



## Dünden Bugüne Yardımla Üreme Teknikleri Assistive Reproductive Techniques: From Past to Today

Cihan Çetin<sup>1</sup>, M.Turan Çetin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Çukurova Üniv. Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum ABD., Adana, Turkey

### ABSTRACT

Infertility is an important disease, which has high prevalence in the society. In order to plan the appropriate treatment, etiopathogenesis should be clearly understood. Knowing the evolution of these methods, make us understand how fastly changing and promising area of research is this. Assistive reproductive technologies which are very important especially for carriers of various diseases, are also used to minimise the adverse effects of gonadotoxic treatments and used to fertility preservation for cancer patients.

**Key words:** Infertility, in vitro fertilization, fertilization, embryo, implantation.

### ÖZET

İnfertilite, toplumda yüksek prevalansta görülen önemli bir hastalıktır. Uygun tedaviyi planlayabilmek için hastalığın etyopatogenezi iyice bilinmelidir. Etiyolojik nedenlere göre çeşitli tedavi yöntemleri mevcuttur. Tarihsel süreç içerisinde bu yöntemlerin gelişimi bilmek, bu alanın ne kadar hızlı gelişen ve gelecek vaat eden bir alan olduğunu anlamamızı sağlar. Kalıtsal hastalık taşıyıcısı aileler için önemli bir yere sahip olan yardımcı üreme teknikleri, aynı zamanda kanser hastalıklarının tedavisi gibi gonadotoksik tedavilerinin bu olası istenmeyen etkilerini de minimize etmekte ve fertilitate koruyucu olarak da kullanılmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** İnfertilite, in vitro fertilizasyon, fertilizasyon, embryo, implantasyon.

### Giriş

Bugün dünyada infertilite, prevalansı %30 olduğundan toplumuda çok sık rastlanan ve insanı üzen olaylarının içerisinde dördüncü sırada yer alan bir durumdur<sup>1</sup>. Öncelikle kimlere infertil diyeceğiz? Normal fertil çiftler için kümülatif gebelik olasılığı yapılan istatistiksel bir çalışma



sonucunda %93 olarak bulunmuştur. Bu istatistiksel sonuca göre çiftlerin bir yıl içinde korunmasız haftada 3-4 cinsel ilişkiye rağmen gebe kalamaması durumunda infertiliteden bahsetmekteyiz. Böyle bir çiftte erkeğe ve kadına ait infertilite nedenleri araştırılmalıdır.

Erkekten semen analizi, kadından ise sırasıyla jinekolojik muayene, ultrasonografi, smear testi, çeşitli bakteriyolojik incelemeler (özellikle C.trachomatis), hormon tetkikleri, histerosalpingografi, kızamıkçık testi ve kan sayımları, her iki eşe de HIV ve hepatit testleri yapılmalıdır. İyi bir anamnezin yanında, bu testler sonucunda erkeğe ait veya kadına ait infertilite nedenleri araştırılır ve bulunan probleme yönelik tedavi planlanır<sup>1</sup>.

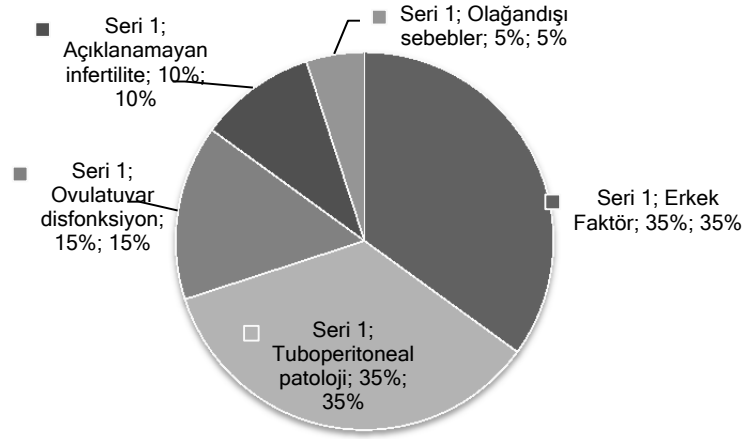
Bu makalede amacımız yardımcı üreme tekniklerinin gelişim sürecinden bahsetmektir. Bu süreci doğru anlayabilmek ancak follükülogenez ve oogenez gibi temel biyolojik konulara hakim olmakla mümkündür. Bunun için öncelikle follükül ve oosit gelişimini hatırlatmaya çalışacağız.

