that drive the egg-to-embryo transition. *Reproduction* 2010;139:809-23. [\[CrossRef\]](#)
30. Ingman WV, Robker RL, Woittiez K, Robertson SA. Null mutation in transforming growth factor β 1 disrupts ovarian function and causes oocyte incompetence and early embryo arrest. *Endocrinology* 2006;147:835-45. [\[CrossRef\]](#)
31. Meirelles FV, Caetano AR, Watanabe YF, Ripamonte P, Carambula SF, Merighe GK, et al. Genome activation and developmental block in bovine embryos. *Anim Reprod Sci* 2004;82-83:13-20. [\[CrossRef\]](#)
32. Marteil G, Richard-Parpaillon L, Kubiak JZ. Role of oocyte quality in meiotic maturation and embryonic development. *Reprod Biol* 2009;9:203-24. [\[CrossRef\]](#)
33. Hourvitz AME, Brengauz M, Machtinger R, Dor J. In vitro maturation for patients with repeated in vitro fertilization failure due to "oocyte maturation abnormalities". *Fertil Steril* 2010;94:496-501. [\[CrossRef\]](#)
34. Sa R, Cunha M, Silva J, Luis A, Oliveira C, Teixeira da Silva J, et al. Ultrastructure of tubular smooth endoplasmic reticulum aggregates in human metaphase II oocytes and clinical implications. *Fertil Steril* 2011;96:143-9. [\[CrossRef\]](#)