

## İNVİTROFERTİLİZASYON VE EMBRİYOTRANSFERİ (DERLEME)

Dr. Refik SOYLU\*, Dr. Selçuk DUMAN\*\*,  
Dr. S. Serpil KALKAN\*\*\*, Vet. Hekim Muzaffer ŞEKER\*\*\*\*

1987 Yılında İngiltere'de başarılı bir invitrofertilizasyon (IVF) ve embriyotransferi (ET) uygulaması sonucu ilk tüp bebek dünyaya gelmiştir. Bu uygulamada tubalardaki bir patolojiye bağlı olarak çocuk sahibi olamayanlardan laporoskop ile oosit alınıp, bir kültür mediumunda kocanın spermatozoidleri ile döllendirilmektedir. Oluşan embrioya uterusu transfer edilerek normal gebelik süresi beklenmektedir.

IVF ve ET, kadında çoğunlukla tubalara bağlı bir patolojinin varlığında olmak üzere idiyopatik sterilite ve immunolojik nedenli sterilitede uygulanabilmektedir.

Bu işlemin yapılabilmesi için, uzman kişilere gerek olduğu gibi çeşitli aletlere ve uygun kültür mediumlarına da ihtiyaç vardır. Follikül ponksiyonu yapılırken ve follikül aspirasyonundan sonra boşalan follikülün içinin yıkanmasında, aspire edilen yumurta hücrelerinin matürasyonunda, elde edilen spermatozoidlerin hazırlanmasında, spermatozoidlerin oositle birleştirilmesinde, kullanılan mediumların, IVF ve ET uygulamasının başarıya ulaşip gebelik beydana gelmesindeki rolleri tartışma götürmez bir konudur. Bu mediumlar toz kullanılabilir. En çok tercih edileni Hams'F 10 mediumudur.

IVF ve ET'nde önemli olan diğer bir konu da matür yumurta hücrelerinin teminidir. Bunu sağlamak içinde oositin, ikinci mayozdan hemen önceki devrede, olgunluğunun en ileri evresinde ve ovulasyondan hemen önce alınması gerekmektedir. Bunun için de folliküler gelişmenin iyi bilinmesi ve izlenmesi, ponksiyonunda ovulasyondan hemen önce yapılması şarttır.

### Folliküler Gelişme:

Prenatal dönemde her iki ovaryumda bulunan birkaç milyon oogoniumdan yaklaşık bir milyonu primer oosite dönüşür. Ergenlik çağında bunun ancak 400 000'i kalır. Başlangıçta her bir primer oositi saran tek katlı follikül hücreleriyle birlikte primer folliküller vardır. Olgunlaşmaya başlayan folliküllerde primer oosit ile, follikül hücrelerinin arasında zona pellucida denen zar oluşmaktadır. Follikül hücrelerinin mitozla bölünüp çok katlı, granüloza hücrelerine dönüşmesiyle sekonder folliküller meydana gelmektedir. İçerisi sıvı dolu boşlukların belirmesiyle primer oosit bir köşeye itilir ve tersiyer follikül oluşur. Son olgun şekline ise Graaf Follikülü denir. Graaf folliküllerinin çevresinde östrojen yapan teka interna gelişir. Bunun etrafında teka eksterna yer alır.

Olgunlaşmış follikülden yumurta hücrelerinin atılışının yani ovulasyonun zamanı tesbit etmek için bazı göstergeler vardır. Bunlar:

1. Serumda veya idrarda LH seviyesinin ölçülmesi,
2. Serumda veya idrarda östradiol konsantrasyonunun ölçülmesi,

\* S.Ü.T.F. Morfoloji ABD Öğretim Üyesi, Prof. Dr.

\*\* S.Ü.T.F. Morfoloji ABD Öğretim Üyesi, Yrd. Doç. Dr.

\*\*\* S.Ü.T.F. Morfoloji ABD Araştırma Görevlisi, Uzman Dr.

\*\*\*\* S.Ü.T.F. Morfoloji ABD Araştırma Görevlisi Veteriner Hekim Doktora Öğrencisi

3. Ultrason ile follikül gelişmesinin izlenmesi, follikülün yerinin ve sayısının tesbiti

4. Serviks indeksinin tayini.

Normal siklusda, bir oosit aspire edilebileceğinden, birden fazla oositle çalışmak amacıyla çeşitli yollarla hormonal stimülasyon yöntemleri uygulanmaktadır. Kadında ritmik hormonal değişikliklerin olduğu 28 günlük süreye Cinsel siklus denir. Siklus, hipotalamik releasing faktör (FRF, LRF), hipofiz ön lobuna ait FSH, LH ve ovaryumlara ait östrojen ve progesteron olmak üzere üç hormon kademesinden oluşur.

Bu hormonların ekzojen stimülasyonu ile, birden fazla oosit elde edilebilmekte ve ponksiyon zamanının tayini kolaylaşmaktadır. Stimülasyon Yöntemleri:

- 1) Clomiphen ile,
- 2) Clomiphen-HCG kombinasyonu ile,
- 3) Clomiphen-HMG<sup>X</sup>-HCG<sup>X</sup> kombinasyonu ile,
- 4) HMG-HCG kombinasyonu ile,
- 5) FSH-HCG kombinasyonu ile.

Bunlardan en çok tercih edilen; Clomiphen-HCG kombinasyonudur. Clomiphen, hipotalamusda östrojen reseptörleri bloke ederek kanda dolaşan östrojen hormonları, LH-FSH-RF üzerindeki frenleyici etkisini ortadan kaldırır. Böylece aşırı FSH,LH salgınır.