### **Follükül ve Oosit Gelişimi**

İnfertilite nedenleri ve sıklıkları Şekil 1'de gösterilmiştir. Bu oranlar bölgeden bölgeye değişmektedir. Örneğin, Çukurova bölgesinde kendi merkezimizde erkek faktörü %70 civarındadır. İngiltere'de yapılan bir çalışmada, %23 erkek faktörü, %18 ovulatuvar bozukluk olarak ifade edilmiş, açıklanamayan infertilite %28 bulunmuştur. Buradan yola çıkacak olursak ovulatuvar bir problem varsa follükül ve oosit gelişimini öncelikle birhatırlamalıyız. Biliyoruz ki, follükül gelişimi ve onun en küçük komponenti olan kalitesi ve ovulasyon, infertilite etyolojisinde oldukça önemlidir. Doğumda overde 2 milyon oosit olduğunu, menarşe gelindiğinde bunun 200.000-400.000'e indiğini bilmekteyiz. Biliyoruz ki, 24. gebelik haftasında primordial follüküller oluşmakta ve oosit etrafında öncelikle küboid yapıda tek sıra epitel hücreleri meydana gelerek 50 mikron çapında primer follükülü meydana getirmektedir. Gonadotropinlerden bağımsız olarak primer follüküller sekonder follüküle (preantral) büyürler ve 200 mikron çapa ulaşırlar. Puberteden sonra her ay 5-30 arasında primer follükül sekonder follüküle büyür ve sekonder follüküller gonadotropinlerin etkisi altında Graff follükülüne ulaşırken diğer follüküller atreziye giderler<sup>2</sup>.

Atreziye gitmenin mekanizması tamamen bilinmemekle birlikte, apoptozisin önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. O halde anti-apoptotik faktörlerin neler olduğuna bakacak olursak, bunlar: gonadotropinler, epidermal büyüme faktörü (EGF), fibroblast büyüme faktörü beta

(FGF- $\beta$ ), insülin benzeri büyüme faktörü 1 (IGF-1), keratinosit büyüme faktörü (KGF) gibi parakrin faktörler, aktivin, interlökin-1 $\beta$ 'dir. Apoptozisi indükleyen faktörler ise androjenler, GnRH, TNF-alfa, IL-6 ve serbest radikallerdir. Folliküllerin %99'dan fazlası overde ovulasyona ulaşmadan önce apoptozisi indükleyen faktörler ile dejenere olacaktır. Fakat bir follikülün, endokrin, otokrin, parakrin faktörlerin regüle etmesi sonucu sadece büyümesi değil, kalitesi ve endometriyal reseptivite de etkilenerek  $27 \pm 3$  çapında Graff follikülü oluşacaktır. Bu follikülün granüloza hücreleri tarafından salgılanan östrojen dolaşımdaki eşik seviyesine ulaştığı zaman, LH surge'ünü tetikleyecektir. LH surge'ünden 10-12 saat sonra Graff follikülünün rüptüre olur, ki buna "ovulasyon" demekteyiz. Ovulasyon sırasında granüloza hücreleri korona radiatı ile birlikte atılacaktır<sup>2</sup>. Atılan oosit, fimbriyal yapılarla yakalanıp tubanın ampuller bölgesine gelecek ve orada spermelerin gelmesini bekleyecektir.



Şekil 1. Çiftlerde infertilite sebepleri<sup>1</sup>

## Yardımcı Üreme Teknikleri (YÜT)

Oosit kalitesi, sağlıklı bir embryonun oluşması için oldukça önemli olup, kaliteli bir embryonun da gebelik başarısını artıracığı şüphesizdir. Oosit kalitesini biz tüp bebekte yumurtayı dışarı alarak laboratuvarında nükleer yapı, sitoplazmik yapı, corona radiata ve kumulus hücrelerinin görüntüsüne göre değerlendirmekteyiz<sup>3</sup>. Normal hayatta yumurtayı görebilmek mümkün

olmadığı halde tüp bebekte yumurtanın laboratuvarında değerlendirilmesi mümkün olmakta ve yumurtanın kalitesi hatta kromozomal anomalileri dahil laboratuvar şartlarında tespit edilebilmektedir. Kromozom anomalisi olan bir oositte fertilizasyon ve embryo bölünmesi etkilenmez, bu durum implantasyon başarısızlığı ile daha çok bağlantılıdır.

## YÜT'te Başarıyı Etkileyen Faktörler

Bu yüzden ileri yaşlardaki kadınların implantasyon oranları düşer. İleri üreme yaşının kesin bir tanımı olmasa da 35 yaş ve üzeri kabul edilebilir. Çünkü 35 yaş ve üzerinde yumurtanın sadece sayısı değil aynı zamanda kalitesinde de azalma meydana gelecektir. Bir kuralı hatırlamakta fayda var ki yaş yumurta kalitesinin en iyi prediktörü iken 3. gün bazal FSH seviyesi, sadece yumurta sayısının en iyi prediktörüdür. Over rezervleri genetik, çevresel birçok faktörün etkisi altında kalabilir. Özellikle kadınlarda sigara içmek over rezervini azaltan faktörlerden bir tanesidir<sup>4</sup>. O halde infertilite problemi ile gelen insanlara en kısa sürede problemini tespit etmek ve en kısa sürede tedavi etmek idealdir. Bu yüzden infertil çiftlere yapılan tedavileri biz bugün için üremeye yardımcı tedaviler (ART) olarak adlandırmaktayız. Bunlar; ovaryan stimülasyon, intrauterin inseminasyon (IUI), in vitro fertilizasyon (IVF), intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu (ICSI), embryo ve gamet transferi, kriyopreservasyon, preimplantasyon genetik tanı (PGD), preimplantasyon genetik tarama (PGS), komperatif genomik hibridizasyon (CGH) ve in vitro maturasyon (IVM)'dur<sup>1</sup>.

**Tablo 1. Siklus Başı Fekundabilite Oranları<sup>1</sup>**

Tedavisiz	1.3-4.1%
IUI	3.8%
Klomifen	5.6%
Klomifen & IUI	8.3%
Gonadotropinler	7.7%
Gonadotropinler & IUI	17.1%
IVF	20.7%

IUI:intrauterin inseminasyon, IVF:in vitro fertilizasyon

YÜT'leri kullanırken başarıyı etkileyen önemli faktörler: kadın yaşı, önceki tedavi sayısı, iptal eden siklus sayısı, ovarian cevap, uterin reseptivite, aspire edilen oosit sayısı, fertilize oosit sayısı, transfer edilen oosit sayısı, infertilite nedeni ve semen kalitesidir. İnfertil bir çiftin yardımcı üreme teknikleri ile bebek sahibi olma oranları Tablo 1'de görülmektedir<sup>2</sup>.

## In Vitro Fertilizasyon (IVF)

Burada en yüksek oranın IVF'te olduğunu görmekteyiz. IVF'in bugüne nasıl geldiğine baktığımız zaman 19. yy'da tavşanlarda başlayan IVF çalışmaları Howard Jones ile bir fizyolog olan Robert Edwards 1963'de tanıştıktan sonra birlikte yapmış oldukları hayvan çalışmaları ile geliştirilmiştir<sup>5</sup>. Birgün, Robert Edwards İngiltere'de Patrick Steptoe'nun (jinekolog) laparoskopi konusundaki bir konferansını dinlerken, Steptoe'dan "Bana overlerden yumurta alıp verebilir misin?" şeklindeki istekte bulunmuş, daha sonra katolik dininin verdiği çekincelerin yanında çalıştığı klinikten habersiz olarak yaptıkları ilk deneme 1976 yılında ektopik gebelikle sonuçlanmıştır. Bu yüzden korkup, bu gebeliği belirtememişlerdir. Fakat 1978'de ikinci uygulamalarında hepimizin bildiği dünyanın ilk tüp bebeği olan Louis Brown dünyaya gelmiştir. Louis Brown, 13 yaşında iken yine tüp bebek yöntemi ile dünyaya gelen kız kardeşini kucağına almış ve bu durum basında "mucize nesil" olarak isimlendirilmiştir. 2010 yılında dünyanın ilk tüp bebeğini yapmaktan dolayı Nobel ödülü verilen Robert Edwards 2013 yılında vefat etmiştir. O günlerden bugünlere tüp bebekte hızla teknik konularda ilerlemeler olmuş ama hala eve giden bebek oranlarında fazla değişiklik oluşmamıştır (%20-30)<sup>5</sup>.