Stimülasyon ile yapılan işlemlerde, birden fazla follikül olgunlaşmış birden fazla oosit elde edildiği için çoğul gebelik ihtimali yüksektir. Stimülasyon sırasında dominant follikül 17-20 mm. çapında iken ve follikül yeterince olgunlaştığında aspirasyon yapılmaktadır. Bu, ovulasyondan hemen önceye denk gelmelidir. Laparoskopik kontrolle yapılan ponksiyon ve aspirasyon son zamanlarda ultrasound kontrolü ile de yapılabilmektedir. Aspirasyon sıvısı petri kutusu içinde stereo mikroskop altında incelenerek oosit tesbit edilerek sonra kültür mediumu ile yıkayıp medium içinde etüve konulmaktadır.

Ovumun follikülden dışarı atılmasından sonraki birkaç saat içinde follikülde meydana gelen değişikliklere Luteinizasyon, oluşan kütleyle de korpus luteum denir. Korpus luteum östrojen ve progesteron salgılar. Progesteron, fertilize ovum implante olduğu takdirde bunun beslenmesine elverişli yapıda endometriumun oluşmasını sağlar. Follikül sıvısı ve oosit aspirasyonu sırasında çok miktarda granuloza hücresinin de birlikte geldiği böylece geride follikülde az sayıda granuloza hücresi kaldığı düşünülmektedir. Bu durumda luteal fazda progesteron salgılanması azalacak ve ayrı bir problem oluşturacaktır. Bu konuda henüz tam olarak aydınlanmış değildir.

Oositin elde edilmesinden 5 saat sonra spermatozoidler, mastürbasyon ile alınıp mediuma karıştırılır. İnseminasyon, oosit ve inseminasyon mediumunun bulunduğu tüpe spermatozoidlerin konması ile başlatılmaktadır. İnseminasyondan ortalama 48-72 saat sonra, embriyonun 4-8 hücreli bölünme evresinde olduğu anda embriyotransferi yapılmaktadır.

Hasta uygun şekilde masaya yatırılıp spekülüm yerleştirilip mediumla birlikte embriyo uterusu transfer edilmektedir. Son zamanlarda tatbik edilen bir yöntemde ise, yumurta hücreleri ve spermatozoidler tuba içine abdominal yoldan transfer edilmektedir. Bu yolla transfer edilen yumurta hücreleri, spermatozoidler tarafından tuba içinde döllenmektedir. Gebelik şansı yalnız bir embriyo yerleştirilirse %9 iken, dört embriyo yerleştirilirse

%27.6'ya çıkmaktadır.

Yapılan çalışmalarda başarı oosit aspirasyonu kademesinde %90, IVF kademesinde %80 iken embriyo transferi sonrası gebelik oluşma şansı %30'a inmektedir.

IVF ve ET oldukça zahmetli ve pahalı bir işlemdir. Gebelik oluştuktan sonra abortus görülmesi de gözönünde bulundurulduğunda başarı şansının yeterince yüksek olmadığı ortadadır. Fakat her şeye rağmen çocuk sahibi olma arzusundaki anne ve babaları mutlu etmek amacıyla artık ülkemizde de bu işlem gerçekleştirilebilmekte ve tüb bebek merkezlerini sayısının arttırılmasına çalışılmaktadır.

xHCG: Human Corionic Gonadotropin

xHMG: Human Menopozal Gonadotropin

## KAYNAKLAR

1. Lopata, A., Jonston, J.W.H., Hoult, W., Speirs, A.I.: Pregnancy following intrauterine implantation of an embryo obtained by in vitro fertilization of a preovulatory egg. *Fert. Steril.* 33: 2, 117-120, 1980.
2. Edwards, RG., Steptoe, P.C., Purdy, JM.: Fertilization and cleavage invitro of preovulator humanocyst. *Nature*, 227; 26, 1307-1309, 1970.
3. Kibrick, S., Belding, D.L., Merrill, B.: Methods for the dedection of antibodies against mammalian spermatozoa, *Fertility and Sterility*, 3:5, 419-429, 1952.
4. Maghissi, K.S.: Basic Work-up and evaluation of infertilitie couples. *Clinical Obstetrical and Gynecology*. 22:1, 11-25, 1979.
5. Feichtinger, W., Kemeter, P.: A simplifid technique for fertilization and culture of human preimplantaion embriyos in vitro. *Acta Europ. Fertil.* 14. 2, 28-32, 1983.
6. Kalaycı, Ş.: Histoloji, Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa, 223-242, 1986.
7. Önder, İ.: *Invitro fertilizasyon ve Embriyotransferi*, Menteş, İstanbul, 8-II, 1987.
8. Kayaalp, S.D.: *Tıbbi Farmakoloji*, 3. Baskı, Ulucanlar Matbaası, Ankara, 2455-2489, 1986.
9. Mc. Natty K.P.: *Clinics in endocronology and metabolism*, 7:3, Saunders London, 577, 1978.
10. Testart, J., Frydman, R., De Mouzon, J., et all.: A study of factors affecting the success of human fertilization in vitro. I. Influence of ovarian stimulation upon the number and condition of cocyst collected. *Biol. Reprod.* 28: 3, 415-419, 1983.
11. Trounson, a.O. Moor, L.R., Wood, C., Lecton, J.F.: *Invitro fertilization culture and tranfser of human embriyos: Effects of delayed insemination* *Journal of Reproduction and Fertility*, 15: 3, 250-255, 1981.