Kontrollü ovaryan stimülasyon ile (kişiye özgü protokoller uygulanarak) kadının overlerinde folliküller belli boyutlara ulaştırılır. Büyüyen bu folliküller, önceleri laparoskop ile aspire edilirken bugün için transvajinal ultrason (TVUSG) rehberliğinde vajinal prob üzerine yerleştirilen bir kılavuz üzerinden iğnenin geçirilerek folliküllerin aspire edilmesiyle toplanır. Aspire edilen follikül sıvısı embriyoloji laboratuvarında embriyolog tarafından mikroskop altında incelenerek oositlerin bulunup hazırlanır, daha sonra sperm(gerek ejakulattan, gerekirse testisten) hazırlanarak ICSI yapılarak fertilizasyonun sağlanması gerçekleştirilir. ICSI işleminden yıllar önce, alınan oositlerin üzerine 50.000 kadar sperm bırakılarak inkübatörde spermilerin yumurtayı spontan fertilize etmesi beklenirdi. Bu yüzden sperm sayısı düşük olanlarda klasik IVF dahi yapılamazdı. 1992'de Palermo'nun ICSI'yi keşfetmesi ile erkek infertilitesinde bir devrim yaratılmış oldu. Artık bir tek spermden bile fertilizasyon gerçekleştirmek mümkün idi<sup>2,3,5</sup>.

Laboratuvar ortamında takip edilen embriyolar 2., 3. veya 5. gün embryo transfer kateteri ile uterin kavite içine transfer edilir ve 12 gün sonra da kanda beta-hcg bakılarak gebelik testinin pozitif veya negatif olduğu görülür. Fazla olan embriyolar ise önceleri slow freezing sistemi ile

dondurulurken bugün için başarısı taze embryolar kadar yüksek olan vitrifikasyon yöntemi ile dondurulmaktadır<sup>6</sup>.

Türkiye’de bugün 35 yaş altına tek embryo tranferi, 35 yaş üzerine iki embryo transferi ile transfer edilen embryo sayısı sınırlandırılmıştır. Bunun en büyük nedeni IVF komplikasyonu olarak kabul edilen çoğul gebeliklerdir<sup>7</sup>. Biliyoruz ki IVF komplikasyonları çoğul gebelikler, ovaryan hiperstimülasyon sendromu (OHSS), anestezi ve cerrahi komplikasyonlarıdır<sup>2</sup>. Bir IVF merkezinde gebelik başarısını etkileyen faktörler arasında hastaya ait faktörler başta olmak üzere ilaçla stimülasyon, laboratuvar şartları, kültür sistemleri, endometrium reseptivitesi, oosit kalitesi, embryo kalitesi, transfer teknikleri gibi faktörler yer alır. IVF sadece infertilite tedavisinde kullanılan bir yöntem değil, günümüzde genetik bozuklukların erken embryo safhasında tanısının konmasında da başarılı olmaktadır. Biliyoruz ki genetik bozuklukların önlenmesinde gen tedavileri, prenatal tanı PGD, PGS, CGH gibi yöntemler bulunmaktadır. Böylelikle embryoların 3.gününde veya 5. gününde yapılan blastomer biyopsilerinde genetik incelemeler yaparak birçok tek gen hastalıklarının (kistik fibrozis, talasemi, myotonik distrofi, Charcot-Marie-Tooth hast., Frajil-X, Wiscott-Aldrich sendromu vs.) teşhisi yapılabilmektedir<sup>8</sup>.

### Özel durumlarda IVF

Tüp bebekte son zamanlarda kryopresevasyon tekniklerinde de ilerlemeler olmuş gerek over gerek testis gerekse gametler dondurulabilmektedir. Yumurta dokusunun dondurularak saklanması endikasyonları: çocukluk çağı, üreme çağı kanserleri, kemik iliği nakli (KİT) olguları, benign yumurtalık hastalıkları ve profilaktik oofektomilerdir<sup>9</sup>. Çocukluk ve gençlik çağı kanserleri arasında lösemi, lenfoma, osteosarkom, Ewing sarkomu vs.; üreme çağında görülen kanserler arasında meme , serviks kanseri vs.; KİT gerektiren hastalıklar arasında immun yetmezlik hastalıkları, aplastik anemi vs. olup fertilitate koruyucu amaçla yapılan kryobiyolojik teknikler hastalığın remisyonundan sonra genç kadına anne olmak gibi bir şans verecektir. Kemoterapi ve KİT’e maruz kalan kadınların %80-100’ünde irreversibl ovarian infertilite ve erken menopoz meydana gelir<sup>10,11</sup>. Bu yüzden onkolojik ve non-onkolojik hastalıklarda frozen embryo, frozen matür, immatür oosit, frozen kortikal doku gibi fertilitate kryopresevasyon seçenekleri vardır. Örneğin, kliniğimizde myelodisplastik sendromlu 13 yaşındaki bir kız çocuğu frozen oosit ile, beta-talaseminin ciddi formu olan bir çocuk 7 yaşından evleninceye kadar çektiği sıkıntılardan sonra laparoskopik frozen kortikal ovarian doku ile sağlıklı bir çocuk sahibi olmuşlardır<sup>12</sup>. Bugüne kadar dünyada fresh ve frozen kortikal

ovarian doku ile 28 sağlıklı bebek dünyaya gelmiştir. İlk başarılı taze insan over transplantasyonu 2005'te rapor edilmiştir <sup>11</sup>.

## Sonuç

Sonuç olarak; kanser tedavisindeki ilerlemeler çocukluk çağındaki kanserlerin %75'ini tedavi edilebilir yapmıştır. Over rezervinin azalmasına neden olacağından total yerine parsiyel ooferektomi tercih edilmelidir. Over doku transplantasyonu uygun ve etkili bir yöntemdir. Aşırı gonadotoksik tedavi alacak tüm adölesanlara ve genç kadınlara bu yöntemler teklif edilmelidir. Transplantasyon sonrası follikül yaşam oranı hala düşüktür ve yükseltilmelidir. Ovarian kortikal transplattan kanser reimplantasyon riski bugün için tam aydınlatılamamıştır. Sistemik hematolojik malignitelerden sıkıntı çeken kadınlara ovarian doku ootransplantasyonu önerilmezken bunlara izole ovarian follikül reimplantasyonu gelecekte bir seçenek olabilir gibi görünmektedir.

## Kaynaklar

1. Speroff L , Fritz M. Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility: Infertility, 7th Ed. Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins. 2005.
2. Baerwald A R, Adams G P, Pierson A. Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: a review. Hum Reprod Update. 2012; 18:73-91.
3. Elder K, Cohen J. Human Preimplantation Embryo Selection. London, CRC Press, 2007.
4. Practice Committee of the American Society for Reproductive Medicine. Testing and interpreting measures of ovarian reserve: a committee opinion. Fertil Steril. 2012; 98:1407-15.
5. Jones H. IVF : Past and future. Reprod Biomed Online. 2003; 6:375-81.
6. Amorim CA, Dolmans MM, David A, Jaeger J, Vanacker J, Camboni A et al. Vitrification and xenografting of human ovarian tissue. Fertil Steril. 2012; 98:1291-8.
7. Urman B, Aydın T, Ata B. Türkiye'de IVF sonrası transfer edilecek embriyo sayısını belirleyen faktörlerin analizi: Üreme Sağlığı ve İnfertilite Derneği (TSRM) anketi. Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst. 2008; 5:188-94.
8. Gianaroli L, Racowsky C, Geraedts J, Cedars M, Lobo R. Best practices of ASRM and ESHRE: a journey through reproductive medicine. Fertil Steril. 2012; 98:1380-94.
9. Ozalp S, Tanir HM, Yalcin OT. Over kanserinde profilaktik ooferektomi. Türkiye Klinikleri J Gynecol Obst. 2003; 13:404-8
10. Grynberg M, Poulain M, Sebag-Peyrelevade S, le Parco S, Fanchin R, Frydman N. Ovarian tissue and follicle transplantation as an option for fertility preservation. Fertil Steril. 2012; 97:1260-8.

11. Revelli A, Marchino G, Dolfin E, Molinari E, Delle Piane L, Salvagno F et al. Live birth after orthotopic grafting of autologous cryopreserved ovarian tissue and spontaneous conception in Italy. *Fertil Steril.* 2013; 99:227-30.
12. Reichman DE, Davis OK, Zaninovic N, Rosenwaks Z, Goldschlag DE. Fertility preservation using controlled ovarian hyperstimulation and oocyte cryopreservation in a premenarcheal female with myelodysplastic syndrome. *Fertil Steril.* 2012; 98:1225-8.

**Correspondence Address / Yazışma Adresi**

Cihan Çetin  
Çukurova Üniv. Tıp Fakültesi  
Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı  
Adana, Turkey  
e-mail: cihancetin00@gmail.com